

令和 4 年 5 月 18 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08862

研究課題名(和文)PNH治療のための最適ターゲットの同定

研究課題名(英文)Identification of the most appropriate therapeutic target for PNH

研究代表者

植田 康敬(Ueda, Yasutaka)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：30533848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)の治療薬である抗補体C5抗体薬は、血管内溶血を大幅に改善するが、顕在化する血管外溶血から貧血の改善が不十分な例もあり、新規治療薬が待たれている。補体第2経路を構成するプロペルジンの阻害は、PNH赤血球の溶血と補体C3の蓄積を防ぎ、血管内・外溶血を阻止することが示唆された。またプロペルジンはPNH患者で安定して低い血中濃度で、抗プロペルジン抗体は他の補体経路を阻害しないことから感染のリスクも低いことが期待された。PNHに対する新規治療薬の標的分子として、第2経路を構成するB、D因子、プロペルジンが有望と考えられ、特にプロペルジンは最適なものの一つと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

稀少疾患であるPNH患者に対して様々な新規治療薬が臨床開発中であるが、どの薬剤が患者にとって最適なのかはまだ分かっていない。今回の研究を通じて、PNHの新規治療薬の方向性として第2経路阻害が有望であることが明らかとなり、今後PNHの治療薬選択を考える上での重要な知見が得られた。

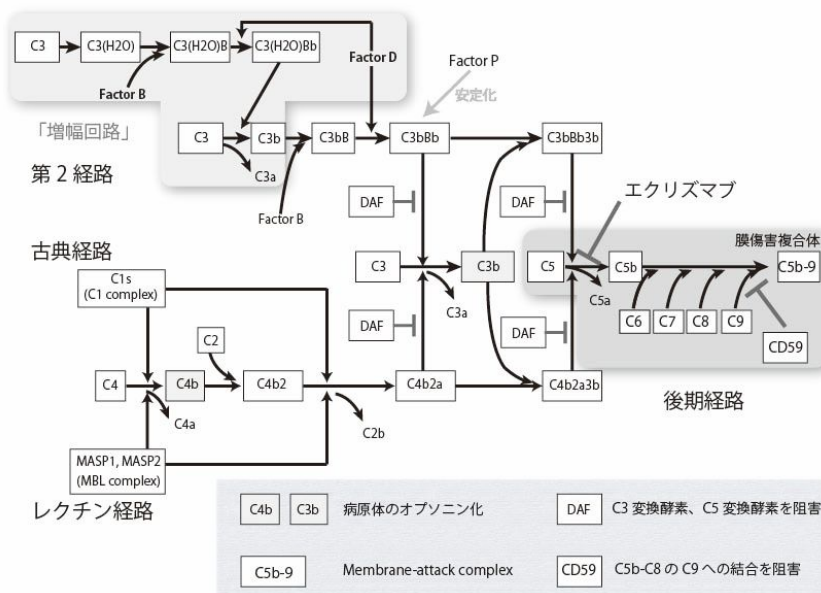
研究成果の概要(英文)：Anti-C5 antibodies effectively blocks complement-mediated intravascular hemolysis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH), but some patients show poor response to the antibodies due to extravascular hemolysis manifested under anti-C5 treatment. Properdin is a component of the complement alternative pathway, and we found that anti-properdin antibody alone blocked hemolysis of PNH red blood cells, and hindered accumulation of C3 on the red blood cells in vitro, suggesting that the antibody blocks both intra- and extravascular hemolysis. The blood level of properdin was stably comparatively low in PNH patients. The antibody didn't interfere with the classical and lectin pathways, suggesting it might mitigate the infectious risk in the patients under treatment. Those data suggest that blocking complement components consisting of the alternative pathway, especially properdin, may be one of the most appropriate therapeutic targets for PNH.

研究分野：溶血性貧血

キーワード：発作性夜間ヘモグロビン尿症 PNH 溶血性貧血 抗補体薬 血管内溶血 血管外溶血 プロペルジン

1. 研究開始当初の背景

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) は PIGA 変異を持つ造血幹細胞がクローン性に増殖することで発症する造血幹細胞疾患である。補体制御因子である CD55, CD59 を含む GPI アンカー型タンパク質を欠損することで、PNH 赤血球は補体の攻撃に脆弱となり血管内溶血を来す。初の抗補体薬であるエクリズマブは、補体活性化終末経路の補体成分 C5 の活性化を阻害することで、極めて有効に PNH に於ける血管内溶血を阻止し、PNH 患者の生活の質 (QOL) を大幅に改善した。一方補体活性化経路において C5 の上流に位置する C3 が PNH 赤血球上に蓄積し、血管外溶血を来すことで貧血の改善が不十分な症例の存在も明らかとなった (Blood 113(17):4094-100, 2009, Haematologica 95(4):567-573, 2010) (図 1)。そこで C3 レベルの阻害薬を用いれば、血管外溶血とその下流の活性化による血管内溶血、双方の抑制が期待できる。実際に C3 に対する阻害薬も開発されているが、古典経路、レクチン経路、第 2 経路全ての補体経路が合流する C3 レベルでの活性化阻害は、補体経路全体を抑制することで、感染症などのリスクが大幅に増す恐れがある。一方で第 2 経路の増幅回路を標的とすれば、古典、レクチン経路による補体活性化を残したまま、PNH の血管内溶血に重要な第 2 経路のみを抑制することが可能である。即ち、D 因子、B 因子、プロペルジンなどを標的とすることが、PNH 治療において血管外溶血と血管内溶血をバランス良く抑える上で有望であると考えられるが、どの分子を標的とすることが有効性、安全性から最も優れているかは分かっていなかった。



2. 研究の目的

PNH の補体溶血に対し最適な治療標的を同定し、複雑な補体系の解明につなげることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

上記目的のため、下記手法を用いた。

PNH 赤血球の溶血に対する効果を評価するために、PNH 患者赤血球を用いた酸性化溶血試験の系に加え、ウサギ赤血球を用いた系を確立する。

血管外溶血の指標である補体 C3 の蓄積を、フローサイトメトリーで評価する。

抗補体薬のターゲットとなる補体因子の、健常者、PNH 患者における血中濃度を高感度 electrochemiluminescence (ECL 法) によるイムノアッセイを用いて計測する。

抗補体薬による各補体活性化経路 (古典経路、第 2 経路、レクチン経路) への影響を評価する。

以上の手法を通して、どの補体因子を標的とすることが PNH の治療として最適かを評価することを試みた。

4. 研究成果

上記手法に基づき、下記の結果を得た。

PNH 患者赤血球、ウサギ赤血球を用いた酸性化溶血試験の系を確立した。補体第 2 経路のみの抑制では、古典経路、レクチン経路の活性化から終末経路の活性化、PNH 赤血球溶血の恐れがあったが、第 2 経路を抑制する抗プロペルジン抗体を用いた実験から、第 2 経路単独の抑制でも有効に PNH 赤血球溶血を阻止出来ることが判明した。

PNH 患者において、未治療の患者では PNH 赤血球上に C3 の蓄積はほとんど見られなかったが、エクリズマブ投与中の患者では C3 の蓄積が認められた。また第 2 経路を抑制する抗プロペルジン抗体を用いると、溶血阻止のみならず、C3 の蓄積も抑制された。

補体因子のうち、抗補体薬のターゲットとして有望と考えられたプロペルジンの、健常者（26 例）、PNH 患者（未治療 6 例、エクリズマブ治療中 12 例、エクリズマブ不応例 2 例）における血中濃度を測定した。プロペルジンは主に好中球から放出されるため、その血中濃度は個人差や、感染などを契機に大きく変動することも考えられたが、実際には個体間で大きな差はなく、また同一個人でも経時的に大きな変動がないことが判明し、抗補体薬のターゲットとして有望であることが示された。

抗プロペルジン抗体は、第 2 経路のみを抑制し、古典経路、レクチン経路には影響しないことが示された。

これらの結果から、PNH 患者に対する新規抗補体薬として、補体第 2 経路の単独阻害により十分な血管内・外溶血の阻害が期待され、また血中のプロペルジン濃度は補体 C3、C5 と比較しても大幅に低いことから、抗体薬として良好な薬物動態が期待出来た。また第 2 経路阻害薬は、古典経路、レクチン経路には影響を与えないため、補体経路全体に影響する C3 阻害や、終末経路を阻害するエクリズマブなどの C5 阻害薬に比べ、感染症のリスクの点で有利と考えられた。PNH に対する新規抗補体薬の標的分子として、第 2 経路を構成する B 因子、D 因子、プロペルジンが有望と考えられ、特にプロペルジンは最適なものの一つと考えられた。今後抗プロペルジン抗体を含む第 2 経路阻害薬の臨床開発への取り組みを進めたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakaya Yosuke, Nakao Takafumi, Ueda Yasutaka, Takamori Hiroyuki, Nishimura Jun Ichi, Tatsumi Naoko, Tsutsumi Minako, Yoshida Masahiro, Yoshimura Takuro, Hayashi Yoshiki, Yamane Takahisa | 4. 巻 105 |
| 2. 論文標題 Donor stem cell derived paroxysmal nocturnal hemoglobinuria after umbilical cord blood transplantation | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Haematology | 6. 最初と最後の頁 659 ~ 661 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejh.13498 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Hosokawa Kohei, Ishiyama Ken, Ikemoto Toshiyuki, Sugimori Chiharu, Noji Hideyoshi, Shichishima Tsutomu, Obara Naoshi, Chiba Shigeru, Ninomiya Haruhiko, Nguyen Mai Anh Thi, Shirasugi Yukari, Nakamura Yoshihiko, Ando Kiyoshi, Ueda Yasutaka, et al. | 4. 巻 100 |
| 2. 論文標題 The clinical significance of PNH-phenotype cells accounting for < 0.01% of total granulocytes detected by the Clinical and Laboratory Standards Institute methods in patients with bone marrow failure | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Annals of Hematology | 6. 最初と最後の頁 1975-1982 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00277-020-04314-w | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Hochsmann B, Murakami Y, Osato M, Knaus A, Kawamoto M, Inoue N, Hirata T, Murata S, Anliker M, Eggermann T, Jager M, Floettmann R, Hollein A, Murase S, Ueda Y, Nishimura JI, Kanakura Y, Kohara N, Schrezenmeier H, Krawitz PM, Kinoshita T. | 4. 巻 129 |
| 2. 論文標題 Complement and inflammasome overactivation mediates paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with autoinflammation. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Clinical Investigation | 6. 最初と最後の頁 5123-5136 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI123501. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

| | |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名 Kageyama Misaki, Hagiya Hideharu, Ueda Yasutaka, Ohtani Katsuki, Fukumori Yasuo, Inoue Norimitsu, Wakamiya Nobutaka, Yoneda Nanoka, Kimura Keigo, Nagasawa Motonori, Nakagami Futoshi, Nishi Isao, Sugimoto Ken, Rakugi Hiromi | 4. 巻 100 |
| 2. 論文標題 Disseminated gonococcal infection in a Japanese man with complement 7 deficiency with compound heterozygous variants | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Medicine | 6. 最初と最後の頁 e25265-e25265 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.0000000000025265 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Yasutaka Ueda, Hiroyuki Takamori, Jun-Ichi Nishimura | 4. 巻 385 |
| 2. 論文標題 Pegcetacoplan versus Eculizumab in PNH | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 New England Journal of Medicine | 6. 最初と最後の頁 1723 ~ 1726 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1056/NEJMc2106424 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

[学会発表] 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 9件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 Jong Wook Lee, Yasutaka Ueda, Philippe Gustovic, Ke Zu, Alexander Kulagin, Morag Griffin |
| 2. 発表標題 Effectiveness of eculizumab treatment in patients aged >65 years with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): results from the International PNH Registry |
| 3. 学会等名 25th European Hematology Association (EHA) 2020 Congress (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Alexander Roth, Ulrich Jager, Bernd Jilma, Wilma Barcellini, Anita Hill, Quentin Hill, David J. Kuter, Catherine M. Broome, Marc Michel, Sacha Sergio Zeerleder, Yasutaka Ueda, Jaime Morales Arias, Jun Su, Sjøbjørn Berentsen |
| 2. 発表標題 Cold Agglutinin Disease (CAD) Real World Evidence (CADENCE) Registry: Design of the First International, Prospective CAD Registry |
| 3. 学会等名 25th European Hematology Association (EHA) 2020 Congress (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| | |
|----------|--|
| 1 . 発表者名 | Nishimura J, Soubret A, Buatois S, Charoin JE, Sreckovic S, Bucher C, Hernandez-Sanchez J, Jordan G, Ramos J, Arase N, Hotta M, Isaka Y, Ito Y, Kanakura Y, Kim JS, Kinoshita T, Morii E, Panse J, De Latour RP, Roth A, Schrezenmeier H, Sica S, Takamori H, Ueda Y et al |
| 2 . 発表標題 | An Optimized Crovalimab Dose and Regimen Reduced the Formation of Drug-Target-Drug Complexes in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria from the Phase I/II COMPOSER Trial |
| 3 . 学会等名 | 62nd American Society of Hematology Annual Meeting (国際学会) |
| 4 . 発表年 | 2020年 |

| | |
|----------|---|
| 1 . 発表者名 | Alexander Roth, Ulrich Jaeger, Bernd Jilma, Wilma Barcellini, Anita Hill, Quentin Hill, David J. Kuter, Catherine M. Broome, Marc Michel, Sacha Sergio Zeerleder, Yasutaka Ueda, Jaime Morales-Arias, Jun Su and Sjøbjørn Berentsen |
| 2 . 発表標題 | Cold Agglutinin Disease (CAD) Real-World Evidence (CADENCE) Registry: Design of the First International, Prospective CAD Registry |
| 3 . 学会等名 | 62nd American Society of Hematology Annual Meeting (国際学会) |
| 4 . 発表年 | 2020年 |

| | |
|----------|---|
| 1 . 発表者名 | Ilene C. Weitz, Yasutaka Ueda, Frank Shafer, Jun Su, Meredith Foster, Michael Storek and Parija Patel |
| 2 . 発表標題 | Inflammation and Fatigue in Patients with Cold Agglutinin Disease (CAD): Analysis from the Phase 3 Cardinal Study |
| 3 . 学会等名 | 62nd American Society of Hematology Annual Meeting (国際学会) |
| 4 . 発表年 | 2020年 |

| | |
|----------|--|
| 1 . 発表者名 | Yasutaka Ueda, Kohei Hosokawa, Ken Ishiyama, Hiroyuki Takamori, Yuji Yonemura, Naoshi Obara, Hideyoshi Noji, Hiroshi Takahashi, Yukari Shirasugi, Takahisa Matsuda, Kiyoshi Ando, Tsutomu Shichishima, Takayuki Ikezoe, Shigeru Chiba, Haruhiko Ninomiya, Tatsuya Kawaguchi, Jun-ichi Nishimura, Yuzuru Kanakura, Shinji Nakao |
| 2 . 発表標題 | THE RELATIONSHIP BETWEEN THE PRETREATMENT PNH CLONE SIZE AND CLINICAL COURSE IN PATIENTS WITH BONE MARROW FAILURE SYNDROMES: INTERIM ANALYSIS OF JAPANESE MULTICENTER PROSPECTIVE STUDY |
| 3 . 学会等名 | 24th Congress of European Hematology Association (国際学会) |
| 4 . 発表年 | 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yasutaka Ueda, Kohei Hosokawa, Ken Ishiyama, Hiroyuki Takamori, Yuji Yonemura, Naoshi Obara, Hideyoshi Noji, Kiyoshi Ando, Tsutomu Shichishima, Takayuki Ikezoe, Shigeru Chiba, Haruhiko Ninomiya, Tatsuya Kawaguchi, Jun-ichi Nishimura, Yuzuru Kanakura and Shinji Nakao |
| 2. 発表標題 Clinical Significance of Small PNH-Type Cell Populations in Bone Marrow Failure Syndromes - an Interim Analysis of Japanese Multicenter Prospective Study - |
| 3. 学会等名 63rd American Society of Hematology Annual Meeting ((国際学会)) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 David Cella, Peter Johansson, Yasutaka Ueda, Ioannis Tomazos, Philippe Gustovic, Alice Wang, Ami S. Patel, and Hubert Schrezenmeier |
| 2. 発表標題 Clinically Important Difference for the FACIT-Fatigue Scale in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: A Derivation from International PNH Registry Patient Data |
| 3. 学会等名 63rd American Society of Hematology Annual Meeting ((国際学会)) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Ilene Weitz, Yasutaka Ueda, Frank Shafer, Jun Su, Meredith Foster, Michael Storek, Parija Patel |
| 2. 発表標題 Inflammation and Fatigue in Patients With Cold Agglutinin Disease (CAD): Analysis From the Phase 3 CARDINAL Study |
| 3. 学会等名 European Hematology Association congress 2021 ((国際学会)) |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|---------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 西村 純一 (Nishimura Jun-Ichi) (80464246) | 大阪大学・医学系研究科・助教 (14401) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|--|--|----|
| 研究 分 担 者 | 高森 弘之 (Takamori Hiroyuki) (80792077) | 大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |