

機関番号：32659

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590159

研究課題名（和文）内因性コルチゾールのリンパ球感受性に基づくステロイド減量・離脱に関する研究

研究課題名（英文）Steroid Withdrawal Based on Lymphocyte Sensitivity to Endogenous Steroid in Renal Transplant Recipients

研究代表者 竹内 裕紀 (TAKEUCHI HIRONORI)

東京薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：20439912

研究成果の概要（和文）：腎移植患者のステロイドのリンパ球感受性は、ステロイド減量・離脱後の腎機能低下と関連していた。服用ステロイドに高感受性患者は、感受性が高いため低用量まで減量でき、同時に内因性コルチゾールの感受性が高ければ、服用ステロイドを減量したときコルチゾールによる十分な免疫抑制効果により、服用ステロイドの代替ができ、より安全に減量・離脱ができると考えられた。コルチゾールおよび服用ステロイドのリンパ球感受性がステロイド離脱のマーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： We assessed lymphocyte sensitivity to endogenous cortisol and administered steroid as a biomarker for determining the safety of steroid withdrawal in renal transplant patients. Serum creatinine levels increased in a significantly higher number of patients hyposensitive to cortisol and administered steroid than in normally sensitive patients. The patients who have the normal sensitivity of endogenous cortisol and administered steroid, can withdraw steroid more safely. We considered that the highly cortisol-sensitive patients could be sufficiently immunosuppressed by their intrinsic cortisol which will recover after withdrawal of the administering steroid, and that highly administered steroid -sensitive patients could get to reduce steroid easily. The lymphocyte sensitivity to cortisol and administered steroid may be a useful biomarker for selecting patients who can sustain steroid withdrawal.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：医療系薬学

科研費の分科・細目：

キーワード：コルチゾール，リンパ球感受性，ステロイド離脱，腎移植，メチルプレドニゾロン，バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

腎移植においては、移植初期に抗 CD25 抗体であるバシリキシマブが使用されて以来、移植後初期の急性拒絶反応の発症率は大幅に減少した。それに伴い、他の免疫抑制剤を減量することが考えられ始め、最も副作用が危惧されるステロイド剤の減量・離脱が全国的規模の研究で行なわれていた。しかし、順調に離脱できる患者もいれば、拒絶反応による腎機能悪化のため、ステロイド剤を再開しなければならない患者も多数存在しているのが現状であった。このようにどのような患者が離脱できるのかという理論的な指標がなく離脱が行なわれているのが現状であった。

2. 研究の目的

ステロイドを減量するに従い回復してくる内因性コルチゾールと服用ステロイドのリンパ球に対する感受性を調べることで、内因性コルチゾールが十分に回復し、かつコルチゾールに感受性の高い患者は、服用ステロイドの代わりに内因性コルチゾールが免疫抑制効果を代替でき、良好にステロイド離脱を行なえるのではないかと考え、腎移植長期経過患者で本研究を施行した。ステロイドのリンパ球感受性が、ステロイド減量・離脱のマーカーとなり得るかを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 長期経過腎移植後患者におけるコルチゾールおよび服用ステロイドの低感受性群と高感受性群間の臨床成績の比較

長期経過腎移植後患者 44 例で内因性ステロイドであるコルチゾールおよび服用ステロイドであるメチルプレドニゾロンのリンパ球感受性を測定した。リンパ球感受性はリンパ球増殖を 50%抑制する薬剤濃度 (IC_{50}) として求めた。離脱・減量後の血清クレアチニン (S-Cr) 値の上昇、離脱症状およびステロイド離脱・減量後の再開・増量の有無をレトロスペクティブに調査し、低感受性群と高感受性群間で臨床成績の比較を行った。

(2) リンパ球感受性試験の濃度-反応曲線と血中濃度による PK/PD 解析

リンパ球感受性試験によるコルチゾールの濃度-反応曲線と血中コルチゾール濃度の関係を低感受性群と高感受性群間で PK/PD 解析した。S-Cr・BUN の上昇、ステロイド離脱症状発現、およびステロイド薬の増量・再開のイベント発生群と非発生群間で、各患者の血清コルチゾール濃度におけるリンパ球増殖率を求め、両群間で比較解析した。

(3) 早期ステロイド離脱腎移植後患者におけるコルチゾールおよび服用ステロイドの低感受性群と高感受性群間の臨床成績の比較

長期経過腎移植後患者と同様にコルチゾールおよびメチルプレドニゾロンのリンパ球感受性とステロイド離脱の臨床成績を調査した。プロトコールでは臨床上、問題がなければ、移植後 2 ヶ月でステロイド離脱を行う。感受性試験は、移植前と離脱時の移植後 2 ヶ月に実施した。

4. 研究成果

(1) 長期経過腎移植後患者におけるコルチゾールおよび服用ステロイドの低感受性群と高感受性群間の臨床成績の比較

①30 症例における解析

ステロイド減量・離脱により S-Cr が上昇した患者は、コルチゾールの高感受性群では 19 例中 1 例も認められなかったのに対し、低感受性群では 11 例中 5 例と有意に高かった ($P < 0.005$)。またステロイド離脱症状の発症率もコルチゾールの高感受性患者では 19 例中 1 例であったのに対し、低感受性群では 11 例中 4 例と有意に高かった ($P < 0.05$)。さらに S-Cr の上昇または離脱症状発現のためステロイドを増量・再開した患者の割合も高感受性群で 19 例中 1 例だったのに対し、低感受性群では 11 例中 7 例と有意に高かった ($P < 0.005$)。この時点においては服用ステロイドであるメチルプレドニゾロンの感受性と離脱・減量後 S-Cr 値の上昇、離脱症状およびステロイド離脱・減量後の再開・増量の有無は有意な関係は認められなかった。

②44 症例における解析

低感受性群と高感受性群に分ける IC_{50} 値のカットオフ値を ROC 解析に基づき求め、両群間でステロイド減量・離脱における臨床成績を比較した結果、コルチゾールの感受性においては、S-Cr の上昇のみが 30 例における解析結果と同様に有意な差が認められた ($P < 0.05$)。ステロイド離脱症状の発症率とステロイドを増量・再開率は、同様な傾向はあったものの有意な差なかった。またメチルプレドニゾロンの感受性 ($N=39$) においても、S-Cr が上昇した患者の割合が、高感受性群では 19 例中 1 例も認められなかったのに対し、低感受性群では 20 例中 9 例と有意に高かった ($P < 0.05$)。

表 1. コルチゾール (COR) およびメチルプレドニゾロン (MPSL) とステロイド減量・離脱後の血清クレアチニン値 (S-Cr) 上昇の発生率との関係

薬物	感受性	S-Cr 上昇		p-Value
		+	-	
COR	低感受性 ($IC_{50} \geq 3580$)	7	6	< 0.05
	高感受性 ($IC_{50} < 3580$)	2	29	
MPSL	低感受性 ($IC_{50} \geq 21.5$)	9	11	< 0.05
	高感受性 ($IC_{50} < 21.5$)	0	19	

(2) リンパ球感受性試験の濃度-反応曲線と血中濃度による PK/PD 解析

30 例における解析の結果、S-Cr・BUN の上昇、ステロイド離脱症状発現、およびステロイド薬の増量・再開のイベント発生群と非発生群間で、各患者の血清コルチゾール濃度におけるリンパ球増殖率を両群間で比較した結果、すべてのイベントにおいて、リンパ球増殖率が 60% 以下では、イベントを発生した患者がいなかった。

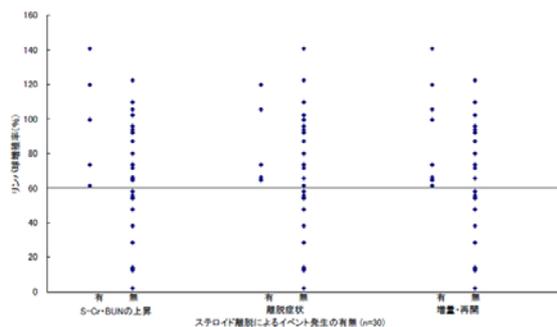


図 1. 各イベント発生群と非発生群における患者血清コルチゾール濃度におけるリンパ球増殖率の比較

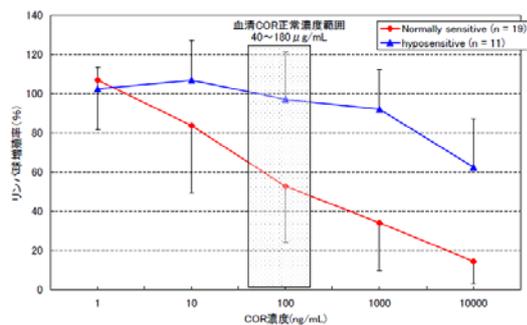


図 2. リンパ球に対するコルチゾールの高感受性群と低感受性群における濃度-リンパ球増殖曲線と標準域血清コルチゾール濃度

(3) 早期ステロイド離脱腎移植患者におけるコルチゾールおよび服用ステロイドの低感受性群と高感受性群間の臨床成績の比較

早期ステロイド離脱予定患者においては、現在 26 例の感受性試験を実施した。そのうち、観察期間が経過し臨床成績を調査できた現 7 症例においては、コルチゾールおよびメチルプレドニゾロン感受性とステロイド離脱後の臨床成績の関係は、認められていない。

考察と展望

(1) 長期経過腎移植後患者について

長期経過腎移植患者においては、コルチゾールおよび服用ステロイド (メチルプレドニゾロン) の高感受性の患者は、ステロイド減量・離脱後に S-Cr が上昇する患者の割合が低いことを明らかにしたことで、ステロイド減量・離脱前にリンパ球感受性試験を実施することで、より安全、かつ有効にステロイドを減量・離脱できる患者を識別できる可能性がある。

また、コルチゾールにおいては薬力学 (PD) 方法だけではなく、体内動態 (PK) を加え解析した結果、患者の血清コルチゾール濃度におけるリンパ球増殖率が 60% 以下の患者では、同様に安全にステロイドを減量・離脱できる指標となりうる可能性があることを示した。

そのメカニズムについては、服用ステロイドであるメチルプレドニゾロンの高感受性患者は、感受性が高いため、低用量まで減量でき、同時に内因性ステロイドであるコルチゾールの感受性が高ければ、服用ステロイドの用量が有効量以下になってもコルチゾールによる十分な免疫抑制効果により、服用ステロイドの代替ができ、より安全に減量・離脱ができると考えている。

また、リンパ球に対するコルチゾール感受性と離脱症状の発症の有無に関する関係では、30 例では有意な差が認められていたが、44 例まで症例数を増加した結果では、その傾向はあったものの有意な差は認められなかった。コルチゾールの体内動態の観点からはステロイド離脱症候群は標的組織における絶対的、または相対的なコルチゾールの欠乏によって生じる。しかしながら離脱症状を発症した全患者の血清コルチゾール濃度が正常域に回復していたことから、量的には十分であると考えられた。よって薬力学的観点から、標的組織 (関節) においてコルチゾールに低感受性の患者は、反応性が低いため、高感受性患者に比べ、離脱症状 (関節痛) を防止するためにはより高濃度のコルチゾールを必要とする可能性が考えられた。このようなメカニズムで、標的組織におけるコルチゾールの感受性が、ステロイド離脱症候群に発症に関係して可能性を想定し、今後さらに検討していく予定である、

長期経過腎移植患者においてはコルチゾールおよび服用ステロイドのリンパ球感受

性がステロイド離脱のマーカーとなる可能性が示唆された。

(2) 早期ステロイド離脱患者について

長期経過腎移植患者ではリンパ球の対するコルチゾールおよび服用ステロイドの感受性が、ステロイドを安全に離脱できる患者を選択できるマーカーになる可能性を示した。しかし、早期移植患者では、未だステロイド離脱後の臨床経過が解析できる時点に達することができた症例数が少ないため、結果は出ていないが、現在のところステロイド感受性と離脱後の臨床成績との関連性は認められていない。その要因として、移植後初期には多量の免疫抑制薬を服用しており、ステロイド感受性が、その影響を受けている可能性がある。多量の服用免疫抑制薬がステロイド感受性に影響を与えていることが明らかになれば、ステロイド離脱のための感受性試験は、移植後早期では適さない可能性が考えられる。

3) 計画外の成果

タクロリムス服用患者ではシクロスポリン服用患者に比べ有意にコルチゾール、およびメチルプレドニゾロンの IC₅₀ が低く、感受性が高かった。このタクロリムスとシクロスポリン服用患者間のステロイド感受性の違いは、ステロイド受容体複合体タンパクとして存在するカルシニューリン結合蛋白が感受性に影響を与える可能性が考えられ、現在、検討を始めた。カルシニューリン阻害薬の違いよりステロイドの感受性が異なれば、ステロイド減量・離脱がしやすいカルシニューリン阻害薬など、併用療法における至適カルシニューリン阻害薬が明らかになる可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Gulimire Muhetaer Hironori Takeuchi, Sogo Akizuki, Sakae Unezaki, Hitoshi Iwamoto, Motohide Shimazu, Toshihiko Hirano, Higher sensitivity of peripheral blood lymphocytes to endogenous glucocorticoid in renal transplant recipients treated with tacrolimus as compared to those treated with cyclosporine, Cell Medicine (査読有) 2011, in press
- ② 竹内裕紀、松野直徒、平野俊彦、畠崎 榮、長尾 桓、腎移植患者における内因性コルチゾールのリンパ球感受性に基づくステロイド減量・離脱の可能性、臨床薬理の

進歩、査読無、30、2009、128-136

- ③ 竹内裕紀、平野俊彦、畠崎 榮、薬剤師による処方支援・28 PK および PD に基づく腎移植免疫抑制療法処方支援、医薬ジャーナル、査読無、44(5)、2008、1349-1355

[学会発表] (計 11 件)

- ① 竹内裕紀、グリミル ムヒタル、岩本整、中村有紀、濱耕一郎、虎石竜典、平野俊彦、秋月宗剛、川口崇、畠崎 榮、島津元秀、腎移植患者のステロイド減量・離脱におけるステロイドのPBMC感受性の有用性、第 37 回臓器保存生物医学会学術集会 (2010. 11. 19)
- ② グリミル ムヒタル、岩本 整、葦沢 龍人、竹内裕紀、畠崎 榮、平野俊彦、島津元秀、腎移植患者におけるステロイド離脱の指標としての末梢血リンパ球のコルチゾール感受性、第 46 回日本移植学会 (2010. 10. 19)
- ③ 秋月宗剛、竹内裕紀、平野俊彦、松野直徒、木原優、今野理、城島嘉磨、赤司勲、濱耕一郎、中村有紀、岩本整、葦沢龍人、川口崇、虎石竜典、奥山清、長尾桓、畠崎 榮、腎移植患者における内因性コルチゾールのリンパ球感受性に基づく早期ステロイド減量・離脱の可能性、第 130 回日本薬学会 (2010. 3. 29)
- ④ 松野直徒、竹内裕紀、平野俊彦、浦島良典、川瀬友則、寺岡慧、腎移植におけるステロイド減量、離脱のための COR IC50 の有用性、第 45 回日本移植学会総会 (2009. 9. 17)
- ⑤ Hironori Takeuchi, Naoto Matsuno, Toshihiko Hirano, Abuduxuker Mijiti, Takeshi Nagao, Tatsunori Toraisi, Kiyoshi Okuyama, Takao Akashi, Sakae Unezaki, possibility of steroid withdrawal based on lymphocyte sensitivity of endogenous cortisol in renal transplant recipients, 68th International Congress of International Pharmaceutical Federation (2008. 8. 30)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹内 裕紀 (TAKEUCHI HIRONORI)
東京薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号：20439912

(2) 研究分担者

平野 俊彦 (HIRANO TOSHIHIKO)
東京薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：90173252

(3) 連携研究者

長尾 桓 (NAGAO TAKESHI)
東京医科大学・第五外科学講座・教授
研究者番号：90143487

松野 直徒 (MATSUNO NAOTO)
東戸塚記念病院・肝臓病センター長
研究者番号：00231598

畝崎 榮 (UNEZAKI SAKAE)
東京薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：00408684