

FK506 含有マイクロスフェアによる新たな
小腸移植免疫抑制療法の展開

(基盤研究(B)(2) 課題番号 12557103)

平成 12 年度～平成 13 年度科学研究費補助金 基盤研究(B)(2) 研究成果報告書

平成 14 年 3 月

研究代表者 江川裕人

(京都大学医学研究科)

はしがき

研究組織

- 研究代表者：江川裕人（京都大学医学研究科）
研究分担者：田中紘一（京都大学医学研究科）
研究分担者：猪股裕紀洋（熊本大学医学研究科）
研究分担者：上本伸二（三重大学医学研究科）
研究協力者：田畑泰彦（京都大学再生医科学研究所）

交付決定額

平成 12 年度	6,200 千円
平成 13 年度	6,700 千円
計	12,900 千円

研究発表

(1)学会誌等

- 1)Y.Fujimoto et al. Small bowel transplantation using grafts from living – related donors. Two case report ,Transplant International ,13 ,suppl 1 ,2000
- 2)Y.Fujimoto et al. Living-Related Small Bowel Transplantation: Two Case Reports, Transplantation Proceedings, 32 ,2000
- 3)Satohiro Masuda et al. Effect of intestinal P-glycoprotein on daily tacrolimus trough level in a living-donor small bowel recipient , CLINICAL PHARMACOLOGY&THERAPEUTICS ,68 ,1 2000
- 4)T.Koshiba et al. Tolerance Induction With FTY720 and Donor-Specific Blood Transfusion: Discrepancy Between Heart Transplantation and Intestinal Transplantation ,Transplantation Proceedings,32 ,2000
- 5)Hideyuki Motohashi et al. Expression of Peptide Transporter Following Intestinal Transplantation in the Rat ,Journal of Surgical Research,99 ,2001
- 6) Tohru Hashida et al. Pharmacokinetic and prognostic significance of intestinal MDRI expression in recipients of living-donor liver transplantation, CLINICAL PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS,69 ,5 2001

- 7) 田中紘一, 小児肝臓ならびに小腸移植, 日本医師会雑誌, 124 (5) ,2000
- 8) 阪本靖介 他, 小腸移植, 総合臨床, 50 (1), 2001
- 9) 上本伸二, 小児小腸移植とその予後, 小児外科, 33, 2001
- 10) 上本伸二, 腸管移植, 臨床消化器内科, 16(13), 2001
- 11) 阪本靖介 他, 小腸移植, 小児外科, 33(9), 2001

口頭発表

- 1) Uemoto.S et al. Living related small bowel transplantation for children,
XVII CONGRESS OF ASIAN ASSOCIATION OF PEDIATRIC SURGEONS ,
2000,11/6-11/9
- 2) Akiko Yokoi et al. Living related small bowel transplantation; A report of 3 cases ,VII
International small bowel transplant symposium ,2001, 9/12-15
- 3) 田中紘一, 肝臓移植および小腸移植, 第 97 回日本内科学会講演会, 2000, 4/7
- 4) 田中紘一, 小腸移植の現状, 第 86 回日本消化器病学会総会, 2000, 4/22
- 5) 貝原 聡 他, 小腸移植における高解像度ズーム内視鏡を用いた拒絶反応のモニタリング, 第 36 回日本移植学会, 2000, 10/13
- 6) 江下恒統 他, プタ全小腸同所性移植モデルにおけるタクロリムス含有マイクロスフェアの効果, 第 36 回日本移植学会, 2000, 10/13
- 7) 横井暁子(代 岩崎稔) 他, 肝移植後 Epstein-Barr Virus (EBV) 関連疾患に対する戦略, 第 19 回日本肝移植研究会, 2001, 5/16
- 8) 上本伸二, 小腸移植の現状と 21 世紀の展望 , 第 63 回日本臨床外科学会総会, 2001, 10/11
- 9) 横井暁子 他, 短調症候群に対して行った生体小腸移植 3 例の検討, 日本小児外科学会, 2001, 6/7

結果報告

本研究の背景

在宅静脈栄養研究会の登録報告などから、本邦における小腸移植の絶対適応患者数は 100 人を超えると考えられ、その社会的要請が強い。臨床小腸移植は現在まで米国を中心に 443 名の患者に 471 回施行され(International Transplant Registry, 1999.10)、そのグラフト生存率は 2 年で 50%前後となお満足のいくものではない。その原因としては、小腸移植は他の臓器移植に比べ拒絶の程度が強く、そのコントロールのためにより強力な免疫抑制が必要なこと、その過程で免疫抑制過剰状態さらには重症感染症を起こすことが多いこと、また拒絶は粘膜破綻をきたし bacterial translocation、さらに敗血症を惹起すること等が考えられている。よって、副作用の少ない、効率的な免疫抑制剤の開発は早急に必要とされている。

近年 drug-delivery system (DDS)の分野の発展はめざましく、なかでも高分子化合物 poly D, L-lactic acid (PDLLA) マイクロスフェア はこれまでに様々な薬剤を有効に作用部位に集積させ、かつ副作用を軽減させることに成功している。この PDLLA マイクロスフェアに小腸移植後の免疫抑制の主剤である FK506 を含ませることにより、更に効率的な薬剤投与を可能にし、ひいては小腸移植の成績向上に寄与できると考えられる。具体的には、PDLLA マイクロスフェアはそのサイズと分子量を変えることにより集積する部位と徐放性を調節することが可能である。我々はラットの実験において小腸パイエル板に特異的に取り込まれるサイズは 7-10 μ m であることを確認し、その徐放性についても分子量に関して 9600MW で投与後 4-12 時間血中濃度がプラトーに達すること、FK506 単剤に比べ最高血中濃度は低く、かつ、長時間安定したトラフ値を得ることができることを確認した。

以上の性質により、局所での高い濃度を得る一方、最高値およびトラフ値(底値)ともに低値に抑えることができ、ひいては神経系の副作用や感染症などの合併症を軽減することが可能となる。また、PDLLA は生体吸収材料としてすでに臨床に用いられており、FK506 も当施設において肝移植後の免疫抑制の主剤として投与法を確立している。しかも PDLLA マイクロスフェアはすでに経口投与する剤型として開発されており、大動物実験で効果が確認されれば、そのまま現在臨床小腸移植後に用いられている FK506 経口投与の代替として用いることができる。

そこで、本研究では、FK506 を含有させた PDLLA マイクロスフェアの効果
を、ヒトへの臨床応用を視野に入れて大動物実験モデル（ブタ全小腸同所性移
植モデル）を用いて FK506 単剤と比較検討した。

研究計画：

同所性小腸移植モデルの確立

場所：手術および術前術後の動物管理とも京都大学医学部動物実験研究施設
動物モデル:allogeneity を MLR で確認した組み合わせで、有色ブタ(Camborough
種：13-17 kg) をドナーに白色ブタ (Hypor 種：20-25 kg) をレシピエントに用
いた。一定の頻度と強さの拒絶反応が生じるドナーとレシピエントの組み合わ
せを得るため、リンパ球混合反応試験を用い allogeneity 確認試験を確立した。
移植手術：全身麻酔下に全小腸を同所性に移植した。グラフト上腸間膜動脈は
ドナー大動脈壁をカフとしてレシピエント腎下部大動脈に端側吻合を行い、グ
ラフト門脈は腎下部下大静脈に端側吻合を行った。グラフト腸管口側端をスト
ーマとして術後の内視鏡検査に備えた。薬剤投与経路として、胃瘻を造設した。
ブタにおける免疫抑制療法の確立：手術時に作製した胃瘻から FK506 を投与す
る方法とブタにおける血中濃度測定法を確立した。

ブタにおける術後内視鏡による拒絶反応の診断法の確立：肉眼的および、腸上
皮アポトーシスに着目した組織学的な診断法を確立した。

ブタにおける PDLLA マイクロスフェアの動態の検討：ラットの実験に引き続
き、基礎実験として、先のサイズ・分子量の PDLLA マイクロスフェアを用い
てブタでの動態を調べた。まず正常ブタに投与したところ、やはり小腸ムチン
層およびパイエル板に特異的に取り込まれていることが確認できた。また、血
中濃度も 3-24 時間がほぼ一定値であることも確認した。しかも PDLLA マイク
ロスフェアに含有されているのと同量の FK506 単剤を投与した場合よりも高い
血中濃度を示した。

比較試験

FK506 単剤投与群（対照群）

A. 0.5 mg/kg/day 投与群

B. 0.2 mg/kg/day 投与群

FK506 含有 PDLLA マイクロスフェア投与群

- C. 1.0 mg/kg/day 投与群
- D. 0.5 mg/kg/day 投与群
- E. 0.1 mg/kg/day 投与群
- F. 0.04 mg/kg/day 投与群
- G. 0.02 mg/kg/day 投与群

検討項目：生存日数、体重変化、週 2 回の内視鏡検査（グラフト粘膜の観察および生検による拒絶の検索）、週 2 回の血液検査（末梢血一般検査、生化学、CRP）、FK506 の血中濃度・組織内濃度測定、剖検による死因および合併症の検討
24 時間以内の死亡個体は technical error として検討しなかった。

結果：対照群のタクロリムス単独 0.5 mg/kg/day 投与群（5 頭）では、平均生存日数は 9.7 ± 2.5 日で全例に拒絶を、感染症は 2 例（40%）認めた。タクロリムス平均血中トラフ濃度は 27.9 ± 6.0 ng/ml であった。タクロリムス単独 0.2 mg/kg/day 投与群（6 頭）では、平均生存日数は 11.0 ± 1.4 日で全例に拒絶を認めたが、感染症は 1 例も認めなかった。タクロリムス平均血中トラフ濃度 10.5 ± 2.2 ng/ml であった。

タクロリムス含有マイクロスフェア 1 mg/kg/day (n=1), 0.5 mg/kg/day (n=1), 0.1 mg/kg/day (n=1) 投与群で検討したが、生存期間はそれぞれ 12 日、7 日、5 日でいずれも敗血症で死亡した。それぞれのタクロリムス平均血中トラフ濃度は、60.6 ng/ml、40.3 ng/ml、24.6 ng/ml であった。タクロリムス含有マイクロスフェア 0.04 mg/kg/day 投与群（5 頭）では、平均生存日数は 28.6 ± 22.5 日で、2 例の 30 日以上長期生存例を得た。拒絶は 1 例も認めず、感染症も 1 例も認めなかった。タクロリムス平均血中トラフ濃度は 10.5 ± 3.5 ng/ml であった。タクロリムス含有マイクロスフェア 0.02 mg/kg/day 投与群（2 頭）の生存日数は 9.5 日で、拒絶は 1 例に認め、感染症は認めなかった。タクロリムス平均血中トラフ濃度は 9.5 ng/ml であった。

平均生存日数は、タクロリムス含有マイクロスフェア 0.04 mg/kg/day 投与群が他の群より、有意に長かった ($p < 0.05$)。

タクロリムス含有マイクロスフェアは 0.04mg/kg/day 投与群が最も成績が良く、タクロリムス単独投与群と比較して、平均血中トラフ濃度が低胃状態で、拒絶も感染も抑制できることが判り、その有用性が示唆された。

実用化への見通し

PDLLA は生体吸収材料として既に臨床に用いられており、FK506 も現在多臓器移植後のゴールドスタンダードな薬剤である。よって大動物でその効果が確認できれば、すぐにでも臨床応用できるほど実用化の可能性は高い。また、京都大学医学部移植外科では申請時の時点で 2 例の生体小腸移植を施行しており、2 例目は拒絶反応もコントロールでき順調に経過している。約 500 例の生体部分肝移植での経験、海外関連施設、院内他科との協力関係により免疫抑制療法、拒絶の診断、感染症管理等においては十分世界基準に達しており、臨床応用のための体制は整っている。

小腸移植の対象となる腸管不全者はアメリカで年間 200-400 人、日本でも 100-200 人発生しており、先進国全体では 500-1000 人に達するといわれている。これまで小腸不全治療の中心であった中心静脈栄養法の限界（血管閉塞、肝障害、高額治療費、QOL の低下）が明らかになってきており、今後移植対象患者は増加するものと考えられる。しかし、小腸移植後のグラフト生着率は 50%程と他の臓器移植に比べてかなり低く、その死因は拒絶反応および感染症によるとされている。本剤が実用化されればこういった拒絶反応を抑え、なおかつ合併症や副作用をも抑えることができ、生存率の改善に多大なる貢献ができると考えられる。