

これだけは知っておきたい 免疫抑制剤の基礎知識



湯木正史(湯木どうぶつ病院)
Masashi Yuki

はじめに

現在、獣医学領域で使用されている免疫抑制剤は様々あるが(表1, 図1), 今回はその中から, 副腎皮質ホルモン製剤, アザチオプリン, シクロスポリンの3つに絞って免疫抑制剤の基礎的な知識を整理していきたい。

副腎皮質ホルモン製剤(プレドニゾロン)

副腎皮質ホルモン製剤(プレドニゾロン, Prednisolone)は, 最も標準的なステロイド剤である。主な作用機序は, ①細胞膜を拡散により通過し, 細胞質内のステロイドレセプターに結合して複合体を形成し, ②核内に移行した後に染色体上のグルココルチコイド反応部位に結合し, その結果, ③遺伝子転写速度が変化し, 複製されるmRNAや合成される蛋白質の量が変わることで作用が発揮される。それによって, 白血球の炎症部位への遊走の防止, リンパ球減少作用, 線維芽細胞および血管内皮細胞の反応性低下, プロスタグランジン関連物質や炎症性サイトカイン(IL-1, TNF- α , GM-CSF, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12)などの炎症惹起性液性因子の産生抑制効果を示す。

副作用としては, 視床下部-下垂体軸を抑制して副腎の萎縮を起こし, 蛋白尿および糸球体の変化を起こすこと, 異化作用による体重減少および皮膚の萎縮, 長期投与により医原性の副腎皮質機能亢進症(肝酵素値の上昇など), 消化器障害, 高血糖症, 創傷治癒の遅延や感染からの回復遅延が報告されている¹⁾。

薬剤耐性については, 最近になって, P-糖蛋白質が腫瘍細胞だけでなく, リンパ球にも発現することが知られてきている。P-糖蛋白質は細胞膜上に存在し, 細胞毒性を有する化合物などを細胞外へ排出するもので, ヒトではリンパ球, 腸管上皮細胞, 胆管細胞, 近位尿管, 副腎, 脳上皮脈絡叢などに発現しているが, 健康犬における腎臓, 精巣, 肝臓, 脳, 末梢血中の白血球にも発現量が多く認められている²⁾。

ヒトの症例においては, ステロイド不反応性の活動期全身性エリテマトーデス(SLE)症例において, リンパ球上のP-糖蛋白質が著しく高発現を呈し, それに伴いリンパ球内ステロイド濃度が著しく低下していたことが報告されている³⁾。犬においても,

表1 獣医学領域で使用されている免疫抑制剤

副腎皮質ホルモン製剤	レフルノミド
アザチオプリン	ミコフェノール酸モフェチル
シクロスポリン	メトトレキサート
シクロフォスファミド	タクロリムス
クロラムブシル	ヒト免疫グロブリン製剤

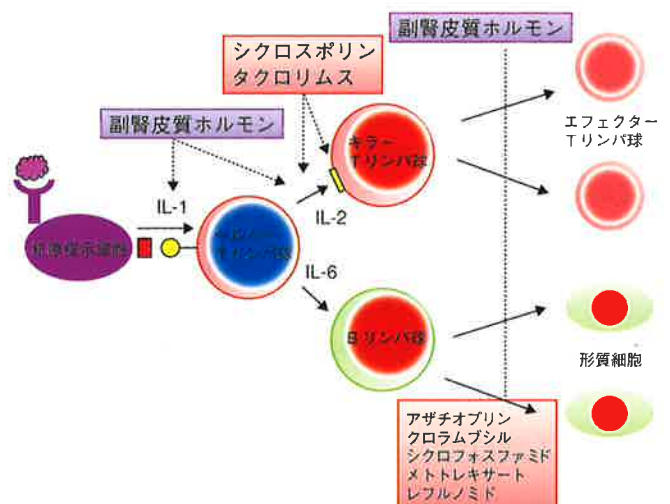


図1 免疫抑制剤の働き

Allenspachらの研究⁴⁾において, 炎症性腸疾患(IBD)と診断した犬をプレドニゾロンで治療した群(n=15)と食事療法を行った群(n=16)に分け, 治療後の腸管粘膜のリンパ球上のP-糖蛋白質の発現を免疫染色にて調査したデータが報告されている。結果は, プレドニゾロン治療群ではP-糖蛋白質の発現が有意に上昇していた(P=0.005)が, 食事療法群では上昇が認められなかった(P=0.59)⁴⁾。このことは, リンパ球にも多くの薬剤耐性機構が存在することを示している。そのため, プレドニゾロンを免疫介在性疾患で使用するときは抗がん剤と同様, 免疫抑制量の投与量で開始することが肝要で, 例外を除き, 1日に犬では1~4 mg/kg, 猫では2~4 mg/kgが投与量となる。

アザチオプリン

次にアザチオプリン(Azathioprine)であるが、商品名はイムラン®で錠剤のみとなる。薬用量は犬では1日に1~2 mg/kg、猫では0.3または1.1mg/kgを1日おきという基準はあるが、基本的に猫での使用は推奨されていない。主な作用としては、①細胞周期では主にS期に作用、②抗原刺激を受けて速いサイクルで分裂増殖する芽球化リンパ球に強く作用しサイトカインの分泌を抑制、③アザチオプリンの代謝産物がT細胞の表面レセプターと結合し、T細胞の機能を選択的に抑制することが挙げられる。

副作用としては、骨髄抑制、消化器障害、肝毒性、急性腎炎が挙げられ、中でも骨髄抑制が比較的起こりやすい。かつては肝毒性が現れることはまれとされていたが、Favrotらの研究によるとアザチオプリン単独投与を受けた犬の30%に肝酵素値の上昇が認められている⁵。免疫抑制剤はどれもT細胞系を抑えることから、必ず腫瘍の発生の可能性が話題になるが、アザチオプリンはヒトにおいても悪性腫瘍を引き起こす可能性は低いと考えられており、獣医学領域での報告は今のところない。

猫では推奨されていないと上述したが、猫では6-MPの代謝酵素の1つであるチオプリンメチルトランスフェラーゼ(TPMT)の代謝活性が低く、蓄積して毒性を起こしやすいからである。犬では、ジャイアント・シュナウザーのTPMTは他犬種と比較して有意に低く、アラスカン・マラミュートではTPMT代謝活性が高いことが報告されている⁶。また、犬において骨髄抑制が認められた個体のTPMT代謝活性を調べた研究において、活性が正常な場合と高い場合の両方が報告されている⁷。

適応症例に関しては、古くから使われていることもあり、免疫介在性溶血性貧血(IMHA)や免疫介在性血小板減少症(IMT)、重症筋無力症、肛門周囲瘻、炎症性腸疾患、免疫介在性関節炎、エリテマトーデス、天疱瘡など様々な領域に応用されている。

シクロスポリン

シクロスポリン(Cyclosporine)は真菌から分離された環状ポリペプチド抗生物質の1つで、ヒト用の製剤ではサンディミュン®, ネオール®, など、動物薬ではアトピカ®, シクロキャップ®(図2)が発売されている。注射薬もあるが、一般的にはカプセルが使われている。薬用量は5~10mg/kg/SID~BIDで、価格は10kgの場合で450~900円と高価な部類に入る。主な作用は、カルシニューリン阻害薬として、①インターロイキン-2(IL-2)およびインターフェロン-γ(IFN-γ)を抑制し、②サイトカイン受容体の産生を選択的に抑制する。また、免疫調節作用(T細胞以外に対する作用)としては、①肥満細胞や肥満細胞ヒスタミン放出抑制作用、IL-3, IL-4, IL-5, IL-8, 腫瘍壊死因子(TNF)の阻害作用、②好酸球やアレルギー性の炎症の誘導の阻止、③皮膚へのIgEや肥満細胞依存性の細胞浸潤を阻害することが挙げられる。

副作用としては、消化器症状(食欲不振, 悪心, 嘔吐, 下痢), 歯肉肥厚, 乳頭腫症, 神経症状, 肝機能障害, 多毛が挙げられる



図2 シクロキャップ®

が、消化器症状(特に嘔吐)が15~25%と圧倒的に多い。

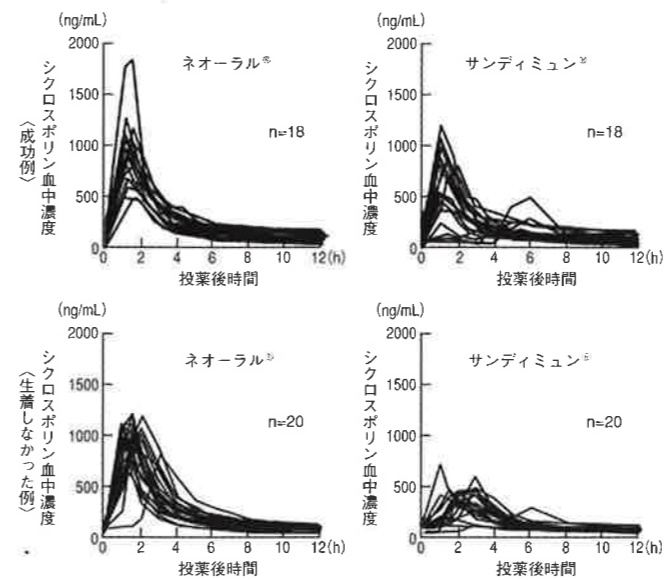
Petersonらの2012年の報告⁸では、皮膚疾患に対してグルココルチコイドの併用があってもなくても、シクロスポリンの5カ月以上の投与は、コントロール群と比較して尿路感染症のリスクを増大させる結果となっている。また、実際に臨床症状がなくても、30%が尿路細菌培養で陽性を示したという結果が報告されている。この論文では、長期連用する場合には、尿検査に加えて尿細菌培養も実施すべきであるという結論を出している。

シクロスポリンの犬における適応症例は、犬アトピー性皮膚炎、ステロイド抵抗性炎症性腸疾患、重度の免疫介在性溶血性貧血、免疫介在性血小板減少症、再生不良性貧血、肛門周囲瘻・肛門フルンケルン症となる。また、肉芽腫性脂腺炎、落葉状天疱瘡、無菌性結節性脂肪織炎、皮膚エリテマトーデス、肉芽腫性髄膜炎、重症筋無力症が少数であるが適応症例として報告されている。猫では、アトピー性皮膚炎、喘息、炎症性腸疾患、好酸球性肉芽腫症候群、後天性脱毛、紅斑性天疱瘡が挙げられる。

シクロスポリンの投与方法

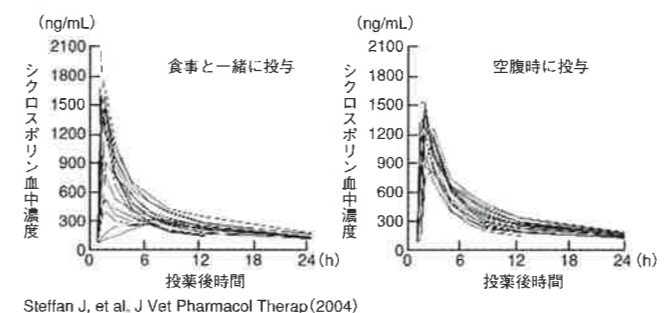
シクロスポリン製剤として最初にサンディミュン®が開発されたが、吸収されにくいという性質がある。そこで、サンディミュン®を改良し、吸収性をよくしたものがネオール®である。動物薬として発売されている、アトピカ®やシクロキャップ®も製剤化に工夫がなされ、吸収のパラッキが少なく、安定した血中濃度が得られるように設計されている。図3は、ヒトの臓器移植において、上が移植が成功した例で、下が生着しなかった例である。成功した例ではネオール®が含有するシクロスポリンは2時間で血中濃度がピークに達し、12時間後には下がっている。一方、サンディミュン®のシクロスポリン血中濃度は非常に不安定である。下は臓器移植で生着しなかった例だが、ネオール®では生着しなかった例においてもある程度血中濃度は上がっているが、サンディミュン®はほとんど血中濃度が上がっていない。

表2は2009年に調査された動物医療におけるシクロスポリン製剤の販売金額データだが、驚くべき結果が出ている。動物病院では、ネオール®よりサンディミュン®の方が多く使用されている実情が示されている。海外から輸入されるシクロスポリンにはかなり安価なものもあるが、シクロスポリンの吸収性が改良されて



Nishi Y. Folia Pharmacol Jpn(2001)

図3 ヒトの臓器移植でのシクロスポリン血中濃度



Steffan J, et al. J Vet Pharmacol Therap(2004)

図4 「空腹時」および「食事に一緒に与えたとき」におけるシクロスポリン血中濃度

いるのかは分からないため留意が必要である。

続いて、シクロスポリンを投与するタイミングであるが、添付文書には食事後2時間後の投与となっている。要は空腹時ということであり、食前でも問題はない。図4は、薬剤投与後のシクロスポリンの血中濃度のグラフであるが、2時間後にピークとなりその後下がっていくことが顕著に表れている。左のグラフが食事と一緒に与えた結果で、血中濃度にながりのばらつきがあることが示されている。右が空腹時に与えた結果である。

投与量については、添付文書にある通り、犬のアトピー性皮膚炎においては、5 mg/kg/SIDを4週間連続投与である。アトピカ®という名が示す通り、アトピー性皮膚炎に関してのシクロスポリンの投与は広く研究されているが、犬のアトピー性皮膚炎では安全域が広いと、血中のシクロスポリンのルーチンな測定は必要ないという研究結果が報告されている⁹。

その他の代表的な免疫介在性疾患の投与量およびトラフレベルは表3の通りである。

犬のアトピー性皮膚炎においては安全域が広いと血中シクロスポリンのルーチンな測定は必要ないと上述したが、他の免疫介

表2 動物医療におけるシクロスポリン製剤の販売金額

	2009年度
ネオール	¥24,300,000
サンディミュン	¥27,800,000
アマドラ	¥1,800,000
シクロポール	¥22,600,000
シクロスポリン「FC」	¥28,900,000
シクロスポリン「マイラン」	¥13,800,000
ネオメルク	¥17,700,000

表3 代表的な免疫介在性疾患の投与量およびトラフレベル

・犬の肛門周囲瘻 …5~7.5mg/kg, BID, po, トラフレベル100~600ng/mL
・犬の再生不良性貧血 …5~10mg/kg, BID, po, トラフレベル200~600ng/mL
・猫喘息 …10mg/kg, BID, po, トラフレベル500~1,000ng/mL
・炎症性腸疾患(猫) …1~4 mg/kg, SID~BID, po, トラフレベル500ng/mL

在性疾患でもトラフレベルを測定する必要はないであろうか。他の免疫介在性では同様の研究はされておらず、測る意味がないとは言われていないので、そこを勘違いしてはならない。

Archerらの2011年の研究論文に、非常に興味深いデータがある¹⁰。健康な犬7頭に高用量(10mg/kg/BID, トラフレベル>600ng/mL)と、低用量(5 mg/kg/SID)のシクロスポリンを経口投与し、8日後にIL-2, IL-4, IFN-γの測定を行った結果、高用量ではIL-2およびIFN-γが有意に抑制されたが、低用量ではIFN-γのみが抑制され、高用量と低用量では効き目が異なることを示した結果となっている。このことから分かることは、効果が不十分な症例や副作用が発現した症例では、シクロスポリンの血中濃度を測定することが望ましいということである。

シクロスポリンの血中濃度は投与して2時間でピークに達し12時間で下がり、再び投与すれば2時間でピークになり、12時間で下がるということを繰り返している。トラフレベルとは薬物の反復投与において次回投与の直前の最低血中濃度を指す。シクロスポリン、タクロリムスといった薬剤はトラフレベルで測定することになっており、その途中の測定では何の指標にもならない。基本的にはトラフレベルは、その薬剤の効果を調べるものであり、副作用の有無についてはピークレベルで測定する。

ここで注意したいのが、1日1回の投与であってもトラフレベルは薬物投与の直前だということである。1日1回の投与はアトピー性皮膚炎に対する投与量であるが、Allenspachらによる炎症性腸疾患の研究論文では、5 mg/kg/SIDという投与量が試みられている。免疫介在性疾患では推奨される投与量として5~10mg/kg/BIDが基本的に多い。5 mg/kg/SIDでは薬剤投与24時間後のトラフレベルは大きく落ちるのではないかと予想される。実際

に1日1回で投与したAllenspachらは、トラフレベルが34ng/mLだったという研究報告を出している¹¹。ここで重要なことは、1日1回投与してトラフレベルを測った場合、ほとんどにおいて100ng/mLを切るため、100～500ng/mLに到達していないという理由で投与量を上げるという勘違いをしてはならないということである。100～500ng/mLのトラフレベルは1日2回投与での基準であり、1日1回の場合の目安となるトラフレベルについてはまだ研究されていない。

シクロスポリンの薬物相互作用

薬物相互作用については、代謝酵素チトクロームP450 3A (CYP3A)系で代謝されるので、本酵素の活性に影響する薬剤には注意が必要である。

シクロスポリンの血中濃度を上昇させる薬剤としては、添付文書に記されている通り、副腎皮質ホルモン製剤(高用量メチルプレドニゾロン)、カルシウム拮抗剤(アムロジピン、ベラパミルなど)、マクロライド系抗生物質(エリスロマイシンなど)、アゾール系抗真菌剤(ミコナゾール、ケトコナゾール、イトラコナゾールなど)、クロラムフェニコール、ニューキノロン系合成抗菌剤(エンロフロキサシン、オフロキサシンなど)、炭酸脱水素酵素阻害剤(アセタゾラミドなど)が挙げられる。副腎皮質ホルモン製剤については高用量で長期間シクロスポリンと併用することはないので、あまりここは気にしないでよいだろう。むしろ抗生剤の方が長期併用することがあり注意が必要である。

逆に、シクロスポリンの血中濃度を低下するものとしては、ST合剤(トリメトプリム・サルファ剤)、抗真菌剤(テルビナフィンなど)、高脂血症治療薬(プロブコールなど)、消化性潰瘍用剤(オメプラゾールなど)、抗生剤(リファンピン)、抗てんかん薬(フェノバルビタール、ジアゼパムなど)が挙げられるので注意したい。

シクロスポリンの腎毒性の増強についてはあまりみることはないが、成書には、アミノグリコシド系抗菌剤(ゲンタマイシン、カナマイシンなど)、ST合剤、アムホテリシンB(ポリエン系抗生剤など)、ニューキノロン系合成抗菌剤、NSAIDs(カルプロフェン、メロキシカムなど)の併用において増強されるとあるため注意しなければならない。

シクロスポリンとケトコナゾールとの併用について

シクロスポリンは高価なことから、獣医学領域でも投与量を下げる目的で、ケトコナゾール(ketoconazole)との併用に関する論文が出されている。ケトコナゾールはチトクロームP450を抑えるため、それを利用して血中濃度を上げる意図からである。

Dahlingerらの論文では、シクロスポリンにケトコナゾールを1日に4～7mg/kg併用(マラセチア性皮膚炎での投与量であろう)させることで38%、また1日に10～20mg/kg併用(副腎皮質機能亢進症での投与量であろう)させることで58～92%削減できたと報告されている¹²。

筆者の経験でも、非再生性免疫介在性貧血でシクロスポリンを1日に10mg/kg(費用=2万円/1カ月間)使用していた症例で、

シクロスポリンの投与量を徐々に下げ、ケトコナゾールの投与量を少しずつ上げた事例がある。シクロスポリンは4分の1量の2.5mg/kg/日まで減量、ケトコナゾールを17mg/kg/日まで増量した結果、完全寛解には至っていないが、PCVは非常に安定し、シクロスポリンのトラフレベルも472ng/mLという十分なレベルが得られた。シクロスポリンの費用は約5,000円/月になり、ケトコナゾール代が1,200円/月なので、約4分の1程度に抑えられたことになる。

シクロスポリン～今後に期待される作用～

シクロスポリンに対して、将来的に期待される作用としては、多剤耐性克服作用が挙げられる。免疫介在性疾患に対してステロイドを使用しているうちに、リンパ球や腸管粘膜にP-糖蛋白質が発現されて効かなくなってしまうことが予想されるが、シクロスポリンはこのP-糖蛋白質を克服する多剤耐性克服薬作用を持つ。免疫介在性疾患であればT cell系を抑えられ、なおかつ、P-糖蛋白質を克服してくれれば一石二鳥であり、非常に期待される。

ヒトでは古くから耐性をもった癌にシクロスポリンを併用することで、P-糖蛋白質にふたをさせ、抗癌剤が再び効くようにならないかという研究がされている。ただ、シクロスポリンは免疫抑制剤でありT cell系を抑えるため、腫瘍の発生の可能性があるという側面をもつ。最近では、シクロスポリンの免疫抑制作用を取り除いて多剤耐性克服作用だけを残したものが研究されているが、未だに世には出ていない。

参考文献

- 1) Plumb DC. Plumb's Veterinary Drug Handbook. Wiley-Blackwell, 2005.
- 2) Conrad S, et al. Sequencing and tissue distribution of the canine MRP2 gene compared with MRP1 and MDR1. *Toxicology*. 2001 Jan 2;156(2-3):81-91.
- 3) Tsujimura S, et al. Clinical relevance of the expression of P-glycoprotein on peripheral blood lymphocytes to steroid resistance in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2005 Jun;52(6):1676-83.
- 4) Allenspach K, et al. P-glycoprotein expression in lamina propria lymphocytes of duodenal biopsy samples in dogs with chronic idiopathic enteropathies. *J Comp Pathol*. 2006 Jan;134(1):1-7.
- 5) Favrot C, et al. Treatment of canine atopic dermatitis with azathioprine: a pilot study. *Vet Rec*. 2007 Apr 14;160(15):520-1.
- 6) Kidd LB, et al. Thiopurine methyltransferase activity in red blood cells of dogs. *J Vet Intern Med*. 2004 Mar-Apr;18(2):214-8.
- 7) Rodriguez DB, et al. Relationship between red blood cell thiopurine methyltransferase activity and myelotoxicity in dogs receiving azathioprine. *J Vet Intern Med*. 2004 May-Jun;18(3):339-45.
- 8) Peterson AL, et al. Frequency of urinary tract infection in dogs with inflammatory skin disorders treated with ciclosporin alone or in combination with glucocorticoid therapy: a retrospective study. *Vet Dermatol*. 2012 Jun;23(3):201-e43.
- 9) Steffan J, et al. Cyclosporin A pharmacokinetics and efficacy in the treatment of atopic dermatitis in dogs. *J Vet Pharmacol Ther*. 2004 Aug;27(4):231-8.
- 10) Archer TM, et al. Pharmacodynamic monitoring of canine T-cell cytokine responses to oral cyclosporine. *J Vet Intern Med*. 2011 Nov-Dec;25(6):1391-7.
- 11) Allenspach K, et al. Pharmacokinetics and clinical efficacy of cyclosporine treatment of dogs with steroid-refractory inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med*. 2006 Mar-Apr;20(2):239-44.
- 12) Dahlinger J, et al. Effect of ketoconazole on cyclosporine dose in healthy dogs. *Vet Surg*. 1998 Jan-Feb;27(1):64-8.