

リコモジュリン®開発研究物語

旭化成ファーマ(株) 医薬営業本部 ARTプロジェクト 学術グループ 図師通孝

■はじめに

リコモジュリン®は、ヒトの血管内皮細胞膜上に存在し、血液凝固系をコントロールしている蛋白であるトロンボモジュリン (TM) (図) の細胞膜外部分を遺伝子組換え技術を用いて生産したものである。血液の凝固線溶系の研究は、1980年代初めまでにその概要が解明され、その後は調節系についての研究が進展していった。さらに、遺伝子工学の進歩により、血液凝固線溶系のさまざまな因子の遺伝子構造についても次々と明らかにされていった。現在、血液凝固の調節系として最も重要と考えられているプロテイン C (PC) -TM 系についても、1982年の米国のエスモン博士によるウサギ TM の発見を契機に大きく研究が進捗した。同時にその優れた調節作用に着目し医薬品とするための遺伝子クローニング競争が激化し、ヒト PC については1985年に遺伝子クローニングがなされ、この領域の残された大きなターゲットとしてヒト TM の遺伝子クローニングに世界的に注目が集まっていた。

その頃、旭化成工業（現旭化成ファーマ）でも、遺伝子組換え技術による医薬品のターゲットとしてヒト TM に注目しており、当時ヒト肺由来 TM の純化精製の研究をされていた三重大大学の鈴木宏治博士（現三重大学理事）と米国でヒト胎盤由来 TM の純化精製の研究をされ帰国された鹿児島大学の丸山征郎博士（現鹿児島大学教授）との三者によるヒト TM の遺伝子クローニングを目指した共同研究が開始された。

■ヒト TM の遺伝子クローニング

TM は血管内皮細胞膜上に存在する蛋白質であるため、当初は、精製ヒト TM 蛋白の N 末端のアミノ酸配列の情報から作製した DNA プローブを用いてヒト臍帯静脈血管内皮細胞 cDNA ライブラリーをスクリーニングするという通常の方法を試みた。

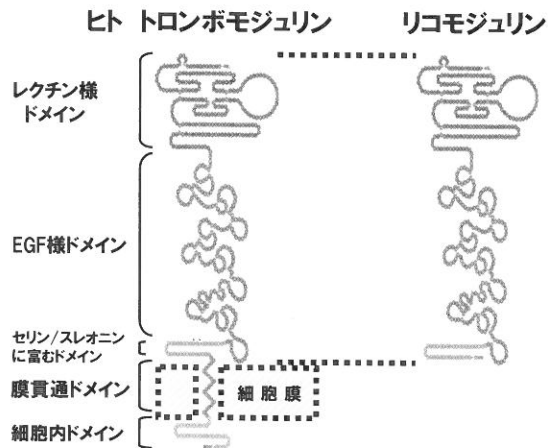


図 ヒトトロンボモジュリンおよびリコモジュリン®

しかし、当時の技術的水準では困難を極め、さまざまな方法を試みた結果、最終的にはヒト肺 cDNA ライブラリーから抗体を用いた発現クローニングにより部分断片を得、その配列の情報に基づいて、徐々に上流の cDNA 断片をスクリーニングしていくという手法で、まさに這うようにして1987年ヒト TMcDNA 全長のクローニングに成功し特許出願と論文投稿を行った。その後、ゲノムヒト TM 遺伝子のクローニングにも成功した。結果的にヒト TM の遺伝子クローニング競争は、三重大学・鹿児島大学・旭化成の日本グループと、米国の大学の2グループの計3グループの争いとなり、論文投稿で日本グループが約1カ月先んじたという僅差の勝利であった。

クローニングに引き続き、TM のドメイン構造と機能の解明を進め、抗凝固作用の活性部位 (EGF ドメインの後半部) を同定し、さらに、水に不溶性の膜蛋白である TM の細胞膜外部分のみを発現させることにより、可溶性の蛋白として安定的に生産できることを見出した。このようにして誕生したのがヒト TM の細胞膜外の部分すべてを遺伝子組換

え技術で生産したリコモジュリン®（開発コード名：ART-123）（図）であり、ヒト TM の臨床応用への道を開くものであった。

■医薬品としての開発

汎発性血管内血液凝固症（DIC）は、造血器悪性腫瘍、重症感染症、固形がんなどの重篤な基礎疾患に合併する疾患である。その発生機序は基礎疾患により異なるが、共通するのはトロンビンの過剰生成がおこることであり、その結果、全身の微小血管内に血栓を生じ、微小循環障害により臓器障害、あるいは、線溶系活性化および消費性凝固障害により出血症状をきたす重篤な病態である。リコモジュリン®は、凝固系の活性化により生じるトロンビンと結合することにより、トロンビンの基質特異性を変化させ、PCを活性化し活性化プロテインC（APC）とする。生成したAPCは凝固系の上流の因子であるFⅧa、FⅤaを分解することによりトロンビンの生成を効果的に阻害する。このユニークな作用メカニズム、および、基礎的な薬理実験、サルDICモデル実験等での効果の確認などにより、リコモジュリン®の優れた特徴を治療薬として活かす疾患としてはDICが最も適していると考えられた。

■臨床試験

本邦においてはDICの診断、治療について古くから研究がなされ、優れた診断基準が作成されるとともに、多くのDIC治療薬が開発されてきた。これらのDIC治療薬の臨床試験では、未分画ヘパリン（UFH）が対照薬として選択され、対象とするDICの基礎疾患は、白血病、固形がん、感染症、その他とさまざまな疾患がまとめて評価されており、各試験での基礎疾患の内訳もかなり異なっていた。また、臓器症状の発現により重症化することから早期治療の必要性が近年指摘されている感染症を基礎疾患とするDICに関しては、症例数の少ない臨床試験がほとんどであった。このように、DICはさまざまな基礎疾患に起因する複雑な病態を呈するとともに死亡率の高い重篤な疾患であるため、臨床試験においても明確な結果を得ることが非常に困難な領域であると考えられていた。

リコモジュリン®の臨床試験は、1992年に第Ⅰ相試験を開始し、2005年に第Ⅲ相試験を終了し2006年に承認申請を行った。第Ⅲ相試験では、対象となるDICの基礎疾患を急性の経過をたどる造血器悪性腫瘍と感染症に絞ることで効果を検証することを目指した。目標症例数としては220例としたが、2つ

の基礎疾患のうち少ないほうでも100例を集積することを目標とした。最終的に旧厚生省DIC診断基準に基づいてDICと診断された（DICの基礎疾患が造血器悪性腫瘍あるいは感染症）患者232例を対象とし、リコモジュリン®（380U/kgを1日1回30分静脈内持続投与）、あるいは、UFH（8U/kg/hr 24時間静脈内持続投与）のいずれかが6日間投与された。リコモジュリン®群とUFH群におけるDIC離脱率の差の点推定値（95%信頼区間）は、16.2%（3.3%-29.1%）であり、非劣性が検証された。また、出血症状の経過において優れており（ $p=0.0271$ ）、同時に出血症状の消失率も高いという結果であった。また、凝血的検査値（TAT、D-ダイマー、PAI-1）についても高い改善効果を示した。

■おわりに

リコモジュリン®は、DICの凝固亢進の主体であるトロンビンと結合することにより、トロンビンの性質を凝固促進から抗凝固へとベクトル変換することにより効果を発揮する世界で初めての遺伝子組換えヒトトロンボモジュリン製剤である。基礎研究の開始から20数年の月日が経過したが、研究開発に携わった医師、研究者、開発担当者の執念と努力により2008年1月にDICを適応症としての国内承認を得、同年5月より発売された。現在、全例使用成績調査を実施中であり、DIC治療の新たな選択肢として医療現場での使用が広まりつつある。DICに罹患される患者さんは、もともと重篤な基礎疾患を持った上にDICを併発し、まさに生命の危機に瀕している。リコモジュリン®により一人でも多くの患者さんがDICの危機を乗り越え、さらなる基礎疾患の治療機会を得て回復されることを願っている。

また、近年、凝固と炎症がクロストークしていることが解明されてきている。TMについても従来報告されている抗凝固作用に加え、APCを介した抗炎症作用、さらにN末端のレクチン様ドメイン（D1）を介してHigh Mobility Group Box-1 protein（HMGB1）に対する直接的な抗炎症作用を持つという報告もある。リコモジュリン®は、抗凝固作用と抗炎症作用の二つの機能ドメインを併わせ持つきわめてユニークな薬剤であり、とくに感染症を基礎疾患とするDIC領域においてその期待が高まっている。現在、海外において「敗血症にともなうDIC」を対象に後期第Ⅱ相試験が進められており、その成果が待たれるところである。