

原著

成人頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群に対する リツキシマブの寛解維持および再発予防効果の検討

瀬戸 建*, 井上 勉, 友利 浩司, 岡田 浩一

埼玉医科大学 腎臓内科

【背景】 頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群に対し、小児では寛解維持・再発抑制におけるリツキシマブ (RTX) の有効性が様々な臨床研究によって実証されている。一方、成人例での実績報告は少なく、また投与プロトコールについても確立された方法がない。そこで今回、成人の頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群に対する、統一投与プロトコールによる RTX の有用性と安全性を検討した。

【方法】 16歳以上の頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群に対し、RTX 375 mg/m² (最大 500 mg) 単回投与を6か月毎に行い、24か月で計5回投与するプロトコールを採用した。RTX 導入前、投与期間中ならびに終了後の臨床経過を観察し、比較検討した。

【結果】 症例は男性9例、女性8例の17例 (平均年齢 37 ± 15歳: 微小変化群 11例、巣状糸球体硬化症 2例、腎生検未施行 4例)。観察期間は中央値 43か月 (11–54か月) であった。RTX 投与期間中、ネフローゼ症候群が再発した症例は3例であった。副腎皮質ステロイド薬 (プレドニゾン) とシクロスポリンについては、両者とも RTX 導入前と RTX 投与期間中および後で投与量が有意に減量されていた。再発回数についても、RTX 導入前と比べて、投与期間中および後で有意に減少していた。また、全例で有意な有害事象は認められなかった。

【結語】 成人の頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群に対し、RTX 単回投与を6か月毎に、24か月間で計5回投与するプロトコールは、副腎皮質ステロイド薬・免疫抑制薬の減量や再発抑制において有用性が認められた。

J Saitama Medical University 2020; 47(1): 1-10

(Received September 27, 2019/Accepted February 25, 2020)

Keywords: frequent relapse nephrotic syndrome, steroid-dependent nephrotic syndrome, rituximab, prednisolone, cyclosporin A, relapse

緒言

ネフローゼ症候群は、糸球体上皮細胞を含む係蹄障害から蛋白透過性亢進が起り、高度蛋白尿とそれに伴う低蛋白血症が全身性浮腫を引き起こした状態である。他の慢性糸球体腎炎と異なり組織変化が軽微で、糸球体局所への免疫グロブリンや補体の沈着を認めないことや、ホジキンリンパ腫に続発すること、細胞性免疫の抑制薬で蛋白尿が減少することなどから、異常な T 細胞が産生する液性因子が原因の一部を占めると考えられている¹⁾。ネフローゼ症候群の患者から採取した T 細胞の培養上清の投与がラットに蛋白尿を誘発したとする報告がこの仮説を支持した²⁾。さらに、これまでに複数のグループが血中サイトカイン濃度

の変化について検討しており³⁾、ネフローゼ症候群の寛解期は正常者と差違が無く、ネフローゼ発症期には IL-4 や IL-13 の濃度上昇が認められるとする報告や⁴⁾、IL-13 過剰発現ラットでスリット膜関連抗原の発現低下、足突起の消失、さらには血清アルブミン低下を伴う大量蛋白尿を認めた報告もある⁵⁾。また B 細胞や抗原提示細胞上に発現する CD40 や CD80 という共刺激分子が糸球体上皮細胞にも発現しており、これらの発現上昇および活性化が蛋白尿の増加に関与することも知られていることから⁶⁾、T 細胞異常に限らない多様な発症機序も想定されている。

治療について、これまでは副腎皮質ステロイド薬を中心に、カルシニューリン阻害薬や代謝拮抗薬、アルキル化薬などの免疫抑制薬を併用してきた⁷⁾。ネフローゼ症候群の

* 著者連絡先: 埼玉医科大学 腎臓内科 〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38 Tel: 049-276-1611 Fax: 049-295-7338
〔令和元年9月27日受付/令和2年2月25日受理〕

○ 著者全員は本論文の研究内容について他者との利害関係は有しません。

中でも、難治性、頻回再発型やステロイド依存性ネフローゼ症候群では、必然的に副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制薬の投与量の増加や投与期間の長期化のため副作用が問題となる。特に副腎皮質ステロイド薬は、消化性潰瘍・骨粗鬆症・大腿骨頭壊死・糖尿病や重篤な感染症などで患者のQOLを低下させるだけでなく、生命予後を悪化させることが知られている^{8,9)}。免疫抑制薬の併用は寛解導入や副腎皮質ステロイド薬投与量の減量に有効であるが、それ自身の副作用として易感染性や性腺抑制、発がん性が問題である¹⁰⁾。

近年、分子標的薬の一つであるリツキシマブ (rituximab: RTX) の臨床導入により、ネフローゼ症候群の治療や予後の改善が期待されている。RTXは、ヒト免疫グロブリンの定常部領域 (IgG1 κ) とマウス抗 CD20 抗体の可変部領域からなるキメラ型の抗 CD20 モノクローナル抗体であり、B 細胞表面に発現する分化抗原である CD20 を標的とする分子標的治療薬である¹¹⁻¹³⁾。CD20 抗原に結合し、補体依存性細胞障害作用および抗体依存性細胞介在性細胞障害作用により CD20 陽性細胞を障害する。RTX は、まず CD20 陽性の B 細胞性非ホジキンリンパ腫および多発血管炎性肉芽腫症、顕微鏡的多発血管炎に対する治療薬としてわが国で承認された。ネフローゼ症候群への応用の契機は、難治性ネフローゼ症候群の小児患者が特発性血小板減少症 (ITP) を合併した際、ITP の治療目的で使用した RTX でネフローゼ症候群が寛解したとする報告である¹⁴⁾。その後、小児の頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群を対象にした二重盲検プラセボ対照ランダム化比較試験が実施され¹⁵⁾、RTX によるネフローゼ症候群の無再発期間の延長効果、寛解維持に必要な副腎皮質ステロイド薬の減量効果が示された。成人についても、難治性膜性腎症のネフローゼ症候群に対し、RTX が安全に蛋白尿を減少させたとする Remuzzi らの報告を最初に¹⁶⁾、頻回再発型およびステロイド依存性の微小変化型ネフローゼ症候群に対する再発抑制効果および副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制薬の減量効果が多く発表されている^{17,18)}。

RTX 投与後、B 細胞が枯渇している期間は寛解が維持される一方、CD19 陽性細胞数と CD20 陽性細胞数は投与 6-7 か月後には回復するため、その時点よりネフローゼ症候群の再発リスクが高まると想定されている。Iwabuchi らは RTX を単回投与方法で 6 か月毎に反復投与することで、成人の頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群において、副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制薬を減量しつつ、長期にわたって寛解状態を維持できることを報告した¹⁹⁾。その報告では、4 回投与して中止した 5 例中 1 例が 12 か月以内に再発した一方、5-6 回投与した 6 例では再発を認めなかった。このことから RTX の反復投与は中止後の再発を抑制する可能性が示唆された。しかし、RTX の副作用には infusion reaction の他、汎血球減少、進行性多巣性白質脳症、間質性肺炎、持続的な低ガンマグロブリン血症等が報告されており²⁰⁾、ネフローゼ症候群に対しては、B 細胞性非ホジキンリンパ腫のプロトコール (375 mg/m² を週 1 回、

4 週間投与) よりも減量 (375 mg/m² を単回) して使用されることが多く、また、反復投与の安全性と有効性については十分に検証されているとは言い難い^{18,21,22)}。

そこで本研究では、頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群の成人患者を対象に、RTX 単回投与を 6 か月毎に 2 年間 (計 5 回) 継続し、ネフローゼ症候群の再発抑制を主要評価項目として、RTX 治療の有用性を検討した。副次評価項目は、副腎皮質ステロイド薬と他の免疫抑制薬の使用量の変化、および本治療プロトコールの安全性とした。なお、RTX の添付文書には成人期にネフローゼ症候群を発症した患者に対する RTX の有効性および安全性は確立していないと記載されているため、本研究では学内 IRB の承認のもとで全患者よりインフォームドコンセントを取得して RTX 治療を行った。

対象と方法

本研究は埼玉医科大学病院 IRB の承認のもとで、すべての患者に対し研究への参加についてインフォームドコンセントを取得し実施された (承認番号: 14078, 14078.02)。

対象

対象は、2014 年 10 月 6 日から 2019 年 3 月 30 日の間に、当科で診療した頻回再発型ネフローゼ症候群もしくはステロイド依存性ネフローゼ症候群の定義を満たす 16 歳以上の患者 17 例 (男性 9 例, 女性 8 例) とした。ネフローゼ症候群の定義は、蛋白尿 3.5 g/日 (もしくは 3.5 g/gCr) 以上が持続し、血清アルブミン値 3.0 g/dL 以下の場合とした。また頻回再発型ネフローゼ症候群の定義は、6 か月間に 2 回以上再発する場合とし、ステロイド依存性ネフローゼ症候群の定義は、副腎皮質ステロイド薬を減量または中止後再発を 2 回以上繰り返すため、副腎皮質ステロイド薬を中止できない場合とした。治療効果判定基準として、ネフローゼ症候群診療ガイドライン 2017²³⁾ の内容に則り、完全寛解は尿蛋白 < 0.3 g/日、不完全寛解は 0.3 g/日 ≤ 尿蛋白 < 3.5 g/日とした。また再発は完全寛解の状態から尿蛋白 1.0 g/日以上の場合とした。外来診療では 24 時間蓄尿での評価が困難なため、随時尿の尿蛋白/尿クレアチニン比 (g/gCr) を代用することとした。組織型は、微小変化型ネフローゼ症候群、巣状分節性糸球体硬化症とするが、腎生検未施行の臨床的な診断例も対象とした。除外基準については、感染症を合併している患者、B 型肝炎ウイルスキャリアおよび既感染の患者、心機能障害またはその既往がある患者、肺浸潤または肺機能障害のある患者またはその既往がある患者、骨髄機能低下のある患者、観察期間中に妊娠する可能性のある患者とした。

方法

投与方法は、用法・用量に関連する使用上の注意を遵守し、RTX 投与前に抗ヒスタミン薬 (d-クロールフェニラミンマレイン酸塩 5 mg 静注)、解熱鎮痛薬 (アセトアノフェン

400 mg 内服) および副腎皮質ステロイド薬 (ヒドロコルチゾン 125 mg 点滴投与) を用いた infusion reaction 予防策を実施した。初回の RTX 投与はネフローゼ症候群の完全寛解状態でを行い、入院管理で RTX 375 mg/m² (最大 500 mg) の単回投与とした。点滴投与中ならびに投与後に有害事象がないことを確認し、2 回目以降は原則として外来での投与を行った。6 か月毎に RTX 単回投与を行い、24 か月間で計 5 回投与した。再発および有害事象の有無を確認しながら経過観察し、副腎皮質ステロイド薬および免疫抑制薬の減量や中止については、主治医の判断に任せることとした。例外として CD19 陽性細胞ならびに CD20 陽性細胞が 1 か月以内に枯渇状態 (末梢血中で 10 cell/ μ L 未満) とならない場合は、次回投与時より RTX を 1 週間隔で 2 回投与した (2 回投与法)。RTX 導入から 2 年間の治療期間に加え、その後もネフローゼ症候群の再発について経過観察を行った。再発を認めた際は、副腎皮質ステロイド薬の増量・再開ならびに、RTX 治療の 2 回投与法への変更もしくは再導入を行う方針とした。CD19 陽性細胞数と CD20 陽性細胞数はヘパリン加末梢血を検体として蛍光標識したモノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリーでの測定を、外部の検査センター (SRL) へ依頼した。検査頻度については、原則として RTX 導入時から来院ごとに測定し、観察期間中は継続することとした。

観察項目・検討項目

診察時に血圧測定、血液検査 (血算・血清総蛋白・アルブミン値・総コレステロール値・血清クレアチニン値・血

清 IgG・CD19 陽性細胞数・CD20 陽性細胞数) と尿検査 (随時尿での g/gCr 値) を行った。主要評価項目は本治療プロトコールによるネフローゼ症候群の再発抑制とし、副次評価項目は副腎皮質ステロイド薬および免疫抑制薬の使用量の変化と安全性とした。

統計処理

統計処理には Microsoft Excel for Office 365 (Microsoft, Redmond, WA, USA) および JMP pro ver 14.3.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA) を用い、結果は中央値および四分位範囲 (中央値 [第一四分位, 第三四分位]) で示した。多重比較検定は Steel 法を用い、RTX 投与前を対照群として各群を比較した。p<0.05 を統計学的に有意と判断した。

結果

本研究の調査対象となった 17 例 (男女比は 9:8) について Table 1 にまとめた。疾患別では微小変化型ネフローゼ症候群: 11 例, 巣状分節性糸球体硬化症: 2 例, 不明 (未生検): 4 例, RTX 導入時の平均年齢は 37 ± 15 歳で、ネフローゼ症候群を発症した年齢は平均 25 ± 18 歳であった。16 例が RTX 導入時にプレドニゾロン (Prednisolone: PRED) を使用しており、PRED 単剤投与が 8 例, PRED とシクロスポリン (Cyclosporin A: CyA) の併用が 7 例, PRED とミゾリビン (Mizoribine: MZR) の併用が 1 例, CyA 単剤投与が 1 例であった。RTX 導入時からの観察期間の中央値は 43 か月 (11-54 か月) であり、全 17 例中、治療プロトコールに沿って 2 年間で 5 回の RTX 投与を終

Table 1 Patients' demographics

	Age at Onset	Gender	Age at First RTX	Causes	Immunosuppressants at First RTX (/day)	Immunosuppressants at 5th RTX (/day)	Observational period (M)	Adverse events
Case1	45	F	55	FSGS	PRED30mg+CyA50mg	PRED2.5mg	54	None
Case2	2	M	22	MCNS	PRED7.5mg+CyA30mg	PRED3mg	51	None
Case3	63	F	75	MCNS	PRED40mg	PRED4mg	50	None
Case4	43	M	52	MCNS	PRED3mg	None	49	None
Case5	14	M	18	MCNS	PRED50mg	PRED2.5mg	47	None
Case6	26	F	49	MCNS	PRED12.5mg+CyA90mg	PRED2mg	46	None
Case7	3	F	32	ND	PRED10mg	None	45	None
Case8	49	F	56	ND	PRED50mg	PRED10mg	45	None
Case9	17	M	21	ND	PRED20mg+CyA100mg	None	43	None
Case10	8	F	33	MCNS	PRED25mg+CyA60mg	PRED4mg	43	None
Case11	44	M	45	ND	PRED60mg+MZR300mg	PRED5mg+CyA25mg	42	None
Case12	33	F	41	MCNS	PRED20mg	PRED7.5mg	37	None
Case13	18	M	22	MCNS	CyA125mg	None	36	None
Case14	8	M	16	MCNS	PRED60mg+CyA140mg	PRED2mg	24	None
Case15	36	F	40	FSGS	PRED35mg	(at 4 th RTX)	23	None
Case16	2	M	29	MCNS	PRED40mg	(at 4 th RTX)	19	None
Case17	12	M	25	MCNS	PRED15mg+CyA150mg	(at 4 th RTX)	11	None

MCNS: Minimal change nephrotic syndrome

FSGS: Focal segmental glomerulosclerosis

ND: not diagnosed

RTX: Rituximab

PRED: Prednisolone

MZR: Mizoribine

CyA: Cyclosporine A

了した症例は14例(2回投与法に変更した2例を含む。以降、「治療完了群」とする)であった。その中で3例は転居により観察打ち切りとなっている(Fig. 1)。治療完了群について、5回目のRTX投与時には、4例でPREDもしくはCyAが漸減・中止に至っていた。

調査対象となった全症例(Fig. 1)について、RTX投与

による各検査値の変化をTable 2にまとめた。観察項目中、RTX導入時と比較して治療期間中および終了後で血清総蛋白、血清アルブミンは高値で、白血球数、好中球数は低値で推移する傾向が認められた。また血清クレアチニン、血清IgG、尿蛋白、ヘモグロビンおよび血小板数に有意な変化はなかった。PREDの投与量は36か月目で 1.7 ± 1.9

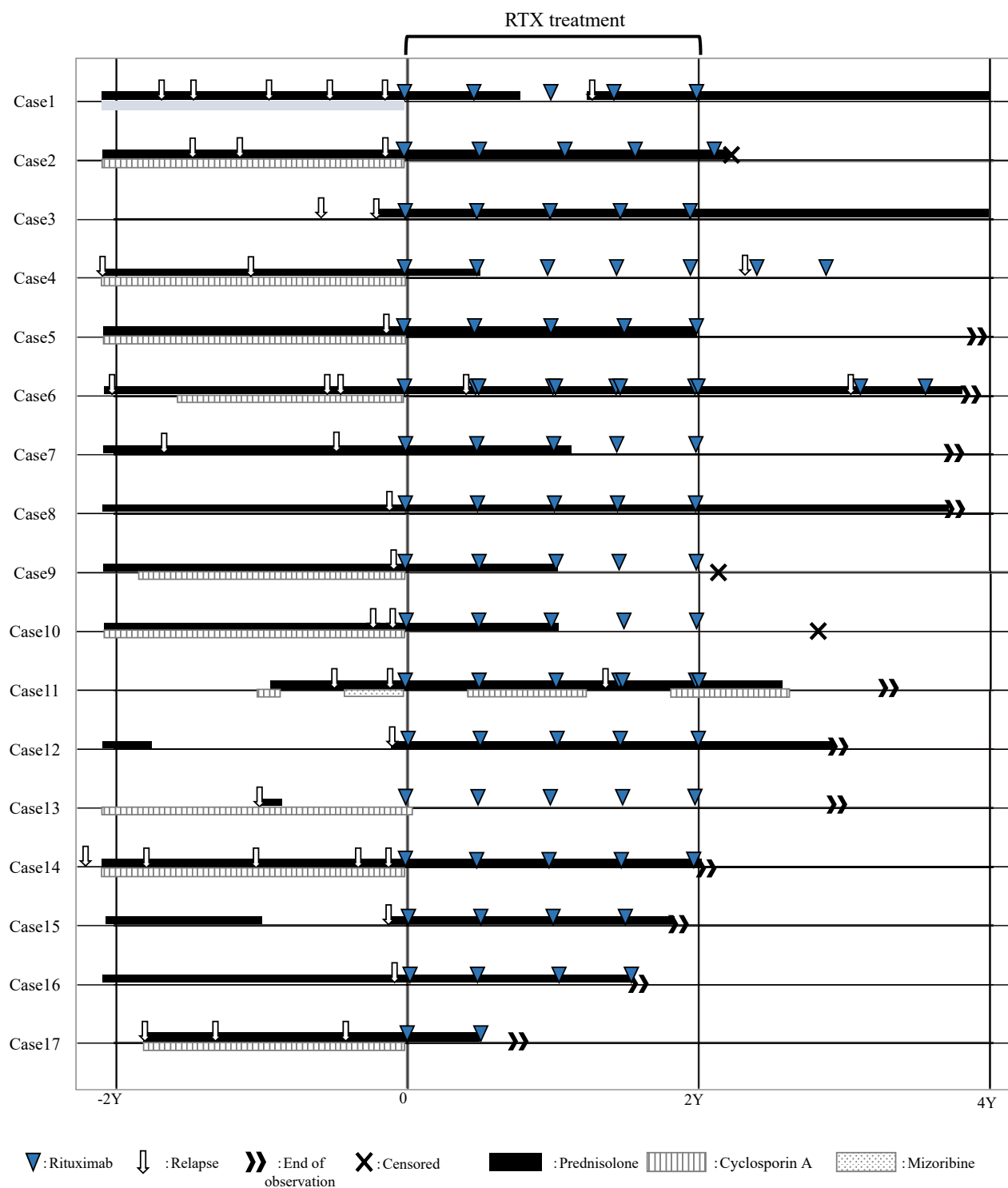


Fig. 1 Clinical events and medications before, during and after the RTX treatment

17 adult patients with frequent relapsing/steroid-dependent nephrotic syndrome were employed in this study, and clinical events such as relapse and dose-reduction of glucocorticoid/immunosuppressants were monitored before, during and after the RTX treatment.

Table 2 Changes in biochemical and hematological data

	First RTX (n=17)	2 nd RTX 6month (n=17)	3 rd RTX 12month (n=16)	4 th RTX 18month (n=16)	5 th RTX 24month (n=14)	30month (n=12)	36month (n=10)	42month (n=7)	48month (n=3)
TP(mg/dL)	5.8 ± 0.8	6.6 ± 0.6	6.6 ± 0.4	6.5 ± 0.5	6.7 ± 0.5	6.5 ± 0.3	6.5 ± 0.4	6.5 ± 0.3	(6.3 - 6.6) *
Alb(mg/dL)	3.3 ± 0.8	4.3 ± 0.5	4.3 ± 0.3	4.3 ± 0.4	4.3 ± 0.4	4.3 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.1 ± 0.3	(3.9 - 4.0) *
sCr(mg/dL)	0.73 ± 0.26	0.69 ± 0.14	0.69 ± 0.15	0.69 ± 0.12	0.73 ± 0.15	0.72 ± 0.18	0.76 ± 0.16	0.76 ± 0.19	(0.55 - 1.08) *
IgG(mg/dL)	702 ± 172	848 ± 215	908 ± 241	844 ± 196	835 ± 163	796 ± 176	844 ± 153	783 ± 187	(704 - 1193) *
Urine protein(g/gCr)	0.13 ± 0.23	0.15 ± 0.22	0.14 ± 0.22	0.13 ± 0.34	0.06 ± 0.04	0.12 ± 0.17	0.08 ± 0.07	0.12 ± 0.16	(0.04 - 0.36) *
WBC(/uL)	9149 ± 1984	8387 ± 3276	6678 ± 2150	6845 ± 1651	6828 ± 1600	6970 ± 2403	6842 ± 2168	6814 ± 2059	(4530 - 5380) *
Hb(g/dL)	14.3 ± 1.7	14.4 ± 1.5	14.3 ± 1.7	14.4 ± 1.3	14.4 ± 1.5	14.1 ± 1.6	14.4 ± 1.4	14.3 ± 1.3	(12.2 - 16.3) *
Plt(X10 ³ /uL)	25 ± 4.4	27.9 ± 5.0	27.7 ± 7.1	27.5 ± 4.4	26.3 ± 5.0	27.9 ± 4.4	25.8 ± 4.4	24.7 ± 4.0	(17.6 - 20.5) *
Neut(/μL)	6710 ± 2127	6108 ± 2985	4557 ± 2003	4547 ± 1661	4286 ± 1659	4580 ± 2461	4883 ± 2373	4968 ± 1846	(2976 - 3652) *
Lym(/μL)	1896 ± 934	1837 ± 715	1575 ± 725	1562 ± 440	1718 ± 524	1610 ± 355	1425 ± 568	1322 ± 328	(1058 - 1641) *
CD19(/μL)	165 ± 134	3.3 ± 3.3	7.1 ± 9.7	3.3 ± 3.2	5.7 ± 5.8	3.3 ± 6.2	21.2 ± 24.2	43.4 ± 54.9	(11 - 164) *
CD20(/μL)	170 ± 138	4.8 ± 2.8	8.2 ± 12.6	4.3 ± 3.3	6.0 ± 8.5	5.2 ± 8.2	23.0 ± 27.5	45.7 ± 55.7	(27 - 180) *
PRED(mg/day)	28.1 ± 18.8	12.5 ± 9.3	5.8 ± 4.6	7.5 ± 13.9	3.0 ± 2.8	2.7 ± 2.7	1.7 ± 1.9	3.0 ± 3.4	(0 - 4) *
No. of Pts on PRED	16	16	13	11	9	7	5	4	2
No. of Pts on CyA	10	0	1	0	1	1	0	0	0

*: (Lowest - Highest)

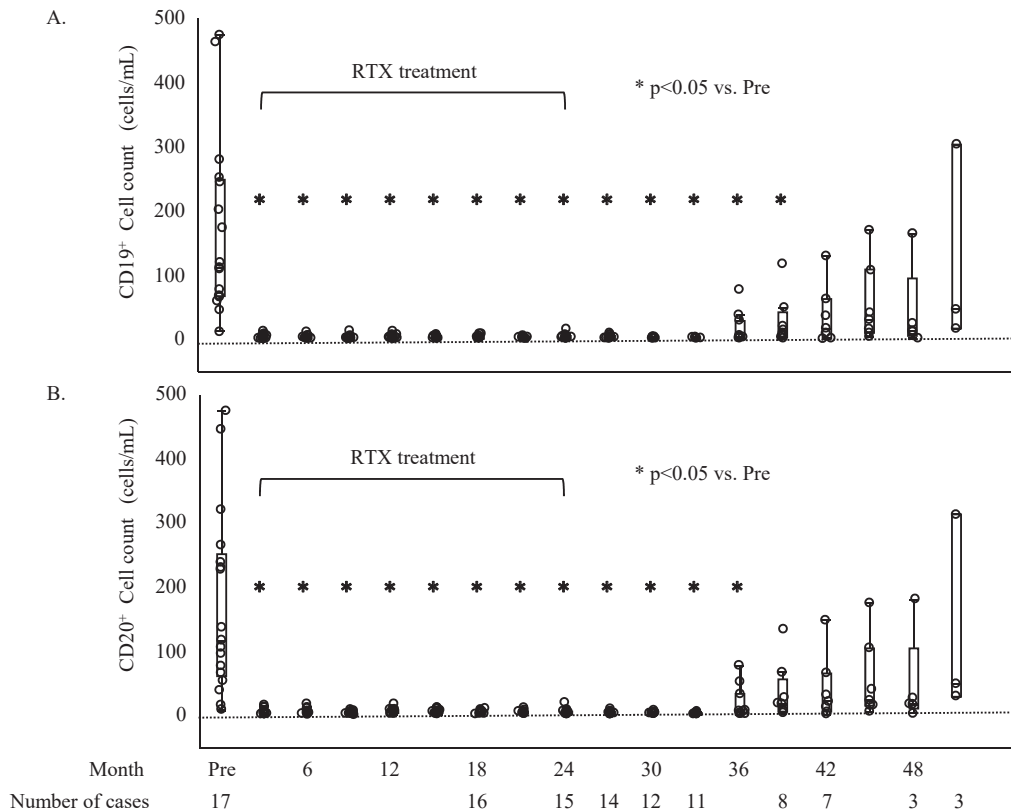


Fig. 2 Cell counts of CD19 (A) and CD20 (B) before, during and after the RTX treatment
 RTX significantly reduced the counts of CD19⁺ cells (A) and CD20⁺ cells (B) during the 24-month treatment period, and 15 months and 12 months after the treatment, respectively. Cases who reached each observation point were counted as the number of cases.

mg/日と最も低値であった。CD19 陽性細胞数ならびに CD20 陽性細胞数は RTX 導入後に速やかに減少し、3-6 か月目で枯渇状態となった後、RTX 治療期間中には明らかな増加傾向は認められず、治療期間終了後も 12 か月間は治

療前値より有意に減少した状態で推移していた (Fig. 2)。その後、両細胞数は増加傾向となった。調査期間中に infusion reaction や、RTX 治療の中止に至るような重篤な感染症などの有害事象は認めなかった。

次に治療完了群についてネフローゼ症候群の再発頻度と、PERD 等免疫抑制薬の使用量を検討した。RTX 治療期間中に再発した症例は、3 例であった (Case 1, 6 と 11; Fig. 3)。その 3 例中、1 例は CD19 陽性細胞ならびに CD20 陽性細胞が枯渇している状態で再発したが (Case 1)、他の 2 例は CD19 陽性細胞ならびに CD20 陽性細胞が枯渇していない状況で再発していた (Case 6 と 11)。そのため、同 2 例については、RTX 単回投与方法では効果不十分と判断し、2 回

投与方法に変更となった。2 年間の RTX 治療期間終了後に再発した症例は 1 例であり (Case 6)、RTX 治療が再開となった。同症例は RTX 治療期間中にも再発し、2 回投与方法に変更した症例であった。治療完了群における再発率について Steel 検定を用いて検討したところ、RTX 導入前 0.93 回/患者・年 (観察期間の中央値 2.00 年)、治療期間中 0.11 回/患者・年 (観察期間の中央値 2.00 年) と有意に減少し、治療期間終了後も 0.06 回/患者・年 (観察期間の中

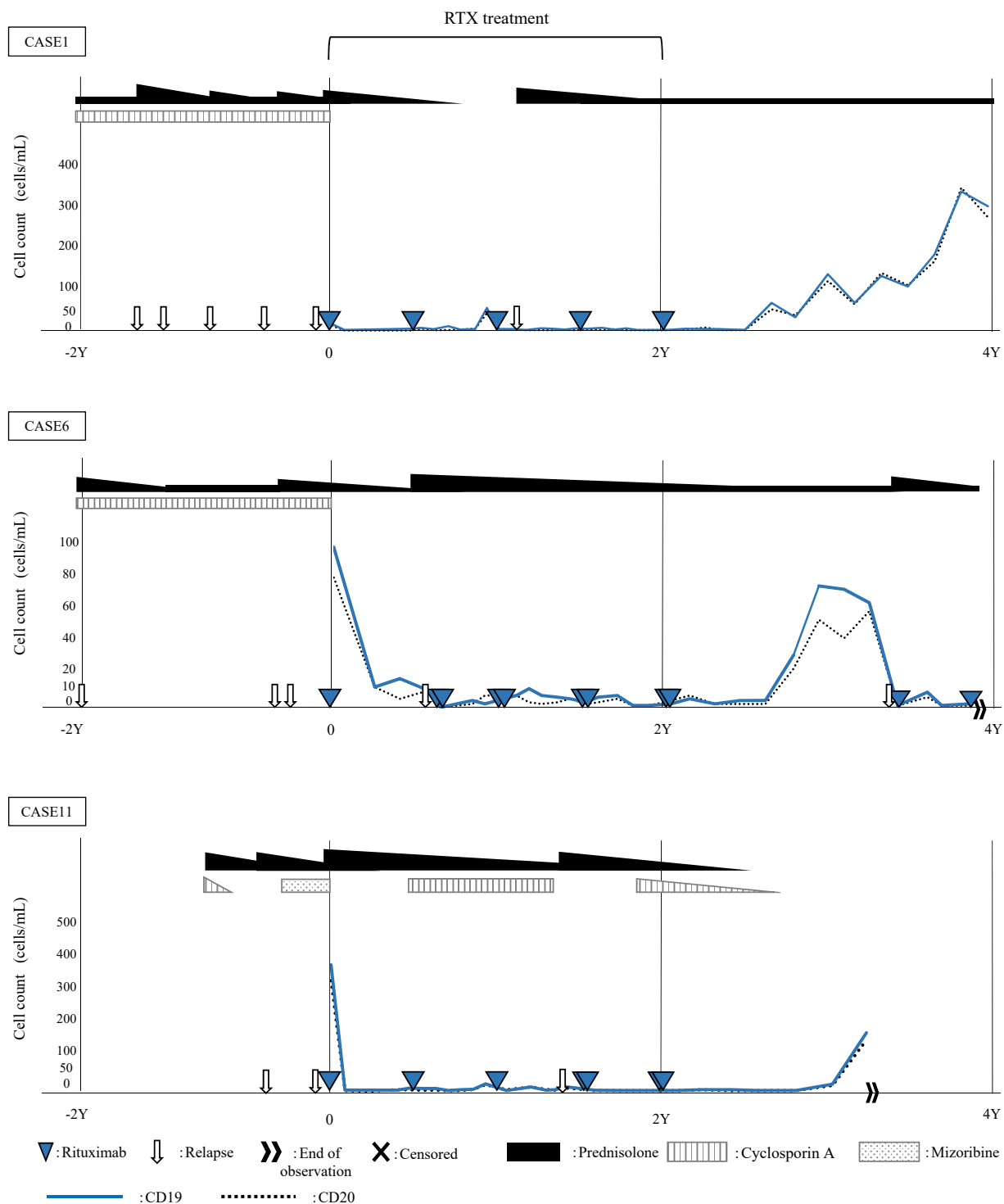


Fig. 3 Clinical courses of representative cases with relapse of nephrotic syndrome during and after the RTX treatment

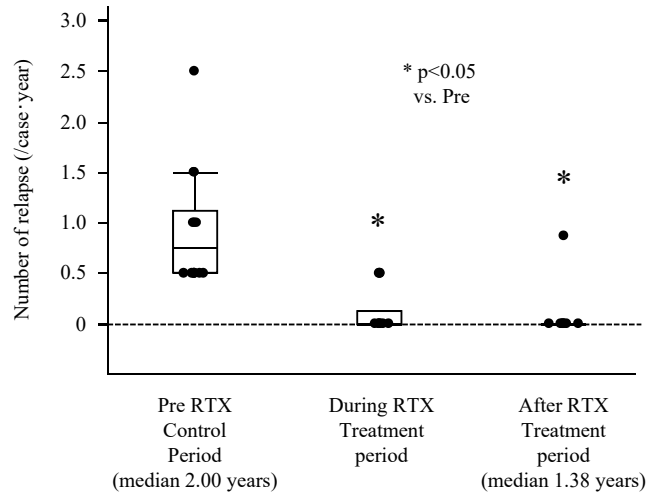


Fig. 4 Relapse of nephrotic syndrome before, during and after the RTX treatment
Compared with the number of relapses of nephrotic syndrome before the RTX treatment;
the number of relapse significantly reduced during and after the treatment.

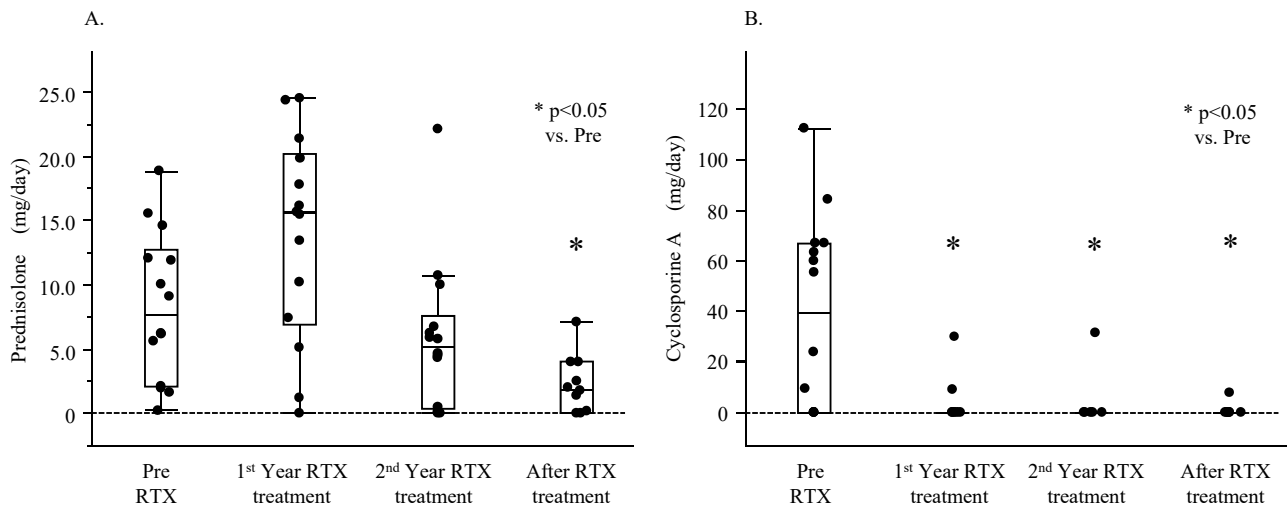


Fig. 5 Dosage of prednisolone (A) and cyclosporine A (B) before, during and after the RTX treatment
Compared with the doses before the RTX treatment, those of prednisolone (A) were significantly reduced during the 2nd year of RTX treatment
and after that, and those of cyclosporine A (B) were also significantly reduced during the 1st and the 2nd year of RTX treatment and after that.

中央値 1.20 年)と明らかに再発が抑制されていた (Fig. 4).

次いで PRED と CyA について, RTX 導入前と治療期間中および治療期間終了後の投与量の変化を検討した (Fig. 4, 5). RTX 導入前, RTX 治療期間中の 1 年目, 2 年目および治療期間終了後の 4 つの期間に分けて, Steel 検定を用いて比較を行った. RTX 導入前の PRED 使用量の中央値が 7.65 [2.07, 12.70] mg/日・case, 治療期間の 1 年目は 15.56 [6.84, 20.22] mg/日・case, 2 年目は 5.21 [0.39, 7.55] mg/日・case, 治療期間終了後は 1.89 [0.04, 4.00] mg/日・case であり, CyA は RTX 導入前 39.72 [0.00, 67.09] mg/日・case であったが, 治療期間の中央値は 0.00 mg/日・case であり, ほぼ中止となっていた. 寛解導入目的に増量した PRED および CyA は RTX 治療期間に漸減され, PRED の使用量は治療期間終了後に, CyA の使用量は治療

期間 1 年目から, 導入前と比較して有意に減量されていた.

考 察

本研究では, 頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群の成人患者を対象に, RTX 単回投与 (375 mg/m²) を 6 か月毎に 2 年間で計 5 回実施し, RTX 導入後の治療期間および治療期間終了後の再発の有無および副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制薬の使用量の変化を検討した. RTX 導入後は有意にネフローゼ症候群の再発が減少し, 治療期間終了後も再発抑制効果は持続していた. RTX 導入以降の PRED および CyA の使用量は減少しており, 再発抑制は RTX 治療の効果である可能性が考えられた. CD19 陽性細胞および CD20 陽性細胞は RTX 導入 3 か月後に枯渇した後, 治療期間中には有意な増加はなく, 治療期間終了

後 12 か月から回復傾向が確認できた。

RTX は頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群の治療選択肢の一つとして、本邦の小児・成人を対象とした診療ガイドラインに記載されている²³⁻²⁶。ネフローゼ症候群の寛解維持・再発抑制効果についてはコンセンサスが得られている一方で、奏功する理由に関しては不明な点も多い²⁵。移植後腎生検標本を用いた組織学的な検討で²⁶、RTX が糸球体上皮細胞上の sphingomyelin phosphodiesterase acid-like 3b (SMPDL-3b) を保持することで、同受容体を介した acid sphingomyelinase (ASMase) の活性制御によって蛋白尿が抑制される可能性や、腎臓で活性化された B 細胞が IL-4 を介して糸球体上皮細胞を障害する²⁷とした報告もあり、B 細胞がネフローゼ症候群の直接的な病因である可能性も否定できない。しかし、一般的には B 細胞を介した T 細胞制御によると考えられており、本研究の様に CD19 陽性細胞数、CD20 陽性細胞数に注目して経過や効果を検討した報告が多い。

B 細胞数の経過に注目すると、RTX 投与後に CD19 陽性細胞、CD20 陽性細胞が枯渇することが再発抑制効果の指標となる可能性がある。一方、投与期間終了後に同細胞数が回復後もネフローゼ症候群が再発しない例があり、本研究からは理由は明らかではない。この点について、小児特発性ネフローゼ症候群を対象に RTX 投与後の末梢血 T 細胞、B 細胞の経過を詳細に検討した報告が参考になる²⁸。同報告によれば、RTX 投与 1 か月後に総リンパ球数の 1% 未満にまで減少した CD19 陽性細胞数は、半年後から上昇傾向となり、12 か月後には投与前と同様の状況にまで回復した。この回復過程は B 細胞の亜集団によって異なり、transitional B cells や mature B cells が比較的早期から回復する一方で、memory B cells の回復は緩徐であり、投与後 1 年を経過しても投与時の状況まで回復していない症例がほとんどであった。同報告では観察期間中に半数の症例でネフローゼ症候群が再発しているが、クラススイッチ後の B 細胞 (CD19⁺に加えて CD27⁺IgD⁻IgM⁻, switched memory B cells) の回復状況が、ネフローゼ症候群の再発と有意に関連していた。一方、CD3 陽性細胞数、CD4/CD8 陽性細胞数比は、RTX 投与後も全く変化がなく、少なくとも T 細胞数については、RTX によるネフローゼ症候群の治療経過に関連しない可能性が示された。B 細胞の再構成の経過が同細胞の分化過程を mimic していることを考えると、switched memory B cell 数が少ない症例は、単純に B 細胞の再構成が緩徐な症例であり、ネフローゼ症候群の再発が遅れているだけという可能性もある。

この点について、小児で RTX の有効性を示した RCT¹⁵の長期経過の報告が参考になる²⁹。観察期間の中央値は 59 か月、RTX は 375 mg/m² 単回投与で、再発が無ければ PRED、免疫抑制薬とも完全に中止するプロトコールで実施された。171 日で半数の症例において B 細胞数の回復 (>5 cell/μL) を認め、観察期間中に 94% の症例でネフローゼ症候群が再発していた。59% の症例はその後ステロ

イド依存性ネフローゼ症候群の経過を辿り、PRED や免疫抑制薬の再開にも関わらず再発を繰り返している。B 細胞再構成速度に年齢が有意に関連することを考慮すると³⁰、この研究結果を成人に適用するのは慎重である必要がある。しかし、本研究でも観察期間が長期になれば、多くの症例が再発する可能性は否定できない。ANCA (antineutrophil cytoplasmic antibody) 関連血管炎の治療では、CD19 陽性細胞数と ANCA 力価の増加を指標に RTX を投与することで、RTX の定期投与と同等の費用対効果であるとする報告があり³¹、ネフローゼ症候群の治療においても、B 細胞数の回復、可能ならば B 細胞の各亜集団の再構成状況を追跡し、特に switched memory B cell 数の上昇が認められたら RTX の再投与を考慮するなど、無再発期間を延長する方策を今後検討する必要がある。

本研究で採用した RTX の反復投与に関して、成人ネフローゼ症候群を対象にした検討は少ない。本研究より短期間ではあるが、18 か月間で 6 か月毎に計 4 回投与した報告がある。その結果では、RTX 導入前の再発回数 4.3 ± 2.8 回/2 年間で、導入後は 0.3 ± 0.5 回/2 年間と有意な減少が認められ、PRED 投与量は RTX 導入前 24.0 (5-60) mg/日から、導入後 0.6 (0-8) mg/日と、有意に減量されていた。CD19 陽性細胞数と CD20 陽性細胞数は RTX 導入前でそれぞれ 98 ± 104 と 101 ± 97 cell/μL、RTX 導入後 24 か月 (治療終了後 6 か月) で 11 ± 17 と 11 ± 19 cell/μL であり、明らかな減少が継続していた¹⁹。小児については、ステロイド依存性ネフローゼ症候群 61 症例を対象に、RTX 100 mg/m² 単回、375 mg/m² 単回、375 mg/m² を 1 週間隔で 2 回投与する 3 群を比較した報告がある³²。その報告では、B 細胞の再構成速度は RTX 投与量に有意に関連しており、投与量が多い方が細胞数の回復が緩徐であった。ネフローゼ症候群の再発率に関しては、単変量解析では RTX 投与量は有意な独立因子ではなかったが、併用薬を加えた多変量解析で有意差を認め、投与量が多い群で、より長期にわたって再発が抑制されていた。しかし、RTX を長期間、反復して投与した際の副作用について、我々は十分な経験があるとは言い難く、緒言でも述べたように、低ガンマグロブリン血症等、副作用に十分な注意が必要である。

本研究の結論をまとめる前に留意すべき幾つかの事項がある。本研究は単施設、小規模の観察研究であり、RTX の投与方法 (単回の投与量、6 か月毎の計 2 年間) 以外は併用薬の使用についてプロトコールに定めていない。しかし全症例において RTX 導入前後で担当医の変更がなく、同一の治療方針で外来治療が継続されていたと考えている。また、本観察期間中には、infusion reaction や重篤な感染症などの RTX に関連する有害事象を経験しなかった。しかし、対象症例数が少ないため、今回の結果から安全性に関して考察することは困難であった。

結 論

頻回再発型およびステロイド依存性ネフローゼ症候群の成人患者に対し、RTX (375 mg/m²) 単回投与 (必要に応じて2回投与へ変更) を6か月毎、2年間で計5回実施するという治療プロトコールは、再発抑制とPREDや免疫抑制薬の減量に有効であった。RTX治療期間中のみではなく、終了後も6か月から1年間は投与前値より有意なB細胞数の減少が持続し、同期間中は投与中と遜色ない再発抑制効果が継続していた。一方、治療期間中に再発を認める症例もあることや、全B細胞数の回復のみではネフローゼ症候群の再発を予見することは困難であることから、何らかの有効なバイオマーカーを明らかにしつつ、更に有用性の高いRTX治療プロトコールを開発する必要がある。

謝 辞

本研究の実施にあたり埼玉医科大学腎臓内科の外来および病棟担当の先生方にご協力をいただいた。また外来におけるRTX投与の際には、内科治療センター梶山浩講師にもご協力をいただいた。

引用文献

- 1) Vivarelli M, Massella L, Ruggiero B, Emma F. Minimal Change Disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2017; 12: 332-45.
- 2) Koyama A, Fujisaki M, Kobayashi M, Igarashi M, Narita M. A glomerular permeability factor produced by human T cell hybridomas. *Kidney Int* 1991; 40: 453-60.
- 3) Pereira Wde F, Brito-Melo GE, Guimaraes FT, Carvalho TG, Mateo EC, Simoes e Silva AC. The role of the immune system in idiopathic nephrotic syndrome: a review of clinical and experimental studies. *Inflamm Res* 2014; 63: 1-12.
- 4) Kanai T, Shiraishi H, Yamagata T, Ito T, Odaka J, Saito T, et al. Th2 cells predominate in idiopathic steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Clin Exp Nephrol* 2010; 14: 578-83.
- 5) Lai KW, Wei CL, Tan LK, Tan PH, Chiang GS, Lee CG, et al. Overexpression of interleukin-13 induces minimal-change-like nephropathy in rats. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1476-85.
- 6) Bertelli R, Bonanni A, Caridi G, Canepa A, Ghiggeri GM. Molecular and Cellular Mechanisms for Proteinuria in Minimal Change Disease. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5: 170.
- 7) 日本腎臓学会編集委員会編：初学者から専門医までの腎臓学入門改訂第2版。東京：医学社；2009, 47-9.
- 8) Green H, Paul M, Vidal L, Leibovici L. Prophylaxis for *Pneumocystis pneumonia* (PCP) in non-HIV immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 3: CD005590.
- 9) Weinstein RS. Clinical practice. Glucocorticoid-induced bone disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 62-70.
- 10) Latta K, von Schnakenburg C, Ehrich JH. A meta-analysis of cytotoxic treatment for frequently relapsing nephrotic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 271-82.
- 11) Shan D, Ledbetter JA, Press OW. Apoptosis of malignant human B cells by ligation of CD20 with monoclonal antibodies. *Blood* 1998; 91: 1644-52.
- 12) Sinha A, Bagga A. Rituximab therapy in nephrotic syndrome: implications for patients' management. *Nat Rev Nephrol* 2013; 9: 154-69.
- 13) Taji H, Kagami Y, Okada Y, Andou M, Nishi Y, Saito H, et al. Growth inhibition of CD20-positive B lymphoma cell lines by IDEC-C2B8 anti-CD20 monoclonal antibody. *Jpn J Cancer Res* 1998; 89: 748-56.
- 14) Benz K, Dotsch J, Rascher W, Stachel D. Change of the course of steroid-dependent nephrotic syndrome after rituximab therapy. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 794-7.
- 15) Iijima K, Sako M, Nozu K, Mori R, Tuchida N, Kamei K, et al. Rituximab for childhood-onset, complicated, frequently relapsing nephrotic syndrome or steroid-dependent nephrotic syndrome: a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2014; 384: 1273-81.
- 16) Remuzzi G, Chiurciu C, Abbate M, Brusegan V, Bontempelli M, Ruggenti P. Rituximab for idiopathic membranous nephropathy. *Lancet* 2002; 360: 923-4.
- 17) Francois H, Daugas E, Bensman A, Ronco P. Unexpected efficacy of rituximab in multirelapsing minimal change nephrotic syndrome in the adult: first case report and pathophysiological considerations. *Am J Kidney Dis* 2007; 49: 158-61.
- 18) Sugiura H, Takei T, Itabashi M, Tsukada M, Moriyama T, Kojima C, et al. Effect of single-dose rituximab on primary glomerular diseases. *Nephron Clin Pract* 2011; 117: c98-105.
- 19) Iwabuchi Y, Takei T, Moriyama T, Itabashi M, Nitta K. Long-term prognosis of adult patients with steroid-dependent minimal change nephrotic syndrome following rituximab treatment. *Medicine (Baltimore)* 2014; 93: e300.
- 20) Barmettler S, Ong MS, Farmer JR, Choi H, Walter J. Association of Immunoglobulin Levels, Infectious Risk, and Mortality With Rituximab and Hypogammaglobulinemia. *JAMA Netw Open* 2018; 1: e184169.
- 21) Kamei K, Ito S, Nozu K, Fujinaga S, Nakayama M, Sako M, et al. Single dose of rituximab for refractory steroid-dependent nephrotic syndrome in children. *Pediatr*

- Nephrol 2009; 24: 1321-8.
- 22) Takei T, Itabashi M, Moriyama T, Kojima C, Shiohira S, Shimizu A, et al. Effect of single-dose rituximab on steroid-dependent minimal-change nephrotic syndrome in adults. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28: 1225-32.
- 23) 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患等政策研究事業（難姿勢疾患政策研究事業）難治性腎疾患に関する調査研究班編：エビデンスに基づくネフローゼ症候群診療ガイドライン 2017. 東京医学社 2017.
- 24) 日本小児腎臓病学会：小児特発性ネフローゼ症候群診療ガイドライン 2013. 診断と治療社 2013.
- 25) Feehally J. Targeted therapies: Is there a role for rituximab in nephrotic syndrome? *Nat Rev Nephrol* 2014, 10: 245-7.
- 26) Fornoni A, Sageshima J, Wei C, Merscher-Gomez S, Aguillon-Prada R, Jauregui AN, et al. Rituximab targets podocytes in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *Sci Transl Med* 2011, 3: 85ra46.
- 27) Kim AH, Chung JJ, Akilesh S, Koziell A, Jain S, Hodgins JB, et al. B cell-derived IL-4 acts on podocytes to induce proteinuria and foot process effacement. *JCI Insight* 2017, 2(21).
- 28) Colucci M, Carsetti R, Cascioli S, Casiraghi F, Perna A, Rava L, et al. B Cell Reconstitution after Rituximab Treatment in Idiopathic Nephrotic Syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2016, 27: 1811-22.
- 29) Kamei K, Ishikura K, Sako M, Aya K, Tanaka R, Nozu K, et al. Long-term outcome of childhood-onset complicated nephrotic syndrome after a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled trial of rituximab. *Pediatr Nephrol* 2017, 32: 2071-8.
- 30) Hogan J, Dossier C, Kwon T, Macher MA, Maisin A, Couderc A, et al. Effect of different rituximab regimens on B cell depletion and time to relapse in children with steroid-dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2019, 34: 253-9.
- 31) Charles P, Terrier B, Perrodeau E, Cohen P, Faguer S, Huart A, et al. Comparison of individually tailored versus fixed-schedule rituximab regimen to maintain ANCA-associated vasculitis remission: results of a multicentre, randomised controlled, phase III trial (MAINRIT-SAN2). *Ann Rheum Dis* 2018, 77: 1143-9.

Effects of long-term treatment with Rituximab on remission maintenance and relapse suppression of frequent relapse and/or steroid-dependent nephrotic syndrome in adults

Takeru Seto*, Tsutomu Inoue, Kouji Tomori, Hirokazu Okada
Department of Nephrology, Faculty of Medicine, Saitama Medical University

Background: A number of clinical trials have demonstrated the effectiveness of Rituximab (RTX) on maintaining remission and suppressing relapse in children with frequent relapse and/or steroid-dependent nephrotic syndrome (FR and/or SDNS). On the other hand, there are few reports of the results in adult cases, and there is no established protocol for the administration. In this study, we investigated the clinical usefulness and safety of RTX for FR and/or SDNS in adults.

Methods: RTX at 375 mg/m² (maximum 500 mg) is administered once every 6 months for adult patients with FR and/or SDNS over 16 years of age, for a total of 5 doses during 24 months, as the RTX treatment protocol. The clinical course before (at least 2 years), during and after RTX treatment period was observed and analyzed.

Results: Seventeen patients consisting of 9 males and 8 females (mean age 37 ± 15 years old) were employed. Among them, 11 cases were with minimal change nephrotic syndrome, 2 cases with focal and segmental glomerulosclerosis, and 4 cases with unknown causes. The median of observation period was 43 months (11-54 months). Among them, 14 patients finished receiving 5 times RTX treatments for 2 years. There were 3 cases with relapse during RTX treatment period. Both of the doses of corticosteroid (prednisolone) and cyclosporine before RTX treatment was significantly lowered during RTX treatment period. The frequencies of relapse before RTX treatment were also significantly reduced during and after RTX treatment period. In all cases, no significant adverse events were observed.

Conclusion: In this study, the protocol of RTX administration at a single dose every 6 months for 24 months (a total of 5 doses) was found to be useful on suppressing relapse and lowering the corticosteroid dose in adult patients with FR and/or SDNS.