

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

炎症性腸疾患の画期的治療法に関する臨床研究

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 渡 辺 守

平成 18 (2006) 年 3 月

序

炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎およびクローン病は主として21世紀を担う、進学、就職、出産といった希望に満ちた若年者を襲い、生涯にわたり治療の継続を余儀なくされる未だ原因不明の難病である。既存のfirst line治療に抵抗性の難治症例や頻回に再燃を繰り返す例が存在すること、あるいは副作用の問題などから、鼻管・中心静脈栄養・薬物経動脈投与などきわめて侵襲性の高い治療がしばしば必要とされ、繰り返す入退院や時に手術を余儀なくされるなど、患者QOLの点を考慮しても、画期的治療法開発が急務である。これまで無数の免疫に主眼をおいた新規治療の試行にも関わらず、既存の治療を凌駕するものがない理由は全身性免疫制御を標的とする治療法が腸粘膜局所に特異的な免疫応答制御に必ずしも有効でない可能性があげられる。さらに、この問題を克服するためには同時に発想の転換が必須である。

本研究班は難治性炎症性腸疾患に対しこれまで26年余りに渡って成果を挙げてきた特定疾患対策研究事業「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班に加えて、これまでとは異なる発想による病態遷延機構の解析を行い、それに基づく画期的治療法の開発とその臨床応用を目指す目的で平成15年11月に発足した新しい研究班である。3年後の臨床応用を目指して、5つのプロジェクトに絞り、分担研究者も厳選して開始された。

本研究班はプロジェクト開始後3年間という短期間で、43編のインパクトファクター7以上かつ社会的インパクトの高い論文発表が可能であったのみならず、臨床応用の点でも10件のプロジェクトが分担研究者の9大学で臨床試験としてすでに承認あるいは承認間近となるなど、十分な成果が挙げられた。

短期間で実りある研究成果を挙げていただいた分担研究者の諸先生に深謝致したい。また、この研究班を遂行して行くにあたり、貴重なご助言、ご協力をいただいている日比紀文慶應義塾大内科教授、朝倉均新潟大名誉教授にこの場を借りて感謝致したい。

平成18年3月

主任研究者 渡 辺 守

目 次

I.	研究班構成	1
II.	総括研究報告	
	炎症性腸疾患の画期的治療法に関する臨床研究 (渡辺 守)	3
III.	分担研究報告	
	【上皮細胞の再生・修復のための分子療法の確立】	
	1. ヒト腸管上皮の分化/再生制御機構を応用した粘膜再生療法の開発 (渡辺 守)	7
	2. 自然免疫制御による炎症性腸疾患の治療法開発 (高後 裕)	12
	3. 炎症性腸疾患に対する HGF および HGF 遺伝子粘膜下注入療法の開発 (鈴木健司)	14
	4. 炎症性腸疾患に対する組換えヒト肝細胞増殖因子の臨床応用 (坪内博仁)	16
	【腸管特異的免疫調節を応用した治療法の開発】	
	5. 自然免疫系による慢性炎症性腸疾患の制御機構に関する研究 (竹田 潔)	19
	6. MIF (macrophage migration inhibitory factor) の制御による炎症性腸疾患の新しい治療法の開発 (浅香正博)	25
	【選択的細胞除去・移入療法の開発】	
	7. 炎症性腸疾患に対する血球成分除去・制御性 T 細胞移入療法開発に関する研究 (中村和彦)	28
	【分子デリバリーシステムを用いた治療法確立】	
	8. 潰瘍性大腸炎患者におけるデキサメサゾン含有ポリ乳酸マイクロカプセルの有効性に関する臨床研究 (岡崎和一)	31
	【新しいコンセプトによる治療法開発】	
	9. 新しいコンセプトによる治療法開発 - 遠位型潰瘍性大腸炎に対する Rebamipide 注腸療法に関する研究 - (日比紀文)	33
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表	37
V.	学会発表に関する一覧表	43
VI.	社会活動報告	47
VII.	研究事業報告	49
VIII.	研究成果の刊行物・別刷	85

I. 研究班構成

「炎症性腸疾患の画期的治療法に関する臨床研究」研究班

〈区 分〉	〈氏 名〉	〈所 属〉	〈職 名〉
主任研究者	渡辺 守	東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野	教授
分担研究者	日比 紀文	慶應義塾大学医学部消化器内科	教授
	浅香 正博	北海道大学大学院消化器内科学分野	教授
	坪内 博仁	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科健康科学専攻	
		人間環境学講座消化器疾患・生活習慣病学	教授
	高後 裕	旭川医科大学医学部内科学第三講座	教授
	岡崎 和一	関西医科大学内科学第三講座（消化器肝臓内科）	教授
	中村 和彦	九州大学大学院医学研究院病態制御内科学	助手
	鈴木 健司	新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学分野	助手
竹田 潔	九州大学生体防御医学研究所発生工学分野	教授	
事務局	伊藤 裕子	東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野 〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45 TEL 03-5803-5973 FAX 03-5803-0262 E-mail yito.gast@tmd.ac.jp	

Ⅱ. 総括研究報告

炎症性腸疾患の画期的治療法に関する臨床研究

主任研究者 渡辺 守 東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野 教授

研究要旨：本研究班は、難治性炎症性腸疾患に対しこれまでと異なる発想による病態遷延機構の解析を行い、それに基づく画期的治療法の開発とその臨床応用を目標とした。この目的のため、「粘膜局所免疫調節」および「組織再生誘導」を促す新規治療法開発を目指し、1) 上皮細胞再生のための分子療法、細胞移植療法の確立、2) 腸管特異的免疫調節機構を標的とした治療法開発、3) 選択的細胞除去療法の開発および4) 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立、の4プロジェクトを設定し研究を進めた。1)では腸炎モデルマウスを用い HGF 投与の効果を検討しその有効性および安全性を明らかにした。また、医師主導治験として臨床応用の開始段階になった。2)では、自然免疫制御分子や研究代表者による粘膜 IL-7 機構に関する新しい知見が得られまた小腸パネート細胞が有する抗菌活性を利用した臨床治験を開始し、大きな進展が得られた。3)では、潰瘍性大腸炎に対する血球除去療法に関わる臨床研究の推進とともに、研究代表者による制御性 T リンパ球の選択的再移入を導入した改変型白血球除去療法の開発が進められた。4)については、高分子バイオマテリアルを用いた免疫調節剤封入マイクロカプセルを作成し、モデル動物においてその安全性と有効性が確認されただけでなく臨床治験を開始した。またモデルマウスを用いた HGF 内視鏡下粘膜下注入療法の有効性を確認した。本研究プロジェクト開始後、社会的インパクトの高い論文発表が可能であったのみならず、臨床応用の点でも5件のプロジェクトが分担研究者の施設で臨床試験としてすでに承認あるいは承認間近となるなど、十分な成果が挙げられつつある。これら成果は、基礎研究の先進性を確保しつつ、かつ既存の炎症性腸疾患治療を凌駕し患者 QOL の改善にも有効な画期的治療開発を可能にすることが予想され、国際的にも評価に耐え得る研究であると考えられる。

分担研究者

日比紀文 慶應義塾大学医学部消化器内科 教授
浅香正博 北海道大学大学院消化器内科学分野 教授
坪内博仁 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
消化器疾患・生活習慣病学 教授
高後 裕 旭川医科大学医学部内科学第三講座 教授
岡崎和一 関西医科大学内科学第三講座 教授
中村和彦 九州大学大学院病態制御内科 助手
鈴木健司 新潟大学大学院消化器内科学分野 助手
竹田 潔 九州大学生体防御医学研究所発生工学分野 教授

A. 研究目的

本邦において増加の一途をたどる炎症性腸疾患は若年者を襲い、生涯にわたり治療の継続を余儀なくされる未だ原因不明の難病である。さらに既存の first line 治療に抵抗性の難治症例や頻回に再燃を繰り返す例が存在すること、あるいは鼻管・中心静脈栄養・薬物経動脈投与などきわめて侵襲性の高い治療がしばしば必要とされ、繰り返す入院やときに手術を余儀なくされることなど、患者 QOL の点を考慮しても画期的治療法開発が急務である。

本研究は、難治性炎症性腸疾患に対し、これまでとは異なる発想による病態遷延機構の解析を行い、それに基づく画期的治療法の開発とその臨床応用を

目指すものである。主任研究者が独自に見いだしてきた知見、即ち、炎症性腸疾患の病態維持機構には「腸管免疫機構の破綻」および「傷害粘膜上皮の再生不全」の両者が深く関わる新しい考え方を基盤とし、分担研究者が個々に明らかとしてきた腸組織における特殊な免疫調節機構および分化・再生機構の知見を集約させ、腸粘膜局所での免疫調節と上皮再生の連鎖・協調を人為的に統合制御し、粘膜局所免疫調節および組織再生誘導を促す新規治療法開発を目指す萌芽的研究を行い、患者のQOL向上に直結する治療様式を開発することを目的とする。この実現のために、以下の4のプロジェクト(p)を設定して、班員と協力者が一体となって調査、研究を進めた。

p-1: 上皮細胞の再生のための分子療法、細胞移植療法の確立

p-2: 腸管特異的免疫調節機構を標的とした治療法の開発

p-3: 選択的細胞除去療法の開発

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立

(倫理面への配慮)

プロジェクトの遂行に当たっては、厚生科学審議会の「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」などに準じて、1) 倫理審査委員会で研究の適否などを議論・審査し承認を得る。2) 意義と必要性を説明しその自由意志に基づき同意を得られた場合にのみ検体提供を受ける。検体提供の有無により、治療など不利益を被ることはない。3) 個人のプライバシーの保護を厳密に行う。4) 希望に応じ検体提供者やその保護者への研究結果の説明を行う。5) 研究目的でのみ検体を使用し、その他の目的では使用しない等、人権及び利益の確保を行うよう配慮する。マウスの実験に関しても国際社会がヒトの健康のためとはいえども、実験および飼育管理の過程において動物に対して不必要な苦痛を与えないように努めるという人道的な配慮を求めていることを十分認識し、各大学の動物実験ガイドラインに沿って実施する。また臨床治験においては1) 倫理委員会及び医薬品等臨床研究審査委員会で審査し承認を得

る。2) 被験者の自由意志に基づいて同意を得られた場合にのみ治験参加とする。

B. 研究成果

本研究の成果をプロジェクトごとに報告する。

p-1: 上皮細胞の再生のための分子療法、細胞移植療法の確立 生体分子を用いた再生療法のアプローチとして hepatocyte growth factor (HGF) の解析を継続した。マウス trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) 腸炎モデルを用いて遺伝子組み換え型ヒト肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor: HGF) の有効性を確認し、さらにミニブタ、ラットを用いた薬理、発癌性試験において安全性を確認した。これら動物実験の成果から臨床治験が承認され 2005 年 9 月から開始している (坪内)。またデキストラン硫酸大腸炎 (DSS) モデルに対するラット HGF 遺伝子の投与実験については、昨年度の成果をさらに発展させ、実験腸炎ラットを用い HGF 蛋白の内視鏡下粘膜下注入療法を確立し十分な腸炎発症阻止効果を持つことを明らかにした (鈴木)。研究代表者によるヒト骨髓由来細胞の解析においても、昨年度のヒト骨髓由来上皮細胞のバランスのとれた腸管上皮再生のメカニズムを本年度さらに発展させ、腸管上皮細胞分化の分子機構解析に着手し Notch シグナル分子機能の重要性を明らかとすると共に Wnt シグナルの新たな分化機構を発見した (渡辺)。

p-2: 腸管特異的免疫調節機構を標的とした治療法の開発

分担研究者・竹田らは、これまでマクロファージで IL-10 シグナルに関わる STAT3 が慢性大腸炎症抑制に必須であること、Toll-like receptor (TLR) ファミリー分子が慢性腸炎発症のトリガーとなること、さらに、IL-10 刺激によりマクロファージで誘導される Bcl-3 が、TLR 刺激依存性の TNF- α 産生を特異的に抑制していることなどを報告してきた。昨年度の正常大腸粘膜固有層マクロファージに特異的に発現する I κ BNS の IL-6 産生への関与を今年度さらに発展させ、I κ BNS ノックアウトマウスを作製し、実験腸炎の感受性上昇を確認し腸炎発症に重要な機能をもつことを明らかにした。分担研究者・高後は独自

の小腸陰窩単離技術を用い、クローン病患者の活動性病変の Paneth 細胞で alpha-defensin 発現が低下し細菌曝露による殺菌活性放出が有意に低下することを示し今年度はさらに発展させ、defensin 誘導作用を持つ Isoleucine のパイロット臨床治験を施行し、炎症性腸疾患患者の症状改善を認め、自然免疫機能の制御が有効な炎症性腸疾患治療法となりうる可能性を提示した。分担研究者・日比は DSS 誘発腸炎モデルマウスにおいて好中球エラストラーゼ阻害薬の有効性を確認しさらに、胃粘膜保護作用を持つ rebamipide 注腸療法の臨床治験を開始した。代表研究者・渡辺は、IL-7 受容体を介する刺激が粘膜リンパ球、特に慢性大腸炎局所の粘膜リンパ球に強い増殖活性を有することを見だし、IL-7 が慢性大腸炎発症に密接に関わる可能性を示すとともに、IL-7 レセプター高発現粘膜リンパ球がヒト炎症性腸疾患の新規治療標的となりうる可能性を示した。また、腸管上皮細胞を用いて IL-7 産生機構をヒト細胞で初めて明らかにし、そのマスター遺伝子が IRF-1 であることを明らかにしさらに免疫プロテアソーム構成体の発現機構を明らかにするなど、腸管上皮細胞における粘膜免疫調節機構に関する独自の研究を進展させ、一定の評価を得ることとなった。

p-3: 選択的細胞除去療法の開発 本年度は分担研究者・中村により、これまでの血球成分除去療法の改変型とし、除去された白血球より制御性 T 細胞を分離し体内に戻す「制御性 T 細胞移入療法」の試みがおこなわれ、活動性潰瘍性大腸炎に対するより効果の高い新規治療として方法論的および理論的妥当性が示された。本年度は倫理委員会承認のもと潰瘍性大腸炎患者より実際に除去された白血球から制御性 T 細胞の回収に成功しており再移入への可能性をしめした。また研究代表者・渡辺は潰瘍性大腸炎患者の除去された白血球よりダイナビーズを用いた CD25 陽性制御性 T 細胞の分離・回収システムを構築し、倫理委員会に申請中である。

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立

分担研究者・岡崎は、高分子バイオマテリアルの一種であるポリ-L-D 乳酸 (PDLLA) マイクロカプセルを

用いた免疫調節剤封入マイクロカプセルの作成を試み、マウス腸炎モデルを用いた実験で、経口投与による粘膜免疫の選択的制御の有用性・安全性を検討してきたが、本年度は更に臨床応用として倫理審査委員会に承認され潰瘍性大腸炎患者に投与できる状態になった。

個々の分担研究に関する結果については、それぞれの分担研究報告書において詳述する。

C. 評価

1) 達成度について

本研究の目的に沿って研究計画をほぼ遂行することができた。新規治療法開発として膨大な量の基礎的解析を元に動物実験における腸炎に対する有効性・安全性を確認し、倫理審査委員会の承認を経て臨床応用を開始したプロジェクトが確立できた。また倫理審査委員会申請中など臨床前段階まで達成できたプロジェクトも多数開発することができ、基礎的データも新たな治療法への可能性を示すことができたことから画期的治療法が確立できるものと考えられる。よって本研究の達成度は高い。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

本研究にて倫理審査委員会の承認を経て臨床応用しているプロジェクトを 4 件確立することができ実際に炎症性腸疾患治療と直結しており社会的意義が高いと考えられる。また基礎的解析結果に関しては炎症性腸疾患の病因解析の新たな知見から治療ターゲットとしての可能性を示しただけでなく、腸管再生・分化の新たなシステムの解明は再生医療への可能性も示し学術的にも高く評価され、実際インパクトの高い海外学術雑誌に多数掲載されたことより国際的評価も高いと考えられる。

3) 今後の展望について

上皮細胞の再生のための分子療法、細胞移植療法の確立: 本年度の検討により、上皮細胞の再生に対する HGF の有効性がさらに確認された。実際、組み換え HGF による腸管粘膜再生治療は臨床試験として分担研究施設ですでに承認されている。今後、詳細な効果発現機序の解明と安全な投与経路の確立などの

検討と平行し、ヒト投与への準備をさらに進めていきたい。骨髄由来細胞による粘膜上皮の再生を目指した治療法は、欧米においては既に病的 T 細胞を除去する目的でヒトクローン病に対する自家骨髄移植、末梢血幹細胞移植が始まっており、これを上皮再生というこれまで異なる視点からも解析を進めることにより、骨髄細胞を上皮再生にも利用し得る治療法につながるものと考えられる。

腸管特異的免疫調節機構を標的とした治療法の開発：腸管免疫調節機構の解明を目指す本プロジェクトでは、むしろ慢性大腸炎症に潜む免疫学的異常の基礎知見を明らかとすることに主眼をおいたが、分担研究者との共同により、世界的にも注目されるインパクトの高い研究成果が得られている。さらに Isoleucine、rebamipide など臨床応用に発展しており、これら基礎知見に基づく画期的治療戦略の確立を念頭におき、多方向からのアプローチでの研究を継続する予定である。

選択的細胞除去療法の開発：血球成分除去療法の有効性と安全性に関する詳細な臨床研究の継続により、炎症性腸疾患治療におけるこれら治療法の位置付けが示されるものと考えられる。さらに、改変型血球除去療法として位置づけられる「制御性 T 細胞移入療法」の考えは、免疫学の進展により最近急速に理解が深まりつつある制御性 T 細胞の機能解析と平行することで、活動性潰瘍性大腸炎における有望な治療として期待されるものであり、研究代表者・分担研究者の両組織において技術基盤をほぼ確立できたため臨床応用での有効性を検討していく段階である。

分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立：ラットに於ける慢性毒性試験において D x - M S の長期投与の安全性が確認され、有効なドラッグデリバリーシステムとして分担研究施設での臨床試験として承認され臨床応用が開始されその効果が期待される。

総括：各プロジェクトにおいて臨床応用、臨床応用の可能性を示す可能性を示すことができたがそれぞれの治療法のさらなる確立を目指すと共に各治療法の併用など統合的な治療戦略が望まれる。

4) 研究内容の効率性について

当初たてた目標を着実に遂行できており一定の効率性は挙げられたが、臨床応用を目指す事より安全性の確保が最優先であったことから倫理審査委員会の承認から実際の治験開始までの効率は多少低下したプロジェクトもあった。

D. 結論

研究代表者および分担研究者の協調的研究体制により、基礎的解析、動物実験を元に早期の臨床応用を目指した成果を確実に挙げられた。炎症制御・免疫調節・腸管再生等の我々が発見した知見を元にした臨床治療開発と共に治療のデリバリーシステム開発から、より新たな治療法開発をすることができた。今後さらなる臨床応用の確立と統合的な治療計画開発が望まれ、これにより、日常生活を制限される多くの若年層患者に対して QOL の向上を伴う炎症性腸疾患の画期的治療法の開発が早期に可能になるものと考えられる。

Ⅲ. 分担研究報告

ヒト腸管上皮の分化/再生制御機構を応用した粘膜再生療法の開発

分担研究者 渡辺 守 東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野 教授

研究要旨：本研究は骨髄細胞による腸管上皮再生機構という独自の成果に基づき、その機構の詳細および腸管上皮細胞分化の分子機構を解析した。その結果、骨髄由来分泌型腸管上皮細胞への分化誘導を促進する腸管内分化調節機構が存在し得る可能性が示された。さらに、Notch シグナルによる腸管上皮細胞の分化制御機構の存在と、上皮再生過程で活性型 Notch が制御する新たな分子機能を明らかとした。これらの成果は、重篤な上皮再生機構の破綻を示す難治性炎症性腸疾患に対し、腸管上皮の再生と早期の機能回復を図る多面的かつ多段階のアプローチを可能とし、細胞療法と分子療法を統合した新規治療法開発につながる研究基盤を確立したものと考えられる。

共同研究者

岡本隆一、大島 茂、山崎元美、土屋輝一郎、
金井隆典
東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野

A. 研究目的

本研究は代表者らがこれまでの研究成果から独自に見いだした、腸管上皮のみに内在する特異的な再生機構の追究と、それを利用した組織再生誘導を促す炎症性腸疾患に対する新規治療法の確立を最終的に目指すものである。炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病）や骨髄移植後移植片対宿主反応による難治性慢性腸疾患は、その発症と病態の維持に粘膜上皮の再生機構の破綻が深く関わるが、その詳細な分子機構はいまだ解明されていない。従って、従来腸管上皮再生を促進する標的細胞・分子を明確に定めた特異的再生療法の確立は極めて困難であった。しかしながら、これまで申請者らは、傷害後の腸管上皮再生に骨髄細胞による組織修復機構が関わることを明らかにし（Nat Med 2002）、腸管上皮再生研究において世界的にも評価の高い成果をあげてきた。さらに、腸管上皮細胞でのサイトカイン発現調節に Interferon Regulatory Factor (IRF) ファミリー転写因子群によるきわめて独特で腸管独自の転写制御

機構が関与し、特に IRF-1 分子が特定の分化形質を有する上皮細胞に於いて強く発現し、機能している可能性を示した (Mol Cell Biol 2004)。このように上皮細胞分化と炎症性サイトカイン等による細胞内シグナルを統合し、同一の視点でとらえる独創的な成果をあげてきた。本研究ではこれを発展させ、1) 腸管上皮の組織修復過程における骨髄細胞動員の詳細なメカニズムの検討、2) 腸管上皮細胞の分化制御における Notch シグナルの新規機能の探索、をおこなうことを目的とした。

B. 方法・結果

1) 男性ドナーより同種骨髄移植を受けた女性レシピエントより経時的に採取した内視鏡生検組織検体を解析した。Y 染色体 FISH 法と免疫染色法を組み合わせた連続切片による検討、および同一切片を用いた二重染色法を行い、ドナー骨髄由来腸管上皮細胞を同定する解析法を樹立した。さらに同法を用いて上皮再生時の骨髄由来上皮細胞の変化および分布を、幹細胞マーカー、増殖マーカー、および上皮細胞分化形質マーカーとの対比において検討した。その結果、a) 全消化管（食道、胃、十二指腸、回腸、大腸）にわたり、ドナー骨髄由来腸管上皮細胞の分布を認め、b) 骨髄由来腸管上皮細胞は GVHD の回復期小腸

において全上皮細胞における頻度が 9-10 倍上昇した。c) 骨髄由来上皮細胞は腸管上皮中において散在する分布形態を示し、上皮幹細胞マーカーである Msi-1 の発現は極めて稀であった。d) 上皮再生過程の腸管において骨髄由来上皮細胞は、上皮 Crypt 内増殖帯における全 Ki-67 陽性上皮細胞に占める頻度が有意に増加した。e) GVHD からの再生過程の腸管においては、正常検体との比較し、骨髄細胞由来の杯細胞、神経内分泌細胞、パネート細胞の著しい頻度の上昇を認めた。

2) ヒト大腸癌由来培養細胞およびヒト内視鏡下生検組織を用い、上皮細胞分化形質と Notch シグナル活性化の関連を解析した。その結果、a) 杯細胞消失、パネート細胞化生など分化形質制御の異常を呈する慢性大腸炎病変部に一致して、Notch シグナル構成分子の異常発現が局在することを見出した。b) また、我々が独自に樹立した、培養細胞を用いた恒常的な Notch シグナル活性化の誘導系と、マイクロアレイ解析の併用により、Notch シグナルの恒常的な活性化が種々の腸管上皮分化マーカーの発現を mRNA レベルで制御していることを見出した (いずれも未発表データ)。

(倫理面への配慮)

以上の研究の施行に当たっては、厚生科学審議会の「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」などに準じて、1) 倫理審査委員会で研究の適否などを議論・審査し承認を得る。2) 意義と必要性を説明しその自由意志に基づき同意を得られた場合にのみ検体提供を受ける。検体提供の有無により、治療など不利益を被ることはない。3) 個人のプライバシーの保護を厳密に行う。4) 希望に応じ検体提供者やその保護者への研究結果の説明を行う。5) 研究目的でのみ検体を使用し、その他の目的では使用しない等、人権及び利益の確保を行うよう配慮した。

C. 考察

1) 傷害腸管の修復機構と骨髄由来腸管上皮細胞の関与を明確にした。定常状態の腸管上皮に比べ、傷害後の再生過程の上皮では骨髄由来上皮細胞の著し

い増加が再現され、骨髄由来細胞が腸管上皮の再生過程を促進する役割を果たすものと考えられた。さらに、骨髄由来細胞は腸管上皮幹細胞との形質は獲得せず、むしろ増殖が活発な Crypt 内の上皮前駆細胞として分布し、腸管上皮のいずれの細胞系列へも分化を遂げ機能細胞となりうることにより腸管修復を促進し得ていることが示された。さらに、腸管上皮の再生時に骨髄由来の杯細胞、神経内分泌細胞、パネート細胞の著しい増加が見られることから、上皮再生過程において機能する未知の分化調節機構が存在し、骨髄細胞の分泌型上皮細胞群への細胞分化に働き、早期の腸管上皮機能の回復に極めて重要な役割を果たしていると考えられた。

2) 腸管上皮細胞の分化制御に Notch シグナルの恒常的な活性化が重要な役割を持っていること、およびヒト炎症性腸疾患における上皮の分化/再生機構の破綻には、Notch シグナルの異常な活性化が関わる可能性が示された。さらに、Notch シグナルの活性化により制御される標的遺伝子群が明らかとなり、杯細胞、パネート細胞、あるいは神経内分泌細胞など特異的分化形質発現に対する Notch シグナルの促進的あるいは抑制的作用という分子機能をヒト腸管に於いて有することが示された。

D. 結論

極めて短期間に組織更新を続ける事が組織の恒常性と機能の維持に必須である腸管上皮において、特定の機能を持った成熟上皮細胞を質的、量的に秩序正しく安定して供給するためのメカニズムとして複数の制御機構、すなわち Notch シグナルによる腸管特異的標的遺伝子の発現制御機構、および骨髄細胞による細胞レベルでの上皮機能の維持制御機構が存在することを示した。これらの成果は、上皮再生不全を伴うヒト疾患に関わる分子機構研究に全く新しい視点を創出するとともに、上皮傷害に対し、骨髄細胞の動員と Notch シグナルの人為的制御により、腸管上皮の早期の再生と機能回復を図る多面的かつ多段階のアプローチが可能となり、細胞療法と分子療法を統合した新規治療法開発につながる研究基盤を確立したものと考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsumoto T, Okamoto R, Yajima T, Mori T, Okamoto S, Ikeda Y, Mukai M, Yamazaki M, Oshima S, Tsuchiya K, Nakamura T, Kanai T, Okano H, Inazawa J, Hibi T, Watanabe M: Increase of bone marrow-derived secretory lineage epithelial cells during regeneration in the human intestine. *Gastroenterology*. 128: 1851-1867, 2005.
 2. Okada E, Yamazaki M, Tanabe M, Takeuchi T, Nanno M, Oshima S, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Kanai T, Hibi T, Watanabe M: IL-7 exacerbates chronic colitis with expansion of memory IL-7R^{high} CD4⁺ mucosal T cells in mice. *Am J Physiol*. 288: G745-G754, 2005.
 3. Namiki S, Nakamura T, Oshima S, Yamazaki M, Sekine Y, Tsuchiya K, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: IRF-1 mediates upregulation of LMP7 by IFN-gamma and concerted expression of immunosubunits of the proteasome. *FEBS Lett*. 579: 2781-2787, 2005.
 4. Totsuka T, Kanai T, Makita S, Fujii R, Nemoto Y, Oshima S, Okamoto R, Koyanagi A, Akiba H, Okumura K, Yagita H, Watanabe M: Regulation of murine chronic colitis by CD4⁺CD25⁻ programmed death-1⁺ T cells. *Eur J Immunol*. 18: 1773-1785, 2005.
 5. Okamoto R, Watanabe M: Cellular and molecular mechanisms of epithelial repair in IBD. *Dig Dis Sci*. 50: S34-S38, 2005.
 6. Kanai T, Watanabe M: Clinical application of human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells for the treatment of inflammatory bowel diseases. *Expert Opin Biol Ther*. 5: 451-462, 2005.
 7. Tahara T, Inoue N, Hisamatsu T, Kashiwagi K, Takaishi H, Kanai T, Watanabe M, Ishii H, Hibi T: Clinical significance of microsatellite instability in the inflamed mucosa for the prediction of colonic neoplasms in patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 20: 710-715, 2005.
 8. Matsukawa H, Kanai T, Naganuma M, Kamada N, Hisamatsu T, Takaishi H, Ogata H, Mukai M, Ishii H, Mimori T, Watanabe M, Hibi T: A novel apoptosis-inducing monoclonal antibody (anti-LHK) against a cell surface antigen on colon cancer cells. *J Gastroenterol*. 40: 945-955, 2005.
 9. Kanai T, Kawamura T, Dohi T, Makita S, Nemoto Y, Totsuka T, Watanabe M: Th1/Th2-mediated colitis induced by adoptive transfer of CD4⁺CD45RB^{high} T lymphocytes into nude mice. *Inflamm Bowel Dis*. 12: 89-99, 2006.
 10. Kanai T, Tanimoto K, Nemoto Y, Fujii R, Totsuka T, Watanabe M: Naturally arising CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells suppress the expansion of colitogenic CD4⁺CD44^{high}CD62L⁻ effector-memory T cells. *Am J Physiol*. (in press), 2006.
 11. Fujii R, Kanai T, Nemoto Y, Makita S, Oshima S, Okamoto R, Tsuchiya K, Totsuka T, Watanabe M: FTY720 suppresses CD4⁺CD44^{high}CD62L⁻ effector memory T cell-mediated colitis. *Am J Physiol*. (in press), 2006.
 12. Kanai T, Uraushihara K, Totsuka T, Nemoto Y, Fujii R, Kawamura T, Makita S, Yagita H, Okumura K, Watanabe M: Ameliorating effect of saporin-conjugated anti-CD11b monoclonal antibody in a murine T-cell-mediated chronic colitis. *J Gastroent Hepatol*. (in press), 2006.
- ### 2. 学会発表
1. 土屋輝一郎, 中村哲也, 渡辺 守: 転写因子 Math-1 活性化の分子機構と腸管上皮分化制御. 第 91 回日本消化器病学会, 東京, 2005. 4. 14

2. 岡本隆一, 中村哲也, 渡辺 守: 活性型 Notch の発言調節によるヒト腸管上皮再生の可能性. 第 91 回日本消化器病学会, 東京, 2005. 4. 14
3. 根本泰宏, 金井隆典, 蒔田 新, 藤井 玲, 河村貴広, 戸塚輝治, 渡辺 守: マウス腸管粘膜内 CD4+T 細胞は制御性 T 細胞として慢性大腸炎発症を抑制する. 第 91 回日本消化器病学会, 東京, 2005. 4. 14
4. 蒔田 新, 金井隆典, 戸塚輝治, 河村貴広, 根本泰宏, 大島 茂, 小金井一隆, 福島恒男, 渡辺 守: ヒト腸粘膜内 CD4+CD25bright 制御性 T 細胞の存在と機能. 第 91 回日本消化器病学会, 東京, 2005. 4. 14
5. 戸塚輝治, 金井隆典, 根本泰宏, 蒔田 新, 浦牛原幸治, 飯山稜一, 八木田秀雄, 渡辺 守: 慢性大腸炎モデルにおける CD4+PD-1+制御性 T 細胞の役割. 第 91 回日本消化器病学会, 東京, 2005. 4. 14
6. 渡辺 守: 治療抵抗性の炎症性腸疾患に対する治療戦略. 第 91 回日本消化器病学会, 東京, 2005. 4. 15
7. 金井隆典, 河村貴広, 渡辺 守: 腸内細菌から TLR9+B220+B 細胞をトリガーとした慢性腸炎発症機序. 第 91 回日本消化器病学会, 東京, 2005. 4. 15
8. 金井隆典, 蒔田 新, 渡辺 守: 制御性 T 細胞からみた炎症性腸疾患の病態と治療応用. 第 91 回日本消化器病学会, 東京, 2005. 4. 15
9. Oshima S, Nakamura T, Namiki S, Kanai T, Watanabe M: IRF-1 and IRF-2 Distinctively Up-Regulate Gene Expression and Production of IL-7 in Human Intestinal Epithelial Cells. DDW 2005, Chicago, Illinois, USA, 2005. 5. 15
10. Namiki S, Nakamura T, Oshima S, Yamazaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Identification of Novel IRF-1-Regulated Genes and the Role of IRF-1 in Immuno Proteasome Subunit Expression in Intestinal Epithelial Cells. DDW 2005, Chicago, Illinois, USA, 2005. 5. 15
11. Totsuka T, Kanai T, Makita S, Fujii R, Nemoto Y, Watanabe M: Regulation of Murine Chronic Colitis by CD4+CD25- PD-1+ Regulatory T Cells. DDW 2005, Chicago, Illinois, USA, 2005. 5. 16
12. Tsuchiya K, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: The Bhlh Transcription Factor Math-1 is Posttranslationally Regulated by the Ubiquitin-Proteasome Pathway in the Intestine-Specific Mechanism. DDW 2005, Chicago, Illinois, USA, 2005. 5. 16
13. Kawamura T, Kanai T, Kodama H, Totsuka T, Makita S, Nemoto Y, Watanabe M: Leukocytapheresis Therapy for Ulcerative Colitis; Extracorporeal Anti-TNF-A Therapy for Selective Elimination of TNF-A-Producing CD14+CD16+ Monocytes. DDW 2005 Chicago, Illinois, USA, 2005. 5. 18
14. Kanai T, Makita S, Oshima S, Totsuka T, Fukushima T, Watanabe M: Regulation of intestinal immune homeostasis by human lamina propria CD4+ CD25bright regulatory T cells. 12th International Congress of Mucosal Immunology, Boston, Massachusetts, USA, 2005. 6. 25-30
15. Makita S, Kanai T, Watanabe M: Control of intestinal homeostasis by human intestinal lamina propria CD4+CD25bright T cells. 12th International Congress of Mucosal Immunology, Boston, Massachusetts, USA, 2005. 6. 25-30
16. Nemoto Y, Kanai T, Makita S, Totsuka T, Fujii R, Kawamura T, Watanabe M: Murine lamina propria CD4+ T cells suppress the development of chronic colitis. 12th International Congress of Mucosal Immunology, Boston, Massachusetts, USA, 2005. 6. 25-30
17. Okada E, Yamazaki M, Tanabe M, Takeuchi T, Nanno M, Nakamura T, Kanai T, Ishikawa H, Hibi T, Watanabe M: IL-7 exacerbates chronic colitis with expansion of memory IL-7Rhigh CD4+ mucosal T cells in mice. 12th International Congress of

Mucosal Immunology, Boston, Massachusetts, USA,
2005. 6. 25-30

18. 蒔田 新, 金井隆典, 戸塚輝治, 根本泰宏, 伊藤ゆみ, 藤井 玲, 渡辺 守: 制御性 T 細胞を用いた炎症性腸疾患治療の可能性. 第 47 回日本消化器病学会, 神戸, 2005. 10. 6
19. 根本泰宏, 金井隆典, 蒔田 新, 藤井 玲, 伊藤ゆみ, 戸塚輝治, 渡辺 守: マウス腸管粘膜内 CD4+T 細胞の免疫トレンランスへの関与. 第 47 回日本消化器病学会, 神戸, 2005. 10. 6
20. 岡本隆一, 渡辺 守: 骨髄由来細胞による小腸粘膜防御機構の再生. 第 36 回日本消化吸収学会・第 47 回日本消化器病学会合同, 神戸, 2005. 10. 8
21. 渡辺 守: ヒト腸管上皮細胞由来 IL-7 による粘膜免疫および上皮分化・再生の制御. 第 33 回日本臨床免疫学会, 京都, 2005. 10. 28
22. Yoshioka A, Oshima S, Tsuchiya K, Namiki S, Okamoto R, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Functional roles of intestinal epithelial cells through transcription factor IRF-1. 第 35 回日本免疫学会, 横浜, 2005. 12. 15
23. Kanai T, Makita S, Nemoto Y, Totsuka T, Watanabe M: Regulation of intestinal inflammation by lamina propria CD4+ CD25+ / bright T cells. 第 6 回 Colloquium for the Study of Gastrointestinal Defense System (日本消化器免疫学会サテライトシンポジウム), 大阪, 2006. 1. 14

G. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)

1 特許取得

なし

2 実用新案登録

なし

3 その他

特になし

自然免疫制御による炎症性腸疾患の治療法開発

分担研究者 高後 裕 旭川医科大学医学部内科学第三講座 教授

研究要旨

腸管上皮であるパネート細胞由来の内因性抗菌ペプチドの分泌を誘導する新たな自然免疫制御療法開発の可能性を検討した。インフォームド・コンセントの下に、健常ボランティア及び炎症性腸疾患患者に対して、Isoleucine 4g/day を経口投与し、臨床症状、CDAI 等の推移を検討するパイロット臨床試験を実施し、腸内細菌叢の変化や下痢回数の減少および CDAI の減少が認められた。本パイロット臨床試験により、Isoleucine による炎症性腸疾患患者に対する新たな自然免疫制御療法の臨床応用の可能性が示された。

A. 研究目的

炎症性腸疾患患者に対して、腸管上皮由来の内因性抗菌ペプチド分泌を誘導する新たな腸管自然免疫制御療法を開発する可能性を検討することを目的とした。

B. 研究方法

インフォームド・コンセントの下に、健常ボランティア及び炎症性腸疾患（クローン病および潰瘍性大腸炎）患者に対して、小腸パネート細胞由来の α デフェンシン分泌誘導作用を有することを明らかにした Isoleucine 4g/day を経口投与し、各種臨床症状および CDAI 等の推移を検討するパイロット臨床試験を実施した。

（倫理面への配慮）

本研究の遂行に当たっては、意義と必要性を説明しその自由意志に基づき同意を得られた場合にのみパイロット臨床試験を実施した。被験者には、同意しなかったことによる不利益が一切ない旨を説明した。臨床試験等に当たって、および本研究結果公表の際には、被験者、その家族・血縁者その他の関係者の人権、利益及びプライバシーの保護に配慮した。

C. 研究結果

当該パイロット臨床試験の結果、投与した isoleucine は健常者および炎症性腸疾患患者の腸内細菌叢を変化させ、炎症性腸疾患患者では一日の下痢回数を有意に減少させた。また、CDAI のスコアは有意な低下を認めた。われわれは、isoleucine が *in vitro* で小腸パネート細胞からの α デフェンシン分泌を誘導することを示した。当該パイロット試験により、isoleucine が小腸の自然免疫機能低下を認

める炎症性腸疾患患者の病態改善に寄与する可能性を示した。

D. 考察

クローン病患者における小腸パネート細胞由来の自然免疫機能の低下を明らかにしてきたわれわれのこれまでの研究成果を基にして、炎症性腸疾患患者を対象とした自然免疫誘導・賦活物質の治療効果を検証するパイロット臨床試験をはじめて施行した。本研究によって、腸管特有の自然免疫機構の解明と、それを利用した具体的な新規炎症性腸疾患治療法の確立に直結する重要な成果を得られたものと考えられる。

E. 結論

パイロット試験を施行して、isoleucine による自然免疫賦活を応用した炎症性腸疾患に対する治療効果を認めた。炎症性腸疾患に対する新規自然免疫制御療法の臨床応用につながる成果を得た。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Inoue M, Ohtake T, Motomura W, Takahashi N, Hosoki Y, Miyoshi S, Suzuki Y, Saito H, Kohgo Y, Okumura T. Increased expression of PPAR γ in high fat diet-induced liver steatosis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 336: 215-222, 2005.
- 2) Matsumoto T, Iida M, Kohgo Y, Imamura A, Kusugami K, Nakano H, Fujiyama Y, Matsu T,

- Hibi T. Therapeutic efficacy of infliximab on active Crohn's disease under nutritional therapy. *Scand J Gastroenterol* 40: 1423-1430, 2005
- 3) Motomura W, Tanno S, Takahashi N, Nagamine M, Fukuda M, Kohgo Y, Okumura T. Involvement of MEK-ERK signaling pathway in the inhibition of cell growth by troglitazone in human pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2005, 332: 89-94.
- 4) Watari J, Saitoh Y, Fujiya M, Nakamura K, Inaba Y, Okamoto K, Tanabe H, Yasuda A, Miyokawa N, Kohgo Y. Spontaneous remission of primary diffuse large B-cell gastric lymphoma. *J Gastroenterol* 2005, 40: 414-420.
- 5) Mizukami Y, Jo WS, Duerr EM, Gala M, Li J, Zhang X, Zimmer MA, Iliopoulos O, Zukerberg LR, Kohgo Y, Lynch MP, Rueda BR, Chung DC. Induction of interleukin-8 preserves the angiogenic response in HIF-1 α -deficient colon cancer cells. *Nat Med* 11: 992-997, 2005.
2. 学会発表
- 1) Ito T, Ayabe T, Kono T, Tanabe H, Maemoto A, Watari J, Ashida T, Hira Y, Watanabe T, Ouellette AJ, Kohgo Y. Innate Intestinal Immunity Stimulated By the Crosstalk Between Bacteria and Paneth Cells Which Express Toll-Like Receptors. DDW/AGA 2005 Chicago, USA 2005. 5. 17
- 2) Ayabe T, Tanabe H, Kono T, Ito T, Maemoto A, Watari J, Ashida T, Ouellette AJ, Kohgo Y. The Innate Intestinal Immunity By Paneth Cells and Their Alpha-Defensins in Patients With Crohn's Disease DDW/AGA 2005 Chicago, USA 2005. 5. 17
- 3) Tanabe H, Ayabe T, Maemoto A, Ito T, Ashida T, Kohgo Y. Paneth cell defensin deficiency in Crohn's disease. 11th. US-Japan GI&Liver Meeting Tokyo, Japan 2005. 6. 24
- 4) Maemoto A, Ito T, Tanabe H, Ashida T, Kohgo Y, Ayabe T Down-regulation of Paneth cell α -defensin expression and function in patients with Crohn's disease. 35th. Japan Society for Immunology Annual Meeting, Yokohama, Japan. 2005. 12. 15.
- 5) 河野 透, 綾部時芳, 高後 裕. ヒト腸上皮幹細胞の同定、分離から培養へのプロセス. 第 91 回日本消化器病学会総会シンポジウム, 東京, 2005 年 4 月 14 日
- 6) 綾部時芳, 蘆田知史, 高後 裕. Innate immunity からみた炎症性腸疾患の病態と最新の治療の評価 - 炎症性腸疾患における内因性抗菌ペプチドの病態への関与 -. 第 91 回日本消化器病学会総会シンポジウム. 東京, 2005 年 4 月 15 日
- 7) 伊藤貴博, 綾部時芳, 高後 裕. 消化管疾患における腸管内細菌叢の攪乱と Biotherapy の意義 - クロウン病患者における抗菌ペプチドによる腸内細菌制御の攪乱の可能性 -. 第 91 回日本消化器病学会総会ワークショップ, 東京, 2005 年 4 月 15 日
- 8) 前本篤男, 綾部時芳, 伊藤貴博, 田邊裕貴, 蘆田知史, 高後 裕. クロウン病における Paneth 細胞とその抗菌 ペプチドによる innate immunity の破綻. 第 42 回日本消化器免疫学会総会シンポジウム, 東京, 2005 年 8 月 5 日
- H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

炎症性腸疾患に対する HGF および HGF 遺伝子粘膜下注入療法の開発

分担研究者 鈴木 健司 新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学分野 助手

研究要旨

炎症性腸疾患に対する粘膜再生療法が従来の治療法を補う新規治療法として期待されている。われわれは、肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor: HGF）の遺伝子治療がデキストラン硫酸ナトリウム（dextran sodium sulfate: DSS）腸炎モデルに対して有効であることをこれまで示した。今年度は、HGF を用いた炎症性腸疾患に対する臨床応用可能な治療法を開発するために、DSS 腸炎ラットに対し、極細径内視鏡を用いて、遺伝子組み換え型ヒト HGF および HGF 遺伝子の大腸粘膜下注入療法を試みた。同療法は肝臓への遺伝子導入による HGF 遺伝子治療と同様の治療効果が得られることを示した。HGF および HGF 遺伝子の内視鏡による局所投与治療法は、標的臓器へ直接薬剤を到達させることができ、全身への薬剤移行を介さない。本治療法は HGF の副作用発現の危険性を最小限に留め、現時点で臨床応用可能な治療法となりうると考えられた。

A. 研究目的

炎症性腸疾患に対する新規治療法としての粘膜再生療法の開発が、従来の治療法を補う重要な治療法として期待されている。

我々は肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor: HGF）の遺伝子治療による、炎症性腸疾患に対する粘膜再生療法開発の基礎的な検討を進めた。これまで HGF 遺伝子の肝臓への導入により腸炎治療効果が得られ、HGF 遺伝子の繰り返し導入により治療効果が高まることを示した。また、HGF 遺伝子の注腸投与による局所遺伝子導入も腸炎治療効果を示すことを示した。

今年度は、HGF を用いた炎症性腸疾患に対する臨床応用可能な治療法を開発するために、DSS 腸炎ラットに対し、極細径内視鏡を用いて、遺伝子組み換え型ヒト HGF (rhHGF) および HGF 遺伝子の大腸粘膜下注入療法を検討した。

B. 研究方法

20 週齢オス Wistar/ST ラットに 5% DSS を 7 日間自由飲水させ腸炎を惹起した。ラット HGF 遺伝子発現プラスミドを実験開始後 0 日に、経肛門的に挿入した極細径内視鏡より、局注針を用いて 4 箇所（遠位大腸粘膜下に組み換えヒト HGF および HGF 遺伝子を注入した。注入後より 7 日まで経過観察し腸炎治療効果を判定した。

HGF 遺伝子および組み換えヒト HGF 注入両実験で、対照には無治療ラットを用いた。経時的に症状、大

腸腸管長を観察し、定量 RT-PCR による大腸組織のサイトカイン発現解析、HE 染色標本の光学顕微鏡観察による組織学的解析、免疫蛍光法による大腸浸潤細胞のフェノタイプ解析とそのサイトカイン発現の解析、Ki67 染色による上皮細胞の増殖期解析、TUNEL 法によるアポトーシス解析を行った。

（倫理面への配慮）

以上の実験は新潟大学大学院医歯学総合研究科の動物実験倫理規定マニュアルに沿って行われた。

C. 研究結果

HGF 遺伝子導入ラットは、無治療ラットに比べ、臨床重症度、大腸腸管長、組織学的病変の強さ、浸潤細胞数、炎症性サイトカイン産生の抑制と抗炎症性サイトカイン産生、いずれにおいても有意差をもって治療効果が示された。さらに、Ki67 陽性の増殖細胞の増加と TUNEL 陽性のアポトーシス細胞の減少が、大腸腸上皮細胞において認められた。

組み換えヒト HGF 粘膜下注入ラットにおいても、無治療ラットに比べ、臨床重症度、大腸腸管長、組織学的病変の強さ、浸潤細胞数、炎症性サイトカイン産生の抑制と抗炎症性サイトカイン産生、いずれにおいても有意差をもって治療効果が示された。さらに、Ki67 陽性の増殖細胞の増加と TUNEL 陽性のアポトーシス細胞の減少が、大腸腸上皮細胞において認められた。

D. 考察

HGF 遺伝子治療は肝臓への遺伝子導入および大腸への局所導入いずれにおいても、DSS 腸炎に対して腸炎発症阻止効果を持つことをわれわれはこれまでの研究で報告した。一方、HGF 遺伝子を肝臓へ導入し、血中 HGF 濃度を上昇させる方法は人には実際の臨床応用が不可能である。さらに、血中の HGF 濃度を上昇させ続けることは全身諸臓器へ及ぼす副作用の危険性を有している。また、腸炎治療効果を見た場合、陰窩腸の増進に見られた大腸上皮の過形成傾向は、炎症性腸疾患に合併する colitic cancer の発生の危険性を考えると注意すべき所見と考えられた。

そこで、今回われわれは内視鏡を用いた、HGF 遺伝子および rhHG の大腸局所への投与方法を開発し、上記問題点克服を目指した。rhHGF および HGF 遺伝子の内視鏡による局所投与治療法は、標的臓器へ直接薬剤を到達させることができ、全身への薬剤移行を介さない。本治療法は HGF の副作用発現の危険性を最小限に留め、現時点で臨床応用可能な治療法となりうると期待された。今後は発ガンの危険性などの副作用に対して十分検討を加え安全性を確認する必要がある。

E. 結論

HGF 遺伝子治療は粘膜再生に基づいた炎症性腸疾患の新規治療法となりうる可能性が示唆された。ただし、HGF 遺伝子治療を実際に炎症性腸疾患に臨床応用するためには解決しなければならない障害が少なからず存在する。一方、遺伝子組み換え型ヒト HGF は劇症肝炎に対する治験が、現在京都大学で開始されている。今後は、本研究で動物実験に対して有効性を証明したように、遺伝子組み換え型ヒト HGF の内視鏡的粘膜下注入療法により、炎症性腸疾患に対する治験を計画し臨床応用を現実化させていくことが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hanawa T, Suzuki K, Kawauchi Y, Takamura M, Yoneyama H, Han GD, Kawachi H, Shimizu F, Asakura H, Miyazaki J, Maruyama H, Aoyagi Y: Attenuation of mouse acute colitis by hepatocyte growth factor gene transfer into the liver. *J Gene Medicine*. Published

Online:14 Feb 2006

2) Han GD, Suzuki K, Koike H, Suzuki K, Yoneyama H, Narumi S, Shimizu F, Kawachi H: IFN-inducible protein-10 plays a pivotal role in maintaining slit-diaphragm function by regulating podocyte cell-cycle balance. *J Am Soc Nephrol*. Published Online December 28, 2005

3) 河内裕介, 鈴木健司, 埴孝泰, 米山博之, 河内裕, 韓基東, 清水不二雄, 青柳豊: マウス DSS 腸炎に対する HGF 遺伝子治療の検討. *消化器と免疫*, 143-146, マイライフ社, 2005 年 7 月

2. 学会発表

1) Kawauchi Y, Suzuki K, Hanawa T, Yoneyama H, Maruyama H, Han GD, Kawachi H, Shimizu F, Miyazaki J, Asakura H, Aoyagi Y: The effect of local administration of HGF naked DNA by enema on DSS-induced acute colitis. *DDW 2005*, Chicago, Illinois, USA, 2005.5.15.

2) Suzuki K, Kawauchi Y, Hanawa T, Yoneyama H, Hiroki M, Han GD, Kawachi H, Shimizu F, Miyazaki J, Asakura H, Aoyagi Y: Treatment of acute colitis of mice by repeated hepatocyte growth factor gene transfer to the liver via tail vein. *Chicago, Illinois, USA, 2005.5.15.*

3) 鈴木健司, 河内裕介, 青柳豊: HGF 遺伝子導入による炎症性腸疾患に対する粘膜再生療法の開発. 第 91 回日本消化器病学会, 東京, 2005.4.14

4) 河内裕介, 鈴木健司, 埴孝泰, 韓基東, 河内裕, 清水不二雄, 青柳豊: マウス DSS 腸炎に対する HGF 遺伝子治療の検討. 第 42 回日本消化器免疫学会, 東京, 2005.8.4.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし