

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 15～17 年度 総合研究報告書

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.	総合研究報告	
	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)	17
	2. 腸管特異的自然免疫調節機構を標的とした治療法の開発 (高後 裕)	27
	3. 炎症性腸疾患に対する HGF および HGF 遺伝子を用いた粘膜再生療法の開発 (鈴木健司)	31
	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)	35
	【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)	39
	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)	48
	【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)	54
	【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)	58
	【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炎症性腸疾患の治療法開発に関する研究 (日比紀文)	61
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表	71
V.	学会発表に関する一覧表	85
VI.	研究成果による特許権等の知的財産権の出願・登録状況	99
VII.	社会活動報告	101
VIII.	研究事業報告	103
IX.	研究成果の刊行物・別刷	117

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. 総合研究報告

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。そのため、「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、5) 既存の薬剤治療を適応外で応用した新規治療法の5プロジェクトを設定し研究を進めた。1)では腸管再生時における骨髄由来細胞の腸管上皮への分化機構、再生機能を明らかにした。また HGF の有効性及び安全性を示した後、本邦初の開発型医師主導治験を開始した。2)では、腸管マクロファージの機能を明らかにする一方、小腸パネート細胞が有する抗菌活性解析し、それを利用したパイロット臨床治験を開始した。3)では、潰瘍性大腸炎に対する血球除去療法の臨床研究推進とともに、制御性 T リンパ球の選択的再移入療法を開発し、臨床治験段階となった。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、安全性と有効性が確認した後、潰瘍性大腸炎患者に対する臨床治験を開始した。5)については、潰瘍性大腸炎患者の好中球エラスターゼ活性上昇に着眼し、エラスターゼ阻害剤の腸炎抑制効果を確認した。本研究開始後、社会的インパクトの高い論文発表が可能であり、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既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。これら成果は、基礎研究の先進性を確保し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

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症例が存在すること、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から、患者の 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、これまでとは全く異なる発想による病態遷延機構の解析を行い、それに基づく患者の QOL 向上に有効で、かつ日本オリジナルな新しい概念の画期的治療法の開発とその臨床応用を目指すものであった。主任研究者が

1. 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

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たものである。本研究プロジェクトは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した。この実現のために、以下の4プロジェクト(p)を設定して、お互いに共同研究を行いつつ、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: 超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

また以上の設定した4プロジェクトの基礎的データにして、新たにより臨床応用に近いプロジェクト、

p-5: 既存の薬剤治療を適応外で応用した新規治療法

を設定した。

2. 研究方法

新規治療法の開発を目指すプロジェクトは免疫学的・分子生物学的手法を用い分子機構解明、治療有効性、安全性の評価を行った。また有効性・安全性の認められた治療法に関しては十分な倫理面への配慮のもと炎症性腸疾患患者を対象にした臨床治験を行った。本研究の研究方法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

サブプロジェクトとして、1)腸管上皮分化・再生制御による新規治療法の開発、2)HGFを用いた傷害

粘膜上皮再生・修復療法の開発と臨床応用を行った。

1)腸管上皮分化・再生制御による新規治療法の開発
(渡辺 守) 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から経時的に採取した内視鏡下生検組織検体を用いた。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、もしくは同一切片を用いた二重染色法をおこない、ドナー骨髄由来腸管上皮細胞を同定した。さらに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。また、ヒト内視鏡下生検組織検体およびヒト大腸癌由来培養細胞を用い、上皮細胞分化とNotchシグナルの影響を解析した。

2)HGFを用いた傷害粘膜上皮再生・修復療法の開発と臨床応用

(坪内博仁) rh-HGFの非臨床試験：単回投与毒性試験：BALB/cマウスにrh-HGFを単回静脈内投与し、14日間一般状態を観察した後に屠殺し、剖検及び病理組織学的検査を行った。ラット2週間反復投与及び2週間回復試験：Wistarラットにrh-HGFを2週間反復静脈内投与した後、2週間休薬し、血液生化学検査及び病理組織学的検査を行った。安全性薬理試験：クラウン系ミニブタにrh-HGFを単回静脈内投与し、呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響を検討した。発癌性試験：①Wistarラットに1,2-dimethylhydrazine (DMH)を週1回、4週間皮下投与した。8週目からrh-HGFを4週間静脈内投与し、投与終了時のaberrant crypt foci (ACF)の発生を健闘した。②Wistarラットに1%DSSを自由飲水させ、DMHを週3回、2週間皮下投与した。この間、rh-HGFを4週間静脈内投与し、26週目にACF、腺腫及び大腸癌の発生を検討した。薬効薬理試験：trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)大腸炎ラットにrh-HGFを静脈内投与し、その大腸潰瘍の修復に及ぼす影響を検討した。

rh-HGFの医師主導治験：組換えヒトHGFは製薬会社から供給される人体に投与実績のない未承認臨床サンプルである。従って、その臨床試験は承認申請を目的とした「治験」として実施する必要がある。一方、改正薬事法により、2003年7月より医師・医

療機関が主導する治験が実施可能となった。このような状況から、rh-HGF の臨床応用を「医師主導治験」の枠組みで実施するため、その準備を開始した。

〈鈴木健司〉 8 週齢メス C57BL/6(B6) マウスに 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 日と 2 日に、尾静脈より hydrodynamics 法に基づいた急速大量静注法により肝細胞に遺伝子導入し、腸炎治療効果を判定した。また、ラット遺伝子発現プラスミドをカルボキシメチルセルロース (CMC) に溶解し、実験開始後 1 日、3 日と 5 日に注腸投与により腸管局所へ遺伝子導入した。静注および注腸両実験で、対照にはコントロールプラスミド導入マウスを用いた。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、プロモデオキシウリジン (BrdU) 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。8 週齢オス Wistar ラットに DSS 腸炎を惹起し、これに対し極細径内視鏡を用いた粘膜下 HGF 組み換え蛋白注入療法を行い、治療効果判定を行った。

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

〈浅香正博〉 DSS 腸炎および TNBS 腸炎は、それぞれ Balb/c 由来の MIF-Tg マウス、MIF-KO マウスおよび野生型マウスに対し 3% DSS 水溶液を 7 日間自由飲水にて投与、TNBS 3mg/body を注腸投与することにより作成した。Teprenone (GGA) は腸炎誘発直前およびその後隔日に経口投与した。各群の生存率、臨床症状 (下痢、血便、体重減少)、組織学的炎症スコア、大腸組織 myeloperoxidase (MPO)、TNF- α 、IFN- γ を検討した。また、大腸組織 HSP70 の発現は、ウエスタンブロットおよび免疫組織学的により検討した。

〈高後 裕〉 クローン病患者および非炎症性腸疾患対照者からインフォームド・コンセントの下に切除小腸粘膜または内視鏡的回腸生検粘膜材料を得て、Ayabe らの方法 (*Nat Immunol* 1:113, 2000) に準じ

単離小腸陰窩を回収した。得られた単離小腸陰窩と *S. typhimurium* を 37°C で、30 分 *ex vivo* 曝露して分泌物を得て、defensin-sensitive *S. typhimurium* に対する殺菌活性を検討した。抗 α -defensin 抗体を用いて Acid-urea Western blot 解析を施行した。さらに、小腸陰窩から腸上皮細胞を分離し、単離パネート細胞における α -defensin の発現検討、及び DAF を用いて Nitric Oxide の局在解析を共焦点レーザー顕微鏡で施行した。

インフォームド・コンセントを得た健常ボランティア及び炎症性腸疾患患者に対して、defensin 誘導作用を有する 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た。

〈竹田 潔〉 正常マウス大腸の粘膜固有層に存在するマクロファージや樹状細胞は、何らかの分子機構により不応答性になっていて過剰な炎症反応を抑制していることを示唆している。そこで、この分子機構を正常マウスと IL-10 ノックアウトマウスの細胞間で遺伝子発現の差を DNA microarray で解析する。そして得られた候補遺伝子をマクロファージに導入し、サイトカイン産生の変化を解析する。さらに、この上記の実験により細胞レベルでサイトカイン産生を抑制することが明らかになった遺伝子の生理機能を解析するため、遺伝子欠損マウスを作成し、腸管炎症を標的として解析する。

p-3: 選択的細胞除去療法の開発

〈中村和彦〉 磁気ビーズを用いた制御性 T 細胞の分離法の検討：将来的な臨床への応用を視野に、FACS ソーティングではなく磁気ビーズを用いての制御性 T 細胞分離法を検討した。一般的に用いられる制御性 T 細胞同定法は CD4⁺CD25^{high} 細胞分画であるが、この分画の分離には FACS ソーティングが必要であるためこの方法は用いず、文献的な考察を基に CD4⁺CD45RO⁺CD25⁺分画を制御性 T 細胞として分離した。健常人バフィーコートよりまず CD4⁺ T 細胞を磁気ビーズカクテルを用いてネガティブセレクションした。次に CD45RO と CD45RA が相補的に発現する性質を利用して、CD45RA⁻細胞を CD45RA に対する磁気

ビーズを用いてネガティブセクションし、更に CD25⁺細胞分画を CD25 に対する磁気ビーズを用いてポジティブセクションした。得られた分画の CD4⁺CD45RO⁺CD25⁺細胞の割合はフローサイトメトリーで解析し、同分画の制御性 T 細胞活性として T 細胞増殖抑制作用を解析した。また、制御性 T 細胞特異的核内転写因子 FOXP3 の発現を RT-PCR で解析した。潰瘍性大腸炎、クローン病、健康人対照での末梢血 CD4⁺ T 細胞中の制御性 T 細胞の割合をフローサイトメトリーで解析した。血球成分除去療法産物からの制御性 T 細胞分離実験：潰瘍性大腸炎患者に対して施行された遠心分離式血球成分除去療法にて除去された白血球より上記の磁気ビーズを用いた方法で制御性 T 細胞を分離し、機能と FOXP3 発現を解析した。

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立

〈岡崎和一〉デキサメサゾン封入ポリ-L-D 乳酸 (PDLLA) マイクロカプセル (Dx-MC) の作成：直径 4 μ の PDLLA マイクロスフェアを京都大学再生医科学研究所と薬剤部で作成したのち、double emulsion 法にてデキサメサゾンをマイクロカプセル内に封入する。経口腸溶カプセルは関西医科大学薬剤部で作成する。

ラットを用いた長期毒性実験：ラット 50 匹を用いて上記デキサメサゾンマイクロカプセル (Dx-MC) を用いた 8 週の長期毒性実験を施行する。投与群は臨床投与予定量である Dx-MC 10mg/kg/day (含有デキサメサゾン 0.1mg/kg/day) の 10 倍量の Dx-MC 100mg/kg/day (含有デキサメサゾン 1mg/kg) と 100 倍量の Dx-MC 1000mg/kg/day (含有デキサメサゾン 10mg/kg/day) 相当量を隔日経口投与した。また蒸留水投与群とデキサメサゾンを含まないマイクロカプセル 1000mg/kg/day 投与群をコントロール群とした。1 週間ごとに血中デキサメサゾンの薬物代謝、血球数、生化学検査、電解質、尿を検査すると共に、脳下垂体、甲状腺、副腎などの内分泌腺臓器、全消化管、肝、胆、膵、生殖器を病理組織学的に検討する。潰瘍性大腸炎患者における有用性に関する検討：中等・重症の活動期潰瘍性大腸炎患者（全結腸・左側

結腸型）20 例を対象とし、10 例に対し腸溶カプセルに封入した Dx-MC を 1mg/kg (10mg/1mg Dx-MC) を 4 週間隔日経口投与。10 例に対し Dx-MC 1mg/kg を 4 週間隔日注腸投与し、臨床症状（厚生労働省重症度ほか）、血液・生化学、尿、大腸内視鏡検査（4 週のみ）、組織中 Dx 濃度測定 (HPLC) を評価した。

p-5: 既存の薬剤治療を適応外で応用した新規治療法

〈日比紀文〉好中球エラスターゼ阻害剤を用いた潰瘍性大腸炎急性期における治療法の開発：潰瘍性大腸炎患者の血漿および炎症局所の好中球エラスターゼ活性：活動性潰瘍性大腸炎患者より血液および生検下に大腸粘膜を採取した。得られたサンプルに対し、特異的な基質を用いて好中球エラスターゼ酵素活性を、測定した。動物実験腸炎モデルマウスにおける好中球エラスターゼ酵素活性：本研究では腸炎モデルとして、dextran sulfate sodium (DSS) 誘発腸炎マウスを用いた。1.5%DSS を 5 日間自由飲水させ腸炎を惹起した。それぞれの病期における血漿と便中の好中球エラスターゼ活性を測定した。DSS 誘発腸炎における好中球エラスターゼ阻害剤 (Sivelestat) の治療効果：1.5%DSS 誘発腸炎マウスにおいて、Sivelestat を実験前日より 100mg/day 連続投与を行った。体重減少や下血などの臨床症状や病理組織学的所見から腸炎の重症度を評価し治療効果を判定した。また、各腸炎マウスの血漿や大腸粘膜炎症部位の好中球エラスターゼ活性を測定し、治療効果との相関を検討した。

潰瘍性大腸炎患者に対する Rebamipide 注腸剤の有用性の検討：厚生労働省研究班の診断基準（案）において、潰瘍性大腸炎と診断された患者のうち直腸炎型および左側型で、軽症から中等症の活動期を対象とし、Rebamipide 注腸剤を 4 週間投与する。本研究はオープンラベル比較試験（探索研究）であり、比較対照薬として既承認薬である mesalazine 注腸剤を用い、1 群 5 例の計 10 例に投与し、有効性および安全性を比較検討した。

（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ふ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。

3. 研究結果

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

〈渡辺 守〉消化管全長（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を認めた。骨髄由来腸管上皮細胞はGVHDの回復期小腸において9-10倍の頻度の上昇を認めた。骨髄由来上皮細胞は頻度が上昇した腸管上皮中においてpatchyに分布し、上皮幹細胞マーカーであるMsi-1の発現は稀であった。一方上皮傷害後の骨髄由来上皮細胞は、上皮Crypt内増殖帯におけるKi-67陽性骨髄由来細胞中に有意な増加を認めた。GVHDからの再生過程では、正常検体との比較において、骨髄細胞由来の杯細胞、神経内分泌細胞、パネート細胞の著明な増加が認められた。

杯細胞消失、パネート細胞化生など分化異常を呈する慢性大腸炎において、Notchシグナル構成分子の発現異常が存在することを見出した。また、培養細胞を用いた強制発現実験とマイクロアレイ解析の

組み合わせにより、Notchシグナルの活性化が種々の大腸上皮分化マーカー発現をアップレギュレートもしくはダウンレギュレートすることを見出した。

〈坪内博仁〉rh-HGFの非臨床試験：単回投与毒性試験：死亡する個体はなく、致死量40 mg/kg以上であった。また明らかな急性毒性は見られなかった。ラット2週間反復投与及び2週間回復試験：用量依存性に蛋白尿が出現し、病理組織学的な糸球体の肥大、メサンギウム領域や内皮下にPAS陽性物質の沈着が認められた。しかし、これらの変化は投与終了後2週間で回復または改善傾向を示した。また、尿素窒素、クレアチニンの上昇はみられなかった。安全性薬理試験：rh-HGF投与は呼吸数、血液ガス分析に影響を与えなかったが、末梢血管拡張による血圧低下が認められた。心毒性はなく、rh-HGFの投与速度を低下させると血圧は緩徐に低下し、この血圧低下には輸液で対応可能であった。発癌性試験：①化学発癌モデルにおいてrh-HGFはACFの発生数に影響を及ぼさなかった。②大腸炎を背景にした発癌モデルにおいて、rh-HGFはACF、腺腫及び大腸癌の発生に影響を与えなかった。薬効薬理試験：rh-HGF投与によって大腸潰瘍の修復が促進され、病理組織学的にも改善が認められた。

rh-HGFの医師主導治験に向けた準備：非臨床試験：「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」ガイドラインに基づいて、基本的にGLPデータによるげっ歯類、非げっ歯類の反復投与毒性試験成績で対応した。特殊毒性試験及び局所刺激性試験は、多くはこのGLPデータで対応を試みた。遺伝毒性はタンパク製剤には不要であった。rh-HGFの発癌性：rh-HGFが大腸癌の発生を促進する成績は得られていないが、増殖因子であるHGFの発癌性を完全に否定することは困難である。従って、臨床応用の際にはHGFが発癌を促進する可能性は否定できないというスタンスで、十二分に被験者にインフォームドコンセントを行うこととする。国内外で人体に投与実績のない新規有効成分を対象とした開発型の医師主導治験は本邦初の事例である。従って、まずは内科的治療による救命率が約30%と生命予後不良の劇症肝炎の肝移植非実施例を対象疾患とした治

験の準備を進め、2005年5月医薬品医療機器総合機構に治験計画届を行い、9月より治験を開始した。

〈鈴木健司〉HGF 二回導入マウスでは、一回導入マウスに比べ、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よりよい治療効果が示された。さらに、BrdU 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。HGF 遺伝子の肝臓への導入法では、組織病変の改善は、BrdU 陽性細胞増殖上皮細胞の増加とアポトーシス上皮細胞の減少による、大腸陰窩構造の保持、糜爛・潰瘍の減少、大腸陰窩腸の増加が特徴であった。一方、HGF 遺伝子プラスミドの注腸投与による腸管局所発現では臨床重症度、大腸腸管長、組織学的病変の強さ、浸潤細胞数などで、コントロールプラスミド注腸群に比べて腸炎治療効果が有意差を持って認められた。この、遺伝子導入法では、大腸組織病変は大腸陰窩の増加はあまり目立たず、むしろ大腸陰窩構造の保持と、糜爛・潰瘍の減少、大腸への浸潤細胞の減少が特徴であった。

ヒト組み換え型 HGF 蛋白の内視鏡下粘膜下注入療法は腸炎ラットの実験腸炎治療効果を有することが明らかとなった。

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

〈浅香正博〉MIF-Tg マウスでは臨床スコア、病理学的所見ともに腸炎の増悪が認められた。一方、MIF-KO マウスにおいては臨床スコア、病理学的所見ともに炎症所見は全く認められなかった。MIF-KO マウスにリコンビナント MIF 蛋白を1回のみ前投与したところ、腸炎の発症が確認された。表面プラズモン共鳴を用いた検討にて、MIF が HSP70 と *in vitro* で結合することを見いだしたため、DSS 腸炎における HSP70 の発現をウエスタブロットおよび免疫組織学的に検討したところ、MIF-KO マウスでは主に腸管上皮細胞内に HSP70 蛋白の著明な増加が認められた。これに対し、野生型マウスでは HSP70 の上昇は認められなかった。DSS 腸炎および TNBS 腸炎において GGA 投与

群は下痢・血便・体重減少が抑制された。組織学的には炎症細胞の浸潤、腸上皮の破壊が抑制された。

大腸組織 myeloperoxidase (MPO)、TNF- α 、IFN- γ は、GGA 投与群で低下していた。ウエスタブロットおよび免疫組織学的により HSP70 の発現を検討したところ、GGA 投与群では HSP70 の発現が増強し、特に腸上皮での発現増加が顕著であった。

〈竹田 潔〉大腸粘膜固有層に存在するマクロファージの機能を解析した。その結果、正常マウスの大腸粘膜固有層マクロファージは、TLR 刺激依存性の炎症性サイトカインの産生が認められないが、慢性腸炎を発症する IL-10 ノックアウトマウスや STAT3 変異マウス由来の細胞は TLR 刺激依存性に炎症性サイトカインを産生した。そこで正常マウスと IL-10 ノックアウトマウスの大腸粘膜固有層マクロファージ間で TLR 応答性が異なる分子機構を解析するため、両者間で遺伝子発現の差を DNA マイクロアレイで解析した。その結果、Bcl-3 と同じ I κ B ファミリーに属する I κ BNS が Bcl-3 とともに正常大腸粘膜固有層マクロファージに特異的に発現していることを見出した。I κ BNS をマクロファージに発現させると、LPS 刺激依存性の IL-6 産生が特異的に減少していた。さらに I κ BNS を発現した細胞では、NF- κ B の DNA 結合能に障害が認められた。さらに、I κ BNS は IL-6 プロモーターに p50 NF- κ B サブユニットと共に恒常的に会合していることがクロマチン免疫沈降法の解析から明らかになった。さらに、RNAi による I κ BNS のノックダウンマクロファージでは、LPS 刺激依存性の IL-6 産生が特異的に増加していた。さらに、I κ BNS の生理機能を解析するためノックアウトマウスを作製したところ、I κ BNS ノックアウトマウス由来のマクロファージ、樹状細胞では、TLR 刺激により誘導される遺伝子の中で、NF- κ B 依存性に3時間以降に遅れて誘導されてくる遺伝子の発現が有意に上昇していた。また TLR 刺激による NF- κ B の活性が遷延化し、刺激後3時間でもまだ NF- κ B の活性が残存していた。さらに個体レベルでも、LPS 投与によるエンドトキシンショックに対する感受性が高くなり、また dextran sodium sulfate の経口投与による腸管炎症に対する感受性も極めて高くなっていた。

p-3: 超選択的細胞除去療法の開発

〈渡辺 守〉潰瘍性大腸炎患者に対する白血球除去療法をさらに改良する目的で、超選択的白血球除去療法の開発を行った。すなわち、炎症性腸疾患という免疫亢進状態を抑制することが期待されるCD4+CD25+ 制御性T細胞を白血球除去療法の際に得られる除去細胞より再分離し、生体に再移入するシステムをGMPグレードにて行う細胞療法を開発した(Leukocyto-apheresis-assisted CD4+CD25+ Regulatory T cell Transfusion; LART-25)。LART-25細胞療法により培養システムを必要とせず大量のCD4+CD25+ 制御性T細胞を効率よく分離・回収できた。本研究推進にあたり、平成16年12月にはノルウェー・オスロにてDynal社と東京医科歯科大学との提携後、CD4+CD25+ 細胞分離ClinExVivoビーズの開発に成功した。ClinExVivoはすでにヨーロッパにおけるCE0434規格を有し、分離用抗体キメラ抗CD25抗体はすでに臨床応用されており、CD4+CD25+制御性T細胞を生きた免疫抑制剂的細胞と捉えた発想は従来からの問題とされてきた免疫抑制剤の副作用を克服できることが期待される。本法はすでに分担研究者の所属施設における倫理委員会承認に向けた準備が進み、臨床応用のための臨床治験の実現を目指している。

〈中村和彦〉健常人バフィーコートからCD4⁺CD45RO⁺CD25⁺細胞が80~90%と高純度に分離可能であった。分離された細胞分画はT細胞増殖抑制能を有し、FOXP3を強発現していた。よってCD4⁺CD45RO⁺CD25⁺細胞は制御性T細胞と考えられた。末梢血CD4⁺T細胞中の制御性T細胞の割合は、活動期潰瘍性大腸炎で健常人、非活動期潰瘍性大腸炎と比較して有意に低下していた。対照的に活動期クローン病では制御性T細胞の割合は上昇している傾向を認めたが、健常人、非活動期クローン病と比較して有意差は認めなかった。潰瘍性大腸炎では、末梢血制御性T細胞の割合と疾患活動性(Rachmilewitz Clinical Activity IndexとEndoscopic Index)の間に中等度の逆相関関係を認めた。潰瘍性大腸炎患者に対する遠心分離式血球成分除去療法にて除去された白血球より上記の方法を用いて制御性T細胞が約70%の純

度で分離可能であった。10⁹個の白血球より2~5 x 10⁶個の制御性T細胞が得られた。分離された細胞分画は健常人同様、T細胞増殖抑制機能を有し、特異的マーカーであるFOXP3を強発現していた。

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立

〈岡崎和一〉動物の長期毒性試験結果:①一般状態:いずれの群の動物にも異常は認められなかった。②体重:投与4日目以降においてMC1000mg/kg, Dx-MC100gm/kg, 1000mg/kg群において体重の増加の抑制傾向が認められた。③尿検査では特記すべき異常を認めなかった。④血液学的検査、血液生化学的検査蒸留水投与群と比較して、MCの1000mg/kg, Dx-MC100, 1000mg/kg投与群で中性脂肪の有意な低下が認められた。また、Dx-MC1000mg/kg投与群でGPT活性の有意な高値が認められたが、正常範囲内での変動であった。⑤剖検、器官重量および病理組織学的検査において、Dx-MCの影響は認められなかった。⑥デキサメサゾンの血中濃度測定ではいずれの動物にも検出されなかった。

p-5: 既存の薬剤治療を適応外で応用した新規治療法

〈日比紀文〉好中球エラスターゼ阻害剤を用いた潰瘍性大腸炎急性期における治療法の開発:潰瘍性大腸炎患者の血漿および炎症局所好中球エラスターゼ活性:活動性潰瘍性大腸炎患者では好中球エラスターゼ酵素活性が有意に上昇していた。さらに、活動性大腸炎患者では血漿中においても好中球エラスターゼ酵素活性が検出された。以上の結果より潰瘍性大腸炎の病態に好中球エラスターゼが関与していると考えられ、好中球エラスターゼが潰瘍性大腸炎の治療ターゲットとなりうるのではないかと考えられた。DSS誘発腸炎モデルマウスにおける好中球エラスターゼ酵素活性:今回の検討では1.5%のDSSを5日間投与したが、病初期であるday4より局所での好中球エラスターゼ産生が亢進していた。血漿中のエラスターゼ酵素活性は局所とは異なり病極期であるday8をピークとして検出された。以上の結果よ

りDSS腸炎においてもNEは病態形成に重要な役割を果たしていると考えられ、潰瘍性大腸炎への臨床応用を念頭にNEを標的とした治療を検討するうえで妥当なモデルと考えられた。DSS誘発腸炎における好中球エラスターゼ阻害剤の治療効果：DSS誘発腸炎マウスにsivelestat腹腔内投与を行い、投与群において有意に体重減少の抑制を認めた。病理組織学的所見も投与群において、有意にスコアの低下を認めた。また投与群では、血漿中および大腸局所において、DSS非投与群と同様のレベルに、好中球エラスターゼ酵素活性が抑制されていた。この結果よりsivelestat投与によって血漿および大腸粘膜の好中球エラスターゼ活性が低下し、腸炎が抑制されることが示された。

潰瘍性大腸炎患者に対するrebamipide注腸剤の有用性の検討：rebamipide注腸剤はパイロット投与によりステロイド抵抗性の潰瘍性大腸炎に対する治療効果を示した。活動期潰瘍性大腸炎患者を対象として、rebamipide注腸の有効性および安全性を示すためのmesalazine注腸を対照薬とした比較試験の患者エントリーを開始し、各群5例の計10例に投与を終了し、有効性および安全性を解析中である。

4. 評価

1) 達成度について

実質2.5年の研究期間および「全く新しい概念で炎症性腸疾患の画期的治療法を開発し実際の臨床応用まで」を目指した研究目的を考えれば、本研究班の目的に沿った研究計画達成度は班全体としては90%と考えている。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4件確立できた。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現時点でも5件開発することができた。また、その一方で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のみならず、インパクトの高い論文発表 (Nature 1, Nature Med 2, Nature Rev Immunol 1, Immunity 1, Gastroenterology 7, J Immunol 9, Moll Cell Biol

1, J Biol Chem 1, J Clin Invest 1, J Exp Med 3 など)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研究目的の困難さを考えれば、異例に高いと考えている。

しかしながら、研究期間の制限から臨床応用計画遂行中のプロジェクトが一部残ったこと、また目的にはなかった相互の研究が密接に関連づけられてきつつあった段階で終了せざるを得なかった事が問題として残った。同一グループによる本研究の更なる継続は、関連領域における免疫学および再生医学の基礎研究の拡大ならびに先進性を確保しつつ、なおかつ既存の炎症性腸疾患治療を凌駕し、日本オリジナルかつ患者QOLの改善にも有効な臨床研究に還元し得る可能性が高く、継続する意義深い研究内容と言える。

各々のプロジェクトの達成度は

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

〈渡辺 守〉腸管上皮細胞分化のメカニズムに関し、骨髄由来腸管上皮細胞の関与を明確にし、腸管上皮再生過程において、Notchシグナルによる分化調節機構が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貢献する事を初めて明らかとした(達成度90%)。

〈坪内博仁〉rh-HGFの非臨床試験を実施し、その成績から安全性に関する論理構築を行った。rh-HGFは人体に投与実績のない新規有効成分であるため、その倫理性、正当性からまずは劇症肝炎を対象とした第I/II相治験を本邦初の開発型医師主導治験として開始するところに到達した。即ち、治験の枠組みで未承認臨床サンプルの臨床試験を実施する、様々なノウハウを蓄積した(達成度90%)。

〈鈴木健司〉HGF遺伝子導入による治療法の開発、およびヒト組み換え型HGFの内視鏡下粘膜下注入療法の開発に関する研究に関して、当初予定した内容をほぼ予定通り達成することが出来た(達成度90%)。

〈高後 裕〉本研究で腸幹細胞に関する新知見を得たことにより、腸管の再生医療に向けた第一歩を標

すことができた（達成度 80%）。

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

〈浅香正博〉炎症性腸疾患と MIF の関連を明らかにし、そのメカニズムの一つとして HSP70 の関与を報告した。また、HSP70 の誘導による日本発の胃粘膜防御剤 Teprenone による新しい治療法を提唱することが出来た（達成度 90%）。

〈高後 裕〉ペプチド・細胞レベルの研究成果を、実際に臨床試験にまで結びつけるに至った。すなわち、小腸パネート細胞の自然免疫機能の有用性を明らかにし、その成果を基にして、炎症性腸疾患患者を対象としたパイロット臨床試験を行って自然免疫誘導・賦活物質の治療効果をはじめて解析した（達成度 100%）。

〈竹田 潔〉自然免疫系の活性制御機構の解析から、自然免疫系の腸管局所での異常活性化が炎症性腸疾患の病因となりうることを示し、また自然免疫系の活性制御機構を解析するなかで、核に発現する I κ B 分子 Bcl-3, I κ BNS がサイトカイン産生を選択的に負に制御していることを明らかにできた。（達成度 100%）。

p-3: 超選択的細胞除去療法の開発

〈渡辺 守〉潰瘍性大腸炎患者に対する日本オリジナルな治療である白血球除去療法をさらに改良する目的で、超選択的白血球除去療法の開発を行った。平成 16 年 12 月にはノルウェー・オスロにて Dynal 社と東京医科歯科大学との提携後、CD4+CD25+ 細胞分離 ClinExVivo ビーズの開発に成功した（達成度 90%）。

〈中村和彦〉潰瘍性大腸炎、制御性 T 細胞を補充する移入療法の理論的根拠を示した。実際に潰瘍性大腸炎患者に対する血球成分除去療法産物より制御性 T 細胞が高純度に分離可能である事、分離された細胞分画が制御性 T 細胞の機能を有する事を示した（達成度 90%）

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立

〈岡崎和一〉動物を用いた長期毒性実験での安全性の確認を経て、臨床応用にむけて学内倫理審査会の

承認をえて、ほぼ予定通りの達成度となっている（達成度 90%）。

p-5: 既存の薬剤治療を適応外で応用した新規治療法

〈日比紀文〉日本で開発された好中球エラスターゼ阻害剤である Sivelestat の潰瘍性大腸炎治療薬としての臨床応用のための基礎データの蓄積された（達成度 80%）。また、既存の胃潰瘍・胃炎治療薬である rebamipide がを注腸製剤として遠位型の難治性潰瘍性大腸炎に対して有効性を示すかを検討した。探索研究としてのオープンラベル比較試験における薬剤投与が終了したところである。（達成度 90%）。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

研究班全体としては、これまでの免疫学的治療に大きくシフトしていた炎症性腸疾患治療に対し、上皮再生・分化・修復治療の重要性を世界に向けて発信した点で国際的にも意義深い。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 4 件、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現時点でも 5 件開発することができ、基礎研究が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。特に日本で開発された技術、薬剤を利用して世界に発信する試みが多く、国際的意義も高い。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 (Nature 1, Nature Med 2, Nature Rev Immunol 1, Immunity 1, Gastroenterology 7, J Immunol 9, Moll Cell Biol 1, J Biol Chem 1, J Clin Invest 1, J Exp Med 3 など) ことより学術的、国際的評価も高いと考えられる。

各々のプロジェクトの研究成果の学術的・国際的・社会的意義は

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

〈渡辺 守〉これまで全く不明であった腸管上皮細胞分化のメカニズムに関し、骨髄由来腸管上皮細胞の関与を明確にし、腸管上皮再生過程において、Notch シグナルによる分化調節機構が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貢献する事を世界で初めて明らかとした学術的意義は高い。また、この結果を基に Notch シグナルを抑制するヒトアルツハイマー病治療薬であり、日本で開発中の γ -secretase 阻害剤による新しい治療法を提唱した。これまでの免疫学的治療に大きくシフトしていた炎症性腸疾患治療に対し、上皮再生・分化・修復の重要性を世界に向けて発信した点で国際的にも意義深い。

〈坪内博仁〉rh-HGF の臨床試験は、本邦初の開発型医師主導治験、また世界初の rh-HGF の臨床試験である。このように治験の枠組みで実施することは、本臨床試験における安全性及び科学性が確保され、さらにその成績が国際的な評価に耐えうる事が考えられ、学術的、社会的意義は大きいと考えられる。また、新規有効成分の医師主導治験を立ち上げたことは、新薬開発が進まない本邦における新たな新薬開発の前例となる事が考えられる。

〈鈴木健司〉 HGF が粘膜再生療法という炎症性腸疾患の新規治療法の重要な増殖因子となりうることを証明できたが、これは学術的な意義のみならず、今後実際に HGF を用いた日本発の新規治療法の臨床治験につながる国際的・社会的意義を持つと考えられる。

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

〈浅香正博〉10 編以上の学術論文に掲載または投稿準備中であり、研究成果は国際的に評価された。

〈高後 裕〉 *ex vivo* 細菌感染によるパネート細胞分泌アッセイ系を確立し、パネート細胞由来の内因性抗菌ペプチドの感染防御能を示したことは学術的な意義が大きい。さらに、腸管上皮の自然免疫機構はこれまで考えられていたような受動的で弱い系ではなく、強力で制御された系であることを示したこ

とにより国際的に高く評価された。腸管自然免疫のはたらきを炎症性腸疾患患者に臨床応用する可能性を示したことは、社会的意義が大きい。

〈竹田 潔〉上記の研究成果は、これまで獲得免疫系を中心として解析されていた炎症性腸疾患の病因解析を、自然免疫系を中心として見つめ直したものであり、国際的評価も高く、実際インパクトの高い学術雑誌にこれらの成果が掲載された。

p-3: 超選択的細胞除去療法の開発

〈渡辺 守〉〈中村和彦〉制御性 T 細胞は動物モデルを用いた研究の結果より、炎症性腸疾患や自己免疫疾患等の炎症性疾患の治療への応用が期待され注目されている。制御性 T 細胞の炎症性腸疾患における変動、機能等は、十分に解明されておらず、本研究で明らかにした事は学術的にも意義が大きく、また、国際的にも注目される。本研究結果が難病である潰瘍性大腸炎の新規治療法開発に繋がれば、社会的意義も大きいと考えられる。また、制御性 T 細胞移入療法は理論的に炎症性腸疾患のみならず自己免疫疾患や移植片対宿主病など他の多くの炎症性疾患の治療に有効である可能性があり、本研究で得られた結果は将来的に更に大きな社会的意義を持つ事も期待できる。

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立

〈岡崎和一〉高分子バイオマテリアルであるポリ-L-D 乳酸(PDLLA)マイクロカプセルを用いたデキサメサゾン封入マイクロカプセルによる新しい方法は、国際的にも同区層的であり、他に類を見ない方法である。臨床応用の前段階としてラットを用いた慢性毒性実験を行い、本剤の安全性について確認され、今後、ヒト潰瘍性大腸炎患者を対象にその有用性について検討する予定であり、患者さんの QOL だけでなく医療費用抑制効果も期待でき、社会的に意義があると思われる。

p-5: 既存の薬剤治療を適応外で応用した新規治療法

〈日比紀文〉好中球エラスターゼ阻害剤である Sivelestat や胃潰瘍・胃炎治療薬である Rebamipide

はすでに承認を受けている薬剤であり、臨床治験および市販後調査によって人への投与での安全性が確立しているため、本疾患治療薬としての臨床応用が新規開発の治療薬に比べて短期間で達成できるという点で社会的にも意義があると考えられる。また、両薬剤とも日本で開発されたものであり、本邦発信の潰瘍性大腸炎治療薬として国際的にも意義があるものである。

3) 今後の展望について

各プロジェクトにおいて基礎的研究を元に、臨床応用、臨床応用の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。

各プロジェクトにおける今後の展望は

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

〈渡辺 守〉今回提唱した骨髄由来細胞の動員による新規治療法は平成 18 年 3 月より、rGM-CSF のクローン病に対する第 I/II 相治験として開始予定である。また、Notch シグナルを抑制するヒトアルツハイマー病治療薬であり、日本で開発中の γ -secretase 阻害剤による新しい炎症性腸疾患治療法は腸炎モデルでの検討を経て、臨床応用される予定である。

〈坪内博仁〉劇症肝炎を対象とした臨床試験において重篤な有害事象が認められなければ、ステロイド抵抗性の潰瘍性大腸炎に対する臨床試験を医師主導治験として実施すべく、治験計画届に向けた準備を早急に開始する見通しである。

〈鈴木健司〉組み換え HGF による炎症性腸疾患の粘膜再生療法を実現するため、内視鏡下粘膜注入療法実験をさらに推し進め本療法の臨床治験を開始する。

〈高後 裕〉同時に、本研究結果から、腸幹細胞を利用した再生医療の研究開発への発展性が期待できる。

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

〈浅香正博〉日本で開発された Teprenone による炎

症性腸疾患治療について、1 年以内の臨床応用を目指す。

〈高後 裕〉健康対照者と炎症性腸疾患患者における消化管上皮細胞における感染認識機構と内因性抗菌ペプチドのはたらきとの関連を解明する。本研究の成果を基にして、内因性抗菌ペプチドまたはその誘導・賦活物質を用いた炎症性腸疾患患者に対する画期的な自然免疫療法の確立へと結実、発展させたい。

〈竹田 潔〉これまで T 細胞を中心とした獲得免疫系を標的とした解析では明らかにすることができなかった炎症性腸疾患の病因・病態解明の足がかりをつかむことができた。この研究をさらに発展させることにより、自然免疫系の活性制御技術の創成、そしてこれに基づいた炎症性腸疾患の画期的な治療法が確立できるものと考えられる。

p-3: 超選択的細胞除去療法の開発

〈渡辺 守〉平成 16 年 12 月にはノルウエー・オスロにて Dynal 社と東京医科歯科大学との提携後、CD4+CD25+ 細胞分離 ClinExVivo ビーズの開発に成功した。現在、IRB 委員会承認に向けた準備が進み、臨床応用のための臨床治験の実現を目指している。

〈中村和彦〉これまでの研究で、潰瘍性大腸炎に対する血球成分除去・制御性 T 細胞移入療法が施行可能である事が示された。今後は、血球成分除去療法産物より GMP 基準に準拠した細胞分離法の確立を目指し、また、本治療法の安全性に関する検討を進める。平成 18 年 2 月にドイツ・ミルテニーバイオテック社より学術、技術スタッフが来日し、同社の ClinIMACS システムを用いた GMP グレードの細胞分離プロトコールをセットアップし、更に研究を進めて近い将来の臨床試験実施を目指す。

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法の確立

〈岡崎和一〉既に学内倫理審査会の承認を得ているので、適応患者の登録を行い、臨床使用を試みる。

p-5: 既存の薬剤治療を適応外で応用した新規治療法

〈日比紀文〉好中球エラスターゼ阻害剤である Sivelestat や胃潰瘍・胃炎治療薬である Rebamipide

の潰瘍性大腸炎に対する治療法としての妥当性が得られ、パイロットスタディーの成功により、臨床応用に発展させられると考えられる。

4) 研究内容の効率性について

班全体としては当初たてた目標を着実に遂行できている効率は極めて高いと考えられる。しかしながら、臨床応用を目指す事に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臨床自主研究、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。基礎的研究から、臨床応用が進んでいるプロジェクトがほとんどであり、今後の効率性は益々上昇すると考えている。

各プロジェクトにおける研究内容の効率性は

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

〈渡辺 守〉これまで全く不明であった腸管上皮細胞分化のメカニズムに関して、膨大な基礎的研究を行った後の臨床への応用研究であったため、効率化を図るため、骨髄由来細胞の動員による新規治療法は海外の薬剤を応用して、研究期間内に臨床試験を開始する予定である。今後は日本で開発中の薬剤による新しい治療法の開発により、より効率的に進められると考える。

〈坪内博仁〉新規医薬品開発を医師主導治験として行うべく準備を進めてきたが、本邦初の事例であるためその立ち上げには道の部分も多く、専門的なスタッフも不足しており非効率的な点が見られた。しかし、医師主導治験を開始するところに到達したので、炎症性腸疾患を対象とした rh-HGF を用いた新規治療法開発はより効率的に進められると考える。

〈鈴木健司〉分担研究者の限られた人員と予算で本研究内容は効率よく達成されたと考えられる。

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

〈浅香正博〉基礎研究に時間がかかったが、Teprenone は抗胃潰瘍薬として広く使用されている薬剤であり、安全性には問題がなく、短期間で臨床応用が可能である。

〈高後 裕〉本研究開始 1～2 年めで得られたパネート細胞とその内因性抗菌ペプチドに関する研究成果を基に、研究期間内で実際に臨床試験を実施し、新規治療の効果と安全性に関する最初の検討段階を終了することができた。ことより、本研究は効率的に行われたと判断される。

〈竹田 潔〉当初たてた目標に向かって、着実に研究を推進できており、研究内容の効率性はきわめてよい、と考えている。

p-3: 超選択的細胞除去療法の開発

〈中村和彦〉平成 15 年度から平成 16 年度中期にかけて健常人バフィーコートを用いて制御性 T 細胞の磁気ビーズを用いた分離に有用な同定方法、高純度の分離法を明らかにし、また、炎症性腸疾患患者検体を用いた解析を行った。平成 16 年度後期から血球成分除去療法産物を用いた研究を開始、倫理委員会の審査を経て平成 17 年度には実際の実験を開始し結果を得た。平成 17 年度後期には GMP 基準に準拠した細胞分離法の実験が開始される予定である。現在、臨床応用に近い段階まで研究は進められており、研究は効率良く施行されたと考えられる。

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立

〈岡崎和一〉研究内容は十分効率的に行えたが、今後は臨床応用の段階にはいるので、より慎重に適応患者の登録を行う必要がある。

p-5: 既存の薬剤治療を適応外で応用した新規治療法

〈日比紀文〉本研究は、潰瘍性大腸炎に対する画期的治療法を臨床実用化するという観点で考えると、他の疾患に対してすでに適応承認されている薬剤を本症の治療薬として用いることによって、新規治療薬開発の際に大きな時間的・経済的な負担となる創薬、スクリーニング、安全性の検証という段階を経なくてよいために、時間的にも経済的にも非常に効率的であった。

5. 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、「全く新しい概念で炎症性腸疾患の画期的治療法を開発し、実際の臨床応用まで」を目指した本研究班の目的に沿った研究成果は確実に挙げられた。各研究者が世界に先駆けて発見した、腸管再生および炎症制御・免疫調節等の基礎的知見を元にした、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。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および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が現時点でも9件あり、その一方でインパクトの高い論文発表(Nature 1, Nature Med 2, Nature Rev Immunol 1, Immunity 1, Gastroenterology 7, J Immunol 9, Moll Cell Biol 1, J Biol Chem 1, J Clin Invest 1, J Exp Med 3 など)ができたことから、班としての成果は極めて高い。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副作用が少なく、QOLの向上を伴う炎症性腸疾患に対し、日本から世界に発信しうる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。今後、同じ研究体制での研究継続が強く望まれる。

Ⅲ. 分 担 研 究 報 告