

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 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岡崎 和 一

平成 19(2007)年 3 月

序

近年、原因不明の難病である潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患は増加の一途をたどっている。将来ある若年者に好発し、既存の治療がある程度進歩したとはいえ、多くは長期にわたる治療の継続を余儀なくされる。副作用もしばしば問題となること、治療に抵抗する難治例や再燃例の存在すること、入退院や外科的手術を繰り返すため社会復帰が著しく阻害されることなど、患者さんの生活の質（Quality of life）は勿論のこと、社会的損失もきわめて大きい。それらの問題を解決する方策として、従来の考えにとらわれず、全く新しい視点に基づく画期的治療法の開発することは極めて重要で、社会的にも急務でもある。

本研究班は難治性炎症性腸疾患に対して長年にわたり成果を挙げてきた特定疾患研究事業「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班に加えて、平成15年から3年間にわたり組織された同名の「炎症性腸疾患に対する画期的治療法に関する臨床研究」（渡辺 守班長）により得られたさまざまな知見を更に発展すべく組織された。その基本となる考えは、炎症性腸疾患の病態形成に重要と考えられる「腸管局所における粘膜免疫」と「粘膜上皮の分化・再生機構」をこれまでとは異なる発想による解析をおこない、それらの成果にもとづく画期的治療法の開発とその臨床応用をめざすことにある。初年度は5つの研究プロジェクト目標をあげ、インパクトファクタ-5以上の論文14編を含む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。

この研究班を遂行していくにあたり、貴重な御助言、御協力をいただいている日比紀文慶応義塾大学消化器内科教授、朝倉均新潟大学名誉教授、渡辺守東京医科歯科大学大学院教授にこの場をお借りして深謝します。

平成19年3月

主任研究者 岡崎 和一

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	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
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
	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	旭川医科大学消化器・血液腫瘍制御内科	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	松下 光伸	関西医科大学内科学第三講座（消化器肝臓内科） 〒573-1191 大阪府枚方市新町 2-3-1 TEL 072-804-0101 FAX 072-804-2061 E-mail ibdtx@hirakata.kmu.ac.jp	講 師

II. 総括研究報告

主任研究者 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

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) 既存の薬剤を新しいコンセプトで適応外応用した治療法の開発、の 5 プロジェクトを設定し研究を進めた。1) では動物腸炎モデルに対する遺伝子組み換え型ヒト肝細胞増殖因子（HGF）の局所投与により、十分な腸炎発症阻止効果のあることから、臨床応用にむけて、「潰瘍性大腸炎に対する組換えヒト HGF の I/II 相治験」のプロトコル委員会が組織された。また、ヒト腸管上皮で Hath1 は杯細胞に促進的であること、Hath1 蛋白発現を増強する GSK-3β 阻害剤が杯細胞の誘導が粘膜上皮再生につながることを示唆した。また、骨髄や臍帯血幹細胞に比較して安全かつ大量に摂取可能な皮下脂肪組織由来幹細胞による粘膜再生療法の可能性も明らかにした。2) では、基礎研究レベルで、遅期誘導型遺伝子のプロモーターのクロマチン構造変換に関わる自然免疫制御分子としての IkBzeta を同定し、IL-6 産生に関与することで腸炎発症に重要な機能をもつことを明らかにした。また、α-デフェンシンである HD5 の recombinant ペプチドやレドックス制御を目指したチオレドキシシン投与などの自然免疫系の制御による炎症性腸疾患の治療法開発の可能性も明らかにした。3) では、ヒト制御性 T 細胞を無菌的に大量に分離し、制御性 T 細胞移入療法の選択的除去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) では、高分子バイオマテリアルを用いたステロイド封入マイクロカプセルによる難治性潰瘍性大腸炎患者の臨床研究登録が開始され、またリポ化ステロイドを用いたドラッグデリバリーシステムによる多施設共同による無作為化並行群間試験も準備されている。5) では、Pphosphodiesterase4 阻害剤の免疫細胞に対する効果が明らかにされ、新規治療剤としての可能性を示唆した。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内科 教授
渡辺 守 東京医科歯科大学大学院
消化器病態学分野 教授
浅香正博 北海道大学分子病態制御学 教授
坪内博仁 宮崎大学第二内科 教授
高後 裕 旭川医科大学第三内科 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 新潟大学医学部消化器内科 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

近年、本邦でも増加著しい炎症性腸疾患は若年者に好発し、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。さらに既存の治療に抵抗性の難治症例や頻回に再燃を繰り返す例が少なからず存在すること、また、鼻管・中心静脈栄養・薬物経動脈投与など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の開発が求められている。

本研究は、難治性炎症性腸疾患に対し、従来とは異なる発想による病態の解析を行い、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。本研究は平成 15 年度より申請者らが班を組織し実施している厚労省難治性疾患克服研究事業の同名課題を継続・発展させ、難治性炎症性腸疾患の病態に関する基礎解析を強力に推進するとともに、得られた成果に基づき画期的治療法の開発と臨床応用を行うことを目的とする。即ち、炎症性腸疾患の病態には「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にに基づき、各分担研究者が明らかにしてきた腸粘膜における免疫調節機構および分化・再生機構の知見を集約し、腸粘膜局所での免疫調節と上皮再生の連鎖・協調を統合制御し、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、最終的に患者の QOL 向上に寄与する治療法を開発することを目的とする。具体的な目標として、①これまでの概念とは異なる機序＝基礎的研究の遂行、②治療法の実現に直結する研究、③臨床応用の出来る研究、④患者 QOL に役立つ治療法、⑤医療経済に貢献するため既存の安価な薬剤による治療、⑥Quality JOURNAL への発表、社会的なインパクトも必要、の 5 項目をあげた。この実現のために、以下の 5 の基本プロジェクト (p) のもと、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実現

p-3: 選択的細胞除去療法の実現

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法の実現

p-5: 既存の薬剤を新しいコンセプトで適応外応用した治療法の実現

(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。

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) の解析に基づいて、臨床応用に向けての具体的な方策について検討した。マウス trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) 腸炎モデル、およびデキストラン硫酸大腸炎 (DSS) 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) の注腸投与による有効性試験を行い、HGF 投与群では有意に大腸びらん、潰瘍面積が縮小し、大腸短縮が抑制されることを明らかにした (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実験については前班での成果をさらに発展させ、内視鏡直視下でのヒト組み換え HGF 注入法により、HGF 遺伝子の繰り返し導入と同等の十分な腸炎発症阻止効果を持つことを明らかにし、より臨床応用に向けた成果をあげた (鈴木)。以上の基礎的知見をもとに、臨床応用に向けて、具体的に、「潰瘍性大腸炎に対する組換えヒト HGF の I/II 相治療」が計画され、プロトコル委員会が組織され、プロトコル等に関して承認を取得する予定となっている。また、潰瘍性大腸炎患者では杯細胞が減少することに基づき検討した腸管上皮細胞分化の分子機構の解析では、ヒトの腸管上皮

での Notch シグナルは杯細胞に抑制的、Hath1 は杯細胞に促進的であることを明らかにするとともに、Hath1 蛋白発現を増強する GSK-3 β 阻害剤が杯細胞の誘導と粘膜上皮再生につながる可能性を示唆した(渡辺)。また、造血幹細胞の腸管上皮再生への応用が試みられているが、主任研究者の岡崎らは骨髄や臍帯血幹細胞に比較して安全かつ大量に摂取可能な皮下脂肪組織由来幹細胞 (Adipose Drived-Stem Cells, ADSCs) による粘膜再生療法の臨床応用を目指し、TNBS 腸炎ラットを使って粘膜下局所注入法による腸粘膜再生の基礎的検討を行い、その有効性を明らかにした(岡崎)。

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、TLR を介した NF- κ B 依存性の遺伝子発現には早期誘導型遺伝子と遅期誘導型遺伝子が存在し、遅期誘導型遺伝子の発現を核に発現する I κ B 分子 I κ BNS が抑制することを見出した。さらに、早期誘導型遺伝子と遅期誘導型遺伝子の発現誘導機構を解析し、早期誘導型遺伝子のプロモーターは、クロマチン構造が常に開いており転写制御因子が刺激後迅速にアクセスしやすい構造となっている一方で、遅期誘導型遺伝子のプロモーターは、クロマチン構造が閉じており、TLR 刺激により構造変換を受けて開き、転写制御因子がアクセスできるようになることを明らかにし、遺伝子発現に時間を要する原因であることを明らかにした。さらに、遅期誘導型遺伝子のプロモーターのクロマチン構造変換に関わる分子として、I κ BNS と同じ I κ B 分子 I κ Bzeta を同定した。またこの I κ BNS が IL-6 産生に関与することで腸炎発症に重要な機能をもつことを明らかにした。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 細胞での alpha-defensin 発現の低下により、細菌曝露による殺菌活性放出が有意に低下することを明らかにし、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。今年度はさらに活性型 α -デフェンシンである HD5 の recombinant ペプチドを用いて、DSS 腸炎モデルマウスにおいての有効性を認め、治療への応用の可能性を示唆した(高後)。

また、プロバイオティクスの培養液から、腸管保護作用のある 2 種類のペプチド(特許申請中)を発見し、これらのペプチドが、細胞膜トランスポーター、OCTN を介して上皮細胞内に取り込まれ作用を発揮することを明らかにした。(高後)。

MIF に対する DNA ワクチン (MIFTh エピトープ DNA ワクチン) を開発し、MIFTh エピトープ DNA ワクチンによる抗 MIF 療法が、炎症性腸疾患の新しい治療法となりうる可能性を示唆した(浅香)。

また、代表研究者の岡崎はレドックス制御に重要なチオレドキシシンがマウス DSS 腸炎発症の抑制に重要であることを明らかにして、チオレドキシシン投与によるレドックス制御による炎症性腸疾患の治療法開発の可能性を示唆した。

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た。すなわち、CliniMACS を用いて、血球成分除去療法産物より制御性 T 細胞が無菌的に大量に分離可能であり、分離された細胞は免疫制御機能も保持していたことから、制御性 T 細胞移入療法に用いる事が可能であると考えられ、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つつあり、当該研究期間内の成果の評価を目指している。

p-4: 分子・細胞デリバリーシステムを用いた治療法確立

主任研究者・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を検討してきた。さらに、臨床応用を目的として、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をおこない、所属施設の院内臨床研究の承認を得て、患者の登録中である。また、リポ化ステロイドを用いたドラッグデリバリーシステムによる炎症性腸疾患

の治療について、多施設共同による無作為化並行群間試験について、主任研究者の所属施設の学内倫理委員会に申請中である。

p-5:既存の薬剤を新しいコンセプトで適応外応用した治療法の開発

分担研究者の日比は新規の PDE (phosphodiesterase) 4 阻害剤である OPC-6535 の免疫細胞に対する効果を検討するとともに炎症性腸疾患における新規治療剤としての可能性につき検討した。OPC-6535 の経口投与により IL-10 ノックアウトマウス腸炎の発症が抑制され、ヒト炎症性腸疾患においても新たな治療法となる可能性を示唆した。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. 今後の課題、目標

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、上皮細胞の再生に対する HGF の有効性がさらに確認され、臨床応用にむけて、「潰瘍性大腸炎に対する組換えヒト HGF の I/II 相試験」のプロトコル委員会が組織された。今後は、プロトコルの承認と分担研究施設の参加を推進し、臨床応用を目指したい。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いるが、より安全かつ大量に摂取可能な皮下脂肪組織由来幹細胞による粘膜再生療法の開発も目指したい。また、杯細胞の分化の誘導による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、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、慢性大腸炎症に潜む免疫学的異常、ことに自然免疫系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 < *Nat. Immunol.* 7, 962-970 (2006)、*Nat. Immunol.* 7, 868 - 874 (2006)、*Development* 33, 2553-2563 (2006)、*Nat. Cell Biol.* 8, 615-622 (2006)、*J. Immunol.* 177, 7059-7066 (2006)、*J.*

Immunol. 176, 6180-6185 (2006)、*J. Immunol.* 176, 3995-4002 (2006) >。今後は、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。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、ヒト制御性 T 細胞を無菌的に大量に分離する方法も確立されつつあり、制御性 T 細胞移入療法の選択的除去を導入する技術基盤を確立するための研究を継続中である。

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、患者登録を開始している。さらに、リポ化ステロイドを用いたドラッグデリバリーシステムによる多施設共同による無作為化並行群間試験も推進したい。

既存の薬剤を新しいコンセプトで適応外応用した治療法の開発

：phosphodiesterase4 阻害剤の免疫細胞に対する効果が明らかにされ、今後、炎症性腸疾患に対する新規治療剤として期待できる。

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、早期の臨床応用を目指した成果を確実に挙げられている。次年度以降も、これらの個々の研究成果の進展とともに、上皮再生、腸管免疫の調節および選択的細胞療法と腸管細胞への独自のデリバリーシステムといったプロジェクト相互の活発な交流と知見の融合を促進することにより、これらを統合した治療法の開発が可能になるものと期待される。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

上皮細胞の再生・修復のための分子療法の確立

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。腸管再生時には骨髄由来細胞が分泌型腸管上皮細胞への積極的な分化誘導を認めたことから、腸管内分化調節機構が存在し得る可能性が示され、実際に分泌型腸管上皮細胞の分化誘導には Notch シグナルと Wnt シグナルが調節機構として存在することを明らかとした。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解明しただけでなく、Wnt による新規細胞内シグナル伝達経路を発見し、腸管分泌型細胞分化調節と密接に関わることを明らかとした。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、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出した、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

(Nat Med 2002)、さらに腸管修復時には骨髄由来細胞が積極的に杯細胞を含めた分泌型上皮細胞に積極的に分化し再生に寄与すること (Gastroenterology 2005) を明らかにし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極めて独特で腸管独自の転写制御機構が関与し、特に IRF-1 分子が分泌型の杯細胞形質を有する上皮細胞において強く発現し、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) 腸管上皮細胞の分化制御における Notch シグナルの新規機能の探索、2) Notch 標的遺伝子の Wnt シグナルによる調節機構解析と腸管分泌型細胞分化調節との関連解析、を行うことを目的とした。

B. 研究方法・結果

1) 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。その中でも分泌型細胞への分化に必須と報告されている bHLH 型転写因子 Math1 のヒトホモログである Hath1 遺伝子が Notch シグナルによって制御されていることを明らかとした(いずれも未発表データ)。

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、分泌型腸管上皮細胞分化のマスター遺伝子と予想される Hath1 遺伝子の Notch シグナル、さらに Wnt シグナルとの関連を解析し分化形質の影響を解析した。その結果、a) 腸管上皮において分泌型細胞である杯細胞に Hath1 が発現しており、活性化 Notch 陽性細胞と正反対の局在を示し、培養細胞における Notch 活性化により Hath1 遺伝子の減少を認め、Notch シグナルによる Hath1 抑制が示された。b) しかし大腸癌由来細胞にて Hath1 遺伝子恒常発現細胞を樹立し解析したところ Hath1 タンパクのユビキチン-プロテアソーム系の積極的なタンパク分解をうけ、分化形質発現が抑制されている事を発見した。分解機構の詳細な解析にて、Hath1 は Wnt シグナルの GSK3 依存性に分解を受け、さらに同機構にて制御を受けている β -catenin と正反対に調節制御を受けることを明らかとした。

また、我々が独自に樹立した、大腸癌由来培養細胞を用いた Wnt シグナル抑制誘導系において、 β -catenin のタンパク分解と Hath1 タンパクの安定により、杯細胞分化形質を獲得することを確認した (Gastroenterology 2007)。

(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) 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。さらに分泌型細胞へのマスター遺伝子である Math1 のヒトホモログである Hath1 が Notch シグナルに抑制的に制御されることを初めて明らかにし、Notch シグナルが細胞

種運命決定に密接に関わることが示唆された。

2) Notch シグナルによる Hath1 遺伝子の発現調節により、細胞種決定調節機構を明らかにしたが、さらに厳密な Hath1 タンパク調節機構が存在し、Wnt シグナルによる β -catenin と相反する制御を受けることを明らかにした。つまり Wnt シグナルによる腸管上皮細胞未分化形質維持機能は β -catenin タンパク安定化だけでなく、GSK3 による Hath1 タンパク分解が関与し、逆に分化時には Hath1 タンパク安定化が重要な機構であることを明らかとし、Wnt の新規シグナル伝達経路を発見した。

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、Wnt シグナルによる腸管特異的標的遺伝子の発現制御、タンパク安定化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、Wnt 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. 参考文献

該当なし

F. 健康危険情報

該当なし

J. 研究発表

1. 論文発表

1. 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+CD44high CD62L-effector-memory T cells. *Am J Physiol*. 290:G1051-G1058, 2006.
2. Fujii R, Kanai T, Nemoto Y, Makita S, Oshima S, Okamoto R, Tsuchiya K, Totsuka T, Watanabe M: FTY720 suppresses CD4+CD44highCD62L- effector memory T cell-mediated colitis. *Am J Physiol*. 291: G267-G274, 2006.
3. Kanai T, Hibi T, Watanabe M: The Logics of leucocytapheresis as a natural biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Expert Opin Biol Ther*. 6:453-466, 2006.
4. Okamoto R, Matsumoto T, Watanabe M: Regeneration of the intestinal epithelia: Regulation of bone marrow-derived epithelial cell differentiation towards secretory lineage cells. *Human Cell*. 19:71-75, 2006.
5. Kanai T, Kawamura T, Dohi T, Makita S, Nemoto Y, Totsuka T, Watanabe M: Th1/Th2-mediated colitis induced by adoptive transfer of CD4+CD45RBhigh T lymphocytes into nude mice. *Inflamm Bowel Dis*. 12:89-99, 2006.
6. Kanai T, Watanabe M: Do fatty acids influence functions of intestinal

- dendritic cells? *J Gastroenterol.* 41:288-289, 2006.
7. 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.* 21:1136-1142, 2006.
 8. Tsuchiya K, Nakamura T, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Reciprocal targeting of *Hath1* and β -catenin by Wnt-glycogen synthase kinase 3 β in human colon cancer. *Gastroenterology.* 132:208-220, 2007.
 9. Nemoto Y, Kanai T, Makita S, Okamoto R, Totsuka T, Watanabe M: Bone marrow retaining colitogenic CD4+ T cells may be a pathogenic reservoir for chronic colitis. *Gastroenterology.* 132:176-189, 2007.
 10. Kanai T, Makita S, Kawamura T, Nemoto Y, Kubota D, Totsuka T, Watanabe M: Leukocytapheresis therapy for ulcerative colitis; extracorporeal anti-TNF- α therapy for the selective elimination of TNF- α -producing CD14^{dull}CD16⁺ monocytes. *Inflam Bowel Dis.* (in press)
 11. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Makita S, Watanabe M: IL-7 is essential for the development and the persistence of chronic colitis running title: IL-7-dependent colitis. *J Immunol.* (in press)
 12. Makita S, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Yamamoto M, Kiyono H, Watanabe M: Intestinal Lamina Propria Retaining CD4+CD25+ Regulatory T Cells Is A Suppressive Site of Intestinal Inflammation. *J Immunol.* (in press)
2. 学会発表
1. Tsuchiya K, Nakamura T, Okamoto, Kanai T, Watanabe M: Reciprocal targeting of *Hath1* and β -catenin by Wnt-GSK3 in colonocyte differentiation and proliferation. Keystone symposia; Wnt signaling. Salt Lake, UT, USA, 2006. 4.10.
 2. Yoshioka A, Oshima S, Tsuchiya K, Namiki S, Okamoto R, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: IRF-1 mediates innate immune response of intestinal epithelial cells by regulating the concerted expression of immunosubunits and TLR3. DDW 2006. Los Angeles, CA, USA, 2006. 5. 21.
 3. Araki A, Tsuchiya K, Oshima S, Okada E, Kanai T, Watanabe M: Double-Balloon Enteroscopy: First one year experience and modified technique (double-over tube method). DDW 2006. Los Angeles, CA, USA, 2006. 5. 22.
 4. Tsuchiya K, Nakamura T, Okamoto, Kanai T, Watanabe M: Reciprocal targeting of *Hath1* and β -catenin by WntGsk3 in colonocyte differentiation and proliferation. DDW 2006. Los Angeles, CA, USA, 2006. 5. 22.
 5. Nemoto Y, Kanai T, Makita S, Fujii R, Okamoto R, Totsuka T, Watanabe M: Bone marrow latently retaining colitogenic CD4+T cells may be a pathogenic

- reservoir for lifelong chronic colitis. DDW 2006. Los Angeles, CA, USA, 2006.5.22.
6. Okamoto R, Nakamura T, Oshima S, Tsuchiya K, Kanai T, Watanabe M: Constitutively activated notch signaling suppresses goblet cell phenotype in human intestinal epithelial cells. DDW 2006. Los Angeles, CA, USA, 2006.5.22.
 7. Makita S, Kanai T, Nemoto Y, Ito Y, Onizawa M, Totsuka T, Watanabe M: Regulation of intestinal inflammation by lamina propria CD4+ CD25+/BrightT cells. DDW 2006. Los Angeles, CA, USA, 2006.5.23.
 8. Kanai T, Fujii R, Nemoto Y, Makita S, Totsuka T, Watanabe M: Fty720 suppresses CD4+CD44HighCD621⁻ effector memory T cell-mediated colitis. DDW 2006. Los Angeles, CA, USA, 2006.5.23.
 9. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Yamazaki M, Makita S, Watanabe M: IL-7 is essential for the development and persistence of chronic colitis. DDW 2006. Los Angeles, CA, USA, 2006.5.24.
 10. Watanabe M: Bone marrow-derived cells in the human intestinal epithelium. AGA Stem Cells in Gastrointestinal Development, Regeneration and Neoplasia Symposium. Washington, D.C., USA, 2006.9.9.
 11. Kanai T, Watanabe M: Uniqueness of colitogenic lamina propria CD4+ T cells for the perpetuation of colitis. First Japan - Korea IBD Symposium. Seoul, Korea, 2006.9.23.
 12. Nemoto Y, Kanai T, Makita S, Okamoto R, Totsuka T, Watanabe M: Bone marrow latently retaining colitogenic memory CD4+ T Cells may be a pathogenic Reservoir for Lifelong Chronic Colitis. First Japan - Korea IBD Symposium. Seoul, Korea, 2006.9.23.
 13. Watanabe M: Ulcerative colitis: A disorder of epithelial cell differentiation? Cleveland Clinic Foundation Special Combined Lecture. Cleveland, OH, USA, 2006.11.9.
 14. 渡辺 守: 炎症性免疫疾患に対する白血球除去療法. 第103回日本内科学会講演会. 横浜, 2006.4.16.
 15. 久保田大輔、金井隆典、渡辺 守: 日本人 IBD 患者に対する 6-MP/AZA 投与の安全性の検討. 第 92 回日本消化器病学会. 小倉, 2006.4.20.
 16. 戸塚輝治、金井隆典、根本泰宏、伊藤ゆみ、蒔田 新、藤井 玲、鬼澤道夫、八木田秀雄、渡辺 守: 慢性大腸炎における Regulatory T 細胞の RANK/RANKL 分子の役割. 第 92 回日本消化器病学会. 小倉, 2006.4.21.
 17. 蒔田 新、金井隆典、根本泰宏、伊藤ゆみ、戸塚輝治、藤井 玲、鬼澤道夫、渡辺 守: 腸間膜リンパ節・パイエル板欠損マウスは慢性大腸炎を発症する. 第 92 回日本消化器病学会. 小倉, 2006.4.21.
 18. 金井隆典、根本泰宏、蒔田 新、鬼澤道夫、伊藤ゆみ、富田貴之、岡本隆一、土屋輝一郎、戸塚輝治、渡辺 守: 慢性大腸炎の骨髄に存在する腸炎惹起性 CD4+T 細胞. 第 43 回日本消化器免疫学会総会. 青森, 2006.8.4.
 19. Tsuchiya K, Oshima 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. The 16th International Symposium on Regulatory Peptides (REGPEP'06). 箱根, 2006. 8. 31.
20. Kanai T, Makita S, Nemoto K, Tsuchiya K, Totsuka T, Watanabe M: Intestinal lamina propria CD4+CD25+regulatory T cells suppress the development of colitis in lymphotoxin a deficient mice lacking mesenteric lymph nodes. The 16th International Symposium on Regulatory Peptides (REGPEP'06). 箱根, 2006. 8. 31.
21. Watanabe M: Crossing between mucosal immunity and epithelial regeneration/differentiation in the human intestine. The 16th International Symposium on Regulatory Peptides (REGPEP'06). 箱根, 2006. 9. 1.
22. 渡辺 守: 腸管における上皮分化・再生と癌のスイッチ. 第 44 回日本癌治療学会総会. 東京, 2006. 9. 4.
23. 土屋輝一郎、岡本隆一、渡辺 守: Hath1 を介した Wnt/Notch シグナルにおける腸管再生機構解析. 第 48 回日本消化器病学会・第 10 回日本肝臓学会 合同. 札幌, 2006. 10. 11.
24. 根本泰宏、金井隆典、蒔田 新、岡本隆一、戸塚輝治、渡辺 守: 骨髄は慢性大腸炎モデルマウスにおいて病原性 T 細胞のリザーバーとして機能する. 第 48 回日本消化器病学会. 札幌, 2006. 10. 12.
25. 蒔田 新、金井隆典、根本泰宏、伊藤ゆみ、鬼澤道夫、戸塚輝治、渡辺 守: CD4+CD25+制御性 T 細胞は腸間膜リンパ節欠損マウスに発症する慢性大腸炎を抑制する. 第 48 回日本消化器病学会. 札幌, 2006. 10. 12.
26. 久保田大輔、金井隆典、渡辺 守: 潰瘍性大腸炎に対するシクロスポリン静注療法の効果予測. 第 48 回日本消化器病学会・第 72 回日本消化器内視鏡学会合同. 札幌, 2006. 10. 12.
27. 荒木昭博、土屋輝一郎、渡辺 守: オーバーチューブ把持装置を用いないダブルバルーン内視鏡一人法手技の開発. 第 48 回日本消化器病学会・第 72 回日本消化器内視鏡学会合同. 札幌, 2006. 10. 12.
28. 岡本隆一、土屋輝一郎、渡辺 守: 上皮細胞の分化制御を利用した粘膜再生治療への試み. 第 48 回日本消化器病学会. 札幌, 2006. 10. 13.
29. 土屋輝一郎、荒木昭博、渡辺 守: 当院における小腸病変の内視鏡所見と潰瘍の形態からみた体系化への試み. 第 48 回日本消化器病学会・第 72 回日本消化器内視鏡学会合同. 札幌, 2006. 10. 13.
- H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)
- 1 特許取得
該当なし
 - 2 実用新案登録
該当なし
 - 3 その他
該当なし

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

分担研究者 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

研究要旨：肝細胞増殖因子(hepatocyte growth factor: HGF)は傷害消化管粘膜の重要な再生・修復因子である。本研究では、炎症性腸疾患に対する組換えヒト HGF による新たな傷害粘膜再生・修復療法の開発を目指して種々の非臨床試験を実施してきた。今回、組換えヒト HGF 注腸投与における薬効薬理試験および大腸発癌モデルを用いた安全性薬理試験を行った。組換えヒト HGF は、二種の大腸炎モデルにおいて、注腸投与にても粘膜上皮細胞の増殖を促進し、潰瘍面積を有意に縮小させ、さらに炎症も軽減させた。一方、大腸発癌モデルにおいては、発癌促進作用を認めなかった。これらの非臨床試験成績および既に試験を終了している静注投与における非臨床試験成績、さらに先行する劇症肝炎を対象とした第 I/II 相試験における成績をもとに潰瘍性大腸炎を対象とした臨床試験を実施すべく、プロトコル委員会を組織してプロトコルの作成を開始した。

共同研究者

井戸 章雄	京都大学医学部附属病院 探索医療センター 助教授
沼田 政嗣	京都大学医学部附属病院 探索医療センター 助手
山路 尚久	京都大学医学部附属病院 探索医療センター 助手
瀬戸山 仁	京都大学医学部附属病院 消化器内科 医員
宇都 浩文	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 講師
藤田 浩	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 助手
森内 昭博	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 助手
児玉 眞由美	宮崎大学医学部内科学講座 消化器血液学 助手

A. 研究目的

肝細胞増殖因子(hepatocyte growth factor: HGF)は肝細胞の増殖を促進する因子として劇症肝炎患者血漿から単離された増殖因子である。HGF は肝細胞のみならず種々の上皮系細胞に対して、増殖促進作用のみならず遊走能促進、アポトーシス抑制作用を誘導し、消化管においても傷害粘膜の重要な再

生・修復因子と考えられている。一方、炎症性腸疾患は若年者に多く発症する難治性疾患で、これまで抗炎症、免疫抑制に主眼をおいた治療法がなされているが、再燃を繰り返し、治療に難渋する症例も多い。我々は、組み換えヒト HGF が実験大腸炎モデルにおける大腸傷害粘膜の修復を促進することを報告した。本研究の目的は、医薬品化が進められている組換えヒト HGF による傷害粘膜の再生・修復を目的とした新たな治療法を開発することである。

B. 研究方法

1. 大腸炎モデルに及ぼす組換えヒト HGF の影響

- 7 週齢の Wistar ラットに 3%デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を 5 日間自由飲水後、6 日目より 1%DSS に変更し 7 日間自由飲水させ腸炎を誘導した。第 6 日目より組換えヒト HGF (0.01mg/ml・0.5ml/回) または生食を 7 日間 1 日 1 回注腸投与し、13 日目に大腸びらん面積測定、組織学的評価、ki67 免疫染色によるラベリング指数を検討した。
- 7 週齢の Wistar ラットに 2, 4, 6-トリニトロロベンゼンスルホン酸 (TNBS) を 7.5 mg/body で単回注腸投与し腸炎を誘導した。TNBS 投与 5 日目に内視鏡検査を行い、大腸全周 3/4 以上に広がる潰瘍が形成されたラットに、第 6 日目より組換えヒト HGF (0.0001 mg/ml, 0.001 mg/ml, 0.01 mg/ml・0.5 ml/回) または生食を 5 日間注腸投与し、12 日目に大腸潰瘍面積測定、組織学的評価、ki67 免疫

染色によるラベリング指数を検討した。

また、同様の TNBS 腸炎モデルに第 6 日目より組換えヒト HGF (0.01 mg/ml、0.1 mg/ml、1.0 mg/ml・0.5 ml/回) または生食を 7 日間注腸投与し、14 日目に大腸潰瘍面積測定、組織学的評価、ki67 免疫染色によるラベリング指数を検討した。

2. 大腸発癌モデルに及ぼす組換えヒト HGF の影響

1) 6 週齢の F344 ラットに DMH を週 1 回、4 週間皮下投与した。8 週目から組換えヒト HGF (0.01mg/ml) を 2 週間、HGF (1.0 mg/ml) を 6 週間、計 8 週間注腸投与した。対照群として、生食を注腸投与した。投与終了(14 週)時の aberrant crypt foci (ACF) の発生を検討した。

3. 組換えヒト HGF の医師主導治験の準備

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、組換えヒト 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

(倫理面への配慮)

非臨床試験における実験動物を用いた実験に関して、国際社会がヒトの健康のためといえども、実験及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、大学の動物実験ガイドラインに沿って実施した。また、医師主導治験の実実施計画に関しては、(1)倫理審査委員会及び医薬品等臨床研究審査委員会 (IRB) で研究の適否などを議論・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。治験参加の有無により、治療などの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い、人権及び利益の確保を行うよう配慮する。

C. 研究結果

1. 大腸炎モデルに及ぼす組換えヒト HGF の影響

1) 大腸びらん面積は HGF 群 $52.6 \pm 35.7 \text{ mm}^2$ 、生食群 $122.9 \pm 18.0 \text{ mm}^2$ で HGF 群で有意に縮小が認められた。組織学的スコアは HGF 群 3.1 ± 0.7 点、生食群 5.2 ± 0.4 点で HGF 群で有意に組織学的改善が認められた。Ki67 免疫染色では、傷害部におけるラベリング指数において HGF 群 $73.4 \pm 6.2\%$ 、生食群 $56.3 \pm 6.1\%$ で HGF 群で有意に増加が認められた。

2) 5 日間 HGF 注腸モデルでは、大腸潰瘍面積は HGF

0.01mg/ml 投与群で $75.8 \pm 32.3 \text{ mm}^2$ 、生食群 $171.2 \pm 63.8 \text{ mm}^2$ で HGF 群で有意に縮小が認められた。組織学的スコアはいずれの濃度群においても生食群との有意差は認めなかった。Ki67 免疫染色では、傷害部におけるラベリング指数において HGF 0.001mg/ml 投与群で $58.2 \pm 5.6\%$ 、0.01mg/ml 投与群で $71.0 \pm 9.3\%$ 、生食群 $32.4 \pm 12.7\%$ で HGF 群で有意に増加が認められた。

7 日間 HGF 注腸モデルでは、大腸潰瘍面積は HGF 0.1mg/ml 投与群で $17.6 \pm 5.7 \text{ mm}^2$ 、生食群 $46.9 \pm 21.2 \text{ mm}^2$ で、HGF 群で有意に縮小が認められた。組織学的スコアは HGF 0.1mg/ml 投与群で 2.86 ± 0.63 点、生食群 4.37 ± 0.48 点で HGF 群で有意に組織学的改善が認められた。Ki67 免疫染色では、傷害部におけるラベリング指数において HGF 0.01mg/ml 投与群で $51.1 \pm 5.9\%$ 、0.1mg/ml 投与群で $51.5 \pm 9.2\%$ 、生食群 $32.4 \pm 12.7\%$ で HGF 群で有意に増加が認められた。また HGF 1.0mg/ml 投与群では、潰瘍面積、組織学的スコア、Ki67 免疫染色ラベリング指数のいずれにおいても生食群との有意差は認めなかった。

2. 大腸発癌モデルに及ぼす組換えヒト HGF の影響

1) ACF の発生数は、HGF 群 31.4 ± 14.7 個に対し、PBS 群 40.5 ± 22.3 個で、両群間に有意差はみられなかった。

2. 組換えヒト HGF の医師主導治験の準備

今回追加した非臨床試験成績および既に試験を終了している静注投与における非臨床試験成績、さらに先行する劇症肝炎を対象とした第 I/II 相治験における成績をもとに潰瘍性大腸炎を対象とした臨床試験を実施すべく、プロトコル委員会を組織してプロトコルの作成を開始した。プロトコル委員会では、選択基準、除外規準が審議された。また、増殖因子である HGF の持つ発癌性の問題が議論された。

D. 考察

1. 大腸炎モデルに及ぼす組換えヒト HGF の影響

薬効薬理試験を追加し、組換えヒト HGF 注腸投与における薬効を確認した。本試験において、有効性が期待できる組換えヒト HGF 濃度は 0.01 mg/ml と推定された。また、1.0 mg/ml (0.5 mg/匹) 反復注腸投与において死亡する個体はみられなかった。

1. 大腸発癌モデルに及ぼす組換えヒト HGF の影響

組換えヒト HGF の発癌性試験として、大腸発癌に及ぼす影響を、組換えヒト HGF 注腸投与において検討した。組換えヒト HGF は発癌を促進しなかったが、増殖因子である組換えヒト HGF が発癌を促進する可

能性を完全に否定することは困難であるため、その臨床応用に際しては、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が必要と考えられた。

2. 組換えヒト HGF の医師主導治験の準備

HGF の発癌性を完全に否定することは困難であるため健康人を対象とした臨床試験は実施困難である。従って、当初（第 I 相）から潰瘍性大腸炎を対象とした臨床試験を計画している。しかし、組換えヒト HGF 注腸投与で対象となる潰瘍性大腸炎患者は活動性病変が遠位大腸に局在している者であり、重症の者は除外される。従って、このような対象者に対しても増殖因子である HGF の発癌性が倫理的にまた被験者候補となる者（潰瘍性大腸炎患者）からも受け入れられるかが問題点として指摘された。

E. 結論

炎症性腸疾患に対する組換えヒト HGF 注腸投与による臨床応用を目指して、その薬効薬理試験および発癌モデルを用いた安全性薬理性試験を追加した。また、非臨床試験成績から安全性の論理構築を行い、プロトコル委員会においてプロトコル作成を開始した。今後、対象者および臨床試験の正当性、倫理性について十分に議論を重ね、治験計画届に向けた準備を早急に進める見通しである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kusumoto K, Ido A, Moriuchi A, Katsura T, Kim ID, Takahama Y, Numata M, Kodama M, Hasuike S, Nagata K, Uto H, Inui K, Tsubouchi H: Repeated intravenous injection of recombinant human hepatocyte growth factor ameliorates liver cirrhosis but causes albuminuria in rats. *Int J Mol Med*. 17: 503-509, 2006
- 2) Nakanishi C, Moriuchi A, Ido A, Numata M, Kim ID, Kusumoto K, Hasuike S, Abe H, Nagata K, Akiyama Y, Uto H, Kataoka H, Tsubouchi H: Effect of hepatocyte growth factor on endogenous hepatocarcinogenesis in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Oncol Rep*. 16: 25-31, 2006
- 3) 井戸章雄、坪内博仁：劇症肝炎に対する HGF の臨床応用－開発型の医師主導治験。医学のあゆみ 216(10)：789-790, 2006
- 4) 井戸章雄、沼田政嗣、森内昭博、児玉真由美、坪

内博仁：HGF による粘膜修復系の今後の見通しとは？。分子消化器学 3(2)：110-116, 2006

- 5) 井戸章雄、森内昭博、瀬戸山仁、山路尚久、坪内博仁：劇症肝炎の診断と治療。Modern Physician 26(8)：1301-1306, 2006

2. 学会発表

- 1) Numata M, Kodama M, Uto H, Nakanishi C, Kanmura S, Abe H, Miike T, Kusumoto K, Hasuike S, Nagata K, Hayashi K, Ido A, Tsubouchi H: Hepatocyte growth factor may not accelerate neoplastic development in two experimental models. *Digestive Disease Week 2006, Los Angeles, 2006.5.20*
- 2) 森内昭博、井戸章雄、金一徳、遠藤龍人、上村修司、楠元寿典、蓮池悟、永田賢治、宇都浩文、坪内博仁：HGF が抗アポトーシス作用を示す急性肝不全モデルを用いた網羅的遺伝子発現解析。日本肝臓学会総会，京都，2006.5
- 3) 児玉真由美、沼田政嗣、宇都浩文、中西千尋、上村修司、安倍弘生、三池忠、楠元寿典、山本章二郎、井戸章雄、坪内博仁：ラット大腸発癌モデルにおける遺伝子組換え型ヒト肝細胞増殖因子（rh-HGF）の及ぼす影響。日本消化器病学会総会，北九州市，2006.4
- 4) 森内昭博、井戸章雄、坪内博仁：トランスレーショナルリサーチにおける医師主導治験の問題点－劇症肝炎に対する組換えヒト HGF の第 I/II 相治験の経験から－。第 10 回日本肝臓学会大会，札幌，2006.10.11
- 5) 宇都浩文、井戸章雄、森内昭博、蓮池悟、永田賢治、板垣はつえ、名越澄子、持田智、藤原研司、坪内博仁：急性肝疾患における迅速簡便な HGF 半定量測定キットの有用性の検討。第 10 回日本肝臓学会大会，札幌，2006.10.11

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

なし