

も同様に除去されていると考えられる。調節性細胞の中でも CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞(ヒトでは CD4⁺CD25^{hi}分画に存在する)は広範な免疫反応を抑制・制御する事で知られ、炎症性腸疾患動物モデルで腸炎を著明に抑制する事から炎症性腸疾患治療への応用が期待される。活動期潰瘍性大腸炎では末梢血中の制御性 T 細胞の割合が低下しており^{1,2}、制御性 T 細胞の不足が大腸炎の増悪に関連している可能性が示唆され、制御性 T 細胞移入療法が潰瘍性大腸炎の治療として有用である事が期待できる。我々は制御性 T 細胞移入療法を既存の血球成分除去療法と組み合わせて行う事により更に有効性を高められるのではないかと考え、「血球成分除去・制御性 T 細胞移入療法」を考案した。血球成分除去療法産物より無菌的に大量に制御性 T 細胞が分離可能であれば、本治療法は施行可能である。よって本年度、我々は臨床応用可能なグレードでの制御性 T 細胞分離法について検討した。

B. 研究方法

Miltenyi Biotec 社の臨床目的の細胞分離システム ClinMACS を用いて制御性 T 細胞分離を行った。潰瘍性大腸炎患者に対して遠心分離法による血球成分除去療法を Hemonetics 社成分採血装置 CCS を用いて行った。分離された白血球より、CliniMACS CD8 Reagent (CD8 に対する磁気ビーズ)と CliniMACS CD19 Reagent (CD19 に対する磁気ビーズ)を反応させ、ビーズの付着していない細胞を CliniMACS 細胞分離装置を用いて回収した。次に、回収した細胞に CliniMACS CD25 Reagent (CD25 に対する磁気ビーズ)を反応させ、ビーズの付着した細胞を回収し

た。全ての細胞分離工程は閉鎖回路内で無菌的に行われた。

分離前後の細胞における CD8⁺ T 細胞、B 細胞、CD4⁺CD25^{hi} T 細胞の割合をフローサイトメトリーで解析した。また、制御性 T 細胞に特異的に発現する転写因子 FOXP3 の細胞内染色を行い FOXP3⁺細胞の CD4⁺ T 細胞における割合をフローサイトメトリーで解析した。

分離した CD25⁺細胞分画の免疫制御機能を測定した。通常の CD4⁺ T 細胞、分離した CD4⁺CD25⁺ T 細胞および両者を抗 CD3 抗体とマイトマイシン C で処理した APC で刺激し、細胞増殖の程度を³H サイミジンの取り込みで測定した。

「倫理面への配慮」: 血球成分除去療法産物からの制御性 T 細胞分離実験に関して、平成 17 年 3 月 31 日九州大学医学研究院等倫理委員会の承認を受けた。研究に参加した全ての患者に研究内容を同意説明文書を用いて説明し、患者の自由意志により文書による同意を得た。本研究では患者検体を研究に用いたが、血球成分除去療法で分離された通常であれば廃棄する白血球より細胞を分離し解析したもので、研究への参加により治療方針が変更されたり、治療による危険性が増す事はなく、倫理的に問題はないものと判断した。

C. 研究結果

計 4 回の分離実験を行った。全ての実験において、CD8⁺ T 細胞、B 細胞共にほぼ完全に除去された。分離前、制御性 T 細胞(CD4⁺CD25^{hi} T 細胞)の割合は 2.1 ± 0.6%であったが、分離後は 52.3 ± 5.4%と高い割合になった。回収率は 62.9 ± 8.0%であり、平均 6.0 × 10⁷ 個の CD4⁺CD25^{hi}

細胞が1回の血球成分除去療法産物より分離された。FOXP3⁺細胞のCD4⁺T細胞中の割合は分離前1.2±0.6%であり、分離後は53.5±8.8%であった。4回の実験中3回で、分離されたCD25⁺T細胞は正常のCD4⁺T細胞に比べて細胞増殖が低下していた。また、CD4⁺CD25⁺T細胞との共培養によりCD4⁺T細胞の増殖は低下した。

D. 考察

CliniMACSを用いた細胞分離によりCD4⁺CD25^{high}T細胞が高い割合で分離可能であった。また、これらの細胞はFOXP3を発現している事、抗CD3抗体による刺激に低応答である事、T細胞増殖抑制能を有している事より制御性T細胞であると考えられる。回収率も高い値が得られた。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を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た。

4回の中、1回の実験で分離した細胞の免疫制御活性が*in vitro*で確認できなかったが、この時の分離した細胞中のCD4⁺CD25^{high}T細胞の割合は39.2%と低かった。これまでの報告^{2,3}および我々のこれまでの検討では、潰瘍性大腸炎患者の制御性T細胞の機能は保たれている。よって、制御性T細胞の機能不全によるものではなく、分離された細胞に含まれる制御性T細胞の割合が低かったためと考えられる。

今回、分離に用いたCliniMACS CD8 Reagent、CliniMACS CD19 Reagentは欧州にて既にCEマークが取得されている。CliniMACS CD25 Reagentも近日中にCE

認証される予定であり、その後、「血球成分除去・制御性T細胞移入療法」の臨床試験プロトコールを九州大学医学研究院等倫理委員会に審査申請する予定である。

E. 結論

CliniMACSを用いて血球成分除去療法産物より制御性T細胞を無菌的に大量に分離し、制御性T細胞移入療法に用いる事が可能である。

F. 参考文献

1. Takahashi M, Nakamura K, Honda K, Kitamura Y, Mizutani T, Araki Y, Kabemura T, Chijiwa Y, Harada N, Nawata H: An inverse correlation of human peripheral blood regulatory T cell frequency with the disease activity of ulcerative colitis. *Digestive Diseases and Sciences* 51 (4): 677-686, 2006.
2. Maul J, Loddenkemper C, Mundt P, Berg E, Giese T, Stallmach A, Zeitz M, Duchmann R: Peripheral and intestinal regulatory CD4⁺CD25^{high}T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 128 (7): 1868-1878, 2005.
3. Makita S, Kanai T, Oshima S, Uraushihara K, Totsuka T, Sawada T, Nakamura T, Koganei K, Fukushima T, Watanabe M: CD4⁺CD25^{bright}T cells in human intestinal lamina propria as regulatory cells. *Journal of Immunology* 173 (5): 3119-3130, 2004.

G. 健康危険情報：該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表

・Takahashi M, Nakamura K, Honda K, Kitamura Y, Mizutani T, Araki Y, Kabemura T, Chijiwa Y, Harada N, Nawata H: An inverse correlation of human peripheral blood regulatory T cell frequency with the disease activity of ulcerative colitis. Digestive Diseases and Sciences 51 (4): 677-686, 2006.

・Nakamura K, Honda K, Mizutani T, Akiho H, Harada N: Novel strategies for the treatment of inflammatory bowel disease: Selective inhibition of cytokines and adhesion molecules. World Journal of Gastroenterology 12 (29): 4628-4635, 2006.

・中村和彦: 制御性 T 細胞をどう治療に生かすか? 炎症と免疫 14 (6): 86-92, 2006.

2. 学会発表

・中村和彦, 隅田頼信, 金山兼司, 高橋 誠, 本田邦臣, 水谷孝弘, 樋口奈緒美, 吉永繁高, 板場壮一, 秋穂裕唯. 潰瘍性大腸炎に対する血球成分除去・制御性 T 細胞移入療法開発の試み. 第 92 回日本消化器病学会総会. 小倉. 平成 18 年 4 月

・中村和彦, 隅田頼信, 金山兼司, 高橋 誠, 水谷孝弘, 本田邦臣, 樋口奈緒美, 吉永繁高, 板場壮一, 秋穂裕唯, 高柳涼一. 潰瘍性大腸炎に対する制御性 T 細胞を用いた新規治療法: 血球成分除去・制御性 T 細胞移入療法の開発. 第 48 回日本消化器病学会大会. 札幌. 平成 18 年 10 月

I. 知的財産権の出願・登録状況

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

ラット皮下脂肪組織由来幹細胞の粘膜下局所注入法による腸管粘膜再生

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：比較的安かつ大量に採取可能な皮下脂肪組織由来幹細胞（Adipose tissue Derived-Stem Cells, 以下 ADSC）を用いて、粘膜下局所注入法により腸粘膜再生に利用可能であるかどうか、腸炎モデル動物を使って検討し、有用性を認めた。

共同研究者

安藤 祐吾 1)2)、稲葉 宗夫 2)3)4)、坂口 雄
沢 1)2)、内田 一茂 1)、松下 光伸 1)、池原
進 2)3)4)

所属 1) 関西医科大学 内科学第三講座

2) 関西医科大学 第一病理

3) 関西医科大学 再生医学難病治療センター

4) 関西医科大学 癌治療センター

A. 研究目的

比較的安かつ大量に採取可能な皮下脂肪組織由来幹細胞（Adipose tissue Derived-Stem Cells, 以下 ADSC）を用いて、粘膜下局所注入法により腸粘膜再生に利用可能であるかどうか、腸炎モデル動物を使って検討した。

B. 研究方法

1) ラット脂肪由来幹細胞（ADSC）の多分化能の検討

ラットの皮下脂肪を採取し、コラゲナーゼにて細胞外間質を分解し遠心した後、ペレットを培養皿に撒き、24 時間培養した。次に、一週間培養した付着性細胞を Fax 解析したところ、マクロファージおよび白血球全般に発現が見られる CD11b および CD45⁺ の細胞が多数認められた。さらに繊維芽細胞や骨髄肝葉系幹細胞に発現している CD90 も見られた。

2) ADSC 培養液中の growth factor (HGF, VEGF, TGF- β) の測定と粘膜再生への関与の検討

脂肪由来幹細胞を 1 週間培養した培養液中の Growth factor (HGF, VEGF, TGF- β) を測定し、粘膜再生への関与を検討した。

3) ラットの TNBS 大腸炎モデルにおける分離培養 ADSC の粘膜再生への関与

TNBS 腸炎ラットに対して大雌ラットから分離培養した ADSC を大腸粘膜下に局注し、in vivo における粘膜再生への関与を調べた。

Group1 は生理食塩水のみを注腸、Group2 は TNBS を注腸し 2 日目に PBS を局注、Group3 は TNBS を注腸し 2 日目に脂肪由来幹細胞を局注し、3 群とも 10 日目に評価を行った。局注はエーテル麻酔下で正中切開し、潰瘍形成により変色した腸管部位に対して漿膜側から 27 ゲージ針を用いて 400 μ l の PBS もしくは脂肪由来幹細胞を懸濁した PBS を腸管壁内に局注した。

C. 研究結果

神経へ分化誘導した細胞では、ニューロン様の擬足を伸ばし、それぞれ細胞がシナプス形成をしているような形態を呈していた。脂肪へ分化誘導した細胞では、脂肪細胞に類似の細胞を示した。骨へ分化誘導した細胞では、骨が細胞様の擬足を伸ばし、アメーバ様の形態を示した。上皮へ分化誘導した細胞では、均一なシート状の丸みを帯びた細胞へと形態を変化させていた。神経に分化誘導した細胞を NSE 免疫染色したところ、分化誘導した細

胞では細胞質に均一に染色される像が見られた。脂肪に分化誘導した細胞を Oil red O 染色したところ、赤く染色される像が見られた。骨に分化誘導した細胞を ALP 染色したところ、骨芽細胞様の細胞が暗紫色に染色され、さらに、Von kossa 染色を行ったところ、カルシウムの沈着が見られた。上皮に分化誘導した細胞を Cytokeratine-18 で免疫染色したところ、細胞質が胆栓された。さらに、FITC で標識した Cytokeratine-18 を FACS にて測定したところ、軽度の発現が見られた。

2) HGF, VEGF, TGF- β を ELISA 法にて測定したところ、大量の VEGF および HGF が検出された。腸管局所において血管新生や粘膜再生を促す増殖因子が分泌される可能性が考えられた。

3) 脂肪由来幹細胞を入した群では、若干、腸管短縮の改善が見られた。腸管の潰瘍面積は、脂肪由来幹細胞を注入した群で明らかに潰瘍面積の縮小が見られ、コントロール群との間に明らかな有意差を認めた。組織学的には、コントロール群で半数以上の標本で筋層壊死を伴う全層性の高度炎症像が見られたが、脂肪由来幹細胞を注入した群では、組織学的なスコアリングに有意差が見られた。

D. 考察

脂肪由来幹細胞は、形態的にも免疫組織学的にも多分化能を有する細胞を含んでいる可能性があると考えられた。今回行った実験により、脂肪由来幹細胞は多系統の成熟細胞へと分化する可能性が示された。また、脂肪由来幹細胞から多数の増殖因子の分泌が証明され、その作用により創傷治癒を促進させる可能性が考えられた。さらに、In Vivo の実験において、脂肪由来幹細胞は傷害をうけた腸粘膜の再生を促進する働きが認められた。ADSC は多分化能を有しており、傷害により欠損した組織を補填する可能性が考えられる。また、

ADSC は大量の HGF や VEGF などの growth factor を分泌しており、これらの growth factor の働きである抗アポトーシス作用、上皮細胞増殖促進作用、血管新生促進作用により傷害粘膜の再生を促進したと考えられる。

E. 結論

ADSC はクローン病腸炎モデルである TNBS 腸炎の粘膜再生を促進させる働きが確認された。将来的にはクローン病に合併する難治性瘻孔に対する内視鏡的治療への応用が期待される。

F. 参考文献

- 1) A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum*. 2005;48(7):1416-23
- 2) Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002 ;13(12):4279-95.
- 3) Novel autologous cell therapy in ischemic limb disease through growth factor secretion by cultured adipose tissue-derived stromal cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(12):2542-7.
- 4) Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell therapy. *J Atheroscler Thromb*. 2006;13:77-81.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

ポリ乳酸マイクロカプセルを用いたステロイド封入
カプセルによる難治性潰瘍性大腸炎治療の臨床試験

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：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にあり、消化管粘膜の免疫異常が病態に深く関わっている。治療として、ステロイド剤や免疫抑制剤などの有効性が認められているが、長期投与を余儀なくされ、副作用が大きな問題となっている。我々が開発したステロイド封入マイクロカプセルは、消化管の炎症部位により多く取り込まれ、炎症部位からステロイドを徐々に放出し、炎症を効率的に抑制すると考えられている。その結果、炎症腸管のみに作用し、全身に与える影響は少ないと考えられる。本研究では、実際に難治性潰瘍性大腸炎患者にステロイド封入マイクロカプセルを投与し、その有効性と安全性を確認したいと考え、この臨床試験に参加する患者を登録中である。従来の投与方法と比較し、ステロイド封入マイクロカプセルの投与により、副作用軽減や患者のQOL改善のみならず、医療資本の削減に寄与できる可能性がある。

共同研究者

松下光伸¹⁾ 深田憲将¹⁾ 内田一茂¹⁾
安藤祐吾¹⁾ 川股聖二¹⁾ 大宮美香¹⁾
藤井壽仁¹⁾ 廣田育彦²⁾ 田畑泰彦³⁾

所属

関西医科大学内科学第三講座¹⁾
関西医科大学薬剤部²⁾
京都大学再生医科学研究所³⁾

A. 研究目的

近年、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にある。その病因は不明であるものの、消化管粘膜の免疫異常が病態に深く関わっていることが明らかにされ、治療においてはステロイド剤や免疫抑制剤などの有効性が認められている。しかしながら、その多くは長期投与を余儀なくされ、治療薬の全身に及ぼす副作用が臨床で大きな問題となっている。従って、薬剤の選択的効果に加え、副作用を抑制することは臨床で極めて重要である。炎症の生じている腸管局所にステロイドを含む種々の免疫抑制剤が徐放可能となれば、副作用の少ない治療が可能となり、腸管切除の回避、あるいは炎症性腸疾患患者のQOL向上につながると考えられる。

我々は高分子バイオマテリアルの一種であるポリ-L-D 乳酸マイクロカプセルを用いたステロイド封入マイクロカプセルを作成し、経口投与による有効性と安全性をマウス腸炎モデルとラットの長期毒性実験を用いて確認している。本研究では実際に、

難治性潰瘍性大腸炎患者にステロイド封入マイクロカプセルを投与し、本剤の有効性と安全性について研究する。

B. 研究方法

対象は、難治性潰瘍性大腸炎患者であるステロイド抵抗例（プレドニゾロン 1-1.5mg/kg/day の1-2週間投与で効果なし）とステロイド依存例（ステロイド漸減中の再燃）、および相対的手術適応患者（ステロイドによる重症副作用が発現する恐れがある例）とする。

左側大腸炎型または全大腸炎型患者（n=10）には、デキサメサゾン封入ポリ乳酸マイクロカプセル（DxMC） 840mg/day（1mgのデキサメサゾンを含む）を、1日1回1週間経口投与し、次の3週間は隔日経口投与する。左側大腸炎型患者（n=10）には、DxMC 840mg/dayを、1日1回1週間注腸投与し、次の3週間は隔日注腸投与する。

治療評価は、投与前・2週後・4週後に臨床スコア、大腸内視鏡所見、生検組織所見、組織中デキサメサゾン濃度測定、血液・生化学検査、尿検査にて有効性および安全性を検討する。

（倫理面への配慮）

関西医科大学医学倫理委員会の承認（腸管M細胞および免疫担当細胞を標的としたドラッグデリバリーシステムによる難治性炎症性腸疾患治療：関西医科大学大臨床研究承認番号第40611号、関西医科大学附属枚方病院内臨床研究審査委員会承認）のうえ、説明文と同意書による同意を取得する。被験者は自

由意志で研究に参加し、個人の人権を擁護し、意志を尊重する。被験者の個人情報と保護し、学会や専門雑誌に発表する場合も、個人情報はわからないようにする。

C. 研究結果

上記のプロトコールに従って、この臨床試験に参加する患者を登録中である。

D. 考察

潰瘍性大腸炎患者では、免疫機能が異常に働くことにより、自分自身の腸管粘膜を外敵と認識し、攻撃して破壊するという状態が続いている。そのため、中等症または重症の潰瘍性大腸炎患者の治療には、従来ステロイド剤や免疫抑制剤が用いられてきた。しかし、これらの薬物自体の長期投与は、副作用を惹き起こす頻度が多くなり、投与量の変更および投与中止を余儀なくされることがある。また、これらの薬物治療抵抗性の患者については、治療方法として腸管切除を余儀なくされる場合もある。したがって、炎症の生じている腸管局所に種々のステロイドを含む免疫抑制剤が徐放可能となれば、副作用の少ない治療が可能となり、腸管切除の回避、しいては潰瘍性大腸炎患者のQOL向上につながると考えられる。

我々は、4 μ mのマイクロカプセルという微粒子の中にステロイド剤を封入させることを開発した。マイクロカプセルの原料はポリ乳酸で、生体内で分解されると乳酸になり、最終的に水と二酸化炭素になる。従って、生体内に蓄積することはない。現在この物質を用いた骨接合材料（ピン、スクリュー）が臨床応用され、人体に対する安全性もすでに確認されている。マイクロカプセルは消化管の炎症部位に、より多く取り込まれるので、炎症部位からステロイドを徐々に放出し、炎症を効率的に抑制すると考えられている。その結果、炎症腸管のみに作用し、全身に与える影響は少ないと考えられる。したがって、実際に難治性潰瘍性大腸炎患者にステロイド封入マイクロカプセルを投与し、その有効性と安全性を確認したいと考えている。

E. 結論

従来の投与方法と比較し、ステロイド封入マイクロカプセルの投与により、副作用軽減など患者のQOL改善のみならず、医療資本の削減に寄与できる可能性がある。

F. 文献

1. Yokayama Y, Suenaga K, Kino J, Akisawa Y, Morita M, Nishimori I, Nakazawa Y, Okazaki K, Yamamoto Y. Therapeutic use of a lipid emulsion dexamethasone (dexamethasone palmitate) in inflammatory bowel disease: a new drug delivery system. *Jpn Arch Int Med* 1995;42:1-7.
2. Nakase H, Okazaki K, Tabata Y, Uose S, Ohana M, Uchida K, Matsushima Y, Kawanami C, Oshima C, Ikeda Y, Chiba T. Development of an oral drug delivery system targeting immune-regulating cells in experimental inflammatory bowel disease: a new therapeutic strategy. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;292:15-21.
3. Nakase H, Okazaki K, Tabata Y, Uose S, Ohana M, Uchida K, Nishi T, Debrenceni A, Itoh T, Kawanami C, Iwano M, Ikeda Y, Chiba T. An oral drug delivery system targeting immune-regulating cells ameliorates mucosal injury in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297:1122-8.
4. Nakase H, Okazaki K, Kawanami C, Uchida K, Ohana M, Uose S, Nishi T, Itoh T, Okano A, Nishio A, Takakuwa H, Chiba T. Therapeutic effects on intestinal Bechcet's disease of an intravenous drug delivery system using dexamethasone incorporated in lipid emulsion. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:1306-8.
5. Okazaki K, Nakase H, Watanabe N, Tabata Y, Ikeda Y, Chiba T. Intestinal drug delivery system with biodegradable microspheres targeting mucosal immune-regulating cells for chronic inflammatory colitis. *J Gastroenterol* 2002;37:S44-52.
6. Nakase H, Okazaki K, Tabata Y, Ozeki M, Watanabe N, Ohana M, Uose S, Uchida K, Nishi T, Mastuura M, Tamaki H, Itoh T, Kawanami C, Chiba T. New cytokine delivery system using gelatine microspheres containing interleukin-10 for experimental inflammatory bowel disease. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;301:59-65.
7. Nakase H, Okazaki K, Tabata Y, Chiba T.

Biodegradable microspheres targeting mucosal immune-regulating cells: new approach for treatment of inflammatory bowel disease. J Gastroenterol 2003;38:S59-62.

G. 研究成果の発表

1. Tamaki H, Nakamura H, Nishio A, Nakase H, Ueno S, Uza N, Kido M, Inoue S, Mikami S, Asada M, Kiriya K, Kitamura H, Ohashi S, Fukui T, Kawasaki K, Matsuura M, Ishii Y, Okazaki K, Yodoi J, Chiba T. Human thioredoxin-1 ameliorates experimental murine colitis in association with suppressed macrophage inhibitory factor production. Gastroenterology. 2006;131(4):1110-21.
2. Kiriya K, Watanabe N, Nishio A, Okazaki K, Kido M, Saga K, Tanaka J, Akamatsu T, Ohashi S, Asada M, Fukui T, Chiba T. Essential role of Peyer's patches in the development of Helicobacter-induced gastritis. Int Immunol. 2007 (in press)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

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
多施設共同による無作為化並行群間試験（案）

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：潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管型ベーチェット病などの炎症性腸疾患は、消化管粘膜の免疫異常が病態に深く関わっている。治療にはステロイド剤などの有効性が認められているが、長期投与を余儀なくされ副作用が大きな問題となっている。リポ化ステロイドであるリメタゾン（パルミチン酸デキサメタゾン）は、すでに慢性関節リュウマチで保険適応となり臨床的にも広く投与されている。生体内で緩徐に加水分解をうけ持続的な抗炎症作用を示すので、従来の水溶性デキサメタゾン製剤に比べ投与量の低減化を可能とし、副作用の軽減が期待される。本研究では、実際に炎症性腸疾患患者にリメタゾンを投与し、リメタゾンを用いたドラッグデリバリーシステムの有効性と安全性を確認したいと考え、多施設共同による無作為化並立群間試験を計画した。各研究者所属施設の倫理委員会の承認後、この臨床試験に参加する患者を登録予定である。本研究により、炎症性腸疾患患者におけるリメタゾンの有効性が認められれば、社会に大きく貢献するものと予測される。

共同研究者

松下光伸 深田憲将 内田一茂 安藤祐吾
川股聖二 大宮美香 藤井壽仁

所属

関西医科大学内科学第三講座

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管型ベーチェット病などの炎症性腸疾患は増加の一途にある。その病因は不明であるものの、消化管粘膜の免疫異常が病態に深く関わっている。治療においてはステロイド剤などの有効性が認められているが、長期投与を余儀なくされ、治療薬の全身に及ぼす副作用が臨床で大きな問題となることが少なくない。従って、薬剤の選択的効果に加え、副作用を抑制することは臨床で極めて重要であると考えられる。炎症の生じている腸管局所にステロイドを含む種々の免疫抑制剤が除放可能となれば、副作用の少ない治療が可能となり、腸管切除の回避、しいては炎症性腸疾患患者のQOL向上につながると考えられる。

リメタゾン（パルミチン酸デキサメタゾン）は、デキサメタゾンをパルミチン酸エステルとして精製ダイズ油に溶解した乳濁性注射剤のリポ化ステロイド製剤である。すでに慢性関節リュウマチで保険適応となり臨床的に広く投与されている。リメタゾンは一種のプロドラッグであり、生体内でエステラーゼにより緩徐に加水分解をうけ、活性代謝物であるデキサメタゾンになり持続的な抗炎症作用を

示す。従って本剤は、従来の水溶性デキサメタゾン製剤に比べ投与量の低減化を可能とし、またステロイドの副作用軽減が期待される抗炎症剤である。

我々は、リメタゾンを用いた多施設共同による無作為化並立群間試験を計画した。本研究では実際に、炎症性腸疾患患者にリメタゾンを投与し、従来 of 全身ステロイド剤投与と比較する事により、リメタゾンを用いたドラッグデリバリーシステムの有効性と安全性を研究する。

B. 研究方法

対象は、活動期炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管型ベーチェット病）で、緩解導入目的でステロイド剤投与予定の患者（I群）と全身ステロイド剤投与が有効であるが漸減中に再燃する患者（ステロイド依存）（II群）とし、重症例は除く。

対象患者の疾患別に、下記治療法を無作為化して3ヶ月間施行する。投与開始2週後に有効であれば全身的ステロイド剤の投与量を減量し、無効であれば他の治療法に変更する。

対象I群：全身的ステロイド剤投与を開始する（n = 30）、あるいはリポ化ステロイド（リメタゾン1管（1ml））を1ヶ月間週1回投与し、以後の2ヶ月間は2週毎に1回投与する（n = 30）。

対象II群：全身的ステロイド剤の投与量を再増量する（n = 30）、あるいは全身的ステロイド剤の投与量は変更なく継続し、更にリメタゾン1管（1ml）を1ヶ月間週1回投与し、以後の2ヶ月間は2週毎

に1回投与する (n = 30)。

治療評価は、投与前と投与後2週毎で3ヶ月間にわたり、臨床スコア、大腸内視鏡所見、血液・生化学検査、尿検査、全身的ステロイド剤の投与量変化、ステロイド剤の副作用の程度について有効性および安全性を検討する。

研究期間は平成19年4月から平成21年3月末までで、参加施設は本研究に協力していただける、「炎症性腸疾患の画期的治療法に関する臨床研究」班に属する研究者の所属施設を予定する。

(倫理面への配慮)

関西医科大学医学倫理委員会申請中であり、各研究者の所属施設においても倫理委員会の承認後、説明文と同意書による同意を取得する。被験者は自由意志で研究に参加し、個人の人権を擁護し、意志を尊重する。被験者の個人情報保護し、学会や専門雑誌に発表する場合も、個人情報はわからないようにする。

C. 研究結果

各研究者所属施設の倫理委員会承認後、上記のプロトコルに従って、この無作為化並行群間試験に参加する患者を登録予定である。

D. 考察

炎症性腸疾患患者では、免疫機能が異常に働くことにより、自分自身の腸管粘膜を外敵と認識し、攻撃して破壊するという状態が続いている。そのため、治療には従来ステロイド剤や免疫抑制剤が用いられてきたが、これらの長期投与は、副作用を惹き起こす頻度が多くなり、投与量の変更および投与中止を余儀なくされることがある。また、これらの治療抵抗性の患者については、治療として腸管切除を余儀なくされる場合もある。

したがって、炎症の生じている腸管局所に種々のステロイドを含む免疫抑制剤が徐放可能となれば、副作用の少ない治療が可能となり、腸管切除の回避、しいては炎症性腸疾患患者のQOL向上につながると考えられる。

リポ化ステロイドであるリメタゾンには、炎症部への分布が高く、炎症部マクロファージに積極的に貪食され、その中で溶解しマクロファージの機能を効率よく抑制する。したがって、投与量の低減化により、副作用が軽減される。我々は、多施設共同による無作為化並立群間試験を計画し、リメタゾンを用いたドラッグデリバリーシステムの有効性と安全性を確認したいと考えている。

E. 結論

炎症性腸疾患患者におけるリメタゾンの有効性が認められれば、ステロイド投与量の低減化を可能とし、ステロイドの副作用軽減が期待され、社会に大きく貢献するものと予測される。

F. 文献

1. Yokayama Y, Suenaga K, Kino J, Akisawa Y, Morita M, Nishimori I, Nakazawa Y, Okazaki K, Yamamoto Y. Therapeutic use of a lipid emulsion dexamethasone (dexamethasone palmitate) in inflammatory bowel disease: a new drug delivery system. *Jpn Arch Int Med* 1995;42:1-7.
2. Nakase H, Okazaki K, Tabata Y, Uose S, Ohana M, Uchida K, Matsushima Y, Kawanami C, Oshima C, Ikeda Y, Chiba T. Development of an oral drug delivery system targeting immune-regulating cells in experimental inflammatory bowel disease: a new therapeutic strategy. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;292:15-21.
3. Nakase H, Okazaki K, Tabata Y, Uose S, Ohana M, Uchida K, Nishi T, Debreceni A, Itoh T, Kawanami C, Iwano M, Ikeda Y, Chiba T. An oral drug delivery system targeting immune-regulating cells ameliorates mucosal injury in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297:1122-8.
4. Nakase H, Okazaki K, Kawanami C, Uchida K, Ohana M, Uose S, Nishi T, Itoh T, Okano A, Nishio A, Takakuwa H, Chiba T. Therapeutic effects on intestinal Bechcet's disease of an intravenous drug delivery system using dexamethasone incorporated in lipid emulsion. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:1306-8.
5. Okazaki K, Nakase H, Watanabe N, Tabata Y, Ikeda Y, Chiba T. Intestinal drug delivery system with biodegradable microspheres targeting mucosal immune-regulating cells for chronic inflammatory colitis. *J Gastroenterol* 2002;37:S44-52.
6. Nakase H, Okazaki K, Tabata Y, Ozeki M, Watanabe N, Ohana M, Uose S, Uchida K, Nishi

T, Mastuura M, Tamaki H, Itoh T, Kawanami C, Chiba T. New cytokine delivery system using gelatine microspheres containing interleukin-10 for experimental inflammatory bowel disease. J Pharmacol Exp Ther 2002;301:59-65.

7. Nakase H, Okazaki K, Tabata Y, Chiba T. Biodegradable microspheres targeting mucosal immune-regulating cells: new approach for treatment of inflammatory bowel disease. J Gastroenterol 2003;38:S59-62.

G. 研究成果の発表

1. Tamaki H, Nakamura H, Nishio A, Nakase H, Ueno S, Uza N, Kido M, Inoue S, Mikami S, Asada M, Kiriya K, Kitamura H, Ohashi S, Fukui T, Kawasaki K, Matsuura M, Ishii Y, Okazaki K, Yodoi J, Chiba T. Human thioredoxin-1 ameliorates experimental murine colitis in association with suppressed macrophage inhibitory factor production. Gastroenterology. 2006;131(4):1110-21.

2. Kiriya K, Watanabe N, Nishio A, Okazaki K, Kido M, Saga K, Tanaka J, Akamatsu T, Ohashi S, Asada M, Fukui T, Chiba T. Essential role of Peyer's patches in the development of Helicobacter-induced gastritis. Int Immunol. 2007(in press)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

cAMP elevating agent による炎症性腸疾患治療の試み

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

研究要旨

（背景）PDE (phosphodiesterase) は second messenger として多彩な働きを持つ cAMP の分解酵素であり、PDE 4 は好中球以外に T 細胞、単球等の免疫担当細胞や平滑筋などに存在する。OPC-6535 は新規の PDE4 阻害剤であるが、その炎症抑制効果については好中球の活性酸素抑制効果が確認されているのみであった。（目的）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。（結果）ヒト CD4 陽性細胞からの TNF- α , IFN- γ , IL-17 の産生を著明に抑制した。また、LPS 刺激による単球の TNF- α , IL-12 の産生を抑制し、一方 IL-10 の産生は亢進した。IL-10 ノックアウトマウス由来のマクロファージにおいても TNF- α , IL-12 の産生は抑制されことより炎症性サイトカインの抑制効果は IL-10 非依存性であることが示唆された。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た。（結語）OPC-6535 は炎症性サイトカインの産生抑制ならびに抗炎症性サイトカインの産生増強効果を併せ持ち、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が示唆された。

共同研究者

岡本 晋¹、市川仁志¹、長沼 誠¹、井上 詠²
日比紀文¹

慶應義塾大学消化器内科¹

同 包括先進医療センター²

messenger として多彩な機能を持つ cAMP の分解酵素であり、PDE 4 は好中球以外に T 細胞、単球等の免疫担当細胞や平滑筋などに存在する。実際に、炎症性細胞の機能抑制ならびに気道平滑筋の収縮抑制効果を踏まえ、複数の PDE4 阻害剤の慢性閉塞性肺疾患 (COPD) に対する臨床治験が欧米を中心に行われている。OPC-6535 についても好中球の活性酸素産生抑制効果に加え、全血を LPS/PHA で刺激した際の TNF- α 産生を抑制するとの基礎データがあり、今回、好中球以外の免疫細胞に対する効果を詳細に検討した。また、OPC-6535 の腸炎に対する治療効果をマウスモデルにて検討した。

B. 研究方法

①ヒト免疫細胞のサイトカイン産生に対する OPC-6535 の効果 (*in vitro*)

健常者末梢血より Lymphoprep にて単核球分画を採取し、MACS ビーズにて CD4 陽性細胞、CD14 陽性細胞を分離した。CD4 陽性細胞は抗 CD3/CD28 抗体による刺激後 72 時間の上清中サイトカインを Cytokine Beads Array (CBA) 法にて測定した。CD14 陽性細胞（単球）は LPS を始め各種の TLR リガンドにて刺激を行い 24 時間後の上清中サイトカ

A. 研究目的

炎症性腸疾患はこれまでの幾多の研究にもかかわらず、いまだ原因不明であるが、これまでにその病態形成に種々の免疫異常が関わっていることが報告されている。特に Crohn 病においては病変局所における Th1 優位の過剰な免疫反応が病態の主因をなしていると考えられ、実際に TNF- α に対する抗体(インフリキシマブ)の点滴静注療法は画期的な効果を挙げている。しかしながら、有効例においてもインフリキシマブの効果持続は 2-3 ヶ月程度であり、多くの患者は限らない反復投与を強いられているのが現状であり、新たな治療薬、特に経口薬の開発は必須であると考えられる。

OPC-6535 は好中球からの活性酸素の産生抑制を目的にスクリーニングされた化合物であり、その機序の一部は PDE4 阻害効果であることが判明している。PDE

(phosphodiesterase) は細胞内で second

インを CBA または ELISA 法にて測定した。マクロファージおよび樹状細胞はそれぞれ CD14 陽性細胞を M-CSF, GM-CSF/IL-4 で 7 日間分化誘導した後、単球と同様の刺激実験を行った。

②マウス炎症性腸疾患における OPC-6535 の炎症抑制効果 (*in vivo*)

12 週齢の SPF 飼育下 IL-10 ノックアウトマウスに vehicle または OPC-6535 10mg/kg を 1 日 1 回 5 週間連日で経口投与し、体重変化、脱肛、組織学的変化、血清 serum amyloid A につき検討した。

C. 研究結果および考察

①OPC-6535 は CD4 陽性細胞からの IFN- γ , IL-4, IL-6, IL-17 の産生を抑制した。単球からのサイトカイン産生に関しては TNF- α , IL-12 p40, IL-12 p70 の産生を抑制し、IL-10 産生は亢進した。IL-6, IL-23 については有意な変化を認めなかった。マクロファージ、樹状細胞からのサイトカイン産生については単球と同様の結果であった。TNF- α , IL-12 の産生抑制機序を検討するため、STAT-3, NFkB p65, MAPK p38 のリン酸化につき Phosflow 法を用い検討したが、OPC-6535 による変化は認められなかった。IL-10 ノックアウトマウス由来のマクロファージを用いた実験においても、炎症性サイトカインの抑制効果は同様に認められ、この効果は IL-10 非依存性であることが示唆された。また、TNF- α , IL-12 の抑制は Protein Kinase A (PKA) inhibitor である H-89 存在下でも認められたことから、古典的な cAMP/PKA 経路を介さない機序が示唆された。

②OPC-6535 投与群では有意な体重減少の抑制、脱肛発症率の低下、切除大腸標本マクロ所見でも大腸全長の低下抑制を認めた。組織学的検討でも炎症性スコアは低値を示し、炎症マーカーである血中 SAA も有意に低値であった。

D. 考察

細胞内 cAMP 濃度の上昇により、免疫担当細

胞からのサイトカインの産生が影響を受けることは以前より報告がみられる。T細胞に関してはすべてのサイトカイン産生が低下するという報告がある一方、Th1のみ抑制しTh2は増強するといった報告もあり一定しないが、OPC-6535はTh1/Th2のみならず、炎症性腸疾患の分野でも現在非常に注目を集めているIL-17の産生についても抑制した。また、単球系細胞についてもTNF- α , IL-12の産生を抑制し、IL-10産生は増強している。また、OPC-6535とは違ったアプローチで細胞内cAMP濃度を上昇させるA2A受容体の合成リガンドも、OPC-6535同様のサイトカイン調節パターンを示し、マウス腸炎モデルにおいて炎症抑制効果を示している(共同研究者;長沼ら、下記文献)。この結果から、これらcAMP elevating agentは炎症性腸疾患、サイトカイン調節パターンからはとりわけクローン病の新規治療薬としての可能性を十分にもっていると考えられる。

E. 結語

OPC-6535は炎症性サイトカインの産生抑制ならびに抗炎症性サイトカインの産生増強効果を併せ持ち、炎症性腸疾患に対する新たな治療法となる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

論文発表

Naganuma et al; Cutting edge: Critical role for A2A adenosine receptors in the T cell-mediated regulation of colitis. J Immunol. 2006 Dec 1;177(11):7990-9.

学会発表

市川仁志、岡本 晋、知念 寛、日比紀文: Anti-inflammatory effect of OPC-6535, a novel PDE4 inhibitor, in inflammatory bowel disease 第 63 回日本免疫学会総会 2006 年

H. 知的財産権の出願 なし

IV. 研究成果の刊行に関する一覧

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌	巻号	ページ	出版年
Nakase H, Nishio A, Tamaki H, Matsuura M, Asada M, Chiba T, <u>Okazaki K.</u>	Specific antibodies against recombinant protein of insertion element 900 of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in Japanese patients with Crohn's disease.	Inflamm Bowel Dis.	12(1)	Sep-62	2006
Tamaki H, Nakamura H, Nishio A, Nakase H, Ueno S, Uza N, Kido M, Inoue S, Mikami S, Asada M, Kiriya K, Kitamura H, Ohashi S, Fukui T, Kawasaki K, Matsuura M, Ishii Y, <u>Okazaki K.</u> , Yodoi J, Chiba T.	Human thioredoxin-1 ameliorates experimental murine colitis in association with suppressed macrophage inhibitory factor production.	Gastroenterology.	131(4)	1110-21	2006
Kiriya K, Watanabe N, Nishio A, <u>Okazaki K.</u> , Kido M, Saga K, Tanaka J, Akamatsu T, Ohashi S, Asada M, Fukui T, Chiba T.	Essential role of Peyer's patches in the development of Helicobacter-induced gastritis.	Int Immunol	in press		
Kanai T, Tanimoto K, Nemoto Y, Fujii R, Totsuka T, <u>Watanabe M</u>	Naturally arising CD4+CD25+ regulatory T cells suppress the expansion of colitogenic CD4+CD44highCD62L-effector-memory T cells.	Am J Physiol	290	G1051-G1058	2006
Fujii R, Kanai T, Nemoto Y, Makita S, Oshima S, Okamoto R, Tsuchiya K, Totsuka T, <u>Watanabe M</u>	FTY720 suppresses CD4+CD44highCD62L- effector memory T cell-mediated colitis.	Am J Physiol	291	G267-G274	2006
Kanai T, Hibi T, <u>Watanabe M</u>	The Logics of leucocytapheresis as a natural biologic therapy for inflammatory bowel disease.	Expert Opin Biol Ther	6	453-466	2006
Okamoto R, Matsumoto T, <u>Watanabe M</u>	Regeneration of the intestinal epithelia: Regulation of bone marrow-derived epithelial cell differentiation towards secretory lineage cells.	Human Cell	19	71-75	2006
Kanai T, Kawamura T, Dohi T, Makita S, Nemoto Y, Totsuka T, <u>Watanabe M</u>	Th1/Th2-mediated colitis induced by adoptive transfer of CD4+CD45RBhigh T lymphocytes into nude mice.	Inflamm Bowel Dis	12	89-99	2006
Kanai T, <u>Watanabe M</u>	Do fatty acids influence functions of intestinal dendritic cells?	J Gastroenterol	41	288-289	2006
Kanai T, Uraushihara K, Totsuka T, Nemoto Y, Fujii R, Kawamura T, Makita S, Yagita H, Okumura K, <u>Watanabe M</u>	Ameliorating effect of saporin-conjugated anti-CD11b monoclonal antibody in a murine T-cell-mediated chronic colitis.	J Gastroent Hepatol	21	1136-1142	2006
Tsuchiya K, Nakamura T, Okamoto R, Kanai T, <u>Watanabe M</u> :	Reciprocal targeting of Hath1 and β -catenin by Wnt-glycogen synthase kinase 3 β in human colon cancer.	Gastroenterology	132	208-220	2007
Nemoto Y, Kanai T, Makita S, Okamoto R, Totsuka T, <u>Watanabe M</u>	Bone marrow retaining colitogenic CD4+ T cells may be a pathogenic reservoir for chronic colitis.	Gastroenterology	132	176-189	2007

船越信介、岩男 泰、芳沢茂雄、久松理一、岡本 晋、高石官均、井上 詠、今枝博之、緒方晴彦、杉野吉則、向井万起男、 <u>日比紀文</u>	自然軽快した cap polyposis の一例	Progress of Digestive Endoscopy	68(2)	140-141	2006
志賀洋史、船越信介、首村智久、高山哲朗、芹澤 宏、渡辺憲明、常松 令、金子文彦、熊谷直樹、森永正二郎、土本寛二、岩男 泰、 <u>日比紀文</u>	大腸全摘術後の回腸嚢炎・多発関節炎に白血球除去両方が奏功した潰瘍性大腸炎の1例	Progress of Digestive Endoscopy	69(2)	100-101	2006
Mosohoshi Y, Matsuoka K, Chinen H, Kamada N, Sato T, Hisamatsu T, Okamoto S, Inoue N, Takaishi H, Ogata H, Iwao Y, and <u>Hibi T</u>	Inhibition of neutrophil elastase prevents the development of murine dextran sulfate sodium-induced colitis.	J Gastroenterol	41(4)	318-324	2006
<u>Hibi T</u> and Ogata H	Novel pathophysiological concepts of inflammatory bowel disease.		41(1)	10-16	2006
Kanai T, <u>Hibi T</u> , and Watanabe M	The logics of leukocytapheresis as a natural biological therapy for inflammatory bowel disease.	Expert Opin Biol Ther	6(5)	453-466	2006
Hisamatsu T, Inoue N, Yajima T, Izumiya M, Ichikawa H, and <u>Hibi T</u>	Psychological aspects of inflammatory bowel disease.	J Gastroenterol	42(17)	34-40	2007
Ohkawara T, Nishihira J, Ishiguro Y, Otsubo E, Nagai K, Takeda H, Kato M, Yoshiki T, Iwanaga T, <u>Asaka M.</u> :	Resistance to experimental colitis depends on cytoprotective heat shock proteins in macrophage migration inhibitory factor null mice.	Immunol Lett	107	148-154	2006
Ohkawara T, Takeda H, Nishiwaki M, Nishihira J, <u>Asaka M</u>	Protective effects of heat shock protein 70 induced by geranylgeranylacetone on oxidative injury in rat intestinal epithelial cells.	Scand J Gastroenterol	41	312-317	2006
Ohkawara T, Nishihira J, Takeda H, Katsurada T, Kato K, Yoshiki T, Sugiyama T, <u>Asaka M.</u> :	Protective effect of geranylgeranylacetone on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice	Int J Mol Med	17	229-234	2006
Ohkawara T, Nishihira J, Nagashima R, Takeda H, <u>Asaka M</u>	Polaprezinc protects human colon cells from oxidative injury induced by hydrogen peroxide: Relevant to cytoprotective heat shock proteins.	World J Gastroenterol	12	6178-6181	2006
Yoshiuchi S, Yamamoto T, Sakane H, Kadota J, Mochida J, <u>Asaka M</u> , Tanaka K	Identification of novel mutations in ACT1 and SLA2 that suppress the actin-cable-overproducing phenotype caused by overexpression of a dominant active form of Bnlp in Saccharomyces cerevisiae.	Genetics.	173	527-539	2006
Kobayashi T, Wang T, Maezawa M, Kobayashi M, Ohnishi S, Hatanaka K, Hige S, Shimizu Y, Kato M, <u>Asaka M</u> , Tanaka J, Imamura M, Hasegawa K, Tanaka Y, Brachmann RK. :	Overexpression of the oncoprotein prothymosin alpha triggers a p53 response that involves p53 acetylation	Cancer Res	66	3137-44	2006

Miseki T, Kawakami H, Natsuizaka M, Darmanin S, Cui HY, Chen J, Fu Q, Okada F, Shindo M, Higashino F, <u>Asaka M</u> , Hamuro J, Kobayashi M. :	Suppression of tumor growth by intra-muscular transfer of naked DNA encoding adrenomedullin antagonist.	Cancer Gene Ther	14	39-44200	2006
Miura Y, Tanaka J, Toubai T, Tsutsumi Y, Kato N, Hirate D, Kaji M, Sugita J, Shigematsu A, Iwao N, Ota S, Masauzi N, Fukuhara T, Kasai M, <u>Asaka M</u> , Imamura M. :	Analysis of donor-type chimerism in lineage-specific cell populations after allogeneic myeloablative and non-myeloablative stem cell transplantation.	Bone Marrow Transplant	37	837-843	2006
Oridate N, Takeda H, Yamamoto J, <u>Asaka M</u> , Mesuda Y, Nishizawa N, Mori M, Furuta Y, Fukuda S. :	Helicobacter pylori seropositivity predicts outcomes of acid suppression therapy for laryngopharyngeal reflux symptoms.	Laryngoscop	116	547-553	2006
Shimizu Y, Yamamoto J, Kato M, Yoshida T, Hirota J, Ono Y, Nakagawa M, Nakagawa S, Oridate N, <u>Asaka M</u> . :	Endoscopic submucosal dissection for treatment of early stage hypopharyngeal carcinoma.	Gastrointest Endosc	77	255-259	2006
Kusumoto K, Ido A, Moriuchi A, Katsura T, Kim ID, Takahama Y, Numata M, Kodama M, Hasuike S, Nagata K, Uto H, Inui K, <u>Tsubouchi H</u>	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
Nakanishi C, Moriuchi A, Ido A, Numata M, Kim ID, Kusumoto K, Hasuike S, Abe H, Nagata K, Akiyama Y, Uto H, Kataoka H, <u>Tsubouchi H</u>	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
<u>高後裕</u>	消化器がん検診の近未来	日本消化器がん検診学会雑誌	44巻 5号	70	2006
岡本耕太郎, 石川千里, 金野陽高, 村松司, 盛一健太郎, <u>高後裕</u>	小腸出血をきたしたクローン病(CD)の1例	早期大腸癌	10巻 1号	58-59	2006
佐藤龍、石川千里, 金野陽高, 稲場勇平, 村松司, <u>高後裕</u>	潰瘍性大腸炎(UC)の出血	早期大腸癌	10巻 1号	56-57	2006
Watari J, Tanaka A, Tanabe H, Sato R, Moriichi K, Zaky AH, Okamoto K, Maemoto A, Fujiya M, Ashida T, Das KM, <u>Kohgo Y.</u>	K-ras mutations and cell kinetics in Helicobacter pylori associated gastric intestinal metaplasia: A comparison before and after eradication in patients with chronic gastritis and gastric cancer.	J Clin Pathol		In print	2006
Shindo M, Torimoto Y, Saito H, Motomura W, Ikuta K, Sato K, Fujimoto Y, <u>Kohgo Y.</u>	Functional role of DMT1 in transferrin-independent iron uptake by human hepatocyte and hepatocellular carcinoma cell, HLF.	Hepatol Res.	35(3)	152-62	2006
Motomura W, Inoue M, Ohtake T, Takahashi N, Nagamine M, Tanno S, <u>Kohgo Y</u> , Okumura T.	Up-regulation of ADRP in fatty liver in human and liver steatosis in mice fed with high fat diet.	Biochem Biophys Res Commun	340(4)	1111-8	2006
Sun JH, Das KK, Amenta PS, Yokota K, Watari J, Sato T, <u>Kohgo Y</u> , Das KM.	Preferential expression of cyclooxygenase-2 in colonic-phenotype of gastric intestinal metaplasia: association with helicobacter pylori and gastric carcinoma.	J Clin Gastroenterol	40(2)	122-8	2006

Tanaka A, Watari J, Tanabe H, Maemoto A, Fujiya M, Ashida T, DAS KM, <u>Kohgo Y</u>	Effect of eradication of Helicobacter pylori on genetic instabilities in gastric intestinal metaplasia.	Aliment Pharmacol Ther.	24 Suppl 4	194-202	2006
Iuchi Y, Torimoto Y, Sato K, Tamura Y, Jimbo J, Inamura J, Shindo M, Ikuta K, Ohnishi K, <u>Kohgo Y</u> .	Combined use of dendritic cells enhances specific antileukemia immunity by leukemia cell-derived heat shock protein 70 in a mouse model with minimal residual leukemia cells.	Int J Hematol.	84(5)	449-58	2006
Ohtake T, Saito H, Hosoki Y, Inoue M, Miyoshi S, Suzuki Y, Fujimoto Y, <u>Kohgo Y</u> .	Hepcidin is down-regulated in alcohol loading.	Alcohol Clin Exp Res	31(1 Suppl)	S2-8	2007
Nakano Y, Tanno S, Koizumi K, Nishikawa T, Nakamura K, Minoguchi M, Izawa T, Mizukami Y, Okumura T, <u>Kohgo Y</u> .	Gemcitabine chemoresistance and molecular markers associated with gemcitabine transport and metabolism in human pancreatic cancer cells.	Br J Cancer.	96(3)	457-63	2007
Takahashi M, <u>Nakamura K</u> , Honda K, Kitamura Y, Mizutani T, Araki Y, Kabemura T, Chijiwa Y, Harada N, Nawata H	An inverse correlation of human peripheral blood regulatory T cell frequency with the disease activity of ulcerative colitis.	Digestive Diseases and Sciences	51 巻、4 号	677-686	2006
<u>Nakamura K</u> , Honda K, Mizutani T, Akiho H, Harada N	Novel strategies for the treatment of inflammatory bowel disease: Selective inhibition of cytokines and adhesion molecules.	World Journal of Gastroenterology	12 巻、29 号	4628-4635	2006
<u>中村和彦</u>	制御性T細胞をどう治療に生かすか？	炎症と免疫	14 巻、6 号	86-92	2006
Hanawa T, <u>Suzuki K</u> , 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 Med	8	623-635	2006
Han GD, Suzuki K, Koike H, <u>Suzuki K</u> , 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.	17	442-453	2006
Kawauchi Y, <u>Suzuki K</u> , Watanabe S, Yamagiwa S, Yoneyama H, Han GD, Palaniyandi SS, Veeraveedu PT, Watanabe K, Kawachi H, Okada H, Shimizu F, Asakura H, Aoyagi Y, Narumi S.	Role of IP-10/CXCL10 in the progression of pancreatitis-like injury in mice after murine retroviral infection.	Am J Physiol Gastroenterol Liver Physiol	291	345-354	2006
Takamura M, Matsuda Y, Yamagiwa S, Tamura Y, Honda Y, <u>Suzuki K</u> , Ichida T, Aoyagi Y	An inhibitor of c-Jun NH2-terminal kinase, SP600125, protects mice from D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced hepatic failure by modulating BH3-only proteins.	Life Sciences			Published Online 2007
Uematsu, S., Jang, M. H., Chevrier, N., Guo, Z., Kumagai, Y., Yamamoto, M., Kato, H., Sougawa, N., Matsui, H., Kuwata, H., Hemmi, H., Coban, C., Kawai, T., Ishii, K. J., Takeuchi, O., Miyasaka, M., <u>Takeda, K.</u> , and Akira, S.	Detection of pathogenic intestinal bacteria by Toll-like receptor 5 on intestinal CD11c+ lamina propria cells.	Nat. Immunol.	7	868-874	2006
Yamamoto, M., Okamoto, T., <u>Takeda, K.</u> , Sato, S., Sanjo, H., Uematsu, S., Saitoh, T., Yamamoto, N., Sakurai, H., Ishii, K. J., Yamaoka, S., Kawai, T., Matsuura, Y., Takeuchi, O., and Akira, S.	Key function for the Ubc13 E2 ubiquitin-conjugating enzyme in immune receptor signaling.	Nat. Immunol.	7	962-970	2006

Takegahara, N., Takamatsu, H., Toyofuku, T., Tsujimura, T., Okuno, T., Yukawa, K., Mizui, M., Yamamoto, M., Prasad, D. V., Suzuki, K., Ishii, M., Terai, K., Moriya, M., Nakatsuji, Y., Sakoda, S., Sato, S., Akira, S., <u>Takeda, K.</u> , Inui, M., Takai, T., Ikawa, M., Okabe, M., Kumanogoh, A., and Kikutani, H.	Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis.	Nat. Cell Biol.	8	615-622	2006
Nemoto, Y., Kanai, T., Makita, S., Okamoto, R., Totsuka, T., <u>Takeda, K.</u> , and Watanabe, M.	Bone marrow retaining colitogenic CD4+ T cells may be a pathogenic reservoir for chronic colitis.	Gastroenterology	132	176-189	2007

書 籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
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	医歯薬出版	東京	2006	789-790
井戸章雄 沼田政嗣 森内昭博 児玉眞由美 坪内博仁	HGF による粘膜修復系の今 後の見通しとは？	千葉 勉	分子消化器病	先端医学社	東京	2006	6-12
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	井廻道夫	Modern Physician	新興医学出版 社	東京	2006	1301-1306