

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 19 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岡崎 和 一

平成 20(2008)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。

本研究班は平成 18 年に「炎症性腸疾患に対する画期的治療法に関する臨床研究」として組織された。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。初年度に続いて 2 年度も 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 20 年 3 月

主任研究者 岡崎 和一

目 次

I. 研究班構成	1
II. 総括研究報告	3
炎症性腸疾患の画期的治療法に関する臨床研究（岡崎和一）	
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. 上皮細胞の再生・修復のための分子療法の確立（渡辺 守）	7
2. 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）	13
3. 炎症性腸疾患に対する抗線維化を標的とした新規治療法の開発（鈴木健司）	16
【腸管特異的免疫調節を応用した治療法の開発】	
4. 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
5. 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）	22
6. 抗菌ペプチドおよびプロバイオティクス由来ペプチドを用いた炎症性腸疾患の 治療法開発（高後 裕）	25
7. ヒト組み換えチオレドキシシンを用いた炎症性腸疾患に対する新しい治療 の検討（岡崎和一）	33
【選択的細胞除去・移入療法の開発】	
8. 潰瘍性大腸炎に対する血球成分除去・制御性 T 細胞移入療法の開発（中村和彦）	38
9. 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（岡崎和一）	43
【バイオマテリアル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】	
10. 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（岡崎和一）	46
11. 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（岡崎和一）	49
【新しいコンセプトによる治療法開発】	
12. L-histidine による腸炎抑制効果とその機序（日比紀文）	52
13. CXCL12/CXCR4 の制御による炎症性腸疾患治療の試み（千葉 勉）	56
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	61
V. 学会発表に関する一覧表	71
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	81
VII. 社会活動報告	83
VIII. 研究事業報告	85
IX. 研究成果の刊行物・別刷	157

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内科学	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学	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 教
	鈴木 健司	新潟大学歯学総合病院第三内科	講 師
	竹田 潔	大阪大学大学院医学系研究科（C6） 感染免疫医学講座免疫制御学	教 授
	千葉 勉	京都大学大学院医学研究科消化器内科学講座	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

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 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相試験」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ニ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 鹿児島大学大学院消化器疾患・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
 御内科学 教授
 中村和彦 九州大学大学院病態制御内科 助教
 鈴木健司 新潟大学医学部消化器内科 講師
 竹田 潔 大阪大学大学院医学系研究科教授
 千葉 勉 京都大学大学院消化器内科学 教授

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18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し、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

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

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腸上皮分化・再生機構の解析と腸管免疫の特異性に関わる研究領域の創出、②治療法の開発に直結する研究、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: 腸上皮分化・再生機構の解析と腸管免疫の特異性に関わる研究領域の創出(基礎)と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

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

(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。

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

分担研究者・坪内は炎症性腸疾患に対する組換えヒト肝細胞増殖因子(hepatocyte growth factor:

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。一方、増殖因子であるHGFの発癌性、特に潰瘍性大腸炎は高率に大腸癌を発生することから、HGFによる大腸発癌への影響が懸念されるが、二つの大腸発癌モデルに組換えヒトHGFを投与し、その発癌に及ぼす影響を検討したところ、いずれに試験においても組換えヒトHGFは大腸発癌をむしろ抑制した。一方、組換えヒトHGF注腸投与における薬物動態試験では、組換えヒトHGFの血中暴露は1.0 mg/mlと薬効が期待される濃度よりも高い濃度(約100倍)で検出された。以上の結果から、組換えヒトHGFが大腸発癌を促進する成績は得られず、また効果の期待される組換えヒトHGFの注腸投与では血清HGF上昇もみられず、静注投与よりもより安全に投与可能と考えられた。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」が計画され、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(坪内)。

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、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、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。これらの成果により、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が確立された(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 Driven-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するとともに、ヒトADSCsの臨床応用にむけ学内倫理委員会への申請準備中である(岡崎)。

分担研究者の鈴木は抗線維化作用を発揮するGMPグレードの核酸医薬品STNM-01を新たに開発し、マウス急性DSS腸炎に対し、抗線維化作用だけでなく、抗炎症効果と腸上皮細胞の増殖促進効果を認め、内視鏡的薬剤粘膜下注入手技による本薬剤の治療実験を行う予定である(鈴木)。

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、腸管免疫系において重要な役割を果たすことが近年明らかになってきた自然免疫系の炎症誘導機構を解析した。近年、新たなヘルパーT細胞のサブセットとして同定されたTh17細胞は、腸管粘膜固有層に特異的に存在しているCD70high CD11c^{low}樹状細胞が、腸内細菌

依存的、Toll-like receptor 非依存的に、IL-6 産生、TGF-beta 活性化を導き、Th17 細胞分化を司っていることが明らかになった明らかにした (竹田)。分担研究者の高後は抗菌ペプチドである Human defensin の recombinant peptide の作成と、プロバイオティクスの培養液から、腸管保護作用のある新規ペプチドである Competence and sporulation factor (CSF) を分離同定するとともに実験腸炎での有効性を確認し、活性ペプチドを用いた新規治療法への道を開いた (高後)。

分担研究者・浅香は 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・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 (岡崎)。

分担研究者・千葉は、炎症性腸疾患における末梢 T 細胞における CXCR 4 の発現が疾患活動性と関与することを明らかにするとともに、DSS 腸炎における CXCR4 拮抗剤 (TN14003) の有効性を確認し、CXCL12・CXCR4 の制御が新たな炎症性腸疾患治療の 1 つになりうる可能性を示唆した (千葉)。

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。血球成分除去療法産物より CliniMACS を用いて Treg を無菌的に大量に機能を保持した状態で分離可能であった。分離に用いた CliniMACS 製品は全て CE 認証されており、「血球成分除去・Treg 分離移入療法」の臨床試験施行の環境が整い、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る。(中村)

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、患者の登録中であり、現在、ステロイド抵抗患者 1 例とステロイド依存患者 3 例の合計 4 例が登録し臨床投与されている。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ですでに承認され、今後、各分担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。現在、潰瘍性大腸炎患者 1 例と腸管型ベーチェット病患者 1 例が登録され、リメタゾンは両者で有効であり、ステロイド剤減量・中止が可能であった (岡崎)。

p-5: 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 Crohn 病に対する成分栄養療法 (Elementary diet; ED) の有効性に関して、ED 中に含まれるアミノ酸成分が直接的に腸炎抑制効果を示すことをマウス腸炎モデルで明らかにし、さらにその中でもヒスチジンの単独投与が単球やマクロファージからの炎症性サイトカインの産生を抑制することで腸炎抑制効果を発揮することを明らかにし、その作用機序は新たな創薬のターゲットとなりうる可能性を示唆した (日比)。

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るとともに、懸念されていた発癌にかんしては、むしろ発癌モデルにおける抑制効果、血中濃度の安全性が確認されたことより、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臨床開発を目指したい。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、本年度も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. Med 1 編、J. Exp. Med. 1 編、J. Immunol. 7 編、Gastroenterology 6 編>)。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る。ヒト制御性T細胞を無菌的に大量に分離する方法や、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がほぼ確立されたので、今後は臨床応用にむけた研究を継続する予定である。

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Dx-MS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各施設での倫理委員会の承認後、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：本邦で開発された成分栄養療法(Elementary diet; ED)の作用機序を明らかにし、ヒスチジンを中心としたアミノ酸製剤を軸に、新規治療剤を開発したい。

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、中村 哲也、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に関わること (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。本研究では腸管上皮細胞特に杯細胞の再生の分子基盤の確立と治療応用への開発を目標とし、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、をおこなうことを目的とした。

昨年度は潰瘍性大腸炎病変部の杯細胞減少部に一致して、Notch シグナル構成分子の異常発現が局在し、さらに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 遺伝子発現が Notch シグナルによって負に制御されていることを明らかとした。さらに Hath1 蛋白は Wnt シグナルにより安定性の制御を受けていることを明らかとし、シグナル間のク

ロストークが存在することを示唆した。本年度は Notch シグナル阻害剤における in vivo での腸管再生効果を評価し、さらに Wnt シグナル抑制による Hath1 蛋白安定性の杯細胞分化への影響を評価することを目的とした。

B. 方法・結果

1) マウスに DSS を自由飲水させ腸炎モデルを作成し、Notch 阻害剤 (γセクレターゼ阻害剤) の経口投与により腸炎による影響を解析した。正常マウスでの Notch 阻害剤処理では杯細胞の増加を認めたが、腸炎マウスでは粘膜上皮の増殖抑制により腸炎の悪化を認めた。これは炎症状態では Notch シグナルにより細胞増殖を優先し組織構築を保っている事が考えられた。

2) ヒト大腸癌由来培養細胞を用い、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 蛋白の 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、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 タンパクのエピキチンプロテアソーム系の積極的なタンパク分解を受け、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 (Gastroenterology 2007)。そこで GSK3 阻害剤である Li 製剤処理したところ Hath1 蛋白の安定発現を確認し、さらに細胞増殖を保ちつつ分化マーカーである Mucin2 の増加を認めた (BBRC 2008)。

(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) 昨年度に引き続き、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、さらに炎症状態では Notch シグナルが細胞増殖を促進し、粘膜構築を保つことを明らかとした。

2) 厳密な Hath1 タンパク調節機構が存在し、Wnt シグナル-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た。さらに本年度は GSK3 を標的とし、GSK3 阻害剤である LiCl が Hath1 蛋白を安定化させ分化誘導を行う可能性が示唆された。これは既にリチウム製剤として既に製剤化され、躁病の治療として使用されている事からも効果が確認されれば実用化は可能と思われる。

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。これらの成果より分子基盤の中心的役割を担うと考えられた GSK3 を標的とし、阻害剤を用いた新規治療の可能性が示唆された。今後細胞レベル、マウスモデルを用いた阻害剤の有効性、安全性について詳細に検討し、実用化に向けて解析を行う。

E. 参考文献

なし

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nemoto Y, Kanai T, Makita S, Okamoto R, Totsuka T, Takeda K, Watanabe M: Bone marrow

- retaining colitogenic CD4⁺ T cells may be a pathogenic reservoir for chronic colitis. *Gastroenterology*. 132: 176-189, 2007.
2. 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.
3. Kanai T, Makita S, Kawamura T, Nemoto Y, Kubota D, Nagayama K, Totsuka T, Watanabe M: Extracorporeal elimination of TNF- α -producing CD14^{dull}CD16⁺ monocytes in leukocytapheresis therapy for ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 13: 284-290, 2007.
4. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Makita S, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M: IL-7 is essential for the development and the persistence of chronic colitis. *J Immunol*. 178: 4737-4748, 2007.
5. Makita S, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Yamamoto M, Kiyono H, Watanabe M: Intestinal lamina propria retaining CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells is a suppressive site of intestinal inflammation. *J Immunol*. 178: 4937-4946, 2007.
6. Nakamura T, Tsuchiya K, Watanabe M: Crosstalk between Wnt and Notch signaling in intestinal epithelial cell fate decision. *J Gastroenterol*. 42: 705-710, 2007.
7. Ito Y, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sakamoto N, Watanabe M: Blockade of NKG2D signaling prevents the development of murine CD4⁺ T cell-mediated colitis. *Am J Physiol GI & Liver*. 394: G199-207, 2007.
8. Nakamura T, Nagahori M, Kanai T, Watanabe M: Current pharmacologic therapies and emerging alternatives in the treatment of ulcerative colitis. *Digestion*. 77: 36-41, 2007.
9. Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sakamoto N, Watanabe M: Systemic, but not intestinal, IL-7 is essential for the persistence of chronic colitis. *J Immunol*. 180: 383-390, 2008.
10. Aragaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, Yoshioka S, Nakamura T, Sakamoto N, Kanai T, Watanabe M: Proteasomal degradation of *Atoh1* by aberrant Wnt signaling maintains the undifferentiated state of colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. (in press), 2008.
11. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Tomita T, Tsuchiya K, Sakamoto N, Okamoto R, Watanabe M: Immunosenescent colitogenic CD4⁺ T cells convert to regulatory cells and suppress colitis. *Eur J Immunol*. (in press), 2008.
12. Tomita T, Kanai T, Fujii T, Nemoto Y, Okamoto R, Tsuchiya K, Totsuka T, Sakamoto N, Akira S, Watanabe M: MyD88-dependent pathway in T Cells directly modulates the expansion of colitogenic CD4⁺ T Cells in chronic colitis. *J Immunol*. (in press), 2008.
2. 学会発表
1. 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守: 腸炎惹起性骨髄 CD4⁺メモリーT 細胞は骨髄自然免疫を攪乱する. 第 93 回 日本消化器病学会. 青森, 2007. 04. 19.
2. 戸塚輝治、金井隆典、富田貴之、篠原玉子、藤井俊光、鬼澤道夫、根本泰宏、伊藤ゆみ、蒔田 新、渡辺 守: 慢性大腸炎の発症と維持における IL-7 の役割. 第 93 回 日本消化器病学会. 青森, 2007. 04. 19.
3. 富田貴之、金井隆典、藤井俊光、篠原玉子、蒔田 新、根本泰宏、戸塚輝治、渡辺 守: 慢性大腸炎維持における腸炎惹起性メモリーCD4⁺T 細胞の再循環の意義. 第 93 回 日本消化器病学会. 青森, 2007. 04. 19.
4. 伊藤ゆみ、金井隆典、蒔田 新、土屋輝一郎、戸塚輝治、八木田秀雄、渡辺 守: 慢性大腸炎治療における NKG2D 阻害系の意義. 第 93 回 日本消化器病学会. 青森, 2007. 04. 19.
5. 鬼澤道夫、金井隆典、大島 茂、根本泰宏、蒔

- 田 新、岡本隆一、戸塚輝治、土屋輝一郎、渡辺 守: 炎症性腸疾患合併大腸癌動物モデルにおける抗 TNF α 抗体維持療法の有用性. 第 93 回 日本消化器病学会, 青森, 2007. 04. 19.
6. 荒木昭博、土屋輝一郎、渡辺 守: 原因不明の消化管出血に対するダブルバルーン内視鏡の有効性. 第 93 回 日本消化器病学会. 青森, 2007. 04. 20.
7. 蒔田 新、金井隆典、根本泰宏、戸塚輝治、渡辺 守: 慢性大腸炎発症・維持・制御における腸間膜リンパ節の非必須性. 第 93 回 日本消化器病学会. 青森, 2007. 04. 20
8. 岡田英理子、荒木昭博、陳 正新、土屋輝一郎、渡辺 守: ESD における容易な剥離層確認のために. 第 93 回 日本消化器病学会. 青森, 2007. 04. 20.
9. 久保田大輔、金井隆典、渡辺 守: クロウン病再発に関与する因子の検討. 第 93 回 日本消化器病学会. 青森, 2007. 04. 21.
10. 金井隆典、蒔田 新、渡辺 守: 白血球除去療法の外抗 TNF- α 療法としての位置付け. 第 93 回 日本消化器病学会. 青森, 2007. 04. 21.
11. 渡辺 守: Ulcerative colitis: A disorder of epithelial cell differentiation? 第 93 回 日本消化器病学会 (4th Joint Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology and the American Gastroenterological Association). 青森, 2007. 04. 21.
12. 荒木昭博、土屋輝一郎、渡辺 守: ひとりで行えるダブルバルーン内視鏡-Grip and pinch technique による One man method. 第 73 回 日本消化器内視鏡学会. 東京, 2007. 05. 10.
13. Onizawa M, Kanai T, Nemoto Y, Oshima S, Makita S, Okamoto R, Totsuka T, Yagita H, Watanabe M: Blockade of TNF- α inhibits tumor progression in colitis-associated cancer. DDW 2007, Washington, D.C., 2007. 05. 20.
14. Okamoto R, Tsuchiya K, Kanai T, Watanabe M: Activated notch signaling suppresses generation of goblet cells in the human intestinal mucosa. DDW 2007, Washington, D.C., 2007. 05. 20.
15. Araki A, Tsuchiya K, Oshima S, Okada E, Yoshioka S, Suzuki S, Kubota D, Kanai T, Watanabe M: Development of one man method for double balloon endoscopy. DDW 2007, Washington, D.C., 2007. 05. 20.
16. Ito Y, Kanai T, Fujii Y, Nemoto Y, Makita S, Totsuka T, Tsuchiya K, Yagita H, Watanabe M: Ameliorating effect of anti-NKG2D in CD4+ cell-mediated murine model of chronic colitis. DDW 2007, Washington, D.C., 2007. 05. 21.
17. Tomita T, Kanai T, Fujii Y, Nemoto Y, Makita S, Totsuka T, Watanabe M: Continuous recirculation of colitogenic CD4+ T cells may be required for perpetuation of chronic colitis. DDW 2007, Washington, D.C., 2007. 05. 21.
18. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Tomita T, Makita S, Totsuka T, Watanabe M: IL-7 is essential for the development and persistence of chronic colitis. DDW 2007, Washington, D.C., 2007. 05. 22.
19. Nemoto Y, Kanai T, Nemoto Y, Makita S, Okamoto R, Totsuka T, Watanabe M: Bone marrow retaining colitogenic CD4+ T cells may be a pathogenic reservoir for chronic colitis. DDW 2007, Washington, D.C., 2007. 05. 22.
20. Aragaki M, Tsuchiya K, Yoshioka A, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Identification of Hath-1 target genes using ChIP-on-chip analysis. DDW 2007, Washington, D.C., 2007. 05. 23.
21. Tsuchiya K, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Stabilization of Atoh1 protein induces Mucin2 gene expression in human colon cancer cells. DDW 2007, Washington, D.C., 2007. 05. 23.
22. Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Role of Notch signaling in inflammatory bowel diseases. 12th US-Japan GI&Liver Meeting in 21st Century. 京都,

2007. 06. 22.

23. 永石宇司、Brozovic Suzana、吉田 優、鬼澤道夫、金井隆典、渡辺 守、Blumberg Richard S: Microsomal triglyceride transfer protein による NKT 細胞介在性肝炎および腸炎の制御. 第 44 回 日本消化器免疫学会総会. 東京, 2007. 07. 08.

24. 永石宇司、Brozovic Suzana、吉田 優、鬼澤道夫、金井隆典、渡辺 守、Blumberg Richard S: 腸管上皮細胞における TLR を介した IL-7 産生抑制機構の解析. 第 44 回 日本消化器免疫学会総会. 東京, 2007. 07. 08.

25. Kanai T, Nemoto Y, Shinohara T, Fujii T, Ito Y, Tomita T, Okamoto R, Tsuchiya K, Totsuka T, Watanabe M: Uniqueness of colitogenic lamina propria CD4+ T cells for the perpetuation of colitis. ICMI2007. 東京, 2007. 07. 11.

26. Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Role of Notch signaling in inflammatory bowel diseases. ICMI2007. 東京, 2007. 07. 11.

27. Nemoto Y, Kanai T, Makita S, Totsuka T, Watanabe M: Bone marrow is a reservoir for persistent colitogenic CD4+TEM cells in IL-7 dependent manner. ICMI2007. 東京, 2007. 07. 11.

28. Nagaishi T, Pao L, Lin S, Najjar S, Iijima H, Kaser A, Qiao S, Nakajima A, Watanabe M, Neel B, Blumberg R: Carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1-4L isoform represses antigen specific CD4+ T cell function. ICMI2007. 東京, 2007. 07. 11.

29. Nagaishi T, Pao L, Lin S, Najjar S, Iijima H, Kaser A, Qiao S, Nakajima A, Watanabe M, Neel B, Blumberg R: Wnt-GSK3 β targets Hath1 in colonocyte proliferation and differentiation. ICMI2007. 東京, 2007. 07. 11.

30. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Tomita T, Makita S, Watanabe M: IL-7 is essential for the development and the persistence of chronic colitis. ICMI2007. 東京, 2007. 07. 11.

31. 渡辺 守: 潰瘍性大腸炎の病態を内視鏡検体

を用いて繙く. 第 25 回 日本大腸検査学会総会. 東京, 2007. 09. 08-09.

32. Tsuchiya K, Kanai T, Watanabe M: Degradation of Hath1 protein in inverse β -catenin by novel Wnt-GSK3 axis suppresses differentiation potency in human colon cancer. 第 66 回 日本癌学会学術総会. 横浜, 2007. 10. 03-05.

33. Tsuchiya K, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Novel Wnt signaling pathway targeting Hath1 protein in inverse regulation to β -catenin, suppresses differentiation potency in human colon cancer. APDW 2007. 神戸, 2007. 10. 15-18.

34. Watanabe M: Emerging issues in inflammatory bowel diseases. APDW 2007. 神戸, 2007. 10. 15-18.

35. 土屋輝一郎、岡本隆一、渡辺 守: Wnt シグナルによる Hath1 蛋白分解機構を標的とした大腸癌新規治療法開発. JDDW 2007. 神戸, 2007. 10. 18-21.

36. 渡辺 守: クローン病治療における Infliximab 維持治療の重要性. JDDW 2007. 神戸, 2007. 10. 18-21.

37. 渡辺 守: 消化器医が知っておきたい下部消化管疾患の最先端一進歩する病態学・診断学・治療学一炎症性疾患:IBD. JDDW 2007. 神戸, 2007. 10. 18-21.

38. Tsuchiya K, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Reciprocal targeting of Hath1 and beta-catenin by Wnt-glycogen synthase kinase 3 beta in human colon cancer. JUCC. 東京, 2007. 11. 16.

39. 渡辺 守: 炎症性腸疾患の病態を新しい側面から繙く. 日本消化器病学会東海支部. 第 107 回例会・日本消化器病学会東海支部. 第 18 回教育講演会. 名古屋, 2007. 11. 17.

40. Nagaishi T, Brozovic S, Yoshida M, Onizawa M, Kanai T, Watanabe M, Blumberg R S: Microsomal triglyceride transfer protein による NKT 細胞介在性肝炎および腸炎の制御. 日本免

疫学会総会・学術集会. 東京, 2007.11.20.

41. Tsuchiya K, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M.
Microsomal triglyceride transfer protein による NKT 細胞の機能調節. 日本免疫学会総会・学術集会. 東京, 2007.11.20-22.

42. Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Fujii T, Shinohara T, Kameyama K, Totsuka T, Watanabe M:
Systemic, but not intestinal, IL-7 is essential for the persistence of chronic colitis. 日本免疫学会総会・学術集会. 東京, 2007.11.22.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1 特許取得

なし

2 実用新案登録

なし

3 その他

特になし

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
分担研究報告書

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。一方、増殖因子である HGF の発癌性、特に潰瘍性大腸炎は高率に大腸癌を発生することから、HGF による大腸発癌への影響が懸念された。今回、二つの大腸発癌モデルに組換えヒト HGF を投与し、その発癌に及ぼす影響を検討したところ、いずれに試験においても組換えヒト HGF は大腸発癌をむしろ抑制した。一方、組換えヒト HGF 注腸投与における薬物動態試験では、組換えヒト HGF の血中暴露は 1.0 mg/ml と薬効が期待される濃度よりも高い濃度（約 100 倍）で検出された。以上の結果から、組換えヒト HGF が大腸発癌を促進する成績は得られず、また効果の期待される組換えヒト HGF の注腸投与では血清 HGF 上昇もみられず、静注投与よりもより安全に投与可能と考えられた。

共同研究者

井戸 章雄	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 准教授
沼田 政嗣	京都大学医学部附属病院探索医療センター特別教育研究助教
山路 尚久	京都大学医学部附属病院探索医療センター特別教育研究助教
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 助教

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

- 大腸発癌モデルに及ぼす組換えヒト HGF の影響
1) 7週齢A/JマウスにAzoxymethane(AOM)を5mg/Kgを週に1回6週間腹腔内投与した。同時に組換えヒトHGF(0.1、0.5、1.0 mg/kg)を週3回15週間腹腔内投与した。対照群として、生食を腹腔内投与した。投与終了時点(15週)での死亡率、腫瘍発生率、多発性について検討した。
- 7週齢CBAマウスにAOMを第1週目に12.5 mg/kg単回腹腔内投与した。翌週より、2.5%DSSを週5日投与+2週間休薬を3サイクル繰り返した。2週目より、組換えヒトHGF(0.1、0.5、1.0mg/Kg)を週5回2週間+1週間休薬で腹腔内投与した。対照群として、生食を腹腔内投与した。投与終了時点(12週)での死亡率、腫瘍数、腫瘍発生率、多発性について検討した。

2. 組換えヒト HGF 注腸投与における薬物動態（血中暴露）

ラットに組換えヒト HGF (0.01、0.1、1.0、5.0 mg/ml) を 0.5ml 単回注腸投与した後、経時的に採血し、血清 HGF 濃度を ELISA 法にて測定した。

（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う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。

C. 研究結果

1. 大腸発癌モデルに及ぼす組換えヒト HGF の影響

1) 腫瘍発生において、対照（生食）群 0.58 に対して HGF 群 0.1mg/kg: 0.21, 0.5mg/kg: 0.077, 1.0mg/kg: 0.21 と全てで発生率に有意差を認められた。

死亡率、多発性には有意差は認められなかった。

2) preliminary なデータではあるが、腫瘍発生数において、対照（生食）群に対して HGF 群 1.0mg/kg で有意差を認めた。その他のデータについては、今後更なる解析予定である。

2. 組換えヒト HGF 注腸投与における薬物動態（血中暴露）

組換えヒト HGF 0.01、0.1 mg/ml 濃度では血中暴露はみられなかった。1.0 mg/ml 濃度において注腸投与 30 分後、120 分後に血清 HGF が上昇する個体がみられた。

D. 考察

1. 大腸発癌モデルに及ぼす組換えヒト HGF の影響
今回、2 つの大腸発癌モデルにおいて、HGF の影響を検討した。

2 つの試験において、HGF の腫瘍発生は抑制傾向であった。今後、更なる解析及び作用機序について検討していく予定である。

2. 組換えヒト HGF 注腸投与における薬物動態（血中暴露）

組換えヒト HGF 注腸投与における傷害粘膜再生・修復促進作用は 0.1 mg/ml で誘導される。今回の薬物動態試験では血中暴露はその 100 倍濃度 (1.0 mg/ml) の組換えヒト HGF 注腸投与において検出された。組換えヒト HGF 0.1mg/ml での注腸投与においては組換えヒト HGF が血中には出現しないことから、静脈内投与においてみられる血圧低下

などの副作用はみられないことが期待される。

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において、特に潰瘍性大腸炎においては高率に大腸発癌をきたすことから、増殖因子である HGF の発癌に及ぼす影響が懸念された。今回、二つの大腸発癌モデルに組換えヒト HGF を反復投与したが、発癌はむしろ抑制する結果が得られた。また、薬効が期待できる組換えヒト HGF 濃度では血中暴露はなく、注腸投与の安全性が確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Abe H, Uto H, Takami Y, Takahama Y, Hasuike S, Kodama M, Nagata K, Moriuchi A, Numata M, Ido A, Tsubouchi H: Transgenic expression of osteoactivin in the liver attenuates hepatic fibrosis in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 356(3): 610-5, 2007
- 2) 井戸章雄、沼田政嗣、森内昭博、桶谷真、坪内博仁: HGF を用いた肝再生療法はどのくらい有効か?. *分子消化器病* 4(4): 327-332, 2007
- 3) 井戸章雄、宇都浩文、桶谷真、坪内博仁: 肝再生誘導のスイッチとそれを妨げる因子. *Surgery Frontier* 14(2): 133-137, 2007
- 4) 坪内博仁、井戸章雄: HGF の発見から臨床応用. *Frontiers in Gastroenterology* 12(2): 109-122, 2007
- 5) 井戸章雄、坪内博仁: 新しい治療 組換えヒト HGF による劇症肝炎の治療. *治療学* 41(4): 401-402, 2007
- 6) 井戸章雄、森内昭博、宇都浩文、桶谷真、坪内博仁: 【ウイルス性肝硬変診療の進歩】治療 非代償性肝硬変、肝不全 再生医療. *肝・胆・膵* 54(1): 133-138, 2007
- 7) 井戸章雄、桶谷真、坪内博仁: 肝臓 劇症肝炎の治療. *Annual Review 消化器* 2007: 196-200, 2007

2. 学会発表

- 1) Naohisa Y, Akio I, Hitoshi S, Masatsugu N, Akihiro M, Kazuki I, Hiroyuki M, Hirofumi U, Makoto O, Tsutomu C, Hirohito T: Two subjects with fulminant hepatic failure

who were administered recombinant human hepatocyte growth factor in a phase I/II study. Digestive Disease Week 2007, Washintong DC, 2007.5

- 2) Masatsugu N, Mayumi K, Fumisato S, Takanobu M, Hirofumi U, Takeshi H, Akio I, Hirohito T: Usefulness of double-balloon endoscopy as a diagnostic and therapeutic method for small-intestinal involvement in patients with inflammatory bowel disease Digestive Disease Week 2007, Washintong DC, 2007.5
- 3) 山路尚久、井戸章雄、瀬戸山仁、沼田政嗣、森内昭博、池田一毅、丸澤宏之、宇都浩文、桶谷真、千葉勉、坪内博仁：組換えヒト肝細胞増殖因子を投与した劇症肝炎亜急性型の2例。日本肝臓学会総会、東京、2007.5
- 4) 森内昭博、井戸章雄、山路尚久、瀬戸山仁、重信秀峰、小原一憲、沼田政嗣、長谷川将、宇都浩文、桶谷真、坪内博仁：網羅的遺伝子発現解析を用いた HGF の抗アポトーシス機構の解明。日本肝臓学会総会、東京、2007.5
- 5) 沼田政嗣、井戸章雄、坪内博仁：症例から学ぶ急性肝不全 組換えヒト肝細胞増殖因子を投与した劇症肝炎亜急性型、遅発性肝不全症例。日本肝臓学会大会(JDDW)、神戸、2007.10

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし