

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

論文発表

1. Sumida Y, Nakamura K, Kanayama K, Akiho H, Teshima T, Ryoichi T. Preparation of functionally preserved CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> regulatory T cells from leukapheresis products from ulcerative colitis patients, applicable to regulatory T-cell-transfer therapy. *Cytotherapy* 2008; 10: 698-710.

学会発表

1. 隅田頼信、中村和彦、金山兼司、酒井美佳子、井星陽一郎、村尾寛之、荻野治栄、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 細胞移入療法を目的とした in vitro での制御性 T 細胞培養増殖および誘導法の検討. 第 94 回日本消化器病学会総会. 福岡. 平成 20 年 5 月.

I. 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

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

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

研究代表者 岡崎 和一 関西医科大学内科学第三講座 教授

研究要旨：目的：比較的安全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検討した。研究方法：(1) ラット皮下脂肪より ADSCs を分離し、骨、神経、脂肪、上皮へとそれぞれ分化誘導培地を用いて分化誘導を行い、多分化能を調べた。(2) クロウン病の動物モデルとして確立された TNBS (2, 4, 6-Trinitrobenzene Sulfonic Acid) 大腸炎モデルに ADSCs を大腸粘膜下に局所注入し、腸粘膜への再生分化の可能性を検討した。成績：ADSCs は多系統の成熟細胞へと分化した。ADSCs から大量の HGF, VEGF および adiponectin の産生が認められ、その作用により創傷治癒を促進させることが示唆された。In Vivo で ADSCs は腸粘膜の再生を促進し、一部は線維芽細胞や平滑筋細胞、脂肪細胞へと分化したことが確認された。結論：比較的安全かつ大量に採取可能な皮下脂肪組織由来幹細胞は、粘膜下局所注入法により腸粘膜再生に利用可能なことが示された。現在、学内倫理委員会の承認をうけ、臨床応用にむけ、ヒトでの検討中である。

共同研究者

安藤祐吾<sup>1,2</sup> 稲葉宗夫<sup>2,4</sup> 坂口雄沢<sup>1,2</sup>  
内田一茂<sup>1</sup> 松下光伸<sup>1</sup> 池原 進<sup>2,4</sup>

所属

関西医科大学内科学第三講座<sup>1</sup>  
関西医科大学第一病理<sup>2</sup>  
関西医科大学再生医学難病治療センター<sup>3</sup>  
関西医科大学癌治療センター<sup>4</sup>

A. 研究目的

炎症性腸疾患難治例では高度の腸管粘膜欠損がみられ、粘膜再生障害が病態の遷延化に関与している可能性がある。近年、脂肪組織中にさまざまな組織へと分化する可能性を持った脂肪組織由来幹細胞 (以下 ADSCs) が、幹細胞のソースとして注目されている。ADSCs は細胞表面マーカーおよび細胞増殖能、多分化能など、骨髄間葉系幹細胞と非常に類似した性質を持っており、現在、骨再生や血管再生などの臨床研究も進められている。本研究においては皮下脂肪組織由来幹細胞を用いて、腸管粘膜再生に利用可能か腸炎モデル動物を使って検討した。比較的安全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

ラット皮下脂肪組織を採取し、コラゲナーゼにて ADSCs を分離し、5%FBS 添加 IMDM にて1ヶ月培養の後、骨、神経、脂肪、上皮へとそれぞれ分化誘導培地を用いて分化誘導を行い、多分化能を調べた。また、培養液中の HGF, VEGF, TGF- $\beta$ , adiponectin や、炎症性サイトカイン (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-8) を ELISA 法にて測定し、粘膜再生および炎症性細胞への関与を検討した。さらに、クローン病の動物モデルとして確立された TNBS (2, 4, 6-Trinitrobenzene Sulfonic Acid) 大腸炎モデルを作成し、ADSCs を大腸粘膜下に局所注入し、腸粘膜への再生分化の可能性を検討した。

### C. 研究結果

今回行った実験により、ADSCs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、ADSCsから大量のHGF、VEGFおよびadiponectinの産生が認められ、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、ADSCsは傷害をうけた腸粘膜の再生を促進する働きが観察され、腸管局所に注入されたADSCsは腸管全層に分布し、一部は線維芽細胞や平滑筋細胞、脂肪細胞へと分化したことが確認された。ただし、腸管上皮や血管内皮細胞、神経細胞への分化は確認されなかった。

### D. 考察

今回、我々がラットの皮下脂肪組織から分離培養したADSCsは、FACS analysisによりCD90+CD45-の細胞群で、これらの細胞群は骨髄由来間葉系幹細胞の細胞表面マーカーと類似しており、また、多系統の細胞へと分化する多分化能を有し、骨髄由来間葉系幹細胞と非常に類似した細胞群であることを明らかにした。また、ADSCsは大量のHGFやVEGFなどのgrowth factorやadiponectin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。さらに、HGFやadiponectinの抗炎症作用により、組織中のIL-8の分泌が抑制され、それにより、好中球の腸管局所への浸潤が抑制された結果として組織中MPO活性が抑制された可能性も考えられる。さらに、in vivoの実験ではADSCsによる腸管粘膜再生促進作用が確認され、腸管局所に注入されたADSCsの一部は腸管支持組織へと分化したことが確認された。ただし、in vitroでは神経や腸上皮への分化は確認さ

れず、腸管局所への注入前に何らかの分化誘導を行う必要性が考えられた。

今回、我々が行った実験で注目すべき点は、ヒトにおける脂肪組織採取は形成外科領域では比較的安全で確立された手技であり、骨髄幹細胞と比べて一度に大量のADSCsを採取できることである。骨髄間葉系幹細胞は一度の骨髄採取で獲得できる細胞数が限られており、実際に臨床応用するにあたっては、数週間培養する必要がある。しかし、ADSCsは一度に大量の細胞数を準備できることから、cell-based medicineとして最適な細胞源と考えられた。

### E. 結論

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は、粘膜下局所注入法により腸粘膜再生に利用可能なことが示された。今後の臨床応用に向けて、現在ADSCsの腫瘍化の有無を確認するとともに、現在、学内倫理委員会の承認をうけ(承認番号第0693号)、臨床応用にむけ、ヒトでの検討中である。

### 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(2):77-81.

## G. 健康危険情報

なし

## H. 研究発表

### 論文発表

1. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. Subcutaneous adipose tissue-derived stem cells facilitate colonic mucosal recovery from 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14: 826-38.
2. 島谷昌明、松下光伸、若松隆宏、大宮美香、内田一茂、高岡 亮、関 寿人、岡崎和一：パルミチン酸デキサメタゾンの静注が有効であった単純性潰瘍の一例。日本消化器内視鏡学会雑誌 2008;50:1109-14.
3. Sumimoto K, Matsushita M, Okazaki T, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Crohn's disease accompanied by purulent discitis and psoas abscesses. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:728-30.
4. Toyonaga T, Matsushita M, Matsumoto T, Fukui T, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Endoscopic injection therapy for a bleeding exposed vessel in Crohn's disease. *Gastrointest Endosc* 2008;68:572-3.
5. Ando Y, Matsushita M, Kawamata S, Shimatani M, Fujii T, Okazaki K. Infliximab for severe gastrointestinal bleeding in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:483-4.
6. Matsushita M, Ando Y, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Association of "ulcerative appendicitis" and appendiceal adenocarcinoma. *Inflamm Bowel Dis* (in press).
7. Matsushita M, Ando Y, Kawamata S, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Appendix in ulcerative colitis: significant involvement and pathogenesis. *Gastrointest Endosc* (in press).

### 学会発表

1. 松下光伸、大宮美香、岡崎和一：Immunomodulator によるクローン病治療

の新展開：クローン病の緩解導入・緩解維持におけるインフリキシマブの有用性と新たな治療法の可能性。第4回日本消化器学会総会、2008、2、7、大阪

2. 豊永貴彦、松本隆之、鈴木 亮、住本貴美、若松隆宏、福井寿朗、大宮美香、内田一茂、松下光伸、岡崎和一：露出血管のあるクローン病の潰瘍出血に対して内視鏡的止血術が有効であった一例。第80回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、2008、3、1、大阪
3. 青井一憲、大宮美香、松下光伸、柳川雅人、中村尚弘、岡崎和一：潰瘍性大腸炎の経過中に急性膵炎を併発した一症例。第81回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、2008、9、20、大阪
4. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. The 13<sup>th</sup> International Congress of Mucosal Immunology, Tokyo. Adipose Tissue-Derived Stem Cells Facilitate Colonic Mucosal Recovery in Experimental Colitis Rats" 2008, Tokyo
5. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. "Adipose Tissue-Derived Stem Cells Facilitate Colonic Mucosal Recovery in Experimental Colitis Rats" Digestive Disease Week 2008, San Diego, USA.

## I. 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

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

シクロスポリン封入ポリ乳酸マイクロカプセルを用いた実験腸炎治療の検討

研究代表者 岡崎 和一 関西医科大学内科学第三講座 教授

研究要旨：シクロスポリン封入ポリ乳酸マイクロカプセル（CyAMC）を Dextran sulfate sodium（DSS）で誘導した腸炎マウスに対して投与を行い、治療効果について検討を行った。CyAMC 投与群では非投与群と比較して体重、血便スコア、組織学的スコア、ミエロペルオキシダーゼ活性について改善が認められた。

共同研究者

内田一茂<sup>1</sup> 深田憲将<sup>1</sup> 安藤祐吾<sup>1</sup>  
松下光伸<sup>1</sup> 西尾彰功<sup>1</sup> 田畑泰彦<sup>2</sup>  
玉置敬之<sup>3</sup> 仲瀬裕志<sup>3</sup> 千葉 勉<sup>3</sup>

所属

関西医科大学内科学第三講座<sup>1</sup>  
京都大学再生医科学研究所<sup>2</sup>  
京都大学大学院消化器内科学<sup>3</sup>

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎は難病指定されている疾患であるが、近年患者数の増加とともに難治例の増加が問題となっている。シクロスポリン（CyA）は強い免疫抑制機能を持つ薬剤であり潰瘍性大腸炎に効果を期待できる薬剤であるが、血中モニターが必要であり実際の臨床の場では使用の難しい薬剤である。そこで我々はポリ乳酸を使用したドラッグデリバリーシステムを用いて CyA を腸内で徐放化し血中濃度を上げること無く安全に使用する新しい治療法の開発を試みることを本実験の目的とする。

B. 研究方法

1) シクロスポリン封入ポリ乳酸マイクロカプセルの作製

solvent-evaporation method（ダブルエマルジョンからの液中乾燥法）を用いてシクロスポリン封入ポリ乳酸マイクロカプセル（CyAMC）を作

製した。Phosphate buffered saline（PBS）中で徐放実験を行い、CyA の溶出曲線を作成した。

2mg/kg 相当量の CyAMC、CyA を C57BL/6 マウスに投与し、血中の CyA 濃度を測定した。

2) CyAMC 投与の DSS 腸炎改善効果の検討

C57BL/6 マウスに 3%（w/v）Dextran sulfate sodium（DSS）を 5 日間連日投与し、6 日目から 10 日目まで純水投与に変更した。3 日目から CyA2mg/kg、0.2mg/kg 相当量の CyA 及び CyAMC、PBS を連日経口投与し、10 日目に腸炎を評価した。各日における体重変化は 0 日目の体重に対する変化率で示した。摘出した大腸の全長を計測し、糞便中の血液含有を Bloody stool score に従って評価した。肛門側の大腸組織を Histological scoring system に従って組織学的に評価した。大腸組織のミエロペルオキシダーゼ活性は o-ジアニシジン法で測定した。

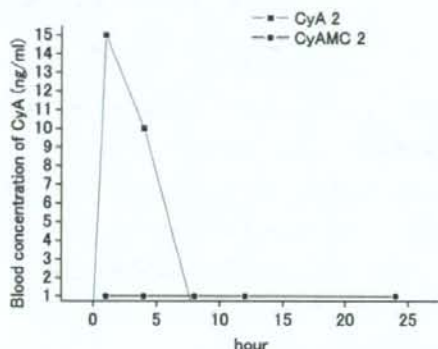
（倫理面への配慮）

動物実験に関しては、動物実験倫理委員会の承認を得て、実験動物の飼育は、空調設備、照明の時間制御の整った SPF 環境化で週に 1 回の床敷交換、餌水分補給を行っている。また、毎年秋に動物慰霊祭を行っている。また実験に当たっては、麻酔操作を行い、極力苦痛の軽減を行うよう配慮している。

### C. 研究結果

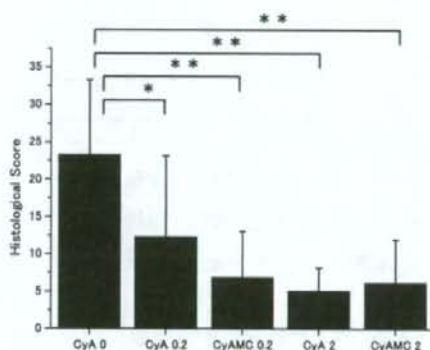
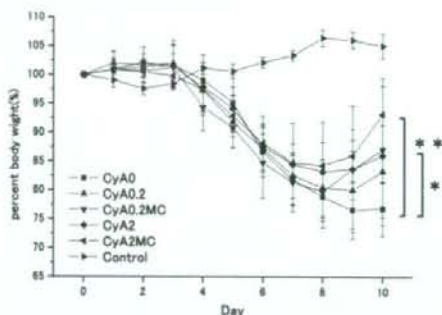
#### 1) シクロスポリン封入ポリ乳酸マイクロカプセルの作製

1mgのポリ乳酸マイクロカプセルに34 $\mu$ gのCyAを封入されていることを確認した。徐放実験において、24時間後に約50%のCyAが溶出していることを確認した。血中濃度の検討ではCyA投与群では1時間後をピークに血中濃度の上昇を認めめたが、CyAMC投与群では血中濃度の上昇を認めなかった。



#### 2) CyAMC投与のDSS腸炎改善効果の検討

DSS投与開始後8日目~10日目の体重減少はPBS投与群に比較して、CyA(2)、CyA(0.2)MC、CyA(2)MC投与群で有意に軽度であった。大腸の全長はPBS投与群と比較し、長い傾向にあったが有意差を認めなかった。組織学的変化はPBS投与群で遠位大腸を中心に、炎症細胞浸潤、クリプトの損傷を認めたが、CyA、CyAMC投与群ではこれらは軽減しており特にCyA(2)、CyA(0.2)MC、CyA(2)MC投与群ではhistological scoreも有意に低値であった。また、ミエロペルオキシダーゼ活性においても、PBS投与群に比較してCyA2mg/kg、CyAMC投与群で有意に低値であった。



### D. 考察

DSS腸炎に対してシクロスポリン封入マイクロカプセル投与により、シクロスポリン投与と同等の腸炎改善効果が認められた。通常投与量の1/10量投与でも、通常量投与と同等の腸炎改善効果が見られた。マクロファージに取り込まれたマイクロカプセルはマクロファージ内で分解され、その活性化が抑制され、抗原提示能が抑制されることにより炎症細胞浸潤を抑制した可能性が考えられる。

### E. 結論

シクロスポリン封入ポリ乳酸マイクロカプセル投与により、DSS腸炎の改善がみられ、その治療効果を示した。

### F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 論文発表

1. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. Subcutaneous adipose tissue-derived stem cells facilitate colonic mucosal recovery from 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14: 826-38.
2. 島谷昌明、松下光伸、若松隆宏、大宮美香、内田一茂、高岡 亮、関 寿人、岡崎和一：パルミチン酸デキサメタゾンの静注が有効であった単純性潰瘍の一例。日本消化器内視鏡学会雑誌 2008;50:1109-14.
3. Sumimoto K, Matsushita M, Okazaki T, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Crohn' s disease accompanied by purulent discitis and psoas abscesses. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:728-30.
4. Toyonaga T, Matsushita M, Matsumoto T, Fukui T, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Endoscopic injection therapy for a bleeding exposed vessel in Crohn' s disease. *Gastrointest Endosc* 2008;68:572-3.
5. Ando Y, Matsushita M, Kawamata S, Shimatani M, Fujii T, Okazaki K. Infliximab for severe gastrointestinal bleeding in Crohn' s disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:483-4.
6. Matsushita M, Ando Y, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Association of " ulcerative appendicitis " and appendiceal adenocarcinoma. *Inflamm Bowel Dis* (in press).
7. Matsushita M, Ando Y, Kawamata S, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Appendix in ulcerative colitis: significant involvement and pathogenesis. *Gastrointest Endosc* (in press).
4. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. The 13<sup>th</sup> International Congress of Mucosal Immunology, Tokyo. Adipose Tissue-Derived Stem Cells Facilitate Colonic Mucosal Recovery in Experimental Colitis Rats" 2008, Tokyo
5. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. " Adipose Tissue-Derived Stem Cells Facilitate Colonic Mucosal Recovery in Experimental Colitis Rats " Digestive Disease Week 2008, San Diego, USA.

## 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

### 学会発表

1. 松下光伸、大宮美香、岡崎和一：Immunomodulator によるクローン病治療の新展開：クローン病の緩解導入・緩解維持におけるインフリキシマブの有用性と新たな治療法の可能性。第4回日本消化管学会総会、2008、2、7、大阪
2. 豊永貴彦、松本隆之、鈴木 亮、住本貴美、若松隆宏、福井寿朗、大宮美香、内田一茂、松下光伸、岡崎和一：露出血管のあるクローン病の潰瘍出血に対して内視鏡的止血術が有効であった一例。第80回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、2008、3、1、大阪
3. 青井一憲、大宮美香、松下光伸、柳川雅人、

中村尚弘、岡崎和一：潰瘍性大腸炎の経過中に急性肺炎を併発した一症例。第81回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、2008、9、20、大阪

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
炎症性腸疾患の画的治療に関する臨床研究  
分担研究報告書

ヒト組み換えチオレドキシンをを用いた炎症性腸疾患に対する新しい治療の検討

研究代表者 岡崎 和一 関西医科大学内科学第三講座 教授

研究要旨：難治性炎症性腸疾患（IBD）活動期の腸管粘膜では酸化ストレスの増加が報告されており病態の発生・進展への関与が想定されている。活動期潰瘍性大腸炎・クローン病・虚血性腸炎患者血清中では有意にチオレドキシシン（TRX）値が高値であること、さらにクローン病では血中 MIF 値と相関することを示した。今回我々は TRX の治療への有用性につき動物実験とドラッグデリバリーシステムの開発を行った。これまでに dextran sulfate sodium (DSS) 投与による急性腸炎モデルにおける rtTRX の腹腔内投与での腸炎抑制効果、また、慢性腸炎モデルである 9-10 週齢の IL-10 ノックアウトマウスでの rhTRX の腹腔内投与での腸炎抑制効果を示してきた。臨床応用を目的としたゼラチンマイクロスフェアによる rtTRX の徐放製剤を開発し、DSS 腸炎モデルマウスに rtTRX 封入マイクロスフェアを注腸投与し、腸炎の抑制効果を検討した。非投与群と比較して病理組織学的スコアの改善傾向、ミエロペルオキシダーゼ活性の改善がみられ、腸炎抑制効果が示された。

共同研究者

内田一茂<sup>1</sup> 深田憲将<sup>1</sup> 安藤祐吾<sup>1</sup>  
松下光伸<sup>1</sup> 田畑泰彦<sup>2</sup> 淀井淳二<sup>3</sup>  
玉置敏之<sup>4</sup> 仲瀬裕志<sup>4</sup> 西尾彰功<sup>4</sup>

所属

関西医科大学内科学第三講座<sup>1</sup>  
京都大学再生医学研究所<sup>2</sup>  
京都大学ウイルス研究所<sup>3</sup>  
京都大学大学院消化器内科学<sup>4</sup>

A. 研究目的

クローン病や潰瘍性大腸炎は原因不明の難治性炎症性腸疾患（IBD）である。局所に浸潤した炎症細胞によって産生される Reactive oxygen species (ROS) 及び ROS によって引き起こされる酸化ストレスは直接的な組織障害を引き起こすことが知られているが、IBD 活動期の腸管粘膜ではこれらの増加が報告されておりその病態の発生・進展への関与が想定されている。

Thioredoxin (TRX) は淀井らにより成人 T 細胞白血病由来因子としてクローニングされた、Cys-Gly-Pro-Cys 配列によるチオール・ジスルフィド反応を介した酸化還元反応制御能を持つ多機能分子である<sup>1)</sup>。その機能は多岐にわたり、reactive oxygen species (ROS) の還元・産生抑制に加え NF- $\kappa$ B や Ref1 などの転写因子活性化<sup>1)</sup>や ASK-1 の不活性化による MAPK へのシグナル伝達の抑制などを介したアポトーシスの抑制が報告されている<sup>2)</sup>。また air pouch model を用いた検討では炎症局所への好中球浸潤を抑制することが報告されており<sup>3)</sup>、TRX は抗酸化ストレス、抗アポトーシス、及び抗炎症作用を有し生体の恒常性維持に重要な役割を果たしていると考えられている。実験動物モデルでは、トランスジェニック (TG) マウスにおけるインフルエンザウイルス感染に対する抵抗性の増強や<sup>4)</sup> アドリアマイシン心筋障害の軽減<sup>5)</sup>など生体防御能の増強に関する報告が数多くなされているが、



消化管炎症における検討は行われていない。そこで我々は UC および CD 患者血清中 TRX 濃度について検討したところ、コントロール群に比して有意に高値を示し、血清 TRX 値は活動度に相関していることを見いだした。また、TRX transgenic (TRX-TG) マウスおよびリコンビナントヒト TRX (rhTRX) を用いて dextran sulfate sodium (DSS) 投与による急性腸炎モデルにおける TRX 腹腔内投与の腸炎抑制効果を報告した。

今回治療応用へ向けてドラッグデリバリーシステムを持った製剤開発を試み、dextran sulfate sodium (DSS) 投与による急性腸炎モデルにおける TRX 注腸投与の腸炎抑制効果を検討した。

## B. 研究方法

### (1) ドラッグデリバリーを持った TRX 製剤の作成

ゼラチンマイクロスフェアに TRX を吸収させ、PBS にて徐放実験を行い 1、2、3、6、12、24、48 時間後に徐放された TRX を ELISA 法で測定した。

### (2) rhTRX 投与の DSS 腸炎改善効果の検討

C57BL/6 マウスに 3% (w/v) DSS を 5 日間連日投与し、6 日目から 10 日目まで純水投与に変更した。DSS 投与 3 日前から 9 日目まで phosphate buffered saline (PBS) または rhTRX 10mg/kg を含浸させたゼラチンマイクロスフェア (rtTRXMS 群、n=10) を連日注腸投与し、10 日目に腸炎を評価した。

### (3) 腸炎の総合評価

各日における体重変化は 0 日目の体重に対する変化率で示した。摘出した大腸の全長を計測し、TRX-TG マウスを用いた検討では糞便中の血液含有を Bloody stool score<sup>6)</sup> に従って評価した。肛門側 1.5 cm の大腸組織を

Histological scoring system<sup>7)</sup> に従って組織学的に評価した。大腸組織のミエロペルオキシダーゼ活性は o-ジアニシジン法で測定した。(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、動物実験倫理委員会の承認を得て、実験動物の飼育は、空調設備、照明の時間制御の整った SPF 環境化で週に 1 回の床敷交換、餌水分補給を行っている。また実験に当たっては、麻酔操作を行い、極力苦痛の軽減を行うよう配慮している。

## C. 研究結果

### 1) TRX 徐放製剤の開発

ゼラチンマイクロスフェアを用いた TRX 製剤の徐放実験では、経時的に徐放されることが確認された。

### 2) ヒト組み換え rhTRX の治療効果

DSS 投与開始後 6 日目~10 日目の体重減少は vehicle 群に比して rtTRXMS 群で軽度であったが有意差は見られなかった。大腸の全長は vehicle 群に比して rtTRXMS 群で長かったが有意差は認めなかった。組織学的変化は vehicle 群に比して rtTRXMS 群で軽度であったが、histological score では有意差を認めなかった。ミエロペルオキシダーゼ活性においても rtTRXMS 投与群で有意に低値であった。

## D. 考察

DSS 腸炎は TRX の過剰発現及び rhTRX 投与によって有意に抑制され、TRX は消化管炎症に関与していることが強く示唆された。TRX は様々なストレスで誘導され、酸化・還元反応を制御することにより生体のホメオスタシスを維持することが知られているが、消化管炎症などの炎症性疾患では ROS 産生や酸化ストレスの増加を介して酸化・還元バランスの不均衡が起こり TRX 産生を増加させると考

えられる。従って IBD における血清 TRX 産生の増加は一種の生体防御反応と考えられるが、量的に不十分であるため炎症の抑制に至らないと推測される。

以前より NO・H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>・OCl<sup>-</sup>などの ROS によって惹起される酸化ストレスは炎症や虚血を惹起する結果 IBD の病態形成に関与すると考えられ、実験腸炎モデルでは Cu/Zn-SOD をはじめとする抗酸化因子の腸炎抑制効果が報告されてきた。

ヒトへの応用を考え今回我々はゼラチンマイクロスフェアを持ったドラッグデリバリーシステムを開発した。徐放実験では3時間後に約70%のTRXが徐放されることが確認された。チオレドキシンを含浸させたゼラチンマイクロスフェア投与により腸炎改善効果が示された。チオレドキシンの活性は生体内では短時間しか保たないため、経口、もしくは経直腸での投与では治療効果を期待することは難しい。ドラッグデリバリーシステムとしてゼラチンマイクロスフェアを使用することにより、チオレドキシンの分解される時間を延長することにより腸炎の改善効果が得られたものと考えられる。

#### E. 結論

ドラッグデリバリーシステムを用いてゼラチンマイクロスフェアに封入した Recombinant human チオレドキシンを作成した。ゼラチンマイクロスフェアに封入した Recombinant human チオレドキシンを DSS 腸炎モデルマウスに投与することにより、腸炎は改善した。

#### F. 参考文献

1. Tagaya Y, et al.: ATL-derived factor (ADF), an IL-2 receptor/Tac inducer homologous to thioredoxin; possible

involvement of dithiol-reduction in the IL-2 receptor induction. *Embo J* 8:757-764, 1989

2. Powis G, et al.: Properties and biological activities of thioredoxins. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 30:421-455, 2001
3. Nakamura H, et al.: Circulating thioredoxin suppresses lipopolysaccharide-induced neutrophil chemotaxis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:15143-15148, 2001
4. Nakamura H, et al.: Enhanced resistancy of thioredoxin-transgenic mice against influenza virus-induced pneumonia. *Immunol Lett* 82:165-170, 2002
5. Shioji K, et al.: Overexpression of thioredoxin-1 in transgenic mice attenuates adriamycin-induced cardiotoxicity. *Circulation* 106:1403-1409, 2002
6. Jeffers M, et al.: A novel human fibroblast growth factor treats experimental intestinal inflammation. *Gastroenterology* 123:1151-1162, 2002
7. Williams KL, et al.: Enhanced survival and mucosal repair after dextran sodium sulfate-induced colitis in transgenic mice that overexpress growth hormone. *Gastroenterology* 120:925-937, 2001
8. 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.

#### G. 健康危険情報

なし

#### H. 研究発表

##### 論文発表

1. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. Subcutaneous adipose tissue-derived

- stem cells facilitate colonic mucosal recovery from 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14: 826-38.
2. 島谷昌明、松下光伸、若松隆宏、大宮美香、内田一茂、高岡 亮、関 寿人、岡崎和一：パルミチン酸デキサメタゾンの静注が有効であった単純性潰瘍の一例。日本消化器内視鏡学会雑誌 2008;50:1109-14.
  3. Sumimoto K, Matsushita M, Okazaki T, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Crohn's disease accompanied by purulent discitis and psoas abscesses. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:728-30.
  4. Toyonaga T, Matsushita M, Matsumoto T, Fukui T, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Endoscopic injection therapy for a bleeding exposed vessel in Crohn's disease. *Gastrointest Endosc* 2008;68:572-3.
  5. Ando Y, Matsushita M, Kawamata S, Shimatani M, Fujii T, Okazaki K. Infliximab for severe gastrointestinal bleeding in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:483-4.
  6. Matsushita M, Ando Y, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Association of "ulcerative appendicitis" and appendiceal adenocarcinoma. *Inflamm Bowel Dis* (in press).
  7. Matsushita M, Ando Y, Kawamata S, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Appendix in ulcerative colitis: significant involvement and pathogenesis. *Gastrointest Endosc* (in press).

学会発表

1. 松下光伸、大宮美香、岡崎和一：Immunomodulator によるクローン病治療の新展開：クローン病の緩解導入・緩解維持におけるインフリキシマブの有用性と新たな治療法の可能性。第4回日本消化管学会総会、2008、2、7、大阪
2. 豊永貴彦、松本隆之、鈴木 亮、住本貴美、若松隆宏、福井寿朗、大宮美香、内田一茂、松下光伸、岡崎和一：露出血管のあるクローン病の潰瘍出血に対して内視鏡的止血術が有効であった一例。第80回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、

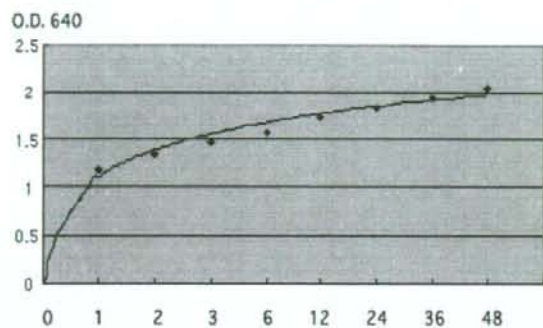
2008、3、1、大阪

3. 青井一憲、大宮美香、松下光伸、柳川雅人、中村尚弘、岡崎和一：潰瘍性大腸炎の経過中に急性膵炎を併発した一症例。第81回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、2008、9、20、大阪
4. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. The 13<sup>th</sup> International Congress of Mucosal Immunology, Tokyo. Adipose Tissue-Derived Stem Cells Facilitate Colonic Mucosal Recovery in Experimental Colitis Rats" 2008, Tokyo
5. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. "Adipose Tissue-Derived Stem Cells Facilitate Colonic Mucosal Recovery in Experimental Colitis Rats" Digestive Disease Week 2008, San Diego, USA.

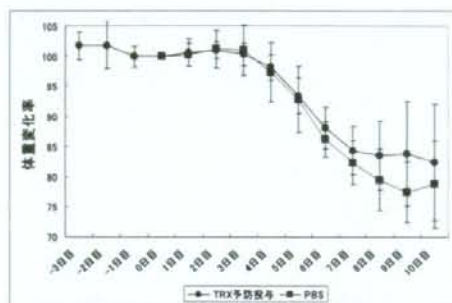
I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

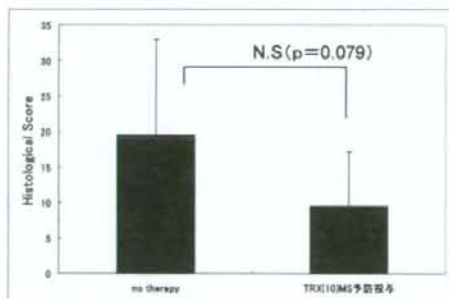
マイクロスフェア含有 TRX の徐放実験



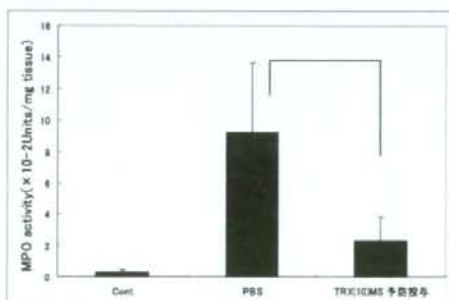
体重変化率



病理組織学的スコア



Ⅱ エロペルオキシダーゼ活性



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

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

研究代表者 岡崎 和一 関西医科大学内科学第三講座 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（DxMC）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 DxMC 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（目標症例 20 例）。DxMC の効果は、ステロイド抵抗患者で効果が乏しかった。ステロイド依存患者の 2 例で有効、1 例で効果不明（ステロイド減量のリバウンド、サイトメガロウイルス感染）であった。明らかな副作用はなかった。DxMC は、ステロイド依存患者に良い適用と考えられた。今後も症例を蓄積し、DxMC の有効性と安全性を確認したいと考えている。また、従来の投与方法と比較し、DxMC 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<sup>1</sup> 西尾彰功<sup>1</sup> 内田一茂<sup>1</sup>  
大宮美香<sup>1</sup> 福井寿朗<sup>1</sup> 川股聖二<sup>1</sup>  
安藤祐吾<sup>1</sup> 深田憲将<sup>1</sup> 大植謙一<sup>2</sup>  
廣田育彦<sup>2</sup> 田畑泰彦<sup>3</sup> 仲瀬裕志<sup>4</sup>  
千葉 勉<sup>4</sup>

所属

関西医科大学内科学第三講座<sup>1</sup>  
関西医科大学薬剤部<sup>2</sup>  
京都大学再生医科学研究所<sup>3</sup>  
京都大学大学院消化器内科学<sup>4</sup>

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。炎症が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、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。

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。

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。

## 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）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、4週間隔日経口投与する。左側大腸炎型患者（n=10）には、DxMC 840mg/day を、4週間隔日注射投与する。

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、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：関西医大臨床研究承認番号第40611号、関西医科大学附属枚方病院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、個人の権利を擁護し、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

上記のプロトコルに従って、この臨床試験に参加する患者を登録中である。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例が登録されている。患者背景は、平均年齢：36.7歳（26-47）、性（M/F）：2/2、病型：全大腸炎型2・左側大腸炎型2、平均罹病期間：6.7年（6-7）、平均入院回数：4回（3-5）であった。DxMCの効果は、ステロイド抵抗患者で効果が乏しかった。ステロイド依存患者の2例で有効、1例で効果不明（ステロイド減量のリバウンド、

サイトメガロウイルス感染）であった。明らかな副作用はなかった。

## 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、腸管切除の回避につ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 $\mu$ 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なく、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。今回、4例の難治性潰瘍性大腸炎患者 DxMC を投与し、ステロイド依存患者に良い適用と考えられた。今後とも症例を蓄積し、DxMC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、DxMC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. 参考文献

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, Debrenci 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. 健康危険情報

なし

#### H. 研究発表

##### 論文発表

1. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. Subcutaneous adipose tissue-derived stem cells facilitate colonic mucosal recovery from 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:826-38.
2. 島谷昌明、松下光伸、若松隆宏、大宮美香、内田一茂、高岡 亮、関 寿人、岡崎和一：パルミチン酸デキサメタゾンの静注が有効であった単純性潰瘍の一例。日本消化器内視鏡学会雑誌 2008;50:1109-14.
3. Sumimoto K, Matsushita M, Okazaki K, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Crohn's disease accompanied by purulent discitis and psoas abscesses. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:728-30.
4. Toyonaga T, Matsushita M, Matsumoto T, Fukui T, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Endoscopic injection therapy for a bleeding exposed vessel in Crohn's disease. *Gastrointest Endosc* 2008;68:572-3.
5. Ando Y, Matsushita M, Kawamata S, Shimatani M, Fujii T, Okazaki K. Infliximab for severe gastrointestinal bleeding in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:483-4.
6. Matsushita M, Ando Y, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Association of "ulcerative appendicitis" and appendiceal adenocarcinoma. *Inflamm*

Bowel Dis (in press).

7. Matsushita M, Ando Y, Kawamata S, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Appendix in ulcerative colitis: significant involvement and pathogenesis. Gastrointest Endosc (in press).

学会発表

1. 松下光伸、大宮美香、岡崎和一：  
Immunomodulator によるクローン病治療  
の新展開：クローン病の緩解導入・緩解  
維持におけるインフリキシマブの有用性  
と新たな治療法の可能性。第4回日本消  
化管学会総会、2008、2、7、大阪
2. 豊永貴彦、松本隆之、鈴木 亮、住本貴  
美、若松隆宏、福井寿朗、大宮美香、内  
田一茂、松下光伸、岡崎和一：露出血管  
のあるクローン病の潰瘍出血に対して内  
視鏡的止血術が有効であった一例。第8  
0回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、  
2008、3、1、大阪
3. 青井一憲、大宮美香、松下光伸、柳川雅  
人、中村尚弘、岡崎和一：潰瘍性大腸炎  
の経過中に急性膵炎を併発した一症例。  
第81回日本消化器内視鏡学会近畿地方  
会、2008、9、20、大阪
4. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M,  
Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S.  
The 13<sup>th</sup> International Congress of  
Mucosal Immunology, Tokyo. Adipose  
Tissue-Derived Stem Cells Facilitate  
Colonic Mucosal Recovery in  
Experimental Colitis Rats” 2008, Tokyo
5. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M,  
Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S.  
“Adipose Tissue-Derived Stem Cells  
Facilitate Colonic Mucosal Recovery in  
Experimental Colitis Rats” Digestive  
Disease Week 2008, San Diego, USA.

I. 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



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

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立群間試験

研究代表者 岡崎 和一 関西医科大学内科学第三講座 教授

研究要旨：潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管型パーचे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、リメタゾン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中である（目標症例 30 例）。クローン病患者は現在投与中であるが、リメタゾンは他の全例で有効であり、ステロイド剤減量・中止が可能であった。明らかなリメタゾンの副作用はなかった。今後も症例を蓄積し、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。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 西尾彰功 内田一茂  
大宮美香 福井寿朗 川股聖二  
安藤祐吾 深田憲将

所属

関西医科大学内科学第三講座

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

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管型パーचे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のが少なくない。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

ンを投与し、従来の全身的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、腸管型ペーチェット病）で、従来の全身的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（ステロイド依存例）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従来の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。

治療法は、従来の全身的ステロイド剤投与量を再増量する（ $n = 30$ ）、あるいは従来の全身的ステロイド剤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、血液・生化学検査、内視鏡所見、従来の全身的ステロイド剤の投与量変化、従来の全身的ステロイド剤の副作用変化、リメタゾンの副作用の有無について有効性および安全性を検討する。

Primary end point は、治療の有効性：臨床スコア・血液（CRP・赤沈）・内視鏡所見のうち2項目以上の改善・軽快を有効とする。Secondary end point は、従来の全身的ステロイド剤の減量と副作用の軽減とする。

（倫理面への配慮）

関西医科大学医学倫理委員会（第0635号）に承認され、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、上記のプロトコールに従って、この無作為化並立群間試験に参加する患者を登録中である。現在、潰瘍性大腸炎患者1例、クローン病患者1例、腸管型ペーチェット病患者2例が登録されている。リメタゾンの効果は、潰瘍性大腸炎患者で有効で、ステロイド減量可能であった。腸管型ペーチェット病患者で有効で、ステロイド中止可能であった。クローン病患者は現在投与中である。明らかなリメタゾンの副作用はなかった。

## 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、治療には従来の全身的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向上につながると思われる。

リボ化ステロイドであるリメタゾンは、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た。今回、潰瘍性大腸炎患者と腸管型ペーチェット病患者にリメタゾンを投与し、従来の全身的ステロイド剤が減量・中止可能であった。今後も症例を蓄積し、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. 参考文献

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. 健康危険情報

なし

#### H. 研究発表

##### 論文発表

1. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. Subcutaneous adipose tissue-derived stem cells facilitate colonic mucosal recovery from 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:826-38.
2. 島谷昌明、松下光伸、若松隆宏、大宮美香、内田一茂、高岡亮、関寿人、岡崎和一：パルミチン酸デキサメタゾンの静注が有効であった単純性潰瘍の一例。日本消化器内視鏡学会雑誌 2008;50:1109-14.
3. Sumimoto K, Matsushita M, Okazaki T, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Crohn's disease accompanied by purulent discitis and psoas abscesses. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:728-30.
4. Toyonaga T, Matsushita M, Matsumoto T, Fukui T, Omiya M, Uchida K, Okazaki K. Endoscopic injection therapy for a bleeding exposed vessel in Crohn's disease. *Gastrointest Endosc* 2008;68:572-3.
5. Ando Y, Matsushita M, Kawamata S, Shimatani M, Fujii T, Okazaki K. Infliximab for severe gastrointestinal bleeding in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:483-4.

6. Matsushita M, Ando Y, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Association of "ulcerative appendicitis" and appendiceal adenocarcinoma. *Inflamm Bowel Dis* (in press).
7. Matsushita M, Ando Y, Kawamata S, Omiya M, Uchida K, Nishio A, Okazaki K. Appendix in ulcerative colitis: significant involvement and pathogenesis. *Gastrointest Endosc* (in press).

3. その他  
なし

学会発表

1. 松下光伸、大宮美香、岡崎和一：  
Immunomodulator によるクローン病治療の新展開：クローン病の緩解導入・緩解維持におけるインフリキシマブの有用性と新たな治療法の可能性。第4回日本消化管学会総会、2008、2、7、大阪
2. 豊永貴彦、松本隆之、鈴木 亮、住本貴美、若松隆宏、福井寿朗、大宮美香、内田一茂、松下光伸、岡崎和一：露出血管のあるクローン病の潰瘍出血に対して内視鏡的止血術が有効であった一例。第80回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、2008、3、1、大阪
3. 青井一憲、大宮美香、松下光伸、柳川雅人、中村尚弘、岡崎和一：潰瘍性大腸炎の経過中に急性膵炎を併発した一症例。第81回日本消化器内視鏡学会近畿地方会、2008、9、20、大阪
4. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. The 13<sup>th</sup> International Congress of Mucosal Immunology, Tokyo. Adipose Tissue-Derived Stem Cells Facilitate Colonic Mucosal Recovery in Experimental Colitis Rats" 2008, Tokyo
5. Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. "Adipose Tissue-Derived Stem Cells Facilitate Colonic Mucosal Recovery in Experimental Colitis Rats" Digestive Disease Week 2008, San Diego, USA.

I. 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