

200917014A

厚生労働科学研究費補助金
(医療技術実用化総合研究事業)

アドレノメデュリン (AM) の
炎症性腸疾患治療薬としての臨床応用

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北村和雄

平成 22 (2010) 年 5 月

厚生労働科学研究費補助金
(医療技術実用化総合研究事業)

アドレノメデュリン (AM) の 炎症性腸疾患治療薬としての臨床応用

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北村和雄

平成 22 (2010) 年 5 月

目 次

I. 総括研究報告

- アドレノメデュリン(AM)の炎症性腸疾患治療薬としての臨床応用 ----- 1
北村和雄

II. 分担研究報告

1. アドレノメデュリンの経腸投与による炎症性腸疾患モデル動物の実験的治療 ----- 7
芦塚伸也
2. アドレノメデュリンの経静脈投与による炎症性腸疾患モデル動物の実験的治療 ----- 13
鶴田敏博
3. 炎症性腸疾患患者に対する AM 投与の臨床効果の探索的臨床研究 ----- 17
稲津東彦

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 23

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 25 ~

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

総括研究報告書

アドレノメデュリン（AM）の炎症性腸疾患治療薬としての臨床応用

研究代表者 北村和雄 宮崎大学医学部 教授

研究要旨

アドレノメデュリン（AM）は我々が発見した強力な降圧作用を有する生理活性ペプチドであり、多彩な作用を有し、循環調節や循環器疾患の病態に極めて重要な役割を果たしている。一方、AMには強力な抗炎症作用や組織保護作用があることが明らかになり、炎症性腸疾患治療薬としても期待されている。本研究ではAMを炎症性腸疾患の新たな治療薬として応用するための基礎的・臨床的研究を推進し、AMによる炎症性腸疾患の新たな治療法を確立する。AMの腸炎抑制効果について、酢酸誘発潰瘍性大腸炎モデルで報告されているが、AMが炎症性腸疾患を改善する機序に関しては不明である。平成21年度は、炎症性腸疾患モデル動物を用いて、AMが炎症性サイトカインや嫌気性菌を抑制して炎症性腸疾患の病態を改善することを明らかにした。また、炎症性腸疾患モデルにおいては、AMは経静脈投与でも注腸投与と同様に優れた効果があることが判明した。AMはヒトの体内に存在する物質であり抗原性がなく、安全性も高いことから、安心して使用できる有効な炎症性腸疾患治療薬になりうる可能性が示された。臨床研究への準備のため、ペプチド研究所にてGMP基準で合成されたAMを製剤化して、臨床研究を行う準備をすすめている。また、臨床研究のプロトコールを検討・作成し、倫理委員会で承認を得ており、臨床研究開始に向けての準備も着実に進んでいる。

【研究分担者】

芦塚 伸也 宮崎大学医学部附属病院 第一内科 助教

鶴田 敏博 宮崎大学医学部内科学講座循環体液制御学分野 助教

稲津 東彦 宮崎大学医学部附属病院 第一内科 講師

A. 研究目的

アドレノメデュリン (AM) は我々が発見した強力な降圧作用を有する生理活性ペプチドであり、多彩な作用を有し、循環調節や循環器疾患の病態に極めて重要な役割を果たしている。一方、AMには強力な抗炎症作用や組織保護作用があることが明らかになり、炎症性腸疾患 (IBD) 治療薬としても期待されている。

本研究の目的は、IBD の治療薬としての AM の有用性を基礎的および臨床的研究で明確にし、AM を IBD の治療薬として実用化するための基盤を確立することである。研究期間 3 年のうち、前半は臨床研究を行うための基礎研究を行い、後半に AM の IBD 治療薬としての有用性を証明するための探索的臨床研究を行う。

B. 研究方法

AM の IBD 発症・増悪化抑制効果およびその機序について、IBD モデルである DSS 腸炎モデルマウスを用い、症状と病理学的所見、通性嫌気性菌数、上皮間 T 細胞のサイトカイン産生等の検討を行なった。また、DSS 腸炎モデルラットを用いて経静脈 AM 投与の有用性を検討した。一方、臨床研究の準備としては、臨床研究に用いる製剤を作成すると共に、臨床研究に関するプロトコルを作成した。

C. 結果

DSS 腸炎モデルマウスでは顕著な体重減少、下痢、下血などが示されたが、AM 投与によりそれらの症状が著しく軽減した。また、AM 投与により、腸管組織の炎症像は顕著に軽減した。IBD 患者では一部の常在菌が異常に増加し、腸炎の発症・増悪化の原因になる。常在菌の大半を占める通性嫌気性菌数を調べた結果、対照群と比較し AM 投与群では菌数が減少した。AM 投与群では上皮間 T 細胞から産生されるサイトカインは、対照群と比較し AM 投与群で炎症性サイトカイン (IL-6, TNF- α) の産生が減少し、制御性サイトカイン (TGF- β) は増加した。以上の結果、AM は炎症性腸疾患モデル動物では、炎症性サイトカインや嫌気性菌を抑制して、抗炎症および臓器保護作用を示し、病態と症状を改善することが示された。また、AM の経静脈投与による炎症性腸疾患モデル動物への有効であることが明らかとなった。

臨床研究に用いる AM 製剤については、GMP 基準で合成された AM 原末を製剤化して、臨床研究に用いる準備ができています。さらに、臨床研究のプロトコル作成が終了し、当施設での倫理委員会での承認も得られました。

D. 考察

炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎・クローン病）は原因が不明の難治性疾患であり、現時点では根本的治療はなく、様々な治療法の工夫にもかかわらず、治療に難渋し、入院を繰り返す症例も多い。また、食生活の欧米化により、近年我が国では炎症性腸疾患の患者数の急速な増加がみられており、患者数は10万人に達したとされており、今後さらに増加が懸念されている。そのため、炎症性腸疾患に対しての、新たな治療法の開発が強く求められており、強力な抗炎症作用を有するAMによる治療で新たな展開が期待できる。

炎症性腸疾患については、高薬価の免疫抑制剤や生物製剤が臨床応用されているが、特に生物製剤は自家抗体の形成による有効性の減弱が見られるため、最終的には薬剤抵抗性が生じる。AMはこの点、ヒトの体内に存在する物質であり抗原性がなく、安全性も高い。そのため、薬害等の発生の可能性は低く、長期にわたり安全に使用できる。

本研究により、AMがこれらの疾患に有用である可能性が示された。本ペプチドは研究代表者等が日本で発見したペプチドであり、我が国独自の画期的な治療薬となることが期待される。

E. 結論

AMはヒトの体内に存在する物質であり抗原性がなく、安全性も高いことから、安心して使用できる有効な炎症性腸疾患治療薬になりうる可能性が示された。また、臨床研究開始に向けての準備も着実に進んでいる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表（○は関連が深いもの）

- Kita T, Suzuki Y, Kitamura K: Hemodynamic and hormonal effects of exogenous adrenomedullin administration in humans, and relationship to insulin resistance. *Hypertens Res.* in press
- Ashizuka S, Inagaki-Ohara K, Kuwasako K, Kato J, Inatsu H, Kitamura K: Adrenomedullin treatment reduces intestinal inflammation and maintains epithelial barrier function in mice administered dextran sulphate sodium. *Microbiol Immunol.* 53: 573-581 (2009)
- Baba A, Fujimoto S, Kikuchi M, Kita T, Kitamura K: Effects of uroguanylin on natriuresis in

- experimental nephrotic rats. *Nephrology (Carlton)*. 14: 80-85 (2009)
4. Kuwasako K, Kitamura K, Nagata S, Kato J: Flow cytometric analysis of the calcitonin receptor-like receptor domains responsible for cell-surface translocation of receptor activity-modifying proteins. *Biochem Biophys Res Commun*. 384: 249-254 (2009)
 5. Masuyama H, Tsuruda T, Sekita Y, Hatakeyama K, Imamura T, Kato J, Asada Y, Stasch JP, Kitamura K: Pressure-independent effects of pharmacological stimulation of soluble guanylate cyclase on fibrosis in pressure-overloaded rat heart. *Hypertens Res*. 32: 597-603 (2009)
 6. Nomura I, Kato J, Tokashiki M, Kitamura K: Increased plasma levels of the mature and intermediate forms of adrenomedullin in obesity. *Regul Pept*. 158: 127-131 (2009)
 7. Petersen KA, Birk S, Kitamura K, Olesen J: Effect of adrenomedullin on the cerebral circulation: relevance to primary headache disorders. *Cephalalgia*. 29: 23-30 (2009)
 8. Tsuruda T, Hatakeyama K, Masuyama H, Sekita Y, Imamura T, Asada Y, Kitamura K: Pharmacological stimulation of soluble guanylate cyclase modulates hypoxia-inducible factor-1alpha in rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 297: H1274-1280 (2009)
 9. 北村和雄：アドレノメデュリンの発見. 日本臨牀 67: 67-72, 2009.
 10. 北村和雄：アドレノメデュリン (AM), PAMP とその受容体. *Heart View* 13: 69-75, 2009.
 11. 桑迫健二、加藤丈司、北村和雄：アドレノメデュリン遺伝子. 日本臨牀67: 400-404, 2009.
2. 学会発表
1. Kitamura K, Ashiduka S, Inagaki-Ohara K, Kuwasako K, Kato J, Inatsu H: Adrenomedullin treatment reduces intestinal inflammation in mice administered dextran sulphate sodium. 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010). (2010年3月 京都)
 2. Kitamura K: Possibility for clinical

- application of adrenomedullin and related peptides. 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010). (2010年3月 京都)
3. Kuwasako K, Kitamura K, Nagata S, Kato J: Involvement of G protein-coupled receptor kinase (GRK) subtypes in the human adrenomedullin (AM)-specific receptor trafficking. The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences (IUPS2009), 2009-7(Kyoto, Japan)
 4. Nomura I, Kato J, Nagata S, Tokashiki M, Kitamura K: Increased plasma levels of mature and intermediate forms of adrenomedullin in obesity. 63rd Council for High Blood Pressure Research Conference 2009, 2009-9(Chicago, USA)
 5. 北村和雄：アドレノメデュリンと関連ペプチドの基礎と新たな展開. 第27回内分泌代謝学サマーセミナー、2009年7月（福井）
 6. 加藤丈司、北村和雄、松尾壽之：アドレノメデュリン (AM) の治療薬としての臨床応用. 科学技術シンポジウムin宮崎2009、2009年3月（宮崎）
 7. 桑迫健二、北村和雄、永田さやか、加藤丈司：強力な降圧ペプチドのアドレノメデュリン (AM) に最も特異的な AM₁ 受容体に作用する G 蛋白と G 蛋白共役型受容体キナーゼ (GRK) の同定およびそれらに基づくシグナル伝達と細胞内移行の解析. 第 32 回日本高血圧学会総会、2009 年 10 月（大津）
 8. 中島孝治、彦坂ともみ、星子新理、松本英丈、早稲田文子、芦塚伸也、押川勝太郎、稲津東彦、北村和雄、堺 雅彦：MALTリンパ腫疑診症例から直腸炎型潰瘍性大腸炎へと変化した一例. 第95回日本消化器病学会総会、2009年5月
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合 研究事業）

分担研究報告書

アドレノメデュリンの経腸投与による炎症性腸疾患モデル動物の実験的治療

研究分担者 芦塚伸也 宮崎大学医学部 助教

研究要旨

アドレノメデュリン (AM) は 1993 年に当教室で発見された強力な降圧作用を有する新規生理活性ペプチドである。AM は生体内に広く分布し循環調節因子として重要な役割を果たしていることが明らかにされ、循環器疾患治療薬として有望である。一方、AM には強力な抗炎症・臓器保護作用があることが明らかにされている。実際、本研究分担者等は炎症性腸疾患のモデルである酢酸誘発潰瘍性大腸炎モデル動物に AM を投与すると、炎症が抑制され、病態が改善することを明らかにした。本研究では AM を炎症性腸疾患の新たな治療薬として応用するための基盤的研究を推進している。今回、AM の炎症性腸疾患 (IBD) 発症・増悪化抑制効果およびその機序について、dextran sulfate sodium salt (DSS) を用い、腸管上皮層破綻によるマウス腸炎モデルを用い検討を行なった。DSS を摂取させた結果、対照群では顕著な体重減少、下痢、下血などが示されたが、AM 投与群ではそれらの症状が著しく軽減した。組織病理学的解析では、対照群では好中球や炎症細胞の浸潤、粘膜上皮の糜爛、筋層の肥厚が顕著であった。一方、AM 投与群では筋層の肥厚は見られたが、炎症像は顕著に軽減した。サイトカインバランスの破綻は腸炎の発症・増悪化に強く関与する。AM 投与群では上皮間 T 細胞から産生されるサイトカインは、対照群と比較し AM 投与群で Th1 (IFN- γ) および炎症性サイトカイン (IL-6, TNF- α) の産生が減少し、制御性サイトカイン (TGF- β) は増加した。DSS 投与により、tight junction 等に関連する分子種が低下するが、AM 投与群ではこれらの分子種の低下が軽減され、かつ回復も早かった。以上の結果より、AM は抗炎症および抗菌作用を示すことにより、極めて有効な腸炎治療薬になりうる可能性が示された。

A. 研究目的

AM は 1993 年に本研究協力者の北村等により発見された強力な降圧作用を有した 52 個のアミノ酸からなる新規生理活性ペプチドである。AM の発見とその後の研究により、AM による新たな循環調節機構が明らかとなり、AM 自体は循環器疾患の治療薬として極めて有望である。一方、AM には循環調節因子としての役割以外に、炎症性疾患では AM の産生が増加し、抗炎症・臓器保護因子として作用していることを明らかにしてきた。実際、本研究代表者等は酢酸誘発潰瘍性大腸炎モデル動物に AM を投与すると、炎症が抑制され、病態が改善することを明らかにし、AM の炎症性腸疾患治療薬としての特許を申請した。本研究では将来 AM を炎症性腸疾患の新たな治療薬として実用化するための基盤となる基礎的研究を推進する。

B. 研究方法

AM の IBD 発症・増悪抑制効果およびその機序について明確にするため、1.8% dextran sulfate sodium salt (DSS) マウス腸炎モデルを用い検討を行なった。対照群には生理食塩水、AM 投与群には 1 匹あたり 0.05 μ g をそれぞれ 7 日間注腸投与し、同時に 1.8% DSS 水を自由摂取させ、次の 5 項目について検討した。

(1) 症状と病理学的所見：経時的な体重変化を測定し、症状を観察した。また、腸管の病理学的な変化をヘマトキシリンエオジン染色で観察した。

(2) 通性嫌気性菌数：IBD 患者で一部の常在菌が異常に増加し、宿主免疫反応の破綻を招き腸炎の発症・増悪の原因になることが報告されている。本研究では、常在菌の大半を占める通性嫌気性菌数を調べた。

(3) 上皮間 T 細胞 (intestinal intraepithelial T lymphocytes; IEL) の検討：腸管粘膜上皮層には上皮細胞の他、上皮間 T 細胞 (intestinal intraepithelial T lymphocytes; IEL) が存在し、腸管粘膜上皮の恒常性維持に働くことが広く知られている。大腸 IEL を分離し FACS 解析を行なった。

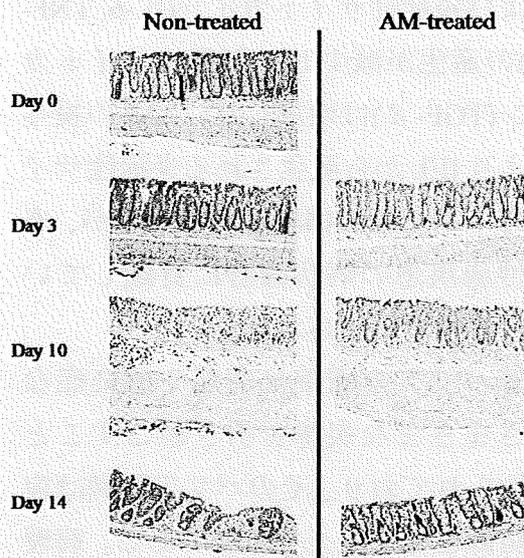
(4) IEL からのサイトカイン産生：サイトカインバランスの破綻は腸炎の発症・増悪に強く関与することが知られている。腸管上皮より単離した IEL からの各種のサイトカインを ELISA で定量した。

(5) ジャンクション分子発現：腸管バリアの破綻は炎症や感染症などさまざまな疾患を引き起こすことが知られている。バリア制御は宿主防御を考える上で重要であるので、上皮バリアの構築に不可欠な分子であるジャンクション分子の発現を RT-PCR で調べた。

C. 結果

(1) 症状と病理学的所見:

1.8% DSS を摂取させた結果、対照群では顕著な体重減少、下痢、下血などが示されたが、AM 投与群ではそれらの症状が著しく軽減した。組織病理学的解析では、対照群では好中球や炎症細胞の浸潤、粘膜上皮の糜爛、筋層の肥厚が顕著であり、これら炎症像の回復の遅延が認められた。一方、アドレノメデュリン投与群では筋層の肥厚は見られたが、炎症像は顕著に軽減した(図1)。



(2) 通性嫌気性菌数:

常在菌の大半を占める通性嫌気性菌数を調べた結果、対照群と比較しAM投与群では菌数が減少した。

(3) 上皮間 T 細胞 (intestinal intraepithelial T lymphocytes; IEL) の検討:

上皮間 T 細胞 (intestinal intraepithelial T lymphocytes; IEL) はその受容体(TCR)から $\alpha\beta$ 型 (炎症増悪作用) と $\gamma\delta$ 型 (抗炎症作用) に分けられる。大腸 IEL を分離し FACS 解析を行なった結果、対照群では病態の増悪に伴い TCR $\gamma\delta$ IEL が減少するが、AM 投与群では維持された。

(4) IEL からのサイトカイン産生:

炎症局所での IEL を分離し AM によるサイトカインの産生への影響を調べた。その結果、AM 投与群では IEL から産生されるサイトカインは、対照群と比較し AM 投与群で Th1(IFN- α) および炎症性サイトカイン(IL-6, TNF- α)の産生が減少し、制御性サイトカイン(TGF- β)は増加した。

(5) ジャンクション分子発現:

上皮バリアの構築に不可欠な分子であるジャンクション分子の発現を調べた。その結果、tight junction; (ZO-1, occludin, JAM); adherens junction (β -catenin, E-cadherin); desmosomes (desmoglein-2) および gap junction (connexin26)の分子が、腸炎の増悪に伴い減少するが、AM投与群ではジャンクション分子の減少が傾度であり、さらに発現の速やかな回復が示された。

D. 考察

AM の腸炎抑制効果について、酢酸

腸炎モデルや TNBS 腸炎モデルで報告されている。しかし、AM が IBD を改善する機序に関しては不明である。今回は、AM の IBD 発症・増悪化抑制効果およびその機序について、IBD モデルである DSS 腸炎モデルマウスを用い、検討を行なった。まず、IBD の普遍的モデルである、DSS 腸炎モデルマウスでも AM 投与による体重減少の抑制や下痢、下血などの症状の改善が認められた。それに伴い、組織病理学的検討でも、AM 投与により炎症像は顕著に軽減し、筋層の肥厚は認められるものの上皮の崩壊が軽減した。

一方、AM は強力な抗菌活性を示すことが報告されている。IBD 患者で一部の常在菌が異常に増加し、宿主免疫反応の破綻を招き腸炎の発症・増悪化の原因になることが報告されている。そこで、常在菌の大半を占める通性嫌気性菌数を調べた結果、対照群と比較し AM 投与群では菌数が減少しており、AM の抗菌作用も炎症性腸疾患改善に寄与している可能性が示された。

腸管粘膜上皮層には上皮細胞の他、上皮間 T 細胞 (intestinal intraepithelial T lymphocytes; IEL) が存在し、腸管粘膜上皮の恒常性維持に働くことが広く知られている。T 細胞はその受容体(TCR)から $\alpha\beta$ 型と $\gamma\delta$ 型に分け

られる。これまでの研究により、TCR $\alpha\beta$ 細胞は制御性サイトカインを産生することにより抗炎症作用を示すことが報告されている。そこで、大腸 IEL を分離し FACS 解析を行なった結果、対照群では病態の増悪化に伴い TCR $\gamma\delta$ IEL が減少するが、AM 投与群では維持された。

サイトカインバランスの破綻は腸炎の発症・増悪化に強く関与することが知られている。AM 投与により IEL から産生されるサイトカインは、対照群と比較し AM 投与群で Th1(IFN- α) および炎症性サイトカイン(IL-6, TNF- α)の産生が減少し、制御性サイトカイン(TGF- β)は増加した。AM の投与により IEL から産生される炎症性サイトカイン産生が抑制されることが、炎症性腸疾患の病状改善に貢献している可能性が示唆された。

腸管バリアの破綻は炎症や感染症などさまざまな疾患を引き起こすことが知られており、そのバリア制御は宿主防御を考える上で重要である。病理学的観察により、AM 投与群で粘膜上皮層の構造の崩壊が軽減していることから、上皮バリアの構築に不可欠な分子であるジャンクション分子の発現を調べた。その結果、AM 投与群ではジャンクション分子発現の減少の抑制と速やかな回復が示された。

以上の結果より、AM は抗炎症およ

び抗菌作用さらに上皮バリアの保護作用を示すことにより、有効な腸炎治療薬になりうる可能性が示された。

E. 結論

炎症性腸疾患のモデル動物では、酢酸腸炎モデルやTNBS腸炎モデルに加えて、DSS腸炎モデル動物でのAM投与の有用性も明確となった。さらにその機序として、AMの抗炎症と抗菌作用にくわえて、上皮バリアの保護作用が関与していることが明らかとなった。AMは有効な腸炎治療薬になりうる可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ashizuka S, Inagaki-Ohara K, Kuwasako K, Kato J, Inatsu H, Kitamura K: Adrenomedullin treatment reduces intestinal inflammation and maintains epithelial barrier function in mice administered dextran sulphate sodium. *Microbiol Immunol.* 53: 573-581 (2009)

2. 学会発表

1. Kitamura K, Ashiduka S, Inagaki-Ohara K, Kuwasako K, Kato

J, Inatsu H: Adrenomedullin treatment reduces intestinal inflammation in mice administered dextran sulphate sodium. 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010). (2010年3月 京都)

2. 中島孝治、彦坂ともみ、星子新理、松本英丈、早稲田文子、芦塚伸也、押川勝太郎、稲津東彦、北村和雄、堺 雅彦:MALTリンパ腫疑診症例から直腸炎型潰瘍性大腸炎へと変化した一例. 第95回日本消化器病学会総会、2009年5月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

分担研究報告書

アドレノメデュリンの経静脈投与による炎症性腸疾患モデル動物の実験的治療

研究分担者 鶴田敏博 宮崎大学医学部 助教

研究要旨

アドレノメデュリン（AM）は本研究代表者等が発見した強力な降圧作用を有した生理活性ペプチドである。AMは循環調節や循環器疾患の病態に重要な役割を果たしている。一方、AMは循環調節因子としての役割以外に、炎症性疾患ではAMの産生が増加し、抗炎症・臓器保護因子として作用している。実際、炎症性腸疾患のモデルである酢酸誘発潰瘍性大腸炎モデル動物にAMを注腸投与すると、炎症が抑制され、病態が改善することを明らかにし、AMが炎症性腸疾患治療薬として有望である。本研究では、炎症性腸疾患治療薬としてのAM投与の有用性を確認し、さらに最善の投与経路を検討するために、AM経静脈投与でのDSS腸炎モデルラットに対する有用性を明らかにした。

A. 研究目的

アドレノメデュリン（AM）は本研究代表者等が発見した強力な降圧作用を有する生理活性ペプチドであり、多彩な作用を有し、循環調節や循環器疾患の病態に極めて重要な役割を果たしている。一方、AMには循環調節因子としての役割以外に、炎症性疾患ではAMの産生が増加し、抗炎症・臓器保護因子として作用していることを明らかにしてきた。実際、本研究代表者等は酢酸誘発潰瘍性大腸炎

モデル動物にAMを注腸投与すると、潰瘍治癒が促進され炎症が抑制されることを明らかとし、炎症性腸疾患（IBD）治療薬としても期待されている。一方、AM自体は循環器疾患の治療薬として可能性が高く、急性心筋梗塞治療薬として開発治験をヒュービット社が準備している。AMは急性心筋梗塞治療薬として用いる場合は、経静脈持続投与が予定されており、前臨床試験もそれに合わせて準備されている。これらの前臨床試験のデータを生か

し、経静脈投与での臨床研究を行うための基礎実験として、AM経静脈投与での炎症性腸疾患モデル動物に対する有用性を検討した。

B. 研究方法

1) dextran sulfate sodium salt (DSS)腸炎モデルラットの作成: DSS 溶液の自由飲水により wistar rat に腸炎を発症させた。DSS 溶液は、最初の3日間は5%、以後は1%とした。

2) 浸透圧ポンプを頸静脈に植え込み、AM 群は AM $5 \mu\text{g/hr}$ 、対照群は生理食塩水を14日間持続投与する。

3) 症状(下痢スコア、血便スコア)と体重変化および病理学的所見に関して検討した。また、tail-cuff 法にて血圧の測定を行った。

C. 結果

DSS を摂取させた結果、対照群では下痢、下血などが顕著で、体重増加が認められなかったが、AM 投与群ではそれらの下痢、下血など症状が軽減し、体重も増加した。組織病理学的解析では、対照群では炎症細胞浸潤が多く、粘膜の再生・線維化が見られた。また、腺管構造がいびつで、goblet cell の減少が認められ、ヒト大腸炎に似た所見を呈した。しかし、AM 投与群では、炎症像は顕著に軽減した。これらより、炎症性腸疾患モデル動物に対する AM

投与の経静脈持続投与の有用性が明らかとなった。また、この濃度の AM 投与では有意の血圧低下や有害事象は認められなかった。

D. 考察

潰瘍性大腸炎とクローン病は炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel disease: IBD) と総称され、ともに若年~青年層に好発し、再燃を繰り返す原因不明の難病で、潰瘍性大腸炎は1975年(昭和50年10月)、クローン病は1976年(昭和51年10月)より特定疾患治療研究対象疾患に指定されている。本邦においても患者数は増加傾向にあり、中でも潰瘍性大腸炎は現在8万人を超えている。発症年齢のピークは10代後半から30代前半にみられるが、高齢発症も増えている。若年者に多いことから、学業や就業、結婚などの社会生活へ大きな障害をきたす疾患であり、原因が不明で根治療法がない現状では、病勢をコントロールし、正常の社会生活を継続できる事が本疾患の治療の目標となっている。

AM は、全身炎症性反応症候群 (SIRS) 動物モデルの臓器障害を軽減させることが判明し、AM が抗炎症作用を発揮することが明らかになっている。更に、大腸潰瘍モデルラットおよび大腸炎モデルマウスにおいて、AM (注腸および腹腔内投与) が大腸

において炎症改善作用を有することが判明しており、その機序として炎症性サイトカインの抑制が関与している事が考えられている。

一方、AMは循環器疾患治療薬としてはきわめて有望であり、特に急性心筋梗塞に関しては、ヒュービットジェノミクス株式会社がAMを急性心筋梗塞治療薬として開発するための準備を行っている。急性心筋梗塞治療に用いるAMは経静脈持続投与が予定されており、前臨床試験もAMを経静脈持続投与することを想定して行われている。今回、炎症性腸疾患モデル動物に対して、AMの経静脈持続投与の有用性が示され、AMの炎症性腸疾患に対する臨床研究を経静脈持続投与で行うことが可能となり、ヒュービット社が行ってきた前臨床試験のデータを生かせることが期待できる。

E. 結論

炎症性腸疾患のモデル動物のうち、DSS腸炎モデル動物でのAM経静脈持続投与での有用性が明確となり、AMが有効な炎症性腸疾患治療薬になりうる可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Masuyama H, Tsuruda T, Sekita Y, Hatakeyama K, Imamura T, Kato J, Asada Y, Stasch JP, Kitamura K: Pressure-independent effects of pharmacological stimulation of soluble guanylate cyclase on fibrosis in pressure-overloaded rat heart. *Hypertens Res.* 32: 597-603 (2009)
2. Tsuruda T, Hatakeyama K, Masuyama H, Sekita Y, Imamura T, Asada Y, Kitamura K: Pharmacological stimulation of soluble guanylate cyclase modulates hypoxia-inducible factor-1alpha in rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 297: H1274-1280 (2009)

2. 学会発表

1. Tsuruda T, Masuyama H, Sekita Y, Hatakeyama K, Imamura T, Kato J, Asada Y, Kitamura K: Pharmacological stimulation of soluble guanylate cyclase attenuates the cardiac fibrosis by inhibiting myofibroblasts transformation and angiotensin-converting enzyme synthesis. 第73回日本循環器学会学術集会、2009年3月（大阪）
2. Tsuruda T, Kitamura K: Adventitial mast cells in the progression of

abdominal aortic aneurysm. 第41回
日本動脈硬化学会総会・学術総会、
2009年7月（山口）

Cardiovascular Endocrinology and
Metabolism. CVEM 2010, 2010-3
(Nara, Japan)

3. 鶴田敏博：腹部大動脈瘤の進展と
マスト細胞. 第6回Cardiovascular
Endocrinology and Metabolismフォー
ラム、2009年4月（京都）

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

4. 鶴田敏博：Pharmacological
Stimulation of Soluble Guanylate
Cyclase Suppresses Hypoxia
Inducible Factor-1a Expression in
Pressure Overloaded Rat Heart. 第13
回Molecular Cardiovascular
Conference. 2009年9月（北海道）

5. Tsuruda T, Masuyama H,
Hatakeyama K, Imamura T, Asada Y,
Kitamura K: Pharmacological
stimulation of soluble guanylate
cyclase modulates hypoxia inducible
factor-1a in rat heart. 第74回日本循
環器学会学術集会、2010年3月（京
都）

6. Tsuruda T, Masuyama H,
Hatakeyama K, Imamura T, Kato J,
Asada Y, Kitamura K: Soluble
guanylate cyclase-cGMP stimulation
on cardiovascular remodeling
associated with hypertension.
International Symposium on

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合 研究事業）

分担研究報告書

炎症性腸疾患患者に対する AM 投与の臨床効果の探索的臨床研究

研究分担者 稲津東彦 宮崎大学医学部 講師

研究要旨

アドレノメデュリン (AM) は 1993 年に本研究代表者等が発見した強力な降圧作用を有する生理活性ペプチドである。AM は生体内に広く分布し循環調節因子として重要な役割を果たしていることが明らかにされ、循環器疾患治療薬として有望である。一方、AM には強力な抗炎症・臓器保護作用があることが明らかにされている。実際、本研究代表者は炎症性腸疾患のモデルである酢酸誘発潰瘍性大腸炎モデル動物に AM を投与すると、炎症が抑制され、病態が改善することを明らかにした。本研究では AM を炎症性腸疾患の新たな治療薬として応用するための基礎的・臨床的研究を推進し、AM による炎症性腸疾患の新たな治療法を確立する。研究期間 3 年のうち、前半は臨床研究を行うための基礎研究を行い、後半に AM の炎症性腸疾患治療薬としての有用性を証明するための探索的臨床研究を行う。初年度は次年度に開始する探索的臨床研究の準備として、臨床研究のプロトコール作成を行い、当施設での倫理委員会の承認を得た。

A. 研究目的

アドレノメデュリン (AM) は 1993 年に本研究代表者等が発見した強力な降圧作用を有する生理活性ペプチドである。AM は生体内に広く分布し循環調節因子として重要な役割を果たしていることが明らかにされ、循環器疾患治療薬として有望である。一方、AM は抗炎症作用を有する事が判明しており、大腸潰瘍モデルラットおよび

大腸炎モデルマウスに対しても粘膜障害の改善作用を有する。その機序として IL-6 や TNF- α などの炎症性サイトカイン産生抑制が関与していると考えられている。

本研究では AM を炎症性腸疾患の新たな治療薬として応用するための基礎的・臨床的研究を推進し、AM による炎症性腸疾患の新たな治療法を確立する。研究期間 3 年のうち、前半

は臨床研究を行うための基礎研究を行い、後半にAMの炎症性腸疾患治療薬としての有用性を証明するための探索的臨床研究を行う。研究期間の後半に行う探索的臨床研究のために、初年度は臨床研究の準備として、臨床研究の方法を詳細に検討し、プロトコールを作成し、当施設の倫理委員会に諮り、承認を得ることを初年度の研究目的とした

B. 研究方法

AMは急性心筋梗塞治療薬として開発治験が予定されており、前臨床試験の大部分が終了している。AMを急性心筋梗塞の治療薬として用いる際は経静脈投与を想定しており、前臨床試験もそれにあわせて行っている。本研究の臨床研究では、経静脈投与でのAMの炎症性腸疾患モデル動物での有用性が明確になったことに加え、心筋梗塞治療薬開発のために終了している前臨床試験のデータを生かすために、AMの投与方法としては最初は経静脈投与を採用する方針とし、「炎症性腸疾患患者を対象とするアドレノメデュリン持続静注療法」の計画書を作成し、倫理委員会に諮った。

C. 結果

プロトコールの概要を次に示す。当施設の倫理委員会に諮り、訂正後に承

認が得られた。

(1) 臨床試験課題名

炎症性腸疾患患者を対象とするアドレノメデュリン持続静注療法

(2) 研究目的

炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD、潰瘍性大腸炎およびクローン病) は若年発症が多いことから、学業や就業、結婚などの社会生活へ大きな障害をきたす疾患であり、原因が不明で根治療法がない現状では、病勢をコントロールし、正常の社会生活を継続できる事が本疾患の治療の目標となっている。炎症性腸疾患に対する寛解導入治療にはステロイド療法が効果的であるが、長期のステロイド療法による副作用と、その伴うQOLの低下が問題視されている。ステロイド療法は必要最低限に抑えるべきであるが、他の治療法 (アミノサリチル酸製剤) では十分な効果が得られない症例が存在する。更に、潰瘍性大腸炎においては、ステロイド療法が無効の「ステロイド抵抗症例」や反対にステロイド減量時に再燃する「ステロイド依存症例」が存在し、「難治性潰瘍性大腸炎」として問題となっている。これらには、免疫抑制剤や血球除去療法による治療が行われているが、ステロイド離脱が困難で、手術を余儀なくされる症例も多い。このため、ステロイ

ド製剤に代わる新たな治療戦略の開発が必要である。また、クローン病においては、近年生物学的製剤の有効性が注目されているが、約半数が長期的な寛解維持が困難であり、新しい治療戦略の開発が望まれている。他に、非特異性腸潰瘍や腸管Behçet病など、原因不明で治療に難渋する類縁疾患も存在する。

アドレノメデュリン (adrenomedullin) は抗炎症作用を有する事が判明しており、大腸潰瘍モデルラットおよび大腸炎モデルマウスに対しても粘膜障害の改善作用を有する。その機序としてIL-6やTNF- α などの炎症性サイトカイン産生抑制が関与していると考えられている。

今回の研究目的は、炎症性腸疾患 (類縁疾患を含む) に対する新たな治療戦略として、アドレノメデュリン持続静注療法の有効性と安全性を検討することである。

(3) 対象者の選択基準

炎症性腸疾患患者に対する安全性と忍容性および有効性に関する検討
炎症性腸疾患患者で、合成ヒトアドレノメデュリンの持続静注を行い、抗炎症作用による緩解

導入と緩解維持を目的に本治療法の安全性と有効性を検討する試験に参加を同意された患者。

選択基準

- ① 患者本人から文書による同意が得られること
- ② 同意取得時の満年齢が20歳以上の者
- ③ 炎症性腸疾患患者 (類縁疾患を含む)
- ④ アミノサリチル酸製剤の効果が不十分であるが、副作用の問題等でステロイド療法が行えない患者
- ⑤ 難治性炎症性腸疾患患者で、ステロイド抵抗性により相対的手術適応と判断された患者
- ⑥ 難治性炎症性腸疾患患者で、ステロイド依存性により相対的手術適応と判断された患者

除外基準: 以下の基準に1つでも該当する症例は除外とする

- ① 悪性腫瘍を有する患者
- ② 前癌病変 (異型上皮) を有する患者
- ③ 重症で早期の手術が必要とされる患者
- ④ 全身状態が著しく不良である患者
- ⑤ 肝機能不全症を有する患者
- ⑥ 同意日1ヶ月以内に急性心筋梗塞、不安定狭心症、心筋炎、脳梗塞に罹患した患者
- ⑦ 活動性の感染症を有する患者