

201015007A

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 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北村和雄

平成 23 (2011) 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 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北村和雄

平成 23 (2011) 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. 炎症性腸疾患患者に対するアドレノメデュリン投与の臨床効果(症例報告) ----- 9  
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 ----- 17  
鶴田敏博
3. 安全で持続可能なアドレノメデュリン投与方法の決定 ----- 21  
北 俊弘
4. 潰瘍性大腸炎患者に対するアドレノメデュリン再投与の効果と安全性 ----- 27  
稲津東彦

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 35

## IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 37 ~

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。本研究の目的と目標は、炎症性腸疾患の治療薬としてのAMの有用性を基礎的および臨床的研究で明確にし、本研究終了時にはAMを炎症性腸疾患の治療薬として開発治験へ移行できる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主に行う計画としている。臨床研究の準備のため、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整えた。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、臨床研究登録を行った。

平成22年までに、炎症性腸疾患モデル動物を用いて、AMが経静脈投与でも効果があることを明確にした。さらに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。興味深いことに、AM投与量が多すぎるとAMの抗炎症効果や抗潰瘍効果が減弱することが明らかになった。そのため、急性心筋梗塞で用いる用量より少ない量で、血圧が下がらない用量で臨床研究を開始した。その結果、ステロイド抵抗性の難治性潰瘍性大腸炎の患者に投与した時に、AMによる病状の改善が認められた。内視鏡所見より、AMの作用として炎症を抑えるだけでなく組織修復も促進していることが明らかになった。AMが炎症性腸疾患治療薬として有望であることを示す、基礎研究と臨床研究の結果が蓄積されつつある。

【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
北 俊弘	宮崎大学医学部附属病院 第一内科 講師
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。本研究で AM の基礎研究および臨床研究での有用性を証明し、開発治験を開始できる段階にまで到達したい。

## 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 TNBS 腸炎モデルラットを用い、AM の投与量を変えて、症状と病理学的所見、サイトカイン産生等の検討を行なった。また、患者に投与する前段階の臨床研究として、AM を AM 2.5pmol/kg/min を 27 時間投与する臨床

研究を行い、循環動態への作用や有害事象を検討した。これらの成果をもとに、炎症性腸疾患患者に対して、AM 2.5pmol/kg/min を一日 8 時間、最長 14 日間投与する臨床研究を開始した。評価項目として、活動性と内視鏡所見および循環動態や有害事象を評価した。

## C. 結果

TNBS 腸炎モデルラットでは体重減少、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軽減した。また、AM 投与により、腸管組織の炎症像は軽減した。興味深いことに、血圧が低下する用量の高用量 AM (3  $\mu$ g/時) を投与した場合は、血圧が低下しない量の低用量 AM (1  $\mu$ g/時) を投与したときに比べて肉眼的・組織所見で治療効果が減弱する傾向が見られた。この結果は酢酸大腸潰瘍モデルで、AM による注腸投与治療の結果とも一致している。

IBD 患者に対する AM による探索的治療研究を行う前に、健常人に対する連続 27 時間の AM 持続投与研究を行った。AM 2.5pmol/kg/min の投与で降圧効果が認められたが、投与を中止すると速やかに降圧効果が消失した。AM 投与による有害事象は認められないものの、27 時間後には血中 CRP と BNP がわずかに増加した。そのため、AM 2.5pmol/kg/min の 27 時間持続投与は用

量が多すぎると判断し、AM 1.5pmol/kg/min で1日8時間持続投与する研究計画とした。

本臨床研究に用いる AM 製剤については、ペプチド研究所で GMP 基準で化学合成された AM 原末を製剤化した。AM の純度は 99% 以上で、 $-30^{\circ}\text{C}$  で保存した場合、半年後にも 99% 以上の純度が保たれていることを確認できている。

Umin に臨床研究の登録を行った後に、難治性炎症性腸疾患患者に対する臨床研究を開始した。現在までに 2 例の患者に行ったが、ステロイド抵抗性の難治性潰瘍性大腸炎の患者に AM を 2 週間投与したところ、病態の顕著な改善が認められた。内視鏡所見から AM 投与により炎症が抑えられるばかりではなく、組織の修復が促進することが判明した。

#### 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つつある。動物実験では、酢酸誘発大腸潰瘍モデルに加えて、DSS 腸炎や TNBS 腸炎でも AM 投与による有用性が確認できた。投与方法は注腸投与に加え、静脈投与や腹腔内投与でも効果があり、臨床応用の幅が広げられる可能性がある。さらに、本研究でステロイド抵抗性の難治性潰瘍性大腸炎の患者に対する AM 投与の有効性が確認されたことで、臨床での実用化が可能となると思われる。今後、さらなる症例の追加を行い有用性と安全性を証明したい。

AM は研究代表者等が日本で発見したペプチドであり、我が国独自の炎症性腸疾患に対する画期的な治療薬となることが期待される。

## E. 結論

炎症性腸疾患に対するAM投与の有効性が、動物実験と探索的臨床研究で証明されつつある。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。

## 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)

1. Kuwasako K, Kitamura K, Nagata S, Hikosaka T, Kato J: Structure-function analysis of helix 8 of human calcitonin receptor-like receptor within the adrenomedullin 1 receptor. *Peptides*. 32: 144-149 (2010)
2. Nishihira K, Shibata Y, Ishikawa T, Nomura K, Nakama T, Mine D, Inoue Y, Ashikaga K, Kuriyama N, Matsuyama A, Imamura T, Asada Y, Kitamura K: Repeated sirolimus-eluting stent implantation to treat sirolimus-eluting stent and bare-metal stent restenosis. *Circ J*. 74: 2329-2333 (2010)
3. Fukuda A, Fujimoto S, Iwatsubo S, Kawachi H, Kitamura K: Effects of mineralocorticoid and angiotensin II receptor blockers on proteinuria and glomerular podocyte protein expression in a model of minimal change nephrotic syndrome. *Nephrology (Carlton)*. 15: 321-326 (2010)
4. Tsuruda T, Imamura T, Hatakeyama K, Asada Y, Kitamura K: Stromal cell biology--a way to understand the evolution of cardiovascular diseases. *Circ J*. 74: 1042-1050 (2010)
5. Sumi T, Yamashita A, Matsuda S, Goto S, Nishihira K, Furukoji E, Sugimura H, Kawahara H, Imamura T, Kitamura K, Tamura S, Asada Y: Disturbed blood flow induces erosive injury to smooth muscle cell-rich neointima and promotes thrombus formation in rabbit femoral arteries. *J Thromb Haemost*. 8: 1394-1402 (2010)
6. Nagata S, Kato J, Kuwasako K, Kitamura K: Plasma and tissue levels of proangiotensin-12 and components of the renin-angiotensin system (RAS) following low- or high-salt feeding in rats. *Peptides*.

- 31: 889-892 (2010)
7. Kita T, Tokashiki M, Kitamura K: Aldosterone antisecretagogue and antihypertensive actions of adrenomedullin in patients with primary aldosteronism. *Hypertens Res.* 33: 374-379 (2010)
  8. Ogawa T, Kawano Y, Imamura T, Kawakita K, Sagara M, Matsuo T, Kakitsubata Y, Ishikawa T, Kitamura K, Hatakeyama K, Asada Y, Kodama T: Reciprocal contribution of pentraxin 3 and C-reactive protein to obesity and metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)*. 18: 1871-1874 (2010)
  9. Kita T, Suzuki Y, Kitamura K: Hemodynamic and hormonal effects of exogenous adrenomedullin administration in humans and relationship to insulin resistance. *Hypertens Res.* 33: 314-319 (2010)
  10. Kita T, Yokota N, Ichiki Y, Ayabe T, Etoh T, Tamaki N, Kato J, Eto T, Kitamura K: One-year effectiveness and safety of open-label losartan/hydrochlorothiazide combination therapy in Japanese patients with hypertension uncontrolled with ARBs or ACE inhibitors. *Hypertens Res.* 33: 320-325 (2010)
2. 学会発表
1. Kitamura K: Possibility for clinical application of adrenomedullin and related peptides. 14th International congress of endocrinology, 2010-3 (Kyoto, Japan)
  2. Kitamura K, Ashizuka 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), 2010-3(Kyoto, Japan)
  3. Kuwasako K, Kitamura K, Nagata S, Kato J: Characterization of the trafficking interactions between endocrine G protein-coupled receptors and receptor activity-modifying proteins. 14th International congress of endocrinology (ICE2010), 2010-3(Kyoto, Japan)
  4. Kuwasako K, Kitamura K, Nagata S, Hikosaka T, Kato J: Interaction



- between receptor activity-modifying proteins (RAMPs) and G-protein-coupled receptors and the function of the C-terminal tail of calcitonin receptor-like receptor in complex with RAMP2. 7th International Symposia on the CGRP Family; CGRP, adrenomedullin, Amylin, Intermedin and Calcitonin, 2010-8 (Queenstown, New Zealand)
5. 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 Cardiovascular Endocrinology and Metabolism CVEM 2010, 2010-3 (Nara, Japan)
  6. Sakamoto S, Tsuruda T, Hatakeyama K, Sekita Y, Imamura T, Asada Y, Kitamura K: Site specificity of adventitial inflammation during the development of atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice. European Society of Cardiology Congress 2010, 2010-8 (Stockholm, Sweden).
  7. Tsuruda T, Nagamachi S, Endo G, Nishimura M, Matsuyama M, Hatakeyama K, Onistuka T, Imamura T, Asada Y, Kitamura K: Increased glucose metabolic activity in abdominal aortic aneurysm: relation to facilitative glucose transporters and matrix metalloproteinases. European Society of Cardiology Congress 2010, 2010-8 (Stockholm, Sweden).
  8. Nakamura R, Nagoshi H, Ishikawa T, Kumagae H, Kobayashi K, Sumi T, Iwakiri H, Koyama S, Imamura T, Kitamura K : Time-Course Changes in Urinary Excretion of Isoprostane and Effect of Atrial Natriuretic Peptide Administration on Oxidative Stress during Acute Phase of Myocardial Infarction. Presented at the 59th Annual Scientific Session of the American College of Cardiology. 2010-3 (Atlanta, USA)
  9. 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)

10. 桑迫健二、北村和雄、永田さやか、加藤丈司:G蛋白共役型受容体キナーゼ4 (GRK4)とGRK5によるアドレノメデュリン(AM)受容体の細胞膜輸送の強力な抑制効果およびその受容体上の責任領域の同定. 第33回日本高血圧学会総会、2010年10月(福岡)

発明の名称:Method for prevention or treatment of intractable

inflammatory bowel disease

出願人:国立大学法人宮崎大学

出願日:2011年1月12日

11. 桑迫健二、北村和雄、永田さやか、加藤丈司:1回膜貫通型の受容体活性調節蛋白が作用するG蛋白共役型受容体を同定するための簡易スクリーニング法の確立および応用解析. 第83回日本薬理学会年会、2010年3月(大阪)

12. 北村和雄:循環制御因子研究の新展開 アドレノメデュリンを中心として. 第150回日本循環器学会東北地方会、2010年6月(岩手)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 出願番号:特願2010-187078

発明者:鶴田敏博、北村和雄

発明の名称:マトリックスメタロプロテアーゼ活性抑制組成物

出願人:国立大学法人宮崎大学

出願日:2010年8月24日

2. 出願番号:61/431,975

発明者:北俊弘、北村和雄、芦塚伸也、稲津東彦

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アドレノメデュリン投与の臨床効果

研究分担者 芦塚伸也 宮崎大学医学部 助教

研究要旨

Adrenomedullin (AM) は、強力な血管拡張作用を有する生理活性ペプチドであるが、心血管保護作用をはじめ、血管新生作用や抗炎症作用など多彩な生理作用を有する事が判明している。近年、我々は炎症性腸疾患モデル動物に対する AM の腸炎改善効果を明らかにし、炎症性腸疾患の新規治療薬としての応用するための基礎的研究を推進してきた。難治性潰瘍性大腸炎 (UC) に対しては、高用量ステロイド製剤、免疫抑制剤、生物学的製剤による治療が有効であるが、重症感染症の合併への懸念から、その使用は制限的であり、免疫抑制作用以外の機序を主体とする新たな治療方法の開発が望まれている。今回、我々は難治性 UC 患者へ AM 持続静注療法を行い、示唆に富む結果が得られたため報告する。症例は 68 歳、女性。糖尿病あり。ステロイド依存性全大腸型 UC (難治性 UC)。azathioprine (AZA) を併用したが prednisolone (PSL) 減量中に症状が増悪した。全大腸に深掘れ潰瘍、広範粘膜脱落を認め、重症 UC と診断した。高用量 PSL 療法と白血球除去療法、サイトメガロウイルス合併への抗ウイルス薬治療を行ったが、臨床的寛解は得られなかった。高齢で糖尿病を有し易感染者であること、さらに陳旧性肺結核の既往が疑われることから、免疫抑制剤や生物学的製剤の投与は危険と判断した。AM 持続静注療法 (AM 1.5 pmol/kg/min、8 時間/日、連続 12 日間) を施行した。投与中に軽度血圧低下を認めたが自覚症状は認めず、臨床的問題にはならなかった。他の有害事象は認めなかった。治療開始後、腹痛や血便は改善傾向を示し、臨床的寛解が得られた。治療 2 週間後の大腸内視鏡検査では潰瘍底および潰瘍辺縁に再生粘膜が増生し、遠位大腸の潰瘍は蜘蛛の巣様に癒痕化し、付近の末梢血管が拡張していた。さらに 3 か月後の内視鏡検査ではすべての大腸病変が癒痕治癒していた。UC 患者に対する AM 投与とその効果に関する第一報を示した。AM は生理活性ペプチドのため比較的安全性が高く、炎症性腸疾患に対する新たな治療戦略として期待される。

## A. 研究目的

アドレノメデュリン (Adrenomedullin; AM) は、強力な血管拡張性の降圧作用を有する生理活性ペプチドとして発見されたが、その発現は肺、腎臓、心臓、血管壁、腸管など多臓器に分布しており、現在では心血管保護作用、腎保護作用、血管新生作用、抗炎症作用、抗アポトーシス作用など多彩な生理作用を有する事が判明している。また、近年我々は酢酸大腸潰瘍モデルに対する AM 注腸の有効性を初めて報告したが、その後、TNBS モデルマウスおよびラットに対し AM を腹腔内投与すると、腸炎が改善する事が相次いで報告された。さらに、我々は DSS 腸炎モデルマウスに対する AM の有効性を報告するとともに、その機序として腸管上皮間リンパ球における炎症性サイトカインの抑制と TGF- $\beta$  の発現亢進、gap junction の修復、抗菌作用などが関与する可能性を報告した。

潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis; UC) は、日本においても近年増加傾向であり、2008 年には 10 万人を超えた。活動性 UC の治療はステロイドが中心になるが、ステロイドで効果の得られないステロイド抵抗例やステロイドの減量にて再燃するステロイド依存例が問題となっている。ステロイド抵抗例に対しては、シクロスポリンやタクロリムスなどの強力な免疫抑制剤、インフリキシマブやアダリムマブなどの生物学的製剤の有効性であり、近年その使用頻度が急激に増加してい

る。しかし、免疫を強力に抑制するため、高齢者や結核既往者、糖尿病合併例など易感染状態にある患者においては、結核、真菌感染症やニューモシスチス肺炎等の重症感染症の合併が懸念され、その使用は制限的である。本邦でも高齢 UC 患者が増加しており、免疫抑制以外の機序を有する新たな治療方法の開発が望まれる。今回、我々は難治性 UC 患者に対し AM を持続静注し、示唆に富む結果が得られたため報告する。

## B. 研究方法

1. 平成 21 年度 当研究報告書 P17-21 の臨床研究プロトコールに準じた。

2. 選択基準：下記①に加え、②または③を満たす。

- ① 難治性潰瘍性大腸炎患者
- ② 既存の治療では寛解導入が困難な患者
- ③ 種々の理由により免疫抑制剤・生物学的製剤が使用困難と判断される患者

3. 除外基準：以下の項目を満たさない。

- 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
- ⑧ 妊婦または妊娠している可能性のある患者
- ⑨ その他、担当医師が不適当と判断した患者

4. 投与方法: AM 持続静注療法 (AM 1.5 pmol/kg/min、9 時～17 時(8 時間/日)、連続 12 日間)

5. 評価方法:

(1) 活動性評価: 臨床症状 (血便、下痢、腹痛、発熱) と血液検査所見、内視鏡検査所見を基に、潰瘍性大腸炎の活動性評価指標である、①Disease activity index (DAI、表 1)および②Seo's index (表 2)を用いて AM 投与前後で評価した。

表1: Disease activity score :DAIスコア

<p>排便回数、血便、下部消化管内視鏡所見及び医師の全般的評価についてスコア化(各1点)する。</p> <p>排便回数の判定基準 0: 通常 1: 通常より1~2回多い 2: 通常より3~4回多い 3: 通常より5回/日以上多い</p> <p>血便の判定基準 0: なし 1: 少量の出血あり 2: 明らかに出血あり 3: 血便のみ</p> <p>下部消化管内視鏡所見の判定基準 0: 正常または異常所見なし 1: 軽度(炎症、血管造影的炎症、出血点(軽度) 2: 中等度(顕著な炎症、血管造影的炎症、出血点(軽度、びらん) 3: 重症(著明な自然出血、広範囲潰瘍)</p> <p>医師の全般的評価の判定基準 0: 正常(軽微な症状を認めない、患者の好転が良好、下部消化管内視鏡所見が0) 1: 軽度(軽度の炎症、排便回数、血便および下部消化管内視鏡で軽度の異常所見) 2: 中等度(軽度より重症の異常、排便回数、血便及び下部消化管内視鏡所見で1~2) 3: 重症(排便回数、血便及び下部消化管内視鏡所見で2~3、ステロイド投与及び/または免疫抑制剤が必要とされる程度)</p> <p>&lt;DAIスコアによる改善度&gt; 1: Complete (全ての項目が0) 2: Partial (投与前と比較して全ての項目が改善したが、4項目の合計スコアが0ではない) 3: None (上記以外)</p>
---

表2: Seo's index

X1: 顕血便 ×40 軽または軽少量 0 有 1
X2: 排便回数 ×13 4回/日以下 1 5~7回/日 2 8回以上/日 3
X3: 血沈速(mm/h) ×0.5
X4: Hb (g/dl) ×-4
X5: ab (g/dl) ×-15
Seo index = X1+X2+X3+X4+X5+200
軽度: 150以下 中等度: 150~220 重症: 220以上

(2) 内視鏡所見: AM 投与前と投与終了後での大腸内視鏡所見の変化を評価した。

(3) 循環動態: AM 投与中は、血圧と脈拍を持続モニターを用いて評価した。

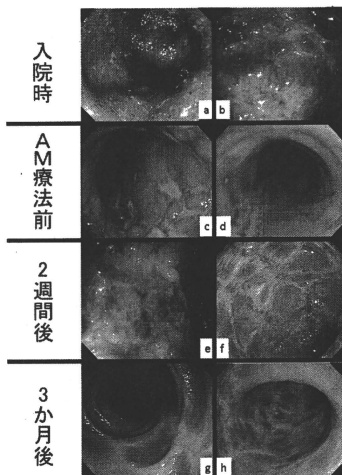
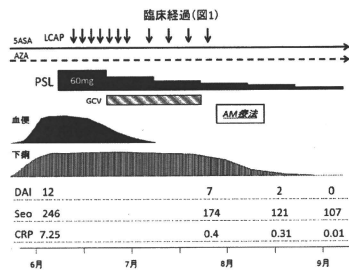
(4) 有害事象: 入院下での投与とし、投与中～投与後の臨床症状を厳重に観察した。

## C. 研究結果

### 【症例経過】

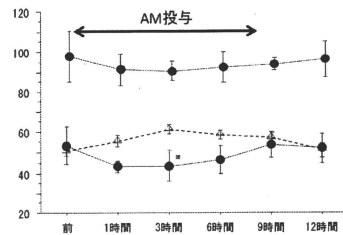
患者は 68 歳女性。UC 歴 3 年、糖尿病治療中。慢性持続型、全大腸炎型 UC。5ASA 製剤と PSL にて加療したが再燃と寛解を繰り返した。ステロイド依存例のため 1 年前に AZA 50mg/日を開始し、ステロイド減量・中止を試みたが、2010 年 5 月より急激に腹痛と血便 (>10 回/日) が増悪し、当科へ入院した。臨床所見上、Seo's index は 246 点と重症であり、下部消化管内視鏡 (colonoscopy; CS) と注腸造影検査で全大腸の強い炎症を認めた (図 2a, b)。5ASA 4g/日、AZA 50mg/日、PSL 60mg/日の投与、白血球除去療法を行ったが寛解は得られなかった。さらに CMV 感染を併発したため、抗ウイルス剤を投与したが、寛解は得られず (図 1)、横行結腸の深掘れ潰瘍や広範粘膜欠損が残存した (図 2c, d)。治療抵抗例のため、免疫抑制剤や生物学的製剤の追加投与を検討したが、高齢で耐糖能異常を有し、また胸部 CT で陳旧性結核が疑われたため、感染症併発の危険性が高いと考えられた。長期のステ

ロイド依存例であり、相対的手術適応と診断したが、患者の希望にて AM 持続静注療法を導入した。



虚血性心疾患や脳血管障害、糖尿病性網膜症などの心血管系疾患や悪性疾患の存在を除外したのちに、AMの持続投与を開始した (AM 1.5 pmol/kg/min、8時間/日 (午前9時～午後5時)、連続12日間)。治療開始後、腹痛や血便は寛解傾向を示した。

AM投与中に軽度血圧低下 (図3) を認めしたが、ふらつきや気分不良などの自覚症状は伴わず、その他の明らかな有害事象も認めなかった。AM投与後のCSでは、横行結腸の病変は、潰瘍底および潰瘍辺縁に発赤調の再生粘膜が著明であり、下行結腸～S状結腸の潰瘍は蜘蛛の巣様に瘢痕化していた (図2e, f)。臨床症状も寛解し、退院した。AM投与3か月後のCSではすべての大腸病変が瘢痕治癒しており (図2g, h)、PSLの中止も可能であった。



#### 評価項目

(1) DAI:入院時12点と最高値であったが、ステロイド療法にて7点まで改善した。AM療法にて7点から2点に大きく改善し、3か月後には0点と完全改善となった。

(2) Seo's index:入院時は246点と重症スコアであったが、ステロイド療法により174点 (中等症) まで改善した。AM療法後121点と軽症スコアまで改善し、3か月後には107点と寛解が持続した。

(3) 内視鏡所見 (図2):入院時、大

腸全域の強い浮腫、潰瘍とびらんの多発を認めた。易出血性であり、重症 UC の所見であった (a, b)。PSL 療法後、改善傾向は示すものの、深掘れ潰瘍や広範囲の潰瘍が残存した (c, d)。2 週間の AM 療法施行後、深掘れ潰瘍は、依然潰瘍病変が残存しているものの、潰瘍辺縁には著明な再生粘膜が認められた (e)。また AM 投与前に浅い潰瘍にまで改善していた部位は、著明な線維化 (癍痕化) と血管拡張を認めた (f)。癍痕部位はネット上につながっており、蜘蛛の巣のような外観を呈した。さらに AM 投与 3 か月後の内視鏡では、すべての潰瘍が癍痕化しており、2 週間目よりも粘膜全体が平坦・平滑に改善していた (g, h)。

(4) 循環動態：AM 投与開始後、拡張期血圧の低下傾向を認めた。開始 3 時間目には有意な拡張期血圧低下を示し、反応性に心拍数の増加を認めた。しかし、収縮期血圧は概ね保たれており、フラツキ等の自覚症状は皆無であった。AM 投与中止後、循環動態は速やかに改善した。

(5) 有害事象：軽度の血圧低下と心拍数上昇以外の明らかな有害事象は認めなかった。

#### D. 考察

ヒト AM は 1993 年に、当科 Kitamura によって発見された新規生理活性ペプチドである。52 個のアミノ酸で構成され、強力な血管拡張性降圧作用を有する事から、主に循環器領域で研究が進んできた。しかし、AM は全身の臓器

に広く分布しており、その作用も多岐に渡り、血管新生作用、血管内皮細胞アポトーシス抑制と血管再生、抗炎症作用、酸化ストレス抑制なども有する事が判明している。消化器領域においては、酢酸誘発性大腸潰瘍、DSS 腸炎および TNBS 腸炎モデル動物の腸炎改善効果以外にも、胃潰瘍モデルラットに対する潰瘍改善効果が報告されており、消化管全般の粘膜修復作用が期待される。AM の潰瘍修復作用に関しては、前述の報告にある、炎症性サイトカインの抑制や修復系サイトカインの増加、ギャップジャンクションの修復作用や、血管新生や血流増加による粘膜再生の亢進などが考えられる。また、AM は腸管内抗菌作用などが判明しており、大腸炎改善作用の一因である可能性が考えられる。我々は、AM 全身投与の検討を行うべく、DSS と TNBS、2 つの腸炎モデルラットを用いて下大静脈への 24 時間持続静注カテーテル・ポンプを留置し、AM の持続静脈投与を行った。その結果、いずれのモデルにおいても、注腸療法と類似した腸炎改善効果が得られ、AM は腸炎に対して局所的にも全身的にも治療可能であることが判明した (data not shown)。

これらの結果を踏まえ、今回、我々は潰瘍性大腸炎患者への投与を行った。なお、AM が持つ血管新生作用、血流増加作用が悪性腫瘍の増大につながる可能性が示唆されている事、循環調節に関与する事から、悪性疾患および心血管系基礎疾患を有する患者は適応外と考えられ、本症例においても

事前に確認した。投与量に関しては、当科で過去に行った健常人への AM 投与のデータを元に、血圧低下が臨床的に問題とならないと予想された量 (1.5 pmol/kg/min) を行い、また安全のため日中のみの投与とした。実際には、投与中に軽度血圧低下が認められた (図) が、フラツキや気分不良などは認めず、臨床で全く問題にはならなかった。他、AM 投与中には明らかな副作用は認めず、投与後半年が経過する現在においても有害事象は認めていない。

12 日間の AM 持続静注投与の結果、臨床所見の改善が得られたが、それ以上に内視鏡検査における大腸粘膜修復効果が顕著であった (図 3)。特に深掘れ潰瘍の潰瘍底および潰瘍辺縁に著明な粘膜再生上皮が認められ、浅い潰瘍においては蜘蛛の巣状に繊維瘢痕化が得られた。また、修復粘膜部の血管拡張が著明であり、一般的な潰瘍治癒では経験した事のない所見であった。AM による粘膜血管新生と血流増加による粘膜再生促進が期待されるが、まだ 1 例目であるため今後の症例の蓄積を要する。なお、本症例はステロイド依存例でもあり、AZA を併用しても PSL の中止が困難であったが、AM 療法後、粘膜治癒が得られ、PSL 中止が可能であった。近年、潰瘍性大腸炎やクローン病において「粘膜治癒」の重要性が報告されており、特に UC においては、潰瘍やびらんなどの炎症が残存しない「粘膜治癒」状態が得られた症例に関しては、その後の再燃率が

低いと報告されている。本症例においても、これまで慢性的に残存していた粘膜の炎症が、一旦粘膜治癒に至ったため、その後も良好な状態が保たれている可能性が考えられた。

## E. 結論

活動性 UC に対する AM 持続静注療法の一例を報告した。AM 療法は、これまで動物実験で得られた結果のように、実際の UC 患者においても臨床的改善効果を示し、さらに著明かつ特徴的な粘膜治癒を認めた。さらに、臨床問題となるような有害事象は認めず、高い安全性が示された。

AM 療法は従来の免疫制御療法とは異なった新しい治療機序を有し、かつ優れた安全性を有する、画期的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

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

1. Kitamura K, Ashizuka 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),



2010-3(Kyoto, Japan)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 出願番号:61/431,975

発明者:北俊弘、北村和雄、芦塚伸也、稲津東彦

発明の名称:Method for prevention or treatment of intractable inflammatory bowel disease

出願人:国立大学法人宮崎大学

出願日:2011年1月12日

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の産生が増加することで血中濃度が増加し、抗炎症・臓器保護因子として作用している。実際、昨年度までに、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やDSS腸炎モデルに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ことを示した。本年度は、炎症性腸疾患治療薬としてのAM投与の有用性を確認し、さらに最善の投与方法を検討するために、高用量と低用量AMの経静脈投与でのTNBS腸炎モデルラットに対する有用性を検討した。その結果、AM投与で有用性が認められたが、低用量の方がAM投与の効果が大きい傾向であることが判明し、臨床研究での投与量を決定する際の重要なデータが得られた。

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、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、昨年度までに、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やDSS腸炎モデルに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ことを示した。一方、AM自体は循環器疾患の治療薬としての可能性が高く、急性心筋梗塞治療薬として開発試験をヒュービットジェ

ノミクス社が準備している。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証明する。

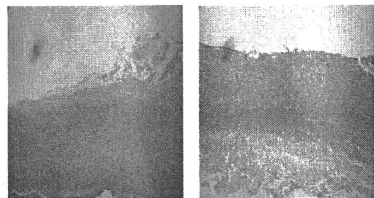
## B. 研究方法

- 1) 昨年度研究に用いたDSSモデルよりも炎症が広範囲にわたるTNBS (2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid) 腸炎モデルを作成した。
- 2) 頸静脈にAM群は高用量群 (AM 3  $\mu$ g/hr) と低用量群 (AM 1  $\mu$ g/hr)、対照群は生理食塩水を入れた浸透圧ポンプを植え込み、14日間持続投与した。
- 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

TNBSを投与した結果、対照群では下痢、下血などが示され体重の増加が抑制されたが、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。特に、対照群では重症化して死亡する動物も約1/3に見られたが、AM

投与群には死亡例が見られなかった。一方、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 (図1)。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。興味深いことに、血圧が低下せず、血中レニンの増加が見られない低用量群 (AM 1  $\mu$ g/hr) 群の方がAM投与の効果が大きい傾向であることが判明した。



【生食群】 $\times 40$

【AM 1.0  $\mu$ g/hr群】 $\times 40$

## 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AMの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たことで、AMの炎症性腸疾患に対する臨床試験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。また、投与量に関しては血圧が低下する量を投与するとAMの抗炎症効果や抗潰瘍効果がむしろ減弱する傾向があり、臨床試験での用量設定は大容量は必要ないことが示唆された。

#### E. 結論

炎症性腸疾患のモデル動物のうち、酢酸誘発大腸潰瘍やDSS腸炎モデル動物に加えて、炎症の範囲が広いTNBS腸炎での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. Tsuruda T, Imamura T, Hatakeyama K, Asada Y, Kitamura K: Stromal cell biology--a way to understand the evolution of cardiovascular diseases. *Circ J.* 74: 1042-1050 (2010)