

20114005A

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 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 北村和雄

平成 24 (2012) 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. 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 ----- 23  
稲津東彦

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 33

## IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 35 ~

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。平成23年度は最終年度であったため、主に炎症性腸疾患患者に対する探索的臨床研究を実施し、基礎研究としては臨床研究で使用するAM製剤について検討した。本研究では、ペプチド研究所にてGMP基準で合成されたAMを院内製剤化して、探索的臨床研究を実施したが、臨床研究のための基礎研究として院内製剤化AMの安定性や薬効を検討した。その結果、臨床研究に用いている院内製剤化AMおよび調剤済AMの安定性に問題はなく、薬効も院内製剤化により減弱していないことが確認できた。臨床研究に関しては、平成22年までに、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実施した。現在までに7例の難治性潰瘍性大腸炎（UC）患者へAM持続静注療法（AM 1.5 pmol/kg/min、8時間/日、14日間）を行った。その結果、7例中6例の症例において排便回数、血便等の腹部症状の改善や内視鏡所見の改善が認められ、寛解導入が得られた。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。有害事象としては、軽度血圧低下を認めたがふらつきなどの自覚症状は伴わず、安全に投与できた。AMは生理活性ペプチドのため比較的安全性が高いと考えられ、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。

## 【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  
稲津 東彦 宮崎大学医学部附属病院 第一内科 講師  
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

### 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 の有用性を基底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 IBD 治療薬としての有用性を証明したい。

### B. 研究方法

基底的研究：  
本臨床研究で用いる院内製剤化 AM

は合成ヒト AM を、株式会社ペプチド研究所で医薬品製造と同等の基準 ( Good Manufacturing Practice: GMP ) にて合成されたものを原末として購入した。薬剤部にて、AM を院内製剤化した後に、 $-30^{\circ}\text{C}$  にて凍結保存し、用時に融解して調剤して使用している。凍結保存された製剤化 AM や調剤済 AM を時間を変えて保存し、逆相高速液体クロマトグラフィにて、AM の定量・定性を行った。薬効に関しては、dextran sulfate sodium salt (DSS) 腸炎モデルラットを DSS 溶液の自由飲水により wistar rat に発症させ、製剤化 AM を臨床研究と近い方法で投与して、有効性を確認した。

臨床研究：

患者に投与する前段階の臨床研究として、AM  $2.5\text{pmol/kg/min}$  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  $2.5\text{pmol/kg/min}$  を一日 8 時間、最長 14 日間投与する探索的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。これまでに7例の難治性UC患者に対しAM持続静注療法を施行し、その有効性と有害事象に関し検討した。

### C. 結果

基礎的研究：

凍結保存されたサンプルを1ヶ月後、3ヶ月後、6ヶ月後、1年後に逆相高速液体クロマトグラフィにて、アドレノメデュリンの定量・定性を行った結果、調整直後のものと比較して、1年後においても有意な減少や酸化物の増加は認められなかった。一方、調剤後のAMに関しては、少なくとも室温で72時間以内は安定であり、実用上問題ないと考えられた。

また、DSS腸炎に製剤化AMを投与することで、下痢、下血など症状が軽減し、体重も増加した。さらに、組織所見の改善も見られ、形態学的な炎症像は顕著に軽減し、それに伴い、AM投与群の腸管の長さは有意に長かった。

臨床研究

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。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、粘膜上皮の修復が促進することが判明した。現在までに、7例の患者で行っているが有効性は80%以上ときわめて良好であり有害事象は認めなかった。

### 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

可能性がある。

今回、7症例の難治性潰瘍性大腸炎患者に対し AM 持続静注療法を行った。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。AM 療法導入後、すべての症例において DAI (Disease Activity Index) スコアの改善を認めたが、うち 1 例は 1 ポイントのみの改善で AM 療法の効果なしと判断した。Seo's index に関して、AM 療法 2 週間の時点では顕著な改善が認められなかったが、これは貧血やアルブミン、血沈などの全身状態や栄養状態を反映した項目が評価に含まれるため、スコアの改善が遅れたものと考えられた。12 週目には DAI スコア、Seo's index とともに良好な結果が得られた。内視鏡所見の検討としては、潰瘍底・潰瘍辺縁に再生上皮が目立ち、粘膜血管拡張・粘膜血管新生が認められた。AM の粘膜修復作用に関しては、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、上皮細胞接合分子の修復作用や、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。

製剤はペプチド製剤であるため、凍結保存すれば 1 年間はまったく安定であることが明らかとなった。一方、調剤後の AM に関しても少なくとも 72 時間は室温で安定であり、実際に用いる場合は毎日調剤することから調剤化後の AM の減衰は問題にならないと判断された。また、製剤化後の AM も原末と同様の炎症性腸疾患の治療効果が認められたことから、少なくとも効果面では問題ないと思われた。

ただ、今回の検討は非 GMP 基準の AM 製剤化、基礎研究であり、今後、臨床研究を進めていくためには GMP 基準で調製された AM 製剤が必要である。また、今回の研究ではプラセボのない投与前後で比較する探索的臨床試験であったため、今後はプラセボを設定し、投与量を変えた用量設定研究を実施する必要がある。

## E. 結論

炎症性腸疾患に対する AM 投与の有用性が、動物実験に加えて、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. ○Ashizuka S, Kita T, Inatsu H, Kitamura K. Adrenomedullin: A novel therapy for intractable ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. in press. (2012)
2. ○芦塚伸也、彦坂ともみ、稲津東彦、北俊弘、北村和雄：炎症性腸疾患に対するアドレノメデュリン療法(解説). *消化器内科* 54, 154-160, (2012)
3. 北村和雄：アドレノメデュリン. *高血圧ナビゲーター第3版*(熊谷裕生、小室一成、堀内正嗣、森下竜一 編)、pp96-97、メディカルレビュー社、東京、(2011)
4. Hikosaka T, Tsuruda T, Nagata S, Kuwasako K, Tsuchiya K, Hoshiko S, Inatsu H, Chijiwa K, Kitamura K: Adrenomedullin production is increased in colorectal adenocarcinomas; its relation to matrix metalloproteinase-9.

*Peptides* 32: 1825-1831, (2011)

5. 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, (2011)
6. Kuwasako K, Kitamura K, Nagata S, Hikosaka T, Takei Y, Kato J: Shared and separate functions of the RAMP-based adrenomedullin receptors. *Peptides* 32: 1540-1550, (2011)
7. Tsuruda T, Kitamura K: Adrenomedullin: Roles for structure and function in cardiac or vascular tissues. *Current Hypertension Reviews* 7: 268-272, (2011)
8. 北俊弘、北村和雄：アドレノメデュリンの内分泌・代謝系へのユニークな作用. *実験医学* 29: 202-206, (2011)
9. 北村和雄：降圧因子アドレノメデュリンの新たな可能性. *第7回九州11大学循環器フォーラム会報*, (2011)

## 2. 学会発表

1. ○Kitamura K: Beneficial Biological Effects of Adrenomedullin and Possibility of Clinical Application. BIT's 5<sup>th</sup> Anniversary of Protein and Peptide Conference (PepCon-2012), 2012-3 (Beijing, China)

2. 桑迫健二、北村和雄、永田さやか、彦坂ともみ、加藤丈司：降圧系1型アドレノメデュリン (AM<sub>1</sub>) 受容体のヘリックス8はAM<sub>1</sub>受容体を負に制御し、Gs蛋白の結合に不可欠である。第84回日本薬理学会年会、2011年3月(横浜)

3. 桑迫健二、北村和雄、永田さやか、野崎尚美、加藤丈司：2つのアドレノメデュリン (AM) 受容体の活性化を規定する責任領域の特定と特徴化：CGRP受容体と異なる新たな活性化機構。第34回日本高血圧学会総会、2011年10月(宇都宮)

4. 北村和雄：アドレノメデュリンの発見と病態生理学的意義の研究。第15回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2011年11月(大阪)

5. Kuwasako K, Kitamura K, Nagata S, Nozaki N, Kato J: New

insight into the function of G protein-coupled receptor kinases (GRKs): their marked inhibitory effects on the cell-surface expression and signaling of the human adrenomedullin 1 (AM<sub>1</sub> receptor). 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月(横浜)

6. 桑迫健二、北村和雄、永田さやか、野崎尚美、加藤丈司：G蛋白共役型受容体キナーゼ(GRK)の新作用：GRK4とGRK5による1型アドレノメデュリン受容体(AM<sub>1</sub>受容体)の細胞膜輸送と細胞内シグナリングの強力な抑制。第34回日本分子生物学会年会、2011年12月(横浜)

7. 桑迫健二、北村和雄、永田さやか、彦坂ともみ、野崎尚美、加藤丈司：1型アドレノメデュリン受容体の細胞内ヘリックス8の役割。第64回日本薬理学会西南部会、2011年11月(福岡)

8. ○芦塚伸也、三宮一朗、中野みち子、三木吾郎、彦坂ともみ、星子新理、松本英文、中島孝治、稲津東彦、北村和雄：潰瘍性大腸炎に対するアドレノメデュリン持続静注療法。第98回日本消化器病学会九州支部例会、2011年11月(長崎)



9. 北村和雄：降圧因子アドレノメデュリンの新たな可能性.

第7回九州11大学循環器フォーラム、  
2011年6月(福岡)

10. 稲津東彦、芦塚伸也、北村和雄：  
活動期潰瘍性大腸炎寛解導入療法としてのアドレノメデュリン持続静注療法の経験.

第53回日本消化器病学会大会、2011年  
10月(福岡)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

出願番号 特願 2005-111889

公開番号 特開 2006-290777

登録番号 特許第 4830093 号

登録日 平成 23 年 9 月 30 日  
(2011.9.30)

発明者 北村 和雄、稲津 東彦、  
芦塚 伸也 他 4 名

出願人 学校法人宮崎大学

発明の名称 非細菌性の炎症性疾患の予防又は治療剤

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持続静注療法  
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、本研究代表研究者により発見された強力な血管拡張作用を有する生理活性ペプチドである。AM は心血管保護作用をはじめ、臓器保護作用、抗炎症作用、血管新生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、AM は消化管に対しても生理作用を有しており、近年我々は AM が炎症性腸疾患モデル動物に対し腸炎改善効果を示すことを明らかにした。すなわち、AM は腸炎モデル動物に対し、炎症性サイトカインの抑制、制御性サイトカインの亢進、上皮細胞接着分子の発現亢進などの効果を示す事が明らかとなり、我々は引き続き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。一方、炎症性腸疾患、特に難治性潰瘍性大腸炎(UC) に対する薬物療法として、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、いずれの薬剤においても有害事象として重症感染症の合併が存在し、特に高齢者や他の基礎疾患を有する患者へ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、7例の難治性 UC 患者へ AM 持続静注療法 (AM 1.5 pmol/kg/min、8 時間/日、14 日間) を行い、その有効性と忍容性に関して検討した。その結果、7例中6例の症例において排便回数、血便等の腹部症状の改善や内視鏡所見の改善が認められ、寛解導入が得られた。有害事象としては、軽度血圧低下を認めたがふらつきなどの自覚症状は伴わず、安全に投与できた。AM は生理活性ペプチドのため比較的安全性が高いと考えられ、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 注腸の有効性を世界で初めて報告したが、その後国内外の研究グループからも AM が腸炎モデル動物を改善する報告がなされ、その機序として免疫寛容や粘膜微小血流の改善、損傷上皮の修復などが考えられることが報告された。さらに、我々は炎症性腸疾患の汎用モデルである 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 (IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6) の抑制と制御性サイトカイン (TGF- $\beta$ ) の発現亢進、上皮細胞接合分子の修復、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、これらの薬剤は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。我々は難治性潰瘍性大腸炎患者に対する AM 持続静注療法の臨床試験を開始し、平成 22 年度の等研究報告書において最初の 1 例に関し報告した。その後の症例追加により、これまでに 7 例の難治性 UC 患者に対し AM 持続静注療法を施行し、その有効性と有害事象に関し検討した。

## 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

※難治性＝十分なステロイド治療によっても寛解が得られない（ステロイド抵抗例）、またはステロイド療法が奏効したが、減量中に再燃した例（ステロイド依存例）。

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、担当医師が不相当と判断した患者

4. 投与方法：AM 持続静注療法（AM 1.5 pmol/kg/min、8 時間/日、連続 14 日間）

5. 評価方法：

(1) 活動性評価（表 1）：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

活動性評価

DAIスコアの各評価項目

【排便回数】	【血便】	【内視鏡所見】	【医師の全体的評価】
0: 通常	0: なし	0: 正常	0: 正常
1: 通常より1~2回多い	1: わずか	1: 軽症	1: 軽症
2: 通常より3~4回多い	2: 明らか	2: 中等症(腸出血)	2: 中等症
3: 通常より5回以上多い	3: 血液のみ	3: 重症(自然出血)	3: 重症

Seo's index(UCAI)の各評価項目

【排便回数】	【排便回数】	【血便】	【Hb】	【CRP】
0: 無・少量	1: 4回以下	測定値	測定値	測定値
1: あり	2: 5~7回			
	3: 8回以上			
X 60 (X1)	X 13 (X2)	X 0.5 (X3)	X -4 (X4)	X -15 (X5)
Seo's index=X1+X2+X3+X4+X5+200 軽症<150、中等症150~220、重症<220				

表 2

AM持続静注療法患者背景

症例No.	年齢	性別	炎症活動性(年)	ステロイド抵抗性	ステロイド依存性	CAPI値	手術歴	ANCA陽性	ANCA陰性	AM投与前の検査結果				予後
										PKA	CAP	CAPI/CRP	ANCA	
1	48	女	重症活動性	あり	あり	あり	重症	中等症	あり	なし	なし	なし	なし	1年未満寛解維持
2	43	男	重症活動性	あり	なし	あり	重症	中等症	あり	なし	なし	なし	なし	1年未満寛解維持
3	37	男	重症活動性	あり	なし	あり	中等症	中等症	あり	なし	なし	なし	なし	1年未満寛解維持
4	60	女	重症活動性	あり	あり	なし	中等症	中等症	なし	なし	なし	なし	なし	1年未満寛解維持
5	62	男	重症活動性	あり	あり	あり	中等症	中等症	あり	なし	なし	なし	なし	1年未満寛解維持
6	51	女	重症活動性	あり	なし	なし	重症	重症	あり	あり	なし	なし	なし	1年未満寛解維持
7	64	男	重症活動性	あり	あり	あり	中等症	中等症	あり	なし	なし	なし	なし	1年未満寛解維持

- (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

#### 1. 患者背景 (表 2、表 3)

症例：7 症例※ (9 回)、年齢：57±10.6 歳 (37-68 歳)、性別：男性 4 名・女性 3 名、病型：全大腸型 3 名、左側結腸型 4 名、入院時重症度：重症 3 名・中等度 4 名、AM 療法直前の重症度：重症 1 名、中等症 6 名

※うち 1 症例は初回 AM 療法 1 年後に再燃し 2 回目の AM 療法を施行したため、別症例として扱った。

表 3

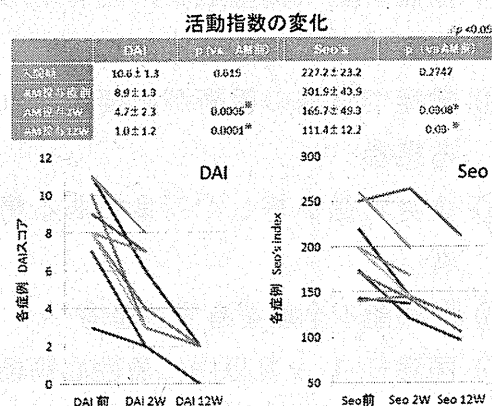
患者背景 (n=7)		
患者数	7 症例	(9 回)
年齢	57.9±10.6 歳 (37-68 歳)	
性別	男性	4
	女性	3
病型	全大腸型	3
	左側結腸型	4
入院時重症度	重症	3
	中等症	4
AM療法前重症度	重症	1
	中等症	6

#### 2. 評価項目

##### (1) 活動性評価 (表 4)

入院時 DAI は 10.6±1.3 と重症であり、入院後の初期治療 (PSL 療法) では十分な治療効果が認められなかった (DAI 8.9±1.3)。Seo's index においても、入院時は重症を示し (227.2±23.2)、初期治療で若干の改善を認めた (201.9±43.9) もの、寛解導入は得られなかった。AM 療法導入後 2 週間の活動性評価はいずれのスコアも有意な改善を認め (DAI 4.7±2.3、Seo's index 165.7±49.3)、12 週後には更なる改善が認められた (DAI 1.0±1.2、Seo's index 111.4±12.2)

表 4



(2) 内視鏡所見 (図 1、2)：症例 No.1 の内視鏡経過を示す。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 (a,b)。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(c)。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(d)。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(e,f)。1年後にも寛解を維持していた(g,h)

他の症例に関しても、無効であった1例を除き概ね同様の傾向が見られた。

図 1

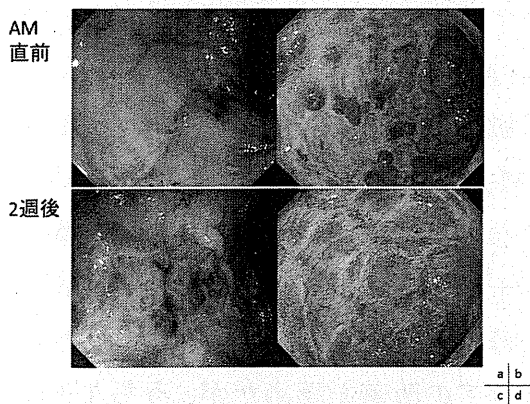
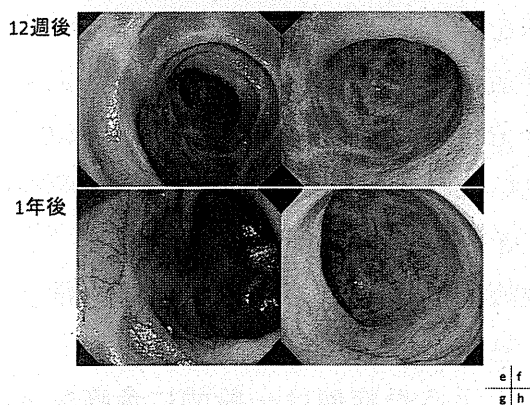


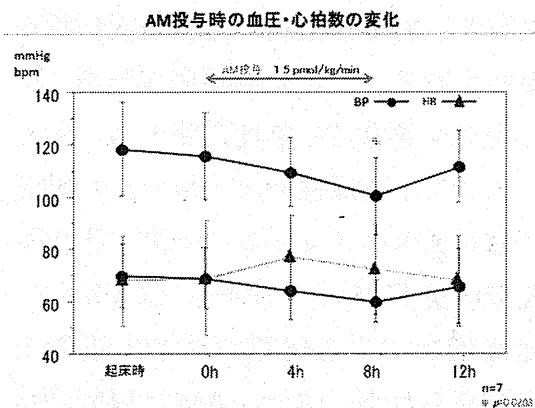
図 2



### (3) 循環動態 (図 3)

7 症例 AM 投与時の血圧の動向を示す。AM 投与開始後、継時的に血圧低下傾向と心拍数の増加を認めた。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。

図 3



(4) 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、当研究代表者(北村)によって発見された生理活性ペプチドである。AM は全身の臓器に広く分布し、血管拡張性作用をはじめ、血管新生作用、血管内皮細胞アポトーシス抑制といった血行動態改善作用が代表的作用である。また、心臓や腎臓に対し臓器保護的な働きを有する事も判明しており、近年では急性

心筋梗塞患者への有効性が報告され、肺高血圧症や ASO などへの臨床応用も期待されている。さらに、AM は抗炎症作用、酸化ストレス抑制、抗菌作用など心血管系以外への作用も有する事が判明しており、消化器領域においても、前述の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 の粘膜修復作用に関しては、平成 21 年度の報告書に示したように、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、上皮細胞接合分子の修復作用や、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。

今回、7 症例の難治性潰瘍性大腸炎患者に対し AM 持続静注療法を行った。なお、平成 22 年度報告書にも示したが、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、循環動態への影響を念頭に、試験前に悪性疾患および心血管系基礎疾患を有さない事を確認した。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。

7 症例に対し、9 回の AM 投与を行った。1 度の入院中に 5 症例は 1 コース施行し、2 症例は 2 コース行った。2 コース施行の 2 例は、1 コース後に活動性の改善傾向を認めるものの内視鏡上粘膜修復が不十分であり、患者の希望を踏まえて 2 コース連続で行った。また、1 コース施行者のうち 1 例は AM 療法 1 年後に再燃し、患者の希望にて再度投与した。平均年齢が約 57 歳と比較的高齢であったのは、高齢や他の基礎疾患の存在のため免疫抑制剤や生物学的製剤の使用がはばかられ、AM 療法が選択されたためである。活動性評価においては、入院時から AM 療法導入直前の活動性スコアに有意な差がなく、入院初期治療の効果が不十分であった事が示された。AM 療法導入後、すべての症例において DAI スコアの改善を認めたが、うち 1 例は 1 ポイントのみの改善で AM 療法の効果なしと判断し、その後抗 TNF $\alpha$  療法を導入した。ここで特記すべきは、同症例に関しては抗 TNF $\alpha$  療法でも十分な結果が得られなかった。また、同内視鏡所見は、びまん性の浮腫や発赤を呈し、潰瘍がみられない所謂「慢性持続型」の様相を呈しており、潰瘍(粘膜欠損)を伴わない症例であった。このような症例は一般的に免疫抑制

剤や生物学的製剤にも治療抵抗性を示す症例が多く、本症例においてもAMだけでなく、その後の治療にも抵抗性を示し、治療に難渋している。Seo's index に関して、AM療法2週間の時点では顕著な改善が認められなかったが、これは貧血やアルブミン、血沈などの全身状態や栄養状態を反映した項目が評価に含まれるため、スコアの改善が遅れたものと考えられた。12週目にはDAIスコア、Seo's indexともに良好な結果が得られた。内視鏡所見の検討としては、潰瘍底・潰瘍辺縁に再生上皮が目立ち、粘膜血管拡張・粘膜血管新生が認められた。また、12週目の内視鏡では「蜘蛛の巣」のような外観を呈する癒痕化が認められる事が多く、AM療法による粘膜修復が示唆された。今後、病理評価なども含めた更なる検討を要する。

AMが血管拡張性降圧作用を有する事から、有害事象として血圧低下が最も懸念された。実際、軽度血圧低下が認められた(図3)が、フラツキや気分不良などは認めず、臨床上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なかった。

本研究にて、潰瘍性大腸炎患者に対しAM療法が有効である事、安全に投与できる事(忍容性)が確認された。しかし、本療法におけるAMの至適用量、単独療法での効果に関しては言及

できず、また、薬理機序や病理学的検討においても課題が残された。今後これらの課題を解明すべく研究を進めてゆく。

## E. 結論

難治性潰瘍性大腸炎患者、7症例に対し9回のAM持続静注療法を行った。ほぼすべての症例で臨床症状の改善傾向を示し、内視鏡上特徴的な粘膜治癒を認めた。またAM投与中、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

1. Ashizuka S, Kita T, Inatsu H, Kitamura K. Adrenomedullin: A novel therapy for intractable ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* in press. (2012)



2. 芦塚伸也、彦坂ともみ、稲津東彦、北俊弘、北村和雄：炎症性腸疾患に対するアドレノメデュリン療法(解説). *消化器内科* 54, 154-160, (2012)

## 2. 学会発表

1. 芦塚伸也、三宮一朗、中野みち子、三木吾郎、彦坂ともみ、星子新理、松本英文、中島孝治、稲津東彦、北村和雄：潰瘍性大腸炎に対するアドレノメデュリン持続静注療法.

第 98 回日本消化器病学会九州支部例会、2011 年 11 月(長崎)

2. 芦塚伸也、稲津東彦：難治性潰瘍性大腸炎に対するアドレノメデュリン持続静注療法.

第 66 回日本大腸肛門病学会学術集会、2011 年 11 月(東京)

3. 稲津東彦、芦塚伸也、北村和雄：活動期潰瘍性大腸炎寛解導入療法としてのアドレノメデュリン持続静注療法の経験.

第53回日本消化器病学会大会、2011年10月(福岡)

(2011.9.30)

発明者 北村和雄、稲津東彦、芦塚伸也 他 4 名

出願人 学校法人宮崎大学

発明の名称 非細菌性の炎症性疾患の予防又は治療剤

## H. 知的財産権の出願・登録状況

出願番号 特願 2005-111889

公開番号 特開 2006-290777

登録番号 特許第 4830093 号

登録日 平成 23 年 9 月 30 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（AM）の炎症性腸疾患治療薬としての臨床応用のための基礎研究  
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。また、昨年度までに、経静脈投与での動物モデルでの有用性を示し、その結果に基づいて、難治性炎症性腸疾患患者に対する臨床研究が開始された。本年度は、臨床研究を主体に行ったが、臨床研究に用いる院内製剤化されたAM製剤に関して、製剤の安定性や有効性を確認する基礎的研究を実施した。その結果、院内製剤化されたAMは炎症性腸疾患モデル動物に投与したときに、昨年まで用いた合成AMと同様の効果をしめした。また、院内製剤化されたAMは凍結保存を行えば、1年以上安定であることが判明した。また、調剤済みAM製剤は、72時間室温保存でも72時間は有意な減衰はみられないことが明らかになった。今回の結果は、今後臨床研究を継続していくために、有用な情報である。

#### 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、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。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治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、昨年までに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し、さらに難治性炎症性腸疾患患者に対する探索的臨床研究を開始した。臨床研究に用いているAM製剤はGMP基準のAM原末を院内製剤化したものである。本研究では基礎的研究として、院内製剤化AMの安定性や有効性を確認する基礎研究を実施した。

## B. 研究方法

### 1) 院内製剤化AMの安定性

院内製剤化AMは合成ヒトAMを、株式会社ペプチド研究所で医薬品製造と同等の基準 (Good Manufacturing Practice: GMP) にて合成されたものを原末として購入した。薬剤部にて、AMを秤量後に3.75%マンニトールにて溶解し、滅菌フィルターにて無菌化した後、アンプルに封入した。肉眼による異物検査を行い、 $-30^{\circ}\text{C}$ にて凍結保存した。凍結保存された

サンプルを1ヶ月後、3ヶ月後、6ヶ月後、1年後に逆相高速液体クロマトグラフィにて、AMの定量・定性を行った。溶媒: (A)  $\text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{CN} : 10\% \text{TFA} = 90 : 10 : 1$ , (B)  $\text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{CN} : 10\% \text{TFA} = 40 : 60 : 1$  溶出条件: (A)  $\rightarrow$  (B) 60分間直線グラジエント、カラム: TSK-ODS-SIL、 $4.6\text{mm} \times 150\text{mm}$ 、detector: 280nm、210nmの紫外吸収を記録。

調剤方法としては、使用直前に凍結被験薬を室温にて融解した後、使用量を総量16mlの生理的食塩水に希釈して調製する。調剤化後のアドレノメデュリンを室温で、調剤直後、4時間後、8時間後、24時間後、3日後に上記と同一条件にて、逆相高速液体クロマトグラフィにて、AMの定量・定性を行った。

### 2) 製剤化AMの薬効

dextran sulfate sodium salt (DSS)腸炎モデルラットをDSS溶液の自由飲水により wistar rat に発症させた。DSS溶液は、最初の3日間は5%、以後は1%とした。頸静脈にAM群は製剤化AM $5\mu\text{g}/\text{hr}$ 、対照群は3.75%マンニトールを入れた浸透圧ポンプを植え込み、14日間持続投与した。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

### 1) 院内製剤化AMの安定性

凍結保存されたサンプルを1ヶ月後、3ヶ月後、6ヶ月後、1年後に逆相高速液体クロマトグラフィにて、AMの定量・定性を行った結果、調整直後のものと比較して、1年後においても有意な減少や酸化物の増加は認められなかった。

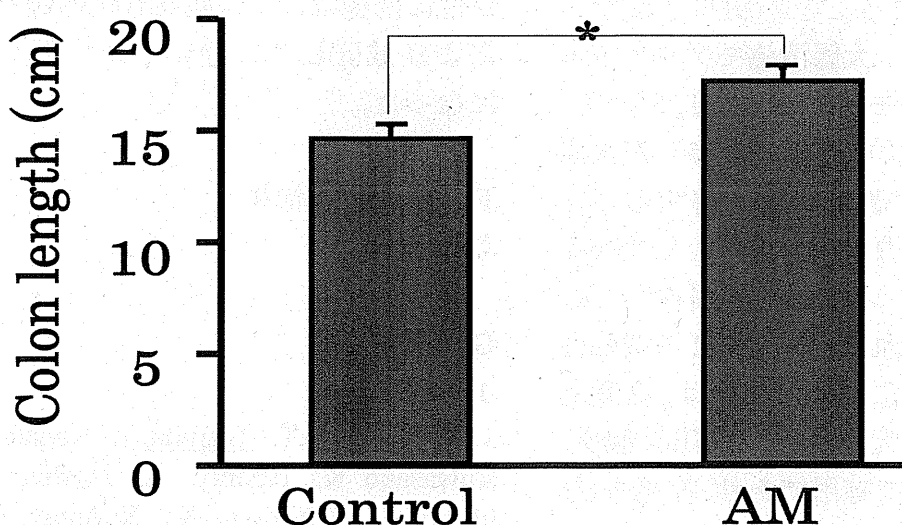
一方、調剤後のAMに関しては、実験開始時(0時間)の吸光度を100%としたときの各時間経過後の吸光度を示す。

Hr	0	2	4	8	24	72
%	100	90	95	98	95	92

以上のことより、調剤化後のAM製剤の安定性は少なくとも室温で72時間以内は安定であり、実用上問題ないと考えられた。

### 2) 製剤化AMの薬効

DSSを摂取させた結果、対照群では顕著な下痢、下血などが示され体重の増加が認められなかったが、製剤化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、製剤化AM投与群では、炎症像は顕著に軽減した。それに伴い、AM投与群の腸管の長さは有意に長かった(図)。また、この濃度のAM投与では有意の血圧低下は認められず、有害事象も認められなかった。



\*p<0.05 vs. control