

201243005A

厚生労働科学研究費補助金

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業

免疫難病に対する先駆的治療薬開発－生物製剤を中心とした
早期臨床試験拠点の医・薬集学的整備によるFIMの実施とPOCの確立

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 日比 紀文

平成25（2013）年5月

目 次

統括研究報告	1
分担研究報告（消化器内科領域）	3
分担研究報告（リウマチ内科領域）	9
分担研究報告（免疫難病の新規化合物探索及び評価）	15
研究成果の刊行に関する一覧表	19

総括・分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業
総括研究報告書

免疫難病に対する先駆的治療薬開発—生物製剤を中心とした
早期臨床試験拠点の医・薬集学的整備によるFIMの実施とPOCの確立

研究代表者 日比紀文 慶應義塾大学医学部消化器内科 教授

研究要旨：慶應義塾大学医学部は免疫統括医療センターにおける免疫難病の集学的診療・研究体制を確立しており、クリニカルリサーチセンターによる臨床試験支援体制をも活用して、新たに免疫難病に特化した早期臨床試験専用病棟を整え first in human 試験を含む先駆的免疫治療薬の早期・探索的臨床試験基盤を確立する整備事業を進めているが、この基盤を活用した研究事業として後述の三領域における新規治療開発を進めてきた。第一に、重症潰瘍性大腸炎に対する粘膜再生治療の First in human 試験に向けた内視鏡技術と幹細胞培養技術の開発を進め、臨床試験への円滑な移行の準備を行った。第二に、次年度に開始予定の成人 Still 病におけるトシリズマブの医師主導型治験の準備を進めて機構相談を行なうとともに、バイオマーカーアッセイ測定系の確立などの基礎的準備を並行して行なった。加えて、次年度に開始されるクローン病患者対象の第一相治験（企業主導）に関する治験実施計画書や患者組入等運営面の準備も進めた。第三に、慢性移植片対宿主病（graft versus host disease; GVHD）に対するトラニラストの新効能を踏まえて、慢性 GVHD の抗炎症・抗線維化・抗上皮間葉転換効果の非臨床試験を更に行なって、次々年度に予定される臨床試験の準備を進めており、次年度、次々年度には早期・探索的臨床試験が消化器内科、リウマチ内科、眼科領域で実施予定である。

A. 研究目的

悪性腫瘍や幾つかの自己免疫性疾患に著効を示してきた生物学的製剤は、他の免疫難病での臨床開発が困難である。我々は消化器内科領域、リウマチ内科領域において既存あるいは新規化合物の POC/FIM 試験を行いこうした状況を改善することを本事業の目的とし、平成 24 年度には各領域における候補化合物を最終決定して、臨床試験の準備ならびに最終的な非臨床試験等の遂行に注力した。

B. 研究方法

(1) 消化器内科領域 (2) リウマチ内科領域
(3) 先端医科学研究所の 3 グループでそれぞれ研究方法および対象疾患、研究開発の段階が異なるため、それぞれのグループの分担研究報告書に詳述する。

C. 研究結果

3 グループでそれぞれ異なっており詳細は各分担研究報告に示すが、各領域で候補化合物を最終的に絞り込んで決定し、追加すべき非臨床試験を完遂するとともに、臨床試験の計画着手を行なった。

D. 考察

各領域で候補化合物を最終決定し、適宜医薬品医療機器総合機構の薬事戦略相談で助言を得、対象疾患における臨床試験の準備と併せて非臨床試験を行なってきたが、①regulatory science の観点からの十分な吟味と、②規制要件と費用・期間とを全て満足した運営（特に一部外部発注における調整）の二点が共通した最大の留意点であり、次年度以降もこの二点における適切な進行に注力する必要がある。

E. 結論

次年度以降の早期・探索的臨床試験の実施に向けて、各領域で準備の進捗を得た。化合物、対象疾患の特性によって極めて多様な規制要件上、技術上、運営上の課題があり、これらに適切迅速に対応していくことが研究課題の今後の達成の成否の鍵となるものと考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

一覧のとおり

2. 学会発表
一覧のとおり

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. シーズ B については特許取得：開発企業にて特許取得済み
2. 実用新案登録：未定

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業
分担研究報告書

免疫難病に対する先駆的治療薬開発—生物製剤を中心とした
早期臨床試験拠点の医・薬集学的整備によるFIMの実施とPOCの確立

研究代表者 日比紀文 慶應義塾大学医学部消化器内科 教授
研究分担者 金井隆典 慶應義塾大学医学部消化器内科 准教授
研究分担者 佐藤俊朗 慶應義塾大学医学部消化器内科 特任講師

研究要旨：消化器免疫難病である潰瘍性大腸炎は、近年の免疫統御療法の進歩により患者のQOLは向上しているが、重症潰瘍性大腸炎患者は大腸全摘術が余儀なくされている。本研究において、我々は腸管粘膜のバリアー機能の回復を目指した粘膜再生治療の開発を目指している。粘膜再生治療 First In Human 試験の実現のため、平成 24 年度は大型動物に対し、内視鏡的に採取した腸管上皮幹細胞の培養技術と内視鏡的な移植技術の開発を行った。今後、安定した腸管上皮幹細胞の内視鏡的移植技術の確立と GMP 準拠プロトコールによる腸管上皮幹細胞培養技術を推進する。

A. 研究目的

炎症性腸疾患の患者数は日本国内で 10 万人以上であり、その大部分を占める潰瘍性大腸炎は若年者を中心に近年増加傾向にある。最近の免疫統御療法の発展により、従来の治療に抵抗性の潰瘍性大腸炎に対しても、タクロリムスや抗 TNF α 抗体などの投与により病勢をコントロールすることが可能となった。しかしながら、これらの免疫統御療法にも抵抗性を示し、大腸全摘術を施行せざるを得ない難治例の数は減っておらず、難治症例に対する治療方法が課題となっている。我々は、こうした難治例では粘膜再生障害が遷延していることを見出し、腸管上皮バリアーの破綻が腸内抗原や細菌の粘膜内への侵入と炎症の難治化を引き起こしていると考えた。引き起こされた炎症はさらに腸管上皮細胞の増殖抑制による粘膜再生障害につながり、悪循環となっている。

このような悪循環を断ち切るために、今回我々は腸管上皮幹細胞治療による粘膜再生治療を考案した。培養した皮膚上皮や角膜上皮が既に上皮の移植治療として成功している。しかし、培養方法などの技術的な問題点のため、腸管上皮に関しては未だ臨床応用されていない。

B. 研究方法

我々は腸管上皮幹細胞培養技術を開発し (Sato T et al. Nature 2009) , ヒト細胞への応用にも

成功した (Sato T et al. Gastroenterology 2011). 本技術はマウス腸炎モデルに対する培養細胞移植技術の確立と治療効果から、粘膜再生治療の実現が期待された。我々は、本技術の臨床応用を視野に入れ、大動物 (ブタ) を用いた内視鏡的な培養腸管上皮細胞の移植技術の開発を推進している。

ブタから内視鏡的に腸管上皮粘膜を採取し、培養、レンチウイルスを用いた GFP 可視化を行う。さらに、内視鏡的に作製した消化管潰瘍部に対して、内視鏡による培養上皮細胞の投与を行う。

腸管上皮細胞の臨床グレードでの培養法確立のため、動物由来成分を含むマトリジェルの代替物のスクリーニング、また、Wnt 蛋白の安定化には血清が必要であり、化合物による Wnt 活性化を試みる。

(倫理面への配慮)

前臨床試験であるが、動物実験に関する倫理に関しては慶應義塾大学医学部において動物実験計画が承認されている。

C. 研究結果

ブタより内視鏡的に腸管上皮を採取し、ヒト腸管上皮幹細胞培養に準じた培養法により安定した培養に成功した。さらに、培養上皮細胞に対し、レンチウイルスを介した EGFP の強制発現が確認できた。

内視鏡を用いて、ブタ腸管粘膜に対して粘膜切除術を行い、同部位に対して GFP 発現上皮細胞の移植を行った。Autofluorescence Imaging を装備した内視鏡観察により、投与後の GFP 発現上皮細胞の患部への付着が確認できた。しかしながら、潰瘍形成後の炎症反応が強く、培養細胞が生着・生存できることは確認できていない。今後、潰瘍性大腸炎を擬似化したブタ腸管粘膜の腸炎モデルならびに、内視鏡的培養細胞の投与方法をさらに検討していきたい。

培養方法の臨床グレード化を目指し、マトリジェルの代替細胞外基質としてコラーゲン typeI に変更し、安定した培養に成功した。また、Wnt-3 の代替として CHIR99021 を使用し、腸管上皮幹細胞の維持が可能であることがわかった。

D. 考察

本研究は、臨床応用を視野に入れた粘膜再生療法の開発であり、内視鏡の施行が可能なブタを用い、非臨床試験を推進している。内視鏡を用いた腸管粘膜再生治療は前例がなく、容易ではないが、本施設は腸管上皮培養技術、大動物内視鏡設備、内視鏡治療における基礎開発技術の全てを有しており、十分な期待ができる。

E. 結論

日本発の難治性炎症性腸疾患に対する FIH 試験を計画し、大動物を用いた非臨床試験を推進している。培養技術の改善と大動物を用いた内視鏡粘膜再生治療モデルの開発に成功した。今後、FIH 試験の実現に向けてさらに研究を推進していく。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Teratani T, Tomita K, Suzuki T, Oshikawa T, Yokoyama H, Shimamura K, Tominaga S, Hiroi S, Irie R, Okada Y, Kurihara C, Ebinuma H, Saito H, Hokari R, Sugiyama K, Kanai T, Miura S, Hibi T. A high-cholesterol diet exacerbates liver fibrosis in mice via accumulation of free cholesterol in hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 142: 152-164, 2012.

2. Kanai T, Mikami Y, Sujino T, Hisamatsu T, Hibi T. ROR γ t-dependent IL-17A-producing cells in the pathogenesis of intestinal inflammation. *Mucosal Immunology* 5: 240-247, 2012.
3. Hatogai K, Hosoe N, Imaeda H, Rey JF, Okada S, Ishibashi Y, Kimura K, Yoneno K, Usui S, Ida Y, Tsukada N, Kanai T, Hibi T, Ogata H. Role of enhanced visibility in evaluating polyposis syndromes using a newly developed contrast image capsule endoscope. *Gut and Liver* 6: 218-222, 2012.
4. Takaishi H, Kanai T, Nakazawa A, Sugata F, Nikai A, Yoshizawa S, Hamamoto Y, Funakoshi S, Yajima T, Iwao Y, Takemura M, Ozaki S, Hibi T. Anti-high mobility group box 1 and box 2 non-histone chromosomal proteins (HMGB1/HMGB2) antibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA): accuracy in differentially diagnosing UC and CD and correlation with inflammatory bowel disease phenotype. *Journal of Gastroenterology* 47: 969-977, 2012.
5. Ono Y, Kanai T, Sujino T, Nemoto Y, Kanai Y, Mikami Y, Hayashi A, Matsumoto A, Takaishi H, Ogata H, Matsuoka K, Hisamatsu T, Watanabe M, Hibi T. T-helper 17 and interleukin-17-producing lymphoid tissue inducer-like T cells make different contributions to colitis in mice. *Gastroenterology* 2012;143:1288-97
6. Doi T, Kanai T, Mikami Y, Sujino T, Jun L, Ono Y, Hayashi A, Hibi T. IgA plasma cells express the negative regulatory co-stimulatory molecule programmed cell death 1 ligand and have a potential tolerogenic role in the intestine. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 425: 918-923, 2012.
7. Sato T#, Clevers H#. Growing self-organizing

- Mini-Guts from a single Intestinal Stem Cell: Mechanism and Applications. Science 2013 (in press) #Shared corresponding authors
8. Huch M, Dorrell C, Boj SF, van Es JH, Li VSW, van de Wetering M, Sato T, Hamer K, Sasaki N, Finegold MJ, Haft A, Vries R, Grompe M, Clevers H. In vitro expansion of single Lgr5⁺ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration. Nature 2013;494:247-50.
 9. van Es JH#, Sato T#, van de Wetering M, Lyubimova A, Yee Nee AN, Gregorieff A, Sasaki N, Zeinstra L, van den Born M, Korving J, Martens AC, Barker N, van Oudenaarden A, Clevers H. Dll1(+) secretory progenitor cells revert to stem cells upon crypt damage. Nat Cell Biol. 2012;14:1099-104. #Equal authorship
 10. Yui S, Nakamura T, Sato T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H, Watanabe M. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5⁺ stem cell. Nature Medicine 2012 11;18:618-23.
 11. Buske P, Przybilla J, Loeffler M, Sachs N, Sato T, Clevers H, Galle J. On the biomechanics of stem cell niche formation in the gut - modelling growing organoids. FEBS J. 2012;279:3475-87.
 12. Kimura K, Kanai T, Hayashi A, Mikami Y, Sujino T, Mizuno S, Handa T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Sato T, Hibi T. Dysregulated balance of retinoid-related orphan receptor γ t-dependent innate lymphoid cells is involved in the pathogenesis of chronic DSS-induced colitis. Biochem Biophys Res Commun. 2012 2;427:694-700.
 13. Mizukami T, Kanai T, Mikami Y, Hayashi A, Doi T, Handa T, Matsumoto A, Jun L, Matsuoka K, Sato T, Hisamatsu T, Hibi T. CCR9+ macrophages are required for eradication of peritoneal bacterial infections and prevention of polymicrobial sepsis. Immunol Lett. 2012;147:75-9.
 14. Stringer EJ, Duluc I, Saandi T, Davidson I, Bialecka M, Sato T, Barker N, Clevers H, Pritchard CA, Winton DJ, Wright NA, Freund JN, Deschamps J, Beck F. Cdx2 determines the fate of postnatal intestinal endoderm. Development. 2012 ;139:465-74.
 15. Sakuraba A, Sato T, Morohoshi Y, Matsuoka K, Okamoto S, Inoue N, Takaishi H, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. Intermittent granulocyte and monocyte apheresis versus mercaptopurine for maintaining remission of ulcerative colitis: a pilot study. Ther Apher Dial. 2012;16:213-8.
 16. Sakuraba A, Sato T, Matsukawa H, Okamoto S, Takaishi H, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. The use of infliximab in the prevention of postsurgical recurrence in polysurgery Crohn's disease patients: a pilot open-labeled prospective study. Int J Colorectal Dis. 2012;27:947-52.
- ## 2. 学会発表
1. Hayashi A, Kanai T, Sujino T, Mikami Y, Mizuno S, Handa T, Matsumoto A, Matsuoka K, Yajima T, Sato T, Hisamatsu T, Ogata H, Hibi T. A Single Strain of Clostridium Butyricum Suppresses Intestinal Inflammation by Converting Activated Lamina Propria Cd11b+CD11cInt Macrophages to IL-10-Producing Regulatory Macrophages. Digestive Disease Week 2012. San Diego, USA, 5. 2012 (トピックフォーラム)
 2. Hosoe N, Matsuoka K, Yoneno K, Usui S, Ishibashi Y, Kimura K, Naganuma M, Hisamatsu T, Inoue N, Kanai T, Hibi T, Ogata H. Feasibility of evaluating the severity of mucosal inflammation in patients with

- ulcerative colitis by using a second generation colon capsule endoscope.
The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012 (シンポジウム)
3. Hisamatsu T, Uo M, Miyoshi J, Yoneno K, Matsuoka K, Kanai T, Hibi T.
Intestinal CXCR4+IgG+ immature plasma cells contribute to the pathogenesis of ulcerative colitis through IgG-immune complex-Fc \cdot R signaling.
The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012 (シンポジウム)
 4. Imaeda H, Hosoe N, Ida Y, Nakamizo H, Kashiwagi H, Kanai T, Iwao Y, Hibi T, Ogata H.
Novel technique of endoscopic submucosal dissection using external forceps for early rectal cancer.
The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012 (シンポジウム)
 5. 松岡克善、岩男泰、井上詠、佐藤俊朗、久松理一、金井隆典、緒方晴彦、日比紀文
潰瘍性大腸炎に合併した大腸癌/dysplasiaの内視鏡増の検討。
第8回日本消化管学会学術集会、仙台、2. 2012 (コアシンポジウム)
 6. 金井隆典、日比紀文
慢性大腸炎発症/維持病態における腸管リンパ装置と構成必須細胞 Innate Lymphoid Cellの関与。
第89回日本生理学会大会 日本リンパ学会連携シンポジウム、長野、3. 2012 (シンポジウム)
 7. Sujino T, Kanai T, Hayashi A, Mikami Y, Matsuoka K, Hisamatsu T, Hibi T
Intestinal microbiota is essential for both the initiation and the maintenance of colitis, and dysbiosis of IBD patients.
The 98th General meeting of the Japanese society of Gastroenterology-The 3rd international forum、東京、4. 2012 (国際交流フォーラム)
 8. 小野祐一、金井隆典、筋野智久、三上洋平、林篤史、松本淳宏、半田一己、松岡克善、久松理一、日比紀文
Naturally-occurring Th17 細胞と Colitogenic Th17 細胞の分化発達におけるリンパ装置の必須性。
第49回日本消化器免疫学会総会、鹿児島、7. 2012 (シンポジウム)
 9. 金井隆典、筋野智久、三上洋平、日比紀文
炎症性腸疾患と健常にそれぞれ存在する腸管 Th17 細胞の決定的な相違の追求。
第40回日本臨床免疫学会総会、東京、7. 2012 (ワークショップ)
 10. Hibi T
Immunological abnormalities in the pathogenesis of inflammatory bowel disease.
第40回日本潰瘍学会、東京、7. 2012 (シンポジウム)
 11. 三枝慶一郎、金井隆典、筋野智久、半田一己、林篤史、三上洋平、水野慎大、木村佳代子、松本敦宏、佐藤俊朗、松岡克善、久松理一、日比紀文
腸炎惹起性 ROR \cdot t 非依存的 classical Th1 と ROR \cdot t 依存的 alternative Th1 細胞の発達分化。
第40回日本潰瘍学会、東京、7. 2012 (ミニワークショップ)
 12. 中里圭宏、井上詠、岩男泰、松岡克善、矢島知治、久松理一、長沼誠、高林馨、米野和明、三上洋平、水野慎大、木村佳代子、丸山悠里子、金井隆典、緒方晴彦、日比紀文
潰瘍性大腸炎における粘膜治癒の位置づけ-内視鏡的寛解を目指すべきか-
第40回日本潰瘍学会、東京、7. 2012 (シンポジウム)
 13. 米野和明、細江直樹、石橋由佳、木村佳代子、碓井真吾、長沼誠、久松理一、井上詠、金井隆典、日比紀文、緒方晴彦
第2世代大腸用カプセル内視鏡による潰瘍性

大腸炎患者の病勢評価

第30回日本大腸検査学会総会、東京、9. 2012
(シンポジウム)

14. Toshiro Sato. Long-term culture system for human intestinal stem cells and cancer. Methods Workshop: Stem Cells, Enteroids and Organoids: A New Era for In Vitro Models of the Intestine. American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting 2013. Invited Speaker. 2013. 4. 6
15. Toshiro Sato. Establish of human intestinal organoid culture system: Application to inflammation and cancer. The 2nd JSGE International Topic Conference. Invited Speaker. 2013. 3. 23
16. 佐藤俊朗. Paneth細胞による腸管上皮幹細胞制御機構. シンポジウム14. 消化器領域における幹細胞研究の進歩. 第99回日本消化器病学会総会 2013年3月23日
17. 伊達昌一, 佐藤俊朗. Reconstitution of self-organizing intestinal epithelial 3D structures in vitro. ワークショップ68. 器官形成 - 3次元構造の構築 第35回日本分子生物学会年会 2012年12月11日
18. 佐藤俊朗. Dynamic intestinal stem cell regulation by Paneth cells. 幹細胞制御機構: ニッチはどこまで解明されたか? 第35回日本分子生物学会年会 2012年12月11日
19. Toshiro Sato. Development of Intestinal Stem Cell Culture System. Ontario Cancer Institute. Invited Speaker. (Prof. Tak W Mak)
20. Toshiro Sato. Are we ready for using stem cell therapy for IBD? Symposium: Future of IBD. Patient-tailored therapies for improved outcomes in IBD. Asian IBD Symposium Seoul 2012. Invited Speaker. 2012. 11. 3
21. Toshiro Sato. Development of human

intestinal stem cell culture system. Symposium 4 Gastrointestinal Stem Cell. International Ulcer Week 2012 (第40回日本潰瘍学会・第14回国際潰瘍学会) 2012. 7. 12

22. Toshiro Sato. Development of Gut Stem Cell Culture. Symposium3 - Intrinsic and extrinsic control of stem cell systems 第45回日本発生物学会・第64回日本細胞生物学会. 2012. 5. 30
23. 佐藤俊朗. ヒト腸管上皮幹細胞の同定と培養法の確立 シンポジウム2: 消化管 stem cell の新たな展開, 第98回日本消化器病学会総会. 2012年4月19日

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
Sato T, Clevers JC, Huch M CULTURE MEDIUM FOR EPITHELIAL STEM CELLS AND ORGANOID COMPRISING SAID STEM CELLS. WIPO Patent Application WO/2010/090513 PCT 各国移行中
Clevers JC, Sato T, Meritxell H, Karthous WR. CULTURE MEDIA FOR STEM CELLS. WIPO Patent Application WO/2012/168930 PCT 各国移行中・
2. 実用新案登録
3. その他

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業
分担研究報告書

免疫難病に対する先駆的治療薬開発—生物製剤を中心とした
早期臨床試験拠点の医・薬集学的整備によるFIMの実施とPOCの確立

研究分担者 竹内 勤 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 教授
研究分担者 亀田秀人 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 講師

研究要旨：成人 Still 病に対する抗インターロイキン (IL) -6 受容体抗体製剤であるトシリズマブ (TCZ) の有用性を臨床試験で検証するにあたり、TCZ が実臨床で多くの患者に投与されている関節リウマチ (RA) 患者におけるサイトカイン異常を、高感度マルチバイオマーカーアッセイで解析する系を確立した。その結果、IL-6 受容体からのシグナルを遮断することで、VEGF や sICAM-1 の産生も低下することが明らかとなった。さらに TCZ の標的分子である sIL-6R の投与前血中濃度が TCZ の有効性と逆相関することを世界に先駆けて見いだした。生物学的製剤による分子標的療法は、標的分子の血中濃度を事前に測定し、それを考慮して投与量を決定するという治療原則を確立するうえで重要な知見が得られ、RA 患者に比較してより高度な高サイトカイン血症を示す成人 Still 病においては、4 週毎に TCZ を投与する RA とは異なり、2 週毎の投与を原則とする理論的裏付けが得られた

A. 研究目的

関節リウマチ (RA) の治療において、腫瘍壊死因子 (TNF) やインターロイキン (IL) -6 などの炎症性サイトカインを標的分子とした生物学的製剤が画期的な有効性を示した。従って、他のリウマチ性疾患の治療においても生物学的製剤の適応を拡大して行くことが、多くの難治性リウマチ性疾患患者の生命予後や機能予後の向上に重要である。

成人 Still 病は小児の全身性若年性特発性関節炎 (sJIA) に類似した病態が 16 歳以上で発症した疾患である。発熱、関節炎、皮疹を特徴とし、しばしば副腎皮質ステロイドやメトトレキサートなどの既存免疫抑制薬に抵抗性である。sJIA の病態において IL-6 が重要な役割を果たしており、我が国で開発された抗 IL-6 受容体抗体製剤であるトシリズマブ (TCZ) が、世界に先駆けて RA のみならず sJIA の治療薬としても承認され、その後欧米にも普及している。そして成人 Still 病における TCZ の有用性も症例報告として蓄積されつつあるが、我が国における患者数が約 2000 人という稀少疾患であることから企業治験が行われがたく、エビデンスが欠如している。

そこで、成人 Still 病における TCZ の有用性を臨床試験で確認し、治療薬としての承認を得ることは当該領域のグローバル戦略上でも重要であり、我々は本事業における取り組みの 1 つとして、成

人 Still 病に対する TCZ の有用性を、プラセボ対象二重盲検ランダム化比較の臨床試験で証明することとした。平成 24 年度は臨床試験のプロトコル作成や施設整備などの準備を行うとともに、基礎的検討として RA 患者血清を用いて高感度マルチバイオマーカーアッセイの測定系を確立するとともに、血中の様々な分子を測定することで、病態解析のみならず TCZ の至適な用法用量の確立に必要な基礎データを収集することを目的とした。

B. 研究方法

2010 年 3 月から 2012 年 4 月までに TCZ 治療 (原則として 8 mg/kg を 4 週毎に点滴静注) を開始された RA 患者 51 例を対象とした。文書同意を得て、採血検体の一部を本研究に用いた。採取された血液から直ちに血清を分離し、-80°C で測定まで保存した。検出限界 1 pg/ml 程度で 10 種類のバイオマーカーを同時に測定するために SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery, MD) を用いて、電気化学発光 ELISA によりサイトカインを含めた種々のバイオマーカー濃度を測定した。臨床データは診療録より匿名化して得た。

(倫理面への配慮)

患者の権利、個人情報に十分な配慮を行い、ヘルシンキ宣言に沿った同意説明文書を作成し、施

設の倫理委員会の承認を得て、研究を遂行した。

C. 研究結果

TCZの投与により4週後より有意にRAの疾患活動性は低下し、24週後にはさらに低下した。24週までの経時測定において、血清IL-6濃度は上昇、TNF濃度は不変、VEGF (vascular endothelial growth factor)、sICAM-1 (可溶性 intercellular adhesion molecule-1) 濃度が低下した。

またTCZ治療前の可溶性IL-6受容体 (sIL-6R)の血清濃度はTCZの治療反応性の予測因子であり、治療前濃度は24週後の疾患活動性と正相関を示した。sIL-6Rのカットオフ値1556 pg/mlを用いると、24週後の臨床的寛解を感度82%、特異度65%、オッズ比6.0で判別予測可能であった。TCZ治療前のsIL-6R濃度が1556 pg/ml未満のRA患者の85%が24週後に臨床的寛解となったが、1556 pg/ml以上の患者では寛解率が48%とほぼ半減した。

D. 考察

今回の検討により、血清中の様々なバイオマーカー濃度を1 pg/mlまでの高感度で同時測定が可能となった。その結果として、TCZのRA治療における作用機序として、IL-6のシグナルを遮断することで、VEGFやICAM-1の発現が低下し、関節局所における血流低下、白血球浸潤の低下につながる事が想定された。これらは成人Still病の病態改善にも大きく寄与すると考えられる。

また、我々はTNFに対するモノクローナル抗体製剤を用いた治療において、治療開始前にTNFの発現量を測定し、それを中和するのに必要十分量の製剤を投与することの重要性を報告してきたが、今回の検討から、この原則がTCZにも適用されることが示された。すなわち、TCZの標的分子であるIL-6Rの発現量を可溶性分子として測定し、その発現量に応じて投与量を増減させることが、有効性、そして医療経済面からも重要であることを明らかにした。そして、今回得られた成果、ならびにsJIAにおけるTCZの用法・用量に基づいて成人Still病の新規臨床試験におけるTCZの投与スケジュールを決定し、次年度からの試験開始に向けて準備を進めている。

E. 結論

生物学的製剤による分子標的療法は、標的分子の血中濃度を事前に測定し、それを考慮して投与量を決定するという治療原則を確立するうえで重要な知見が得られ、RA患者に比較してより高度な

高サイトカイン血症を示す成人Still病においては、4週毎にTCZを投与するRAとは異なり、2週毎の投与を原則とする理論的裏付けが得られた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Takeuchi T, Miyasaka N, Zang C, Alvarez D, Fletcher T, Wajdula J, Yuasa H, and Vlahos B. A phase 3 randomized, double-blind, multicenter comparative study evaluating the effect of etanercept versus methotrexate on radiographic outcomes, disease activity and safety in Japanese subjects with rheumatoid arthritis. *Mod Rheum* in press.
2. Kameda H, Kanbe K, Sato E, Ueki Y, Saito K, Nagaoka S, Hidaka T, Atsumi T, Tsukano M, Kasama T, Shiozawa S, Tanaka Y, Yamanaka H, Takeuchi T, and JBASIC. A merged presentation of clinical and radiographic data using probability plots in a clinical trial, JESMR study. *Ann Rheum Dis* in press.
3. Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Miyasaka N, Mukai M, Matsubara T, Uchida S, Akama H, Hartmut K, Vipin A, and Tanaka Y. Adalimumab, a Human anti-TNF monoclonal antibody, outcome study for the prevention of joint damage in Japanese patients with early RA; the HOPEFUL 1 study. *Ann Rheum Dis* in press.
4. Nakajima A, Saitoh K, Kojima T, Amano K, Yoshio T, Fukuda W, Inoue E, Taniguchi A, Momohara S, Minota S, Takeuchi T, Ishiguro N, Tanaka Y, and Yamanaka H. No increased mortality in patients with rheumatoid arthritis treated with biologics: results from the biologics register of six rheumatology institutes in Japan. *Mod Rheum* in press.
5. Takeuchi T, Harigaya M, Tanaka Y, Yamanaka

- H, Ishiguro N, Yamamoto K, Miyasaka N, Koike T, Kanazawa M, Ohba T, Yoshinari T, Baker D, and the GO-MONO study group. Golimumab monotherapy in Japanese patients with active rheumatoid arthritis despite prior treatment with disease-modifying anti-rheumatic drugs: results of the Phase 2/3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled GO-MONO study through 24 weeks. *Ann Rheum Dis* online September 14, 2012.
6. Takeuchi T, Matsubara T, Nitobe T, Suematsu E, Ohta S, Honjyo S, Abe T, Yamamoto A, Miyasaka N, and The Japan Abatacept Study Group. Phase II dose-response study of abatacept in Japanese patients with active rheumatoid arthritis with inadequate response to methotrexate. *Mod Rheum* on line June 12, 2012.
 7. Tanaka Y, Yamanaka H, Saito K, Iwata S, Miyagawa I, Seto Y, Momohara S, Nagasawa H, Kameda H, Kaneko Y, Izumi K, Amano K, and Takeuchi T. Structural damages disturb functional improvement in patients with rheumatoid arthritis treated with etanercept. *Mod Rheum*, 22:186-94, 2012.
 8. Takeuchi T, Tanaka Y, Kaneko Y, Tanaka E, Hirata S, Kurasawa T, Kubo S, Shidara K, Kimura N, Nagasawa H, Kameda H, Amano K, and Yamanaka H. Effectiveness and safety of adalimumab in Japanese patients with rheumatoid arthritis: Retrospective analyses of data collected during the first year of adalimumab treatment in routine clinical practice (HARMONY study). *Mod Rheum*, 22:327-338, 2012.
 9. Tanaka Y, Harigaya M, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, Miyasaka N, Koike T, Kanazawa M, Ohba T, Yoshinari T, Baker D, and the GO-FORTH study group. Golimumab, a human anti-TNF- α monoclonal antibody, injected subcutaneously every 4 weeks in Japanese patients with active rheumatoid arthritis in combination with methotrexate: results of the Phase 2/3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled GO-FORTH study through 24 weeks. *Ann Rheum Dis*, 71:817-24, 2012.
 10. Koike T, Harigaya M, Ishiguro N, Inokuma S, Takei S, Takeuchi T, Yamanaka H, and Tanaka Y. Safety and effectiveness of adalimumab in Japanese rheumatoid arthritis patients: post marketing surveillance report of the first 3,000 patients. *Mod Rheum* 22:498-508, 2012.
 11. Takeuchi T, Miyasaka N, Tatsuki Y, Yano T, Yoshinari T, Abe T, and Koike T. Inhibition of plasma IL-6 in addition to maintain efficacious trough level of infliximab was associated with clinical remission in patients with rheumatoid arthritis: analysis of the RISING Study. *Ann Rheum Dis*, 71:1583-85, 2012.
 12. Takeuchi T and Kameda H. What is the future of CCR5 antagonists? *Arthritis Research and Therapy* 14: R11, 2012.
 13. Harigai M, Takeuchi T, Tanaka Y, Matsubara T, Yamanaka H, and Miyasaka N. Discontinuation of adalimumab treatment in rheumatoid arthritis patients after achieving low disease activity. *Mod Rheum* 22: 814-22, 2012.
 14. Niki Y, Takeuchi T, Nakayama M, Nagasawa H, Kurasawa T, Yamada H, Toyama Y, and Miyamoto T. Clinical Significance of Cartilage Biomarkers for Monitoring Structural Joint Damage in Rheumatoid Arthritis Patients Treated with Anti-TNF Therapy. *PLoS ONE* 7 :e37447, 2012.
 15. Sakai R, Nagasawa H, Nishi E, Okuyama A, Takei H, Kurasawa T, Kondo T, Nishimura K, Shirai Y, Ito T, Kameda H, Takeuchi T, and Amano K. Successful treatment of adult-onset Still's disease with tocilizumab monotherapy: two case reports with literature review. *Clin Rheum*

31:569-74, 2012.

16. Nishi E, Kameda H, Ogawa H, Nagasawa H, Takei H, Okuyama A, Kurasawa T, Kondo T, Nishimura K, Shirai Y, Sakai R, Ito T, Takeuchi T, Amano K. Efficacy of weekly mizoribine pulse therapy in refractory lupus nephritis. *Mod Rheumatol* 2013;23:97-103.
17. Takamura A, Hirata S, Nagasawa H, Kameda H, Seto Y, Atsumi T, Dohi M, Koike T, Miyasaka N, Harigai M. Elevation of KL-6 serum levels in clinical trials of tumor necrosis factor inhibitors in patients with rheumatoid arthritis - a report from the ad-hoc committee for safety of biological DMARDs of the Japan College of Rheumatology. *Mod Rheumatol* (in press).
18. Harigai M, Takamura A, Atsumi T, Dohi M, Hirata S, Kameda H, Nagasawa H, Seto Y, Koike T, Miyasaka N. A retrospective study of serum KL-6 levels during treatment with biological disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis patients - a report from the ad-hoc committee for safety of biological DMARDs of the Japan College of Rheumatology. *Mod Rheumatol* (in press).
19. Nishina N, Kaneko Y, Kuwana M, Hanaoka H, Kameda H, Mikami S, Takeuchi T. IgG4-related disease without over-expression of IgG4: Pathogenesis implications. *Case Reports in Rheumatology* (in press).

2. 学会発表

1. Tsutomu Takeuchi: EiR schools in systemic autoimmunity: Excellence in Rheumatology, Faculty member. Spain(Madrid). 2012.1.25
2. Tsutomu Takeuchi: Tocilizumab in the treatment of rheumatoid arthritis-Experience in Japan (SAMURAI & REACTION). Taiwan Actemua Launch

Symposium Taiwan(Taipei). 2012.2.18

3. Tsutomu Takeuchi: Japan & Global T2T update~Highlight of initiatives & What's the next step? 2012 Korea-Japan T2T joint Meeting Korea(Seoul) 2012.2.24
4. Tsutomu Takeuchi: Th17 cells and their role in chronic inflammation. Chairman. *Advances in Targeted Therapies*. Italy 2012.3.30
5. Tsutomu Takeuchi: Japanese PMS: Safety and efficacy from large population. 8th International congress on Autoimmunity. Granada, Spain. 2012.5.11
6. Keiko Yoshimoto, Maiko Tanaka, Masako Kojima, Hideko Ogata, Katsuya Suzuki, Hideto Kameda, Tohru Abe, Tsutomu Takeuchi: BAFF signaling is abnormally regulated through JAK pathways in peripheral monocytes in patients with primary Sjögren's syndrome. *EULAR 2012*: 2012.6.6-9, Berlin, Germany.
7. Tsutomu Takeuchi, Masayoshi Harigai, Yoshiya Tanaka, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Kazuhiko Yamamoto, Minoru Kanazawa, Yoshinori Murakami, Toru Yoshinari, Daniel Baker, Nobuyuki Miyasaka, Takao Koike. Golimumab, a human anti-TNF monoclonal antibody, administered subcutaneously every four weeks as monotherapy in patients with active rheumatoid arthritis despite DMARD therapy: 52-week results of clinical, radiographic and pharmacokinetic assessments. *EULAR 2012*: 2012.6.6-9, Berlin, Germany.
8. Tsuneko Kondo, Keiko Yoshimoto, Katsuya Suzuki, Hideto Kameda, Koichi Amano, Tsutomu Takeuchi: Decreased peripheral CD3 zeta chain expression in patients with active rheumatoid arthritis can be restored by various biologic DMARDs and methotrexate. *EULAR 2012*: 2012.6.6-9,

Berlin, Germany.

9. Hideto Kameda, Katsuaki Kanbe, Eri Sato, Yukitaka Ueki, Kazuyoshi Saito, Shouhei Nagaoka, Toshihiko Hidaka, Tatsuya Atsumi, Michishi Tsukano, Tsuyoshi Kasama, Shunichi Shiozawa, Yoshiya Tanaka, Hisashi Yamanaka, Tsutomu Takeuchi : Continuation/discontinuation of methotrexate and clinical response to etanercept determine the radiographic progression/repair in patients with rheumatoid arthritis: A subanalysis of 52-week results from the JESMR study. EULAR 2012: 2012. 6. 6-9, Berlin, Germany.
10. Tsukasa Matsubara, Hiroshi Inoue, Mitsuhiro Iwahashi, Akira Yamazaki, Tsutomu Takeuchi: A multi-center, double-dummy, double-blind study of subcutaneous (SC) abatacept (ABA) compared with intravenous (IV) ABA in Japanese rheumatoid arthritis patients with inadequate response to methotrexate. EULAR 2012: 2012. 6. 6-9, Berlin, Germany.
11. Takahiko Kurasawa, Hayato Nagasawa, Koichi Amano, Tsutomu Takeuchi, Hideto Kameda: The addition of another disease-modifying anti-rheumatic drug to methotrexate in place of infliximab improves the rate of infliximab-free sustained remission. EULAR 2012: 2012. 6. 6-9, Berlin, Germany.
12. Keisuke Izumi, Yuko Kaneko, Hidekata Yasuoka, Noriyuki Seta, Hideto Kameda, Masataka Kuwana and Tsutomu Takeuchi: Lack of Additive Benefits of Concomitant Methotrexate Use to Tocilizumab Monotherapy for Rheumatoid Arthritis in Daily Clinical Practice. ACR2012: 2012. 11. 9-14, Washington D. C., USA.
13. Hideto Kameda, Takahiko Kurasawa, Hayato Nagasawa, Koichi Amano and Tsutomu Takeuchi: The Addition of Another Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drug to Methotrexate in Place of Infliximab Reduces the Flare Rate During 2 Years After Infliximab Discontinuation in Patients with Rheumatoid Arthritis. ACR2012: 2012. 11. 9-14, Washington D. C., USA.
14. Tsutomu Takeuchi, Tsukasa Matsubara, Shuji Ohta, Masaya Mukai, Koichi Amano, Shigeto Tohma, Yoshiya Tanaka, Hisashi Yamanaka and Nobuyuki Miyasaka: Abatacept Biologic-Free Remission Study in Established Rheumatoid Arthritis Patients. Orion Study. ACR2012: 2012. 11. 9-14, Washington D. C., USA.
15. Tsutomu Takeuchi, Kazuhiko Yamamoto, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Yoshiya Tanaka, Katsumi Eguchi, Akira Watanabe, Hideki Origasa, Toshiharu Shoji, Nobuyuki Miyasaka and Takao Koike: Clinical Response At 12 Weeks Predicts Long-Term Remission and the Extent of Radiographic Progression in Japanese Patients with Rheumatoid Arthritis Treated with Certolizumab Pegol with and without Methotrexate Coadministration. ACR2012: 2012. 11. 9-14, Washington D. C., USA.
16. Tsutomu Takeuchi, Masayoshi Harigai, Yoshiya Tanaka, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Kazuhiko Yamamoto, Minoru Kanazawa, Yoshinori Murakami, Toru Yoshinari, Daniel Baker, Nobuyuki Miyasaka and Takao Koike: Golimumab, A Human Anti-TNF Monoclonal Antibody, Administered Subcutaneously Every Four Weeks As Monotherapy in Patients with Active Rheumatoid Arthritis Despite Disease Modifying Antirheumatic Drug Therapy: Week 104 Results of Clinical, Radiographic and Safety Assessments. ACR2012: 2012. 11. 9-14, Washington D. C., USA.
17. Yoshiya Tanaka, Masayoshi Harigai, Tsutomu Takeuchi, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Kazuhiko Yamamoto, Yutaka Ishii, Daniel Baker, Nobuyuki Miyasaka and Takao Koike: Prevention of Joint Destruction in

Patients with High Disease Activity or High C-Reactive Protein. ACR2012: 2012. 11. 9-14, Washington D. C., USA.

18. Naoshi Nishina, Hideto Kameda, Yuko Kaneko, Masataka Kuwana and Tsutomu Takeuchi: Interleukin-6 As a Biomarker for the Clinical and Radiological Effectiveness of Methotrexate in Rheumatoid Arthritis. ACR2012: 2012. 11. 9-14, Washington D. C., USA.

19. Masako Tsukamoto, Yosuke Hashimoto, Tatsuhiro Ohshige, Keiko Yoshimoto, Yuko Kaneko, Hideto Kameda and Tsutomu Takeuchi: Fc γ Receptor IIIb Polymorphism Is Associated with Injection Reaction to Adalimumab in Patients with Rheumatoid Arthritis. ACR2012: 2012. 11. 9-14, Washington D. C., USA.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
無し

2. 実用新案登録
無し

3. その他
無し

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業
分担研究報告書

免疫難病に対する先駆的治療薬開発—生物製剤を中心とした
早期臨床試験拠点の医・薬集学的整備によるFIMの実施とPOCの確立

研究分担者 佐谷秀行 慶應義塾大学医学部先端医科学研究所 遺伝子制御部門 教授
研究分担者 河上 裕 慶應義塾大学医学部先端医科学研究所 細胞情報部門 教授

研究要旨：慢性移植片対宿主病はGraft versus host disease (GVHD)は、強い免疫反応を介した重篤な線維化により多臓器不全をきたし生活の質の著しい低下をきたす。我々は、これまでに慢性GVHDにおける線維化と組織障害に上皮間葉転換 (EMT) が関与することを報告した。トラニラストはすでに抗炎症作用と抗線維化作用により、癬痕性ケロイドとアレルギー性結膜炎に使用されている。一方で我々は、トラニラストは *in vitro* で強いEMT抑制効果をもつことを見出している。さらに、予備的な臨床試験で、トラニラスト点眼が眼慢性GVHDの進行を予防することを示した。そこで、本研究では、トラニラストの全身投与による慢性GVHDによって生じる炎症、線維化、前臨床試験と臨床試験とで検証することを目的とする。前臨床試験では、慢性GVHDによって生じる炎症・線維化病態を抑制した。同種骨髄移植による臓器障害を改善する治療法となる可能性が示された。またその際、薬剤効果の指標となるマーカーを非臨床試験において明確にし、今後ヒトでの臨床試験時にそれらマーカーの測定を行うことで、POCを得る。

A. 研究目的

慢性移植片対宿主病は Graft versus host disease (GVHD)は、強い免疫反応を介した重篤な線維化により多臓器不全をきたし生活の質の著しい低下をきたす。我々は、これまでに慢性GVHDにおける線維化と組織障害に上皮間葉転換 (EMT) が関与することを報告した。(Ogawa Y, Kawakami Y, et al. Am J Pathol 2009) トラニラストはすでに抗炎症作用と抗線維化作用により、癬痕性ケロイドとアレルギー性結膜炎に使用されている。一方で、我々は、トラニラストは *in vitro* で強いEMT抑制効果をもつことを見出している。(Takahashi E, Saya H, et al. J Biol Chem, 2010)。さらに、予備的な臨床試験で、トラニラスト点眼が眼慢性GVHDの進行を予防することを示した。(Ogawa Y, Tsubota K, et al. Bone Marrow Transplant, 2010)。そこで、本研究では、トラニラストの全身投与による慢性GVHDによって生じる炎症、線維化、前臨床試験と臨床試験とで検証することを目的とする。本研究では、慢性GVHDによって生じる炎症・線維化病態を抑制し、同種骨髄移植による臓器障害を改善する治療法を開発することを目的とする。またその際、薬剤効果の指標となるマーカー(身体的所見を含む)を非臨床試験において明確にし、ヒトでの臨床試験時に

それらマーカーの測定を行うことで、POCを得る。

B. 研究方法

マウス慢性GVHDモデルを用いて、既存薬スクリーニングによって取得した薬剤(トラニラスト)の抗炎症・抗線維化効果を検証する非臨床試験を実施した。薬物動態(PK)や薬効(PD)および毒性や副作用についても検討を行った。アレルギー性疾患やケロイド治療薬として既存薬であるトラニラストの遺伝毒性、生殖発生毒性、皮膚感作性毒性等については、すでに検討されて安全性が確認されている。GVHD動物モデルを用いて、さらに必要と考えられる薬物動態(PK)や薬効(PD)や副作用について検討を行った。慢性GVHDマウスモデルでは8週齢B10.D2(H-2d)マウスの全骨髄細胞を採取し、放射線照射後のBALB/c(H-2d)マウスに移植した。移植後3週後と8週後のレシピエントにおける涙液産生能、涙腺組織における病理組織像、線維化マーカーの発現を検討し、さらに超微形態を含めた組織学的解析にて、コントロールと比較して評価した。

トラニラストによるGVHD標的臓器の炎症・線維化抑制効果の検討では、炎症の指標には免疫細胞浸潤やサイトカイン等の評価、線維化の指標には組織切片における単位面積あたりの線維化部位

(Ruzek, Arthritis Rheumatism, 2004)を用いた。トラニラストの in vivo での抗炎症効果、線維化抑制効果、抗 EMT 効果および適切な投与量と投与期間、投与方法の検討をした。

(倫理面への配慮)

慶應義塾大学医学部動物実験ガイドラインの諸規定に従い動物福祉の精神に沿った、科学的な動物実験が行われるよう配慮する。動物実験のプロトコルを作成して、学内の動物実験委員会の承認を得ている。(承認番号 09152)

C. 研究結果

マウス GVHD モデルを用いて既存薬スクリーニングによって取得した薬剤 (トラニラスト) の抗炎症・抗線維化・抗 EMT 効果を検証する非臨床試験に着手した。マウス慢性 GVHD ではヒト慢性 GVHD に酷似した炎症と線維化所見が全身標的臓器に経時的に作成されることが確認された。レシピエント涙腺をはじめとする慢性 GVHD の標的臓器には、ヒト GVHD 病変の過剰な線維化、炎症性細胞浸潤、ドナー由来線維芽細胞の存在とその活性化の 4 点においてその所見を再現していることを確認した。トラニラストの腹腔内投与により各標的臓器における単位面積あたりの炎症細胞浸潤と、線維化面積および活性化線維芽細胞数の減少が認められた。電子顕微鏡を用いた超微形態での観察においても、トラニラスト投与群で線維化部位の減少が認められた。経口投与にても検討を開始した。

D. 考察

前臨床試験におけるトラニラストの腹腔内投与で慢性 GVHD 発症前の予防的投与において病理組織学的に炎症性細胞浸潤と線維化形成の抑制が認められ、トラニラストのもつ抗炎症効果と抗線維化効果、さらに抗 EMT 効果が今後前臨床試験で有用であると考えられた。

臨床試験の準備のために今後は経口投与による検討とおよび慢性 GVHD 発症前の予防的投与と慢性 GVHD 発症時からの治療的投与による比較検討を重ねる必要がある。予備実験では前臨床試験の結果が有用である結果が得られており、より臨床に近い投与方法を可及的すみやかに前臨床試験で模索し、臨床試験への早期実現にむけた準備が必要と考える。

E. 結論

マウス慢性 GVHD モデルの作成の手技を確立し、

非臨床試験に着手した結果、トラニラストの予防的腹腔内投与で病理組織学的に炎症性細胞浸潤と線維化の形成を抑制が確認された。

F. 健康危険情報

特記すべきものなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kamoi M, Ogawa Y, Nakamura S, Dogru M, Nagai T, Obata H, Ito M, Kaido M, Kawakita T, Okada Y, Kawakami Y, Shimmura S, Tsubota K. Accumulation of Secretory Vesicles in the Lacrimal Gland Epithelia Is Related to Non-Sjögren's Type Dry Eye in Visual Display Terminal Users. PLoS ONE. 7(9):e43688, 2012
2. Mishima K, Inoue H, Nishiyama T, Mabuchi Y, Amano Y, Ide F, Matsui M, Yamada H, Yamamoto G, Tanaka J, Yasuhara R, Sakurai T, Lee MCI, Chiba K, Sumimoto H, Kawakami Y, Matsuzaki Y, Tsubota K, Saito I. Transplantation of Side Population Cells Restores the Function of Damaged Exocrine Glands Through Clusterin. STEM CELLS. 30(9):1925-1937, 2012
3. Yaguchi S, Ogawa Y, Shimmura S, Hatou S, Nakamura S, Inaba T, Imada T, Ozawa Y, Kawakami Y, Ishida S, Tsubota K. Presence and physiologic function of the Renin-Angiotensin System in mouse lacrimal gland. Invest Ophthalmol Vis Sci. 53(9):5416-5425, 2012

2. 学会発表

1. 佐谷秀行 「神経線維腫症 I 型の分子生物学的特性とその責任遺伝子変異解析」 シンポジウム 4 Neurofibromatosis Update 第 30 回 日本脳腫瘍病理学会 平成 24 年 5 月 24 日 名古屋国際会議場、名古屋
2. 小川葉子, 榛村重人, 森川暁, 馬淵洋, 谷口智憲, 谷口紗織, 稲葉隆明, 岡本真一郎, 河上裕, 岡野栄之, 松崎有未, 坪田一男. 自己免疫疾患様反応を示す眼慢性 GVHD マウスモ

- デルのT細胞と間葉系幹細胞の相互作用. 第21回日本シェーグレン症候群学会学術集会, 京都, 2012/9/7
3. 小川葉子, 榛村重人, 森川暁, 馬淵洋, 谷口智憲, 谷口紗織, 河上裕, 岡野栄之, 松崎有未, 坪田一男. 眼慢性移植片対宿主病におけるレシピエント由来T細胞の役割の検討. 第36回日本角膜学会総会 角膜カンファレンス, 東京, 2012/4/6
 4. 安里輝, 小川葉子, 榛村重人, 谷口紗織, 河上裕, 坪田一男. 造血幹細胞移植後の慢性移植片対宿主病における涙液産生障害進展機序の解明. 平成24年度94回生 自主学習成果発表会プログラム, 東京(慶應義塾大学医学部 北里講堂) , 2012/11/16
 5. 鳥崎友紀子, 小川葉子, 榛村重人, 谷口紗織, 河上裕, 坪田一男. 慢性移植片対宿主病症例の結膜における免疫担当細胞の局在とT細胞の活性化. 平成24年度94回生 自主学習成果発表会プログラム, 東京(慶應義塾大学医学部 北里講堂) 2012/11/16
 6. Ogawa Y, Shimmura S, Morikawa S, Yaguchi T, Yaguchi S, Inaba T, Kawakami Y, Okano H, Matsuzaki Y, Tsubota K., Interaction between donor mesenchymal stem cells and recipient-derived T cells in the pathogenesis of ocular chronic graft versus host disease., The association for research in vision and ophthalmology 2012 (ARVO 2012) Annual Meeting, , Fort Lauderdale, Florida, USA. 2012/5/8
 7. Ogawa Y, Shimmura S, Morikawa S, Mabuchi Y, Suzuki S, Tomonori Y, Yaguchi S, Inaba T, Okamoto S, Kawakami Y, Okano H, Matsuzaki Y, Tsubota K., Donor mesenchymal stem cells trigger chronic graft-versus-host disease following minor antigen-mismatched bone marrow transplantation. , 2nd International chronic ocular graft-vs-host disease (GVHD) consensus meeting. Fort Lauderdale, Florida, USA. 2012/5/4.
 8. Ogawa Y, Shimmura S, Morikawa S, Mabuchi Y, Yaguchi Y, Inaba T, Kawakami Y, Okano H, Matsuzaki Y, Tsubota K. A role of recipient-derived T cells in ocular chronic graft-versus-host disease., 1st Conference on the Tear Film and Ocular Surface in Asia, Kanagawa, Japan. 2012/4/3
 9. Hayashi I, Ogawa Y, Shimmura S, Kawakita T, Yaguchi S, Okamoto S, Kawakami Y, Tsubota K. Localization of immunocompetent cells in lacrimal gland of patients with chronic graft-versus-host disease (cGVHD) and T-cell activation., 1st Conference on the Tear Film and Ocular Surface in Asia, , Kanagawa, Japan. 2012/4/3
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
1. 特許取得
無し
 2. 実用新案登録
無し
 3. その他
無し

研究成果の刊行に関する一覧表