

201336005A

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  
(早期・探索的臨床試験 研究分野)

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25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 竹内 勤

平成26(2014)年5月

# 目次

I. 研究組織 .....	1
II. 総括研究報告 .....	3
III. 分担研究報告	
1. 消化器内科領域 .....	5
2. リウマチ内科領域 .....	9
3. 免疫難病の新規化合物探索及び評価 .....	17
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	21

# I. 研究組織

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

研究組織

研究者名	分担する研究項目	所属研究機関及び現在の専門	所属研究機関における職名
竹内 勤	リウマチ内科領域の研究統括	慶應義塾大学医学部 リウマチ内科学	教授・病院長
河上 裕	免疫難病の新規化合物探索及び評価	慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 腫瘍免疫学	教授
佐谷 秀行	免疫難病の新規化合物探索及び評価	慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 腫瘍生物学	教授
佐藤 裕史	臨床試験の全般的運営と産学連携	慶應義塾大学医学部 クリニカルリサーチセンター 臨床研究方法論、臨床薬物動態学、精神医学、製薬医学	教授・クリニカルリサーチセンター長
三宅 真二	関連する薬事法関係規制、ガイドラインの調査研究とそれに基づく臨床試験計画への助言(支援)	慶應義塾大学医学部 クリニカルリサーチセンター 薬事・レギュラトリーサイエンス	特任教授
金井 隆典	消化器内科領域の試験担当	慶應義塾大学医学部 消化器病学	教授・免疫統括医療センターセンター長
佐藤 俊朗	消化器内科領域の試験担当	慶應義塾大学医学部 消化器病学・幹細胞医学	特任准教授
小川 葉子	免疫難病の新規化合物探索及び評価の試験担当	慶應義塾大学医学部 眼科学	特任准教授

## Ⅱ. 総括研究報告

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

タイトル 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 竹内 勤 慶應義塾大学病院 病院長

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、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。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の開発を鋭意推進しつつある。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 試験に向けて、内視鏡による粘膜移植技術とGMP 準拠の幹細胞培養との改善に注力した。第二に、成人Still 病におけるトシリズマブの医師主導型試験の遂行体制を整備したのち治験を開始し、並行して、関節リウマチ患者におけるサイトカインに対するトシリズマブの影響を検討する臨床研究も開始した。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完遂し、次年度に予定される臨床試験のプロトコール作成を行なった。また、本事業（整備事業）で整備した臨床試験病棟の運用を開始しており、先ずクローン病患者対象の第一相治験（企業主導）、次いで関節リウマチ患者対象の第一相治験（企業主導）が始まったところである。

#### 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25年度には各領域における候補化合物に関して、付加的な非臨床試験の遂行に注力しつつ、臨床試験の準備・開始を目標とした。

#### 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、各領域で最終決定した候補化合物について、追加すべき非臨床試験を完遂するとともに、臨床試験の準備を進めることができ、成人Still 病については治験届提出ののち医師主導型治験を開始した。

#### D. 考察

各領域で定めた候補化合物について、適宜医薬品医療機器総合機構の薬事戦略相談や対面助言を得、対象疾患における臨床試験の準備・開始と、非臨床試験の完遂を進めてきたが、①regulatory science の観点からの十分な吟味と、②規制要件と費用・行程表とを全て満足した効率的運営（円滑迅速な産学連携による企業・他学との協力を含む）の二点が、全ての研究計画に共通した喫緊の要事であり、本研究事業の完遂に向けてこれらの点での注力続ける。

#### E. 結論

数年の準備期間を経て、早期・探索的臨床試験（医師主導型治験）の開始に至り、次年度以降も複数の臨床試験が順次進行していく予定である。化合物や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、加えて稀少疾患故の組入れの難しさも大きい。研究全体の完遂に向けて、一試験の準備・運営から得られた規制科学・臨床研究・運営それぞれの経験と工夫を、他試験にも十二分に活用していくことで、より効率よく確実な試験進捗が期待できるものと考えられる。

#### F. 健康危険情報

特になし

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. 特許取得

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

3. その他

特になし

### Ⅲ. 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  
分担研究報告書

タイトル 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 金井 隆典 慶應義塾大学医学部消化器内科 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 特任准教授

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25年度は内視鏡的な粘膜移植技術の改善のため、大動物を用いた移植方法、線維芽細胞との共培養による移植細胞の安定性改善と低コスト化、培養細胞のGMP化に取り組んだ。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・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。実際に、近年の潰瘍性大腸炎の長期寛解導入は粘膜治癒と相関することが明らかになった。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(Shiro Y et al. Nature Medicine 2012, Sato T et al. Science 2013)。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、線維芽細胞の培養法を確立し、共に内視鏡的に投与する。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、ヒト腸管粘膜線維芽細胞の安定長期培養を確立した。線維芽細胞と上皮幹細胞の共培養により、増殖因子の低減を図ることが可能となった。

レンチウイルスによりEGFP標識した上皮細胞を用い、ブタ腸管粘膜への内視鏡的移植を行った。

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。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。さらなる培養効率改善のために、ラミニンフラグメント添加による細胞外基質の安定化を検討している。また、Wnt-3 の新しい技術で精製した Wnt タンパクを用い、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) Nakaya T, Ogawa S, Manabe I, Tanaka M, Sanada M, Sato T, Taketo MM, Nakao K, Clevers H, Fukayama M, Kuroda M, Nagai R. KLF5 regulates the integrity and oncogenicity of intestinal stem cells. *Cancer Res.* 2014 (in press) PMID: 24626089
- 2) Mikami Y, Mizuno S, Nakamoto N, Hayashi A, Sujino T, Sato T, Kamada N, Matsuoka K, Hisamatsu T, Ebinuma H, Hibi T, Yoshimura A, Kanai T. Macrophages and Dendritic Cells Emerge in the Liver during Intestinal Inflammation and Predispose the Liver to Inflammation. *PLoS One.* 2014 2;9:e84619.
- 3) Mahe MM, Aihara E, Sato T, Shroyer NF. Establishment of gastro-intestinal epithelia-organoids. *Current Protocols in Molecular Biology* (in press)
- 4) Sato T, Clevers H. Growing self-organizing mini-guts from a single intestinal stem cell: mechanism and applications. *Science.* 2013;340:1190-4.
- 5) Sato T, Clevers H, Primary culture for small intestinal stem cells. *Methods in Molecular Biology.* 2013;945:319-28.
- 6) \*Huch M<sup>#</sup>, Bonfanti P<sup>#</sup>, Boj SF<sup>#</sup>, Sato T<sup>#</sup>, Loomans CJ, van de Wetering M, Sojoodi M, Li VS, Schuijers J, Gracanin A, Ringnald F, Begthel H, Hamer K, Mulder J, van Es JH, de Koning E, Vries RG, Heimberg H, Clevers H. Unlimited in vitro expansion of adult bi-potent pancreas progenitors through the Lgr5/R-spondin axis. *EMBO J.* 2013 Oct 16;32(20):2708-21. <sup>#</sup>Equal authorship
- 7) Takabayashi K, Kashiwagi K, Kawata T, Sato T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Takaishi H, Hibi T, Ogata H, Yahagi N, Kitagawa Y, Shigematsu N, Kanai T. Continuous low-dose irradiation by I-125 seeds induces apoptosis of gastric cancer cells regardless of histological origin. *Cancer Biol Ther.* 2013;15.
- 8) \*Hayashi A, Sato T, Kamada N, Mikami Y, Matsuoka K, Hisamatsu T, Hibi T, Roers A, Yagita H, Ohteki T, Yoshimura A, Kanai T. A single strain of *Clostridium butyricum* induces intestinal IL-10-producing macrophages to suppress acute experimental colitis in mice. *Cell Host Microbe.* 2013 12;13:711-22.
- 9) Miyoshi J, Matsuoka K, Inoue N, Hisamatsu T, Ichikawa R, Yajima T, Okamoto S, Naganuma M, Sato T, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. Mucosal healing with oral tacrolimus is associated with favorable medium- and long-term prognosis in steroid-refractory/dependent ulcerative colitis patients. *J Crohns Colitis.* 2013. 15;7:e609-14.
- 10) Miyake M, Toguchi H, Nishibayashi T, Higaki K, Sugita A, Koganei K, Kamada N, Kitazume MT, Hisamatsu T, Sato T, Okamoto S, Kanai T, Hibi T. Establishment of novel prediction system of intestinal absorption in humans using

human intestinal tissues. J Pharm Sci. 2013;102:2564-71.

- 11) Yoneno K, Hisamatsu T, Shimamura K, Kamada N, Ichikawa R, Kitazume MT, Mori M, Uo M, Namikawa Y, Matsuoka K, Sato T, Koganei K, Sugita A, Kanai T, Hibi T. TGR5 signalling inhibits the production of pro-inflammatory cytokines by in vitro differentiated inflammatory and intestinal macrophages in Crohn's disease. Immunology. 2013;139:19-29.
- 12) Matsumoto A, Kanai T, Mikami Y, Chu PS, Nakamoto N, Ebinuma H, Saito H, Sato T, Yagita H, Hibi T. IL-22-producing ROR $\gamma$ t-dependent innate lymphoid cells play a novel protective role in murine acute hepatitis. PLoS One. 2013;8:e62853.
- 13) Handa T, Kanai T, Sato T, Mikami Y, Sujino T, Hayashi A, Mizuno S, Matsumoto A, Hisamatsu T, Hibi T. Dendritic cells administered intrarectally penetrate the intestinal barrier to break intestinal tolerance via Th2-mediated colitis in mice. Immunol Lett. 2013;150:123-9.
- 1) 佐藤俊朗. Wnt シグナルによる消化器上皮幹細胞制御. Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌. 2014:152-155
- 2) 南木康作, 藤井正幸, 佐藤俊朗. 腸の再生機構. 幹細胞研究と再生医療. 中内啓光編. 南江堂 2013年 p61-68
- 3) 股野麻未, 佐藤俊朗. 大腸がん幹細胞の機能解析法. がん基盤生物学-革新的シーズ育成に向けて- 清木元治 編 南江堂 2013年 p42-45
- 4) 半田単己, 佐藤俊朗. 腸管上皮幹細胞の加齢・老化とそれに伴う関連疾患. 内分泌・糖尿病・代謝内科 2013;37:198-202
- 5) 佐藤俊朗. Wnt シグナルを利用した消化器組織再生技術“オルガノイド培養”の開発. 細胞工学 2013;32:421-424
- 6) 佐藤俊朗. 腸管上皮幹細胞の老化. Anti-Aging Medicine. 2013;9:47-52
- 7) 佐藤俊朗. 腸管上皮幹細胞ニッチによる幹細胞制御機構. 分子消化器病 2013;10:17-21

## 2. 学会発表

- 1) 佐藤俊朗. ミニ組織技術を用いた大腸がん幹細胞制御機構の解明. がん研究分野の特性等を

踏まえた支援活動 公開シンポジウム 一橋講堂, 竹橋 2014年1月30日.

- 2) 佐藤俊朗. 幹細胞ニッチシグナルによる腸管上皮幹細胞制御機構. 大阪大学蛋白質研究所セミナー. 細胞が集団になって初めて発現する機能. 大阪大学蛋白質研究所 2013年11月28日
- 3) Toshiro Sato. Molecular mechanism of intestinal stem cell self-renewal: Stem cells and their niche signals. The graduate course in Molecular and Developmental Biology. (Prof. Noah Shroyer & Prof. James Wells) Cincinnati Children's. USA. 2013. 11. 13
- 4) Toshiro Sato. Molecular mechanism of intestinal stem cell self-renewal: Stem cells and their niche signals. University of Michigan Center for Organogenesis Seminar. (Prof. Linda Samuelson & Prof. Jason Spence) University of Michigan Center, USA. 2013. 11. 12
- 5) Toshiro Sato, Ai Takano, Shoichi Date, Mami, Matano, Mariko Shimokawa, Takanori Kanai. Molecular mechanism of intestinal carcinogenesis; Stem cells and their niche signals. Symposia 12, Aberrant signal transduction and therapeutic strategy for molecular target. 第72回日本癌学会学術総会 横浜 2013年10月3日
- 6) 佐藤俊朗 腸管上皮幹細胞培養技術の確立～幹細胞ニッチと自己複製機構の解明～. 第6回 Symphony 飯田橋 2013年9月22日
- 7) Toshiro Sato, Mami Matano, Shoichi Date, Ai Takano, Mariko Shimokawa. Molecular mechanism of intestinal stem cell self-renewal: Stem cells and their niche signals. International Symposium 3. Molecular mechanisms for the growth and differentiation of tissue-specific stem cells in mammals. 第86回日本生化学会大会 横浜 2013年9月11日
- 8) Toshiro Sato. Establishment of intestinal stem cell culture: basic and application. European Cancer Stem Cells Research meeting. Cardiff Univ. UK. Invited Speaker 2013. 7. 25
- 9) Toshiro Sato. Establishment of patient-derived colorectal cancer/adenoma organoid culture system: an application to tubulology. 1<sup>st</sup> International Meeting for

Epithelial Tubulology (Sapporo) 2013. 6. 22

- 10) 佐藤俊朗 腸管上皮幹細胞の自己複製機構：幹細胞ニッチと発がん 第13回GIリサーチフォーラム 東北大学 2013年6月19日
- 11) 佐藤俊朗 消化器幹細胞培養による組織再生技術 基礎から応用 徳島大学疾患酵素学研究センター セミナー 徳島大学2013年5月23日
- 12) 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. Washington DC, USA. 2013. 4. 6

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

##### 1. 特許取得

名称：Culture medium for epithelial stem cells and organoids comprising the stem cells

発明者：Toshiro Sato, Johannes Carolus Clevers

権利者：Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen

種類：特許

番号：US 864229 B2

取得年月日：2014年2月4日

国内外の別：海外

##### 2. 実用新案登録

特になし

##### 3. その他

特になし

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

タイトル 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 竹内 勤 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 教授

研究要旨：成人スティル病(ASD)は発熱、皮疹、関節炎、リンパ節腫脹、肝脾腫などを認める炎症性疾患である。原因はいまだ不明であるが、血中サイトカインの異常上昇が病態に関係していると考えられ、治療薬として抗インターロイキン(IL)-6 受容体抗体であるトシリズマブ (TCZ) の有用性が期待されている。平成 25 年度は、医師主導型治験として TCZ を対象とした ASD に対する治験遂行体制を整備し試験を開始したのと同時に、類縁疾患である関節リウマチ患者を対象として TCZ 投与下での血中サイトカイン動態を追跡し、TCZ がサイトカインネットワークに及ぼす影響と、今後の ASD に対する研究の疾患コントロールとしてのデータを収集し解析した。

#### A. 研究目的

成人スティル病(ASD)は、小児の若年性特発性関節炎(sJIA)に類似した病態が成人で発症した疾患である。発熱、関節炎、皮疹を主徴とし、全身性炎症をきたす疾患である。sJIAにおいては、インターロイキン(IL)-6 が病態に重要であり、抗 IL-6 受容体抗体製剤であるトシリズマブ(TCZ)が既に治療薬として承認され、現在では中心的治療薬として位置づけられているが、ASDにおいてもTCZの有用性に関する症例報告が散見されている。

しかし、ASDは本邦における患者数が約2000人と希少疾患であり、企業治験の実現性が低い、エビデンスが欠如している。

そこで我々は本事業の取り組みのひとつとして、ASDに対するTCZを対象とした医師主導型治験を施行し、Proof of conceptを確立するとともに、治療薬としての承認を目指すこととした。

平成25年度は、(1)臨床試験のプロトコルを検討、固定し治験を開始すること、および(2)ASDの類縁疾患である関節リウマチ(RA)を対象として、TCZ投与前後で血中サイトカイン動態を測定し、ASDと対比可能な疾患コントロールデータを収集すること、の2点を目的とした。

#### B. 研究方法

(1) 医薬品医療機器総合機構との対面助言を経て、治験プロトコルを固定し、治験届け提出、治験開始のスケジュールを計画した。

(2) 2010年3月から2012年3月までに、TCZ治療を1剤目生物学的製剤として開始されたRA患者70

例を対象とした。十分な説明の後文書同意を得て、TCZ投与前から経時的に1年間、研究目的でも血液採取を行った。採血検体から血漿を分離し、検出限界1pg/mlの感度で測定可能なSECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery, MSD)を使用した電気化学発光ELISA法により、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。臨床情報は匿名化のうえで診療録から収集し、バイオマーカーとの関連を統計解析した。

(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

(1) 2013年9月に医薬品総合機構との対面助言を行った。その後、治験遂行体制を整備すると同時に治験プロトコル作成を進め、2014年1月に治験届けを提出、2月より治験開始、患者組み入れが可能となった。

(2) RAにおいて、TCZ投与前の血漿IL-6、IL-17、sICAM-1濃度がCRPや疾患活動性と相関していた。TCZ投与開始後IL-6濃度は1年間経時的に上昇し、同時にIL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-10、IL-17、vascular endothelial growth factor(VEGF)、soluble intercellular adhesion molecule(sICAM)-1が低下することが示された。特に54週では、IL-6は366%上昇し(P=0.00)、IL-1 $\beta$ が-21.7%(P=0.03)、sICAM-1が-7.2%(P=0.01)、VEGFが-47.7%(P=0.00)低下し、有意であった。

#### D. 考察

RAにおけるTCZ投与後54週間のサイトカインを含むバイオマーカー動態が明らかとなった。可溶性IL-6Rを阻害するTCZは投与後にIL-6濃度が上昇することは知られていたが、VFGFやIL-2、IL-1 $\beta$ が低下することが示された。これらは、他の生物学的製剤であるTNF阻害薬やT細胞副刺激因子阻害薬では異なる動態を示すことが我々の研究から明らかとなっており、TCZがサイトカインネットワークに及ぼす影響を考える上で重要な知見である。また、今後ASD治験遂行の過程で、これらサイトカイン濃度を測定する予定であるが、本研究により関節リウマチを疾患コントロールとした比較が可能となり、ASDの病態解明への道筋となる可能性も示唆された。

#### E. 結論

生物学的製剤による分子標的療法は、RAにおいては目覚ましい治療効果をあげているが、今後は他疾患への適用を視野に、薬効の解明と科学的な有用性を立証していくことが重要である。本研究により得られたサイトカイン動態をさらに発展させ、病態解明と最適な治療実現に向けて研究を推進する。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kaneko Y, Kondo H, Takeuchi T. American college of rheumatology/european league against rheumatism remission criteria for rheumatoid arthritis maintain reliable performance when evaluated in 44 joints. *J Rheumatol*. 2013;40(8):1254-8.
- 2) Mitsunaga S, Hosomichi K, Okudaira Y, Nakaoka H, Kunii N, Suzuki Y, Kuwana M, Sato S, Kaneko Y, Homma Y, Kashiwase K, Azuma F, Kulski JK, Inoue I, Inoko H. Exome sequencing identifies novel rheumatoid arthritis-susceptible variants in the BTNL2. *J Hum Genet*. 2013;58(4):210-5.
- 3) Kaneko Y, Kuwana M, Takeuchi T, Oddis CV. Osteolytic change of distal interphalangeal joints and sacroiliac joints in subluxing arthropathy associated with anti-Jo-1 antibody. *Joint Bone Spine*. 2013;80(5):544-5.
- 4) Nishina N, Kaneko Y, Kameda H, Kuwana M, Takeuchi T. Reduction of plasma IL-6 but not TNF- $\alpha$  by methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis: a potential biomarker for radiographic progression. *Clin Rheumatol*. 2013;32(11):1661-6.
- 5) Nishimoto T, Seta N, Anan R, Yamamoto T, Kaneko Y, Takeuchi T, Kuwana M. A single nucleotide polymorphism of TRAF1 predicts the clinical response to anti-TNF treatment in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2013;32(2):211-7.
- 6) Tanaka Y, Takeuchi T, Amano K, Saito K, Hanami K, Nawata M, Fukuyo K, Kameda H, Kaneko Y, Kurasawa T, Nagasawa H, Hoshi D, Sato E, Yamanaka H. Effect of interleukin-6 receptor inhibitor, tocilizumab, in preventing joint destruction in patients with rheumatoid arthritis showing inadequate response to TNF inhibitors. *Mod Rheumol*. 2013 [in press]
- 7) Kaneko Y, Hanaoka H, Hirakata M, Takeuchi T, Kuwana M. Distinct arthropathies of the hands in patients with anti-aminoacyl tRNA synthetase antibodies: usefulness of autoantibody profiles in classifying patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2014 [in press]
- 8) Izumi K, Kaneko Y, Yasuoka H, Seta N, Kameda H, Kuwana M, Takeuchi T. Tocilizumab is clinically, functionally, and radiographically effective and safe either with or without low-dose methotrexate in active rheumatoid arthritis patients with inadequate responses to DMARDs and/or TNF inhibitors: A single-center retrospective cohort study (KEIO-TCZ study) at week 52. *Mod Rheumatol*. 2014. [in press]
- 9) Sugano K, Kinoshita Y, Miwa H, Takeuchi T, and the esomeprazole NSDAID preventive study group. Randomised clinical trial: esomeprazole for the prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drug-related peptic ulcers in Japanese patients. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* [in press]
- 10) 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]
- 11) Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Tanaka Y, Yamanaka H, Hirose T, Yoshinaga T, and Suzukawa M. Safety and effectiveness of 6 months etanercept monotherapy and combination therapy in Japanese patients with Rheumatoid Arthritis: Effect of concomitant disease-modifying anti-rheumatic drugs. *J Rheumatology* [in press]
  - 12) Nishimoto N, Koichi Amano, Yasuhiko Hirabayashi, Takahiko Horiuchi, Tomonori Ishii, Mitsuhiro Iwahashi, Masahiro Iwamoto, Hitoshi Kohsaka, Masakazu Kondo, Tsukasa Matsubara, Toshihide Mimura, Hisaaki Miyahara, Shuji Ohta, Yukihiko Saeki, Kazuyoshi Saito, Hajime Sano, Kiyoshi Takasugi, Tsutomu Takeuchi, Shigeto Tohma, Tomomi Tsuru, Yukitaka Ueki, Jiro Yamana, Jun Hashimoto, Takaji Matsutani, Miho Murakami, Nobuhiro Takagi. Retreatment efficacy and safety of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis in recurrence (RESTORE) study. *Mod Rheum* [in press]
  - 13) Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Takei S, Tanaka Y, Sano Y, Yamaguchi H, Yamanaka H. Characteristics related to good effectiveness and safety with tocilizumab: Post-marketing surveillance of 7901 rheumatoid arthritis patients in Japan. *J Rheum* [in press]
  - 14) Sugano K, Kinoshita Y, Miwa H, Takeuchi T, and Esomeprazole NSAID Prevention study group. Safety and efficacy of long-term esomeprazole 20mg in Japanese patients with a history of peptic ulcer receiving daily non-steroidal anti-inflammatory drugs. *BMC Gastroenterology* [in press]
  - 15) Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Shoji T, Sakamaki Y, van der Heijde D, Miyasaka N, and Koike T. Efficacy and safety of certolizumab pegol plus methotrexate in Japanese rheumatoid arthritis patients with inadequate response to methotrexate: the J-RAPID randomized, placebo-controlled trial. *Mod Rheum* in press.
  - 16) Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Iwai K, Sakamaki Y, van der Heijde D, Miyasaka N, and Koike T. Efficacy and safety of certolizumab pegol without methotrexate co-administration in Japanese patients with active rheumatoid arthritis: the HIKARI randomized, placebo-controlled trial. *Mod Rheum* in press.
  - 17) Tanaka Y, Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Shoji T, Miyasaka N, and Koike T. Long-term efficacy and safety of certolizumab pegol in Japanese rheumatoid arthritis patients who could not receive methotrexate: 52-week results from an open-label extension of the HIKARI study. *Mod Rheum* in press.
  - 18) Tanaka Y, Kubo S, Yamanaka H, Amano K, Hirata S, Tanaka E, Nagasawa H, Yasuoka H, Takeuchi T. Efficacy and safety of abatacept in routine care of patients with rheumatoid arthritis: Orenzia as Biological Intensive Treatment for RA (ORBIT) study. *Mod Rheum* in press.
  - 19) Takeuchi T, Kawai S, Yamamoto K, Harigai M, Ishida K, Miyasaka M. Post-marketing surveillance of the safety and effectiveness of tacrolimus in 3267 Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheum* 24:8-16, 2014.
  - 20) Tsuboi H, Hagiwara S, Asashima H, Umehara H, Kawakami A, Nakamura H, Sano H, Tsubota K, Ogawa Y, Takamura E, Saito I, Inoue H, Nakamura S, Moriyama M, Takeuchi T, Tanaka Y, Hirata S, Mimori T, Matsumoto I, and Sumida T. Validation of different sets of criteria for the diagnosis of Sjogren's syndrome in Japanese patients. *Mod Rheum* 23:219-225, 2013.
  - 21) Takeuchi T, Suzuki K. CD247 variants single nucleotide polymorphisms observed in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* online March 23, 2013.
  - 22) Nishina N, Kaneko Y, Kameda H, Kuwana M,

- Takeuchi T.** Reduction of plasma IL-6, but not TNF- $\alpha$  by methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis: a potential biomarker for radiographic progression. *Clinical Rheumatology* 32:1661-6, 2013.
- 23) **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* 23:226-235, 2013.
- 24) Sakai R, Nagasawa H, Nishi E, Okuyama A, Takei H, Kurasawa T, Kondo T, Nishimura K, Shirai Y, Ito T, Kameda H, **Takeuchi T**, 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.
- 25) **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* 72:1488-95, 2013.
- 26) **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* 23:623-33, 2013.
- 2) **T. Takeuchi**, Y. Kaneko, T. Atsumi, Y. Tanaka, M. Inoh, H. Kobayashi, K. Amano, M. Miyata, Y. Murakawa, T. Fujii, A. Kawakami, H. Yamanaka, K. Yamamoto, N. Miyasaka, T. Mimori: Adding tocilizumab or switching to tocilizumab monotherapy in patients with inadequate response to methotrexate: 24-week results from a randomized controlled study (surprise study). Madrid, Spain. 2013.6.13
- 3) H. Yamanaka, K. Yamamoto, **T. Takeuchi**, N. Ishiguro, Y. Tanaka, K. Eguchi, A. Watanabe, H. Origasa, T. Shoji, S. Onodera, N. Miyasaka, T. Koike: Week 12 clinical response to certolizumab pegol predicts long-term outcomes regardless of concomitant medications and baseline disease characteristics in Japanese patients with active rheumatoid arthritis. Madrid, Spain. 2013.6.13
- 4) **T. Takeuchi**, N. Wakasugi, H. Makino. Keio University, Astellas Pharma Inc., Tokyo, Okayama University, Okayama, Japan: Long-term safety and efficacy of tacrolimus for lupus nephritis patients -interim analysis of post marketing surveillance in 1375 patients in Japan (TRUST study). Madrid, Spain. 2013.6.13
- 5) N. Nishina, J. Kikuchi, M. Hashizume, K. Yoshimoto, H. Kameda, **T. Takeuchi**: baseline soluble interleukin-6 receptor levels predict the clinical effectiveness of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis. Madrid, Spain. 2013.6.14
- 6) J. Kikuchi, H. Kameda, K. Yoshimoto, **T. Takeuchi**: Low serum interleukin-6 level at baseline, rather than at follow-up, is associated with favorable radiographic outcome in rheumatoid arthritis patients treated with abatacept. Madrid, Spain. 2013.6.14
- 7) **T. Takeuchi**, M. Harigai, Y. Tanaka, H. Yamanaka, N. Ishiguro, K. Yamamoto, Y. Murakami, T. Yoshinari, D. Baker, N. Miyasaka, T. Koike: golimumab monotherapy in patients with active rheumatoid arthritis despite dmard therapy: week 104 results of clinical, radiographic and safety assessments

## 2. 学会発表

- 1) Yuko Kaneko, Hironari Hanaoka, et al. Distinct arthropathies in patients with anti-aminoacyl tRNA synthetase antibodies: utility of autoantibody profiles in discrimination. American College of Rheumatology 77th Annual Meeting, San Diego, October 26-30, 2013



- including evaluation of remission using the new acr/ular criteria. Madrid, Spain. 2013. 6. 14
- 8) **T. Takeuchi**, T. Yano, T. Inui, T. Yoshinari, N. Miyasaka, T. Abe, T. Koike: Achievement of low disease activity (lda) at 3 months predicts clinical remission (rem) at 1 year of infliximab (ifx) therapy in ra: post-hoc analysis of a randomized double-blind clinical study (rising study). Madrid, Spain. 2013. 6. 14
  - 9) **T. Takeuchi**, K. Yamamoto, H. Yamanaka, N. Ishiguro, Y. Tanaka, K. Eguchi, A. Watanabe, H. Origasa, Y. Wada, T. Shoji, N. Miyasaka, T. Koike: Immunogenicity of certolizumab pegol without concomitant methotrexate and clinical response in rheumatoid arthritis patients: post-hoc analysis of the hikari study. Madrid, Spain. 2013. 6. 14
  - 10) Y. Tanaka, M. Harigai, **T. Takeuchi**, H. Yamanaka, N. Ishiguro, K. Yamamoto, Y. Murakami, T. Yoshinari, D. Baker, N. Miyasaka, T. Koike: Golimumab administered subcutaneously every four weeks in patients with active rheumatoid arthritis despite methotrexate therapy: long-term clinical, radiographic and safety results, including evaluation of remission using the new acr/ular criteria. Madrid, Spain. 2013. 6. 14
  - 11) Y. Tanaka, **T. Takeuchi**, T. Mimori, N. Miyasaka, T. Koike and RRR Study Investigators: The possibility and predictive factors of maintaining low disease activity and joint structure after discontinuation of infliximab in ra patients: results from 3-year experience of rrr study. Madrid, Spain. 2013. 6. 14
  - 12) G. Burmester, **T. Takeuchi**, O. Barbarash, G. Ranganathan, D. Close, A. Godwood, D. Saurigny and EARTH Study Group.: Consistent efficacy and safety outcomes between european and japanese subjects with rheumatoid arthritis following treatment with mavrilimumab in the phase 2 earth study. Madrid, Spain. 2013. 6. 14
  - 13) K. Amano, T. Matsubara, H. Inoue, M. Iwahashi, A. Yamazaki, C. S. Karyekar, **T. Takeuchi** and Department of RheuJapan Abatacept Study Group: Long-term safety and efficacy of treatment with subcutaneous abatacept in japanese patients with ra who were mtz inadequate responders - 76-week results. Madrid, Spain. 2013. 6. 14
  - 14) **T. Takeuchi** on behalf of ORION study group, T. Matsubara, S. Ohta, M. Mukai, K. Amano, S. Tohma, Y. Tanaka, H. Yamanaka, N. Miyasaka and ORION study group: Abatacept biologic-free remission study in established rheumatoid arthritis patients orion study. Madrid, Spain. 2013. 6. 15
  - 15) M. Harigai, S. Inokuma, N. Ishiguro, J. Ryu, **T. Takeuchi**, S. Takei, Y. Tanaka, H. Yamanaka, Y. Sano, H. Yaguramaki, T. Koike: Characteristics associated with better effectiveness and safety in rheumatoid arthritis patients treated with intravenous tocilizumab: results from full analysis of all-patient postmarketing surveillance in japan. Madrid, Spain. 2013. 6. 15
  - 16) **T. Takeuchi**, Y. Tanaka, K. Amano, J. Kikuchi, E. Tanaka, S. Hirata, H. Nagasawa, H. Yasuoka, H. Yamanaka: Effectiveness of abatacept against rheumatoid arthritis in daily clinical practice - ORBIT STUDY. Madrid, Spain. 2013. 6. 15
  - 17) Yoshiya Tanaka, Kazuhiko Yamamoto, **Tsutomu Takeuchi**, Nobuyuki Miyasaka, Takayuki Sumida, Tsuneyo Mimori, Takao Koike, Kazuhiro Endo: Efficacy Of Rituximab In Patients With Refractory Lupus Nephritis, a Post-Hoc Analysis From Phase II Trial In Japan. San Diego, USA. 2013. 10. 27
  - 18) Hidekata Yasuoka, Yuichiro Shirai, Yuichi Tamura, Toru Satoh, **Tsutomu Takeuchi**, Masataka Kuwana: Baseline Characteristics That Predict a Short-Term Response To Immunosuppressive Treatment In Patients With Pulmonary Arterial Hyper-tension Associated With Connective Tissue Disease. San Diego, USA. 2013. 10. 27
  - 19) Hidekata Yasuoka, Ken Stern, Yuka Okazaki, Tetsuya Nishimoto, **Tsutomu Takeuchi**, Masataka Kuwana: Up-Regulated Expression Of CXCL5 In Circulating Platelets From Patients With Systemic Sclerosis: A Role In Fibrosis. San Diego, USA. 2013. 10. 27
  - 20) Misato Hashizume, Keiko Esaki, Keiko

- Yoshimoto, Hideto Kameda, Tsutomu Takeuchi, Yoshihiro Matsumoto: Novel Function Of Soluble Interleukin-6 Receptor As An Antagonist Of Interleukin-27-Mediated Anti-Inflammatory Responses. San Diego, USA. 2013. 10. 28
- 21) Yoshiya Tanaka, Tsutomu Takeuchi, Naoki Ishiguro, Hisashi Yamanaka, Toshiyuki Yoneda, Harry K. Genant and Désirée van der Heijde: Estimation Of The Effect Of Denosumab On Bone Loss From The Results Of The 12-Month Phase II Study In Patients With Rheumatoid Arthritis (RA) On Background Methotrexate (MTX). San Diego, USA. 2013. 10. 28
- 22) Takao Koike, Masayoshi Harigai, Naoki Ishiguro, Shigeko Inokuma, Junnosuke Ryu, Syuji Takei, Tsutomu Takeuchi, Y. Tanaka, Masahiko Watanabe, Hisashi Yamanaka: Safety and Effectiveness Of Abatacept In 3985 Japanese Patients With Rheumatoid Arthritis; Japan All-Cases Post-Marketing Surveillance. San Diego, USA. 2013. 10. 28
- 23) Gerd-Rüdiger Burmester, Tsutomu Takeuchi, Olga Barbarash, Duncan Porter, Didier Saurigny, David Close, Alex Godwood, Yoojung Yang and Ancilla W. Fernandes: Early and Sustained Improvement In Pain and Physical Function As Measured By Visual Analog Scale and Short Form-36 Physical Component Summary Score In Rheumatoid Arthritis Patients Treated With Mavrilimumab, An Investigational Anti-GM-CSFR-Alpha Monoclonal Antibody, In a Phase 2a Study. San Diego, USA. 2013. 10. 28
- 24) M Weinblatt, P Mease, E Mysler, T Takeuchi, E Drescher, A Berman, M Zilberstein, J Xing and P Emery: A Phase IIb Study Of The Efficacy and Safety Of Subcutaneous Clazakizumab (anti-IL-6 monoclonal antibody) With Or Without Methotrexate In Adults With Moderate-To-Severe Active Rheumatoid Arthritis and An Inadequate Response To Methotrexate. San Diego, USA. 2013. 10. 28
- 25) Keiko Yoshimoto, Maiko Tanaka, Masako Kojima, Hideko Ogata, Eriko Ishioka, Ayumi Nishikawa, Katsuya Suzuki, Hideto Kameda, Tohru Abe and Tsutomu Takeuchi: Increased Expression of BAFF Receptor On Monocytes Is a Contributory Factor of Hypergammaglobulinemia in Patients With Primary Sjögren' s Syndrome. San Diego, USA. 2013. 10. 29
- 26) Keiko Yoshimoto, Maiko Tanaka, Masako Kojima, Hideko Ogata, Eriko Ishioka, Ayumi Nishikawa, Katsuya Suzuki, Hideto Kameda, Tohru Abe, Tsutomu Takeuchi: BAFF Induces Production of Matrix Metalloproteinase-9 By Peripheral Monocytes in Patients With Primary Sjögren' s Syndrome Through a Signaling Pathway That Involves NF-Kb and PI3 Kinase. San Diego, USA. 2013. 10. 29
- 27) Yuko Kaneko, Hironari Hanaoka, Michito Hirakata, Tsutomu Takeuchi, Masataka Kuwana: Distinct Arthropaties In Patients With Anti-Aminoacyl tRNA Synthetase Antibodies: Utility Of Autoantibody Profiles In Discrimination. San Diego, USA. 2013. 10. 29
- 28) Tsutomu Takeuchi, Kazuhiko Yamamoto, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Yoshiya Tanaka, Katsumi Eguchi, Akira Watanabe, Hideki Origasa, Mariko Kobayashi, Toshiharu Shoji, Nobuyuki Miyasaka and Takao Koike: Post-Hoc Analysis Showing Better Clinical Response With The Loading Dose Of Certolizumab Pegol In Japanese Patients With Active Rheumatoid Arthritis. San Diego, USA. 2013. 10. 29
- 29) Yoshiya Tanaka, Kazuhiko Yamamoto, Tsutomu Takeuchi, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Katsumi Eguchi, Akira Watanabe, Hideki Origasa, Tadao Okamoto, Yumiko Wada, Toshiharu Shoji, Nobuyuki Miyasaka and Takao Koike: Comprehensive Disease Remission Achieved By Certolizumab Pegol Treatment, and Factors Associated With Certolizumab Pegol Comprehensive Disease Remission, In Rheumatoid Arthritis Patients With Predominantly High Disease Activity. San Diego, USA. 2013. 10. 29
- 30) Yoshiya Tanaka, Yasuhiko Shinmura, Ryo Nakajima, Takahiro Muramatsu, Shuichi Komatsu, Tadamichi Kubo, Aki Kuroki, Ataru Igarashi, Toshiro Tango, Tsutomu Takeuchi: Economic Impact Of Adalimumab Treatment In Japanese Patients With Rheumatoid Arthritis: Analysis Of 24 Weeks Data From The Anouveau Study. San Diego, USA. 2013. 10. 29

- 31) Masako Tsukamoto, Katsuya Suzuki, Keiko Yoshimoto, Hideto Kameda, Tsutomu Takeuchi: Pleiotropic Roles Of Fc $\gamma$  Receptors Upregulated On Circulating Monocytes In Rheumatoid Arthritis Patients. San Diego, USA. 2013. 10. 29
- 32) Masataka Kuwana, Yuichiro Shirai, Hidekata Yasuoka, Tsutomu Takeuchi, Kenichi Masui: Utility Of Autoantibody Testing For Predicting Risk Of Pulmonary Arterial Hypertension: A Retrospective Analysis In Routine Autoantibody Laboratory. San Diego, USA. 2013. 10. 29
- 33) Yoshiya Tanaka, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Nobuyuki Miyasaka, Katsuyoshi Kawana, Tadamichi Kubo, Aki Kuroki, Tsutomu Takeuchi: Clinical Remission After 52 Weeks Of Treatment Is a Predictor Of Adalimumab-Free Disease Control In Patients With Early Rheumatoid Arthritis: HOPEFUL 2 Study. San Diego, USA. 2013. 10. 29
- 34) Tsutomu Takeuchi, Yoshiya Tanaka, Naoki Ishiguro, Hisashi Yamanaka, Toshiyuki Yoneda, Harry K. Genant and Désirée van der Heijde: Dose-Response Effects Of Denosumab, a Novel Subcutaneous RANKL Inhibitor, On The Progression Of Bone Erosion In Japanese Patients With Rheumatoid Arthritis Treated With Methotrexate: Results Of Phase II DRIVE Study-A Twelve Month Placebo Controlled, Randomized, Double Blind Study. San Diego, USA. 2013. 10. 30

出願番号：特願 2013-132852

特許出願日：2013 年 6 月 25 日

発明者：竹内 勤、亀田秀人、吉本桂子

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

・抗BAFF抗体

国際出願番号：PCT/JP2005/013496

国際出願日：2005 年 8 月 30 日

欧州登録通知：2013 年 8 月 20 日

発明者：竹内 勤、吉本桂子

登録番号および登録日については後日通知

・炎症性疾患の予防および/又は治療剤

出願番号：特願 2013-210440

特許出願日：2013 年 10 月 7 日

発明者：竹内 勤、吉本桂子

・炎症性疾患を治療又は予防するための医薬組成物

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

タイトル 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  
研究分担者 小川 葉子 慶應義塾大学医学部眼科 特任准教授

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、癩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、線維化について前臨床試験と臨床試験とで検証し可能な限り早期に臨床応用へ道を開くことを目的とする。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。

#### 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、癩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し臨床応用へ繋げ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。GVHD 動物モデルを用いて、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。投与方法は腹腔内投与に加えて、臨床応用のために経口投与の検討を加えた。投与期間は移植後造血細胞が生着する 10 日目から慢性 GVHD 発症 21 日までの 12 日間の予防的投与と発症 21 日目から 35 日目までの治療的投与を検証した。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。臨床試験プ