

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（早期探索的・国際水準臨床研究事業）
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

- 移植片対宿主病 (graft versus host disease; GVHD) における免疫性線維化に対するTranilast の proof of concept study -

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 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 小川 葉子 慶應義塾大学医学部眼科学教室 特任准教授

研究要旨：同種骨髄移植では、移植片対宿主病 (graft-versus-host disease; GVHD) が生じ、多臓器に炎症・線維化を中心とした障害が生じる。本研究では、慢性 GVHD における炎症・線維化を抑制し、同種骨髄移植による臓器障害を改善する治療法の開発を目的としている。平成 24 年度は、既存薬スクリーニングによりトラニラストを同定し、マウス慢性 GVHD モデルによる非臨床試験を実施した。25 年度は非臨床試験の結果をもとにトラニラストの *in vivo* 抗炎症・線維化抑制効果、投与量・投与期間を検討した。平成 26 年度には、非臨床試験データの集積と解析の継続、医師主導型臨床研究を行うための体制整備（内科・眼科・先端医科学研究所の連携確立・プロトコル作成）を完了させ、倫理委員会承認を得た。医師主導型臨床研究が開始された。平成 27 年度は医師主導型臨床研究を継続し完了をめざす。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。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。

A. 研究目的

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、瘢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。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

前臨床試験を重ね臨床試験に応用するための投与

方法は経口治療的投与有用性の有無の検討を重ねた。移植した骨髄血球系細胞の生着がトラニラスト投与により阻害されないことをマウスモデルを用いて移植後 2 週時 3 週時の末梢血の血球分画を検証した。臨床応用のために血液内科の岡本真一郎、森毅彦医師との連携が確立し、医師主導型臨床研究のプロトコルを作成した。倫理委員会申請後承認を得て医師主導型臨床研究の開始の準備を重ねた。

（倫理面への配慮）

慶應義塾大学医学部倫理委員会承認を得ている。
承認番号 20140156

C. 研究結果

平成 26 年度は、前臨床試験においてはトラニラスト経口投与により、通常の骨髄移植によるドナー細胞の生着が阻害されず移植後 10 日目頃に生着することを骨髄移植後トラニラスト投与群と日トラニラスト投与群の末梢血により確かめた。移植後 21 日目の GVHD 発症時にはトラニラスト投与群では PBS 投与群に比し CD4 陽性 T 細胞の増殖が抑制される傾向が認められた。

非臨床試験データの解析と、併せて医師主導臨床研究のプロトコル作成および倫理委員会承認、UNIM 登録、臨床研究保険加入を進めた。慶應義塾大

学医学部倫理委員会承認番号 20140156 UMIN 登録番号 UMIN000016401。トラニラストを用いた医師主導型臨床研究を開始した。

D. 考察

前臨床試験により、投与方法は臨床に近い経口投与が最も有効であることが示された。前臨床試験によりトラニラスト投与が骨髓細胞のレシピエントへの生着を阻害しないことを確かめた。移植後2週時と3週時の血球系細胞の生着を調べたところ、阻害せずドナー細胞が生着することが確かめられた。トラニラスト投与により病態に関与するT細胞の増殖を抑制している可能性が考えられた。また倫理委員会の承認のもとトラニラストの臨床試験を開始することができた。順調に症例のリクルートが進められており適応拡大の実現にむけて臨床研究がすすまれていると考える。

E. 結論

前臨床試験の結果をうけ臨床試験のための倫理委員会承認を得て医師主導型臨床試験が開始された。今後の臨床研究の遂行のために、基礎と臨床教室が一体となって薬剤の安全性、有効性の検討をすすめる。

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) Nobusue H, Onishi N, Shimizu T, Sugihara E, Oki Y, Sumikawa Y, Chiyoda T, Akashi K, Saya H, Kano K. Regulation of MKL1 via actin cytoskeleton dynamics drives adipocyte differentiation. Nat Commun 5:3368, 2014
- 2) Ishimoto T, Sugihara H, Watanabe M, Sawayama H, Iwatsuki M, Baba Y, Okabe H, Hidaka K, Yokoyama N, Miyake K, Yoshikawa M, Nagano O, Komohara Y, Takeya M, Saya H, Baba H. Macrophage-derived reactive oxygen species suppress miR-328 targeting CD44 in cancer cells and promote redox adaptation. Carcinogenesis 35:1003-1011, 2014
- 3) Shimizu T, Sugihara E, Yamaguchi-Iwai S, Tamaki S, Koyama Y, Kamel W, Ueki A, Ishikawa T, Chiyoda T, Osuka S, Onishi N, Ikeda H, Kamei J, Matsuo K, Fukuchi Y, Nagai T, Toguchida J, Toyama Y, Muto A, Saya H. IGF2

preserves osteosarcoma cell survival by creating an autophagic state of dormancy that protects cells against chemotherapeutic stress. Cancer Res 74:6531-6541, 2014

- 4) Nishio H, Yaguchi T, Sugiyama J, Sumimoto H, Umezawa K, Iwata T, Susumu N, Fujii T, Kawamura N, Kobayashi A, Park J, Aoki D, Kawakami Y. Immunosuppression through constitutively activated NF- κ B signalling in human ovarian cancer and its reversal by an NF- κ B inhibitor. Br J Cancer. 110(12):2965-74, 2014
 - 5) Kitano I, Ito R, Kamisako T, Eto T, Ogura T, Kawai K, Suemizu H, Takahashi T, Kawakami Y, Ito M. NOD-Rag2null IL-2R γ null mice: an alternative to NOG mice for generation of humanized mice. Exp Anim. 63(3):321-30, 2014
 - 6) Tatematsu Y, Ogawa Y, Abe T, Kamoi M, Uchino M, Saijyo-Ban Y, Yaguchi S, Mukai S, Mori T, Okamoto S, Tsubota K. Comparisons for grading chronic ocular graft-versus-host disease: NIH eye score, Japanese dry eye score, and DEWS 2007 score. 2014 Oct; Sci Rep. 4: 6680.
 - 7) 河上 裕. がん免疫療法. 医学のあゆみ .249(5):456-455.2014.5.
 - 8) 小川葉子. ドライアイ 今日の治療指針 2014 年版 医学書院 1314-1316: 2014.
- ##### 2 学会発表
- 1) Kawakami Y, Combination Immunotherapy Based on the Cancer Cell's Characteristics and Patients' Immune Status., The 45th International Symposium of The Princess Takamatsu Cancer Research Fund, Palace Hotel Tokyo/Japan, 2014/11/18,
 - 2) Kawakami Y, Sugiyama J, Nishio H, Hayakawa T, Iwata T, Aoki D, Yaguchi T., Development of Immunotherapy based on the immunological characteristics of Gynecologic Cancers, The 19th Japan-Korea Cancer Research Workshop, Jeju, Korea, 2014/11/29,
 - 3) Ogawa Y, Shimmura S, Suzuki T, Kawai M, Tsubota K. Macrophage expressing oxidative stress marker play some role in lacrimal gland of chronic graft-versus-host disease. The Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology 2014 (ARVO2014) USA, May, 4-8,

2014.

- 4) Ogawa Y. [IS-SA-167] New Concepts in Ocular Surface Inflammation. The Role of Donor Mesenchymal Stem Cells in cGVHD. World Ophthalmology Congress of the International Council of Ophthalmology (WOC2014), Tokyo, April, 2-6, 2014
- 5) 小川葉子, 河合正孝, 榛村重人, 大多茂樹, 川村直, 鈴木孝典, 桑名正隆, 河上 裕, 坪田一男. 重症ドライアイへの老化マクロファージの関与. 第 19 回シェーグレン症候群セミナー 東京 2014/5/24
- 6) 小川葉子. Special Lecture 2 重症ドライアイの基礎と臨床をつなぐ
第 3 回 Shinjuku Ophthalmology Club 東京 2014/12/18

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

特記すべきものなし

2. 実用新案登録

特記すべきものなし

3. その他

特記すべきものなし

