

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08592

研究課題名(和文)白血球活性化抑制による動脈硬化治療を目指した臨床薬理学研究

研究課題名(英文)Development of anti-atherosclerotic therapy through leukocyte inhibition

研究代表者

植田 真一郎 (UEDA, SHINICHIRO)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80285105

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：動脈硬化性疾患や心血管イベント発生の「主犯」は炎症であると考えられている。これまで申請者らはインスリン抵抗性、2型糖尿病と動脈硬化の関連からこれらの病態で上昇する遊離脂肪酸に注目し、遊離脂肪酸負荷がヒトで内皮機能障害を惹起すること、この内皮機能障害は白血球活性化を伴い、その抑制は内皮機能障害を改善することを示した。ここから炎症のもっとも上流である白血球活性化の適切な抑制が心血管イベント抑制に貢献すると考え、遊離脂肪酸負荷による白血球活性化、レニン-アンジオテンシン活性化と抗炎症薬コルヒチンの抑制について複数の臨床薬理学的研究を行った。

研究成果の概要(英文)：Inflammation plays the most pivotal roles in the development of arteriosclerotic diseases. We have focused on free fatty acids that are elevated in patients with insulin resistance, type 2 diabetes and arteriosclerosis. We found that free fatty acid loading induced endothelial dysfunction in humans, which was accompanied by leukocyte activation and that its suppression improves endothelial dysfunction. We believe that appropriate suppression of leukocyte activation, the most upstream of inflammation, contributes to the reduction of risk for cardiovascular events. We conducted several clinical trials testing effects of colchicine, which is well known leukocyte activation inhibitor, on free fatty acid induced leukocyte activation, activation of renin-angiotensin system and endothelial dysfunction in healthy subjects and patients with coronary artery disease.

研究分野：臨床薬理学、応用薬理学

キーワード：炎症 遊離脂肪酸 抗炎症薬

1. 研究開始当初の背景

日本人でも糖尿病を合併した冠動脈疾患の予後は悪く、我々のおよそ600名の冠動脈疾患合併糖尿病患者のコホート研究では3年間の死亡、心筋梗塞、脳卒中の発症は13%に及び(厚生労働省科研費 H24 - 循環器等(生習)一般013)、従来の危険因子を積極的に管理しても予後の改善は得られておらず(第37回日本高血圧学会、第79回日本循環器学会で発表予定)、より本質的な病態への介入や指標となるバイオマーカーが望まれる。炎症は動脈硬化からプラークの破綻に到る主要な病態のひとつであり、白血球活性化はそのイニシエーターである。しかし、これまでここに焦点を当てた危険因子(バイオマーカー)の提唱、指標とした薬剤の開発は行われていない。

炎症の成り立ちから考察して、白血球の活性化は内皮機能障害に始まる動脈硬化の進展や心血管イベントの発症と関連している可能性が高い。特に好中球は動脈硬化巣であまり同定されないことから動脈硬化進展への関与は少ないとされてきたが、最近の研究は好中球の活性化はさまざまなサイトカインの放出や酸化ストレス亢進を介して単球やマクロファージの作用発現のトリガーとなっていることを示唆している。実際欧米のコホート研究では白血球数、特に好中球数と心血管イベントの関連が至適されている。コルヒチンはユリ科のイヌサフランの種子や球根に含まれるアルカロイドであり、19世紀に有効性分が分離され、現在は主に痛風に用いられるがその抗炎症作用からベーチェット病などの炎症性疾患にも用いられることがある。コルヒチンは白血球、特に好中球に集積し、微小管形成抑制を介して抗炎症作用を呈する。またコレステロール結晶や遊離脂肪酸によるNLRP3インフラマソーム複合体形成など、自然免疫機構活性化の炎症を介した動脈硬化進展への関与が示唆されているが、ここにも微小管形成は関与し、コルヒチンが抑制する(Nat Immunol 2013)。長い歴史を有し、比較的安全性の高い抗炎症薬コルヒチンによる介入は有望な候補であり、事実これまで観察研究(J Rheumatol 2012)や小規模の臨床試験(JACC 2013)ではコルヒチンによる心血管イベント発症リスクの低下が示唆されている。

2. 研究の目的

本研究計画の目的は炎症による動脈硬化進展のトリガーとも言える白血球活性化に焦点を当て、コルヒチンのヒト白血球における活性化抑制作用およびヒト内皮機能改善作用をin vitro, ex vivo, in vivo 実験系で明らかにすることである。ハイリスク動脈硬化性疾患患者におけるイベント抑制薬候補としての科学的妥当性を検証する。

2. 研究の目的

3. 研究の方法

3. 研究の方法

3.1. コルヒチンの血中濃度、組織内濃度測定と薬物動態試験

目的 コルヒチンは内服後血中よりもむしろ白血球内に多く存在し、薬物動態も異なる。本実験はコルヒチン添加実験の妥当性を検証するために実施する。

方法 コルヒチンを0.5mg 内服前、1、4、24時間後の血液サンプルを採取し、血中および白血球内(好中球、単核球)コルヒチン濃度をLCMS/MSで測定する。その後0.5mgを7日間1日一回投与し、最終投与前、1、4、24時間後に採血を行い、血中および白血球内(好中球、単核球)コルヒチン濃度をLCMS/MSで測定する。

3.2. コルヒチンの臨床薬理試験

本研究は、痛風患者に古くから用いられているコルヒチンの、糖尿病合併冠動脈疾患患者における心血管イベント抑制薬としての開発にむけた橋渡し研究である。アウトカム(心血管イベント)を評価する医師主導型治験(phase III)に向けて、用量設定

のためにバイオマーカーを用いたPhase IIに相当する研究が必要である。

本研究では健康成人男子を対象に、コルヒチン0.5mgを1日1回7日間反復投与したときの血漿中・白血球内コルヒチン濃度と薬理作用（白血球活性化抑制効果）を探索的に検討することを目的とする。

評価項目

主要評価項目

白血球機能（マイクロチャネルフロ - アナライザーを用いてのマイクロチャネル通過時の白血球の接着能、変形、通過時間）

副次評価項目

1. 血漿中及び白血球内（単核球及び多核球）コルヒチン（未変化体）濃度
2. 活性化した白血球から遊離されたサイトカイン、ミエロペロキシダーゼ濃度
3. 白血球アンジオテンシン II 産生能
4. 血漿中および白血球内コルヒチン濃度と薬理作用（白血球活性化抑制作用）の関連

対象被験者

日本人健康成人男子

試験薬

| | |
|--------|-----------------------------|
| 名称（概要） | コルヒチン錠 0.5mg「タカタ」 |
| 含量及び剤形 | 1錠中コルヒチン 0.5mgを含有する青色の円形の素錠 |
| 貯法 | 遮光・室温保存（光によって変化する。） |
| 包装 | PTP包装 |

試験デザイン及び試験薬の投与方法

本試験は、単施設、非盲検試験である。

本試験ではスクリーニング検査を行い、被験者としての適格性が確認された被験者8名を対象とする。

8名の被験者は、試験期にはコルヒチン0.5mgを1日1回朝に7日間投与する。

試験薬投与開始前、試験薬投与7日目の投与直後、2時間後、24時間後、26時間後、48時間後、50時間後に白血球機能の評価

（接着能、マイクロチャネルの通過時間、血中のサイトカイン、ミエロペロキシダーゼ濃度など）及び血中及び白血球内コルヒチン濃度の測定を行う。なお、2時間後、26時間後及び50時間後の白血球機能は、脂肪乳剤（90mL/hr.、使用製剤：イントラリピッド®輸液 20%）及びヘパリン（0.3U/kg/min、使用製剤：ノボ・ヘパリン注®）を負荷投与（2時間点滴静注）し、白血球を活性化、血管内皮細胞の障害を惹起したのちに実施する。

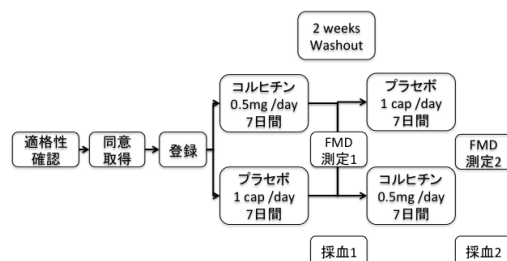
3.3. 冠動脈疾患患者における低用量コルヒチンの複数回投与が血管内皮機能に及ぼす影響の検討

本研究は、痛風患者に古くから用いられているコルヒチンの、糖尿病合併冠動脈疾患患者における心血管イベント抑制薬としての開発にむけた橋渡し研究である。アウトカム（心血管イベント）を評価する医師主導型治験(phase III)に向けて、バイオマーカーを用いた pre phase III に相当する研究が必要であるが、本研究では複数回投与（一週間）が血管内皮機能を改善させるかどうか予備的に検討する。本研究で得られた効果をもとに次の段階として薬事相談を行い、血管内皮機能を主要評価項目とした二重盲検ランダム化比較試験をデザインする。

研究デザイン

プラセボ対照、ランダム化、二重盲検、クロスオーバーデザイン

研究のアウトライン



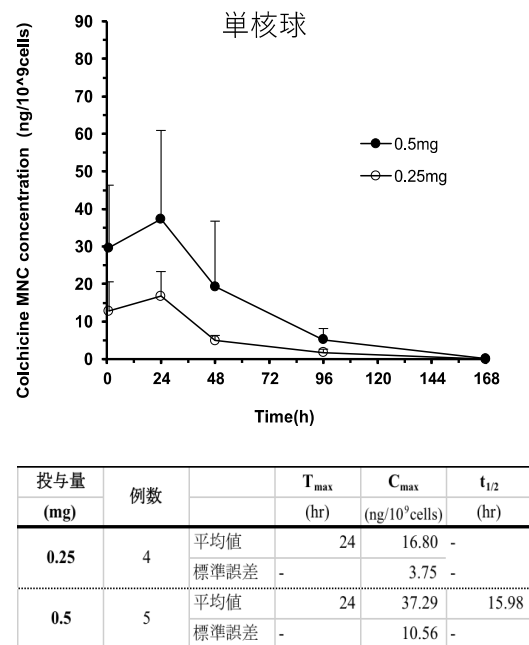
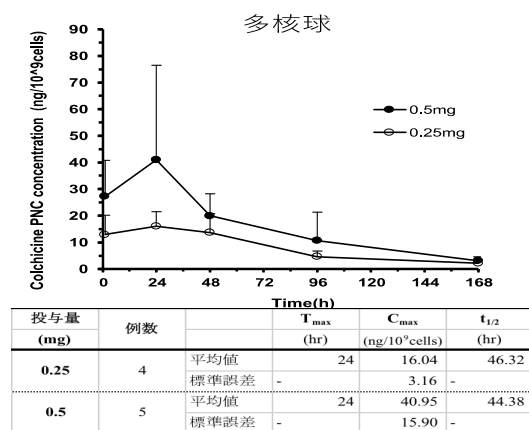
介入の内容

コルヒチン0.5mg（高田製薬）またはプラセボ（プラセボ用カプセルを両者に使用）をそれぞれ1週間投与する。順序はランダム化する。最低2週間の間隔を空ける。

4. 研究成果

4.1. コルヒチンの血中濃度、組織内濃度測定と薬物動態試験

LCMS/MS での血中及び白血球中の濃度の測定法を確立した。以下に多核球及び単核球の薬物動態を示す。多核球内には長時間に渡って存在し、半減期は約 40 時間であった。

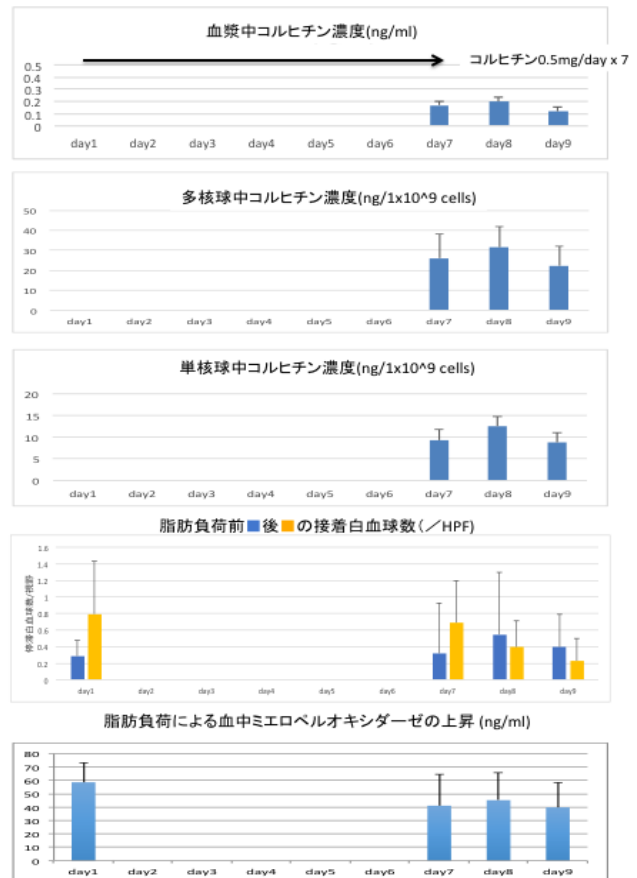


4.2. コルヒチンの臨床薬理試験

コルヒチン（0.5mg / 日，7 日間投与）は健康男性において脂肪酸上昇に伴う白血球活性化によるマイクロチャネルへの白血球接着亢進，マイクロチャネル通過時間の延長，

脱顆粒によるミエロペルオキシダーゼ放出を抑制した。

これらの白血球活性化抑制は最終用量の 24 時間後から 48 時間後まで認められた。コルヒチンは血中，白血球中共に最終用量の投与 24 時間後でピークとなり，単核球よりも多核球に多く集積した。



4.3. 冠動脈疾患患者における低用量コルヒチンの複数回投与が血管内皮機能に及ぼす影響の検討

28 名の冠動脈疾患患者においてコルヒチン 0.5mg/day、1 週間投与は改善をもたらさなかったが白血球 7500 以上の患者では有意に改善した。白血球活性化が認められる冠動脈疾患患者ではコルヒチンによる活性化抑制が内皮機能を改善する可能性が示唆された。

1. 徳重明央、植田真一郎 ハイリスク冠動脈疾患における多剤併用スタチン不耐性と OMT から 第 82 回日本循環器学会 大阪 2018 年 3 月
2. 植田真一郎 患者レジストリに基づいた臨床試験 (シンポジウム) 第 38 回日本臨床薬理学会学術集会 横浜 2017 年 12 月
3. 植田真一郎 腫瘍循環器病学における臨床薬理研究(シンポジウム) 第 38 回日本臨床薬理学会学術集会 横浜 2017 年 12 月
4. 植田真一郎 患者レジストリを用いた薬剤の臨床薬理学的研究 (シンポジウム) 第 23 回日本薬剤疫学会学術集会 東京 2017 年 11 月
5. 植田真一郎 薬剤性高血圧 (教育講演) 第 40 回日本高血圧学会 松山 2017 年 10 月
6. 植田真一郎 臨床研究における発表バイアスと COI(シンポジウム) 第 65 回日本心臓病学会学術集会 大阪 2017 年 9 月
7. 植田真一郎 臨床研究を読む、使う、行う (シンポジウム) 第 6 回臨床高血圧フォーラム 岡山 2017 年 5 月
8. 植田真一郎 ハイリスク冠動脈疾患の residual risk を再考する(シンポジウム)第 81 回日本循環器学会 金沢 2017 年 3 月
9. Maeda M, Matsushita A, Kumagai Y, Ueda S. Low dose colchicine inhibited leukocyte activation by free fatty acids in healthy humans. 第 81 回日本循環器学会 金沢 2017 年 3 月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

〔その他〕
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植田真一郎 (UEDA, Shinichiro)
 琉球大学・大学院医学研究科・教授
 研究者番号：80285105

(2) 研究分担者

浦田秀則 (URATA, Hidenori)
 福岡大学・筑紫病院・教授
 研究者番号：30289524

森本剛 (MORIMOTO, Takeshi)
 兵庫医科大学・医学部・教授
 研究者番号：30378640

(3) 連携研究者

松下明子 (MATSUSHITA, Akiko)
 琉球大学・大学院医学研究科・助教
 研究者番号：50570181