

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 7 月 12 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790711

研究課題名(和文) アドレノメデュリンの炎症性腸疾患治療薬としての実用化へ向けた基盤研究

研究課題名(英文) The preliminary clinical study of adrenomedullin therapy in inflammatory bowel disease.

研究代表者

芦塚 伸也 (ASHIZUKA, Shinya)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：90468033

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：アドレノメデュリン(AM)は様々な生理作用を有する生理活性ペプチドであり、炎症性腸疾患モデル動物にも治療効果を示す事が明らかとなっている。今回我々は、非盲検前向き予備試験として、炎症性腸疾患(IBD)患者に対しAM静注(1日8時間、14日間)を行い、安全性および臨床的有効性に関し検討した。その結果、AM投与2週間後、臨床症状の有意な改善と大腸潰瘍の粘膜修復を認めた。また、AM投与にて炎症性サイトカインの低下を認めた。また、明らかな有害事象は認めなかった。AMはIBD患者に対しても治療効果を示した。

研究成果の概要(英文)：Adrenomedullin (AM) is a pluripotent biologically active peptide, and is known to have an anti-inflammatory effect and improve the severity of colitis in experimental colitis models. In this study, we evaluated the safety and preliminary efficacy of exogenous AM administered to patients with inflammatory bowel disease (IBD) in an open-labeled exploratory trial. AM was administered intravenously for 8 hours daily for 14 days. Disease activity index (DAI) score including endoscopic findings were evaluated before and after administration of AM (at 2 and 12 weeks). DAI score and serum inflammatory cytokines levels after AM therapy were significantly improved compared with that at baseline. No adverse effect have shown clinically during AM administration. AM is a possible agent for inducing mucosal healing and clinical remission safely in patients with IBD.

研究分野：消化器内科

キーワード：アドレノメデュリン 炎症性腸疾患 潰瘍性大腸炎 臨床研究

1. 研究開始当初の背景

アドレノメデュリン (AM) は、1993 年に研究代表者の教室において単離・同定された生理活性ペプチドである。AM 遺伝子および蛋白質は、ヒト正常副腎髄質、肺、血管壁、心房、心室、腎臓、脳、消化管等の幅広い臓器や組織で発現・存在している。AM の短期的投与と実験や遺伝子改変動物の解析により、AM は種々の臓器や組織に作用して、降圧作用や臓器保護作用を含めて極めて多彩な作用を発揮する事が判明している。消化管においても粘膜や筋層に認められ、炎症性疾患では血中濃度が増加している。また AM 遺伝子は、IL-6 や TNF- α などの炎症性サイトカインで誘導され、誘導された AM はこれらの炎症性サイトカインを強力に抑制する。これらの結果は、AM が内在性の抗炎症物質として機能していると示唆されている。実際に本研究代表者は、AM を酢酸誘発潰瘍性大腸炎モデルラットに経肛門的投与すると対照群と比し潰瘍面積が有意に縮小する事を明らかとし、AM の新規かつ特徴的作用である大腸潰瘍治療促進効果を報告するとともに、AM が炎症性腸疾患の治療に有用である可能性を示し (Ashizuka, S. Peptides. 26: 2610-2615 (2005))、用途特許を取得した (特開 2006-290777)。更に、炎症性腸疾患の汎用的モデル動物であるデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 大腸炎モデルマウスにおいても AM が腸炎改善効果を有する事を確認し、AM 投与群では粘膜上皮細胞間リンパ球における炎症性サイトカインが抑制され、腸管上皮バリアが修復される事を明らかにした (Ashizuka S. Microbiol Immunol 53: 573-581 (2009))。AM が炎症性腸疾患治療薬としての有用性を示す動物実験の結果はヨーロッパのグループからも公表され (Gonzales, R. E. Gut. 55: 824-832 (2006))、その後も同様の効果を支持する論文が複数報告されている。

また当教室では、これまでに健常人に対する AM の経静脈投与研究を行い、安全性や血行動態に対する作用を報告しており、その経験をもとに、2010 年より難治性潰瘍性大腸炎 (UC) 患者に対する AM 静脈投与の臨床研究を開始した。まだ数例での結果であるが、UC 患者においても AM 投与により臨床症状および内視鏡所見の改善 (潰瘍改善、粘膜再生効果) が認められており、第 66 回大腸肛門病学会学術集会シンポジウム (2011 年 11 月) にて公表し、米雑誌 *Inflammatory Bowel Disease* (2012 Jan) に第一例目に関し症例報告した。

炎症性腸疾患 (潰瘍性大腸炎、クローン病) に対する治療は、ステロイドや免疫抑制剤、生物学的製剤がその主軸をなしているが、治療抵抗例やステロイド依存例などの問題が存在する。また、これらの治療は強力に免疫を抑制するために、基礎疾患を有する患者や

高齢者では重度感染症等の懸念から、その使用が制限的である。一方、AM は生理活性ペプチドであり、かつ前述の健常人への投与結果からも、ヒトへの応用における安全性は高い。

我々は、AM の基本特許に加え前述の炎症性腸疾患治療薬治療薬としての用途特許を取得しており、将来 AM を炎症性腸疾患治療薬として開発する際の妨げはないと考えている。本研究では、難治性炎症性腸疾患をターゲットに、AM による治療応用の可能性を明確にすることで、将来の AM による炎症性腸疾患患者の治療を実用化するための基盤を確立する。

2. 研究の目的

本研究代表者はアドレノメデュリン (AM) 投与により酢酸誘発大腸潰瘍モデル動物およびデキストラン硫酸ナトリウム大腸炎モデル動物の炎症が改善することを明らかにし、現在、臨床試験を開始しているが、将来の AM の炎症性腸疾患治療薬としての実用化のためには、AM と炎症性腸疾患についての基盤となる研究が必要である。本研究では炎症性腸疾患に患者に対する AM 投与の安全性と有用性を予備的に調査し、臨床試験へ向けての可能性に関し予備的調査を行う。具体的に下記 2 つの項目に関し検討する。

1) 炎症性腸疾患患者に対する AM 投与とその臨床効果の検討: これまでの基礎データを元に、潰瘍性大腸炎やクローン病、腸管ペッチェット病の患者に対する臨床研究を行う。活動性を有した炎症性腸疾患患者を対象に AM の経肛門的または経静脈持続投与を行い、臨床所見 (血便や腹痛など) や内視鏡所見 (潰瘍や浮腫) への影響を検討する。また、血液検査にて CRP やサイトカインなど各種バイオマーカーの変化を調べる。

2) 炎症性腸疾患患者における AM の病態生理学的意義: 炎症性疾患では血中 AM が増加しており、炎症性腸疾患患者でも AM が上昇している可能性が高い。患者より得られた血漿および組織検体を用い、AM および AM 受容体および各種炎症性サイトカインの量や遺伝子発現を検討し、臨床所見や病理所見と比較することで、AM の病理生理学的意義を検討する。

3. 研究の方法

1) 炎症性腸疾患患者に対する AM 持続静脈投与とその臨床効果の検討

AM の静脈持続投与に関する安全性や血行動態に関しては、健常人に対する投与や急性心筋梗塞患者への臨床研究で検討されて

いる。本研究では活動性の腸病変を有する潰瘍性大腸炎やクローン病、腸管ペーチェット病患者を対象に、AM 1.5 pmol/kg/min を8時間/日(午前9時~午後5時)の投与スケジュールにより最大14日間投与する。

投与前後での臨床所見(血便や腹痛、体温など)や内視鏡所見(潰瘍・浮腫など)への影響を検討する。

なお、AMが強い血管新生作用を有することから、癌組織増大因子のひとつとして関与している可能性があるため、担癌のおそれのある患者は対象外とする。AMの用量設定根拠としては、急性心筋梗塞治療薬としての前臨床試験のデータと炎症性腸疾患モデル動物を用いた実験的治療のデータ、および当教室で行った健常者に対するAM持続静注研究に基づき設定した。

2) 炎症性腸疾患におけるAMの病態生理学的意義

炎症性腸疾患(潰瘍性大腸炎・クローン病)患者を対象に、各種の臨床パラメーターと血中AM濃度および治療に伴う血中AM濃度の変化を詳細に観察して、これらの疾患の血中AM濃度と病態との関係を明らかにする。また、炎症性腸疾患患者の内視鏡検査や手術時に得られた組織検体を用い、AMおよびAM受容体および各種炎症性サイトカインの量や遺伝子発現を検討し、臨床所見や病理所見と比較検討する。血中AMの測定に関しては、IRMA(immunoradiometric assay)を利用した測定法または、既報の高感度酵素免疫測定法(Clin Biochem. 2004; 37:14-21)を用いる。

4. 研究成果

本研究期間内に新規追加された実症例は当初の予定より少なく、2症例に留まった。これは、炎症性腸疾患に対する生物学的製剤や免疫抑制剤などの新規治療が普及してきたことで、臨床試験参加希望者が激減したことが原因と考えられた。本研究は2010年から継続して試験を進めており、今回はこれまでの症例に追加することで統計学的検討を行った。また、2つ目の研究計画である、血液サンプルを用いた血漿AM濃度や各バイオマーカーを測定し、臨床状況をふまえて統計学的に検討した。

1) 炎症性腸疾患患者に対するAM持続静脈投与とその臨床効果の検討

[背景]

症例:活動性潰瘍性大腸炎患者9症例(11回)
年齢:58.9±10.1歳(37-70歳)
性別:男性4名・女性5名
病型:全大腸型4名、左側結腸型5名
入院時重症度:重症5名・中等度4名
AM療法直前の重症度:重症2名、中等症7名

[評価]9例中1例脱落(有害事象の項目参照)。

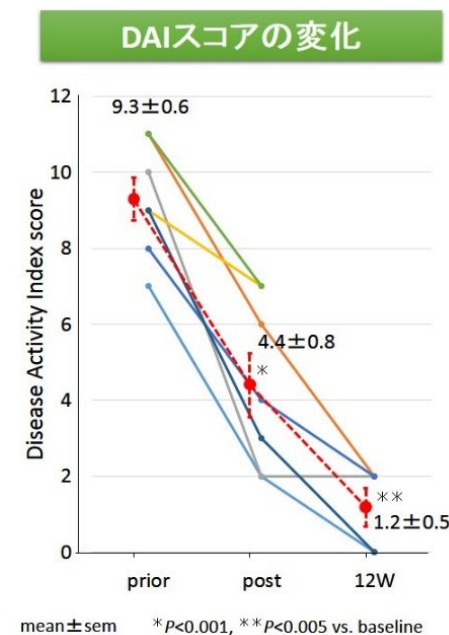
[DAI(図)]

脱落例を除く。mean±SD。

AM投与直前:9.4±1.7点、2週後4.5±2.2点

12週後2.0±2.0点

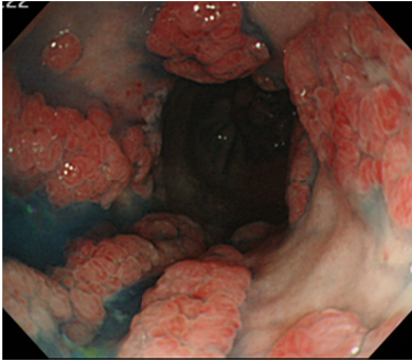
AM療法2週目の改善率66.7%、12週目の寛解率66.7%



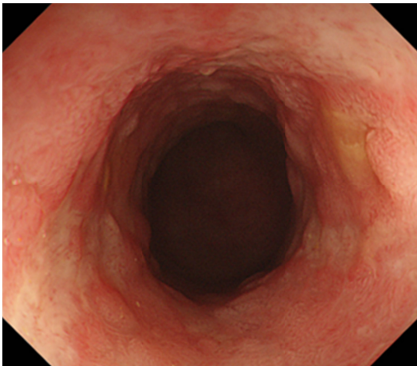
[内視鏡所見(写真)]

9例中6例(66.7%)で炎症改善傾向が得られ、潰瘍の縮小～癒痕化が認められた。著効例では広範囲潰瘍病変は網目状に癒痕化した。

アドレノメデュリン投与前

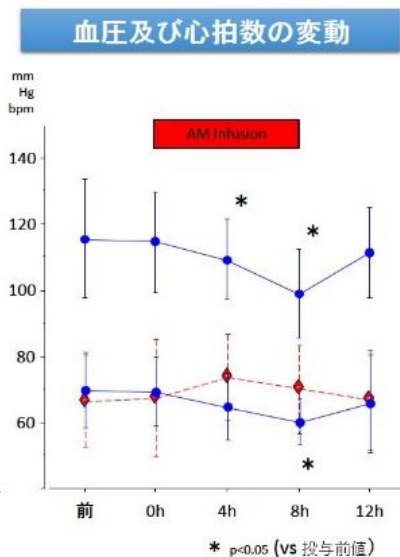


アドレノメデュリン投与2週後



[血圧、心拍数]

軽度の血圧低下と反応性の心拍数上昇を認めたが、フラツキなどの自覚症状なし。



[有害事象]

AM に直接関連する明らかな有害事象は認めなかった。1例に試験初日のAM投与終了3時間後に38度台の発熱、悪寒が出現した。感冒症状を伴い、翌日には解熱し平常に復し

た。発熱時の血中 AM 濃度が著明な高値を示しており(平均の25倍)。外因性(すなわち静注投与)のAMに起因する濃度では説明がつかず、感染症の存在が考えられた。翌日以降もAM持続投与を継続し、試験を完遂したが、発熱・悪寒の再現性は認めず、AM投与による直接の有害事象とは考えにくいと判断した。

また、初期脱落例はAM投与開始時重症であり、AM開始後も増悪傾向に歯止めがかからず投与3日目に効果なしと判断し試験中止とした。有害事象と言うよりは、「無効例」と考えられた。

2) 炎症性腸疾患におけるAMの病態生理学的意義

[血中AM濃度(mature AM、fmol/ml)および各種バイオマーカー]

血漿 mature AM 濃度 (fmol/mL)

前: 2.0 ± 0.26 、8h: 3.9 ± 0.6 ($p=0.0074$)、24h: 1.7 ± 0.2 (ns)、2W: 1.7 ± 0.2 ($p=0.014$)

血液 Biomarker (p 値: vs 前値)

[IL-4 (pg/mL)]

前: 8.9 ± 0.95 、8h: 7.4 ± 0.77 (ns)、24h: 7.7 ± 1.4 (ns)、2W: 7.5 ± 1.2 (ns)

[IL-6 (pg/mL)]

前: 13.4 ± 5.0 、8h: 7.0 ± 3.1 ($p=0.027$)、24h: 11.1 ± 3.8 (ns)、2W: 11.7 ± 2.1 (ns)

[TNF (pg/mL)]

前: 1.6 ± 0.3 、8h: 1.3 ± 0.3 ($p=0.081$)、24h: 1.6 ± 0.3 (ns)、2W: 1.7 ± 0.3 (ns)

[TGF 1 (ng/mL)]

前: 5.3 ± 1.5 、8h: 4.2 ± 0.9 (ns)、24h: 4.4 ± 0.7 (ns)、2W: 4.5 ± 0.8 (ns)

[hsCRP (log)]

前: 2.9 ± 0.3 、8h: 2.9 ± 0.3 (ns)、24h: 3.0 ± 0.3 (ns)、2W: 3.2 ± 0.3 (ns)

活動性 UC に対する AM 持続静注により、血漿 mAM 濃度は約 2 倍の有意な上昇を示した。前述の軽度血圧低下を含め、AM 持続投与が実際に生理的に作用した証拠である。また、炎症性サイトカインである IL-6 および TNF は AM 投与前後(2週間)において有意な低下を認めた。これらのサイトカイン変化は基礎研究(炎症性腸疾患モデル動物に対する AM 投与実験)で観察された結果と同様であった。

さらに、血漿 AM 濃度において、試験開始時の値(投与前値)は健常者の AM 濃度よりも 2 倍程度の高値を示したが、投与 2 週間には有意な減少を認めた。臨床症状改善に伴い血漿 AM 濃度が低下しており、血漿 AM 測定が炎症性腸疾患において、炎症の程度を表す新規バイオマーカーとなりうる可能性も示唆された。

[考察]

AM は動物実験で得られた結果と同様に潰瘍性大腸炎患者に対しても臨床スコアの改善を認め、臨床的にも腸炎治療効果が認められた。我々は、過去の基礎研究において、AM は炎症性サイトカイン抑制や、細胞間接着因子の保全により腸炎改善効果を示すと報告したが、実臨床においては、内視鏡評価における「粘膜修復作用」が印象的であった。また、臨床的に問題となるような副作用は観察されず、現在の免疫抑制作用を中心とする炎症性腸疾患治療薬とは作用機序の異なる新たな治療方法の開発として期待できる結果であった。

また、血液検査の検討では、AM 持続投与において tAM は約 2 倍の増加を示し、外因性 AM による血中濃度上昇が確認された。2 週間の試験期間前後の AM 基礎値は臨床スコアの改善に伴い、低下傾向を示し、AM が炎症性サイトカインと相動的に変動する可能性が示唆された。この結果から、血漿 AM 濃度が新たなバイオマーカーとして発展しうる可能性も期待できる。

最後に、本研究は前向きではあるが少数例の検討であり、プラセボもない事から、ステロイドをはじめとする他の薬剤の影響を払拭できないため、今後は本研究を医師主導試験として開発を進める方針とした。

[結語]

AM は臨床研究においても炎症性腸疾患に対する改善効果を示した。今後、治験による開発を進めてゆく。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

1. Adrenomedullin as a potential therapeutic agent for inflammatory bowel disease. Ashizuka S, Inatsu H, Inagaki-Ohara K, Kita T, Kitamura K. Curr Protein Pept Sci. 2013 Jun;14(4):246-55.
2. Effectiveness of concomitant enteral nutrition therapy and infliximab for maintenance treatment of Crohn's disease in adults. Hirai F, Ishihara H, Yada S, Esaki M, Ohwan T, Nozaki R, Ashizuka S, Inatsu H, Ohi H, Aoyagi K, Mizuta Y, Matsumoto T, Matsui T. Dig Dis Sci. 2013 May;58(5):1329-34.

[学会発表](計 9 件)

1. 2014 年 10 月 23 日(神戸)
第 56 回日本消化器病学会大会. 活動性潰瘍性大腸炎の入院治療に伴う合併症に関する検討
発表者: 芦塚伸也
2. 2014 Sept. 27, Ascona, Switzerland
the 8th International Symposium on the CGRP Family; CGRP, Adrenomedullin, Amylin, Intermedin and Calcitonin.
Adrenomedullin Therapy in Patients with Ulcerative Colitis
発表者: 芦塚伸也
3. 2014 年 7 月 5 日(福岡)
第 103 回日本消化器病学会九州支部例会.
当科における潰瘍性大腸炎関連腫瘍の検討
4. 2013 年 11 月 23 日(大阪)
第 17 回日本心血管内分泌代謝学会総会.
アドレノメデュリンを用いた潰瘍性大腸炎に対する新規治療薬の開発
Adrenomedullin: a novel therapy for intractable ulcerative colitis.
発表者: 芦塚伸也
5. 2013 年 10 月 10 日(東京)
第 55 回日本消化器病学会大会. 潰瘍性大腸炎に対するアドレノメデュリン療法(続報)
発表者: 芦塚伸也
6. 2012 年 11 月 3 日(鹿児島)
第 100 回日本消化器病学会九州支部例会(シンポジウム). 炎症性腸疾患に対するアドレノメデュリン療法
発表者: 芦塚伸也
7. 2012 年 9 月 21 日(福岡)
第 37 回日本大腸肛門病学会九州地方会(シンポジウム). Infliximab 計画的維持投与の長期成績および二次無効に関する検討
発表者: 芦塚伸也
8. 2012 May 19 - 22; San Diego, California Digestive Disease Week (DDW). The first clinical pilot study of adrenomedullin therapy in refractory ulcerative colitis: the initial six cases.
発表者: 芦塚伸也
9. 2012 年 4 月 13 日(京都)
第 109 回日本内科学会総会. 潰瘍性大腸炎に対するアドレノメデュリン療法
発表者: 芦塚伸也

〔産業財産権〕
該当なし

〔その他〕
ホームページ等
宮崎大学医学部内科学講座循環体液制御学
分野ホームページ
<http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/home/medicin1/about/index/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

芦塚 伸也 (ASHIZUKA, Shinya)
宮崎大学医学部内科学講座循環体液制御
学分野 助教
研究者番号：90468033