難治性消化器疾患の治療と創薬 —基礎研究のための疾患モデルと薬効評価の問題点—

和田孝一郎, 臼田 春樹

要約: クロウン病や潰瘍性大腸炎に代表される難治性の消化器疾患は、指定難病の対象になっており、より効果的な創薬と根本的な治療法の確立が望まれている。そのためには適切な疾患モデルを用いた基礎的研究と、新しい治療薬開発のための薬効評価は重要である。その一方でこれら難治性消化器疾患の根本的な発症原因は依然として明らかになっていない。しかしながら粘膜の炎症・びらん・潰瘍といった炎症性腸疾患の病態発症には、免疫系の異常が直接の原因であることは間違いない。そこで潰瘍性大腸炎やクロウン病の基礎的研究や薬効評価には、免疫系の異常をもとにした「ヒト病態に類似した」疾患モデルである DSS colitis などの化学物質誘発性のモデルが汎用されている。これらのモデルは薬効評価や免疫系の異常などの基礎的研究には有用であるが、必ずしも「根本的な発症原因に基づいて作製された」疾患モデルとは言い難い面がある。確かにこれまでの疾患モデルを用いた基礎研究や薬効評価により効果的な治療薬が臨床応用されているのも事実である。しかしながら将来の難治性炎症性消化器疾患の完治に向けた治療法確立のためには「根本的な発症原因に基づいて作製され」、「極めてヒト病態に類似した」疾患モデルの作製がより重要になると考えられる。

1. はじめに

近年の医療の発展により多くの疾患の治療法が確立されている一方で、難治性の疾患、いわゆる難病とよばれる疾患がいまだに数多く存在している現実がある。難病とは、①原因不明、治療方針未確定であり、かつ、後遺症を残すおそれが少なくない疾病、②経過が慢性にわたり、単に経済的な問題のみならず、介護等に等

しく人手を要するために家族の負担が重く、また精神的にも負担の大きい疾病、と定義されている(1)。このうち法律で医療費助成の対象となる疾患を「指定難病」として選定し、2015年に306疾患が対象となっている。その結果、法律的には現在の「指定難病」は、①発病の機構が明らかでない、②治療方法が確立していない、③希少な疾患、④長期の療養を必要とするもの、という条件に加えて、⑤患者数が本邦において一定の人数(人口の約0.1%程度)に達しないこと、⑥客観的な診断基準が成立していること、という2条件が加わっている(2)。これらの指定難病のうち、消化器関連の難病としては「潰瘍性大腸炎」、「クロウン病」、「好酸球性消化管疾患」、「慢性特発性偽性腸閉塞症」などが主なものとしてふくまれている。特に潰瘍性大腸炎とクロウン病は近年患者数が増加しているにもかかわらず、その発症機序が依然として不明であり、治療法もいまだに完全なものが確立されていないという現状がある(3-5)。

そこで本稿では、これらの難治性消化器疾患の治療法確立のための疾患モデルを用いた基礎的研究の可能性と問題点について、潰瘍性大腸炎やクロウン病に代表される難治性・慢性の炎症性腸疾患を中心として概説したい。

2. 潰瘍性大腸炎とクロウン病

潰瘍性大腸炎とは大腸の粘膜にびらんや潰瘍を呈する炎症性の腸疾患である(2-5)。下血や下痢、腹痛や発熱を主な症状とし、一時的な寛解と再燃を繰り返すため、日常生活に大きな障害をもたらすことになる。平成25年度末の患者数(医療受給者証および登録者証交付の合計)は16万6000人であり、患者数は年々

キーワード: 難治性消化器疾患, 疾患モデル, 薬効評価, 潰瘍性大腸炎, クロウン病

島根大学 医学部 薬理学講座 (〒693-8501 島根県出雲市塩冶町 89-1)

E-mail: koiwada@med.shimane-u.ac.jp 原稿受領日: 2017年7月16日, 依頼原稿

Title: Therapeutic strategies for intractable digestive diseases: importance of disease models for evaluation of drug efficacy

Author: Koichiro Wada, Haruki Usuda

増加している（患者数が人口の約 0.1% 程度に達しないこと、という基準には合致しないが、これまでの経緯から「指定難病」とされている）。一方のクローン病は、大腸だけでなく口腔から肛門にいたるまでの消化管の各所に炎症や潰瘍を引き起こす疾患であるが、病変後発部位として小腸に多いのが特徴である。こちらでもそれらの病変により腹痛や下痢、血便、体重減少など日常生活に大きな障害をもたらすが、重篤な場合は小腸の狭窄による通過障害などのため、外科的処置も必要になる場合がある(2-5)。クローン病の患者数も年々増加しており、1975 年に 100 人程度であった患者数は平成 25 年には約 4 万人に達したことが報告されている(2)。本邦での両患者数の合計は約 20 万人ということになり米国の患者数よりはるかに少ないが、今後の患者数はさらに増えることは疑いない。それ故に、現在の治療の主流となっている症状に対する対症療法や、薬による寛解の維持に加えて、発症予防や根治に向けた治療戦略の確立が望まれている。

3. 炎症性腸疾患の病態とその原因

炎症性腸疾患の基礎的研究や疾患モデルを用いた解析は、主として病態発症メカニズムの解明や治療薬の薬効評価を目的として行われている。特に発症メカニズムの解明は、潰瘍性大腸炎やクローン病の「完治」や「発症自体の予防」につながることから、これまでに数多くの研究が行われてきた(6-9)。これらの動物モデルを用いた基礎的研究とヒト疾患を対象とした解析などからクローン病や潰瘍性大腸炎の原因として、

遺伝的要因、腸内細菌、血流障害、食物の影響などが指摘されている。さらに最近では、Th1, Th2 を含めた自己免疫系の異常が強く示唆されているが、その免疫系の異常が何によって引き起こされるのかという根本的な原因は依然として不明である(6-9)。すなわち、クローン病も潰瘍性大腸炎も「消化管粘膜のびらん・潰瘍や炎症」というアウトプットとしての表現型を呈することは間違いなく、その原因として免疫バランスの異常があるのは疑い様がないと思われる(図 1)。問題は直接的な原因となっている免疫バランスの異常を引き起こしている根本的な原因がどこにあるか? という点であり、ここが実際の患者によってそれぞれ異なる点と考えられる。すなわちクローン病や潰瘍性大腸炎はアウトプットの表現型として「消化管粘膜のびらん・潰瘍や炎症」を呈する疾患であり、その直接的原因は粘膜免疫バランスの異常であるが、その根本原因は遺伝的要因、腸内細菌、血流障害、食物の影響などの複合的な要因が複雑にからみあっている疾患であると考えられる(図 1)。

これらのことから、潰瘍性大腸炎やクローン病の完治を目指す治療戦略としては、根本原因を明らかにしたうえで最適の治療法を選択する必要がある。遺伝的要因は現在のところ如何ともしがたいが、特定の腸内細菌が根本原因と考えられる場合には糞便移植が試みられ著効を示す可能性があるし、実際に抗菌剤や抗生剤が効果を示す症例も報告されている(10, 11)。特定の食物に起因する免疫異常の場合には、抗原性を示さないような食事療法がある程度の効果を示す場合もあ

図 1 炎症性腸疾患の病態と原因

潰瘍性大腸炎やクローン病は、消化管粘膜の「炎症・びらん、潰瘍」といった表現型を呈する。この病態を引き起こす直接的原因として「免疫系の異常反応」や「粘膜上皮の障害」が指摘されている。さらにこれらの「免疫系の異常反応」や「粘膜上皮の障害」を引き起こす根本的な原因として「遺伝的要因・食物抗原・化学物質・ストレスなどの血流障害・腸内細菌」などが候補として考えられる。

る。一方でその根本原因が明らかでない場合（殆どの症例がこれにあてはまるが）には、「消化管粘膜のびらん・潰瘍や炎症」といった表現型を呈する直接の原因となっている「免疫系の異常反応」に対して薬物療法が行われることになる。すなわち、ステロイドや免疫抑制薬、抗 TNF- α 抗体薬、5-アミノサリチル酸製剤などの投与が行われることになる(6-11)。これらの治療法は免疫系の異常反応・炎症といった現実を起こっている病態に対するいわば対症療法であり、根本的な原因に対する治療法とは異なるものといえる（免疫系の異常を原因ととらえた場合は原因療法ではあるが、その免疫系の異常を引き起こす根本的な原因は多様であり、不明な場合が多い）。更には5-アミノサリチル酸のように、必ずしも作用機序がはっきりしていないにもかかわらず（抗炎症、抗菌、免疫抑制、ロイコトリエン B4 産生抑制など）多くの病態で有効であることから、使用される薬物もある(6-11)。

4. 疾患モデルを用いた炎症性腸疾患の基礎的研究と薬効評価

それでは実際に主として小動物で炎症性腸疾患の基礎的研究や薬効評価に使われている動物モデルはどのようなものが主流になっているのでしょうか？ 図2に主な疾患モデルを列記したが、現在のところ免疫系の異常反応や免疫バランスの異常をきたすことによって「消化管粘膜のびらん・潰瘍や炎症」をおこすモデルが主流になっている（図2）。前述のごとく、根本原因と考えられるものが患者によって異なる可能性が高

いうえ、「消化管粘膜のびらん・潰瘍や炎症」といった表現型による病態をおさえることが患者の直面している苦痛を軽減し寛解へとつなげるうえで重要であると考えられることから、そのようなモデルが主流となるのは必然的であろう。代表的な炎症性腸疾患の動物モデルとしては dextran sodium sulfate (DSS) や 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) などの化学物質を投与することによって、腸に炎症をおこすものである(6, 7, 12-14)。

このうち DSS colitis モデルは最も有名で広く使用されている炎症性腸炎モデルである。概略として DSS 投与により腸粘膜バリア機能の障害が引き起こされ、細菌や食物由来の抗原性物質の透過亢進がおり、それによる粘膜免疫系の異常反応がひきおこされることになる。その結果、極めて短時間に再現性の高い炎症、潰瘍やびらんを呈するモデルである。このモデルの特徴は、①ヒト疾患にきわめて類似の病態が、②簡単かつ再現性高く得られる、という点であろう。飲料水に溶かして投与するだけ、という簡単な方法で投与でき、飲料水中の DSS 濃度を調整することにより病態の程度も調節できるという操作性、汎用性が非常に高い。さらに主に大腸に極限し、粘膜のびらんや潰瘍、クリプトの消失や炎症細胞浸潤といったヒト類似の病態を短時間で（早ければ数日の投与で）得ることができる利点がある。ヒト病態ときわめて類似していることから、病態発症・悪化に関わる粘膜免疫系の基礎的研究にも数多く使用されている(6, 7, 14-16)。このモデルでは上皮細胞やマクロファージ、好中球などの役割を

図2 主な腸炎モデル

主としてマウスなどの小動物を用いて作製され、汎用されているモデルを示す。化学物質投与による方法と、それ以外の方法に大別される。化学物質の投与では、DSS や TNBS, oxazolone などを投与することにより、ヒト病態に近い状態を作り出すものである。その他の方法としては、病態発症に関与すると考えられる遺伝子の改変や、活性化した免疫系細胞の移植などにより病態を作り出す方法がある。研究においては目的にあわせた最適な動物モデルの選択が必要である。

解明するだけでなく、TLR4/MyD88をはじめとする多くの重要なシグナル系の関与を明らかにしてきた点で重要である(14-18)。薬効評価に用いる場合もほとんど問題が無い。ステロイドや5-アミノサリチル酸など実際の臨床で使用されている多くの薬物はこのモデルで有効性が確認されており、薬効評価には欠かせない存在である。実際に我々もこのモデルを使用することにより、炎症性腸疾患における peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) の役割について明らかにしている(19-22)。PPAR γ は脂肪細胞分化やインスリン感受性に関わる核内転写因子として働くことが知られているが、消化管にもその発現量が比較的多い。DSS colitis モデルを用いた検討より、PPAR γ が消化管において抗炎症的な役割をはたしていること、PPAR γ アゴニストの投与により炎症性腸疾患の発症や悪化を抑制できることが明らかになった(19-22)。さらに炎症の進展に伴って消化管での PPAR γ 発現量が低下し、炎症悪化に拍車がかかっていることも明らかになった(22)。DSS colitis モデルでみられた PPAR γ の発現量低下は、実際にクローン病や潰瘍性大腸炎患者でも報告されており(23)、このことから同モデルがヒト病態に類似の状態であることが示唆される。

さらに最近では、潰瘍性大腸炎の悪化・再燃における腸内細菌の関与を研究する上で DSS モデルが注目されている。腸粘膜上皮のバリア機能が障害されていることから、より腸内細菌の影響を受けていることが考えられており、腸内細菌移植による病態悪化なども検討されている(24)。

TNBS colitis モデルはハプテンである TNBS を直腸内投与することにより作製される急性腸炎モデルであり、サイトカインなどのプロファイルからどちらかといえばクローン病に近いモデルと考えられている(12, 13, 25)。薬効評価にも使用されるが、おもに様々な病態発症シグナルの関与やメカニズムの解明に用いられることが多い。BALB/c マウスを用いた慢性 TNBS colitis モデルの場合、線維化の病態を呈することから、ヒト IBD の線維化メカニズムの解明に有用であると考えられている(26, 27)。TNBS の投与方法が多少煩雑なこと、また使用するマウスのストレインによりサイトカインプロファイルなどの結果が異なることなど、使用する場合の注意が必要である。

Oxazolone colitis モデルは、ハプテンである oxazolone の投与により大腸炎を引き起こすモデルである(12, 14, 28-30)。Oxazolone 自体は皮膚アレルギー性炎症のモデル作製時に使用されている。Oxazolone colitis モデルの特徴は、同じハプテンの TNBS colitis

モデルがクローン病のモデルとされるのに対し、oxazolone 投与では潰瘍性大腸炎と酷似の病態を呈するモデルであるとされる。主として oxazolone による上皮障害により NKT cell の活性化と IL-13 の増加がおり、病態が発症すると考えられているが、その他のメカニズムも関与しており不明な点が多い。NKT cell の活性化には CD1d を介したシグナル系の介在が必要とされており、このとき glycolipid が重要な役割を果たすとされている(12, 14)。それゆえ CD1d-NKT cell 系のシグナルを研究する上では非常に有用なモデルである(12, 14, 28-30)。また、病態がヒト疾患に酷似しており、DSS colitis モデルよりも病態発症メカニズムがヒトに近いのではないかと考えられている。

DSS, TNBS, oxazolone 誘発性の colitis モデルはヒトに類似の病態を呈し、免疫系の異常反応などメカニズムの解析のほか、薬効評価にも有用であることから汎用されている。しかしながらこれらの化学物質を投与することで引き起こされる炎症性腸疾患モデルは、あくまでヒトと類似の病態を呈するモデルであり、根本原因に基づくモデルではないことは留意すべきである。DSS や TNBS を摂取して腸炎になった患者はほとんどいないであろうし、腸粘膜上皮のバリア機能を障害したり免疫系の異常反応を引き起こしたりする根本的な原因は当然ほかに存在するからである。

遺伝子変異動物モデルとして、IL-10 ノックアウトマウス(31, 32)や STAT-3 deficient マウス(33)など多くの腸炎モデルがこれまでに報告されている。上記の化学物質誘発性の腸炎モデルと異なり、遺伝子変異動物モデルは免疫反応の異常を引き起こす根本原因に関与する可能性のあるものが多い。特に腸炎の遺伝子変異モデルとして早い時期から確立された IL-10 ノックアウトマウスはその代表と考えられる。実際に IL-10 の遺伝子多型が潰瘍性大腸炎とクローン病の両方に関与することも報告されており、IL-10 の欠損はリンパ球やマクロファージ、好中球の浸潤をとまなう炎症病変を呈することが知られている。これらの遺伝子変異動物モデルは、病態発症のメカニズムや免疫反応の異常に関する基礎的研究を行う上で非常に重要なモデルである。しかしながら価格的な問題に加えて、単一遺伝子の変異だけで全ての病態発症メカニズムが解明されるわけではないこと、遺伝子変異の種類によってはヒトの病態とは類似していない場合があるなどの欠点もあることから、薬効評価などにはむしろ DSS や TNBS, oxazolone 誘発性の colitis モデルのほうが適しているものと考えられる。

誌面の都合で割愛するが、このほかに活性化した免

疫細胞を移植することで腸炎を惹起する細胞移植 colitis (adoptive cell transfer など) モデルなどが用いられる。

5. 炎症性腸疾患の基礎的研究と薬効評価で必要とされる疾患モデル

前項では、炎症性腸疾患の基礎的研究や薬効評価のための代表的な動物モデルについて概説した。結局、どのような疾患モデルが望まれる最適な疾患モデルといえるのであろうか？ やはりそれは「根本的な原因に基づいて作製され発症する」モデルであり、「ヒト病態に類似した」モデルである必要がある。両方を兼ね備えたモデルであるのが望ましいのは言うまでもないことであるが、難治性炎症性腸疾患の場合、根本的な原因が必ずしも明らかにはなっていないことが多い。そのため必然的に「免疫系の異常」を有する「ヒト病態に類似した」モデルを多くの場合に使用することになる。特に薬効評価・有効性評価においては、「ヒト病態に類似した」症状である炎症・びらん・潰瘍といった症状（前述の表現型・アウトプット）を改善することが目的の一つであり、そのためには病態が類似であれば十分であり、モデルの作製方法や過程はあまり重要視されない。それゆえ DSS や TNBS, oxazolone といった化学物質が腸炎モデル作製に使われている。考えてみれば消化器系に限らず、疾患モデルの多くは「ヒト病態に類似した」モデルであえることを目標に作られている。ヒトと動物は異なる点も多いが、骨格を有し循環器系・呼吸器系・消化器系といった基本的な構造は同じであることから、基礎的研究や薬効評価に動物が疾患モデルとして使われる。特に薬効評価においては病態モデルの最低限の条件が「ヒト病態に類似した」モデルであることが必要条件であり、正確な薬効評価ができれば十分であるという考え方である。確かにこれまでの疾患モデルを用いた基礎研究や薬効評価により効果的な治療薬が臨床応用されているのも事実であり、現時点ではこの考えに賛成である。しかしながら将来の難治性炎症性消化器疾患の完治を目的とした治療法確立のためには「根本的な発症原因に基づいて作製され」、「極めてヒト病態に類似した」疾患モデルの作製がより重要になると考えられる。前述のごとく、免疫系の異常や腸粘膜の障害を引き起こす根本的な原因は不明であり、多種多様な原因が混在している可能性が高いことから（原因遺伝子の変異も単一

遺伝子で全て解決するわけではないことから）、そのような疾患モデルの作製は現状では非常に難しいかもしれない。その一方でより現実的な考え方をとるならば、「疾患の治療に有効な創薬標的が見つかる（あるいは内在している）ようなヒト病態に類似のモデル」であれば、現時点では非常に優れたモデルであるとも考えられる。あきらかな創薬標的が存在すればそれをもとにした治療戦略と創薬を進めることが可能となるし、創薬標的を探索できるようなモデルであれば将来の根本治療へ向けた研究を進めることも可能になる。潰瘍性大腸炎やクローン病といった難治性消化器疾患の研究において、そのようなモデルが作製されれば非常に有効なツールとなることは疑いない。根本的な原因は多種多様であったとしても、優れた病態モデルを用いて創薬標的を一つ一つ地道に潰していくことができれば、あらゆる難治性消化器疾患の完治も可能になると考えられる。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) 厚生省 難病対策要綱. 昭和 47 年.
- 2) 公益財団法人難病医学研究財団難病情報センター ホームページ. <http://www.nanbyou.or.jp/>
- 3) Baumgart DC, et al. Lancet. 2007;369:1627-1640.
- 4) Kaser A, et al. Annu Rev Immunol. 2010;28:573-621.
- 5) Ordas I, et al. Lancet. 2012;380:1606-1619.
- 6) Okayasu I, et al. Gastroenterology. 1990;98:694-702.
- 7) Dieleman LA, et al. Gastroenterology. 1994;107:1643-1652.
- 8) Hermiston ML, et al. Science. 1995;270:1203-1207.
- 9) Dieleman LA, et al. Clin Exp Immunol. 1998;114:385-391.
- 10) Farrell RJ, et al. Lancet. 2002;359:331-340.
- 11) Baumgart DC, et al. Lancet. 2007;369:1641-1657.
- 12) Boirivant M, et al. J Exp Med. 1998;188:1929-1939.
- 13) Neurath M, et al. Int Rev Immunol. 2000;19:51-62.
- 14) Olszak T, et al. Nature. 2014;509:497-502.
- 15) Cooper HS, et al. Lab Invest. 1993;69:238-249.
- 16) Pull SL, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102:99-104.
- 17) Rakoff-Nahoum S, et al. Cell. 2004;118:229-241.
- 18) Fukata M, et al. Am J Phys Gastrointest Liver Physiol. 2005;288:G1055-G1065.
- 19) Wada K, et al. Trends Mol Med. 2001;7:329-331.
- 20) Saubermann JL, et al. Inflamm Bowel Dis. 2002;8:330-339.
- 21) Nakajima A, et al. J Gastroenterol. 2002;37:62-66.
- 22) Katayama K, et al. Gastroenterology. 2003;124:1315-1324.
- 23) Hafraoui S, et al. Gastroenterology. 2001;116 Suppl:A689.
- 24) Natividad JM, et al. Inflamm Bowel Dis. 2012;18:1434-1446.
- 25) Strober W, et al. Gastroenterology. 2011;140:1756-1767.
- 26) Lawrance IC, et al. Gastroenterology. 2003;125:1750-1761.
- 27) Fichtner-Feigl S, et al. Gastroenterology. 2008;135:2003-2013.
- 28) Heller F, et al. Immunity. 2002;17:629-638.
- 29) Fuss IJ, et al. J Clin Invest. 2004;113:1490-1497.
- 30) Olszak T, et al. Science. 2012;336:489-493.
- 31) Kuhn R, et al. Cell. 1993;75:263-274.
- 32) Franke A, et al. Nat Genet. 2008;40:1319-1323.
- 33) Kobayashi M, et al. J Clin Invest. 2003;111:1297-1308.