炎症性腸疾患におけるTNF- α を中心とした サイトカインの動態と治療戦略

日比紀文・緒方晴彦・芳沢茂雄*

mini review

INFLAMMATION AND REGENERATION

Tumor necrosis factor- α : biological significance and therapeutic target for inflammatory bowel disease

In recent years, new concepts have been formulated for the pathogenesis and therapeutic management of ulcerative colitis(UC) and Crohn's disease(CD). In the inflamed intestinal mucosa, analysis of the types of immune response ongoing has revealed that there is predominantly a T-helper cell type 1 response in CD, with exaggerated production of IL-12 and IFN- γ , whereas the lesion seems more of an antibody-mediated hypersensitivity reaction in UC. Despite these differences, downstream inflammatory events could be similar in both conditions. IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α are produced in excess in both UC and CD. New medical therapies that inhibit the bioactivity of TNF- α represent a major breakthrough in the treatment of CD. The mouse chimeric monoclonal antibody infliximab against TNF- α is effective for treating active CD, closing fistulas, and maintaining remission. Side effects occurring in CD patients treated with infliximab include human anti-chimeric antibodies, worsening infections, or malignancies of unknown relationships. This review seeks to summarize analysis about manipulation of cytokines especially focusing into TNF- α in inflammatory bowel diseases and studies in which anti TNF- α antibody has been used in the treatment of CD.

Rec. 10/22/2001, Acc. 12/10/2001, pp115~121

Toshifumi Hibi・Haruhiko Ogata・Shigeo Yoshizawa*

key words : inflammatory bowel disease, ulcerative colitis,
Crohn's disease, cytokine, TNF- α

消化管粘膜におけるサイトカインは、免疫担当細胞間のみならず上皮細胞や間質細胞などとの間で相互作用を営んでおり、粘膜の微小環境の保持や粘膜の再生などにも密接に関与している。こうした免疫応答の調節にきわめて重要なサイトカインの動態をはじめとする最近の免疫学的検討により、従来非特異的炎症性腸疾患すなわち inflammatory bowel disease (IBD) と総称され、一括して扱われる傾向にあった潰瘍性大腸炎 (ulcerat-

ive colitis : UC) と、クローン病 (Crohn's disease : CD) がまったく異なった病因、病態の疾患であることが明らかにされつつある¹⁾。

たとえば、クローン病に関しては Th 1 系の免疫異常が強く認められることに関しては研究者の見解が一致しているが、潰瘍性大腸炎の炎症が抗体依存性の免疫過敏反応が主たる病態とされているものの、Th 2 系であることはいまだ一定の結論に達していない。しかし、腸管上皮細胞ならびに粘膜固有層における活性化マクロファージから産生される TNF- α の活性は、両疾患のいずれにおいても炎症の活動度に相関して上昇しているこ

* Department of Internal Medicine and Center for the Research of Inflammatory Bowel Disease, Keio University School of Medicine 慶應義塾大学医学部内科・同炎症性腸疾患センター

図 1 サイトカインからみた潰瘍性大腸炎の病態

とは明らかである。本稿では、潰瘍性大腸炎とクローン病それぞれの病態に直接関与するサイトカインについて概説するとともに、特に生物工学的治療薬(biologics)の代表格として近年注目されている抗 TNF- α 抗体療法の治療成績を中心に述べる。

潰瘍性大腸炎

大腸粘膜内では種々のサイトカインが変化し、炎症を持続させており、基本的に活性化マクロファージから産生されるほとんどのサイトカイン(IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ)活性は、活動期の組織において上昇している²⁾。組織内におけるこれらのサイトカイン濃度は疾患の活動度と相関していることが多く、炎症による強い関与を裏付けるものである(図1)。

IL-1 は主として粘膜固有層内のマクロファージより産生されるが、上皮細胞からもごく少量産生されている。これに対し、IL-6 および IL-8 は、マクロファージや間質細胞ばかりでなく、炎症部の活性化した上皮細胞からも活発に産生されている。また可溶性 TNF- α レセプターは TNF- α の働きを抑制するが、活動期粘膜中の TNF- α に対する可溶性 TNF- α レセプター比の上昇はみら

れない³⁾。

しかし、TNF- α と可溶性 TNF- α レセプターの関係は微妙で、TNF- α に対して可溶性 TNF- α レセプターが過剰にあれば TNF- α の作用を抑制するが、少量であると逆にその作用を増強する。

筆者らは潰瘍性大腸炎患者血清中に存在する“胸腺増生因子”が IL-7 そのものであり、大腸上皮細胞が IL-7 を産生していることを明らかにした⁴⁾。IL-7 はこれまで胸腺や骨髄の間質細胞から産生され、T 細胞や B 細胞の分化・発達に重要な分子と考えられていたが、筆者らの発見を契機に、腸管内における胸腺外の T 細胞分化にも必須の分子であることが多くの施設で確認され、注目を集めている。

さらに最近、マウスにおいて胸腺と同列の一次リンパ装置として、cryptopatch というまったく新しい構造が発見され⁵⁾、cryptopatch には IL-7 R 陽性細胞が多数存在し、この構造が胸腺外分化の場として、intra-epithelial lymphocyte (IEL) の発生母地であることが報告され、IL-7/IL-7 R システムの腸管粘膜での重要性が示唆される。潰瘍性大腸炎患者大腸上皮杯細胞においては IL-7 蛋白の減少などを認めており、上皮細胞由来 IL-7 は、腸管局所粘膜においてリンパ球の分化と機能

図2 サイトカインからみたクローン病の病態

を調節することにより、粘膜免疫反応に重要な役割を果たし⁶⁾、大腸粘膜での慢性炎症持続機序に重要なサイトカインである。

さらに、IL-7 トランスジェニックマウスで潰瘍性大腸炎類似の病変がみられるという事実を見いだしており⁷⁾、大腸慢性炎症のモデル動物としても有用であるとともに、IL-7 の腸管での役割を追究するうえに重要と考え研究を進めている。

クローン病

クローン病においては主にマクロファージや樹状細胞の活性化に伴う IL-1, IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α , IFN- γ などの Th1 優位のサイトカイン産生により病態が形成されるものと考えられている²⁾(図2)。IL-6 は T・B 細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞、マクロファージなど多彩な細胞から産生され、活動性クローン病炎症粘膜における mRNA ならびに蛋白、さらに血清レベルでの上昇が報告されている。TNF- α が IL-6 産生を誘導する作用を有することを考えると、クローン病での病態に TNF- α と IL-6 が協調して深く関わっている可能性がある。IL-12 は単球/マクロファージ系細胞より細菌、lipopolysaccharide(LPS) などの刺激により産生され、NK 細胞、T 細胞に作

用して IFN- γ の産生を誘導し、Th1 優位な病態の形成に重要な因子である。クローン病炎症粘膜においては活性型 IL-12 の上昇が認められ、本症における Th1 サイトカイン反応の惹起が示唆される。

一方 IL-18 は IL-12 とは異なり、マクロファージばかりでなく、上皮細胞にも発現を認める。Pizarro らは、クローン病炎症粘膜上皮細胞において活性型 IL-18 を強く発現し、病態に関与することを報告した⁸⁾。一方、IL-12 ならびに IL-18 のノックアウトマウスでの検討により、IL-12, IL-18 による IFN- γ 産生能はきわめて低下しており、*in vivo* における IFN- γ 産生は IL-12 との synergistic な作用が重要であることが予想される。さらに活動期クローン病患者においても、血清中 IL-18 の上昇および病変部粘膜内マクロファージでの発現増強が認められるとともに、本症粘膜内リンパ球は IL-18 により増殖活性と IFN- γ 産生増強を示し、特に IL-12 との強い synergy が認められた⁹⁾。

さらにクローン病モデルである trinitrobenzidine(TNB)大腸炎では、IL-18 ノックアウトマウスで消失、IL-18 抗体投与によっても抑制されることは、クローン病での IL-18 の役割を裏付けるものである。

表 1 クロウン病の緩解導入に対する infliximab の効果

	プラセボ群	infliximab 投与群		
		5 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
組み入れ患者数	25	27	28	28
CDAI				
治療前	288±54	312±56	318±59	307±50
第2週	272±75	182±79*	238±92*	217±90*
第4週	271±82	166±76*	226±115*	211±107*
IBDQ				
治療前	128±29	122±29	116±23	118±28
第4週	133±28	168±36*	146±41*	149±35*
CRP (mg/l)				
治療前	12.8±13.9	22.1±23.6	23.2±34.2	22.4±23.9
第2週	16.4±18.9	4.2±3.0*	6.7±7.3*	8.7±13.8*
第4週	14.8±18.6	5.7±9.3*	12.1±18.6*	6.9±11.6*

CDAI: Crohn's disease activity index

IBDQ: inflammatory bowel disease questionnaire

*p<0.05

(Kanai T et al., 2000 より改変)⁹⁾

最近、クロウン病で最も注目されているサイトカインは TNF- α である¹⁰⁾。TNF- α は血管内皮に働きセレクトインの発現を高めて炎症細胞を炎症の場にリクルートさせ、浮腫、血液凝固活性を亢進し微小循環障害をきたすとともに、血管内皮細胞や上皮細胞の IL-8 産生を亢進させ、同時に肉芽腫形成にも関与する。本症では、血清、糞便および粘膜固有層における TNF- α 活性の上昇や産生細胞の増加が報告されている。さらに、活動期においては LPS あるいは OK-432 の刺激により末梢血マクロファージから著明に高い TNF- α 産生が認められている。また、炎症局所におけるホーミング受容体の発現を亢進させ、炎症細胞浸潤を引き起こすものと考えられている。クロウン病においては TNF- α が消化管の炎症の惹起ならびに持続にきわめて重要な factor であり、これを標的とした治療法が開発されている。

抗 TNF- α 抗体療法

抗 TNF- α 抗体には、現在抗 TNF- α キメラモノクローナル抗体(cA 2, infliximab), CDP 571 抗体(humicade)および recombinant ヒト TNF- α receptor (p 75)-Fc 結合蛋白(etanercept)がある¹¹⁾。この抗体の作用機序としては、① TNF- α

表 2 クロウン病の瘻孔に対する infliximab の効果

	プラセボ群	infliximab 5 mg/kg 群	infliximab 10 mg/kg 群
組み入れ患者数	31 例	31 例	32 例
脱落患者数	4 例	1 例	1 例
第一次標到達率 (排膿瘻孔 50% 以上減少)	26%	68%	56%
完全緩解率 (排膿瘻孔の消失)	13%	55%	38%
CDAI (第 18 週) 中央値	160	104	123
PDAI (第 18 週) 中央値	7.0	4.0	5.0
Infliximab の 副反応(重症)	—	1 例	4 例

(Papadakis KA et al., 2000 より改変引用)¹⁰⁾

や可溶性 TNF- α を中和して TNF- α の作用を抑える、② 細胞の膜型 TNF- α に結合して、抗体依存性細胞障害機序(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)で保有細胞を死滅させる、③ 活性化 T 細胞をアポトーシスに陥らせて、Th 1 系のサイトカイン産生を抑制する、などのメカニズムが考えられている。infliximab の構造は、75%がヒト、25%はマウス由来で、humicade が 95%がヒト、5%がマウス由来で構成されている。

実際にこの両抗体をヒトに投与すると、human

図3 Infiximab 連続投与によるクローン病の効果
(Targan SR et al., 1997)¹³⁾

anti-human antibody (HABA) が出来ることが報告されたため、この解決策として100%がヒト由来である etanercept の導入が期待された。しかし、米国での大規模な randomized controlled study でその治療効果について否定的な成績が得たことにより、現時点では infliximab が臨床の場で主として用いられている。以下にクローン病に対する抗 TNF- α 抗体療法の治療成績につき概説する。

1. 緩解導入効果

1993 年, Derkx ら¹²⁾ はステロイドをはじめ種々の薬剤に抵抗性の12歳のクローン病少女に抗 TNF- α キメラモノクローナル抗体 (cA 2) を投与し有効であったと報告したのが本症における抗 TNF- α 抗体療法の第1報である。さらに Targan ら¹³⁾ は中等症以上のクローン病患者に cA 2 を静脈注射して4週で Crohn's disease activity index (CDAI) 値の有意な改善率を得た。血清 CRP 値も有意に低下し、炎症性腸疾患での QOL を調べる inflammatory bowel disease questionnaire (IBDQ) の成績も改善がみられた (表1)。

以来、欧米ではクローン病の緩解導入における抗 TNF- α 抗体療法の地位は揺るぎないものとなった。

2. 瘻孔治療効果

1999 年, Present ら¹⁴⁾ はクローン病の合併症として排膿を有する腹壁瘻あるいは肛門周囲瘻を有する患者を対象として、cA 2 を0, 2, 6週の3回静脈注射し、排膿を有する瘻孔の50%以上の減少効果で検討すると有意に良好な成績が得られ、さらに完全な瘻孔閉鎖 (完全緩解) 率でも有意差が認められたと報告した (表2)。

クローン病に伴う瘻孔は通常の治療に対して抵抗性であることが多い。外科的には切除術や Seaton 法が実施され、内科的治療法としては絶食下の完全静脈栄養に抗菌薬を組み合わせた治療などが行われるが、食事再開とともに再燃することが多い。免疫抑制剤の投与が有効と報告されているが、効果発現までの時間や持続性の点で問題が残っている。さらには腸管皮膚瘻といった外瘻においては患者の QOL に与える影響も多大であることから、3回の静脈注射のみでこれだけの成績が得られたことは、本抗体の強い有効性を示すものであり大いに期待されることである。

3. 緩解維持効果

cA 2 の1回投与により得られる血中濃度を測定すると、検出可能なのは8週までで、そのあとは再燃する可能性がある。そこで、本抗体の緩解維持効果の判定を目的に Rutgeerts ら¹⁵⁾ は以下の

ような検討を行った。緩解導入を目的とした cA 2 1 回投与にて有効であったクローン病患者を対象として、cA 2 を 8 週ごとに 4 回繰り返し静注し投与終了後 8 週の段階で最終評価を行ったところ、緩解維持率は cA 2 群で有意にすぐれていた(図 3)。そのうち、6-MP や azathiopurine などの免疫抑制剤を同時投与されたグループの臨床効果維持率は、同時投与のないグループにくらべて良好な傾向があった。さらに、2001 年 5 月に開催された米国消化器病学会においても、500 例以上におよぶ大規模な臨床試験の成績が報告され、高い緩解維持効果が得られることが明らかとなった。

以上のごとく、本抗体は緩解導入のみならず維持療法としての効果も認められ、しかも 8 週間に 1 回の投与でよいとなると患者の QOL の向上にも貢献すると思われる。

4. 副作用

副作用は、使用した 90%以上の症例で報告され、上気道炎、気管支炎、喉頭炎、嘔気などが主であり、感染症の増悪例も認められた。そのほか数例に、二本鎖 DNA に対する抗体や抗キメラ抗体が認められ、また頻度は低く関連性は明らかではないものの、悪性リンパ腫や腎細胞癌などの悪性腫瘍の発生が報告されており、至適投与量や投与期間などよりよい治療のプロトコールにつき、さらなる経験と検討を要するものであると考えられる。

おわりに

炎症性腸疾患の粘膜局所におけるサイトカインの動態は、これまでの多岐にわたる研究により徐々に明白となってきたが、まだ原因は不明である。今後は真の病因となりうる、ウイルスや腸内細菌などの特異抗原の同定など、病因に直接せまる研究から、根本的治療法の開発にもつながるものと期待される。一方、今回紹介した抗 TNF- α キメラ抗体療法は、欧米ではすでにクローン病患者に対する治療の first choice として確立されつつあり、わが国においても良好な治験

成績が得られており、その認可が待たれている。また、緩解導入、維持療法として栄養療法がコンセンサスを得ている本邦において、本抗体による治療法をどこに位置づけるか、今後の検討を要する。

また、潰瘍性大腸炎も含め炎症性腸疾患に対して現在臨床応用されつつある biological agents には、ほかにも抗 IL-6 レセプター抗体、rIL-10、rIL-11 などがあげられ、炎症性サイトカイン転写因子である NF- κ B や強力な Th 1 誘導物質である IL-12 などを標的とした治療薬の開発が期待されている。

文 献

- 1) Podolsky DK : Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 325 : 1008-1016, 1991.
- 2) Papadakis KA, Targan SR : Role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Ann Rev Med* 51 : 289-298, 2000.
- 3) Noguchi M, Hiwatashi N, Liu Z, Toyota T : Secretion imbalance between tumor necrosis factor and its inhibitor in inflammatory bowel disease. *Gut* 43 : 203-209, 1998.
- 4) Watanabe M, Ueno Y, Yajima T, Iwao Y, Tsuchiya M, Ishikawa H, Aiso S, Hibi T, Ishii H : Interleukin-7 is produced by human intestinal epithelial cells and regulates the proliferation of intestinal mucosal lymphocytes. *J Clin Invest* 95 : 2945-2953, 1995.
- 5) Saito H, Kanamori Y, Takemori T, Nariuchi H, Kubota E, Takahashi H, Iwanaga T, Ishikawa H : Generation of intestinal T cells from progenitors residing in gut cryptopatches. *Science* 280 : 275-278, 1998.
- 6) Yonamine Y, Watanabe M, Kinjo F, Hibi T : Generation of MHC class I-restricted cytotoxic T cells and clones against colonic epithelial cells from ulcerative colitis. *J Clin Immunol* 19 : 77-85, 1999.
- 7) Watanabe M, Ueno Y, Yajima T, Okamoto S, Hayashi T, Yamazaki M, Iwao Y, Ishii H, Habu S, Uehira M, Nishimoto H, Ishikawa H, Hata J, Hibi T : Interleukin 7 transgenic mice develop chronic colitis with decreased interleukin 7 protein accumulation in the colonic mucosa. *J Exp Med* 187 : 389-402, 1998.
- 8) Pizarro TT, Michie MH, Bentz M, Woraratanadarm J, Smith MF, Foley E, Moskaluk CA, Bickston SJ, Cominelli F : IL-18, a novel immunoregulatory cytokine, is up-regulated in Crohn's disease : expression and localization in intestinal mucosal cells. *J Immunol* 162 : 6829-6835, 1999.
- 9) Kanai T, Watanabe M, Okazawa A, Nakamaru K, Okamoto M, Naganuma M, Ishii H, Ikeda M, Kurimoto M, Hibi T : IL-18 is a potent prolifer-

- ative factor for intestinal mucosal lymphocytes in Crohn's disease. *Gastroenterology* 119 : 1514-1523, 2000.
- 10) Papadakis KA, Targan SR : Tumor necrosis factor : Biology and therapeutic inhibitors. *Gastroenterology* 119 : 1148-1157, 2000.
- 11) Sandborn W, Hanauer SB : Antitumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease : review of agents, pharmacology, clinical results, and safety. *Inflammatory Bowel Diseases* 5 : 119-133, 1999.
- 12) Derkx B, Taminiau J, Radema S, Stronkhorst A, Wortel C, Tytgat G, Deventer S : Tumor-necrosis factor antibody treatment in Crohn's disease. *Lancet* 342 : 173-174, 1993.
- 13) Targan SR, Hanauer S, van Deventer S, Mayer L, Present DH, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, Rutgeerts PJ : A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA 2 to tumor necrosis factor α for Crohn's disease. *N Engl J Med* 337 : 1029-1035, 1997.
- 14) Present DH, Rutgeerts P, Targan S, Hanauer SB, Mayer L, van Hogeand RA, Podolsky DK, Sands BE, Braakman R, DeWoody KL, Schaible TF, van Deventer SJ : Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *N Engl J Med* 340 : 1398-1405, 1999.
- 15) Rutgeerts P, D'haens G, Targan S, Vasiliasukas E, Hanauer SB, Present DH, Mayer L, van Hogeand RA, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, van Deventer SJH : Efficacy and safety of retreatment with anti-tumor necrosis factor antibody (Infliximab) to maintain remission in Crohn's disease. *Gastroenterology* 117 : 761-769, 1999.