

## 岩手医科大学審査学位論文の要旨 (博士)

NLRP3 inflammasome inhibitor OLT1177 suppresses onset of inflammation in mice with dextran sulfate sodium-induced colitis

(NLRP3 インフラマソーム阻害剤 OLT1177 はマウスの DSS 誘導大腸炎発症を抑制する)

(大泉智史, 真柳平, 鳥谷洋右, 菅井有, 松本主之, 祖父江憲治)

(Digestive Diseases and Sciences, 67 巻, 7 号 令和 4 年 7 月掲載)

### I. 研究目的

炎症性腸疾患 (Inflammatory bowel disease: IBD) は正確な病因が未だ解明されていない慢性的な炎症性腸疾患である。治療としては活動性炎症を抑制するための寛解導入療法と、炎症の再発を抑制する寛解維持療法が行われる。NLRP3 インフラマソームは IBD における炎症の発症とその重症度の進行に密接に関与していることが報告されている。NLRP3 インフラマソームの活性化は炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  の産生を誘導し、ヒト IBD 組織での IL-1 $\beta$ , NLRP3 の発現亢進が認められている。OLT1177 は NLRP3 インフラマソームの選択的阻害剤であり、IL-1 $\beta$  のプロセッシングと放出を妨げる(Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 Feb 13;115(7): E1530-E1539).

この研究では、最も一般的な IBD モデルであるデキストラン硫酸ナトリウム(Dextran Sulfate Sodium: DSS)誘導大腸炎マウスを用いて、OLT1177 が IBD の寛解導入と維持において治療標的になりうるかを調べた。

### II. 研究対象ならび方法

C57BL/6J マウスに飲料水に混和させた 3%DSS を 5 日間、続いて通常の飲料水を 5 日間与えた。OLT1177 は腹腔内投与で 1 日 1 回 5 日間投与した。マウスは OLT1177 を DSS 開始と同日から与える、臨床治療における「寛解維持」と、DSS 投与後から与える「寛解導入」にグループを分けた。体重と便の性状を毎日観察し Cantabran らの方法(Front Microbiol. 2016 Jun 9;7:868)で疾患活動度をスコアリングした。実験開始後 10 日目に犠牲死させ、組織学および生化学的評価を行った。大腸長を計測し、スイスロール法 (Lab Anim. 1981;15(1):57-59) および Hematoxylin-Eosin(HE)染色にて組織学的評価 (Gastroenterology 120: 925-937, 2001) を行いスコアリングした。遠位結腸組織から抽出された RNA を用いて Real-time qPCR によって遺伝子発現を調べた。遠位結腸組織を用いて Western blot による目的タンパク質の分析を行った。各群の比較は Tukey-Kramer 検定を用いた一元配置分散分析で行った。

### III. 研究結果

DSS 投与と同時に OLT1177 を与えた群 (OLTonset) は、DSS 単独群と比較して体重減少、大腸長の短縮、疾患活動度、腸管炎症の増悪を有意に抑制した。また、Real-time qPCR では IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10 は有意に発現が抑制され、occludin は有意に発現減少が抑制されていた。IL-17, MAdCAM は有意差を認めなかったが、明らかな減少傾向を認めた。Western blot では DSS グループと比較して、proIL-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ , pro-Caspase-1, お

よび p-NF- $\kappa$ B のタンパク質レベルの有意な減少を認めた。DSS 投与終了後から OLT1177 を与えた群(OLTrevr)では DSS 単独群と比較して体重減少, 大腸長の短縮, 疾患活動度に有意差は認めなかった。腸管炎症の増悪, および IL-1 $\beta$ , IL-6 の遺伝子発現は有意に抑制されていた。Western blot では ProIL-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ , pro-Caspase-1, および p-NF- $\kappa$ B のタンパク質レベルのダウンレギュレーションを示した。

#### IV. 考 按

OLT1177 の予防的な投与は DSS 誘導性大腸炎の発症を著明に抑制し, 優れた炎症発生抑制効果を示すことを明らかにした。生化学的解析からは OLT1177 は NLRP3 インフラマソームを阻害することで caspase-1 の活性化を抑制し, IL-1 $\beta$  の成熟を阻害していることが確認された。さらに OLT1177 投与は炎症惹起の起点となる IL-1 $\beta$  の機能を阻害することで, 間接的に NF- $\kappa$ B 転写経路の活性も抑制して IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-17 など一連の炎症性サイトカインの転写レベルの発現も顕著に抑制した。つまり OLT1177 による NLRP3 インフラマソーム阻害はその下流標的かつ炎症反応の起点となる IL-1 $\beta$  等の機能を阻害することで炎症の発生を抑制し, 大腸炎発症を予防することを明らかにした。一方で, 優れた炎症予防効果を示した OLT1177 だが, 炎症が生じた後では投与してもほとんど効果を示さないという結果となった。これらは NLRP3 インフラマソーム阻害による炎症起点のブロックという効果機序の理解につながる結果となった。なおかつ臨床への応用を目指す際に重要な知見と考えられた。

#### V. 結 語

本研究では, 急性期の DSS 誘導大腸炎に対する OLT1177 の効果の評価に焦点を合わせた。次に臨床治療に則した炎症のタイミングで OLT1177 を投与し, 明確な有効性を示すことができた。結論として, 本研究では OLT1177 の DSS 誘導大腸炎に対する明確な炎症予防効果を示した。