

授与番号	甲第 1871 号
------	-----------

## 論文内容の要旨

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 誘発性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 2021 年 8 月電子掲載)

### 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) 誘発性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. 結 語

OLTonset における炎症の抑制効果は顕著であり, OLT1177 は臨床治療における寛解維持療法の有用性が示唆された. OLTrevr では組織学的評価スコア, IL-1 $\beta$ , IL-6 の有意な抑制を認めたが, 体重減少, 大腸長の短縮, 疾患活動度の抑制は認められなかった. OLT1177 は活動性の高い IBD 患者の寛解導入療法には適していない可能性が示唆された.

本研究では, 急性期の DSS 誘発性大腸炎に対する 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. 活動性の高い大腸炎に対して有効性が乏しいか評価するためには, DSS 誘導性大腸炎による慢性期モデルによる検証が必要だと考えられた. 結論として, 本研究では OLT1177 の DSS 誘発性大腸炎に対する明確な炎症予防効果を示した.

## 論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 佐々木 章 (外科学学講座)

副査 教授 菅井 有 (病理診断学講座)

副査 教授 滝川 康裕 (内科学講座消化器内科肝臓分野)

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導入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度に密接に関与していることが報告されている。本研究論文では、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, DDS) 誘発性大腸マウスを用いて、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検証した。その結果、DSS 投与と同時に OLT1177 を投与した群は、DSS 単独群と比較して体重減少、大腸長の短縮、疾患活動度、腸管炎症の増悪を優意に抑制した。一方で、DSS 投与終了後から OLT1177 を投与した群では、DSS 単独群と比較して疾患活動度や病理組織学的所見で優意差を認めないことを立証した。本研究結果より、OLT1177 をヒト IBD の治療薬として使用する際の指針に寄与することが期待できる。

本論文は、OLT1177 の DSS 誘発性大腸炎に対する炎症予防効果についての可能性を示した有益な研究であり、学位に値する論文である。

## 試験・試問の結果の要旨

IBD に関する知識、OLT1177 の機序と効果、実験モデルの選択と手法、データ解析について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

## 参考論文

- 1) Risk factor for post-gastric endoscopic submucosal dissection bleeding with a special emphasis on anticoagulant therapy  
(抗凝固療法に特に重点を置いた胃内内視鏡的粘膜下層剥離後出血の危険因子) (鳥谷洋右, 他 11 名と共著)  
Digestive Diseases and Sciences, 65 巻, 2 号 (2020): p557-564.
- 2) Diagnostic algorithm of magnifying endoscopy with crystal violet staining for non-ampullary duodenal epithelial tumors  
(非乳頭部十二指腸上皮腫瘍に対するクリスタルバイオレット染色による拡大内視鏡検査の診断アルゴリズム) (鳥谷洋右, 他 12 名と共著)  
Digestive Endoscopy, 32 巻, 7 号 (2020): p1066-1073.