

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08440

研究課題名(和文) プロバイオティクスを用いた放射線性腸管粘膜障害の改善と敗血症発症抑制効果の検討

研究課題名(英文) Improvement of radiation intestinal mucosal damages and suppression of bacterial sepsis by probiotic administration

研究代表者

仲村 究 (Nakamura, Kiwamu)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30736690

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではプロバイオティクスの投与により、放射線障害を受けたマウスの腸管粘膜が回復し、それによって腸管からのbacterial translocationを介した敗血症の発症抑制効果が得られるかについて検討した。免疫細胞と放射線による腸管粘膜障害との関連性の評価並びに、プロバイオティクス投与による粘膜障害の改善の電子顕微鏡を用いた解析を行った。放射線被曝下でのプロバイオティクスによる腸管粘膜修復作用、および最終的に敗血症の発症を抑制する効果があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、放射線障害により誘導されたanti-inflammatory cellsや急性期炎症性蛋白が腸管粘膜にどのような影響を与えるかについて、電子顕微鏡等を用いた直接的な画像評価を行うことを目的として行った。本研究により、放射線照射による腸管粘膜病変を有する患者において、抗炎症作用のあるプロバイオティクスおよびオロソムコイド投与マウスでは粘膜炎症が軽減する可能性が示唆され、難治性の放射線性粘膜障害に対してそれを改善させる可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated whether administration of probiotics restores the intestinal mucosa of radiation-damaged mice, which has the effect of suppressing the onset of sepsis via bacterial translocation from the intestinal tract. We evaluated the relationship between immune cells and radiation-induced intestinal mucosal damage, and analyzed the improvement of mucosal damage caused by probiotic administration using an electron microscope. It was suggested that probiotics under radiation exposure have an effect of repairing the intestinal mucosa and finally an effect of suppressing the onset of sepsis.

研究分野：感染制御学

キーワード：放射線障害

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腸管の常在細菌叢を構成する微生物群(以下、腸管内常在細菌群)は通常の免疫状態の宿主においては腸管感染を起こさない。しかし、被曝により腸管粘膜細胞層の破壊を来すと、それらの腸管内常在細菌群による bacterial translocation 及び敗血症をしばしば引き起こす。腸管には多くのリンパ球が浸潤し、放射線被曝によるダメージを受け易い事が知られている。実験動物を用いた放射線障害モデルでは、1.1Gy と比較的低容量の放射線照射をラットの腹部に行った場合でも、bacterial translocation が高頻度に起こっている事が報告されている(*J. Surg. Res.* 46:104, 1989)。これまでの放射線被曝による研究から、被曝マウスの血中で anti-inflammatory cells(Th2 細胞や抗炎症性マクロファージなど)の増加が起こっており、それらにより炎症性免疫応答が抑制され、それが敗血症発症の一因となっていることが示唆されてきた(文献)。しかし、実際の腸管粘膜のダメージとそれらの細胞との相関関係については殆ど研究されておらず、それらの免疫抑制性細胞がどのように腸管粘膜ダメージに関与し、また敗血症の発症への実際の関与について殆ど明らかとなっていない。筆者のこれまでの検討から、放射線障害下で血中に増加する急性期炎症性蛋白の一つであるオロソムコイド(orosomucoid:ORM)は末梢血単球に作用し、インターロイキン(IL)-10 を産生させる(*Cytokine.* 73, 8-15, 2015)。そのような単球は抗炎症性作用を有すると考えられるが、放射線障害により血中に増加した IL-10 や ORM などの急性期蛋白についても、それらが腸管粘膜に対して保護的に作用するのか、あるいは逆に粘膜障害を悪化させるのか、について明らかとなっていない。さらに、プロバイオティクスは腸管粘膜の保護・修復作用があり臨床的に広く用いられる薬剤であるが、放射線障害を受けた腸管粘膜の修復作用の有無についての検討は殆どなされていない。

### 2. 研究の目的

腸管粘膜細胞は放射線障害に易感受性であり、放射線事故による被曝の結果、腸管粘膜バリア機構が破綻すると腸管内の細菌の侵入(bacterial translocation)から敗血症を発症し致死的となる。放射線事故のみならず癌治療などの医療行為においても腹腔を含む放射線照射が行われた際には、同様の腸管粘膜障害に起因する敗血症が起こり得る。本研究では、放射線被曝後の腸管粘膜からの bacterial translocation による敗血症発症の病態解析と、腸管粘膜保護作用のある物質の投与による敗血症抑制効果について検討することを目的とする。本研究では実際の腸管粘膜と放射線障害について電子顕微鏡を用いて画像的な評価を行いつつ、血中の anti-inflammatory cells 及び急性期炎症性蛋白が腸管粘膜細胞に対してどのように作用するのか解析する。更に、腸管粘膜保護作用が期待されるプロバイオティクスを放射線障害モデルマウスに投与し、放射線性腸管粘膜障害への改善効果と、敗血症の発症抑制効果について検討する。

### 3. 研究の方法

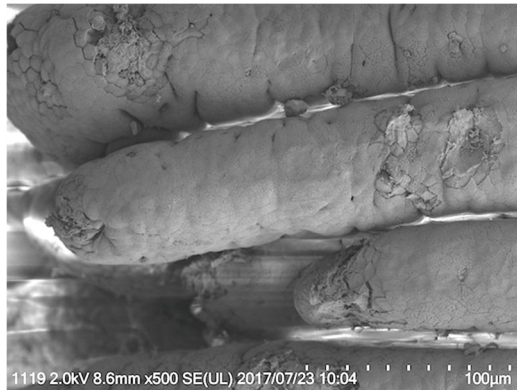
申請者による検討では、ORM を末梢血中の単球に *in vitro* で作用させた場合、感染防御に対し抑制的に作用する IL-10 や CCL1 を産生させ、抗炎症性マクロファージ(anti-inflammatory macrophages, M2Mφ)のマーカーである CD163 の発現を誘導する。また、放射線被曝量と血中 ORM、ProCT レベルの評価、及び免疫抑制的な細胞群の誘導の関係性について検討を行う。マウスを用いて放射線障害下での敗血症の進展機序の解析と予後改善効果についての検討を行う。全身または腹部へ 10Gy までの放射線を照射した被曝マウスを準備し、経腸管的に腸内細菌群を感染させ bacterial translocation を介した敗血症モデルを作製する。そのマウスを用いて感染前後で抗 ORM 抗体・抗 ProCT 抗体を投与し、上と同様に ORM と ProCT の作用阻害による抗炎症性細

胞群の産生抑制効果と、敗血症進展への予防・治療効果について検討を行う。

#### 4. 研究成果

放射線障害により誘導されたanti-inflammatory cellsや急性期炎症性蛋白が腸管粘膜にどのような影響を与えるかについて、電子顕微鏡を用いた直接的な評価を行う。下の画像はNormalマウス、5Gy被曝マウスを電子顕微鏡にて観察したものである。画像は500倍での観察であるが、放射線照射量を増加すると画像(a)~(c)のように腸管粘膜の絨毛構造の粗造化が始めに引き起こされることが分った。

(a) 非照射



(b) 5Gy 照射



(c) 5Gy 照射 + PB 投与群



プロバイオティクス(PB)は腸管粘膜の保護・修復作用があり臨床的に広く用いられる薬剤である。PBの投与により、放射線障害を受けたマウスの腸管粘膜が回復し得るのかについて、同様に画像的な検討を行った。この結果、PB投与群では粘膜の塑像化が減少していることが示唆された(画像a~c)。

具体的には、5Gy照射マウスの腸管粘膜においては細かい亀裂が散見され、放射線照射により、細胞レベルでの障害が起こると同時に、腸管粘膜の物理的な構造自体もダメージを受けることが明らかとなった。PB投与によってこの構造的ダメージの低下を認め、さらに同様の粘膜ダメージの改善はORM投与群においても認められた。これらの事項はORMによる誘導されるanti-inflammatoryな免疫細胞群が腸管粘膜ダメージの修復において保護的に機能していることを示唆するものであった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoshinobu Abe, Kiwamu Nakamura, Daiki Kaji, Hiroshi Takahashi, Kotaro Aoki, Haruka Kuse, Hideki Okada, Kaichi Ohta, Kazutaka Ohashi, Yukiko Takano, Yoshikazu Ishii, Keiji Kanemitsu	4. 巻 72
2. 論文標題 Analysis of Clinical Isolates of Extended-Spectrum $\beta$ -Lactamase-Producing Bacteria With Primer and Probe Sets Developed to Detect Bla CTX-M, Bla TEM, and Bla SHV Using a Fully Automated Gene Detection System	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Jpn J Infect Dis.	6. 最初と最後の頁 381-386
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7883/yoken.JJID.2018.466	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Abe Y, Yamamoto N, Nakamura K, Arai K, Sakurai C, Hatsuzawa K, Ogura Y, Iseki K, Tase C, Kanemitsu K.	4. 巻 224
2. 論文標題 IL-13 attenuates early local CXCL2-dependent neutrophil recruitment for <i>Candida albicans</i> clearance during a severe murine systemic infection.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immunobiology	6. 最初と最後の頁 15,29
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.imbio.2018.11.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 仲村 究
2. 発表標題 感染症診療におけるバイオマーカー最前線
3. 学会等名 第33回日本臨床微生物学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	金光 敬二  (Kanemitsu Keiji)  (90277971)	福島県立医科大学・医学部・教授     (21601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関