

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15782

研究課題名(和文)細胞内ATP濃度が免疫応答制御を介して腸管炎症に寄与するメカニズムの解明

研究課題名(英文)The elucidation of the mechanism for the contribution of intracellular ATP concentration for the intestinal inflammation through the regulation of the immune systems

研究代表者

良原 丈夫 (Takeo, Yoshihara)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20814601

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ATP濃度可視化蛋白質であるGO-Ateamを全身に発現したマウスに対してデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)投与によって腸炎を誘導し、in vivoで蛍光実体顕微鏡鏡を用いて消化管でのATPの挙動を観察したところ、DSS腸炎モデルマウスにおいてATP濃度の上昇を認めた。また全身他臓器におけるATPの挙動についても観察を行ったところ、脳内ATP濃度の上昇を認めた。DSS腸炎モデルマウスの脳内ニューロンのミトコンドリア形態について電子顕微鏡で観察したところ、非腸炎群と比較してニューロンのミトコンドリア形態異常を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は炎症性腸疾患(IBD)モデルマウスにおいて細胞内ATP濃度が細胞・臓器の機能に与える影響について明らかにし、エネルギー産生異常の観点からIBDの病態の解明の端緒とすることを目的とした。本研究結果から腸炎に伴って中枢神経でのエネルギー代謝異常が生じている事が示唆された。中枢神経系でのミトコンドリア機能異常は様々な精神疾患メカニズムの一つとして着目されており、この結果は腸と脳他臓器連関のメカニズムの解明における重要な糸口となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Dextran Sulfate Sodium (DSS) colitis was induced in the GO-Ateam expressed mice, and the ATP concentration in the intestine was measured by in vivo observation by the fluorescence stereomicroscope. The intestinal ATP concentration in the DSS colitis model mice was significantly higher than in the control mice. The ATP concentration was higher not only in the intestine but also in the brain of the DSS colitis model mice. The observation by transmission electron microscope revealed the aberration of the neural mitochondria of the brain in the DSS colitis model mice compared with the control mice.

研究分野：消化器内科

キーワード：炎症性腸疾患

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患 (IBD) は主にクローン病と潰瘍性大腸炎に大別される消化管を主体に炎症をきたす難治性疾患であり、その病因についてはいまだよくわかっていない。近年、原因不明の難治性疾患の病態にミトコンドリア機能異常が関与していることが報告されており、IBD の発症や増悪のメカニズムにおいてもミトコンドリア機能異常の関与が示唆されている。<sup>1,2</sup> ミトコンドリアの主要な働きの一つが Adenosine triphosphate (ATP) の産生であり、ミトコンドリア機能異常と ATP 合成異常は密接に関連すると考えられるが、これまで *in vivo* における ATP の挙動を詳細に解析する方法が存在しなかったため、細胞内 ATP 濃度が炎症・免疫応答に果たす役割についてはよくわかっていない。炎症性腸疾患患者の炎症増悪のメカニズムにおいてミトコンドリアの形態異常、細胞内 ATP の低下が重要な役割を示すという仮説を立て、研究を計画した。

### 2. 研究の目的

本研究は IBD モデルマウスにおいて細胞内 ATP 濃度が細胞・臓器の機能に与える影響について明らかにし、エネルギー産生異常の観点から IBD の病態の解明、新規治療法の開発への端緒とすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

ATP 濃度可視化蛋白質である G0-Ateam を全身に発現したマウス (G0-Ateam 発現マウス) を用いて炎症性腸疾患モデルマウスの作成と解析を行った。<sup>3</sup> デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 投与によって腸炎を誘導した。*in vivo* で蛍光実体顕微鏡を用いて G0-Ateam 発現マウスにおける DSS 腸炎群と非腸炎群の消化管、脳での ATP の挙動を観察した。次いで透過型電子顕微鏡を用いて G0-Ateam 発現マウスにおける DSS 腸炎群と非腸炎群の脳内神経細胞のミトコンドリア形態の評価を行った。

### 4. 研究成果

(1) ATP 濃度可視化蛋白質である G0-Ateam を全身に発現したマウス (G0-Ateam 発現マウス) を用いて炎症性腸疾患モデルマウスの作成と解析を行った。まず G0-Ateam 発現マウスに対するデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 投与によって腸炎が G0-Ateam 非発現 BL6 マウスと同等に腸炎が発症することを確認した。

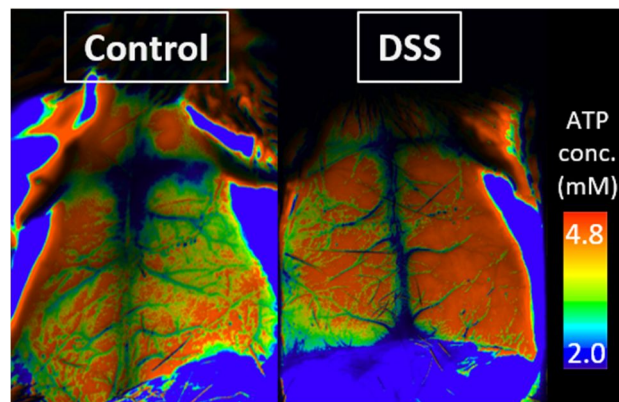


図 1 非腸炎マウス、DSS 腸炎マウスにおける脳 ATP

(2) *in vivo* で蛍光実体顕微鏡を用いて消化管での ATP の挙動を観察したところ、DSS 腸炎モデルマウスにおいて ATP 濃度の上昇を認めた。また全身他臓器における ATP の挙動についても観察を行ったところ、脳内 ATP 濃度の上昇を認めた。(図 1)

(3) *in vivo* で観察された G0-Ateam/DSS 腸炎マウスにおける ATP 濃度の変化が酸素飽和人工脳脊髄液還流下の *ex vivo* でも同様に観察できることを確認した。上記実験系を用いて DSS 腸炎モデルマウスから得た脳スライスを観察を行い、DSS 腸炎モデルマウスでは脳内 ATP 濃度が上昇していた。

(4) DSS 腸炎モデルマウスの脳内ニューロンのミトコンドリア形態について電子顕微鏡で観察したところ、DSS 腸炎モデルマウスではニューロンのミトコンドリア形態異常を認めた。(図 2) この結果から腸炎に伴って中枢神経でのエネルギー代謝異常が生じている事が示唆された。中枢神経系でのミトコンドリア機能異常は様々な精神疾患メカニズムの一つとして着目されており、この結果は腸と脳の間で他臓器連関のメカニズムの解明における重要な糸口となる可能性がある。

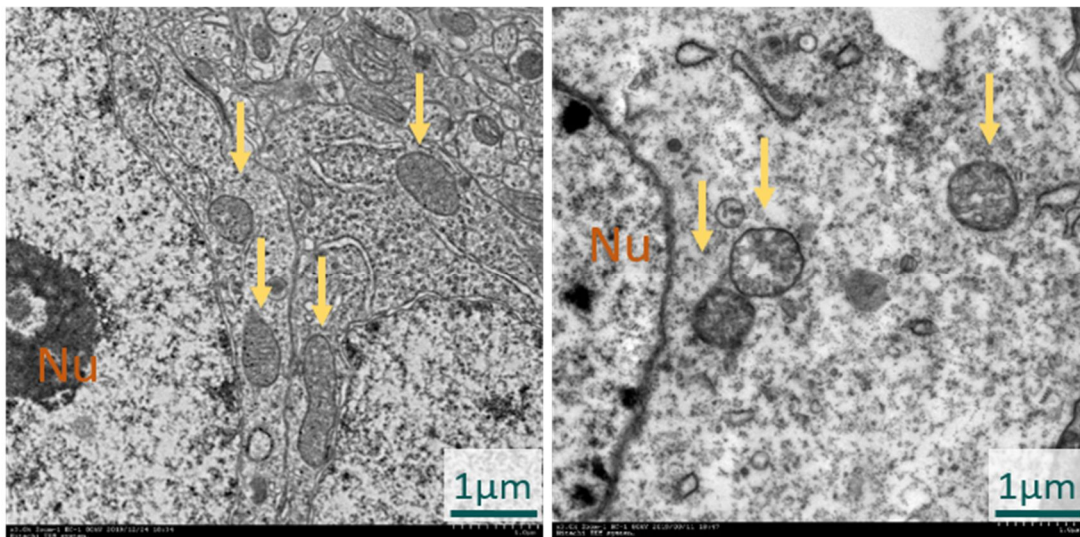


図2 非腸炎マウス、DSS 腸炎マウスにおけるニューロンミトコンドリア電子顕微鏡観察

参考文献：

- 1 ) Novak, et al. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 2015
- 2 ) Bar, et al. *Gastroenterology* 2013
- 3 ) Yamamoto, et al. *Cell Rep.* 2019

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 良原丈夫、新崎信一郎、田代拓、天野孝弘、谷瑞季、大竹由利子、岩谷修子、辻井芳樹、井上隆弘、林義人、渡部健二、飯島英樹、竹原徹郎
2. 発表標題 抑うつモデルマウスを用いた脳腸相関を介する腸管炎症増悪機構の検討
3. 学会等名 第57回日本消化器免疫学会総会
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----