

平成 30 年 4 月 27 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19846

研究課題名(和文)放射線性腸炎におけるインフラマソームの役割の解明

研究課題名(英文)Elucidate the role of inflammasome in irradiation-induced enteritis

研究代表者

井上 賢之(Inoue, Yoshiyuki)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：80375279

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：放射線照射により惹起される放射線腸炎では、炎症が病態に重要な役割を果たしているが、不明な点が多い。この病態に新規自然炎症経路であるNLRP3インフラマソームが関与しているとの仮説のもと、研究を行った。12Gyの放射線照射マウスモデルでは、野生型マウスと比較して、インフラマソーム構成分子の欠損マウスでは生存期間が延長し、体重減少や炎症・線維化マーカーの発現も抑制され、この病態の炎症がインフラマソームを介して惹起されていることが示された。また、野生型と欠損マウスのcohouse飼育における腸内細菌叢の解析により、Helicobacter属腸内細菌の病態への関与も示唆された。

研究成果の概要(英文)： Inflammation plays an important role in the pathogenesis of irradiation-induced enteritis; however, it is still unknown how radiation triggers its inflammatory responses after irradiation. We hypothesized that NLRP3 inflammasomes, a newly innate immune pathway, are involved in the process of irradiation-induced enteritis, and found that compared to the wild-type mice, mice deficient of inflammasome components prolonged the survival time, and reduced body weight loss and the expression of inflammatory and fibrosis-related markers. Furthermore, cohousing experiments revealed that gut microbiota, especially Helicobacter, contributes to the pathogenesis of irradiation-induced enteritis. These findings suggest that NLRP3 inflammasomes are crucial for mediating irradiation-induced enteritis and Helicobacter may be involved in its process.

研究分野：消化器外科

キーワード：放射線腸炎 インフラマソーム IL-1

### 1. 研究開始当初の背景

がん治療における手術・化学・放射線療法の重要性が示されている。しかし、腹部骨盤部癌への放射線療法では、小腸被爆による下痢、出血、穿孔、狭窄などの消化管合併症を生じることがあり、治療が制限されることが多い。放射線照射によるこれらの消化管障害の発生機序を解明し、治療法・予防法を開発することは臨床成績の向上のために重要な課題である。

### 2. 研究の目的

放射線照射により惹起される放射線腸炎では自然炎症惹起に重要なインフラマソームが関与しているという仮説をたて、研究を開始した。放射線腸炎発生過程におけるインフラマソームの役割と、その治療標的としての有効性を明らかにし、放射線性臓器障害における新たな治療戦略の確立を目的として研究を行った。

### 3. 研究の方法

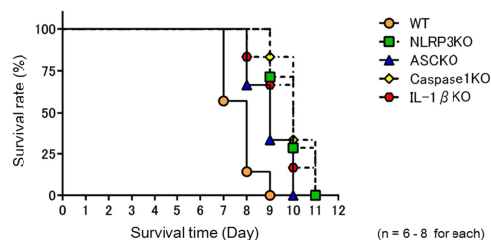
(1) 放射線照射後のマウス腸炎モデルとして、通気孔の空いたプラスチックゲージに野生型 (WT) マウスを入れ、線照射装置 (ガンマセル 40) で 12G の照射を行った。照射前後に経時的に体重を測定し、生存解析を行った。照射後 7 日目に犠牲死させてサンプリングを行い小腸の長さを測定した。遺伝子・蛋白発現解析には照射後 72 時間の小腸検体を用いて炎症性サイトカイン・再生・アポトーシス・線維化マーカーを解析した。

(2) WT と各種 KO マウスを Single ゲージ飼育、cohouse 飼育 (cohouse 期間 6 週間) し、それぞれの腸内細菌を解析することで、cohouse 前後での腸内細菌叢の変化を比較した。さらに、上述の方法で放射線腸炎モデルを作成し、生存解析と経時的な体重測定を行った。

(3) J774 細胞 (マウスマクロファージ様株化細胞) に 12G の放射線照射を行い、炎症・インフラマソーム活性化・DNA 修復を解析した。

### 4. 研究成果

(1) WT マウスでは 12G の放射線照射で、経時的に体重が減少し、腸管の長さが短くなり、腸管上皮にアポトーシスが誘導された。インフラマソーム構成分子欠損 (KO) マウス及び IL-1 KO マウスでは、WT に比べて生存期間が延長し、体重減少が抑制され、腸管の長さが保たれていた。照射後 3 日目の小腸サンプルを用いたリアルタイム PCR では、WT に比べて KO マウスでは、IL-1 を含む炎症性サイトカイン、線維化マーカーの発現が抑制され、小腸組織中の IL-1 産生も KO マウスで抑制されていた。



(2) WT と各種 KO マウスを Single ケージ飼育、cohouse 飼育 (cohouse 期間 6 週間) し、それぞれの腸内細菌を解析したところ、インフラマソーム構成分子 KO マウスに特異的に存在する *Helicobacter adenomous* という菌を同定した。この菌は購入した WT や講座で飼育されている WT には存在しないが、インフラマソーム構成分子 KO マウスと 6 週間 cohouse した WT では糞便中に検出された。さらに cohouse 飼育した WT は放射線照射後の生存期間が延長し、体重減少が抑制された。

(3) J774 細胞 (マウスマクロファージ様株化細胞) に 12G の放射線照射をおこなったところ、放射線照射により DNA 二本鎖切断 (DNA double-strand break: DSB) という DNA 損傷が引き起こされることを確認した。放射線照射におけるインフラマソームの役割を検討したところ、放射線照射により ASC のスペク形成が確認され、細胞上清中の IL-1 濃度が上昇し、インフラマソームの活性化を引き起こすことが確認された。

現在 (1)(2)(3) をまとめて論文の投稿準備中である。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. Sadatomo A, Inoue Y, Ito H, Karasawa T, Kimura H, Watanabe S, Mizushina Y, Nakamura J, Kamata R, Kasahara T, Horie H, Sata N, Takahashi M. Interaction of neutrophils with macrophages promotes interleukin-1 $\beta$  maturation and contributes to hepatic ischemia-reperfusion injury. *Journal of Immunology* (査読有)
2. Kimura H, Usui F, Karasawa T, Kawashima A, Shirasuna K, Inoue Y, Komada T, Kobayashi M, Mizushina Y, Kasahara T, Suzuki K, Iwasaki Y, Yada T, Caturegli P, Takahashi M.

- Immunoproteasome LMP7 deficiency improves obesity and metabolic disorders. *Scientific Reports* (査読有)
3. Komada T, Usui F, Kawashima A, Kimura H, Karasawa T, Inoue Y, Kobayashi M, Mizushina Y, Kasahara T, Taniguchi S, Muto S, Nagata D, Takahashi M. Role of NLRP3 inflammasomes for rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. *Scientific Reports* 5: 10901, 2015 (査読有)
  4. Karasawa T, Kawashima A, Usui F, Kimura H, Shirasuna K, Inoue Y, Komada T, Kobayashi M, Mizushina Y, Sagara J, Takahashi M. Oligomerized CARD16 promotes caspase-1 assembly and IL-1 $\beta$  processing. *FEBS Open Bio* 5: 348-356, 2015 (査読有)
  5. Mizushina Y, Shirasuna K, Usui F, Karasawa T, Kawashima A, Kimura H, Kobayashi M, Komada T, Inoue Y, Mato N, Yamasawa H, Latz E, Iwakura Y, Kasahara T, Bando M, Sugiyama Y, Takahashi M. NLRP3 protein deficiency exacerbates hyperoxia-induced lethality through Stat3 protein signaling independent of interleukin-1 $\beta$ . *Journal of Biological Chemistry* 290: 5065-5077, 2015 (査読有)
  6. Inoue Y, Takahashi M. Comment on "Radiation exposure induces inflammatory pathway activation in immune cells". *Journal of Immunology* 194: 5039, 2015 (査読有)
  7. Inoue Y, Sadatomo A, Takahashi M. Role of NLRP3 inflammasomes in hepatic ischemia-reperfusion injury. *Inflammation and Regeneration* 35: 61-68, 2015 (査読有)
  8. Inoue Y, Shirasuna K, Kimura H, Usui F, Kawashima A, Karasawa T, Tago K, Dezaki K, Nishimura S, Sagara J, Noda T, Iwakura Y, Tsutsui H, Taniguchi S, Yanagisawa K, Yada T, Yasuda Y, Takahashi M. NLRP3 regulates neutrophil function and contributes to hepatic ischemia-reperfusion injury independently of inflammasomes. *Journal of Immunology* 192: 4342-4351, 2014 (査読有)
  9. Inoue Y, Yasuda Y, Takahashi M. Role of the inflammasome in inflammatory responses and subsequent injury after hepatic ischemia-reperfusion injury. *Hepatology* 58: 2212, 2013 (査読有)
- [学会発表](計 2 件)
1. Homare Ito, Yoshiyuki inoue, Ai Sadatomo, Naoya Yamada, Ryo Kamata, Sachiko Watanabe, Tadayoshi Karasawa, Hiroaki Kimura, Hisanaga Horie, Joji Kitayama, Naohiro Sata, Masafumi Takahashi NLRP3 inflammasomes contribute to inflammation and regeneration in radiation-induced enteritis 第16回自治医大シンポジウム . 2017年9月07日 - 08日
  2. Homare Ito, Yoshiyuki inoue, Ai Sadatomo, Naoya Yamada, Ryo Kamata, Sachiko Watanabe, Tadayoshi Karasawa, Hiroaki Kimura, Hisanaga Horie, Joji Kitayama, Naohiro Sata, Masafumi Takahashi NLRP3 inflammasomes contribute to inflammation and regeneration in radiation-induced enteritis. Digestive Disease Week (DDW 2019) 2018年06月02日 - 05日 Washington D.C.
- [図書](計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.jichi.ac.jp/inflammation/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 賢之 (Inoue Yoshiyuki)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：80375279