

研究助成 2020 –がん領域–
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	岡山大学病院 血液・腫瘍内科
氏 名	藤原 英晃
研究テーマ	代謝チェックポイントに着目した新規 GVHD 予防治療法の開発

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
 （図表、写真などの貼付を含む）

【研究目的】

腸管移植片対宿主病（GVHD）同種造血幹細胞移植に伴う致死合併症であり、一旦発症すると組織障害だけでなく体力低下により高齢者は回復困難となる。近年腸内細菌叢の乱れ（dysbiosis）が腸管 GVHD と強く関連していることが認められ、特に Enterococcus の増加と強い関連示唆されているが、その機序は不明である。申請者は dysbiosis により、関連する代謝物である短鎖脂肪酸とその受容体及びインフラマソームの異常が腸管に起きていることを明らかにした（Nat Immunol2016, Nat Commun 2018, Nat Microbiol2019）。本研究は、これら解析結果と dysbiosis を結びつける鍵である“dysbiosis を発症・維持する腸内環境の変化”を明らかにし、GVHD の原因となる免疫細胞と腸管細胞の関係、および腸内環境の変化を標的とする治療法を探索することを目的としている。

【研究手法・成果】
（1）GVHD マウス腸管環境の変化の評価

GVHD 発症マウスの腸内酸素濃度を測定したところ酸素濃度が明らかに上昇しており、腸上皮細胞内の酸素も上昇しており、細胞内酸素消費器官であるミトコンドリアの異常が疑われた。ミトコンドリア機能、特に呼吸能を bioenergetic analyzer により測定したところ GVHD マウス由来腸管上皮細胞酸素消費量の低下を認め、特に複合体 II（MCII）の機能低下が明らかであった。このため、MCII に関連する代謝物を液体クロマトグラフィーを用いて測定したところ Succinate の蓄積及びその他代謝物の低下が認められたことから MCII の障害が確認された。Succinate は TCA 回路の中間代謝物であるため、放射性同位体であるブドウ糖とグルタミンを投与して細胞内への取り込み及び Succinate への変換を測定したが、いずれも Succinate への取り込みは上昇しておらず、Succinate の蓄積は MCII 障害による内因性のものであることが明らかとなった。

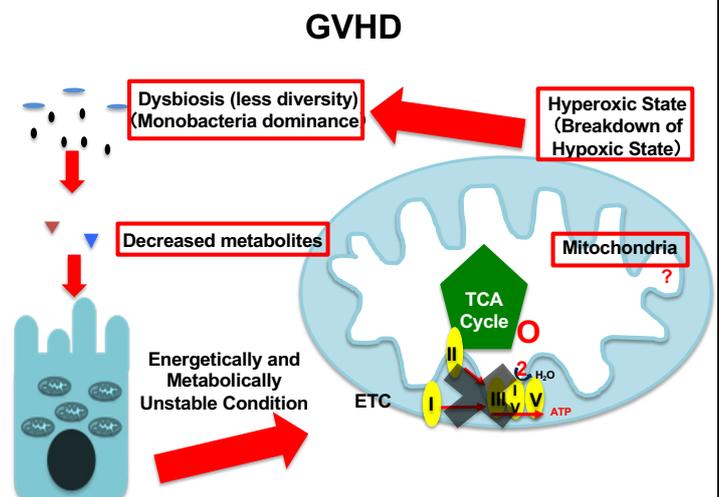
（2）ミトコンドリア MCII の機能・構造評価

ミトコンドリア MCII の機能を検討するため、酵素染色を行ったところ GVHD マウスでは酵素反応が低下していた。この MCII 機能不全の原因はミトコンドリア MCII 蛋白の特異的減少であることが、western blotting 及び蛍光免疫染色で明らかとなった。また、他の GVHD 標的臓器と比較し腸管における MCII の低下が特異的に低下しており臓器特異な減少であることも判明した。腸管上皮細胞におけるミトコンドリア変化を電子顕微鏡を用いて確認したところ、GVHD マウスではクリステの減少と膨化といった形態変化認め、MCII の数的減少を認めた。

（3）ミトコンドリア MCII の薬理的・遺伝学的阻害による腸管上皮障害評価

MCII 蛋白阻害が腸上皮細胞に与える影響を明らかにするため、GVHD マウスに MCII 阻害薬を数種類投与した。MCII 阻害薬治療群ではいずれの薬剤においても GVHD の増悪を臨床的にも病理学的にも認めている。薬剤による off-target 効果を除外するため、腸管上皮特異的 MCII 欠損マウスの作成を現在進めている。

本研究から、腸管 GVHD では細胞内代謝の中心であるミトコンドリア障害により腸管内環境、特に酸素濃度の変化が認められ、dysbiosis の原因と考えられる。ミトコンドリア構成成分の中でも TCA 回路と電子伝達系つなぐ代謝チェックポイントである MCII の蛋白減少が、新たな腸管 GVHD の発症機序と考えられ、今後は MCII 障害が細胞内に及ぼす影響並びに発症機序を明らかにし、今後の GVHD の予防・治療標的として検討する（右図）。



2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ● 国内外を問わない。 ● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2022/5/12-14	第 44 回日本造血・免疫細胞療法学会総会、 <u>藤原英晃</u> 、腸管 GVHD に対する組織抵抗力、回復力、寛容性を考える
2	2021/9/23-25	第 83 回日本血液学会学術集会、 <u>藤原英晃</u> 、Gut microbiome, metabolites and tissue metabolism in GVHD
3	2021/3/5-7	第 43 回日本造血・免疫細胞療法学会総会、 <u>藤原英晃</u> 、腸管上皮細胞に着目した組織代謝・恒常性と腸管 GVHD
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		