

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10963

研究課題名(和文) 肝不全に対するファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬及びスタチンの肝保護作用の検討

研究課題名(英文) Hepatoprotective effects of farnesyltransferase inhibitors and statins on liver failure

研究代表者

白水 和宏 (Shirozu, Kazuhiro)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：30568960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：古くから確立した肝不全マウスモデルを用いて今回ファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬の有効性を検討した。急性肝不全マウスモデルで観察された急激な肝臓逸脱酵素の上昇をファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬は優位に抑制した。肝障害の抑制効果は実際の肝臓の切片でも同じように観察され、肝不全モデルでは肝細胞は障害を受け、アポトーシスの発現が多く観察されたが、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬によりアポトーシスの抑制が観察された。それは肝臓組織より抽出されたcleaved caspase3(アポトーシスの発現に大きく関わる蛋白)の有意な上昇を抑制することも示すことが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性肝不全はある一定の確率で重症化し治療困難になりうる病態である。薬物治療では困難な場合は移植が唯一の治療手段になることもある。本研究で有効性が示されたファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬は未だ臨床使用はされていないものの、様々な分野で有効性が示されている。今後の研究次第では臨床応用も可能だと考える。

研究成果の概要(英文)：Using a long-established mouse model of liver failure, we evaluated the efficacy of a farnesyltransferase inhibitor (FTI). The rapid elevation of liver deviation enzymes observed in an acute liver failure mouse model were significantly inhibited by FTI. The same inhibitory effect of FTI on liver damage was observed in actual liver sections, and in a model of liver failure, hepatocytes were impaired. The FTI significantly inhibited expression of apoptosis and cleaved caspase 3 in liver tissue.

研究分野：麻酔学

キーワード：ファルネシルトランスフェラーゼ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年ゲラニルゲラニル化やファルネシル化を含む、蛋白のイソプレニル化の生体に対する効果に注目が集まっている。ファルネシル化に伴う蛋白の機能変化は生体に重要な役割をもたらす。ファルネシル化は多くの蛋白で成熟促進、活性、蛋白間結合、膜の局在化などの生理機能を司る。ファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬(FTIs)はこのファルネシル化を阻害するものである。FTIs は様々な疾患モデルで保護作用を有することが報告されており、その機序として免疫機構や抗アポトーシス経路への影響との報告がある。しかしながら現象は捉えられているものの明らかな機序は未だ解明されていない。

急性肝不全はある一定の確率で重症化し治療困難になりうる病態である。薬物治療では困難な場合は移植が唯一の治療手段になることもある。ファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬は未だ臨床使用はされていないものの、様々な分野で有効性が示されている。

### 2. 研究の目的

急性肝不全モデルに対するファルネシルトランスフェラーゼ抑制薬の効果を検討することにより、治療薬の可能性になりうるか検討する。

### 3. 研究の方法

#### (ア) FTIs が急性肝不全を抑制するという仮説を検証

評価項目：肝臓でのアポトーシスの評価、肝障害の評価

実験 では GalN/LPS モデルマウスに対して前投与の FTIs(Tipifarnib)がマウスの生存率を改善することが示されたが、GalN/LPS 投与後に FTIs 及び statin を投与することでも急性肝不全を抑制することができるか確認する。機序としてファルネシル化を抑制することによりアポトーシスが抑制され、肝障害が軽減することにより生存率が改善する可能性がある。GalN/LPS モデルにおいて FTIs 及び statin の後投与によってアポトーシス・肝障害が軽減するのか、FTIs 及び statin の用量 - 反応性を確認するとともに、肝臓組織、肝細胞、免疫細胞での障害に対する FTIs 及び statin の効果を確認する。

#### (イ) GalN/LPS 投与に伴うファルネシル化蛋白の増減と FTIs がそれに与える影響を検証

評価項目：GalN/LPS 及び FTIs、statin 投与に伴う肝臓・血中・肝細胞・Kupffer 細胞でのファルネシル化蛋白の定量。GalN/LPS モデルマウスに対して FTIs、statin がマウスの生存率を改善することが示唆されたが、ファルネシル化を抑制することによりアポトーシスが抑制され、肝障害が軽減したため生存率が改善する可能性がある。GalN/LPS モデルにおいて FTIs、statin 後投与によって、肝臓、血中及び免疫細胞におけるファルネシル化蛋白の変化を確認する。

肝臓酵素値の比較、肝臓組織での炎症を切片を染色することで比較、血中サイトカインを ELISA を用いて比較。蛋白を抽出することにより caspase-3 などのアポトーシスの程度を確認。

### 4. 研究成果

まず、急性肝不全による肝臓の酵素の上昇を抑制することを証明した。具体的には AST が大幅に疾患モデル群では 4 桁まで上昇するが、ファルネシルトランスフェラーゼ抑制薬は投与後 8h,24h と優位に抑制した。その次に組織を採取し、肝臓の炎症の程度を肉眼的にも確認した。こちらでも 8h, 24h と肝臓組織の壊死部位がファルネシルトランスフェラーゼ抑制薬投与により優位に抑えられていることが観察できた。炎症性のサイトカインの上昇も肝不全では観察されるが、ファルネシルトランスフェラーゼ抑制薬はその上昇を抑えた。具体的には IFN- $\gamma$ 、IL-6, TNF- $\alpha$  の上昇を抑制することを証明できた。結果的に caspase3 を抑えることを証明でき、組織的にも TUNEL 染色により確認できたので、アポトーシスの抑制が大きく保護作用に關与することが証明できたので、大まかな保護作用の流れを掴むことができたが、機序の解明までには至っていない。また、実験の結果より脾臓へも影響が疑われる所見が観察されたため、免疫系の関与が強く疑っている。以上により現在フローサイトメトリーなどを用い機序の解明の検証を継続している。脾臓へも影響を与えていそうであるので、今後肝臓以外の臓器にも着目して検証を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	徳田 賢太郎  (Tokuda Kentaro)  (10419567)	九州大学・大学病院・助教   (17102)	