

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07901

研究課題名(和文) C型肝炎ウイルスによるミトコンドリア障害を回復する薬剤の探索

研究課題名(英文) Exploration of drugs to restore mitochondrial dysfunction induced by hepatitis C virus

研究代表者

堤 武也 (Tsutsumi, Takeya)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：00726739

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：C型肝炎ウイルスによるミトコンドリア機能障害を回復する候補薬剤を、化合物ライブラリーから、in vitroスクリーニング系により探索した。いくつかの候補薬剤を見出したが、コロナ禍となったこともあり、化合物の供給の問題や大学の活動制限も重なり、トランスジェニックマウスを用いての検討は十分に行えなかった。一方で、腸内細菌と各種病態との因果関係が多く報告されていることから、このトランスジェニックマウスの腸内細菌を検討し、Lactobacillusの増加など、特徴的な変化を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

C型肝炎ウイルス(HCV)感染は治療薬の進歩によりほぼ全ての患者でウイルス排除が可能となったが、一方で、ウイルス排除後に肝発癌をきたす例もまれではない。ミトコンドリア機能障害がHCV発癌に関与していることがわかっており、今後さらなる検討が必要ではあるが、今回見出した候補薬剤が臨床的に発癌を防止する薬剤として有用である可能性が考えられる。また今回見出したトランスジェニックマウスの腸内細菌の変化が発癌を含めたヒトのHCVによる病態と関連している可能性があり、腸内細菌を介した発癌の予防や治療に繋がる可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：I explored candidate drugs to recover the mitochondrial dysfunction induced by hepatitis C virus, using chemical libraries by in vitro screening system. I found several candidates, but due to COVID-19 outbreak, I could not fully perform in vivo study using transgenic mice because the chemicals were not delivered and the activity in my institution was limited. On the other hand, I analyzed the microbiome of the transgenic mice because recently many studies revealed the association of microbiome with various pathogenesis, and found specific changes such as the increase of Lactobacillus.

研究分野：肝臓病学、感染症学

キーワード：C型肝炎ウイルス ミトコンドリア障害 トランスジェニックマウス 腸内細菌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

C型肝炎ウイルス(HCV)は肝臓に持続感染し、慢性肝炎、肝硬変と病態が進展し、高頻度に肝細胞癌を合併する。HCV研究の進歩により治療薬(direct acting antivirals, DAA)が開発され、ほぼ全ての患者でDAA短期間投与によりウイルス排除(sustained virological response, SVR)が可能となった。一方で、ウイルス排除に伴い頻度は減少するものの、SVRを達成した患者でも肝癌を少なからず合併し、肝線維化進行例などハイリスク患者への対応が重要な問題であった。一方で、トランスジェニックマウスの解析からHCVのコアタンパクが、ミトコンドリア機能障害を惹起し、酸化ストレスを誘導して発癌に寄与することが解明されていた。このミトコンドリア機能障害はミトファジー抑制と関連していることを我々は見出し、ミトファジー再誘導によりミトコンドリア機能が回復できる可能性が考えられた。

また最近では、様々な疾患において病態と腸内細菌との関連性が報告されてきた。脂肪肝や肝硬変などでも腸内細菌の変化が報告されている。HCVに伴う病態(脂肪肝、肝細胞癌)にも腸内細菌が関与している可能性が考えられた。

### 2. 研究の目的

上記のように、SVRを達成した患者を含め肝癌のハイリスク患者に対しての予防法となるような、HCV感染に伴う肝発癌を抑制する薬剤の探索を行うことを目的とし、HCVによるミトファジー抑制を再誘導する薬剤を同定する。

またin vivoにおいてHCVコアタンパク発現による腸内細菌の変化を検討し、肝臓の病態と腸内細菌の関連性を解明することで、probioticsなどの介入による病態改善の有用性を検討する。

### 3. 研究の方法

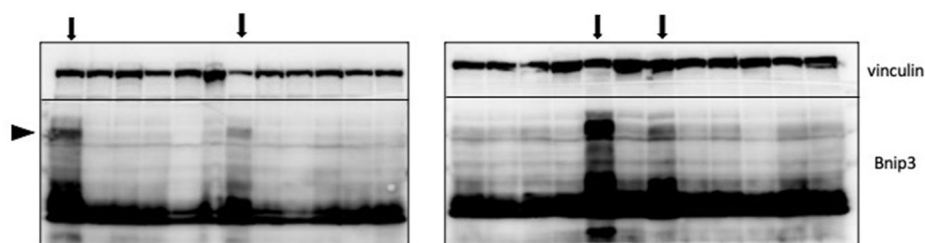
HCVコアタンパクを発現する培養細胞において、ミトファジー誘導分子Bnip3の活性化が薬物投与により変化するどうかを検討する。市販の化合物ライブラリーを用いてスクリーニングを行い、候補薬剤を同定し、HCVコア遺伝子トランスジェニックマウスへ投与し、病態への影響を検討する。

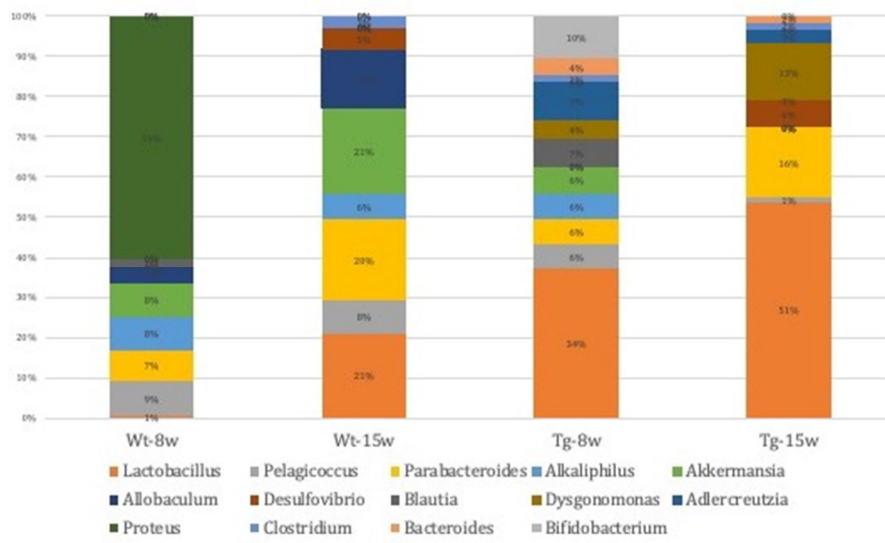
腸内細菌の検討については、上述のトランスジェニックマウスから糞便を回収し、DNA抽出後に細菌特異的な16S rRNA領域をPCRで増幅後に次世代シーケンサーで配列を同定し、細菌叢解析を行う。

### 4. 研究成果

市販の化合物ライブラリーを用いて1566の化合物についてin vitroスクリーニングを行い、5倍以上の活性増加を認めたものが11種、2倍以上5倍未満の活性増加を認めたものが35種、それぞれ同定された。5倍以上の増加を認めたものは全てHDAC阻害剤であり、このシステムにおける非特異的増強と考えられた。そこで残りの35種について、実際にBnip3結合の増強が認められるかをウエスタンブロット法で確認したところ、4種が同定された(下の画像参照、矢頭がBnip3結合体を示し、矢印が候補化合物を示している)。その中の3種はプロテアソーム阻害剤で残りがJAK阻害剤であった。これらの化合物を候補薬剤として、トランスジェニックマウスに投与する予定であったが、コロナ禍に伴い、化合物の供給や大学活動レベルの制限により、実施に至らなかった。

並行して腸内細菌の解析を行ったところ、HCVコア遺伝子トランスジェニックマウスの糞便中でLactobacillusの増加が認められた(次頁のグラフ参照)。





5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mizutani Taketoshi, Ishizaka Aya, Koga Michiko, Tsutsumi Takeya, Yotsuyanagi Hiroshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Role of Microbiota in Viral Infections and Pathological Progression	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 950 ~ 950
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/v14050950	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 -

〔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 堤武也, 門輝, 奥新和也, 榎奥健一郎, 藤永秀剛, 森屋 恭爾, 四柳宏, 小池和彦.
2. 発表標題 C型肝炎ウイルスコア蛋白と相互作用するBnip3を標的としたミトファジー回復に寄与する化合物の検討
3. 学会等名 第54回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2018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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------