

令和 5 年 4 月 19 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09374

研究課題名（和文）自己免疫性肝炎モデルに対するファルネシル化の効果の検討

研究課題名（英文）Investigating the Effects of Farnesylation on an Autoimmune Hepatitis Model

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） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：マウス急性肝不全モデルを作成し、治療薬として検討したファルネシルトランスフェラーゼ抑制薬が保護作用を有することを実証することができた。具体的には、急性肝不全による肝臓の酵素の上昇を抑制、肝臓組織の壊死部位の抑制、炎症性のサイトカインの上昇の抑制を証明した。その機序としてCD4 Tcellを介し、STAT1のリン酸化を抑制することによりCD4 TcellからのIFN- $\gamma$ の分泌を抑制することを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性肝不全は未だに難治性の病態である。近年ウイルス性肝炎からの急性肝不全を発症する患者は減少傾向である一方、自己免疫性急性肝炎、非アルコール性脂肪肝炎が増加傾向にある。今回Concanavalin A(Con A)を用いて作成した自己免疫性急性肝炎に類似した病態に対し、ファルネシルトランスフェラーゼが有効であるという結果は、医学的、社会的にも大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：A mouse model of acute liver failure was created to demonstrate that the farnesyltransferase inhibitor studied as a therapeutic agent had a protective effect. Specifically, the study demonstrated that the inhibitor suppressed the elevation of liver enzymes caused by acute liver failure, suppressed the areas of necrosis in liver tissue, and suppressed the elevation of pro-inflammatory cytokines. As the mechanism of the inhibition, we proved that it inhibits the secretion of IFN- $\gamma$  from CD4 Tcells by inhibiting the phosphorylation of STAT1 via CD4 Tcells.

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

## 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(FITs)はこのファルネシル化を阻害するものである。FITs 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。

## 2. 研究の目的

本研究では急性自己免疫性肝炎に対してFITsが肝保護作用を発揮するという仮説を立て、その保護作用の機序を生体および分子レベルで解明することを目標とする。

## 3. 研究の方法

### FITsが急性自己免疫性肝炎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

Con A 投与後あるいは投与前にFITsを投与することで肝障害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、肝障害が軽減する可能性がある。また免疫細胞の発現状況を確認する。

### Con A 投与に伴うファルネシル化蛋白の増減とFITsがそれに与える影響を検証

評価項目：Con A 及びFITs、statin 投与に伴う肝臓・血中・肝細胞でのファルネシル化蛋白の定量。Con A モデルマウスに対してFITs、statin がマウスの肝障害を軽減することが示唆された場合、その機序は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、肝障害が軽減した可能性がある。Con A モデルにおいてFITs 投与による、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。

### FITsのアポトーシス抑制機序とcaspase経路抑制との検証

フローサイトメトリーを用いての免疫細胞の発現状況の確認

## 4. 研究成果

マウス急性肝不全モデルを作成し、治療薬として検討したファルネシルトランスフェラーゼ抑制薬が保護作用を有することを実証することができた。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関与することが証明できた。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、免疫系の関与を強く疑いフローサイトメトリーを用いおこなった。その結果、ファルネシルトランスフェラーゼ抑制薬による効果はCD4 T cellを介するものであり、CD8 T cellは介さないことが明らかとなった。また、肝臓でのSTAT1のリン酸化を抑制することによりCD4 T cellからのIFN- $\gamma$ の分泌を抑制することも証明した。

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 0件）

1. 著者名 Guo Jie, Shirozu Kazuhiro, Akahoshi Tomohiko, Mizuta Yukie, Murata Masaharu, Yamaura Ken	4. 巻 83
2. 論文標題 The farnesyltransferase inhibitor tipifarnib protects against autoimmune hepatitis induced by Concanavalin A	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Immunopharmacology	6. 最初と最後の頁 106462 ~ 106462
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.intimp.2020.106462	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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	赤星 朋比古  (Akahoshi Tomohiko)  (20336019)	九州大学・医学研究院・准教授    (17102)	

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