

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590298

研究課題名(和文) エピジェネティック制御機構を標的とする敗血症治療法の探究

研究課題名(英文) Potential therapeutic application of epigenetic mechanisms involved in the septic pathology

研究代表者

服部 裕一 (Hattori, Yuichi)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授

研究者番号：50156361

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：敗血症の病態生理の形成にエピジェネティクスの異常が重要な役割を果たしている想定し、ヒストンタンパクのアセチル化の制御異常に着目し、脱アセチル化酵素(HDAC)阻害薬を用い、敗血症性ショックならびに多臓器不全に対する有用性を評価し、その分子作用機構を明らかにすることで、HDAC阻害というエピジェネティックな調節を介した敗血症治療が新しい方向性を生み出していけるか検証し、HDAC阻害薬は、敗血症において炎症は抑えないが、アポトーシスを抑えるユニークな治療効果を有することを証明した。

研究成果の概要(英文)：Epigenetic programming, dynamically regulated by histone acetylation, may play a key role in the pathophysiology of sepsis. Mice with cecal ligation and puncture (CLP)-induced polymicrobial sepsis were used to examine whether histone deacetylase (HDAC) can contribute to sepsis-associated inflammation and apoptosis. Histone H3 and H4 acetylation levels were increased, and HDAC1, HDAC2, and HDAC3 protein levels were decreased in lungs after CLP. The results with HDAC inhibitors indicated that they are a unique agent to prevent cell apoptosis in sepsis at their doses that do not improve inflammatory features. This study also represents the down-regulation of HDACs in sepsis, but suggest that imbalance in histone acetylation may play a contributory role in expression or repression of genes involved in septic cell apoptosis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：エピジェネティクス 脱アセチル化酵素 敗血症 急性肺傷害 炎症性サイトカイン アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む真核生物の DNA はヒストンに巻きついて、規則正しく折りたたまれ、細胞の核内にコンパクトに収められたヌクレオソーム構造をしているが、ヌクレオソームのヒストンタンパク質にはアセチル化やメチル化などの修飾を受ける位置が多数あり、ヒストンの修飾方法とその位置は遺伝子発現調節に重要な意味をもつ。ヒストンタンパクのアセチル化レベルは転写複合体の構成因子であるヒストンアセチル基転移酵素(HAT)とヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)の活性のバランスにより制御されているが、これによりヌクレオソーム構造が変化して転写が活性化されたり抑制されたりすることにより、遺伝子発現のパターンがダイナミックに変わると考えられている。HDAC 阻害によるエピジェネティックな遺伝子発現の変化ががん細胞に抑制効果を示し、いくつかの HDAC 阻害薬が現在新規抗がん剤として注目されているが、近年になって、HDAC を阻害することにより、その分子機構の詳細は不明なものの、強い抗炎症作用がもたれられることが報告されるようになった。

感染を基盤とした全身性炎症反応症候群(SIRS)である敗血症は、主要臓器の障害を起し極めて致死性の高い疾患であるが、敗血症性ショックおよび多臓器不全に対する堅固な治療法は未だに確立されていない。近年、敗血症は遺伝子関連疾患として捉えられており、その発症や重症化に関連して、炎症や細胞死を誘導あるいは抑制する遺伝子の発現が多彩に変化して病態形成に重要な役割を果たしていると考えられている。この病態形成のステップにおいて、遺伝子のエピジェネティックな制御が異常になっていることに起因しているならば、HDAC 阻害薬の中にはこれら遺伝子群の発現を特異的に制御し敗血症に対し治療効果をあげるものがあることを期待できるかもしれない。

2. 研究の目的

敗血症性ショックおよび多臓器不全に対

する堅固な治療法の突破口を見出すことが、現在救命救急領域で求められているニーズである。そこで、本研究では敗血症の病態生理の形成にエピジェネティックの異常が重要な役割を果たしていると想定し、エピジェネティック要因として注目されているヒストンタンパクのアセチル化の制御異常に着目し、旧来のいくつかと新規に開発された脱アセチル化酵素(HDAC)阻害薬を用い、敗血症性ショックならびに多臓器不全に対する有用性を評価し、その分子作用機構を明らかにすることで、HDAC 阻害というエピジェネティックな調節を介した敗血症治療が新しい方向性を生み出していけるか検証することを目的とする。

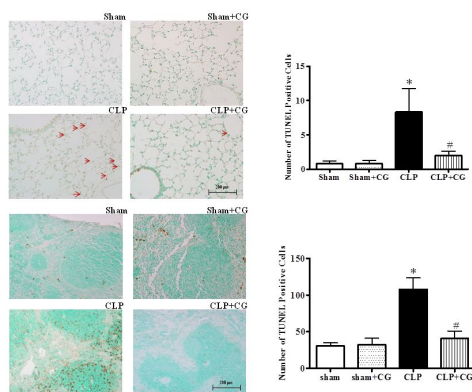
3. 研究の方法

多菌性敗血症動物モデルとして、盲腸結紮・穿孔(CLP)により腹膜炎を起こさせたマウスを作成し、旧来より知られているクラス I HDAC 阻害薬であるバルプロ酸と、broad spectrum の新規 HDAC 阻害薬である CG200745 を腹腔内投与し、炎症性あるいは細胞死誘導遺伝子群とそれらに対する抑制的遺伝子群の発現の変化を検討し、敗血症性ショックおよび臓器不全の所見が改善されるかどうかを評価した。

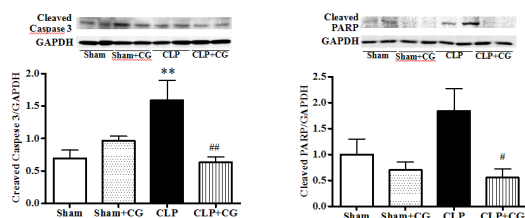
4. 研究成果

CLP 敗血症マウスにおいて、HDAC1, HDAC2, HDAC3 のタンパクレベルは CLP 後の肺組織において低下することが認められ、さらに肺組織でのヒストン H3 および H4 アセチル化レベルは増加していた。CLP 後の TNF- α , IL-1 β , MCP-1 などの炎症性サイトカインの肺組織 mRNA および血中のタンパクレベルでの上昇は、CG200745 によって抑制されなかった。さらに、組織学的に観察された肺炎症像も、肺での好中球の増加を示す Gr-1 抗体での免疫染色像の増加も、CG200745 によって変わらなかった。一方、TUNEL アッセイにより、CLP 誘発性敗血症による肺および脾組織におけるアポトーシス増加は CG200745 投与によ

り阻止された(図 1)。アポトーシスの指標である cleaved caspase-3 や cleaved PARP の敗血症による増加は, CG200745 の投与により有意に抑制された(図 2)。この CG200745 による抗アポトーシス作用は, Bcl-2 ファミリーの, Bcl-2 や Bcl-xL といった抗アポトーシス分子のアップレギュレーションや, Bad のようなプロアポトーシス分子のダウンレギュレーションには関係しなかった。同様な結果は, クラス I HDAC 阻害薬であるバルプロ酸を用いたときにも得られた。以上の結果から, HDAC 阻害薬は, 敗血症において炎症を抑えないが, アポトーシスを抑えるユニークな治療効果を有する。HDAC 阻害薬の効果から, ヒストンアセチル化の不均衡は敗血症性アポトーシスに關与する遺伝子の発現あるいは抑止に寄与していると考えられる。敗血症死には, 炎症とアポトーシスが同時に關わりあっていると考えられていることから, HDAC 阻害薬と, 副腎皮質ステロイドのような抗炎症効果を發揮する薬物との併用が, 敗血症に対するメカニズムに基づいた新規な治療戦略になるかもしれない。



(図 1)



(図 2)

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1件)

Takebe M, Oishi H, Taguchi K, Aoki Y, Takashina M, Tomita K, Yokoo H, Takano Y, Yamazaki M, Hattori Y: Inhibition of histone deacetylases protects septic mice from lung and splenic apoptosis. *J Surg Res*. 2014 Apr;187(2):559-70. doi: 10.1016/j.jss.2013.10.050. (査読有)

[学会発表](計5件)

1) Yuichi Hattori: Protection from both inflammation and apoptosis as a novel therapeutic strategy for severe sepsis. “All about Shock” Invited Speaker. The 4th Critical Care Conference in Thailand 2013. Pattaya, June 27, 2013.

2) Mariko Takebe, Hirofumi Oishi, Yuta Aoki, Yuichi Hattori, Mitsuaki Yamazaki: Possible role of epigenetic modifications in the pathology of sepsis. Euroanaesthesia 2013. Barcelona, June 2, 2013.

3) 武部真理子, 大石博史, 青木優太, 高階道徳, 富田賢吾, 田口久美子, 横尾宏毅, 山崎光章, 服部裕一: 敗血症の病理学的変化におけるエピジェネティクス制御の関与. 第86回日本薬理学会年会 福岡 2013年3月23日.

4) 武部真理子, 大石博史, 青木優太, 高階道徳, 富田賢吾, 田口久美子, 横尾宏毅, 山崎光章, 服部裕一: 新規 HDAC 阻害薬 CG200745 は敗血症アポトーシスを阻止する.

第 63 回日本薬理学会北部会 新潟 2012

年9月14日。

5) **服部裕一**：敗血症アポトーシスに対する薬理学的展望。

シンポジウムテーマ：敗血症における全身炎症と細胞死

座長：松田直之，松本義也

第21回日本Cell Death学会 名古屋 2011年7月27日。

〔図書〕(計1件)

Hattori Y, Matsuda N: Protection from lethal cell death in cecal ligation and puncture-induced sepsis mouse model by *in vivo* delivery of FADD siRNA. *In: Targets in Gene Therapy*. ed. by Yongping You. pp.409-422, InTech-Open Access Publisher 2011.

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/pharma/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

服部 裕一 (HATTORI YUICHI)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)
・教授
研究者番号：50156361

(2) 研究分担者

横尾 宏毅 (YOKOO HIROKI)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)
・准教授
研究者番号：30332894

(3) 連携研究者

()

研究者番号：