

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17517

研究課題名(和文) TRPV1阻害による心筋障害リバースリモデリングと心室性不整脈耐性の検討

研究課題名(英文) Elucidation of disordered cardiac reverse remodeling and tolerance to ventricular arrhythmia under TRPV1 inhibition

研究代表者

吉江 幸司 (YOSHIE, KOJI)

信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・助教

研究者番号：60724515

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：心臓から中枢神経へと情報を伝える求心路シグナルの役割と心疾患の関係性については解明されていない。特にこの求心路活性化に必要となるTRPV1チャンネルに注目し、研究を行った。本研究ではTRPV1ノックアウトモデル、薬剤によるTRPV1阻害モデル、圧負荷モデル、そして我々独自の非虚血性心不全突然死モデルであるdnNRSF-Tgを用いて検討を行った。結果、TRPV1の薬理的阻害(もしくは遺伝学的ノックアウト)は障害心筋の心機能を改善し、難治性心室性不整脈耐性を得ることが成果として得られてきている。本プロジェクトは本領域のさらなる発展につながるものと期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦における死因の第2位に位置する心疾患において心機能低下による心不全症例の増加は、今後2050年に向かっの大きな課題と考えられている。このために新規治療法の開発が急務となっているが、我々の研究は、そのような心不全パンデミックを解決する新たな治療戦略となりうる可能性を有している。これまで未知の領域とされてきた心臓自律神経の制御によって、難治性と呼ばれてきた心疾患へと介入できる可能性を有しており、学術的意義の高い研究である。先行研究で示された虚血性心疾患への改善効果とともに、今回の成果は非虚血性心疾患に対するTRPV1阻害の好影響を示すことに成功し、今後の治療応用に期待が持てるものである。

研究成果の概要(英文)：The function of afferent nerve signaling from the heart to the central nervous system (CNS) and its role for cardiac disease remains unclear. TRPV1 channels involved in the activation of sensory afferent signaling and the effect for cardiac disease is focused on. In this study, TRPV1 knockout model, Drug induced TRPV1 deactivation model, blood pressure overload model, and our department's original non-ischemic sudden cardiac death model (dnNRSF-Tg) have been used. The results showed TRPV1 deactivation or knock out(KO) model showed improved LV cardiac function, tolerant to fatal ventricular arrhythmia under the condition of cardiac injury. This project may lead towards future developments in this field.

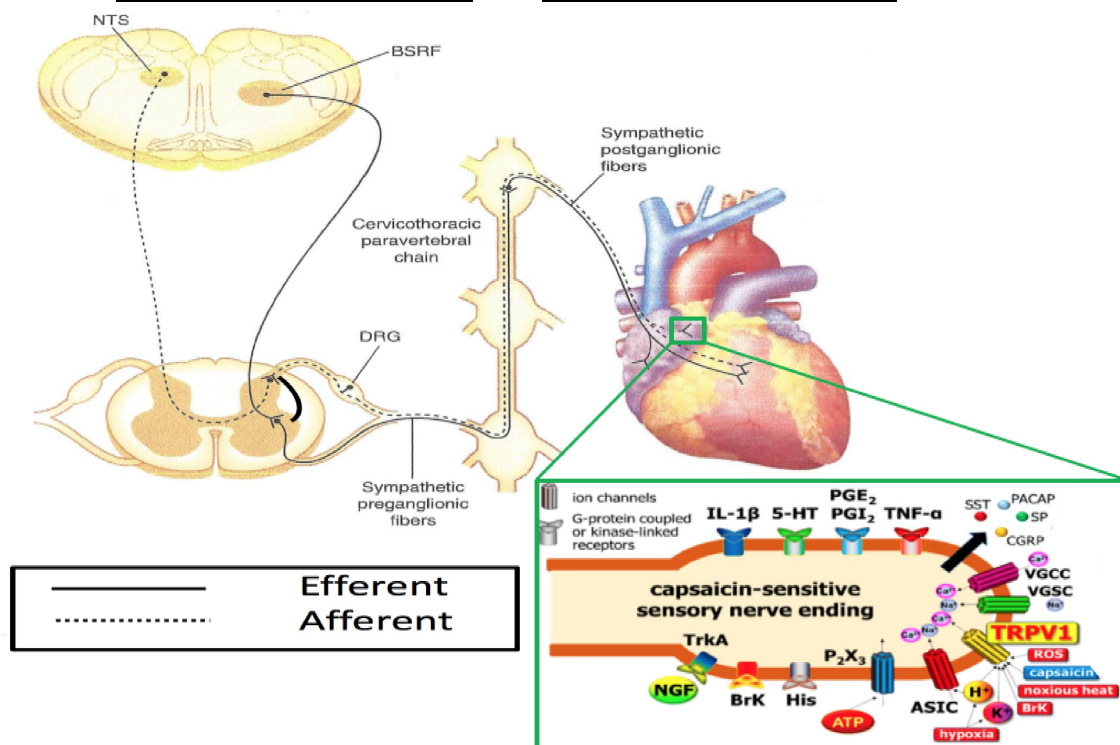
研究分野：心臓自律神経

キーワード：心臓交感神経 TRPV1 難治性心室性不整脈 心不全 dnNRSF TAC

1. 研究開始当初の背景

本邦においては、心疾患死亡ならびに心不全のさらなる増加が懸念されており、障害された心臓の構造的ならびに電気的リモデリングの改善を実現する新規治療法の確立が急務である。そこで我々は、新たな視点による治療法の創出にあたり、近年脚光を浴びている心臓自律神経への介入(Shivkumar K et al. The Journal of Physiology 2016)を着想した。自律神経による各種臓器機能の統合的な調整は古くより知られているが、その詳細な分子機序については未解明の部分が多くあり、全身の様々な臓器において自律神経(特に交感神経)による制御とそれに対する治療的介入の意義を見出す研究が注目されている。心臓機能の交感神経を介した制御にかかわる、交感神経求心路(心臓 交感神経幹 脊髄後根 脊髄 脳)と交感神経遠心路(脳 脊髄 交感神経幹 心臓)により構成される情報伝達経路についてもその詳細の解明が進みつつある(下図1参照)。

図1 **Afferent:心臓交感神経求心路** **Efferent:心臓交感神経遠心路**



Szabados T et al. Capsaicin-Sensitive Sensory Nerves and the TRPV1 Ion Channel in Cardiac Physiology and Pathologies. Int J Mol Sci.2020,21,4472 から一部引用

近年この経路に対する治療的介入手段として交感神経切除が実臨床で応用されつつあり、交感神経幹への侵襲的介入による致死性心室性不整脈抑制の可能性が欧米で注目され始めている。しかしながら、この治療は高度な低心機能症例に対する全身麻酔下手術という高侵襲かつ高リスクな方法であることが問題となる。また病的な心筋におけるリモデリング改善効果は報告されていない。我々の注目する TRPV1 は、末梢知覚神経の求心神経に選択的に発現し、これら神経の活性化にかかわるイオンチャネルである。心臓交感神経求心路にも広く分布し、心臓の圧変化や心筋障害などの心臓に対するストレス情報を中枢に伝達する交感神経求心路の活性化に重要な役割を担う。心臓においても心筋に対する侵害刺激を逸早く認識し、中枢にその情報を伝達する求心路特異的なイオンチャネルであることが注目され始めており、心負荷への過剰な反応により引き起こされる病的な心臓リモデリングに対する治療標

的として期待できる。心不全に対する薬物・非薬物療法の進歩は目覚ましいが、**交感神経求心路を標的とした心不全予防・治療薬は現在までに存在しない。**

2. 研究の目的

心不全はその原因から大きく虚血性・非虚血性へと大別される。申請者は米国留学中に Resiniferatoxin (RTX)を用いて虚血心モデルに対する TRPV1 を介した心臓交感神経求心路阻害に着目した研究に従事した。心筋虚血によってもたらされる代謝物質を介した求心路への過剰な神経刺激の抑制が、中枢神経を経た交感神経遠心路刺激の再統合(秩序ある発火)をもたらすことで、心筋虚血時に生じる交感神経過剰活性化をリセットし、虚血による心筋障害ならびに悪性心室性不整脈基質形成を抑制することを見出した。このような自身の先行研究を進展させ、本申請研究では心臓交感神経求心路阻害による障害心筋への治療の可能性をさらに検証するために、**未だ報告の乏しい非虚血性慢性心不全における TRPV1 を介した心臓交感神経求心路修飾の治療アプローチとしての意義とその分子機序を明らかにする独自性および創造性の高い研究を推進するものである。**

3. 研究の方法

TRPV1ノックアウトマウスにおける心筋障害重症度と心室性不整脈耐性

申請者らの保有する非虚血性心不全・突然死自然発症モデルマウス(優勢抑制変異型 NRSF 心筋過剰発現マウス[dnNRSF-Tg] (Kawahara K et al. EMBO J 2003)と TRPV1 ノックアウトマウスを交配する。正常モデルマウスとの比較の中で生存率や心機能について解析し、心機能改善および致死性不整脈抑制の分子メカニズムに迫るべく、求心路阻害がもたらす心筋障害抑制効果と心筋線維化への影響、線維化に関わる RAS 系、ナトリウム利尿ペプチドなど神経体液性因子との関連性などを分子生物学的、生化学的、病理組織学的ならびに生理学的解析により検証する。具体的には、心筋障害重症度の確認目的に各モデルの週齢における経時的な心筋線維化の mRNA(TGF- β 1, TGF- β 3, collagen1, fibronectin, TIMP1, MMP-2)による定量ならびに画像的(Sirius red 染色)評価を行う。またリモデリングマーカー(ANP, BNP, MHC, α -MHC)の定量も並行する。血行動態評価のための心臓超音波検査、心臓カテーテル検査(心内圧測定)、不整脈誘発試験を施行する。これら TRPV1KO の解析に加え、TRPV1 の薬理的阻害の効果も検証するために、非虚血性慢性心不全モデルへ TRPV1 阻害薬 (AMG 9810) を投与し、上記と同様の解析を行う。

TRPV1 KO 圧負荷(TAC)モデルおよび TRPV1 KO 虚血性慢性心不全モデルの作成と解析】

圧負荷心不全モデルを TRPV1 KO において作成し、野生型とその表現型を解析することで、これら心筋障害における TRPV1 の意義も検討する。特に実臨床に近い状況で TRPV1 欠失、阻害の心筋リバースリモデリングおよび不整脈抑制効果を検証するために、先行研究ではあまり行われてこなかった、長期間に及ぶ心機能、表現型の詳細かつ継続的な上記同様の評価、解析を進めていく。

4. 研究成果

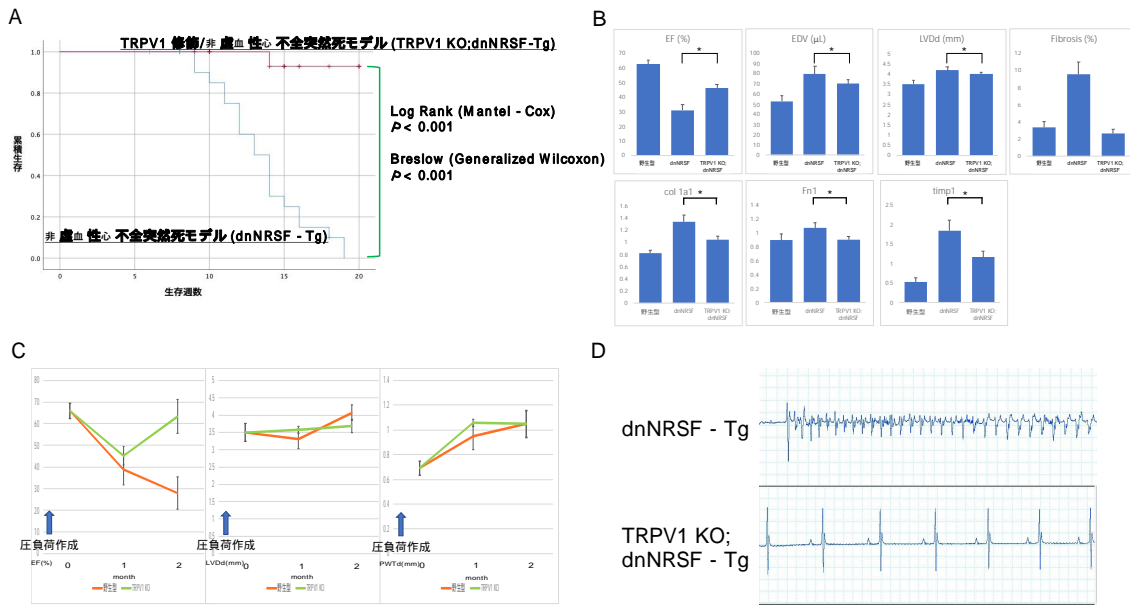


図 2 非虚血性心不全モデルにおける TRPV1 ノックアウトの影響。A : dnNRSF-Tg;TRPV1 KO では dnNRSF-Tg と比し突然死が減少する。B : dnNRSF-Tg; TRPV1 KO では dnNRSF-Tg における心機能低下が改善し、線維化が抑制される (* P < 0.05) W+ : dnNRSF-Tg, H+ : dnNRSF-Tg;TRPV1 KO、EF : 左室収縮能、EDV : 左室拡張期容積、LVDd : 左室拡張末期径、Fibrosis : 線維化。C : TRPV1 KO では圧負荷後慢性期の心機能低下が抑制される。D : dnNRSF-Tg; TRPV1 KO では dnNRSF-Tg と比較して致死性不整脈誘発性が低下する。

上図 2 A-D に示すように TRPV1 KO が非虚血性突然死モデル-dnNRSF-Tg の生存率を向上させ、心機能を改善させると同時に心臓線維化も抑制し、致死性心室性不整脈を抑制するという有望な研究結果が得られてきている。また dnNRSF-Tg への AMG 投与においても同様の傾向が得られており、今後さらなる成果へとつなげていきたい。TRPV1 発現神経抑制にあたってこれまでの先行研究で用いられてきた RTX は強力な炎症反応による急性期の交感神経過剰活性化と慢性期の心臓拡張障害をきたすことから、慢性心不全モデルへの使用には不適切である上にヒトへの臨床応用は不可能である。**本申請研究は TRPV1 チャンネルを標的とした新規心不全予防・治療薬の創出を見据えた前臨床 Proof-of-concept 取得を目標とした新規性ならびに将来性の望める研究である。**

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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|