

令和 5 年 5 月 2 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08462

研究課題名（和文）メカノセンサーチャネルを標的とした心筋症・心不全新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of new treatments for cardiomyopathy and heart failure targeting mechanosensor channels

研究代表者

岩田 裕子（Iwata, Yuko）

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・非常勤研究員

研究者番号：80171908

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）：カルシウム透過チャネルTRPV2の心筋症・心不全における病態生理的意義を明確し、治療標的になることを確定するため、心筋虚血再灌流傷害及び大動脈狭窄心不全動物モデルで活性化されるTRPV2を抑制したところ、発症及び進展が抑制された。また進行期心不全筋ジストロフィー患者を対象としたTRPV2阻害薬の効果調べたところ、心不全マーカー血清BNPの変化率の有意な減少傾向が認められた。筋ジストロフィー患者の単核球表面のTRPV2及び尿中PGD2代謝物は増加していたが、薬物投与4週及び12週で各々減少することが明らかになり、TRPV2阻害薬が心不全に伴う炎症を抑制する作用があることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究結果は、TRPV2が心筋症・心不全の病態生理に関与していることを示唆している。さらに、TRPV2を抑制することで心筋虚血再灌流傷害や大動脈狭窄心不全の発症及び進展が抑制されることが判明した。また、TRPV2阻害薬が心不全に伴う炎症を抑制する作用があることも示されたため、将来的にはTRPV2を治療標的とした心筋症・心不全の治療法が開発される可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：To clarify the pathophysiological significance of the calcium-permeable channel TRPV2 in cardiomyopathy and heart failure, and to determine its potential as a therapeutic target, TRPV2 activation was inhibited in animal models of myocardial ischemia-reperfusion injury and aortic banding-induced heart failure, resulting in a suppression of onset and progression of these conditions. Additionally, the effectiveness of a TRPV2 inhibitor was investigated in advanced-stage heart failure muscular dystrophy patients, with a significant difference observed in the rate of change of BNP, a serum marker of heart failure. While the surface expression of TRPV2 on monocytes and PGD2 metabolites in urine were increased in muscular dystrophy patients, they were found to decrease after 4 and 12 weeks of drug administration, indicating that TRPV2 inhibitors have an inhibitory effect on inflammation associated with heart failure.

研究分野：分子生理学

キーワード：心不全

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

拡張型心筋症 (DCM)、筋ジストロフィー症などの難病、さらには心筋梗塞、心不全などの循環器疾患では病態の最終局面で細胞死が起こる。これらは、遺伝的・後天的を問わずさまざまな病因によって発症するが、申請者は持続的な細胞内への  $\text{Ca}^{2+}$  流入が細胞死の共通の危険因子となること、それをもたらす有力な候補蛋白質としてのメカノセンサーチャネルの 1 つ transient receptor potential channel vanilloid 2 (TRPV2) が重要な働きをしていることを明らかにした。正常心筋では TRPV2 は介在板や細胞内膜系に存在するが肥大刺激、伸展刺激により細胞膜に移行すること、筋ジストロフィー骨格筋、ヒト特異性心筋症心筋においても TRPV2 は細胞膜上で活性化されていること、TRPV2 を心筋細胞膜に高発現したトランスジェニックマウスは DCM になることが判明した。しかしながら、特異的阻害剤がないため筋変性治療への薬物効果、筋変性発症・悪化における TRPV2 を介する  $\text{Ca}^{2+}$  流入の関与が不明であった。TRPV2 を標的とした阻害剤のハイスループットスクリーニング法を開発し低濃度で TRPV2 を阻害する化合物 (既販薬を含む) を同定するとともに、TRPV2 特異的阻害抗体の作出に成功した。DCM モデル動物、TRPV2 欠損動物、TRPV2 遺伝子改変動物、上記阻害ツールを用いた最近の研究より病態で活性化されている TRPV2 を介した細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  流入を阻害することで心筋症発症・悪化に係る拡張期の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇と CaMKII 活性化、活性化酸素種の増大が抑制され心機能が改善されるという、従来的心不全治療薬とは作用機序の異なる新規治療法の可能性が拓けた。また阻害ツールはチャネルの直接阻害だけでなく形質膜から内膜系への移行促進 (内在化) 作用を持つことが判明した。さらに申請者らは既販薬を用いた筋ジストロフィー心筋障害 (DCM) 患者のパイロット研究より血漿 BNP 低値維持と心機能の改善効果を認めた。これらの成果は新規 DCM 治療法としての TRPV2 阻害の有用性を示唆している。

### 2. 研究の目的

ヒト心筋症、心不全新規治療法を開発することが最終目標である。最終目標に向け、まずメカノセンサーチャネル TRPV2 の心筋における生理的役割、病態的意義を明確にすると共に、TRPV2 が心筋症・心不全の有力な治療標的になることを確定する。そのため病態心筋における TRPV2 細胞形質膜局在化及びチャネル活性化機構の解明、TRPV2 欠損動物並びに TRPV2 変異体動物心筋細胞の解析、TRPV2 特異的阻害ツールによる内在化機構、チャネル不活性化機構の解明、TRPV2 阻害作用を有する既販薬を用いた臨床研究を通して心筋症・心不全発症機構の本質に迫るとともに TRPV2 の構造・機能解析に基づく最良の新規心筋症・心不全治療法の開発をめざす。

### 3. 研究の方法

心筋特異的 TRPV2-KO マウスまたは心筋特異的 TRPV2-NT-TG マウスの生理的心機能評価の解析を行い野生型マウスと比較した。また心臓に薬物またはストレス負荷 (虚血再還流、大動脈狭窄) を与え急性期心収縮への影響と慢性期病態進展度を野生型マウスと比べた。さらに TRPV2 阻害抗体を用いて TRPV2 活性を抑制し、ストレス負荷に対する病態発症、進展に対する効果を調べた。

マウス及びヒト TRPV2 発現 HEK293 細胞を用いて TRPV2 活性化法の開発と阻害薬探索のための測定系の開発を行い、TRPV2 阻害ツールを探索した。筋ジストロフィー心筋障害に対する TRPV2 阻害薬の多施設共同非盲検単群試験に参画し単核球表面 TRPV2 発現および尿中 PGD2 代謝物を測定した。

### 4. 研究成果

#### (1) 心筋虚血再灌流障害における心筋 TRPV2 の役割の解明

野生型マウスのランゲンドルフ虚血再灌流心 (60 分虚血、40 分再灌流) において TRPV2 の心筋細胞膜発現が著しく増加し、それにともない心筋収縮力低下、心筋変性マーカーの増大が観察された。TRPV2 のアミノ末端の一部が細胞表面 TRPV2 を内在化する働きがあることを明らかにし、心筋特異的に TRPV2 のアミノ末端の一部を過剰発現させたマウスの心筋を用いて虚血再灌流を同時に行ったところ虚血再灌流時にみられた TRPV2 の細胞膜発現が抑制され、心筋変性及び収縮力の低下が改善された。これらの結果より、TRPV2 が虚血再灌流時の心筋変性に重要な役割を果たしていること、心筋梗塞等の虚血性心疾患の治療標的になる可能性があることが示唆された。

## ( 2 ) マウス大動脈狭窄モデルにおける TRPV2 の役割の解明

野生型マウスに大動脈狭窄すると 1 週間後に心筋収縮能の指標 fractional shortening が 30% になり 8 週間にはその約半分になった。大動脈狭窄 1 週間後から週 1 回毎週 TRPV2 阻害抗体を皮下注射したマウスは 8 週後に約 25% と収縮能の低下が阻止された。大動脈狭窄により心筋 TRPV2 の細胞膜発現が増加したが、阻害抗体でその細胞膜発現は抑制された。これらの結果は一般心不全においても TRPV2 が重要な役割を果たしていることを示唆した。

## ( 3 ) 抗アレルギー薬の TRPV2 阻害作用の検討

マウス TRPV2 阻害抗体はヒト TRPV2 には結合しないため、ヒト TRPV2 を阻害するトラニラスト以外のものを探索したところ、抗アレルギー薬ルミン (NK-4) がトラニラストより低濃度でヒト TRPV2 活性を阻害することが判明した。NK-4 は肥満細胞からの脱顆粒抑制作用も有すること、市販の抗アレルギーの中でエピナスチン塩酸塩 (アレジオン) とフェキソフェナジン塩酸塩 (アレグラ) の TRPV2 活性阻害及び脱顆粒抑制作用を調べたところアレジオンは両作用を有するがアレグラは両作用ともないことが判明した。

## ( 4 ) ヒト TRPV2 に対する外側認識抗体及び阻害抗体の作成

ヒト TRPV2 に対する外側認識抗体 2 種をファージディスプレイ法にて作成し、それらの特性を調べたところ、ヒト TRPV2 発現 HEK293 細胞を TRPV2 アゴニストで刺激したときに上昇する細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の上昇を予めそれらの抗体で処理しておくことで抑制できる抗体と抑制できない抗体とがあることが判明した。

## ( 5 ) 進行期心不全筋ジストロフィー患者を対象にした TRPV2 阻害薬の臨床研究

進行期心不全筋ジストロフィー患者を対象とした先進医療による特定臨床研究において明らかな心機能改善は認めなかったものの、プロトコール通りの治療が行えた 13 例においては、主要評価項目である BNP 変化率で、以前実施した Duchenne 型筋ジストロフィーにおける carvedilol 臨床試験データを元にした帰無仮説を棄却し有意差ありという結果が得られた。また、試験期間中に薬物を投与していた患者では心不全死亡が無かったなど、心イベント抑制効果も示唆された。単核球表面の TRPV2 は薬物投与により有意に減少していた。炎症マーカー PGD2 が心筋症モデル動物で上昇していることを以前報告したが今回筋ジストロフィー患者の尿中において PGD2 代謝物が増加していること、薬物投与 12 週で減少することが新たに明らかになり、薬物が心不全に伴う炎症を抑制する作用があることが判明した。また薬物投与により尿中 PGE3 が増加することがわかり薬物は抗炎症作用があることが明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Matsumura Tsuyoshi, Hashimoto Hiroya, Sekimizu Masahiro, Saito Akiko M., Motoyoshi Yasufumi, Nakamura Akinori, Kuru Satoshi, Fukudome Takayasu, Segawa Kazuhiko, Takahashi Toshiaki, Tamura Takuhisa, Komori Tetsuo, Watanabe Chigusa, Asakura Masanori, Kimura Koichi, Iwata Yuko	4. 巻 17
2. 論文標題 Tranilast for advanced heart failure in patients with muscular dystrophy: a single-arm, open-label, multicenter study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Orphanet Journal of Rare Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13023-022-02352-3	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 -
1. 著者名 Takahashi Chisato, Oishi Mariko, Iwata Yuko, Maekawa Keiko, Matsumura Tsuyoshi	4. 巻 24
2. 論文標題 Impact of the TRPV2 Inhibitor on Advanced Heart Failure in Patients with Muscular Dystrophy: Exploratory Study of Biomarkers Related to the Efficacy of Tranilast	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2167 ~ 2167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms24032167	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 -
1. 著者名 Koya-Miyata Satomi, Kohno Keizo, Morimoto Takashi, Harashima Akira, Iwata Yuko, Ariyasu Toshio	4. 巻 142
2. 論文標題 Inhibition of TRPV2 Channel Activation by NK-4, a Cryptocyanine Dye	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 535 ~ 546
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.21-00219	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 -
1. 著者名 MATSUMURA TSUYOSHI, HASHIMOTO HIROYA, SEKIMIZU MASAHIRO, SAITO AKIKO M., IWATA YUKO, ASAKURA MASANORI, KIMURA KOICHI, TAMURA TAKUHISA, FUNATO MICHINORI, SEGAWA KAZUHIKO, OGATA KATSUHISA, NAKAJIMA TAKASHI	4. 巻 66
2. 論文標題 Study Protocol for a Multicenter, Open-Label, Single-Arm Study of Tranilast for Cardiomyopathy of Muscular Dystrophy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Kurume Medical Journal	6. 最初と最後の頁 121 ~ 126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2739/kurumemedj.MS662006	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 -

1. 著者名 Iwata Yuko, Wakabayashi Shigeo, Ito Shin, Kitakaze Masafumi	4. 巻 100
2. 論文標題 Production of TRPV2-targeting functional antibody ameliorating dilated cardiomyopathy and muscular dystrophy in animal models	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 324 ~ 337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-019-0363-1	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12件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 松村 剛, 岩田裕子, 橋本大哉
2. 発表標題 筋ジストロフィー心不全に対するTRPV2阻害治療
3. 学会等名 日本内科学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋知里, 大石真理子, 岩田裕子, 前川京子, 松村 剛
2. 発表標題 筋ジストロフィー心筋障害に対するTRPV2阻害薬の有効性の指標となるバイオマーカーの探索研究
3. 学会等名 日本薬物動態学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩田裕子
2. 発表標題 新規TRPV2チャンネル阻害薬の開発
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩田裕子, ピアソングェームズ
2. 発表標題 ヒト筋変性疾患治療を目指したCa <sup>2+</sup> 透過チャネルTRPV2の機能性抗体の開発
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩田裕子, 土持裕胤, ピアソングェームズ
2. 発表標題 自然発症糖尿病ラット (GKラット) 左心室由来心筋細胞の病態生理学的特徴
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松村剛、小森哲夫、瀬川和彦、中村昭則、久米聡、渡辺千種、福留隆泰、本吉慶史、田村拓久、高橋俊明、橋本大哉、岩田裕子
2. 発表標題 筋ジストロフィー心筋障害に対するTRPV2阻害薬他施設共同非盲検単群試験
3. 学会等名 第8回筋ジストロフィー医療研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松村剛、岩田裕子、橋本大哉
2. 発表標題 筋ジストロフィー心不全に対するTRPV2阻害薬治療
3. 学会等名 第119回日本内科学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 MATSUMURA TSUYOSHI、HASHIMOTO HIROYA、SEKIMIZU MASAHIRO、SAITO AKIKO M.、IWATA YUKO、ASAKURA MASANORI、KIMURA KOICHI、TAMURA TAKUHISA、FUNATO MICHINORI、SEGAWA KAZUHIKO、OGATA KATSUHISA、NAKAJIMA TAKASHI
2. 発表標題 A single-arm, open-label, multicenter study of tranilast for advanced heart failure in patients with muscular dystrophy
3. 学会等名 World Muscle Society 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Iwata Y, Wakabayashi S, Ito S, Kitakaze M
2. 発表標題 TRPV2 channel as a promising therapeutic target for heart failure
3. 学会等名 International Symposium on TRP Ion Channel at Wakayama (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮田聡美、原島哲、有安利夫、三鼓仁志、岩田裕子、牛尾慎平
2. 発表標題 感光色素NK-4の抗アレルギー作用：肥満細胞のTRPV2阻害および脱顆粒抑制
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩田裕子、若林繁夫、伊藤慎、北風政史
2. 発表標題 心筋症モデル動物の病態を改善するCa <sup>2+</sup> 透過チャネルTRPV2の機能的抗体の作成
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Iwata Y, Wakabayashi S, Pearson J
2. 発表標題 Pathophysiological role of Ca <sup>2+</sup> permeable channel TRPV2 in myocardial ischemia reperfusion injury
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 岩田裕子	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 158
3. 書名 別冊 医学のあゆみ TRPチャンネルのすべて	

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 抗ヒトTRPV2抗体	発明者 岩田裕子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/029714	出願年 2022年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 抗hTRPV2完全ヒト抗体	発明者 岩田裕子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-022298	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ヒトTRPV2抗体	発明者 岩田裕子ら	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特許願2020-136837	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	泉 知里  (Izumi Chisato)  (70768100)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・部門長    (84404)	

6. 研究組織（つづき）

	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	伊藤 慎  (Ito Shin)  (20796560)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・室長    (84404)	

	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
研究協力者	松村 剛  (Matsumura Tsuyoshi)		
研究協力者	前川 京子  (Maekawa Keiko)		

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