様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　６ 年　 ６ 月 ２５ 日現在

機関番号：３２６２２
研究種目：若手研究
研究期間：2020～2023
課題番号：２０Ｋ１７２１０

研究課題名（和文）遺伝性肺動脈性肺高血圧症の新規治療薬の開発

研究課題名（英文）Development of New Therapeutic Drugs for Hereditary Pulmonary Arterial Hypertension

研究代表者
清水　峻志（SHIMIZU, TAKASHI）

昭和大学・大学共同利用機関等の部局等・講師

研究者番号：００７９２０６１

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）：本研究は、BMPR2変異を伴う遺伝性肺動脈性肺高血圧症（PAH）の肺血管リモデリング(PVR)におけるPERK-eIF2シグナリングの分子病態の解明、及びPERK-eIF2シグナリングの新規阻害薬の創出を目的として開始した。PAHモデルマウス由来肺動脈平滑筋細胞(PASMCs)では、PERK-eIF2シグナリングを介してPDGFRβ陽性PASMCｓの発現が亢進していることを確認した。トラゾドン及びその類縁体はPDGFRβ陽性PASMCｓの発現を抑制すること、PVRを改善する結果となり、将来の創薬候補として期待される成果となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究成果により、PERK-eIF2シグナリングがPVRを促進するという新たな分子機構を示すことができ、この点において学術的意義の高い研究となった。
既存のPAH治療薬の導入により非遺伝性PAHの予後は大幅に改善されたが、BMPR2変異を伴う遺伝性PAHの予後は不良のままであり、有効な治療法は肺移植に限定されている。日本では慢性的なドナー不足のため、肺移植に至る前に亡くなるケースが大半であり、本研究を礎にアカデミア発のオーファンドラッグ開発をすることができれば、社会的意義はインパクトのある結果となる。

研究成果の概要（英文）：This study was initiated with the aim of elucidating the molecular pathology of PERK-eIF2 signaling in pulmonary vascular remodeling (PVR) associated with hereditary pulmonary arterial hypertension (PAH) with BMPR2 mutations, and of developing novel inhibitors of PERK-eIF2 signaling. In pulmonary artery smooth muscle cells (PASMCs) derived from a PAH model mouse, it was confirmed that the expression of PDGFRβ-positive PASMCs was enhanced via PERK-eIF2 signaling. Trazodone and its analogs were found to suppress the expression of PDGFRβ-positive PASMCs, resulting in an improvement in PVR, making them promising candidates for future drug development.

研究分野：循環器内科学

キーワード：肺動脈性肺高血圧症

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

肺動脈性肺高血圧症（PAH）とは肺血管リモデリングにより肺血管抵抗が増大した指定難病であり、全世界に約 4 万人しかいない希少疾患でもある。病態の進行（中膜肥大増悪）に伴い、肺胞-肺動脈間における二酸化炭素と酸素のガス交換が阻害され、低酸素血症に至る。低酸素血症増悪に伴い、全身の多臓器代謝異常（解糖系亢進）を併発する[Cell Metab, 2014]。既存の PAH 治療薬(エンドセリン受容体拮抗薬、PDE5 阻害薬、プロスタサイクリン)により非遺伝性 PAH の予後は大幅に改善されたが、PAH 患者の約 3 割を占める BMPR2 変異を伴う遺伝性 PAH[Eur Respir J, 2016]の予後は不良のままであり[Lancet Resp Med, 2016]、現状において有効な治療法は肺移植に限定されている。日本では慢性的なドナー不足のため、肺移植に至る前に亡くなるケースが大半であり、遺伝性 PAH に対するアカデミア発のオーファンドラッグ開発が強く望まれている。また、遺伝性 PAH の内皮細胞は平滑筋細胞に形質転換後、細胞増殖しやすいため[Circulation, 2016]、肺動脈平滑筋細胞(PASMCs)の細胞増殖抑制が治療ターゲットと考えられる。BMPR2 変異 PASMCs では、血管保護的な BMP シグナリングが破綻し、小胞体ストレス応答の一つである PERK-eIF2 シグナリングが亢進する[Int J Mass Spectrom, 2015]。そこで、本研究の核心をなす学術的「問い」は、BMPR2 変異 PASMCs の細胞増殖を抑制する新規化合物を探索できないか、という点である。

２．研究の目的

既存の PAH 治療薬は内皮障害の改善を主な作用機序とし、中膜肥大や代謝異常を標的としたものではない。そこで、遺伝性 PAH の病態(中膜肥大や代謝異常)に則した新規治療薬候補化合物の探索を本研究の目的とした。

ヒト PAH 患者由来の肺組織[PLoS ONE, 2014]及びマウス PAH モデル由来肺組織のメタボローム解析の結果、Warburg 効果様の代謝の変化が生じる。とりわけ、遺伝性 PAH では PPARγシグナルが抑制され、解糖系が亢進しやすい。解糖系の代謝産物である乳酸の肺中発現量は肺血管リモデリング(中膜肥大)に最も相関をする代謝物であることから、遺伝性 PAH の中膜肥大を引き起こさないためには解糖系を抑制する必要があると考えた。低酸素下の PDGFRβ-STAT1 シグナリングは解糖系亢進制御に関与するだけではなく、PASMCs の低酸素下細胞増殖に関与することから、PDGFRβ-STAT1 シグナリングに伴う解糖系亢進は鍵となる治療標的と考えられた。以上より、既存の PAH 治療薬とは異なる分子機序の PDGFRβ-STAT1-解糖系シグナリングに着目する点に独自性がある。

既存の直接的な PDGFRβ阻害薬である Imatinib の PAH に対する有効性を検証した Impress Study (PhaseⅢ試験)では、肺血管リモデリングの改善を認めたが、体重減少や出血などの副作用を高頻度に認めたため、実用化は難しいと考えられた。そこで、PDGFRβのタンパク質翻訳を制御する、PERK-eIF2 シグナリングに注目し、本シグナリングの新規阻害薬の開発を目指す点に創造性があると考えた。

３．研究の方法

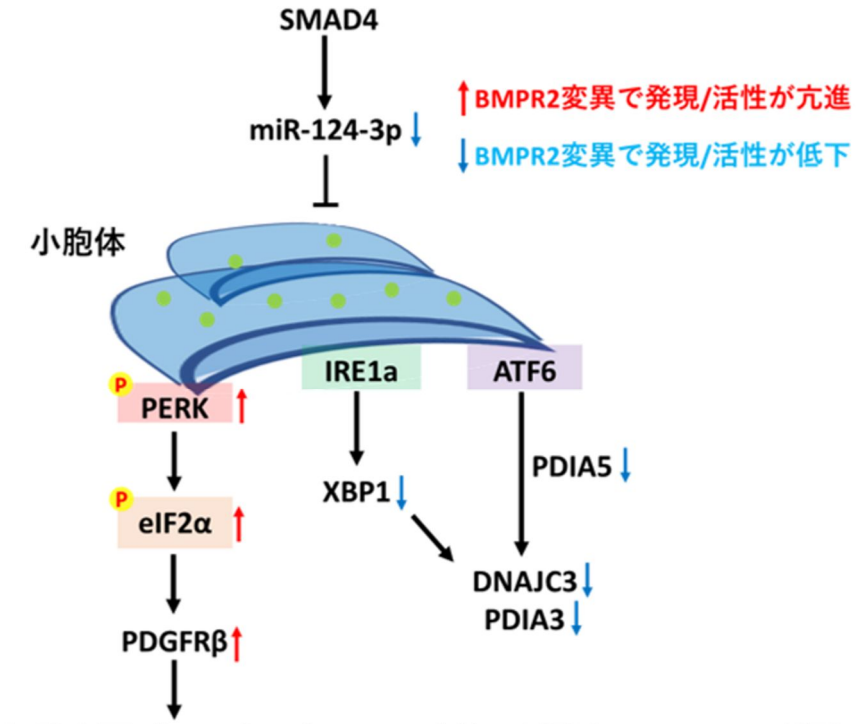
以下の方法により、PERK 阻害薬、トラゾドン及びその類縁体が PVR に与える影響を解析した。

1) ATF4 Luciferase assay による化合物スクリーニング
2) プロテオーム解析による、選別した化合物の低酸素下 BMPR2 変異 PASMCs に及ぼす影響の検証(in vitro)
3) リード化合物の in vivo における PVR 抑制作用の検証
4) リード化合物の BMPR2 変異マウス PAH モデルにおける全身臓器に与える影響の解明

４．研究成果

本研究成果により、PERK-eIF2 シグナリングが PVR を促進するという新たな分子機構を示すことができ、この点において学術的意義の高い研究となった(図)。とりわけ、BMPR2 変異を伴っている場合、PDGFRβ陽性 PASMCｓの発現が亢進することにより、細胞表面プロテオスタシスの破綻、低酸素下 PASMCs 増殖を経て、PVR 亢進に至ること、PERK-eIF2 シグナリングを阻害する PERK 阻害薬、トラゾドン及びその類縁体は PDGFRβ陽性 PASMCｓの発現を抑制することにより、PVR を改善することを示した。

既存の PAH 治療薬の導入により非遺伝性 PAH の予後は大幅に改善されたが、BMPR2 変異を伴う遺伝性 PAH の予後は不良のままであり、有効な治療法は肺移植に限定されている。日本では慢性的なドナー不足のため、肺移植に至る前に亡くなるケースが大半であり、本研究を礎にアカデミア発のオーファンドラッグ開発をすることができれば、社会的意義はインパクトのある結果となる。



細胞表面プロテオスタシスの破綻、低酸素下PASMCs増殖

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計4件（うち査読付論文　4件／うち国際共著　1件／うちオープンアクセス　3件）

１．著者名 Ugai Tomotaka、Zhao Melissa、Shimizu Takashi、et al.	４．巻 10
２．論文標題 Association of PIK3CA mutation and PTEN loss with expression of CD274 (PD-L1) in colorectal carcinoma	５．発行年 2021年
３．雑誌名 OncoImmunology	６．最初と最後の頁 1956173～1956173
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/2162402x.2021.1956173	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 該当する

１．著者名 Shimizu Takashi、Higashijima Yoshiki、Kanki Yasuharu、Nakaki Ryo、Kawamura Takeshi、Urade Yoshihiro、Wada Youichiro	４．巻 14
２．論文標題 PERK inhibition attenuates vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension caused by BMPR2 mutation	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Science Signaling	６．最初と最後の頁 eabb3616
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/scisignal.abb3616	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 －

１．著者名 Shimizu Takashi、Maruyama Kazuaki、Kawamura Takeshi、Urade Yoshihiro、Wada Youichiro	４．巻 10
２．論文標題 PERK participates in cardiac valve development via fatty acid oxidation and endocardial-mesenchymal transformation	５．発行年 2020年
３．雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-020-77199-4	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 Shimizu Takashi、Taguchi Akashi、Higashijima Yoshiki、Takubo Naoko、Kanki Yasuharu、Urade Yoshihiro、Wada Youichiro	４．巻 23
２．論文標題 PERK-Mediated Suppression of microRNAs by Sildenafil Improves Mitochondrial Dysfunction in Heart Failure	５．発行年 2020年
３．雑誌名 iScience	６．最初と最後の頁 101410～101410
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.101410	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　1件）

１．発表者名 Shimizu Takashi、Higashijima Yoshiki、Kanki Yasuharu、Nakaki Ryo、Kawamura Takeshi、Urade Yoshihiro、Wada Youichiro
２．発表標題 Perk Inhibition Ameliorates Pulmonary Vascular Remodeling in Pulmonary Arterial Hypertension With Bmpr2 Mutation
３．学会等名 American Heart Association（国際学会）
４．発表年 2020年

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

肺動脈性肺高血圧症の新規治療ターゲットとしてのPERKの同定 https://www.ric.u-tokyo.ac.jp/topics/2021/0127.html

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