

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15560

研究課題名(和文) Epac1機能抑制による心疾患治療の可能性の検討

研究課題名(英文) The usefulness of exchanged protein directly activated by cAMP (Epac) 1-inhibiting therapy for prevention of heart disease.

研究代表者

蔡 文倩 (CAI, WENQIAN)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：00751512

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)：遮断薬による治療は心不全の進行を抑制し、予後を改善する極めて重要なものとして確立されている。しかし、遮断薬は心不全を逆に増悪させてしまう副作用がしばしば大きな問題となる。我々はカテコラミンの作用のうち、有害な作用をEpac1が選択的に仲介していることを明らかにしてきた。マウス心臓から抽出した心筋細胞で、Epac1遮断薬であるCE3F4は不整脈発症のメカニズムとして重要な小胞体からのCa²⁺リークを抑制した。さらに心房細動と心室性不整脈の両マウス不整脈モデルにおいて、CE3F4投与は、不整脈への抑制作用を示した。これらの結果からEpac阻害剤は不整脈治療薬として有用である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

不整脈治療を要する患者は、心機能が低下していることが多く、遮断薬の心機能抑制の副作用は投与時にしばしば問題になる。結果として十分な不整脈治療が行えなくなる場合もあるし、何とか投与可能であっても、投与開始時に心不全発症などについて極めて細かい注意を払う必要がある。本研究で、Epac阻害剤が心機能抑制などの副作用が極めて少ない、心不全、不整脈治療薬として有用であることが示されることが期待できる。これは、これまで低心機能などで副作用の危険から遮断薬が内服できず、その有用性の享受を断念せざるを得なかった多くの患者のQOLや予後の改善につながるものである。臨床で極めて有用なものとなると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Treatment with β -blockers has been established as extremely important in suppressing the progression of heart failure and improving the prognosis. However, the side effect of β -blockers that exacerbates heart failure is often a major problem. We have shown that Epac1 selectively mediates harmful effects of catecholamines. In cardiomyocytes, CE3F4, an Epac1 selective inhibitor, suppressed Ca²⁺ leakage from the endoplasmic reticulum, which is an important mechanism of arrhythmia development. Furthermore, in both mouse arrhythmia models of pacing-induced atrial fibrillation and ventricular arrhythmia in calsequestrin 2 deficient mice, CE3F4 administration showed an inhibitory effect on arrhythmia. These results suggest that Epac inhibitors may be useful as therapeutic agents for arrhythmia.

研究分野：循環器

キーワード：Epac1 不整脈 心不全

1. 研究開始当初の背景

(1) 心不全、不整脈の原因となる重要なメカニズムの一つが、交感神経活性化であり、このシグナルは主に β -アドレナリン受容体 (β -AR) を介する。カテコラミンの急性の心機能促進作用は、全身の循環維持のために極めて重要であるが、慢性的なカテコラミン刺激は心筋細胞死の原因となり、結果として心機能を低下させ、不整脈も誘発させる。したがって β 受容体遮断薬による治療は心不全の進行を抑制し、予後を改善する極めて重要なものとして確立されている。しかし、 β 遮断薬は β -アドレナリン受容体を介するシグナル全体を抑制してしまうため、その有用な作用である基本的な心機能維持まで抑制し、心不全を逆に増悪させてしまう副作用がしばしば大きな問題となる。

(2) β -アドレナリン受容体刺激は、アデニル酸シクラーゼ (AC) を活性化させセカンドメッセンジャーであるcAMPを合成し、その細胞内濃度を高める。cAMPの上昇は心筋の機能を制御しているが、同時に有害作用として心筋細胞死を引き起こし心不全を発症させたり、不整脈を誘発したりする。cAMPの下流の標的分子としてはProtein kinase A (PKA) がこれまで主なものとして考えられてきたが、近年cAMPの標的となる分子として新たに、Exchange protein directly activated by cAMP (Epac) が報告され、その重要性が注目されている。

2. 研究の目的

我々はEpac1欠損マウスを使用した詳細な検討を行い、Epacのサブタイプの一つであるEpac1が、心不全や不整脈発症に重要であることを明らかにした。加えてカテコラミンの有害作用発現メカニズムとして、AC5 の下流でEpac1が重要であることも、遺伝子改変動物を用いた実験で証明することに成功した。これは、Epac1阻害薬がカテコラミンの有害作用を選択的に遮断することができる可能性を示す結果である。さらにこれを踏まえ、今回我々はEpac1阻害薬の主に不整脈治療薬としての有用性を検討した。

3. 研究の方法

(1) マウス不整脈モデルにおいて、CE3F4よる不整脈治療の効果を検討した。まず臨床において極めて重要な不整脈である心房細動のマウスモデルにおい

て、CE3F4の効果を評価した。これまでのマウスにおける心房細動モデルでは発作がわずか数秒しか誘発できなかったため、薬効などの評価が困難であったが、近年我々は交感神経活性を高めることにより、安定して数分間持続する心房細動を誘発できるモデルを確立しており (*PLoS One* 2015報告), 同モデルを用いて評価した。更にCE3F4の心室性不整脈への効果を確認するため、*calsequestrin* 2欠損マウスをモデルとして用いて検討した。

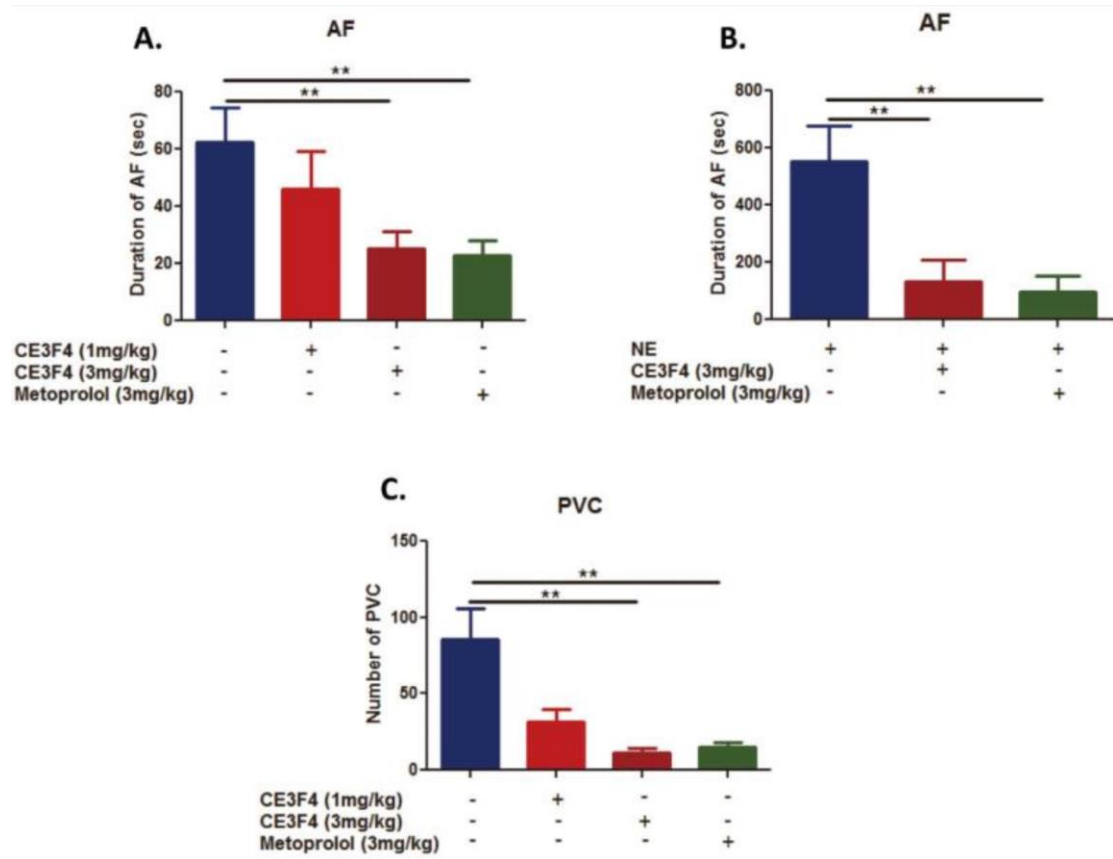
(2) *Epac1*選択的阻害剤 (CE3F4) の不整脈発症抑制作用を、細胞実験と、動物実験において評価した。心筋細胞を成体マウスの心臓から抽出・培養し、不整脈発症の原因とされている、カテコラミン刺激による筋小胞体 (SR) からの Ca^{2+} リークやそれによって生じる自発的 Ca^{2+} 放出 (SCR) の程度へのCE3F4の作用を観察した。

4. 研究成果

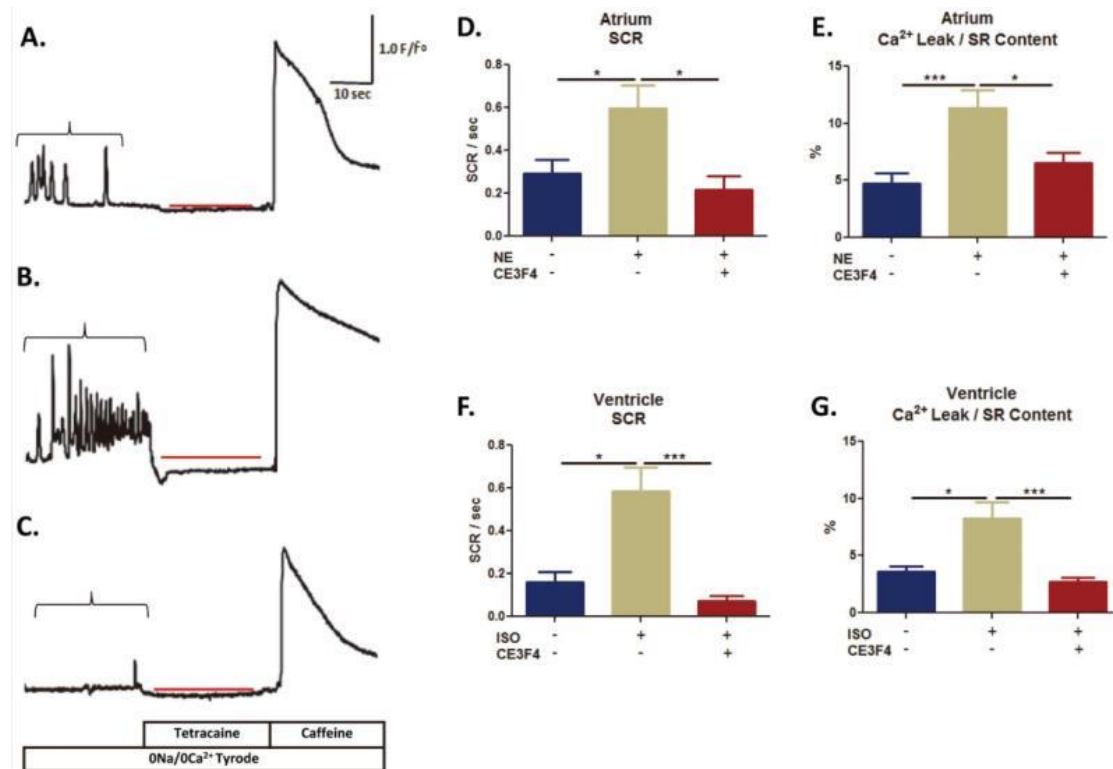
(1) *Epac*は不整脈の発生に重要な役割を果たしている。我々は*Epac1*欠損マウスを作成し、心房細動の持続時間の発生における*Epac1*の役割を検討した。*Epac1*欠損マウスでは、経食道ペーシングにより誘発される心房細動の持続時間が有意に短いことを明らかにした。これらの結果は、*Epac1*がマウスの心房細動の発生に重要な役割を果たしていることを示している。

(2) マウス不整脈モデルを用いて、*Epac1*選択的阻害剤であるCE3F4による不整脈治療の効果を動物実験で検討した。まず臨床において極めて重要な不整脈である心房細動のマウスモデルにおいて、CE3F4の効果を評価した (図1 A-B)。更にCE3F4の心室性不整脈への効果を確認するため、*calsequestrin* 2欠損マウスをモデルとして用いて検討した。CE3F4は β 遮断薬と比較しても同等に不整脈の抑制効果を有することが明らかとなった (図1 C)。

(3) 心筋細胞を成体マウスの心臓から抽出・培養し、不整脈発症の原因とされている、カテコラミン刺激による筋小胞体 (SR) からの Ca^{2+} リークやそれによって生じる自発的 Ca^{2+} 放出 (SCR) の程度へのCE3F4の作用を観察した。CE3F4はノルエピネフリンによる Ca^{2+} リークやSCRの増加を有意に抑制した (図2)。



☒ 1



☒ 2

(5) 加えて重要なことに、不整脈に対して、 β 遮断薬と同程度の効果がみられる用量で、CE3F4は心機能にほとんど影響を及ぼさなかったのに対し、 β 遮断薬は心機能の有意な低下を認めた。これは期待された通り、CE3F4は β 遮断薬と比較して副作用の少ない、安全な不整脈治療薬となりうる可能性を示すものであった (図3)。

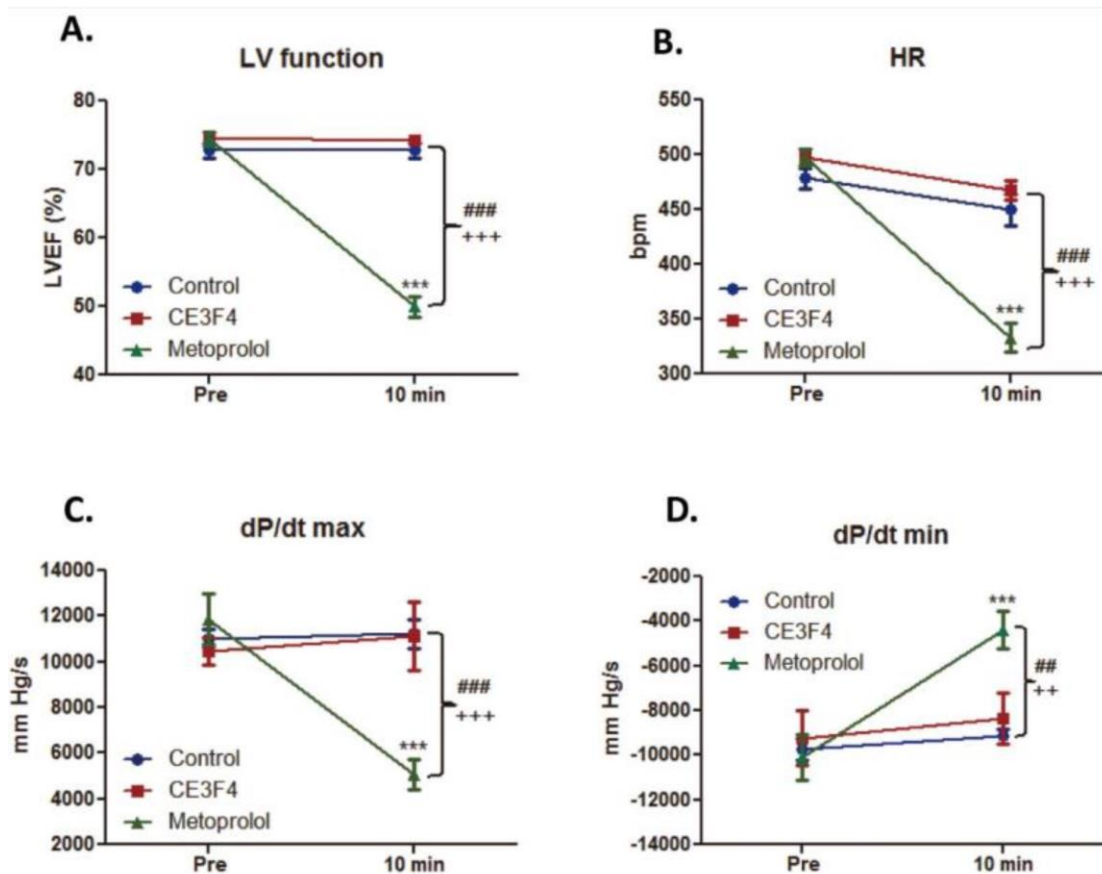


図3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Prajapati Rajesh, Fujita Takayuki, Suita Kenji, Nakamura Takashi, Cai Wenqian, Hidaka Yuko, Umemura Masanari, Yokoyama Utako, Knollmann Bjorn C., Okumura Satoshi, Ishikawa Yoshihiro	4. 巻 83
2. 論文標題 Usefulness of Exchanged Protein Directly Activated by cAMP (Epac)1-Inhibiting Therapy for Prevention of Atrial and Ventricular Arrhythmias in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 295-303
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-18-0743	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 Cai W, Fujita T, Hidaka Y, Jin H, Suita K, Shigeta M, Kiyonari H, Umemura M, Yokoyama U, Sadoshima J, Ishikawa Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Translationally controlled tumor protein (TCTP) plays a pivotal role in cardiomyocyte survival through a Bnip3-dependent mechanism.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 cell death and disease	6. 最初と最後の頁 549
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12576-019-00661-0.	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 Suita K, Fujita T, Cai W, Hidaka Y, Jin H, Prajapati R, Umemura M, Yokoyama U, Sato M, Knollmann BC, Okumura S, Ishikawa Y.	4. 巻 470
2. 論文標題 Vidarabine, an anti-herpesvirus agent, prevents catecholamine-induced arrhythmias without adverse effect on heart function in mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 pflugers archiv-european journal of physiology	6. 最初と最後の頁 923-935
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00424-018-2121-4	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4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Rajesh Prajapati, Takayuki Fujita, Kenji Suita, Takashi Nakamura, Wenqian Cai, Yuko Hidaka, Satoshi Okumura, Yoshihiro Ishikawa
2. 発表標題 The role of Epac1 in the development of ventricular arrhythmia in mice.
3. 学会等名 第28回日本病態生理学会大会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 藤田 孝之, ブラジャパティ ラジェシュ, 中村 隆, 蔡 文倩, 日高 祐子, 吹田 憲 治, 奥村 敏, 石川 義弘
2. 発表標題 不整脈発症における Epac1 の役割
3. 学会等名 第9回アジア・オセアニア生理学会連合2019年大会 (国際学会)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 藤田孝之、ブラジャパティ ラジェシュ、中村隆、蔡文倩、日高祐子、吹田憲治、奥村敏、石川義弘
2. 発表標題 不整脈発症におけるEpac1の役割
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 Rajesh Prajapati , Takayuki Fujita , Takashi Nakamura , Kenji Suita , Wenqian Cai , Yuko Hidaka , Yoshihiro Ishikawa
2. 発表標題 Epac1 plays an important role in the development of atrial fibrillation in mice
3. 学会等名 第27回日本病態生理学会大会
4. 発表年 2017年～2018年

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----