

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08039

研究課題名（和文）リアノジン受容体を分子標的とした心不全・不整脈の新たな治療開発

研究課題名（英文）Targetting ryanodine receptors for anti-heart failure and anti-arrhythmic therapy

研究代表者

小林 茂樹 (Kobayashi, Shigeki)

山口大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：90397993

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、慢性心不全や致死的不整脈の患者を対象に心筋型リアノジン受容体（RyR2）を標的とした治療法の開発と実臨床への応用を目的とするものである。臨床研究においては、慢性心不全におけるダントロレンの予後および心室性不整脈に与える効果と安全性を評価する多施設ランダム化二重盲検（SHO-IN Trial：UMIN 28766）を開始し、現在進行中である。基礎研究においては、マウス横行大動脈縮窄（TAC）モデルやマウス心筋梗塞（MI）モデルを用いて、RyR2標的治療の分子学的機序解明と有効性の実証を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心臓型リアノジン受容体（RyR2）を標的としたダントロレンによる心不全・不整脈の新たな治療法がさまざまな基礎疾患を有する慢性心不全に対して有効かどうかを実証することを目的としている。ダントロレンのRyR2に対する新たな分子学的作用機序提唱から、動物実験レベルでダントロレンの抗心不全効果・抗不整脈効果を証明しており、極めて斬新かつ独創的である。ダントロレンは、悪性高熱症や全身こむら返り、痙性麻痺に保険適応があり、薬物の安全性に関しては実証されているため、本研究で、有効性が実証されれば医療費の抑制にもつながり社会的貢献度は大である。また、RyR2を標的とした新たな創薬へと繋がっていきと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to develop a therapeutic method targeting RyR2 and apply it to clinical practice in patients with chronic heart failure and fatal arrhythmia. In a clinical study, a multicenter randomized double-blind study (SHO-IN Trial: UMIN 28766) was started to evaluate the prognosis and effect and safety of dantrolene on chronic heart failure and ventricular arrhythmia, and is currently underway. In basic research, we demonstrated the molecular mechanism of action and efficacy of RyR2 targeted therapy in vitro and in vivo using a mouse transverse coarctation (TAC) model and a mouse myocardial infarction (MI) model.

研究分野：循環器内科

キーワード：リアノジン受容体 心不全 致死的不整脈 致死的不整脈 ダントロレン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

心不全やカテコラミン誘発性多形性心室頻拍症(CPVT)の心筋型リアノジン受容体(RyR2)においては、心筋細胞内の筋小胞体(SR)膜上に存在するRyR2から拡張期Ca<sup>2+</sup>漏出が認められる。この拡張期Ca<sup>2+</sup>漏出は、心筋細胞の収縮・拡張不全および致死的不整脈の大きな原因である。一方、我々は、骨格筋型リアノジン受容体(RyR1)の点突然変異病である悪性高熱症において、ダントロレンがRyR1に結合することにより、RyR1からのCa<sup>2+</sup>漏出が抑制されることを解明した。ダントロレンの心筋型リアノジン受容体(RyR2)における結合部位はRyR1と全く同じアミノ酸配列であるため、ダントロレンは心不全や致死的不整脈に対しても有効であることが予測される。

### 2. 研究の目的

本研究は、慢性心不全や致死的不整脈の患者を対象にRyR2を標的とした治療法の開発と実臨床への応用を目的とするものである。

### 3. 研究の方法

(1) 臨床研究アーム：慢性心不全におけるダントロレンの予後および心室性不整脈に与える効果と安全性を評価する多施設ランダム化二重盲検(SHO-IN Trial:UMIN 28766)：

本研究は医師主導型の中国地方、四国地方を含む21施設からなる、ダントロレン、プラセボを用いた2重盲検試験である。対象は左室駆出率40%未満の慢性心不全患者で、1年以内に心不全により入院歴がなければ、BNP150pg/ML以上(1年以内に入院歴があればBNP100pg/ML以上)、あるいは、1年以内に持続心室頻拍を有する患者である。主要評価項目は、心血管死、心不全増悪による入院、致死的不整脈による複合エンドポイントである。評価期間は2年である。

#### (2) 基礎研究アーム

(a) マウス横行大動脈縮窄(TAC)モデルを用いたダントロレンの作用機序、効果判定試験：

Sham群、TAC群、TAC+ダントロレン(DAN)投与群に分け、それぞれ、術後2、4、8週(w)目でエコーによる評価を行い、2w、8wで心筋細胞を単離し、心筋細胞収縮能、Ca<sup>2+</sup>放出能を測定する。

(b) マウス心筋梗塞(MI)モデルを用いたダントロレンの作用機序、効果判定試験：

WTマウスに対して左冠動脈前下行枝(LAD)の結紮によるMI作成を行う。MI作成4、8w後に心エコーにて左室径、fractional shorteningを計測する。また、運動負荷やエピネフリンによる不整脈誘発試験を行う。さらに、心筋細胞を単離培養し、心筋細胞収縮能、Ca<sup>2+</sup>放出能、RyR2-カルモジュリン(CaM)連関、心肥大シグナル伝達実験を行う。

### 4. 研究成果

(1) 慢性心不全におけるダントロレンの予後および心室性不整脈に与える効果と安全性を評価する多施設ランダム化二重盲検(SHO-IN Trial:UMIN 28766)：

2018年1月より、患者エントリーを開始し、2021年3月31日で、合計217例の患者の登録を行っている(目標患者登録数300症例)。

#### (2) 基礎研究アーム

(a) マウス横行大動脈縮窄(TAC)モデルを用いたダントロレンの作用機序、効果判定試験：

TAC2wにおいて、ドメイン連関障害はすでに起きており、RyRとCaMの親和性が低下することで異常な拡張期Caリークが認められた。また、TAC群では心筋細胞肥大や細胞弛緩障害が生じていた。しかし、ダントロレン投与群では、カルモジュリン(CaM)とRyRの結合親和性が亢進し、Ca<sup>2+</sup>リークは抑制され、その結果、心筋細胞肥大および心筋細胞の拡張障害は改善した。さら

に、 Kaplan-Meier 生存曲線では、 TAC + DAN 投与群は、 TAC 群に比較して有意に生存率は改善した。

(b) マウス心筋梗塞 (MI) モデルを用いたダントロレンの作用機序、効果判定試験：

術後 8w で心筋細胞を単離し、心筋細胞収縮能、RyR2 からの Ca<sup>2+</sup>漏出能を測定した。MI 後 8w では、カルモジュリン (CaM) の RyR2 への結合親和性が低下し、異常な Ca<sup>2+</sup>漏出が認められた。また、MI 群では梗塞部位より遠位部の心筋細胞肥大や心筋線維化が生じていた。しかし MI + DAN 投与群では、CaM と RyR2 の結合親和性が亢進し、Ca<sup>2+</sup>漏出は抑制され、その結果、心筋細胞肥大や心筋線維化は改善した。さらに、MI 8w 後に、エピネフリンによる心室頻拍 (VT) 誘発試験を行ったところ、MI + DAN 投与群は、VT は有意に抑制された。Kaplan-Meier 生存曲線では、MI + DAN 投与群の生存率は、MI 群に比較して有意に改善した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件/うち国際共著 17件/うちオープンアクセス 16件）

1. 著者名 Kobayashi Shigeki, Yoshiga Yasuhiro, Yano Masafumi	4. 巻 76
2. 論文標題 Author's reply: The RyR2 - Targeting therapy against lethal arrhythmia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 323 ~ 324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2020.03.011	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 Sufu-Shimizu Yoko, Okuda Shinichi, Kato Takayoshi, Nishimura Shigehiko, Uchinoumi Hitoshi, Oda Tetsuro, Kobayashi Shigeki, Yamamoto Takeshi, Yano Masafumi	4. 巻 524
2. 論文標題 Stabilizing cardiac ryanodine receptor prevents the development of cardiac dysfunction and lethal arrhythmia in Ca <sup>2+</sup> /calmodulin-dependent protein kinase II c transgenic mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 431 ~ 438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.01.107	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 Hamada Yoriomi, Yamamoto Takeshi, Nakamura Yoshihide, Sufu-Shimizu Yoko, Nanno Takuma, Fukuda Masakazu, Ono Makoto, Oda Tesuro, Okuda Shinichi, Ueyama Takeshi, Kobayashi Shigeki, Yano Masafumi	4. 巻 21
2. 論文標題 G790del mutation in DSC2 alone is insufficient to develop the pathogenesis of ARVC in a mouse model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 100711 ~ 100711
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2019.100711	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 Kobayashi Shigeki, Yano Masafumi et al.	4. 巻 75
2. 論文標題 A multicenter, randomized, double-blind, controlled study to evaluate the efficacy and safety of dantrolene on ventricular arrhythmia as well as mortality and morbidity in patients with chronic heart failure (SHO-IN trial): rationale and design	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 454 ~ 461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2019.08.020	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 Kajii Toshiro, Kobayashi Shigeki, Shiba Sho, Fujii Shohei, Tamitani Masaki, Kohno Michiaki, Nakamura Yoshihide, Nanno Takuma, Kato Takayoshi, Okuda Shinichi, Uchinoumi Hitoshi, Oda Tetsuro, Yamamoto Takeshi, Yano Masafumi	4. 巻 521
2. 論文標題 Dantrolene prevents ventricular tachycardia by stabilizing the ryanodine receptor in pressure-overload induced failing hearts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 57 ~ 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.10.071	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 Nakamura Yoshihide, Yamamoto Takeshi, Kobayashi Shigeki, Tamitani Masaki, Hamada Yoriomi, Fukui Go, Xu Xiaojuan, Nishimura Shigehiko, Kato Takayoshi, Uchinoumi Hitoshi, Oda Tetsuro, Okuda Shinichi, Yano Masafumi	4. 巻 4
2. 論文標題 Ryanodine receptor-bound calmodulin is essential to protect against catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 1 ~ 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.126112	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 Kobayashi Shigeki, Myoren Takeki, Kajii Toshiro, Kohno Michiaki, Nanno Takuma, Ishiguchi Hironori, Nishimura Shigehiko, Fukuda Masakazu, Hino Akihiro, Fujimura Tatsuhiko, Ono Makoto, Uchinoumi Hitoshi, Tateishi Hiroki, Mochizuki Mamoru, Oda Tetsuro, Okuda Shinichi, Yoshiga Yasuhiro, Kawano Reo, Yano Masafumi	4. 巻 142
2. 論文標題 Addition of a 1-Blocker to Milrinone Treatment Improves Cardiac Function in Patients with Acute Heart Failure and Rapid Atrial Fibrillation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cardiology	6. 最初と最後の頁 195 ~ 202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000499400	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 該当する

1. 著者名 Oda Tetsuro, Yamamoto Takeshi, Kato Takayoshi, Uchinoumi Hitoshi, Fukui Go, Hamada Yoriomi, Nanno Takuma, Ishiguchi Hironori, Nakamura Yoshihide, Okamoto Yoko, Kono Michiaki, Okuda Shinichi, Kobayashi Shigeki, Bers Donald M., Yano Masafumi	4. 巻 125
2. 論文標題 Nuclear translocation of calmodulin in pathological cardiac hypertrophy originates from ryanodine receptor bound calmodulin	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology	6. 最初と最後の頁 87 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yjmcc.2018.10.011	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 Nawata Takashi, Kubo Makoto, Nomura Takafumi, Oishi Keiji, Shiragami Kosaku, Ikegami Tadayoshi, Okada Munemasa, Kobayashi Shigeki, Yano Masafumi	4. 巻 19
2. 論文標題 Change in muscle volume after steroid therapy in patients with myositis assessed using cross-sectional computed tomography	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12891-018-2008-8	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 Nawata Takashi, Kubo Makoto, Fujii Shohei, Shiragami Kosaku, Ikegami Tadayoshi, Kobayashi Shigeki, Hisano Satoshi, Yano Masafumi	4. 巻 57
2. 論文標題 Treatment of Class IV Lupus Nephritis with Mycophenolate Mofetil Monotherapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2067~2070
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.0304-17	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 Ishiguchi Hironori, Kobayashi Shigeki, Okuda Shinichi, Okamura Takayuki, Okada Munemasa, Takemura Genzou, Takahashi Masaya, Mikamo Akihito, Hamano Kimikazu, Yano Masafumi	4. 巻 82
2. 論文標題 Localized Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy Complicated With Shower Emboli Originating From Apical Intramural Thrombi	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 2375~2376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-17-1231	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 Yoshiga Yasuhiro, Shimizu Akihiko, Ueyama Takeshi, Ono Makoto, Fukuda Masakazu, Fumimoto Tomoko, Ishiguchi Hironori, Omuro Takuya, Kobayashi Shigeki, Yano Masafumi	4. 巻 72
2. 論文標題 Strict sequential catheter ablation strategy targeting the pulmonary veins and superior vena cava for persistent atrial fibrillation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 128~134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2018.01.004	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 Nishimura Shigehiko, Yamamoto Takeshi, Nakamura Yoshihide, Kohno Michiaki, Hamada Yoriomi, Sufu Yoko, Fukui Go, Nanno Takuma, Ishiguchi Hironori, Kato Takayoshi, Xu Xiaojuan, Ono Makoto, Oda Tetsuro, Okuda Shinichi, Kobayashi Shigeki, Yano Masafumi	4. 巻 15
2. 論文標題 Mutation-linked, excessively tight interaction between the calmodulin binding domain and the C-terminal domain of the cardiac ryanodine receptor as a novel cause of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Heart Rhythm	6. 最初と最後の頁 905 ~ 914
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hrthm.2018.02.006	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 Okuda Shinichi, Sufu-Shimizu Yoko, Kato Takayoshi, Fukuda Masakazu, Nishimura Shigehiko, Oda Tetsuro, Kobayashi Shigeki, Yamamoto Takeshi, Morimoto Sachio, Yano Masafumi	4. 巻 496
2. 論文標題 CaMKII-mediated phosphorylation of RyR2 plays a crucial role in aberrant Ca <sup>2+</sup> release as an arrhythmogenic substrate in cardiac troponin T-related familial hypertrophic cardiomyopathy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1250 ~ 1256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.01.181	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 Nakamura Yoshihide, Yamamoto Takeshi, Xu Xiaojuan, Kobayashi Shigeki, Tanaka Shinji, Tamitani Masaki, Saito Takashi, Saido Takaomi C., Yano Masafumi	4. 巻 11
2. 論文標題 Enhancing calmodulin binding to ryanodine receptor is crucial to limit neuronal cell loss in Alzheimer disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-86822-x	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 Nakamura Yoshihide, Yamamoto Takeshi, Xu Xiaojuan, Kobayashi Shigeki, Tanaka Shinji, Tamitani Masaki, Saito Takashi, Saido Takaomi C., Yano Masafumi	4. 巻 11
2. 論文標題 Enhancing calmodulin binding to ryanodine receptor is crucial to limit neuronal cell loss in Alzheimer disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 714
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-86822-x	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 Tamitani Masaki, Yamamoto Takeshi, Yamamoto Naoki, Fujisawa Koichi, Tanaka Shinji, Nakamura Yoshihide, Uchinoumi Hitoshi, Oda Tetsuro, Okuda Shinichi, Takami Taro, Kobayashi Shigeki, Sakaida Isao, Yano Masafumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Dantrolene prevents hepatic steatosis by reducing cytoplasmic Ca <sup>2+</sup> level and ER stress	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 100787 ~ 100787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2020.100787	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

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Shigeki Kobayashi, Takeshi Yamamoto, Masafumi Yano
2. 発表標題 Arrhythmia Treatment Targeting Ryanodine receptor
3. 学会等名 The 66th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林茂樹、山本健、矢野雅文
2. 発表標題 リアノジン受容体を分子標的とした心不全・不整脈治療
3. 学会等名 第40回日本循環制御医学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林茂樹
2. 発表標題 カルシウム制御による心不全治療戦略 リアノジン受容体安定化治療の可能性について
3. 学会等名 第22回日本心不全学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年



## 〔図書〕 計3件

1. 著者名 小林茂樹、矢野雅文	4. 発行年 2019年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 57
3. 書名 メディカル・サイエンス・ダイジェスト 心不全 Up to Date	

1. 著者名 小林茂樹、矢野雅文	4. 発行年 2020年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 142
3. 書名 循環代謝－原始・現代・未来－	

1. 著者名 小林茂樹	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南山堂	5. 総ページ数 210
3. 書名 Cutting Edge of Molecular Cardiology 新しい臨床を開拓するための分子循環器病学	

## 〔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
研究分担者	矢野 雅文  (Yano Masafumi)  (90294628)	山口大学・大学院医学系研究科・教授    (15501)	

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	山本 健  (Yamamoto Takeshi)  (50363122)	山口大学・大学院医学系研究科・教授     (15501)	

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