

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号： 14301

研究種目： 研究活動スタート支援

研究期間： 2018～2019

課題番号： 18H06196・19K21301

研究課題名(和文) KUS剤の心不全に対する治療応用に関する研究

研究課題名(英文) Development of heart failure treatment by KUS as ATP Consumption suppressor

研究代表者

渡邊 真(Watanabe, Shin)

京都大学・医学研究科・特定病院助教

研究者番号： 20823082

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000 円

研究成果の概要(和文)：KUS剤は細胞内のATPを維持する作用、小胞体ストレスを軽減する作用を有することが報告され、現在までマウスやブタ心臓虚血障害モデルにおいてKUS剤が改善効果を示すことを既に我々は報告している。

本研究では同じく小胞体ストレスが増大する心不全におけるKUS剤の治療可能性に注目し、心不全モデルを用いて臨床応用の可能性を探った。マウス弓部大動脈狭窄 - 心不全モデルに対しKUS剤もしくは5%ブドウ糖液の3週間腹腔内投与を行った。その結果KUS剤投与ではControl群と比べ心肥大や肺水腫を抑制し、左室収縮能機能の悪化を抑制した。これらの結果はKUS剤の心不全への治療が有効である可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られた知見でKUS剤の心不全治療への臨床応用の可能性を開くことができた。虚血性心疾患におけるKUS剤の効果に関し、我々はマウスから前臨床試験としてのブタを用いた実験で既に実証していたが、非虚血性心不全マウスモデルにおいても改善効果を示せたことは、心疾患におけるKUS剤の汎用性を示すものである。特に心不全は悪性腫瘍に次ぎ死因の第二位であり、高齢化がますます進むことで今後心不全パンデミックを引き起こすであろうとされている中、心不全の治療オプションを増やすことは意義のあることと考える。

研究成果の概要(英文)：Kyoto University Substance(KUS) was developed to selectively inhibit the ATPase activity of Valosin-containing protein(VCP) without affecting other cellular functions of VCP. Indeed, KUS has been shown to maintain cellular ATP levels, reduce ER stress, and prevent cell death in vitro without showing any toxic effects. KUS has also been shown to elicit cardioprotective effects in murine and porcine ischemic injury models.

Considering the situation with great ER stress in heart failure as ischemic injury, we anticipated that KUS may produce a cardioprotective effect in heart failure. We performed IP injection of KUS or 5% glucose solution everyday from 5 weeks after transverse aortic constriction (TAC) in wild type mice. The weights of Heart and Lung of 3 weeks after injection of KUS121 were lower than control group. Worsening of left ventricular ejection fraction in KUS group was canceled. These findings confirmed that KUS is a promising novel therapeutic agent for heart failure

研究分野： 心不全

キーワード： 心不全 ATP保持 KUS VCP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

VCP (Valosin-containing protein) は、ATPase 活性を有し、細胞内の異常蛋白質の処理など重要な役割を担う蛋白質である。KUS 剤 (Kyoto University Substance) は、VCP の ATPase 活性のみを選択的に低下させることを目的として京都大学の垣塚氏によって開発された。KUS 剤は細胞内の ATP を維持する作用、小胞体ストレスを軽減する作用を有することが報告され、網膜虚血ラットモデルでの保護効果も報告されている。現在までに KUS 剤によるラット心筋芽細胞に対する保護効果、またマウス心臓虚血再灌流障害モデルにおいて KUS の投与が梗塞巣の改善効果があることを既に我々は報告している。

2. 研究の目的

本研究では同じく細胞内 ATP の減少や小胞体ストレスが増大するといわれる左心不全における KUS 剤の治療的効果について、マウス心不全モデルを用いてさらに明らかにし、臨床応用の可能性を探ることを目的とした。

3. 研究の方法

in-vitro 実験としてラット心筋芽細胞 H9C2 に対しイソプロテレノールにより肥大シグナルを誘発し KUS 投与により肥大が抑制されるかを観察した。また心肥大関連遺伝子の mRNA の発現を qPCR で測定した。

続いて in-Vivo 実験としてマウス弓部大動脈狭窄 - 心不全 (TAC) モデルを作成し、まず心肥大期における KUS の抑制効果を評価するため、手術日から 2 週間毎日 KUS 剤もしくは 5 % ブドウ糖液の腹腔内投与を行い、心エコーによる心機能評価並びに心肥大の定量的評価としての心重量並びに心不全に伴う肺水腫の評価として肺重量を測定した。また摘出した心臓からは心肥大並びに心不全に変化する mRNA を qPCR や病理的評価により心筋細胞の肥大や繊維化を評価した。

次に心不全期に入る手術 5 週間より 3 週間毎日 KUS 剤もしくは 5 % ブドウ糖液の腹腔内投与を行った。こちらに関しても上記同様の評価を行った。

4. 研究成果

in-vitro 実験においてイソプロテレノールにより肥大シグナルを誘発されたラット心筋芽細胞 H9C2 に対し KUS 剤投与によって肥大が抑制されることを見出し (図 1)、さらに in-vivo 実験においてはマウス TAC モデルの比較的早期の心肥大期での KUS 投与実験では心重量の増加や左室収縮能悪化の軽減傾向を示し、心不全関連遺伝子 (BNP 等) の発現や繊維化遺伝子の発現の抑制傾向を示した。これらにより KUS 剤に心肥大からの心不全の進展を抑制効果がある事が判明した。(図 2) さらに TAC モデルの後期である心肥大から心不全に移行する時期から KUS 剤を投与した実験でも、KUS 剤投与では生食群と比べ心肥大や肺水腫を抑制し、左室収縮能機能の悪化を抑制した。心不全関連遺伝子 (BNP 等) も KUS 群では軽減していた。(図 3)

さらに、マウス心筋梗塞モデルを作成し慢性心不全期に KUS 剤を投与した。非虚血部位において心肥大は抑制されており、このことからタイプの違う心不全においても心肥大の抑制を引き起こすことが判明した。現在、mRNA のチップシーケンスを行い下流シグナルの変化を解析中である。この解析により KUS の VCP 以外のターゲットを探求している。

さらに KUS 剤が心筋細胞内のカルシウム動態にどのように影響を及ぼすかという命題に対し、単離心筋を用いてカルシウム動態計測実験の最適化を行っている。カルシウム動態に関しては心不全進展の必要なカルシウムポンプタンパクである SERCA2a は VCP と同様 ATPase 活性を持っている為、KUS による関与に興味があるところである。

図 1: 心筋肥大シグナルの抑制

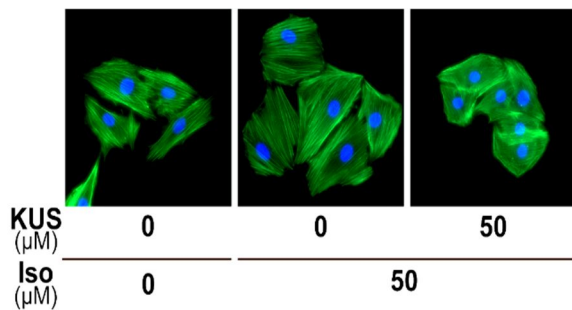
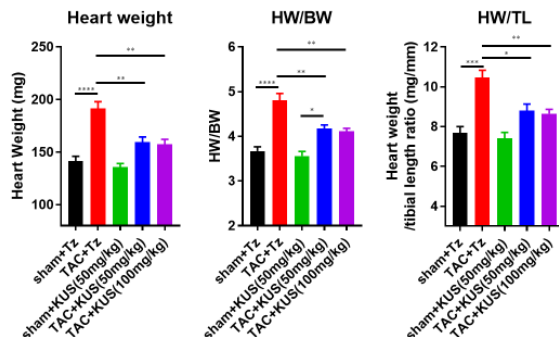


図 2: マウス TAC モデル早期での KUS の効果

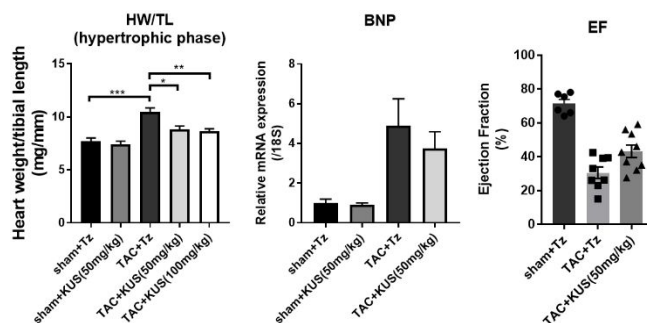


さらに臨床応用を目指し、虚血性心不全ブタを用いて KUS の急性効果実験の準備している。ブタの冠動脈にバルーン閉塞を行い、ある程度心不全が慢性化した 2 週間から 4 週間の間でスワングアンツカテーテルによる右心カテーテル検査や Pressure-Volume loop 解析による循環動態解析を行う予定としている。

本研究で得られた知見で KUS 剤の心不全治療への臨床応用の可能性を開くことができた。虚血性心疾患における KUS 剤の効果に関し、我々はマウス

から前臨床試験としてのブタを用いた実験で既に実証していたが、非虚血性心不全マウスモデルにおいても改善効果を示せたことは、心疾患における KUS 剤の汎用性を示すものである。特に心不全は悪性腫瘍に次ぎ死因の第二位であり、高齢化がますます進むことで今後心不全パンデミックを引き起こすであろうとされている中、心不全の治療オプションを増やすことは意義のあることと考える。

図 3：マウス TAC モデル後期での KUS の効果



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
研究協力者	尾野 亘 (Ono Koh) (00359275)	京都大学・循環器内科・准教授 (14301)	
研究協力者	堀江 貴裕 (Horie takahiro) (20565577)	京都大学・循環器内科・助教 (14301)	
研究協力者	井手 裕也 (Ide Yuya) (20804206)	京都大学・循環器内科・助教 (14301)	