

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21600

研究課題名（和文）細胞保護による新規心不全治療薬の開発

研究課題名（英文）Development of a novel therapeutic drug for the treatment of heart failure by cell protection

研究代表者

尾野 亘（Ono, Koh）

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：00359275

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：心不全では、心筋細胞内のATPレベルが低下する。KUS121は、バロシン含有タンパク質（VCP）のATPase阻害剤であり、細胞のATPレベルを増加させ、細胞保護作用を有する。マウス心不全モデルにKUS121を投与したところ、PCr/ATP比と左室駆出率が急速に改善された。イヌの心不全モデルでも、KUS121の投与により左心室収縮力が改善し、拡張末期圧が減少した。培養心筋細胞では、KUS121はピークCa²⁺レベルや収縮時間を変えずに収縮力と拡張能を改善した。KUS121は従来のカテコールアミンとは異なるメカニズムで心不全を改善し、心不全治療の新しい選択肢となる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、わが国の疾患別死因の中で、心疾患は15.2%を占め、悪性新生物に続いて第2番目となっている。心不全患者は、急性心不全を繰り返してやがて死に至る。その原因としては、急性心不全治療に用いられる薬剤が十分でないことが理由として挙げられる。具体的には、破綻した血行動態を急激に改善させるために、カテコラミンやPDE阻害薬といった強心薬を用いるために、かえって心臓の線維化や慢性期の心機能を悪化させているのが現状である。これまでの検討より、KUS121が急性心不全治療の治療法を根本的に変え、心不全患者の予後を劇的に改善する理想的な薬剤となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In heart failure, ATP levels in cardiomyocytes decrease. Kyoto University substance 121 (KUS121) increases ATP levels in cells. When KUS121 was administered to a mouse model of heart failure, PCr/ATP ratio and left ventricular ejection fraction were rapidly improved after KUS121 administration. In a canine heart failure model, administration of KUS121 also improved left ventricular contractility and reduced end-diastolic pressure. In cultured cardiomyocytes, KUS121 improved contractility and diastolic capacity without altering peak Ca²⁺ levels or contraction time. KUS121 improves heart failure through a different mechanism than conventional catecholamines and may be a new option for the treatment of heart failure.

研究分野：循環器内科学

キーワード：ATP 心不全 心筋梗塞

1. 研究開始当初の背景

心筋梗塞の治療には、経皮的冠動脈インターベンション(PCI)が行われるが、PCI後の再灌流障害、更には心不全の際に生じる心筋細胞死を標的とした治療法は皆無である。VCP (valosin-containing protein)は、細胞内の主要なATPaseであり、VCPのATPaseの阻害剤(KUS121)は、細胞内のATP減少と細胞死を抑制する作用がある。我々の検討により、KUS薬はブタ心筋梗塞モデルにおいて、梗塞巣を63%低下させることが明らかとなった (Ide-T, *Ono-K et al. JACC Basic Transl Sci. 2019;4:701-14)。

一方、わが国の疾患別死因の中で、心疾患は15.2%を占め、悪性新生物に続いて第2番目となっている。心不全患者は、急性心不全を繰り返してやがて死に至る。その原因としては、心不全治療に用いられる薬剤が十分でないことが理由として挙げられる。具体的には、破綻した血行動態を改善させるために、カテコラミンやPDE阻害薬といった強心薬を用いることが、かえって心臓の線維化や慢性期の心機能を悪化させているのが現状であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究においては、KUS121の心不全に対する治療効果およびその作用機序を検討することが目的である。心不全治療においては、利尿剤、血管拡張剤、強心剤などの薬剤が用いられるが、特に強心作用を持つ薬剤は不整脈、心肥大、心臓線維化を生じ、長期に使用した際の予後が悪いことが知られている。KUS121はそのATP保持作用、さらに細胞死抑制作用から、従来のカテコラミンとは異なるメカニズムで心不全を改善し、心不全治療の新しい選択肢となる可能性がある。また、予備的検討からは心肥大の抑制効果も認めているため、現在治療法の無い、左室駆出率の保たれた心不全 (heart failure with preserved ejection fraction; HFpEF) の治療にもつながる可能性がある。

3. 研究の方法

(1) ラット心筋芽細胞株 H9C2 を用いた in vitro での心肥大、細胞内 ATP レベルに対する薬効評価

(2) マウス圧負荷心肥大モデルに対する投与効果の検討

(3) マウス圧負荷心不全モデルに対する投与効果の検討

慢性投与実験

急性投与による薬効とその効果の確認

(4) 中型動物心不全モデル (ビーグル犬に対する高頻度ペーシングによる心不全モデル) に対する投与効果の検討

(5) 初代培養心筋細胞での KUS121 の作用機序の検討

4. 研究成果

(1) ラット心筋芽細胞株 H9C2 を用いた in vitro での薬効評価

H9C2 細胞にイソプロテレノールを負荷すると細胞が肥大し、ATP レベルが低下する一方で KUS121 を同時に投与することで細胞の肥大が抑制され (図 1)、ATP レベルが保持されることを確認した。

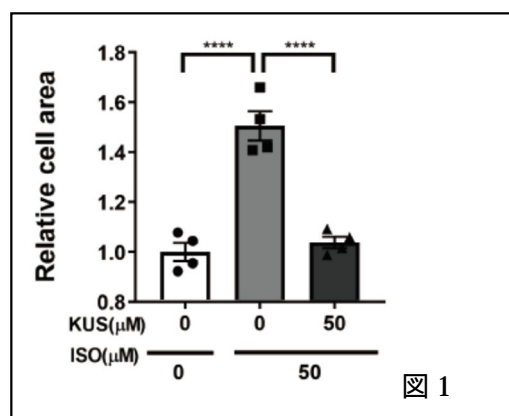


図 1

(2) マウス圧負荷心肥大モデルでの検討

大動脈縮窄 (Thoracic Aortic constriction; TAC) モデルマウスを用い、手術時より 2 週間 KUS121 を 50mg/kg で 1 日 1 回腹腔内投与したところ、コントロールと比較して、マウスの心重量、心筋細胞肥大が低下した。

(3) マウス圧負荷心不全モデルでの検討

慢性投与実験

TAC 手術後 5 週間経過し、心機能が低下した状態のマウスに 3 週間 KUS121 を 50mg/kg で 1 日 1 回腹腔内投与した

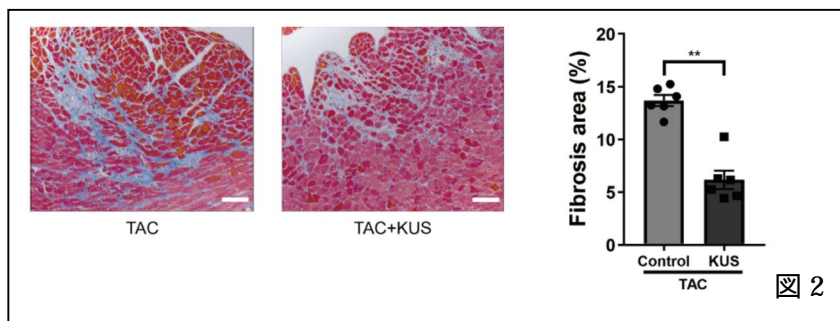
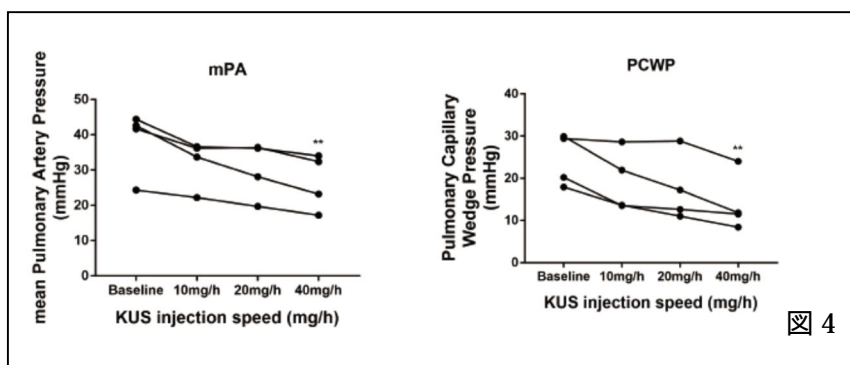
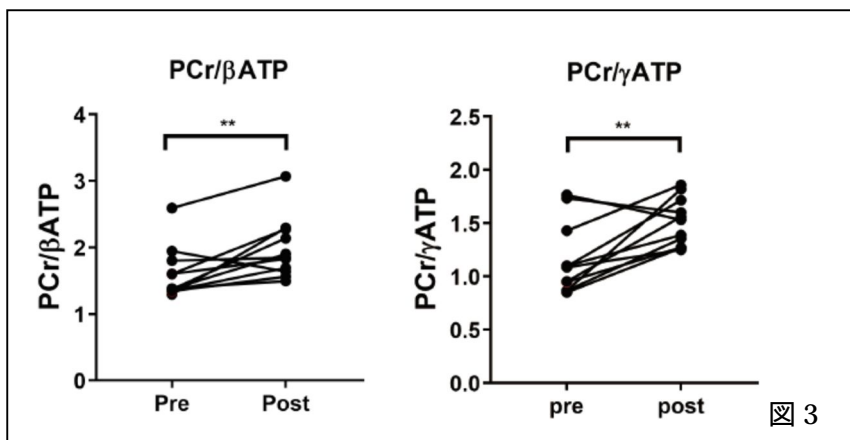


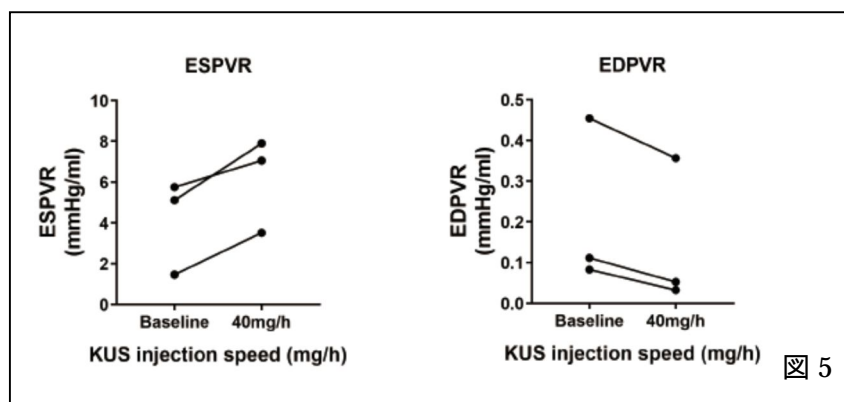
図 2

ところ、左室駆出率の低下と心筋細胞肥大が抑制された。さらに左心室の線維化も抑制された(図2)。急性投与による効果と作用機序の確認
TAC手術後8週間経過し、心機能が低下した状態のマウスにKUS121を50mg/kgで1回腹腔内投与すると投与直後10分において、左室収縮能の改善を認めた。さらに、生体での心臓のエネルギー効率を測定するためTAC手術5週間経過したマウスにKUS121投与前後で心筋MRスペクトロスコピーを行ったところ、KUS121投与直後にPCr/ATP比が改善するという結果を得た(図3)。



(4) 中動物心不全モデルでの検討

12か月齢のビーグル犬を用いて4週間高頻度ペースング(250回/分)を行い、頻脈誘発性の心不全モデルビーグル犬を作製した。KUS121は経静脈的に持続点滴で10mg/h、20mg/h、40mg/hで投与した。全身麻酔下に左室内にPressure-Volume loop測定用のカテーテルを留置、右心系にはスワンガンツカテーテルを留置し、KUS121投与後に圧動態を確認した。また、心臓超音波検査を並行して



を行い、心機能も評価した。その結果、心拍数や血圧を上昇させることなく、肺動脈圧、肺動脈楔入圧を低下させ(図4)、左室駆出率を上昇させた。またPressure-Volume loopの解析では左室の収縮能の指標と左室拡張能の指標とも改善傾向を示した(図5)。

(5) 初代培養心筋細胞での作用機序の検討

初代培養心筋細胞を用いた実験において、KUS121は従来のカテコラミンとは異なった細胞内シグナル伝達を生じることが分かった。これについては一定期間公表を差し控える必要があるために、後日報告することとする。

以上より、KUS121は従来のカテコラミンとは異なる作用で、左室駆出率を上げ、うっ血の指標を改善させることが明らかとなった。従って、今後、予後の悪化作用のない、急性心不全治療薬となると共に、カテコラミン依存から脱却できない重症心不全に対する新たな心不全治療薬として使用できる可能性があると考えられる。今後、薬物動態試験、安全性試験を実施し、ヒトに対する医師主導治験の準備を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5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 5件）

1. 著者名 Horie Takahiro, Nakao Tetsushi, Nishino Tomohiro, Kimura Masahiro, Tsuji Shuhei, Yamasaki Tomohiro, Xu Sijia, Otani Chiharu, Miyagawa Sawa, Matsushita Kazuki, Sowa Naoya, Baba Osamu, Picciotto Marina R., Watanabe Dai, Kimura Takeshi, Ono Koh	4. 巻 12
2. 論文標題 microRNA-33 maintains adaptive thermogenesis via enhanced sympathetic nerve activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 843
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-21107-5	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 Ono Koh, Horie Takahiro, Baba Osamu, Kimura Masahiro, Tsuji Shuhei, Rodriguez Randolph Ruiz, Miyagawa Sawa, Kimura Takeshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Functional non coding RNAs in vascular diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	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) 10.1111/febs.15678	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 Kuwabara Yasuhide, Tsuji Shuhei, Nishiga Masataka, Horie Takahiro, Baba Osamu, Nakao Tetsushi, Nishino Tomohiro, Sowa Naoya, Miyasaka Yui, Hatani Takeshi, Ide Yuya, Nakazeki Fumiko, Kimura Masahiro, Yoshida Yoshinori, Inada Tsukasa, Kimura Takeshi, Ono Koh	4. 巻 3
2. 論文標題 Lionheart LincRNA alleviates cardiac systolic dysfunction under pressure overload	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 434
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-01164-0	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 Ono Koh	4. 巻 84
2. 論文標題 Prediction of Coronary Artery Disease by Measurement of Circulating MicroRNA-423-3p Levels	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 1062 ~ 1063
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-20-0478	査読の有無 無
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 Kimura Masahiro, Horie Takahiro, Baba Osamu, Ide Yuya, Tsuji Shuhei, Ruiz Rodriguez Randolph, Watanabe Toshimitsu, Yamasaki Tomohiro, Otani Chiharu, Xu Sijia, Miyasaka Yui, Nakashima Yasuhiro, Kimura Takeshi, Ono Koh	4. 巻 21
2. 論文標題 Homeobox A4 suppresses vascular remodeling by repressing YAP/TEAD transcriptional activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e48389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.201948389	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9件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Masahiro Kimura, Kazuki Matsushita, Takahiro Horie, Takeshi Kimura, Koh Ono
2. 発表標題 Elucidating the involvement and molecular functions of homeotic genes in the pathogenesis of pulmonary hypertension
3. 学会等名 第4回日本循環器学会基礎研究フォーラム (BCVR)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Koh Ono
2. 発表標題 Role of microRNAs in Cardiovascular Disease
3. 学会等名 第84回 日本循環器学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shuhei Tsuji, Yasuhide Kuwabara, Takahiro Horie, Takeshi Kimura, Koh Ono
2. 発表標題 Long Intergenic Noncoding RNA, Lionheart, Regulates Heart Size and Contributes to the Protection from Pressure Overload Induced Heart Failure
3. 学会等名 第84回 日本循環器学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takahiro Horie, Satoshi Koyama, Takeshi Kimura, Koh Ono
2. 発表標題 miR-33b has more impact on the formation of insulin resistance and atherosclerosis than miR-33a
3. 学会等名 第84回 日本循環器学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村 昌弘、堀江貴裕、尾野亘、木村剛
2. 発表標題 HOX遺伝子を介した、新たな血管リモデリング制御機構の解明
3. 学会等名 第52回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Koh Ono
2. 発表標題 Function of miR-33a/b in lipid and systemic metabolism
3. 学会等名 The 10th International Congress on Lipid & Atherosclerosis (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koh Ono
2. 発表標題 Elucidation of the role of miR-33a/b in atherosclerosis and obesity. Contrast between central and peripheral roles
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koh Ono
2. 発表標題 Function of microRNA-33a/b in atherosclerosis-related diseases and systemic metabolism
3. 学会等名 The Great Wall International Congress of Cardiology JCS GW-ICC Joint session (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koh Ono
2. 発表標題 Inhibition of MicroRNA-33b Ameliorates Abdominal Aortic Aneurysm Formation via Suppression of Inflammatory Pathways
3. 学会等名 第86回 日本循環器学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 尾野 亘	4. 発行年 2020年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 500
3. 書名 循環器疾患 最新の治療2020-2021	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 心機能を改善するための医薬組成物	発明者 尾野 亘、堀江貴裕、井手裕也、曾和尚也	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2021-211106	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

京都大学循環器内科 分子循環器グループ
<http://kyoto-u-cardio.jp/kisokenkyu/metabolic/>

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
---------	---------