

# ノバルティスファーマ基礎研究助成での 研究結果について

池田 昌隆

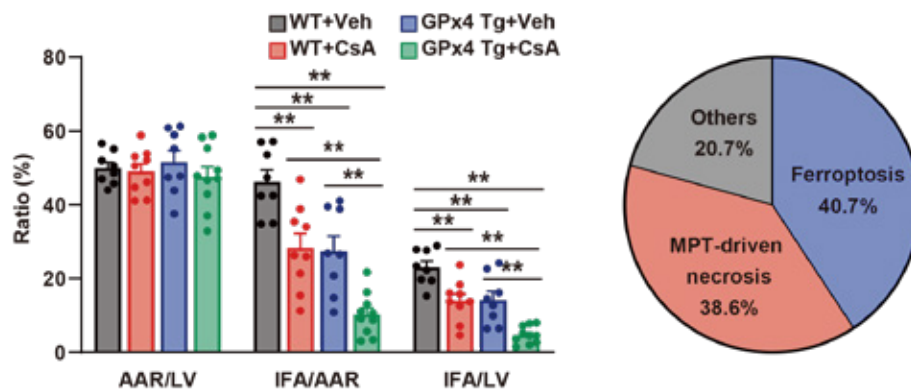
九州大学 循環器内科

この度は「ノバルティスファーマ基礎研究助成」にご採択頂き、誠にありがとうございました。ご支援頂きました研究成果についてご報告させていただきます。

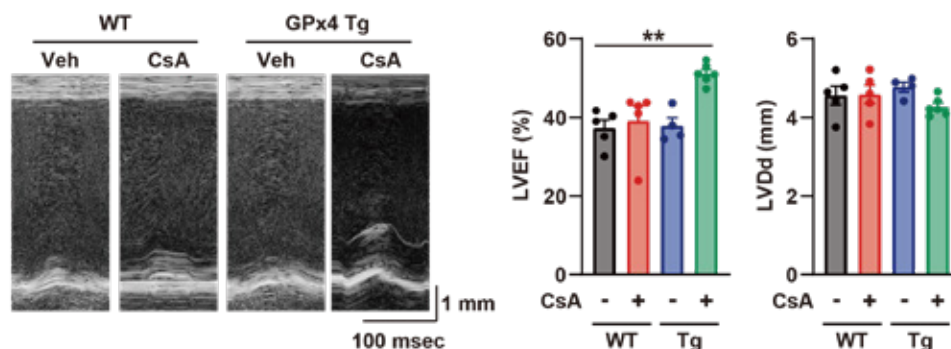
早期血行再建の普及により心筋梗塞の急性期予後は顕著な改善を認めている一方で、心筋梗塞後の心不全患者は世界的に増加していることが報告されています。心不全パンデミックとも呼ばれる本課題の解決を目指し、血行再建に伴う再灌流傷害は長らく残存リスクに対するさらなる治療標的と目されてきました。しかしながら、依然としてその治療法は確立されていません。本研究では、2012年に新たに提唱されたフェロトキシ

スに着目し、フェロトキシがこれまで再灌流傷害の主たる細胞死と考えられてきたMPT-driven necrosisと同等か、それ以上に病態に寄与していることを示し、MPT-driven necrosisとフェロトキシを同時に阻害することによって遠隔期の心機能を改善し得ることを明らかにしました。フェロトキシを標的とした再灌流傷害に対する治療開発により梗塞後の心不全発症を抑制することが期待されます。本研究成果は、JACC Basic Translation Science 誌 (doi.org/10.1016/j.jacbts.2022.03.012)に掲載されました。

## フェロトキシは MPT-driven necrosis と同等か、それ以上に再灌流傷害に寄与する



## フェロトキシと MPT-driven necrosis 両者の抑制は遠隔期の心機能を改善する



## 大瀧 陽一郎

山形大学 医学部 第一内科

### 心腎症候群の発症機序の解明 -腎由来セマフォリン-心筋プレキシシン受容体経路の役割-

我々は、心不全患者における尿細管障害の研究を2010年から開始し、予後が不良であることを報告しました。しかし、治療につながる機序解明に難渋しておりました。本研究では、腎尿細管由来セマフォリン3Cが心腎症候群発症に関連することを発見しました。心不全患者においてセマフォリン3C低値が心不全や腎不全重症度ならびに予後と関連しました。腎尿細管特異的セマフォリン3Cノックアウトマウスに大動脈縮窄手術で心

腎症候群を誘導すると、病的心肥大が増悪し、生命予後が悪化しました。特に同マウスの心組織では、Wnt/ $\beta$ カテニンシグナルが増強する知見を得ました。

本研究は第6回日本循環器学会基礎研究フォーラムのAward sessionで発表を予定しております。このような成果は本研究助成で得られたものであり、この場を借りて感謝申し上げます。

## 北方 博規

慶應義塾大学病院 循環器内科

昨今、抗がん剤領域における創薬の著しい進歩により、分子標的薬など新たな薬剤が開発されている。しかし、これら新規の抗がん剤の使用により心毒性を呈する症例が散見されている。とくに乳がん患者に使用されるトラスツズマブ(HER2阻害薬)の心毒性は、可逆性があると言われていたものの、一部で心機能の回復が見込めない患者が存在する。乳がん患者におけるHER2阻害薬の頻用性・重要性を鑑みると、心毒性の機序を解明し、それを抑制することが喫緊の課題である。しかし、抗がん剤による心毒性の研究領域は未だ黎明期であり、その具体的な機序の解明には至っていない。

助成者はこれまで、抗がん剤の心機能に及ぼす影響を、動物モデルおよび細胞モデルを用いて検証してきた。具体的に、ミトコンドリア蛋白質であるMITOLの発現低下により、近年新たに提唱されている細胞死の一種であるフェロトーシスをおこし、この機序がドキソルビシン(DOX)によって惹起される心筋障害に関与していることを発見した。事実、DOXによる心毒性の大きな原因をフェロトーシスが担っていることがこの数年で証明されており、フェロトーシスの原因とされる過酸化脂質の蓄

積もDOX投与後の心筋で証明されている。DOX投与の既往がHER2阻害薬による心毒性の発症リスクであることを考慮すると、この心毒性の機序にもフェロトーシスが関与している可能性が高い。事実、HER2阻害薬に耐性を持つがん細胞では抗酸化作用が抑えられており、その作用はフェロトーシスの鍵分子であるGPX4の発現に依存していることが2017年のNature誌に報告されている。これを受けて、本研究助成の支援のもと、助成者は動物モデルと細胞モデルを用いて、HER2阻害薬による心毒性の病態解明を目的とし、研究を進めてきた。

野生型マウスへのHER2阻害薬の投与により、HER2阻害薬による心毒性の機序および心機能の変化を解析した。生後10週の野生型マウスを用意し、HER2阻害薬投与およびDOX投与下での心機能を検証した。小動物用高精細心エコーでは、DOX投与群では心機能の低下は認められなかった一方、DOXとHER2阻害薬を併用した群では有意な心機能の低下を認めた。心毒性を呈したマウスの心臓をサンプリングし、RNA-seqを用いて、心機能の低下を惹起した分子の同定を行ったところ、ミトコンドリアの機能を制御する分子の遺伝子発現が有意に変

化していることが判明した。現在、この分子に具体的なフォーカスをあて、細胞モデルなどをいながら、日々検証を進めている段階である。多くの先人が挑んできた難解なテーマであるため、進捗も順風満帆とは行かないが、いずれこの機序を解明し、臨床現場で苦しむ患者を

救う一助になればと願っている。最後に、本基礎研究助成を行っていただきましたノバルティスファーマ株式会社、並びに日本心不全学会へ、この場を借りて謝意を表したい。

## 木谷 友哉

京都府立医科大学 医学部 循環器内科

ヒト心筋細胞の増殖能に関与する遺伝子を網羅的に同定するため、ヒト多能性幹細胞より誘導した早期の幼弱心筋細胞が増殖能を有することに着目し、CRISPR/Cas9システムによる全ゲノムスケールの遺伝子ノックアウトスクリーニングを実施した。スクリーニングの結果、既に報告されている遺伝子に加え、心筋細胞の増殖能に関

与している可能性が示唆されるものの、これまでに検討が進んでいない遺伝子を網羅的に同定することに成功した。引き続きこれらの候補遺伝子が心筋細胞増殖能に及ぼす影響を評価し、関連する分子経路につき評価を実施することで、新規心筋再生治療開発の基盤となる成果を目指し研究を継続する予定である。

## 楠本 大

慶應義塾大学 医学部 循環器内科

本研究では心不全進行に伴う血管内皮細胞を中心とした細胞間相互作用に着目した研究開発を行うため、横行大動脈結紮(TAC)による心不全モデルマウスを用いて、非心筋細胞を抽出してシングルセルRNA解析を実行した。心不全進行に伴い活発となる相互作用の抽出を行ったところ、特に心臓毛細血管内皮細胞と線維芽細胞におけ

る相互作用が心不全進行とともに活発化することが判明した。中でも脂質関連受容体が上位の相互作用に頻出していることから、着目し詳細な解析を行った。特異的阻害剤投与による心不全進行抑制の可能性が示され、今後の新規治療法開発につなげていきたいと考えている。

## 杉田 純一

東京大学 医学部 循環器内科

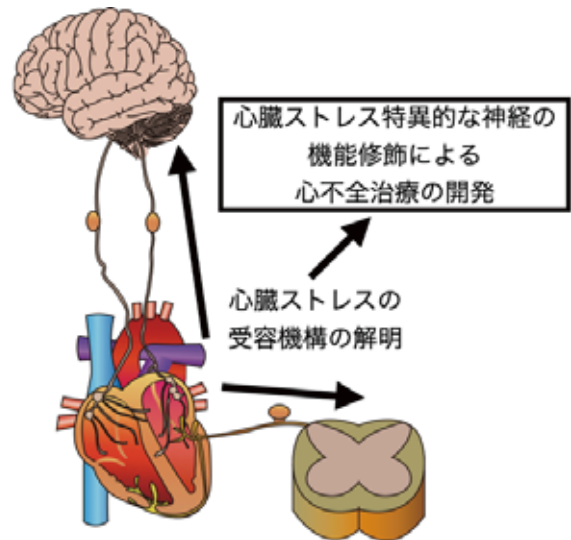
心不全の病態では過剰な交感神経の活性化及び副交感神経の抑制といった自律神経の調節異常が起こるが、どのような機序で神経機能の障害が引き起こされているかは明らかでない。本研究助成において、心臓への負荷が

どのような形で脳へ伝えられ、脳がどのように対処しているのかを明らかにすることを目標とした。

マウスの心不全モデルにおいて、c-Fosを指標として脳の活性化部位を網羅的に検討し、脳を構成する神経細

胞、神経膠細胞における遺伝子発現変化を解析した。また、脳へストレスを伝える経路である迷走神経下神経節及び脊髄後根神経節に着目し、遺伝子発現変化の解析を行った。

今後は光遺伝学的手法により循環動態に影響する神経機能を明らかにすることを検討している。



## 遠山 周吾

慶應義塾大学 循環器内科

## 代謝制御によるヒト多能性幹細胞由来心室筋細胞の高機能化と心不全治療への応用

ヒトiPS細胞を用いた心臓再生医療が標準的治療法として発展していくためには、“安全かつ高機能な分化細胞を簡便に作製する”という課題を克服する必要がある。

細胞外代謝環境は、細胞の成熟化および幼若化において重要な役割を担っていることが知られているが、これまでの報告では、幼若な分化細胞はさまざまな培養環境により成熟度が変化することが示されているものの、グルコースやアミノ酸、脂肪酸等における至適な組み合わせ

を詳細に検討した研究はこれまでに存在しなかった。

そこで申請者らは、グルコース、アミノ酸、脂肪酸濃度を調整した約250種類の培養液を用いた独自のスクリーニングシステムを開発した。現在、ヒトiPS細胞由来の心筋細胞の成熟度および機能を高める培養条件を探索しており、今後はヒトiPS細胞から高機能心筋細胞を作製し、細胞移植治療への応用を行っていく予定である。

## 中村 吉秀

山口大学医学部附属病院 第2内科 診療助教

## カルモジュリン制御による新しい肺高血圧治療法の開発

右心不全が進行した肺動脈性肺高血圧症（PAH）患者の予後は不良である。私たちは、心筋筋小胞体Ca<sup>2+</sup>放出チャネルであるリアノジン受容体の修飾蛋白カル

モジュリンのRyR2への結合を薬理的に強固にすることにより、RyR2の4量体構造を安定化させてCa<sup>2+</sup>漏出を阻止すれば、圧負荷がかかる状況下でも右心不全へ

の進展を抑制し、また致命的な不整脈をも抑制しうると考え、モノクロタリン誘発PAHモデルを作成し、ダントロレン慢性投与の効果を検証した。MCT群におい

て42日間で8割近くが死亡した。一方、DAN投与群では右室の肥大・拡大は抑制され、死亡率も著明に低下した。この成果はHeart Rhythm誌に発表した。

## 山本 正啓

熊本大学病院 地域医療ネットワーク実践学寄附講座 兼 循環器内科



### 新規線維化関連因子に着目したHFpEFの新規治療法開

#### — 研究内容および成果 —

この度は、2020年度 ノバルティスファーマ基礎研究助成を賜り、誠にありがとうございました。以下に、私の研究内容および現状の成果を提示させていただきます。今回の選出を励みとし、一層研究に邁進して参る所存です。今後とも御指導を何卒宜しくお願い申し上げます。

#### 【研究の背景・目的】

Human epididymis protein 4 (HE4)は活性化された線維芽細胞に特異的に発現する新規線維化関連タンパクである。本研究では、HFpEFにおける進行性の線維化の機序の一端を明らかにし、確立した治療法がないHFpEFの新規治療標的としてHE4の臨床応用の可能性を検討することを目的としている。

#### 【研究の方法・結果】

HFpEFモデルマウスを作製し、心臓組織におけるmRNAレベルでのHE4の発現量が増加することが確認された(第86回日本循環器学会で報告)。今後はHE4ノックアウトマウスでの解析を行い、HFpEF病態におけるHE4の有無による心臓や血行動態の表現型の違いを明らかにしていく。また、新生児ラットの線維芽細胞(NRCF)にsiHE4を用いたノックダウンを行うと、mRNAや蛋白レベルでの線維芽細胞の分化や細胞外基質の増生が確認された(未発表データ)。本結果は、HE4が一方向でなく、他の因子と複雑に関係し、進行性の線維化に寄与している可能性を示唆している。今後はさらに研究を進め、心臓組織でのHE4の詳細な役割を明らかにしていく。