

臨床検体を用いたバイオマーカー創出とその分子標的機構に基づく創薬シーズ同定

佐藤公雄

東北大学病院 循環器内科 臨床医学開発室

【研究の背景】

心血管病発症には、低酸素ストレスや酸化ストレスが強力な促進因子として働いている。これまで、ストレス刺激で血管平滑筋細胞より分泌される新規蛋白サイクロフィリン A (CyPA) を同定した。また、分泌された細胞外 CyPA が酸化ストレスを誘導することから、酸化ストレス増幅作用を有することを発見した。さらに、酸化ストレスによる CyPA の分泌は Rho キナーゼ依存性であり、両者が密接に絡み合って相加・相乗効果を形成することを発見した。我々は、この細胞外 CyPA が動脈硬化・大動脈瘤・心肥大・肺高血圧症発症の重要蛋白であることを報告した。さらに、これまで不明であった血管平滑筋細胞の細胞外 CyPA 受容体として Basigin を同定し、肺高血圧症発症における重要性を証明した。細胞外 CyPA は Basigin に作用して、多くのサイトカインや増殖因子の分泌および血管平滑筋細胞の増殖・遊走を促進することが判明した。

【目 的】

本研究の目的は、心血管病発症における酸化ストレス分泌蛋白サイクロフィリン A (CyPA) およびその受容体 Basigin の基礎研究成果を基盤とし、臨床応用研究を加速させ、迅速診断薬開発や治療薬スクリーニング(創薬)を行うことにある。

【方 法】

東北大学創薬ライブラリー5562 種および東京大学創薬ライブラリー4452 種からのハイスループット・スクリーニング (HTS) により患者由来血管平滑筋細胞 (PAH 細胞) の増殖を抑制し、肺高血圧モデル動物で有効性のある低分子化合物を同定する。

【結 果】

東北大学オリジナルライブラリーおよび東京大学既存薬ライブラリーからの細胞レベルでのスクリーニングを完了した。東北大学創薬ライブラリー5562 種からのハイスループット・スクリーニング (HTS) により PAH 細胞の増殖を抑制し、肺高血圧モデル動物で有効性の確認された薬剤 2 種類を同定し、国内特許申請を行った。並行し、東京大学創薬ライブラリー4452 種からの HTS を進め、肺高血圧モデル動物で有効性の確認された薬剤 3 種類を同定し、国内特許申請を行った。

【考 察】

東北大学ライブラリー:5562 種から絞り込んだ低分子化合物 2 種類のうち、東北大学ライブラリーオリジナルな、生薬ライブラリーから 1 種類が著しい患者肺動脈血管平滑筋特異的な増殖抑制効果を示しており、既に上市済みの生薬であることから、早期の臨床応用が期待される。

東京大学既存薬ライブラリー:4452 種類からの一次スクリーニングを開始し、再現性や二次スクリーニング、カウンターアッセイ等

を追加して、最終的に肺高血圧モデルマウスで有効な 3 種類の化合物を同定した。今後、肺高血圧モデルラット二種類(モノクロタリン肺高血圧モデルと Sugen/低酸素モデル)を用いた in vivo での再現性確認を進めていく。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

以上のように、CyPA /Basigin 系抑制を指標とすることで、PAH 発症機構に基づく薬剤選択を進めている。創薬機構と東北大学薬学系研究科の技術的支援を受け、PAH 患者由来細胞を利用した全く新しい治療薬開発が進んでいる。ベッドサイドに近い我々の立ち位置を生かし、臨床・基礎・薬学研究者の横断的研究ネットワーク構築による創薬が成功しつつあり、HTS による PAH 治療薬の臨床応用を実現する。

【参考・引用文献】(助成期間中の発表論文)

1. Satoh K. AMPK α 2 regulates hypoxia-inducible factor-1 α stability and neutrophil survival to promote vascular repair after ischemia. *Circ Res.* 120:A-B, 2017 (in press).
2. Omura J, Satoh K., Kikuchi N, Satoh T, Kurosawa R, Nogi M, Otsuki T, Kozu K, Numano K, Suzuki K, Sunamura S, Tatebe S, Aoki T, Sugimura K, Miyata S, Hoshikawa Y, Okada Y, Shimokawa H. Protective roles of endothelial AMP-activated protein kinase against hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Circ Res.* 119:197-209, 2016. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.308178
3. Suzuki K, Satoh K., Ikeda S, Sunamura S, Otsuki T, Satoh T, Kikuchi N, Omura J, Kurosawa R, Nogi M, Numano K, Sugimura K, Aoki T, Tatebe S, Miyata S, Mukherjee R, Spinale FG, Kadomatsu K, Shimokawa H. Basigin promotes cardiac fibrosis and failure in response to chronic pressure-overload in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 36:636-646, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306686
4. Kudo S, Satoh K., Nogi M, Suzuki K, Sunamura S, Omura J, Kikuchi N, Kurosawa R, Satoh T, Minami T, Ikeda S, Miyata S, Shimokawa H. SmgGDS as a crucial mediator of the inhibitory effects of statins on cardiac hypertrophy and fibrosis -Novel mechanism of the pleiotropic effects of statins- *Hypertension* 67:878-889, 2016. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.07089
5. Yaoita N, Satoh K., Satoh T, Sugimura K, Tatebe S, Yamamoto S, Aoki T, Miura M, Miyata S, Kawamura T, Horiuchi H, Fukumoto Y, Shimokawa H. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 36: 1293-1301, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306845
6. Yaoita N, Satoh K., Shimokawa H. Novel therapeutic targets of pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 36: e97-e102, 2016.
7. Minami T, Satoh K., Nogi M, Kudo S, Miyata S, Tanaka S, Shimokawa H. Statins up-regulate SmgGDS through β 1-integrin/Akt1 pathway in endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 109:151-161, 2016. doi: 10.1093/cvr/cvv253
8. Shimokawa H, Sunamura S, Satoh K. RhoA/Rho-kinase in the cardiovascular system. *Circ Res.* 118:352-366, 2016. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306532
9. Jiang L, Konishi H, Nurwidya F, Satoh K., Takahashi F, Ebinuma H, Fujimura K, Takasu K, Jiang M, Shimokawa H, Bujo H, Daida H. Deletion of LR11 attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation with medial thickening in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 36:1972-1979, 2016.

10. Satake Y, **Satoh K**, Nogi M, Omura J, Godo S, Miyata S, Saito H, Tanaka S, Ikumi Y, Yamashita S, Kaiho Y, Tsutsui M, Arai Y, Shimokawa H. Crucial Roles of Nitric Oxide Synthases in β -Adrenoceptor mediated Bladder Relaxation in Mice. *Am J Physiol*. 2017 (in press)
doi: 10.1152/ajprenal.00137.2016
11. Tatebe S, Sugimura K, Aoki T, Miura M, Nochioka K, Miyamichi-Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, **Satoh K**, Fukumoto Y, Shimokawa H. Multiple beneficial effects of balloon pulmonary angioplasty in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circ J*. 80:980-988, 2016.
doi: 10.1253/circj.CJ-15-1212
12. Sato H, Ota H, Sugimura K, Aoki T, Tatebe S, Miura M, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, **Satoh K**, Takase K, Shimokawa H. Balloon pulmonary angioplasty improves biventricular functions and pulmonary flow in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circ J*. 80:1470-1477, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1187
13. Aoki T, Sugimura K, Nochioka K, Miura M, Tatebe S, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, Koza K, Miyata S, **Satoh K**, Shimokawa H. Effects of Balloon Pulmonary Angioplasty on Oxygenation in Patients With Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension - Importance of Intrapulmonary Shunt. *Circ J*. 80: 2227-2234, 2016.
14. Sato H, Miura M, Yaoita N, Yamamoto S, Tatebe S, Aoki T, **Satoh K**, Ota H, Takase K, Sugimura K, Shimokawa H. Pulmonary Arterial Hypertension Associated with Congenital Portosystemic Shunts Treated with Transcatheter Embolization and Pulmonary Vasodilators. *Intern Med*. 55:2429-2432, 2016.
doi: 10.2169/internalmedicine.55.6557
15. Takahashi J, **Satoh K**, Fukuda K, Sugimura K, Matsumoto Y, Nakano M, Tsuburaya R, Aoki T, Hao K, Nishimiya K, Ito K, Sakata Y, Shimokawa H. Overview of the 80th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society - The Past, Present and Future of Cardiovascular Medicine in Japan - *Circ J*. 80:1689-1694, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-16-0644
16. **Satoh K**, Kikuchi N, Kurosawa R, Shimokawa H. PDE1C negatively regulates growth factor receptor degradation and promotes vascular smooth muscle cell proliferation. *Circ Res*. 116:1098-1100, 2015.
doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306139
17. **Satoh K**. Cyclophilin A in cardiovascular homeostasis and diseases. *Tohoku J Exp Med*. 235:1-15, 2015. (Review) doi: 10.1620/tjem.235.1
18. Ellawindy A, **Satoh K**, Sunamura S, Kikuchi N, Suzuki K, Minami T, Ikeda S, Tanaka S, Shimizu T, Enkhjargal B, Miyata S, Taguchi Y, Handoh T, Kobayashi K, Kobayashi K, Nakayama K, Miura M, Shimokawa H. Rho-kinase inhibition during early cardiac development causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 35:2172-2184, 2015.
doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305872
19. Shimokawa H, **Satoh K**. 2015 ATVB plenary lecture: translational research on Rho-kinase in cardiovascular medicine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 35:1756-1769, 2015.
doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305353
20. Shimokawa H, **Satoh K**. Light and dark of reactive oxygen species for vascular function. *J Cardiovasc Pharmacol*. 65:412-418, 2015. (Review) doi: 10.1097/FJC.000000000000159