

慢性心不全の新規診断薬・治療薬の開発

竹藤幹人

名古屋大学 医学部 循環器内科

【研究の背景】

Gタンパク質はGタンパク質共役受容体(G protein coupled receptor: GPCR)と共役し、生理機能を制御している。心不全治療と関連のあるGPCRは、アドレナリン受容体やアンジオテンシン受容体が知られているが、機能が不明なGPCRも多い。

申請者は、心不全発症に関与する GPCR を同定するために、マウス心不全モデルから心筋細胞を単離し、600 種の GPCR の発現を網羅的に解析した。解析の結果、心筋細胞に高発現し、心不全により発現量が増加する Corticotropin releasing hormone receptor 2 (CRHR2)を心不全発症に関与する GPCR として同定した¹⁾。CRHR2 は、Corticotropin releasing hormone 受容体のサブタイプであり、CRHR1 は視床下部・下垂体にて ACTH の分泌を制御しているが、CRHR2 は、ACTH 分泌能を有していなく、その生理機能は不明であった²⁾。CRHR2 アゴニストを4週間持続投与すると、心肥大が生じ、心筋特異的 CRHR2 マウスでは圧負荷による心不全モデル(TAC 術)による左室肥大が抑制されることを見出している。

【目 的】

心不全は、全身に十分な血液を送ることが出来ない重篤な病態である。慢性心不全の既存薬剤による治療を行うも、心不全患者数・死亡者数が増え続けているのが現状であり、慢性心不全の新規治療法の開発が期待されている。申請者は、心筋特異的に発現する G タンパク共役受容体である CRHR2 が新たな心不全発症因子であることを報告した。この研究を基に「血中 CRHR2 アゴニストの測定法」と「CRHR2 阻害薬」の開発を本研究の目的とし、臨床応用に向けた橋渡し研究を目指している。また、CRHR2 アゴニストの分泌臓器は不明なため、マウス心不全モデルを用いて、CRHR2 アゴニストの分泌臓器を探索し、心不全における CRHR2 の役割のさらなる解明を目指す。

【方 法・結 果】

妥当性かつ精度の高い臨床診断用の CRHR2 アゴニスト測定法を開発を進めるため、CRHR2 アゴニストを特異的に認識する抗体を複数精製した。精製した抗体は、アミノ酸配列、立体構造解析から抗原に適した部分配列を選択、合成ペプチドを作製し、免疫原としてウサギに免疫し、作成したポリクローナル抗体を用いた。これらの抗体を用いて、サンドイッチ ELISA 系測定キットを作成した。ポリクローナル抗体に加え、モノクローナル抗体を作成し、血中の CRHR2 アゴニストを検出するために最適な抗体の組み合わせを検討した。複数の抗体の組み合わせにより最適化を図り、精製済み CRHR2 アゴニスト濃度の測定を行った。測定の結果、精製済み CRHR2 アゴニストの測定は可能であることを確認したため、今後はヒト血液サンプルを用いた測定を行う準備を進めている。

CRHR2アゴニストの分泌臓器探索のため、in situ ハイブリダイゼーションを用いて、CRHR2の分泌臓器を同定した。In situ ハイブリダイゼーションの解析の結果、CRHR2 アゴニストの分泌臓器として心臓などの臓器が候補臓器となった。現在、免疫染色法など複数の方法で分泌臓器の絞り込みを行っている。

【今後の課題】

検査キットは lot 間の検査値のバラつきが大きく、同キットを臨床に用いることは難しく、妥当性かつ精度の高い臨床診断用の CRHR2 アゴニスト測定法の開発を進める必要がある。健常者・心不全患者などの臨床検体を用いて、これらの測定系を評価し、検査薬として最適な測定系を構築する。分泌臓器に関しては、マウス心不全モデルを用いて、心不全状態で、いずれの臓器が CRHR2 アゴニスト分泌を担っているかを検討する必要がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

救命センターなどの施設が充実し、心不全の急性期の救命率が改善している一方、これまで救命し得なかった重症心不全の慢性期治療の必要性が高まっている。慢性心不全の内服治療として β 遮断薬・アンギオテンシン受容体阻害薬の有効性が報告された 1980 年代以降、慢性心不全治療には目立った進歩がなく、既存薬剤による治療を行うも、心不全患者数・死亡者数が増え続けているのが現状であり、慢性心不全の新規治療法の開発が期待されており、本研究の「CRHR2 を用いた慢性心不全治療」が新たな心不全治療法開発に発展することが期待される。

【参考・引用文献】

1. Corticotropin releasing hormone receptor 2 exacerbates chronic cardiac dysfunction. Tsuda T, Takefuji M, Wettschureck N, Kotani K, Morimoto R, Okumura T, Kaur H, Eguchi S, Sakaguchi T, Ishihama S, Kikuchi R, Unno K, Matsushita K, Ishikawa S, Offermanns S, Murohara T. J Exp Med. 2017; 214(7): 1877-1888
2. Corticotropin-releasing hormone family and their receptors in cardiovascular system Takefuji M, Murohara T. Circulation Journal 2019 in press.