

## 心筋細胞内の炎症発生源カルモジュリンキナーゼを標的とした新規心不全治療薬の開発

末富 建

山口大学 器官病態内科学

### 【研究の背景】

近年心血管イベントや心不全に対し IL-1 $\beta$  等をターゲットとした臨床試験が行われ、良好な治療成績が得られていることから、心不全の新しい治療アプローチとして慢性炎症の制御が再び注目されている<sup>1,2)</sup>。NLRP3 インフラマソームは自然免疫のシグナル伝達経路の一つであり、活性化によって IL-1 $\beta$  や IL-18 が産生される。筆者らの近年の研究により、細胞内カルシウム・カルモジュリンキナーゼ II (CaMKII) を介して NLRP3 インフラマソームが活性化され自然炎症の起源となることが明らかになった<sup>3)</sup>。この知見をさらに発展させ、慢性炎症制御による新しい心不全治療の可能性を検討する。

### 【目 的】

CaMKII 由来の NLRP3 インフラマソーム活性化が心不全をもたらす機序を解明する。

### 【方 法】

Cre-AAV9 ウイルスを用いた時間特異的心筋細胞 CaMKII  $\delta$  knockdown を行い、心筋細胞選択的 CaMKII  $\delta$  抑制が炎症発生後も有効か否かを検討した。心筋細胞とマクロファージの相互作用について検討するため、浸透圧負荷心筋細胞と単離マクロファージとの非接触型共培養を行い各種遺伝子発現およびインフラマソーム活性の測定を行った。同様の検討を KN-93 による薬理的 CaMKII 阻害下や、CaMKII  $\delta$  KO マウスから単離したマクロファージについても行った。

### 【結 果】

圧負荷開始前の CaMKII  $\delta$  knockdown では心筋組織線維化、左室拡大、左室収縮能低下の軽減効果が得られたが、圧負荷開始後の knockdown ではいずれも軽減効果が得られなかった。培養心筋細胞に対して浸透圧負荷を行うと CaMKII  $\delta$  の活性化、NLRP3 の発現増加、Caspase-1 の活性化が起こることが確認された。浸透圧負荷心筋細胞とマクロファージと非接触型共培養を行うと、マクロファージの NLRP3 遺伝子発現および Caspase-1 活性が増加し、GW4869 の培地添加もしくは CaMKII  $\delta$  knockdown で有意な抑制を示した。ケモカイン MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein 1) 阻害薬 (RS102895) や IL-18 中和抗体の添加では明らかな抑制効果は認めなかった。浸透圧負荷した心筋細胞と CaMKII  $\delta$  KO マウスから単離したマクロファージとの非接触型共培養では Caspase-1 の値に有意な変化が見られず、インフラマソーム活性指標 ASC speck formation も有意な増加が見られなかった。

### 【考 察】

上記結果から、炎症反応が拡散した後では心筋細胞内 CaMKII  $\delta$  のみの抑制では心筋リモデリングの軽減に十分でないことが示唆された。また、その心筋リモデリング軽減不能となる時期は圧負荷後にマクロファージが心筋組織内に集積している時期に一致していることから、この時期以降の心筋リモデリング抑制にはマクロファージの活性制御が重要と考え、心筋細

胞とマクロファージの相互作用について検討した。非接触型共培養によって負荷心筋が何らかの機序でマクロファージの活性化をもたらしていることが示唆された。遺伝的および薬理的 CaMKII  $\delta$  抑制マクロファージにおいては共培養後に各インフラソーム活性指標に変化が見られなかったことから、マクロファージ内 CaMKII  $\delta$  の抑制により、その下流の炎症シグナルおよび線維化の抑制が予想され、慢性期のリモデリング軽減が期待される。これらを *in vivo* で立証すべく現在 Macrophage-specific CaMKII  $\delta$  KO mouse を作製中である。

#### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

炎症の広がり制御する因子として細胞内カルシウムイオン調節分子に着目し、同部位を標的とすることで、従来の免疫抑制薬と異なる選択的な炎症抑制治療として心不全治療への臨床応用が期待される。

#### 【参考・引用文献】

- 1) Ridker et al. N Engl J Med 2017; 377: 1119-31.
- 2) Van Tassell et al. Circ Heart Fail. 2017
- 3) Suetomi et al. Circulation. 2018; 138(22):2530-2544.