

心筋サルコメアの機能と構造を改善する新規心不全治療薬の開発

塚本 蔵

兵庫医科大学医学部 生化学

【研究の背景】

心不全は依然として予後不良の重大な循環器疾患であり、高齢化の進行に伴って患者数の急増が予想される。特に心筋収縮性が低下する HFrEF では在宅治療の需要が高まる一方、現在使用される強心薬は Ca^{2+} 動態を増強するため不整脈や心筋酸素消費の増大を招き、予後悪化という根本的問題を抱えている。この課題を克服するため、サルコメアを直接活性化して収縮性を改善する「myotrope」が注目されているが、既存薬 omecamtiv mecarbil (OM) には拡張期短縮を介した虚血リスクが指摘され、安全性の面で限界がある。

我々は心筋特異的ミオシン調節軽鎖キナーゼ (cMLCK) が収縮性とサルコメア構造の両面を制御する重要分子であることを先駆的に示し、cMLCK 活性低下が重症心不全の原因となることを明らかにしてきた。さらに大規模スクリーニングと構造展開により cMLCK 活性化薬を創製し、iPS 心筋細胞での有効性と国際特許取得につなげており、新規心不全治療薬開発に向けた translational research を進めている。

【目 的】

本研究の目的は、独自に開発した cMLCK 活性化薬を、安全性と有効性を兼ね備えた新規心不全治療薬として完成させることである。まず構造最適化により活性と薬物特性を高めたリード化合物を選抜し、iPS 心筋細胞およびオルガノイドで作用 (myotrope 作用) を詳細に評価する。さらに、圧負荷モデルや心筋梗塞後モデルなどの HFrEF 動物モデルを用いて急性・慢性の治療効果を検証する。最終的には、構造と機能の両面を改善し得る次世代型心不全治療薬として臨床応用へつなげることを目指す。

【方 法】

本研究では、まず cMLCK と化合物の共結晶構造解析に基づき、活性向上を目的とした構造最適化を進め、既存化合物と新規化合物を *in vitro* kinase assay により評価してリード化合物を選抜する。その際、ヒトおよびラット cMLCK に対する活性を比較し、クロススペシフィシティも検討する。選抜した化合物については、iPS 心筋細胞およびオルガノイドを用いて薬効を詳細に評価し、発生張力、収縮・弛緩速度、 Ca^{2+} 動態などの指標を多遺伝背景で検証することで、汎用性と再現性を担保する。続いて、圧負荷モデルから成る動物 HFrEF モデルを用い、急性期には収縮性・弛緩性・駆出時間・拡張時間を、慢性期には左室リモデリング、サルコメア構造改善効果、線維化抑制効果などを評価し、治療有効性を検証する。さらに、RNA-seq による遺伝子発現解析と、プロテオーム・メタボローム解析による代謝・構造レベルの変化を統合的に捉え、ネットワーク解析を通じて作用経路を多層的に解明することで、cMLCK 活性化薬の分子機序を包括的に明らかにする。

【結 果】

研究開発における律速段階は、開発化合物の構造最適化とリード化合物の選択であった。構造展開による最適化につい

では、2024～2025 年度に合計 60 化合物を合成した。リード化合物選択のプロセスとして、合成した 60 化合物について、ヒト cMLCK およびラット cMLCK に対する効果を in vitro kinase assay で評価した。その結果、ヒトとラットの両方の cMLCK に対して強い活性化作用を示した 7 化合物をリード候補として抽出し、ラット培養心筋細胞とヒト iPS 細胞由来心筋細胞における作用評価を進めることとした。選択した 7 化合物のうち 2 化合物については、iPS 細胞由来心筋細胞オルガノイド(ex vivo)を用いた張力増強作用の検討を実施したが、今回の評価では有意な増強効果は認められなかった。今後は、残り 5 化合物について同様の評価を行っていく予定である。

なお、リード化合物の効果判定に使用する iPS 細胞由来心筋細胞オルガノイド系については、独自の成熟化法を適用することで心筋細胞の成熟度を改善し、より生体心筋に近い条件下で薬剤評価が可能なシステムへと改良した。

【考 察】

本研究では、cMLCK 活性化薬の創薬初期段階における主要工程である構造最適化とリード化合物選択を進め、60 化合物の合成と活性評価により、有望な 7 化合物を選抜することができた。ヒトおよびラット cMLCK の双方に対して強い活性を示す化合物が得られたことは、構造設計戦略が妥当であり、前臨床モデルへの展開に向けた基盤が整いつつあることを示している。一方で、7 化合物のうち 2 化合物について実施した iPS 心筋細胞オルガノイドでの張力評価では、有意な増強効果は確認されなかった。この結果は、in vitro kinase assay と細胞系薬効の間には乖離がありうること、また薬剤曝露性や細胞成熟度などの複合要因が薬効発現に影響することを示唆している。ただし、本研究で独自の成熟化法を導入し、より生体心筋に近い条件下で薬効評価可能なオルガノイド系を構築できたことは、今後のリード化合物選抜の精度向上に大きく貢献する重要な成果である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究は cMLCK 活性化薬の有望候補を得るとともに、評価系の質を向上させる技術基盤を確立した段階であり、残る 5 化合物の検証と動物モデルでの評価を進めることで、臨床応用へ向けた道筋がさらに明確になると考えられる。

【参考・引用文献】

Hitsumoto T, **Tsukamoto O**, Matsuoka K, Li J, Liu L, Kuramoto Y, Higo S, Ogawa S, Fujino N, Yoshida S, Kioka H, Kato H, Hakui H, Saito Y, Okamoto C, Inoue H, Hyejin J, Ueda K, Segawa T, Nishimura S, Asano Y, Asanuma H, Tani A, Imamura R, Komagawa S, Kanai T, Takamura M, Sakata Y, Kitakaze M, Haruta JI, Takashima S. Restoration of cardiac myosin light chain kinase ameliorates systolic dysfunction by reducing super-relaxed myosin. *Circulation*. 147, 1902-1918, 2023.