

非コード RNA 制御による新規 HFpEF 治療薬の開発

堀江貴裕, 尾野 亘

京都大学大学院医学研究科 循環器内科学

【研究の背景】

高齢化とともに心不全患者数は増大し、近い将来心不全パンデミックが起こると予想されている。心不全患者の約半数は収縮能が保たれた心不全 (HFpEF) とされるが、その機序は明らかでなく、治療法も十分でない。ヒトゲノムの蛋白をコードする遺伝子領域はわずか 2% 程度であり、残りの領域からタンパク質をコードしない非コード RNA が非常に多く転写されている。特に 20 塩基程度の短鎖非コード RNA の一つであるマイクロ RNA (miRNA) が様々な生命現象や病態形成に関与していることが示され^{1,2)}、疾患治療への応用が検討されつつある³⁾。申請者らは一貫して心血管代謝性疾患における miRNA の機能解析を行ってきた^{4,5)}。本研究課題では、心不全、とくに HFpEF の形成に寄与する非コード RNA 及びその作用機序を明らかとし、その制御による新たな治療法開発への橋渡しを行うために計画した。

【目 的】

HFpEF 形成に寄与する非コード RNA を明らかとする。また、その作用機序の詳細を明らかとし、新たな治療法の開発へと橋渡しをする。

【方 法】

マウスにおいて HFpEF を誘導し、変動を認める miRNA を検出する。HFpEF の誘導には、既報に則り、肥満・メタボリック シンドロームおよび高血圧の病態を複合的に再現するため、60% 高脂肪食 (HFD) 負荷と、飲水への一酸化窒素合成酵素阻害薬 L-NAME の同時投与による HFpEF モデルを採用した⁶⁾。このモデルは、心肥大、左室拡張機能の障害、心筋線維化を伴う、臨床における HFpEF の病態を再現する。

実験群は、対照群 (通常食)、HFD/L-NAME 負荷 HFpEF 群の 2 群とし、12 週間飼育後に心エコー検査を行う。併せて、トレッドミルによる運動耐容能評価も行う。心臓組織より RNA を抽出し、miRNA および mRNA の網羅的な発現解析を実施する。これにより、HFpEF 病態で有意に発現変動する miRNA 群を同定する。特に発現変動が大きい miRNA に焦点を当て、その機能解析を行う。この miRNA-X は心筋細胞よりも心臓線維芽細胞に発現が高かったため、in vitro 実験として、TGF- β 刺激により活性化した心臓線維芽細胞に miRNA-X を過剰発現または阻害剤を投与し、細胞増殖、コラーゲン産生能、および炎症性サイトカインの発現を評価した。さらに、miRNA-X の標的 mRNA をバイオインフォマティクス解析と RNA-seq の統合解析を行い、その評価を行う。生体の心臓における miRNA の阻害を目的として、人工核酸を開発し、最適化を行う。

【結 果】

HFD/L-NAME 負荷マウスは、血圧上昇に加え、LVEF の低下を伴わずに拡張機能の有意な悪化 (E/e' 比の増加) を認めた。トレッドミルを用いた運動耐容能評価においても低下を認めた。心臓組織の組織学的解析では、心筋細胞間のコラーゲン沈着が増加しており、心臓線維化も観察された。RNA-Seq 解析の結果、HFpEF 群において発現が有意に増大した miRNA が複数同定され、その中でも特に miRNA-X の発現量が対照群と比較して約 2 倍に亢進していることが判明した。

miRNA-X は既報において HFpEF との関連が報告されていない新規 miRNA である。miR-X は、心筋細胞より心臓線維芽細胞に発現が高く、in vitro の機能解析は心臓線維芽細胞を用いて行った。

miRNA-X を心臓線維芽細胞に導入すると、その細胞増殖が促進した。コラーゲンの発現が増強され、炎症性サイトカインである IL-6 の発現も有意に増加した。これは、miRNA-X が心臓線維化および炎症反応を促進する因子であることを示唆する。一方で、人工核酸を用いてその阻害を行ったところ、細胞増殖が抑制され、線維化および炎症性サイトカインの遺伝子発現が抑制された。その機序を明らかにするため、mRNA-seq の結果とバイオインフォマティクス解析の統合解析を行ったところ、細胞外マトリックスの形成に関わる候補遺伝子が数種類見つかри、検証を行っている。

【考 察】

現在、HFpEF に対して心血管イベントを抑制するエビデンスのある治療薬は限定されており、疾患特異的な標的治療薬の開発が強く求められている。HFpEF 病態において変動する miRNA を同定した。この miRNA は心臓線維芽細胞において機能しており、線維化と炎症を促進する鍵となる病態分子である可能性がある。また、HFpEF の原因病態である高血圧や肥満などで誘導されている可能性がある。従って、この miRNA を標的とすることは、HFpEF に対する新たな治療戦略となり得ると考えられる。今後、心機能にどのような影響を与えるか、生体での検討が必要と考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

HFpEF 患者は世界的にも、我が国においても高齢化に伴いその患者数は急増し、近い将来の心不全パンデミックに大きく寄与すると考えられている。しかしながら、HFpEF の機序は明らかでなく、有効な治療も少なく、創薬に繋がればそのインパクトは多大である。一方で、核酸医薬は COVID-19 ワクチンの開発成功もあり、そのニーズは高まっており、今後さらに注目される分野である。循環器分野で最近わが国でも承認された PCSK9 に対する siRNA 薬(インクリシラン)は 6 ヶ月に 1 回の投与で十分な LDL コレステロール低下作用を持ち、患者の負担軽減と共に安定した治療効果が可能となっている。これらの点からも本研究からの知見は、臨床的意義および貢献度も高いと考えており、引き続き検討を重ねていきたい。

最後に、今回、多大なご支援をいただきました公益財団法人先進医薬研究振興財団およびその関係者の方々に深く御礼を申し上げます。

【参考・引用文献】

1. Lee RC, Feinbaum RL, and Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75(5):843-54.
2. Wightman B, Ha I, and Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*. 1993;75(5):855-62.
3. Rupaimoole R, and Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(3):203-22.
4. Horie T, Baba O, Kuwabara Y, Yokode M, Kita T, Kimura T, et al. MicroRNAs and Lipoprotein Metabolism. *J Atheroscler Thromb*. 2014;21(1):17-22.
5. Horie T, Baba O, Nishino T, Yamashita Y, Tsujisaka Y, and Ono K. Critical Role of microRNA-33a/b in Cardiovascular and Metabolic Disease: Molecular Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *J Atheroscler Thromb*. 2025.
6. Schiattarella GG, Altamirano F, Tong D, French KM, Villalobos E, Kim SY, et al. Nitrosative stress drives heart failure with preserved ejection fraction. *Nature*. 2019;568(7752):351-6.