



九州大学大学院薬学  
研究院薬効安全性学  
分野・准教授  
博士（薬学）  
西田基宏

平成 8 年 東京大学薬学部卒業  
平成 13 年 東京大学大学院薬学系  
研究科博士課程修了  
平成 13 年 岡崎国立共同研究機構  
生理学研究所助手  
平成 15 年 九州大学大学院薬学研究院講師  
平成 18 年 九州大学大学院薬学研究院准教授

## 心不全治療に向けた新規治療薬スクリーニング法の構築

### はじめに

心不全はあらゆる心疾患の終末像であり、その生命予後は極めて悪い。食文化の欧米化や高齢化社会の到来に伴って、心不全患者は年々増加傾向にある。現在の治療薬では、ある程度の予後改善効果が認められつつあるものの、未だ十分な治療効果が得られているとはいえず、より画期的な心不全治療薬の開発が急務とされている。

我々は、心臓が機能不全に陥る過程で観察される形態的・構造的変化（リモデリング）の分子メカニズムを解析してきた。心臓リモデリングの大きな特徴として、心筋細胞の肥大（心肥大）と間質におけるコラーゲン線維の過剰蓄積（線維化）があげられる。特に最近、心肥大および線維化のトリガーとなりうるシグナル分子を明らかにした。具体的には、心肥大形成において受容体作動性  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル（Transient receptor potential: TRP）が重要な役割を果たすこと（EMBO J., 2006）、およびプリン作動性 P2Y 受容体が心臓の線維化のトリガーとなる可能性を見出した（EMBO J., 2008）。TRP チャンネルや P2Y 受容体は、心臓だけでなく様々な組織にも発現することから、薬の標的にするのは難しいと考えられてきた。しかし、心筋組織特異的に存在する TRP チャンネルサブタイプや P2Y 受容体サブタイプを標的にすることで、副作用の少ない薬を見つけることが十分可能になると期待される。そこで本研究では、TRP チャンネルおよび P2Y 受容体サブタイプを標的とした新たな心不全治療薬のシード探索を行うことにした。

### TRPC チャンネル阻害化合物による心肥大抑制作用とその機序の解析

ラット新生児の心臓から単離した心線維芽細胞に TRPC3 チャンネルまたは P2Y<sub>6</sub> 受容体を発現させ、当研究室にある既存の市販化合物および植物由来の天然化合物の中から

これらシグナル分子を抑制する化合物の探索を行った。約 300 種類の化合物のうち、TRPC3 チャンネル活性化による細胞内への  $\text{Ca}^{2+}$  流入を 50% 以上抑制する化合物が 12 種類見つかり、 $\text{P2Y}_6$  受容体刺激による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇を抑制する化合物は 6 種類見つかった。このうち、免疫抑制効果を有するピラゾール骨格を基本とする化合物 3 種とプロテインキナーゼ A (PKA) およびプロテインキナーゼ G (PKG) を活性化する化合物 5 種について詳細な解析を行った。その結果、ピラゾール骨格を有する化合物の 1 つ (pyrazole-3) が細胞の外側から濃度依存的に TRPC3 チャンネルを抑制することが明らかとなった。この抑制効果は可逆的であり、細胞外の pyrazole-3 を除去することで TRPC3 チャンネル活性の回復が観察された (PNAS, 106, 5400-5405, 2009)。さらに、マウスの大動脈を狭窄し、圧負荷による心肥大に対する pyrazole-3 の効果を調べた結果、pyrazole-3 は圧負荷 6 週間後における心肥大および心機能不全を有意に改善させた。以上の結果より、pyrazole-3 は TRPC3 チャンネルを抑制することで心不全を改善させる可能性が示された。次に、PKA や PKG を活性化させるホスホジエステラーゼ (PDE) 阻害剤による TRPC3/6 チャンネルの抑制効果の機序を調べたところ、PDE 阻害剤は PKA/PKG 依存的に TRPC3/6 タンパクをリン酸化し、チャンネル活性を低下させていることが明らかとなった。さらに、PDE 阻害剤は TRPC6 の Thr<sup>69</sup> 残基をリン酸化していることがわかり、Thr<sup>69</sup> をアラニンに置換した変異体では PDE 阻害による TRPC6 チャンネル抑制が完全に消失した。PDE5 阻害剤であり性機能改善薬として臨床使用されているバイアグラをマウスに 1 週間投与したところ、TRPC6 チャンネルの有意なリン酸化が認められた。このマウスに圧負荷を施したところ、圧負荷により生じる心肥大および心機能障害が完全に抑制された。以上の結果から、TRPC3/6 タンパクは心臓においてヘテロ 4 量体チャンネルを形成しており、pyrazole-3 による TRPC3 の直接抑制あるいはバイアグラによるリン酸化を介した TRPC3/6 チャンネルの間接的抑制が圧負荷によって生じる心肥大や心機能障害を改善させることが初めて明らかとなった (J. Biol. Chem., in press)。

終わりに

TRPC3/6 チャンネルを発現させた心線維芽細胞を用いて細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度測定および転写因子 nuclear factor of activated T cells (NFAT) の活性測定を行い、TRPC3/6 チャンネルを抑制する化合物のスクリーニングを行った結果、12 種類の化合物が同定された。これらの薬理作用は大きく 2 つに分類され、1 つは TRPC3/6 チャンネルを直接的に抑制するもの、もう一つはリン酸化を介して間接的に抑制するものであった。両方の化合物はマウスの圧負荷によって誘発される心肥大および心機能障害を有意に改善させることが明らかとなった。本成果は、TRPC3/6 チャンネルが心不全治療薬の新たな標的分子となること、並びに pyrazole-3 が心不全治療薬のリードとなる可能性を示している。