

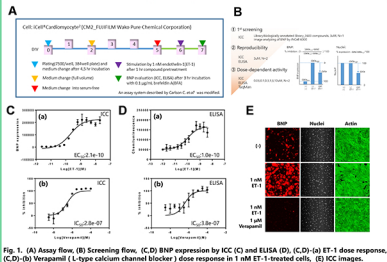
要約

背景
全身の血液循環を担うポンプとしての心臓は、高血圧等の負荷を受けるとその機能を維持するために代償的に肥大することが知られており、負荷が持続した場合は病的肥大を誘発し心機能低下による心不全を招くとされる。このメカニズムを解明することは心不全症状を回復するためにも重要である。Endothelin 1 (ET-1) 負荷したヒトPSC由来心筋細胞は、細胞肥大や心不全の生化学的マーカーであるB-type natriuretic peptide (BNP) 発現量の増大を惹起することが知られており、心肥大モデルとして有用と考えられている。

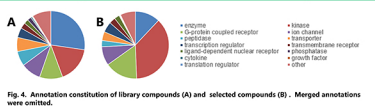
目的
ET-1負荷よりBNP発現量が異常に増大したヒトPSC由来心筋細胞に、標的タンパク質分子情報を有する低分子化合物(アノテーションライブラリー)を配置し、BNP発現量の変化を免疫蛍光細胞染色法 (ICC) で評価すると、既知シグナルのヒト心筋細胞における心肥大への関与を確認するとともに、新規作用機序の解明やドラッグリポジショニングに関する知見の獲得を試みた。また、本スクリーニングを通して、ヒト心臓を用いた表現型スクリーニングの基盤を整えることを目的とした。

結果
3683化合物の中からBNP発現を抑制し、低細胞傷害性を示す266化合物を見出した。心肥大への寄与が報告されている、MAP kinaseや、JAK-STAT系、PKCを標的とした化合物が得られたことから評価系の妥当性を確認した。また、多数の既存薬がBNP発現抑制を示した結果から、ドラッグリポジショニングの可能性を見出すことができた。さらに、パシェイ解析により複数のGPCRの心肥大への寄与が示されたが、詳細なメカニズムの解明は今後の検討課題となる。

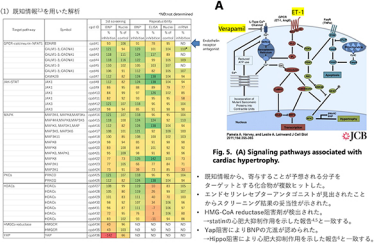
CM2 assay condition



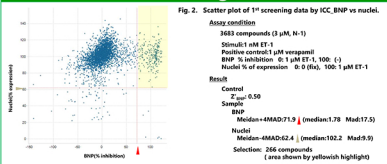
Target class of annotation library



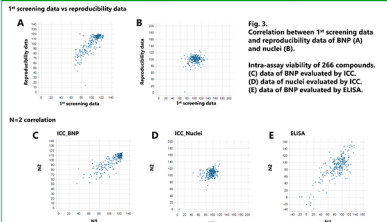
Pathway analysis



1st screening ICC



Reproducibility test of 266 compounds



References

1. Carlson C, et al. *Biomol. Screen.* 2013; 18(10):1203-11
 2. Kontaridis MI, et al. *Pathways to myocardial hypertrophy.* In: Colquhoun DV, editor. *Introduction to translational cardiovascular research.* London: Springer; 2015. p. 167-96.
 3. Pamela A, et al. *J Cell Biol.* 2011; 194(3):355-65.
 4. Kumada RMD et al. *JACC.* 2008; 51(4):415-26
 5. Chalarova S, et al. *J Pharm. Biotechnol. Soc.* 2015; 123: 233-8.
 6. Triastuti E, et al. *Br J Pharmacol.* 2019; 176:956-71
 7. Prafai A, et al. *PLOS ONE.* 2014; 9(9): e108051.

STRiNGによるパシェイ解析を実施した。その結果、複数のGPCRの心肥大への寄与を推定した。

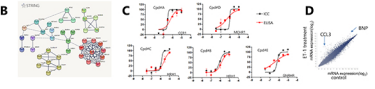


Fig. 6. (B) Signaling pathway analysis by STRiNG. (C) Dose response curve on BNP suppression. (D) mRNA expression correlation between control and ET-1-treated cells based on gene expression omnibus (GEO) data set *

● COR1について
 ・ ICC1 antagonistの心肥大抑制効果は示された。
 ・ 本薬はCCD3の発現が亢進している (Fig. 4, ref.7) ことからスクリーニング結果が得られる。
 ● GqR1 (G-protein releasing hormone receptor), MCHR1 (Melanin concentrating hormone receptor), MHR1 (Histamine receptor) に関して
 ・ これらのGPCR antagonistの心肥大抑制効果が期待される (本ターゲットに対し複数のケモキネジドが得られた)。
 ・ しかしながら、これらのGPCRに対するリガンドが本評価系で発現しているかは確認がとれていないため、アノテーション精度によるBNP発現変化であるかは保証は必須である。