

心不全は不良タンパク質蓄積疾患である!?

一心不全発症・進展における小胞体ストレス応答の役割

南野 哲男

香川大学医学部循環器・腎臓・脳卒中内科学

はじめに

患者様に「心不全はだんだん悪くなり、生命を縮める病気です」と説明する際、いつも心が痛み、悔しい思いをする。残念ながら、私たちは、心不全という病の根本を未だ理解していないため、十分な治療を提供することができていない。この悔しさが心不全研究を進める強い動機になる。

解剖学的変化は機能異常を反映している。初心に戻って、不全心の解剖学的な特色を考えると、心筋細胞の脱落、線維化増生、ミトコンドリア変性などに加え、小胞体の発達が認められる¹⁾。そこで、心不全の発症・進展における小胞体の役割について検討を始めた。

小胞体ストレス応答

小胞体は細胞内小器官の一つであり、分泌タンパク質が高次構造を形成する場である。正しく折りたたまれたタンパク質は小胞体からゴルジ体を経由して細胞外に出ていくが¹⁾、高次構造が異常な“不良タンパク質”は小胞体内に留まり、蓄積する（この状態を小胞体ストレスと言う）。驚くことに、細胞は、これらの不良タンパク質を見つけ出し、処理する仕組みを備えており、小胞体ストレスに対する適応反応として、小胞体ストレス応答という概念が提唱されている。一方、小胞体ストレスを引き起こす刺激（虚血、酸化ストレス、異常タンパク質合成、正常タンパク質過剰合成など）が一定範囲を超えた場合や長期間におよぶ場合、細胞保護のみならず細胞死シグナルが誘導される。近年、循環器疾患、神経変性疾患、糖尿病、肝疾患、肥満、ならびに、がん細胞の増殖や転移などに小胞体ストレス応答が重要な役割を果たすことが明らかになり、小胞体ストレス応答関連分子を標的とした治療法の開発が注目されている²⁾。

小胞体内に不良タンパク質が蓄積すると小胞体膜を貫通する3つの膜タンパク質—Activating transcription factor 6 (ATF6)、inositol-requiring enzyme 1 (IRE1)ならびにPKR-like ER kinase (PERK)—が活性化し、小胞体内から小胞体外に情報を発信し、細胞保護または細胞死のシグナルを活性化する。細胞保護機序としては、不良タンパクの折りたたみを促進する小胞体シャペロンの発現増強(①)、タンパク質合成抑制(②)、不良タンパクの分解促進(③)などが誘導され、小胞体ストレスを軽減する(図1)。しかし、小胞体ストレスが過度な場合や遷延した場合、IRE1やPERKを介して、小胞体ストレス由来アポトーシスシグナルであるCaspase-12、c-Jun N-terminal kinase (JNK)、およびC/EBP homologous protein (CHOP)が活性化され、細胞死(アポトーシス)が誘導される(図2)。

圧負荷・抗がん剤による心不全と小胞体ストレス応答

私たちはヒト不全心サンプルを用いた検討により、心不全時に小胞体シャペロンGRP78、小胞体ストレス応答関連分子であるXBP1やCHOPなどが増加することを明らかにした³⁾。また、マウス圧負荷誘導性心不全モデルにおいて、心肥大期(代償期)には、GRP78発現の増加が認められる一方、心不全期には、GRP78の発現増加に加え、小胞体発信アポトーシスシグナルCHOPが誘導された³⁾。また、CHOP遺伝子欠損マウスでは圧負荷による心機能低下が軽減した⁴⁾。以上より、圧負荷に対する心肥大から心不全の移行に小胞体ストレス応答が関与することが示唆された。ケミカル小胞体シャペロン投与や小胞体発信アポトーシスシグナルCHOP抑制は、高血圧などによる圧負荷誘導性心不全の発症や進展を抑制することが期待される。

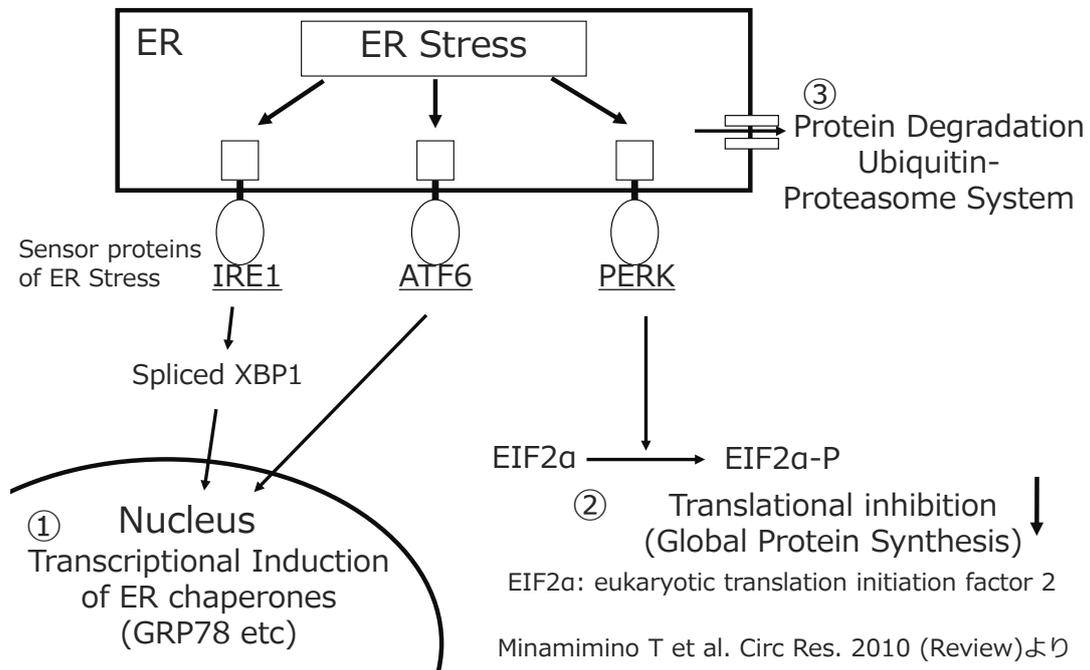


図 1：小胞体ストレス応答—細胞保護シグナル

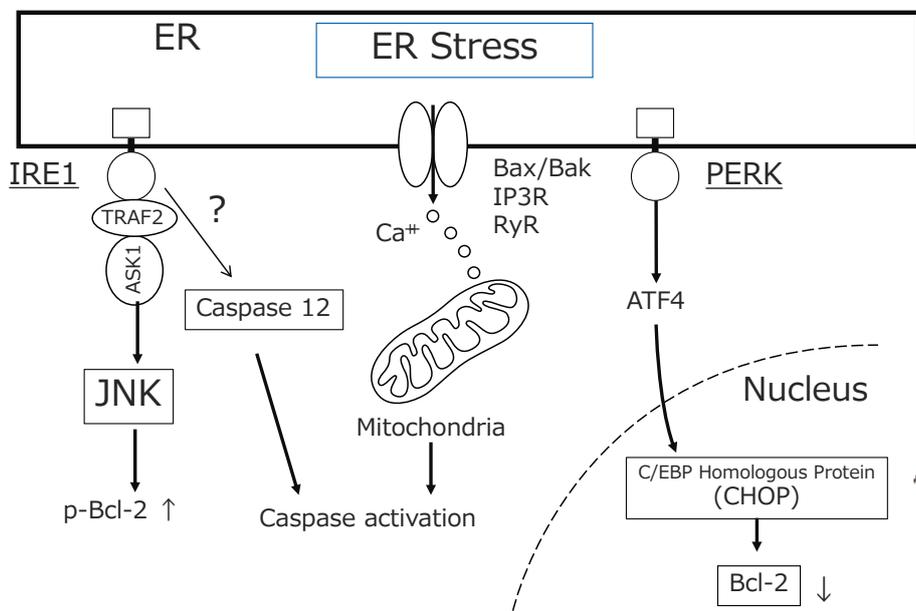


図 2：小胞体ストレス応答—細胞死シグナル

近年、圧負荷誘導性心不全のみではなく、抗がん剤による心機能障害の発症・進展に小胞体ストレス応答が重要な役割を果たすことが明らかになりつつある⁵⁾。抗がん剤であるチロシンキナーゼ阻害剤イマチニブ（グリベック）は小胞体内にらせん状物質蓄積を促進し、小胞体ストレス応答を活性化し、主に JNK を介して心筋細胞死を誘導することが報告された⁶⁾。一方、私たちは、培養心筋細胞において、プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブが小胞体ストレス由来アポトーシスシグナル CHOP を介して、心筋細胞死を誘導することを示した⁷⁾。さらに、アントラサイクリン系抗がん剤ドキシソルビシンによる心機能障害に小胞体ストレスが関与することを報告した⁸⁾。すなわち、ドキシソルビシンは小胞体ストレスを誘導するが（ATF6 活性化）、代償機序としての小胞体シャペロン GRP78 発現を抑制するため、さらに、小胞体ストレスを増強する。同時に、Caspase-12 を介して細胞死を誘導することを示した。さらに、小胞体シャペロン補充治療がドキシソルビシン心筋症に有効であることが示した。以上より、小胞体ストレスを標的とした治療法は抗がん剤治療による心不全の予防または治療への応用が期待される。

小胞体ストレス応答を標的とした循環器疾患治療法の開発

小胞体ストレス応答は循環器疾患の発症・進展に重要な役割を果たすため、小胞体ストレス応答関連分子を標的とした治療法の開発が期待できる。とくに、ケミカル小胞体シャペロン 4-PBA は尿素サイクル異常症に対してすでに臨床使用されているため、小胞体ストレス応答の活性化が認められる循環器疾患の発症・進展抑制薬としての臨床応用が期待できる。また、PERK 阻害剤、ATF6 賦活剤などが開発されている。今後、循環器疾患における小胞体ストレス応答分子の役割がさらに解明され、小胞体ストレス応答を標的とした化合物が心不全の発症・進展を抑制する新たな治療薬として開発されることが期待される。

参考文献

- 1) Maron BJ, Ferrans VJ and Roberts WC. Ultrastructural features of degenerated cardiac muscle cells in patients with cardiac hypertrophy. *Am J Pathol.* 1975;79:387-434.
- 2) Minamino T, Komuro I and Kitakaze M. Endoplasmic reticulum stress as a therapeutic target in cardiovascular disease. *Circ Res.* 2010;107:1071-82.
- 3) Okada K, Minamino T, Tsukamoto Y, Liao Y, Tsukamoto O, Takashima S, Hirata A, Fujita M, Nagamachi Y, Nakatani T, Yutani C, Ozawa K, Ogawa S, Tomoike H, Hori M and Kitakaze M. Prolonged endoplasmic reticulum stress in hypertrophic and failing heart after aortic constriction: possible contribution of endoplasmic reticulum stress to cardiac myocyte apoptosis. *Circulation.* 2004;110:705-12.
- 4) Fu HY, Okada K, Liao Y, Tsukamoto O, Isomura T, Asai M, Sawada T, Okuda K, Asano Y, Sanada S, Asanuma H, Asakura M, Takashima S, Komuro I, Kitakaze M and Minamino T. Ablation of C/EBP homologous protein attenuates endoplasmic reticulum-mediated apoptosis and cardiac dysfunction induced by pressure overload. *Circulation.* 2010;122:361-9.
- 5) Fu HY, Mukai M, Awata N, Sakata Y, Hori M and Minamino T. Protein Quality Control Dysfunction in Cardiovascular Complications Induced by Anti-Cancer Drugs. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2017;31:109-117.
- 6) Kerkelä R, Grazette L, Yacobi R, Iliescu C, Patten R, Beahm C, Walters B, Shevtsov S, Pesant S, Clubb FJ, Rosenzweig A, Salomon RN, Van Etten RA, Alroy J, Durand JB and Force T. Cardiotoxicity of the cancer therapeutic agent imatinib mesylate. *Nat Med.* 2006;12:908-16.
- 7) Fu HY, Minamino T, Tsukamoto O, Sawada T, Asai M, Kato H, Asano Y, Fujita M, Takashima S, Hori M, Kitakaze M. Overexpression of endoplasmic reticulum-resident chaperone attenuates cardiomyocyte death induced by proteasome inhibition. *Cardiovasc Res.* 2008;79(4):600-10.
- 8) Fu HY, Sanada S, Matsuzaki T, Liao Y, Okuda K, Yamato M, Tsuchida S, Araki R, Asano Y, Asanuma H, Asakura M, French BA, Sakata Y, Kitakaze M and Minamino T. Chemical Endoplasmic Reticulum Chaperone Alleviates Doxorubicin-Induced Cardiac Dysfunction. *Circ Res.* 2016;118:798-809.

機械学習を用いた細胞生物学研究

湯浅 慎介

慶應義塾大学医学部循環器内科

機械学習は人工知能の研究課題の一つで、明示的にプログラムで指示せずに、コンピューターに学習させる技術のことである。近年、機械学習は性能と汎用性が劇的に向上し、様々な問題が解決可能となってきた。機械学習の中でもディープラーニングは、多層化されたニューラルネットワークを用いる手法であり、画像認識をはじめ様々な分野で、その有効性が認められている。機械学習は既に様々な領域で応用され始めている。その進歩がメディアで度々取り上げられ、一般的にも注目されている。囲碁はルールや組手が複雑であり機械学習で扱うことが困難とされていたが、Googleが開発したAlphaGoが世界最強の棋士を破ることにより、世界中で注目されるようになってきた。また様々な用途が考えられるが、以前は扱い難い分野であった画像解析でも有効性と優位性が認識されてきた。正確性や汎用性が急速に進歩し、顔認識や自動運転などは既に日常生活に深く入り込んできている。

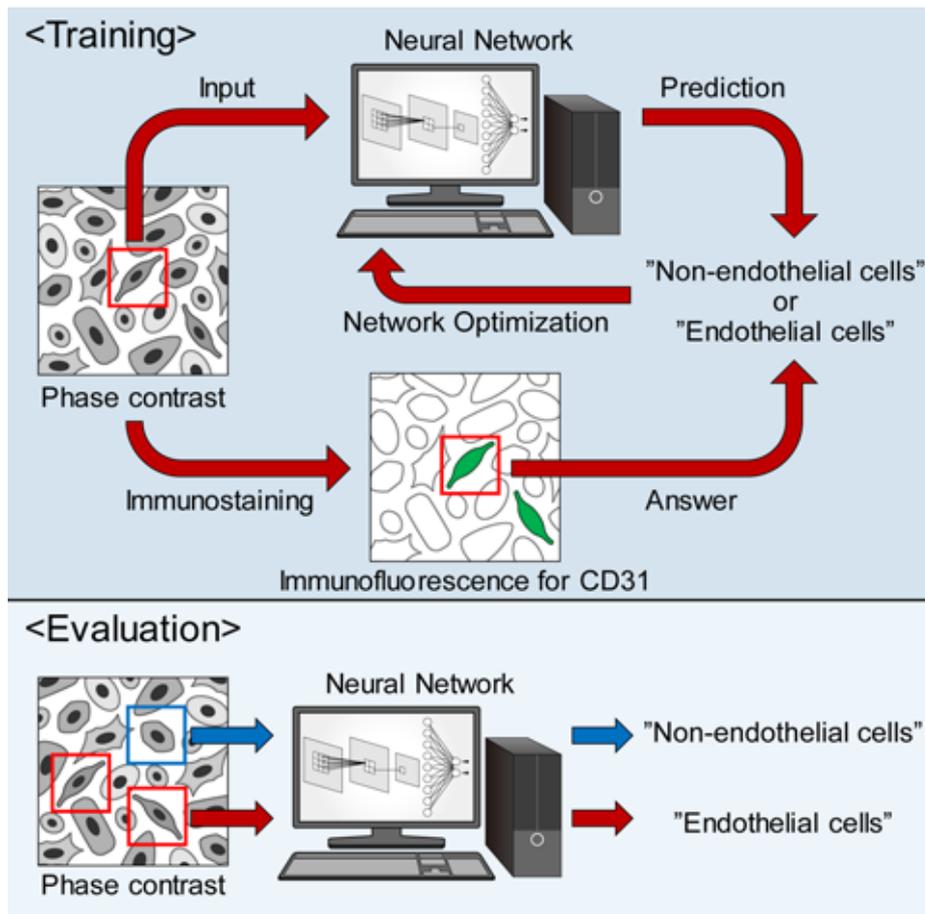
医学領域においても機械学習は存在感が増しており、まず医学研究から用いられ始めている。皮膚癌は最も一般的な癌であり、その初期診断は形体観察に大きく依存している。さらに皮膚癌の中でもその分類により予後や治療奏功率に大きな差があり、診断と分類は臨床上、重要であり、皮膚科専門医によりなされる。機械学習を用いることにより、形体写真画像から皮膚科専門医と同程度の精度で診断することが可能であることが示されている(Nature. 2017 Feb 2;542(7639):115-118.)。また、糖尿病網膜症糖尿病に合併し失明につながる重大な糖尿病合併症であるが、早期に診断することで治療可能であり定期的な眼科専門医の受診が推奨されている。一般的に、糖尿病患者は定期的に眼科専門医による眼底検査を

受け、眼底写真から糖尿病網膜症の有無および重症度が診断される。機械学習により眼底写真を用いた糖尿病網膜症診断が高精度で可能であることが報告されてきた(JAMA. 2017;318(22):2211-2223.)。そのような研究を受け、米食品医薬品局FDAは、2018年4月に機械学習を用いた画像診断を行う医療機器IDx-DRを承認した。同機器は、網膜撮影用カメラで撮影した網膜画像を機械学習により糖尿病網膜症の有無を診断するものである。その結果、糖尿病網膜症と診断された場合には糖尿病専門医の受診が推奨され、糖尿病網膜症と診断されなかった場合には1年後の再検査が推奨される。この一連の流れの中で眼科専門医は機械により診断されるまで関与することがない。眼科専門医がいない病院や、僻地医療など様々な局面で大きな役割を担うことが想定される。

このように、難しいと考えられていた問題に関して、適切な問題設定と適切なデータセットを用意すれば、かなりのことまで解決が可能である。循環器・心不全研究においても、解決すべき問題は多く残されており、機械学習により解決できる問題もあると考えられる。人工多能性幹細胞(iPS細胞)は、疾患モデルの構築や治療方法の開発研究が盛んに行われている。多能性幹細胞は、様々な細胞に分化誘導することが可能であり広い応用範囲があるが、単一の細胞集団のみを分化誘導することは困難で、目的細胞を分化誘導した際には様々な細胞の中に目的の細胞が存在する状態である。疾患解析や創薬研究などにおいては、各々の分化細胞を同定し研究に用いる。目的とする細胞を同定するためには、免疫染色などを行い蛍光顕微鏡で確認する必要がある。一方、心筋細胞や血管内皮細胞などの分化細胞は形態的特徴を有することが想定され、免疫染色などを行わないでも機械学習

で判別可能ではないかと考えられる。我々は機械学習を用いて、iPS 細胞由来分化細胞の自動判別法の開発を行った。ヒト iPS 細胞を血管内皮細胞へ分化誘導し（約 30% 程度の分化誘導効率）、70% は非血管内皮細胞が存在する培養皿上において、位相差顕微鏡画像から血管内

皮細胞を高精度で同定するシステムの開発に成功した（下図）。このように機械学習を細胞生物学研究に応用することで、これまでできなかったことができるようになり、様々な可能性が広がり、革新的に研究開発が進むことが期待される。



学習（上図）：iPS 細胞由来血管内皮細胞の位相差顕微鏡画像を取得し、個々の細胞を抽出し機械に入力する。同細胞を血管内皮細胞特異的のマーカにより免疫染色を行い、同視野において蛍光撮像する。血管内皮細胞特異的のマーカ陽性細胞を正答として、機械学習を行い、正答率を高める。

評価（下図）：iPS 細胞を分化誘導した際に位相差顕微鏡画像からのみで、血管内皮細胞か非血管内皮細胞かを判別することが可能となる。

(*Stem Cell Reports*. 2018 Jun 5;10 (6):1687-1695.)

慢性心不全看護認定看護師教育課程の紹介

看護の仕事が続けていく中で、看護師としてどのようにキャリアアップをしていこうかと考える看護師は多いであろう。人口の減少、高齢者の増加、心疾患が死亡原因の第2位となっている現在、心疾患患者の看護は必要とされる看護のひとつである。そこで、心疾患患者看護のキャリアアップを考える看護師の方々や、心疾患患者の医療に携わるの方々へ慢性心不全看護認定看護師教育課程の紹介を行いたい。

慢性心不全看護認定看護師について

認定看護師（Certified Nurse 以下 CN）は日本看護協会が特定の看護分野において、熟練した看護技術と知識を用いて水準の高い看護実践のできる認定看護師を送り出すことにより、看護現場における看護ケアの広がりや質の向上を図ることを目的としている。看護分野は21分野あり、慢性心不全看護はその中の1分野である。CNの役割は3つあり、1. 個人、家族及び集団に対して、

熟練した看護技術を用いて水準の高い看護を実践する（実践）、2. 看護実践を通して看護職に対し指導を行う（指導）、3. 看護職に対しコンサルテーションを行う（相談）があり、CNは日々看護モデルとなり、組織の中で横断的に活動している。慢性心不全看護 CN は、日本看護協会が認定した慢性心不全看護認定看護師教育課程で履修及び修了したのち、日本看護協会の認定審査を受け、認定看護師認定証の交付を受け、登録することで認定される。慢性心不全看護 CN は2012年に1回生が誕生し、毎年新しい慢性心不全看護 CN が誕生しており、2018年12月現在の慢性心不全看護 CN 登録者数は全国に394人となっている。地域的には首都圏や近畿地方に多い傾向が見られている（図1）。また、所属先種別では圧倒的に病院が多く、高齢の心不全患者の増加が予測されるため、病院だけでなく、訪問看護ステーションやクリニックなどの地域で活動する慢性心不全看護 CN も期待されている（図2）。

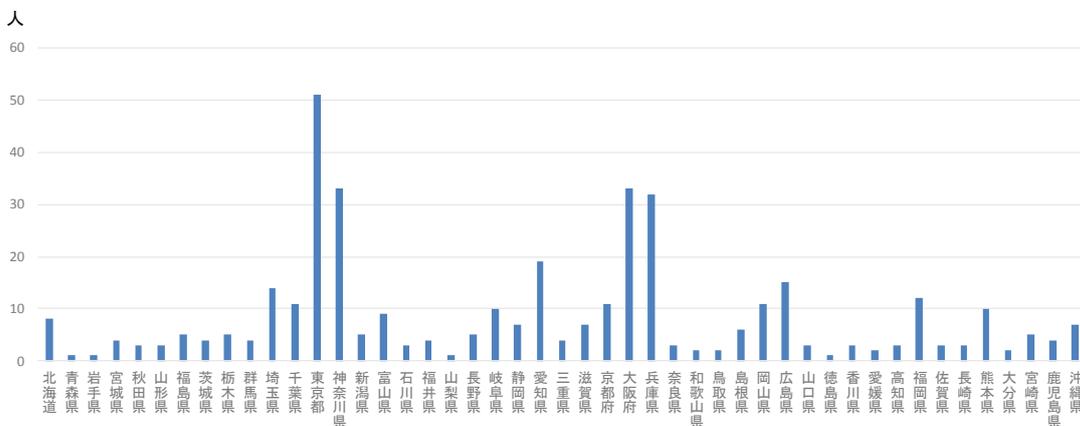


図1：都道府県別慢性心不全看護認定看護師登録者数（2018年12月）

日本看護協会ホームページより



図 2：所属先種別登録者数（2018 年 7 月）

日本看護協会ホームページより

慢性心不全看護 CN 教育課程について

北里大学看護キャリア開発・研究センターの慢性心不全看護 CN 教育課程は現在、全国で唯一の教育課程となっている。当センターの特徴は、文部科学省「職業実践力育成プログラム」認定を受けていることや、条件を満たし、自ら申請することで、教育訓練費の 50%に相当する額が支給される厚生労働省教育訓練給付制度の認定講座に認定されている。また、チーム医療教育や多職種協働教育を目的として 2017 年北里大学相模原キャンパスに建てられた臨床教育研究棟（Interprofessional Education：IPE）に施設（写真 1）があり、慢性心不全看護認定看護師をはじめ、慢性心不全患者の医療に関わる多彩な講師を迎え、総合的な環境で学習することができる（写真 2、3）。

当センターの慢性心不全看護 CN 教育課程でのプログラムでは、安定期、増悪期、終末期における慢性心不全患者とその家族の QOL の向上に向けて、水準の高い看護実践のできる看護職者を育成している。慢性心不全看護領域において、看護実践を通して他の看護職者に対して指導や相談ができるような人材の育成を目的としている。開講期間は 10 月から 3 月までの 6 か月間で日本看護協会の認定看護師認定審査を受験する方を対象とし、課程修了から認定審査までフォローアップしている。受講対象条件は、通算 3 年以上、心不全の多い病棟での

看護実績があり、心不全の増悪期から回復期にある患者の看護を 5 例以上担当したこととしている。

研修生は全国から来ており、近年の研修生の心不全看護の経験年数は平均 8.5 年で、3 年から 29 年の幅がある。経験の違いはあるものの、慢性心不全看護 CN を目指す仲間として、ともに学んでいる。当課程の教育は、日本看護協会の認定看護師教育基準カリキュラムに沿って作成され、総時間数は 645 時間（選択科目 15 時間）である。内容は共通科目と専門科目からなる講義や演習、臨地実習、そして臨地実習でのケーススタディの 3 つで構成されている。まず、講義や演習では、慢性心不全看護 CN に必要な知識を学ぶと共に、全国から集まった研修生と意見を交わし、看護の視野を広めている。また、慢性心不全看護 CN は看護実践、教育、相談、多職種連携時に、CN としての立場や看護を言語化する必要があるため、看護過程が重要である。そのため、看護過程の演習では、患者を全人的にとらえ、個別的な看護展開が行えるように取り組んでいる。また、心不全の安定期、増悪期、終末期の患者の対応を深めるために、シミュレーターを使ったフィジカルアセスメント演習を行い、得られた情報もとにした看護過程の展開も行っている（写真 4）。次に、臨地実習は北里大学病院をはじめ首都圏や関東近県の実習施設で、慢性心不全看護認定看護師の指導のもとに看護を展開している。そして最後に、臨地実

習で学んだ看護をケーススタディとしてまとめている。ケーススタディは事例発表会を通して意見交換を行い、共有し学びあっている。このように慢性心不全看護 CN

課程で学んだ研修生が、全国で心疾患患者の看護に取り組み、看護ケアの広がりや質の向上を図っている。



写真 1 : IPE 棟



写真 2 : 教室



写真 3 : 演習室



写真 4 : シミュレーターを使ったフィジカルアセスメント演習