

## グルタミン代謝調節機構の破綻によるフェロトーシス細胞死を介した心障害および臓器連関

鈴木佐和子

千葉大学医学部附属病院 糖尿病代謝内分泌内科

### 【研究の背景】

申請者はグルタミンをグルタミン酸に変換する Glutaminase2 (GLS2) が p53 によって転写活性化され、ミトコンドリアで好氣的エネルギー産生を促進することを報告してきた<sup>1)</sup>。その後フェロトーシスといった膜過酸化脂質の蓄積と多価不飽和脂肪酸の消費を特徴とする、新たな鉄依存性の非アポトーシス細胞死が 2012 年にコロンビア大学から報告され、2015 年にグルタミン代謝関与遺伝子がフェロトーシス制御に関わっていることが報告された<sup>2,3)</sup>。フェロトーシスは腫瘍、神経系疾患、虚血再灌流障害、腎臓損傷、血液疾患等の多くの疾患に不可欠な役割を果たすが、心臓においては、グルタミン代謝阻害剤が、摘出心臓の虚血再灌流誘導後のフェロトーシスを阻害することが報告されたのみであり<sup>2)</sup>、グルタミン代謝のフェロトーシス制御を介した心臓における更なる役割や詳細な分子メカニズムは不明なままである。

### 【目的】

申請者はドキシソルビシン心筋症の主たる原因としてフェロトーシスの関与が報告されていることに着目した。ドキシソルビシンによりフェロトーシスが誘導される分子機序は依然不明であり、GLS2 を介したグルタミン代謝の心障害、特にドキシソルビシン心筋症における役割とその分子制御機構を解明することを本研究の目的とした。

### 【方法】

ドキシソルビシンを腹腔内に 10mg/kg あるいは 20mg/kg 投与することで、ドキシソルビシン誘発性心障害マウスを作成し、sham (control) と比較検討した。更に、GLS2 のドキシソルビシン心筋症における役割を検討する目的で、*Gls2* ノックアウトマウスを用いて、ドキシソルビシン心筋症を誘発し、心重量を測定すると共に、心障害の程度を各種免疫組織染色や心エコーで確認し、生存曲線に及ぼす影響を検討した。また、フェロトーシス誘導を cell viability やフェロトーシス誘導関連遺伝子発現/蛋白発現/組織発現で解析し wild-type と比較検討した。また誘導された細胞死・臓器障害がフェロトーシス特異的阻害剤の投与で解除されるか確認した。フェロトーシスではミトコンドリアの膜電位の増加とクリスタの消失を伴うミトコンドリアの縮小が認められるため、電子顕微鏡を用いてミトコンドリアの形態を観察すると共にエネルギー代謝変化を解析した。

### 【結果】

ドキシソルビシンの腹腔内投与は 10mg/kg より 20mg/kg で有意に心臓においてフェロトーシスが誘導された。また、20mg/kg 腹腔内投与後 24 時間や 48 時間に比較して 72 時間後で最もフェロトーシスの誘導と心障害が引き起こされた。更にドキシソルビシン投与後、実際にミトコンドリアが縮小することを電子顕微鏡で確認した。wild-type マウスでは、ドキシソルビシン投与後、脛骨長で補正した心重量が有意に減少したが、その心重量の減少はフェロトーシス特異的阻害剤の投与でキャンセルされ、ドキシソルビシン心筋症におけるフェロトーシスの関与が示された。*Gls2* ノックアウトマウスでは、wild-type マウスと比較して、明らかにドキシソルビシン投与後の、心重量の減少は認められず wild-type で認められた線維化も少なく、*Gls2* ノックアウトマウスではドキシソルビシン心筋症の程度が軽くなることが判明した。心筋細胞を単離培養する系を確立し、分子メカニズムを検討し

たところ、GLS2 は $\alpha$  ケトグルタル酸を介した過酸化脂質の増加を引き起こすことでフェロトーシスを誘導し、ドキソルビシン誘発性心障害を悪化させることが明らかとなった。

### 【考 察】

心臓は高いエネルギー需要に応えるため、ATP 産生の基質の選択性には柔軟性があり、虚血や圧・容量負荷時には乳酸からのグルタミン酸産生が重要であることが知られている。GLS2 を介したグルタミン代謝はエネルギー産生に重要である一方、ドキソルビシン心筋症の際にはフェロトーシスを介して心毒性に作用するなど多彩な作用を有すると考えられた。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

アントラサイクリン的一种であるドキソルビシンは、乳癌、白血病など多くの種類の悪性腫瘍の治療に一般的に使用され効果が期待されるが、心臓毒性のため使用制限を余儀なくされる症例も存在する。よって薬物の抗癌特性を損なうことなく、ドキソルビシン誘発性心臓損傷を管理することが望まれている。本研究を通じて、普遍的に存在する重要代謝経路グルタミン代謝がドキソルビシン心筋症の悪化に関与していることが明らかとなり、今後フェロトーシス制御・グルタミン代謝モジュレーターが、ドキソルビシン誘発性心臓損傷を軽減することが出来れば、新たな治療戦略へとつながることが期待できる。

### 【参考・引用文献】

1. Suzuki S, Tanaka T, Poyurovsky MV, Nagano H, Mayama T, Ohkubo S, Lokshin M, Hosokawa H, Nakayama T, Suzuki Y, Sugano S, Sato E, Nagao T, Yokote K, Tatsuno I, Prives C. Phosphate-activated glutaminase (GLS2), a p53-inducible regulator of glutamine metabolism and reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 20;107(16):7461-6. Epub 2010 Mar 29 (2010).
2. Gao M, Monian P, Quadri N, Ramasamy R, Jiang X. Glutaminolysis and Transferrin Regulate Ferroptosis. *Mol Cell.* 2015 Jul 16;59(2):298-308.
3. Jiang L, Kon N, Li T, Wang SJ, Su T, Hibshoosh H, Baer R, Gu W. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression. *Nature.* 2015 Apr 2;520(7545):57-62.