

フェロトーシスに関する心不全の病態基盤研究

池田昌隆

九州大学病院 循環器内科

【研究の背景】

フェロトーシスは 2012 年に提唱された、鉄依存性に生じる脂質過酸化により誘導される regulated cell death であり、鉄キレート剤、脂質親和性抗酸化剤、内因性抗酸化分子 GPX4 により制御されることを特徴とする細胞死である。近年、フェロトーシスは生理的な役割に加え、様々な疾病における原因としての関与が示唆されているが、心血管疾患におけるフェロトーシスに関する研究は十分でない。

【目 的】

本研究は、心不全、特にドキシソルビシン (doxorubicin, DOX) 心筋症と心筋虚血再灌流傷害 (ischemia/reperfusion, I/R) におけるフェロトーシスを基軸とした病態解明と治療法の開発を目的とした。

【方 法】

ドキシソルビシン心筋症モデル(マウス)および DOX を添加した培養心筋細胞で生じるフェロトーシスを解析した。また、心筋虚血再灌流モデル(マウス)および低酸素再酸素化刺激 (hypoxia/reoxygenation, H/R) を加えた培養心筋細胞において生じるフェロトーシスを解析した。

【結 果】

ドキシソルビシン心筋症モデルにおける左室機能の低下は GPX4 過剰発現マウスにおいて有意に改善した。DOX 添加により誘導される心筋細胞死においてフェロトーシスが最も優位な細胞死であり、ミトコンドリア特異的 GPX4 の過剰発現により抑制された¹⁾。次に、DOX を添加した心筋細胞では、DOX がミトコンドリア DNA (mtDNA) にインターカレーションすることでミトコンドリアに集積していた。また、DOX は核 DNA にコードされるアミノレブリン酸合成酵素 (ALAS1) の発現を低下させることでヘム合成を障害、その結果ミトコンドリアに鉄が蓄積していた。これらの機序によりミトコンドリアにおいて蓄積した DOX と鉄が複合体を形成することで過酸化脂質およびフェロトーシスによる心毒性を引き起こしていた。本機序の解明に基づき、ALAS1 が合成する 5-アミノレブリン酸 (5-ALA) の添加およびモデル動物への投与が心筋細胞のヘム合成を促進することで、ミトコンドリアにおける鉄・脂質過酸化・フェロトーシス、そして心毒性を抑制した²⁾。

マウス I/R モデルにおいて、主たる傷害分子基盤とされてきた mitochondrial-permeability transition (MPT)-driven necrosis と同等にフェロトーシスが虚血再灌流傷害に寄与していた。MPT-driven necrosis の阻害剤であるシクロスポリン A (cyclosporin A, CsA) と GPX4 過剰発現により MPT-driven necrosis とフェロトーシスを同時に抑制することで、I/R 後遠隔期の心機能を有意に改善した。分子機序の面では、I/R (in vivo)・H/R (in vitro) により誘導された heme oxygenase-1 がヘムを分解することにより小胞体において鉄過剰を引き起こし、脂質過酸化、フェロトーシスを誘導していた³⁾。薬剤ライブラリーおよびスクリーニングアッセイからフェロトーシスを阻害し得る化合物の同定を行った⁴⁾。鉄キレート剤であるデフェラシロクスは、心筋梗塞の臨床シナリオを想定した“虚血後再灌流前”の投与でも I/R に伴う梗塞巣を縮小した⁵⁾。

【考 察】

がん細胞の増殖を抑制することで抗がん作用を発揮する DOX が、増殖能を持たない心筋細胞に毒性を示す機序は DOX 心毒性における長年の謎であった。本研究により、心筋細胞の mtDNA が豊富であるとの細胞特性に基づき、抗がん作用(アポトーシス)とは別の機序であるフェルトーシスに基づいた毒性が心筋細胞優位に生じることが明らかとなった。

心筋 I/R 傷害においても、フェルトーシスが主たる傷害分子基盤であることを明らかにした。心筋梗塞における早期血行再建が普及した現在において I/R 傷害は梗塞後心不全の残存リスクとして一層重要である。しかしながら、既知の MPT-driven necrosis を標的としたシクロスポリン A の単独療法では、梗塞巣の縮小は達成された一方で、遠隔期の心機能を有意に改善させることはできず、未だ I/R 傷害に対する治療法は確立していない。本研究の成果から、MPT-driven necrosis とは異なる誘導機序に基づいて生じるフェルトーシスを MPT-driven necrosis とともに同時に抑制する治療戦略により大幅な梗塞サイズの縮小を実現され、遠隔期の臨床転帰である心不全の改善を達成することが期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

ミトコンドリア内の鉄過剰が ALAS1 の発現低下によるヘム合成障害に起因することを明らかにすることで、5-ALA 投与が有効な心毒性予防法になることを見出した。現在、5-ALA を用いた DOX 心毒性の克服を目指し、臨床開発を進めている。

心筋虚血再灌流傷害においては、薬剤ライブラリーからのスクリーニングを含めた細胞系・病態モデルでの実験検討を経て、デフェラシロクスが実際の急性心筋梗塞の臨床シナリオに沿った“虚血後・再灌流前”の投与においても、十分に梗塞サイズを抑制し得ること、既知の主たる分子機序である MPT-driven necrosis を抑制し得るシクロスポリンと併用することで、相加的に梗塞サイズを抑制し、遠隔期の心不全を改善し得ることを明らかにした。心不全患者の激増により心不全パンデミックとも表される現状において、心筋虚血再灌流傷害におけるフェルトーシスを標的としたデフェラシロクスの臨床開発を進めることで、心不全の原因として最も多い虚血性心筋症に対する新規治療法を創出し、臨床医学における unmet medical needs の克服を通じて社会課題の解決に貢献することが期待される。

【参考・引用文献】

1. Tadokoro T, **Ikeda M (Correspondence)**, Ide T, Deguchi H, Ikeda S, Okabe K, Ishikita A, Matsushima S, Koumura T, Yamada K, Imai H, Tsutsui H, Mitochondria-dependent ferroptosis plays a pivotal role in doxorubicin cardiotoxicity, *JCI Insight*, 10.1172, 2020.
2. Abe K, **Ikeda M (Correspondence)**, Ide T, Tadokoro T, Deguchi Miyamoto H, Furusawa S, Tsutsui Y, Miyake R, Ishimaru K, Watanabe M, Matsushima S, Koumura T, Yamada K, Imai H, Tsutsui H. Doxorubicin c Doxorubicin causes ferroptosis and cardiotoxicity by intercalating into mitochondrial DNA and disrupting Alas1-dependent heme synthesis. *Sci Signal*, 15:eabn8017, 2022.
3. Miyamoto DH, **Ikeda M (Correspondence)**, Ide T, Tadokoro T, Furusawa S, Abe K, Ishimaru K, Enzan N, Sada M, Yamamoto T, Matsushima S, Koumura T, Yamada K, Imai H, Tsutsui H. Iron overload via heme degradation in the endoplasmic reticulum triggers ferroptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury. *JACC Basic Transl Sci*, 7:800-819, 2022.
4. Tadokoro T, **Ikeda M (Correspondence)**, Abe K, Ide T, Miyamoto HD, Furusawa S, Ishimaru K, Watanabe M, Ishikita A, Matsushima S, Koumura T, Yamada KI, Imai H, Tsutsui H. Ethoxyquin is a competent radical-trapping antioxidant for preventing ferroptosis in doxorubicin cardiotoxicity. *J Cardiovasc Pharmacol*, 80:690-699, 2022.
5. Ishimaru K, **Ikeda M (Correspondence)**, Miyamoto HD, Furusawa S, Abe K, Watanabe M, Kanamura T, Fujita S, Nishimura R, Toyohara T, Matsushima S, Komura T, Yamada KI, Imai H, Tsutsui H, Ide T. Deferasirox targeting ferroptosis synergistically ameliorates myocardial ischemia reperfusion injury in conjunction with cyclosporine A. *J Am Heart Assoc*, 13:e031219, 2024.