

心臓線維芽細胞活性化における鉄代謝の役割と線維化抑制機構の解明

伊藤淳平

国立循環器病研究センター 心不全病態制御部

【研究の背景】

細胞内フェリチン複合体の中に貯蔵されている鉄イオンは、鉄欠乏もしくは鉄需要が増した際に Nuclear receptor coactivator 4 (NCOA4) を介したフェリチン選択的オートファジー (フェリチノファジー) によって分解され、貯蔵鉄を利用可能な 2 価鉄イオンとして細胞質へ供給される。また、2 価鉄イオンは脂質活性酸素種を生成するが、その過剰な産生は酸化ストレスの亢進をもたらし、細胞や組織を傷害する可能性がある。とりわけ、過酸化脂質の蓄積は鉄依存的ネクローシス性細胞死フェロトーシスを引き起こす。我々は心筋細胞特異的 NCOA4 欠損マウスおよびその対照マウスの心臓圧負荷誘導性心不全モデルを用いた検討により、NCOA4 を介したフェリチノファジーが 2 価鉄イオンの放出を介して酸化ストレスを増加させ、細胞死を誘導して圧負荷誘導性心不全の発症進展に寄与することを明らかにした¹⁾。

また、野生型マウスの不全心についてレーザーアブレーション質量分析による空間的解析を行ったところ、偽手術を行った対象マウスと比較して心筋細胞中の鉄元素の減少を認め、心臓線維芽細胞においては鉄元素の増加が観測された。この現象は、心不全時の心臓線維芽細胞において鉄代謝が亢進していると考えられる。我々は、圧負荷条件下において心臓線維芽細胞は細胞外マトリックスを分泌する筋線維芽細胞や炎症性ケモカインを分泌する炎症性線維芽細胞など異なる細胞群に分類されることを報告しているが²⁾、鉄代謝が心臓線維芽細胞の分化へ関与しているかどうかは明らかではない。

【目 的】

本研究では『貯蔵鉄利用機構であるフェリチノファジーを介した鉄イオンの増加が心臓線維芽細胞の活性化を誘導し線維化を惹起する』という仮説を検討する。フェリチノファジーにより利用可能な 2 価鉄イオンが心臓線維芽細胞において増殖能の向上や細胞外マトリックスの増加など線維化が亢進するか検討し、心不全の新規治療法の確立を目指す。

【方 法】

NCOA4 flox マウスに心臓線維芽細胞特異的に発現する Postn プロモーター下流に Cre リコンビナーゼを挿入したトランスジェニックマウスを掛け合わせて心臓線維芽細胞特異的 NCOA4-KO マウス (KO マウス) の樹立を試みた。樹立したマウスに横行大動脈縮窄術 (TAC) を行い左室機能にどのような影響を及ぼすかを心エコー検査により評価した。また、siRNA による NCOA4 の発現を抑制した心臓線維芽細胞を用いて TGF- β 1 刺激による筋線維芽細胞への分化の検討や IL-1 β 刺激による炎症性線維芽細胞への分化の検討を行った。評価はリアルタイム PCR 法により各マーカー遺伝子発現を測定して行った。同様に、NCOA4 の発現抑制が線維芽細胞の増殖に影響を及ぼしているか細胞増殖試験を行い検討した。

【結 果】

生まれてきた KO マウスはメンデルの法則に従って生まれ (現在 32 匹中 WT マウス 15 匹 45.5%、KO マウス 18 匹 54.5%)、生後 8-11 週齢において対照群と比較し左室内径短縮率で評価される収縮力に差が見られなかった (WT マウス 49.8% vs KO マウス 47.7%)。次に、対照群と KO マウスに TAC を行い、圧負荷モデルを作製した結果、術後 1 週間では

収縮力に差は見られなかった(WT マウス 44.1% vs KO マウス 45.3%)。また、心臓線維芽細胞において NCOA4 の発現を抑制すると TGF- β 1 刺激により増加する *Acta2* mRNA (筋線維芽細胞マーカー) や IL-1 β 刺激により増加する *Ccl2* mRNA (炎症性線維芽細胞マーカー) の発現がコントロールと比較して減少した。さらに、NCOA4 発現抑制下では、細胞増殖の抑制が観察された。

【考 察】

生後 8-11 週齢や肥大型に相当する圧負荷後 1 週間では NCOA4 依存的フェリチノファジーの関与は低い可能性が示唆された。一方で線維芽細胞を用いた *in vitro* 実験より、NCOA4 の発現抑制は細胞分化や細胞増殖を抑制しており、フェリチノファジーの関与が示唆された。他臓器ではあるが特発性肺線維症の線維化領域においては鉄の沈着の増加や、ヒト肺線維芽細胞を用いた実験では高濃度の鉄にさらされると増殖能の増加とサイトカインおよび細胞外マトリックスの分泌が増加することが報告されている³⁾。心臓線維芽細胞においても NCOA4 依存性フェリチノファジーを介した鉄イオンの増加が心臓線維芽細胞の活性化を引き起こしていると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

鉄欠乏は貧血に関わらず心不全患者の約 50% に認められる主要な心不全の併発疾患であり、日常生活に支障をきたすとともに心機能とは無関係に患者の罹患率や死亡率を増加させることが報告されている。一方で、線維化を素因とする左室拡張能障害を含む心不全の効果的な治療法の開発は近年多くの研究者が取り組んでいる研究課題である。今後は、心不全時に見られる鉄代謝異常と線維芽細胞活性化の理解を深め、心臓線維化に対する新規治療法の確立を目指す。

【参考・引用文献】

1. Ito J, Omiya S, Rusu MC, Ueda H, Murakawa T, Tanada Y, Abe H, Nakahara K, Asahi M, Taneike M, Nishida K, Shah AM, Otsu K. Iron derived from autophagy-mediated ferritin degradation induces cardiomyocyte death and heart failure in mice. *Elife*. 2021 Feb 2;10:e62174.
2. Abe H, Tanada Y, Omiya S, Podaru MN, Murakawa T, Ito J, Shah AM, Conway SJ, Ono M, Otsu K. NF- κ B activation in cardiac fibroblasts results in the recruitment of inflammatory Ly6Chi monocytes in pressure-overloaded hearts. *Sci Signal*. 2021 Oct 12;14(704):eabe4932.
3. Ali MK, Kim RY, Brown AC, Donovan C, Vanka KS, Mayall JR, Liu G, Pillar AL, Jones-Freeman B, Xenaki D, Borghuis T, Karim R, Pinkerton JW, Aryal R, Heidari M, Martin KL, Burgess JK, Oliver BG, Trinder D, Johnstone DM, Milward EA, Hansbro PM, Horvat JC. Critical role for iron accumulation in the pathogenesis of fibrotic lung disease. *J Pathol*. 2020 May;251(1):49-62.