

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08134

研究課題名（和文）ミトコンドリア制御蛋白を介した心筋保護機構の解明および新規治療法の開発

研究課題名（英文）Elucidation of the cardioprotection mechanism mediated by mitochondrial regulatory proteins

研究代表者

遠藤 仁（Endo, Jin）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：50398608

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年、抗がん剤治療による心筋障害が臨床で注目を集めています。我々は、ミトコンドリアの品質管理や機能制御に関わる分子MARCH5がアントラサイクリン系抗癌剤DOXによる心筋傷害において保護的な役割を担っていることを明らかにしました。MARCH5は、解毒酵素GPX4を制御し、心筋細胞の過酸化脂質蓄積を減少させ、フェロトーシス細胞死を保護する働きがありました。MARCH5心筋特異的KOマウスは、DOXによる心毒性が野生型マウスより顕著に認められ、フェロトーシス阻害薬の投与によって野生型マウスと同等にまで回復しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、ミトコンドリアのエネルギー産生に伴う酸化ストレス・過酸化脂質の蓄積に対して、心臓では、MARCH5が恒常的に脂質過酸化によるフェロトーシスから心筋細胞を保護していることが示されました。また、DOXによる心筋傷害という、よりフェロトーシス細胞死が亢進した病的環境下でも、DOXへの抵抗性を制御する鍵分子として重要な役割を担っていることが明らかとなりました。癌に対する化学療法は日々進化していますが、反面、抗がん剤による心筋障害は重篤な副作用としていまだ積極的な治療法がありません。今後、DOX心筋傷害に対する治療戦略としてMARCH5の活性化をめざした創薬展開が期待されます。

研究成果の概要（英文）：In recent years, myocardial injury caused by anti-cancer drug therapy has attracted clinical attention. We have revealed that MARCH5, a molecule involved in mitochondrial quality control and functional control, plays a protective role in myocardial injury caused by the anti-cancer anthracycline drug; doxorubicin(DOX). MARCH5 controls the detoxification enzyme GPX4, reduces lipid peroxide accumulation in cardiomyocytes, and protects against ferroptosis cell death. MARCH5 myocardial-specific KO mice showed more pronounced cardiotoxicity caused by DOX than wild-type mice, and administration of a ferroptosis inhibitor restored cardiotoxicity to the same level as wild-type mice.

研究分野：循環器内科学

キーワード：MARCH5 フェロトーシス ミトコンドリア ドキソルピシン心筋傷害 GPX4

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

MARCH5 は、ミトコンドリアに局在する多機能なユビキチンリガーゼで、ミトコンドリアの品質管理や機能制御に重要な役割を担う。しかし、心臓における生理的な意義また病態形成への寄与については全く解明されていない。

我々は初代心筋培養細胞を用いて、MARCH5 が恒常的にフェロトーシス細胞死を抑制していることを見出していた。フェロトーシスは近年明らかとなった鉄や過酸化脂質により誘導される特殊なプログラム細胞死の一つである。心臓では、アントラサイクリン系抗がん剤 (doxorubicin: DOX) による心筋傷害に本細胞死がかかわっていることが近年明らかとなっているが、MARCH5 の DOX によるフェロトーシス細胞死への関与については一切不明である。

2. 研究の目的

本研究では、DOX による心筋傷害・フェロトーシス細胞死における MARCH5 の病態生理学的役割を解明し、MARCH5 活性制御による新たな治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) MARCH5 のフェロトーシス誘導機構の解明

siRNA による MARCH5 の knockdown でフェロトーシス細胞死を来した心筋細胞が、MARCH5 の発現亢進により抵抗性を獲得するかアデノウィルスベクターを作成し検証する。MARCH5 の発現変化に応じて、フェロトーシスの鍵分子である GPX4, ACSL4 などの過酸化脂質を制御する酵素がどのように増減するか調べる。

(2) 心筋細胞特異的 MARCH5 欠失マウスの表現型解析

心臓特異的に MARCH5 を欠失させるため、aMHC-mER-Cre-mER x MARCH5^{flox/flox} マウスを作成し、表現型解析を行う。経時的に心エコー検査で心機能変化をみるとともに、生存率に差が出ないか観察する。また、電子顕微鏡で心筋細胞のミトコンドリアに異常な形態変化がないか観察する。

(3) DOX による心筋障害における MARCH5 の関与の検証

培養心筋細胞に DOX を投与したところ、MARCH5 の発現は顕著に低下した。siRNA やアデノウィルスを用いて MARCH5 の発現量を調節することで DOX による細胞死に変化があるか調べる。フェロトーシス関連酵素 GPX4 が DOX 投与によってどのように変化し、MARCH5 を介して DOX 障害下でどのように制御されているか調べる。また、in vivo においても、DOX 投与後、経時的に心臓における MARCH5 の発現変化を調べ、心臓特異的 MARCH5 KO マウスにドキシソルビシンを投与した際の心毒性の進行に違いがあるか調べる。

4. 研究成果

MARCH5 siRNA によって MARCH5 の発現低下を誘導すると、胎児ラットの初代心筋培養細胞はフェロトーシス細胞死が誘導された。また、MARCH5 KO 細胞では、過剰な過酸化脂質の蓄積がみられ、フェロトーシスの鍵分子 GPX4 の発現が著明に低下していた。つまり、MARCH5 は GPX4 を介して過酸化脂質を制御し、フェロトーシス細胞死に対して保護的な役割を担っていると考えられた。還元型グルタチオン GSH は、MARCH5 の低下に伴い減少し、GSH の補充で GPX4 が回復したことから、MARCH5 は GSH を介して GPX4 の発現を調整していた。さらに、MARCH5 は GSH を分解する Chac1 の発現を制御していることから、MARCH5-Chac1-GSH-GPX4 軸が細胞過酸化に対して抵

抗性を付与していることが示された。

DOX 投与で培養心筋細胞の MARCH5 および GPX4 は減少し、フェロトーシス細胞死に関連していた。in vivo においても、野生型マウスに DOX を投与すると MARCH5 および GPX4 の発現が低下した。特に負荷を加えない状態の MARCH5 心筋特異的 KO マウスは生存率や心機能に異常を認めなかったが、DOX を投与することで野生型に比べ心機能の顕著な増悪を示した。MARCH5 心筋特異的 KO マウスにおける DOX による心毒性の増悪は、フェロトーシス阻害薬 Ferropstatin-1 の投与によって野生型マウスと同等に回復した。以上から、MARCH5 の発現調節や病的なフェロトーシスの抑制が DOX 関連心筋症に有効であることが示唆された。

本研究によって、ミトコンドリアのエネルギー産生に伴う酸化ストレス・過酸化脂質の蓄積に対して、心臓では、MARCH5 が恒常的に脂質過酸化によるフェロトーシスから心筋細胞を保護していることが示された。また、DOX 心筋傷害というよりフェロトーシス細胞死が亢進した病的環境下でも、DOX への抵抗性を制御する鍵分子として重要な役割を担っていることが明らかとなった。今後、DOX 心筋傷害に対する治療戦略として MARCH5 の活性化をめざした創薬展開が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ichihara G, Katsumata Y, Sugiura Y, Matsuoka Y, Maeda R, Endo J, Anzai A, Shirakawa K, Moriyama H, Kitakata H, Hiraide T, Goto S, Ko S, Iwasawa Y, Sugai K, Daigo K, Goto S, Sato K, Yamada KI, Suematsu M, Ieda M, Sano M.	4. 巻 133(10)
2. 論文標題 MRP1-Dependent Extracellular Release of Glutathione Induces Cardiomyocyte Ferroptosis After Ischemia-Reperfusion.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Circ Res.	6. 最初と最後の頁 861-876
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/CIRCRESAHA.123.323517.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroki Kitakata, Jin Endo, Hidehiko Ikura, Hidenori Moriyama, Kohsuke Shirakawa, Yoshinori Katsumata, Motoaki Sano	4. 巻 23(3)
2. 論文標題 Therapeutic Targets for DOX-Induced Cardiomyopathy: Role of Apoptosis vs. Ferroptosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1414
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23031414	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kitakata Hiroki, Endo Jin, Matsushima Hirokazu, Yamamoto Shoichi, Ikura Hidehiko, Hirai Akeo, Koh Seien, Ichihara Genki, Hiraide Takahiro, Moriyama Hidenori et al.	4. 巻 161
2. 論文標題 MITOL/MARCH5 determines the susceptibility of cardiomyocytes to doxorubicin-induced ferroptosis by regulating GSH homeostasis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology	6. 最初と最後の頁 116 ~ 129
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.yjmcc.2021.08.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 北方博規、遠藤仁	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 2
3. 書名 医学のあゆみ「フェルトーシスにおけるミトコンドリア蛋白質 MITOLの新たな可能性」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------