

# 心筋梗塞によって細胞死が進行するメカニズムを解明

## ー治療後に起きる細胞死-フェロトーシス-を抑制する心不全治療法の開発ー

慶應義塾大学医学部内科学教室（循環器）の市原元気助教（研究当時）、佐野元昭准教授、同スポーツ医学総合センターの勝俣良紀専任講師と、京都大学大学院医学研究科の杉浦悠毅特定准教授の共同研究チームは、心筋梗塞（注1）の“代謝変化”に注目した新しい治療アプローチを発見しました。心筋梗塞は、心臓の筋肉への血流が遮断される疾患で、治療後も心筋の障害は進行しやすいのが現状です。疾病の進行は極めて早いため、これまでは病態が進行した“後”で行われる研究が主なものでした。今回、研究チームは生きた疾患モデルマウスを用いて、心筋の虚血再灌流障害（注2）が段階的に進む過程を、新技術「代謝分子を用いたモニタリング手法」で詳細に観察しました。この新手法の活用により、心筋梗塞が引き起こす有害な活性酸素（注3）の除去機能が徐々に低下するメカニズムを特定しました。そして、この知見を応用して、活性酸素の除去を強化する代謝経路に介入することで、虚血再灌流障害後の心筋のダメージを減少させることができることを確認しました。

心筋梗塞（虚血性心疾患）は多くの人々の死因となっており、治療（再灌流療法）をしたとしても、心筋の壊死や心不全のリスクが高いことが知られています。特に、再灌流直後に発生する活性酸素種の発生が問題とされてきましたが、治療法の開発は難航していました。今回の研究では、細胞膜の「活性酸素による脂質の酸化」に焦点を当てました。細胞膜の脂質が過剰に酸化されると、膜としての構造を保

てなくなり細胞全体が死に至ってしまうことも知られています。この形態の細胞死をフェロトーシス（注4）と言います。心臓の虚血再灌流障害では、酸化脂質の蓄積およびフェロトーシスが虚血再灌流後の比較的遅いタイミング（再灌流後6時間以降）で始まること、その原因として虚血・再灌流時にグルタチオン（注5）という強力な還元物質が、特殊なトランスポーター（主にMRP1: multidrug resistance protein 1）を介して細胞の外に漏れ出てしまうことを解明しました。今回の研究において、最先端の代謝解析技術を用いて心筋の虚血再灌流障害の詳細な解析を行いました。その結果、心筋細胞内の活性酸素および酸化脂質の増加を制御し、フェロトーシスという細胞死の進行を抑える新しい治療ターゲットを特定することができました。この新たな治療法は、心筋梗塞患者の生命を救い、生活の質の向上や病態からの回復をサポートする重要な選択肢として期待されます。

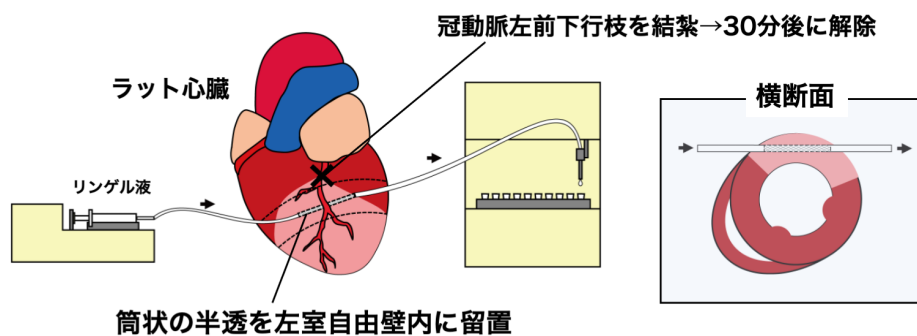
この研究結果は2023年10月11日（米国時間）に *Circulation Research* 誌で公開されました。

### 1. 研究の背景と概要

心筋梗塞（虚血性心疾患）は、全世界において死因の上位を占める重篤な疾患です。近年、血行再建手術やカテーテル治療（注6）の発達によって、心筋梗塞患者の救命率は大幅に改善しました。一方で、救命はできたものの、心臓のポンプ機能が十分に回復せずに身体機能が低下し、日常生活に著しい制限を余儀なくされる患者さんも多くいらっしゃいます。このように心筋梗塞後の

心不全に苦しむ患者さんが発生する要因として重要なものが、虚血再灌流障害です。虚血再灌流障害とは、虚血に陥った心筋の血流を再開させた際に、急激な再酸素化に伴って多量の活性酸素が生じ、これが細胞内の種々の蛋白を変性させてしてしまう現象です。心臓の虚血再灌流障害は、カテーテルや手術による虚血心筋の完全な救済にあたって大きな障壁となっているものの、いまだに確立した治療法はありません。

この研究では、動物（ラット）の心臓を用いて虚血再灌流を再現し、その過程で生じる代謝物質の変動を生きたままの状態でも連続的かつ包括的に解析しました。従来の研究手法では、虚血再灌流後の心筋組織を採取し、種々の代謝物質や蛋白を測定することで治療の標的となる分子を探索していました。この方法では、時間とともにダイナミックに変化する心筋の代謝状態を追跡することは不可能でした。我々はこの問題を克服するために、筒状の半透膜を心臓の壁に埋め込み、この膜に透過して来る心筋間質の代謝物質を連続的に回収して測定する手法（マイクロダイアリシス法）を用いました。この方法を活用することで、従来の研究では達成し得なかった、虚血の前・虚血の最中・再灌流後の3つの時相のそれぞれについて、同一個体で連続的に心筋間質中の代謝物質を回収することに成功しました。その結果、心筋保護の鍵となる重要な因子であるグルタチオンという強力な還元物質が虚血および再灌流の時相で細胞外へ放出され、細胞内の活性酸素種を除去できなくなることを特定しました。さらにこの細胞外放出が、主に MRP1 という特殊なトランスポーターを介していることを特定しました。



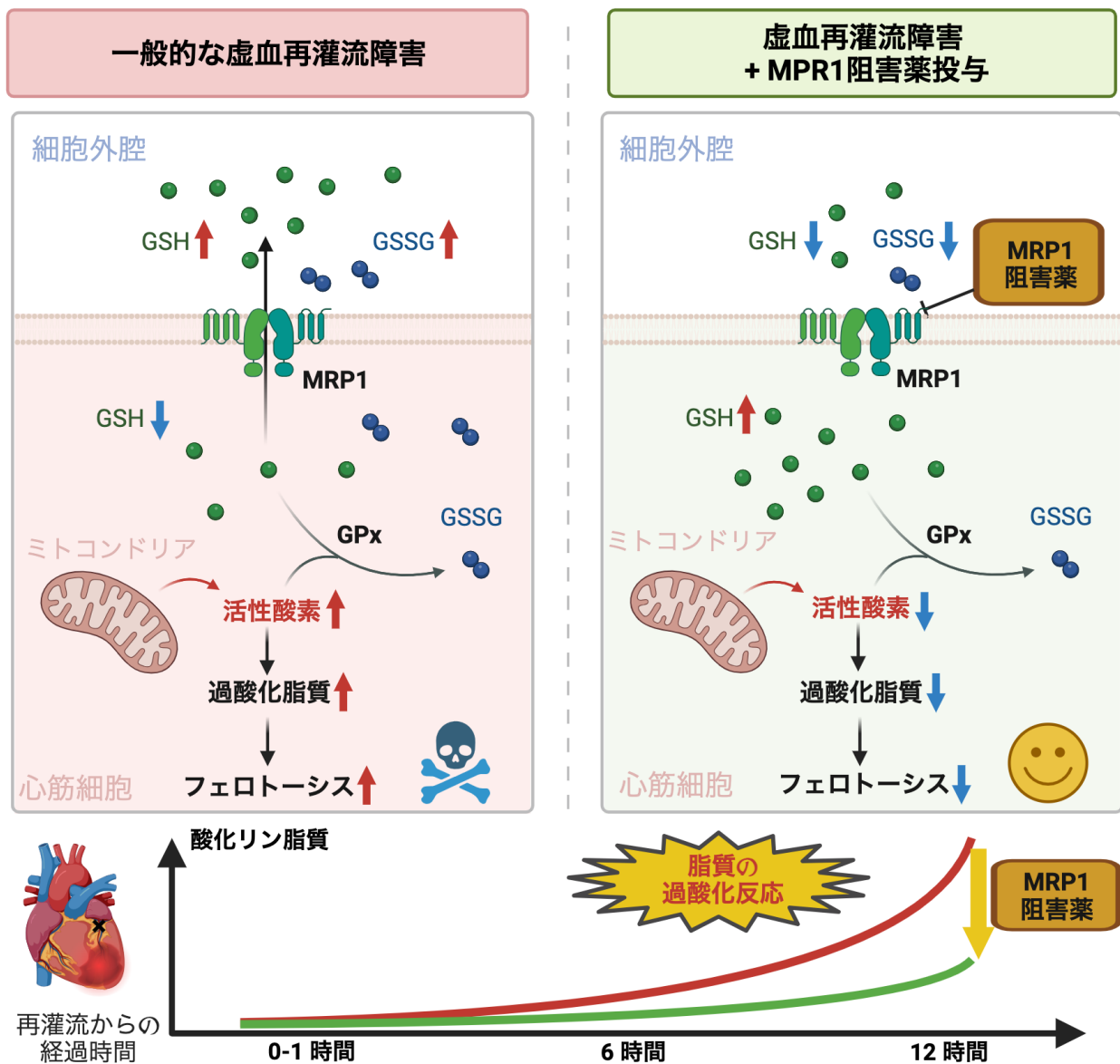
活性酸素の増大は細胞内のさまざまな分子にダメージを及ぼしますが、特に細胞膜のリン脂質（注7）が攻撃を受けやすいことが知られておりました。特に近年では、細胞膜の脂質が過剰に酸化されると、膜としての構造を保てなくなり細胞全体が死に至ってしまうことも知られて、この細胞死をフェロトーシスと言います。その仕組みは盛んに研究されているものの、酸化した脂質はバリエーションに富んでおり構造的にも不安定のため解析が難しく、どのような酸化脂質が、いつ発生するのか、その詳細についてはこれまでわかりませんでした。本共同研究チームは、独自の手法を用いて詳細な酸化脂質種の解析を実施しました。その結果、MRP1の機能を薬物で阻害すると細胞内にグルタチオンを保持することは、活性酸素の除去のみならず、酸化脂質の減少を達成し、心筋細胞の生存を助けることを発見しました。さらに、このようなフェロトーシスを標的にした治療法は、虚血再灌流後数時間後に開始しても一定の効果があることが示され、実際のヒトの治療法に応用可能なことがわかりました。

## 2. 本研究の成果と意義

- 心臓の虚血再灌流障害では、大量の活性酸素種の発生と遅発性の細胞膜の脂質の過酸化を引き起こし、フェロトーシスとして知られる細胞死に至ります。
- 還元型グルタチオンは、主に MRP1 を介して、虚血時及び再灌流後に細胞外に放出されてい

ます。

- 細胞内のグルタチオンの枯渇は活性酸素種を増加させ、脂質過酸化とフェルトーシスを引き起こします。
- MRP1 の機能を薬物で阻害すると、細胞内グルタチオン (GSH) を保持することで、虚血再灌流障害を軽減することができます。



GSH : 還元型グルタチオン、GSSG : 酸化型グルタチオン、GPx : グルタチオンペルオキシダーゼ

### 3. 今後の展開

これまでも虚血再灌流障害に対して活性酸素を消去する薬剤の投与が試みられてきましたが、その効果は限定的でした。この理由として考えられることの1つに、活性酸素が心筋梗塞のかなり早い段階から大量に発生するために、これ自体をターゲットとして薬剤を投与するのでは実際の病院の現場では手遅れであることが挙げられます。これに対し、我々が心筋梗塞モデル動物で明らかにしたことは、心筋梗塞を発症してから6時間以降にみられる酸化脂質の増加をターゲットとすれば、治療薬投与までに時間的な猶予を生むことで効果的な治療ができるということです。我々が見出したMRP1阻害薬はヒトで安全に使用できることも過去の研究で確認されています。今後さらに詳細な病態の解析や遠隔期の効果を検証し、実用性を評価することで、心筋梗塞の患者さんに、発病前と変わらない健康な未来をもたらすことを目指しています。

### 3. 特記事項

本研究は、JSPS 科研費 JP19K17579, JP21K08038, JP22H02833) の助成を受けたものです。また、公益財団法人 車両競技公益資金記念財団 (6236)、公益財団法人 先進医薬研究振興財団、科学技術振興機構 共創の場形成支援プログラムの研究費 (JPMJPF2101)、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) (健康・医療分野におけるムーンショット型研究開発等事業「健康寿命伸長にむけた腸内細菌動作原理の理解とその応用」、健康・医療分野におけるムーンショット型研究開発等事業「炎症誘発細胞除去による 100 歳を目指した健康寿命延伸医療の実現」、革新的先端研究開発支援事業「腎臓病において組織障害と修復を制御する微小環境の解明と医学応用」) の支援によって行われました。

### 4. 論文

タイトル : MRP1-dependent Extracellular Release of Glutathione Induces Cardiomyocyte Ferroptosis After Ischemia-Reperfusion

タイトル和文 : 虚血再灌流後の MRP1 依存的なグルタチオンの細胞外放出が心筋細胞のフェロトーシスを誘導する

著者名 : 市原元気、勝俣良紀、杉浦 悠毅、松岡 悠太、前田黎、遠藤仁、安西淳、白川公亮、守山英則、北方博規、平出貴裕、後藤信一、高聖淵、岩澤裕治、菅井和久、醍醐恭平、後藤信哉、佐藤和毅、山田健一、末松誠、家田真樹、佐野元昭

掲載誌 : *Circulation Research*

DOI : 10.1161/CIRCRESAHA.123.323517

#### 【用語解説】

- (注 1) 心筋梗塞 : 心臓に酸素と栄養を含む血液を供給している血管が動脈硬化などで内側にプラーク (油のかたまり) や血栓 (血のかたまり) がたまり閉塞してしまう病気。閉塞した先の心臓の筋肉は酸素と栄養が枯渇するとやがて壊死してしまう。
- (注 2) 虚血再灌流障害 : カテーテル治療などにより、血流不足 (虚血) となっていた心筋組織に急速に血流が再開すると、細胞内で酸素を利用したエネルギーの産生が再開されるとともに、有害な活性酸素が発生する。活性酸素は周囲の重要なタンパク質を傷つけるため、血流再開により救済できなかったはずの細胞の一部は死んでしまう。このような血流再開後に新たに生じる障害を虚血再灌流障害という。
- (注 3) 活性酸素 (種) : ほかの物質を酸化する力が非常に強い酸素。虚血再灌流障害ではミトコンドリアの電子伝達系から主に発生する。細胞内で生じた過剰に生じた活性酸素は周囲のあらゆるタンパク質や脂質を酸化し、最終的に細胞死を引き起こす。
- (注 4) フェロトーシス : 近年提唱された新しい形態の細胞死。鉄イオンの存在下で細胞膜のリン脂質が活性酸素による攻撃を受けると、脂質が過酸化によるダメージを受けて細胞膜が破綻する。フェロトーシスは心臓病だけでなく、癌や神経疾患など様々な病態との関連が示唆されている。
- (注 5) グルタチオン : 生体が合成するポリペプチドの一種。細胞内の活性酸素を除去する上で重要な役割を持っているほか、肝臓では細胞内毒素の解毒にも利用される。
- (注 6) カテーテル治療 : 心筋梗塞に対する治療法の 1 つ。手首や足の付け根の血管から細長い管 (カテーテル) を挿入し、心臓を栄養している血管まで進めて血管内部のプラークや血栓

を除去する治療を行う。

(注7) リン脂質：細胞膜を構成する脂質。リン脂質には飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸という2種類の脂肪酸が含まれている。このうち、特に不飽和脂肪酸が酸化されることが膜の品質を劣化させ、最悪の場合細胞死に至ると考えられている。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、京都大学記者クラブ、各社科学部等に送信しております。