

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細胞死であり、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。我々は、アントラサイクリン系抗がん剤により生じる心毒性において心筋細胞のフェロトーシスが主たる病態機序であることを明らかにし¹⁾、アントラサイクリン系抗がん剤によるヘム合成障害が過剰な鉄の蓄積とフェロトーシスの原因となっている一方、5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid, 5-ALA) の投与によりヘム合成が促進され、鉄の蓄積とフェロトーシスを抑制し得ることを明らかにした²⁾。5-ALA は内因性のアミノ酸であり、その安全性の高さからアントラサイクリン系心毒性の抑制薬として全例に投与されえる治療介入として検討されるが、最適な投与条件についての検討は十分ではない。

【目 的】

本研究は、アントラサイクリン系抗がん剤による心毒性抑制薬としての 5-ALA の臨床開発に向けて、その有効性に関する最適な用法・用量を検討するとともに、5-ALA がアントラサイクリン系抗がん剤の抗腫瘍効果に与える影響について検討することを目的とした。

【方 法】

ドキシソルビシン心筋症モデルは、尾静脈から隔日で計 3 回のドキシソルビシン (6 mg/kg/回) の投与によって作成した。ドキシソルビシン心筋症モデル(マウス)に対して、各用量の 5-ALA を 1 日 1 回、強制経口で連日投与し、最大薬効を示す用量を決定した。さらに、がん細胞である HeLa 細胞および EL-4 細胞にアントラサイクリン系抗がん剤を添加し、誘導される細胞死(抗がん作用)に対する 5-ALA の効果を検証した。

【結 果】

作成したドキシソルビシン心筋症モデルの心筋組織において、ドキシソルビシンによるヘム合成障害の契機となる ALAS1 の発現低下は、最終のドキシソルビシン投与から 2 日後がピークであり、7 日目には改善していることが確認された。この結果に基づき、5-ALA の投与はドキシソルビシンの最終投与から 7 日間(初回投与からは 10 日間)継続することが最適と決定した。5-ALA の強制経口投与は 30, 60, 100 mg/kg/日の 3 用量で検討した。その結果、30~100mg/kg まで用量依存性に左室駆出率の改善が認められ、60 mg/kg/日の投与により有意な左室駆出率の改善が確認された。一方で、60 と 100 mg/kg/日の間では左室駆出率の差は僅かであり、有意な改善は認められなかった。これらの結果より、60mg/kg/日が最大薬効を示す最小用量であると決定した。

次に、マウス白血病細胞である EL-4 およびヒト子宮頸がん細胞である HeLa 細胞に DOX をそれぞれ 1 μ M, 2 μ M で添加した。さらに DOX の添加により誘導された細胞死に対して 5-ALA (1mM) を添加したが、DOX による細胞死に対して 5-ALA は明確な抑制効果を示さなかった。

【考 察】

本研究は、アントラサイクリン系抗がん剤により誘導されるフェロトーシスおよび心毒性を 5-ALA が抑制するとの基礎研究成果に基づき、5-ALA の臨床研究開発を目指し、非臨床試験において 5-ALA の用法用量の最適化およびがん細胞における抗がん作用への 5-ALA の作用を検証した。前者については、ドキソルビシン最終投与から 7 日間、60mg/kg/日の投与が最適な用法・用量であると結論付けた。なお、60 mg/kg/日 (マウス) は、ヒト換算 (HED 換算) において約 5 mg/kg/日 (=300mg/日) であり、ヒトでの投与が可能な用量においても有効性が期待できる結果であった。

5-ALA は、ドキソルビシンによるがん細胞に対する抗がん作用を減弱しなかった。これまでも報告している通り、がん細胞においてドキソルビシンで誘導される細胞死はフェロトーシスの阻害剤であるフェロスタチン (Fer-1) により抑制されず、フェロトーシス自体が生じていないことが確認された。

既存のアントラサイクリン心毒性抑制薬であるデクスラゾキサンは抗がん作用の減弱が懸念されており、極めて限定的な使用にとどまっている。さらに、デクスラゾキサンは二次性の悪性腫瘍の発生との関連も懸念されている。本研究により、デクスラゾキサンに比べ、5-ALA にはこれらの懸念が少ないことから、新たな治療戦略として有望であると期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により、5-ALA の臨床試験に資する非臨床データを取得することができた。5-ALA は上記の通り、抗がん作用を減弱しないことが確認されており、さらに、5-ALA は内因性のアミノ酸であることから既存薬デクスラゾキサンの懸念されている二次性の悪性腫瘍の懸念がない。本研究成果により、5-ALA の臨床研究開発の加速が期待される。

【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.