

疾患モデルマウスを用いた ACO におけるフェロトーシスの関与の解明

木村 元気

日本大学薬学部 機能形態学研究室

【研究目的】

喘息と慢性閉塞性肺疾患（COPD）は、異なる原因で発症し多様な臨床症状を呈する疾患であるが、両者を併発した場合は喘息と COPD のオーバーラップ（ACO）と呼ばれ、喘息と COPD のそれぞれの特徴を併せ持つ病態を示す。既存の喘息や COPD 治療薬で十分な治療効果が得られず新たな治療戦略が求められている。しかし、ACO は喘息と COPD の特徴を併せ持った複雑な病態を示すことから、その詳細については未知な部分が多い。さらに、現在までに適切な疾患モデル動物が確立されておらず、新規治療薬開発も滞っている。

近年、鉄依存的な制御性細胞死であるフェロトーシスと喘息や COPD といった呼吸器疾患との関与が報告されているものの、ACO については国内外において報告は無い。そこで本研究は、申請者が新たに確立した ACO モデルマウスを用いて、フェロトーシスと気道炎症の関連について詳細な検討を行い、ACO の病態形成機序におけるフェロトーシスの関与を解明することを目的とする。得られた知見は、ACO の病態理解を通して、ACO の新規治療薬創出の分子基盤確立に寄与するものである。

【研究結果および研究経過】

Papain 誘発喘息モデルマウスにタバコ煙を曝露して作製した ACO モデルマウスにおけるフェロトーシスの状態について検討した。その結果、ACO モデルマウスの肺組織において、鉄の沈着、フェロトーシスマーカーである *slc7a11* 及び *PTGS2*、フェロトーシス抑制因子である *GPX4* 及び *FSP1* の遺伝子発現の低下、逆に促進的に作用する *NCOA4* の遺伝子発現の上昇が認められた。また、気管支肺胞洗浄液（BALF）を用いて、フェロトーシス誘導で重要

な酸化ストレスについてグルタチオンを指標に検討した結果、酸化型グルタチオンの上昇、還元型グルタチオンの減少が認められた。そして、いずれの変化もステロイド抗炎症薬で抑制されず、ステロイド治療抵抗性も認められた。これらの変化は喘息モデルマウスではみられなかった。これらの結果から、ACOモデルマウスではフェロトーシスが誘導されていることが明らかとなり、これが喘息からACOにいたる原因である可能性が示唆された。

次に、フェロトーシスが喘息からACOにいたる原因であることを実証するため、喘息モデルマウスにフェロトーシス誘導薬である erastin を投与して気道炎症を評価した。Erastin 単独投与では気道炎症は誘導されず、炎症性ケモカイン及びサイトカイン産生にも影響は認められなかったが、erastin を投与した喘息モデルマウスでは気道炎症が増悪し、さらにフェロトーシスも亢進した。これらの結果から、喘息におけるフェロトーシスによる気道炎症の増悪が、ACOの原因である可能性が示唆された。

フェロトーシスによる気道炎症の増悪がACOの発症要因であることが示唆されたことから、ACOモデルマウスにフェロトーシス阻害薬 liproxstatin-1 (lip-1) を投与し、フェロトーシス制御がACOの新たな治療戦略となりうるかを検討した。その結果、lip-1投与によりACOモデルマウスにおける気道炎症は有意に抑制された。肺組織切片のH&E染色像でも、lip-1投与群で炎症細胞の浸潤が抑制されていた。さらに、炎症性ケモカイン及びサイトカイン産生についても、lip-1投与群で細胞数変化と平行な結果が得られた。また、フェロトーシス関連遺伝子発現変動について、lip-1によりGPX4及びFSP1は発現低下が回復し、NCOA4については発現上昇が抑制された。加えて、肺組織切片の鉄染色においても、鉄の沈着がlip-1投与により抑制されていた。以上の結果より、ACOモデルマウスにおいて、フェロトーシスが誘導されていること、フェロトーシスを抑制することでステロイド治療抵抗性気道炎症が改善されたことから、ACOの病態形成機序においてフェロトーシスが関与していることが示唆された。

【本研究の今後の発展性，期待される点】

本研究結果より、これまで明らかとなっていなかった ACO における病態形成機序の一端が明らかとなった。さらには、新たな ACO の治療戦略として、フェロトーシス制御因子が標的となる可能性が示唆された。今後、より詳細なフェロトーシス関連因子の解析により、ACO 患者のバイオマーカーに関する研究展開が期待される。現在、フェロトーシスはがんをはじめ、様々な疾患との関与が報告されている。本研究成果を基に、炎症反応におけるフェロトーシスの関与の一端が明らかにされることは、他の疾患への応用も可能であることから、新たな治療法の開発研究が加速することも期待される。

今後は、フェロトーシス制御因子の挙動に焦点をあて、ACO におけるフェロトーシスのマスターレギュレーターを明らかにし、それを基に新規治療薬候補化合物の探索を実施する予定である。さらには、それらの知見を他の疾患への応用するため、多分野との共同研究も加速させていくことで、外部資金の獲得につなげる。

【外部研究費の獲得を主眼とし，本研究の外部発信予定について】

本研究成果は、以下の通り外部発信した。

・学会

Papain 及びタバコ主流煙共曝露マウスの気道炎症におけるフェロトーシスの関与

木村元気，安藤大稀，開沼郁美，佐藤しおり，田上愛，福井里菜，宮坂知宏

(第 67 回日本薬学会関東支部大会，2023 年 9 月 16 日)

Ferroptosis exacerbates airway inflammation in a mouse model of papain induced asthma

Genki Kimura, Ai Tagami, Rina Fukui, Masaki Yaita, Tomohiro Miyasaka

(第 97 回日本薬理学会年会，2023 年 12 月 16 日)

タバコ主流煙及び papain 共曝露マウスにおける気道炎症に対するフェロトキシ阻害薬
の効果

矢板 将樹, 田上 愛, 福井 里菜, 木村 元気, 宮坂 知宏

(日本薬学会第 144 年会 2024 年 3 月 29 日)

・論文

Airway inflammation in a novel mouse model of asthma-COPD overlap induced by
co-exposure to papain and tobacco smoke.

Kimura G, Tagami A, Fukui R, Yaita M, Miyasaka T. *Biochem Biophys Res Commun.* 2024;
709: 149831.

現在、本研究成果について、さらにもう一報論文投稿準備中である。