

2023年6月14日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学

**特別な脂質過酸化プロセスに伴う
新たな細胞死抑制機構を発見**
神経変性疾患などの関連疾患の新規創薬に繋がる研究成果

【発表のポイント】

- アラキドン酸^(注1)の過酸化が直接的な引き金となり、分子によって制御される細胞死^(注2)フェロトーシス^(注3)の新規抑制機構として、一部のアラキドン酸がトランスアラキドン酸^(注4)に変換される非酵素反応を発見しました。
- アラキドン酸には、脂質過酸化^(注5)およびフェロトーシスの促進能がある一方、トランスアラキドン酸にはいずれの促進作用も認められませんでした。
- 本研究成果は、神経変性疾患などの様々なフェロトーシス関連疾患の疾患発症機構の解明および新規創薬に繋がること期待されます。

【概要】

フェロトーシスは分子によって制御される細胞死で、生体膜脂質(特にアラキドン酸)の鉄依存的な過酸化が引き金となり、炎症誘導性の壊死^(注6)が引き起こされます。この細胞死は、神経変性疾患などの様々な疾患の発症・増悪に寄与することが知られていますが、その制御機構には不明な点が多く残されています。

東北大学大学院薬学研究科の平田祐介助教、松沢厚教授らの研究グループは、The Institute of Organic Synthesis and Photoreactivity-National Research Council (ISOF-CNR: イタリア・ポローニャ)の Chryssostomos Chatgililoglu 教授らの研究グループとの国際共同研究により、脂質過酸化反応時に、一部のアラキドン酸がシス-トランス異性化反応^(注7)によってトランスアラキドン酸に変換されることを発見しました。アラキドン酸の細胞への添加は、脂質過酸化およびフェロトーシスを促進した一方、トランスアラキドン酸の添加時には、そのような促進は起きませんでした。本機構は、フェロトーシスの抑制機構として重要な役割を果たしており、神経変性疾患やがんなどの関連疾患の発症機序の全容解明、および新規創薬に繋がる重要な基礎的知見となります。

本研究の成果は、5月29日に国際科学雑誌 Free Radical Biology and Medicine にオンライン上で掲載されました。

【詳細な説明】

研究の背景

私たちの体の中で、酵素の働きによって作られる脂肪酸の炭素-炭素間の二重結合は、シス型のみであることから(以降、シス脂肪酸と呼称)、トランス型二重結合を持つ脂肪酸(トランス脂肪酸)は、古くから、食事を通して生体内に取り込まれる外来性のものだけであると考えられてきました。しかし、最近の研究から、生体内で産生されるトランス脂肪酸の存在が示唆されており、その主要な産生機構として、生体内で酸化ストレスなどにより産生される有機硫黄ラジカル(RS[•])^(注8)が引き起こす、シス脂肪酸のシス-トランス異性化反応(非酵素的な有機反応)の存在が報告されています(参考文献 1)。

その代表例であるトランスアラキドン酸は、アラキドン酸(4箇所二重結合がすべてシス型の生体内に通常存在するシス脂肪酸)が、シス-トランス異性化反応によっていずれか1箇所の二重結合がトランス型に変換されることで産生されることが知られており、加齢やアルツハイマー病など一部の疾患に伴って血中や臓器中濃度が上昇することが報告され、着目されています(参考文献 2)。しかしトランスアラキドン酸の生体作用や、その産生を引き起こす具体的なストレス条件については、ほとんど不明です。

研究の概要

平田祐介助教、松沢厚教授らの研究グループは、様々な制御性細胞死の分子機構の解析を専門とする立場から、トランスアラキドン酸の機能解明を目的として、イタリア・ボローニャの Chryssostomos Chatgililoglu 教授らの研究グループと国際共同研究を行いました。代表的な制御性細胞死に対するトランスアラキドン酸の影響を網羅的に解析したところ、アポトーシス、ネクロプトーシス、パーナトス、ピロトーシスへの影響は特に認められませんでした。

一方、フェロトーシス誘導剤 RSL3^(注9)を、細胞がほとんど死なない程度の低濃度で処置し、脂質過酸化を引きやすくした条件下でアラキドン酸を加えたところ、脂質過酸化および細胞死が亢進しましたが、トランスアラキドン酸を加えた場合には、いずれの亢進も認められなかったことから、トランスアラキドン酸には、アラキドン酸のような脂質過酸化およびフェロトーシスを促進する能力がないことが判明しました。

そこで、細胞に RSL3 を高濃度で処置し、フェロトーシスを強く惹起した際の生体膜脂質中の脂肪酸種や量の変動を、質量分析によって解析したところ、脂質過酸化に伴って、トランスアラキドン酸が産生されていることが分かりました。

以上の結果から、脂質過酸化反応に伴って、一部のアラキドン酸がシス-トランス異性化反応によってトランスアラキドン酸に変換されることで、フェロトーシスが一部抑制されていることが明らかになりました。トランスアラキドン酸によるフェロトーシス抑制機構の詳細な理解には今後さらに解析が必要な状況ですが、細胞内の主要な活

性酸素^(注10)の産生源の一つで、脂質過酸化反応の促進に寄与する NADPH オキシダーゼ^(注11)の酵素活性を、アラキドン酸が増強する一方、トランスアラキドン酸は抑制するという相反する作用を有することが報告されており(参考文献 3)、この作用の違いが、フェロトーシスに対する影響の違いを規定していることが想定されます(図)。

社会的意義と今後の展望

フェロトーシスは、神経変性疾患をはじめとした様々な病態の発症・増悪に関連しており、その抑制のため、生体内には様々な抗酸化システムが備わっていることが知られています。今回の研究成果は、その過酸化がフェロトーシス誘導の直接的な引き金となると考えられているアラキドン酸が、一部トランスアラキドン酸に変換されることで脂質過酸化およびフェロトーシスの抑制に寄与するという、非常にユニークな機構の発見となりました。なお、アラキドン酸と同様に、高度不飽和脂肪酸(PUFA)^(注12)に分類される EPA や DHA のトランス体についても、フェロトーシス促進作用が認められないことを確認しており、今後は、実際の関連疾患の病巣部で、トランス PUFA の産生の有無や、産生量などの解析を行い、本機構の重要性を検証する必要があります。また、がん細胞は鉄や活性酸素を多く含有することから、一般にフェロトーシス感受性が高いことが知られていますが、本機構を悪用してトランス PUFA を過剰に産生することで、フェロトーシス耐性を獲得し、がんの悪性化や増殖・転移に繋がっている可能性が想定されることから、その可能性についても、検証を行なっていきたいと考えています。さらに将来的には、トランス PUFA の産生を薬剤などで選択的に増減可能な手法を開発することで、関連疾患やがんの予防・治療などに繋がることが期待されます。

【謝辞】

本研究は、武田科学振興財団研究助成事業、三菱財団自然科学研究助成事業、島原科学振興会研究助成事業、公益信託医用薬物研究奨励富岳基金事業、ロッテ財団研究助成事業、文部科学省および日本学術振興会による科学研究費助成事業(JP20K07011、JP20KK0361、JP21K19325、JP21H02620、JP21H00268)の支援を受けて行われました。

【論文情報】

掲載誌: Free Radical Biology and Medicine

タイトル: Geometrical isomerization of arachidonic acid during lipid peroxidation interferes with ferroptosis

著者: Yusuke Hirata[†], Carla Ferreri[†], Yuto Yamada, Aya Inoue, Anna Sansone, Fabrizio Vetica, Wakana Suzuki, Saya Takano, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa^{*}, and Chryssostomos Chatgililoglu^{*}

(†共同筆頭著者, *共同責任著者)

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.05.026>

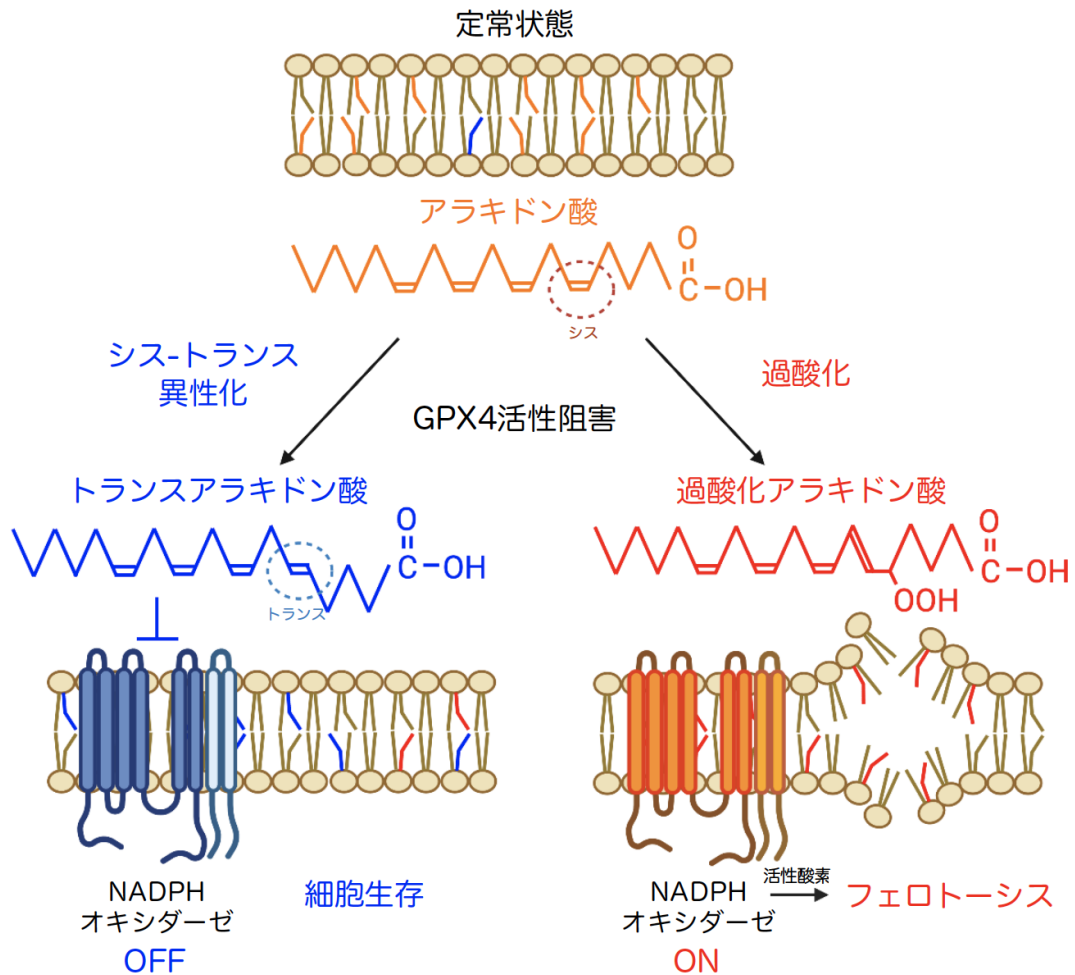


図. トランスアラキドン酸による新規フェロトーシス抑制機構

定常状態では、GPX4 が過酸化脂質を恒常的に消去することで、細胞は生存を維持しているが、GPX4 の活性が何らかの要因で阻害されると、アラキドン酸などの過酸化を受けやすい脂肪酸(二重結合の多い PUFA)が過酸化を受ける。NADPH オキシダーゼは、細胞内の主要な活性酸素の産生源であり、活性酸素の産生によって脂質過酸化反応を促進する。脂質過酸化の蓄積により、最終的に炎症誘導性の細胞の壊死であるフェロトーシスが惹起される。

今回の研究から、GPX4 の活性阻害時に、脂質過酸化反応と並行してシス-トランス異性化反応が起き、アラキドン酸の一部がトランスアラキドン酸に変換されていることが明らかになった。トランスアラキドン酸は、NADPH オキシダーゼの活性を抑制することで、フェロトーシスの進行を食い止める働きがあると考えられる。

【用語説明】

注 1. アラキドン酸

不飽和脂肪酸(シス脂肪酸)の一種で、カルボキシル基から数えて5、8、11、14番目の炭素に二重結合(全てシス型)が付加した、20個の炭素鎖からなるカルボン酸。逆側のメチル基末端から数えると、6番目の炭素に初めて二重結合が現れることから、 ω -6脂肪酸に分類される。

注 2. 分子によって制御される細胞死

多細胞生物において、様々な分子の制御下で引き起こされる細胞死のこと。約50年前に、アポトーシスと呼ばれる、自発的な非壊死性の細胞死が見つかった以降、非壊死性のパーナトス、そしてネクロプトーシス、ピロトーシス、フェロトーシスなどの壊死性の細胞死が次々と発見され、生体内の様々な分子によって、そのON/OFFのスイッチや、強度、持続時間などが、厳密に制御されていることが分かってきた。

注 3. フェロトーシス

2012年に Brent R. Stockwell らによって発見されたプログラム細胞死の一つ(Cell, 149(5), 1060-1072, 2012)。鉄依存的な過酸化脂質の蓄積に伴って、最終的に、細胞膜の破裂を伴う壊死が引き起こされる。当初、Ras変異を有するがん細胞を選択的に殺傷するための機構として発見された経緯もあり、鉄や活性酸素を特に豊富に含むがん細胞が、一般にフェロトーシスに高い感受性を示すことから、有力な新規がん治療戦略の1つとされ、その臨床応用が期待されている。また、神経変性疾患や虚血性疾患など、非常に多くの種類の疾患の病態発症・増悪に寄与することが報告されており、関連疾患の発症機序の解明、新規治療法開発の観点からも、大変注目されている。

注 4. トランスアラキドン酸

アラキドン酸の5、8、11、14番目の二重結合のいずれか1箇所が、シス型からトランス型に異性化した構造を持つ脂肪酸。有機硫黄ラジカル(RS \cdot)による異性化反応は非酵素反応であるため、異性化する位置の選択性は低く、4種類のトランス変換体が混合した状態になる。正式には、モノトランスアラキドン酸と呼称すべきだが、簡単のため、先頭の「モノ」を省略して記載している。

注 5. 脂質過酸化

脂質が過剰な酸化を受ける反応のこと。フェロトーシスに関与する過酸化脂質は、その中でも、リン脂質中に含まれるアラキドン酸のような高度不飽和脂肪酸が過酸化されたものであると考えられている。

注 6. 壊死

広義にはネクローシスと同義で使用されるが、ネクローシスは細胞内外の環境変化によって偶発的、受動的に起きる細胞死として定義されるため、細胞膜の破裂を伴わない自発的な細胞死であるアポトーシスと対極的な意味合いで使用されることが多い。今回本文で用いている壊死は、より狭義の、細胞が細胞膜の破裂を伴って死ぬことを示しており、フェロトーシスをはじめとしたいくつかの分子によって制御される細胞死では、壊死性の細胞死が起きることが知られている。

注 7. シス-トランス異性化

シス型の二重結合が、トランス型に変換される反応のこと。非酵素的に起きる反応と、酵素が触媒して起きる反応の 2 種類があるが、今回脂質過酸化に伴って認められているのは、主に有機硫黄ラジカル(RS \cdot)が担う非酵素的な異性化反応である。

注 8. 有機硫黄ラジカル(RS \cdot)

反応性の高い化学種(ラジカル)のうち、炭素を主な成分とする構造にラジカル化した硫黄が付加した化合物。硫黄化合物の代表的なラジカル体で、酸化ストレスなどによって生体内で産生される。

注 9. RSL3

(1S,3R)-RSL3(RAS synthetic lethality)は、Ras 変異がん細胞を選択的に殺傷可能な薬剤として見出された(Chem Biol., 15(3), 234-245, 2008)。その後、その分子標的が、過酸化脂質の消去を担う主要な酵素 GPX4 であることが判明し、RSL3 は GPX4 の活性中心に共有結合することで、その活性を阻害し、フェロトーシスを誘導することが明らかになった(Cell, 156(1-2), 317-331, 2014)。現在までに、最も汎用されているフェロトーシス誘導剤の 1 つである。

注 10. 活性酸素

ミトコンドリア呼吸の副産物として、あるいは NADPH オキシダーゼなどの酵素的な働きによって、細胞内に生じる反応性の高い酸素分子種の総称。細胞内外からの様々なストレスに曝されることで、さらに産生が亢進することが知られている。DNA やタンパク質などを酸化し、機能障害を引き起こすことで、様々な疾患や老化の原因となる。

注 11. NADPH オキシダーゼ

細胞内において、ミトコンドリアと並んで活性酸素の主要な産生場となる酵素。NADPH + 2O $_2$ + 2e $^-$ → NADP $^+$ + 2O $_2^-$ + H $^+$ の反応を触媒することで、NADPH を利用してスーパーオキシド(O $_2^-$:活性酸素の1つ)を産生する。

注 12. 高度不飽和脂肪酸 (PUFA: polyunsaturated fatty acid)

慣例的に、二重結合が 2 つ以上の脂肪酸を多価不飽和脂肪酸、4 から 5 以上のものを高度不飽和脂肪酸と呼ぶことが多いが、厳密な定義はされていない。代表例は、アラキドン酸、EPA、DHA で、各二重結合を 4、5、6 個持っている。

【参考文献】

1. J. Funct. Foods 2016, 25, 14-24
2. Free Radic. Biol. Med. 2008, 44, 594-601; J. Funct. Foods 2015, 16, 378-385
3. Biochim Biophys Acta - Biomembr. 2012, 1818, 2314-2324

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院薬学研究科

教授 松沢 厚

TEL: 022-795-6829

E-mail: atsushi.matsuzawa.c6@tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院薬学研究科・薬学部 総務係

TEL: 022-795-6801

E-mail: ph-som@grp.tohoku.ac.jp