

リソソームにおける脂質過酸化反応を起点とした フェロトーシス実行メカニズムの解析

齋元, 祐真

<https://hdl.handle.net/2324/7363732>

出版情報 : Kyushu University, 2024, 博士 (創薬科学), 課程博士
バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (2)



氏 名 : 斎元 祐真

論文題名 : リソソームにおける脂質過酸化反応を起点としたフェロトーシス実行
メカニズムの解析

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

【序論】

フェロトーシスは、鉄依存的な脂質過酸化反応 (LPO)によって引き起こされる細胞死として、2012 年に提唱された。フェロトーシスの誘導や阻害は、がんや神経変性疾患、臓器障害の新たな治療法として注目を集めており、フェロトーシスをキーワードとした論文数は指数関数的に増加している。特に近年、フェロトーシスの誘導・抑制因子の同定と理解が進み、細胞死の最終段階で形質膜が壊れることが明らかにされた。しかしながら、フェロトーシスの直接的な原因である LPO の発生起源については未だ議論が続いている。これまでに、LPO 検出蛍光プローブを用いた解析の結果、フェロトーシス誘導時には様々な細胞内小器官で LPO が生じることが報告されたものの、どの部位で生じる LPO が細胞死のトリガーとなるのかについては解明されていない。ここで著者は、既報の LPO 検出プローブが LPO 阻害剤として機能する性質に着目した。このことから、これらプローブがフェロトーシス誘導の原因分子と反応する場合、プローブ自身が阻害剤として作用し、細胞死を抑制することが予想される。さらに、プローブが細胞死を抑制する条件において LPO を可視化することで、細胞死に関わる LPO の生成部位を特定できるのではないかと考えた。以上の背景より、本研究ではフェロトーシスに重要な LPO 生成部位の同定と、その部位に焦点を当てた細胞死実行メカニズムの解明を目指した。

【結果・考察】

既報の LPO 検出プローブ NBD-Pen、C11-BODIPY、Liperfluo がフェロトーシスの原因分子を検出可能か明らかにするため、各種プローブのフェロトーシス抑制効果を評価したところ、NBD-Pen が最も効果的に細胞死を抑制した。この細胞死抑制条件における NBD-Pen イメージングの結果、フェロトーシス誘導初期にリソソームで LPO が生じることを初めて明らかにした。NBD-Pen が細胞全体に分布することを考慮すると、これらの結果はリソソーム内 LPO がフェロトーシス誘導の原因であることを強く示唆するものである。これをさらに調べるため、リソソーム移行性基を付加した NBD-Pen 類似体 Lyso-NBD-Pen を合成し、フェロトーシス抑制効果を解析した。その結果、NBD-Pen に比べて Lyso-NBD-Pen はより効果的にフェロトーシスを阻害可能であることが示され、フェロトーシス誘導におけるリソソーム LPO の重要性がさらに裏付けられた。

続いて、リソソームの LPO がどのようにして細胞死を誘導するのか調査した。脂質膜は酸化されると膜透過性が増加することを踏まえ、著者はリソソーム膜透過性亢進 (LMP)に着目した。解析の結果、フェロトーシス進行時に LMP が生じ、これはリソソームの LPO を阻害する NBD-Pen や Lyso-NBD-Pen によって抑制された。また、フェロトーシス誘導剤で処理すると、リソソーム内に豊富に存在する Fe^{2+} が LMP を介して細胞全体へ拡散することが示された。重要なことに、LMP 拡散後に NBD-Pen を処理した場合のイメージングでは、細胞全体に広がって蛍光が観察された。これらの結果は、リソソームの LPO を起点とした LMP 誘導とそれに伴うリソソーム内 Fe^{2+} 拡散が、細胞全体への LPO 拡大を引き起こすことで、細胞死を決定付けることを示唆している。

これまでに、フェロトーシスに対する感受性が低い細胞種が存在することが報告されており、フェロトーシスを応用したがん治療を制限することから、低感受性克服は解決すべき重要な課題である。フェロトーシス低感受性細胞における RSL3 応答を解析したところ、リソソームの LPO は惹起された一方で、LMP は観察されなかった。そこで、フェロトーシス誘導と LMP 促進を組み合わせることで、低感受性細胞においてもフェロトーシスを誘導可能になるのではないかと考えた。LMP 誘導を促進するクロロキン (CQ)などのリソソーム指向性薬剤とフェロトーシス誘導剤を同時処理した結果、フェロトーシス感受性が亢進した。重要なことに、CQ と RSL3 を処理した細胞では LMP が観察され、細胞質の Fe^{2+} が増加した。以上の結果から、リソソーム指向性薬剤の併用により、LMP を介したリソソーム内 Fe^{2+} 拡散が促されることで、低感受性細胞においてもフェロトーシスを誘導可能になることが示された。さらに、CQ 処理と GPX4 欠損の組み合わせは、動物腫瘍モデルにおいてもフェロトーシスを誘導し、腫瘍発達を抑制することを明らかにした。本研究結果は、GPX4 と他の LPO 抑制酵素の同時阻害という既報のアプローチとは全く異なる低感受性克服戦略を示唆するものである。

【結論】

以上をまとめると、本研究は、LPO 検出蛍光プローブの性質を理解し巧みに利用することで、フェロトーシス誘導初期にリソソームで LPO が生じることを初めて明らかにし、このリソソーム内 LPO と LMP がフェロトーシス誘導に極めて重要であることを実証した。さらに、リソソーム指向性薬剤による LMP の促進は、フェロトーシス低感受性を克服できる

可能性を示した。これらの知見は、従来の LPO 抑制酵素のみを標的とする戦略とは全く異なったフェロトーシス誘導によるがん治療法の可能性を拓くものである。

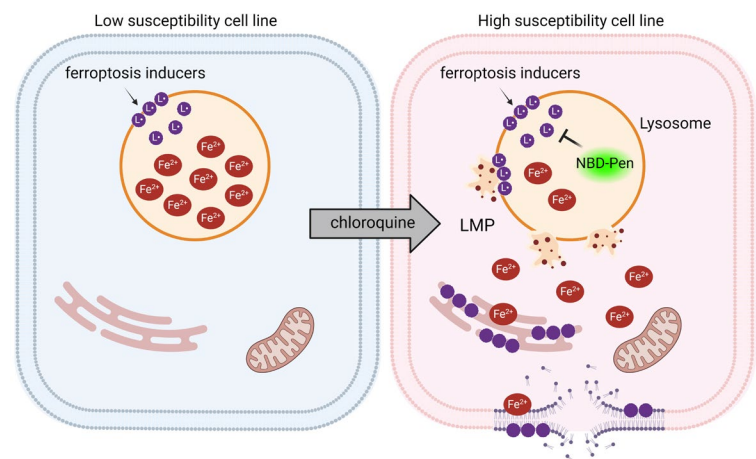


Figure. Model illustrating the mechanism of cell death initiated by lysosomal LPO. Purple closed circles represent lipid radicals. Created in BioRender.com.