



NewsLetter

自治医科大学 地域医療オープン・ラボ

2024
summer
特別号

コレステロール合成経路の阻害が脂質過酸化による 細胞死を抑制する仕組みを解明

自治医科大学 分子病態治療研究センター 炎症・免疫研究部の山田 直也博士研究員（現在、ドイツ留学中）、唐澤 直義講師、高橋 将文教授、内分泌代謝学部門 石橋 俊 前教授らはコレステロール合成経路の最終段階を担う酵素である DHCR7 の阻害がフェロトーシスと呼ばれる細胞死を強力に抑制する作用があることを新たに発見しました。今回、その研究成果が Nature Communications 誌に掲載されましたので、唐澤講師に研究の意義と経緯を伺いました。

論文名：Inhibition of 7-dehydrocholesterol reductase prevents hepatic ferroptosis under an active state of sterol synthesis

著者名：Naoya Yamada*#, Tadayoshi Karasawa*#, Junya Ito, Daisuke Yamamuro, Kazushi Morimoto, Toshitaka Nakamura, Takanori Komada, Chintogtokh Baatarjav, Yuma Saimoto, Yuka Jinnouchi, Kazuhisa Watanabe, Kouichi Miura, Naoya Yahagi, Kiyotaka Nakagawa, Takayoshi Matsumura, Ken-ichi Yamada, Shun Ishibashi, Naohiro Sata, Marcus Conrad, Masafumi Takahashi#
（*共同筆頭著者, #共同責任著者）

掲載誌：Nature Communications

DOI：10.1038/s41467-024-46386-6

Q1. フェロトーシス（Ferroptosis）とは？

フェロトーシスは 2012 年に Stockwell らによって鉄依存的な細胞死として提唱された、細胞膜のリン脂質の酸化によって引き起こされる細胞死です。近年、神経変性疾患や虚血再灌流による臓器障害、非アルコール性脂肪肝炎などの様々な病態にフェロトーシスが関与することが報告され、フェロトーシスの制御が有効な治療標的になることが期待されています。

Q2. 研究のきっかけは？

私たちの研究グループは肝臓の虚血再灌流障害や、アセトアミノフェン急性肝不全においてフェロトーシスが重要な役割を果たしていることを見つけていましたので（Am J Transplant 2020; Cell Death Dis 2020）、フェロトーシス制御因子の探索がこれら肝疾患の新たな治療法の開発に繋がると考えていました。研究を開始した時期に、偶然、別のプロジェクトに関連して遺伝子欠損の影響を網羅的に探索する手法であるゲノムワイド CRISPR スクリーニングによる解析手法を立ち上げていたので、フェロトーシス制御因子の探索に利用してみたところ、候補となる遺伝子としてコレステロール合成酵素である DHCR7 が同定されました。幸いにも、コレステロール合成経路に関する研究のご経験が豊富な石橋先生らにご協力いただけることになり、良い研究体制を組んで研究に着手することができました。

Q3. 今回の研究成果を教えてください。

ゲノムワイド CRISPR スクリーニングスクリーニングではヒト遺伝子を網羅的に標的にした gRNA と Cas9 遺伝子を導入することで、網羅的に遺伝子を欠損した細胞の集団を作成し、特定の細胞の表現型に影響する遺伝子を探索することができます。今回の研究では肝臓におけるフェロトーシスの制御因子を新たに見つけるため、ヒト肝がん細胞株 (Huh-7) にライブラリを導入し、フェロトーシスを誘導する GPX4 阻害剤を用いたセレクションを実施した結果、生存した細胞の大部分が DHCR7 遺伝子を欠損していることが明らかになりました (図)。実際に DHCR7 欠損細胞を作成し、解析してみると、DHCR7 欠損細胞は、種々のフェロトーシス誘導刺激に対して抵抗性であり、フェロトーシスの指標である過酸化リン脂質の生成が抑制されることがわかりました。また、DHCR7 欠損細胞では、基質となる 7-デヒドロコレステロール (7-DHC) が蓄積すること、7-DHC はラジカルスカベンジャーとして機能し、リン脂質の酸化を保護することもわかりました。さらに、DHCR7 阻害が肝臓におけるフェロトーシス関連病態を抑制するかを検証するために、DHCR7 阻害剤の効果をマウスにおいて検証したところ、DHCR7 阻害剤は肝臓の虚血再灌流障害を抑制することが明らかになりました。

Q4. 今後どのようなことが期待されますか？

肝臓においてフェロトーシスは、虚血再灌流障害、アセトアミノフェン急性肝不全、ヘモクロマトーシス、非アルコール性脂肪肝炎、アルコール関連疾患など多岐にわたる病態に関与することが示されています。本研究では、DHCR7 阻害が虚血再灌流障害などの急性肝障害に有効であることが示唆されましたが、今後、他の疾患への有効性についても、検証を進めたいと考えています。また、7-DHC やその酸化物が、抗酸化能や酸化ストレスの指標として利用することができないか検討を進めていく予定です。

【Rebuttal (反論) のすすめ？】

この論文は、記録上では、2023 年 10 月に投稿、翌年 2 月に採択となっています。実際には採択までのプロセスはずっと時間がかかっている、2022 年 6 月に初稿を掲載誌の系列誌に投稿していました。査読では膨大な要求を受けましたが、共同研究者らの助けもあり、1 年近い追加実験の末、ほぼ要求に応えるデータを揃えることができました。しかし、この時点で競合研究グループからの論文が Nature 誌に採択間近という情報があり、急かされる形で再投稿したところ、査読者 1 名からの強固な反対に遭い不採択となってしまいました。投稿プロセスをやり直す時間の猶予もなかったことから、補足データを追加して、粘り強く Rebuttal (反論) のレターを編集部へ送ることにしました。その結果、不採択は覆すことができなかったものの、掲載誌へのトランスファーという譲歩案を引き出すことができ、最終的には掲載に至りました。不採択のメールをもらった時には、気落ちするものだと思いますが、諦めずに Rebuttal してみると、首の皮一枚つながるかもしれません。

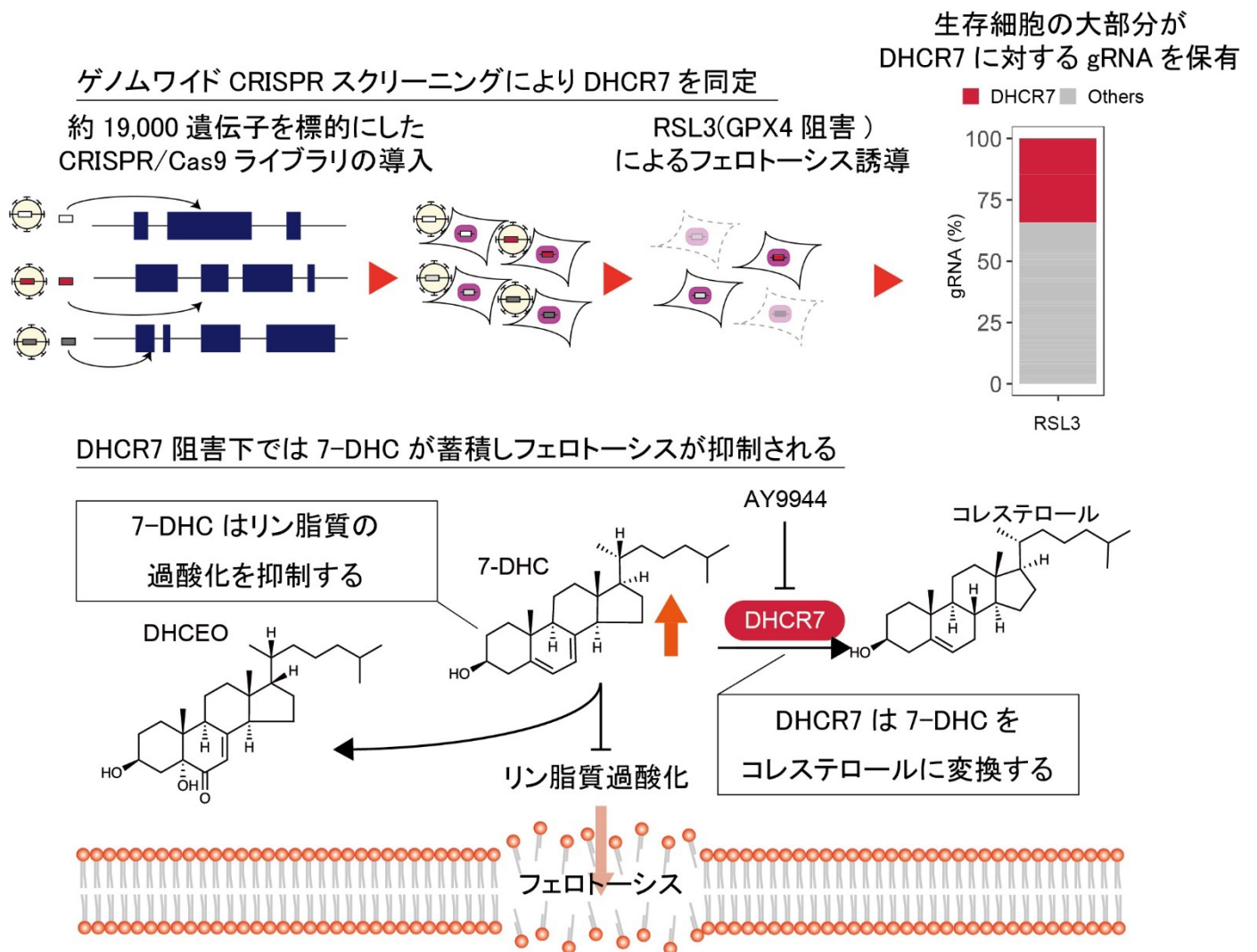


図. 新規フェロトーシス制御因子として DHCR7 とその基質 7-DHC を同定

ゲノムワイド CRISPR スクリーニングを用いて、Gpx4 阻害剤 RSL3 により誘導されるフェロトーシスに対して欠損の結果、抵抗性を示す遺伝子として DHCR7 を同定した。DHCR7 はコレステロール合成経路の最終段階で 7-デヒドロコレステロール (7-DHC) をコレステロールに変換する。DHCR7 の欠損あるいは阻害下においては 7-DHC が蓄積し、リン脂質過酸化を抑制することでフェロトーシスを阻害する。

【発行】

自治医科大学地域医療オープン・ラボ