



自治医科大学
Jichi Medical University



東北大学
TOHOKU UNIVERSITY



九州大学
KYUSHU UNIVERSITY

Press Release

報道関係者各位

2024年3月14日

学校法人自治医科大学
国立大学法人東北大学
国立大学法人九州大学

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
— 肝疾患に対する治療法の開発に繋がる研究成果 —

【研究成果のポイント】

- 網羅的な遺伝子スクリーニングにより、肝臓においてフェロトーシス^(*注1)(脂質過酸化細胞死)を制御する因子としてコレステロール合成経路の最終段階を担う酵素 DHCR7^(*注2)を特定しました。
- DHCR7 の働きを抑えると、その基質である 7-デヒドロコレステロール(7-DHC)^(*注3)が蓄積し、抗酸化物質として働くことで、細胞死を抑制することがわかりました。
- DHCR7 の阻害によるフェロトーシス抑制作用は、コレステロール合成経路の活性に依存しており、肝臓でのフェロトーシス抑制に効果的に働くことを明らかにしました。

【概要】

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 研究員、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、東北大学大学院農学研究科 伊藤隼哉 助教、仲川清隆 教授、九州大学大学院薬学研究院 山田健一 教授らとともに、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。また、DHCR7 の基質であり、プロビタミン D3 としても知られる 7-デヒドロコレステロール(7-DHC)がラジカルスカベンジャーとして働き、DHCR7 の阻害によるフェロトーシス抑制作用を担っていることがわかりました。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(AI9944)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。

本研究は英国科学雑誌 Nature Communications に3月12日付けでオンライン掲載されました。
(DOI 10.1038/s41467-024-46386-6)

【背景】

近年、これまで偶発的なネクローシスと考えられてきた細胞死の中にも、死を制御するプロセスが存在する Regulated cell death (RCD) (*注 4) が含まれることが明らかになってきました。病態に特異的に起きてくる RCD を制御する方法を確立することができれば、治療方法の確立に有用であると期待されます。フェロトーシスは細胞膜のリン脂質の過酸化によって引き起こされる細胞死であり、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した。私たちはこれまでの研究で、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組織傷害に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、肝臓でのフェロトーシス制御因子の探索がこれらの治療方法の開発に繋がると考えました。

【研究成果】

本研究チームは、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) を用いて、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 (*注 5) による解析を実施しました。GPX4 (*注 6) 阻害剤である RSL3 によりフェロトーシスを誘導するセレクションの結果、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。一方、DHCR7 は 7-DHC をコレステロールに変換する酵素であることから (図)、DHCR7 欠損細胞では、7-DHC が蓄積することでフェロトーシスに対して抵抗性になるのではないかと想定して検証を進めたところ、蓄積した 7-DHC はラジカルスカベンジャーとして機能し、リン脂質の代わりに酸化されることで、リン脂質の過酸化を保護することがわかりました。さらに、DHCR7 を阻害することによって誘導されるフェロトーシス保護作用はコレステロール合成が活発な細胞において生じ、肝細胞において特徴的な作用であることがわかりました。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 (AY9944) 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。

【今後の展望】

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、非アルコール性脂肪肝炎など、他の慢性疾患への有効性についても、さらなる展開が期待されます。また、生理的な範囲内、あるいは病態における 7-DHC の変動

がフェロトーシス制御に関与するかなど、7-DHC の未知の役割と疾患との関連についても解明が待たれます。

【謝辞】

本研究は 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((20K22940; 21K08114)、日本医療研究開発機構(AMED)(JP21gm0910013)、公益財団法人 武田科学振興財団研究助成事業、公益財団法人 日立財団倉田奨励金、一般社団法人日本臓器保存生物医学学会、公益財団法人 喫煙科学研究財団の支援を受けて行われました。

【論文情報】

掲載誌: Nature Communications

タイトル: Inhibition of 7-dehydrocholesterol reductase prevents hepatic ferroptosis under an active state of sterol synthesis

著者: 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)

DOI: 10.1038/s41467-024-46386-6

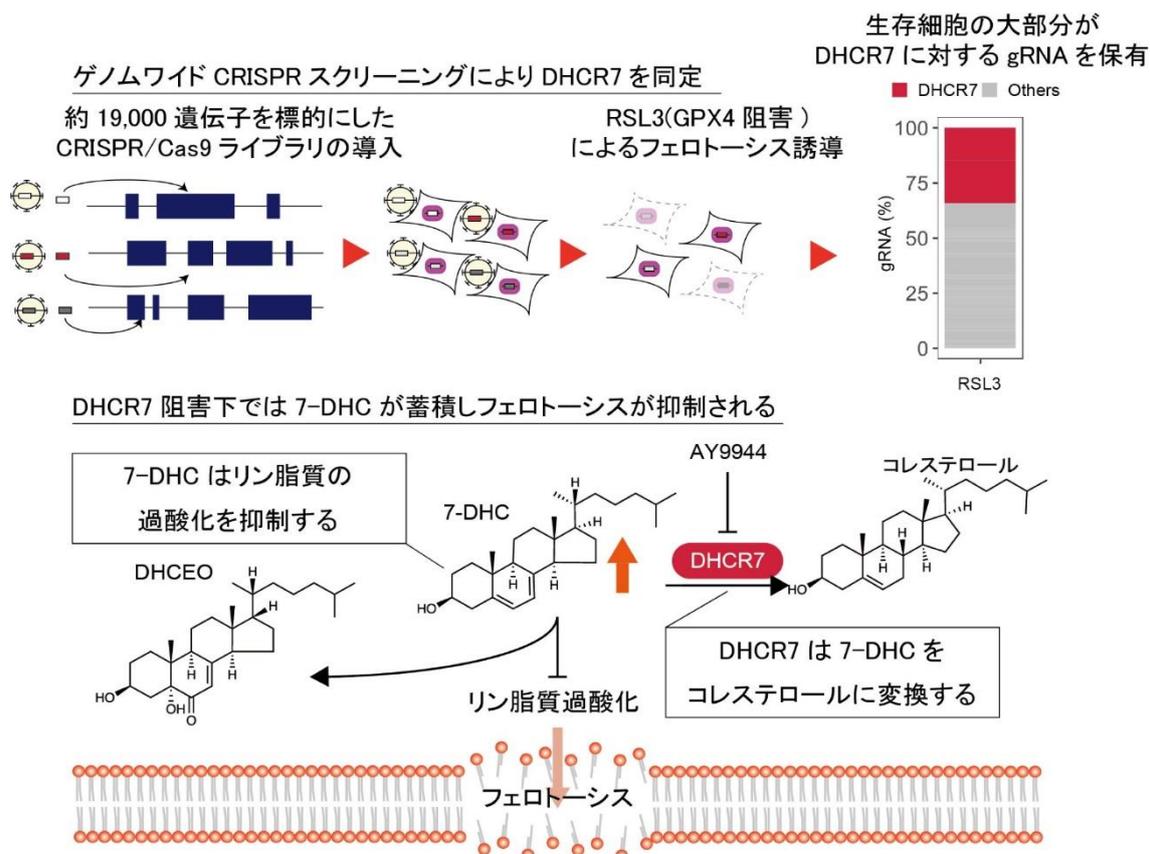


図. 新規フェロトーシス制御因子として DHCR7 とその基質 7-DHC を同定

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。

【用語説明】

- 注1. フェロトーシス: 2012 年に新たに提唱された、制御された細胞死の一つ。細胞膜のリン脂質が過酸化を受けることによって引き起こされる細胞死。
- 注2. DHCR7: コレステロール合成経路(Kandutsch-Russell 経路)の最終段階を担う酵素。ラノステロールから合成された 7-デヒドロコレステロールをコレステロールに変換する。
- 注3. 7-デヒドロコレステロール(7-DHC): コレステロールの前駆体であり、B 環内に二つの不飽和結合を有する特徴をもつ。プロビタミン D3 としても知られ、紫外線による開裂を受けることで、ビタミン D3 合成にも利用される。
- 注4. Regulated cell death(制御された細胞死): 偶発的なネクローシスとは異なり、アポトーシスなどのように遺伝的にコードされた機構により実行される細胞死

注5. ゲノムワイド CRISPR スクリーニング: CRISPR/Cas9 の技術を応用した特定の機能に影響する遺伝子を探索する手法。遺伝子を網羅的に標的にした gRNA と Cas9 タンパク質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る。

注6. GPX4: グルタチオンペルオキシダーゼ 4。過酸化脂質を還元する酵素であり、細胞をフェロトーシスから保護する上で中心的な役割を果たす酵素。

本研究に関する問い合わせ先

<研究について>

学校法人 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 研究員 山田 直也(ヤマダ ナオヤ)
(現: ヘルムホルツ研究センターミュンヘン [ドイツ])

E-mail Naoya.Yamada@helmholtz-munich.de

学校法人 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 講師 唐澤 直義(カラサワ タダヨシ)

TEL: 0285-58-7446

E-mail tdys.karasawa@jichi.ac.jp

学校法人 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 教授 高橋 将文(タカハシ マサフミ)

E-mail masafumi2@jichi.ac.jp

国立大学法人 東北大学大学院農学研究科
食品機能分析学分野 助教 伊藤 隼哉(イトウ ジュンヤ)

TEL: 022-757-4419

Email: junya.ito.d3@tohoku.ac.jp

<プレスリリースについて>

学校法人 自治医科大学 大学事務部研究支援課

TEL: 0285-58-7550

E-mail: shien@jichi.ac.jp

国立大学法人 東北大学大学院農学研究科 総務係

TEL: 022-757-4003

Email: agr-syom@grp.tohoku.ac.jp

国立大学法人 九州大学 広報課

TEL: 092-802-2130

Email: koho@jimukyushu-u.ac.jp