

研究課題名 脂質過酸化が関与するネクローシスの分子機構解明への化学的挑戦



理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員

そでおか みきこ
袖岡 幹子

研究課題番号： 21H05029

研究者番号： 60192142

研究期間： 令和3年度～令和7年度 研究経費（期間全体の直接経費）： 141,600千円

キーワード： 細胞死、ネクローシス、脂質過酸化、アフィニティーラベリング

【研究の背景・目的】

細胞死は生命現象の中でも最も根幹的な事象であり、そのしくみの解明は生命科学の最も重要な命題のひとつであると言っても過言ではない。その制御異常は癌、自己免疫疾患、神経変性疾患など様々な疾病をひきおこす。アポトーシス（自死）という積極的な細胞死形態の存在が明らかになった1980年代以降、細胞死研究が活発となり、アポトーシスに関する細胞内情報伝達機構が解明された。一方、細胞の膨化や破裂を伴うネクローシス（壊死）と呼ばれる細胞死は、強い傷害により起こる受動的な細胞死であると考えられていた。しかし2000年代に入り、制御機構をもつ様々なタイプのネクローシスが見出され、中でも脂質過酸化が関与するネクローシスは、様々な疾患との関連から注目を集めている。

我々は、酸化ストレスによって誘導されるネクローシスを選択的に抑制するIM化合物を開発し(*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3114)、心筋梗塞モデルにおいて優れた保護効果を示すことを明らかにした(*ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 182)。また、IM化合物は、ネクローシスの中でも、脂質過酸化が関与するという共通点をもつフェロトーシスとネトローシスと呼ばれる2つのタイプの細胞死のみを抑制し、その他の細胞死は抑制しないこともわかった(*ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, *10*, 1272)。フェロトーシスは細胞内の鉄が関与して脂質過酸化が起こる細胞死として知られ、またネトローシスは好中球が自らのDNAなどを含むNETs (Neutrophil Extracellular Traps) と呼ばれる網を放出して細菌をとらえる特徴的な細胞死である。本研究では、IM化合物などの低分子細胞死制御化合物をプローブとして用い、これら脂質過酸化が関与するネクローシスの制御機構の解明をめざす。

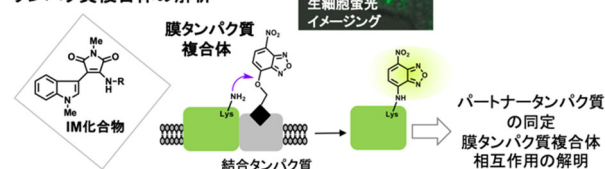
【研究の方法】

我々は、低分子化合物の標的タンパク質同定/蛍光イメージングの手法として、比較的小さな蛍光団であるニトロベンゾキサジアゾール(NBD)を利用したTurn-ON蛍光ラベル化法という独自の方法を開発した(*Chem. Sci.* **2014**, *5*, 1021)。すなわち、生物活性化合物にエーテル結合を介してNBDを結合させると(O-NBD: 無蛍光)、優れたアフィニティーラベル化プローブとなる。O-NBDプローブは、標的タンパク質に結合すると、近接効果により近傍のリジン残基による選択的な置換反応を受け、N-NBDとなり蛍光がONになる。また、光反応性基と異なり、O-NBDはリジン残基と出会うまで分解しないことから、標的タンパク質や結合部位の同定だけでなく、適切な導入位置とリン

生細胞 Turn-ON 蛍光ラベル化法



タンパク質複合体の解析



カーを選べば、タンパク質複合体の解析も可能となる。

これまでの研究から、IMの標的が膜タンパク質複合体である可能性が示唆されている。そこでIM化合物の標的タンパク質複合体を、NBD法を用いて解析し、その分子実体を明らかにすることにより、フェロトーシスとネトローシスに共通する制御機構を解明する。また、フェロトーシス様の細胞死を誘導する化合物、ネトローシスの誘導促進剤や抑制剤も既に見出しており、NBD法などの化学的手法を駆使してこれらの化合物の作用機序解明を行うことにより、フェロトーシスやネトローシスにユニークな制御機構にも迫る。

【期待される成果と意義】

フェロトーシスは心筋梗塞や脳梗塞などの虚血再灌流障害に、またネトローシスは免疫の活性化に重要な役割を果たしていることから、その制御機構の解明は、これらの疾患の新たな治療薬の開発にも寄与すると期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ T. Yamaguchi, M. Asanuma, K. Dodo, M. Sodeoka *et al.* Turn-ON Fluorescent Affinity Labeling Using a Small Bifunctional *O*-Nitrobenzoxadiazole Unit: Selective Labeling and Imaging of Target Protein. *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 1021-1029.
- ・ K. Dodo, Yotsumoto, K. Asano, T. Suda, M. Tanaka, and M. Sodeoka *et al.* Development of a water-soluble indolylmaleimide derivative IM-93 showing dual inhibition of ferroptosis and NETosis. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, *10*, 1272-1278.

【ホームページ等】

<http://soc.riken.jp>
https://www.riken.jp/research/labs/chief/synth_org_chem/