

低温ストレスにより細胞死が誘導されるメカニズムを解明

1. 発表者：

中村 俊崇 (東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 博士課程 1年)

名黒 功 (東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 准教授)

一條 秀憲 (東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 教授)

2. 発表のポイント：

- ◆低温ストレスにより誘導されるフェロトーシス (注1) の実行過程において MICU1 (注2) がミトコンドリアの膜電位の上昇を介して過酸化脂質の蓄積に寄与することを明らかにした。
- ◆MICU1 依存的なミトコンドリアの Ca^{2+} 恒常性維持機構 (注3) と膜電位の過分極 (注4) という一連のシグナルが過酸化脂質 (注5) とその後のフェロトーシス実行に関与していることが明らかになった。
- ◆臓器移植時の低温保存中での臓器損傷を低減する臓器保存薬の開発や、がんや神経変性疾患 (注6) をはじめとする各種フェロトーシス関連疾患への新規治療薬の開発が期待される。

3. 発表概要：

東京大学大学院薬学系研究科博士課程1年の中村俊崇 大学院生、名黒功 准教授、一條秀憲教授らの研究グループは、ゲノムワイド CRISPR スクリーニングと呼ばれる CRISPR/Cas9 システム (注7) を用いた遺伝子欠損スクリーニングにより、低温ストレスにより誘導されるフェロトーシスという細胞死に関与する遺伝子を網羅的に探索し、その結果、ミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入を制御することで知られる MICU1 の新たな同定に成功しました。さらに、MICU1 依存的なミトコンドリアでの Ca^{2+} 濃度の変化と膜電位の過分極という一連のシグナル伝達が、細胞死の原因となる過酸化脂質の蓄積に寄与することを、明らかにしました。TRPM8 (注8) を介した、低温ストレス依存的な Ca^{2+} 濃度の変化がこの細胞死の誘導の一部を担っていることも示唆されました。

本研究成果は、臓器移植時の低温保存中での臓器損傷を低減する臓器保存薬の開発や、がんや神経変性疾患をはじめとする各種フェロトーシス関連疾患への新規治療薬の開発につながることが期待されます。

4. 発表内容：

<研究の背景>

生物は絶えず環境から紫外線や温度変化など様々なストレスに晒されています。こうしたストレスが致死的なレベルに達すると細胞は細胞死を引き起こし、それが組織や臓器で生じると組織壊死や臓器障害などに繋がります。

こうした細胞死の中でも、鉄イオン依存的で過酸化脂質の蓄積により誘導されるフェロトーシスは、近年、神経変性疾患やがんなど様々な疾患に関与することが明らかになり、注目を集めています。本研究グループは、細胞が長時間の低温ストレスにさらされると、過酸化脂質が蓄積し、ストレス応答性 MAPK 経路の ASK1-p38 経路 (注9) が活性化され、フェロトーシスが誘導されることを過去に明らかにしていました。また、臓器を低温保存した際にも同様にフェロトーシスを介した細胞障害が見られることが知られていましたが、低温ストレスにより過酸化脂質が蓄積する分子機構についての知見はほとんどありませんでした。

<研究の詳細>

本研究グループは、ゲノムワイド CRISPR スクリーニングと呼ばれる CRISPR/Cas9 システムを用いた遺伝子欠損スクリーニングにより、網羅的に低温ストレス誘導性のフェロトーシスに関する遺伝子を探索しました。その結果、ミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入を制御することで知られる MICU1 が新たに同定されました。

MICU1 を欠損した細胞では低温ストレス依存的に観察される過酸化脂質の蓄積がみられず、それに続くフェロトーシスの誘導が顕著に抑制されました。さらに MICU1 の機能について変異体を用いた解析により詳細に検討すると、MICU1 の C 末端に存在する MCU や MICU1/2 との結合に必要な部位がこの低温ストレス依存的な過酸化脂質の蓄積とフェロトーシスに必要であることが明らかとなりました。

また、MICU1 欠損細胞では低温ストレス依存的なミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入が減少しており、それにより、低温ストレス依存的なミトコンドリア膜電位の過分極が抑制されることで過酸化脂質の蓄積が抑制されていることが示唆されました。さらには、ミトコンドリアの膜電位の過分極を抑制することで、過酸化脂質の蓄積とフェロトーシスが抑制されることが明らかになりました。これらの一連の結果から、低温ストレス誘導性のフェロトーシスでは過酸化脂質の産生がミトコンドリアを介して行われていることが示唆されました。そこで、細胞内 ROS (注 10) とミトコンドリア ROS のそれぞれに対する特異的な抗酸化剤の影響を比較したところ、ミトコンドリア由来の ROS が低温ストレス依存的なフェロトーシスに大きく寄与していることが明らかになりました。

低温ストレス下でのミトコンドリア Ca^{2+} の動態が過酸化脂質の蓄積に寄与することから、さらに上流の細胞内 Ca^{2+} や低温感受性チャネルに対する影響を検討したところ、低温感受性 Ca^{2+} チャネルの TRPM8 の発現抑制により、過酸化脂質の蓄積とフェロトーシスが部分的に抑制されました。以上のことから TRPM8 など Ca^{2+} チャネルを介して、低温ストレス依存的に増加した細胞内 Ca^{2+} が、MICU1 による制御を介してミトコンドリアへと取り込まれ、膜電位の過分極を引き起こし、それにより過酸化脂質の蓄積と、その下流の ASK1-p38 経路が活性化するという一連の細胞内シグナル伝達がこの細胞死を制御していることが明らかになりました。

<社会的意義・今後の期待 >

本研究成果により、臓器移植時の低温保存中での臓器損傷を低減する臓器保存薬の新規候補標的分子として MICU1 が提示されました。今後 MICU1 欠損マウスを対象とした解析や、最近開発された MICU1 に対する特異的な阻害剤を利用して研究を進めることで、臓器保存薬の改良や新規薬剤の創生につながることを期待されます。

なお、本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の基礎研究事業 (JP20gm5010001)、日本学術振興会の科学研究費助成事業 (JP17H06419、JP18H03995、JP18K19469、JP18H02569、JP15K14445)、公益財団法人薬学振興会の助成を受けて行われました。

5. 発表雑誌:

雑誌名: 「EMBO Reports」 (オンライン版: 4月6日)

論文タイトル: The mitochondrial Ca^{2+} uptake regulator, MICU1, is involved in cold stress-induced ferroptosis

著者: Toshitaka Nakamura, Motoyuki Ogawa, Kazuki Kojima, Saki Takayanagi, Shunya Ishihara, Kazuki Hattori, Isao Naguro*, and Hidenori Ichijo*

DOI 番号 : 10.15252/embr.202051532

アブストラクト URL : <https://www.embopress.org/doi/10.15252/embr.202051532>

6. 問い合わせ先 :

東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 細胞情報学教室

教授 一條 秀憲 (いちじょう ひでのり)

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel : 03-5841-4859

E-mail: ichijo@mol.f.u-tokyo.ac.jp

東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 細胞情報学教室

准教授 名黒 功 (なぐろ いさお)

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel:03-5841-4858

E-mail: nagurois@mol.f.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説 :

(注1) フェロトーシス : 鉄イオンを介した脂質の過酸化により生じるネクローシス (細胞死) の一種。

(注2) MICU1 (mitochondrial calcium uptake 1) : ミトコンドリアのマトリックスへの Ca^{2+} 流入を制御することで知られる分子。

(注3) Ca^{2+} 恒常性維持機構 : ミトコンドリアの膜間腔、マトリックスなど各スペースにおける Ca^{2+} 濃度を調節する機構。

(注4) 膜電位の過分極 : ミトコンドリアの膜には呼吸に伴う電位差が生じており、この膜電位差の上昇のこと。

(注5) 過酸化脂質 : 脂肪酸等に含まれる不飽和結合が活性酸素などで酸化された脂質。

(注6) 神経変性疾患 : アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病など種々の神経に障害が起こる疾患。

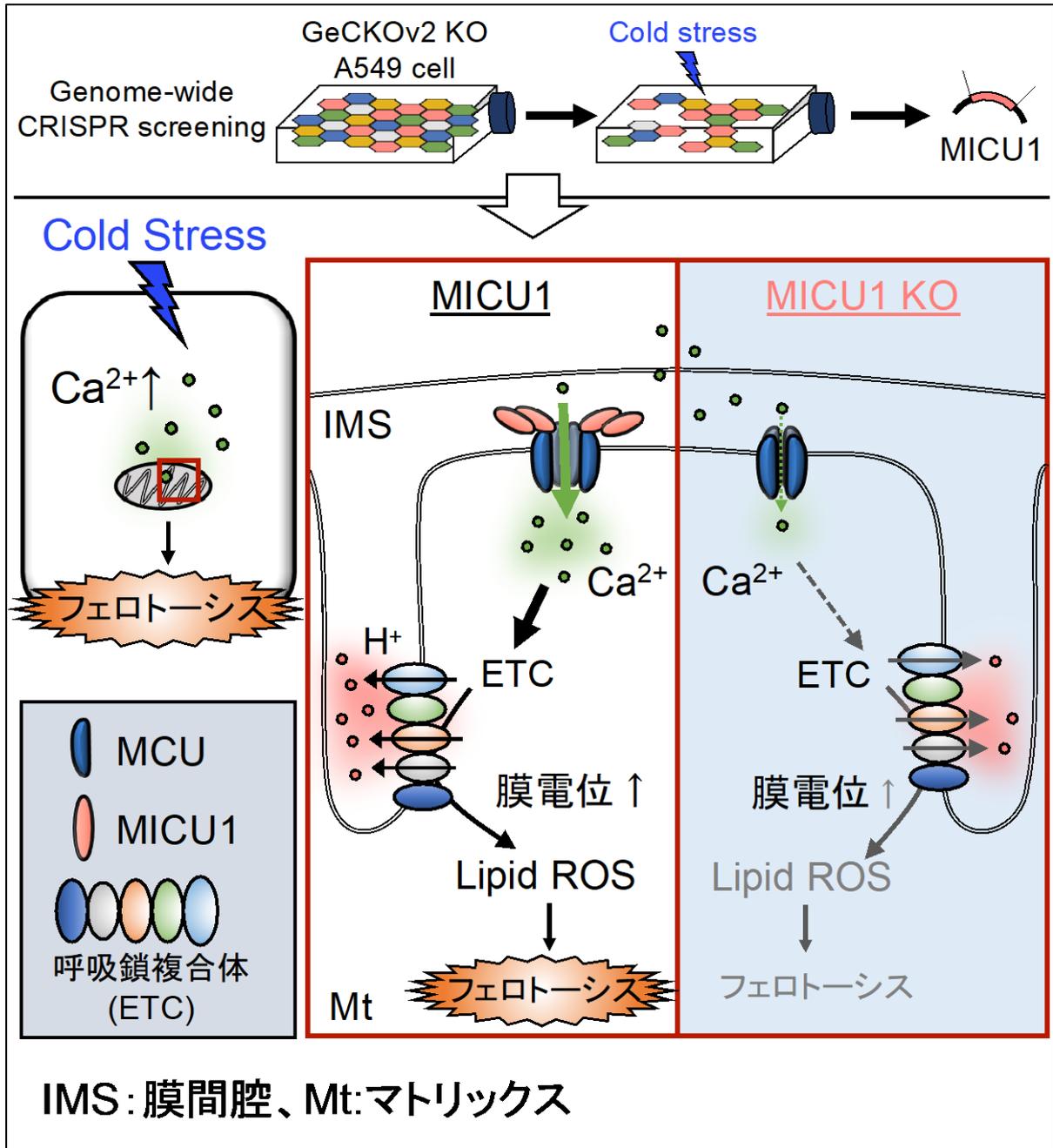
(注7) CRISPR/Cas9 システム : ゲノム上の任意の DNA 配列を切断し、欠失、置換、挿入などを行う遺伝子改変技術。本研究においては、遺伝子機能欠損 (ノックアウト) に用いている。

(注8) TRPM8 : Transient receptor potential チャネルの一種。 Ca^{2+} など陽イオンを細胞内に透過させる。

(注9) ASK1-p38 経路 : 細胞が外界からのストレスの情報を伝達する仕組みの1つ。様々な経路が存在する。

(注10) ROS (reactive oxygen species) : 酸素分子に由来する反応性の高い分子群。

8. 添付資料：



図：低温ストレス依存性フェロトーシスを制御するメカニズム

本研究では、CRISPR/Cas9 スクリーニングにより、低温ストレスにより引き起こされる細胞死に MICU1 が関与することを発見した。低温ストレスにより細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇し、MICU1 を介してミトコンドリア Ca^{2+} が増加することで、ミトコンドリアの電子伝達系 (ETC) が活性化、膜電位の過分極が起こり、過酸化脂質 (Lipid ROS) が産生され、細胞死 (フェロトーシス) につながる。MICU1 を欠損する (MICU1 KO) と、過酸化脂質の産生と細胞死が顕著に抑制された。