

## 審査の結果の要旨

氏名 佐藤 伸一

佐藤伸一は「新規細胞死誘導剤を基盤とした酸化的ストレス誘導性ネクローシスの分子機構解明」と題して、以下の研究を行った。

細胞内のシグナル伝達物質として機能する活性酸素は生命の維持において無くてはならないものであり、酸化的ストレスによる細胞死誘導はこれまでに幅広く研究され、膨大な報告が挙げられている。近年、酸化的ストレスの応答機構と細胞死誘導への関連性が徐々に明らかになってきてはいるが、分子機構に基づいた報告例は少なく、未だ不明な点が多いのが現状である。その原因として、細胞外からの酸化的ストレス刺激は生体内で複雑な活性酸素経路の活性化を起こすこと、与える酸化的ストレスの量で誘導される細胞死経路が異なること、従来の酸化的ストレスとして用いられている薬剤の標的選択性の低さなどが酸化的ストレスにより誘導される細胞死シグナルの解析を困難にしている原因であると考えられる。

佐藤は有機合成化学の手法により、酸化的ストレス誘導性のネクローシスを解析するため、本細胞死に関わる酸化的ストレスのセンシング因子に選択的なケミカルツールを開発した。さらにこれらを、分子生物学を用いた分子機構解明研究に適用・応用させることによって酸化的ストレス誘導性ネクローシスの分子機構解明を目指した。

指導委託先の理化学研究所・袖岡有機合成化学教室では独自の評価系によってカテプシンの阻害剤で知られる Cathepsin Inhibitor-1 (CATI-1; 図 1-A) が酸化的ストレスと同種のネクローシスを示すことを見出していた。そこで、佐藤はカテプシン阻害活性とネクローシス誘導活性が相関しないことから、CATI-1 はカテプシンとは別のタンパク質に作用することでネクローシスを誘導していると考え、CATI-1 からの構造展開を行った。また、構造展開の過程でシステイン残基と反応性を示す CATI-1 の C 末構造はネクローシス誘導活性には必須であったため、これら活性化化合物はネクローシス制御タンパク質を共有結合により直接ラベル化しており、本特性は標的同定の際に大きなメリットになると考えた (図 1-B)。

構造展開の結果、カテプシン阻害活性をほとんど示さずに強いネクローシス誘導活性を示す NecroTrigger-1 (NT-1; 図 1-C) およびその蛍光プローブ NecroTrigger-2 (NT-2; 図 1-D) と命名した化合物群の創製に成功した。

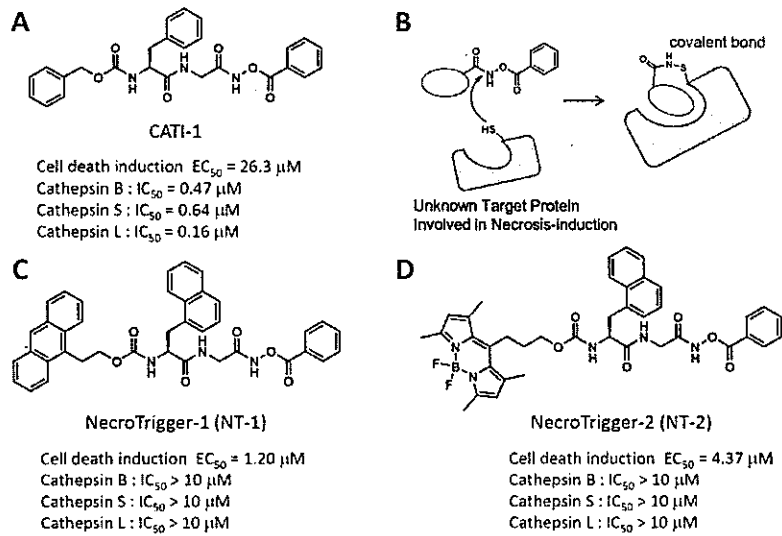


図1 本研究で用いたケミカルツールの創製戦略と構造

従来酸化的ストレスの誘導に用いられてきた過酸化物は自身が活性酸素 (ROS) として振る舞うため、これらを用いた ROS シグナルの解析は困難な点が多いが、NecroTrigger 自身は酸化力を持たないため、生体内で二次的に発生する活性酸素に焦点を当てて解析することができる。この利点を活かし、酸化的ストレス誘導性ネクロシスに関わる ROS シグナルを解析した。その結果、NecroTrigger や酸化的ストレスはミトコンドリア電子伝達系 - complex III から superoxide anion の発生により細胞内の ROS の急激な上昇 (ROS のバースト)、膜過酸化反応を引き起こし、ネクロシスを誘導することを明らかにした。

ネクロシス制御タンパク質の同定においては、NecroTrigger、酸化的ストレスに共通の標的タンパク質として、ミトコンドリア外膜に局在するチャンネル型のタンパク質 VDAC1,2 を同定した。また、VDAC1 のノックダウンによって、上記の ROS シグナルの上昇とそれに伴うネクロシス誘導が抑制されることを見出した。さらに、VDAC1 を詳細に解析した結果、NecroTrigger や酸化的ストレスは鉄イオンの存在によって、VDAC1-Cys127 の分子修飾および酸化が促進されること、VDAC1 の複合体形成変化を介してネクロシスのシグナルが伝わることを示唆された。

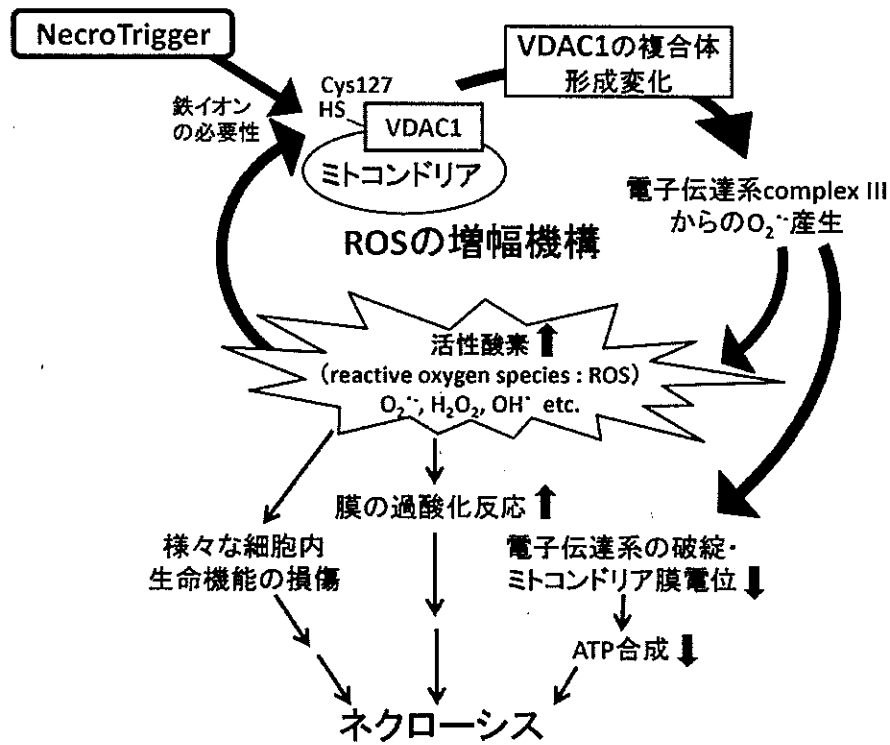


図2 本研究成果より示唆、考察される酸化ストレス誘導性ネクローシスの分子機構

以上、佐藤は有機合成化学、分子生物学の分野の知識、技術を習得、駆使し、ケミカルツールの開発、生物学的活性評価を行い、新たな酸化ストレスのセンシング機構とそれによるネクローシス誘導機構の提唱までに至った。これらの研究成果は酸化ストレスによる細胞死という重要な生命現象の分子機構解明に貢献するものであり、博士（薬学）の学位を授与するに値すると判断した。