

世界初、活性酸素種への多様な細胞内対抗戦略の発見

- 活性酸素種原因の病態発症の抑止、ストレス毒性の制御に期待 -

九州大学生体防御医学研究所の藤木幸夫特任教授（研究当時）、本学大学院理学研究院 奥本寛治助教、米国スタンフォード大学のMichael Bassik教授らの研究グループは、ヒト遺伝子の網羅的解析により、活性酸素種（※1）によるストレス毒性の制御に関わる多様な遺伝子群を世界で初めて同定、過酸化水素分解酵素カタラーゼをはじめ、様々な因子を介した活性酸素種障害対処戦略を発見しました。

ヒトをはじめ大気中の酸素を使ってエネルギーを産生する生物は、副産物として活性酸素種を体内で発生します。活性酸素種は病気の進行・悪化や老化に関わるなど生体にとって非常に有害ですが、私たちの体内には活性酸素種を消去する抗酸化機構が備わっており、活性酸素種由来のストレス毒性から自身を守っています。活性酸素種の生成や消去に関わる因子はこれまでも複数見出されていましたが、その全体像は不明でした。今回、本研究グループは、ヒト全遺伝子に対して網羅的な機能阻害スクリーニング（※2）を行い、過酸化水素や活性酸素種によるストレス毒性の制御に関わる遺伝子群の発見に成功しました。そのなかには、既知の抗酸化酵素群や鉄代謝関連因子等に加えて、カタラーゼやそれを細胞内小器官ペルオキシソーム（※3）へ輸送する複数の因子（PEX遺伝子群）が含まれていました。これらは、以前の藤木らのグループによる、ペルオキシソームから放出されたカタラーゼが抗酸化ストレス反応を担うという発見（Hosoi et al., *J. Cell Biol.* 2017; 2017年2月8日付 本学プレスリリース）と合致する結果であり、カタラーゼの細胞内局在制御の重要性が再認識されました。さらには、ストレス抵抗性獲得におけるグルコースから五単糖類の生合成経路の重要性も見出しました。

本研究の成果は、細胞のストレス毒性に対するペルオキシソームの抗ストレス機能の解明に繋がるだけでなく、さらには、活性酸素種が関与する病気や老化の進行等に対する今後の治療法開発や創薬研究において、本成果で同定された遺伝子群が重要な研究リソースとなることが大きく期待されます。

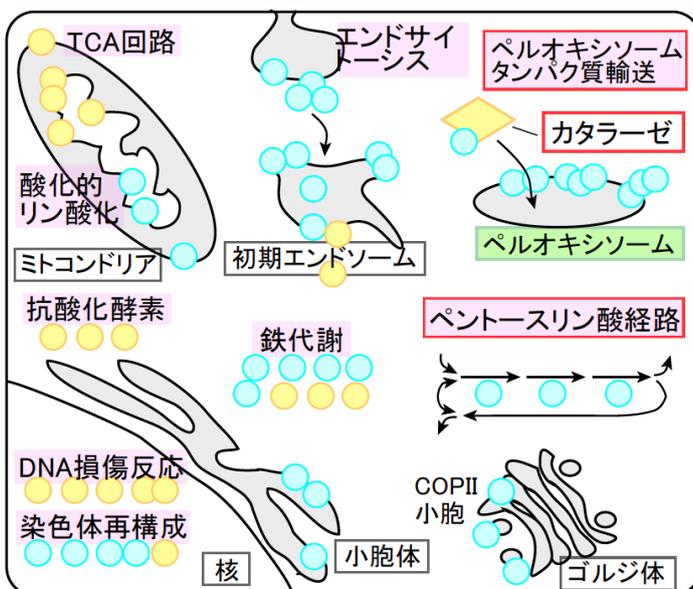


図1. 活性酸素種に対する抵抗性関連因子の概略図。網羅的な解析により、機能阻害によりストレス感受性が増加（水色）、あるいは減少する遺伝子（黄色）が多数同定された。なかでもカタラーゼのペルオキシソーム内への輸送をはじめとする細胞の活性酸素種に由来するストレス毒性への多様な対抗戦略が明らかとなった（ピンク色）。

研究者からひとこと：

大学国際化をにらんだ“世界トップスリー”大学との研究者派遣・招聘と共同研究の特筆すべき成果として評価される。

【お問い合わせ】 基幹教育院-レオロジー機能食品研究所共同研究 代表 藤木幸夫

TEL:092-642-4232 FAX:092-642-4233 Mail: yfujiki@kyudai.jp

理学研究院 助教 奥本寛治

TEL:092-802-4269 FAX:092-802-4330 Mail: k_okumoto@kyudai.jp

【用語解説】

(※1) 活性酸素種

活性酸素種 (ROS: reactive oxygen species) は、反応性の高い酸素種の総称で、本研究で研究対象とした過酸化水素 (Hydrogen peroxide: H₂O₂) をはじめとして、スーパーオキシド、ヒドロキシラジカル、一重項酸素などが含まれる。生体内でのおもな活性酸素の発生源はミトコンドリアであり、酸素を消費してATPを産生する際に活性酸素種を副次的に産生する。生体内には活性酸素種を消去する抗酸化機構が存在するが、それらの抗酸化作用を上回った活性酸素種が“酸化ストレス”と総称されるストレス毒性を発揮する。過剰な活性酸素種はタンパク質や脂質、核酸、糖質などの生体成分を酸化修飾することで、様々な生理機能の低下、疾病の発症や進行、老化の亢進につながると考えられている。

(※2) 機能阻害スクリーニング

ある遺伝子を破壊あるいはその発現を減弱させることで、その遺伝子が持つ機能を阻害し、その結果引き起こされる変化を指標にして薬剤に対する抵抗性獲得などの生体反応に関わる因子を同定する方法。本研究では、ヒト培養細胞を持続的に過酸化水素で処理した環境で培養し、細胞の生育を増進させる(過酸化水素に対して抵抗性を示す)、あるいは生育を阻害させる(過酸化水素に対して感受性を示す)効果を示す遺伝子の探索を行った。ヒト全遺伝子を対象とした機能阻害にはCRISPR/Cas9によるゲノム編集、およびshRNAによるRNA発現阻害を適用した。それぞれのヒト遺伝子機能阻害ライブラリーを導入したヒト培養細胞を用いて、過酸化水素処理に対して抵抗性を示すことにより生き残った細胞を解析し、遺伝子発現頻度が上昇あるいは減少した遺伝子候補をハイスループット塩基配列決定法により検討した。

(※3) ペルオキシソーム

ペルオキシソームはほぼ全ての真核生物に存在する細胞内小器官(オルガネラ)である。ペルオキシソームは生体の生存に必須である。ペルオキシソーム形成に必須な因子(*PEX*遺伝子)の障害は、重篤な代謝異常症であるペルオキシソーム形成不全症を発症することが知られている。ペルオキシソームは極長鎖脂肪酸のβ酸化分解、エーテル型リン脂質やドコサヘキサエン酸(DHA)、胆汁酸の生合成など多様な代謝機能を有する。カタラーゼはペルオキシソーム内に存在する主要酵素であり、ペルオキシソーム内で産生される過酸化水素を分解する。最近私たちは、カタラーゼの細胞内局在制御を介して細胞の抗酸化ストレス応答にも関与することを明らかにしている(Hosoi et al., *J. Cell Biol.* 2017; 2017年2月8日付 本学プレスリリース)。

【原著論文情報】

Authors: Michael M. Dubreuil, David W. Morgens, Kanji Okumoto, Masanori Honsho, Kevin Contrepois, Brittany Lee-McMullen, Gavin McAllister Traber, Ria S. Sood, Scott J. Dixon, Michael P. Snyder, Yukio Fujiki*, and Michael C. Bassik*. (*, Corresponding author)

Title: Systematic identification of regulators of oxidative stress reveals non-canonical roles for peroxisomal import and the pentose phosphate pathway

Journal: *Cell Reports* 30, 1–17 (2020) (2020年2月4日電子版)

DOI: <http://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.01.013>