

審査の結果の要旨

氏名 西田 卓人

酸化ストレスとは細胞内において、抗酸化作用と活性酸素種(ROS)のバランスが崩れて ROS が通常より増えている状態をいう。細胞が酸化ストレスに晒されると様々な生体分子が損傷を受け、細胞死が誘導される。酸化ストレスにより誘導される細胞死はある種の神経変性疾患や虚血再灌流傷害などの病態発現に寄与していることがこれまでに分かっており、その詳細な分子メカニズムの解明はこれら疾患の治療戦略を策定する上で重要であると考えられる。

細胞がストレスを受けた際に生じる細胞死には大きく分けてアポトーシスと呼ばれる細胞死とネクローシスと呼ばれる細胞死が存在する。アポトーシスが一般的に細胞膜の破綻を伴わない細胞死の形態である一方、ネクローシスは細胞膜の破綻を伴った細胞死である。従ってネクローシスは DAMPs をはじめとする細胞内容物の漏出を引き起こし、アポトーシスと比べるとより炎症を起こしやすい細胞死であるといえる。これまでに HeLa 細胞において H_2O_2 を使い酸化ストレスを加えると、その刺激強度によって異なる細胞死が誘導されることが分かっていた。比較的低濃度の H_2O_2 刺激を加えるとアポトーシスが誘導されるのに対して、より高濃度の H_2O_2 刺激を加えるとネクローシスが誘導される。後者のネクローシスに関しては更に ASK1-p38-NR4A2 経路というリン酸化を介したシグナル伝達により制御された細胞死であることも明らかとなっていた。しかしながら高濃度 H_2O_2 刺激時のネクローシス誘導に関するより詳細な分子メカニズムや同じ酸化ストレスでもその強度により細胞死の形態が変化する仕組みについては不明であった。

以上の背景に基づき本研究は、HeLa 細胞に H_2O_2 による酸化ストレスが加わった際に誘導される細胞死の形態を制御する分子メカニズムの解析を行った。以下に本研究によって新たに得られた主要な知見をまとめる。

1. 高濃度 H_2O_2 刺激により誘導されるネクローシスは PARP1 活性依存的な NAD^+ の枯渇により誘導される。
2. 細胞内の NAD^+ 濃度を上昇させるとアポトーシスが、低下させるとネクローシスが誘導される。
3. 低濃度 H_2O_2 刺激の場合でのみ一度低下した細胞内 NAD^+ 濃度の上昇が見られるようになり、この上昇は NAMPT 依存的な salvage 経路によって担われる。
4. 細胞内 ATP 濃度の変化に関しても、低濃度 H_2O_2 刺激の場合でのみ一度低下してからの回復が見られる。
5. NR4A2 は細胞内 NAD^+ 濃度及び ATP 濃度を負に制御することで、細胞死の形態をネクローシス側に寄せている可能性を示唆した。

本研究によって、HeLa 細胞に高濃度 H_2O_2 刺激を加えることで誘導されるネクローシスは PARP1 の活性化による細胞内 NAD^+ の枯渇に依存していることを明らかにした。そして、細胞内 NAD^+ レベルは、酸化ストレスを受けた細胞がアポトーシスとネクローシスのどちらで死ぬのかを決定する上で重要な因子であることを明らかにした。さらには、細胞内 NAD^+ 濃度及び ATP 濃度の変化が、アポトーシスが誘導される場合とネクローシスが誘導される場合とで異なっており、NAMPT を介した NAD^+ の再合成経路が低濃度 H_2O_2 刺激時の NAD^+ 濃度上昇に必要であることが明らかとなった。また、これまでに高濃度 H_2O_2 刺激依存的なネクローシス誘導に必要であることが示されていた NR4A2 が細胞内の NAD^+ 濃度及び ATP 濃度を負に制御することで細胞死の形態をネクローシスよりもシフトさせていることが示唆された。

本研究によって明らかにした酸化ストレスを受けた際に誘導される細胞死の形態制御メカニズムは、酸化ストレスによる細胞死が病態の発現に寄与している神経変性疾患などの治療戦略策定につながる可能性がある。アポトーシスとネクローシスでは特に炎症性という観点から生体に与える影響が異なっており、生体内で生じている細胞死の形態を人為的に操ることで組織での炎症をコントロールし、疾患の治療に役立てるといった応用にも期待ができる。

よって本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。