

令和 3 年 8 月 19 日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18901

研究課題名(和文)ミトコンドリア局在酸化脂質と網膜変性

研究課題名(英文)peroxidized lipids in mitochondria and retinal degeneration

研究代表者

上田 高志(Ueta, Takashi)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・医師

研究者番号：90631573

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：網膜におけるglutathione peroxidase 4 (GPx4)のアイソタイプ特異的なGPx4の役割は明らかになっていない。網膜錐体視細胞では特にミトコンドリアでのエネルギー生成需要が高いことが知られているため、ミトコンドリア型GPx4 (mGPx4)のノックアウト(KO)マウスの網膜について解析を行った。mGPx4 KOマウスでは錐体細胞はその前駆段階で消失していた。一方で、桿体細胞は成熟した発達が認められた後、徐々に細胞死に至った。このcone-rod dystrophy様のフェノタイプは網膜電図でも確認され、ビタミンE食によって部分的にレスキューされることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミトコンドリアは細胞にエネルギーを供給します。ミトコンドリアでの脂質の過酸化を防ぐためにglutathione peroxidase 4 (GPx4)という抗酸化酵素がありますが、今回の研究ではミトコンドリアにおけるGPx4の発現を消去したマウスの網膜について解析を行い、視細胞という視力や色覚に関わる細胞の細胞死を見出しました。このことによって、GPx4によるミトコンドリアでの過酸化脂質の消去が視細胞にとって必須であることが証明されました。

研究成果の概要(英文)：Isotype-specific roles of glutathione peroxidase 4 (GPx4) in the retina had not been clarified. The retina of mitochondrial GPx4 (mGPx4) knockout (KO) mice were investigated, and cone-rod dystrophy-like phenotypes were revealed. The degeneration in mGPx4 KO mice were partially rescued by vitamin E supplementation.

研究分野：網膜疾患

キーワード：ミトコンドリア 過酸化脂質 網膜 視細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Glutathione peroxidase 4 (GPx4)はセレノプロテインの1つである。GPx4は過酸化脂質を還元する働きがあるが、ユニークな点として、生体膜(リン脂質2重膜)内に形成された酸化脂質を直接還元する酵素として認識されている。GPx4は核小体型(n-GPx4)、ミトコンドリア型(m-GPx4)、細胞質型(c-GPx4)のisoformが存在し、c-GPx4がフェロトキシスと呼ばれる細胞死に重要な役割を果たすことがよく知られている。m-GPx4ノックアウト(KO)マウスは精子に異常をきたして男性不妊となることが知られているが、その他の異常は知られておらず、一般的に、m-GPx4は細胞生存には必須ではなく、c-GPx4が細胞の生死に関わると考えられているが詳細は不確定のままである。

2. 研究の目的

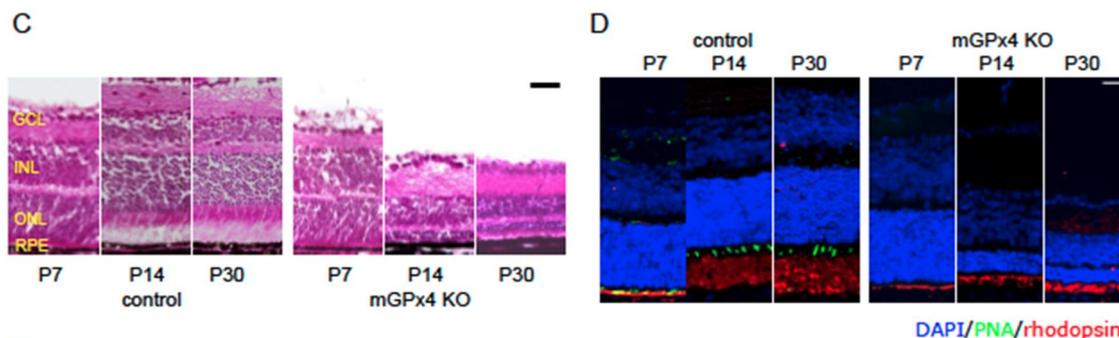
我々がm-GPx4 KOマウスのフェノタイプを検証したところ、視細胞層の消失を観察した。本研究では、m-GPx4も限定的な細胞種に対してではあるが、細胞の生死に影響を及ぼすのではないかという仮説を検証することとした。

3. 研究の方法

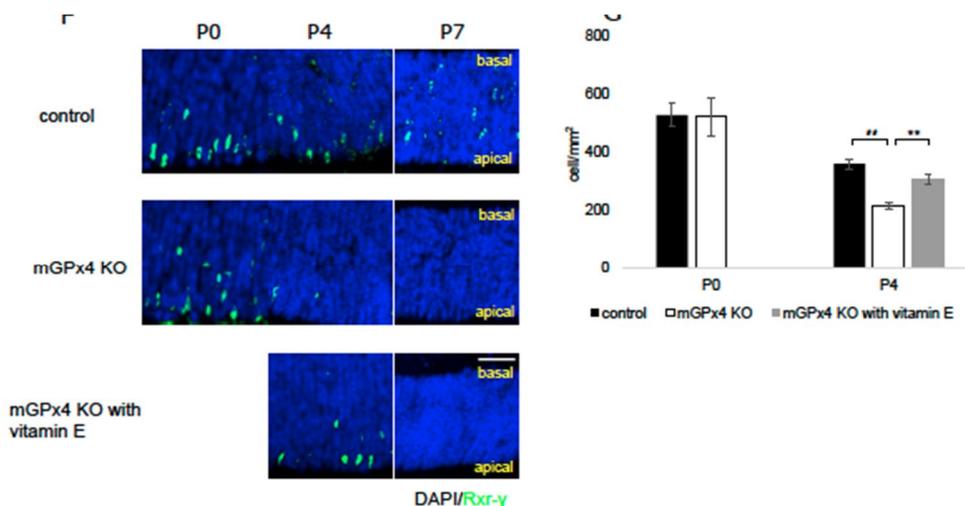
免疫組織学的検討
網膜電気生理学的検討
液体クロマトグラフ質量分析を用いた検討
等

4. 研究成果

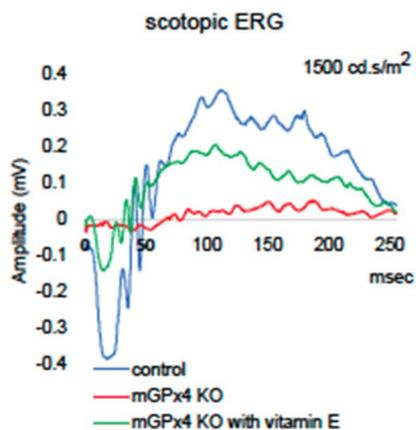
下図のように、controlマウスと比較してm-GPx4 KOマウス網膜は視細胞分化後、急速に変性した。桿体視細胞は残存していたが、PNAで染まる錐体視細胞はp7には既に認められなかった。



下図のように、未成熟な錐体視細胞のマーカであるRxr- γ の発現はm-GPx4 KOマウス網膜でもP0では認められたが、その後消失していた。ビタミンE補充食にてP4までその発現を維持することが可能となり、部分的なレスキュー効果が観察された。

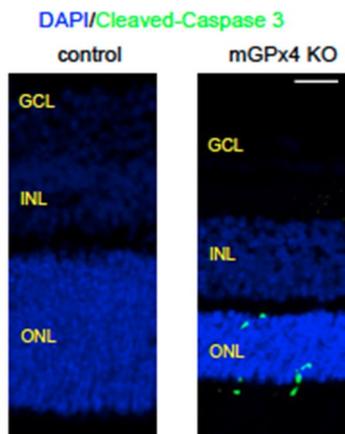


下図に示すように、scotopic ERG では m-GPx4 KO マウスでは桿体視細胞由来の電気生理学的な応答が極端に減衰しているのに対し、ビタミン E 補充食によって部分的にレスキューされた。



m-GPx4 KO ビタミン E 補充食によって視細胞変性が部分的にレスキューされていることは、過酸化脂質依存性の細胞死、つまりフェロトーシスの関与と考えられた。事実、LC/MS による分析において、フェロトーシスの特徴である PE-PUFA-OOH の増加が捉えられた。

一方で、下図に示すように、cleaved caspase-3 陽性視細胞が m-GPx4 KO マウス網膜で増加していることが確認され、アポトーシスの関与も認められた。



本研究によって m-GPx4 が細胞の生死に重要な働きをすることが vivo で確認された。今後、GPx4 のアイソフォーム特異的な役割についての研究が展開されることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Toyama Taku, Kawai Hisashi, Shiraya Tomoyasu, Araki Fumiyuki, Sugimoto Koichiro, Hashimoto Yohei, Kato Satoshi, Numaga Jiro, Watanabe Yutaka, Hirano Hirohiko, Fujiwara Yoshinori, Ihara Kazushige, Kim Hunkyung, Obuchi Shuichi, Ueta Takashi	4. 巻 15
2. 論文標題 Posterior vitreous detachment and macular microvasculature in the elderly	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0231351
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0231351	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 1. 著者名Toyama Taku, Hashimoto Yohei, Kawai Hisashi, Azuma Kunihiro, Shiraya Tomoyasu, Araki Fumiyuki, Sugimoto Koichiro, Watanabe Yutaka, Hirano Hirohiko, Fujiwara Yoshinori, Ihara Kazushige, Kim Hunkyung, Kato Satoshi, Numaga Jiro, Obuchi Shuichi, Ueta Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Continued smoking and posterior vitreous adhesion in the elderly evaluated on swept-source optical coherence tomography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18460
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-75590-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Azuma Kunihiro, Hirasawa Kazunori, Araki Fumiyuki, Shiraya Tomoyasu, Yashiro Shigeko, Kato Satoshi, Nagahara Miyuki, Ueta Takashi	4. 巻 未定
2. 論文標題 Fovea-Sparing as Opposed to Total Peeling of Internal Limiting Membrane for Myopic Foveoschisis: A Systematic Review and Meta-analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ophthalmology Retina	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.oret.2020.10.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	今井 浩孝 (Imai Hirotaka) (50255361)	北里大学・薬学部・教授 (32607)	
研究協力者	相原 一 (Aihara Makoto) (80222462)	東京大学・医学部眼科・教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------