

特集1

細胞死の迷宮を 分子化学で解き明かす

ネクローシスのドミノ倒しをくい止め、新たな治療法の創成へ

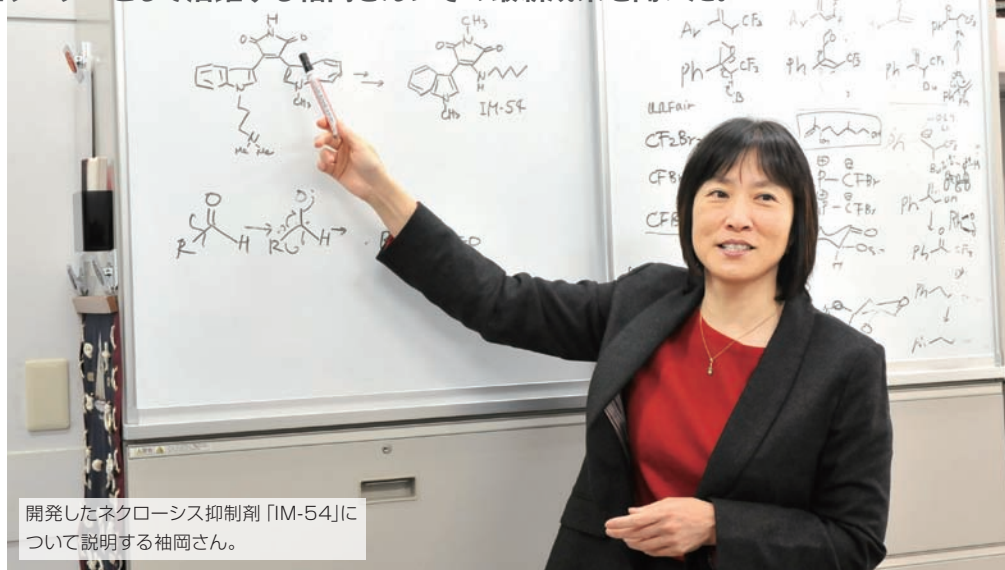
毎年日本で数十万人が罹患する心筋梗塞や脳梗塞に「ネクローシス」型の細胞死が深く関わっていることがわかってきた。理化学研究所の袖岡幹子主任研究員は、化学や生物学、物理学などを融合させ、細胞の壊死の仕組みに迫る数々の斬新な手法を見つけ出した。解明不可能と考えられてきたネクローシスの制御法を編み出すことで治療薬の開発に役立てることを目指している。卓越した能力と先取性のある若手研究リーダーを選出し、独創性に富んだ研究をバックアップするJSTのERATOで、数少ない女性リーダーとして活躍する袖岡さんにその最新成果を聞いた。

2通りある細胞の死

私たちの体を構成する細胞は、増殖と細胞死というメカニズムを併せ持つことでバランスを保ちながら生命を維持している。そのうち、細胞の死に方には「アポトーシス（自然死）」と「ネクローシス（壊死）」の2つのパターンがある。

細胞が自ら縮み、断片化して死ぬアポトーシスは、「細胞の自殺」に例えられる。個体をより良い状態に保つために積極的に引き起こされ、不要となった細胞や有害物を体内から取り除く。1972年に発見されてから、その生理的・病理学的な意義がさかんに研究されてきた。

これに対してネクローシスは、熱や放射線、酸化ストレスなどの外部刺激を非常に強く受けたときに、細胞がどんどん膨らみ、ついには破裂して死ぬ現象を指す。「細胞の壊死」とも呼ばれ、細胞の内容物を撒き散らして他の細胞にまで刺激を与えることも多い。刺激を受けたら避け



開発したネクローシス抑制剤「IM-54」について説明する袖岡さん。

ようがないと見られていたため、その機構の研究はあまり進んでいなかった。

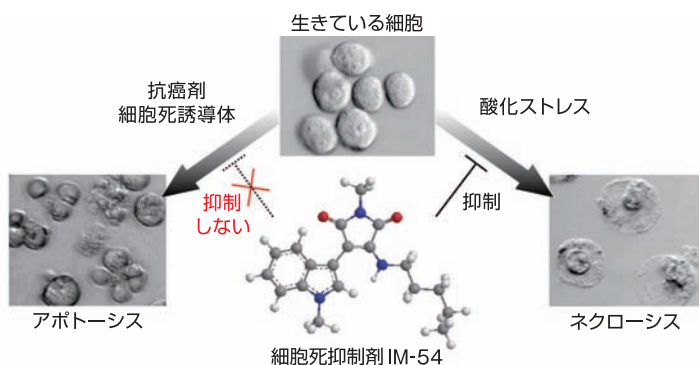
ネクローシスの仕組みを 解明したい

有機化合物の新たな合成手法や遷移金属の触媒反応など、化学を専門としていた袖岡さんがネクローシスに出会った

成し、ネクローシスだけを止める抑制剤「IM-54」をみつけた（左下図）。

「ネクローシスは人工的には調節できないと思われていました。でも、IM-54で抑制できるのだから、何か仕組みはあるはずです。細胞の中で何がどのように働いているのか知りたくなりました」とさらに研究に取り組んだ。

心筋梗塞や脳梗塞などで心臓や脳の血流が止まると、細胞は一時的に酸欠に順応した状態になる。そこへ再び血液が流れるようになると、送られてきた酸素をうまく消費できずに活性酸素が発生してしまう。その酸化ストレスで心臓や脳の細胞にネクローシスが起こることが知られている。実際にマウスの心臓の血管を縛り、血液の流れを止めた後に再び開くと心機能不全で死んでしまう。だが、IM-54を投与したマウスに同じことをしても死ななかった。



アポトーシスで細胞が断片化して死ぬ様子（左）とネクローシスで細胞が破裂死するまで膨れる様子（右）。細胞死抑制剤「IM-54」は酸化ストレスによるネクローシスを抑制するが、他のパターンの細胞死には影響しない。

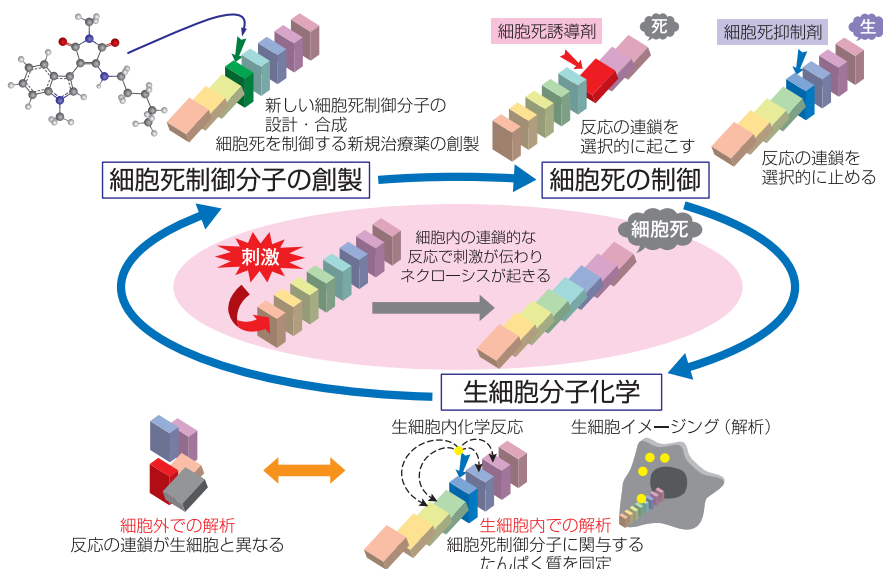
酸化ストレスが引き起こすタイプのネクローシスは、IM-54を手掛かりに解明できると考えていた袖岡さんは2008年、ERATOに分子レベルでの機構解明を提案し、厳しい審査の結果採択された。大規模なプロジェクトでなければ太刀打ちできないテーマで、心筋梗塞や脳梗塞などの新しい治療法の開発にもつながる。

プロジェクトチームには、3つのグループを置いた。生物学の観点から分子機構の解明を目指す「制御グループ」と、化学を駆使して低分子化合物の合成や細胞内で起きた反応の検出、反応した物質の同定などを担当する「反応グループ」は膝元にある。もう1つは大阪大学の「解析グループ」で、生きた細胞内の小さな分子の分布を画像化する方法づくりなどに取り組んだ(右上図)。

「私のように化学が専門の人がいれば、物理学や生物学の研究者もいて、学問領域の垣根を越えたチームが生まれました。この体制がなければ、研究は進まなかったでしょう。ミーティングでは化学構造式だけでなく、生物学に欠かせない電気泳動の写真、さらには分析装置の設計図まで飛び交うようになったので、最初のころはチームをまとめるのもひと苦労でした」と振り返る。

細胞死を思い通りに操る

ネクローシス研究の鍵となる抑制剤IM-54は、どのように働いているのだろうか。



ERATO袖岡プロジェクトが取り組む研究の概要。連鎖的な反応によって起きる細胞死をドミノ倒しに例える(中央)。プロジェクトでは、細胞死の仕組みや制御機構の解明(上)を目指すとともに、新たな生細胞解析手法の開発(下)にも力を注ぐ。

制御グループでは、IM-54が細胞内のミトコンドリアに作用していることを突き止めた。活性酸素でミトコンドリアに穴が開くと細胞死が起きることが知られているが、その穴をふさぐ役割を果たしているらしい。「酸化ストレスでは通常と違う穴が開いているのではないかと考えています。IM-54はその穴を特異的にふさぐため、酸化ストレスだけに効果があると考えています」と説明する。

反対にネクローシスを引き起こす「細胞死誘導剤」の開発にも成功した。「抑制と誘導が可能となり、思い通りのタイミングで現象を見ることができるようになりました。でも、傷害をうけて死ぬ必要がある細胞は、ネクローシスを止めてもアポ

トーシスが起きたりするので、ひと筋縄ではいきません。生命はバランスが大事だということに気づかれます」という。

蛍光なしで見たいの一念

ネクローシスを解析するには、細胞の中で何が起るのかをリアルタイムで観察する必要がある。実際、生きた細胞の中の様子を分子レベルで把握したいと思っても簡単ではない。近年、細胞内の化合物分布を画像化する「分子イメージング」が発達してきたが、分子の検出手段が限られているのだ。標識となる蛍光物質を結合させる方法が主流であるが、その分子は比較的大きい。IM-54のような小さな分子では蛍光標識がじゃまして、

袖岡 幹子

そでおか・みきこ

理化学研究所袖岡有機合成化学研究室 主任研究員

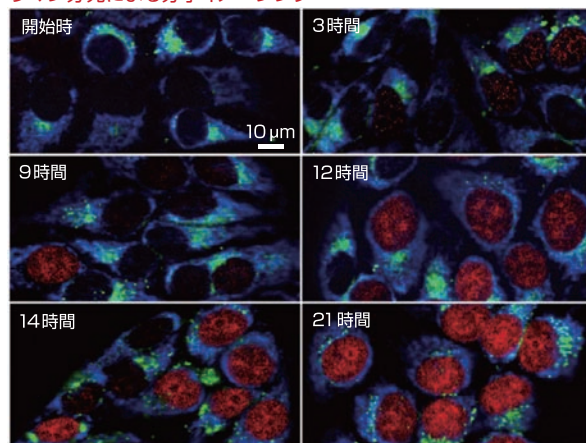
1981年、千葉大学薬学部薬学科卒業。83年に千葉大学大学院薬学研究科博士前期課程修了(89年に博士号取得)の後、相模中央化学研究所研究補助員、研究員補。86年から北海道大学薬学部助手。90～92年に米国ハーバード大学化学科博士研究員。帰国後に東京大学薬学部助手、相模中央化学研究所主任研究員、東京大学分子細胞生物学研究所助教授を経て、2000年より東北大学多元物質科学研究所(旧・反応化学研究所)教授。04年から現職。ほかに埼玉大学、東京医科歯科大学の客員教授を兼務する。2008年より ERATO「袖岡生細胞分子化学プロジェクト」研究総括。

あきらめなければ
必ずチャンスが
訪れます

「研究は物差しがはさった公平な世界です。女性だからと周囲に遠慮しないで、なりたい自分を目指せば必ずチャンスが訪れます。人の輪を介して世界を広げると研究の大きな助けになるので、身近なネットワークを大事にしましょう」と研究者を目指す女性を応援する。



ラマン分光による分子イメージング



原子間の結合状態を検出するラマン顕微鏡（左）を使用し、DNAの成分に似た分子にアルキンを結合させたところ、右図の通り分子（赤色）が遺伝子の材料として少しずつ細胞に取り込まれていく様子が観察された。

作用をきちんと解析することができないでいた。

6年前、観察法に悩んでいた頃に「ラマン分光法」による分子イメージング法の講演を聞く機会があり、「これだ」と思った。ラマン分光法は、物質が光を散乱するときに各原子の結合状態に合わせて元と異なる波長の光を放出する性質を使う手法で、分子構造の解析などに使われている。理化学研究所内のラマン分光装置に詳しい研究者に相談したところ、大阪大学でラマン顕微鏡を開発していた藤田克昌准教授を紹介され、「解析グループ」を率いてもらうことになった。

目印に選んだのは、2つの炭素原子が三重結合でつながったアルキンと呼ばれる構造だった。アルキンが散乱する光の波長は他の結合のものと見分けやすい。追加する標識も原子2つ分で済み、細胞への影響も少ない。IM-54のような小さな分子に結合させても、その性質を変化させずに生きている細胞の中に取り込ませることができる。グループは5年間のERATO研究を通して、アルキン標識とラマン顕微鏡を組み合わせることにより、細胞増殖に伴うDNA合成を観察することに成功した（上図）。蛍光物質を使わない斬新な細胞イメージング法を開発し、分子生物学に新たな道を切り開いたのだ。

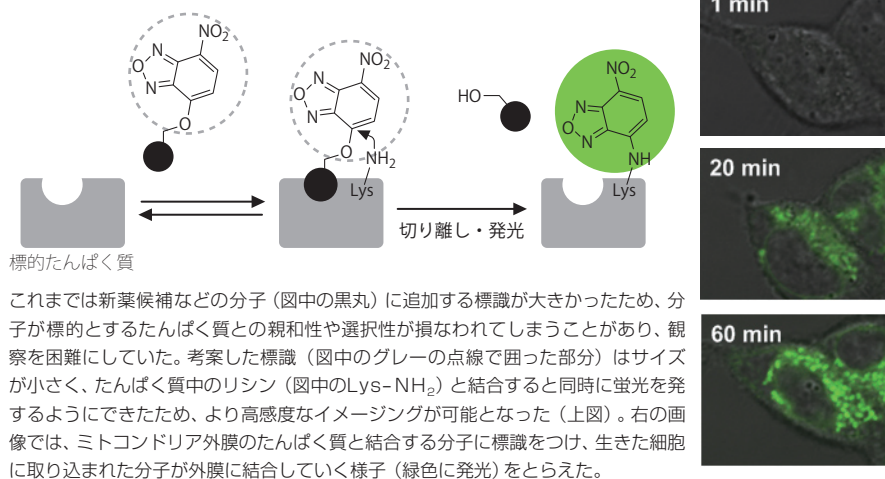
「講演を聴いたのも偶然、藤田先生に巡り会えたのも偶然。一緒に研究できたのは、幸運の女神のおかげですね。『マーフィーの法則』というものがありますが、あきらめない限り奇跡は必ず現実にな

る、と言われる通り、期待をもって物事を見るようになると、本当に発見につながるのです」と袖岡さんはほほえむ。「そのわけは、きっと一生懸命考えるからでしょうね」とくつつかない。

ほかにも有効な観察手法をいくつも編み出した。細胞内で特定の分子の動きを追いかけるには、その分子だけに結合する標識がないと話にならない。「開発した手法で本当に見たいものを見ているか確信を持てるようになるには長い時間がかかります」との言葉が分子生物学の難しさを物語る。

昨年12月にも代表作となる成果を発表した。標識した分子が特定のたんぱく質と結合したときだけ、蛍光を発する方法だ（下図）。生きた細胞のミトコンドリアにあるたんぱく質での観察にも成功し、薬の候補などの小さい分子がどのたんぱく質と反応するか検出する道をひら

小さい分子に使える新しい蛍光標識法



いた。

化学的アプローチで1歩ずつ

今まで研究の遅れていたネクロシスだが、近年は論文の数も急増している。調節機構があることが次々に報告され、きっかけとなる化合物もさまざまに見つかり、化学的なアプローチがますます大事になっていくだろうと袖岡さんは考えている。

「化学では、目的の化合物ができれば実験は終わり、同じ条件なら同じ結果が得られます。ところが生物学の実験では、常に同じ結果が出るとは限りません。無数のたんぱく質などさまざまな物質で構成される生命は、多くの観察手法が編み出された今もすべてをはっきりと知ることとはできません。どこまでやれば今つかんでいる結果に間違いがないと確信できるのが明瞭ではないのです。実に手ごわい」と細胞死の迷宮ぶりに舌を巻く。「ネクロシスも多くの要因がドミノ倒しのように連鎖する複雑な機構を持っています。すべてを容易に解明できる相手ではありませんが、それでも得意の化学的手法を駆使して、周到にひとつひとつ明らかにして、心筋梗塞などの治療への足がかりにしていこうと思っています」。

ERATOのプロジェクトは来月末終了するが、ここで数々の“研究手法の開発”という財産を築けた。確かな手応えを感じながら、分子レベルでのメカニズム究明とともに、創薬へ向けた新たなアプローチが始まろうとしている。