

細胞死

総説

GPx4 研究からみた脂質酸化依存的細胞死 —リポキシトーシスとフェロトーシス—

北里大学 今井 浩孝

連載

生命科学の最前線～熊本大学若手研究者の現場から～⑦

最長寿・老化耐性齧歯類ハダカデバネズミの 細胞老化制御機構

熊本大学 大学院 河村 佳見、岡 香織、三浦 恭子

注目の研究

生体内銅の代謝と銅誘導性細胞死（カプロ トーシス）、及び疾患との関係

株式会社同仁化学研究所 中久保政一

新製品

細胞外 ATP 測定キット P.8

細胞内グアニン四重鎖(G4)検出キット P.9



CONTENTS

Review

**GPx4 研究からみた脂質酸化依存的細胞死
—リポキシトーシスとフェロトーシス—**

 Lipid peroxidation dependent cell death — lipoxytosis and ferroptosis —
from lessons of GPx4 research

北里大学 今井 浩孝

1

Topics on Chemistry

**生体内銅の代謝と銅誘導性細胞死(カプロトーシス)、
及び疾患との関係**

株式会社同仁化学研究所 中久保政一

6

連載

生命科学の最前線～熊本大学若手研究者の現場から～⑦

最長寿・老化耐性齧歯類ハダカデバネズミの細胞老化制御機構

Cellular senescence regulation mechanisms in the longest-lived rodent, the naked mole-rat

熊本大学 大学院 河村 佳見、岡 香織、三浦 恭子

10

Commercial

新製品

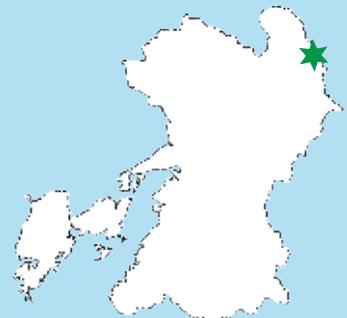
細胞外 ATP 測定キット	8
細胞内グアニン四重鎖 (G4) 検出キット	9

関連製品

フェロトーシス関連製品	5
細胞内銅 (I) イオン検出蛍光色素	7
アポトーシス (Annexin V) プレートアッセイキット	14
細胞老化 (SA-β-Gal) 検出キット (Blue)	15
細胞老化検出用試薬・キット	16

お役立ち

脂肪酸分析のご案内 - 同仁グローバル	17
冊子発行予定のご案内	18


 表紙：産山村
扇棚田とバイクツーリング
photo：永島俊介氏


X(旧ツイッター)

小社製品の最新情報や使用文献などを投稿しています。


 フォロー
お願いします

@dojindoinfo

※希望納入価格には消費税等は含まれておりません。

※記載価格は 2025 年 4 月における希望納入価格です。

予告なしに変更する場合がございますのでご注意ください。

※掲載製品は試験・研究用のみに使用するものです。医療用その他の目的には使用できません。

GPx4 研究からみた脂質酸化依存的細胞死—リポキトーシスとフェロトーシス—

Lipid peroxidation dependent cell death — lipoxytosis and ferroptosis — from lessons of GPx4 research



今井 浩孝

北里大学
薬学部 衛生化学
教授

Abstract

GPx4 is one of the major antioxidant enzymes that reduce phospholipid hydroperoxides in biological membranes in a glutathione-dependent manner. There are three types of GPx4, each regulating localized lipid oxidation in different organelles. Mitochondrial-type GPx4 inhibits apoptosis and ferroptosis. Cytoplasmic GPx4 is essential for cellular and individual survival and inhibits iron-dependent lipid oxidation-induced cell death ferroptosis and iron-independent lipid oxidation-induced cell death lipoxytosis. Nucleolar GPx4 is involved in nucleolar defense. In this review, we outline the different cell death regulatory mechanisms of GPx4 from our GPx4 research.

1. はじめに

GPx4 (リン脂質ヒドロペルオキシドグルタチオンペルオキシダーゼ) は、生体膜に生じたリン脂質ヒドロペルオキシドをグルタチオン依存的に還元する酵素である。我々の研究は、1995年 GPx4 の cDNA クローニングからはじまり¹⁾、2003年 GPx4 ノックアウトマウスが胚発生致死となることを初めて報告し²⁾、GPx4 やビタミン E による脂質酸化の抑制が細胞、個体レベルで必須であることを明らかにするなど、30年間、GPx4 の機能研究に携わってきた。近年、フェロトーシス誘導剤による鉄依存性脂質酸化を介した細胞死が注目され、その制御因子の同定や疾患に関する研究が進んでいるが、GPx4 は細胞内の主要な酸化脂質消去のセンサー酵素であり、もともとフェロトーシスにとどまらず、アポトーシスや我々が見出している鉄非依存性の脂質酸化依存的な細胞死 (リポキトーシス) などの制御にも関与する。本総説では、これまで我々が明らかにしてきた3つのタイプの GPx4 の機能や脂質酸化により誘導される細胞死の制御の重要ポイントを中心に概説する。

2. GPx4 の特徴

GPx4 は、転写開始点の違いにより、異なるエクソンの使いわけにより、ミトコンドリア内腔に移行できるミトコンドリア型 (mGPx4)、細胞質や核内に存在する非ミトコンドリア型 (cGPx4、海外のグループは細胞質型と呼ぶ場合があるが、核内にも存在する)、核小体型 (nGPx4、海外のグループは核型と呼ぶ場合があるが、核内では核小体に局在する) がある (図1)³⁾。3つの GPx4 は N 末端側のオルガネラ輸送シグナル以外の C 末端側はいずれも共通した構造をしている。GPx4 は活性中心にセレノシステインを有するセレンタンパク質の一つである。セレノシステインは終止コドン (TGA) でコードされており、システインの硫黄がセレンに置き換わったアミノ酸で 21 番目のアミノ酸である。また終止コドンをセレノシステインとして翻訳するためには、mRNA の 3' 側非翻訳領域の SECIS 配列 (セレノシステイン挿入配列) が必要である。我々は、はじめ3つのタイプの GPx4 をラット好塩基球がん細胞 (RBL2H3 細胞) で高発現株を作成し、3つのタイプの GPx4 の機能を解析した⁴⁾。非ミトコン

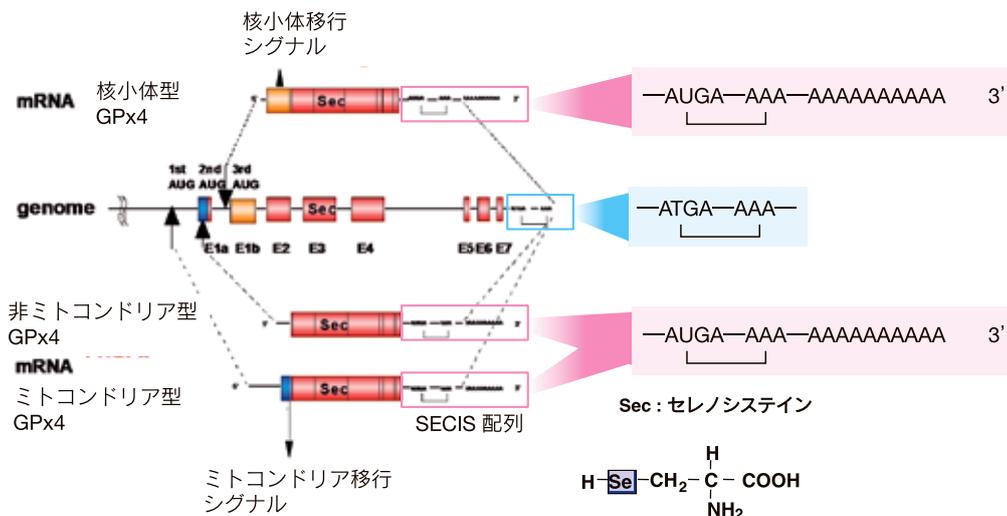


図1 3つのタイプの GPx4 の構造

GPx4 のゲノム遺伝子は 8 つのエクソンからなる。E1a エクソンはミトコンドリア移行シグナルを有しミトコンドリア型 GPx4 (mGPx4) が利用する。E1b エクソンは核小体移行シグナルを有し核小体型 GPx4 (nGPx4) が利用する。非ミトコンドリア型 GPx4 (cGPx4) は E1a エクソンの途中から転写がはじまり E1a エクソンの最後の ATG を開始コドンとして利用する。E2 ~ E7 エクソンは 3 つのタイプの GPx4 に共通に利用される。活性中心のセレノシステイン (Sec) は、微量元素セレンを有するアミノ酸で E3 エクソンに終止コドン TGA でコードされる。終止コドンをセレノシステインとして翻訳させるには、mRNA の 3' 側非翻訳領域の SECIS 配列が必要である。

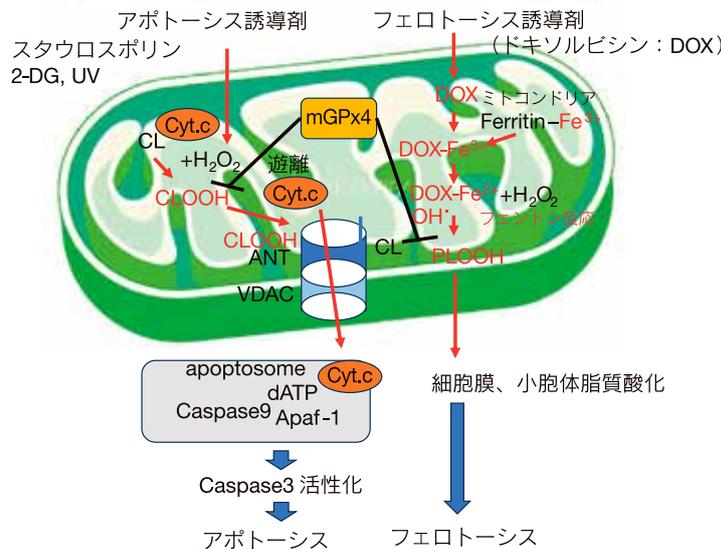


図2 ミトコンドリア型 GPx4 によるアポトーシスおよびフェロトーシス抑制

ミトコンドリアを経由するアポトーシス誘導剤は、ミトコンドリア特異的なリポリン脂質カルジオリピン (CL) を酸化し、カルジオリピンヒドロペルオキシド (CLOOH) を生成する。チトクローム c (Cyt.c) はカルジオリピンに結合しているが、酸化により内膜から遊離する。遊離した Cyt.c は、ANT (アデニンヌクレオチドトランスポーター) - VDAC となる PT ポアよりミトコンドリア外に放出されると、Apaf-1, dATP, Caspase 9 と複合体をつくり、アポトソームを形成し、カスパーゼ 3 を活性化してアポトーシスを実行に導く。CLOOH は ANT に作用し構造を変化させ、PT ポアを開口させる。ミトコンドリア型 GPx4 はカルジオリピンヒドロペルオキシドを還元することで、チトクローム c のミトコンドリアからの放出を抑制し、アポトーシスを抑制する機能をもつ。また、フェロトーシス誘導剤である抗がん剤ドキシソルビシンは、ミトコンドリア内でヘム合成系を低下させ、余剰となった鉄と錯体を形成し、鉄依存性な脂質酸化を誘導し、ミトコンドリアを経由するフェロトーシスを誘導する。ミトコンドリア型 GPx4 は、ドキシソルビシン誘発性のミトコンドリアを介するフェロトーシスを抑制できる。

ドリア型 GPx4 は、IgE 受容体シグナルを抑制したり、5- リポキシゲナーゼの活性化の抑制、シクロオキシゲナーゼ活性化の抑制など、細胞内の局所でおきる脂質酸化反応やシグナル伝達経路を制御できることを報告した⁵⁾。またミトコンドリア型 GPx4 はミトコンドリアを経由するアポトーシスやミトコンドリア内電子伝達系障害を抑制できることを報告した。また核小体型 GPx4 はアクチノマイシン D やドキシソルビシンなどの核小体ストレスを防御し細胞死を抑制できることを報告した。これらの結果は 3 つのタイプの GPx4 がそれぞれのオルガネラで別々の機能をしていること、また、それぞれのタイプは、細胞内の局所の脂質酸化を検出するセンサーとして機能することを示している⁴⁾。

3. 3 つのタイプの GPx による細胞死制御

3.1 ミトコンドリア型 GPx4 によるアポトーシス抑制

ミトコンドリア型 GPx4 高発現株は、スタウロスポリン、UV や 2-デオキシグルコースなどのミトコンドリアを経由するアポトーシスを抑制できることを明らかにした。その抑制メカニズムの解析から、ミトコンドリア型 GPx4 は、カスパーゼ 3 の活性化に必要なミトコンドリアからのチトクローム c の放出を抑制できることを示し⁵⁾、ミトコンドリア内で生成した活性酸素により、ミトコンドリア特異的なカルジオリピン (CL) が酸化され、カルジオリピンヒドロペルオキシド (CLOOH) になると、カルジオリピンに結合していたチトクローム c が内膜から遊離し、ミトコンドリア外に放出されることを明らかにした⁶⁾。また、ミトコンドリア内膜において、チトクローム c 放出に関与するミトコンドリアポアの制御に関与する ANT (アデニンヌクレオチドトランスポーター) は、その構造維持や ATP 輸送にカルジオリピンを必要とするが、脂質二重膜に ANT を組み込んだプロテオリポソームを用いた ATP 輸送実験から、リポソーム内でカルジオリピンヒドロペルオキシド (CLOOH) は、カルジオリピンと競合阻害して、ANT の構造変化により ATP 輸送が低下させるが、ホスファチジルコリンヒドロペルオキシド (PCOOH) ではおきない⁷⁾。このことから、ミトコンドリア型 GPx4 は、カルジオリ

ピンの酸化を抑制し、アポトーシスを多面的に抑制できる (図 2)。最近、我々は抗がん剤ドキシソルビシン投与の副作用としての心毒性に、ミトコンドリアにおける鉄依存性な脂質酸化を介したフェロトーシスが関与し、ミトコンドリア型 GPx4 が抑制する機能をもつことを報告している^{8, 9)}。

3.2 トランスジェニックレスキュー法を用いた GPx4 欠損マウスにおける胚致死のレスキュー解析

2003 年我々は GPx4 KO マウスが胚発生過程の 7.5 日に胚致死となることを明らかにした。交配後、3.5 日 GPx4 欠損受精卵の培養による Inner Cell Mass (ICM) 形成系において、WT タイプでは、培養 4 日後には Hatching 後に細胞塊がみられはじめ、培養 10 日には ICM 形成が顕著に観察される。しかし、GPx4 KO 受精卵では培養 4 日目以降細胞塊が形成されない。この実験系にレトロウイルス感染により、3 つのタイプの GPx4 の cDNA をそれぞれ導入すると、非ミトコンドリア型 GPx4 のみで ICM 形成がみられ、ミトコンドリア型 GPx4 や核小体型 GPx4 ではみられなかった。またビタミン E を培地に添加することでも GPx4 KO 受精卵の ICM 形成が確認できたが、ビタミン C や MnTBAP、N アセチルシステインではレスキューできず、ICM 形成には GPx4 が必要であるというよりかは、ビタミン E や GPx4 による脂質酸化の抑制が必須であることを見つけた。また実際に、この GPx4 KO マウスに、3 つのタイプの GPx4 の開始コドン ATG をそれぞれ TTG に変異させたトランスジェニック GPx4 マウスゲノム遺伝子を導入した TG マウスと先の GPx4 KO マウスを交配することで、どのタイプの GPx4 でマウスの胚致死をレスキューできるのかを明らかにしたところ、非ミトコンドリア型 GPx4 を KO したゲノム遺伝子ではレスキューできず、逆にミトコンドリア型 GPx4 と核小体型 GPx4 のダブル KO ゲノム遺伝子ではレスキューできたことから、胚発生過程ではミトコンドリア型ではなく、非ミトコンドリア型が必須であることが明らかとなった^{10, 11)}。上述したように当初は、ミトコンドリア型 GPx4 がアポトーシス抑制機能を有することを明らかにしていたので、

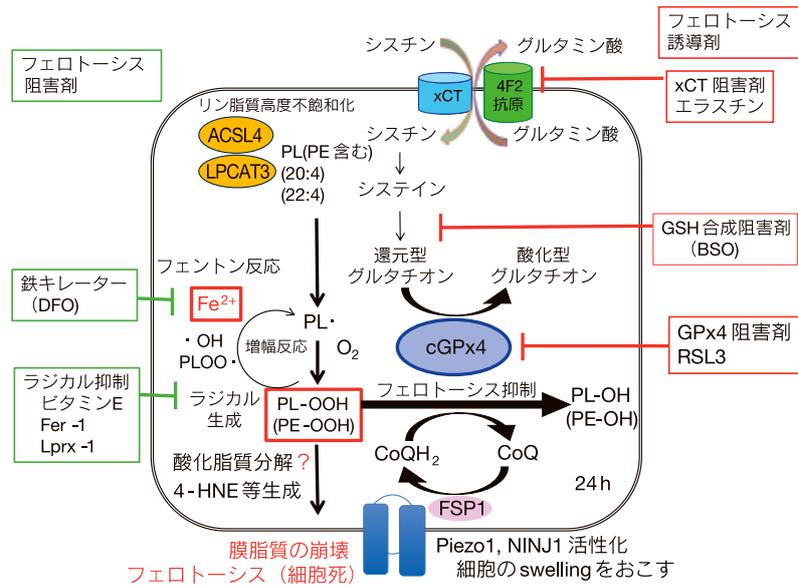


図3 フェロトーシスの分子メカニズム

シスチントランスポーター (xCT) の阻害剤エラスチンは、細胞内のグルタチオン (GSH) 量を減少させることにより GPx4 活性を低下させ、RSL3 は直接 GPx4 と結合することで GPx4 を失活させる。一方、エラスチンや RSL3 はリソソームから二価鉄を細胞質に放出させ、フェントン反応によりリン脂質特にホスファチジルエタノールアミン (PE) を酸化させる。細胞膜の脂質酸化は、PIEZO1 や NINJ1 を活性化、高分子化することでチャネルを形成し、Swelling を引き起こした後に膜の崩壊を引き起こす。フェロトーシスは鉄のキレーター (DFO) やラジカル消去剤であるビタミン E、フェロスタチン 1 (Fer-1) やリプロスタチン 1 (Lip-1) により抑制できる。cGPx4 はビタミン E とともに細胞内の主要なフェロトーシス抑制酵素である。FSP1 はユビキノリン (CoQ) を還元型にし、脂質酸化を抑制したり、ビタミン E の再生をおこなうフェロトーシス抑制因子である。ACSL4 や LPCAT3 によるリン脂質のリモデリング経路による膜脂質の不飽和度の亢進はフェロトーシスの感受性を増大させる。

非ミトコンドリア型 GPx4 が必須であったことは、当時驚きであった。我々はこのトランスジェニックレスキュー法で、正常の GPx4 ゲノム遺伝子を Loxp 配列で挟んだ TG 遺伝子でレスキューしたマウスを、いわゆる flox マウスとして用い、さまざまな組織特異的な Cre recombinase 遺伝子を持つマウスと交配することで組織特異的 GPx4 KO マウスを作成し、その表現型の解析をおこなっている^{10, 12)}。精巣特異的 GPx4 KO マウスでは、精母細胞が致死となり、精子数が著しく減少し、さらに精子尾部の折れ曲がりが見られた。実際、我々は精子の GPx4 の発現低下した男性不妊症患者を多数見出し、精子での GPx4 の発現低下は男性不妊症の原因であることを明らかにしている¹³⁾。また網膜、心臓、肝臓、軟骨特異的 GPx4 KO マウスはいずれも GPx4 KO した組織の細胞は致死となるが、ビタミン E 高添加投与で致死がレスキューできる。またいずれの組織においても、GPx4 のゲノム遺伝子の破壊による組織細胞死は、Cre recombinase が発現して致死に至る時間は 3 日以上かかっている。我々はこの GPx4 ゲノム破壊による GPx4 KO 細胞死の分子メカニズムを明らかにするために、タモキシフェン誘導型 GPx4 KO MEF 細胞 (ETK1 細胞) を作成して、その GPx4 KO 細胞死の分子メカニズムを解析したところ、同様に約 3 日かかった。またこの細胞死は鉄のキレーター (DFO) では抑制されず、ビタミン E では抑制された¹⁴⁾。その当時、Conrad らのグループが樹立した MEF 細胞 (Pfa1 細胞) では、GPx4 KO による細胞死が 15-LOX 依存性、AIF 依存性細胞死であると報告しているが¹⁴⁾、我々の樹立した MEF 細胞では、15-LOX や AIF を KD しても全く細胞死を抑制しなかった。そこで我々は、この GPx4 KO 細胞死の分子メカニズムについて詳細な解析をおこない、リポキシトーシスと名づけた^{14, 16)}。

3.3 鉄依存的脂質酸化を介した細胞死 (フェロトーシス)

2012 年、2014 年に米国の Stockwell らは、Ras 変異がん細胞を殺し、正常細胞は殺さないスクリーニングにより、xCT を阻害するエラスチン¹⁷⁾、GPx4 と結合する RSL3 を代表とするフェ

ロトーシス誘導剤を見出し¹⁸⁾、エラスチンはグルタチオン量を減少させることにより、RSL3 は直接 GPx4 を阻害することにより、3-7 時間でフェントン反応による二価鉄依存的な脂質酸化を誘導し、24 時間以内には致死となる細胞死を見出し、フェロトーシスと名づけた (図 3)。フェロトーシスは鉄のキレーター (DFO) およびビタミン E や抗酸化剤であるフェロスタチン-1 やリプロスタチン-1 により、脂質酸化と細胞死が抑制される。GPx4 KO によっても細胞死が誘導されることから、両者は同じ細胞死として考えられて解析されている。フェロトーシスの制御因子のほとんどは、脂質の酸化を直接抑制する FSP1 などの抗酸化酵素や低分子抗酸化物質の合成制御系や、リン脂質の不飽和度を制御する ACSL4 等、また GPx4 のタンパク質の発現の制御に関わる分子であり、脂質酸化の下流で機能する分子は、細胞膜のチャネル PIEZO1 や NINJ1 以外にはほとんど明らかではない。フェロトーシスの制御メカニズムは他の総説を参照していただきたい¹⁹⁾。GPx4 を単に KO しただけでは、二価鉄は遊離してこない場合もあることから、RSL3 やエラスチンでは二価鉄を放出させるメカニズムがフェロトーシスの実行には重要であると考えられる。

3.4 鉄非依存的な脂質酸化を介した細胞死 (リポキシトーシス)

我々が樹立したタモキシフェン誘導型 GPx4 KO MEF 細胞株 (ETK1 細胞) では、タモキシフェン添加により、24 時間以内に GPx4 KO にともない、ホスファチジルコリン (PC) の酸化体 PCOOH の生成がみられ、細胞の増殖がとまり、その後 48 時間かけて 72 時間後までに死にいたる。24 時間後に見られるこの脂質酸化は、ビタミン E では抑制できるが、鉄キレーター (DFO) では抑制できないことから、鉄非依存的な脂質酸化を介した細胞死 (リポキシトーシス) である^{14, 16)}。また脂質酸化の下流の 48 時間では ERK2 のリン酸化が観察された。MEK の阻害剤は、RSL3 やエラスチンによるフェロトーシスおよびリポキシトーシ

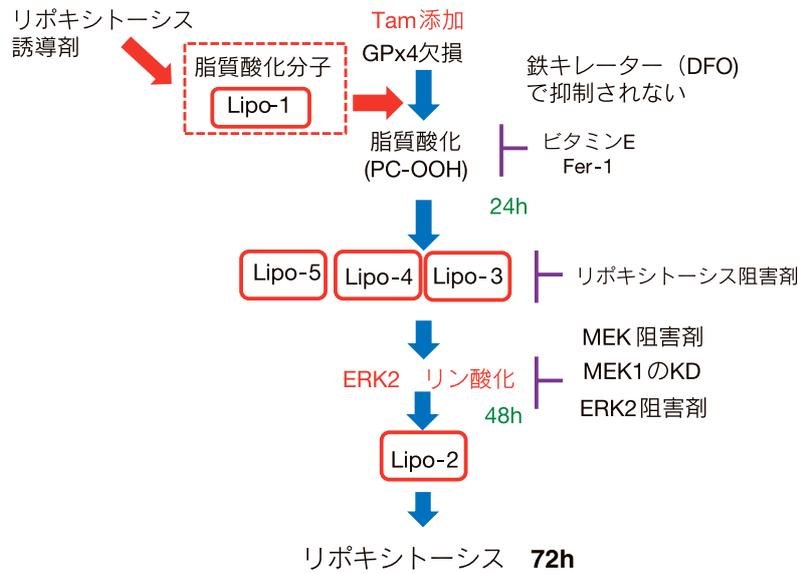


図4 リポキシトースの分子メカニズム

リポキシトースは、鉄非依存的な脂質酸化を介した、フェロトースとは異なる細胞死で、Swellingはおきない。我々が樹立した ETK1 細胞では、タモキシフェン (Tam) 添加による GPx4 のゲノム遺伝子の破壊は、24 時間後にリン脂質のうちホスファチジルコリン (PC) をリポキシトース実行因子 Lipo-1 酵素により酸化し、PCOOH を生成する。この脂質酸化は、鉄キレーター (DFO) で抑制されないが、ビタミン E や Fer-1 では抑制できる。リポキシトースでは 24 時間後の脂質酸化の下流で、Lipo2 ~ 5 が機能すること、ERK2 のリン酸化が起きることが明らかになっており、MEK 阻害剤、MEK1 KD および ERK2 阻害剤で抑制された。また特異的なリポキシトース阻害剤も見出している。一方、我々が最近見出したリポキシトース誘導剤は、Lipo-1 依存的に脂質酸化を誘導し、鉄のキレーターにより抑制されず、細胞死を下流の Lipo 遺伝子を介して誘導する。

スで抑制されたが、MEK1 のノックダウン細胞ではリポキシトースは抑制されたが、フェロトースは抑制されなかった (図 4)¹⁴⁾。また ERK の阻害剤もリポキシトースは抑制されたが、フェロトースは全く抑制されない。これらもフェロトースとリポキシトースは異なるメカニズムである。我々はこれまでに、網羅的 shRNA ライブラリーによるスクリーニングにより、リポキシトース実行因子 Lipo-1 ~ 5 を見出している。Lipo-1 は GPx4 KO 時の脂質酸化に関与し、Lipo2 ~ 5 は脂質酸化の下流で機能する分子である。Lipo 遺伝子のノックダウンは、リポキシトースは抑制できるが、フェロトースは抑制できない。このことからフェロトースとリポキシトースは異なる。最近、我々は、脂質酸化の下流で機能する Lipo KD 細胞で細胞死が抑制され、WT 細胞で細胞死を誘導できるリポキシトース誘導剤を見出した。これらのリポキシトース誘導剤による細胞死は 48 時間かかる。また添加後 24 時間で脂質酸化が検出されるが、この脂質酸化もビタミン E では抑制できるが、鉄キレーター (DFO) では抑制されない。また興味深いことにリポキシトース誘導剤による脂質酸化は、脂質酸化酵素 Lipo-1 を介して脂質酸化を誘導する結果が得られてきており、酵素依存的な脂質酸化を介した新規細胞死経路と考えられる。

4. おわりに

GPx4 はオルガネラ局所で酵素的に生成する脂質酸化や、二価鉄を介したフェントン反応によるランダムな脂質酸化のどちらもグルタチオンを用いて還元できる。現在、細胞死研究分野ではフェロトースが最も注目されているが、脂質酸化による細胞死はアポトーシスや、リポキシトース、さらに好中球におけるネトースでもみられ、それぞれ細胞死の分子メカニズムは異なる。今後は、どこで、どのように生成した酸化脂質分子がそれぞれの細胞死実行経路をスイッチオンにできるのかの分子メカニズムの解析が重要であると思われる。また細胞死における脂質酸化の検出、抗酸化剤に抑制の結果だけではこれらの細胞死が区別できないと思われるため、特に病態解析においては、細胞死に鉄依存性あるいは鉄の沈着が観察されるのかを示すことが重要である

と思われる^{8, 20)}。またこれらの脂質酸化依存的な細胞死の分類が進むことにより、新たな治療薬の開発が期待される。

[参考文献]

- 1) H. Imai et al., *J. Biochem.*, **1995**, 118(5), 1061-1067.
- 2) H. Imai et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2003**, 305(2), 278-286.
- 3) H. Imai et al., *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **2017**, 403, 143-170.
- 4) H. Imai et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **2003**, 34(2), 145-169.
- 5) K. Nomura et al., *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274(41), 29294-29302.
- 6) K. Nomura et al., *Biochem. J.*, **2000**, 351(1), 183-193.
- 7) H. Imai et al., *Biochem. J.*, **2003**, 371(3), 799-809.
- 8) T. Tadokoro et al., *JCI insight*, **2020**, 5(9), e132747.
- 9) K. Abe et al., *Sci. Signal*, **2022**, 5(758), eabn8017.
- 10) H. Imai, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **2010**, 46(1), 1-13.
- 11) K. Azuma et al., *J. Biol. Chem.*, **2022**, 298(4), 101824.
- 12) H. Imai et al., *J. Biol. Chem.*, **2009**, 284(47), 32522-32532.
- 13) H. Imai et al., *Biol. Reprod.*, **2001**, 64(2), 674-683.
- 14) K. Tsuruta et al., *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **2024**, 74(2), 97-107.
- 15) A. Seiler et al., *Cell Metab.*, **2008**, 8(3), 237-248.
- 16) J. Fujii and H. Imai, *Int. J. Mol. Sci.*, **2024**, 25(14), 7544.
- 17) S. J. Dixon et al., *Cell*, **2012**, 149(5), 1060-1072.
- 18) W. S. Yang et al., *Cell*, **2014**, 156(1), 317-331.
- 19) E. Dai et al., *Nat. Cell Biol.*, **2024**, 26(9), 144-1457.
- 20) M. Yoshida et al., *Nat. Commun.*, **2019**, 10(1), 3145.

[著者プロフィール]

氏名：今井 浩孝 (Hirotaka Imai)

所属：北里大学薬学部衛生化学

〒108-8641 東京都港区白金 5-9-1

Tel：03-5791-6235

E-mail：imaih@pharm.kitasato-u.ac.jp

出身学校：東京大学大学院薬学研究所

学位：博士 (薬学)

専門分野：脂質生化学、分子生物学

現在の研究テーマ：リポキシトースの分子メカニズムの解明、GPx4 が関与する病態と新たな機能解析

関連製品

フェロトーチス関連製品

2012年にコロンビア大学のStockwellらにより、フェロトーチスは新しい細胞死の1つとして提案されました¹⁾。フェロトーチスは、鉄イオン依存性脂質過酸化物の蓄積によって引き起こされる非アポトーシス細胞死として研究されています²⁾。Stockwellらの研究において、小社のLiperfluoが過酸化脂質の検出用の蛍光プローブとして使用されています³⁾。フェロトーチスに関わる指標と関連製品を紹介します。

1) B. R. Stockwell *et al.*, *Cell*, **2012**, *149*, 1060-1072.

2) 豊國伸哉, *DOJIN News*, **2017**, *162*, 1-3.

3) B. R. Stockwell, *et al.*, *Cell*, **2017**, *171*(2), 273-285.

品名	Liperfluo	MitoPeDPP	Mito-FerroGreen	FerroOrange	MDA Assay Kit
メーカーコード	L248	M466	M489	F374	M496
指標	脂質過酸化	脂質過酸化	鉄イオン (Fe ²⁺)	鉄イオン (Fe ²⁺)	マロンジアルデヒド
局在	細胞内	ミトコンドリア	ミトコンドリア	細胞内	細胞内
検出 Ex/Em	蛍光 524 nm/535 nm	蛍光 452 nm/470 nm	蛍光 505 nm/580 nm	蛍光 543 nm/580 nm	蛍光 540 nm/590 nm 比色 532 nm
装置	蛍光顕微鏡 フローサイトメーター	蛍光顕微鏡 フローサイトメーター	蛍光顕微鏡	蛍光顕微鏡 プレートリーダー	プレートリーダー

品名	ROS Assay Kit-Highly Sensitive DCFH-DA-	GSSG/GSH Quantification Kit	Cystine Uptake Assay Kit	Glutamate Assay Kit-WST
メーカーコード	R252	G257	UP05	G269
指標	ROS (Reactive oxygen species)	グルタチオン (酸化型 / 還元型)	シスチン取り込み能力	グルタミン酸
局在	細胞内	細胞内	-	細胞内 / 細胞外
検出 Ex/Em	蛍光 505 nm/525 nm	比色 412 nm	蛍光 490 nm/535 nm	比色 450 nm
装置	蛍光顕微鏡 フローサイトメーター プレートリーダー	プレートリーダー	プレートリーダー	プレートリーダー

詳しい内容・実験例はこちらから。

メーカーコード 同仁

検索

これからはじめる

フェロトーチス 検出

★これからはじめるフェロトーチス★

初めて学ぶ方、すでに研究中の方におすすめのガイドをご用意しております。

これからはじめる フェロトーチス

検索



Topics on Chemistry

生体内銅の代謝と銅誘導性細胞死（カプロトーシス）、及び疾患との関係

株式会社同仁化学研究所 中久保政一

必須微量栄養素である銅は、ほぼ全ての細胞かつ広範囲な生理学的プロセスに必要とされている上に、細胞内銅の蓄積は酸化ストレスを誘発し細胞機能を乱す可能性があるため、銅の恒常性は細胞内で厳密に制御されている。最近の研究では、既知の細胞死の経路とは異なる銅誘導性細胞死（カプロトーシス）が特定され、生体内の銅の代謝や疾患との関係がより一層注目を集め始めている。カプロトーシスは、トリカルボン酸（TCA）回路の脂質化酵素に銅が結合することで発生し、その後タンパク質凝集、タンパク質毒性ストレス、そして最終的には細胞死につながる¹⁾。

ここでは、銅代謝とカプロトーシス並びに、カプロトーシスと神経変性疾患との関連性について紹介する。

〈生体内銅の代謝²⁾〉

銅にはCu⁺（第一銅イオン、還元型）とCu²⁺（第二銅イオン、酸化型）の二つの陽イオン形態があり、細胞の酵素活性・発現調節に関与している。Cu²⁺は細胞表面の金属還元酵素によってCu⁺に還元され、銅トランスポーター1（CTR1）により細胞内に取り込まれる。循環血中の銅はセルロプラスミン（CP）やアルブミンと結合して臓器に運ばれ、肝細胞に貯蔵される。細胞内では、銅の代謝と運搬は複数のシャペロンタンパク質（COX17等）によって行われる。COX17はCu⁺をシトクロムc酸化酵素（CCO）の合成に関わるタンパク質（SCO1、SCO2）に運び、CCOの酵素活性を維持サポートする。スーパーオキシドディスムターゼ（SOD1）用の銅シャペロン（CCS）はCu⁺をSOD1に渡し、抗酸化に寄与する。銅シャペロン（ATOX1）はCu⁺を核に輸送し、転写因子に結合して遺伝子発現を調整する。また、ATOX1は銅輸送ATPase（ATP7A、ATP7B）にもCu⁺を渡す。ATP7Aはほとんどの組織で、ATP7Bは主に肝臓で機能し、トランスゴルジ体ネットワーク（TGN）に銅を輸送する。細胞内のCu⁺が増加すると、ATPaseは細胞膜と融合してCu⁺を排出し、銅レベルが正常化すると再びTGNに戻る（図1を参照）。

〈カプロトーシス〉

1978年、Chanらは正常線維芽細胞における細胞内銅の制御メカニズムを解明し、高濃度の銅が細胞死につながることを発見した³⁾。培地中の銅濃度が30 µg/mlを超えると線維芽細胞は死滅したが、当時はまだそのメカニズムは不明で、それ以来、銅誘

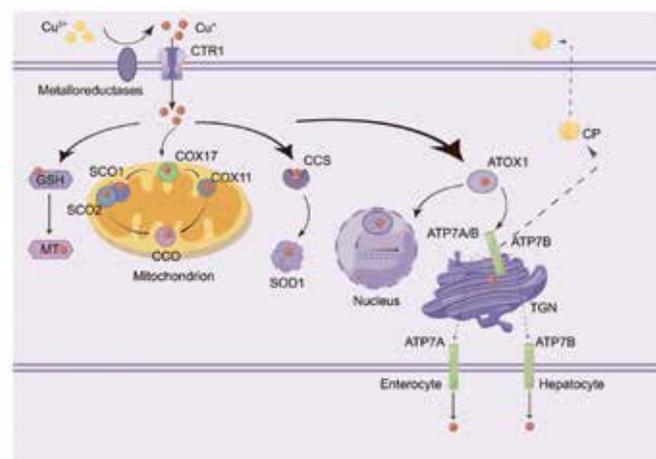


図1 銅代謝の主な調節因子²⁾

導性細胞死の研究が進み、銅イオンの役割が明らかとなった。銅イオンの恒常性が乱れると、活性酸素種（ROS）の蓄積、プロテアソーム阻害、ミトコンドリア機能不全などを通じて細胞死を引き起こす可能性が判明し、この過程が「カプロトーシス」と名付けられた。銅イオンはトリカルボン酸（TCA）回路で脂肪酸アシル化タンパク質に結合し、脂肪酸アシル化修飾を引き起こす。これらのタンパク質の凝集とそれに続くFe-S（鉄-硫黄）クラスターの減少により、TCA回路の阻害、タンパク質毒性ストレスが引き起こされ、最終的に細胞死が引き起こされる¹⁾。しかし、銅誘導性細胞死には未だ不明な点も多く、現在もなお研究が進んでいる。

〈カプロトーシスと疾患〉

多くの研究から、銅の恒常性の変化がアルツハイマー病（AD）、ハンチントン病（HD）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）などの神経変性疾患の進行に直接関与していることが示されている⁴⁾。AD患者の老人斑と血清中、またマウスモデルのAβ斑に高濃度の銅が見つかり、銅キレート治療と銅トランスポーター1（CTR1）のノックダウンが神経毒性を回復させることが示された。HDに関しても、脳内の銅の蓄積が変異ハンチンチン（HTT）タンパク質の凝集を促進し、疾患の進行を加速することが示された。その基礎となるメカニズムとしては、カプロトーシスによるミトコンドリアの機能不全が挙げられる。例えば、神経芽腫細胞を銅にさらすとミトコンドリアROSの産生が増加し、ビルビン酸脱水素酵素の産生が減少し、銅が神経細胞/グリア細胞培養に添加されるとミトコンドリア膜電位が低下し、酵素の産生が阻害される。ただし、カプロトーシスが神経変性疾患において主要な原因となっているかどうか、またその阻害が治療戦略となるかどうかについては、さらなる研究が必要である。

〔参考文献〕

- 1) P. Tsvetkov et al., "Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins", *Science*, **2022**, 375(6586), 1254-1261.
- 2) X. Chen et al., "Copper homeostasis and copper-induced cell death in the pathogenesis of cardiovascular disease and therapeutic strategies", *Cell Death Dis.*, **2023**, 14(2), 105.
- 3) W. Y. Chan et al., "Cell culture studies of Menkes kinky hair disease", *Clin. Chim. Acta.*, **1978**, 88(3), 495-507.
- 4) L. Chen et al., "Copper homeostasis and cuproptosis in health and disease", *Signal Transduct Target Ther.*, **2022**, 7(1), 378.

Fig. 1 was reprinted from Reference 2).

Copyright © X. Chen et al. licensed under CC BY 4.0.

関連製品

細胞内銅(I)イオン検出蛍光色素

CuprosGreen

<特長>

- ・銅(I)イオンに対する高い金属選択性
- ・蛍光顕微鏡と蛍光プレートリーダーで検出可能
- ・生細胞での銅(I)イオンのライブセルイメージングが可能

銅は、生体内に微量しか存在しないにもかかわらず、呼吸・代謝といった生命現象を司る酵素の活性中心として機能する遷移金属として知られて、ヘモグロビン合成のための鉄の運搬を補助することで鉄代謝を活発にしたり、SOD1 と結合することで活性酸素の除去を行います。このように、銅は我々の生命維持に重要な役割を果たしています。また、近年の細胞死に関する研究においても注目されています。新しい経路の細胞死として、鉄(II)イオンが起点となる Ferroptosis が知られていますが、Ferroptosis や Apoptosis とは異なった経路の銅(I)イオンが起点となる新しい細胞死 (Cuproptosis) も発見されています¹⁾。CuprosGreen は細胞内の銅(I)イオンと選択的に反応して蛍光を発する蛍光プローブです。細胞膜透過性を有しているため、銅(I)イオンのライブセルイメージングが可能です。

1) Tsvetkov et al., *Science*, **2022**, 375, 1254-1261.

<原理>

本製品は、細胞膜透過性を有していることから、生細胞に添加するだけで細胞内に取り込まれます。細胞内に取り込まれた後、銅(I)イオンと選択的に不可逆反応し、蛍光を発します。

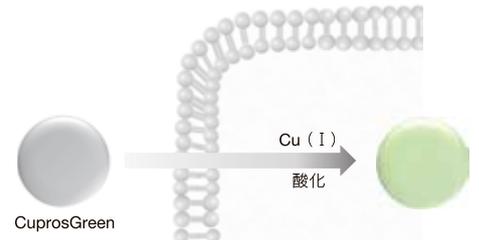
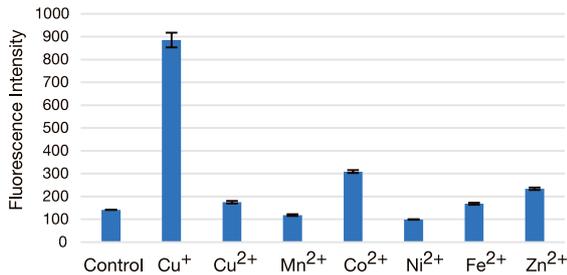


図 CuprosGreen の原理

<銅(I)イオンとの高い金属選択性>

CuprosGreen は銅(I)イオンに対する高い選択性を持つことが分かりました。

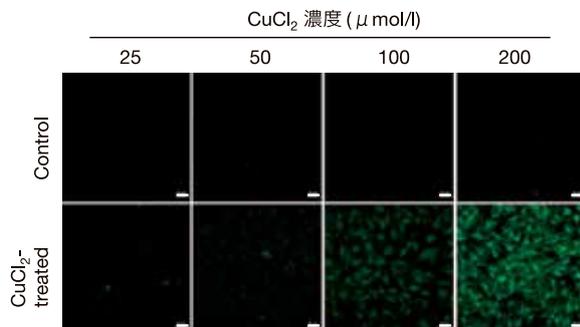
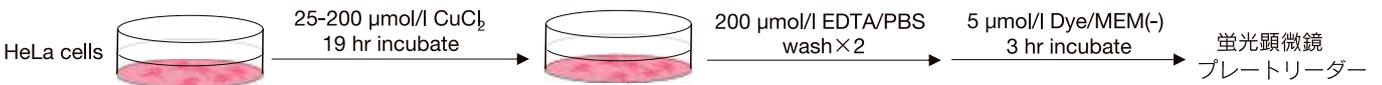


【実験条件】
 金属イオン濃度：20 μmol/l
 CuprosGreen 濃度：1 μmol/l
 Buffer：50 mM HEPES (pH 7.2)
 反応時間：1 時間

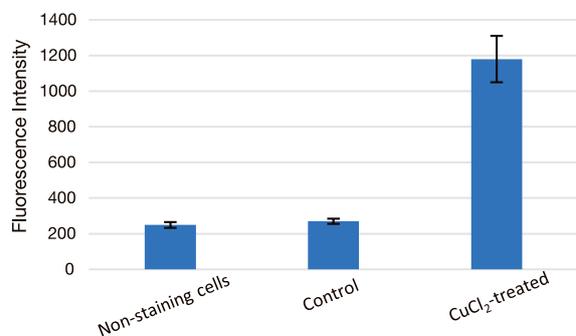
【検出条件】
 蛍光プレートリーダー
 infinite M200 PRO (TECAN 社)
 Ex/Em：470/510 nm

<実験例：HeLa 細胞内の銅(I)の検出>

HeLa 細胞に 25-200 μmol/l 濃度の CuCl₂ を培地中に添加することで銅を取り込ませ、CuprosGreen で検出しました。その結果、添加した銅の濃度依存的な蛍光強度変化をライブセルイメージングすることができました。また蛍光プレートリーダーでも検出できました。



【検出条件】
 共焦点レーザー顕微鏡 Zeiss LSM800
 Ex/Em：488 / 500 - 550 nm
 Scale bar：20 μm



【検出条件】
 蛍光プレートリーダー
 infinite M200 PRO (TECAN 社)
 Ex/Em：470 / 510 nm

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
CuprosGreen	20 μl	29,800	C557

新製品

細胞外 ATP 測定キット

Extracellular ATP Assay Kit-Luminescence

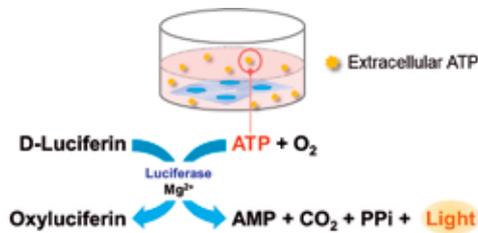
<特長>

- ・ 繊細な細胞外 ATP 測定を正確に測定できるプロトコル付き
- ・ 他のキット製品と組み合わせて複数指標で評価ができる

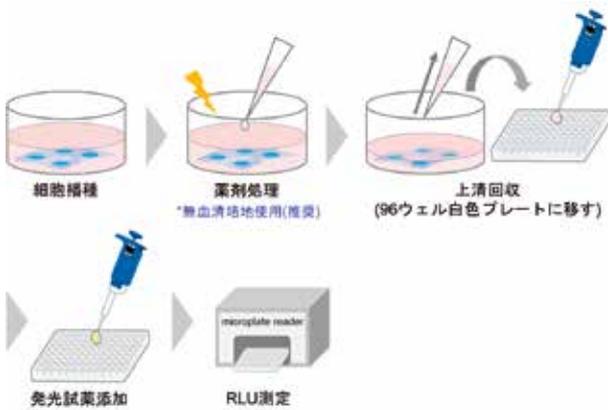
ATP は細胞のエネルギー源として重要ですが、細胞外に放出されるとダメージ関連分子パターン (damage-associated molecular patterns; DAMPs) の一種として神経伝達や細胞増殖、炎症、免疫反応に関与します。例えば、ヒト肺繊維芽細胞では酸化ストレスによる ATP 放出が細胞老化を誘導すると報告されています。また、ATP は細胞死の初期に放出されるため、ネクロプトーシスやパイロトーシスの解明にも注目されています。本製品は細胞培養上清中の ATP を検出できる 96 ウェル対応のキットで、多検体の測定が可能です。

<原理>

本製品では、細胞培養上清中の ATP をホタル・ルシフェラーゼ発光法を用いて測定します。



<実験操作>



- ① マイクロプレートに細胞を播種する
- ② 必要に応じて薬剤刺激を行う
- ③ 細胞培養上清を 96 ウェル白色プレートに移す*
* シングルチャンネルピペットを使用する
- ④ 発光試薬を添加しプレートリーダーで発光量を測定

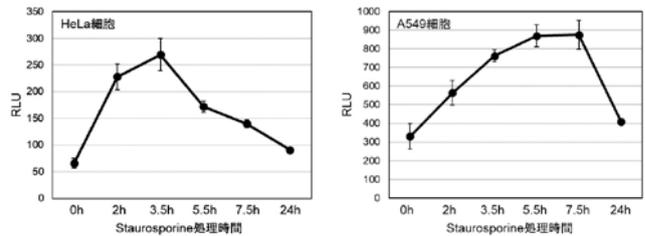
<キット内容>

Substrate	×	1	
Enzyme Solution	20 μl	×	1
eATP Assay Buffer	11 ml	×	1

<実験例>

① Staurosporine 処理した細胞を用いた評価

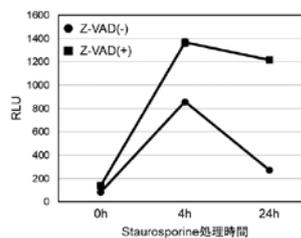
Staurosporine で処理した HeLa 細胞および A549 細胞の細胞外 ATP 放出の時間変化を評価しました。結果、細胞種によって挙動が異なることが確認されました。



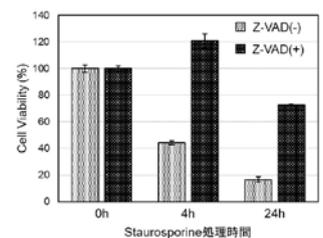
② アポトーシス阻害剤を用いた評価

アポトーシス阻害剤 Z-VAD で前処理した Jurkat 細胞と未処理の細胞を、Staurosporine で処理した場合の細胞外 ATP 放出の時間変化を評価しました。その結果、Z-VAD 処理の有無により、細胞外 ATP 放出の挙動および細胞生存率と細胞外 LDH 量に変化がみられることが確認できました。

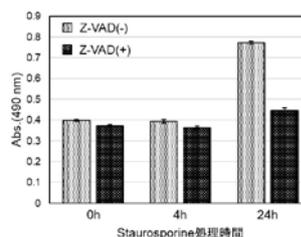
細胞外 ATP の変化：



細胞生存率の変化*



細胞外 LDH の変化*



* 小社製品の Cell Counting Kit-8 と Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST を使用

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Extracellular ATP Assay Kit-Luminescence	100 tests	29,800	E299

新製品

細胞内グアニン四重鎖 (G4) 検出キット

G-Quadruplex Staining Kit

< 特長 >

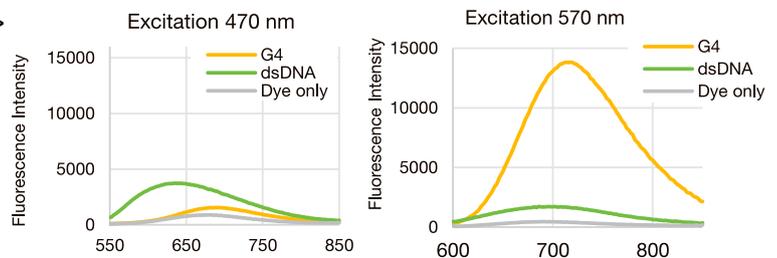
- ・ dsDNA と G4DNA/RNA を染色可能な色素
- ・ dsDNA と G4DNA/RNA を生細胞で染色可能な色素

G-quadruplex (G4) は DNA や RNA の高次構造の一種でグアニンに富む核酸配列で形成され、4つのグアニンが四量体を作った面 (G-カルテット) が2面以上重なった構造体です。ヒト細胞の約 2,300 種類の mRNA 中には G4 が約 3,800 力所形成されることが予測されており、mRNA 中に存在する G4 の役割はこれまで未解明でした。近年の研究^{1), 2)} で G4 は、ゲノムの安定性や遺伝子発現の調節に重要な役割を果たすことが分かってきており、G4 を簡便に検出できる方法が求められてきました。これまで G4 DNA の蛍光プローブが数例報告^{1), 2)} されています。しかし、それらのプローブを用いて G4 を検出するためには蛍光寿命イメージングを行い、G4 と DNA を区別する必要があり、装置的な制約があります。そのため、現在は抗体を用いた蛍光免疫染色が主流となっていますが、細胞内を免疫染色するには細胞の固定化が必要となり、生細胞での観察が不可能です。それらの課題を克服するため生細胞・固定細胞の dsDNA と G4 DNA/RNA を一般的な蛍光顕微鏡で観察可能な蛍光プローブを開発しました。

1) L.-Y. Liu et al., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2020**, 59(24), 9719-9726.
 2) P. A. Summers et al., *Nat. Commun.* **2021**, 12, 162.

< 励起波長による dsDNA および G4 DNA の選択性 >

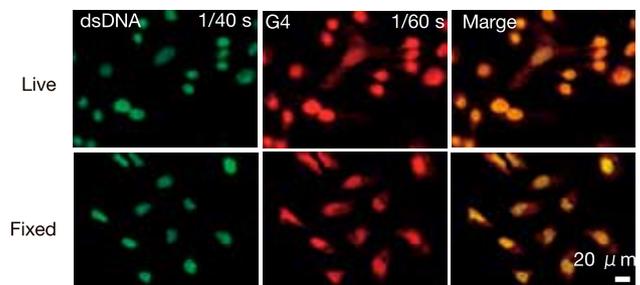
本プローブは、470 nm で励起した場合には dsDNA (λem 600 nm) の蛍光強度が強く、570 nm で励起した場合には G4DNA (λem 700 nm) の蛍光強度が強くなりました。これらの結果から、励起波長と蛍光検出波長を適切に選択することで、dsDNA と G4DNA を識別できることが示されました。



< 実験例：HeLa 細胞の生細胞と固定細胞の染色 >

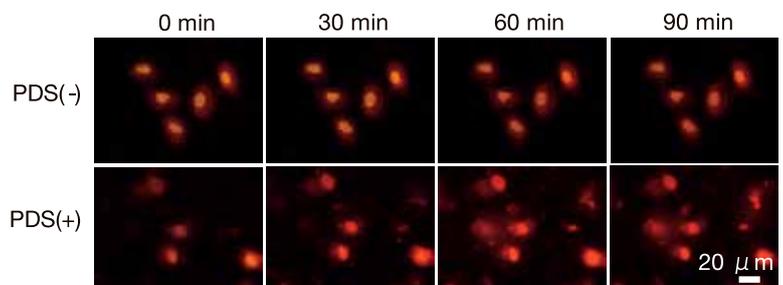
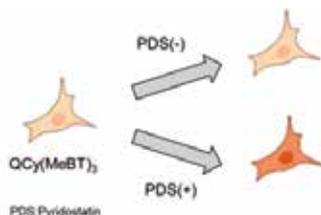
HeLa 細胞を用いて生細胞と固定細胞のイメージング解析を行いました。その結果、いずれにおいても dsDNA と G4 DNA/RNA を染色することができました。

- 【検出条件】
- ・ dsDNA
Ex 470 / 40, DM495
Em 605 / 70
 - ・ G4
Ex 560 / 40, DM585
Em 700 / 75
- Keyence 社製 落射型蛍光顕微鏡 BZ-X710



< 実験例：ピリドスタチン (PDS) 処理した A549 細胞染色のタイムラプス >

生細胞における G4 形成のダイナミクスを可視化した。HeLa 細胞を PDS (0 または 20 μM) で処理し、蛍光顕微鏡画像を 30 分ごとに取得した。PDS の添加により、時間が経過するにつれて、細胞の核からの 700 nm の蛍光が増加した。これらの結果は、細胞内の PDS 誘導 G4 形成が本プローブによって明確に可視化されたことを示した。本プローブは、G4 を生細胞にて観察することが可能です。



※ PDS ピリドスタチンは、高度選択的な G4 相互作用分子です。ピリドスタチンは、G4 構造を安定化し、DNA 損傷と細胞周期停止を引き起こします。

※本製品は、和歌山大学システム工学部 坂本隆准教授らにより開発されたものです。

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
G-Quadruplex Staining Kit	200 tests	45,000	LL04

生命科学の最前線

～熊本大学若手研究者の現場から～ ⑦

小社が立地する熊本県の生命科学研究最前線を、熊本大学の若手研究者が連載（8回）でお届けします。

最長寿・老化耐性齧歯類ハダカデバネズミの細胞老化制御機構

Cellular senescence regulation mechanisms in the longest-lived rodent, the naked mole-rat



河村 佳見

熊本大学
大学院生命科学研究部
老化・健康長寿学講座
助教



岡 香織

熊本大学
大学院生命科学研究部
老化・健康長寿学講座
助教



三浦 恭子

熊本大学
大学院生命科学研究部
老化・健康長寿学講座
教授

Abstract

Naked mole-rats (NMRs) exhibit exceptional longevity and resistance to age-related diseases such as cancer. Unlike other long-lived species, NMRs can be maintained in laboratory settings, making them a valuable model for studying aging resistance and cancer resistance. We recently identified a species-specific mechanism in NMRs that prevents accumulation of senescent cells. Upon cellular senescence induction, NMR fibroblasts undergo delayed and progressive cell death mediated by the INK4a-RB pathway, a phenomenon absent in mouse fibroblasts. NMR fibroblasts uniquely accumulate serotonin and are sensitive to hydrogen peroxide (H_2O_2). After activation of the INK4a-RB pathway, NMR fibroblasts increased monoamine oxidase levels, leading to serotonin oxidization which produces H_2O_2 , resulting in increased intracellular oxidative damage and cell death activation. In the NMR lung, cellular senescence similarly triggered monoamine oxidase-mediated cell death, preventing senescent cell accumulation. These findings suggest that INK4a-RB-mediated cell death likely acts as a natural senolytic mechanism in NMRs, contributing to their resistance to aging and age-related diseases.

1. はじめに

近年の解析技術の進歩により、従来のモデル動物にはない有用な形質、特に長寿命や老化関連疾患耐性をもつ生物種を研究対象として、がんや老化の予防機構を探索する試みが盛んになっている。中でもハダカデバネズミは、マウスと同程度の大きさの小型齧歯類でありながら、最大寿命が40年の最長寿齧歯類であり、顕著な老化耐性と強いがん化耐性を示す。加えて、ゾウやクジラ、コウモリなどの他の長寿/がん化耐性動物と比べ、実験室での飼育方法がほぼ確立されており、革新的ながん・老化の予防・治療方法を開発するための新たな実験動物として非常に注目されている。本稿では、ハダカデバネズミの細胞老化とその制御機構に関する最新の研究成果を紹介する。

2. ハダカデバネズミとは

ハダカデバネズミ (Naked mole-rat, *Heterocephalus glaber*、テバ、図1左) は、アフリカ東部 (エチオピア・ケニア・ソマ

リア) のサバンナの地下に生息する齧歯類である。哺乳類では極めて珍しい、昆虫のアリやハチに類似した分業制の社会構造 (真社会性) (図1右) をもち、数十匹から100匹以上でコロニーを形成し、集団生活を営む。テバは体長8–11 cm、体重約40 gとマウスと同程度の体格ながら、その寿命はマウスの約10倍 (最大寿命40年) であり、齧歯類の中で最も長命である。さらに、個体老化の指標として重要な加齢に伴う死亡率の上昇が認められず、各種生理機能 (活動量・繁殖能力・心臓拡張機能・血管機能など) の加齢による低下が起こりにくいという老化耐性を示す^{1, 2)}。また、2000例以上の剖検で、自然発生腫瘍は数例しか確認されていない^{3, 4)}。近年、私達はテバに化学発がん剤である3-メチルコラントレンもしくはDMBA (7,12-dimethylbenz[a]anthracene) / TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) を投与し発がん誘導を行ったが、2年以上の長期にわたって全例で腫瘍の発生は認められなかった⁵⁾。以上より、顕著な発がん耐性を持つ動物種であると言える。これらの特徴からテバは、老化や

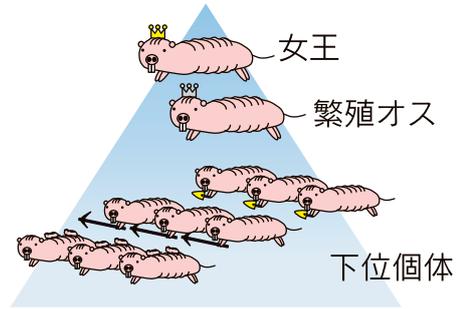


図 1. ハダカデバネズミ (デバ、左) とその社会形態 (右)

繁殖は女王と繁殖オスのみに限られ、その他の下位個体は性成熟が抑制されている。下位個体は巢内の様々な仕事を行う。

がんを含む加齢性疾患の「予防法」の開発につながる実験動物として、分子生物学的研究が盛んになってきた。

3. デバにおける細胞老化

細胞老化とは、様々なストレスによって引き起こされる不可逆的な細胞の分裂停止状態であり、異常細胞の増殖抑制に寄与する。一方、加齢に伴い老化細胞が組織中に蓄積すると、老化細胞は多様な炎症性サイトカインなどを周囲に分泌する。この現象は senescence-associated secretory phenotype (SASP) と呼ばれ、周囲の組織に炎症反応を誘発し、がんをはじめとする様々な加齢性疾患を促進することが知られている。近年では、老化細胞の除去によって老化形質を改善すべく、世界中で競って senolytic drug (老化細胞除去薬) の開発が進められている。それでは、老化耐性を示すデバで細胞老化は起こっているのだろうか。

3.1 デバ細胞の細胞老化

デバの線維芽細胞は、増殖速度は遅いながらも 200 日の間テロメアの短縮も見られず永続的に増殖する、つまり、複製老化を示さないことが報告されている⁶⁾。これは異常細胞の増殖抑制に寄与する細胞老化の役割を考えると、がん抑制にはマイナスに働くことが予想される。一方で、デバの線維芽細胞は種特異的に高発現している高分子量ヒアルロン酸により、ヒトやマウスよりもかなり低い細胞密度で早期接触阻害を示して増殖停止すると言われており⁷⁾、このような性質ががん抑制に寄与している可能性がある。さらに、高分子量ヒアルロン酸は、デバ線維芽細胞への恒常活性化型 Ras (HRAS-V12) と simian virus 40 ラージ T 抗原 (SV40LT) の導入による形質転換および免疫不全マウスへ移植後の造腫瘍性を抑制することも示され、デバ特異的ながん抑制因子の 1 つであると考えられている⁸⁾。しかし、高分子量ヒアルロン酸の有無に関わらず HRAS-V12 および SV40LT の導入のみで形質転換が起こるという相反する報告もあり、デバの細胞が遺伝子導入による発がん誘導にどの程度抵抗性をもつかは現在議論がある^{9, 10)}。

また、最近デバの骨髄から単離された間葉系幹細胞 (MSC) について、培養 90 日目には細胞老化の特徴を示し増殖が停止するが、その後自発的に不死化して増殖を再開したことが報告されている¹¹⁾。デバ MSC は早期接触阻害を示さないこと、また、高分子量ヒアルロン酸を作る HAS2 の発現が低く、ヒアルロン酸分解酵素 HYAL3 の発現が高いことから、おそらく高分子量ヒアルロン酸の量が少ないために、デバ線維芽細胞と比べ不死化しやすい可能性があるとして述べられている。しかし、先述のデバ線維芽細胞が 200 日もの間増殖し続けたことを考えると、培養下のストレスによってデバ線維芽細胞でも不死化細胞が出現していた可能性が考えられる。デバ線維芽細胞で複製老化が起こらないと報告したグループは、発生過程の細胞老化および線維芽細胞へのがん遺伝子導入や放射線照射による細胞老化については、マウスと

同様にデバでも起こることを報告している¹²⁾。これらのことから、デバ線維芽細胞は早期接触阻害や高分子量ヒアルロン酸の産生など種特異的な特徴を持つ一方、マウスと同様のストレスにより細胞老化を起こしうると考えられる。

3.2 デバ細胞特有の細胞老化

私達はこれまでに、デバ線維芽細胞において、iPS 細胞を作製する際の初期化誘導時やがん原遺伝子 *c-Myc* の活性化時にがん抑制因子 *ARF* をノックダウンすると、マウスやヒト線維芽細胞では見られない細胞老化 (ASIS: *ARF* suppression-induced senescence) を起こすことを発見した¹³⁾。*ARF* の抑制というヒトやマウスではがん化につながるような事象が生じた場合、ASIS という種特有の細胞老化を起こし、がん化の危機を回避している可能性がある。また、デバ線維芽細胞では細胞接着や Wnt シグナルに関与する β -catenin が高発現しており、そのノックダウンにより細胞老化が起こることが報告されている¹⁴⁾。このように、デバ線維芽細胞はマウスと同様のストレスに加え、デバ特異的な状況下でも細胞老化を起こすことがわかってきている。

4. デバにおける細胞老化制御機構

デバ細胞は様々な状況で細胞老化を起こす。一方で、加齢したデバの脳、筋肉、脂肪、皮膚組織では、老化細胞の指標となる *INK4a* 遺伝子の発現が低い^{15, 16)}。デバには老化細胞の蓄積を抑制する何らかの機構があるのだろうか。

4.1 DNA 傷害耐性

DNA 傷害は細胞老化を引き起こす要因の一つだが、デバの細胞は DNA 傷害に耐性をもつことが報告されている。デバ線維芽細胞に γ 線を照射し、DNA 傷害による細胞老化を誘導した際、デバ線維芽細胞はマウスと比較してアポトーシスを起こしにくかった¹²⁾。私達もデバ新生仔の脳から神経幹/前駆細胞 (NSPC: Neural stem/progenitor cell) を単離・培養し、マウス NSPC よりも DNA 損傷への抵抗性が高いことを明らかにした¹⁷⁾。放射線照射による DNA 損傷は主に DSB だと考えられるが、近年、デバを含む様々な寿命の齧歯類 18 種の線維芽細胞の比較解析から、DSB の修復能が最大寿命と相関することが報告されている¹⁸⁾。この研究では、DSB 修復に寄与する *SIRT6* の活性が種によって異なり、デバを含む長寿の齧歯類はマウスなどの短命種より *SIRT6* の活性が高いことを明らかにした。このようなデバ細胞の DNA 傷害耐性は、細胞老化の出現抑制に寄与している可能性がある。

4.2 デバ特有の老化細胞の細胞死

デバ細胞は様々な状況下で細胞老化を起こすが、その長期的な挙動は明らかになっていない。私達はデバにおける老化細胞の動態を調べるため、マウスおよびデバ線維芽細胞に DNA 傷害剤で

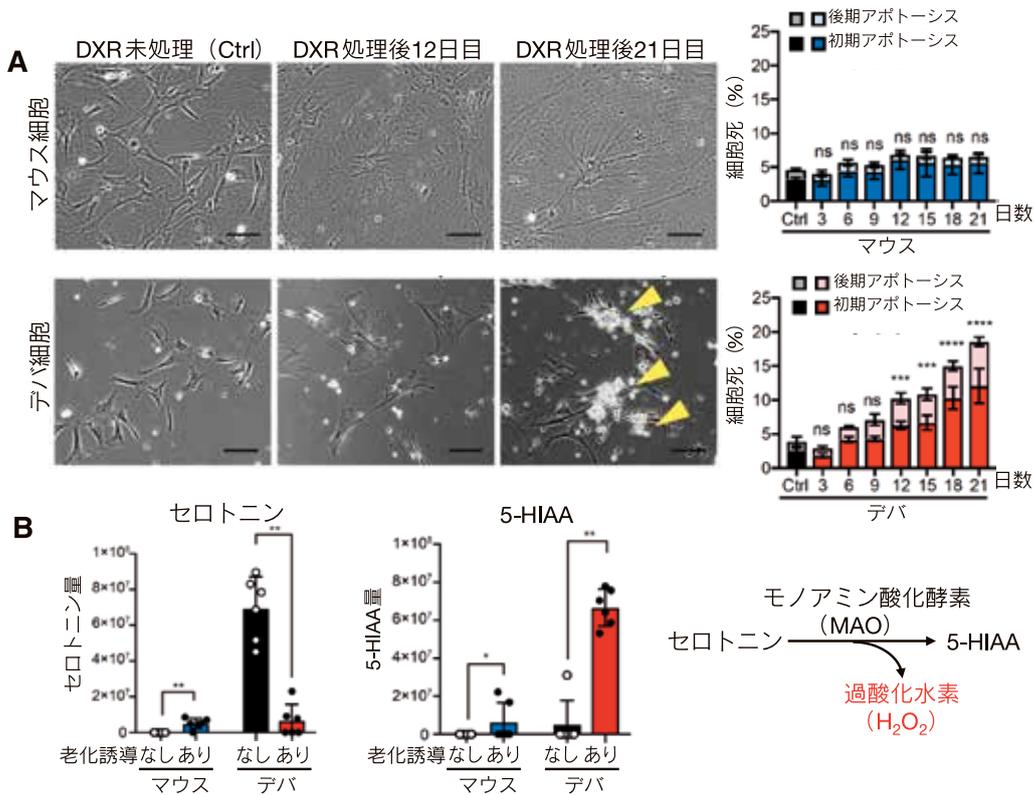


図2. ドキソルビシン (DXR) を用いた細胞老化誘導と代謝産物の解析

(A) マウス及びテバ線維芽細胞に、低濃度のドキソルビシン (DXR) を添加して細胞老化を誘導した細胞の写真 (左)。黄色矢印は死細胞を示す。日数が経過するにつれて、テバ細胞のみで初期及び後期アポトーシスを含む細胞死が有意に増加した (右)。ns: 有意差なし。*: 有意差あり。
 (B) マウス及びテバ線維芽細胞に、INK4a を強制発現して細胞老化を誘導し、セロトニン及び 5-HIAA 量を解析。細胞老化誘導していないテバ線維芽細胞ではセロトニン量が多く、細胞老化誘導後は 5-HIAA 量が多かった (左)。セロトニンはモノアミン酸化酵素により代謝されて 5-HIAA になる。その際、大量の H₂O₂ が生じる (右)。(文献 16 より改変引用)

あるドキソルビシンを低濃度添加し、細胞老化を誘導して経時的に解析した¹⁶⁾。その結果、両者で細胞老化の特徴が見られたが、テバではアポトーシスを含む細胞死が徐々に増加することを発見した (図 2A)。一般的に老化細胞は細胞死抵抗性になることが知られており、このような細胞死はマウスやヒトではみられない。また、この細胞死はアポトーシスに重要な p53 経路には非依存的であり、細胞老化に重要な INK4a-RB 経路が活性化することで誘導されていることがわかった。

細胞老化を誘導すると、テバもマウスも INK4a-RB 経路が活性化するのもにもかかわらず、なぜテバのみに細胞死が引き起こされるのだろうか。細胞老化誘導後の代謝産物を調べたところ、興味深い現象を見出した。細胞老化を起こしていない通常のテバ線維芽細胞には、マウスでは見られないセロトニンの蓄積が生じている一方、細胞老化するとセロトニンが減少し、その代謝産物である 5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA: 5-hydroxyindoleacetic acid) が増加したのである (図 2B 左)。セロトニンから 5-HIAA への代謝経路では、モノアミン酸化酵素 (MAO: monoamine oxidase) が働き、過酸化水素 (H₂O₂: hydrogen peroxide) を同時に産生することが知られている (図 2B 右)。実際、マウスとは異なり、細胞老化を誘導したテバ細胞では MAO のタンパク質量が増加していた。また、H₂O₂ を含む活性酸素種 (ROS: reactive oxygen species) レベルも上昇していた。テバは H₂O₂ を水に還元するグルタチオンペルオキシダーゼの活性が著しく低く^{19, 20)}、マウス線維芽細胞に比べて H₂O₂ に顕著な脆弱性を示すことが報告されている²¹⁾。そのため、老化誘導時にセロトニン代謝経路の活性化により細胞内で生じる H₂O₂ によって、テバのみに細胞死が引き起こされている可能性が考えられた。そこ

で、細胞老化を誘導後、ROS を抑制する抗酸化剤、もしくは MAO 阻害剤を添加したところ、テバの細胞死が有意に抑制された。これらの結果から、細胞老化時に INK4a-RB 経路が活性化すると、細胞内でテバ特異的な MAO の発現上昇により H₂O₂ の産生を伴うセロトニン代謝が亢進し、生来的な細胞の H₂O₂ への脆弱性と協調して、細胞死が生じていることが明らかになった (図 3)。

さらに、テバ生体内でも同様の機構が働いているのかを解析するため、マウスおよびテバに DNA 傷害剤であるプレオマイシンを気管内投与し、肺に細胞老化を誘導した。その結果、プレオマイシン投与による急性の細胞死はマウスとテバの両者で見られたが、マウスでは老化細胞の蓄積が見られる投与後 21 日目において、テバでのみ細胞死が増加した。この増加した細胞死が MAO 依存的かを調べるために、MAO 阻害剤を投与したところ、細胞死が抑制され、老化細胞が増加した。これらのことから、生体内でも MAO を介した細胞死が、老化細胞の蓄積抑制に寄与していると考えられる。

このテバ特有の INK4a-RB 活性化時の MAO を介した細胞死により、老化細胞の蓄積が抑制されることが、テバにおける組織の慢性炎症抑制や老化抑制、ひいては発がん抑制の一因となっている可能性がある。先述したように近年、老化状態を改善するための senolytic drug の開発が進められているが、老化細胞が生体の恒常性維持に寄与する面も報告されており^{22, 23)}、老化細胞除去の安全性についてはさらなる検証が必要である。テバは進化の過程で、種特有の生来的な老化細胞を除去する性質を獲得したと考えられ、安全性の高い老化細胞除去システムを獲得していると推測される。テバにおける老化細胞除去機構の研究を進展させるこ

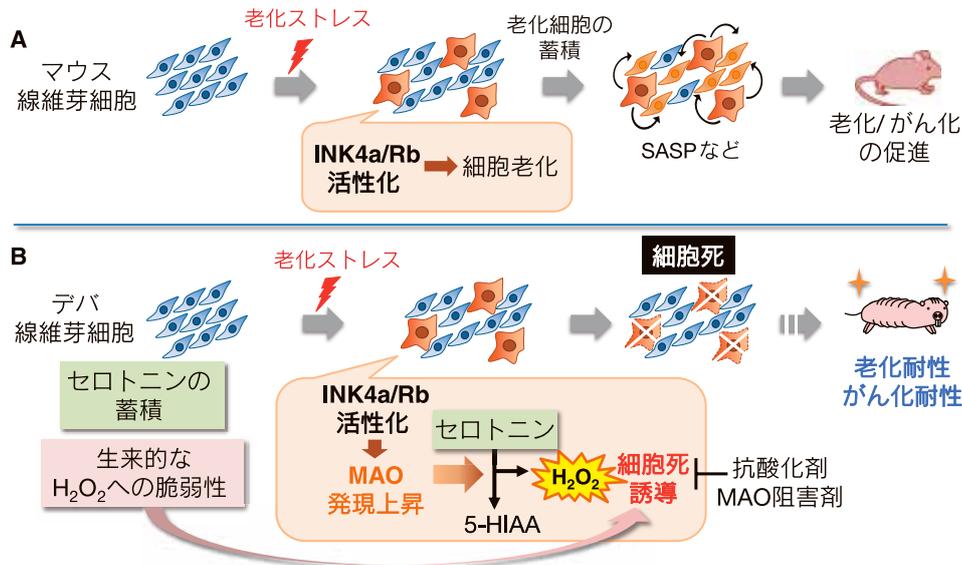


図3. テバにおける老化細胞死のメカニズム

(A) マウス細胞では老化ストレスにより INK4a-Rb が活性化すると、細胞老化が生じる。老化細胞が蓄積することにより、老化やがん化が促進される。
 (B) テバ細胞では老化ストレスにより INK4a-RB が活性化すると、モノアミン酸化酵素 (MAO) が発現上昇し、蓄積していたセロトニンが 5-HIAA に代謝される。その際に産生される過酸化水素 (H_2O_2) と生来的な H_2O_2 への脆弱性が協調的に働くことで、細胞死が誘導される。本機構による老化細胞の蓄積抑制が、老化耐性やがん化耐性に寄与している可能性がある。

とで、どのような老化細胞をいつ、どのように除去すべきかなど、より安全な senolytic drug の開発へ貢献できるかもしれない。

5. おわりに

本稿では、テバにおける細胞老化とその制御機構について紹介した。老化耐性齧歯類であるテバの細胞でも細胞老化は生じる。しかし、テバ線維芽細胞は DSB の修復活性が高いと考えられるため、もともと生体内で老化細胞が出現しにくい可能性がある。加えて、DNA 傷害による細胞老化が生じた場合、少なくとも肺においては老化細胞で細胞死が誘導され、老化細胞の蓄積が抑制されていると考えられる。テバは、本稿で述べた機構および未発見の機構で細胞老化を制御し、健康長寿を実現しているのかもしれない。紙面の都合上割愛したが、テバの健康長寿は、細胞老化制御に加えて、多岐にわたる要素が複合的に作用することで実現していると考えられる。現在、内因性の炎症の減弱^{5, 24)} や免疫系の特殊性^{25, 26)}、翻訳正確性²⁷⁾、タンパク質安定性²⁸⁾、代謝制御など多様な切り口から研究が進められている。近年、様々な長寿動物の解析が可能になったが、組織や個体を用いた研究はまだ少なく、テバが実験室で飼育・繁殖でき、個体を用いた解析も可能である利点は大きい。発生工学技術の開発は困難が予想されるが、将来的にテバ個体の遺伝子改変が実現することで、より核心に迫った研究が進展すると期待される。

[参考文献]

- 1) R. Buffenstein, "Negligible senescence in the longest living rodent, the naked mole-rat: insights from a successfully aging species", *J. Comp. Physiol. B.*, **2008**, 178(4), 439-445.
- 2) J. G. Ruby *et al.*, "Naked mole-rat mortality rates defy gompertzian laws by not increasing with age", *Elife*, **2018**, 7, e31157.
- 3) Y. H. Edrey *et al.*, "Successful aging and sustained good health in the naked mole rat: A long-lived mammalian model for biogerontology and biomedical research", *ILAR J.*, **2011**, 52(1), 41-53.
- 4) M. A. Delaney *et al.*, "Initial Case Reports of Cancer in Naked Mole-rats (*Heterocephalus glaber*)", *Vet. Pathol.*, **2016**, 53(3), 691-696.
- 5) K. Oka *et al.*, "Resistance to chemical carcinogenesis induction via a dampened inflammatory response in naked mole-rats", *Commun. Biol.*, **2022**, 5(1), 287.
- 6) A. Seluanov *et al.*, "Distinct tumor suppressor mechanisms evolve in rodent species that differ in size and lifespan", *Aging Cell*, **2008**, 7(6), 813-823.
- 7) A. Seluanov *et al.*, "Hypersensitivity to contact inhibition provides a clue to cancer resistance of naked mole-rat", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2009**, 106(46), 19352-19357.
- 8) X. Tian *et al.*, "High-molecular-mass hyaluronan mediates the cancer resistance of the naked mole rat", *Nature*, **2013**, 499(7458), 346-349.
- 9) F. Hadi *et al.*, "Transformation of naked mole-rat cells", *Nature*, **2020**, 583(7814), E1-E7.
- 10) J. Zhao *et al.*, "Reply to: Transformation of naked mole-rat cells", *Nature*, **2020**, 583(7814), E8-E13.
- 11) S. Emmrich *et al.*, "Characterization of Naked Mole-Rat Mesenchymal Stromal Cells: Comparison with Long- and Short-Lived Mammals", *Aging Biol.*, **2024**, 2, e20240029.
- 12) Y. Zhao *et al.*, "Naked mole rats can undergo developmental, oncogene-induced and DNA damage-induced cellular senescence", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2018**, 115(8), 1801-1806.
- 13) S. Miyawaki *et al.*, "Tumour resistance in induced pluripotent stem cells derived from naked mole-rats", *Nat. Commun.*, **2016**, 7, 11471.
- 14) W.-Y. Chee *et al.*, " β -catenin-promoted cholesterol metabolism protects against cellular senescence in naked mole-rat cells", *Commun. Biol.*, **2021**, 4(1), 357.
- 15) B. P. Lee *et al.*, "Negligible senescence in naked mole rats may be a consequence of well-maintained splicing regulation", *Geroscience*, **2020**, 42(2), 633-651.
- 16) Y. Kawamura *et al.*, "Cellular senescence induction leads to progressive cell death via the INK4a-RB pathway in naked mole-rats", *EMBO J.*, **2023**, 42(16), 1-19.
- 17) Y. Yamamura *et al.*, "Isolation and characterization of neural stem/progenitor cells in the subventricular zone of the naked mole-rat brain", *Inflamm. Regen.*, **2021**, 41(1), 31.
- 18) X. Tian *et al.*, "SIRT6 is responsible for more efficient DNA double-strand break repair in long-lived species", *Cell*, **2019**, 177(3), 622-638.e22.
- 19) B. Andziak *et al.*, "Antioxidants do not explain the disparate longevity between mice and the longest-living rodent, the naked mole-rat", *Mech. Ageing Dev.*, **2025**, 126(11), 1206-1212.
- 20) M. V. Kasaikina *et al.*, "Reduced utilization of selenium by naked mole

rats due to a specific defect in GPx1 expression”, *J. Biol. Chem.*, **2011**, 286(19), 17005–17014.

- 21) A. B. Salmon *et al.*, “Fibroblasts from naked mole-rats are resistant to multiple forms of cell injury, but sensitive to peroxide, ultraviolet light, and endoplasmic reticulum stress”, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **2008**, 63(3), 232-241.
- 22) M. Demaria *et al.*, “An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA”, *Dev. Cell.*, **2014**, 31(6), 722-733.
- 23) N. S. Reyes *et al.*, “Sentinel p16^{INK4a+} cells in the basement membrane form a reparative niche in the lung”, *Science*, **2022**, 378(6616), 192-201.
- 24) Z. Zhang *et al.*, “Increased hyaluronan by naked mole-rat Has2 improves healthspan in mice”, *Nature*, **2023**, 621(7977), 196-205.
- 25) T. D. Lin *et al.*, “Evolution of T cells in the cancer-resistant naked mole-rat”, *Nat. Commun.*, **2024**, 15(1), 3145.
- 26) G. Sanchez Sanchez *et al.*, “Invariant $\gamma\delta$ TCR natural killer-like effector T cells in the naked mole-rat”, *Nat. Commun.*, **2024**, 15(1), 1-17.
- 27) J. Azpurua *et al.*, “Naked mole-rat has increased translational fidelity compared with the mouse, as well as a unique 28S ribosomal RNA cleavage”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2013**, 110(43), 17350-17355.
- 28) V. I. Perez *et al.*, “Protein stability and resistance to oxidative stress are determinants of longevity in the longest-living rodent, the naked mole-rat”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2009**, 106(9), 3059-3064.

Figure 2 was adapted from Reference 16) published by Springer Nature (2023).

[著者プロフィール]

氏名：河村 佳見 (Yoshimi Kawamura)
 所属：熊本大学大学院生命科学研究部 老化・健康長寿学講座
 〒 860-0811 熊本県熊本市中央区本荘 2-2-1
 TEL：096-373-6852
 FAX：096-373-6852
 E-mail：kawamuray@kumamoto-u.ac.jp
 出身学校：九州大学
 学位：博士（理学）
 専門分野：発生工学
 現在の研究テーマ：最長寿命齧歯類ハダカデバネズミの発生工学技術の開発

氏名：岡 香織 (Kaori Oka)
 所属：熊本大学大学院生命科学研究部 老化・健康長寿学講座
 〒 860-0811 熊本県熊本市中央区本荘 2-2-1
 TEL：096-373-6852
 FAX：096-373-6852
 E-mail：okaori@kumamoto-u.ac.jp
 出身学校：北海道大学
 学位：博士（生命科学）
 専門分野：比較動物学
 現在の研究テーマ：長寿動物が有する抗老化・抗疾患メカニズムの探索

氏名：三浦 恭子 (Kyoko Miura)
 所属：熊本大学大学院生命科学研究部 老化・健康長寿学講座
 〒 860-0811 熊本県熊本市中央区本荘 2-2-1
 TEL：096-373-6852
 FAX：096-373-6852
 E-mail：miurak@kumamoto-u.ac.jp
 出身学校：奈良女子大学
 学位：博士（医学）
 専門分野：長寿生物医科学
 現在の研究テーマ：ハダカデバネズミの体と社会の「健康長寿」システムの理解と応用

関連製品

アポトーシス (Annexin V) プレートアッセイキット

Annexin V Apoptosis Plate Assay Kit

<特長>

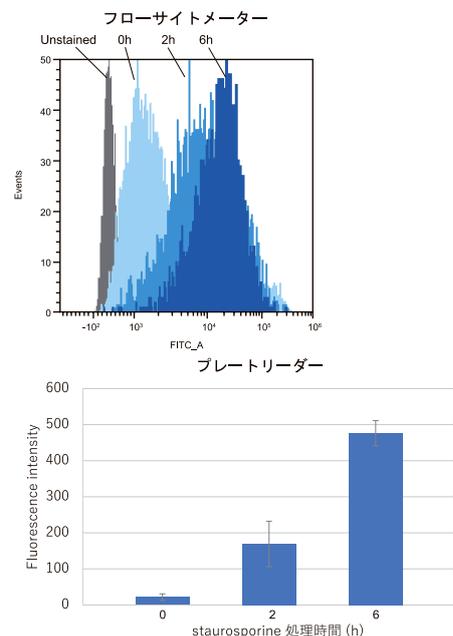
- ・ Annexin V アッセイがプレートリーダーで測定可能
- ・ Quenching Buffer (同梱) で洗浄が不要
- ・ スループット性が高く多検体処理が可能

本製品は、ホスファチジルセリン (PS) と特異的に結合する Annexin V を蛍光標識しており、アポトーシス初期の細胞を蛍光検出することが可能です。一般的に、フローサイトメトリーや蛍光顕微鏡を用いてアポトーシス細胞の検出が行われていますが、本製品には蛍光標識体のバックグラウンド蛍光を消去する試薬 (Quencher Buffer) を同梱しているため、洗浄操作を行わずプレートリーダー*で迅速に多検体処理することが可能です。

* 本製品はボトムリーディングが可能なプレートリーダーが必要です

<フローサイトメトリー法との比較>

HeLa 細胞を Staurosporine で処理し、アポトーシスを誘導しました。一方は市販の FITC 標識 Annexin V で染色後にフローサイトメーターで検出し、もう一方は本キットを用いてプレートリーダーで蛍光検出しました。その結果、フローサイトメーターとプレートリーダー両方でアポトーシスの進行に伴い蛍光強度の増加を確認しました。



【サンプル】
 HeLa 細胞
 【薬剤】
 Staurosporine 5 μ mol/l, 0 ~ 24 hr

【検出条件】
 プレートリーダー
 (TECAN 社製 Infinite M200 PRO ボトムリーディング)
 Ex = 488 nm, Em = 525 nm
 フローサイトメーター
 (SONY 社製 SA3800)

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Annexin V Apoptosis Plate Assay Kit	100 tests	29,800	AD12

関連製品

細胞老化(SA-β-Gal)検出キット(Blue)

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER Blue

<特長>

- ・固定化細胞の SA-β-gal を簡便かつ迅速に検出することが可能
- ・プレートリーダーやフローサイトメーターでも測定が可能
- ・緑色や赤色の蛍光色素と共染色が可能

正常細胞は、分裂を繰り返すことや、酸化ストレス等により DNA に損傷を生じます。損傷 DNA が修復されない場合には、不可逆的に細胞分裂を停止することにより細胞の癌化を抑制します。不可逆的な細胞分裂の停止は細胞老化と呼ばれており、老化細胞には SA-β-gal (senescence-associated β-galactosidase) が過剰発現しています。このため、SA-β-gal は、老化マーカーのひとつとしてその判別に汎用されています。

<原理>

本製品は、SA-β-gal を簡便かつ高感度に検出するためのキットです。固定化細胞中の SA-β-gal と反応することで青色蛍光を発するため、緑や赤色の蛍光特性を持つ色素や蛍光標識抗体による免疫染色との共染色が可能です。

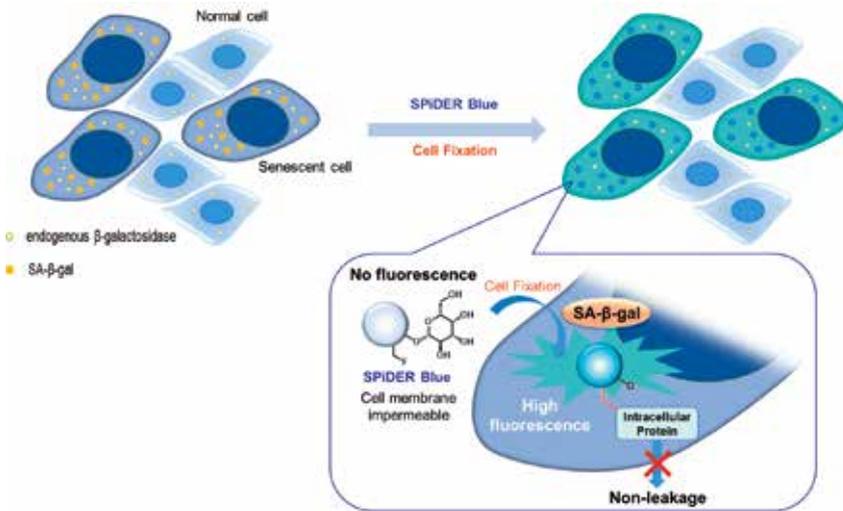


図1 SPiDER Blue による老化細胞の検出原理

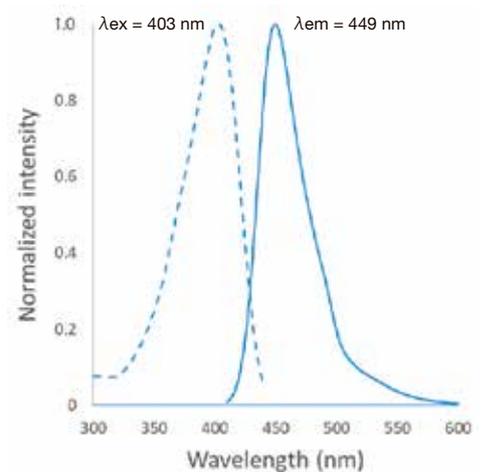


図2 反応後の励起蛍光スペクトル

< Doxorubicin 処理で老化誘導した A549 細胞中の SA-β-gal の解析 >

細胞周期の G2/M 期に作用し細胞増殖を停止させ、細胞老化を誘導することが知られる Doxorubicin (DOX) を A549 細胞へ添加後、細胞を固定化し、本製品によるイメージング (図3) およびプレートアッセイ (図4) を行いました。その結果、DOX 処理した細胞では、SA-β-gal の発現が亢進していることが双方の解析結果で確認されました。

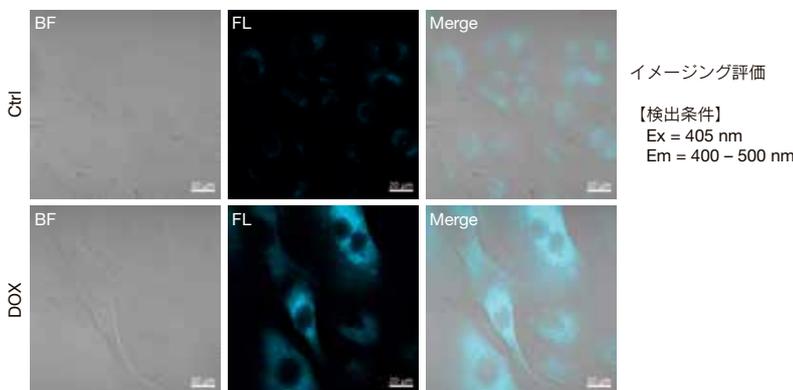


図3 DOX 処理による SA-β-gal の蛍光イメージング画像

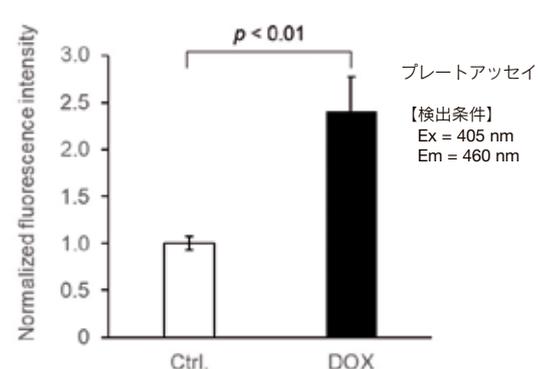


図4 DOX 処理による SA-β-gal のプレートアッセイ

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER Blue	1 plate	39,000	SG07

関連製品

細胞老化検出用試薬・キット

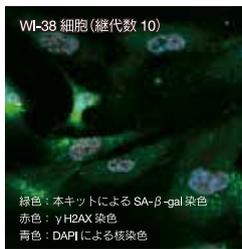
小社では細胞老化検出用の試薬およびキットを、評価方法と目的に応じて選択できるように4種類の製品をご用意しています。

製品ラインナップ

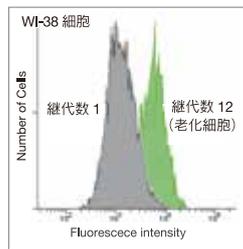
蛍光顕微鏡、FCM※による高感度解析

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal

- ・ X-gal では困難だった定量解析が容易に
- ・ 生細胞、固定化細胞の SA-β-gal 活性を検出



蛍光イメージング(多重染色)



フローサイトメトリー定量解析

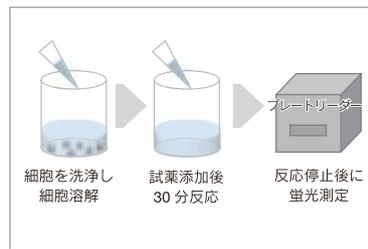
老化細胞のモデルとして継代培養を繰り返した WI-38 細胞を用い解析。

※ FCM：フローサイトメトリー

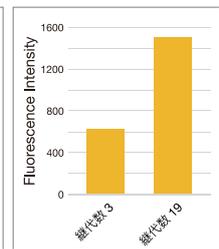
プレートリーダーによる簡便な検出

Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal

- ・ 簡便な操作で SA-β-gal 活性を数値化
- ・ マイクロプレートによる多検体処理



測定操作



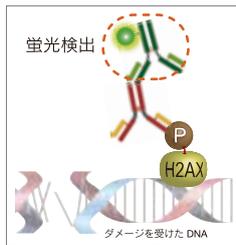
プレートリーダー解析

継代数の異なる WI-38 細胞を用い SA-β-gal 活性を数値化。

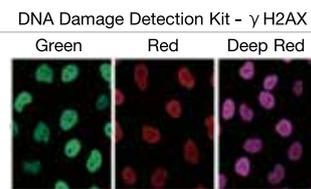
DNA ダメージの変化を老化細胞で解析

DNA Damage Detection Kit - γH2AX

- ・ γH2AX を指標に DNA ダメージを評価
- ・ 蛍光波長の異なる 3 色をラインナップ



検出方法



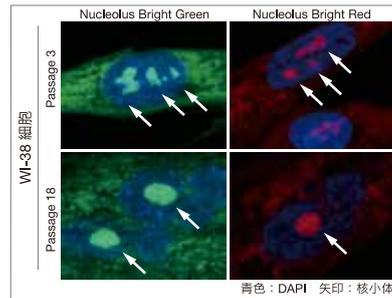
Doxorubicin 処理した細胞の評価

Doxorubicin 添加により、DNA ダメージを受けた細胞を解析。

核小体の変化を老化細胞で解析

Nucleolus Bright Green/ Nucleolus Bright Red

- ・ RNA 選択的な色素で核小体を可視化
- ・ 固定化細胞への添加で多重染色できる



青色：DAPI 矢印：核小体

継代数が少ない細胞に比べ、継代数の多い細胞では核小体が肥大化あるいは一つに凝集しているものを多く観察。

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal	10 assays	49,700	SG03
Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal	20 tests 100 tests	13,800 39,700	SG05
Nucleolus Bright Green	60 nmol	34,900	N511
Nucleolus Bright Red	60 nmol	34,900	N512
DNA Damage Detection Kit - γH2AX - Green	1 set	42,400	G265
DNA Damage Detection Kit - γH2AX - Red	1 set	42,400	G266
DNA Damage Detection Kit - γH2AX - Deep Red	1 set	42,400	G267

脂肪酸分析のご案内 – 同仁グローバル

目的に沿った脂肪酸分析をご提案します

<脂肪酸受託分析をご検討の皆様へ>

- ・ サンプルの前処理方法や脂肪酸分析のやり方が分からない
- ・ 研究や製品開発、品質管理において脂肪酸分析を行いたい
- ・ サンプル中の微量の脂肪酸を分析したい
- ・ 脂肪酸組成の変化を測定したい
- ・ 脂肪酸分析が必要だが、前処理や分析が面倒だ
- ・ 短鎖脂肪酸（ギ酸、酢酸、酪酸など）の分析

各種サンプルに含まれる脂肪酸分析は、数が多く構造が類似している、また構造異性体が多い、サンプルが微量であるなどの理由で、通常 GC/MS によって行われます。GC/MS による脂肪酸分析は、技術の習得に加え、機器の手配や管理、妥当な前処理、測定条件の設定など、サンプル調製からデータ取得・解析に至るまでに相応の期間を要します。株式会社 同仁グローバルでは様々なサンプルの脂肪酸分析に関する豊富な実績がありますので、是非ご相談ください。

<分析事例>

魚ウルメイワシの腹部、背、皮、目の周り（ゼラチン部分）及び培養細胞ヒト不死化ケラチノサイトについて脂肪酸組成分析を行いました。腹部や背部には、DHA やパルミチン酸が多く含まれていました。特に DHA は全脂肪酸の 33% と多くを占めていました。それと比べ、目の周りのゼラチン質の DHA は 10% 程度と、組成比は意外に低いことが分かりました。

【分析方法】

- 誘導体化：メチルエステル化
- 分析装置：GC/MS（アジレント・テクノロジー）

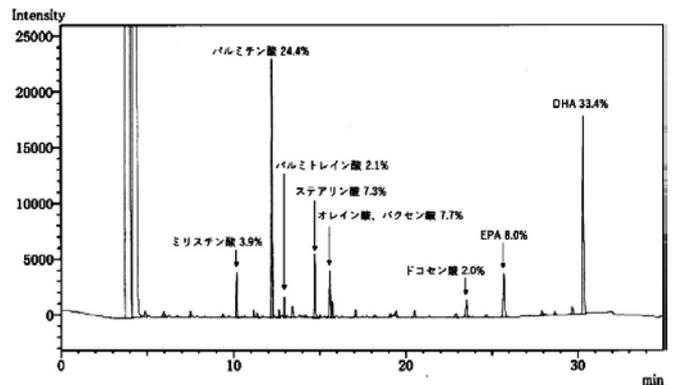
ウルメイワシ(生)各部位の脂肪酸組成

ウルメイワシ(生)各部位の脂肪酸組成

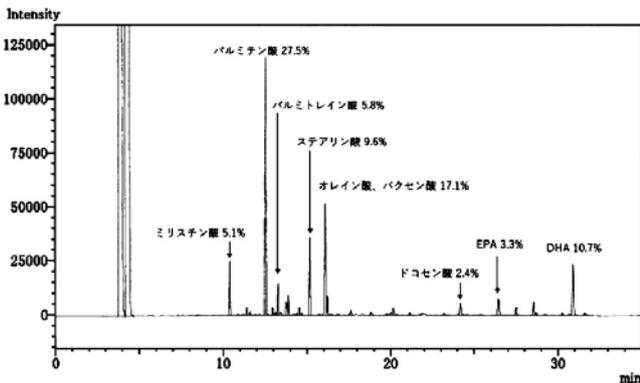
炭素数：不飽和結合数	脂肪酸名称	イワシの各部位の脂肪酸組成 (%)			
		肉（腹部）	肉（背部）	皮	目の周り
C14:0	ミリスチン酸	3.9	3.7	8.1	5.1
C15:0	ペンタデカン酸	1.1		1.4	1.4
C16:0	パルミチン酸	24.4	25.8	37.2	27.5
C16:1	パルミトレイン酸	2.1	3.1	6.0	5.8
C17:0	ヘプタデカン酸	2.0	1.9	3.0	4.7
C17:1	ヘプタデセン酸				1.9
C18:0	ステアリン酸	7.3	7.6	11.1	9.6
C18:1(total)	オレイン酸、パクセン酸	7.7	7.9	11.4	17.1
C18:2 n6	リノール酸	1.0			
C20:1	エイコセン酸		1.7	2.8	2.0
C20:5 n3	エイコサペンタエン酸 (EPA)	8.0	6.9	2.6	3.3
C24:1	テトラコセン酸	1.4	1.2	1.1	2.6
C22:1 n9	ドコセン酸	2.0	2.6	2.5	2.4
C22:6 n3	ドコサヘキサエン酸 (DHA)	33.4	33.4	6.7	10.6
	その他	5.7	4.2	6.1	6.0



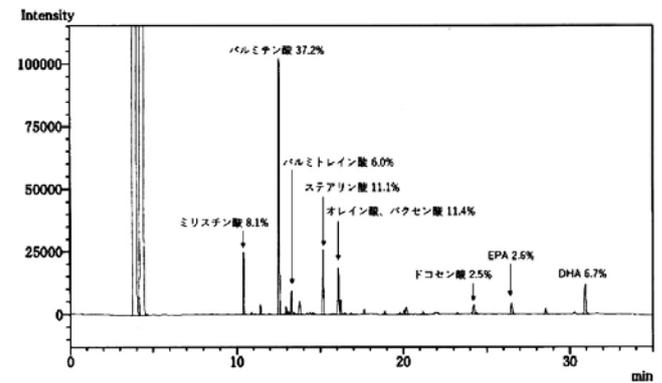
【動物組織】イワシ腹部



【動物組織】イワシ目の周り(ゼラチン部分)



【動物組織】イワシ皮



株式会社同仁グローバル

<お問合せ>

Tel 096-286-1311

Fax 096-286-1312

glocal@dojindo.co.jp



同仁グローバル 検索

www.dojin-glocal.com

脂肪酸分析



がん・神経疾患・老化を 細胞の機能から 理解を深める

Neuro-
degeneration

Cancer

Autophagy

Ferroptosis

Mitochondria

Senescence



シセルちゃん

冊子発行予定



小社へのお問い合わせ等は下記 HP よりお願いします
URL : <https://www.dojindo.co.jp/>

次号テーマ

ラマンプローブほか