

---

**トピックス**

---

**フェロトーシスとその防御に関する研究の一層の広がり****Further expansion of research on ferroptosis and its defense mechanism****はじめに**

私たちの身体は日常的に酸化ストレスに晒されており、生体内において発生する活性酸素種 (ROS) による酸化反応と抗酸化酵素や抗酸化成分による還元反応、これらのバランスが常に保たれている。しかし、何らかの異常により生体内の酸化力が抗酸化力を上回った状態が続くと、身体に様々な異常をきたし、疾病に至ると考えられている。近年では、生体膜を構成するリン脂質の酸化物として知られている酸化リン脂質 (PLOOH) の生成と還元バランスが崩れることによって、フェロトーシスという脂質酸化特異的な細胞死が誘導されることが示され、多くの注目を集めている。その防御機構に関する研究も進み、フェロトーシスでは抗酸化酵素のグルタチオンペルオキシダーゼ 4 (GPX4) が重要であり、GPX4 は細胞内で生じた PLOOH を還元することにより細胞をフェロトーシスから保護していると考えられている。ここではまず、フェロトーシスの発見経緯について概説し、次いで我々がこれまで検討してきたヒト肝癌細胞 HepG2 におけるホスファチジルコリンヒドロペルオキシド (PCOOH; 主要な PLOOH) のフェロトーシス誘導機構や PCOOH の還元機構を他の研究者の知見も交えて述べる。さらに、トピックスとして GPX4 KO HepG2 で見いだされつつある GPX4 非依存的な PCOOH 還元反応について紹介し、この経路の重要性を考察していきたい。

**フェロトーシスとは**

フェロトーシスとは、2012年に Stockwell らの研究グループにより提案された鉄分子が関与する非アポトーシス性の制御された細胞死であり<sup>1)</sup>、RAS 変異腫瘍細胞に対して選択的に細胞死を引き起こす化合物 (RSL; Ras-Selective Lethal) を探索する過程で発見された<sup>2-4)</sup>。その形態学的性質はアポトーシスやネクローシスとは大きく異なり、アポトーシスで見られる核の変化や、ネクローシスで見られる細胞膜の崩壊などはみられず、ミトコン

ドリアの膜密度の増加、およびミトコンドリアクリステの減少や消失などがフェロトーシスの特徴として現れる。

上述の探索で見いだされた化合物が、GPX4 の基質となるグルタチオン (GSH) を枯渇させるエラスチン<sup>1)</sup>、そして GPX4 の活性を阻害する RSL-3 である<sup>5)</sup>。こうした探索に次いで、培養細胞 (例: マウス胚性線維芽細胞 (Pfa1) やヒト線維肉腫由来 HT-1080) において GPX4 をノックアウト (KO) すると確かにフェロトーシスが誘導されることが示され<sup>6-9)</sup>、また、GPX4 KO マウスは胎生致死であることも報告された<sup>10)</sup>。これらのことから、GPX4 はフェロトーシスの保護因子として重要な働きを担っていると考えられるようになった。GPX4 はリン脂質の酸化物 (PLOOH) をリン脂質ヒドロキシド (PLOH) に還元する抗酸化酵素であることから、GPX4 の標的である PLOOH がフェロトーシスの誘導物質と言われるようになった。さらに、冒頭で述べたようにフェロトーシスは鉄依存性の性質が示されていることから、細胞内二価遊離鉄 (Labile iron pool) を介したフェントン反応 (ROS であるラジカルを生じる) によりリン脂質がラジカル酸化され、生じた PLOOH により細胞死が誘導されることが考えられており、このメカニズムが現在のフェロトーシスにおける最有力説となっている。この説を支持するように、Labile iron pool を制御する鉄代謝系の酵素 (フェリチン (Ftn) やトランスフェリン受容体 1 (TRF1)、ヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1) など) が、フェロトーシスの制御因子として相次いで報告された。また、フェロスタチン-1 (Fer-1) や  $\alpha$ -トコフェロール ( $\alpha$ -Toc)、コエンザイム Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>)、メナキノン 4 (MK4) などのラジカルスカベンジャーによるフェロトーシスの抑制効果も数多く報告されている<sup>8) 9) 11)-13)</sup>。

以上をまとめると、細胞が正常な状態では PLOOH の生成と還元バランスは保たれ、細胞内で生じた PLOOH は GPX4 によって速やかに除去されることが考えられるものの、病的な状態 (例: 鉄代謝異常による Labile iron pool の増加、また、エラスチンや RSL-3 による GPX4 活性の低下) では PLOOH が細胞に異常に

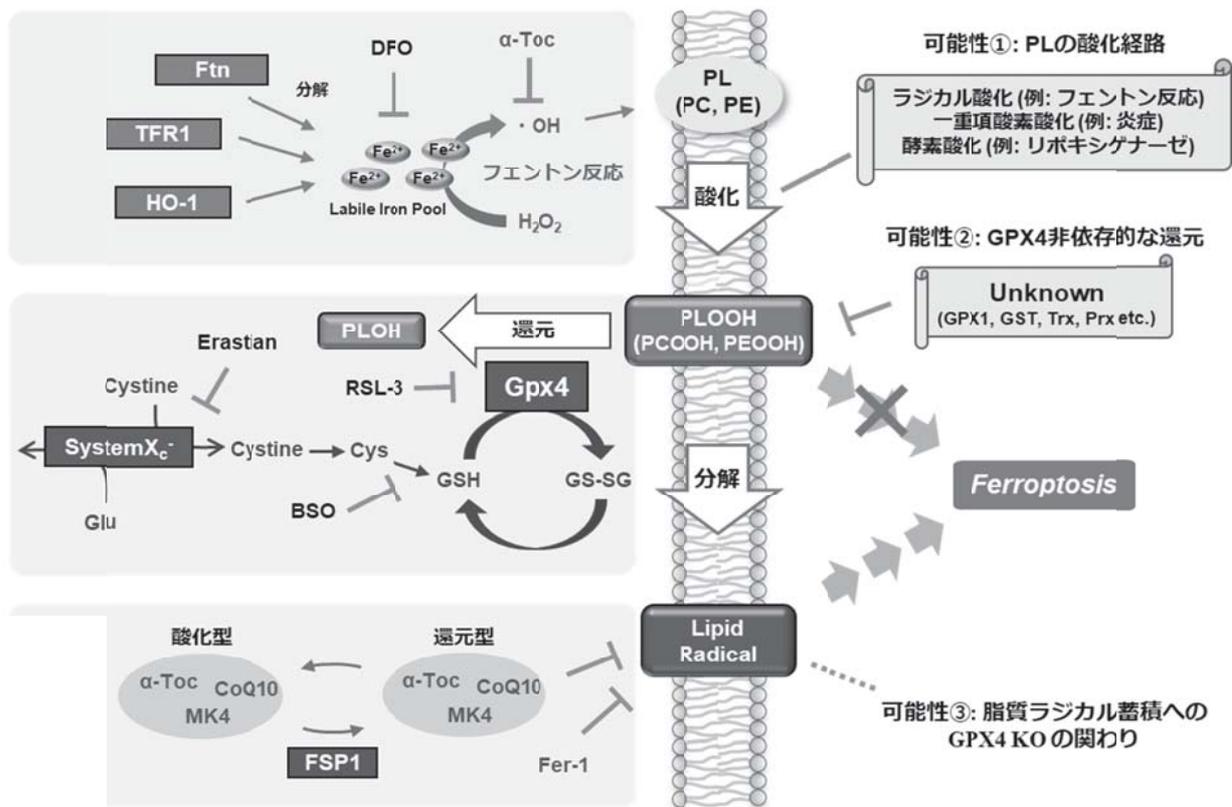


図1 フェロトーシスのメカニズムと新たな制御機構の可能性

PL, phospholipid; PC, phosphatidylcholine; PE, phosphatidylethanolamine; PLOOH, phospholipid hydroperoxide; PCOOH, phosphatidylcholine hydroperoxide; PEOOH, phosphatidylethanolamine hydroperoxide; PLOH, phospholipid hydroxide; Ftn, ferritin; TFR1, transferrin receptor 1; HO-1, heme oxygenase-1; ·OH, hydroxyl radical; DFO, deferoxamine; SystemX<sub>c</sub><sup>-</sup>, cystine/glutamate antiporter; GSH, glutathione; GS-SG, oxidized glutathione; GPX4, glutathione peroxidase 4; BSO, L-buthionine-(S,R)-sulfoximine; RSL-3, (1S,3R)-RAS-Selective Lethal 3; α-Toc, α-tocopherol; CoQ10, coenzyme Q10; MK4, menaquinone 4; FSP1, ferroptosis suppressor protein 1; Fer-1, ferrostatin-1; GPX1, glutathione peroxidase 1; GST, glutathione-S-transferase; Trx, thioredoxin; Prx, peroxiredoxin.

蓄積してフェロトーシスが誘導されると考えられる(図1)。パーキンソン病やアルツハイマー病などの神経変性疾患、虚血性再灌流による臓器障害において鉄代謝異常による鉄の異常蓄積が観察されることから、これらの疾患へのフェロトーシスの関与が大きな注目を集めている。また、癌細胞はフェロトーシス感受性が高いと言われており、その理由のひとつとして癌細胞の鉄の取り込み能が正常細胞よりも高いことが示唆されている。このように、フェロトーシスの病理学的意義は非常に興味深く、その制御は様々な疾病の治療や予防に繋がるとして期待されている。

### HepG2 における PCOOH 誘導フェロトーシス、防御機構としての PCOOH の還元反応

これまで述べてきたように、フェロトーシスは鉄依

存的な細胞死であることから、鉄を介したフェントン反応によるリン脂質のラジカル酸化が PLOOH の形成経路と推測されている(図1)。加えて我々の身体ではミトコンドリア電子伝達系など様々な生体反応によってもラジカルが生じて PLOOH が形成され、さらには炎症などで生じる一重項酸素による酸化、リポキシゲナーゼなどによる酵素酸化によっても PLOOH は形成され得る。実は、これら3つの酸化経路(ラジカル酸化、一重項酸素酸化、酵素酸化)によって生じる PLOOH の構造は、経路に応じて幾分異なる。例えば、リノール酸(18:2)を有するリン脂質がフェントン反応などの要因でラジカル酸化されると、9-もしくは13-ヒドロペルオキシオクタデカジエン酸(HpODE)を有する PLOOH(図2Aは PCOOH の場合)が生じる。リポキシゲナーゼなどによる酵素酸化も同様であるが、炎症な

どで生じる一重項酸素による酸化では、9, 10, 12-もしくは13-HpODEを持つ PLOOHが生成する。我々は、こうした構造の違いを正確に捉えられる分析法(LC-MS/MS)を独自に構築してきており<sup>14)-16)</sup>、構造の違い(言い換えれば酸化経路の違い)が、フェロトキシスの

誘導性にどのように関わるのかに非常に興味を持った。

そこで我々は、細胞膜の主要なリン脂質であるホスファチジルコリン(16:0/18:2)を適宜酸化させ、4種類の異性体から成る PCOOH mixture(9-HpODE-PC, 10-HpODE-PC, 12-HpODE-PC と 13-HpODE-PC を 1:1:1:1 で含有)を作製

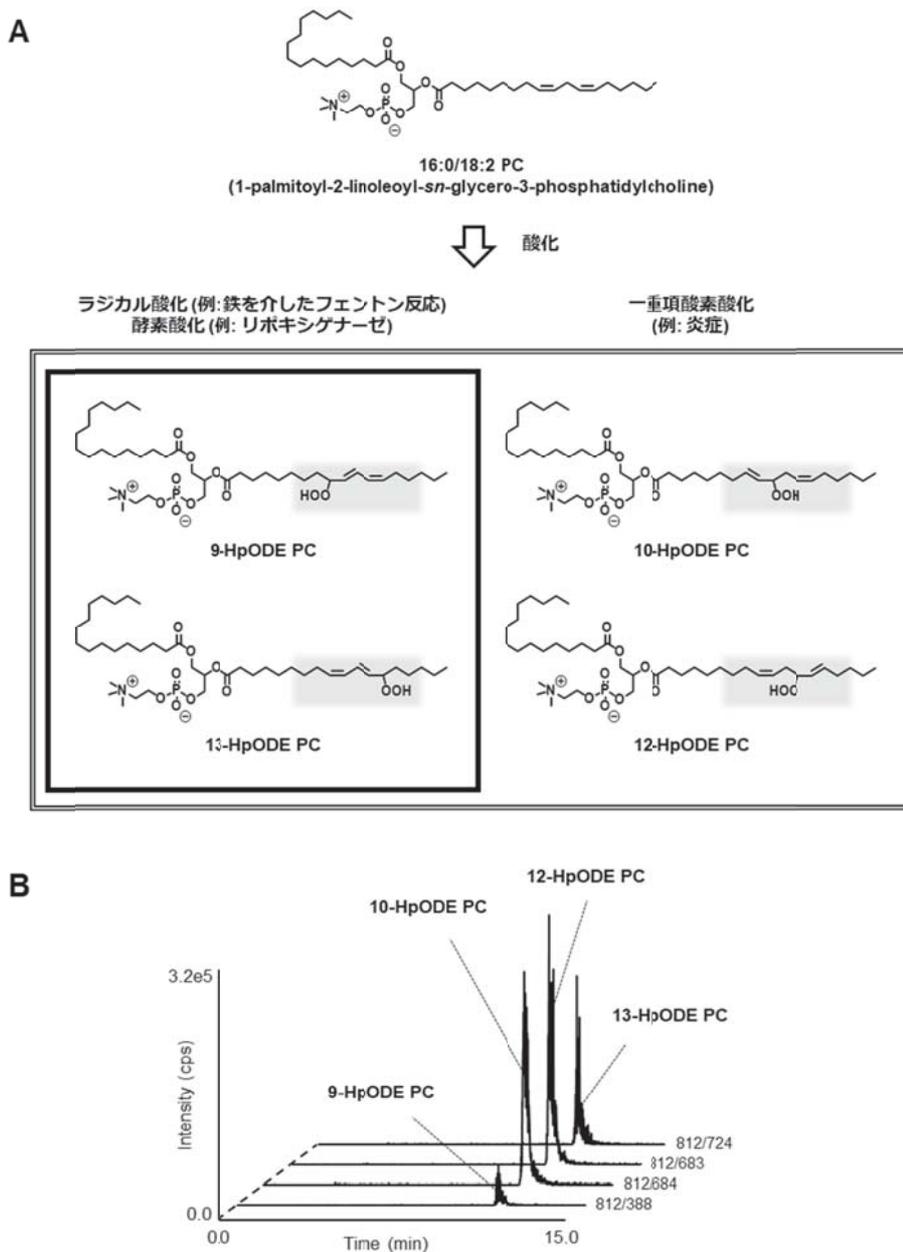


図2 PCの酸化機構とPCOOHの化学構造(A), およびPCOOH mixture(B)のMRMクロマトグラム

調製したPCOOH mixture 2 pmol(B)をインジェクションし、LC-MS/MS多重反応モニタリング(MRM)分析した。MRM条件は、PCOOHのプリカーサーイオンに $m/z$  812 $[M+Na]^+$ 、ヒドロペルオキシドの位置に応じてフラグメントイオンに $m/z$  388, 683, 684もしくは724を選択し、イオン化条件を最適化した。9-HpODE PC, 1-palmitoyl-2-(9-hydroperoxyoctadecadienyl)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine; 10-HpODE PC, 1-palmitoyl-2-(10-hydroperoxyoctadecadienyl)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine; 12-HpODE PC, 1-palmitoyl-2-(12-hydroperoxyoctadecadienyl)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine; 13-HpODE PC, 1-palmitoyl-2-(13-hydroperoxyoctadecadienyl)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine.

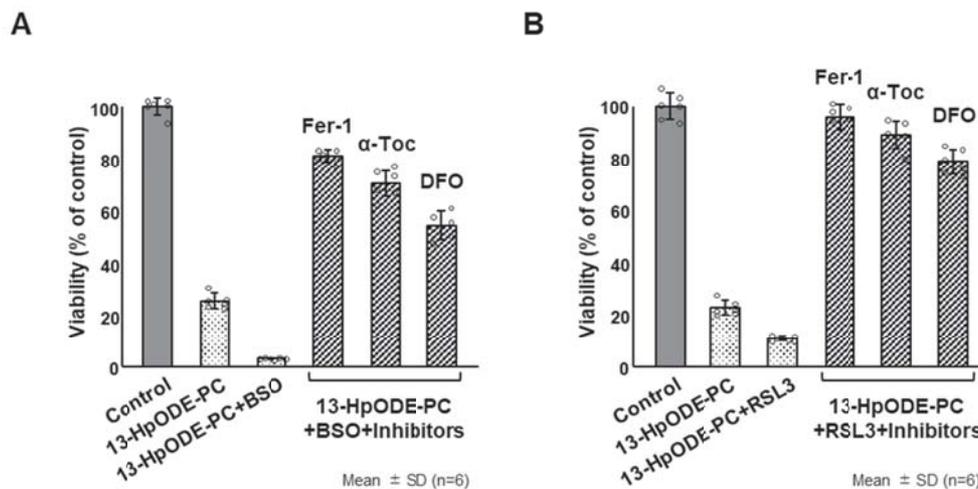


図3 生存試験による13-HpODE PC誘導細胞死に対するフェロトーシス誘導剤のBSO (A) やRSL-3 (B), およびフェロトーシス阻害剤の評価

HepG2にフェロトーシス誘導剤のBSO (A) もしくはRSL-3 (B) を処理してインキュベートし, 13-HpODE PC もしくは13-HpODE PCと各種阻害剤(Fer-1,  $\alpha$ -Toc, DFO) を処理して, インキュベートした. 生存率はWST-8試験により測定した( $n=6$ , Mean  $\pm$  SD). 13-HpODE PC, 1-palmitoyl-2-(13-hydroperoxyoctadecadienoyl)-sn-glycero-3-phosphatidylcholine; BSO, L-buthionine-(S,R)-sulfoximine; RSL3, (1S,3R)-RAS-Selective Lethal 3; Fer-1, ferrostatin-1;  $\alpha$ -Toc,  $\alpha$ -tocopherol; DFO, deferoxamine.

した(図2B). このPCOOH mixtureをHepG2へ処理し, それぞれの酸化機構で生じる4種類の異性体のフェロトーシスへの影響を明らかにしようとした.

PCOOH mixtureをHepG2へ処理すると細胞死が誘導され, PCOOH mixtureとともにGSH合成阻害剤であるブチオニンスルフォキシミン(BSO)やGPX4阻害剤のRSL-3を加えると, HepG2の細胞生存率はさらに大きく減少することが観察された. 反対にFer-1や $\alpha$ -Toc, 鉄キレート剤のデフェロキサミン(DFO)を処理すると, 細胞死は顕著に抑制された. これらの結果から, PCOOH mixtureは, 図1のメカニズムで確かに鉄依存的な細胞死であるフェロトーシスを誘導すると考えられる. 当初のフェロトーシス研究では, PCOOHではなく, ホスファチジルエタノールアミンの酸化物(PEOOH)が専らフェロトーシスを誘導すると言われていたが<sup>6,7)</sup>, 我々のHepG2の実験結果や, 他の研究者の最近の報告から考えても<sup>17)</sup>, フェロトーシスの誘導性にリン脂質の種類はあまり関係ないと思われる.

PCOOH mixtureで観察された挙動は, PCOOH mixtureの代わりに, 13-HpODE-PCを単独でHepG2へ処理した場合も同様であった<sup>18)</sup>(図3A, B). 現在, 他のPCOOH異性体を用いて検討を進めているが, おそらく4種類の異性体のフェロトーシス誘導能に大差はないのではないかと予想している. すなわち, 現在の学説では,

フェントン反応などによるリン脂質のラジカル酸化で生じるPLOOHがフェロトーシスを誘導すると考えられているが(図1), 炎症などで生じる一重項酸素やリポキシゲナーゼなどによる酸化酵素, これらによって生じるPLOOHもフェロトーシスを誘導すると我々は予想している.

さらに, PCOOH mixtureを処理したHepG2のPCOOHやPCOHをLC-MS/MSで調べたところ, 何れのPCOOH異性体も同程度に細胞に取り込まれ, それらの還元物であるPCOHが細胞中に多量に存在することが分かった<sup>18)19)</sup>(図4A). 故に, HepG2に取り込まれたPCOOHの全てをGPX4が還元できるわけではなく, 処理しきれなかったPCOOHがフェロトーシスを誘導しているのであろう. 防御的観点から考察すると, PCOOH異性体の種類を問わずに何れの異性体も還元されたため(図4A), ラジカル酸化に加え, 炎症による一重項酸素や, リポキシゲナーゼなどの酸化酵素によっても誘導されるであろうフェロトーシスをも, GPX4は防御できるのではないかと我々は予期している.

#### GPX4 KO HepG2の作製, GPX4非依存的なPCOOHの還元反応の可能性

上述の我々の仮説を検証するため, 我々は極最近,

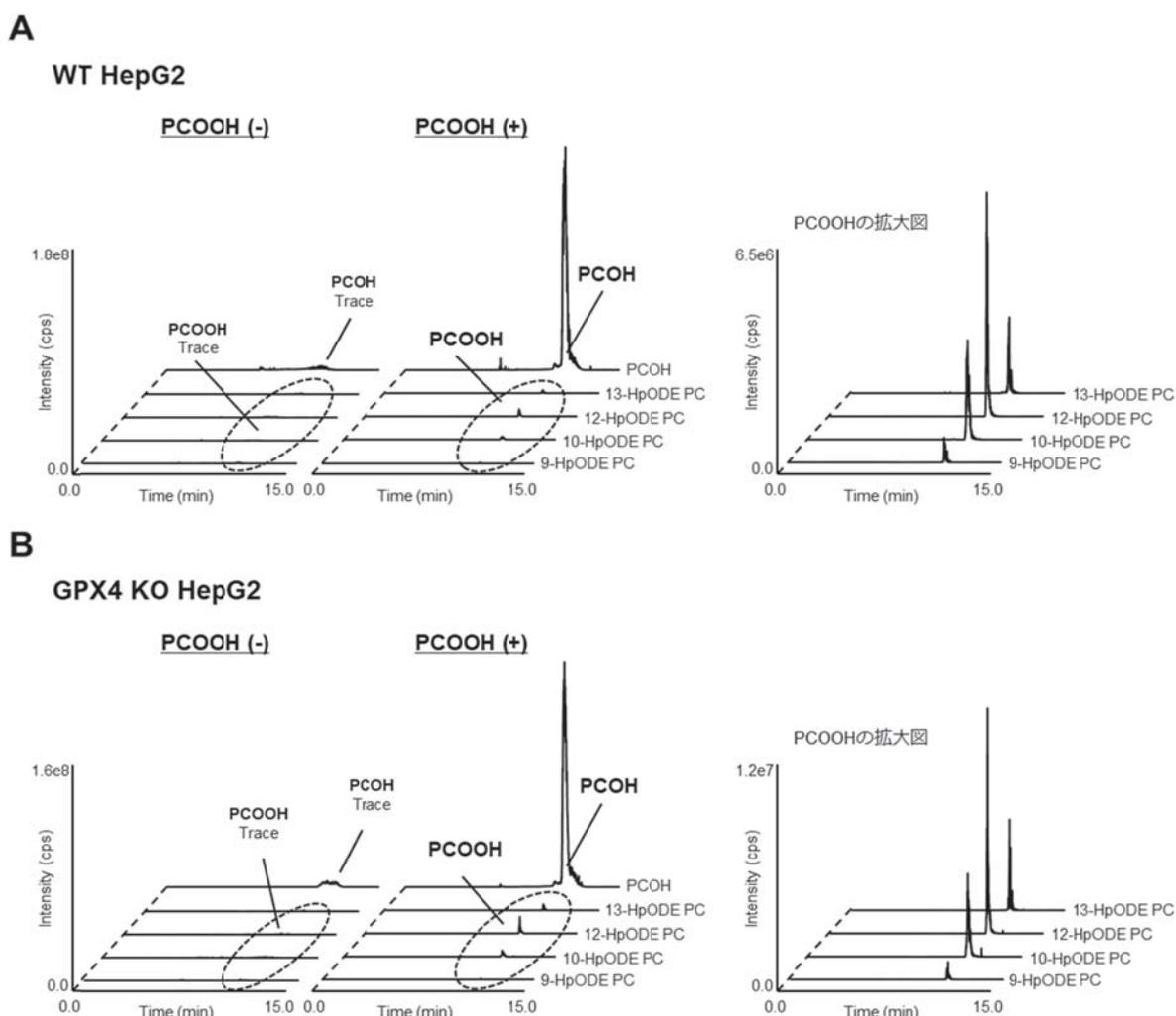


図4 WT HepG2 (A), GPX4 KO HepG2 (B) のMRM クロマトグラム

PCOOH 未処理および処理した WT HepG2 (C) もしくは GPX4 KO HepG2 (D) の抽出物をインジェクションし、LC-MS/MS 多重反応モニタリング (MRM) 分析した. 9-HpODE PC, 1-palmitoyl-2-(9-hydroperoxyoctadecadienyl)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine; 10-HpODE PC, 1-palmitoyl-2-(10-hydroperoxyoctadecadienyl)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine; 12-HpODE PC, 1-palmitoyl-2-(12-hydroperoxyoctadecadienyl)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine; 13-HpODE PC, 1-palmitoyl-2-(13-hydroperoxyoctadecadienyl)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine.

CRISPR-Cas9 を用いて GPX4 ノックアウト (KO) HepG2 を作製した<sup>19)</sup>. 過去に報告されている GPX4 KO (例: ヒト線維肉腫由来 HT-1080 を用いた GPX4 KO) と同様に, 我々が作製した GPX4 KO HepG2 も通常条件で培養すると顕著なフェロトーシスが誘導され, 細胞生存率が大きく低下した. そこで,  $\alpha$ -Toc を含有させた培地を用いることで, GPX4 KO HepG2 を安定培養できるようにした.

実際の試験では, 安定培養した GPX4 KO HepG2 を予め  $\alpha$ -Toc を除いた通常の培地で暫く培養し, 次いで PCOOH mixture を処理して, LC-MS/MS 分析に供した.

GPX4 KO HepG2 では, PCOOH の還元能の欠如により, 細胞内に多くの PCOOH が蓄積しているのであろうと予想していたが, 意外なことに, GPX4 KO HepG2 の PCOOH は, 野生型 (WT) の HepG2 の場合と同様に, 僅かであることが判明した<sup>19)</sup> (図 4B). したがって, GPX4 以外にも PCOOH の還元酵素が存在し, 細胞内で PCOOH が高まらないように高度に制御されていると推察される. GPX4 以外の還元酵素としては, GPX1 などの GPX family やグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST), チオレドキシン (Trx), ペルオキシレドキシ (Prx) が予想される. 今後はこうした還元酵素 (抗酸

化酵素)がフェロトーシス研究の新たな潮流になるかもしれない。

### おわりに(還元酵素を介さない防御経路の可能性)

本稿においてフェロトーシスの防御に関しては、GPX4(および他の新たな還元酵素)によるPLOOHの還元を中心に論じた。他方、こうしたPLOOHの還元を介さない新たなフェロトーシスの防御経路として、ユビキノン還元酵素であるFSP1(Ferroptosis suppressor protein 1)を介した経路が近年報告され話題を集めている。すなわち、PLOOHによるフェロトーシスでは、PLOOHの形成に関わるラジカルや、PLOOHの分解によって生じるラジカルが介在するが<sup>11)20)</sup>(図1)、こうしたラジカルの消去にはCoQ10やMK4、 $\alpha$ -Tocが有効で(消去過程でCoQ10やMK4、 $\alpha$ -Tocは酸化型へ変換される)、FSP1はNADPH依存的にこれら酸化型からの再生を担い、フェロトーシスを強力に防ぐという説である<sup>8)9)13)</sup>。このさらなる証明には、ラジカルの同定が必須と考え、我々のGPX4 KO HepG2を通常条件で培養し、顕著にフェロトーシスが誘導される条件下で細胞内のラジカルの検出を試みたところ、細胞内に残存するPLOOHが分解して生じたと思われる幾つかの脂質ラジカルを検出できつつある。なぜGPX4のKOにより、こうした脂質ラジカルが蓄積するのかが興味深く、GPX4には図1に示した未知の働きがあるのかもしれない。今後はこれらの仮説を検証していきたい。本稿で述べてきたように、フェロトーシス研究は、PLOOHやGPX4に依存的もしくは非依存的な経路、という具合に、止まることなく急速かつ一気に広がっているように感じられ、フェロトーシスの病理学的意義を踏まえると、決して我々のような脂質酸化やビタミンの研究者のみに止まることなく、医・薬・農の幅広い研究者をも魅了する大きな研究トピックスとなっていくように思う。

**Key words** :ferroptosis, glutathione peroxidase 4, phosphatidylcholine hydroperoxide, phospholipid hydroperoxide, oxidative stress

<sup>1</sup>Department of Cell Biology, Tokai University School of Medicine, Kanagawa, 259-1193, Japan

<sup>2</sup>Laboratory of Food Function Analysis, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Miyagi, 980-8572, Japan

Chikara Kato<sup>1</sup>, Yuuri Suzuki<sup>2</sup>, Shunji Kato<sup>2</sup>, Susumu Takekoshi<sup>1</sup>, Kiyotaka Nakagawa<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 東海大学医学部生体防御学

<sup>2</sup> 東北大学農学研究科食品機能分析学分野

加藤 主税<sup>1</sup>, 鈴木 優里<sup>2</sup>, 加藤 俊治<sup>2</sup>, 竹腰 進<sup>1</sup>, 仲川 清隆<sup>2\*</sup>

\* 責任著者

利益相反の有無：該当なし

(2022.10.21 受付)

## 文 献

- 1) Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, Patel DN, Bauer AJ, Cantley AM, Yang WS, Morrison B 3rd, Stockwell BR (2012) Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell* **149**, 1060–1072
- 2) Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, Stockwell BR (2003) Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell* **3**, 285–296
- 3) Yagoda N, von Rechenberg M, Zaganjor E, Bauer AJ, Yang WS, Fridman DJ, Wolpaw AJ, Smukste I, Peltier JM, Boniface JJ, Smith R, Lessnick SL, Sahasrabudhe S, Stockwell BR (2007) RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature* **447**, 864–868
- 4) Yang WS, Stockwell BR (2008) Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chem. Biol* **15**, 234–245
- 5) Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, Cheah JH, Clemons PA, Shamji AF, Clish CB, Brown LM, Girotti AW, Cornish VW, Schreiber SL, Stockwell BR (2014) Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell* **156**, 317–331
- 6) Doll S, Proneth B, Tyurina YY, Panzilius E, Kobayashi S, Ingold I, Irmeler M, Beckers J, Aichler M, Walch A, Prokisch H, Trümbach D, Mao G, Qu F, Bayir H, Füllekrug J, Scheel CH, Wurst W, Schick JA, Kagan VE, Angeli JP, Conrad M (2017) ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nat Chem Biol* **13**, 91–98
- 7) Kagan VE, Mao G, Qu F, Angeli JP, Doll S, Croix CS, Dar HH, Liu B, Tyurin VA, Ritov VB, Kapralov AA, Amoscato AA, Jiang J, Anthony-muthu T, Mohammadyani D, Yang Q, Proneth B, Klein-Seetharaman J, Watkins S, Bahar I, Greenberger J, Mallampalli RK, Stockwell BR, Tyurina YY, Conrad M, Bayir H (2017) Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis. *Nat Chem Biol* **13**, 81–90
- 8) Doll S, Freitas FP, Shah R, Aldrovandi M, da Silva MC, Ingold I, Goya Grocin A, Xavier da Silva TN, Panzilius E, Scheel CH, Mourão A, Buday K, Sato M, Wanninger J, Vignane T, Mohana V,

- Rehberg M, Flatley A, Schepers A, Kurz A, White D, Sauer M, Sattler M, Tate EW, Schmitz W, Schulze A, O'Donnell V, Proneth B, Popowicz GM, Pratt DA, Angeli JPF, Conrad M (2019) FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature* **575**, 693–698
- 9) Bersuker K, Hendricks JM, Li Z, Magtanong L, Ford B, Tang PH, Roberts MA, Tong B, Maimone TJ, Zoncu R, Bassik MC, Nomura DK, Dixon SJ, Olzmann JA (2019) Bersuker, K.; Hendricks, J. M.; Li, Z.; Magtanong, L.; Ford, B. et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis. *Nature* **575**, 688–692
- 10) Imai H (2010) New strategy of functional analysis of PHGPx knockout mice model using transgenic rescue method and Cre-LoxP system. *J Clin Biochem Nutr* **46**, 1–13
- 11) Miotto G, Rossetto M, Di Paolo ML, Orian L, Venerando R, Roveri A, Vučković AM, Bosello Travain V, Zaccarin M, Zennaro L, Maiorino M, Toppo S, Ursini F, Cozza G (2019) Insight into the mechanism of ferroptosis inhibition by ferrostatin-1. *Redox Biol* **28**, 101328
- 12) Zilka O, Shah R, Li B, Friedmann Angeli JP, Griesser M, Conrad M, Pratt DA (2017) On the Mechanism of Cytoprotection by Ferrostatin-1 and Liproxstatin-1 and the Role of Lipid Peroxidation in Ferroptotic Cell Death. *ACS Cent Sci* **3**, 232–243
- 13) Mishima E, Ito J, Wu Z, Nakamura T, Wahida A, Doll S, Tonnus W, Nepachalovich P, Eggenhofer E, Aldrovandi M, Henkelmann B, Yamada KI, Wanninger J, Zilka O, Sato E, Feederle R, Hass D, Maida A, Mourão ASD, Linkermann A, Geissler EK, Nakagawa K, Abe T, Fedorova M, Proneth B, Pratt DA, Conrad M (2022) A non-canonical vitamin K cycle is a potent ferroptosis suppressor. *Nature* **608**, 778–783
- 14) Kato S, Nakagawa K, Suzuki Y, Suzuki K, Mizuochi S, Miyazawa T (2014) Preparation of 13 or 9-hydroperoxy-9Z,11E (9E,11E) or 10E,12Z (10E,12E)-octadecadienoic phosphatidylcholine hydroperoxide. *J Oleo Sci* **63**, 431–437
- 15) Kato S, Nakagawa K, Suzuki Y, Asai A, Nagao M, Nagashima K, Oikawa S, Miyazawa T (2015) Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of human plasma 1-palmitoyl-2-hydroperoxyoctadecadienoyl-phosphatidylcholine isomers via promotion of sodium adduct formation. *Anal Biochem* **471**, 51–60
- 16) Kato S, Osuka Y, Khalifa S, Obama T, Itabe H, Nakagawa K. (2021) Investigation of lipoproteins oxidation mechanisms by the analysis of lipid hydroperoxide isomers. *Antioxidants (Basel)* **10**, 1598
- 17) Wiernicki B, Dubois H, Tyurina YY, Hassannia B, Bayir H, Kagan VE, Vandenabeele P, Wullaert A, Vanden Berghe T (2020) Excessive phospholipid peroxidation distinguishes ferroptosis from other cell death modes including pyroptosis. *Cell Death Dis* **11**, 922
- 18) Suzuki Y, Nakagawa K, Kato S, Tatewaki N, Mizuochi S, Ito J, Eitsuka T, Nishida H, Miyazawa T (2015) Metabolism and cytotoxic effects of phosphatidylcholine hydroperoxide in human hepatoma HepG2 cells. *Biochem Biophys Res Commun* **458**, 920–927
- 19) Kato C, Suzuki Y, Parida IS, Kato S, Yamasaki H, Takekoshi S, Nakagawa K (2022) Possible Glutathione Peroxidase 4-Independent Reduction of Phosphatidylcholine Hydroperoxide: Its Relevance to Ferroptosis. *J Oleo Sci*. in press.
- 20) Onyango AN (2016) Formation of aldehydic phosphatidylcholines during the anaerobic decomposition of a phosphatidylcholine bearing the 9-hydroperoxide of linoleic acid. *Biomed Res Int* **2016**, 8218439