

硫黄化合物の活性酸素と細胞死に対する生理作用の検証

Verification of the physiological effects of sulfur compounds on active oxygen and cell death

牧田 裕佑
指導教員 佐藤 拓己

東京工科大学大学院 バイオ情報メディア研究科 バイオニクス専攻 アンチエイジングフード研究室

硫黄化合物には火山ガスとして放出される硫化水素やメチオニンから生合成されるシステインなどが存在する。同じ硫黄化合物にも関わらず、細胞の生存に対する影響は大きく異なっていた。この違いを確かめるため炭素数(側鎖)に着目した結果、新規性や応用性のある驚く結果を得ることが出来た。

キーワード：炭素数, システイン, 硫化水素, 活性酸素, 細胞死

1. 緒言

硫化水素は含硫アミノ酸の一種であるシステインから産生され、神経伝達調節をはじめとして平滑筋弛緩や細胞保護など多彩な作用を示す。硫化水素の産生経路としては、これまでL-システインから産生されるものが知られていたが、新たにD-システインから産生される経路が明らかとなった。

システインはアミノ酸の一種で、生体内でタンパク質合成や酵素活性に必要である。硫化水素はシステインの硫黄基を含むペプチド結合の形成に関与し、タンパク質構造の安定性に影響を与えることが知られている。さらに、硫化水素はシステインの硫黄基の酸化を防ぐ役割を果たし、細胞内での酸化ストレスを軽減する。

このように、硫化水素とシステインの相互作用は細胞内での酸化還元平衡の維持に不可欠であり、生体内の多くの生化学的プロセスに影響を与えている。そのため、硫化水素とシステインの関係性の理解は生物学や医学の分野で重要な研究テーマとなっている。

以前の研究結果では硫化水素は細胞死を抑制しないことが示され、システインは細胞死を抑制する効果が確認された。しかしながら、これらの結果の背後にある具体的な原因はまだ解明されていなかった。そこで、炭素数の違いによって細胞に対する生理作用が異なるのではないのかと考え、炭素数が異なる化合物で細胞生存率の違いを検証した。

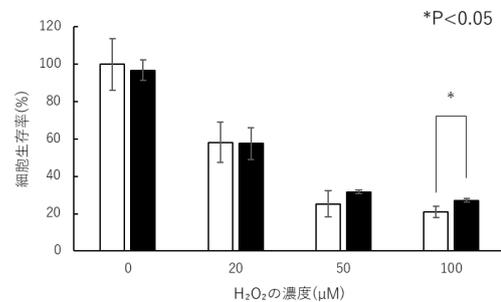


図1. 炭素数 2 存在下での細胞死抑制作用の結果

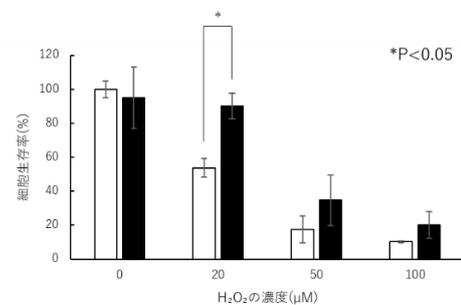


図2. 炭素数 3 存在下での細胞死抑制作用の結果

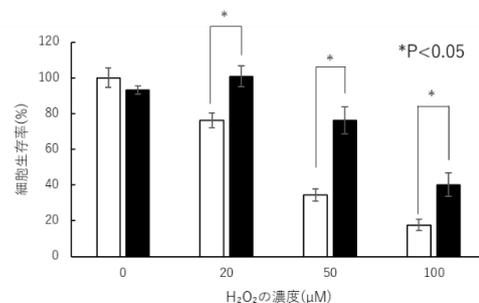


図3. 炭素数 4 存在下での細胞死抑制作用の結果

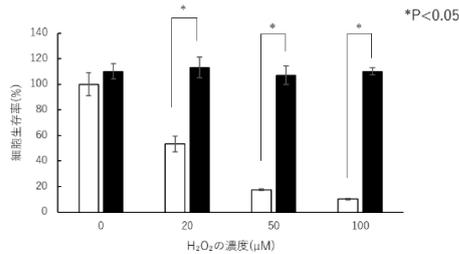


図 4. 炭素数 5 存在下での細胞死抑制作用の結果

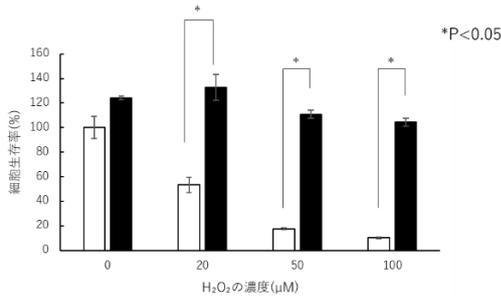


図 5. 炭素数 6 存在下での細胞死抑制作用の結果

上記の実験結果から、炭素数が増加するにしたがって細胞死の抑制作用が増強されることが分かった。このことから、炭素鎖の長さが増加することで、分子の疎水性が増し細胞膜との相互作用が強くなるため、活性酸素の抑制および細胞死の抑制が強化されるのではないかと考えられる。

2. 本研究の背景・目的

近年、一酸化窒素(NO)と一酸化炭素(CO)に次ぐ三番目の生理活性物質として硫化水素(H₂S)が注目されている。H₂Sは、受容体・イオンチャネル・酵素・転写因子などを標的とし、神経伝達調製・平滑筋弛緩・細胞保護・インスリン分泌調節などの多様な生理機能を示す¹⁾。活性酸素の発生量を消去させることは確実であるが、細胞生存率維持への寄与は無いとされている。

一方で、システインはタンパク質の構成成分として立体構造を維持するとともに、酸化還元反応による生体成分の代謝を進めるなど生理的に重要なアミノ酸である。システインが細胞内で発生する活性酸素の発生量を消去し、細胞を酸化ストレスから防御していることを明らかにした²⁾。

本研究は、ヒト子宮頸がん細胞を用いて、硫化水素とシステインの細胞生存率維持への寄与の違いを検証した。

3. 研究内容

3.1. 試料

研究室にある以下の市販薬を選んだ。

DCF(2',4'-ジクロロ-7'-ヒドロキシフルオレセイン)、MTT(3-[4,5-Dimethylthial-2-yl]-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) Assay、活性酸素H₂O₂、2-Mercaptoethanol(C₂H₆OS)、3-Mercapto-1-propanol(C₃H₈OS)、4-Mercaptobutan-1-ol(C₄H₁₀OS)、5-Mercapto-1-pentanol(C₅H₁₂OS)、6-Mercapto-1-hexanol(C₆H₁₄OS)

3.2. 研究方法

活性酸素抑制作用の検証では、活性酸素種に特異的に反応する蛍光色素(以下 DCF)を用いた。DCFを用いて各化合物(10、30、100μM)について活性酸素抑制作用を検証した。細胞生存率の検証では、MTT アッセイを用いて定量した。

4. 現在の研究の進捗状況

炭素数が増加するにしたがって細胞死の抑制を強くすることが分かった。このことから、細胞の生存にはある程度の炭素が必要であると考えられる。

5. 今後の研究計画

細胞レベルでは炭素数の増加に伴い、細胞死の抑制作用において大きな影響があった。今後は動物実験においてどのような生理作用があるのか明らかにする。

6. 参考文献

1) <https://kaken.nii.ac.jp/ja/file/KAKENHI-PROJECT-23790316/23790316seika.pdf>.

2) <https://www.naist.jp/pressrelease/2010/05/002311.html>