

2022年10月28日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学

国立大学法人九州大学

## 細胞内のバランスを崩す過剰な超硫黄分子の排出機構を解明

私たちの体を構成する細胞の中には酸化と還元バランスが保たれており、それが崩れると毒性や疾患につながります。本研究グループはこれまでに、そのかく乱因子となる化学物質を不活性化して細胞を守る役割の物質として、細胞内で産生される超硫黄分子の存在を明らかにしてきました。この超硫黄分子は、生体にとっては有益な機能を持ちますが、その反面、化学的に反応性が高いことから、細胞内での量が増えすぎた場合の影響が懸念されていました。

本研究では、マウス個体や培養細胞で超硫黄分子が過剰に存在する状況を作り出し、その際に生じる現象を調べました。その結果、マウス体重の著しい減少やさまざまな細胞機能の破綻が観察されたことから、過剰な超硫黄分子の蓄積が生体に弊害をもたらす（硫黄ストレス）ことが明らかとなりました。そこで、生体が硫黄ストレスをどのように回避しているのか、詳細な解析を行ったところ、細胞内の過剰な超硫黄分子を細胞外へと排出する現象が見いだされました。その仕組みとして、超硫黄分子の一つであるシステインパースルフィド（CysSSH）が、細胞膜に存在する固有の輸送体タンパク質を介して排出されることが分かりました。

本研究成果は、生体に有益な機能を持つ超硫黄分子も、細胞内の量が過剰となれば毒性を持つこと、また、その量が適正に維持されるよう安全機構が備わっていることを示しており、超硫黄分子を制御する基盤メカニズムの理解に寄与すると期待されます。

### 研究代表者

筑波大学医学医療系 教授／九州大学大学院薬学研究院 客員教授

熊谷 嘉人

九州大学大学院薬学研究院 教授

西田 基宏

## 研究の背景

近年、私たちの体を構成する細胞内では、超硫黄分子と称される多彩な分子群が産生されていることが明らかとなりました。超硫黄分子は、アミノ酸のシステイン (CysSH) 等にサルフェン硫黄<sup>注1)</sup>が連結したものであり、毒性や疾患の原因となる酸化ストレスから細胞を保護するなど、生命機能における多彩な役割が注目されています。また、本研究グループでは、私たちが日常的に曝露され健康影響が懸念されるさまざまな化学物質 (環境中親電子物質) を、超硫黄分子が捕獲・不活性化することで細胞毒性を防ぐことを明らかにしてきました。しかしながら、超硫黄分子は生体に有益な機能を持つ反面、化学的に反応性が高い (求核性が高い) ことから、細胞内での量が増えすぎると何が起こるのか、またその際に細胞はどのように対処しているのかは不明でした。

## 研究内容と成果

本研究では、超硫黄分子が生体に過剰に存在する状況を作り出しました。超硫黄分子を産生する酵素 CSE を高発現する CSE トランスジェニック (Tg) マウスに、基質であるシスチンを投与すると、臓器や筋肉の萎縮による体重減少が見られました。また、超硫黄分子ドナー $\text{Na}_2\text{S}_4$  (四硫化ナトリウム) に培養細胞を過剰に曝露すると、ミトコンドリア機能の破綻やタンパク質の無秩序な超硫黄化を伴って細胞死が引き起こされました。これらの結果は、過剰な超硫黄分子が生体に弊害をもたらす (硫黄ストレス) ことを示します。

そこで、生体が硫黄ストレスをどのように回避しているのか、詳細な解析を行いました。驚くことに、CSE Tg マウスの超硫黄分子の量は、野生型マウスと比べ、臓器中で同等である一方、血漿中では顕著に増加していました。培養細胞を用いた解析においても、CSE Tg 肝細胞の超硫黄分子の量は、野生型と比べ、細胞内では同等である一方、細胞外では増加していたことから、細胞内の余剰な超硫黄分子が細胞外へ排出されることが示唆されました。これを支持するように、さまざまな種類の培養細胞において短時間の  $\text{Na}_2\text{S}_4$  曝露を行うと、細胞内で超硫黄分子は一時的に増加するものの、その後に細胞外に排出されて定常量に戻ることが確認されました。

細胞外への超硫黄分子排出の担い手は、細胞膜に存在する輸送体タンパク質<sup>注2)</sup>であると予測されました。輸送体タンパク質の種類は膨大であるため、基質となる物質を手掛かりに探索を行ったところ、超硫黄分子のひとつであるシステインパーсульフィド (CysSSH) の排出に、細胞外に存在するシスチン (CysSSCys: システイン CysSH の酸化型) が必須であることが判明しました。そこで CysSSCys 要求性のアンチポーター<sup>注3)</sup>の一つであるタンパク質 Slc7A11 の発現を欠失および増加した培養細胞株を樹立して解析を行ったところ、CysSSH の細胞外排出量は Slc7A11 の発現量に準じていました。すなわち、Slc7A11 を含む CysSSCys 要求性のアンチポーターが、細胞内の余剰な CysSSH を細胞外へ排出する新たな生理機能を発見するとともに、それが硫黄ストレスに対する細胞の安全機構を担っていることが解明されました (参考図)。

## 今後の展開

近年、生体での超硫黄分子の重要性が認識され、盛んに研究が行われています。本研究成果は、生体が超硫黄分子を制御する基盤メカニズムに関する知見であり、当該分野の発展に貢献するものと考えられます。例えば、超硫黄分子はがん、心不全、動脈硬化症、神経変性疾患といった酸化ストレスが関わる疾患に対する治療薬への活用が期待されており、その安全性の確立などに有用であると思われます。

## 参考図

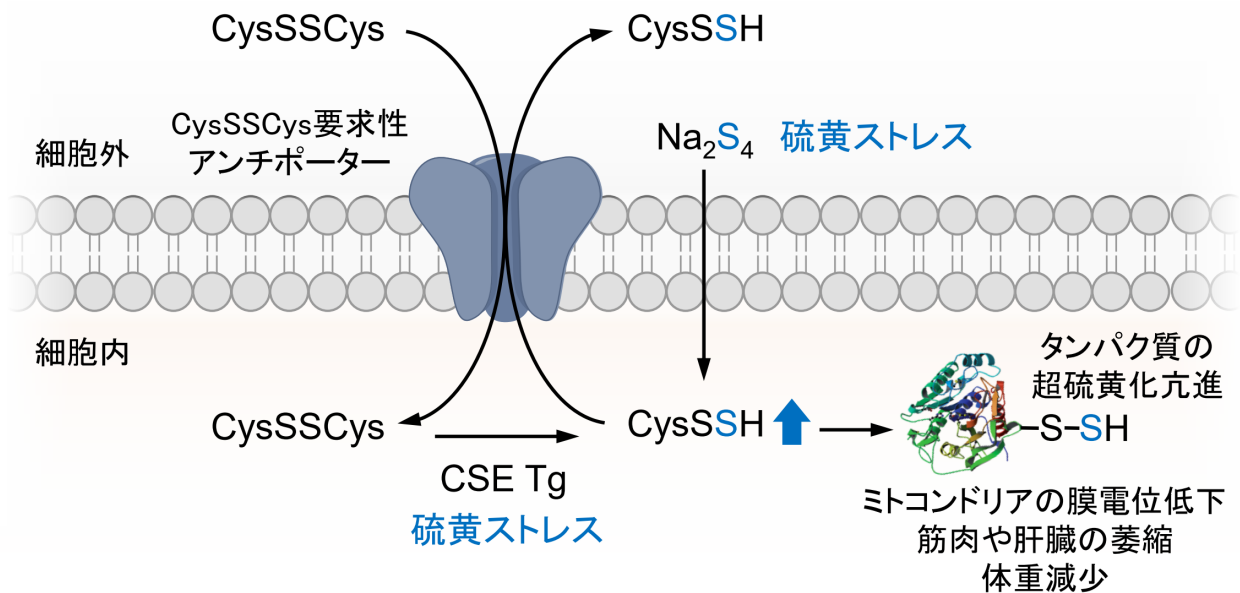


図 アンチポーターを介した超硫黄分子の細胞外排出による硫黄ストレス制御

マウスへの超硫黄分子産生酵素の高発現 (CSE Tg) とシスチン (CysSSCys) の投与や、培養細胞への超硫黄分子ドナー $\text{Na}_2\text{S}_4$ 曝露により、超硫黄分子システインパルスフィド (CysSSH) の細胞内量が過剰となる (硫黄ストレス)。これはタンパク質の過剰な超硫黄化、ミトコンドリア機能破綻、臓器の萎縮などの弊害をもたらす。細胞膜に存在する CysSSCys 要求性アンチポーターを介した余剰な CysSSH の細胞外排出は、硫黄ストレスの回避に寄与すると考えられる。

## 用語解説

注1) サルフェン硫黄

6つの価電子を有し、他の硫黄原子に可逆的に結合することのできる特徴的な硫黄原子。生体内において、サルフェン硫黄は CysSSH 等の超硫黄分子中から転移してタンパク質のチオール (-SH) 基を超硫黄化するという挙動を示す。

注2) 輸送体タンパク質

細胞内外は脂質二重層の細胞膜により隔てられており、水溶性の物質 (有機物やイオン) は細胞膜を直接通過できない。これらの物質は細胞膜に存在する固有の輸送体タンパク質を介して細胞内外を移行する。

注3) アンチポーター

輸送体タンパク質は機能や構造からいくつかに分類され、このうち2種類 (またはそれ以上) の物質を交換輸送するものをアンチポーターと呼ぶ。

## 研究資金

本研究は、JSPS 科研費 JP18H05293、JST CREST JPMJCR2024、他の研究プロジェクトの一環として実施されました。

## 掲載論文

【題名】 Cystine-dependent antiporters buffer against excess intracellular reactive sulfur species-induced stress

(シスチン依存性アンチポーターは過剰な細胞内活性イオウ分子によるストレスを緩和する)

【著者名】 Masahiro Akiyama<sup>1,2,#</sup>, Takamitsu Unoki<sup>1,3,#</sup>, Hanako Aoki<sup>4</sup>, Akiyuki Nishimura<sup>5</sup>, Yasuhiro Shinkai<sup>1,4</sup>, Eiji Warabi<sup>1,4</sup>, Kazuhiro Nishiyama<sup>6</sup>, Yuka Furumoto<sup>6</sup>, Naohiko Anzai<sup>7</sup>, Takaaki Akaike<sup>8</sup>, Motohiro Nishida<sup>5,6</sup>, Yoshito Kumagai<sup>1,4,\*</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan

<sup>2</sup>Faculty of Pharmacy and Graduate School of Pharmaceutical Science, Keio University, Tokyo, Japan

<sup>3</sup>Department of Basic Medical Sciences, National Institute for Minamata Disease, Kumamoto, Japan

<sup>4</sup>Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan

<sup>5</sup>National Institute for Physiological Sciences, National Institutes of Natural Sciences, Aichi, Japan

<sup>6</sup>Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan.

<sup>7</sup>Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan.

<sup>8</sup>Graduate School of Medicine, Tohoku University, Miyagi, Japan.

#共同第一著者

\*責任著者

【掲載誌】 Redox Biology

【掲載日】 2022年10月17日

【DOI】 10.1016/j.redox.2022.102514

## 問合わせ先

【研究に関すること】

熊谷 嘉人 (くまがい よしと)

筑波大学医学医療系 教授／九州大学大学院薬学研究院 客員教授

TEL: 029-853-3133

E-mail: yk-em-tu@md.tsukuba.ac.jp

URL: [https://www.md.tsukuba.ac.jp/environmental\\_medicine/](https://www.md.tsukuba.ac.jp/environmental_medicine/)

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

九州大学広報室

TEL : 092-802-2130

E-mail: koho@jimu.kyushu-u.ac.jp