



2015年10月6日

国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター (NCNP)

TEL: 042-341-2711 (広報係)

脳内に新たな生理活性物質『トリサルファイド』を世界で初めて発見 ～硫化水素からも生成される『トリサルファイド』が『3MST』によって生合成される～

国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター (東京都小平市 理事長: 樋口輝彦) 神経研究所 (所長: 武田伸一) の神経薬理研究部長 木村英雄らのグループは、明治薬科大学教授小笠原裕樹、日本医科大学准教授永原則之、レイジアナ州立大学ヘルスサイエンスセンター教授、デイビッド＝レーファーとの共同研究により、脳内でトリサルファイド (H_2S_3) が、3-メルカプトピルビン酸イオウ転移酵素(3MST)によって、3-メルカプトピルビン酸(3MP)から生合成されることを発見しました。このトリサルファイド (H_2S_3) は、百薬の長として知られるニンニクの有効抽出成分であるジアリルトリサルファイド(DATS)やジメチルトリサルファイド(DMTS)と同様のトリサルファイド類です。

生理活性物質の硫化水素 (H_2S) から生成され、 H_2S より S 原子の数が多いポリサルファイド (H_2S_n) が、 H_2S とは異なるメカニズムで、神経伝達調節を行うことを発見し、新規生理活性物質として2013年に報告しています(*1)。その後、神経分化促進、抗高血圧、抗酸化ストレス制御、がん抑制因子も制御することが次々と報告されています。しかし、 H_2S_n 中の S 原子の数や、生合成経路の有無、そしてその原料物質あるいは基質は不明でした。今回、本研究グループは、S 数が3のトリサルファイド (H_2S_3) が主な H_2S_n であることを同定することに成功しました。

ポリサルファイド (H_2S_n) は、痛みを伝搬する神経活動に関与し、不安症状にも影響すると言われていました。また、抗高血圧作用は H_2S よりも強力で、心臓や腎臓などの虚血再灌流障害に対しては、 H_2S と協力的に働きます。今回、 H_2S_n の生合成経路が明らかになったことで、これを調節し、記憶、痛み、血圧、癌などの関連疾患治療に応用できる可能性が出てきました。

この研究成果は日本時間2015年10月6日午後6時(報道解禁日時: イギリス時間10月6日午前10時)に、Nature Publishing の英国オンライン科学雑誌「Scientific Reports (サイエンティフィック・リポーツ誌)」に掲載されました。

www.nature.com/articles/srep14774

*1 (引用元) Kimura, Y., Mikami, Y., Osumi, K., Tsugane, M., Oka, J-I., Kimura, H. Polysulfides are possible H_2S -derived signaling molecules in rat brain. FASEB J. 27, 2451-2457, 2013.

■研究の背景

本研究グループは、脳内で硫化水素より S 原子の数が多いポリサルファイド H_2S_n ($n=3, 4$) が脳神経細胞の一つであるアストロサイトを活性化し、細胞内 Ca^{2+} 流入亢進を行うことを2006年に世界に先駆け発表しました。そして2013年には、これが脳内に存在し、記憶や痛

みの伝搬にかかわる TRPA1 チャンネル（カルシウムイオンチャンネル）がその標的分子であることを引き続き報告しました。H₂S が NMDA 受容体のシステインジスルフィド結合を還元し、受容体活性を亢進するのに対して、H₂S_n は神経シナプスを取り巻くアストロサイトの TRPA1 チャンネルを活性化し、細胞内に Ca²⁺ 流入を誘導します。これによってグリオトランスミッター D-セリンを放出させ、これが神経後シナプスの NMDA 受容体活性を亢進し、記憶モデル長期増強（LTP）誘導促進を行います（図 1）。これらの研究発表に続き、H₂S_n の他の効果として、癌抑制因子 PTEN の制御、抗酸化遺伝子群転写因子 Nrf2 の核内移行促進による抗酸化ストレス作用、蛋白リン酸化酵素を介した血管平滑筋弛緩による血圧調節、神経節調節による痛みの伝搬、神経細胞への分化促進など、次々と世界中で発見されています。しかし、生体内に存在する H₂S_n の S 原子の数と、この物質が生体内でどのようにしてできるのかは不明でした。

■研究の内容

ポリサルファイド H₂S_n が脳に存在することを 2013 年に高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を使って発見しましたが、今回は、質量分析（LC/MS/MS）を駆使し、H₂S_n の S 原子の数を決定し（図 3）、さらにその合成酵素を明らかにしました。脳においては、H₂S₃ と H₂S（硫化水素）が主生産物で、少量ながら H₂S₂ や H₂S₅ も検出されました。その生産酵素は、3MST で、3MP から合成されます。細胞内で H₂S₃ ができることを確認したのは、本研究が初めての報告となります。さらに、H₂S_n に選択性の高い蛍光プローブを使い、生合成された H₂S₃ が神経細胞の細胞質に局在することを見出しました（図 4）。

■今後期待される展開

中枢神経系では、H₂S₃ の生産酵素である 3MST の欠損マウスが不安症状を示し、H₂S₃ によって活性化される TRPA1 チャンネル欠損マウスでは、抗不安作用が報告されています。一方、末梢神経系においては、TRPA1 チャンネルは痛みを伝搬することが分かっています。これらのことから、本研究成果は抗不安薬や抗疼痛薬開発への進展が期待されます。神経分化の促進作用もあり、再生医療への応用も視野に入ります。

そのほか、H₂S_n の効果として、抗酸化遺伝子群転写因子 Nrf2 の核内移行を促し、細胞の抗酸化ストレス作用を誘導することから、虚血性疾患における再還流時酸化ストレス軽減にも応用できます。また、癌抑制因子 PTEN 活性制御作用の癌治療に向けての研究にも期待がかかります。

今回、H₂S₃ 合成酵素があきらかになったことで、H₂S₃ と 3MST を標的とした、降圧薬の開発にもつながります。

ニンニクの抽出物に含まれる DMTS や DATS もトリサルファイドであり、H₂S₃ と同様の作用を示す可能性が高く、ニンニク健康増進効果は H₂S₃ を補うことによる効果である可能性も示唆されます（図 2）。

※ 本研究は、木村由佳：JSPS 科研費（26460352）と木村英雄：JSPS 科研費（26460115）の助成を受けて行われました。

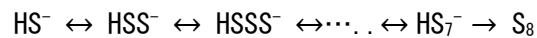
【用語の説明】

■ポリサルファイド（H₂S_n）：

H₂S よりも S の数が多い化合物。常温では H₂S のようなガスとしては存在しない。ポリサルファイドが脳内でも微量に生成されていることが分かっている。ポリサルファイドは H₂S が酸素によって酸化されても生成される（ $2n\text{H}_2\text{S} + 1/2(2n-1)\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{S}_{2n} + (2n-1)\text{H}_2\text{O}$ ）。この経路も 3MST

によって触媒される。また、ニューロンを取り囲むアストロサイトのカルシウムイオンチャネルを活性化して、カルシウム流入を促進させ、神経伝達物質を生成することで神経伝達活性化を調整している。

アストロサイトを活性化するポリサルファイドはSが2個から7個まで直鎖状に繋がったもの。この状態で水溶性であるが、8個つながると環状になり不溶性になり機能しないと考えられる。



■アストロサイト：

脳内で神経細胞（ニューロン）と同じ幹細胞に起源を持ちながら電気的活動をしないグリア細胞と呼ばれる細胞がある。アストロサイト（astrocyte）はグリア細胞の代表であり、脳内最大の細胞集団である。アストログリア（astroglia）とも言う。星型の形態を示すことから、「星状」グリアの名称を持つ。アストロサイトは二種類の突起を持ち、一方は脳表面や血管、もう一方はニューロンと接している。ニューロンと接触する側は、ニューロンの結合細胞シナプスを覆い尽くすように、細かい突起をいくつもものばし、グルタミン酸などの神経伝達物質を放出して神経伝達を増強する。

■TRPA1 チャンネル：細胞膜に存在するチャンネルで、 Ca^{2+} や Na^+ などのカチオンを細胞内に流入する。痛みに関わることが示唆されている。

■Nrf2：転写因子。Keap1と複合体を形成し細胞質に存在するが、刺激により、Keap1から離れて核内に移行し、抗酸化遺伝子群の転写亢進を誘導する。

■PTEN：癌抑制因子。

■DATS, DMTS：ニンニク抽出物。

■LC/MS/MS：液体クロマトグラフィーで分画したサンプルを、質量分析する装置。

■3MST：細胞質およびミトコンドリアに存在し、3MPを基質として H_2S を合成する酵素。

原論文情報

論文名： Identification of H_2S_3 and H_2S produced by 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase in the brain.

著者： Yuka Kimura, Yukiko Toyofuku, Shin Koike, Norihiro Shibuya, Noriyuki Nagahara, David Lefer, Yuki Ogasawara, Hideo Kimura.

掲載誌： Scientific Reports（サイエンティフィック・リポーツ誌）

DOI：10.1038/srep14774

URL：www.nature.com/articles/srep14774

■お問い合わせ先

【研究に関すること】

国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター
神経研究所、神経薬理研究部
木村英雄（きむら ひでお）
TEL:042-346-1725
e-mail：kimura@ncnp.go.jp

【報道に関すること】

国立精神・神経医療研究センター(NCNP)
総務課 広報係
TEL:042-341-2711(代表) Fax：042-344-6745
e-mail：ncnp-kouhou@ncnp.go.jp

本リリースは、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブに配布しております。

【参考図】

図1: H₂S_nとH₂Sによる神経伝達活性化の仕組み

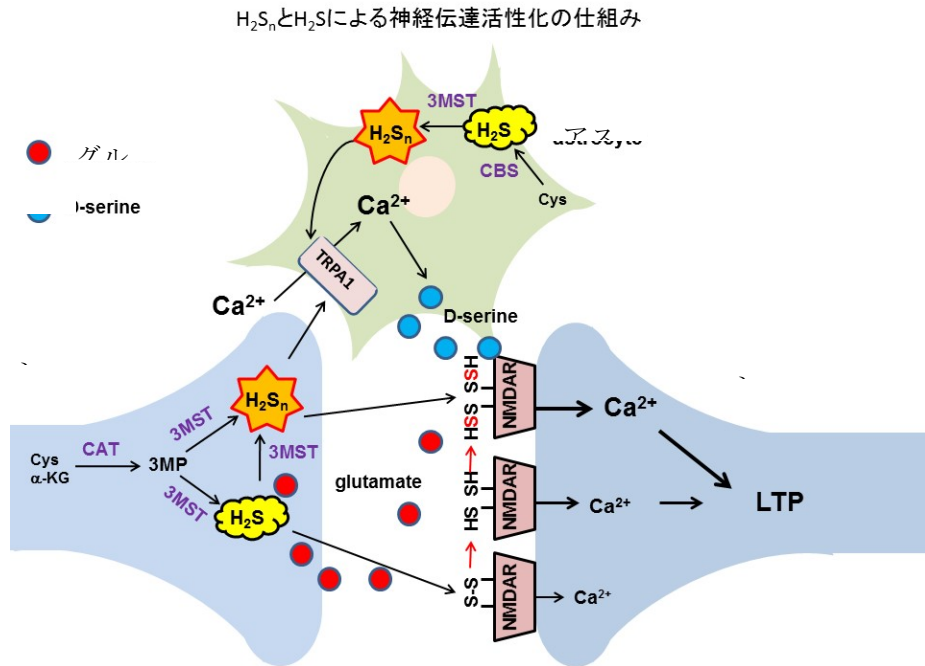


図2: 生理活性物質ポリサルファイドH₂S_nの機能とニンニク抽出有効成分トリサルファイド類

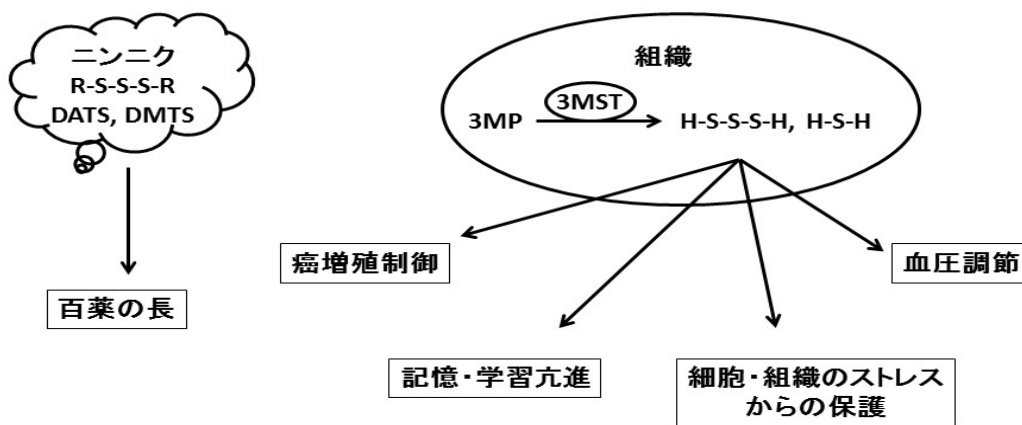
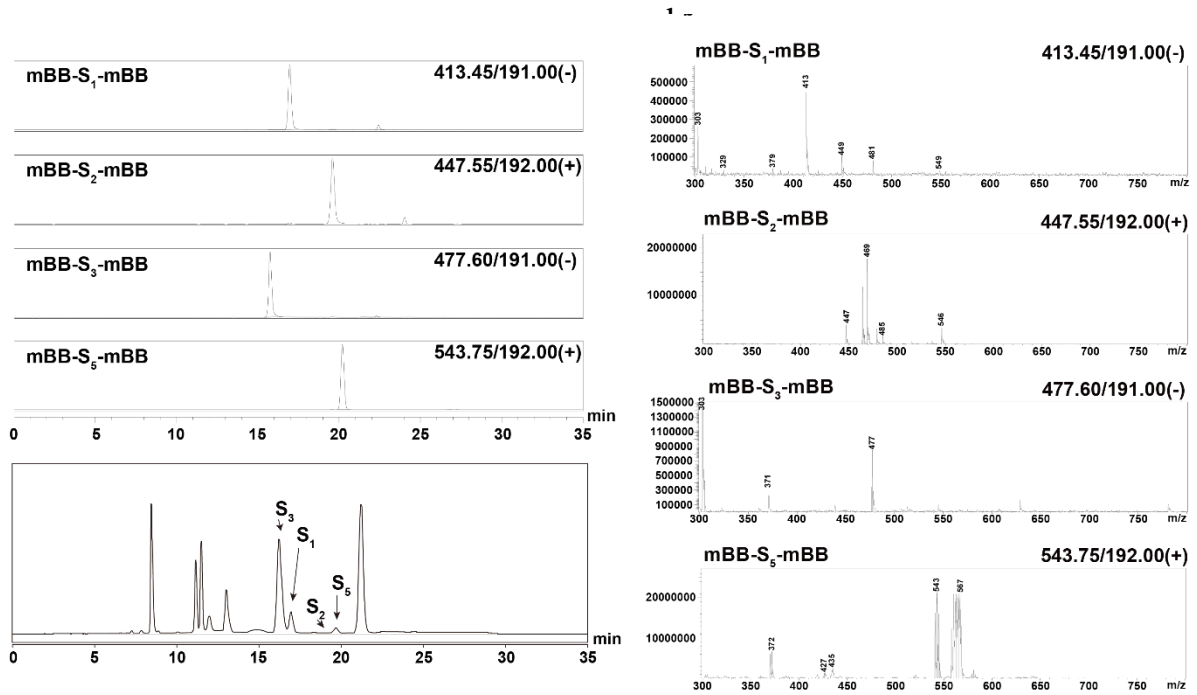


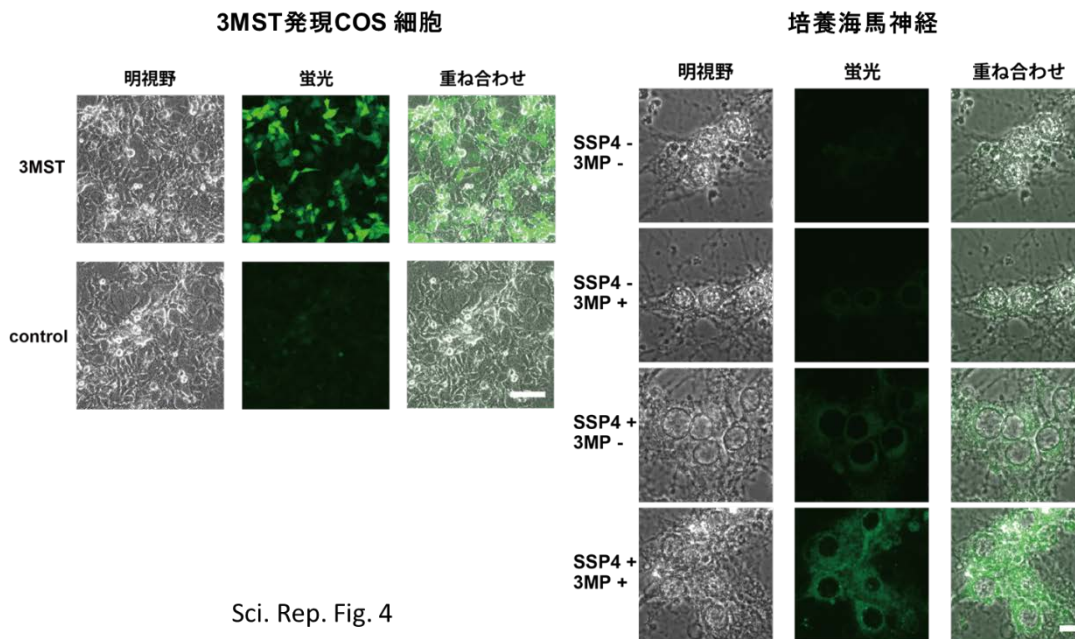
図 3 : 高速液体クロマトグラフィー-蛍光分析と質量分析による H_2S , H_2S_2 , H_2S_3 , H_2S_5 の同定



Sci. Rep. Supplementary Fig. 1

a : 高速液体クロマトグラフィー-蛍光分析によるモノプロモビメン蛍光試薬で誘導化した H_2S , H_2S_2 , H_2S_3 , H_2S_5 のカラムからの流出時間を示したものです。b : 質量分析によるモノプロモビメン蛍光試薬で誘導化した H_2S , H_2S_2 , H_2S_3 , H_2S_5 の質量を示したものです。

図 4 : H_2S_3 感受性プローブ SSP4 による細胞内局在



Sci. Rep. Fig. 4

細胞で生合成された H_2S_n を特異的蛍光試薬で標識し、細胞質に局在していることがわかります。左図 : COS 細胞に 3MST を発現させ、細胞内に入った 3MP から生合成された H_2S_n を特異的プローブ SSP4 で標識したものです。右図 : 海馬神経に 3MP を投与し、生合成された H_2S_n を SSP4 で標識したものです。