

硫化水素遊離剤の活性酸素と細胞死の抑制作用の相関の検証

Verification of the correlation between ROS and inhibition of cell death by hydrogen sulfide releasing agents

牧田 裕佑

指導教員 佐藤 拓己

東京工科大学 応用生物学部 応用生物学科 アンチエイジングフード研究室

キーワード：硫化水素、活性酸素、細胞死

1. 緒言

哺乳類は通常環境温度の変化にかかわらず体内深部体温 (CBT) を維持する。この例外として、冬眠や休眠などの仮死状態に似たものが存在する。代謝率の低下・恒温制御の喪失により特徴付けられており動物の体温は環境の体温に近づく。近年では、硫化水素がマウスに対して仮死状態に似た状態を誘発することを明らかにした。この状態は容易に可逆的であり動物に害を与えない。このことは医療への応用の可能性を示すことが考えられる。

硫化水素はミトコンドリアにあるシクトロム c オキシダーゼを阻害することにより、細胞内で酸素が利用できなくなり、中枢神経系や臓器に重大な影響を与えるが、この性質を利用すると細胞が酸素を使わなくてもよい休止状態におくことができる。マウスを使った実験で 80ppm の硫化水素を吸引させると、吸引開始 5 分後には酸素消費量は約半分に、二酸化炭素排出量は 6 割減少、体温と呼吸数も有意に低下した。これらの反応は吸引を中止すると 1 時間以内に完全に元に戻ることが証明された。

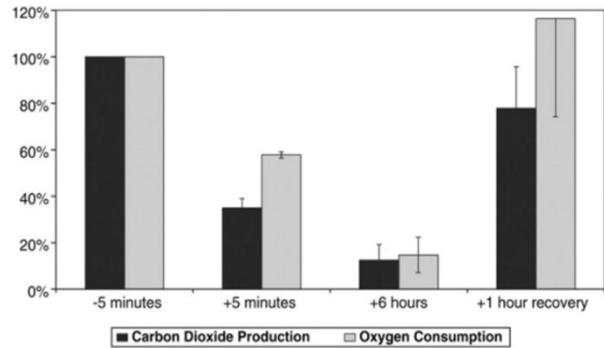


図 1. 80ppm の H₂S に暴露されたマウスの相対的な CO₂ 生成量と O₂ 消費量¹⁾。

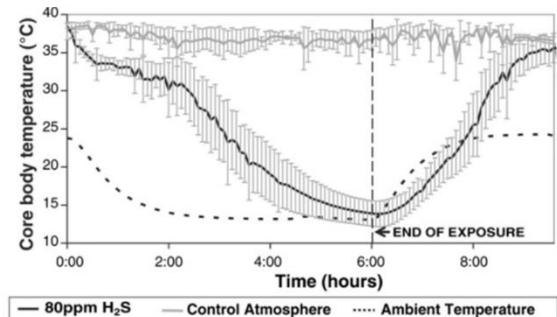


図 2. 80ppm の H₂S (黒線) または人口空気 (灰色線) に 6 時間暴露したときのマウスの CBT¹⁾。

これは、硫化水素が人工的にマウスを冬眠状態にしたものであり、重症の脳障害の際に神経細胞障害が急速に進行しないように脳低温療法を行うのと同じ理屈で、急性期の障害が起きないように細胞を休ませることが可能である。

2. 本研究の背景・目的

硫化水素は火山中から火山ガスとして放出される他、温泉中に含まれており、硫化水素中毒による死亡事故を引き起こす。本研究は、硫化水素(以下 H_2S)遊離剤であり、食品添加物でもある亜ニチオニ酸ナトリウムを用いて、 H_2S の生理作用を検討した。

また、 H_2S は近年、神経伝達の調節、血管平滑筋の弛緩、抗炎症作用、細胞保護作用など多様な生理機能が報告されている²⁾。活性酸素を下げるることは確実ではあるが、細胞生存率維持への寄与は明確でない。本研究ではヒト子宮頸がん細胞を用いて、活性酸素の細胞生存率維持への寄与を検討した。

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ン)

MTT(3- [4,5-Dimethylthial-2-yl] -2,5-Diphenyltetrazalium Bromide) Assay

活性酸素 H_2O_2

亜ニチオニ酸ナトリウム $(2Na)S_2O_4^{2-}$

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 H_2S (10、30、100 μM)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

H_2S は濃度依存的に活性酸素を抑制した。しかし、 H_2S は細胞死を全く抑制しないことが確認できた。現在は H_2S の細胞毒性を確認するため、毒性試験を行っている。

5. 今後の研究計画

ハーマンの酸化ストレス学説に従えば、活性酸素の抑制率と細胞死抑制率は正に相関するはずである。

今後は H_2S が活性酸素を顕著に抑制するのに、なぜ細胞死を抑制しなかったのか、その詳細を検討する。また、 H_2S には細胞内の温度を低下させる作用があることが示唆されている³⁾。蛍光プローブを用いて細胞内温度の測定を行い、それに伴う体温調節における H_2S の役割を明らかにする。

6. 参考文献

1)<https://www.science.org/doi/10.1126/science.1108581>.

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

3)https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjhr/41/0/41_202041G04/_article/-char/ja/