硫化水素発生中

Emissions control

KATHARINE SANDERSON 2009年5月28日号 Vol. 459 (500-502)

硫化水素は、腐った卵の臭いがする無色の有毒ガスである。
しかし近年、生体内で硫化水素が産生され降圧作用をもつことがわかり、
にわかに注目が集まっている。果たして硫化水素は、
一酸化窒素に続く新たな生体内ガス性シグナル伝達分子となるのだろうか。

1998年のイースター、Rui Wangの10歳になる娘は、色とりどりのイースターエッグを学校から持ち帰った。卵はガラスのコレクションケースにおさめられ、まるで芸術作品のように誇らしげにリビングを飾った。このとき一家の誰も、このかわいらしい卵が引き起こす衝撃の出来事を思いもしなかった。卵が飾られてしばらくたったある日、Wangが帰宅すると、家中が腐った卵の悪臭で充満していた。飾ってあった卵のうち1個が破裂し、硫化水素が大量に放出されていたのである。

こんな腐った卵、普通の人にとってはただのゴミにすぎないだろう。しかしWangにとっては、研究の大きなヒントを与えてくれる金の卵となった。当時、カナダのサスカトゥーンにあるサスカチュワン大学で循環器系の研究をしていたWang（現在はオンタリオ州サンダー・ベイのレイクヘッド大学所属）は、一酸化窒素と一酸化炭素の生理活性について調べていたところだった。この2つのガスは、体内でわずかに生成され、生理的に大きな作用を及ぼしている。これら以外にもヒトの生理機構に重要なガスがあると思っていたWangは、この悪臭のする硫化水素にピンと来たのだ。「私の家と頭の両方から硫化水素が湧き出したわけです」とWangは語る。彼はすぐに硫化水素ガスボンベを購入し、それをラットの血管培養組織に使ってみた。そして最終的に、硫化水素が血管系組織

によって生成され血圧を下げる作用があるという発見に至ったのである¹。

それ以来、多くの研究者が、硫化水素の生理活性に興味を抱くようになった。2008年の1年間だけで、Wangをはじめとする多くの研究者たちによって、生体内で硫化水素が作り出されることが実証され、さらに、硫化水素がさまざまな代謝タンパク質を理論的に十分修飾できる過程も示された。臨床面からみると、硫化水素は炎症に関係している可能性があり、心臓を保護していることも明らかになっている。2009年6月にはWangの主催により、硫化水素のみをテーマにした初めての国際研究会議が上海で開かれた。

現在では、硫化水素は生物学に、一酸化窒素と同じくらい大きな影響を及ぼすだろうと考える研究者も現れている。実際、一酸化窒素の生理活性は、生理学研究者に計り知れないインパクトを与えた。1998年のノーベル医学生理学賞は、一酸化窒素が循環器系でシグナル伝達分子の役割を果たしているという発見で、3人の科学者に授与された。この発見により生理学研究の領域は大きく広がり、結果的に製薬会社の利益の増大にもつながった。その1つが有名な勃起不全治療薬であるバイアグラ（物質名はシルデナフィル）で、これは一酸化窒素の放出促進によって作用する。

一酸化窒素が有名になったきっかけは、ウェルカム研究所（英国ベケナム）

に所属するSalvador Moncadaの研究である。彼が研究していた内皮由来弛緩因子（EDRF）は、血管を弛緩・拡張させる作用があり、非常によく知られていた因子なのだが、同定されておらず正体不明だった。1987年、Moncadaは、EDRFの正体が一酸化窒素だとすれば、その作用をきれいに説明できると発表した²。生体内の細胞でガス分子が作られており、しかもそれが主な大気汚染物質の1つであるというのは、「とても奇妙な話」だったと、ロンドン大学キングスカレッジ（英国）の薬理学者Phil Mooreは振り返る。

しかし、この概念がいったん浸透する

と、一大センセーションが巻き起こった。Moore は、当時、大学の図書館員たちに、Moncada の発見についての講義をやめてくれと懇願されたと回想する。度を越した学生が、図書館所蔵の *Nature* から Moncada の論文のページを切り取ってしまったのだ。それ以来、一酸化窒素は、神経伝達から免疫系制御までのさまざまな生命機構に関与する、重要なシグナル伝達分子の 1 つとして認知されるようになった。やがて 1990 年代半ばに入ると、「ガス性シグナル伝達分子 (gasotransmitter)」が一酸化窒素だけではないことがわかり、一酸化炭素も細胞のシグナル伝達にかかわっていることが明らかになった。

硫化水素 一臭いも作用も刺激的

そのころ、硫化水素はガス性シグナル伝達分子としてはっきりと候補にはなっておらず、主にその悪臭と毒性（ヒトの致死量は 700 ppm）で有名であった。だから、硫化水素が血管に有用な役割を果たしているという Wang の発見は、いふならば「一酸化窒素の再来」だったと Moore はいう。彼はすぐに、この硫化

水素の研究に取りかかった。Moore たちによると、ヒトが体内で硫化水素を利用する能力は、進化を通じて、硫化水素をエネルギー供給源として用いていた太古の微生物から受け継がれてきたものだろうという。「我々の体は、まだ硫化水素とお付き合いがあるのです」。

ただし、「お付き合いがある」からといって何か重要な機能をもっているとは限らない。Wang は、硫化水素が哺乳類の生理に非常に重要だということを裏付けるには、生体内での硫化水素が生成される機構を明らかにしなければならなかった。そこで彼は、2004 年、ジョンズホプキンス大学（米国メリーランド州ボルティモア）の神経科学者 Solomon Snyder に連絡を取った。Snyder は 1990 年に、一酸化窒素の生成に関与する酵素を発見しており³、Wang は Snyder の助けを借りることで、硫化水素についても同様の発見ができるのではないかと考えたのだ。

Snyder の研究室にやってきた Wang は既に、遺伝子操作でシスタチオン-γ-リアーゼ (CSE) という酵素を欠失させたマウスを用意していた。この酵素は細菌での硫化水素生成に関与しており、Wang は、作製した変異マウスを使って哺乳類でも硫化水素生成に CSE がかわっていることを示そうとした。実験はみごとに成功した。2008 年 10 月、Wang と Snyder は、CSE ノックアウトマウスでは心臓の硫化水素の濃度が低く、高血圧になったことを *Science* に発表した⁴。「この論文によって硫化水素は一躍スポットライトを浴びることになりました」。こう語るのは、関節炎や糖尿病の患者の硫化水素濃度に着目して研究している、ペニンシュラ医科歯科大学（英国エクセター）の Matt Whiteman だ。「Wang と Snyder の論文は、この研究分野の信頼性を高めてくれました」。

Snyder によれば、一酸化窒素が唯一の EDRF だと考えることはもはやできないという。「ノーベル賞受賞者たちは一酸化窒素が EDRF の 1 つであること

を示したのであって、唯一の EDRF であることを示したわけではないのです」。Snyder は、一酸化窒素よりも硫化水素のほうが、より強い血管弛緩作用が認められる証拠を得ている。ただし、この 2 つのガスは全く異なる方式で機能すると考えられている。一酸化窒素は、グアニル酸シクラーゼという酵素を活性化し、血管内壁の筋肉を弛緩させる一連の応答を開始させる。一方、硫化水素は、ATP 感受性のカリウムチャネルを活性化することで同じ結果を引き起こす¹。

Snyder は、CSE ノックアウトマウスの研究とその後の未発表データから、「硫化水素は一酸化窒素以上の興奮を巻き起こす可能性を秘めています」と自信をもっている。しかし、この分野のほかの研究者们は、硫化水素の生物学的意義を大げさにとらえすぎる恐れがあるとして、まだ慎重な態度を崩していない。「ビートルズが、自分たちはイエス・キリストより有名だといったときのようなものです」と Whiteman はいう。

Snyder は、未発表のデータによって、自分の考えを証明できるかもしれない。Snyder は、硫化水素の作用機序を自身が既に見つけたと考えているのだ。彼は、これを解明するために、一酸化窒素の作用機序と比較してみた。一酸化窒素は、ニトロシル化とよばれる過程 (NO 基を付加する反応) を介して作用するが多い。ニトロシル化によって、一酸化窒素分子の一部がタンパク質の特異的アミノ酸へ接着し、多くの場合、そのタンパク質の活性を阻害する。接着部位に当たるアミノ酸は、硫黄を含むシステインである。

Snyder によれば、硫化水素は、彼が「スルフヒドリル化」とよぶ、ニトロシル化と似たプロセスによって働き、これはタンパク質を修飾してその活性に影響を及ぼす、今までに知られていないやり方である可能性があるという。「スルフヒドリル化」は、システインに 1 個の硫黄原子を付与することで作用する。この硫黄原子は、硫黄-水素 (S-H) 結合を

1 個含むシステインの突き出た反応性部位と反応して、これをタンパク質の本体からさらに突き出す形になる硫黄-硫黄-水素結合へと変換する。これによってさらにその部分が外部に露出し、化学反応をいっそう起こしやすくなるのだ、と Snyder は説明する。

スルフヒドリル化の影響はニトロシル化よりも大きいものだ、と Snyder はいう。これまで彼が行った実験では、ニトロシル化は任意の試料においてタンパク質分子 100 個当たり約 1 個に作用するが、スルフヒドリル化はタンパク質分子 10 ~ 20 個当たり 1 個に影響するらしいことが明らかになっている。これは、硫化水素が、反応相手のタンパク質のシステインに対する部位選択性が、一酸化窒素より弱いせいだと考えられる。

Snyder は、スルフヒドリル化によってカリウムチャネルが開いて血管が弛緩することや、肝臓で少なくとも 40 種類のタンパク質の活性が変化することを示す確かな証拠をもってしていると話す。彼は、解糖系（細胞へエネルギー供給するためにグルコースを分解する経路）にかかわるグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ（GAPDH）という酵素を詳しく調べた。GAPDH がニトロシル化されると、解糖反応を触媒する能力

は低下するが、硫化水素を用いると劇的に様相が逆転する。「GAPDH をスルフヒドリル化すると、生体内での活性が 700 パーセントにもなります。つまりスルフヒドリル化は、これまで知られていなかったタンパク質の翻訳後修飾だということです。おそらく、リン酸化と同じくらい、広範で重要な生理機能をもつでしょう」と Snyder は、あらゆる細胞機能に極めて重要で非常に一般的な別のタンパク質修飾であるリン酸化を引き合いに出して語った。Snyder は、スルフヒドリル化は解糖のほかにも多くの代謝過程の制御を説明するうえで重要なのではないかと話す。「代謝経路の制御は、50 年前にほぼ解明されました。問題なのは、代謝経路のスイッチを入れたり切ったりしている物質です。ホルモンなどのシグナル分子が代謝を制御しているのでしょうか。この点はまだ十分な研究がなされていません」。

時機を待つ

これまで Snyder の研究はその概要しか発表されておらず⁵、研究者の間では、論文の是非を判断するよりも、完全な論文にお目にかかりたいという意見が聞かれる。Whiteman は、Snyder の仮説に説得力があることを認めている。彼は「Snyder の主張は、私の観察結果と一致しています」と話し、Wang も「スルフヒドリル化は重要な突破口の 1 つになるでしょう」と語っている。

ただし、Snyder は硫化水素を細胞のシグナル伝達の主役に据えようとしているが、この分野のほかの研究者たちは、硫化水素は脇役であって、一酸化窒素に何か不具合があった場合に支援するような役目を生体内で果たしているのだらうと考えている。「一酸化窒素のようなシステムが、バックアップなしに存在しているなどというのはありえません」とイタリアのナポリ・フェデリコ II 世大学の Giuseppe Cirino はいう。「我々が話題にしているのは、生物の生存に重要なシステムなのですから」。

例えば血管系制御の話でいうと、Cirino は既に、血管内皮（血流を調節したり一酸化窒素を生成したりする血管内壁の細胞層）が損傷して一酸化窒素生成量が低下した場合、硫化水素が特に重要になることを見いだしている⁶。Cirino たちは、ヒトの陰茎の海綿体について調べた。海綿体構造は、神経系が刺激されることで一酸化窒素が放出されて血管が弛緩・拡張し、血液で満たされて勃起状態となる（バイアグラは一酸化窒素を海綿体に放出させてこの状態を擬似的に作り出す）。Cirino たちは実験的に、海綿体から平滑筋をはぎ取った。これで血管内皮はなくなり、一酸化窒素は作り出せなくなった。「ところが、内皮が存在しなくても、硫化水素によって組織を弛緩させることができるのです。今後我々が解明すべきはその理由で、その先には仕組みの解明が待っています」と Cirino は話す。

臨床応用を見据えて

硫化水素の組織への搬送を調節する方法があれば、もっと簡単にこうした理由や仕組みを解明できるだろう。そこで Moore は、硫化水素の送達分子を考案した。これは水溶性の有機分子で、硫化水素をゆっくりと放出するので、硫化水素そのものを直接投与するよりもずっとうまく生理的濃度を作り出せる。Moore は既にこの分子の特許を出願済みであり、循環器系に対する硫化水素の作用を調べたり、治療用に硫化水素を投与したりするために、この分子が使われることを期待している⁷。

ほかにも複数の研究グループが、硫化水素を臨床応用する方法を探っている。「低用量の硫化水素を用いた治療が、細胞損傷を低減するのに極めて大きな効果があるという考えに、大いに胸を躍らせています」と話すのは、エモリー大学医学系大学院（米国ジョージア州アトランタ）の心臓病研究者 David Lefer である。Lefer は、擬似的に心臓発作を起こさせたマウスに硫化水素を 1 回投与

一酸化窒素と同様に、硫化水素も血管を弛緩させ拡張させる働きがある。

心臓発作が起こる前に硫化水素を投与することで、心臓の損傷領域（白い部分）を狭めることができる（右側）。

し、その効果を調べた。実験の結果から、硫化水素はどうやら、強力な抗酸化物質や細胞損傷を防ぐ酵素の産生を促すらしいことがわかった（データ未発表）。「生体内には、硫化水素への1回の暴露で起動させることのできる防御プログラムが存在するようです。この研究は、大きな心臓手術を行う患者に対する術前処置法の開発につながるかもしれません」と Lefer は話す。

Whiteman は、炎症における硫化水素の役割を調べてきた。彼が目にしたのは、慢性炎症疾患である関節リウマチや、軟骨変性疾患である変形性関節症の患者の関節から採取した滑液である。関節リウマチ患者では滑液中の硫化水素は高濃度だったが、変形性関節症患者では濃度の上昇はみられなかったのである。しかし、炎症過程における硫化水素分子の重要性については研究者の間でも意見が分かれたままだと、Wang は話す。「炎症促進性を示した研究もあれば、抗炎症性を示した研究もあるのであります」。

硫化水素には、もう1つの興味深い側面がある。フレッド・ハッチンソンがん研究センター（米国ワシントン州シアトル）の Mark Roth は、2005 年に、硫化水素によってマウスを仮死状態にできることを示した。Roth は、硫化水素によりマウスの代謝が劇的に遅くなり、そのために深い眠り、つまり仮死状態に入ったのだらうと説明している⁸。しかし Snyder は、この実験結果は自分の研

究にほとんど影響がないという。「Roth の仮死状態実験では、正常な生体内存在量の数百倍に当たる硫化水素を用いており、そのため、硫化水素の通常の生理作用とは無関係な別の生体機構まで巻き込んでいく可能性があります。したがってこの実験結果は、1種類の酵素が作る微量な硫化水素の作用とは大きくかけはなれたものと考えられます」と彼はいう。

今後の硫化水素の生理活性研究における課題の1つは、動物での結果をどのようにヒトに当てはめるか、誰が最初に硫化水素の臨床応用を行うのか、ということになるだろう。「私は、現段階でも進められる創薬研究があると思います」と Moore はいう。彼と Wang は現在、

酵素のシスタチオン- γ -リアーゼを作ることのできないマウスは高血圧になる。

イタリアのミラノにある CTG Pharma という企業と共同研究を行っている。CTG Pharma 社では、シルデナフィルだけでなく、鎮痛剤のアスピリンやジクロフェナクなど既存の薬剤に、水素-硫黄供与基を組み込もうとしている。また、米国ワシントン州シアトルにあるバイオテクノロジー企業 Ikaria は、一酸化窒素、一酸化炭素、硫化水素の3分子に基づいた治療法を開発中である。同社は現在、硫化ナトリウム（硫化水素の体内送達に使われる物質）の投与で動脈閉塞などの病態を治療できるかどうか、第I相臨床試験を行っているところだ。

こうした研究が進むにつれて、研究者の間には、硫化水素に関してもっと知りたい、ガス性シグナル伝達分子群をさらに包括的にとらえたいという動きが出てきている。Moore と Wang は、微生物がもつ別の単純なガス分子を利用する能力も、ヒトに備わっている可能性があると考えている。Moore が挙げたその一例がアンモニアである。アンモニアは生理学的特性よりはむしろ刺激臭でよく知られている。つまり、Wang が硫化水素でやったように、次のガス性シグナル伝達分子も文字通り「鼻で嗅ぎ付ける」ことができるかもしれない。「一酸化窒素や一酸化炭素、硫化水素の研究から、これら3種類のガスだけが生理機能をもつのではないという何か手がかりをつかむことができれば、さらに新しいガス性シグナル伝達分子が見つかるに違いありません」と Wang は語っている。

（翻訳：船田晶子）

Katharine Sanderson は、Nature ロンドンオフィスのリポーター。

1. Zhao, W., Zhang, J., Lu, Y. & Wang, R. *EMBO J.* **20**, 6008-6016 (2001).
2. Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. & Moncada, S. *Nature* **327**, 524-526 (1987).
3. Brett, D. S. & Snyder, S. H. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **87**, 682-685 (1990).
4. Yang, G. et al. *Science* **322**, 587-590 (2008).
5. Mustafa, A. K., Gadalla, M. M. & Snyder, S. H. *Sci. Signal.* **2**, re2 (2009).
6. d'Emmanuele di Villa Bianca, R. et al. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106**, 4513-4518 (2009).
7. Li, L. et al. *Circulation* **117**, 2351-2360 (2008).
8. Blackstone, E., Morrison, M. & Roth, M. B. *Science* **308**, 518 (2005).