

イオウ呼吸:創薬の新たな標的

東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野 赤池 孝章

東北大学加齢医学研究所 遺伝子発現制御分野 本橋 ほづみ



赤池 孝章
1984年熊本大学医学部卒業。1991年熊本大学大学院医学研究科博士課程修了。1991年熊本大学医学部助手。1992年同講師。1993年トーマスジェファーソン医科大学客員教授。1994年熊本大学医学部助教授。2001年アラバマ大学バーミングハム校客員教授。2003年～2006年文部科学省研究振興局学術調査官。2005年熊本大学大学院生命科学研究部教授。2011年熊本大学医学科長・副医学部長。2013年より現職。2019年東北大学大学院医学系研究科副研究科長。



本橋 ほづみ
1990年東北大学医学部卒。同大学院を1996年に修了。筑波大学、米国ノースウエスタン大学を経て、2007年東北大学大学院医学系研究科准教授。2013年より現職。2014年加齢医学研究所・副所長。

はじめに

「イオウ(硫黄、元素記号:S)」は天然に産生されるため、日本を含めた火山活動が活発な地域では火山や温泉の固有の匂いから人々に最も身近な元素である。また、人類は古来より様々なかたちでイオウを利用しており、工学領域では錬金術をはじめ近代の産業技術においても活用され、代表的なイオウ化学物質である硫酸は現在も世界最大の工業生産があり、その生産レベルが国の産業活動の指標とされる。また、イオウは、ヒトの生体内に体重の0.2%程度(体重50kgのヒトで100g)と豊富に存在しており、カルシウム、リンについて多い必須元素であ

る¹⁾。イオウは酸素やセレンと同じ第16原子族に属し、電子軌道[Ne]3s²3p⁴の電子分布はd軌道におよび、酸化数-2～+6、原子価2～6をとることで、酸素やセレン以上の多様な化学的反応性、特に生体内の酸化還元反応においては、高い反応性、レドックス活性を發揮する元素である。

実際、生命の起源である原始細胞が誕生した約40億年前の地球は無酸素で嫌気的な環境であったため、通常的好気性生物が使う酸素分子のかわりに自然界に存在したイオウ分子が電子受容体としてエネルギー産生に用いられたと推定されている(図1)。すなわち、酸素を使ったエネルギー代謝である酸素呼吸が生物界に出現する以前の生命進化の起源において、このイオウを使ったイオウ呼吸が営まれていたものと推察されている。生物界では、植物は動物・ヒト以上に多様なイオウ代謝経路を有しており、我々の食生活においても、ネギ、ガーリックなどの多様なイオウ分子を摂取している(図2)。さらに、アメリカ食品医薬品局に承認されている医薬品のうち約25%の品目にイオウが含まれ、Merck Indexでも多数の含硫医薬品が登録されており、薬物代謝・活性制御のみならず創薬という観点からもイオウは極めて魅力的で重要な元素である。

新規イオウ代謝経路の同定

これまでのイオウ代謝研究は、システインやメチオニンなどの含硫アミノ酸、タンパク質の生合成や代謝、あるいは、主たるイオウ分子であるチオール化合物(R-SH)のジスルフィド、サ

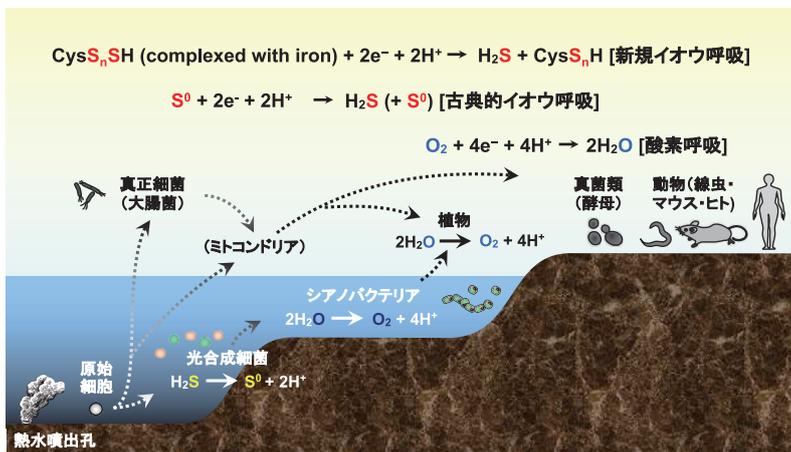


図1 生物進化におけるイオウと酸素呼吸および光合成の系譜

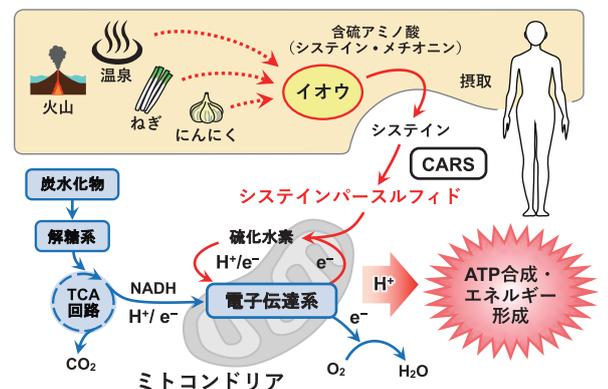


図2 環境・イオウ・ヒト連関(イオウ生体内摂取)、およびイオウ呼吸モデル

ルフェン酸・サルフィン酸・サルフォン酸形成などの酸化反応や各種親電子物質によるマイケル付加やアルキル化修飾などに焦点があてられてきた。また近年、硫化水素の生体内生成が議論されているものの、その生成と代謝経路の実体は不明であった。そこで、まず我々は、これまで未知のイオウ代謝経路の解明を目指してイオウ代謝物の統合メタボロームを確立し、新規イオウ化合物であるシステインパーサルフィド(cysteine persulfide, CysSSH) やさらにイオウ原子が複数付加したポリサルフィド(シスチントリサルフィド, cysteine trisulfide, CysSSHなど)の生体内生成を証明した(図3,4)^{2,3)}。このようなイオウ化合物は、通常のコール化合物に比べて、高い求核性ととも、全く正反対の求電子性(親電子性)を有しており、複

雑なレドックス活性を持つ活性イオウ分子として生体内で多彩な生理機能を発揮している⁴⁾。さらに、システインパーサルフィドが低分子化合物だけでなく、タンパク質中のシステイン残基にも豊富にも存在し、タンパク質ポリサルフィドと生理的に形成されていることから、タンパク質生合成・翻訳に関連した酵素が活性イオウ分子の産生系であると予想された。そこで、翻訳関連酵素であるシステイニルtRNA合成酵素(cysteiny l tRNA synthetase, CARS)に着目し解析した結果、本酵素がシステインを基質として効率良くシステインパーサルフィドを産生することを見出した(図5)³⁾。哺乳類の場合、細胞質に局在するCARS1およびミトコンドリアに局在するCARS2が存在するが、両酵素ともパーサルフィド合成活性を有している。さらに、ゲノム編集技

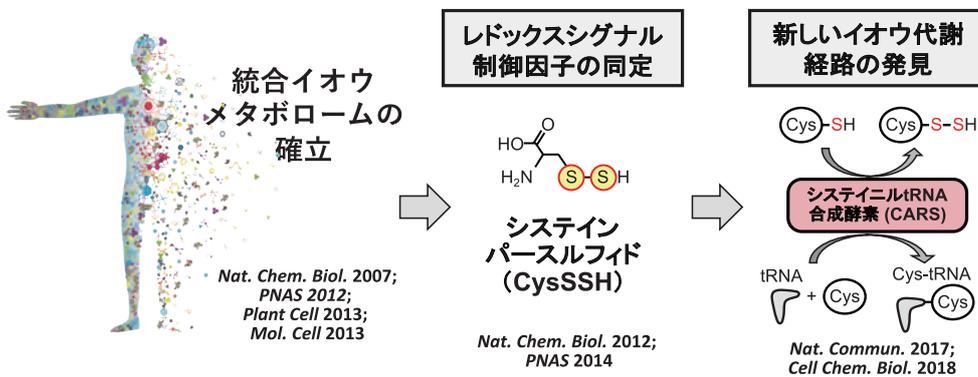


図3 統合イオウメタボロームと新規イオウ代謝系の発見

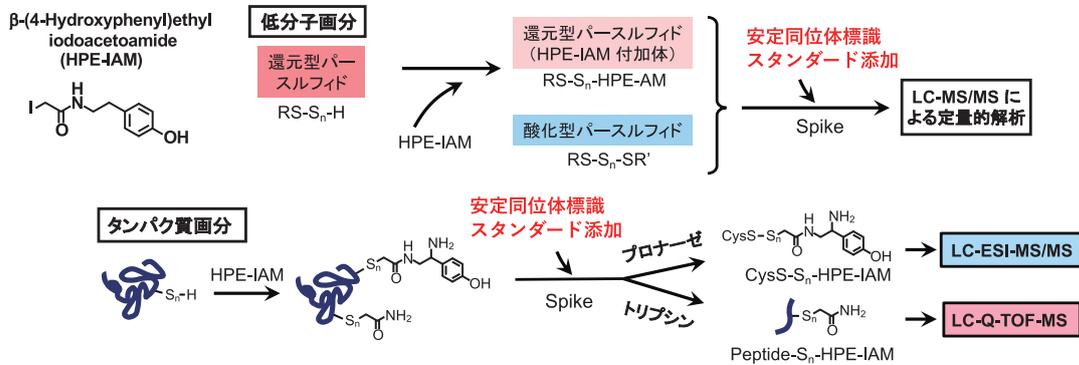


図4 統合イオウメタボロームの概要

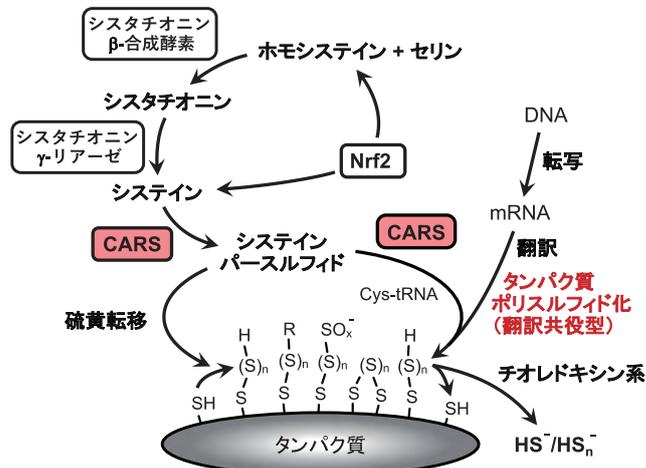


図5 翻訳共役型イオウ代謝経路

術CRISPR-Cas9システムを用いて、すべての生物種に保存されたイオウ代謝活性を担うモチーフを細胞および個体レベル(マウス)で欠損させたところ、CARSのtRNA合成活性は保持しながら、システインパースルフィドおよび関連イオウ代謝物の生成が停止することを証明した。このことより、ヒトを含めたすべての生物種において、CARSが生体内の主要な産生酵素(cysteine persulfide synthase : CPERS)として機能していることが明らかとなった(図5)^{2,3}。

ヒトにおけるイオウ呼吸の発見

CARS2がミトコンドリア局在酵素であることから、CARS2変異体(CPERS活性欠損変異体)やCARS2破壊株のミトコンドリア機能を解析したところ、当該変異体のミトコンドリア膜電位形成が顕著に損なわれていた。これは、システインパースルフィドが膜電位形成を介してミトコンドリアのエネルギー代謝に貢献していることを示している。ミトコンドリアにおいては、電子伝達系における電子供与体であるNADHから最終的な電子受容体である酸素分子に電子が移動する際にミトコンドリア内膜にプロトン勾配が生じることで膜電位が形成され、その膜電位に依存してATP合成が行われエネルギー代謝が営まれている(図6, 7)。実際、電子伝達系によりシステインパースルフィドが電子受容体として2電子還元され、硫化水素に変換されていることが分かった³。すなわち、ヒト・哺乳類におけるイオウ呼吸の発見であり、生物界におけるイオウ呼吸の再発見である。今回新たに見出したイオウ呼吸では、電子伝達系の最終的な電子受容体が、通常の酸素呼吸の酸素分子ではなくパースルフィド(あるいはポリ

スルフィド)であり、酸素呼吸の場合、電子伝達系の電子は、酸素分子の最終的な還元代謝産物である水分子として排出されるが、イオウ呼吸の場合、システインパースルフィドに電子が受け渡され硫化水素が発生しているものと考えられる(図6)。ミトコンドリア内には硫化水素のプロトンと電子をミトコンドリアのユビキノ(Q: 哺乳類ではcoenzyme Q₁₀)サイクルに供与する酵素であるsulfide:quinone oxidoreductase(SQR)が存在する(図6,7)。さらに最近、ミトコンドリアのSQR欠損マウスを作製し、そのミトコンドリア機能や代謝表現型を解析したところ、システインパースルフィドが電子伝達系と共役して二次的に発生する硫化水素がSQRの働きによって、Qサイクルを介してプロトン勾配・膜電位形成とATP産生に関与していることが確認できた。実際、我々は、シングルミトコンドリア膜電位イメージング法を独自に確立して、ミトコンドリアの電子伝達系において、硫化水素が極めて優れたプロトンと電子供与体として機能していることを証明した(図7)。生命進化の初期の原始細胞のみならず、現代においても、イオウ単体そのものを電子受容体として利用している細菌が存在する(例えば、ピロリ菌の仲間*Volinella succinogenes*や超好熱性細菌 *Aquifex aeolicus*等)。また、イオウ酸化細菌(*Thiobacillus*等)は、SQRによって無機イオウ化合物を酸化し、エネルギー生産を行っていることが知られている。さらに、光合成細菌(シアノバクテリア)において、SQRが効率的な光合成に重要であることが示唆されている。従って、このような原始的な代謝システムが哺乳類におけるイオウ呼吸の起源なのであろう。しかしながら、その様な原始的なエネルギー代謝経路が、地球上の生物進化における淘汰圧をどの様に逃れて利用され続けているのか? 火山ガスなどの高濃度では強い毒性のあるイオウ化合物をエネルギー産生の使うメリットは何

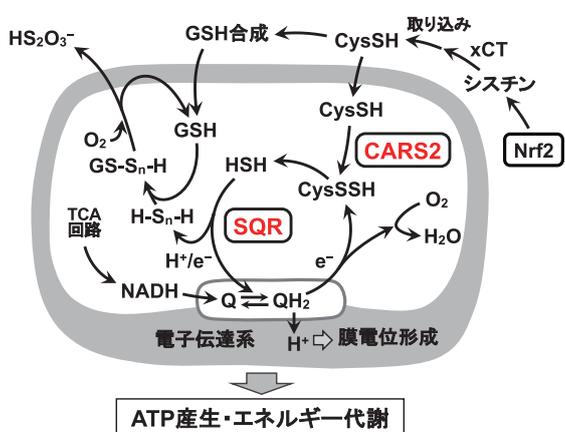


図6 ミトコンドリアのイオウ呼吸：CARS2由来パースルフィドの電子伝達共役による硫化水素生成とSQRによるQサイクル側副・電子伝達経路

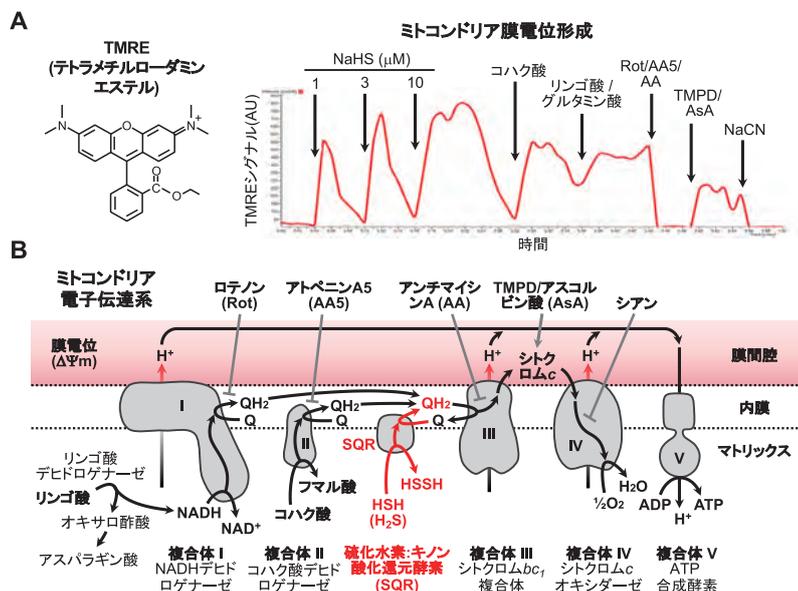


図7 硫化水素によるミトコンドリア膜電位形成(A)とミトコンドリア電子伝達系の模式図(B)

なのか？ ミトコンドリアのイオウ代謝物とタンパク質ポリスルフィドの関連は？ イオウ代謝遺伝子の制御経路はあるのか？ など、多くの研究課題が残されている。最新の研究成果から、酸素呼吸による被る酸化ストレスなどの不利益を、イオウ代謝物が巧みに保護していることも分かっており、生物は原始的なイオウ呼吸と進化的に獲得されてきた酸素呼吸の両者の利点を巧妙に利用することで、ヒトにいたるまで過酷な環境ストレスに適応しながら生物進化を果たしてきたのであろう。

イオウ呼吸による寿命制御

これまで、栄養飢餓により寿命が延長することが示唆されているが、その分子メカニズムは不明である。近年、硫化水素代謝と寿命の関連が示唆されている。例えば、線虫においてイオウ代謝の活性化により寿命が延長することが示されている。さらに、我々は寿命研究のモデル生物である出芽酵母において、CARSから産生されるシステインパーズルフィドが寿命延長に関わることを示唆する知見を得ている。また、活性イオウ分子を添加することで、出芽酵母の寿命が延長する結果も得ている。すなわち、活性イオウが寿命制御因子であることが示唆されている。生物進化論のみならず、今後、人類の存続と繁栄という観点から、システインパーズルフィドや活性イオウ代謝系、イオウ呼吸による新たな寿命制御メカニズムの解明が全人類の大きな課題となるであろう。また、イオウ呼吸によって促進する老化、長寿効果の解明は、幹細胞生物学などの代謝維持・活性化メカニズムの理解の一助となるであろう⁵⁾。

おわりに:イオウ創薬に向けて

酸素を使った好氣的エネルギー産生系(酸素呼吸)では活性酸素の産生と酸化ストレスの発生は避けることができない。システインパーズルフィド、あるいは、その代謝物であるグルタチオンパーズルフィドなどは、活性酸素を強力に消去する新しい内因性の抗酸化物質として同定された活性イオウ分子である^{5,6)}。我々の研究は、その生成酵素を探索するなかで、ミトコンドリアCARS2由来のシステインパーズルフィドによるイオウ呼吸の発見へと展開した。シアノバクテリアが繁栄する以前の嫌氣的環境では、生物はイオウを利用したエネルギー代謝を営んでいた。従って、哺乳類でのイオウ呼吸の発見は、20数億年前の地球表面の高濃度の酸素化イベント後に大きな進化を遂げてきた哺乳動物においても、システインパーズルフィドを利用したイオウ呼吸が必須であったことを示している。今後、低酸素・飢餓耐性や冬眠におけるイオウ呼吸によるエネルギー代謝機構の解明が、老化防止・長寿対策、慢性難治性の呼吸器・循環器・神経疾患、生活習慣病を含めた代謝病やミトコンドリア病などの遺伝性疾患の予防・治療法の開発へと繋がるであろう。また、がん細胞などは、イオウ呼吸を積極的に利用することで、飢餓・低酸素環境においても生存し増殖しているのかもしれない。イオウ呼吸が、いままさに、創薬の新たな標的として注目を浴びている(図8)。

参考文献

- 1) 桜井 弘：元素 1 1 1 の知識(講談社)第12刷, pp. 99-103, 2002.
- 2) Ida T. and Akaike T. et al., PNAS 111: 7606-7611, 2014.
- 3) Akaike T. et al., Nature Commun. 8: 1177, 2017.
- 4) Hamid H. A. and Akaike T. et al. Redox Biol. 21:101096, 2019.
- 5) Motohashi H. and Akaike T. Current Opinion Physiol. 9: 1-8, 2019.
- 6) Zhang T. and Akaike T, et al., Cell Chem. Biol. 2019. pii: S2451-9456(19)30037-6.

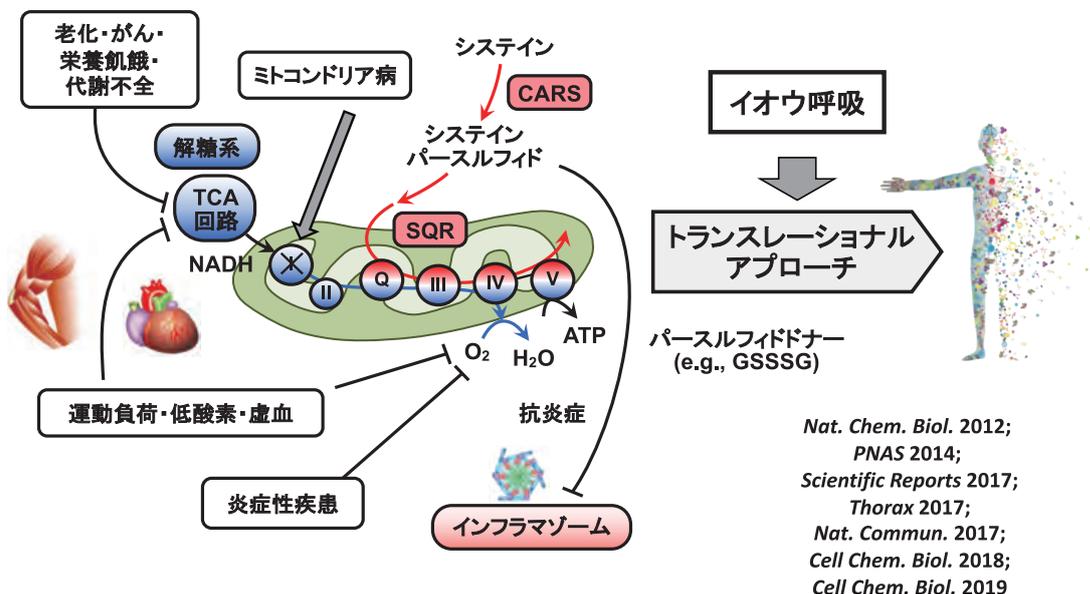


図8 イオウ呼吸を標的とした革新的創薬の基盤の構築