

【目的】 硫化水素 (H₂S) は、揮発性硫黄化合物であり悪臭防止法において特定悪臭化合物に指定される。硫化水素は嗅覚閾値が低く、しばしばその悪臭が問題となる。一方で、硫化水素は生体内でも存在し、L-システインもしくはD-システインを基質に cystathionine-lyase (CSE) などの酵素反応によって生合成されることが分かっている。硫化水素は生体内において、神経伝達や血管緊張性、炎症の調節などに作用し、細胞の酸化ストレスからの保護や生体内におけるエネルギーの産生などの役割を担っている。これらの生理活性をもつことから、硫化水素は一酸化炭素 (CO) や一酸化窒素 (NO) に次ぐ第3のガス状の生理活性シグナル伝達分子であると言われている。乳がん細胞において嗅覚受容体 OR2T6 が選択的に発現しており、がん細胞増殖と OR2T6 の発現量に相関関係があることが報告されている。しかし、OR2T6 が受容するアゴニストについてはこれまで明らかになっていなかった。著者は、独自の嗅覚受容体解析技術により、OR2T6 が硫化水素応答受容体であることを同定した。そこで、本研究では乳がん細胞の OR2T6 を介した硫化水素応答性の検証と、その意義について解析することを目的とした。

【方法】 ヒト乳がん細胞 MCF-7 を対象に、OR2T6 のタンパク質発現の有無の確認のため、ウェスタンブロットを行った。硫化水素ガス刺激で OR2T6 の活性化を介した cAMP 産生が起きるかどうか確認するために、気相刺激 Glosensor アッセイ法によって解析した。また、硫化水素刺激における MCF-7 細胞内の遺伝子発現変化を調べるために RNA-Seq 解析を行った。

【結果】 ヒト乳がん細胞 MCF-7 における OR2T6 のタンパク質発現を確認した。気相刺激 Glosensor アッセイによって、MCF-7 細胞が硫化水素気相濃度依存的に cAMP を産生することを確認した。OR2T6 を過剰発現させた場合に、MCF-7 の硫化水素応答性が向上し、OR2T6 のアンタゴニストを添加すると硫化水素応答が抑制された。硫化水素刺激に伴う遺伝子発現変化を調べたところ、硫化水素刺激なしのコントロール、30 分間刺激、120 分間刺激でそれぞれ、がん原遺伝子 FOS の著しい遺伝子発現増加が確認された。このことから、OR2T6 を介した硫化水素応答により、MCF-7 細胞内で FOS の遺伝子発現が誘導されることが示唆された。

気相刺激 Glosensor アッセイを用いた MCF-7 細胞の硫化濃度依存的応答解析

