

活性酸素と抗酸化物質の化学

中村 成夫

日本医科大学基礎科学化学

Chemistry of Reactive Oxygen Species and Antioxidants

Shigeo Nakamura

Department of Chemistry, Nippon Medical School

Abstract

Reactive oxygen species (ROS) are produced from molecular oxygen. ROS are the reduced forms of molecular oxygen and have high reactivity to biological components e.g. lipid, protein, and nucleic acid. ROS are considered to cause various diseases e.g. arteriosclerosis, myocardial infarction, cancer, and so on. A living body protects against ROS by antioxidant enzymes e.g. superoxide dismutase (SOD) and catalase. Natural antioxidants e.g. ascorbic acid (vitamin C) and α -tocopherol (vitamin E) also scavenge ROS. Recently, some novel artificial antioxidants are synthesized and are expected to a lead compound for drugs.

(日本医科大学医学会雑誌 2013; 9: 164-169)

Key words: reactive oxygen species, free radical, oxidative stress, antioxidant, radical scavenger

1. 活性酸素とは

ヒトが生きていく上で酸素が必要なのはいうまでもない。ヒトは呼吸によって酸素を取り込み、主にミトコンドリアに存在する電子伝達系により ATP を産生し、生命活動に必要なエネルギーを得ている。この過程で酸素は 4 電子還元され水となるのであるが ($O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$)、必ずしも酸素分子に電子がきちり 4 つ渡されるとは限らない。このように酸素分子に不完全に電子が渡された状態、つまり酸素分子が部分的に還元されたものが活性酸素 (Reactive Oxygen Species; ROS) である。

酸素が 1 電子還元されると、スーパーオキシド ($\cdot O_2^-$) となる (Fig. 1)。これは不対電子 (\cdot) を

もつラジカル種であるため、スーパーオキシドアニオンラジカルとよばれることもある。スーパーオキシドがさらにもう 1 電子還元されたものは O_2^{2-} であるが、これに H^+ が 2 個つくと過酸化水素 (H_2O_2) である。過酸化水素がさらにもう 1 電子還元されると、もはや O 原子と O 原子の間の結合は安定に存在することができず、結合が切れて、ヒドロキシルラジカル ($\cdot OH$) と水酸化物イオン (OH^-) となる。

これらスーパーオキシド、過酸化水素、ヒドロキシルラジカルはいずれも活性酸素の一種である。電子は対になって存在するのが安定なため、 $\cdot O_2^-$ や $\cdot OH$ のように不対電子をもつフリーラジカルは非常に不安定で、 $\cdot O_2^-$ の半減期は 10^{-6} 秒、 $\cdot OH$ の半減期は 10^{-9} 秒である。化学的に不安定ということは、逆にいえば高い反応性をもつということで、これらが生体内で発

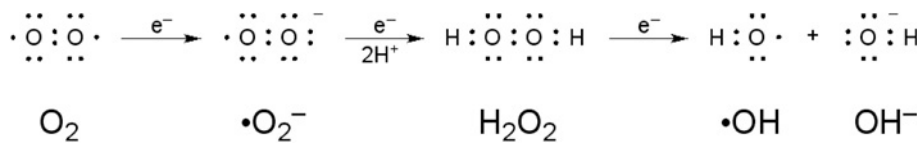


Fig. 1 酸素が1電子ずつ還元され生成する活性酸素

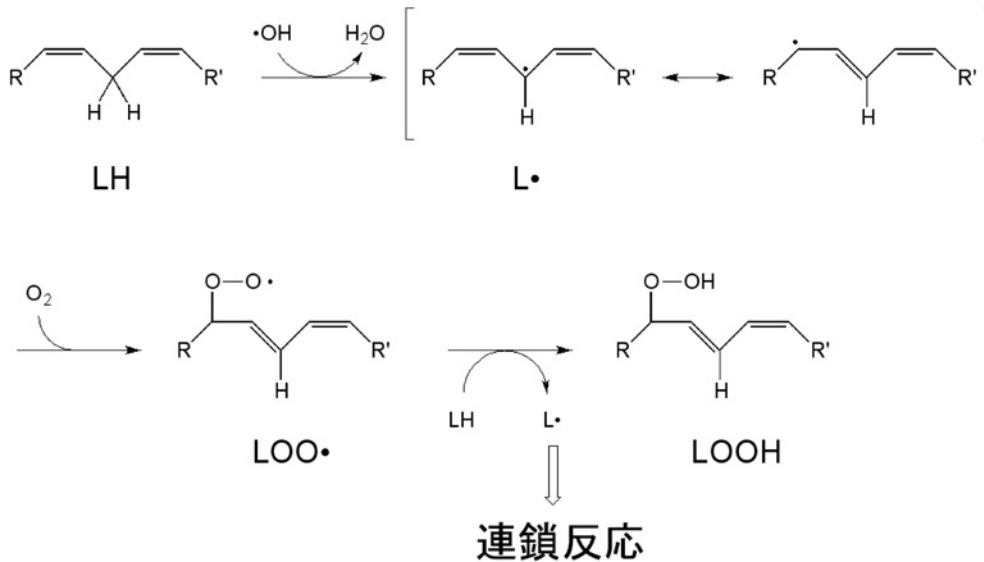


Fig. 2 脂質過酸化反応

生ずると、脂質、タンパク質、核酸などの生体成分を攻撃する。特に・OHは活性酸素の中でもっとも反応性が高い、すなわち生体にとってもっとも有害である。フリーラジカルにより脂質(LH)から水素ラジカルが引き抜かれると脂質ラジカル(L·)が生じる(Fig. 2)。L·が酸素と反応してできる脂質ペルオキシラジカル(LOO·)と別の脂質分子が反応すると、過酸化脂質(LOOH)とL·が生じ、このL·がまた酸素と反応し……と脂質過酸化の連鎖反応へとつながる。これらの脂質過酸化物は動脈硬化、心筋梗塞などのさまざまな疾病の原因になるといわれている¹⁾。

・O₂⁻、H₂O₂、・OHとともに、通常の酸素分子とは電子のスピン状態が異なる一重項酸素(¹O₂)の4つを狭義の活性酸素とよぶが、その他にも前述のLOO·、一酸化窒素(NO·)、次亜塩素酸(HOCl)なども含めて広義の活性酸素とすることが多い。これらの活性酸素が脂質と反応した場合については上で述べたが、ほかにもタンパク質と反応すると酵素や受容体の機能に影響を与えるし、核酸と反応するとDNA鎖切断や核酸塩基の酸化修飾により変異や発がんなどをもたらす。このような生体成分との高い反応性から、活性酸素は老化や多くの生活習慣病にかかわっているとされる。生体内で発生した活性酸素との関連が

示唆されている疾病は、動脈硬化、心筋梗塞、がんのほかにも、パーキンソン病、アルツハイマー病、多発性硬化症、白内障、気管支喘息、潰瘍性大腸炎、糖尿病、自己免疫疾患など枚挙にいとまがない。

2. 活性酸素を消去する酵素

酸素を使って生きていく以上、活性酸素が生成してしまうのはある意味宿命的なものである。そのため生体には活性酸素を消去するシステムが備わっている。そのひとつが活性酸素を消去する酵素である。特にスーパーオキシドを消去する酵素と、過酸化水素を消去する酵素がよく知られている。

2.1 スーパーオキシド消去酵素

スーパーオキシドディスムターゼ(Superoxide dismutase; SOD)は、スーパーオキシドを不均化(A + A → B + C)のように、単一の分子2つを2種類の別の分子にすること)して過酸化水素と酸素に変える、すなわち、2・O₂⁻ + 2H⁺ → H₂O₂ + O₂という反応を触媒する酵素である。もともとこの反応は酵素なしでもきわめて速く進む反応である(・O₂⁻の半減期は10⁻⁶秒)にもかかわらずSODが存在するということは、スー

パーオキシドを少しでも早く消去することが生体にとって重要であることを示している。

真核生物の細胞質には、活性中心に銅と亜鉛を含むCu/Zn-SODが存在する。活性に必要なのは銅イオンであり、 Cu^{2+} と Cu^+ の酸化還元サイクルによりスーパーオキシドを不均化する。亜鉛イオンはタンパクの構造を維持するためのもので、活性には必要ない。ミトコンドリアに存在するSODは活性中心にマンガンを含み、呼吸にともない生成してしまうスーパーオキシドを消去している。Mn-SODを欠損したマウスは生後まもなく死亡してしまうことが知られている²。

2.2 過酸化水素消去酵素

過酸化水素に紫外線を当てると酸素-酸素結合が切断され、もっとも生体成分傷害性の高い $\cdot\text{OH}$ を生成する($\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\cdot\text{OH}$)。また、 Fe^{2+} や Cu^+ のような還元型の金属イオンによって、フェントン反応($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$)とよばれる反応が起こり、これによってもやはり $\cdot\text{OH}$ が生成する。したがって、生体は過酸化水素を安全に分解する必要がある。

過酸化水素を消去する酵素であるカタラーゼは、古くからよく知られている酵素である。カタラーゼは活性部位にヘム鉄を含み、 $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ のように過酸化水素を不均化して安全な酸素と水にする。特に肝臓、腎臓、赤血球に多く存在している。子ども向けの実験で、レバーにオキシドールをかけると酸素の泡が発生するというものがあるが、これはカタラーゼによる反応である。SODはスーパーオキシドを消去するが、その際に過酸化水素が生成してしまう。したがって、カタラーゼとSODが協同的に働くことにより、活性酸素から生体を防御している。

グルタチオンペルオキシダーゼはカタラーゼとは異なるメカニズムで過酸化水素を消去する。グルタチオン(GSH)はそれ自身が抗酸化物質でもあるが、グルタチオンペルオキシダーゼはGSHを用いて過酸化水素を消去する酵素である。これは活性部位にセレンを含む珍しいタンパク質であり、 $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{GS-SG}$ という反応を触媒する。カタラーゼと異なるグルタチオンペルオキシダーゼの特徴として、過酸化水素のみならず過酸化脂質(LOOH)も消去できるという点がある。

3. 抗酸化物質

抗酸化物質とは、酸素が関わる酸化反応を抑える物質のことであるが、狭義には活性酸素を消去する低分

子化合物のことをさす。活性酸素は主として酸化反応により生体に害を及ぼすため、抗酸化物質は還元剤として作用することが多い。すなわち、抗酸化物質は活性酸素を還元して無害なものにすると同時に、自らは酸化されてしまう。

3.1 天然に存在する抗酸化物質

天然には抗酸化作用を有する低分子化合物が数多く存在する。生体はこれらを生合成したり、食物から取り込むことによって、活性酸素による酸化傷害から生体を防御している。

天然に存在する抗酸化物質としてもっともよく知られているのがアスコルビン酸(ビタミンC)である。アスコルビン酸は、活性酸素に電子を1つ渡すと自らはラジカルとなるが、このラジカルはFig. 3に示すように共鳴により安定化される。このようなラジカルの安定化が、ほかの分子を次々とラジカルにしていくような連鎖反応を防ぐとともに、自らは不均化してデヒドロアスコルビン酸となる。このような抗酸化作用からアスコルビン酸は食品添加物として広く使用されている。

α -トコフェロール(ビタミンE)もまた抗酸化作用を示すことが知られている。アスコルビン酸は水溶性が高いのに対し、 α -トコフェロールは脂溶性が高いため生体膜などの疎水性部分に分布し、その周辺で発生したラジカルを効率よく消去することができる。 α -トコフェロールは脂質ペルオキシラジカル($\text{LOO}\cdot$)のようなラジカルを1電子還元すると、自らはラジカルとなるが、Fig. 4のようにやはり共鳴によりラジカルが非局在化して安定化される。さらに α -トコフェロールから生じたラジカルはもう1分子の脂質ペルオキシラジカルと反応して非ラジカルとなる。 α -トコフェロールと同じようにフェノール性水酸基を活性部位とする抗酸化物質にはほかに、緑茶に含まれるカテキン、赤ワインに含まれるレスベラトロール、胡麻に含まれるセサモールなどが知られている(Fig. 5)。カテキンやレスベラトロールのように複数のフェノール性水酸基を有するものは、ポリフェノールとしてよく知られている。

その他の天然抗酸化物質として、2.2で示したグルタチオン(GSH)があげられる。これは細胞内での酸化還元状態の維持に大きくかかわっており、チオール基(-SH)が活性部位である。また、痛風の原因物質として知られる尿酸にも抗酸化作用があることが明らかとなっており、ヒトにおける尿酸の生理的意義が近年注目されている。

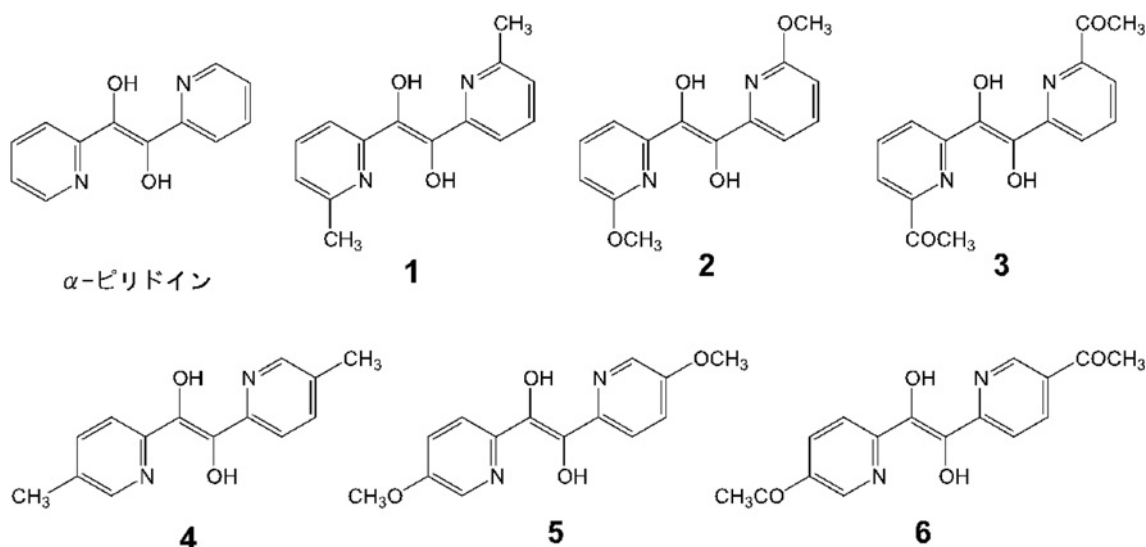
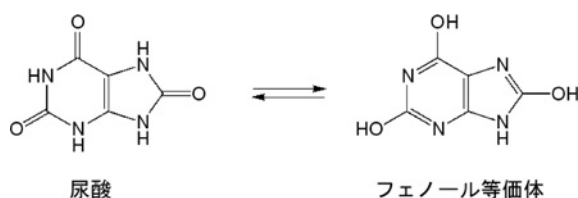
Fig. 6 α -ピリドイン誘導体

Fig. 7 尿酸の互変異性

状, 日常生活動作障害, 機能障害の改善とされており, 脳における虚血再灌流時に生成する活性酸素を消去し, 脳の酸化傷害を防ぐ脳保護薬として使われている³. このように抗酸化剤 (ラジカル消去剤) は医薬品としての利用の可能性を有している.

アスコルビン酸の抗酸化作用は **Fig. 3** のようなメカニズムであるが, この作用にはアスコルビン酸のエンジオール構造 (HO-C=C-OH という部分構造) が重要である. そこで, このようなエンジオール構造を有する化合物として α -ピリドインの抗酸化作用が研究されている (**Fig. 6**)⁴. この化合物は, ピリジン環に置換基を導入することによりさまざまな誘導体を創出することができ, 置換基の種類により酸化還元電位をコントロールすることができる. **Fig. 6** に示す α -ピリドイン誘導体 **1**~**6** はいずれもラジカル消去活性を有しており, 特に **4** と **5** はアスコルビン酸の 10 倍近い活性を有していることが明らかとなった. これは, それぞれパラ位の CH₃-基および CH₃O-基からの電子供与によりエンジオール部位の電子密度が上昇したため, ラジカル消去能が高まったことによると考えられる. また, これらの α -ピリドイン誘導体は脂質過酸化抑制効果も示した. さらに, 培養細胞に酸化ス

トレスをかけると細胞死が起こるが, α -ピリドイン誘導体を添加したところ, その細胞死が抑制されることも明らかとなった⁵.

α -トコフェロールのようなフェノール性水酸基を有する化合物が抗酸化活性をもつことを前項で述べたが, フェノール性化合物を医薬品にするには問題がある. フェノール性化合物が生体内で代謝されるとキノン体となり, それが生体高分子と反応することで毒性発現につながる可能性があるからである.

尿酸に抗酸化作用があることは述べたが, 尿酸の互変異性を考えると, **Fig. 7** のように尿酸にはフェノール性水酸基を有する等価構造があり, これが抗酸化作用を示す理由ではないかと考えられる. 抗酸化活性発現部位を明らかにするために, 尿酸の構造を単純化することにより, **Fig. 8** に示すようなさまざまな尿酸類縁体 **7**~**12** がデザイン・合成された⁶. これらのラジカル消去活性を調べたところ, いずれも尿酸よりも高い活性を有していたことから, 抗酸化活性には尿酸の構造に含まれる O 原子と N 原子のすべてが必須というわけではないことが明らかとなった. 特に **7**, **8**, **10** はともに高い脂質過酸化抑制効果, 細胞内酸化ストレス抑制効果を示し, かつ細胞毒性も見られなかったことから, 抗酸化剤の有望なリード化合物となることが示唆される.

最後に, 近年注目を集めている抗酸化物質を紹介する. それはこの世でもっとも小さい分子である水素 (H₂) である⁷. H₂ の水への溶解度は 1 気圧で 0.8 mM 程度であり, 生体内で作用を発揮するのに十分な濃度となりえる. また H₂ は, 活性酸素の中でもっとも生体傷害性の強い \cdot OH を選択的に消去する. さら

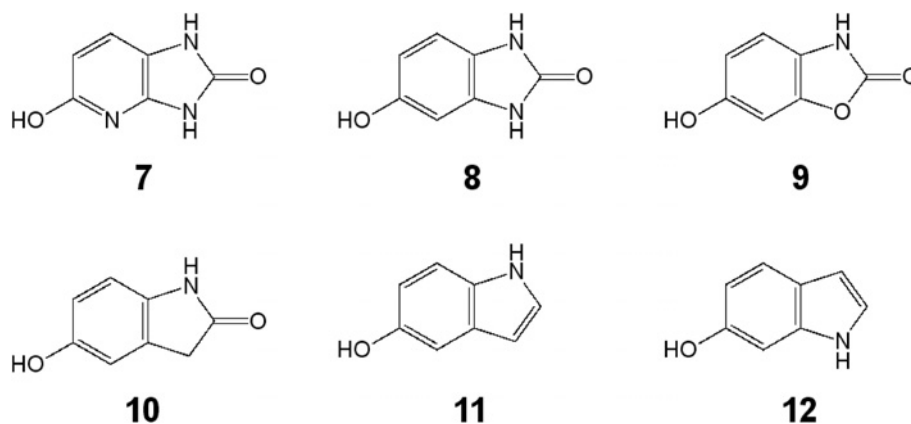


Fig. 8 尿酸の構造を単純化した尿酸類縁体

に、アスコルビン酸は水溶性、 α -トコフェロールは脂溶性であり、それぞれはたらく場所が限られるのに対し、 H_2 は水溶性でも脂溶性でもあるため、細胞内のあらゆる場所で作用することができる。現在、 H_2 はさまざまな病態モデル動物に効果的であることが次々と報告されている。また臨床試験も開始されており、今後のさらなる発展が期待される。

4. まとめ

生体が酸素を利用して生きていく以上、活性酸素の生成は避けられないことである。そのため、生体は活性酸素を消去するシステムを備えているが、それでもやはり老化や疾病を完全に防ぐことはできない。活性酸素を消去する天然抗酸化物質をサプリメントなどの形で摂取することは、現代人にとって珍しいことではないが、それで本当に老化が抑えられたり、病気にかかりにくくなるかどうかについては疑問が残る。さまざまな疾病の要因として活性酸素があることは示されているものの、抗酸化物質によって活性酸素を積極的に消去することで治療につなげようとする試みはいまだに成功していない。しかしながら、新しいタイプの抗酸化物質の開発は続けられており、抗酸化物質が医療に用いられる日が来ることが期待される。

文 献

1. Witztum JL, Steinberg D: Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88: 1785-1792.
2. Shimizu T, Nojiri H, Kawakami S, et al.: Model mice for tissue-specific deletion of the manganese superoxide dismutase gene. *Geriatr Gerontol Int* 2010; 10: S70-79.
3. 渡辺俊明, 田中正彦, 渡邊和俊ほか: 脳保護剤(フリーラジカル消去剤)エダラボンの研究開発. *YAKUGAKU ZASSHI* 2004; 124: 99-111.
4. Hatanaka M, Takahashi K, Nakamura S, et al.: Preparation and antioxidant activity of α -pyridoin and its derivatives. *Bioorg Med Chem* 2005; 13: 6763-6770.
5. Hatanaka M, Nishizawa C, Kakinoki T, et al.: 2,2'-Pyridoin derivatives protect HL-60 cells against oxidative stress. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 5290-5293.
6. Yasuda D, Takahashi K, Kakinoki T, et al.: Synthesis, radical scavenging activity and structure-activity relationship of uric acid analogs. *Med Chem Commun* 2013; 4: 527-529.
7. Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al.: Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nature Med* 2007; 13: 688-694.

(受付: 2013年2月19日)

(受理: 2013年3月5日)