

特集

老化に関連する活性酸素の消去の最近の進展

—カロテノイドによるペルオキシナイトライトの消去を中心に—

衛藤 英男 静岡大学

1. はじめに

生体は常に酸化的環境にあり、様々な活性酸素が産生されている。例えば、呼吸により取り込まれた酸素は、肺から各細胞に到達し、ミトコンドリアの電子伝達系でエネルギーと水に変換されるが、その過程でも副産物として活性酸素が産生される。好中球やマクロファージから産生された活性酸素は病原体を死滅させる。しかし、活性酸素はそれ自身の高い反応性のため、生体自体に酸化障害を引き起こす二面性を持った存在である。だが、生体は過剰産生された活性酸素消去メカニズムを持ち、効率よく消去し、生体障害を防いでいる。

著者らの行ってきたカロテノイドによる、活性酸素の1種のペルオキシナイトライトの消去機構解明の研究を中心に紹介する。⁽¹⁾

2. 活性酸素とは

体内で活性化された酸素およびその関連分子の総称を活性酸素と言い、空気中の酸素は安全だが、これらは不安定で様々な物質と反応しやすい性質をもっている。⁽²⁾ 通常、三重項酸素(空気中の酸素)が励起してできる一重項酸素(1O_2)、酸素が一電子還元されたスーパーオキシド(O_2^-)、スーパーオキシドが不均化して生じた2電子還元種である過酸化水素(H_2O_2)、過酸化水素より生成するヒドロキシラジカル($HO\cdot$)の4つを指す。広義では、生体での反応で生じるペルオキシラジカル、アルコキシラジカル、ヒドロペルオキシド(過酸化脂質)、一酸化窒素、二酸化窒素やスーパーオキシドと一酸化窒素が反応してできるペルオキシナイトライトも加わる。

3. 活性酸素の一つ、ペルオキシナイトライトの生体中の産生

1987年に、Moncadaらが血管を弛緩させる物質として血管内皮中から一酸化窒素(NO)を発見し、生体中でNOが産生されていることを明らかにした。NOは、NO合成酵素(NOS)によりL-アルギニンから産生される。NOは、様々な生理機能を有しており、体の広範囲に発現されることが報告されている。NOSには3種のアイソザイムが存在することが知られているが、特に誘導型NOS(iNOS)はNOの過剰生成を引き起こすことが報告されており、リポポリサッカライドなどの菌体成分やインターフェロンガンマーなどの炎症性サイトカインの刺激により誘導される。iNOSは、血管内皮細胞に

存在する内皮性NOS(eNOS)に比べ、NO生成濃度は1,000倍近くにもなり、生理機能よりも病態形成に働く。1990年に、Beckmanらによりスーパーオキシド(O_2^-)とNOの反応生成物としてペルオキシナイトライト($ONOO^-$)が産生されることが報告された。ペルオキシナイトライトは病理因子を増大させる。ペルオキシナイトライトはヒドロキシラジカル($HO\cdot$)に匹敵する酸化力を有する。加えて、半減期が長い。そのため、Beckmanらの報告以来、抗酸化機構など多くの研究がなされてきた。

ペルオキシナイトライトは、タンパク質、芳香族アミノ酸のニトロ化・ヒドロキシル化、DNAの断裂、脂質の過酸化、など多くの生体傷害を引き起こす。さらに、生体に豊富に存在する二酸化炭素と反応し、さらに高い反応性を示すことが報告されている。

4. 生体内抗酸化物質による活性酸素の消去

生体内では、活性酸素を酵素(スーパーオキシダーゼ、デスマターゼ、カタラーゼ他)によって消去し、生体障害を防いでいる。また、生体内には様々な低分子抗酸化物質が存在し、フリーラジカルから生体分子の保護に働いている。この消去メカニズムは非常に複雑であり、相互作用をすることで効果的な抗酸化機構を発現させている。低分子抗酸化物質の生体内分布は細胞内外にあり、脂溶性画分および水溶性画分に大別できる。水溶性抗酸化物質では、アスコルビン酸(ビタミンC)とグルタチオンが、脂溶性抗酸化物質では α -トコフェロール(ビタミンE)が重要である。

5. 水溶性の抗酸化物質

活性酸素は生体中の水相で産生される。これに対して抗酸化能を発揮するのはアスコルビン酸とチオール化合物であると考えられる。

- アスコルビン酸：
高い還元性を持ち、各種ラジカル種に対してプロトンラジカル($H\cdot$)を与え、電子供与体として働くことで抗酸化に寄与する。
- グルタチオン：
構造中のメルカプト基(SH基)よりプロトンラジカルを与えることで、各種ラジカル種の消去に寄与する。他に、シ

ステインおよびアルブミンがある。

6. 脂溶性の抗酸化物質

水相で産生した活性酸素は、LDLの過酸化、脂質の過酸化に関与し深刻な問題である。脂質画分には脂溶性の抗酸化物質、トコフェロール、カロテノイド、ユビキノロンが主な脂溶性抗酸化物質である。

- α -トコフェロール：
プロトンラジカルを脂質ペルオキシラジカルに与えることで消去する。この際に生じる α -トコフェロキシラジカルはラジカルを局在化することにより安定に存在する。 α -トコフェロキシラジカルはさらにもう一分子のLOO \cdot を消去することができ、2電子酸化産物として α -トコフェロキノンを生成する。
- カロテノイド：
リコピンや β -カロテンのような炭化水素から成るカロテンと環状にカルボニル基やヒドロキシル基を持つキサントフィルに分類できる。極性によって分布は異なり、様々な臓器に存在している。生体におけるカロテノイドの大きな抗酸化能のひとつは一重項酸素の消去である。一重項酸素から励起エネルギーを受け取り、酸素を安定な基底状態の三重項状態に戻すとともに、カロテノイドが受け取ったエネルギーはポリエン(共役二重結合)の振動によって熱として放出して消去している。優位な一重項酸素の消去活性を示すには、9個以上の共役二重結合を持つことが必要である。

7. 各種カロテノイドとペルオキシナイトライドの反応

1997年 Kikugawaらは、 β -カロテンがペルオキシナイトライドと有機溶媒中で反応することをUVスペクトルの経時変化で観察している。また、1998年 Koppenolらはゼアキサンチンとの反応をリポソーム系により報告している。反応は自動酸化に類似して二重結合の異性化が起こることを提案している。しかしながら、カロテノイドとの反応の詳細については解明されていない。著者らカロテノイドとの反応について検討した。⁽³⁾

- β -カロテン：
1997年 Kikugawaらは、ペルオキシナイトライドとの反応が有機溶媒中で速やかに起こることを報告している。しかし、反応生成物は報告されていない。著者らは、反応生成

物を調べた結果、シス化やアポカロテノイドの生成以外に、14'-S-シス-15'-ニトロ- β -カロテンと10'-S-シス-11'-シス-11'-ニトロ- β -カロテンを得た。

- リコピン：
シス化したものとアポリコペナルが得られた。ニトロ化したリコピンは得られなかった。
- カプサンチン：
14-S-シス-15-ニトロカプサンチンと12-ニトロカプサンチンが得られた。
- ルテイン：
14'-S-シス-15'-ニトロルテイン、14-S-シス-15-ニトロルテインとルテイン-6H-1, 2-オキサジンが得られた。
- アスタキサンチン：
14'-S-シス-15'-ニトロアスタキサンチンと10-S-シス-11'-シス-11'-ニトロアスタキサンチンが得られた。
- フコキサンチン：
14-シス-15-ニトロフコキサンチン、11-シス-11-ニトロフコキサンチンおよび14-シス-9'-シス-15-ニトロフコキサンチンが得られた。
- レチノール：
レチナル、13-アポー β -カロテン、13-シス-14-ニトロレチノール、13-トランス-14-ニトロレチノール、11, 15-エポキシレチノール、11, 14-エポキシレチノールが得られた。

8. カロテノイド類による活性酸素消去の化学機構

活性酸素をカロテノイド類は物理的に消去することは古くから知られていた。⁽⁴⁾特に、カロテノイドのポリエンによるエ

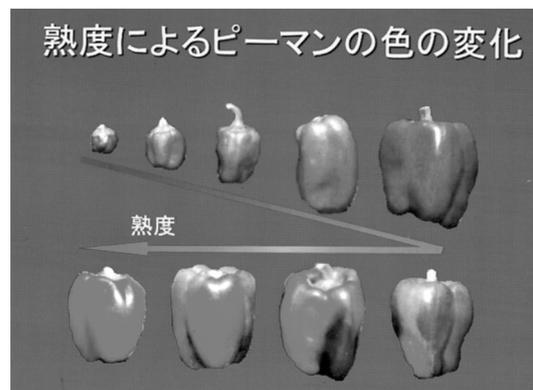


図1：ピーマンの熟成による色の変化(緑から赤)

表1：成熟に伴う赤ピーマンの各種カロテノイド含量の変化(mg/g湿重量)

赤ピーマン	未熟	←————→		成熟
	緑	緑	ピンク	赤
β -カロテン	8.0	12.0	40.0	107.7
ルテイン	8.0	12.0	—	—
ピオラキサンチン	5.0	10.9	15.9	42.2
ネオキサンチン	2.0	4.0	4.0	—
カプサンチン	—	—	43.0	324.7

表2：成熟に伴うトマト中の各種カロテノイド含量の変化(mg/g 湿重量)

トマト	未熟		←—————→			成熟
β-カロテン	1.2	1.8	2.2	2.4	3.0	2.5
リコピン	—	0.4	0.6	9.0	22.3	82.8



図2：トマト

エネルギーが一重項酸素の熱エネルギーを奪うことによる。また、カロテノイドは不飽和脂肪酸が一重項酸素と反応したあとにさらなる反応で生成するアルコキシラジカル(LO \cdot)やペルオキシラジカル(LOO \cdot)の反応の進行を未然に防ぐ予防的抗酸化剤ともいえる。それに加えて、最近の研究から一重項酸素の消去だけではなく活性はポリフェノール類やアスコルビン酸と比べると非常に弱いが、化学反応によるスーパーオキシドアニオンラジカルやヒドロキシラジカルの消去が明らかになってきた。⁽⁵⁾ 活性酸素消去の1つは、カロテノイドの酸化分解によってアポカロテノイドが生成することで活性酸素を取り込む機構である。2つ目は、ペルオキシナイトライトとの反応で明らかになったような、チロシンのニトロ化をカロテノイドそのものがニトロ化することで防いでいる機構である。この反応は、β-カロテン、ルテイン、ゼアキサンチン、カプサンチンおよびフコキサンチンで起こった。このことは、カロテノイド類はペルオキシナイトライトや二酸化ニトロラジカルがチロシンのようなフェノール類の反応より早く自身がニトロ化することで防いでいる可能性を示唆している。

9. ヒトでのカロテノイドの吸収、代謝、体内分布

ヒトの日常摂取する食物の中にはおよそ50種のカロテノイドが含まれ、血液中には食物から吸収された20種類あまりのカロテノイドが存在する。⁽⁶⁾ その中でもβ-カロテン、α-カロテン、リコピン、ルテイン、ゼアキサンチンおよびβ-クリプトキサンチンの6種が主成分であり、これらで血液中のカロテノイドの90%以上を占める。また、微量成分であるがリコピン、ルテイン、ゼアキサンチンの酸化代謝物も存在する。

食物から摂取されたカロテノイドは小腸で吸収される。多くのキサントフィル類は食物中では脂肪酸エステルとして存在するが腸管内でリパーゼなどの酵素により加水分解され遊離のカロテノイドとして吸収される。また、β-カロテンなどプロビタミンA活性を持つカロテノイドの一部は小腸粘膜でβ-カロテン-15,15'-ジオキシゲナーゼによりレチナールに変換され、さらに還元されビタミンAになり各組織に運



図3：カロテノイドを含む野菜類

ばれる。野菜や果物中のカロテノイドは繊維質などさまざまなマトリクスに包まれるので生のままではカロテノイドの吸収率は低く10%未満と言われている。しかし、加熱調理すると上昇し、特に油で調理した物の吸収率は50%程度になる。

小腸から吸収されたカロテノイドは血液中のリポタンパク質(カイロミクロン)に取り込まれ、リンパ管から血中を経て、一部は各組織に分配されながら肝臓へ輸送される。肝臓中のカロテノイドは超低密度リポタンパク質(VLDL)により血液中に再放出される。β-カロテンやリコピンなどのカロテン類は非極性であるのでVLDLの中心部に、ルテインなどのキサントフィル類は極性基を持つのでVLDLの表面に存在する。このため、キサントフィル類は他の組織に移行されやすいと考えられる。カロテノイドは血漿中に存在する各種リポタンパク質にも存在している。赤血球にはキサントフィル類がカロテン類より多く存在することも明らかになった。また、ヒトの体内では肝臓、副腎、睾丸、卵巣、皮膚、眼、脳、肺などの臓器や脂肪組織などに広く分布している。表皮や皮下組織にはルテインやゼアキサンチンなどが脂肪酸エステル体として存在しており、光、特にUV-AやUV-Bに対する防御や皮膚表面で光増感反応により発生する一重項酸素の消去をしている。脳には、β-クリプトキサンチン、ルテイン、ゼアキサンチンが含まれていることも分かった。眼は紫外線による活性酸素のダメージを最も受けやすい器官である。網膜の黄斑にはルテインとゼアキサンチンが存在し網膜を光酸化から保護している。前立腺には、リコピンが特に多く蓄積しており前立腺がんの予防と進行の抑制に効果があると考えられている。

10. 活性酸素の消去に有効なカロテノイド類の摂取

カロテノイドは、生体内で生産されないため食事から摂取しなければならない。多く摂取するには、食品にどのくらい含まれているかを知る必要がある。表1と表2に成熟に伴う

赤ピーマンとトマト中の各種カロテノイド含量の変化 (mg/g 湿重量)を示した。

11. まとめ

老化と活性酸素の関係が明らかになってきたことから、抗酸化化合物による活性酸素の消去機構の研究が進み、各種の抗酸化化合物を食べ物から摂取することが非常に大切であることが分かってきた。しかし、抗酸化化合物のどれが、どのような消去機構を示しているのかを化学的に説明しなければならない。また、それらがどんなところのどんな場所で消去を起しているかも大切である。著者らは、カロテノイドの非常に活性の強いペルオキシナイトライトの消去の化学的な機構の研究を行ってきた。特に、カロテノイドはニトロ化することでチロシンなどのフェノール基を有する生体内物質の酸化を抑制していることが分かった。このような研究が進むことで、今後どのような食品を摂取すればよいか分かり、老化を抑制することが可能になっていくと考えられる。

注

- (1) 大嶽徹朗・衛藤英男 (2003) . 生体における抗酸化機構—ペルオキシナイトライトの消去機構を中心に—. FFI Journal, Vol. 208, 601-614.
- (2) 二木鋭雄・島崎弘幸・美濃真 (1994) . 抗酸化物質、学会出版センター .
- (3) Tsuboi, M., Etoh, H., Kato, K., Nakatugawa, H., Kato, H., Maejima, Y., Matsumoto, G., Mori, H., Hosokawa, M., Miyashita, K., Tokuda, H., Suzuki, N., and Maoka, T. (2011). Nitrocapsanthin and nitrofucoxanthin, respective products of capsanthin and fucoxanthin reaction with peroxynitrite. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 59, 10572-10578.
- (4) 宮下和夫 (監修) (2009). カロテノイドの科学と最新応用技術. シーエムシー出版.
- (5) Maoka, T. (2019). Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of Natural Medicines*, Published On line: 01 OctOber 2019.
- (6) 眞岡孝至 (2007). カロテノイドの多様な生理作用. 食品・臨床栄養, Vol. 2, 3-14.