

# 生物の生存原理と循環代謝制御

井上正康\*

## はじめに

古くより、酸素が生物にとって両刃の剣であることが推測されてきた。特に近年、炎症、虚血再循環病態、動脈硬化、糖尿病など、極めて多彩な疾患に活性酸素やフリーラジカルが関与することを示唆する知見が蓄積され、その医学的重要性が広く認識されるに至った。これに関与する活性酸素やフリーラジカルには、一重項酸素 ( $^1\text{O}_2$ )、スーパーオキシド ( $\text{O}_2^-$ )、過酸化水素 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )、ヒドロキシラジカル ( $\cdot\text{OH}$ )、ヒポハロ酸 ( $\text{HClO}$ )、一酸化窒素 ( $\text{NO}$ )、 $\text{NO}$  と  $\text{O}_2^-$  との反応産物であるパーオキシナイトライト ( $\text{ONOO}^-$ ) などが知られている。これらの分子種は反応性に富む物が多く、状況によっては生体成分や細胞機能を非特異的に傷害して疾患を誘起すると考えられている。本稿では、活性酸素やフリーラジカルが生命機構の維持や病態修飾因子としてどのような素顔を有するかを概論した。

## 細胞障害因子としての $\text{NO}$ と $\text{O}_2^-$

活性酸素の細胞毒性や疾患における意義に関しては多くの書<sup>1,2)</sup>や総説があるので、ここでは重複を避けた。上記の活性酸素種の中で、特に最近注目されている分子はガス状ラジカルである  $\text{NO}$  である。1980年に Furchgott ら<sup>3)</sup>が血管内皮細胞で産生されて平滑筋を弛緩させる内皮依存性弛緩因子 (endothelium derived relaxing factor; EDRF) を、1987年には Moncada ら<sup>4)</sup>がその本体が一酸化窒素 (nitric oxide;  $\text{NO}$ ) である事を報告した。以来、 $\text{NO}$  についての様々な生理活性や代謝調節因子としての機能が明らかにされてきた。1個の酸

素原子と窒素原子よりなる単純な構造の  $\text{NO}$  は、ガスであるために細胞膜脂質二重層を自由に透過してチオール化合物やヘム蛋白と反応する。特に、動脈組織では平滑筋細胞内のグアニル酸シクラーゼを直接活性化して循環動態を制御し、中枢および末梢神経系では神経伝達物質として作用している。これは従来のリガンドと細胞膜受容体の関係に関する古典的概念を根底から揺さぶるものである。本ラジカルは  $\text{O}_2^-$  と拡散律速的速さ ( $K=6.7 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ ) で反応する。この過程で生じるパーオキシナイトライトは、ヒドロキシラジカルを産生したり蛋白質中のチロシン残基をニトロ化するなど、化学的反応性が高いことから、細胞障害の原因となりうることが推察されている。しかし、スーパーオキシドを産生するキサンチンオキシダーゼと  $\text{NO}$  合成酵素を生理的条件下で同時に有する血管内皮細胞が特別な障害を受けることなく長期間生存し続けている事実は、正常な状態では  $\text{ONOO}^-$  の生体毒性がそれほど強くないか、あるいは正常状態ではこれらの反応性産物があまり生じない可能性を示唆している。しかし、両ラジカル同士の反応性が高いことから、同一局所で生じたスーパーオキシドラジカルと  $\text{NO}$  とは瞬時に反応し、 $\text{NO}$  が担っていた多彩な機能が消失する可能性が考えられる。その結果、血液循環や神経伝達をはじめ、 $\text{NO}$  により保証されていた様々な代謝や細胞機能が阻害されることになる。このことの意味するところは極めて重大であり、組織や細胞の死活問題につながりうる。この様に、スーパーオキシドの生体毒性は  $\text{NO}$  との選択的反応性に起因する可能性が高い。もちろん、細胞障害の種類によっては、ヒドロキシラジカルによる遺伝子の塩基修飾や脂質過酸化反応による細胞膜の直接障害など、高反応性の代謝中間体が関与する例

\*大阪市立大学医学部生化学

は少なくないであろう。しかし、化学的反応性の低いスーパーオキシドラジカルが広範な病態を増悪する分子機構を考えるには、同じく多彩な生理機能を有する NO を特異的に消去することによって考える方が自然に思われる。

**生体代謝を制御する活性酸素**

古くより、活性酸素が感染防御の主役を担うことは良く知られている。例えば、病原微生物に対する感染防御に重要な役割を果たすマクロファージ、好中球、あるいはリンパ球などの細胞機能が低下すると感染しやすくなる。培養リンパ球が生体異物や菌体成分などの刺激に対して増殖する際には、培地中にメルカプトエタノールなどのチオール化合物を添加する必要がある。興味深いことに、AIDS 患者ではリンパ球をはじめとする各種細胞のグルタチオン (GSH) が著明に低下し、感染防御反応が正常に起動せず、これが日和見感染症を誘起して致命傷となりうる。

最近、活性酸素が SH 化合物などと相互作用して生体のレドックスを制御することが注目されている。例えば、NF-kB や AP-1 などによる遺伝子の発現制御も細胞内レドックス状態に強く影響される。したがって、生体のレドックス状態を左右する活性酸素やフリーラジカルは、酵素活性や遺伝子発現を制御する生理活性因子でもある可能性が高い。例えば、酸化ストレスによる Mn-SOD の発現誘導、低酸素状態や過酸化水素によるエリスロポエチンの遺伝子発現、排卵や血圧の維持など、複雑な生命現象にも活性酸素が不可欠な生理活性分子として機能していることも判明している。このように、これまでは主に病態増悪因子と考えられてきた活性酸素やフリーラジカルが、正常の細胞機能を制御する生理活性因子としても重要であることが明らかになりつつある。

**NO によるエネルギー代謝制御**

これまでの *in vitro* の実験結果から、NO の寿命は極めて短い (空気中の酸素分圧下では 5~8 秒) と信じられてきた。しかし、生理的な低酸素分圧下ではその寿命が極めて長く (数分~数十分)、虚血ではさらに長時間作用し続けることが明らかになった。このため、生体内の組織や細胞のミトコンドリアでは電子伝達系のシトクロム

C オキシダーゼが強く阻害されてエネルギー代謝 (図 1) <sup>5)</sup> や細胞内 Ca 輸送動態<sup>6)</sup> が影響される。この様な実験事実を基に、筆者らは、NO によるこの可逆的阻害反応が組織細胞局所での酸素分圧変化を時時刻々と検知する分子センサーとしてエネルギー代謝を制御している可能性を提唱している (図 2)。酸素運搬量を規定する血液循環が、その支配組織におけるエネルギー産生代謝と不可分なものであることを疑う余地は無く、両者が分子レベルで緊密な相互制御作用を有していることは考えてみれば当然のこととも思われる。その作用様式はいずれも NO とヘム蛋白や SH 含有酸素との結合解離による可逆的反応である。NO は、これらの酸素系のみならず、GSH などの生体チオール、スーパーオキシド、あるいは分子状酸素などとも反応し、その活性が大きく左右される。したがって、レドックス制御に関与する抗酸化分子群や活性酸素群は、各種酵素の活性や機能蛋白質の存在状態を直接制御すると同時に、活性酸素分子群のクロストークや NO 代謝を介して間接的にも制御していると考えられる<sup>7)</sup>。本研究分野の歴史は浅く、関係する生命現象が多岐に渡るため、実験系によっては相反する結果や解釈が報告され

**Effect of NO on respiration of mitochondria**

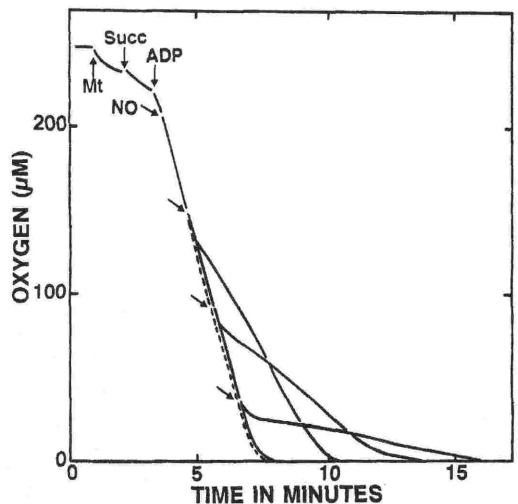


図 1 NO によるミトコンドリアの呼吸制御  
ミトコンドリアの state 3 呼吸 (ATP 合成) は微量 (~2 µM) の NO により酸素分圧依存性に抑制される。その強度は生理的低酸素分圧下でより顕著である。

Oxygen Tension Regulates NO Functions *in vivo*

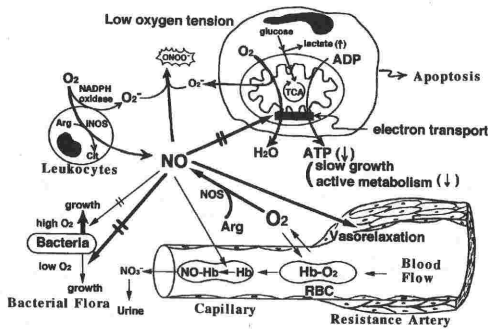


図2 NOによるエネルギー代謝と循環制御  
 cNOSやiNOSにより産生されたNOは循環動態を制御して局所への酸素動員量を制御する。同時に、末梢組織細胞のミトコンドリアにおけるエネルギー産生動態を制御する。特に、iNOSに由来するNOは低酸素空間の腸管内でバクテリアの代謝や増殖を抑制し、感染防御の重責を担う。腫瘍周辺では癌細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを誘起する。オキシヘモグロビンを有する赤血球が近辺にあると、このような阻害作用は失われる。

Effect of NO and oxygen on E.coli respiration

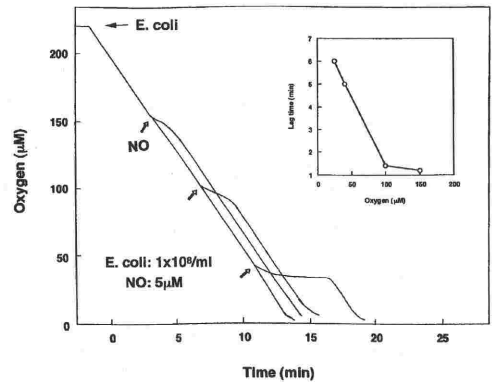


図3 NOによる大腸菌の呼吸抑制  
 ミトコンドリアと同様に、大腸菌の呼吸も微量のNOにより可逆的に阻害される。その阻害強度は低酸素条件ほど強い。

ており、その全体像はなお混迷のさなかにある。今後、活性酸素がレドックス制御を介する生物の生存戦略が新たなシグナル伝達機構との関係で解明されることが期待される。

体内酸素環境とNOの生体防御反応

生物が生きて行くには常に食物を摂取することが不可欠である。この際、食物と一緒に様々な微生物が消化管内に入ってくるため、感染防御反応は全ての動物の最重要機能の1つである。生体では外部から侵入する微生物に対する様々な巧みな感染防御機構が備わっている。特に、胃では強い胃酸によって大半の細菌が死滅する。しかし、その一部は酸で死滅することなく、小腸空間にまで達する。それらは小腸で発達したパイエル板をはじめとする感染防御系によって粘膜内への侵入が阻止され、下流へと排除される。さらに、大腸では酸素分圧が非常に低くなるため、酸素に依存して生きていく偏性好気性菌は大半が排除される。このため、大腸内は嫌気性菌主体の無酸素区画となっている。このように、pH、免疫系、酸素分圧という3つの要素が消化管の基本的な感染防御システムとして備わっている。

上記のごとく、NOは分子状酸素とも反応して速やかに酸化されるので、その寿命と生理活性は局所の酸素濃度に強く依存し、特に低酸素空間では作用が増強する。消化管腔内の酸素分圧は部位により大きく異なる。食物と共に空気が流入する胃では摂食行動に伴って酸素分圧が大きく変化する。一方、大腸では嫌気性菌が生息できる極低酸素空間となっている。一方、胃内腔の低pH環境下ではNOや食品添加物である亜硝酸はチオールと反応してニトロソチオール (RS-NO) を形成する。本複合体はNOを徐放性に放出するリザーバ分子として作用しうが、筆者等はその放出速度がアスコルビン酸やシステインなどの抗酸化分子群により制御されることを明らかにしてきた<sup>8)</sup>。また、NOが大腸菌 (E.coli) の呼吸を可逆的に抑制する事、および本作用が低酸素分圧下で特に強く発現する事も判明した (図3)。図に示すごとく、NOやRS-NOがE.coliの呼吸を濃度依存性に阻害し、その作用が酸素分圧が低い程増強する事が判る。このような酸素濃度依存性はNOの有するあらゆる作用に関して重要な意味を有する。例えば、大腸菌の増殖もNOにより阻害されるが、その阻害作用も酸素濃度に強く影響され、低酸素濃度ほど強く阻害される。この様に、偏性嫌気性菌が大多数をしめる超低酸素濃度大腸管腔内に常在する菌に対し、微量のNOが極めて大きな作用を発揮することが示唆される。腸管に炎症が起こ

ると粘膜の防御機構が脆弱となる。消化管粘膜は細菌の侵入に対する生体防御の最前線であり、粘膜が破綻すると感染の危険が極めて高くなる。しかし、この炎症局所には活性化好中球やマクロファージが集積し、誘導型 NOS (iNOS) が発現し、NO を産生放出することが炎症局所で細菌侵入を阻止していると考えられる。事実、潰瘍性大腸炎やクローン病患者の大腸生検組織では iNOS の活性が上昇し、血中の NO 代謝産物も上昇している。iNOS から放出される過量の NO が細胞障害性に働いている可能性も示唆されているが、これは細菌の侵入を阻止する生体防御反応に伴う不可避的な副作用と考えられる。消化管粘膜には構成型 NOS (cNOS) も豊富に発現しているので、NO が正常の腸内細菌叢を規定する因子としても重要と考えられる。

この様に、スーパーオキシドや NO をはじめとする活性酸素は、病態増悪因子としてのみならず、生物生存の要である血液循環とエネルギー代謝を制御すると同時に、体内局所の酸素分圧特性に応じて見事な生体防御機構を形成している。これらの酸素関連分子群が相互に作用しあうことにより、

ヒトが動き回り、多彩な食物を食べ、多様な環境変化に適応して生きていくための基本的支援体制を構築している<sup>9)</sup>。

## 文 献

- 1) 活性酸素と疾患, 井上正康監訳, (1987) 学会出版センター
- 2) 活性酸素と病態, 井上正康編, (1992) 学会出版センター
- 3) Furchgott RF, Khan MT, Jothianandan D : Comparison of properties of nitric oxide and endothelium-derived relaxing factor. Some cautionary findings. *Nature* 327 : 8-21, 1990
- 4) Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S : Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327(11 June), 524-526, 1987
- 5) Nishikawa M, Sato K, Utsumi K, et al : Oxygen-dependent regulation of ascites tumor cell respiration by nitric oxide. *Cancer Res*, 56 : 4535-4540, 1996
- 6) Takehara Y, Kanno T, Yoshioka T, et al : Oxygen dependent regulation of mitochondrial functions by nitric oxid. *Arch Biochem Biophys*, 323 : 27-32, 1995
- 7) 活性酸素とシグナル伝達, 井上正康編, (1996) 講談社
- 8) Misato Kashiba, Makiko Yamaguchi, Masayasu Inoue : *FEBS Lett* 389 : 149-152, 1996
- 9) 活性酸素と医食同源, 井上正康編, (1996) 共立出版