総 説

活性酸素・フリーラジカルと生体

二 木 鋭 雄

東京大学先端科学技術研究センター

(東京都目黒区駒場 4-6-1, 〒153)

Active Oxygens and Free Radicals in Biology

Etsuo NIKI

Research Center for Advanced Science and Technology,

The University of Tokyo

(4-6-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo, 〒153)

There is now an increasing number of evidence which suggests that active oxygens and free radicals are involved in a progression of a variety of pathological events, cancer and aging. In this review are introduced the formation of various active oxygens and free radicals, their reactions with biological molecules such as lipids, proteins and DNA, the oxidative damage induced by them, and the defense systems *in vivo* against these oxidative damage. It is also briefly mentioned that active oxygens and free radicals are, like oxygen molecule, the double edge sword and can be used in the therapy.

1 はじめに

大気中の酸素分子による有機化合物の酸化反応は我々にとって際立って重要な反応である。呼吸や燃焼もその一例であり、また、この酸化反応により現代の生活に必要な化学品の多くを合成している。いくつかの光化学的酸化反応及び有機金属化合物を用いた酸化反応を除いて、この酸素分子による酸化反応は、通常フリーラジカル連鎖反応により進行する。そのため、我々にとって好ましくない酸化的劣化反応も、時と場合により起こってしまう。たとえば食品の酸敗などについては古くから知られていたが、1940年代後半から1950年代にかけて、Natural Rubber Producers' Research Associationのグループの精力的な研究により、特に不飽和化合物の酸化の基礎と実用的な意味がよく理解されるようになった^{1)~4)}。その後の科学、特に分析手段の進展に伴い、酸素酸化の基礎研究と応用開発がさらに発展していったが、1969年のFridovichとMcCord⁵⁾のスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)の発見を契機として、酸素、特に活性酸素種による生体の酸化的傷害に興味をもたれるようになった。すなわち、食品、油脂、ゴム、プラスチックなどが酸素酸化反応により酸敗、劣化していくのと同様に、生体分子も酸化されていき、それが膜、組織の傷害、さらにはその結果として種々の疾病、発がん(癌)、そして老化にもつながるとする考えである(図-1)。特に1980年代に入り、化学、生化学からの基礎的アプローチ、医学からの臨床的アプローチ、さらにそれに対処するための薬学的アプローチにかかわる研究者の数が急激に増加し、近年最も注目される研究分野の一つになったとさえ言える程である。確かにこの課題はいくつもの分野にまたがり、またちがった多くの角度からの取り組みを必要とする文字通り学際的なものであり、それだけ興味深いものがある。以下にその現況を概観する。

2 活性酸素とフリーラジカル

活性酸素とは、大気中の三重項酸素分子よりも活性が大きく反応性に富み、生体分子を攻撃する酸素種とその類縁化合物の総称であり、活性酸素種(active oxygen species)と言う^{6)~8)}。狭義には、呼吸により取り込まれた酸素分子が4電子還元により代謝される過程で生成するスーパーオキシド、過酸化水素、ヒドロキシルラジカルの3種に、一重項酸素を加えた4つを言うことが多かったが、生体にとり同程度あるいはより重要な意味をもつ他のラジカルなども含めて広義に考えることが最近では多くなっている。代表的なもの、関連するものを表-1に示す。

これら多種の活性酸素のあるものはラジカル(不對電

図-1 フリーラジカルによる生体の傷害

子をもつもの)であり, あるものはラジカルでない(不対電子をもたない)。ラジカルは一般に活性に富むが, 活性が小さい, 安定なラジカル(酸素に不対電子があるラジカル)もある。たとえばビタミンEラジカル, ビタミンCラジカル, セミキノラジカルなどはその例である。

活性酸素種と言ってもその活性は種により大きく異なる。表-1にはアラキドン酸やリノール酸などの高度不飽和脂肪酸及びそのエステルに含まれる, 二つの二重結合にはさまれたメチレン水素(doubly allylic hydrogen)を引き抜く反応の相対的活性をあわせて示した。連鎖的酸化反応の連鎖担体であるペルオキシラジカルに比して, ヒドロキシルラジカル, アルコキシルラジカルが極めて大きな活性をもつことが分かる。一方, スーパーオキシド自身が脂質などから水素を直接引き抜くことは起こりにくいことも読みとれる。チールラジカル, あるいはそれと酸素の反応により生ずるチールペルオキシラジカル($\text{RSOO}\cdot$)の挙動はまだ充分分かっていないが, その反応性が大きいことが最近報告されている⁹⁾。

活性酸素がラジカルであるかそうでないかというのは重要なポイントである。それは一重項酸素やオゾンたとえば脂質の二重結合を速やかに酸化するが(ペルオキシラジカルよりもほぼ1万倍速く二重結合に付加する), その反応が量論的であるのに対して, ラジカル反応では連鎖的に進行するため, それだけ影響が増幅される¹⁰⁾。

3 活性酸素, フリーラジカルの発生

活性酸素やフリーラジカルはどのようにして生成するのであろうか。表-2に示したように, 活性酸素, フリーラジカルは種々の反応により生体内で生成したり, また体外から直接取り込まれる。これらの中でどれが一番重要かということは, 時と場合により異なる。一般に

表-1 活性酸素種と関連化合物

名 称	化 学 式	相対的活性 ^a
(ラジカル)		
ヒドロキシルラジカル	$\text{HO}\cdot$	10^7
アルコキシルラジカル	$\text{LO}\cdot$	10^4
ペルオキシラジカル	$\text{LO}_2\cdot$	1
ビドロペルオキシラジカル	$\text{HO}_2\cdot$	1
スーパーオキシド	$\text{O}_2\cdot$	0
二酸化窒素	NO_2	10^{-1}
一酸化窒素	NO	
チールラジカル	$\text{RS}\cdot$	10^5
(非ラジカル)		
一重項酸素	$^1\text{O}_2$	0
過酸化水素	H_2O_2	0
ヒドロペルオキシド	LOOH	0
次亜塩素酸	HOCl	0
鉄-酸素錯体	$\text{Fe-OO}, \text{Fe=O}$ など	?

^a 二重結合にはさまれたメチレン水素の引き抜き反応の, ペルオキシラジカルを基準とした相対的活性。

は酸素分子の酵素的あるいは非酵素的1電子還元によるスーパーオキシドの産生と, 鉄や銅などの遷移金属によるヒドロペルオキシドの分解が重要と考えられる。さらに, 強い光線, 放射線にあたること, 大気汚染物質や喫煙の影響も忘れられない¹¹⁾。

ではどのような時にこれらの反応が起こるのであろうか? 正常な生理的酵素反応での活性酸素の生成や反応は巧妙にコントロールされているが, たとえば虚血-再かん(灌)流, ストレス, 食細胞の刺激時などに過剰のスーパーオキシドが生成すると考えられている^{12), 13)}。あるいは通常特定のタンパク質により安定化されている鉄や銅イオンがフリーになって過酸化物質を分解し酸素ラジカルを生成することもある¹⁴⁾。後述する生体内の防御システムに欠陥が生じたときなどに活性酸素, フリーラジカルが生成しやすくなるとも考えられる。

4 活性酸素種、フリーラジカルの反応

このようにして生成した活性酸素種やフリーラジカルは種々の生体分子を攻撃する。生体膜を構成する脂質、あるいはリポタンパク中の脂質は標的分子となりやすい。特に二重結合を2個以上有するいわゆる高度不飽和脂質は、二重結合にはさまれたメチレン水素が特にラジカルに対して反応性が大きく、酸化されやすい。シス、シス不飽和化合物からシス、トランス及びトランス、トランス-ヒドロペルオキシドが生成する反応機構(図-2)はよく解明されている¹⁵⁾。二重結合が3個以上となると、ヒドロペルオキシドに加えて環状過酸化物も生成するが、その反応機構、生成物もよく分かっている^{15),16)}。先にも述べたように、一重項酸素は不飽和脂質を量論的に酸化してヒドロペルオキシドを生成するが(ene反応)¹⁷⁾、ラジカルによる脂質過酸化反応は連鎖的に進行することが、赤血球¹⁸⁾、リポタンパク^{19),20)}などについて認められている。膜脂質の酸化による膜の

変性、透過性の異常などが傷害につながるのであろう。

タンパク質も重要な標的分子である^{21),22)}。特に近年、低比重リポタンパク質(LDL)の酸化変性が動脈硬化の発症と深くかかわることが明らかになるにつれ、LDL表面のアポタンパクBの酸化変性が注目されている²³⁾。脂質酸化の二次生成物であるアルデヒドとアポBのリシンの反応によるLDL表面の負電荷の増加がかぎを握ると受け入れられている²⁴⁾。ただ、たとえば脂質と比較して、タンパク質の酸化は定量化が容易でなく、その詳細については不明のことが少なくなく、今後に残された重要な課題である。また、タンパク質の酸化は酵素の不活性化につながり、その生理的影響は大きい。

核酸の酸化も発癌や突然変異との関連で極めて重要である²⁵⁾。活性酸素やフリーラジカルの攻撃により主鎖切断や塩基の修飾が起こる。放射線²⁶⁾やタバコ²⁷⁾の煙などにより主鎖切断が起こることが実験的に認められている。また、ヒドロキシルラジカルとの反応により、チ

ミンからチミングリコール、ヒドロキシメチルウラシルが²⁸⁾、また、グアニンから8-ヒドロキシグアニンが生成することも確認されている²⁹⁾。

5 活性酸素、フリーラジカルによる生体の傷害

図-1に示したように、活性酸素やフリーラジカルが生体分子を攻撃し、その結果として生体膜や組織に傷害が生じ、そしてさらにそれが種々の疾病、発癌、老化につながると考えられている³⁰⁾。たとえば脂質がどのようにして酸化されるかについては素反応レベルでよく理解されているが、ではそれがどうして膜や組織の損傷の原因となり、さらにその結果どのように疾病、発癌、さらには老化につながるのか、その詳細については不明のことが多い。しかし数多くの病態、疾患に活性酸素、フリーラジカルがかかわると言われている³⁰⁾。

最近の話題の一つとしてLDLの酸化変性による動脈

表-2 活性酸素種の生成反応

(1) ミトコンドリアでの酸素分子の4電子還元

(2) 酸素分子の1電子還元

(3) 酸素分子の2電子還元

(4) 過酸化水素、ヒドロペルオキシドの金属による分解

(5) 次亜塩素酸の生成と反応

(6) 光、放射線、電子線の照射

(7) 大気汚染物質、タバコの煙、タールなどの取り込み

- 1: ペルオキシラジカルによる水素引き抜き反応
 2: ペルオキシラジカルの分子内付加反応
 3: ペルオキシラジカルからの酸素分子脱離反応
- 図-2 高度不飽和脂質の酸化反応スキーム

硬化の発症があげられよう。コレステロールの運び屋である LDL が酸化変性を受けると、コレステロールの取り込みをコントロールしている LDL レセプターに認識されなくなり、代わりにマクロファージのスカベンジャーレセプターによりとりこまれ、その結果として動脈内皮に泡沫細胞がたまり、動脈硬化にいたるというものである²³⁾。その場合にアポタンパク B の変性が重要であることが分かり、さらにスカベンジャーレセプターについても説明が進んでいる³¹⁾。しかし、LDL の酸化変性の詳細、特に何がどう、どれだけ酸化されると LDL レセプターに代わってスカベンジャーレセプターに認識されるようになるのか、まだよく分からない。すなわち、アポタンパク B の変性が重要なのか、もしそうなら、それは脂質の酸化を介するのかそうでないのか、タンパク質のどこが、どのように、どれだけ変性されるのがクリティカルなのかを明らかにすることが必要である。

6 生体の防御システム

このような活性酸素・フリーラジカルの毒性に対して生体は極めてすぐれた防御システムを構築している³²⁾。それ故にヒトをはじめとする好気性生物は、食品、油脂、ゴム、プラスチックなどと比べて格段に長い寿命をもっていると言える。好気性生物のこの防御システムを表-3 と図-3 にまとめた。

生体は、(1) 活性酸素・フリーラジカルの生成を抑え、(2) それでも生成してくるものは速やかに捕そく(捉)、消去して安定化し、さらに(3) 生じた傷害は修復し、また再生する。これらに加えて第4番目の機能として、必

表-3 機能から見た生体の酸化障害に対する防御システム

I 予防的抗酸化物	
カタラーゼ	過酸化水素の分解
グルタチオンペルオキシダーゼ	過酸化水素、脂肪酸ヒドロペルオキシドの分解
グルタチオン-S-トランスフェラーゼ	脂質ヒドロペルオキシドの分解
リン脂質ヒドロペルオキシド	リン脂質ヒドロペルオキシドの分解
グルタチオンペルオキシダーゼ	過酸化水素、脂質ヒドロペルオキシドの分解
ペルオキシダーゼ	過酸化水素、脂質ヒドロペルオキシドの分解
トランスフェリン、フェリチン、ラクトフェリン	鉄イオンの安定化
セルロプラスミン	銅イオンの安定化、鉄イオンの酸化
スーパーオキシドディスムターゼ (SOD)	スーパーオキシドの不均化
カロテノイド	一重項酸素の消去
II ラジカル捕捉型抗酸化物	
水溶性	
ビタミン C、尿酸、ビリルビン	水溶性ラジカルの捕捉、ビタミン E など脂溶性ラジカル捕捉型抗酸化物の再生
脂溶性	
ビタミン E、ユビキノール、カロテノイド	脂溶性ラジカル及び水溶性ラジカルの捕捉安定化
III 修復・再生機能	
リパーゼ、プロテアーゼ、DNA 修復酵素などによる損傷した膜脂質、タンパク、遺伝子の修復	
アシルトランスフェラーゼなどによる再生	
IV 適応機能	
必要に応じて抗酸化酵素などを産生し、特定の場面に遊走させる	

要に応じて生体内で特定の抗酸化酵素、抗酸化物の産生を誘導し、そして必要な場に遊走させるという適応機能もある。第1番目と2番目のものは、人工的にそれぞれが食品、油脂、ゴム、プラスチックに付与することができるが、3番目と4番目のものは生体だけがもっているすぐれた機能である。

しかし、このような優れた防御システムも完全ではなく、また時にはその機能が低下することもある。これを補う目的で、さらにはより優れた効果を求めて予防、治療のための新規薬剤の開発も盛んに行われている³³⁾。天然の植物からの分離³⁴⁾、和漢薬³⁵⁾なども興味もたれている。

7 活性酸素、フリーラジカルの利用

活性酸素、フリーラジカルは生体にとって悪い作用ばかりをもたらすのではなく、時にはそれをうまく利用している。細菌感染など有害な病原体が侵入してきた際に、好中球やマクロファージなどが活性酸素を産生して殺菌作用を行うのは、生体のもつ重要な防御機能の一つ

図-3 生体の酸素毒性に対する防御システム

である。放射線やオゾンは医療器具の殺菌や食品の保存にも実用的に用いられている。

活性酸素やフリーラジカルは病気の治療にもよく用いられている。特によく知られているのは抗癌剤で、マイトマイシンC、アドリアマイシン、ブレオマイシンなどがその例である。癌細胞の近くでフリーラジカルを発生させ、それで癌細胞を殺す。増感剤とレーザー光線による治療も同じである。

8 将来の展望と課題

上に述べてきたように、多くの研究者の努力により近年活性酸素、フリーラジカルの生体への影響やその抑制について多くの知見が得られてきた。しかし、たとえば図-1の各ステップの詳細については、数多くの研究報告が出されるにも拘らず、いまだ不明のところが少なくない。生体というものの複雑さの故に、*in vivo*の実験だけではなかなか解明できないことが多い。一方、*in vitro*の実験では、あるモデル系についてはよく理解できても、それからどこまで一般化し、特に*in vivo*にあてはめることができるか難しい問題である。いずれの系も必要なものであるが、それぞれの実験が何を目的としているのか、どこまでその実験から言えるのかについて

充分認識することが大切であろう。

生体における活性酸素、フリーラジカルの反応による傷害を抑えるために、あるいは逆にそれをうまく利用するためにも、その詳細を解明し、正しく理解することが必須である。今後の発展が期待される。

〔平成4年(1992年)4月1日受理〕

文 献

- 1) L. Bateman, G. Gee, *Trans. Faraday Soc.*, **47**, 155 (1951)
- 2) W.O. Lundberg, ed., "Autoxidation and Antioxidants", Vol. I, II, Wiley, New York (1962)
- 3) G. Scott, "Atmospheric Oxidation and Antioxidants", Elsevier, Amsterdam (1965)
- 4) N.M. Emanuel, ed., "The Oxidation of Hydrocarbons in the Liquid Phase", Pergamon, London (1965)
- 5) J.M. McCord, I. Fridovich, *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049 (1969)
- 6) 二木鋭雄, 島崎弘幸編集, "活性酸素", 医歯薬出版(1987)
- 7) 中野 稔, 浅田浩二, 大柳善彦編, "活性酸素", 共立出版(1989)
- 8) 日本化学会編, "活性酸素種の化学", 学会出版センター(1990)
- 9) C. Schoneich, V. Dillinger, F. von Bruchhausen, K.-D. Asmus, *Arch. Biochem. Biophys.*, **292**, 456 (1992)
- 10) E. Niki, Y. Yamamoto, E. Komuro, K. Sato, *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, 201 S (1991)
- 11) 嵯峨井 勝, "過酸化脂質と栄養", 五十嵐 脩, 金田尚志, 福場博保, 美濃 真編集, 光生館(1986) p. 257
- 12) 大柳善彦, "スーパーオキシドと医学", 共立出版(1981)
- 13) 浅田浩二, "活性酸素" (二木鋭雄, 島崎弘幸編), 医歯薬出版(1987) p. 33
- 14) H.C. Sutton, C.C. Winterbourn, *Free Rad. Biol. Med.*, **6**, 53 (1989)
- 15) N.A. Porter, *Acc. Chem. Res.*, **19**, 262 (1986)
- 16) 松下雪郎, 栄養と食糧, **35**, 357 (1982)
- 17) J.R. Kanofsky, *Chem.-Biol. Int.*, **70**, 1 (1989)
- 18) Y. Yamamoto, E. Niki, J. Eguchi, Y. Kamiya, H. Shimasaki, *Biochim. Biophys. Acta*, **819**, 29 (1985)
- 19) K. Sato, E. Niki, H. Shimasaki, *Arch. Biochem. Biophys.*, **279**, 402 (1990)
- 20) 保田 浩, 三木正之, 荻原 亨, 美濃 真, フリーラジカルの臨床, **6**, 89, (1991)
- 21) E.R. Stadtman, C.N. Oliver, *J. Biol. Chem.*, **260**, 2005 (1991)
- 22) S.P. Wolff, A. Garner, R.T. Dean, *Trends Biochem. Sci.*, **11**, 27 (1986)
- 23) D. Steinberg, *Circulation*, **84**, 1420 (1991)
- 24) H. Esterbauer, R.J. Schaur, H. Zollner, *Free Rad. Biol. Med.*, **11**, 81 (1991)
- 25) 児玉昌彦, 中川 勉, 金子元久, 木村晃之, 永田親義, フリーラジカルの臨床, **2**, 51 (1987)

- 26) 小沢俊彦, 蛋白質核酸酵素, 33, 2811 (1988)
27) T. Nakayama, M. Kaneko, M. Kodama, *Nature*, 314, 462 (1985)
28) S.V. Janovich, M.G. Simic, *J. Am. Chem. Soc.*, 108, 5968 (1986)
29) 葛西 宏, 活性酸素・フリーラジカル, 2, 322 (1991)
30) 吉川敏一, 内藤祐二, 近藤元治, “活性酸素種の化学”, (日本化学会編) 学会出版センター (1990) p. 163
31) T. Kodama, M. Freeman, L. Rohrer, J. Zebrecky, P. Matsudaira, M. Krieger, *Nature*, 343, 6258 (1990)
32) E. Niki, *Oxidative Damage and Repair*, K.J.A. Davies, ed., Pergamon Press, Oxford (1991) p. 57
33) 福沢健治, フリーラジカルの臨床, 3, 42 (1988)
34) 中谷延二, 日本食品工業学会誌, 37, 569 (1990)
35) 奥田拓男, 活性酸素・フリーラジカル, 2, 197 (1991)

《新刊図書案内》

書 名 : “Industrial Application of Single Cell Oils”
編 集 者 : David J. Kyle & Colin Ratledge
発 行 所 : The American Oil Chemists' Society, P.O. Box 3489,
(申込先) Champaign, IL 61826-3489 USA
(telefax : 217 351 8091; telex 4938651 AOCs UI)
発 行 年 : 1992年
書 式 : A5判, 300p. p.
価 格 : U.S. \$75 (\$55 for AOCs members)
送 料 : 船 便 \$15.00
航空便 \$25.00