活性酸素 (序論)

中 野 稔

Introduction ; active oxygen species
Minoru Nakano*

1960年, Fridovich らのスーパーオキシドジスムターゼの発見以来, Gay Lussac の時代にすでにその存在が知られていた O_2^- (スーパーオキシド) が, 生体酵素系や薬物の自動酸化などで生じることがつぎつぎと確かめられている。

O_2^- の生成とその反応性に関する研究は, 生物学者, 化学者, 物理学者の間で広く, なおかつ詳細に行われている。

現在, 活性酸素といわれている化学種は, O_2^- , H_2O_2 (過酸化水素), $\cdot OH$ (水酸ラジカル) および $^1O_2$ (一重項酸素) の4種である¹⁾。

生体内で, 食殺菌の約80%を担っている好中球も, 実は活性化されると O_2^- を生じ, さらに H_2O_2 , $\cdot OH$ などの活性酸素や $HOCl$ (次亜塩素酸) のような酸素化合物を生じることが明らかにされている。

好中球膜に, O_2 を1電子還元して O_2^- を生じる NADPH-酸化酵素系を欠く慢性肉芽腫症患者は, たび重なる炎症のために短命を余儀なくされている。このことから, O_2^- が殺菌に重要な役割を担っていることが明らかである。ところが, もっとも強力な殺菌剤といわれている $HOCl$ の生成を触媒するミクロペルオキシダーゼ系を欠く遺伝的疾患患者は, まったく健康な生活を営むことができる²⁾。

たとえ O_2^- が殺菌に関与しているとしても, O_2^- は pH が中性付近でも相当速い速度 (反応速度定数 $8.5 \times 10^4 \sim 8.5 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$) で不均化されて H_2O_2 となってしまうため, 有機溶媒中で起こるような求核置換, 求核付加, 塩基触媒反応はほとんどみられない (表1)¹⁾。また酸化力も非常に弱い。したがって, O_2^- それ自体は殺菌にはほとんど関与しているとは考えられない。また, O_2^- の不均化反応で生じる H_2O_2 も, それ自体は殺菌力をもたない。しかし H_2O_2 より派生する $\cdot OH$ や $HOCl$ は強力な酸化剤であるので, 殺菌に関与していると考えられる。

表1 O_2^- の反応

1. アニオンとしての反応

2. ラジカルとしての反応

不均化反応

図1 generation of $\cdot OH$

好中球で, この $\cdot OH$ が生成されると思われる系は, 図1に要約される。この図中, 反応1は, Fe^{3+} が介存することによって起こる「鉄依存性 Haber-Weiss 反応 ($O_2^- + H_2O_2 \rightarrow \cdot OH + O_2 + \cdot OH$, Haber-Weiss 反応; 非常に遅い反応のため, $\cdot OH$ の生成は期待できない), 反応2は, ミクロペルオキシダーゼの O_2^- 錯体 (compound III) と H_2O_2 の反応, 反応3は, O_2^- により $HOCl$ の還元反応である³⁾。このことから, O_2^- が $\cdot OH$ の生成に関与していることがわかる。 $\cdot OH$ は, 生じた場所で, 素早く近くに存在する有機化合物 (蛋白質, 核酸, 糖質など) を攻撃して, その水酸化物, 過酸化物を与える。

第2の強力な酸化剤である $HOCl$ は, 図2に示す経

* College of Medical Care and Technology
Gunma University 群馬大学医療技術短期大学部

図2 generation of HOCl

表2 rate constants for oxidative bleaching of biological substrates by HOCl

compound	λ , nm	$k_2 (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}) \times 10^{-3}$
spinach ferredoxin	400	$\geq 100^*$
clostridial ferredoxin	420	40
β -carotene in 1% NaDodSO ₄ **	459	23
cytochrome c	409	2
hemin-Cl in 1% NaDodSO ₄ **	394	2
adenosine monophosphate	280	2
amines and amino acids	—	0.1—4****
hydrogen peroxide	—	****

Reactions were in 0.05 M phosphate at pH 4.5 ;
 $\text{Cl}^- = 0.10 \text{ M}$; temperature = 23°C

* too fast to measure

** NaDodSO₄ is unreactive

*** calculated from data in ref.

**** $t_{1/2} = 7 \text{ sec}$

路で、 Cl^- と H_2O_2 の存在下に、好中球内の顆粒に局在するミエロペルオキシダーゼの作用で生じる⁴⁾。HOCl は、オレフィンと反応してエポキシドを生成したり、アミノ酸を攻撃して、それを相当するアルデヒドに酸化する⁵⁾。最近、アミン類と HOCl との反応で生じるクロラミンが長期間の殺菌効果を示すことが報告されている⁶⁾。細菌体内に存在する種々な有機化合物に HOCl を pH 4.5 付近で曝露すると、特に細菌の呼吸系の構築物質である鉄-イオウ蛋白（フェレドキシン）を素早く酸化分解することが知られている（表2）。したがって、HOCl はおそらく細菌の呼吸系を障害することによって、それを死に導くものと考えられている。

最後に残る1つの活性酸素である $^1\text{O}_2$ は、 O_2^- の不均化反応⁸⁾、次亜塩素酸と H_2O_2 との反応（式1）などで生じる⁹⁾。

式1に示すように、 $^1\text{O}_2$ の多量な発生は、HOOH が HOO^- に電離している場合に限られる¹⁾。HOOH の $\text{pK}_a = 11.0$ であるので、生理的条件下では $^1\text{O}_2$ の発生はあまり期待できない。しかし、最近ペルオキシダーゼ- Cl^- - H_2O_2 系（pH 2.5）で、超高感度をもつスペクトロメーターを用いて、 $^1\text{O}_2$ の検出（ $^1\Delta g \rightarrow ^3\Sigma g^- + h\nu$ ）に成功している^{10,11)}。しかし、これらの系で生じる $^1\text{O}_2$ の量はおそらく微量であり、また $^1\text{O}_2$ の水中での寿命は非

常に短い（2 μsec ）などから、好中球の殺菌に $^1\text{O}_2$ の関与はむしろ否定してもよいと思われる。シンチレーションカウンターまたはホトンカウンターを用いて測定される好中球食殺菌に伴う可視部の化学発光を $^1\text{O}_2$ によるものと推定している研究者もあるが、この光は蛋白質の酸化により生じる励起三重項分子に由来するものである¹²⁾。

好中球は、また不飽和脂肪酸に分子状酸素を添加して、広義の活性酸素種であるヒドロペルオキシ酸を生成する。この酸は、殺菌作用に直接関与しないが、ロイコトリエンなどの生理的活性物質に変わる。

本ワークショップは、好中球膜における O_2^- 生成系（柿沼ら）、好中球の食殺菌に伴う化学発光（牛島）、好中球食殺菌と活性酸素（笹田ら）、リポオキシゲナーゼとロイコトリエンの生合成（山本）により、最近の進歩について述べていただく。

文 献

- 1) 中野 稔, 松浦輝雄, 二木鋭雄編: スーパーオキシド, 1984.
- 2) Babior, E.M., Crowley, C.A.: Chronic granulomatous disease and other disorders of oxidative killing by phagocytes. *In* The Metabolic Basis Inherited Disease (ed. by Stanbury, J.B., Wyngarden, J.B., Fredrickson, D.S., Goldstein, J.L., Brown, M.S.). 5th Ed. McGraw-Hill, 1983, pp 1956-1985.
- 3) Long, C.A., Bielski, B.H.J.: Rate of reaction of superoxide radical with chloride-containing species. *J. Phys. Chem.* 84: 555-557, 1980.
- 4) Harrison, J.E.: The role of peroxide in the functional mechanism of myeloperoxidase. *In* Oxidases and Related Redox Systems (ed. by King, T.E., Mason, H.S., Horison, M.). Pergamon Press, 1982, pp 717-744.
- 5) Zgliczinski, J.M., Stelmaszynska, T.: Chlorinating ability of human phagocytosing leukocytes. *Eur. J. Biochem.* 56: 157-162, 1975.
- 6) Weiss, S.J., Lampert, M.B., Test, S.T.: Long-lived oxidants generated by human neutrophils; characterization and Bioactivity. *Science* 222: 622-627, 1983.
- 7) Albrink, J.M., McCarthy, C.A., Hurst, J.K.: Biological reactivity of hypochlorous acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 210-214, 1981.
- 8) Kahn, A.U.: Direct spectral evidence of the generation of singlet molecular oxygen ($^1\Delta g$) in the reaction of potassium superoxide with water. *J. Am. Chem. Soc.* 103: 6516-6517, 1981.
- 9) Kajiwar, T., Kearns, D.R.: Direct spectroscopic evidence for deuterium solvent effect on the life time of singlet oxygen in water. *J. Am. Chem. Soc.* 95: 5886-5890, 1973.
- 10) Kanofsky, J.R.: Singlet oxygen production by chloroperoxidase-hydrogen peroxid-halide systems. *J. Biol. Chem.* 259: 5596-5600, 1984.
- 11) Khan, A.U., Gebauer, P., Hager, L.P.: Chloroperoxidase generation of singlet Δ molecular oxygen observed directly by spectroscopy in the 1 to 1.6 μm region. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 5195-5197, 1983.
- 12) 中野 稔, 牛島義雄: 好中球の殺菌作用と活性酸素. 炎症 4: 125-134, 1984.