生体内メイラード反応とその生体防御機構

早瀬文孝*

食品で研究が進んでいたメイラード反応が生体内のタンパク質にも起こることが明らかとなり、これが糖尿病などの成人病や老化の原因となることが強く示唆されてきた。生体内ではどのようなメイラード反応生成物が存在するのであろうか。またその生理作用はどうであらうか。この生体内メイラード反応に対する生体防御機構についても紹介する。

食品成分間で起こる代表的な非酵素的反応はアミノ化合物とカルボニル化合物によるもので、アミノカルボニル反応、カルボニルアミン反応、非酵素的褐変反応などいろいろな呼び方で呼ばれている。メイラード（マイヤール）反応はアミノ化合物と還元糖との反応をいうが、最近では、アミノカルボニル反応と同義語として用いられる場合が多くみられる。タンパク質の関与するメイラード反応、いわゆる非酵素的グリコシル化を、酵素的グリコシル化と区別するために糖化（グリケーション）と呼んでいる。

食品、生体におけるメイラード反応に関与するアミノ化合物としてはアミン、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、核酸の塩基などがあり、カルボニル化合物としては還元糖、脂質、およびこれらから生成するアルデヒド、ケトン、そのほかにポリフェノール、アスコルビン酸、ステロイドなどが関与している。メイラード反応によって起こる現象や生理作用としては、食品系では、低分子生成物は着色、香气成分の生成、変異原物質の生成、活性酸素の生成、タンパク質への修飾による栄養価や消化率の低下などに関与している。一方、メイラード反応の最終生成物である褐色色素のメラノイジンなどの高分子生成物は、着色、抗酸化活性、活性酸素消去作用、抗菌作用、変異原性抑制作用、食物繊維様作用などを有することなどが知られている^(1,2)。

以上のように、食品で起こるメイラード反応は好ましい作用と同時に食品の劣化をもたらす作用の両面があり、食品の加工、貯蔵においては、それらをうまくコントロールする必要がある。

本稿の主題である生体内においてもメイラード反応は進行し、後述するように多くの生体タンパク質が糖化されており、糖尿病などの成人病や老化の成因に強く関連していることが明らかにされ

表 1 ■ メイラード反応を受けている生体タンパク質

I. 細胞内タンパク質
カルモジュリン、ヘモグロビン (A1a1, A1a2, A1c, A0, S), レンズクリスタリン*2, 筋繊維タンパク質, チューブリン
II. 細胞外タンパク質
a) 血漿タンパク質
アルブミン*2, アンチトロンビンⅢ, フェリチン, フィブリリン, フィブリノーゲン, 高密度リポタンパク質 (HDL)*1, 免疫グロブリン G, 低密度リポタンパク質 (LDL)
b) ホルモン
インスリン*1, 甲状腺ホルモン*1
c) コラーゲン*2
皮膚, 腱, 軟骨, 硬脳膜, 大動脈, 糸球体基底膜
d) ケラチン
毛髪, 爪, 角質層
e) 尿中
ペプチド, アミノ酸類
f) 骨中
オステオカルシン
III. 酵素
アルコールデヒドロゲナーゼ, アルドースレダクターゼ, カテプシン B*1, リゾチーム*1, ミオシン ATPase, β -N-アセチル-D-グルコサミニダーゼ*1, RNase*1, スーパーオキシドジスムターゼ
IV. 細胞膜タンパク質
赤血球グルコーストランスポーター, 赤血球スペクトリン, ミエリン, 赤血球膜タンパク質

*1 *in vitro* で確認されたタンパク質

*2 メイラード後期段階反応生成物が認められたタンパク質
(老松宗忠, 早瀬文孝: 農化誌, 61, 987 (1987) を改変)

Maillard Reaction in Biological System and Self-Defense Mechanisms against the Glycation

* Fumitaka HAYASE, 明治大学農学部農芸化学科

図 1 ■メイラード反応の反応経路

Ⓟ: タンパク質

つつある。表 1 に、メイラード反応が起こっていると報告されている生体内タンパク質を示した。驚くほど多くの生体内タンパク質が糖化されていることがわかるであろう。

タンパク質の関与するメイラード反応は図 1 のように進行し、便宜的にアマドリ転位生成物までの初期段階 (early stage) とそれ以降の後期段階 (advanced stage あるいは late stage) に区別している。初期段階のイミンの pK_a は 5~7 であり、生体内のような中性付近では、容易にイミンがプロトン化される。したがって、リン酸イオンやアミノ酸などのプロトン供与性の化合物はすべて触媒となり、生体内メイラード反応が容易に進行することが理解できる。プロトン化されたイミンはさらに 1,2-エナミノールを経て、安定なアマドリ転位生成物を生成すると同時に、中間体のオゾンや 3-デオキシオソンを生成する。これら

のジカルボニルは反応性が高く、アミノ化合物と反応し、後期段階へと進み、きわめて複雑な反応形態をとっている。

生体内メイラード反応初期段階

食品化学者である Dillard と Tappel は、“Do Carbonylamine Browning Reaction Occur *in Vivo*?” という表題を掲げた研究で生体中のメイラード反応を検証したが、直接的な証明には至らなかった⁽³⁾。「生体でもこの反応が起こっているだろう」とする彼らの洞察は鋭かったが、血漿とそれと同組成のアミノ酸と還元糖のモデル系を用いてメイラード反応後期段階生成物の検出を UV と蛍光スペクトルと比較したため、モデル系での反応の進行が速く、ネガティブデータになったと考えられる。同じ頃、糖尿病患者の赤血球中にはヘモグロビン (Hb) の一成分である HbA1c の

増加することがわかっていたが、この成分にメイラード反応生成物が含まれていたのである。すなわち、HbA1cはヘモグロビンβ鎖のN末端のバリンにグルコースがアマドリ型として結合した糖化タンパク質であることが証明されたのである。HbA1cの含量は血糖値をよく反映するので、現在でも臨床検査によく用いられている。

N末端のアミノ基のほかに、タンパク質のε-リジン残基もメイラード反応が起こりうると考えられる。事実、ヘモグロビン、アルブミンやスーパーオキシジスムターゼ (SOD) などの生体タンパク質のε-リジン残基はグルコースに修飾され、アマドリ型となっている。図1に示したように、立体構造的にアミノ基が酸性アミノ酸などの酸性触媒基の近傍に位置している場合にタンパク質のメイラード反応が開始しやすいといわれている。

生体内タンパク質の糖化と老化についてみると、ヒトのレンズタンパク質のメイラード反応初期段階程度は5歳から80歳まで一定であるという。また、ヒトの皮膚や基底膜コラーゲンの糖化レベルも年齢による増加は認められていない⁽⁴⁾。これらの実験結果は、糖化が老化の一因になるとする仮説と一見矛盾しているようにみえる。しかし、後述するように生体内メイラード反応はさらに後期段階へと進むことが知られてきていること、またメイラード反応に対する防御機構も存在することなどによって理解できるであろう。

糖尿病の場合は、生体タンパク質中のアマドリ転位生成物のレベルが健常者と比べて2～4倍に増大することが報告されている。

Katoらは、生理的条件下でリゾチームをグルコースないしフルクトースと反応させると、主要なジカルボニルとして3-デオキシグルコソン (3DG) が生成することを見いだした⁽⁴⁾。また、最近の報告では、ヒトの尿や血清中にも3DGが検出されている⁽⁵⁾。さらに、3DGを含まない食餌を与えたラット尿中に、3DGの代謝産物である3-デオキシフルクトース (3DF) が検出されている。この3DF含量は、ストレプトゾトシンで糖尿病に誘導したラット尿中では正常ラットの場合の2

倍近く増加している⁽⁶⁾。これは、後述するように反応活性の高い3DGを反応性のより低い3DFへ還元することによるメイラード反応の一つの防御機構の表われであるといってもよい。

生体内メイラード反応後期段階

メイラード反応後期段階に進むと、タンパク質にはN末端アミノ酸やリジン残基以外に、アルギニン残基、トリプトファン残基の損傷が顕著に起こり、褐変、螢光の発生、架橋形成などの現象がみられる。前項に述べたように、生体タンパク質の多くは糖化を受けているが、特に代謝回転の遅い生体タンパク質、たとえばコラーゲンや代謝回転しないレンズクリスタリンなどには後期段階のメイラード反応が起こっていることが証明されている (表1)。

1. ピラリン

筆者らは、ヒト血清アルブミン中にメイラード反応後期段階で生成すると推定されるリジンε-アミノ基がピロールアルデヒドで修飾されたリジルピラリン (図1) を免疫学的に検出した⁽⁷⁾。血清のアルブミン画分のピラリン含量は、糖尿病患者では健常者の1.6倍に上昇していた。

また、MiyataとMonnierは、抗ピラリンモノクローナル抗体を用いた組織免疫化学的染色を試み、老人や糖尿病患者の腎糸球体浸出性病変部にピラリンに対する陽性の染色が認められたと報告している⁽⁸⁾。若年者の場合には検出されないという。さらに、腎動脈の動脈硬化病変部にもピラリンに対する陽性の染色を認めている。老化による細胞外マトリックスの代謝回転の減少や硬化が後期段階のメイラード反応に依存していることを強く示唆する知見であろう。正常ラットとストレプトゾトシンで糖尿病を誘導したラットの血漿中のピラリン含量を比較すると、糖尿病群では正常ラットの約3倍量である。これは、メイラード反応後期段階が正常群よりも糖尿病群で進行していることを示しており、糖尿病合併症にメイラード反応の関与が示唆される重要な知見であると思われる。

ピラリンは、図 1 に示したように、アマドリ転位生成物から生成する 3 DG が、タンパク質のリジン残基と反応して生成するものと考えられる。また、アマドリ転位生成物とウシ血清アルブミン (BSA), および 3 DG と BSA の反応によって生じるピラリンの生成速度には大きな差は認められていないので、3 DG とタンパク質からのピラリン生成が律速段階になると考えられる。血漿中のアマドリ転位生成物の含量範囲は ~7.3 nmol グルコース/mg タンパク質であるのに対し、ピラリンは 0.9~3.5 nmol/mg タンパク質であるという^(4,8)。これは、ピラリンがメイラード反応後期段階生成物 (advanced glycosylation end products; AGE 生成物) として比較的安定な生成物であることを示している。

2. 蛍光生成物

各組織のコラーゲンで観察される蛍光 (Ex 370 nm, Em 440 nm) はメイラード反応によって生成する蛍光にきわめてよく似ており、老化や糖尿病に伴って増加するので、その少なくとも一部はメイラード反応生成物によるものであろう。

Sell と Monnier は、リジン残基とアルギニン残基がペントースを介して架橋した imidazopyridinium 環を形成している ペントシジン (図 2) を主要な蛍光物質と同定した⁽⁹⁾。ペントシジンはタンパク質を酸加水分解後、HPLC で分析ができ、きわめて安定な AGE 生成物である。ヒトの皮膚コラーゲンや脳硬膜コラーゲン、レンズクリスタリンなどの多くの組織に認められている。これらコラーゲン中のペントシジン含量は年齢とともに直線的に増加するという。生体内組織や血液のペントシジン含量は数 pmol~250 pmol/mg タンパク質であり、また糖尿病患者の血漿中のペントシジンは健常者に比べて 2 倍に増加し、血液透

図 2 ■ ペントシジンの生成経路

析を行なっている腎疾患患者の血漿では 23 倍にも増大していたと報告されている⁽¹⁰⁾。

ペントシジンの生成機構は図 2 に示すようであり、リジン残基やアルギニン残基と最も反応性の高いペントシジンの前駆体はリボースなどのペントースである。ペントース以外にも、グルコース、フルクトース、アスコルビン酸も前駆体となりうる。ペントースを除くこれらの前駆体は、脱炭酸などを伴ってペントシジン生成へと進行する。また、ε-アミノ基がリボースによって修飾されたアマドリ転位生成物のほうが遊離のリボースよりも 12 倍もペントシジンの生成速度が速いという。

最近、グルコースと α-N-アセチルリジンのモデル反応系からピリジニウム環を有する蛍光物質が同定された⁽¹¹⁾。この化合物はグルコース 2 分子とリジン 2 分子からなる架橋生成物と考えられ

る。

3. その他の AGE 生成物

タンパク質の後期段階グリケーションにおいて、最も重要な中間体である 3 DG の役割について筆者らは検討を加えた。リゾチームと 3 DG を生理的条件下で反応させたところ、インキュベーションが進むに従ってタンパク質の重合度が増加した。この重合の進行に伴いアルギニン残基がまず損傷を受け、引き続きリジン残基の損傷が認められる。先に述べたようにリジン残基は 3 DG によって一部ピラリンに修飾されるのであろうが、アルギニン残基についてはどうであろうか。なお、3 DG はペントシジンの前駆体とはなりにくいと報告されている。

リゾチームと 3²DG を生理的条件下で反応させ、その酸加水分解物のアミノ酸を分析したところ、未知ピークが認められた。これらはリゾチーム-グルコース系においても検出される。そこで、アルギニン残基のモデルとしてベンゾイルアルギニンアミド-3²DG 系から得られた各生成物の酸加水分解物を調べたところ、上記の未知ピークに対応がすべて可能となった。以上の結果、タンパク質の糖化によって生成する未知ピークは、3 DG がアルギニン残基を修飾する結果認められるものであると結論できる。ベンゾイルアルギニンアミド-3 DG 系からは多数の生成物が認められた。これらのうち主要生成物の構造解析を試みた結果、imidazolone 化合物が同定された⁽¹²⁾。

タンパク質の糖化による架橋生成では、ペントシジンやピリジニウム化合物のほかに 3 DG が関与する架橋化合物が生成するはずである。なぜならば、3 DG によるタンパク質の重合はリジン残

基をサクシニル化すると完全に抑制されるからである。そこで、上記のモデル系で架橋生成物を期待したが、その含量はきわめて低かった。しかし、3 DG 2 分子とアルギニン 1 分子からなる反応性の高い化合物が数種生成したことから、これらの生成物がトリプトファンなどの他のアミノ酸残基を修飾して架橋を生成する可能性が残されている⁽¹²⁾。実際にトリプトファン残基はジカルボニルによって修飾され、架橋生成物が検出されている。

Araki らは、AGE 生成物に対する特異的抗体を用いて、ヒトのレンズに存在する AGE 生成物が年齢に伴い増加することを報告している⁽¹³⁾。エピトープの特定が興味のもたれるところである。

以上のように、生体内の AGE 生成物の同定は開始されたばかりである。研究のアプローチとしては、生理的条件下の *in vitro* のモデル系で AGE 生成物の同定を行ない、生体系での検出を試みる方法と、*in vivo* の系で酵素的分解などの手法で直接的に AGE 生成物を同定する方法とがあるが、研究の進め方としては両者を並行して行なう必要がある。このような研究に対して、食品化学者が多数同定したメイラード反応生成物は大いに参考になるであろう^(4,14)。

なお、以上述べたメイラード反応以外に、老化や成人病発症の成因として、還元糖が DNA 分子と非酵素的に反応し、DNA 分子の損傷をひき起こすことが指摘されている^(4,14)。また、脂質の過酸化反応によって生成する二次生成物であるカルボニル化合物が生体タンパク質を攻撃し、損傷させることもよく知られている^(12,15)。

メイラード反応により生成する活性酸素

In vitro では、グルコースがエンジオール構造 (HC(OH)=C(OH)-R) をとると、自動酸化によりグルコソンが生成し、この酸化反応の際にスーパーオキンド ($O_2^{\cdot-}$) が生成する。グルコソンはさらにアミノ化合物と反応し、ケトアミノメチロール (R-NH-CH(OH)-CO-R') が生成する。これはエンジオール構造をとるため、酸素を一電子還元して、 $O_2^{\cdot-}$ を生じる⁽⁴⁾。また、アマドリ転位

生成物は 1,2-エナミノール 構造 をとり、遷移金属が存在すると、酸素を還元して $O_2^{\cdot -}$ とともにグルコソンが生成する (図 1)⁽¹⁶⁾。この反応は、アミノレダクトンであるアマドリ転位生成物の強還元性に基づいている。

$O_2^{\cdot -}$ はさらに、不均化反応によって H_2O_2 を生成したり、 H_2O_2 と $Fe^{2+}(Cu^+)$ のフェントン反応によって $\cdot OH$ などの活性酸素種生成へと進むことが知られている。生体内の遷移金属は、細胞内外では $Fe^{3+}(Cu^{2+})$ の酸化状態で存在している。 $O_2^{\cdot -}$ はこれらを還元する作用があるため、フェントン反応に間接的に関与しうる。

さらに生体内メイラード反応によって生じる活性酸素種は 脂質の 過酸化反応を 促進 するであろう。生体系では様々な活性酸素消去系が働いているが、この消去系の中核を担うスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) がメイラード反応によってその酵素活性を失い、還元糖によって修飾されたアマドリ転位生成物から活性酸素が生成するという報告がある⁽¹⁷⁾。この反応は SOD から遊離してくる Cu によって促進され、またフェントン様反応がひき起こされて、生成してくる $\cdot OH$ によって SOD の部位特異的な開裂が起こることが *in vitro* で明らかにされている。

このように、最近では、メイラード反応によって生成する活性酸素種が老化説の一つである脂質過酸化反応を含むフリーラジカルによる生体成分損傷説や糖尿病などの病態などとも連関するので注目されている。したがって、メイラード反応による活性酸素の発生量が生体で発生する活性酸素量に対してどの程度なのか、さらに検討が必要である。これには生体内でのグルコソンやその反応生成物の検出が急がれる。

一方、糖化タンパク質には H_2O_2 、 $\cdot OH$ に対する消去作用が認められている。しかし、前述のように $O_2^{\cdot -}$ は糖化タンパ

ク質から生成するために糖化タンパク質による $O_2^{\cdot -}$ の消去活性は認められない。 H_2O_2 の消去には、糖化タンパク質のアマドリ転位生成物およびメラノイジン様の褐色色素が関与すると推察されている。また、糖化タンパク質分子内のメラノイジン様の褐色色素やピラリンが $\cdot OH$ を消去すると考えられている⁽¹⁸⁾。

生体内メイラード反応に対する防御機構

これまで述べてきたように、生体内の多くのタンパク質がメイラード反応を受けていることが明らかとなったが、生体にはこの反応に対する防御機構が備わっていることも証明されてきている。図 3 にその概要を示した。

1. 酸化的開裂反応

第一に、アマドリ転位生成物以降の反応を防御する機構がある。すなわち、Baynes らは、糖化タンパク質のアマドリ転位生成物のグルコース分子の C2-C3 および C3-C4 間での酸化的開裂によってメイラード反応後期段階への進行が抑制されると報告した⁽⁴⁾。グルコース由来分子の開裂反応によって、 ϵ -リジン残基が修飾されたアマドリ転位生成物は 酸化 され N^ϵ -カルボキシメチルリジン (CML) や 3(N^ϵ -リジノ)-乳酸 (LL) とな

図 3 ■ 生体内メイラード反応に対する防御機構

る。成人のレンズタンパク質中の CML 含量は 3.5 mmol/mol リジン, LL は 0.2 mmol/mol リジンであり, C2-C3 開裂が優先して起こるようである。また, ヒトのレンズタンパク質や皮膚のコラーゲン中の CML は年齢とともに増加することが確かめられている。糖尿病患者の皮膚コラーゲン中の CML は健常者に比べ増大するという。この CML はヒトの尿中にも検出されている。

2. 酵素的不活性化反応

メイラード反応で生成する活性な反応中間体である 3 DG などのジカルボニルは変異原性を示し, 表 2 にみられるようにがん細胞や正常細胞に対して細胞毒性を有する⁽¹⁴⁾。このように細胞毒性を有したり, 後期段階のメイラード反応進行にかかわるジカルボニルに対して, 生体には次のような防御機能が備わっている。

Kato らのグループは, 反応性の高いジカルボニルを酵素的に不活性化する機構を明らかにした⁽¹⁴⁾。すなわち, ¹⁴C でラベルした 3 DG をラットの静脈あるいは経口に投与して, 尿のオートラジオグラフィーを行なったところ, 3 DG が消失し, 新たに 3 DG が還元された 3-デオキシフルクトース (3 DF) のスポットが観察され, 3 DG を 3 DF に還元する酵素の存在が予測された⁽¹⁹⁾。実際に, Kato らのグループは, この酵素としてブタの肝臓, 腎臓, ニワトリの肝臓から NADPH 依存性 2-オキソアルデヒドレダクターゼ (2 OR) を精製した。ブタの場合, 2 OR は分子量 38,000 のモノマーであり, 3 DG に対する K_m は 2.1 mM でメチルグリオキサール (MG) に対す

るそれは 3.3 mM であった。また生成物は, 3 DG からは 1 位のアルデヒド基が還元された 3 DF, MG からは同様に 1 位が還元されたアセトールが生成した。

2 OR がメイラード反応の後期段階を抑制するかどうかを調べた結果, 3 DG-リゾチム系で発生する蛍光やタンパク質の重合を 50% 近く抑制した。また, 3 DG を基質としないアルデヒドレダクターゼ (アルコールデヒドロゲナーゼ) では抑制が認められなかった。したがって, 2 OR はメイラード反応に対する生体防御酵素といってよいと考えられる。

なお, カルボニル化合物を基質とする酸化還元酵素は多く知られているが, 2-オキソアルデヒド (CHO-CO-R) を代謝する酵素については若干の混乱があるように思える。たとえば, 2 OR とアルデヒドレダクターゼ I (ALR I) の性質はよく似ている。2 OR にはアルコールデヒドロゲナーゼ (AD) 活性はない。ALR I はその名称から AD 活性を有するはずであるが, 基質として 2-オキソアルデヒドとアルコールを用いた結果を同時に示している研究はなされていない。各酸化還元酵素の一次構造を比較し, 2-オキソアルデヒドを特異的に代謝する酵素の命名を早急に統一する必要があると思われる。

2 OR のほかに, 2-オキソアルデヒドを代謝する酵素が報告されている。その代謝経路を図 4 にまとめて示した。点線で示したほうが 3 DG 代謝経路であるが, 3 DG は食品中にも含まれているので, 食事由来のものと, 生体内で生成するものの 2 つが考えられる。3 DG 代謝では 2 OR による経路が主要経路であると思われる。そのほかに, 2-オキソアルデヒドデヒドロゲナーゼやメチルグリオキサールレダクターゼによっても一部代謝されると考えられる。また, メチルグリオキサール (MG) は, 実線で示したようにグルタチオンがかかわるグリオキサラーゼ I および II などにより代謝されることが知られている。なお, MG は AD のよい基質となる。

表 2 ■細胞に対する 3-デオキシオゾン (3 DG) とメチルグリオキサール (MG) の細胞毒性*

	3 DG	MG
がん細胞		
HeLa S3	600	15
EL 4	25	20
正常細胞		
Chang Liver	400	—
FDCP 2	45	4
3Y1	230	—

* IC₅₀(μg/ml). —: 測定していない. 文献 14) p.309 より

図 4 ■2-オキソアルデヒド代謝経路

→ メチルグリオキサール (MG) 代謝系, → 3-デオキシグルコソン (3DG) 代謝系. 1: 2-オキソアルデヒドデヒドロゲナーゼ, 2: MG レダクターゼ, 3: 乳酸アルデヒドデヒドロゲナーゼ, 4: 乳酸デヒドロゲナーゼ, 5: グリオキサラーゼ I, 6: グリオキサラーゼ II, 7: 2-オキソアルデヒドレダクターゼ, 8: アルドースレダクターゼ, GSH: グルタチオン

* 補酵素として NAD(P) または NAD(P)H が必要

3. レセプター介在エンドサイトーシス

Vlassara らは, BSA やミエリンが後期段階の糖化を受けると速やかにマクロファージによりとり込まれ, 分解されると報告している⁽⁴⁾. この糖化タンパク質に対する特異的なレセプターが単離されている. また, Horiuchi らのグループも, 後期段階メイラード反応生成物がアルデヒド修飾タンパク質に対するスカベンジャーレセプターによってとり込まれることを報告している⁽²⁰⁾. 最近, メイラード反応後期段階生成物を認識するウシ肺の内皮細胞上のレセプターが単離され, そのタンパク質 (35 kD と 80 kD) がクローニングされている⁽²¹⁾.

篠田らも, 3 DG 修飾タンパク質がマウス腹腔マクロファージによってとり込まれることを示した. マクロファージには少なくとも高親和性 ($K_d=8.5$ nM) と低親和性 ($K_d=0.95$ μM) の2つ以上のレセプターが存在することを明らかにし, このうち, おそらく低親和性のレセプターはアセチル化 LDL などを取り込むスカベンジャーレセプターであろうと推定している⁽²²⁾.

一方, Brawnlee らは, 強い求核試薬であるアミノグアニジン ($\text{NH}_2\text{-NH-C(=NH)-NH}_2$) を BSA-グルコース系に添加した際に, メイラード反応による蛍光の発生が著しく抑制されることを報告した⁽⁴⁾. また, 生体内においても, アミノグ

アニジンの添加によってメイラード反応に伴う架橋形成が著しく抑制されることを観察している. 糖尿病合併症の治療や老化防止の一つのモデルとしてこのアミノグアニジンという具体的な薬剤が提示された意義は大きい. アミノグアニジンは 2-オキソアルデヒドと反応するためメイラード反応を抑制すると推定される. これを機に, 2-オキソアルデヒド修飾能と抗酸化能を同時に有する糖尿病合併症に対する薬剤の開発が活発に行なわれている.

糖化タンパク質の生体への影響^(2,23)

生体タンパク質はメイラード反応を受けることによって, 架橋形成による不溶化, 硬化が起こり, アミノ酸の修飾, 立体構造の変化に伴いプロテオリシスへの感受性が低下することなどが考えられる. その結果, 様々な疾患や老化の一因となることが予測される. これらをまとめて図 5 に示した.

メイラード反応によって酵素の活性が変動する場合がある⁽⁴⁾. 後期段階まで進行すると, 一般的に酵素は失活する. 酵素の前期段階までの糖化による不活性化については前述のように SOD がよく知られているが, そのほかに ミオシン ATPase, RNase, N-アセチルグルコサミニダーゼ, カテプシン B などが知られている.

一方, 糖化によって活性化する酵素も報告されている. アルドースレダクターゼ (AR), AD, 2 OR の酸化還元酵素は, メイラード反応によって活性が上昇する. これらは基質との親和性の増大によると考えられる^(1,4,14). AR の活性の上昇は, 糖尿病性合併症の発症機構の一つであるポリオール代謝 (グルコースからフルクトースへの代謝, 図 2 参照) の活性化をひき起こし, ソルビトールの細胞内過剰蓄積を誘発するであろう. AR は一方では 3 DG を還元するので, メイラード反

図 5 ■ 生体内メイラード反応と疾患 (J. Harding: *Adv. Prot. Chem.*, 37, 247 (1985) より改変)

*. M. Hogan *et al.*: *J. Clin. Invest.*, 90, 1110 (1992) より

応後期段階への進行を抑制している。このように AR の活性上昇には両面があるが、糖尿病におけるグルコース濃度の上昇から考えると、ポリオール系への影響のほうが大きいと思われる。

前項に述べたように、メイラード反応後期段階生成物によって修飾されているタンパク質はマクロファージにとり込まれるが、その際マクロファージから腫瘍壊死因子 (TNF) やインターロイキン 1 が産生されることが知られている。また、後期段階糖化タンパク質がインスリン様増殖因子 (IGF-1) の分泌を促進すると報告されている。その糖化タンパク質はヒト血中単球に対する化学走化性因子となり、また血小板由来増殖因子 (PDGF) の分泌を誘導するという。これらの免疫系への応答や細胞への影響などが生体内メイラード反応によって現われることが示されたが、老化や病態との関係については今後の研究を待たねばならないであろう。

*

以上、生体内メイラード反応およびその防御機構について概観してきた。メイラード反応が糖尿病などの成人病の成因説や老化理論の一つとして広く受け入れられるためには、まだまだ不明な点が多く残っており、今後、より詳細な化学的解析に加えて、メイラード反応生成物の生理作用の解

析が期待される。それには、Monnier ら⁽²⁴⁾ が指摘しているように、生体に存在する多くの未知のメイラード反応生成物の細胞内、外への蓄積が糖尿病や年齢に応じて増加すること、同じ代謝回転速度のタンパク質でメイラード反応生成物の蓄積速度が長寿命の動物種より短寿命の動物種のほうが速くならなければならないこと、また、糖尿病の場合も同様で健康者に比較して速くならなければならないことなどを示す必要があろう。また、細胞内、外におけるメイラード反応生成物の濃度が種の寿命と逆相関していること、寿命決定遺伝子がメイラード反応を制御する遺伝子を包含していることなどを実験的に証明する必要がある。

筆者らの研究は東京大学名誉教授加藤博通先生のご指導のもとに行なわれたもので、グエン・ヴァン・チュエン先生 (日本女子大)、V. M. Monnier 先生 (Case Western Reserve 大) はじめ多くの先生方、当時の院生、学生との共同研究によって進めることができました。ここに深甚なる感謝の意を表します。また、この執筆の機会を与您いただきましたお茶の水女子大学生生活環境研究センター五十嵐 脩先生に心から厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) 加藤博通: 月刊フードケミカル (8), 29 (1992).
- 2) 早瀬文孝: 食品工業, 35(2), 18 (1992).
- 3) C. J. Dillard & A. L. Tappel: *J. Agric. Food Chem.*, 24, 74 (1976).
- 4) J. W. Baynes & V. M. Monnier (ed.): "The Maillard Reaction in Aging, Diabetes and Nutrition", Alan R. Liss, 1989.
- 5) K. J. Knecht, M. S. Feather & J. W. Baynes: *Arch.*

- Biochem. Biophys.*, 294, 130 (1992).
- 6) F. Hayase, Z. Q. Liang, Y. Suzuki, N. van Chuyen, T. Shinoda & H. Kato : *Amino Acids*, 1, 307 (1991).
 - 7) F. Hayase, R. H. Nagaraj, S. Miyata, F. G. Njoroge & V. M. Monnier : *J. Biol. Chem.*, 264, 3758 (1989).
 - 8) S. Miyata & V. M. Monnier : *J. Clin. Invest.*, 89, 1102 (1992).
 - 9) D. R. Sell & V. M. Monnier : *J. Biol. Chem.*, 264, 21597 (1989).
 - 10) V. M. Monnier, D. R. Sell, R. H. Nagaraj, S. Miyata, S. Grandhee, P. Odetti & S. Ibrahim : *Diabetes*, 41, 36 (1992).
 - 11) K. Nakamura, T. Hasegawa, Y. Fukunaga & K. Ienaga : *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 992 (1992).
 - 12) H. Kato & F. Hayase : "The Post-translational Modification of Proteins", ed. by S. Tsuboi *et al.*, Japan Scientific Societies Press & CRC Press, 1992, p. 237.
 - 13) N. Araki, N. Ueno, B. Chakrabarti, Y. Morino & S. Horiuchi : *J. Biol. Chem.*, 267, 10211 (1992).
 - 14) P. A. Finot, H. U. Aeschbacher, R. F. Hurrell & R. Liardon (ed.) : "The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology", Birkhäuser Verlag, 1990.
 - 15) H. Esterbauer, R. J. Schaur & H. Zollner : *Free Radical Biol. Med.*, 11, 81 (1991).
 - 16) S. Kawakishi, J. Tsunehiro & K. Uchida : *Carbohydr. Res.*, 211, 167 (1991).
 - 17) 谷口直之 : 生化学, 64, 1103 (1992).
 - 18) G. Okamoto, F. Hayase & H. Kato : *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 928 (1992).
 - 19) H. Kato, N. van Chuyen, T. Shinoda, F. Sekiya & F. Hayase : *Biochim. Biophys. Acta*, 1035, 71 (1990).
 - 20) K. Takata, S. Horiuchi, N. Araki, M. Shiga, M. Sartoh & Y. Morino : *J. Biol. Chem.*, 263, 14819 (1988).
 - 21) A. M. Schmidt, M. Vianna, M. Gerlach, J. Brett, J. Ryan, J. Kao, C. Esposito, H. Hegarty, W. Hurley, M. Clauss, F. Wang, Y.-C. E. Pan, T. C. Tsang & D. Stern : *J. Biol. Chem.*, 267, 14987 (1992).
 - 22) 篠田達也, 早瀬文孝, グュエン・ヴァン・チュエン, 加藤博通, 荒井綜一 : 農化誌, 66, 483 (1992).
 - 23) A. Cerami : *J. Am. Geriatr. Soc.*, 33, 626 (1985).
 - 24) V. M. Monnier, D. R. Sell, R. H. Nagaraj & S. Miyata : *Gerontology*, 37, 152 (1991).

続 サイエнтиスト ゲーム

——若き科学者のための生き残り戦略

カール J. シンダーマン／山崎 昶 訳 四六判／250頁／2200円(税込)

「サイエンティストゲーム—成功への道」に続く、若き科学者の自己啓発のための指針。科学者の世界も1つの社会である。象牙の塔の中での立居振舞いと人間関係の調整、いかにして指導教授とうまくやっていくか、テーマの選択から論文の作成・発表に至る過程の巧みな処理、種々の転機をいかに乗り越えるか、研究費捻出のノウハウ等々。プロを目指す科学者のためのもう1つの科学論。

プロローグ

1. 一人前と呼ばれるまでに
2. 象牙の塔の中での立居振舞い
3. キミは指導教授とうまくやっているか
4. 賢明なる女子大学院生
5. 舞台の上の若手の科学者
6. 舞台裏での若き科学者
7. 若き科学者の小規模の会合

8. 人世の節目を生き残るために
 9. 募集を応募
 10. 科学の仕事場の特性
 11. 科学における知的な取引と妥協
 12. 科学のプロフェッショナルファサード
 13. 信頼されること
 14. 科学者の役割の変化
- エピローグ

サイエンティスト ゲーム 成功への道

C.J. シンダーマン／山崎 昶 訳 四六判／300頁／2200円(税込)

著者シンダーマン博士の「若き科学者の自己啓発のためのハンドブック」ともいえるべき三部作の第一作。1990年代に向けてきびしい「科学」の世界でいかにして勝つ残るか。これから科学の社会に進む若き学徒や転機を迎えた科学者各位のための優れた教訓やガイドラインが、著者の長年の経験や調査に裏付けられた洒落なエピソードを含めて語られる。

学会出版センター