PQQ の薬理的検討†

西 郡 秀 夫

(帝京大学薬学部)

Pyrroloquinoline quinone (PQQ) は微生物で種々の脱水素酵素の補酵素として、また生育促進因子として機能していることが明らかになってきた⁽¹⁾。動物でも、当初 amine oxidase, choline dehydrogenase, 副腎髄質の dopamine- β -hydroxylase 等の補酵素と考えられ注目されたが、その後の研究で否定されている^(2,3)。しかし、Killgore ら⁽⁴⁾がマウスを用いた実験で PQQ が成長因子あるいはビタミン様の作用を示すことを報告して以来、動物における PQQ の生理作用に関心が深まってきた。

PQQ の薬理的作用を探索する試みはわが国ではじまり、炎症⁽⁵⁾、肝障害^(6,7)、白内障の発症^(8,9)などに対して予防効果を示すことが動物実験で明らかになった。これら疾患の発症過程にはラジカルの産生あるいは脂質の過酸化が介在していると考えられ、PQQ の効果は強いラジカル捕捉能^(5,10)に基づく作用であることが推測される。

PQQ の生理・薬理学的研究^(11,12)は開始されたばかりで未知の部分が多く、本稿では筆者らの研究成果も含めて現状について紹介する。

1. 成長因子あるいはビタミンとして

Killgore ら⁽⁴⁾は、マウスを離乳時からアミノ酸類、庶糖、澱粉、ビタミン類、ミネラル類等と腸内細菌による PQQ の生成を抑制するための抗生剤 (succinyl sulfathiazole) から構成され、PQQ を含有しない混合飼料で飼育すると、成長が遅延し、脱毛が生じ、背を丸めた姿勢をとることを報告している。また皮膚は脆弱で、中性塩可溶性コラーゲンが健常マウスのおよそ2倍に増加し、リジンオキシダーゼが10~30%に減少し、結合組織の主要蛋白質であるコラーゲンの成熟が十分に行われていないことを見いだした。さらに雌マウスでは繁殖力

を失い、出産してもただちに子を食べる行動を示すことも観察されている。しかし、PQQ 添加飼料で飼育すると上述した異常は認められず、マウスの成長と繁殖にとって PQQ は重要な因子である可能性が示唆された。

動物の成長と生殖にとって PQQ が必須因子であるか否か明らかにすることはきわめて重要な問題で、現在研究の発展が期待されている。

2. 薬理学的検討—in vitro 系でのラジカル捕捉作用—

Hamagishi ら⁽⁵⁾は、PQQ がザイモサン (zymosan)、カラゲニン等でマウスの腹水細胞を刺激すると生じる化学発光現象やラット脳ホモジネートでの脂質の過酸化を抑制し、しかもそれらに対する抑制効果はイデベノン (idebenone)、 α -トコフェロール、アスコルビン酸よりも強く、PQQ にラジカル捕捉作用のあることを示唆した。そして PQQ が活性酸素の O_2^- を捕捉する可能性も示し、Akaike ら⁽¹⁰⁾の報告と合せると、その IC_{50} は $0.18 \sim 0.212 \mu M$ でアスコルビン酸より数十から百倍強く、また $\cdot OH$ に対しても IC_{50} が $64 \mu M$ でアスコルビン酸より約2倍強いことも確認されている。

3. 薬理学的検討—抗炎症効果と肝障害の軽減—

ラットの足にカラゲニンを注入すると浮腫ができるが PQQ はこれを抑制しインドメタシン (indomethacin) と同等の抗炎症効果を示す。カラゲニン刺激による浮腫形成過程には O_2^- のような活性酸素の発生が関与していると考えられるので、PQQ の抗炎症効果は O_2^- 等を捕捉することによって表われたと推測されている⁽⁵⁾。

Watanabe らは PQQ が肝障害を軽減することをラットを用いた実験で明らかにしている^(6,7)。すなわち PQQ を肝障害惹起物質 (CCl_4 , D-galactosamine, thioacetamide, allyl formate) の投与前から投与後 5, 6 時間以内に腹腔内投与すると、肝障害の指標となる血清 GPT 値およびビリルビン値の増加が抑制され、肝細胞の壊死が防止される。また CCl_4 や D-galactosamine 投与で起

† Pharmacological Aspects of PQQ.

Hideo NISHIGORI (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University, Sagamiko, Kanagawa 199-01)

きる肝トリグリセリドの増加, CCl_4 による肝での脂質の過酸化も抑制される⁽⁶⁾. CCl_4 肝障害では脂質の過酸化は生成した $\text{CCl}_3 \cdot$ ラジカルが脂質 2 重結合から水素ラジカル ($\text{H} \cdot$) を引き抜くことではじまり, また肝のグルタチオン (GSH) が生合成の低下なして減少するといわれる⁽¹³⁾. おそらく過酸化脂質生成に対する PQQ の抑制効果も抗炎症効果と同様にラジカル捕捉作用に起因して表われたものと考えられる.

PQQ が CoQ_{10} やイデベノンと同様にエタノール投与で起きる血中および肝中のアルデヒドの上昇を抑制することも見いだされ⁽⁷⁾, PQQ が肝機能を調整する可能性があり興味深い.

4. グルココルチコイド誘発諸症に対する効果

筆者らはグルココルチコイドが多様な作用を示すことに注目し, PQQ のそれらへの効果を調べることで PQQ の薬理・生理作用を探索している. すなわち鶏胚 (15 日齢) に代表的なグルココルチコイドであるヒドロコルチゾン (HC ; $0.25 \mu\text{mol/egg}$) を投与すると, 体重, 骨長・骨重量の増加が遅れ, 48 時間後には 90% 以上の頻度で白内障が発症し, 肝にはビリベルジン (BV) (鳥類ではヘムの最終代謝物は BV) が蓄積し, 肝は赤褐色から緑色となる. しかし PQQ (HC 投与後 3, 10, 20 時間で $1.25 \mu\text{mol/egg}$ 投与) の投与によって, GSH の減少と関連の深い白内障の発症 (本稿では割愛, 文献 8, 9 参照) と BV の肝滞留が有意に抑制される^(14,15).

BV の肝内滞留は, HC 投与によって鶏胚肝でのヘム合成が亢進し, ヘムオキシゲナーゼが誘導されたことによる生合成量の増加と, これに肝排出能の低下が併発して生じたと考えられる. HC 投与 48 時間後での滞留量は対照群の 20~30 倍と著増するが, その後 BV は胆, 腸へと徐々に移行する. GSH は胆汁の肝からの排出機構で重要な役割を演じているといわれているが, 本実験系においてもその可能性が認められる⁽¹⁵⁾. 肝 GSH は HC を投与すると減少し 24 時間後に最低 (対照群の約 50%) となりその後回復し 48 時間でほぼ対照値に戻る. 一方, BV は 24 時間後から増加し, 48 時間後に最大となって減少する. ブチオニン (buthionine sulfoximine) を 24 時間で投与し GSH の生合成を阻止すると, GSH は 24 時間のレベルに留まり, 48 時間以降に見られる肝からの BV 排出が行われず滞留が続く. PQQ は HC 投与で起きる肝 GSH 量の減少と肝 BV 量の増加の両現象を抑制する (Fig. 1, 2). HC 単独投与群

Fig. 1. Effect of PQQ on GSH Amounts in the Liver at 24 hr after HC Administration. PQQ dipotassium ($1.25 \mu\text{mol/egg}$) was administered to 15-day-old chick embryos at 3, 10 and 20 hr after the administration of hydrocortisone hemisuccinate sodium (HC : $0.25 \mu\text{mol/egg}$). At 24 hr after HC treatment the amounts of GSH were determined.

Fig. 2. Effect of PQQ on Biliverdin Amounts in the Liver at 48 hr after HC Administration. PQQ dipotassium ($1.25 \mu\text{mol/egg}$) was administered to 15-day-old chick embryos at 3, 10 and 20 hr after the administration of hydrocortisone hemisuccinate sodium (HC : $0.25 \mu\text{mol/egg}$). At 48 hr after HC treatment the amounts of biliverdin were determined.

と HC+PQQ 投与群の総 BV 量 (肝+胆+腸) はほぼ等しいにもかかわらず肝 BV 量と胆 BV 量が前者と後者では異なる. PQQ は HC 投与による肝 GSH 量の低

下を防ぎ、肝の胆汁排出機構を維持し、HC 投与で著増した BV を肝から胆へ速やかに移行させ、肝滞留を防止したものと考えている。このような PQQ の作用は黄疸などに対する薬を考えるうえで興味深い。

対照群に PQQ を投与したとき、肝の GSH 量が約 20% 増加する⁽⁸⁾ことも判明しており (Fig. 1), GSH が肝で重要な役割を持っていることを考えると、PQQ と GSH との関係は薬理学的にもまた生理学的にも魅力的である。

5. 吸収と毒性

マウスに ¹⁴C-PQQ を経口投与すると投与量の約 62% が 6 時間以内に、また 81% が 24 時間以内に尿中に検出されとの報告があり、PQQ はマウスでは比較的容易に腸から吸収され、大部分が速やかに排泄されると思われる⁽¹⁶⁾。しかし、PQQ には腎毒性があり、4 日間ラットに PQQ (11.5 mg/kg) を腹腔内投与すると、血清クレアチン値が著しく増し、腎機能障害が現われ、蛋白、ブドウ糖、ケトン体が尿中に検出され、尿尿がでることが確認されている⁽¹⁷⁾。またマウスに 80 mg/kg 以上投与すると高頻度で死ぬことも明らかにされている。

6. PQQ の構造と薬理活性

PQQ がラジカル捕捉作用を発揮するには、 α -キノン、7,9 位のカルボキシル基が、また脂質過酸化防止にはピロール基の -NH 基が必要であることが判明し⁽⁵⁾、さらに PQQ のエステル化によって腎毒性が軽減され、逆に吸収性、肝障害予防効果とアルドース還元酵素阻害効果が高まることも明らかにされている⁽¹⁸⁾。

PQQ の誘導体を用いて構造活性相関の研究を進めていけば薬理的に興味ある作用を分離強化しうると考える。

7. おわりに

最近、筆者らは B16 メラノーマ細胞を用いた実験で PQQ がメラニン色素の生成を抑制し、これも PQQ による GSH 量調節作用によるとの結果を得ている⁽¹⁹⁾。また PQQ にはドキソルビン (doxorubicin) の急性毒性を軽減する作用のあることも見だしている⁽²⁰⁾。現状では、PQQ の作用を確定できるほどのデータは少なく検討を要する点も多いが、PQQ が強いラジカル捕捉能を有し、グルタチオン量の維持に関与している可能性が示された意義は大きい。

種々の高齢者好発疾患の発症過程に活性酸素ラジカルなどの発生が疑われているだけに、PQQ とその誘導体

の薬理的作用を調べることは魅力的で、またこのような研究の進展が生理作用の発見へと結びつくものと思われる。

- (1) M. Ameyama, K. Matsusita, E. Shinagawa, and O. Adachi : *Vitam. Horm.*, **46**, 229—270 (1991).
- (2) S. M. James, D. Mu, D. Wemmer, A. J. Smith, S. Kaur, D. Maltby, A. L. Burlingame, and J. Klinman : *Science*, **249**, 981—987 (1990).
- (3) J. G. Robertson, A. Kumar, J. A. Mancewicz, and J. J. Villafranca : *J. Biol. Chem.*, **264**, 19916—19921 (1989).
- (4) J. Killgore, C. R. Smidt, L. Duich, N. Romero-Chapman, D. Tinker, K. Reiser, M. Melko, D. Hyde, and R. B. Rucker : *Science*, **245**, 850—852 (1989).
- (5) Y. Hamagishi, S. Murata, H. Kamei, T. Oki, O. Adachi and M. Ameyama : *J. Pharm. Exp. Ther.*, **255**, 980—985 (1990).
- (6) A. Watanabe, N. Hobara, and T. Tsuji : *Curr. Ther. Res.*, **44**, 896—901 (1988).
- (7) Y. Hobara, A. Watanabe, M. Kobayashi, T. Tsuji, Y. Gomita, and Y. Araki : *Pharmacol.*, **37**, 264—267 (1988).
- (8) H. Nishigori, M. Yasunaga, M. Mizumura, J. W. Lee, and M. Iwatsuru : *Life Sci.*, **45**, 593—598 (1989).
- (9) 西郡秀夫 : 化学と生物, **30**, 78—80 (1992).
- (10) T. Akaike, K. Sato, M. Kohno, and H. Maeda : in "Enzymes Dependent on Pyridoxal Phosphate and Other Carbonyl Compounds as Cofactors," ed. by T. Fukui, H. Kagamiyama, K. Soda, and H. Wada, pp. 511—513 (1991).
- (11) C. R. Smidt, F. M. Steinberg, and R. B. Rucker : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **197**, 19—26 (1991).
- (12) A. Watanabe, H. Nishigori, T. Urakami, T. Tsuchida, and N. Hobara : in "Principles and Application of Quinoprotein," ed. by V. Davidson, Marcel Dekker (in press).
- (13) A. Watanabe and H. Nagashima : *Acta Med. Okayama*, **37**, 463—470 (1983).
- (14) H. Nishigori, O. Ishida, and I. Ogihara-Umeda : in "Enzymes Dependent on Pyridoxal Phosphate and Other Carbonyl Compounds as Cofactors," ed. by T. Fukui, H. Kagamiyama, K. Soda and H. Wada, pp. 515—517 (1991).
- (15) 石田 理, 西郡秀夫, 梅田 泉 : 第 112 回日本薬学会講演要旨集, **3**, p. 156 (1992).
- (16) C. R. Smidt, C. J. Unkefer, D. R. Houck, and R. B. Rucker : *Proc. Soc. Exp. Biol.*

- Med.*, **197**, 27—31 (1991).
- (17) A. Watanabe, N. Hobara, T. Ohsawa, T. Higashi, and T. Tsuji: *Hiroshima J. Med. Sci.*, **38**, 49—51 (1989).
- (18) 浦上貞治: 1991 年度日本農芸化学大会講演要旨集, p.381 (1991).
- (19) 小佐野博史, 脊戸川卓, 梅田 泉, 西郡秀夫: 第65回日本生化学会講演要旨集, p.795(1992).
- (20) H. Nishigori: 2nd International Symposium on PQQ and Quinoprotein. Abstr. p.39, Yamaguchi (1991).
-