

## トピックス

## ビタミン B<sub>6</sub> 化合物を含めて、3-ヒドロキシピリジン環を有する化合物はヒト皮膚細胞内で、光酸化ストレスにおける内因性の増感剤となる

ビタミン B<sub>6</sub> 化合物は抗酸化活性を示し、特に、一重項酸素のスキャベンジャーとなることが微生物を用いて、近年、明らかにされている。しかし、一方では、大量に用いると、ヒトでは、皮膚炎を発症させたり<sup>1)</sup>、光感受性を昂進する<sup>2)</sup>ことが知られている。また、ヒト繊維芽細胞に対する光ストレスにおいて、ビタミン B<sub>6</sub> 化合物(ピリドキサル 5'-リン酸を除く)が毒性を発揮することも報告されている<sup>3)</sup>。最近、ヒト皮膚細胞を用いて、ビタミン B<sub>6</sub> を含めて 3-ヒドロキシピリジン環を有する化合物が光増感剤となり、酸化ストレスを増大させることが Wondrak 等<sup>4)</sup>により報告され、ビタミン B<sub>6</sub> 化合物の害作用のメカニズムが示唆された。

ヒトの皮膚は、長期にわたって太陽光線を浴びるとがんが生じたり、老化が引き起される。これらの害作用は太陽光線の中の長波長紫外線(UVA)がおもな原因となっていることがわかってきている。UVA は皮膚に存在する内因性の光増感物質を経由して活性酸素種やフリーラジカルを発生させるとされている。

Wondrak 等の研究は図 1 に示すようなビタミン B<sub>6</sub> を含む 3-ヒドロキシピリジン環を有する化合物がこの内因性の光増感剤として作用している可能性を強く示した。これら化合物の中で、ピリジノリン(pyridinoline)はコラーゲンに UVA を照射したときに生成することが知られている。ピリドキシリジン残基を有する牛血清アルブミン

(ピリドキシリジン BSA)はピリドキサルと本タンパク質を混合した後、シアノボロハイドライドで還元して調製されたものである。

ヒト皮膚の繊維芽細胞の増殖は、0.5 mM のピリドキシン存在下、UVA を照射することで強く阻害された。ピリドキシン存在下での UVA 照射によって、培養液中に過酸化水素が生成された。しかし、ピリドキシン存在下での光増殖阻害は、過酸化水素を分解するカタラーゼを共存させても、部分的にしか回復しなかった。一方、フリーラジカルのスキャベンジャーである D-ペニシラミン(10 mM)を共存させると、コントロールレベルまで増殖能が回復した。一重項酸素のスキャベンジャーであるアジ化ナトリウム(10 mM)はまったく回復効果を示さなかった。これは、ピリドキシン存在下の照射によって一重項酸素以外の活性酸素種やラジカルが生じた結果、阻害作用が発揮されたことを示唆している。ピリドキサミン、ピリドキサル、ピリドキサル 5'-リン酸も光照射増殖阻害効果を示した。特に、ピリドキサルが強い阻害を示し、約 0.025mM で完全に増殖を阻害した。また、ピリドキシリジン BSA も光増殖阻害を示した。阻害を受けた細胞をフローサイトメーターを用いて解析した結果、これら細胞がアポトーシスをおこなっていることが分かった。

ピリドキシン存在下で UVA 照射した細胞で、酸化ストレスが昂進され、アポトーシスを引き起こす過酸化物の濃度が、実際に上昇していることは、過酸化物を細胞内で検出できる蛍光色素とフローサイトメーターを用いて確かめられた。また、ピリドキシンによる光増感作用において、光酸化ストレスにより促進されることが知られているリン酸化による MAP キナーゼの活性化も観察された。

ピリドキシン存在下での光照射により、タンパク質の変性が促進されることはトリプトファン残基をもたないタンパク質であるリボヌクレアーゼ A を用いて調べられた。その結果、本酵素はピリドキシン、ピリドキサミン、ピリドキサル、その他の光増感剤の存在下(各 0.5 mM)で、光重合を起こした。このピリドキシンの光増感作用はチオール抗酸化剤、銅イオンキレター、D-ペニシラミンによって阻害されたが、カタラーゼ、スーパーオキシドディスムターゼ、マニトール、ヨウ化カリウムによっては阻害されなかった。これらの結果は、ピリドキシンによる光重

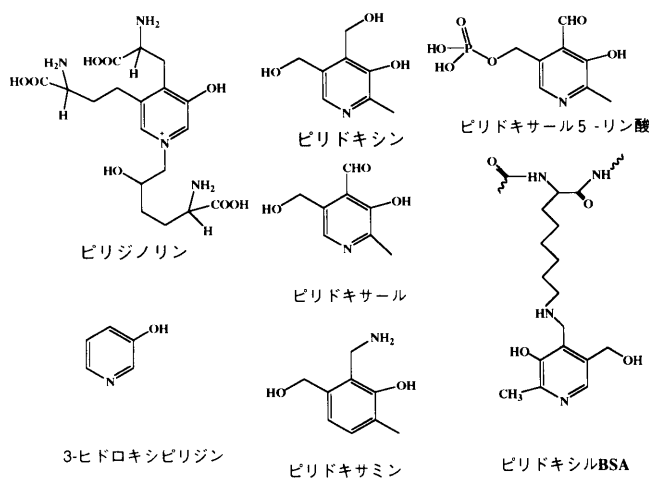


図 1. 光増感剤となる化合物。

合反応の増感作用は、酸素の有無に関わらず、ピリドキシンの光活性化物がはじめに生じ、これが次いで、電子移動反応を起こすことにより進行することを示唆している。

また、ピリドキシン存在下での光照射により、ペプチドの酸化が生じ、酸素がそのペプチド中に取り込まれることも明らかにされた。

この実験で用いられたピリドキシンの濃度は生理的レベルに比べ、かなり高いため、通常の食事で摂取するピリドキシン濃度で、光刺激による皮膚障害を懸念する必要は無いと思われる。しかしながら、糖尿病の合併症や高脂血症の予防・治療等の目的でピリドキシンを摂取しているときは害作用に気をつけなければならない。ビタミン B<sub>6</sub> 化合

物の化粧品への添加時にも注意を払う必要があるだろう。  
(高知大学・農・生物資源, 横地奈菜, 八木 年晴)

## 文 献

- 1) Yoshikawa K, Watanabe K, Mizuno N (1985) *Contact Dermatitis* **12**, 55-56
- 2) Murata Y, Kumano K, Ueda T, Araki N, Nakamura T, Tani M (1998) *J Am Acad Dermatol* **39**, 314-317
- 3) Maeda T, Taguchi H, Minami H, Sato K, Shiga T, Kosaka H, Yoshikawa K (2000) *Arch Dermatol Res* **292**, 562-567
- 4) Wondrak G T, Roberts M J, Jacobson M K, Jacobson E L (2004) *J Biol Chem* **279**, 30009-30020

## バイオフィクター (シグナル伝達物質)としての過酸化水素

スーパーオキシド(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), 過酸化水素(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ヒドロキシルラジカルなどの活性酸素(ROS)は、生体に障害を与え、がん、動脈硬化などの原因になる<sup>1)</sup>という考え方が一般に受け入れられているが、生体に必須の物質、特にホルモンのシグナル伝達物質という一面が注目されている。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は、タンパク質チロシンホスファターゼ(PTP)を可逆的に阻害することがわかっている。PTPは活性中心にpKa 5程度のCys残基を持つので、中性条件ではチオレート(-S<sup>-</sup>)に解離している。チオール(-SH)より酸化還元電位が低いためにH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>で簡単に酸化されてスルフェン酸(-SOH)等を経て、ジスルフィド等に変換される。これら酸化型には酵素活性はなく、結果としてタンパク質の脱リン酸化が阻害され、特定のリン酸化タンパク質が蓄積する。酸化されたホスファターゼを元に戻す酵素も存在する<sup>2)-4)</sup>。

PTP1BのH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による可逆的阻害機構が解明された。PTP1Bを等モルのH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>で処理すると、2hでCys215のSがSer216のNと結合してスルフェニルアミドが生成した。X線回折で見るとスルフェニルアミドになった酵素はかなり大きな構造変化を起こして活性もない。しかしスルフェニルアミドになったPTP1Bの結晶をDTT(ジチオスレイトール)やGSH(グルタチオン)で処理すると、活性型に戻る<sup>5)</sup>。

細胞内の多くの酵素がリン酸化によって活性が調節されている。リン酸化されたタンパク質はPTP1Bのようなホスファターゼによって脱リン酸化を受けることで特定のシグナルが持続しないように調節されている。細胞内の活性はホスファターゼの方がはるかに優勢なのでタンパク質は通常脱リン酸化状態にある。このため、一過性のリン酸化がシグナル伝達において意味があることになる。優勢なホスファターゼがH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>によって阻害されれば、大きな影響が出ることは容易に想像できる。

ここではホルモンの代表としてインスリンをとりあげる。インスリンのシグナル伝達の一部を図1に示した。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は脂肪細胞に対してグルコースの取込みを促進するなどインスリン類似作用を持ち、それに-SH基の酸化が関係している<sup>6)-7)</sup>とか、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>でインスリン受容体(IR)βサブユニット(IRβ)のTyrとSerのリン酸化が迅速に活性化されとか、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>処理した細胞から部分精製したIRのTyrキナーゼ活性は亢進しているが、部分精製した受容体にH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を作用させてもキナーゼ活性の亢進や自己リン酸化は起こらないのでこれらの作用はH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>がIRに直接的に引き起こすわけではなく、細胞内の他の因子(後で解明

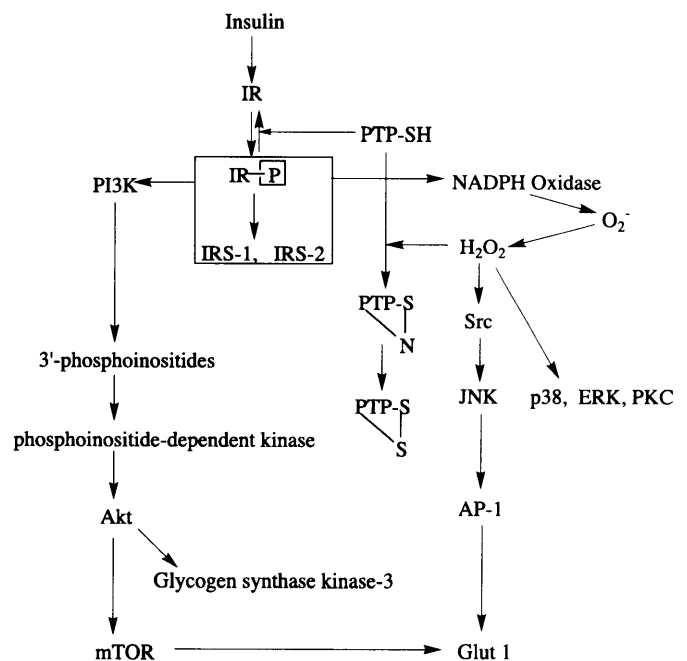


図1. インスリンのシグナル伝達と過酸化水素の関係。