

ピリドキサミンは活性カルボニル化合物のスカベンジャーとなり、  
タンパク質の修飾を防ぐ

天然には、ピリドキサル、ピリドキサミン(PM)、ピリドキシンとそれぞれのリン酸化型を含む6種類のビタミンB<sub>6</sub>(B<sub>6</sub>)化合物が存在し、このうちピリドキサル5'-リン酸とピリドキサミン5'-リン酸が補酵素作用を示す。また、最近すべてのB<sub>6</sub>化合物が一重項酸素のクエンチャー作用に基づき、抗酸化作用を示すことが見いだされている。これらの作用に加え、生理的な意義は不明であったが、PMは独自の作用として、非酵素的タンパク質糖化反応が引き金となって生ずる advanced glycation end products (AGEs) の生成を阻害すること<sup>2)3)</sup>、また脂質過酸化反応により生ずるタンパク質の修飾を阻害し、advanced lipoxidation end products (ALEs) の生成を防ぐこと<sup>4)</sup>が知られている。最近、さらにPMが炭水化物や脂質の分解によって生ずる活性カルボニル化合物のスカベンジャーとして作用し、タンパク質が修飾されることを防ぐことが示された<sup>5)</sup>。また、実際にPMがSTZ-糖尿病ラットにおけるネフロパシー

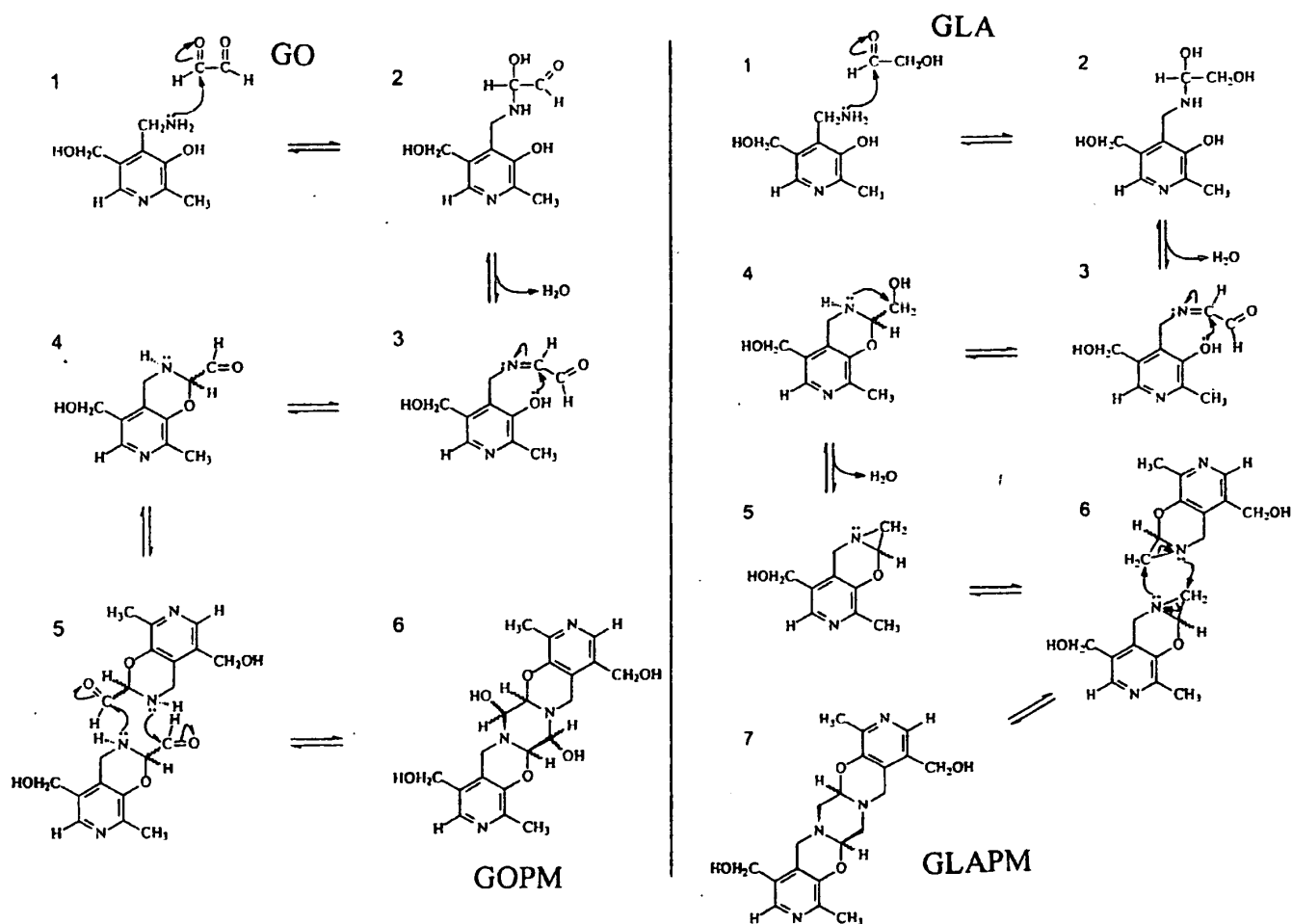


図1. ピリドキサミンとグリオキサール(GO)あるいはグリコールアルデヒド(GLA)との反応機構と反応産物<sup>5)</sup>。

PMのアミノ基によるGOのカルボキシル基への求核攻撃で反応が開始し、四面体中間体の脱水反応、ヒドロキシル基による求核攻撃を経てヘミアミナル環が形成される(Step 1~4)。反応中間体は縮合して最終生成物GPMを形成する(Step 5, 6)。PMとGLAはヘミアミナル環形成後、PMのアミノ基とGLAのメチレンの炭素が反応してアジリジン(aziridine)を形成する(Step 5)。GLAのメチレンの炭素による求電子反応により反応中間体は縮合し、最終生成物GLAPMが形成される(Step 6, 7)。

の予防に有効であることが報告された<sup>6)</sup>。

炭水化物、脂質、アミノ酸から生じる活性カルボニル化合物等によるタンパク質の非酵素的化学修飾は糖尿病、アテローム性動脈硬化症等の疾病や加齢と関連している。これらの活性カルボニル化合物はタンパク質のリジンあるいはアルギニン残基と反応し、タンパク質の構造と機能を変化させ、高分子のタンパク質凝集体を形成する。これらの凝集体は“カルボニルストレス”と呼ばれる条件下で、多くの疾病の進行に寄与すると考えられている<sup>7)</sup>。このため、これらのカルボニル化合物の合成阻害やトラッピングに基づく新薬の開発は重要な手段と成り得る。

PMが活性カルボニル化合物のスキャベンジャーとなることは、Voziyan等<sup>5)</sup>により明らかにされた。グリオキサール(GO)とグリコールアルデヒド(GLA)は、還元糖あるいは脂質の酸化によって生じる低分子量活性カルボニル化合物である。PMはこれら活性カルボニル化合物と中性の水溶性緩衝液中で、シッフ塩基中間体を形成した後、PMのフェノール性水酸基との分子内反応により閉環して、ヘミアミナル付加物を形成する。この2環から成る構造をした付加物は、さらに2分子が反応し、ピペラジン環を中心を持つ5環から成る化合物を形成する。これらの一連の反応を図1に示した。次いで、モデルタンパク質としてRNaseとBSAを用い、これらタンパク質のGOとGLAによる化学修飾に対するPMの阻害効果を調べた。PMはこれら活性カルボニル化合物によるLys残基の修飾を阻害し、RNase活性の低下を防いだ。またBSAについてはAGEでもありALEでもあるN<sup>ε</sup>-カルボキシメチルリジン(N<sup>ε</sup>-(carboxymethyl)lysine)残基の形成を阻害した。これらの結果は、PMがカルボニルストレスにおいても組織タンパク質の化学修飾を防ぐ作用を発揮する可能性を示唆した。

実際、STZ-糖尿病ラットを用いた実験において、PMの投与による糖尿病合併症や腎障害の軽減、皮膚コラーゲン中の脂質過酸化反応物N<sup>ε</sup>-カルボキシメチルリジン、血中トリグリセリド、コレステロール量の低下が確認された<sup>6)</sup>。また、ラット血漿中のGO、GLA濃度が数 $\mu\text{M}$ 程度であるのに対して、投与されたPMの濃度は比較的高く約100 $\mu\text{M}$ で維持された<sup>6)</sup>。このことから、PMが血漿中の過剰な活性カルボニルに対して濃度的に十分なスキャベンジ効果を与えるものと期待された。また、図1に示したように反応産物であるGOPMやGLAPMは、尿中に排出される安定な低分子化合物であることも注目すべき点である。

PMは、活性カルボニル化合物に対するトラッピング剤として、糖尿病合併症等の慢性疾患の治療に貢献する可能性がある。実際にどの程度の薬理効果を示すのか興味深く、食品、医薬への応用が期待される。

(高知大農 森田 友岳, 八木 年晴)

## 文 献

- 1) Khalifah RG, Todd P, Booth AA, Yang SX, Mott JD, Hudson BG (1996) Kinetics of nonenzymatic glycation of ribonuclease A leading to advanced glycation end products. Paradoxical inhibition by ribose leads to facile isolation of protein intermediate for rapid post-Amadori studies. *Biochemistry* **35**, 4645-4654
- 2) Booth AA, Khalifah RG, Hudson BG (1996) Thiamine pyrophosphate and pyridoxamine inhibit the formation of antigenic advanced glycation end-products: Comparison with aminoguanidine. *Biochem Biophys Res Commun* **220**, 113-119
- 3) Booth AA, Khalifah RG, Todd P, Hudson BG (1997) *In vitro* kinetic studies of antigenic advanced glycation end products (AGEs). *J Biol Chem* **272**, 5430-5437
- 4) Onorato JM, Jenkins AJ, Thorpe SR, Baynes JW (2000) Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation reaction, also inhibits advanced lipoxidation reactions. *J Biol Chem* **275**, 21177-21184
- 5) Voziyan PA, Metz TO, Baynes JW, Hudson BG (2001) A post-Amadori inhibitor pyridoxamine also inhibits chemical modification of proteins by scavenging carbonyl intermediates of carbohydrate and lipid degradation. *J Biol Chem* **277**, 3397-3403
- 6) Alderson NA, Metz TO, Chachich ME, Baynes JW, Thorpe SR (2001) An AGE-inhibitor, pyridoxamine (PM), is more

effective than antioxidants or enalapril (EP) in preventing nephropathy in STZ-diabetic rats. *The American Diabetes Association 61<sup>st</sup> Scientific Sessions. Abstracts*, p.696

- 7) Baynes JW, Thorpe SR (1999) Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. *Diabetes* **48**, 1-9