

高い発ガン活性を示す鉄キレートの構造特性

山形大学 理学部

西田 雄三

1. 鉄イオンとガン

最近の【日本鉄バイオサイエンス学会】での報告によれば、日本の若者の【鉄欠乏症】が非常に顕著であることが報告され、それに関する注意が喚起されている。【鉄欠乏】は確かに人間に重大な障害、特に脳に及ぼす障害は大きい。しかし、きちんとした医学的な検査結果もなく、いわゆる「鉄イオン含有サプリメント・食材」の無制限な摂取は、もっと危険な【鉄過剰症】を引き起こし、発ガンへと導く可能性の高いことが明らかになっている。【鉄過剰症】とは、トランスフェリンと結合していなくて、かつ人間にとって有害な作用を行う鉄イオン（NTBI = non-transferrin-bound iron, 日本語では生体不安定鉄と呼ばれている）が、体内に多量に存在している状態を意味するが、この種の「NTBI」はガンをはじめ、心筋梗塞・脳卒中・高血圧・糖尿病などの発症と密接に関連していることが指摘されており¹⁾、今後本文で指摘する「新しい視点に基づいた鉄イオンとの付き合い」が重要となろう。

ガンは現代における難病の一つで、日本では、年間30万人がガンで死亡しており、現在死亡原因第一位を占めている（平成17年）。このような背景から、厚生労働省は各局長や国立がんセンター総長らが参加した部局横断型組織「ガン対策推進本部」を立ち上げ、発病予防、医療政策、薬の承認、検診などの担当を分けて行って一貫性のある対策を進めようとしている。「ガンの治療法」については最近目覚ましい進歩があるが²⁾、我々庶民からいえば、ガン、脳卒中、高血圧、糖尿病などの生活習慣病に対する最高の治療法は予防することである。ただ、予防するためには発ガン過程の詳細な機構解明が必要であるが、「現代医学」もそこまでは到達していない³⁾。

「ガン」といっても非常に多種多様であるが、その中でも、原因がはっきりとしているガンもある。例えば、皮膚がんがその例の一つである。アスファルトを多用する工事従業者には皮膚がんを患う方が多いが、これはコaltarール中のベンズピレンに由来するものである⁴⁾。また、強い太陽光線に長時間にわたってさらされる船乗りたちの顔・手には皮膚がんが多く発生する。これは紫外線によるDNAの変形（2分子のチミンの結合など）が原因である。放射線による発ガンは、エネルギーの高い放射線によるOH・ラジカル形成に伴うDNA分解反応が原因と指摘されている⁴⁾。それではベンズピレン・大気汚染中の発がん性物質・紫外線・放射線をさければガンにならないのであろうか。どうもそれも真実ではなさそうである。例えばエジプトで見つかるミイラにもガンのあとが見られ、ガンは決して現代病ではなく、古代から知られている病気で、間違いなく後天性の場合も多いのである^{3,4)}。この後天性発ガンについては鉄イオンの関与がしばしば指摘されている。

【体内に余分の鉄イオン（NTBIを意味する）がありすぎるとガンになる】と聞いて、びっくりする方も多いのであるが、これは科学的支持を得ている現実なのである⁵⁾。最近のガンで話題となっているものにアスベストによる中皮腫ガンがある。安価で手軽な建築材として広く利用されてきたアスベストであるが、このアスベストを吸うと、胸膜の細胞から発生する【中皮腫】という一般にはめずらしいガンが高率で発生する。このアスベストの中でも発癌性の高いのが「青石綿」と呼ばれているものである。この青石綿には大量の鉄イオンが含まれており、鉄イオンの少ない白石綿の発がん性はずっと低い。

体内におけるNTBIの貯蔵量の大小が発ガンと密接に関連していることを示唆する多くの事実がある⁵⁾。日本ではデータはないが、アメリカではNTBIの多い人には、少ない人よりガン発症が多いと報告されている。C型肝炎と鉄イオンとの関係も上の考えを支持している。C型肝炎の患者は、ご存知のようにしばしば慢性肝炎から肝硬変になって、肝臓ガンになる。現在、日本の国内にはC型肝炎ウイルスに感染している人が200万人以上いるとされている。治療にはウイルスを排除し、増殖を抑えるインターフェロンの投与が一般的であるが、C型肝炎ウイルスのタイプが多様なため、日本では約30%の治癒率しか望めない。しかも、インターフェロンの投与は高価で、それほど一般的ではない。このC型肝炎ウイルス患者を詳細に調べた結果、体内にNTBIの多い人にはインターフェロンが効きにくいこと、C型慢性肝炎の患者にはNTBIを蓄積している人が多いこと、などが解った。そこで林久男教授によって新しい治療法が提案された。それは、なんと患者の血を抜く方法である(瀉血という)。10年くらい前から実際にこの方法が日本の病院で実施され、「瀉血法」の有効性が確認されてきている⁵⁾。

上で述べたように、NTBIによる毒性は明らかであるが、しかしNTBIの構造や毒性の出現機構は現在でも明らかにされていない。1982年、岡田教授らによって、鉄-(nta)キレート溶液[(nta)=ニトリロトリ酢酸]を動物に連続的に投与すると発ガンすることが報告された^{5,6,7)}。この事実は、「鉄イオンによってガンが発生する」ことを実証したと同時に、「鉄イオンによる発ガン機構」を明らかにするための格好な研究材料を提供したことに大きな意義がある。鉄-(nta)キレート溶液を投与すると腎毒性を引き起こすことも報告されているので、NTBIの構造として鉄-(nta)キレート類似体を推定することは科学的に合理的である。そう考えれば、鉄-(nta)キレート溶液を動物体内に投与することは人工的にNTBIを大量発生させることに対応するので、鉄-(nta)キレートに由来する発ガン・腎毒性の発生機構を明らかにすることは、NTBIによる毒性発現機構の解明につながり、その結果多くの生活習慣病を予防できるようになると期待される。

2. 人工鉄キレートによる発ガン現象におけるキレート構造依存性

すでに述べたように、Fe-(nta)キレートを動物に投与することで腎臓ガンを人工的に引き起こすことができるが、(nta)キレートに加えて、いくつかのキレート(図1)を用いて合成された鉄キレートを使用して実験が行われてきた。その結果を表1にまとめてあるが⁸⁾、明らかに腎毒性・腎臓ガン発生にはキレート構造が大きな影響を与えており、ただ単に鉄イオンが過剰というだけでは腎毒性・腎臓ガン発生は生じないことに注目する必要がある。

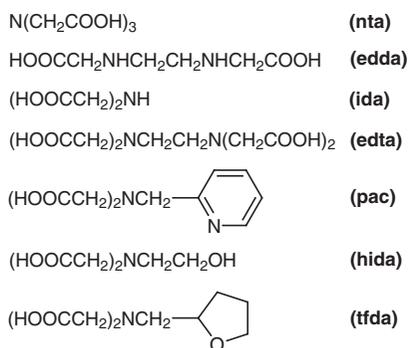


図 1

表 1. Effects of Iron Chelates on renal tubular injuries. (十は活性, ーは不活性)

Iron chelates	pH 6.2	pH 7.2	pH 8.2
Fe-(nta)	+	+	+
Fe-(edda)	+	+	+
Fe-(ida)	+	+	-
Fe-(edta)	-	-	-
Fe-(pac)	-	-	-
Fe-(hida)	-	-	-

注目すべき点をまとめると、1) 腎毒性・発ガン現象はキレート構造に大きく依存している⁸⁻¹⁰, [Fe-(nta) >> Fe-(edda) > Fe-(pac) ~ zero], 2) Fe-(ida) 錯体では、腎毒性は溶液のpHに大きく依存している⁸, 3) 腎毒性・発ガン現象は腎臓の近位尿細管近傍に集中的に観測される⁸, となる。この3点を明らかにすることが問題解決への近道であると考え、錯体化学的考察に立脚してその解明を続けてきた。

まず最初に、1) のキレート構造依存性に関する知見を得るために、Fe-(nta)とFe-(pac) 錯体の構造決定を行ったところ、2つの錯体ともオキソ・カルボナト架橋二核錯体で、構造的な違いがほとんどないことが判明した (図2, 3)¹⁰。

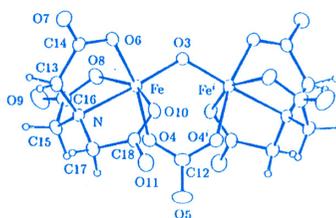


図2. Fe-(nta) 錯体の構造

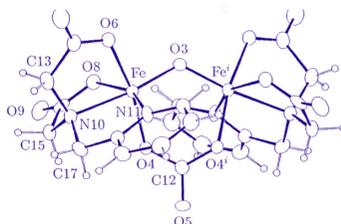


図3. Fe-(pac) 錯体の構造

この2つの錯体の構造にはほとんど差はないが、過酸化水素存在下での反応性に大きな違いが見られた。Fe-(nta) 錯体は過酸化水素存在下でリボースなどの糖の分解に高い活性を示すが、Fe-(pac) 錯体は、それを一切行わないのである (図4)^{10,11}。これはFe-(nta) 錯体溶液中では二核鉄(III)–パーオキシド付加体形成が容易に起きるが (図5), Fe-(pac) 錯体溶液ではそれが起きないことで説明されている^{10,11}。この考えは構造解析の結果からも支持される (表2)。

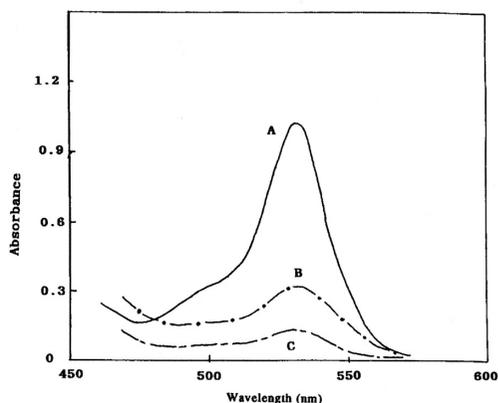


図4. 鉄錯体、リボース、過酸化水素を含む溶液と2-チオバルビツール酸との反応溶液を温めて得られた溶液の吸収スペクトル。

リボースの分解によるTBARSの生成は532 nmの吸光度の大小で判定できる。A: Fe-(nta), B: Fe-(edda), C: Fe-(pac) 溶液¹¹。TBARSとは、2-チオバルビツール酸と反応して発色する化合物で、マロンジアルデヒドをはじめとするアルデヒド化合物を指す。

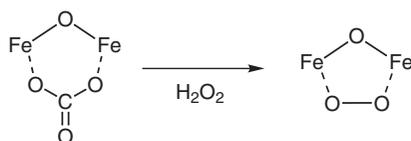


図5. $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{nta})_2(\text{CO}_3)]^{4-}$ 錯体は過酸化水素との反応によって炭酸イオンが容易に外れ、二核鉄(III)ーパーオキサイド付加体が生成する。

表2. 鉄錯体の結合距離 (Å)¹¹⁾

	Fe-(nta)	Fe-(pac)
Fe-Fe	3.188	3.186
Fe-N	2.246	2.235
Fe-O(oxo)	1.83	1.8
Fe-O4(CO ₃)	2.005	1.984
Fe-O6	2.025	2.061
Fe-O8	2.02	2.02
Fe-O10	2.082	
Fe-N(py)		2.166

2つの二核鉄(III)錯体 [nta]と [pac] の鉄-鉄間距離, 配位原子間距離などには大した違いは無いが, 架橋オキソ酸素原子と鉄原子, 架橋炭酸イオンの酸素原子と鉄原子との距離にかなりの差が見られる。すなわち, Fe-(pac) 錯体ではこれらの距離は, Fe-(nta) 錯体のそれらと比較するとずっと短い(表2)。これはオキソ・炭酸イオン架橋構造が前者の錯体 [Fe-(pac)] で, ずっと強固であることを示唆しており, これが原因で, Fe-(pac) 錯体のオキソ・炭酸イオン架橋二核構造は非常に安定で, 過酸化水素との反応で炭酸イオンが外れないのである。

一方, Fe-(edda) 錯体では過酸化水素との反応でカルボナトイオンが容易に解離する点では Fe-(nta) 錯体と似ているが, その結果, 折れ曲がりオキソ架橋二核鉄(III)種が大幅に減少していることが吸収スペクトルから確認できる¹¹⁾。この錯体を緑色の結晶として単離し, それを緩衝溶液に溶かすと二核錯体種の単核錯体への解離反応が進行することが吸収スペクトル・ESR スペクトルから確認できることなどから¹²⁾, 図4の実験条件下では図5で示されたような二核鉄(III)ーパーオキサイド付加体形成が大幅に抑制され, それが原因で Fe-(edda) 錯体の溶液では過酸化水素存在下でのリボース分解能は極端に低いと考えられる(図4, B)。

以上のことより, 図5で示した二核鉄(III)ーパーオキサイド付加体が, リボースを分解する活性酸素種であることは明らかである。このような二核鉄(III)ーパーオキサイド付加体は, 活性化されたパーオキサイドイオンの作用 [一重項酸素(¹Δ_g)に似た反応性を示す]^{13,14)}で, タンパク・DNAの分解・修飾反応を引き起こすことが明らかにされているので^{6,7,13)}, 私は生体内での活性酸素種のひとつにこの「二核鉄(III)ーパーオキサイド付加体」を考えている(後述)^{7,12,14)}。

3. 腎毒性に対する鉄-(ida)錯体のpH依存性

次に Fe-(ida) 錯体による腎毒性が, 投与する溶液のpHに依存している事実を考えてみよう。この錯体は結晶として単離する(溶液調整などの実験は25℃以下で行う)と, Fe₂O(ida)₄⁴⁻の組成をもつ錯体として得られる⁸⁾。この錯体は直線型オキソ架橋二核構造で(図6), 2個の鉄(III)イオンのそれぞれに, 2個のイミノ二酢酸アニオンが結合している点に特徴がある。

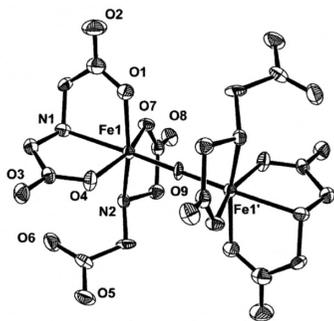


図6. Fe-(ida) 錯体の結晶構造

[イミノ二酢酸 (= ida)] / [鉄イオン] の比率を R とすると、結晶として単離された錯体では R = 2 ということになるが、この Fe(III)-(ida) 錯体の水溶液中での錯体種は 1 種類だけではないことが明らかになった。図7には、R を 1.2 ~ 3.2 (R は溶液調整時に制御した) に変動したときの、過酸化水素存在下でのリポース分解を TBARS の検出 (532 nm の吸光度) で見たときの結果を示した (20 °C)¹⁵⁾。あきらかなように、TBARS の生成は、R に大きく依存している。R を 2 以上にすると、TBARS の生成が見られない。これは図6に示した二核錯体では過酸化水素が鉄イオンに結合する部位が無いので、活性化

が行われず、TBARS が形成しないからであり、溶液中での主成分は図6に示した錯体であると推定できる。一方、R = 1.2 のときは、pH (7~8) にかかわらず大量の TBARS が形成しており、過酸化水素の活性化、すなわち過酸化水素と鉄(III)イオンとの結合が行われていることを示している¹⁵⁾。R = 1.2 溶液の過酸化水素活性化能力が pH = 8 と pH = 7 とで違ってないことなどから、Fe-(ida) 錯体溶液では式1の平衡が存在し、図6で示した錯体のほかに、配位子 (ida) が、1 個の鉄イオンに 1 個だけが結合したオキソ架橋二核鉄(III)種 (Fe₂O(ida)₂(H₂O)₄; 推定構造は図8に示した) も存在していることが示唆され、マススペクトルからその存在は支持されている。構造から言えば、オキソ架橋二核錯体 Fe₂O(ida)₂(H₂O)₄ での鉄-オキソ結合 (Fe-O) は、イミノ二酢酸が 2 個結合している二核種、Fe₂O(ida)₄⁴⁻ のそれよりも短くなるので、より安定である¹⁶⁾。実際に R = 4 で調整した溶液 (25 °C) を 35 °C 以上に熱すると水酸化鉄(III)の沈殿が生じるが、R = 1.2 の溶液では沈殿は生じない。これは Fe₂O(ida)₄⁴⁻ 錯体の Fe-O-Fe 構造の弱さを示している。

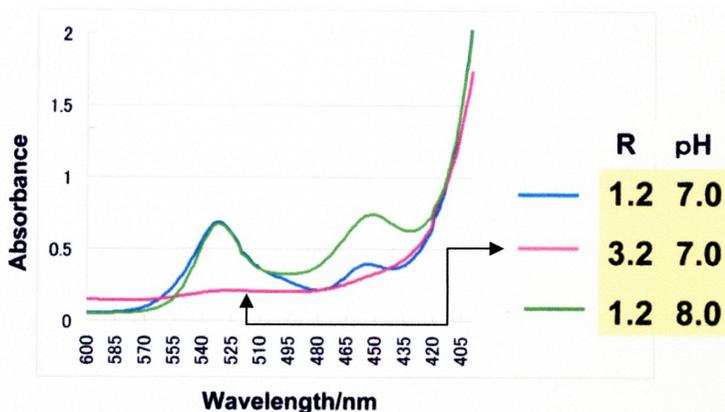
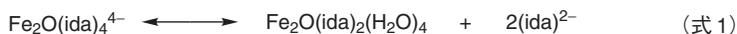


図7. Fe-(ida) 錯体溶液にリポース、過酸化水素を加えた溶液と TBA との反応溶液の吸収スペクトル¹⁵⁾。

この $(\text{Fe}:\text{ida}) = (1:1)$ のオキソ架橋二核錯体 $\text{Fe}_2\text{O}(\text{ida})_2(\text{H}_2\text{O})_4$ の構造について、PM5法で最適化構造を求めてみたところ、1個の鉄イオンに結合している2個の水分子がシス配置している構造(図8)が一番安定であることが解った¹⁷⁾。これより、過酸化水素はこの錯体と結合して、活性化されることが理解できる(図7)。

実際の動物実験では、 $R = 4$ の条件で溶液のpHを調整し(25℃)、それを動物に投与している⁸⁾。式1の平衡は、イミノ二酢酸の濃度および溶液のpHに依存する。pH = 8の溶液中では、式1の平衡は左側($R = 2$ 錯体形成)へ偏っているため、この溶液を動物(35℃)に投与すると、その弱いFe-O結合のため、水酸化鉄となって沈澱しやすく、かつ過酸化水素と結合できる鉄(III)イオンは存在しないので、腎毒性が低くなると予想されるが、実際に水酸化鉄(III)の沈澱が観測され、毒性もまったく観測されない⁸⁾。

これに対してpH = 5.2 ~ 7.2の溶液では、平衡は $R = 1$ のオキソ架橋二核錯体生成の方にずれており、かつ、動物体内へ投与した時点で(ida)濃度は薄まるので、その結果、動物体内中では $R = 1$ のオキソ架橋二核錯体が主たる成分として存在する可能性が非常に高く、それが強い腎毒性(表1)の原因となっていると断定できる。

上の議論をより確かめるため、我々は $\text{Fe}_2\text{O}(\text{ida})_4^{4-}$ と $\text{Fe}_2\text{O}(\text{ida})_2(\text{H}_2\text{O})_4$ (式1で現れた2種の錯体)のモデル錯体として、(Hedta)¹⁸⁾と(epy)¹⁹⁾のオキソ架橋二核鉄(III)錯体で検討した(図9)。(Hedta)の二核錯体では、鉄イオンはすべてキレート配位原子で覆われているので¹⁸⁾、鉄イオンの構造的特徴は $\text{Fe}_2\text{O}(\text{ida})_4^{4-}$ と非常に似ている。一方、(epy)錯体では(図10)¹⁹⁾、水溶液中では2個の塩化物イオンは外れるので、構造的には $\text{Fe}_2\text{O}(\text{ida})_2(\text{H}_2\text{O})_4$ と似た環境になることを理解されたい。これらの(Hedta)と(epy)のオキソ架橋二核鉄(III)錯体と過酸化水素との相互作用を調べた結果、後者の錯体でのみ過酸化水素の活性化能力を示すこと¹⁹⁾を見出しており、上での議論を支持している。実際、(Hedta)の鉄キレートを動物に投与しても、なんの害(腎毒性)も生じない⁸⁾。



図8. $\text{Fe}_2\text{O}(\text{ida})_2(\text{H}_2\text{O})_4$ の安定な構造 (PM5による)
 橙色：鉄原子，赤色：酸素原子，青色：窒素原子，灰色：炭素，白色：水素原子

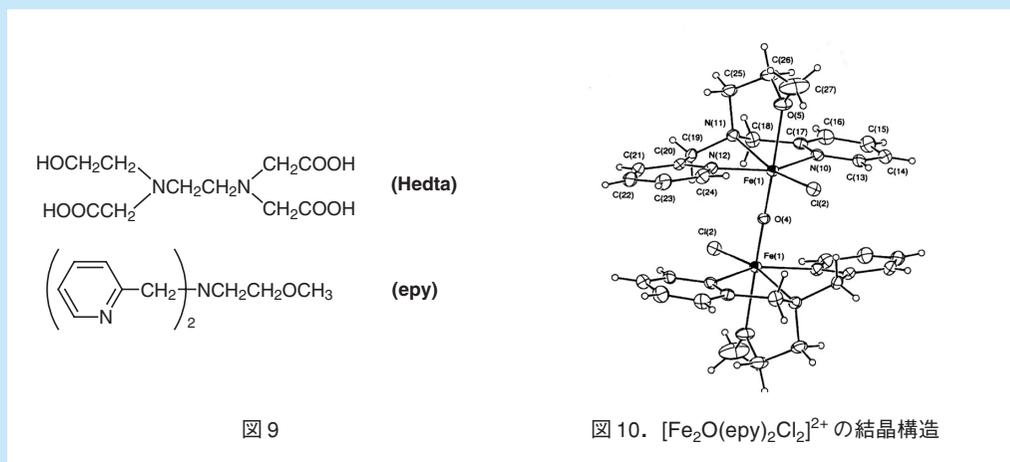


図9

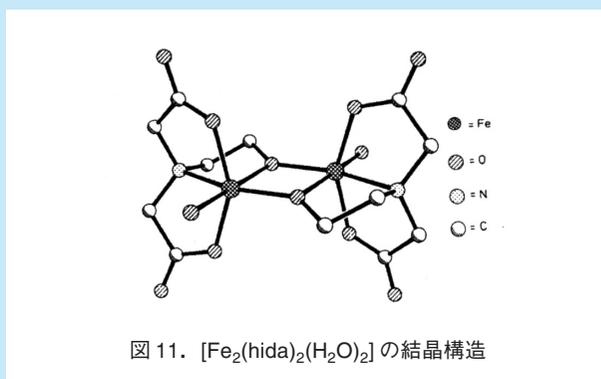
図10. $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{epy})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ の結晶構造

Fe-(ida)錯体に関して行った溶液中での錯体構造の平衡に関する考察は、動物実験の結果を理解する上で重要であろう。先に述べたように、Fe-(edda)錯体は調整した溶液中では、オキソ・炭酸イオン架橋二核構造で存在しているが、結晶（緑色）として単離し、それを水溶液に溶かすと緑色は消える。これは、Fe-(edda)錯体は、NaHCO₃存在下では折れ曲がったオキソ・炭酸イオン架橋二核構造であるが、NaHCO₃イオンが薄まれば容易に構造変化を起こし、モノマーへの解離反応が進行していることが解る¹²⁾。これと同じことが、動物に投与した時点で起きることを考えなくては行けない。動物に投与した時点で、(edda)濃度およびNaHCO₃イオン濃度が薄まり、モノマーへの解離反応が進行する。これに対してFe-(pac)錯体は結晶（緑色）を水溶液（緩衝溶液）に溶かしてもその緑色は消えず、非常に安定である。Fe-(nta)錯体の結晶（緑色）は、Fe-(edda)錯体と比較すればより安定であるが、時間と共にゆっくりとその緑色が消失していく。

4. Fe-(nta)錯体による腎毒性・発ガン発症の位置特異性の原因と活性種の構造特定

表1に示されている鉄キレートとアポトランスフェリンとの相互作用を調べた結果（吸収スペクトル, ESRスペクトル, およびキャピラリー電気泳動法), 腎毒性に高い活性を示す鉄キレートの鉄イオンは容易にトランスフェリンへ移行することが明らかになった^{8,12)}。また, 上で述べた(Hedta)と(epy)のオキソ架橋二核鉄(III)錯体とアポトランスフェリンとの反応を調べた結果, 後者の錯体の鉄イオンのみがトランスフェリンへ移動することがわかった。この鉄イオンがトランスフェリンへ容易に移動できるという構造的特徴が腎毒性と密接に関連していることが解った。

Fe-(hida)錯体も二核構造であるが(図11)²⁰⁾, この溶液を動物に投与しても, 腎毒性は見られないし(表1)⁸⁾, アポトランスフェリンと混合しても鉄イオンの移動は生じない。



一方, アルコキソ架橋二核鉄(III)錯体, Fe₂(HPTP)Cl₄ClO₄は, 腎毒性に大きな活性を示し, 鉄イオンのトランスフェリンへの移動が起きる。後者の錯体の場合, 鉄イオンと結合している4個の塩化物イオン(図12)は水溶液中では容易に外れ, そのため2個の鉄(III)イオンは, 蛋白と同時に相互作用できるようになる点で, 二核Fe-(hida)錯体と大きく異なる。

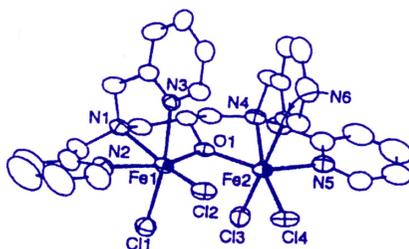


図 12. $[\text{Fe}_2(\text{HPTP})\text{Cl}_4]^+$ の結晶構造

多くの錯体を用いた結果から、二核構造の2個の鉄イオンが蛋白の表面部位と同時に相互作用できることが鉄イオンのトランスフェリンへの移行の重要な因子であることが明らかになった(図13)。Fe-(nta)錯体の鉄イオンは容易にトランスフェリンへ移動することは古くから分かっていたが、その機構として次のように考えられる。すでに述べたようにこの錯体の炭酸イオンは過酸化水素との反応で容易に外れると述べたが、同様にアポトランスフェリンとの相互作用でまず炭酸イオンが外れ、2個の鉄(III)イオンが蛋白表面の酸素原子(カルボン酸由来)などと相互作用し、鉄イオンが移動する(図13)¹²⁾。

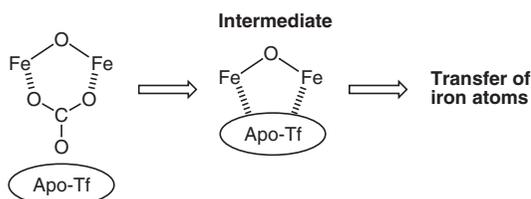


図 13. Fe-(nta) 錯体の鉄イオンのアポトランスフェリンへの移動機構(推定)

さて、Fe-(nta)錯体による腎毒性・腎臓がん発生は腎臓の近位尿細管部位で生じ、また近位尿細管の近傍でのみ不飽和脂肪酸・糖鎖の分解によると思われる大量のTBARSが確認されているが、これらの現象はそれ以外の場所では見られない。遠位尿細管などでは腎毒性が見られないので^{8,21)}、鉄イオンがあれば即、毒性が出るものではないことが、この事実からも言える。

この近位尿細管近傍ではグルタチオン還元酵素系が活発に作用しているという特徴がある²¹⁾。Fe-(nta)、Fe-(ida)錯体はアポトランスフェリンと容易に相互作用することから、グルタチオン還元酵素系とも容易に相互作用すると示唆されるが、そのときの相互作用の中身が重要である。我々はすでに、アルコキソ架橋二核構造を持つ $\text{Fe}_2(\text{HPTB})$ 、 $\text{Fe}_2(\text{HPTP})$ 錯体などは、酸素分子の存在下、一電子還元剤TMPDの酸化を容易に行い(このとき過酸化水素が発生する)、不飽和脂肪酸の過酸化反応を容易に触媒することを明らかにしてきたが、この事実は、いくつかの二核鉄(III)が、弱い還元剤の存在下で酸素分子と特異な反応性を示すことで注目されている²²⁻²⁴⁾。

一例として、 $\text{Fe}_2(\text{HPTB})(\text{OH})(\text{NO}_3)_2^{2+}$ 二核錯体に関する結果を簡単に述べる。この錯体は図14に示すように、アルコキソ架橋二核鉄(III)錯体であることと、2個の硝酸イオンは水溶液中では容易に外れ、2個の鉄(III)イオンが他の分子と2点で相互作用できる点に特徴がある。この錯体と、不飽和脂肪酸の一つであるリノレン酸と空気中で混合しておく、酸化反応の結果として生成するアルデヒド類が大量に検出される²³⁾。しかし、同じアルコキソ架橋二核アルミニウム(III)

錯体にはこの作用は観測されない。これらの結果から、鉄(III)イオンと酸素分子の対電子間の2点相互作用がリノレン酸との電子的相互作用によって促進・強化され(図15)²⁴⁾、その結果酸素分子が活性化され(中間体の酸素分子が一重項酸素性を帯びる)、リノレン酸の過酸化反応が進行し、その過酸化生成物の分解反応でアルデヒドが生成すると考えている²²⁻²⁴⁾。

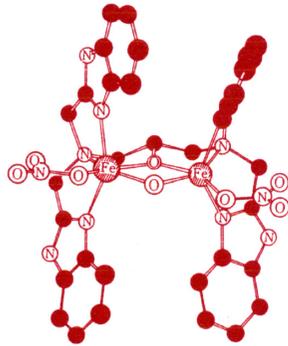


図14. $\text{Fe}_2(\text{HPTB})(\text{OH})(\text{NO}_3)_2^{2+}$ 錯体の構造

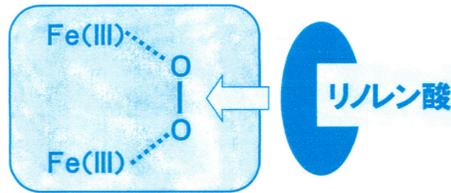


図15. $\text{Fe}_2(\text{HPTB})$ 二核錯体, 酸素分子, リノレン酸からなる複合体(推定構造)

図15において、リノレン酸の代わりに電子供与体であるTMPD (*N,N,N',N'*-テトラメチル-*p*-フェニレンジアミン)を反応させると、TMPDの1電子酸化反応が進行し過酸化水素が生成する²²⁾。この反応機構は、完全には解明されていないが、図15のような中間体を経て、TMPDから酸素分子への電子移動を二核鉄(III)錯体が触媒していることは明らかである²²⁻²⁴⁾。この二核鉄(III)錯体の特異な機能のため、酸素分子の存在下、炭酸イオンが外れた二核構造のFe-(nta)錯体がグルタチオン還元酵素系と相互作用すると、二核Fe-(nta)-パーオキシド付加体が形成すると予測される(図16)。

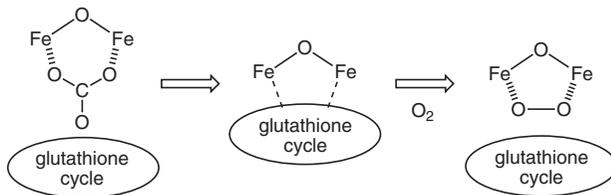


図16. Fe-(nta) 錯体とグルタチオン還元酵素系との反応による二核鉄(III)-パーオキシド付加体(右端)生成機構(推定)

このときの二核Fe-(nta)-パーオキシド付加体の生成に「蛋白表面と2点で相互作用できる二核鉄(III)錯体の存在」が大きく関与している。なぜならこのパーオキシド付加体の生成には、酸素分子と相互作用できる2個の鉄イオンの存在が必須(図15)であるからである^{23,24)}。この二核Fe-(nta)-パーオキシド付加体を腎毒性・腎臓ガン発生の活性種と考えると、腎毒性・腎臓ガン発症の位置特異性が説明できる。

Fe-(edda)錯体の場合、調整した溶液を動物に投与した時点で蛋白表面と2点相互作用できる二核鉄(III)錯体種が減少していると述べたが(前出)¹²⁾、これがこの錯体の発ガン活性が低い理由であり、加えられた鉄(III)イオンの量には無関係である。Fe-(pac)錯体では、その強固な二核構造のため、炭酸イオンが離れず、グルタチオン還元酵素系とは相互作用しないので、二核鉄(III)-パーオキシド付加体は形成されず、この錯体は発癌作用・腎毒性をまったく示さないのである。(edta)をはじめとする単核鉄(III)キレートが腎毒性を示さない事実⁸⁾も、同様に説明できる。以上のように、表1の結果およびは発症の位置特異性を合理的に説明できるのは、「二核鉄(III)-パーオキシド付加体が腎毒性・腎臓ガンの発症因子」と考えた時のみである^{12,24,25)}。

Fe-(nta)やFe-(ida)(R=1)錯体と同じような構造を持つ二核鉄(III)種が「鉄過剰症患者」の体内に存在する可能性が高いことが示されている(後述)¹⁶⁾ので、私は、これまでの議論から、①還元酵素系との相互作用、または②存在している過酸化水素との反応、を介して形成する二核Fe(III)-パーオキシド付加体を「鉄イオンによる発ガンおよび腎毒性の重大な活性種」と考えており、体内で見られる多くの「酸化ストレス」も主としてこのような二核鉄(III)-パーオキシド付加体由来だと考えている²⁴⁾。また、ここで述べた事実から、われわれは鉄(III)キレートとアポトランスフェリンとの相互作用を見ることで、腎毒性・腎臓ガンを引き起こすキレートか否かを判定できるようになった。

Fe-(nta)錯体と生体分子との反応はBatesの論文²⁶⁾以来非常に多くある。とくに岡田教授の発ガンの実証報告以来Fe-(nta)錯体による発ガン機構を調べた論文には枚挙にいとまがない²⁷⁾。さらに、岡田ら実験で明らかになった1)腎毒性・発ガン現象はキレート構造に大きく依存している、[Fe-(nta) >> Fe-(edda)^{9,10)} > Fe-(pac) ~ zero], 2) Fe-(ida)錯体では、腎毒性は溶液のpHに大きく依存している⁸⁾, 3)腎毒性・発ガン現象は腎臓の近位尿管近傍に集中的に観測される⁸⁾, の3点を明らかにすることが問題解決への近道であると述べたが、これらの問題解決が、我々の錯体化学的基礎研究の成果である「二核鉄(III)錯体の特異な機能」を適用して初めて達成されたことに注目して欲しいと思う。その結果、これまでは「なにが発ガン・腎毒性の発症因子なのか」が不明であったが、われわれの研究で「鉄イオンによる発ガン活性種」が明らかにされたので、この「発ガン活性種の化学的性質」に基づいて発ガン機構が解明されていくべきであり、またこの概念に基づいて新しい制ガン剤の開発も可能になったのである。

5. ヒドロキシルラジカルの関与について

さてここまで議論してくると、多くの読者には、「活性酸素についての議論が従来の定説とは違っているではないか?」と感じられる方も多いと思う。従来の多くの論文・解説書では「活性酸素とはヒドロキシルラジカルであり、それはフリーの鉄(II)イオンと過酸化水素との反応で生じる」と書かれており^{4,6)}、それがガンを誘導する化合物の代表として8-ヒドロキシデオキシグアノシン⁴⁾などの生成を介して、「発ガンする」と教わっている方も多いと思う。しかし、それは本当だろうか。これまでの定説に従えば、活性酸素の発生は存在する鉄(II)イオンの量に比例することになるが、表1の事実はこれとまったく相反する! Fe-(edda)錯体による腎毒性・腎臓ガン発生がFe-(nta)錯体よりずっと活性が落ちること、Fe-(pac)錯体は発ガンをまったく誘導しない、という事実はこれまでの定説では説明できないことをぜひ、認識されたい。

これまでに見出された事実は、単に鉄イオンがあれば腎毒性・腎臓ガン発生が起きるというものではないこと、および活性酸素の発生には鉄キレートの構造が大きく関与していることを明白に示しており、これまでの「活性酸素とはヒドロキシルラジカルである」という常識を、ここで捨てるべきであろう⁷⁾。もともと、Fenton 反応でいう「いわゆるフリーの鉄(II)イオン」というものは、体内では存在しない。生体内の鉄(II)イオンとは、それらはアミノ酸・ペプチド類などのキレート化合物である。このような鉄(II)キレートは酸素分子（または過酸化水素）との反応で容易に鉄(III)キレートに酸化され、酸素分子との反応においては、その際過酸化水素が発生する。生じた鉄(III)キレートは、過酸化水素と反応してオキソ架橋二核鉄(III)キレートを与える¹⁶⁾。ここで生成したオキソ架橋二核鉄(III)キレートの構造が Fe-(nta) や Fe-(ida) キレート構造と似ておれば、これらが発ガン・腎毒性の原因となることは表1の結果より明らかである。

Fenton 反応に由来するヒドロキシルラジカルの生成は、スピントラップ剤の使用で確認できると認められてきた。しかし、すでに指摘したように⁷⁾、この種のスピントラップ剤と反応するのはヒドロキシルラジカルのみではない。これらの事実を強く認識し、今後は生体内での活性酸素を議論する場合、ヒドロキシルラジカルにとらわれず議論することが望ましい。

6. 局所的鉄過剰症による発ガンとその由来

これまで人工的に得られる鉄キレートの大量投与による発ガンについて述べてきた。しかし、鉄イオンの大量投与・過剰摂取がなくても、特殊な臓器の周辺に大量の NTBI が集積し、ガンが発生する。この例について述べる。

フェリチンは鉄イオンの蓄積に重要な作用を示す。人間の場合、H-鎖とL-鎖があり、(1:1)の複合体を形成して、その作用を行う。しかし、いくつかの遺伝性家系ではそのH-鎖とL-鎖の数に違いがみられる。例えば、IRE (iron response element) に変異（例えばA49Uなど）が起きると、L-鎖のほうが相対的に多くできる。このような場合、鉄イオンの沈着が胃におき、胃がんになると報告されている¹⁶⁾。このときの鉄イオン沈着機構が西田らによって調べられた。それによれば、フェリチンは鉄(II)イオンを取り込んで、鉄(III)イオンとして貯蔵するが、そのとき生成する過酸化水素はH-鎖では利用されず、L-鎖での鉄(III)-オキソ架橋体の形成に利用される。このL-鎖で生成したオキソ架橋鉄(III)種は、オキソ・カルボン酸架橋構造で安定化されるが、このときカルボン酸基の立体配置が不都合なとき（オキソ・カルボン酸架橋構造が生成できないとき）は、鉄(III)イオンは水酸化鉄(III)となって沈殿する（先に述べた Fe-(ida) 錯体溶液を35℃以上にすると水酸化鉄(III)が沈殿するのと同じ理由）。これが胃で見られる鉄沈殿であるが、これはL-鎖とH-鎖の数が非等価であることが原因で起きる。

H-鎖で放出される過酸化水素がL-鎖で使用されずに細胞間に出てくると、ペプチド鎖と結合した鉄(III)キレート（NTBIやヘモジデリンなど）と反応して、オキソ架橋二核(III)種が大量に生成される¹⁶⁾。これはFe-(nta)キレートを大量に投与したのと同じ状況が体内で起きることを意味しているが、これは鉄イオンの過剰摂取で起きているのではないということに注目されたい。

すでに述べたようにC型肝炎ウイルスによる肝臓ガン発生・進展は肝臓周辺に集積した過剰の鉄イオンと密接に関連している。パーキンソン氏病・アルツハイマー病患者の脳には局所的な鉄イオンの過剰蓄積が見られるが³²⁾、これらの場合におけるNTBIの生成は、必ずしも過剰な鉄イオンの摂取・投与で起きる現象ではない^{24,30)}。同様な現象は異常プリオンに感染した牛にも見られる²⁸⁾。

7. 慢性腎臓病（CKD）と生体不安定鉄（NTBI）との関係

近年、慢性腎臓病（CKD）という新しい病気概念が指摘され、世界中で注目されている。この慢性腎臓病の治療は、アンジオテンシンⅡ抑制剤の使用、低蛋白質米による食事管理、各種危険因子の管理などで行われるが、年間4万人にも及ぶ透析導入、心血管障害合併による死亡につながり、新しい治療法が求められている。慢性腎臓病の治療法として、慢性腎臓病の原因の最上流にある生体不安定鉄（NTBI）、カルボニル化合物、AGE化合物³³⁾(図17)を除去する治療法が有望視されている。



図 17

慢性腎臓病では、ステージ4の段階にはいると荒廃したネフロンが増加により、残存ネフロンに負荷がかかり更に荒廃し、悪循環に陥り、透析導入確定となる。透析治療は、週3回必要であり、しかも透析に要する時間は4時間にもなり、患者のQOL（生活の質；Quality of Life）を損なうとともに、労働の機会を損失させている。そのため、ステージ3の段階で治療を行い、透析導入、心血管疾患合併を防ぐことができれば、多大な医療費（日本の透析医療費は1.2兆円超と言われている）の削減にもつながる。

生体内の鉄（特に、生体不安定鉄；NTBI）を体外に除去する治療法として、（1）瀉血療法、（2）鉄制限食法、（3）鉄キレート剤による薬物療法、などがある。瀉血療法（前出：林教授）は、患者のQOLがよいが、貧血や低たんぱく血症などの副作用があり、貧血の無い患者に対してのみ適用可能である。鉄制限食法は、栄養のアンバランスなどの副作用があり、一部の肝疾患のみ適用可能である。鉄キレート剤による薬物療法は、鉄キレート剤の効果は顕著であり、輸血後鉄過剰症の患者に対して主に利用されているが、軽度の鉄過剰または鉄代謝異常による一部臓器での鉄関連障害では、オーバーキレートによる副作用の頻度が高いと言われている。そのため、オーバーキレートによる副作用を示さず、トランスフェリン結合型鉄は捕捉せず、生体不安定鉄のみを捕捉できる鉄キレート剤の開発が求められている。

このようなキレートの合成に当たっては、鉄キレートの性質に関する詳細な知識が必須であると同時に、なぜ鉄キレートによって、腎毒性・鉄毒性が現れるのかを明白にしておかないと、キレート設計ができない。鉄毒性の原因が我々の研究で明らかになったので、目的とする鉄キレート剤の設計・開発が可能になった。また、慢性腎臓病発生の因子として上流にあるとされた生体不安定鉄に加えて、カルボニル化合物・AGE化合物が指摘されているが、すでにFe(II)溶液を投与すると、腎臓周辺に多くのカルボニル化合物が観測されるので、生体不安定鉄の除去は、先の図で示した、活性酸素・カルボニル化合物・AGE化合物の除去にもつながる、点をぜひ認識していただきたい。

アルツハイマー病、パーキンソン氏病患者の脳ではある特定部位に大量の鉄イオンの蓄積が見られることが明らかになっている³²⁾。これらの鉄イオンによる酸化ストレスで、AGEsが形成し、その影響で神経細胞が死滅し上記の脳疾患（アルツハイマー病、パーキンソン氏病）が起きると指摘されているので³³⁾、脳における特定部位の余剰鉄イオンの除去は、これらの病気の予防・治療に大きく貢献できることになろう。

8. おわりに

多量の生体不安定鉄(NTBI)の存在はすでに確認されているが(ヘモジデリンなどを含めて)、これらから誘導される可溶性の二核鉄(III)種のために過酸化水素が大量に生成すること²²⁻²⁴⁾、二核鉄(III)種は過酸化水素・酸素分子と反応して高い酸化活性を示すこと、過酸化水素は細胞膜を容易に通過できること、などから私がここで述べた【NTBIによる毒性発現機構】が正当に評価・理解され、「鉄イオンによる発ガン・生活習慣病への正しい予防・治療策」が展開されていくことを期待している。とくに無制限な「鉄含有サプリメント」の使用について注意を喚起し、正常な鉄イオンの摂取²⁹⁾に心がけることが多くの「成人病・生活習慣病の予防」につながることをぜひ理解されたい^{5,30,31)}。「鉄不足」に由来する重大な障害²⁹⁻³¹⁾と、この小文で述べた「鉄過剰」に由来する障害をも含めた「鉄イオンの功罪」を公開講座・教養講座・高等学校出前講義などを通じて広く一般社会へ情報公開する運動を行っている。これを「鉄学のすすめ」と呼び、多くの方々と共に実施中である。

今日、これらのNTBIを体内から除去するキレートの開発が、慢性腎臓病患者・C型肝炎患者や多くの院内感染菌患者救済の観点から切望されている³⁴⁾。「C型肝炎患者には瀉血法が有効」という現実を見て、「もっと科学的に有効な手法」があるべきだと考えているのは私だけではあるまい。現在、我々が開発したいいくつかの新キレート³⁵⁾について有望性が期待されており、近い将来この観点からの治療法が確立し、医療の向上・人類の福祉の向上に大きく貢献できるものと信じている。

参考文献

- 1) 栗井通泰, 臨床血液, **1989**, 30, 1115. R. W. Evans, *et al.*, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2008**, 13, 57; R. Grosse, *et al.*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2005**, 1054, 429; B. P. Esposito, *et al. Blood*, **2003**, 102, 2670.
- 2) <http://www.ganchiryo.com/lymph/index.html>.
- 3) 黒木登志夫, 「がんと遺伝子」, 共立出版(1997), 1461. Food, Nutrition and the Prevention of Cancer; a Global Perspective. World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research (1997).
- 4) 西村暹編, 発がん, 化学同人(1984).
- 5) 岡田茂, 「鉄と人体の科学」, 悠飛社(2005).
- 6) 栗井通泰, 蛋白質核酸酵素, **1988**, 33, 2844.
- 7) Y. Nishida, *FFIJournal*, **2007**, 212, 480.
- 8) R. Mizuno, *et al.*, *BioMetals*, **2006**, 19, 675.
- 9) M. Liu and S. Okada, *Carcinogenesis*, **1994**, 15, 2817.
- 10) Y. Nishida, *et al.*, *Chem. Lett.*, **1994**, 641.
- 11) Y. Nishida and S. Ito, *Polyhedron*, **1995**, 14, 2301.
- 12) Y. Nishida *et al.*, *Z. Naturforsch.*, **2007**, 62c, 608.
- 13) S. Nishino, *et al.*, *Z. Naturforsch.*, **1999**, 54b, 1272.
- 14) Y. Nishida, *Recent Res. Devel. Pure & Applied Chem.*, **1999**, 3, 103.
- 15) Y. Sutoh, *et al.*, unpublished results.
- 16) Y. Sutoh, *et al.*, *Z. Naturforsch.*, **2006**, 61c, 149.
- 17) H. Sakiyama, in press.
- 18) S. J. Lippard, *et al.*, *Inorg. Chem.*, **1967**, 6, 1825.
- 19) S. Ito, *et al.*, *Z. Naturforsch.*, **1997**, 52b, 719.
- 20) S. L. Health and A. K. Powell, *Angew. Chem.*, **1992**, 31, 191.
- 21) S. Okada, *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1993**, 301, 138; T. Kawabata, *et al.*, *Carcinogenesis*, **1997**, 18, 1389.
- 22) Y. Nishida, *et al.*, *Inorg. Chim. Acta*, **1985**, 96, 115.
- 23) Y. Nishida and K. Yamada, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1990**, 3639; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1992**, 94.
- 24) Y. Nishida, *Med. Hypothesis Res.*, **2004**, 1, 227; *The Chemical Times*, **2007**, No.2, 2-14.
- 25) T. Satoh, *et al.*, *J. Pharmaceutical Soc. Jpn.*, **2008**, 128 (Supple. 1), 67.
- 26) G. W. Bates, *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **1976**, 248, 3228.
- 27) S. Toyokuni, *Cancer Sci.*, **2006**, 97, 1159.
- 28) Y. Nishida, *The Chemical Times*, **2008**, No.2, 15-22.
- 29) 西田雄三, 【土と健康】, **2005**, No.3, 6-13.
- 30) 西田雄三, 「BSEの化学」, 牧歌舎(2004).
- 31) 西田雄三, 国連大学グローバルセミナー http://www.unu.edu/gs/files/2007/TH07_Nishida_JPabstract.pdf
- 32) 西田雄三, 分子細胞治療, **2005**, 4, 52.
- 33) S. Kikuchi, *et al.*, *Brain Res. Rev.*, **2003**, 41, 306; H. Choei, *et al.*, *Acta Neuropathol.*, **2004**, 108, 189.
- 34) C. Hershko, *et al.*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2005**, 1054, 124; W. Breuer, *et al.*, *Blood*, **2001**, 97, 792.
- 35) 特許

(Received Oct. 2008)

執筆者紹介

西田 雄三 (Yuzo Nishida)

山形大学 理学部 教授

【ご経歴】 1969年3月 九州大学大学院理学研究科博士課程中退, 同年4月 九州大学理学部助手, 1987年4月 山形大学理学部助教授, 1991年4月 同教授, 1998年4月 分子科学研究所教授(流動部門), 2000年4月 山形大学理学部教授, 現在に至る。理学博士。

【ご専門】 錯体化学, 生体無機化学, 脳疾患化学