

抗酸化能を有する解糖系中間体ホスホエノールピルビン酸の  
細胞・臓器保護剤としての可能性評価

生命薬科学専攻 医療薬学講座（薬剤情報分析学分野） 近藤 悠希

解糖系中間代謝物であるホスホエノールピルビン酸 (PEP) は、生体内の高エネルギーリン酸化合物の中で唯一 anion exchanger を介し細胞膜を通過し、細胞や臓器へ ATP を効率良く供給できる物質とされている。さらに、活性酸素種 (ROS) が関与する急性肺傷害モデルに対しての肺傷害抑制効果や難治性皮膚潰瘍モデルの創傷治癒促進効果、臓器保護作用を持つ血管内皮細胞増殖因子 VEGF 誘導作用など、PEP は ATP 供給作用だけでは説明できない機能を有していることが近年明らかとなってきた。これらの知見より、PEP には抗酸化作用など様々な機能を介した細胞・臓器保護作用が期待されている。

優れた細胞・臓器保存薬の開発が望まれている分野は数多く存在するが、その一つとして臓器移植時の臓器保存液開発が挙げられる。臓器保存中の細胞・臓器傷害を抑制することは、移植成績の向上のために非常に重要であるにもかかわらず、現在臨床応用されている臓器保存液は様々な欠点を抱えており、臓器保存や移植後の虚血再灌流に伴う細胞内 ATP 量低下や酸化ストレスによる細胞・臓器傷害を抑制する、より優れた臓器保存液成分の探索が現在でも精力的に行われている。

そこで本研究では、まず酸化ストレスに対する PEP の細胞保護効果および抗酸化能についての検討を行った。また、その結果とこれまでの知見を踏まえて、エネルギー供与能および抗酸化能を併せ持つ PEP の特性に着目し、新規細胞・臓器保存液成分としての PEP の可能性を検討した。以下に本研究で得られた知見を要約する。

- 1) ヒト子宮頸癌由来細胞株 HeLa 細胞において、PEP は過酸化水素 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) による細胞傷害を濃度依存的に抑制した。このとき、酸化ストレスにより上昇する細胞内 ROS 量増加を PEP は濃度依存的に抑制しており、酸化ストレスに対する細胞保護効果に PEP の抗酸化能が関与することが示唆された。
- 2) PEP の抗酸化能を検討したところ、 $\text{H}_2\text{O}_2$ , hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical, peroxyntirite ( $\text{ONOO}^-$ ) などの各種 ROS を消去することが明らかとなった。PEP は特に  $\text{H}_2\text{O}_2$  および  $\cdot\text{OH}$  に対して強力な抗酸化能を有しており、その作用は sucrose や還元糖である glucose よりも強力であった。ヒト子宮頸癌由来細胞株 HeLa 細胞において、PEP は解糖系阻害剤による細胞内

ATP 量減少を抑制したことから、ATP 供給作用を有することが示唆された。また PEP は、酸化ストレスによる細胞内 ATP 量減少に対しても抑制効果を示した。しかし、細胞内 ATP 量減少の抑制には、酸化ストレスに対する細胞保護効果を示す濃度よりもさらに高濃度の PEP が必要であった。この結果より、酸化ストレスに対する PEP の細胞保護効果には ATP 供給作用よりも抗酸化作用の寄与が大きいと考えられた。

- 3) ヒト肝癌由来細胞株 HepG2 細胞において、PEP は細胞内 ATP 減少が関与する低温/低酸素条件下における細胞傷害に対して、濃度依存的に細胞傷害を抑制した。また酸化ストレスによる細胞内 ROS 量増加や細胞傷害を抑制する作用は HepG2 細胞においても発揮された。この作用を利用して PEP の臓器保存液への応用を企図し、冷阻血肝臓保存モデルにおける臓器傷害に対する PEP の効果を検討したところ、PEP は濃度依存的に臓器保護効果を示した。さらに、PEP は保存中に肝組織が受ける酸化ストレスによる生体内抗酸化系の破綻および脂質過酸化を濃度依存的に抑制した。また、PBS に PEP のみを添加した単純保存液の臓器保護効果は、現在臨床で使用されている複雑な組成の university of Wisconsin 液と同等であった。PEP は、肝臓のみではなく腎臓においても同様に細胞・臓器保護効果を示し、その PEP 含有単純保存液の臓器保護効果は、現在臨床で使用されている Euro-Collins 液と同等以上であった。

以上の結果より、PEP は抗酸化能を有し、酸化ストレスや細胞内 ATP 減少が関与する細胞・臓器傷害に対して優れた保護作用を示すことが明らかとなった。本研究により得られた知見は、エネルギー供給能だけでなく、細胞保護能および抗酸化能を有する機能性分子として作用する新規細胞・臓器保護剤としての PEP の有用性を示唆するものであり、今後、PEP 含有臓器保存液の開発や PEP のさらなる応用の可能性を探索する上での有用な基礎資料になるものと考えられる。