

【研究報告】

# エルゴチオネインの再発見 ——その特殊な機能と存在の意味——

齊藤 威<sup>1</sup>・吉村義隆<sup>2</sup>

## 要 約

エルゴチオネイン (EGT) は、その発見から100年以上になるが、生体における「EGTの存在理由」は明確になっていない。活性酸素を生命維持に利用している好気性生物は、一方で、精密な酸化防御システムを機能させ、活性酸素による障害を防いでいる。しかし、この数百年に出現した人工放射能、環境汚染物質、化学物質などが高速で大量に生成する活性酸素には応答できていない。EGTは、防御システムが処理し切れなかったラジカルを、既存の酸化防御システムと競合することなく消去する。本論文では、この「EGTの存在理由」を、ここ100年余の研究成果を基に明らかにしている。EGTの特殊な機能性を、放射能障害、放射線治療や化学療法による二次障害、大気汚染物質による呼吸器や心臓疾患、糖尿病に起因する合併症、化学物質による発癌、医薬品による肝臓・腎臓障害、難病による病態、虚血・再灌流障害、痛風、感染症による二次障害、皮膚疾患や老化、赤血球病態、水銀・カドミウム中毒など、現代の多種多様な疾患との関係の中で検討するとともに、これらの疾患の予防・改善に必要なEGT量を、OHラジカルの生体内動態やEGTの臨床例などに基づいて導出している。また、EGTの医薬品としての将来性と今後の研究課題についても提案している。

キーワード：エルゴチオネイン、ヒドロキシラジカル、反応速度、脂質過酸化反応、閾値、体内保存量、タモギタケ

## 1. はじめに

### ——何故、今、エルゴチオネインか——

エルゴチオネイン（以後EGTと表記）は100年以上も前に発見された (Tanret, 1909)、親水性含硫アミノ酸のひとつに過ぎない。この100年間に多くの研究が進み、詳細な研究成果が蓄積されている。今では、EGTに関する膨大な情報が、Webでも簡単に得ることが出来る。しかしそこでは、EGTが持つ高い抗酸化力ばかりが強調されていて、EGTの「唯一無比」ともいえる機能性、医薬品としての将来性は殆んど認識されていない。専門の論文においても「EGTの生体内 (*in vivo*) での役割は良く分かっていない」というのが共通の認識になっている (Cheah and Halliwell, 2012)。

EGTは生体の酸化防御システムには組み込まれていないので、「EGTの存在理由」を不明とするのも無理からぬことである。しかしながらEGTは、現代人にとって不可欠なアミノ酸であり、現代人が苦しんでいる多様な疾患の防御と改善に有効な物質である。この「EGT

の存在理由」は、酸素をエネルギー代謝に利用している好気性生物が、進化の過程で長い時間をかけて獲得してきた酸化防御システムと、ここ数百年に出現した人工放射能、環境汚染物質、抗癌剤や抗生物質などの医薬品、農業や食品添加物、殺虫剤や除草剤、虚血再灌流などの新しい事態との対立を、進化の文脈の中で総合的に考察して初めて理解可能となる。

本論文の目的は、「EGTの存在理由」を、EGTの特殊な機能性と現代社会が抱える多様な病態との関連の中で解明することにある。一方、EGTが現代人にとって不可欠なアミノ酸であったとしても、高価格では一般の使用は不可能である。最近ではEGTを含むサプリメントが販売されているが、やはり価格は高めであって、日常の利用には程遠い。我々、玉川大学農学部、IAS総合研究所、その他、複数の大学の研究者からなる研究チームは、タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*、英名 golden oyster mushroom) が含有するEGTを、化学薬品を使用することなく富化し抽出する方法を研究中であり、乾燥重量100 gあたり1000 mg以上のEGTを含有

<sup>1</sup> IAS総合研究所 福岡県柳川市城隅町22-11

<sup>2</sup> 玉川大学農学部生命化学科 東京都町田市玉川学園6-1-1

責任著者：吉村義隆 ystk@agr.tamagawa.ac.jp

するタモギタケを安定的に生産する方法を確立し、安価で安全なEGTを提供することを目指している。タモギタケによるEGT生産に関しては別報で報告することとし、本論文では、これまでに報告されている数多くの研究論文の結果から、現代人にとってのEGTの有用性を考察する。

2章「生体の酸化防御システムとエルゴチオネインの特殊性」では、好気性生物が進化の過程で獲得した酸化防御システムを概観し、人工放射能、環境汚染物質、化学物質などが高速で大量に生成する活性酸素には、現行の防御システムでは応答できないが、EGTの特殊な機能性によって対応が可能となることを、この100年の研究成果を基に整理する。3章「エルゴチオネインの機能と多様な疾患の予防と改善」では、このEGTの特殊な機能性を、具体的な疾患との関係で議論する。4章「疾患の予防・改善に必要なエルゴチオネイン量の見積り」では、必要なEGTの量を簡単なモデルに基づいて導出し、このモデルに基づいて導出した投与量が、シスプラチンによる副作用の軽減に効果があるEGT投与量と一致することを紹介する。5章では、EGTの将来性と今後の研究課題について述べる。

## 2. 生体の酸化防御システムとエルゴチオネインの特殊性

### (1) 生体の酸化防御システムとエルゴチオネイン

ヒトは酸素をエネルギー代謝に利用して生命を維持している。摂取した酸素の数%はスーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ 、以下スーパーオキシドと表記) などの活性酸素となり (Boveris et al., 1972)、感染したウイルスやバクテリアの殺菌 (貪食作用) (Hampton et al., 1998)、排卵後の黄体縮退 (Sugino, 2005)、タンパク質の合成と分解やDNA修復の遺伝子発現 (Bauer and Bauer, 1999, 江口ら, 2009) などに利用されている。一般には、これらの活性酸素は、生体細胞に酸化ストレスを与えて疾患や老化の元凶となる「悪者」、良くて「功罪相半ば」であるが、活性酸素が無ければ生体を維持することは出来ない。スーパーオキシド自体の化学反応性は比較的弱く、それ自体の生物学的毒性は小さい。さらに、摂取した酸素で作られる約  $10^{-11}$  M のスーパーオキシドに対して約  $10^{-5}$  M という、約100万倍の還元酵素SOD (superoxide dismutase、スーパーオキシドジスムターゼ) が貯蔵されている (Fridovich, 1983)。スーパーオキシドが過剰となっても、この還元酵素SODにより、酸素と過酸化水

素 ( $H_2O_2$ ) に変換される (Takahashi and Asada, 1982)。過酸化水素は甲状腺ホルモンの体内合成 (Taurog, 1986) に不可欠な物質であるが、一方でDNA損傷を起こす有害物質でもある。たとえ過酸化水素が過剰となっても、体内に十分備わっているカタラーゼ (Catalase) やグルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-peroxidase) などの体内の還元酵素により、安全な水と酸素に変換される (Comporti, 1987)。還元できなかった過酸化水素は、赤血球 (ヘモグロビン) や肝臓細胞などに含まれている鉄イオン ( $Fe^{2+}$ ) と反応して (Fenton, 1893)、非常に活性の高いヒドロキシラジカル ( $\cdot OH$ 、以後OHラジカルと表記) となり、脂質過酸化連鎖反応を開始させ (Mead, 1952)、過酸化脂質を蓄積し (Nakatsugawa and Kaneda, 1983)、多くの疾患を引き起こす。たとえOHラジカルが脂質過酸化の連鎖反応を開始させても、体内に保存されているビタミンEが、この連鎖反応の過程で生成された脂質ペルオキシラジカル ( $LOO\cdot$ ) を、過酸化脂質 ( $LOOH$ ) に変えることで、連鎖反応を停止させ生体を保護する (Burton and Ingold, 1986, Niki, 1987)。図1にスーパーオキシドの生成からOHラジカルによる過酸化脂質の生成までの流れを示す。

図1に示すように、連鎖反応を停止させたビタミンEは酸化されてビタミンEラジカルになる。細胞膜内にビタミンEは、過酸化反応を起こす生体膜系不飽和脂肪酸エステルの約500分の1しか保存されていないが (井上, 1992)、ビタミンCにより還元され再生される。酸化されたビタミンC (デヒドロアスコルビン酸) はグルタチオン (GSH) により再生される。このように、少量のビタミンEであっても、再生産され再利用されるので問題は起こらない。活性酸素による生体の維持と、活性酸素による酸化ストレスから生体細胞を防御する一連の過程は、好気性生物が進化の過程で獲得した酸化還元代謝システムであって、通常状態であるかぎり問題が起こらない。連鎖反応を引き起こす、最も危険なOHラジカルに対応する還元酵素が体内に存在していないのも、ビタミンEが機能しているので、進化の過程で形成される必要がなかったのである。しかしながら、人工放射能やPM2.5などの大気汚染物質、抗生物質や抗癌剤などの医薬品、農薬や食品添加物、虚血再灌流、麻酔薬などは、生命の進化の過程では存在しなかったここ数百年に出現した「異常物質」であり、これらの物質によっても、活性酸素やOHラジカルが高速で大量に生成される。放射線は体液と相互作用して高速で大量のOHラジカルを直接生成する。PM2.5やディーゼルエンジン排気微粒子

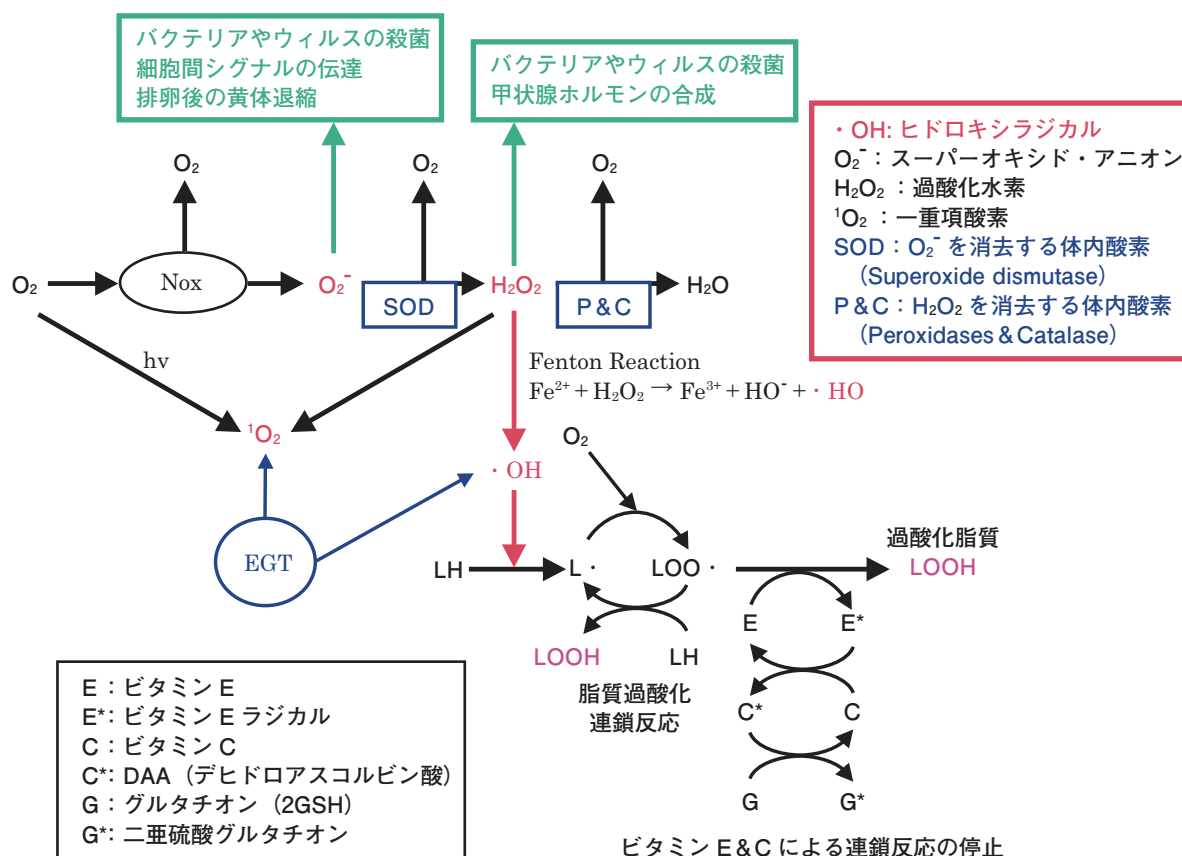


図1 生体の酸化防御システム

スーパーオキシドO<sub>2</sub><sup>-</sup>や過酸化水素H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は上図に示すように生体維持のために不可欠である。過剰なO<sub>2</sub><sup>-</sup>やH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は、体内酵素SODやP&Cにより水と酸素に変換される。また、過剰なH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は、ヘモグロビンなどに含まれている鉄イオン(Fe<sup>2+</sup>)と反応(Fenton Reaction)してOHラジカルが生成される。OHラジカルが脂質(LH)と反応して脂質ラジカル(L·)ができると、酸素と結合し脂質ペルオキシラジカル(LOO·)を作り過酸化脂質(LOOH)を連鎖的に生成する。体内に保持されているビタミンEはOHラジカルにより生成されたLOO·と反応して過酸化脂質(LOOH)を生成させて連鎖反応が継続するのは防ぐ。酸化したビタミンEはビタミンCによって、酸化されたビタミンCはグルタチオンによって還元される。正常状態であればこのように、進化の過程で形成された酸化防御システムが機能し問題が無い。しかし、人口放射能、大気汚染物質、化学物質など、大量に高速で生成されるOHラジカルには、ビタミンEでは対応できない。エルゴチオネインはOHラジカルを直接還元して脂質過酸化連鎖反応の進行やDNA塩基や酵素タンパク質の化学変化を阻止する。

(DEP) や石綿などの極微小粒子に曝露されると、生体はウイルスやバクテリアの殺菌と同じように、白血球(好中球)を活性化させ、大量のスーパーオキシドを生成させて応答する(Zhang et al., 2003)。

ビタミンEの反応速度は $\sim 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、ラジカルとなったビタミンEを再生するビタミンCの反応速度は $\sim 4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Inagaki and Yamamoto, 2014)程度で、放射線や化学物質で生成される大量のOHラジカル( $\sim 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )には対応できなくなり、脂質過酸化の連鎖反応を開始させ、過酸化脂質を蓄積させ、動脈硬化、脳梗塞や心筋梗塞、腎炎、白内障など多くの疾患を引き起こす(Desai et al., 1964, Wilbur et al., 1957)。OHラジカルは脂質の過酸化だけでなく、DNA塩基や酵素タンパ

ク質の化学構造を修飾させ(Ekert, 1973)、糖質を酸化させて、癌やその他の多種多様な疾患を引き起こす。

これらの疾患に対して、体内還元酵素であるSOD系薬剤やビタミンEやグルタチオン(GSH)などの抗酸化物質を投与すれば改善されるという無数の臨床例がある。しかしかえって疾患を悪化させ(Albanes, 1999, Omenn et al., 1996)、死亡率を上げるという報告(Miller et al., 2005)もある。この矛盾した報告は両方共に真なのである。生体の酸化防止システムに深く関わっている還元酵素や抗酸化物質を投与すれば、疾患を一時的に改善させることができる。とくに欠乏症や急性疾患には不可欠な処方である。しかし逆に、これらの抗酸化物質は、既存のシステムと深く関わっているが故に、繊細なシス

テムの中のひとつを投与すれば、かえってシステムのバランスを乱し疾患を悪化させる (Bjelakovic et al., 2007)。例えば過剰にSOD系抗酸化物質を投与すれば、図1のSODの反応が過剰に進み、上昇した過酸化水素の量を処理できなくなり、結果としてOHラジカルが生成し病状を悪化させる。これに対してEGTは、次章で議論するように、生体の防御システムとは独立し競合していないので、生体の既存の防御システムを乱すこと無く、余剰のOHラジカルをすばやく還元して安全な水に変える。

宇宙線や、体液や食物に含まれているカリウム40などの自然放射線もOHラジカルを生成して酸化ストレスの要因となる。しかしこれらの量(線量率)は、40億年の生命の進化過程で経験済みで、ビタミンEの応答能力の範囲内であって問題は起こらない。しかし自然放射線の3倍程度( $\sim 3 \text{ mSv yr}^{-1}$ )の線量率(閾値)になると(Nakazawa and Nagatsuka, 1980)、既存の体内システムでは処理できなくなって脂質過酸化の連鎖反応が始まる。OHラジカルは、自然放射線だけでなく、PM2.5などの大気汚染物質、食品に含まれる化学物質、抗癌剤や抗生物質などの医薬品、喫煙などによって日常的に体内で生成され続けている (Makino et al., 1986)。放射線だけでなくこれらの全ての物質が生成するOHラジカルの総和が、自然放射線の3倍に相当するOHラジカル量(生成率)になれば、脂質過酸化反応が開始される。殆ど現代人はすでに、多様な起源のOHラジカルに日常的に曝されているので、たとえ低線量の放射線であっても、加算されて脂質過酸化の閾値を超えてしまう。特に、心臓や肺に既往症のある人、大量の医薬品を服用している人、代謝機能に問題を抱えている人などは、癌が顕在化するより先に既往症の悪化が先行する可能性がある。

## (2) エルゴチオネインの特殊な機能性

EGTが分子量229.3という小さな含硫アミノ酸に過ぎないにもかかわらず、多様な機能性をもっている理由は、図2に示すその化学構造にある (Barger and Ewins, 1911)。

化学式は簡単であるが、[イミダゾール+ベタイン]という構造は、生物界では稀な存在である。還元反応に関与するのは、EGTもグルタチオン(GSH)も同じチオール基(SH)であるが、イミダゾール環に結合したチオール基は、GSHの、システインに結合したチオール基とは生体内で異なった反応を示す。EGTは大量のOHラジカルを高速で除去できる高い抗酸化能を持っているにもかかわらず摂取しても何故安全なのか。EGTの「唯一無比」ともいえる特長をまとめる。

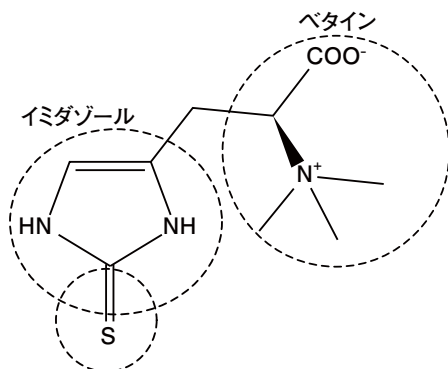
### 1) EGTの還元力は弱い

EGTは、実験室(in vitro)、特に酸性の環境では全ての種の活性酸素に対し高い還元力をもっている。しかし生体内の濃度やpH(7.4)では、EGTはチオール型(R-S-H)よりチオン型(R=S)に平衡が傾いており(Bojarska-Olejnik et al., 1985)、硫黄Sは二重結合で強く結合しているため還元力が弱い。そのため、体液中の酸素分子、生体内酵素SODが還元対象としているスーパーオキシド、カタラーゼが還元対象としている過酸化水素( $\text{H}_2\text{O}_2$ )とは殆ど反応せず、体内に還元酵素がないOHラジカルと反応する (Rougee et al., 1988, Akanmu et al., 1991)。反応性に乏しいので生体内では壊れないで数日も安定な状態にある。体液中でもチオール型を維持するシステインやグルタチオンは還元力が強く、血液から酸素を奪って低酸素状態にしたり、タンパク質のジスルフィド(SS結合)を切断し立体構造を崩したりする (Jocelyn, 1972)。体液中でEGTの還元力が弱いということは、安全性という観点から極めて重要であり、体内の酸化防御システムを乱すことなく、OHラジカルを還元することができる。これがEGTの安全性の基礎であり、最も重要な特長の一つである。

### 2) EGTとOHラジカルとの反応速度は速い

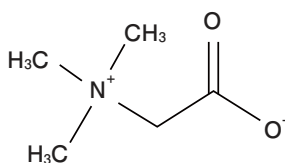
一重項酸素( $^1\text{O}_2$ )との反応速度はpH7で、EGT: $2.3 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、GSH: $2.9 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である (Rougee et al., 1988)。EGTの、1電子の酸化還元反応であるOHラジカルとの反応速度は $1.2 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  (Akanmu et al., 1991)と他のチオール類より約1桁大きい。OHラジカルは、生成すると瞬時(体液中では100 ns $\sim$ 100  $\mu\text{s}$ に局所領域(20 $\sim$ 30 nm)を無差別に酸化する (Huettermann et al., 1978)。生体内では図1に示すように、OHラジカルによって引き起こされた脂質過酸化反応は、ビタミンEが $\text{LOO}\cdot$ を $\text{LOOH}$ の過酸化脂質にすることにより停止する。一方、EGTは、脂質過酸化反応が起こらないように、連鎖反応のスイッチであるOHラジカルそのものを直接高速( $1.2 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )に還元する(OHラジカルはEGTからHを引き抜いて安全な水になる)。このOHラジカルとの反応速度は、アミノ酸( $\sim 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) (Masuda et al., 1973) やDNA( $\sim 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) (Greenstock et al., 1969)よりも速いので、結果としてEGTがタンパク質やDNAを防御することになる。EGTの還元作用は、ビタミンEが機能する前であり、EGTはビタミンEと競合しない。

## エルゴチオネイン



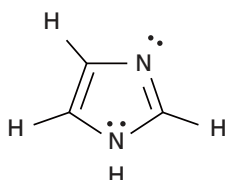
エルゴチオネインは、2-メルカプトヒスチジン トリメチルベタイン (2-mercaptohistidine trimethylbetaine) と呼ばれ、下図に示すように、各構成要素が異なる機能性を持っているので、 $M_w = 229.3$  の低分子量であるにもかかわらず、多様な機能を有している。チオール型 (R-SH) とチオン型 (R=S) が存在するが、生体内ではチオン型に平衡が傾いている。

## ベタイン(トリメチルグリシン)



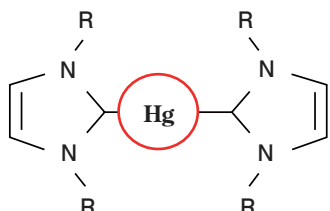
+と-の電荷を持つので分子全体としては電荷を持たない。細胞外高浸透圧を調整。変性に対してタンパク質の構造を安定化。保湿剤として化粧品に利用されている。先天性ホモシステイン尿症の薬。

## イミダゾール



イミダゾールは酵素の活性中心として働く。タンパク質内では金属と結合し高次構造 (金属タンパク質) を作る。工業的にも金属表面処理、有機エレクトロルミネッセンスの材料に利用されている。

## イミダゾールと金属錯体



イミダゾールは  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$  などの2価金属と非常に安定な錯体を形成する。体内に取り込まれた水銀やカドミウムの金属活性を止めて排泄するので、キレート剤として機能する。放射性 Sr の除去にも効果がある可能性がある (要検証実験)。

図2 EGTの多様な機能性はその化学構造にある

3) EGTは各組織に輸送されトランスポーターによって細胞内に取り込まれる

経口摂取されたEGTは、胃で分解されることなく、数時間後には各組織に輸送され、肝臓、腎臓、肺、心臓、精囊、骨髄、筋肉、皮膚、水晶体、赤血球などに、 $0.3\sim 3\text{ mg (g tissues)}^{-1}$ の範囲で (Hartman, 1990) 保持される。健康なヒトの血液中 (Melville, 1958) やマウスの血液中 (Kato et al., 2010) には $1\sim 4\text{ mg (100 mL)}^{-1}$ のEGTが保持されている。EGTは水溶性であるので脂溶性区画である細胞膜を通過できない。EGTはトランスポーター OCTN1により細胞膜を通過し (Gründemann et al., 2005, Kato et al., 2010)、細胞内にも保存される。従ってトランスポーター OCTN1が多く発現している組織に、EGTが多量に存在することになる。図3に、各組織 (マウス) に含有するEGT量の肝臓に対する相対比を示す。

図3に見るように、EGTは、体内組織が受けるラジカルストレスの大小に応じて約6グループに配分されていることが分かる。解毒処理で酸化ストレスが最も高い肝臓、次いで腎毒性物質の排泄と再吸収をする腎臓、次いで [小腸、心臓、肺、脾臓、皮膚、血液、赤血球]、次いで [大腸、膵臓、胸腺、筋肉、精囊]、[脳、尿]、そしてOHラジカルを還元することができる尿酸を大量に含んでいる血漿 (Ames et al., 1981) には殆んど輸送されない。EGTは生体内の還元酵素や抗酸化物質が対応できていない部分でその機能性を発揮していることがわかる。EGTは既存の酸化防御システムと独立しているにもかかわらず、図4に示すように、体内の還元酵素SODやカタラーゼと同じ機能を果たしている。

EGTのトランスポーターが臓器の酸化ストレスの大小や、体内還元酵素の機能を識別していると考えられるが、その機構の解明は重要な課題である。

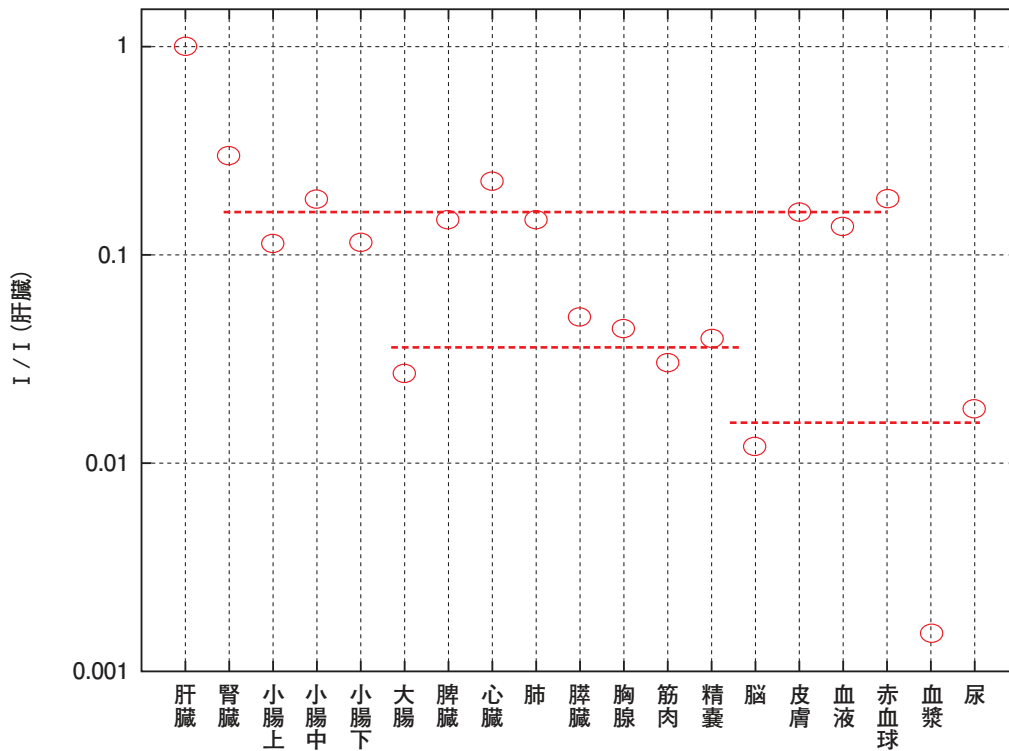


図3 EGTの輸送先

Kato et al. (2010) 表1のデータを用いて、肝臓のEGT量に対する相対比として新たに作成した。経口摂取したEGTは、体内組織・細胞が受けるラジカルストレスの大小に応じて配分される。肝臓は毒物などの分解で最もストレスが大きく、次いで腎臓は毒性物質の排泄と再吸収などでストレスが大きいため、多くのEGTが配分される。血漿は、OHラジカルのストレスに曝されているにもかかわらずEGTは少ししか配分されていない。これは、OHラジカルを還元できる尿酸が $2.6\sim 7.5\text{ mg (dL)}^{-1}$ 含まれているので、EGTを必要としていないことを示唆している。

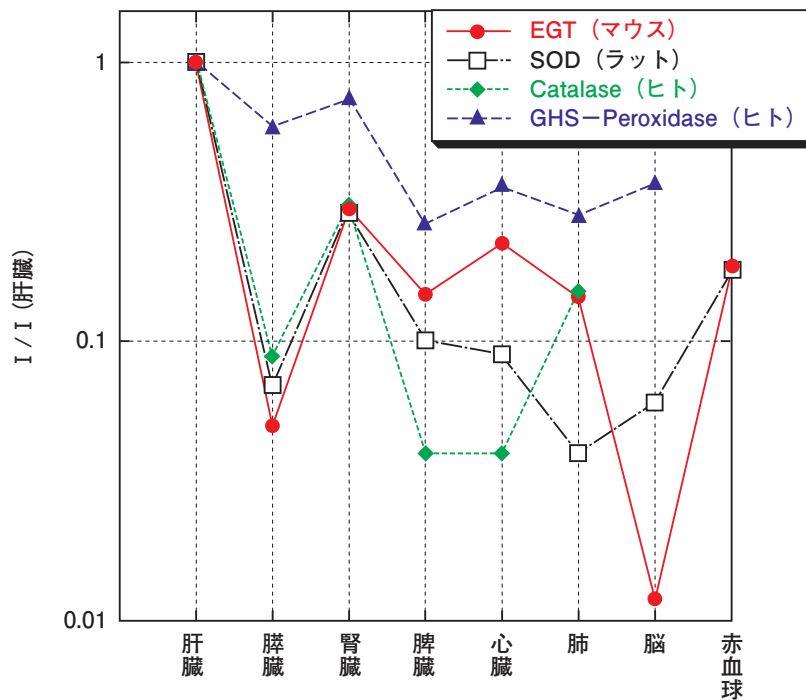


図4 EGTと体内還元酵素の体内分布の比較

井上 (1992) 22頁表とKato et al. (2010) 表1のデータを用いて、肝臓のEGT量に対する相対比として新たに作成した。EGTの体内分布は、既存の体内還元酵素SODやカタラーゼと似た配分傾向を示し、最も重要な膵臓、腎臓、赤血球で一致している。EGTは生体の既存の酸化防御システムには組み込まれていないにも関わらず、生体の防御システムと全く同じ機能を果たしていることが分かる。脳へのEGT量が少ないのは、図3の血漿のように、脳ではすでに既存の抗酸化物質が機能している可能性や、あるいは脳全体ではなく脳の特殊な局所に多く輸送されている可能性も考えられる。

#### 4) EGTは各組織に長期間保持される

ビタミンCの体内半減期は30分程度、脂溶性ビタミンEは1日程度と短いので、食品から毎日摂ることが必要である。EGTは水溶性であるにもかかわらず長期間保持される。ビタミンの体内半減期は、4. (1) 3) で議論するように、摂取量や吸収率に依存する。従って、一度に大量に投与した場合の半減期と、毎日少量を投与した場合の半減期とは1桁以上異なった値となる。図5は、一度に投与したEGTの体内分布である。

経口投与したEGT量は、小腸や血液では急激に、肝臓では緩やかに減少しているが、その他の生体組織では15日後でも、1日目の値と同じか（腎臓、大腸、膵臓など）、さらに増加する傾向（脾臓、心臓、肺、筋肉、皮膚、精巣、胸腺など）にある。毎日の食餌では、ラットのEGTの血液中濃度は、最初の3ヶ月で2倍に増加し、メスのラットでは18ヶ月（実験の限界）で一定値 (plateau) になる (Mackenzie and Mackenzie, 1957)。サウジアラビ

アでの健康なヒト（男性）の調査によれば、EGTの赤血球濃度は、1歳から10歳の間に増加し、18歳で最大値 ( $3.7 \text{ mg (100 mL)}^{-1}$ ) に達しその後は50歳まで減少して一定値 (平均  $2.8 \text{ mg (100 mL)}^{-1}$ ) になる (Kumosani, 2001)。

このようにEGTは体内に長期保存が可能である。IV章で議論するように体内に一定のEGT量を保持（「基礎保存量」）することで、日常のあるいは予期せぬ突然のOHラジカルストレスに対応することができる。

#### 5) EGTは金属錯体を作る

EGTの化学構造を構成しているイミダゾール (図2) は2価の金属  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  (安定な順番) などと結合して安定な金属錯体を作り (Hanlon, 1971, Motohashi et al., 1974)、3. (12) で述べるように重金属による障害を防止する。

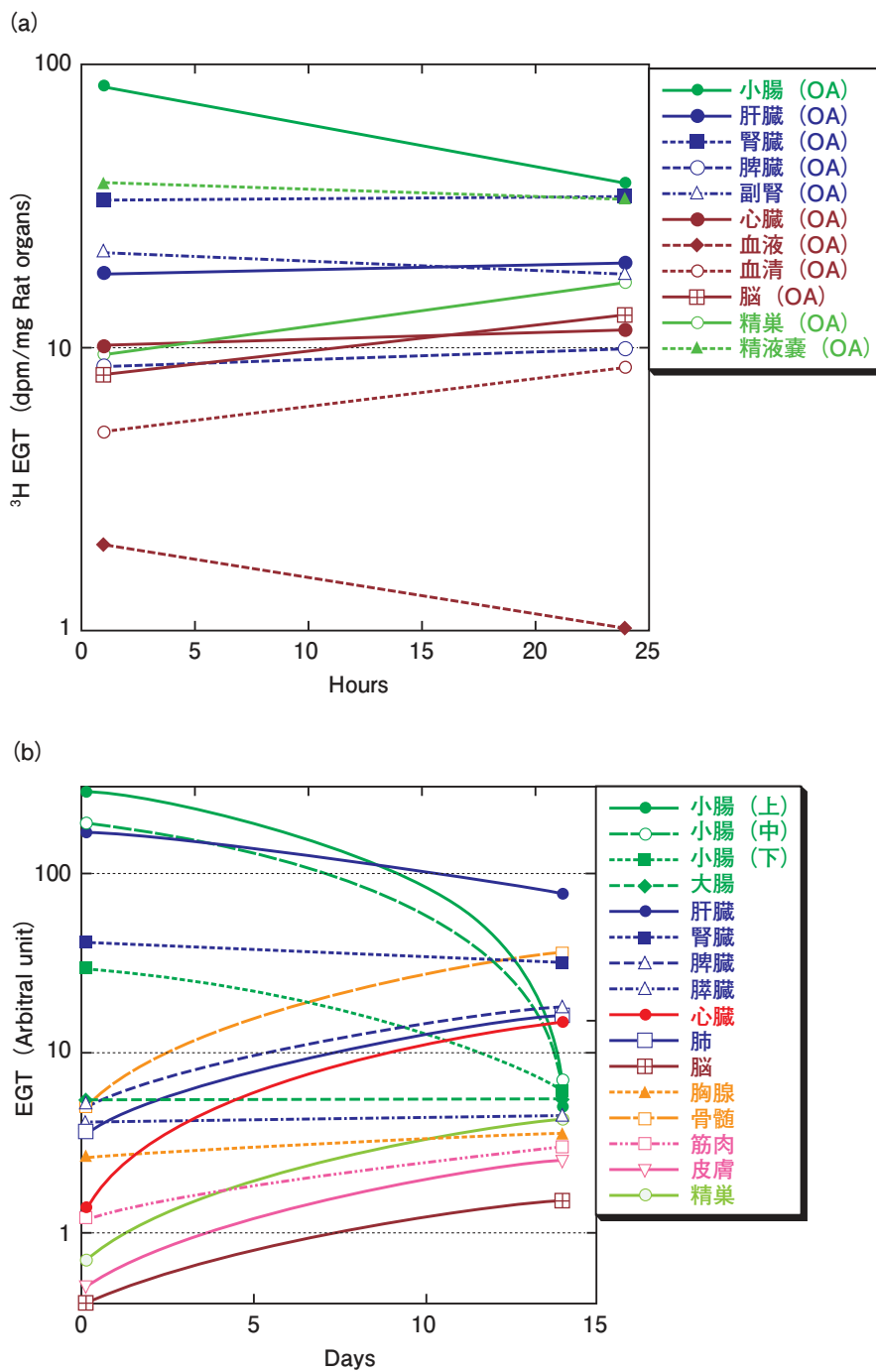


図5 経口投与したEGTの体内での時間変動

(a) は浜ら (1972)、(b) はKato et al. (2010) のデータを用いて新たに作成した。(b) の元データは、 $^3\text{H}$ で放射性ラベルしたEGTのTissue/Plasma比であるが、Plasma濃度は4時間後から14日に渡ってほぼ一定なので、Plasma濃度を基準にしてEGT濃度の変化(任意座標)を示した。データは2点しか無いが、見やすくするため増減を曲線で示している。蓄積・保持から排泄までの長期の実験データが望まれる。



#### 6) ヘモグロビンやミオグロビンの酸化を防ぐ

生体内ではイオン化した金属が多様な機能を果たしている。例えば赤血球のヘモグロビン ( $\text{Fe}^{2+}$ ) は、酸素を結合(酸化ではなく酸素化)しオキシヘモグロビン ( $\text{Fe}^{2+}$ ) となって酸素を運ぶ。ヘモグロビンが酸化されてメトヘモグロビン ( $\text{Fe}^{3+}$ ) になると酸素を運べなくなり、臓器が酸素欠乏状態に陥る。EGTはオキシヘモグロビンがメトヘモグロビンになるのを阻止する (Mortensen, 1953, Smith and Reeves, 1987)。

また、ミオグロビン (Mb III) は、運動の激しい筋肉組織、特に心筋中に大量に存在して、代謝で必要となるまで酸素分子を貯蔵しておく色素タンパク質である。ミオグロビンが酸化によってフェリルミオグロビン (Mb IV) となると、酸素供給ができなくなって、心筋細胞を破棄しうっ血性の心不全などを引き起こす。EGTは、フェリルミオグロビンを高速で還元しミオグロビンに戻す (Arduini et al., 1990)。

#### 7) ヒトはEGTを体内で合成できない

体内で合成できない必須アミノ酸やビタミンは、偏食のない日常的食事から簡単に摂取できる。EGTは現代人にとって「必須」であると考えられるにも関わらず、キノコ、それも特別なキノコにのみ偏在しており (Ey et al., 2007)、食品から簡単に摂取できない。このように食品から簡単に摂取できない「必須」成分は、EGTが唯一といえる。

#### 8) EGT自体の毒性は現在のところ報告されていない

高純度のEGTが他の未知の物質と結合して発癌性などの有害物質となる可能性も否定できないが、短期実験では毒性は確認されていない。しかしホメオスタシーに関わる物質には必ず正と負の二面性がある。EGTだけをこの原則の例外とする根拠は無いので、EGTの負の側面を発見するのは重要課題である。活性酸素の「正」と「負」の二面性はすでに議論したとおりだが、万病の元凶だけと考えられている過酸化脂質もまた、膜脂質交換や細胞分裂を調整する「正」の機能をもっている可能性がある (Vladimirov et al, 1989)。

### 3. エルゴチオネインの機能と多様な疾患の予防と改善

病気の90%は、体内で生成される過酸化脂質が関与していると考えられている (井上, 1992)。EGTが疾患

を直接的に治癒するのではない。疾患の原因となる過酸化脂質の生成や、DNAや酵素タンパク質を変質させるOHラジカルを消去することで、結果として多様な疾患を予防し改善させることができる。

#### (1) 放射能障害および放射線治療による二次障害

放射線は、体液と相互作用してOHラジカルを瞬時に直接生成する (Kiefer, 1990)。癌だけでなく、心臓疾患、呼吸器疾患、血液系疾患、肺疾患などOHラジカルが関与する疾患を引き起こす。生体内でOHラジカルを直接生成するのは放射線だけであり、この高速で生成されるOHラジカルを還元できる抗酸化物質はEGTが唯一である (Appendixes 1. (1) 参照)。

一方放射線治療では、癌細胞内に大量のOHラジカルを生成させてDNAを修飾し癌細胞を死滅させる。しかしOHラジカルは正常細胞にもダメージを与えて、二次障害を引き起こす。Appendixes 1. (2)で議論するように、EGTトランスポーターによるEGTの癌細胞への輸送量は正常細胞より少ないと考えられるので、EGTは放射線治療を妨害することなく、正常細胞のOHラジカルを消去し、正常細胞を守ることができる。一方経口投与されたEGTの多く(約40%)は肝臓と腎臓に輸送されるので (Kato et al., 2010)、抗癌剤の腎毒性から肝臓や腎臓を守ることができる。EGTはGSHのように癌細胞に抗癌剤抵抗性 (Chan et al., 1989)を生じさせることはない。放射線治療の照射開始前までに「必要な量」(4章)のEGTを体内に保持しておくことで、治療と対立することなく正常細胞を守ることができる。(Appendixes 1.)

#### (2) PM2.5など大気汚染物質による呼吸器障害、心臓疾患、性機能障害など

生体は、バクテリアやウイルス(数十~数百nm)に感染すると、図1のNox (NADPH Oxidase) 酵素ファミリーの発現により、好中球やマイクロファージ活性化させ、酸素に電子を与えてスーパーオキシドを生成しバクテリアやウイルスを攻撃する(貪食作用)。これと同様に、大気汚染物質PM2.5 ( $\leq 2.5 \mu\text{m}$ のうち50~200nmの粒子)やディーゼルエンジンガスDEP (50~100nm)、石綿(20~350nm)など体外から進入した極微小粒子に対してだけでなく、生体内で生成された尿酸結晶(100nm~)などの極微小粒子に対しても、好中球を活性化させて大量のスーパーオキシドを生成して攻撃する。粒子の径が1 $\mu\text{m}$ 程度だと、肺胞に達するのは10~20%程度に過ぎないが、粒子の径が小さいほど、気道の奥まで

侵入し、肺胞に沈着し、アレルギー性鼻炎、気管支喘息や肺癌などの呼吸器系疾患の原因となる。100 nm以下の超微小粒子は透過性が高く、肺組織を透過して血管や循環器へ移行し、急性心筋梗塞など心臓・循環器系の疾患を発症させる。さらには、リンパ節にも移行し、生殖器に至れば性機能障害（ED）だけでなく精子数の著しい減少を引き起こす。海馬や大脳皮質へ、さらには母体からの胎児へ移行する（Takeda et al., 2009）。体内酵素で還元できなかったスーパーオキシドはOHラジカルとなる。EGTはトランスポーターOCTN1により、生体組織のいたるところに輸送され、極微小粒子が生成するOHラジカルを消去する。EGTは乳腺と乳房上皮細胞にも輸送されており（Ontko and Phillips, 1957）、母乳を通じてEGTを新生児へ渡すことができる。

EGTは、スーパーオキシド由来のOHラジカルだけでなく、二酸化硫黄や窒素酸化物などの化学物質が生成する活性酸素をも還元する（Appendixes 2.）。

### (3) 糖尿病に起因する動脈硬化、心筋梗塞、脳溢血など

余剰な糖がタンパク質や脂質と反応する糖化反応は100年以上前から研究されているが（Maillard, 1912）、その生成過程も最終生成物（AGEs: advanced glycation endproducts）も複雑で、解明されたものは多くない。糖化反応の多様性は糖鎖の多様性に起因する。例えば、3種類のアミノ酸からは $3 \times 2 \times 1$ の6種類のペプチドしかできないが、3種の糖からは、結合部位の多さや結合様式の違いにより1,000以上の異なる構造の糖鎖を作ることが出来る。この多様性が糖化反応および生成物の多様性となっている。従って、糖鎖を作る糖転移酵素が欠損したり、活性が無かったり、構造上に変化を起こすなど、糖尿病の原因も疾患の種類も多様となる。

糖尿病が難問なのは、糖化反応の過程でもOHラジカルが生成されることである。生成物AGEsの多くはそれ自体がラジカルである。糖化過程では還元酵素SODをも糖化させる（Araki et al., 1987）ので、酸化防御システム自体が不全となり、さらにOHラジカルが連鎖的に量産される。OHラジカルやAGEsラジカルは、過酸化脂質を蓄積させ、心臓病（高血圧、動脈硬化症）、癌、末端神経障害、認知症、難聴、白内障、網膜症など、過酸化脂質を起因とするありとあらゆる疾患を引き起こす。1952年すでに「動脈壁粥状の程度と過酸化脂質の量とに極めて高い相関がある」ことが報告されている（Glavind et al., 1952）。合併症では特に糖化したSODが

増加している（Kinoshita et al., 1990）。

このように糖尿病が多様で複雑な過程であっても、EGTの機能はシンプルで、糖化過程で生成されたOHラジカルやラジカルとなったAGEsを還元することで、糖尿病の悪化や合併症を防ぐことができる。動物実験（*in vivo*）では妊娠ラットの糖尿病による胎児期障害が減少している（Guijarro et al., 2002）。

### (4) 化学物質による発癌

多くの化学物質は、好中球の活性化に因るスーパーオキシド由来のOHラジカルを生成する。パラコート（除草剤）などのイオン状の化学物質は、体内の酸素と直接反応してスーパーオキシドを生成する（Bus et al., 1974）。EGTは、形成されてしまった癌細胞を消滅させる抗癌剤ではないが、発生過程や促進過程に関与するOHラジカルを消去することで発癌を防御する。

一般には、発癌性が確認された物質のみを発癌物質と定義するので、ヒトの発癌性物質は極めて少数（ $\leq 50$ ）である。しかし、発癌性が無かった物質でも、肝臓での水酸化によって活性化し（Politzer and Martin, 1988）、発癌性となる物質も少なくない。OHラジカルにより生成された過酸化脂質が発癌物質である場合や（Lavik and Baumann, 1941）、過酸化脂質が発癌物質を活性化させる場合（Craven and DeRubertis, 1980）など、発癌性の弁別は不可能と言っても過言では無い。従って、発癌性が無いことが証明されていない全ての化学物質は、発癌可能性物質と考えるのがより科学的である。OHラジカルによる酵素タンパク質のアミノ酸残基の切断は、局所的な化学反応に過ぎないが、これが他の生体高分子とのクロスリンクなどを通して高次構造の変化に至り機能変化をもたらす。DNA塩基の損傷が部分的であっても、自動的に二次的、三次的变化につながる。

EGTは、発癌性・非発癌性などの人為的な定義に関係なく、DNA塩基の修飾、タンパク質や脂質の変質、還元酵素の酸化などを引き起こすOHラジカルやラジカル化した物質を還元する。

### (5) 化学物質や医薬品による肝臓疾患、腎臓疾患

肝臓や腎臓は毒物に直接晒される。治療効果が高い抗生物質や抗癌剤の殆んどが腎毒性物質であり、その腎毒性の発現機構はラジカルによる脂質過酸化が関与していると考えられる（Goldstein et al., 1988）。白金錯体シスプラチンはラジカル生成率が大きいので癌治療に極めて有効であるが（Sugihara et al., 1987）、尿細管の傷害や壊

死という腎毒性のため使用量が制限される。一方、解毒過程や排泄過程では、膨大な量の血液が必要で、大量の酸素が供給されスーパーオキシドが大量に生成され、最終的には過剰なOHラジカルとなる。EGTはGSHのように癌細胞に抗癌剤抵抗性を付与する(Chen et al., 1989) ことなく、肝臓や腎臓を抗癌剤毒性から守ることができる(Appendixes 1. (3))。

#### (6) 難病など自己免疫不全に起因する多様な病態(現象)

関節リウマチ(RA)、全身性エリテマトーデス(SLE)、クローン病、潰瘍性大腸炎などの難病は、原因も治療法も不明なものが殆どである。しかし、潰瘍、皮膚潰瘍、手指先端びらん、皮膚硬化など難病特有の病態(現象)は、SODやカタラーゼなどの還元酵素の投与や塗布で改善される(Mizushima et al., 1990) ことから、活性酸素が原因と考えられている。

一般に難病は免疫異常といわれるが、活動期のRAやSLEのように好中球のスーパーオキシド産出能が高い場合(丹羽ら, 1981)、SODやカタラーゼなどの体内還元酵素の活性が低い場合(Kweider et al., 1987)、逆に同じRAでも関節液中のSOD活性が増加している場合(Igari et al., 1982) など多様である。SODの活性が高い場合にはさらにSODを投与することは危険である。一方、クローン病のようにEGTの体内量に依存する場合(辻ら, 2009)、極めて似た病態を示す潰瘍性大腸炎は、体内のEGT量でなくトランスポーターに異常がある場合など、病態は複雑である。しかし、難病の原因が不明であり病態が多様で複雑であったとしても、代謝機能不全で還元できなかったスーパーオキシドが最終的には過剰なOHラジカルとなり多様な病態を発生させる。EGTはOHラジカルを消去することで、結果として難病の病態を軽減させる。

#### (7) 手術(虚血・再灌流)やケガによる不整脈や組織障害

虚血により必要な酸素が十分に供給されない虚血部位は一種の急性炎症であって、好中球が浸潤し活性化して大量のスーパーオキシドを生成し、致死的不整脈や急性心筋梗塞などの組織障害を引き起こす(Nobukazu et al., 1989)。一方、再灌流やケガなどの急激な血流の変化では大量の酸素が供給され、大量のスーパーオキシドが生成され再灌流障害(McCord, 1985)を引き起こす。EGTはOHラジカルの還元だけでなく、再灌流に伴って急増するフェリルミオグロビン(MbIV)を急速に還元して

ミオグロビン(MbIII)に戻し(Arduini et al., 1990)、心筋細胞の壊死などの組織障害を防ぐ。一方、EGTが虚血再灌流障害に効果がなかったという報告もある(Cargnoni et al., 1995)。効果が「あり」(虚血時間15分)、「なし」(虚血時間45分)の違いの理由の一つと考えられるのは虚血時間の違いである。ヒトでは心筋梗塞発症直後は抗酸化剤により心筋障害が軽減されるが、時間が経過すると白血球や心筋細胞の変性を引き起こして抗酸化剤では対応できなくなる。虚血時間は重要なパラメータである。EGTの効果の「あり」と「なし」の境界条件を明確にすることが重要である。

一方、過酸化脂質は手首の切傷でも、最初は傷の局所に集積し、その後血液中に、そして肝臓に集積することが知られている(Nishigaki et al., 1980)。EGTは虚血・再灌流による肝臓障害を防ぐことができる(ラット実験)(Bedirli et al., 2004, Sakrak et al., 2008)。

#### (8) 痛風

尿酸結晶など体内で形成された極微小粒子に対して、生体はウイルスの殺菌と同じように、好中球を活性化させ大量のスーパーオキシドを発生させて(Thomas, 1992) 攻撃する。体内の還元酵素で除去できなかったスーパーオキシドは、大量のOHラジカルとなり炎症を引き起こす。尿酸を抱えこんだ好中球の遺骸も、血管壁にダメージを与えて炎症を発生する。

ヒトでは、尿酸は蛋白質(プリン)代謝における酸化最終生産物であり、殆どが尿として排泄されるが、尿酸トランスポーター(URAT1)により近位尿細管からその約80%が再吸収されて血漿中に分布される。尿酸は血漿中の活性酸素やOHラジカルを還元する抗酸化物質であり生体の維持に不可欠な物質である。しかし、活性酸素が少ない場合は、逆に尿酸が過剰となり析出しやすくなる。尿酸は水に難溶性で、体温など微妙な体内環境の変化で結晶化しやすい。

#### (9) 感染症

EGTは殺菌剤ではない。EGTにはウイルスやバクテリアを殺菌する機能は無い。しかし、EGTは感染した結果起こる(二次的)病状を軽減することができる。例えば、ウイルスに感染した肺炎マウスは、末期にはウイルスが完全に消滅しているにもかかわらず、その後に死に至る(Ueno et al., 1989)。肺炎を引き起こした原因はあくまでもウイルスであるが、マウスの死の直接的原因はウイルスではなく、生体がウイルスを攻撃するために

生成した大量のスーパーオキシドが原因である。これは、還元酵素SODを投与することでマウスの生存率が大きく改善されることで実証されている (Oda et al., 1989)。しかしながら、外部から投与したSODは好中球の殺菌能を低下させる (Yost and Fridovich, 1974)。病原菌が宿主の防御システムから逃れて生き延びる戦略は多様で、食細胞のスーパーオキシド生成を抑制 (Pearson et al., 1987) したり、活性酸素を消去して (Chan et al., 1989) 応答する。好気性細菌もまたヒトと同じようにSODやカタラーゼ、GSHペルオキシターゼなど酸化防御システムを持っていて (Arxhald and Duong, 1986)、殺菌剤など薬物に対して対応する。例えば、結核菌のような病原菌はSODを分泌する (Kusunose et al., 1976) が、非病原菌は分泌しない (Beaman, 1983)。一方、病原菌が短時間で薬剤耐性を獲得することは良く知られている。投与された薬剤を修飾して不活性化させたり、薬剤の標的となった病原体側の分子を変異させたりして、薬剤耐性を獲得する。EGTは病原菌の酸化防御システムに関与していないので、薬剤耐性は起こさない。EGTは還元できなかったスーパーオキシド由来のOHラジカルを消去することで、感染による二次障害を防御することができる。

## (10) 皮膚疾患と老化

還元酵素SODは、真皮 (~2 mm) よりも表皮 (~0.2 mm) に多く存在している (Kim and Lee, 1987)。これは、表皮が、大気汚染物質、化粧品や外用薬品、裂傷、熱傷、冷傷などの外因性ストレスに直接曝される危険に備えており、ストレスを受けると、ウイルス感染と同様に好中球活性によるスーパーオキシドを生成して応答する。最終的には過剰なOHラジカルとなり炎症性皮膚疾患を起こす。熱傷や切傷などでは局所の過酸化脂質が上昇するだけでなく、遅れて血清中、さらに遅れて肝臓や脾臓で過酸化脂質が上昇する (Nishigaki et al., 1980)。このため、熱傷や切傷を受けるとすぐにEGTを数十mg経口服用すれば、表皮の傷痕だけでなく、胃腸、肝臓などの障害も軽減されると考えられる。

一方、紫外線 (290~320 nm) は真皮まで進入し、体内の色素が増感剤となって体液中の酸素を励起して活性の高い一重項酸素 ( $^1\text{O}_2$ ) を生成し (Kearns, 1971)、細胞障害を引き起こす (Ito and Kobayashi, 1977)。EGTは生成された一重項酸素を還元するだけでなく、一重項酸素の発生自体をも抑制することができる。これは、一重項酸素の生成には色素が不可欠であり、EGTが体内色

素の励起状態を消滅させることに因る。

一重項酸素に対して $\beta$ カロチンが最も高い還元能 ( $\sim 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) を持つこと (Foote, 1979) が常識となっており、光過敏症や光毒性などに対して $\beta$ カロチンを経口投与するのが医者の方となっている。しかし、 $\beta$ カロチンの高い還元能は、フロンや有機溶媒中 (一重項酸素の寿命を数桁延ばせた環境) での実験値であって (Foote, 1976)、体液中 (pH7) では含硫アミノ酸や、さらにEGTのほうが効率 ( $\sim 2 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) が高い (Rougee et al., 1988)。また $\beta$ カロチンやビタミンEなどの脂溶性物質は急性疾患対応には必要であるが、慢性皮膚障害への投与は好ましくない。

上述 (3) 糖尿病の糖化反応が、皮膚の真皮部 (糖とコラーゲン) で起こると、糖化生成物 (AGEs) の蓄積やOHラジカルによる脂質過酸化の連鎖反応が進行する。OHラジカルはコラーゲンを断片化し (Davies, 1987)、一重項酸素はコラーゲンを架橋 (重合) し (笠ら, 1994) 硬化させる。EGTはOHラジカルを消去し、生物学的年齢以上の老化促進を防止する。

## (11) 赤血球病態 (メトヘモグロビン血症、貧血)

赤血球中のヘモグロビン量 ( $15 \text{ g dL}^{-1}$ ) が常に一定に保たれることで、酸素供給の安定性が確保されている。酸素を運ぶオキシヘモグロビン ( $\text{Fe}^{2+}$ ) が酸化してメトヘモグロビン ( $\text{Fe}^{3+}$ ) になると酸素を運べなくなり酸素欠乏となりメトヘモグロビン血症 (チアノーゼ) を起こす (Wintrobe, 1951)。最近では、還元酵素 (シトクロム  $b_5$ ) が欠乏する先天性メトヘモグロビン血症だけでなく、鎮痛剤などの医薬品、除草剤、大気汚染物質 ( $\text{NO}_x$ ) などによる後天的な急性発症が増加している。いくつかの薬物はヘモグロビン分子と直接反応して活性酸素を発生させ、鎖状赤血球貧血 (Hebbel et al., 1982) や赤血球の溶血 (Jain and Hochstein, 1979) を起こす。1950年代既に「ウサギ赤血球中のEGTの減少とメトヘモグロビン生成に相関」 (Spicer et al., 1951) や、「赤血球中のEGT量の減少と、白血病、バンチ氏病、ウエルホフ氏病、癌との相関」が報告されている (新谷, 1959)。EGTはヘモグロビンの酸化抑制 (Smith and Reeves, 1987) だけでなく、OHラジカルに起因するいろいろな赤血球病態を軽減する。

## (12) 水銀中毒、カドミウム障害

EGTは体内に取り込まれた水銀 ( $\text{Hg}^{2+}$ ) やカドミウム ( $\text{Cd}^{2+}$ ) など安定な錯体を形成して (Motohashi et al.,

1974)、金属活性を停止させるキレート剤となる。メチル水銀の被害は、日本では工場廃水に汚染された魚介類の摂取による発症（水俣病）、イラクでは水銀化合物で処理された播種による小麦パンの摂取による被害がある。現在では高濃度メチル水銀汚染による危険が起こる確率は小さいだろうが、地球規模の海洋汚染による、食物連鎖による水銀の蓄積は防ぎようがない。低濃度といえども小脳顆粒細胞やグリア細胞、筋原細胞への影響（アポトーシス）が考えられる。胎児期曝露では知的障害を伴う脳性麻痺症状、成人期曝露では感覚障害、聴覚障害などの可能性は否定できない。EGTはカドミウムによって誘発された奇形発生を防止する（Mayumi et al., 1982）。

#### 4. 疾患の予防・改善に必要なエルゴチオネイン量の見積り

EGTは体内に長期に保持することができる。従って、体内に必要なEGT量を常時保持（「基礎保存量」）しておくことで、放射能、大気汚染物質、食物の化学物質、医薬品などの日常的なラジカルストレスの他、抗生物質や抗癌剤の投与、放射線治療、手術などのラジカルストレスや、ケガや放射能事故などの突然の予期せぬラジカルストレスに対応することができる。ここでは、体内に保持しておくべき「基礎保存量」とそれに必要な摂取量について検討する。

##### (1) エルゴチオネインの「基礎保存量」

###### 1) OHラジカルの体内動態に基づく見積量

放射線を例に考える。放射線は線量の大小にかかわらず、いつ、身体のどこをヒットするか不明である。OHラジカルが生成すると、2. (2) 2) で議論したように、発生局所を瞬時（100 ns～100 μs）に無差別に酸化する。OHラジカルの拡散距離は20 nm程度なので、前もってこの領域にEGTを配置しておく。ここで、1個のOHラジカルに1個のEGT、すなわち等モル量に対応させる単純なモデルを仮定する。ビタミンEの場合は、エネルギー転移により1分子のビタミンEは40分子の一重項酸素をクエンチングするが（Karlsson and Marklund, 1988）、EGTとOHラジカルとの反応は、水素引き抜き反応であるので、この「1対1対応」という考え方は大きく違ってないと考えられる。

OHラジカルの拡散領域20 nmにEGTを前もって配置した場合のEGTの総量を「基礎保存量」と定義する。

OHラジカルの反応領域の数は、 $1/((4/3)\pi(20\text{ nm})^3) = 2.98 \times 10^{16} \text{ 個 g}^{-1}$ である。この反応領域の全てに1個のEGT分子を配分すると、必要なEGTの量は $4.96 \times 10^{-5} \text{ mol kg}^{-1} = 11.4 \text{ mg kg}^{-1}$ となり、60 kgのヒトだと680 mgとなる。

###### 2) 健康なヒトが保有するエルゴチオネイン量(臨床例)に基づく見積量

###### ①血液

血液は体重の8%（80 mL kg<sup>-1</sup>）を占め、体全体を循環しているため、血液中のEGT量を基準とする。健康なヒトの血液中のEGT量として、1～4 mg (100 mL)<sup>-1</sup>（Melville, 1958）を参考にする。体重60 kgヒトの血液量は4,800 mLで必要なEGT総量は48～192 mgとなる。血液へのEGTの輸送は経口摂取量の約10%なので、必要な経口摂取量は480～1,920 mgとなる。

###### ②白内障

一方、血液と対称的な無血管栄養組織である水晶体を参考にする。白内障が進行するに従って、水晶体中のEGTの含有量が減少することが知られている（Shukla et al., 1981）。白内障のない水晶体のEGT含有量は115.7 mg(100 g tissue)<sup>-1</sup>であったのが、未熟白内障94.2 mg(100 g t.)<sup>-1</sup>、成熟白内障71.7 mg (100 g t.)<sup>-1</sup>そして末期（過熟白内障）には61 mg (100 g t.)<sup>-1</sup>にまで低下する。EGTの減少が白内障の原因なのか、白内障の結果を反映しているのか不明ではあるが、健康体での116 mg (100 g t.)<sup>-1</sup>を基準とする。白内障は水晶体に発現する病態であるが、水晶体、硝子体、角膜などの中間透光体は無血管構造として相互に関連しており一体と考える方が論理的である。両眼の無血管組織の重量は約10 gであるので、無血管組織に必要なEGT量は11.6 mgとなる。経口摂取したEGTが無血管組織へ輸送される割合についてはデータが無い。水晶体は絶えず外界（酸素や紫外線）に接しているので、水晶体のストレスは小さくないだろう。即ちストレスが図3の第3グループ[小腸、肺、皮膚など]と同等と考えると、必要な経口摂取量は240 mg、第4グループ[胸腺、筋肉、精嚢など]と仮定すると580 mgとなる。

###### 3) ビタミン類の体内半減期、1日の摂取量、体内貯蔵量などからの推論

ビタミンの体内半減期として、ビタミンCは30分程度、ビタミンEは1日程度がよく引用される。しかし、

ビタミンの体内半減期は、摂取量（反比例）や吸収率に依存するので、一律に半減期を議論することは容易ではない。特に吸収率は、体内に既に存在している量に依存しており、体内の既存量を *in vivo* で計測することは不可能である。ビタミンCの半減期として30分程度（大量摂取の場合）から16日というデータが存在するのはこのためである。厚生省が推奨する成人の1日あたりのビタミンC摂取量100 mgは、血漿中ビタミン濃度を50  $\mu\text{M}$ 程度に維持するための摂取量であり、ビタミンCの望ましい体内貯蔵量は1,000 mg程度である。EGTの半減期は、トランスポーターに依存しており、臓器や部位により大きく異なるので、半減期もまた臓器や部位の種類によって異なる。EGTの半減期の正確な計測は無いが、2. (2) 4) で議論したように、毎日少量摂取する場合は、1年程度と考えることができる。すなわちビタミンCやビタミンEより非常に長く、半減期200~300日程度のビタミンAを参考にすると、望ましいEGTの体内貯蔵量はビタミンCの1,000 mgより少なく、1日の摂取量はビタミンEの7 mgより少なく、ビタミンAの1 mg程度と考えられる。これらの結果を総合し、EGTの基礎保存量を400~700 mgとする。

上記1)の「等量モルのEGT対応」という極めて簡単な仮定から導出したEGT量と、2)の臨床例および3)のビタミンからの推論値とほぼ同じ結論を得たことは、1)の仮定が大きく間違っていないことを示している。従って、以下では、「等量モルのEGT対応」を基本的考え方とし、疾患の予防、放射線治療の二次障害対策に必要なEGT量を考察するとともに、このモデルを基にした、シスプラチンによる副作用防御について述べる。

## (2) 脂質過酸化反応の閾値に対するエルゴチオネイン量

2. (1) で議論したように、自然放射線の3倍程度（ $\sim 3 \text{ mSv yr}^{-1}$ ）の線量率になると、体内の酸化防御システムでは対応できなくなって脂質過酸化の連鎖反応が始まる（Nakazawa and Nagatsuka, 1980）。既に、自然放射能（ $\sim 1 \text{ mSv yr}^{-1}$ ）、大気汚染物質、化学薬品などによって日常的にOHラジカルに曝されているので、閾値への余裕分は $1 \text{ mSv yr}^{-1}$ 程度と考えられる。放射線が体液に100 eVのエネルギーを与えたとき2.7個（分子）のOHラジカルが生成される（Kiefer, 1990）ので、閾値3 mSvに相当するOHラジカルの生成頻度は1日に $1.4 \times 10^{12} \text{ 個 kg}^{-1}$ すなわち $2.3 \times 10^{-12} \text{ mol (kg day)}^{-1}$ となる。生体は、この極めて微量な値を弁別し「閾値」としているようであ

る。従って、上述の「基礎保存量」が確保できていれば、1週間ごとに1 mg程度のEGTを追加することで、放射線、大気汚染、医薬品、食品に含まれる化学物質など、日常の殆どのラジカルストレスへの対策が可能となる。

## (3) 放射線治療の二次障害予防のためのエルゴチオネイン量

扁平上皮癌などの固形癌への放射線治療では毎日1回 $\sim 2 \text{ Gy}$ の放射線を約1ヶ月間合計60 Gy以上を照射する。これは、ヒト（全身照射）の半致死線量3~5 Gy（30日間で半数が死亡する線量）（Bond et al., 1965）の15倍という膨大な量で、癌細胞を完全に消滅させることができるが正常細胞もまた障害を受ける。多方向照射や強度変調など照射方法の工夫により、正常細胞が受ける相対吸収線量（dE/dX）は癌細胞の20分の1以下にすることが可能であっても、放射線の飛跡に沿った正常細胞質量は10~20倍なので正常細胞の総吸収線量は癌細胞と同程度になる。1日あたり2 Gy（ガンマー線とし2 Svとする）はOHラジカル分子 $3.4 \times 10^{14} \text{ 個 (g day)}^{-1}$ に相当する。ビーム径の制御が困難なX線やガンマー線照射の場合、ビームの広がり半径を5 cmと仮定すると正常細胞でのOHラジカル生成は $\sim 2 \times 10^{17}$  OH分子（ $\sim 3 \times 10^{-7} \text{ mol}$ ）で、等量モルEGTは $\sim 0.07 \text{ mg}$ となる。筋肉などへは経口摂取量の1~2%程度しか配分されないので、補給すべきEGT量は $7 \text{ mg day}^{-1}$ となる。このように、ヒトの半致死線量の15倍という膨大な照射量であっても、「基礎保存量」が確保できていれば、治療期間中に毎日7 mg程度のEGTを追加することで二次障害を防御することが可能となる。

## (4) シスプラチンによる副作用防御

マウスにEGTを経口投与させると、シスプラチンによる体重減少、記憶力減退（電気ショックを備えた暗チェンバーに対する忌避行動を指標）、認知力の減少などを防ぎ、脳組織内のアセチルコリンエステラーゼ活性を回復させることが示されている（Song et al., 2010）。

シスプラチンの製薬メーカーの添付文書には、精神神経系として、しびれ、麻痺、言語障害、頭痛、味覚異常、意識障害、見当識障害、レールミッテ徴候などの副作用が記載されている。シスプラチンは血液脳関門（blood-brain barrier: BBB）を通過できないので、これらの副作用は脳内障害ではなく、末梢神経障害とくに神経軸索の微小管の傷害と考えられる。Song et al., (2010) の、PC12細胞を用いた実験では、EGTがシスプラチンに

よって引き起こされる細胞の軸索突起や樹状突起の障害を減少させている。58日間のマウス実験で投与されたシスプラチンは $5 \text{ mg (kg body weight)}^{-1}$ を3回、EGTの経口投与は毎日2または $8 \text{ mg (kg b.w.)}^{-1}$ であった。投与された $15 \text{ mg (kg b.w.)}^{-1}$ のシスプラチンのうち末梢神経細胞への輸送量を筋肉と同程度 (Li and Howell, 2009) と仮定すると $\sim 3 \text{ mg kg}^{-1}$  ( $10 \mu\text{mol kg}^{-1}$ ) となる。一方、経口摂取した $116 \text{ mg (2 mg} \times 58)$  のEGTのうち末梢神経細胞へ輸送される量は、図3の第4グループ「脾臓、筋肉、胸腺など」と仮定すると $1.8 \text{ mg kg}^{-1}$  ( $7.9 \mu\text{mol kg}^{-1}$ ) となり、シスプラチンとEGTの投与モル量は非常に良い一致を見る。これは「等量モルのEGT対応」が、大きく間違っていないことを示している。EGTの投与が $2 \text{ mg (kg b.w.)}^{-1}$ と $8 \text{ mg (kg b.w.)}^{-1}$ では差異がなかったことも「等量モルのEGT対応」を支持していると考えられる。

## 5. エルゴチオネインの将来展望

キノコの機能性成分は、専門家が本格的に取り扱う研究対象ではないと考えられているようである。EGTの発見は100年以上も前で、その機能性についてすでに多くの知見が出されている。一方Webサイトでは、抗酸化力や免疫力が大きいことから健康維持や老化を防ぐサプリメントとして宣伝され、一般の人気も出てきており、好事家による自由な、時には非論理的な議論が活発で、医学や薬学の専門家が敬遠するのも当然といえよう。しかし、EGTは「唯一無比」ともいえる極めて特殊な抗酸化物質であり、多くの専門家が、その多様な機能性と有用性を、医学や薬学の研究対象とする価値があると考えられる。例えば、癌の放射線治療や化学療法で起きる深刻な副作用や二次傷害を、治療と対立することなく予防できる。EGTは、グルタチオン (GSH) のように癌細胞の制癌剤抵抗性を起こさない可能性がある (Appendixes 1.)。これらが臨床的にも実証されたならば癌治療は革命的に変わるだろう。虚血後の再灌流による心不整脈や組織変性・細胞壊死・心筋梗塞の予防ができるなら、医者も患者も手術への恐怖は無くなるだろう。多くの赤血球病態への応用は可能性が大きい。パラコートやダイクォットなどの中毒への応急治療も検討課題である。難病が現象させる多様な病態を改善させることができれば、安定した日常生活のなかで、じっくりとその病の直接原因の治療を受けることができる。特にステロイドの副作用を軽減させる可能性がある。高純度EGTは、移

植臓器の保存媒体中での保護などに有効性を発揮するだろう。これらの多くの可能性の真偽は、専門家によって厳しく検証される価値がある課題である。

EGTの可能性は、未だ不明とされている「EGTの存在理由」と関係している。好気性生物が進化の過程で時間をかけて獲得してきた酸化防御システムは、ここ数百年に出現した人工放射能、環境汚染物質、化学物質などが生成する高速で大量の酸化ストレスには対応できていない。EGTはこの状況を補完していると考えられる。何故なら、EGTは現行の酸化防御システムや体内還元酵素と独立していて、現行の防御システムでは処理できない過剰なOHラジカルを還元している。そこでは、既存の還元酵素と同じ規則に従って、すなわち酸化ストレスの大小に比例して機能している。これが「EGTの存在理由」である。

進化論的に見れば、EGTはビタミンCなどの必須成分とは逆方向に進化しているようにみえる。ビタミンCは、殆どの哺乳類が体内で生成することができるが、ヒトとサルは生成することが出来ない。ヒトやチンパンジーもかつては体内でビタミンCを合成していたとみられているが、食餌で簡単に摂取できるようになったので、酵素遺伝子の変異して体内合成しなくなっている。

これに対してEGTは全く異なった進化の歴史上にある。EGTは植物にも、ヒトを含む全ての動物の体内に存在している。しかし体内合成できるのはマイコバクテリア (Genghof and Van Damme, 1964) や放線菌 (Genghof, 1970)、シアノバクテリア (Pfeiffer et al., 2011) そして子囊菌門と担子菌門の真菌 (Genghof, 1970) に限られる。植物は根と土壤菌 (Audley and Tan, 1968) との共生関係から、動物は食餌によって (Melville et al., 1955) のみEGTを摂取できる。また動物の腸内微生物叢もEGTの生成には寄与していない (小西ら, 1972)。6億年前の三葉虫を祖先とし2億年生き続けているカプトガニ (*Limulus polyphemus*) でも同じである (Ackermann and List, 1958)。しかし、EGTの材料と考えられているグルタミン酸、システイン、ヒスチジンは全ての動物体内に揃っているため、いずれは、生合成酵素が形成されるか腸内微生物が進化して、生体内で合成する動植物が現れるだろう。あるいは、すでに体内合成している動物が存在しているかもしれない。また、EGTの臓器分布は動物種によって大きく異なっている。血液中にはヒトにも動物 (ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ニワトリ) にも $1\sim 10 \text{ mg (100 g fresh tissue)}^{-1}$ と同程度に分布しているが、心臓にはラット $1.5 \text{ mg (100 g$

f.t.)<sup>-1</sup>、ネコ0.1 mg (100 g f.t.)<sup>-1</sup>以下であるが、イヌには8.9 mg (100 g f.t.)<sup>-1</sup>という大量のEGTが配分されている。腎臓にはラット4.3 mg (100 g f.t.)<sup>-1</sup>、ネコ3.1 mg (100 g f.t.)<sup>-1</sup>であるがウサギには0.3 mg (100 g f.t.)<sup>-1</sup>と少量である (Melville, 1958)。EGTの臓器分布から推論すると、イヌはラットやネコに比べて心臓のストレスが、ラットやネコはウサギに比べて腎臓のストレスが大きいと考えられる。事実イヌには心臓病がネコは腎臓病が多いようである。但し、この関係は、ペットフードが出回っている現在では大きく異なっている可能性がある。

このような進化論的議論は検証が困難なので科学的ではないという人が多い。しかしながら、進化論的検討から導かれる個々の予測や命題は個々に検証可能である。好気性生物の酸化防御システムを補完する「EGTの存在理由」という観点から、Ⅲ章で議論したヒトの多様な疾患とEGTの関係が統一的に理解できる。自然環境や食餌環境が変化しているペットや家畜の疾患もまた定量的な検討対象となるだろう。植物もまた例外では無い。例えば、植物が病原菌に感染したり傷害を受けると、動物の貪食作用と同様に、スーパーオキシドを発生させ応答する (Doke, 1983)。ヒト好中球やマクロファージを活性化させる食細胞Noxファミリー (図1) の酵素を構成する成分は5成分が同定されている。このうち、ヒトgp91*phox* (phagocyte oxidase, 91kD) に相当する遺伝子がイネ、ジャガイモ、シロイヌナズナから単離され (Groom et al., 1996)、p22-*phox* や p47-*phox* (細胞質因子、47 kDa) と類似のタンパク質が数種の植物に存在している (Dwyer et al., 1996)。OHラジカルは細胞膜脂質を過酸化させ、細胞壁構造を架橋しリグニン化させる。これは植物が傷や病原菌を他の正常部分に移行させないための防御作用でもある。これら植物細胞内の酸化還元システムは、SODやカタラーゼなどの還元酵素、グルタチオン、ビタミンC、システイン、カロテノイドなどの非酵素系物質など、殆ど動物と同じである。大気汚染物質や土壌汚染物質など、ここ数百年に出現した酸化ストレスは、植物の既存の酸化防御システムの応答可能な範囲だろうか。それとも植物はすでに適応馴化しているのだろうか。今後の研究課題である。

## Appendixes 1. 放射能および放射線治療・化学療法による副作用・二次障害

### (1) 放射線障害

一般に放射線障害といえば、放射線 (荷電粒子) が

DNA鎖を切断 (直接反応) し、癌を形成する過程のみに注目しがちである。しかしこの直接反応に限れば、ヒトのDNAは微量 ( $\sim 10^{-11}$  g) であり、放射線と衝突する確率 (断面積) は、相当な高線量であっても非常に小さい。たとえ切断が起こっても、1ヶ所切断は直ちに (数分で) 修復される。切断2ヶ所以上が近接している場合には修復には時間がかかり、修復の過程で誤りが起きて発癌確率が高くなるといわれているが、修復機能が働くので癌が形成される確率は無視できるほど小さい。直接反応に関する限り「低線量は問題ない」という主張も間違いではない。

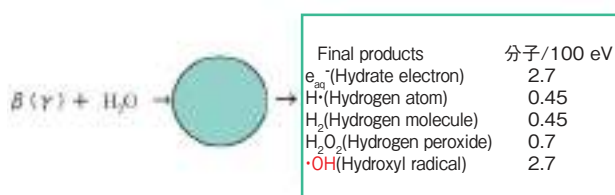
一方、放射線が体液と相互作用して非常に活性の高いOHラジカルを生成し、このOHラジカルが、癌だけではなく多種多様な疾患を起こす間接反応については、専門家は無視するか言及を避ける傾向にある。OHラジカルによるDNA塩基の修飾、脂質や体内酵素の酸化によって、動脈硬化、心筋梗塞、肺疾患、アルツハイマー病、老化の促進、寿命の短縮など多種多様な疾患が起こる確率は、たとえ低線量といえども無視できない。放射線によるOHラジカル生成過程や、OHラジカルが引き起こす多様な疾患については、1960年代から公知の事実であり、国内外の第一線の研究者が無知であるはずはない。にもかかわらず、チェリノブイリで増えている心臓疾患に対しても「放射線の影響である科学的根拠が無い」というのが国際的な定説となっている。しかし、放射線が体液で大量に生成するOHラジカルによる多様な障害は直ちに現れる。

宇宙線や体液に含まれるカリウム40からの自然放射線もOHラジカルを生成するが、自然放射線の強度は生命の進化の過程で経験済みのものであって、体内に備わっているビタミンEの応答能力の範囲内にあるので問題はない。しかし自然放射線の3倍程度の線量率になると、脂質過酸化の連鎖反応が始まる (Nakazawa and Nagatsuka, 1980)。自然放射線の線量は、宇宙線 ( $\sim 0.3$  mSv yr<sup>-1</sup>)、大地に含まれる地球起源の放射線 ( $\sim 0.3$  mSv yr<sup>-1</sup>)、体液に含まれるカリウム40 ( $\sim 0.18$  mSv yr<sup>-1</sup>)、その他合計約1 mSv yr<sup>-1</sup>で、この3倍の線量率は3 mSv yr<sup>-1</sup>である。チェリノブイリでは、避難権地域が1 mSv yr<sup>-1</sup>、居住禁止地域が5 mSv yr<sup>-1</sup>と制限しているのは、極めてリーズナブルである。

一方、2011年の福島第一原子力発電所事故では、放出された放射線量と、飛行機高度の宇宙線や医療用の放射線量を比較し、危険度の大小が議論される例が多く見受けられた。しかし、これは完全に間違っている。OH



ラジカルは、自然放射線や医療用放射線だけでなく、医薬品、残留農薬、食品添加物などの化学薬品、喫煙やPM2.5などの大気汚染物質などでも日常的に生成される。これらが生成するOHラジカルの強弱を横並びで比較するのではなく、全体を加算した合計の線量率で議論する必要がある。それぞれが閾値以下であっても、その総計が自然放射能の3倍程度の線量率に相当するOHラジカルの強度になれば脂質過酸化の連鎖反応が開始される。現代人の殆どが、環境放射能（建材などを含む）や化学物質により、閾値ぎりぎり生活している。新しく可算される放射能は低線量であっても加算されて閾値を超えて疾患を発生させる可能性がある。



放射線が体液と相互作用して、最終的には上図のような分子が生成される。最初の物理過程は $\sim 10^{-15}$  sであるが、これらの最後の生成物が出来上がるまでには $10^{-8}$  sかかる。このうち、OHラジカル ( $\cdot$ OH) が、生体障害作用に最も主要な活性種である。生体に100 eVのエネルギーを与えたとき、OHラジカルが2.7個（分子）生成される。すなわち、1 mSvのエネルギーだと、 $1 \text{ mSv} = 6.24 \times 10^{12} \text{ eV g}^{-1} = 1.7 \times 10^{11} \text{ 分子 g}^{-1}$ となり、生体1 gあたりに $1.7 \times 10^{11}$ 個のOHラジカルが生成される。脂質過酸化反応の閾値が $\sim 3$  mSvと仮定すれば、1 gあたり約 $5 \times 10^{11}$ 個のOHラジカルが閾値となる。

OHラジカルは、脂質過酸化の連鎖反応を開始させ、過酸化脂質を蓄積させ、細胞膜の機能を変化させ、動脈硬化、脳溢血や心筋梗塞など、多様な疾患を発症させる。OHラジカルは脂質過酸化の連鎖反応だけではなく、アミノ酸、タンパク質、核酸の化学変化、構造変化そして機能変化をもたらす。たとえばOHラジカルによる酵素タンパク質におけるアミノ酸残基の水素結合の切断は、局所的な化学反応に過ぎないが、これが他の生体高分子とのクロスリンクなどを通して高次構造の変化に至り、酵素活性や機能変化をもたらす。核酸の塩基の部分的な損傷であっても、自動的に二次的、三次的变化につながる。アミノ酸が酸化されてカルボニル化合物を生成し、多くの疾患例えばアルツハイマー病を発症させる。核酸塩基の損傷は癌だけではなく、たとえば、DNAのグアニンが酸化されて8-OHdG (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine)

を生成し老化を加速させる。染色体の末端にあるテロメア構造を短縮させると不可逆的に細胞分裂が止まり、細胞の老化を起し寿命の短縮につながる。細胞間の情報伝達の機能をもつ酵素タンパク質が変化すれば、タンパク質を作らなくなったり、タンパク質を勝手に分解（オートファジー）したり、インシュリン分泌障害を起したり（糖尿病）、細胞分裂が止まらなくなったり（癌）、血管新生に異常をきたしたり（難病）など、免疫機構や造血機能の多種多様な疾患を引き起こす。すでに持病を持っていると、その疾患を促進させる。

## (2) 放射線治療や化学療法に因る副作用、二次障害の防御

EGTは、放射線治療と対立することなく、また化学療法では制癌剤抵抗性を生じることなく、副作用や二次障害を防御する。放射線照射では、癌細胞中に大量のOHラジカルを発生させ、癌細胞のDNA塩基を修飾あるいはDNA鎖を切断し、癌細胞の増殖を停止させる。同様にOHラジカルは正常細胞にも傷害を与える。EGTは正常細胞のOHラジカルを消去することで副作用や二次障害を防御する。OHラジカルを生成して癌細胞を消滅させることと、OHラジカルを消去させて正常細胞を保護することは矛盾しており、EGTの投与は放射線治療の障害となる可能性が考えられる。しかし、実際には、副作用を大幅に軽減させて癌からの回復も早めている。何故EGTは放射線治療と対立的では無いのだろうか。シスプラチンなどの抗癌剤の投与も放射線照射と同じで、シスプラチンが生成したOHラジカルは正常細胞にも障害 (Sugihara et al., 1987, Nakano and Gemba, 1989) を与え、深刻な副作用を引き起こすことは、製薬会社の添付文書にも記載されている。EGTは癌細胞には輸送され難く、主として正常細胞のOHラジカルを消去するので、放射線やシスプラチンなどによる治療効果を減じることなく副作用を防ぐことが可能となる。その根拠を以下で議論する。

正常細胞は、栄養、酸素ともに豊富な環境にあり、細胞質のpHは常に7.4に保たれている。一方、癌細胞では細胞増殖と血管新生を繰り返し低酸素環境にあり乳酸を産出し酸性環境になる。癌細胞のpHは正常細胞より若干低くなっているという実験報告 (Gong Y. et al., 2003) もあるが、癌細胞の塊・腫瘍組織では、血管が少ないため乳酸の排出が困難になり、ますます酸性物質が蓄積されるのでpHはさらに低下すると考えられる。

一方、トランスポーターは細胞膜に存在する膜タンパ

ク質であるが、その発現と活性は、部位の生理的環境の特異性、細胞の特異性、pHや膜電位など (Tamai et al., 1997, Tamai et al., 2004) に依存する。pH6.0でトランスポートされる割合は、pH7.4~8.5の中性やアルカリ領域にくらべて30%低下し (Tamai et al. 1997)、pH5位では殆んど通過しない。Hela細胞S3や前骨髄球性白血病HL-60などの癌細胞にもトランスポーターETT (OCTN1) が発現していることが示されている (Tamai et al. 1997)。これらの細胞のpHが記載されていないが、細胞膜のトランスポーターは細胞外のpHに依存するので、中性に近かったと思われる。また経口投与されたEGTの40%以上が肝臓や腎臓に輸送されるので、抗癌剤の毒性から肝臓や腎臓を保護することができる。

癌腫瘍組織の内部では、乳酸の蓄積が進みpHが低下すると考えられるが、pHが低下すると癌細胞は生き残れないので、プロトンポンプ機能などを働かせてpHを上昇させる可能性もある。むしろ腫瘍細胞の内部は、癌細胞の生き残り作戦でpH値が上昇している可能性がある。腫瘍組織のpH分布を *in vivo* で観測することが望まれる。しかし蛍光物質を細胞内に導入することで細胞に変化をもたらす可能性があるため、無染色で観測する方法が望まれる。

グルタチオン (GSH) はシスプラチン毒性の拮抗剤として利用されている。シスプラチンの投与と同時にGSHを併用すれば、抗酸化物質であるGSHが正常細胞のOHラジカルを消去するので、EGTと同様にシスプラチンの二次障害を防ぐ。しかし、GSHの投与により癌細胞に抗癌剤抵抗性が現れる (Chen et al., 1989)。GSHも水溶性なので細胞膜を透過できないので、一旦グルタミン酸、システインおよびグリシンなどのアミノ酸に加水分解されてから、アミノ酸トランスポーター (L-type amino acid transporter: LAT) によって細胞内に取り込まれ、再びGSHに再合成されるというサイクルを繰り返している。正常細胞ではアミノ酸トランスポーターLAT2が、癌細胞ではLAT1がアミノ酸を輸送する。LAT1の正常細胞での発現は、脳、胎盤、精巣などに限られる (Kanai et al., 1998) が、LAT1は悪性度の高い癌細胞に高頻度で発現して (Fuchs and Bode, 2005)、アミノ酸を癌細胞に輸送して、増殖が激しい癌細胞の栄養要求を満たしている。GSHの分解生成物であるグルタミン酸、システインやグリシンはタンパク質を構成するアミノ酸であり、GSHの投与は癌細胞の増殖のために栄養を供給していることになる。一方癌細胞内で再合成されたGSHはOHラジカルを消去するので抗癌剤治療を阻

害していることになる。さらにGSHは、癌細胞に進入した抗癌剤などの薬物・異物と結合して細胞外に排出するので、癌細胞の薬剤耐性化に寄与している。このように、抗酸化物質であるGSHを投与することにより、正常細胞のOHラジカル障害を防ぐ拮抗剤となることは事実であるが、癌細胞の生存を助けていてマイナス効果も無視できない。

### (3) エルゴチオネインとメタロチオネイン (MLT) の比較

臨床例が少ないEGTを、臨床的研究が進んでいるメタロチオネイン (MLT) と比較することは、EGTの医学的可能性を理解するために重要である。MLTは、抗酸化活性が高く (Sato and Bremner, 1993)、放射線や抗腫瘍剤による癌治療の効果を妨げることなく正常細胞のみを防御して副作用を軽減し二次傷害を防ぐことができる。MLTはほとんどの細胞や臓器がMLTの生合成能を有している。脊椎動物のMLTは61個のアミノ酸が1本鎖に並んだ低分子のタンパク質で、普通のタンパク質と同様に数日の半減期で代謝回転している。61個のアミノ酸のうち21個がシステイン残基 (チオール基:SH) で、そのすべては必須金属である銅か亜鉛を結合している (Klaassen and Suzuki, 1991)。MLTの生合成は重金属によって誘導される。亜鉛や銅だけでなく、カドミウム、水銀、ビスマスなどの重金属の進入によって生合成が誘導される。カドミウムに誘導されて合成されたMLTはそのチオール基にカドミウムを結合させ、毒性を低下させて排泄する。しかし、重金属により誘導されるMLTの生合成には、MLT遺伝子情報の発現などに数時間かかるので、この間に重金属毒性に曝されてしまう (鈴木, 1993)。従って、MLTの役割が毒性金属の活性低下や排泄機能にあるとは考え難い。むしろ必須金属である亜鉛や銅の代謝、制御、輸送などに関わっていると考えられる。

生体内で亜鉛と結合したMLTは、EGTと同様にスーパーオキシドとは殆んど反応しない (SODの2500分の1) が、OHラジカルの消去能はGSHの数百倍ある (Thornalley and Vašák, 1985) ので、生体内の酸化防御システムを乱さないOHラジカル消去剤としての役割が期待される。しかし、MLTは経口服用しても肝臓で分解され腎臓から排出されてしまう。亜鉛を投与して体内のMLT生合成を高めることが可能だが、結合しないで遊離した亜鉛によって、OHラジカルが生成され脂質過酸化を促進させる (Arthur et al., 1987)。

MLTは、シスプラチンやブレオマイシンなどの抗癌剤の副作用軽減に有効であるが、癌細胞中のMLTの濃度が上昇すると、グルタチオン (GSH) と同様に抗癌効果が著しく低下する。MLT生合成の誘導剤として質量数が大きなビスマス (Bi) を用いると、Biは癌細胞に取り込まれないので、癌細胞のMLT濃度を増加させないで正常細胞の副作用のみを低減させる (Naganuma et al., 1988) 可能性がある。しかしやはり、結合しない遊離ビスマスの問題が残る。

MLTのタンパク質部分は、通常のタンパク質と同じように数日の半減期で代謝回転する。金属は蓄積していくので、MLTの合成能の容量を超えると遊離金属が増えることになる。これに対してEGTは、経口投与でよく体内半減期も長く、今のところ問題点が見つからない。EGTの特別な機能が、臨床的にも確認されるならば、癌治療は革命的に変わるだろう。

## Appendix 2. PM2.5などの大気汚染物質による呼吸器疾患、心臓疾患、性機能障害

中国からの大気汚染物質PM2.5が、深刻な問題となっている。PM2.5とは、フィルターなどで採取したとき、捕集効率が50%となる粒子の径 (空気力学的径) が2.5  $\mu\text{m}$  という定義で、径2.5  $\mu\text{m}$  以上の粒子が半数、2.5  $\mu\text{m}$  以下が半数という意味であり、0.1  $\mu\text{m}$  以下の超微小粒子 (50~200 nm) も含まれる。危険な微粒子で知られる石綿は20~350 nmである。粒子の径が1  $\mu\text{m}$  程度だと、肺胞に達するのは10~20%程度に過ぎないが、粒子の径が小さいほど、気道の奥まで侵入し、肺胞に沈着し、アレルギー性鼻炎、気管支喘息や肺癌などの呼吸器系疾患の原因となる。インフルエンザウイルスと同じ (~0.1  $\mu\text{m}$ ) かその半分のサイズの超微小粒子だと生体組織の透過性が高く、肺からさらに内部に浸透する。肺組織を透過して血管や循環器へ移行し、急性心筋梗塞など心臓・循環器系の疾患を発症させる。さらには、リンパ節にも移行し、生殖器に至れば性機能障害 (ED) だけでなく精子数の著しい減少を引き起こす。海馬や大脳皮質へ、さらには母体から胎児へ移行する (Takeda et al., 2009)。

これらの超微小粒子に対して生体は、バクテリアやウイルス (数十~数百 nm) 感染の場合と同じように、各所で白血球 (好中球) を活性化させ、膨大なスーパーオキシドを生成して攻撃する。大量の微粒子曝露によるスーパーオキシドは、体内に保存されている生体酵素では処理できず、大量のOHラジカル生成となり、過酸化

脂質の蓄積やDNAや酵素に化学変化を起こす。

主な発生源は、石炭など化石燃料の燃焼ガス、硫黄分の多いガソリン車からの排気ガス、ディーゼル排気ガス (Diesel Exhaust Particles: DEP 50~100 nm) などで、超微粒子だけでなく、炭酸ガス ( $\text{CO}_2$ )、一酸化炭素 (CO)、窒素酸化物 ( $\text{NO}_x$ )、硫黄酸化物 ( $\text{SO}_x$ ) などのガス状物質が含まれている。大気中で光化学反応により、超微粒子を核にしてガス状物質が吸着・凝集して1~数十  $\mu\text{m}$  の粒子状物質 (二次粒子) に成長する。この二次粒子の組成は、吸着した汚染ガスの組成を反映して複雑で、水素化合物、有機炭素 (OC)、 $\text{NO}_x$  から生成された硝酸塩、 $\text{SO}_x$  からの硫酸塩、多環芳香族炭化水素 (PAHs)、アンモニウム塩、塩化物などの他、鉛、カドミウム、ニッケル、亜鉛、鉄などの金属が含まれる。超微粒子とともに、二次粒子、ガス状物質など、肺胞への共存曝露が疾患を複雑にしている。

粒子状物質の組成のうち、水溶性成分は、肺胞へ沈着して吸湿、潮解し、その化学成分に応じて多様な化学的障害も引き起こす。水溶性成分は呼吸によって排出されるが、発癌性物質として最も危険なグループ1に分類されている多環芳香族炭化水素・ベンゾピレンは不溶性で、長期にわたって残留する。ベンゾピレン自体には発癌性は無いが、体内で酸化されベンゾピレンジオールエポキシドに変化するとDNA塩基 (グアニン) と共有結合し、強い発癌性物質となる。二酸化硫黄やオ존は水 (体液) と反応してOHラジカルを生成し、ベンゾピレンの酸化に寄与する。

このように、OHラジカルの産出過程も多様であり、急性呼吸器不全 (ARDS)、間質性肺炎、肺線維症、肺気腫など疾患の現象も多様となる。しかし、結果はシンプルで、すべては、SODなどの還元酵素で消去できない過剰なスーパーオキシドが、OHラジカルとなり過酸化脂質の蓄積やDNA損傷を引き起こす。

EGTは、肺組織だけでなく、超微細粒子がさらに浸透した心臓、生殖器、脳などあらゆる部位でのスーパーオキシド由来のOHラジカルや、オゾンなどが生成するOHラジカルを消去する。超微小粒子の最も危険な事実は母体から胎児への移行である。しかし、乳腺と乳房上皮細胞にはEGTのトランスポーター OCTN1が発現 (Gilchrist and Alcorn, 2010) しており、EGTは母乳を通じて新生児へ渡すことができる。

## 引用文献

Ackermann D, List PH. (1958) Incidence of herzynine,

- ergothioneine, homarine, trigonelline, glycocholate, betaine, choline, trimethylamine, adenine and almost all amino acids of proteins in *Limulus polyphemus* L. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie* 313: 30–36.
- Akanmu D, Cecchini R, Aruoma OI, Halliwell B. (1991) The antioxidant action of ergothioneine. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 288: 10–16.
- Albanes D. (1999)  $\beta$ -Carotene and lung cancer: a case study. *The American journal of clinical nutrition* 69: 1345s–1350s.
- Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. (1981) Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 78: 6858–6862.
- Arai K, Iizuka S, Tada Y, Oikawa K, Taniguchi N. (1987) Increase in the glucosylated form of erythrocyte Cu-Zn-superoxide dismutase in diabetes and close association of the nonenzymatic glucosylation with the enzyme activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 924: 292–296.
- Ardan T, Kovačeva J, Čejková J. (2004) Comparative histochemical and immunohistochemical study on xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase in mammalian corneal epithelium. *Acta histochemica* 106: 69–75.
- Arduini A, Eddy L, Hochstein P. (1990) The reduction of ferryl myoglobin by ergothioneine: A novel function for ergothioneine. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 281: 41–43.
- Arthur JR, Bremner I, Morrice PC, Mills CF. (1987) Stimulation of peroxidation in rat liver microsomes by (copper, zinc)-metallothioneins. *Free Radical Research* 4: 15–20.
- Audley B, Tan C. (1968) The uptake of ergothioneine from the soil into the latex of *Hevea brasiliensis*. *Phytochemistry* 7: 1999–2000.
- Barger G, Ewins AJ. (1911) CCLVII. -The constitution of ergothioneine: a betaine related to histidine. *Journal of the Chemical Society, Transactions* 99: 2336–2341.
- Bauer V, Bauer F. (1999) Reactive oxygen species as mediators of tissue protection and injury. *General Physiology and Biophysics* 18: 7–14.
- Bedirli A, Sakrak O, Muhtaroglu S, Soyuer I, Guler I, Erdogan AR, Sozuer EM. (2004) Ergothioneine pretreatment protects the liver from ischemia-reperfusion injury caused by increasing hepatic heat shock protein 70. *Journal of Surgical Research* 122: 96–102.
- Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. (2007) Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *Jama* 297: 842–857.
- Bojarska-Olejnik E, Stefaniak L, Witanowski M, Hamdi BT, Webb GA. (1985) Applications of  $^{15}\text{N}$  NMR to a study of tautomerism in some monocyclic azoles. *Magnetic Resonance in Chemistry* 23: 166–169.
- Bond VP, Fliedner TM, Archambeau JO. (1965) *Mammalian Radiation Lethality, A Disturbance in Cellular Kinetics, AIBS Monograph*. Academic Press, New York. 340 pp.
- Boveris A, Oshino N, Chance B. (1972) The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochemical Journal* 128: 617–630.
- Burton G, Ingold KU. (1986) Vitamin E: application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Accounts of chemical research* 19: 194–201.
- Bus J, Aust S, Gibson J. (1974) Superoxide- and singlet oxygen-catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat (methyl viologen) toxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 58: 749–755.
- Cargnoni A, Bernocchi P, Ceconi C, Curello S, Ferrari R. (1995) In vitro administration of ergothioneine failed to protect isolated ischaemic and reperfused rabbit heart. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1270: 173–178.
- Chan J, Fujiwara T, Brennan P, McNeil M, Turco SJ, Sibille J-C, Snapper M, Aisen P, Bloom BR. (1989) Microbial glycolipids: possible virulence factors that scavenge oxygen radicals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 86: 2453–2457.
- Cheah IK, Halliwell B. (2012) Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Molecular Basis of Disease* 1822: 784–793.
- Chen G, Frei E, Zeller W. (1989) Determination of intracellular reduced glutathione and glutathione related enzyme activities in cisplatin-sensitive and resistant experimental ovarian carcinoma cell lines. *Cancer Letters* 46: 207–211.
- Comporti M. (1987) Glutathione depleting agents and lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids* 45: 143–169.
- Craven PA, DeRubertis FR. (1980) Fatty acid induced drug and carcinogen metabolism in rat and human colonic mucosa: A possible link to the association of high dietary fat intake and colonic carcinogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 94: 1044–1051.
- Davies KJ. (1987) Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects. *Journal of Biological Chemistry* 262: 9895–9901.
- Desai I, Sawant P, Tappel AL. (1964) Peroxidative and radiation damage to isolated lysosomes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -General Subjects* 86: 277–285.
- Doke N. (1983) Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components. *Physiological Plant Pathology* 23: 345–357.
- Dwyer SC, Legendre L, Low PS, Leto TL. (1996) Plant and

- human neutrophil oxidative burst complexes contain immunologically related proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -General Subjects* 1289: 231–237.
- Ekert B. (1973) Study of the breaking of phosphodiester bonds in polyribonucleotide chains. *International Journal of Radiation Biology* 24: 169–188.
- Ey J, Schomig E, Taubert D. (2007) Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 6466–6474.
- Fenton H. (1893) Oxidation of  $\alpha$ -hydroxy acids with hydrogen peroxide and ferrous salts (Fenton's reagent) to  $\alpha$ -keto acids or of 1, 2-glycols to hydroxy aldehydes. *Proceedings of Chemical Society* 9: 113.
- Foote CS. (1976) Photosensitized oxidation and singlet oxygen: consequences in biological systems. In *Free Radicals in Biology*, ed. WA Pryor, Academic Press, New York. 85–133 pp.
- Foote CS. (1979) Quenching of Singlet Oxygen In *Singlet Oxygen*, ed. HH Wasserman, RW Murray, Academic Press, New York. 139–171 pp.
- Fridovich I. (1983) Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 23: 239–257.
- Fuchs BC, Bode BP. (2005) Amino acid transporters ASCT2 and LAT1 in cancer: Partners in crime? *Seminars in Cancer Biology* 15: 254–266.
- Genghof DS. (1970) Biosynthesis of ergothioneine and hercynine by fungi and *Actinomyces*. *Journal of Bacteriology* 103: 475–478.
- Genghof DS, Van Damme O. (1964) Biosynthesis of ergothioneine and hercynine by mycobacteria. *Journal of Bacteriology* 87: 852–862.
- Gilchrist SE, Alcorn J. (2010) Lactation stage-dependent expression of transporters in rat whole mammary gland and primary mammary epithelial organoids. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 24: 205–214.
- Glavind J, Hartmann S, Clemmesen J, Jessen K, Dam H. (1952) Studies on the role of lipoperoxides in human pathology. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica* 30: 1–6.
- Goldstein RS, Smith PF, Tarloff JB, Contardi L, Rush GF, Hook JB. (1988) Biochemical mechanisms of cephaloridine nephrotoxicity. *Life Sciences* 42: 1809–1816.
- Greenstock CL, Hunt JW, Ng M. (1969) Pulse radiolysis studies of uracil and its derivatives. Primary species attack. *Transactions of the Faraday Society* 65: 3279–3287.
- Gründemann D, Harlfinger S, Golz S, Geerts A, Lazar A, Berkels R, Jung N, Rubbert A, Schömig E. (2005) Discovery of the ergothioneine transporter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 5256–5261.
- Groom QJ, Torres MA, Fordham-Skelton AP, Hammond-Kosack KE, Robinson NJ, Jones JDG. (1996) rbohA, a rice homologue of the mammalian gp91phox respiratory burst oxidase gene. *The Plant Journal* 10: 515–522.
- Guijarro MV, Indart A, Aruoma OI, Viana M, Bonet B. (2002) Effects of ergothioneine on diabetic embryopathy in pregnant rats. *Food and Chemical Toxicology* 40: 1751–1755.
- Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. (1998) Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood* 92: 3007–3017.
- Hanlon DP. (1971) Interaction of ergothioneine with metal ions and metalloenzymes. *Journal of Medicinal Chemistry* 14: 1084–1087.
- Hartman PE. (1990) Ergothioneine as antioxidant. *Methods in Enzymology* 186: 310–318.
- Heath H, Rimington C, Mann T. (1957) Further studies on seminal ergothioneine of the pig. *Biochemical Journal* 65: 369.
- Hebbel RP, Eaton J, Balasingam M, Steinberg MH. (1982) Spontaneous oxygen radical generation by sickle erythrocytes. *Journal of Clinical Investigation* 70: 1253.
- Huettermann J, Koehnlein W, Teoule R. (1978) *Effects of ionizing radiation of DNA: physical, chemical, and biological aspects*. Springer Verlag, New York.
- Igari T, Kaneda H, Horiuchi S, Ono S. (1982) A remarkable increase of superoxide dismutase activity in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 162: 282–287.
- Inagaki T, Yamamoto T. (2014) Critical role of deep hydrogen tunneling to accelerate the antioxidant reaction of ubiquinol and vitamin E. *The Journal of Physical Chemistry B* 118: 937–950.
- Ito T, Kobayashi K. (1977) A survey of in vivo photodynamic activity of xanthenes, thiazines, and acridines in yeast cells. *Photochemistry and Photobiology* 26: 581–587.
- Jain SK, Hochstein P. (1979) Generation of superoxide radicals by hydrazine: Its role in phenylhydrazine-induced hemolytic anemia. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -General Subjects* 586: 128–136.
- Jocelyn PC. (1972) *Biochemistry of the SH Group*. Academic Press, London.
- Kanai Y, Segawa H, Miyamoto K-i, Uchino H, Takeda E, Endou H. (1998) Expression cloning and characterization of a transporter for large neutral amino acids activated by the heavy chain of 4F2 antigen (CD98). *Journal of Biological Chemistry* 273: 23629–23632.
- Karlsson K, Marklund SL. (1988) Plasma clearance of human extracellular-superoxide dismutase C in rabbits. *Journal of Clinical Investigation* 82: 762.
- Kato Y, Kubo Y, Iwata D, Kato S, Sudo T, Sugiura T, Kagaya T, Wakayama T, Hirayama A, Sugimoto M. (2010) Gene knockout and metabolome analysis of carnitine/organic cation transporter OCTN1. *Pharmaceutical Research* 27: 832–840.
- Kearns DR. (1971) Physical and chemical properties of singlet

- molecular oxygen. *Chemical Reviews* 71: 395–427.
- Kiefer J. (1990) *Biological Radiation Effects*. Springer Verlag, Berlin.
- Kim YP, Lee SC. (1987) Superoxide dismutase activities in the human skin In *The Biological Role of Reactive Oxygen Species in Skin*, ed. O Hayaishi, W Imamura, Y Miyachi, University of Tokyo Press, Tokyo. 225–230 pp.
- Kinoshita N, Okawara T, Suzuki K, Uchiyama I, Kuwayama Y. (1990) Increased glycation of human erythrocyte Cu, Zn-superoxide dismutase in diabetic patients with cataracts and retinopathy. In *The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology*, ed. PA Finot, HU Aeschbacher, RF Hurrell, R Liardon, Birkhauser Verlag, Basel. 443–448 pp.
- Klaassen CD, Suzuki KT. (1991) *Metallothionein in biology and medicine*. CRC Press Inc.
- Kosiniak K. (1975) Characteristics of the successive jets of ejaculated semen of stallions. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*: 59–61.
- Koziorowska—Gilun M, Koziorowski M, Fraser L, Strzeżek J. (2011) Antioxidant defence system of boar cauda epididymidal spermatozoa and reproductive tract fluids. *Reproduction in Domestic Animals* 46: 527–533.
- Kumosani TA. (2001) L-ergothioneine level in red blood cells of healthy human males in the Western province of Saudi Arabia. *Experimental and Molecular Medicine* 33: 20–22.
- Kweider M, Lemesre J-L, Darcy F, Kusnierz J-P, Capron A, Santoro F. (1987) Infectivity of *Leishmania braziliensis* promastigotes is dependent on the increasing expression of a 65,000-dalton surface antigen. *The Journal of Immunology* 138: 299–305.
- Lavik PS, Baumann C. (1941) Dietary fat and tumor formation. *Cancer Research* 1: 181–187.
- Li S-D, Howell SB. (2009) CD44-targeted microparticles for delivery of cisplatin to peritoneal metastases. *Molecular Pharmaceutics* 7: 280–290.
- Mackenzie JB, Mackenzie CG. (1957) The effect of age, sex, and androgen on blood ergothioneine. *Journal of Biological Chemistry* 225: 651–658.
- Maillard L. (1912) Maillard browning reaction. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*. 154: 66–68.
- Makino R, Tanaka T, Iizuka T, Ishimura Y, Kanegasaki S. (1986) Stoichiometric conversion of oxygen to superoxide anion during the respiratory burst in neutrophils. Direct evidence by a new method for measurement of superoxide anion with diacetyldeuteroheme-substituted horseradish peroxidase. *Journal of Biological Chemistry* 261: 11444–11447.
- Mann T, Leone E. (1953) Studies on the metabolism of semen. 8. Ergothioneine as a normal constituent of boar seminal plasma. Purification and crystallization. Site of formation and function. *Biochemical Journal* 53: 140.
- Masuda T, Nakano S, Kondo M. (1973) Rate constants for the reactions of OH radicals with the enzyme proteins as determined by the p-nitrosodimethylaniline method. *Journal of Radiation Research* 14: 339–345.
- Mayumi T, Kawano H, Kawai Y, Hama T. (1984) Studies on ergothioneine. IX. Ergothioneine stimulates mouse spermatozoa and fertilization *in vitro*. *Development, Growth & Differentiation* 26: 563–569.
- Mayumi T, Okamoto K, Yoshida K, Kawai Y, Kawano H, Hama T, Tanaka K. (1982) Studies on ergothioneine. VIII. Preventive effects of ergothioneine on cadmium-induced teratogenesis. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 30: 2141–2146.
- McCord JM. (1985) Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine* 312: 159–163.
- Mead JF. (1952) The irradiation-induced autoxidation of linoleic acid. *Science* 115: 470–472.
- Melville DB. (1958) L-Ergothioneine. *Vitam & Horm* 17: 155–204.
- Melville DB, Otken CC, Kovalenko V. (1955) On the origin of animal ergothioneine. *Journal of Biological Chemistry* 216: 325–331.
- Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. (2005) Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Annals of Internal Medicine* 142: 37–46.
- Mizushima Y, Hoshi K, Yanagawa A, Takano K. (1990) Topical application of superoxide dismutase cream. *Drugs Under Experimental and Clinical Research* 17: 127–131.
- Mortensen RA. (1953) The effect of diet on methemoglobin levels of nitrite-injected rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 46: 241–243.
- Motohashi N, Mori I, Sugiura Y, Tanaka H. (1974) Metal complexes of ergothioneine. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 22: 654–657.
- Naganuma A, Satoh M, Imura N. (1988) Specific reduction of toxic side effects of adriamycin by induction of metallothionein in mice. *Cancer Science* 79: 406–411.
- Nakano S, Gemba M. (1989) Potentiation of cisplatin-induced lipid peroxidation in kidney cortical slices by glutathione depletion. *The Japanese Journal of Pharmacology* 50: 87–92.
- Nakatsugawa K, Kaneda T. (1983) Absorption and metabolism of methyl linoleate hydroperoxides in rats. *Journal of Japan Oil Chemists's Society* 32: 362–366.
- Nakazawa T, Nagatsuka S. (1980) Radiation-induced lipid peroxidation and membrane permeability in liposomes. *International Journal of Radiation Biology* 38: 537–544.
- Niki E. (1987) Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and physics of lipids* 44: 227–253.
- Nishigaki I, Hagihara M, Hiramatsu M, Izawa Y, Yagi K. (1980)

- Effect of thermal injury on lipid peroxide levels of rat. *Biochemical medicine* 24: 185-189.
- Nobukazu W, Masayasu I, Yoshimasa M. (1989) Inhibition of postischemic reperfusion arrhythmias by an SOD derivative that circulates bound to albumin with prolonged in vivo half-life. *Biochemical Pharmacology* 38: 3477-3483.
- Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, Keogh JP, Meyskens FL, Valanis B, Williams JH. (1996) Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Journal of the National Cancer Institute* 88: 1550-1559.
- Pfeiffer C, Bauer T, Surek B, Schömig E, Gründemann D. (2011) Cyanobacteria produce high levels of ergothioneine. *Food Chemistry* 129: 1766-1769.
- Politzer P, Martin F. (1988) *Chemical carcinogens: activation mechanisms, structural and electronic factors, and reactivity*. Elsevier Science Ltd.
- Rougee M, Bensasson R, Land EJ, Pariente R. (1988) Deactivation of singlet molecular oxygen by thiols and related compounds, possible protectors against skin photosensitivity. *Photochemistry and Photobiology* 47: 485-489.
- Sakrak O, Kerem M, Bedirli A, Pasaoglu H, Akyurek N, Ofluoglu E, Gültekin FA. (2008) Ergothioneine modulates proinflammatory cytokines and heat shock protein 70 in mesenteric ischemia and reperfusion injury. *Journal of Surgical Research* 144: 36-42.
- Sato M, Bremner I. (1993) Oxygen free radicals and metallothionein. *Free Radical Biology and Medicine* 14: 325-337.
- Shukla Y, Kulshrestha O, Khuteta K. 1981. Ergothioneine content in normal and senile human cataractous lenses. *The Indian Journal of Medical Research* 73: 472-473.
- Smith RC, Reeves JC. (1987) Antioxidant properties of 2-imidazolones and 2-imidazolthiones. *Biochemical Pharmacology* 36: 1457-1460.
- Song TY, Chen CL, Liao JW, Ou HC, Tsai MS. (2010) Ergothioneine protects against neuronal injury induced by cisplatin both in vitro and in vivo. *Food and Chemical Toxicology* 48: 3492-3499.
- Spicer SS, Wooley JG, Kessler V. (1951) Ergothioneine depletion in rabbit erythrocytes and its effect on methemoglobin formation and reversion. *Experimental Biology and Medicine* 77: 418-420.
- Strzezek R, Koziorowska-Gilun M, Kowalówka M, Strzezek J. (2009) Characteristics of antioxidant system in dog semen. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 12: 55-60.
- Sugihara K, Nakano S, Gemba M. (1987) Effect of cisplatin on *in vitro* production of lipid peroxides in rat kidney cortex. *The Japanese Journal of Pharmacology* 44: 71-76.
- Sugino N. (2005) Reactive oxygen species in ovarian physiology. *Reproductive Medicine and Biology* 4: 31-44.
- Takahashi M, Asada K. (1982) A flash-photometric method for determination of reactivity of superoxide: application to superoxide dismutase assay. *Journal of Biochemistry* 91: 889-896.
- Takeda K, Suzuki K, Ishihara A, Kubo-Irie M, Fujimoto R, Tabata M, Oshio S, Nihei Y, Ihara T, Sugamata M. (2009) Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems. *Journal of Health Science* 55: 95-102.
- Tamai I, Nakanishi T, Kobayashi D, China K, Kosugi Y, Nezu J-i, Sai Y, Tsuji A. (2004) Involvement of OCTN1 (SLC22A 4) in pH-Dependent Transport of Organic Cations. *Molecular Pharmaceutics* 1: 57-66.
- Tamai I, Yabuuchi H, Nezu J, Sai Y, Oku A, Shimane M, Tsuji A. (1997) Cloning and characterization of a novel human pH-dependent organic cation transporter, OCTN1. *FEBS Letters* 419: 107-111.
- Tanret C. (1909) New base obtained from ergot of rye. Ergothioneine. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences* 149: 222-224.
- Taugros A. (1986) Hormone synthesis: thyroid iodine metabolism. In *Werner's the Thyroid*, ed. SH Ingbar, LE Braverman, Lippincott, Philadelphia. 53-97 pp.
- Thomas MJ. (1992) Urate causes the human polymorphonuclear leukocyte to secrete superoxide. *Free Radical Biology and Medicine* 12: 89-91.
- Thornalley PJ, Vašák M. (1985) Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology* 827: 36-44.
- Ueno I, Kohno M, Mitsuta K, Mizuta Y, Kanegasaki S. (1989) Reevaluation of the spin-trapped adduct formed from 5, 5-dimethyl-1-pyrroline-1-oxide during the respiratory burst in neutrophils. *Journal of Biochemistry* 105: 905-910.
- Vladimirov YA, Olenev V, Suslova T, Cheremisina Z. (1980) Lipid peroxidation in mitochondrial membrane. *Advances in Lipid Research* 17: 173-249.
- Wilbur KM, Wolfson N, Kenaston CB, Ottolenghi A, Gaulden ME, Bernheim F. (1957) Inhibition of cell division by ultraviolet irradiated unsaturated fatty acid. *Experimental Cell Research* 13: 503-509.
- Wintrobe MW. (1951) *Clinical hematology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Zhang Q, Kusaka Y, Zhu X, Sato K, Mo Y, Kluz T, Donaldson K. (2003) Comparative toxicity of standard nickel and ultrafine nickel in lung after intratracheal instillation. *Journal of Occupational Health* 45: 23-30.
- 井上 正 (1992) 活性酸素と病態：疾患モデルからベッドサイドへ。学会出版センター。
- 笠明, 荒金久, 増永卓, 新本浩, 長野哲, 廣部雅, 益子信 (1994)

- 一重項酸素によるコラーゲンの重合. 日本化粧品技術者会誌28:163-171.
- 江口裕伸, 藤原範子, 大河原知水, 鈴木敬一郎, 谷口直之 (2009) 酸化ストレスと健康. 生物試料分析32:247-256.
- 浜堯夫, 小西孝勇, 玉木七八, 常森ふさ子, 奥村一 (1972) エルゴチオネインに関する生理化学的研究. (I) 体内分布とSubcellular画分への取り込み. ビタミン46(3):121-136.
- 小西孝勇, 玉木七八, 常森ふさ子, 益満宜郎, 奥村一, 浜堯夫(1972)エルゴチオネインに関する生理化学的研究. (II) 動物体内のエルゴチオネインの起源について. ビタミン46(3):127-130.
- 新谷哲 (1959) 血液疾患血液の2, 3化学的測定に関する研究 第1編 血液疾患に於ける蛋白活性SH基並びにムコ蛋白値について. 岡山医学会雑誌71:6231-6245.
- 丹羽鞆, 石本浩, 三宅晋, 筒井功, 筒井大, 横山三 (1981) Systemic lupus erythematosus (SLE) およびBehçet病などの疾患患者好中球にみられる活性酸素およびライソゾーム酵素産生分泌能に関する研究. 日本内科学会雑誌70:1236-1248.
- 辻彰, 加藤将, 久保義, 金子周, 加賀谷尚, 曾我朋 (2009) エルゴチオネインを利用したクローン病の診断および治療. 特許第5376421号.
- 鈴木和夫 (1993) 特集 微量元素—最近の進歩 基礎編 (3) メタロチオネインと金属. 栄養—評価と治療10:221-228.



# Rediscovery of Ergothioneine: Its Special Functions and the Meanings for Existence

Takeshi Saito<sup>1</sup>, Yoshitaka Yoshimura<sup>2</sup>

## Abstract

The meanings for existence of ergothioneine (EGT) *in vivo* are even now uncertain although more than 100 years have passed after the discovery of EGT. Aerobic organisms are preventing a living body against the oxidative damage from the reactive oxygen species (ROS), which is indispensable for maintenance of life on the other hand. However, the present defense system of living cannot correspond to a large amount of ROS that is produced quickly by artificial radioactivity, environmental pollutant, chemical materials and others, which appeared newly in a few 100 years in the evolution history of life.

In this paper, the special functions and the meanings of existence of EGT are investigated in connection with the wide variety of diseases such as the radiation damages, the secondary troubles due to radiation therapy, diseases due to environmental pollutant, diabetes and complicating diseases, cancer caused by chemicals, liver and kidney troubles due to chemical products, autoimmune disorder, diseases in a red blood corpuscle, tissue injury due to ischaemia-reperfusion, gout, skin disease and aging, and mercury and cadmium poisoning. An oral intake amount of EGT that is necessary for prevention and recovery from the diseases is estimated on the basis of the movement of OH radicals *in vivo* and the clinical cases for EGT. A great possibility of EGT as medicines and the future tasks to be studied is presented.

**Keywords:** ergothioneine, hydroxyl radical, reaction rate, lipid peroxidation, threshold, *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*, Tamogitake

---

<sup>1</sup> Institute for Advanced Studies, 22-11, Jogumachi, Yanagawa, Fukuoka 832-0068, Japan

<sup>2</sup> Department of Life Science, College of Agriculture, Tamagawa University, 6-1-1, Tamagawa-gakuen, Machida, Tokyo 194-8610, Japan