

すると、タンパク質からのヘムの遊離はどのように影響しているのでしょうか。

堀尾先生 1) AsA 欠乏の 14 日目で、Nrf2 の活性化、HO-1 発現の上昇が起こっています。18 日目も同様です。10 日目では、活性化も発現上昇も見られません。現在、12 日目を解析しています。2) CYP アポタンパク質と heme の結合・遊離に AsA がどのように作用するかは大変重要と考えますが、解析できておりませんし、報告例也没有ありません。

2. 抗酸化剤の機能評価では酸素濃度が重要である

放送大学

小城 勝相

培養細胞を用いて、レスベラトロール、ゲニステイン、バイカレインなどが DNA 損傷と細胞死を引き起こすという論文¹⁾が発表された。

これまで、ビタミン C を含めて抗酸化剤が細胞死を引き起こすとする多くの論文が発表されているが、これらは化学的に見ると重要な問題を含んでいる。上記抗酸化物質は芳香環に 2 つ以上の OH 基を持ち、還元力が強くラジカルに電子や水素原子を供与する能力を持つが、同時に酸素と反応して効率よく過酸化水素 (H_2O_2) を発生する。 H_2O_2 は工業的にはこれらの抗酸化剤と似た構造をもつアントラヒドロキノンと酸素から合成されている。

上記論文では、抗酸化剤の濃度は $92 \mu M$ であるが、 $37^\circ C$ の培養液中の酸素濃度は約 $200 \mu M$ であり、最大で $100 \mu M$ 近い H_2O_2 を産生でき、上記論文の結果もほとんどが H_2O_2 によって説明可能である。²⁾

さらに著者らは、上記抗酸化剤が新たな抗がん剤になると主張している¹⁾が、生体内組織の酸素濃度は、空気中よりはるかに低い上に、生体異物であるこれら抗酸化剤の生体内濃度も $1 \mu M$ の濃度である。以上より、今後、抗酸化剤の効果を *in vitro* で評価するときには、酸素濃度、抗酸化剤の生体濃度を考慮しなければ無意味である。²⁾

著者らは、CM-H2DCF-DA を用いて活性酸素は発生していないと反論している³⁾が、その詳しい条件が不明である。

genotoxicity assay identifies antioxidants as inducers of DNA damage response and cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 5423-5428 (2012).

2) S. Kojo, Oxygen is the key factor associated with the difference between *in vivo* and *in vitro* effects of antioxidants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, (Letter to the Editor, On-line only), doi: 10.1073/pnas.1205916109 (2012).

3) J.T. Fox, S. Sakamuru, R. Huang, N. Teneva, S.O. Simmons, M. Xia, R.R. Tice, C.P. Austin, K. Myung, Reply to Kojo: Mechanisms of antioxidant-induced DNA damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, (On-line only), doi: 10.1073/pnas.1207795109 (2012).

〔論 議〕

石神先生 培養細胞を用いたビタミン C 実験を行うためには、どうしたらよいのでしょうか？

小城先生 酸素濃度を考慮する必要があるが、酸化ストレスが関与する可能性がある場合は特に注意すべきです。また酸素濃度を調節できる培養器も市販されています。

武藤先生 1) 多くのポリフェノールを生体投与しても血中濃度は高くても $1 \mu M$ 程度にしかならないことは私も確認している。ProNAS 論文の使用濃度は $92 \mu M$ であるため、抗酸化作用以外の働きではないのですか。ビトロではこのメカニズム (H_2O_2 産生) は起こるかもしれないが、ビボでは起こり得ないのではないのでしょうか。ORAC 値の利用は逆に混乱をもたらすもので、科学的 (生理学的) には根拠に乏しいと考えるが、いかがですか。これは単なる意見ですので回答は結構です。

山本先生 試験評価系における酸素濃度の影響について同感です。TPA 刺激したヒトリリンパ球の活性酸素産生量について、電解還元水を評価したことがあります。産生抑制作用が認められたが、水素バブリング、さらには窒素バブリングした水でも同様の結果が得られたので、溶存酸素量を測定しました。結局このときのデータは溶存酸素量に相関していました。ORAC の表示について、加工食品においては (科学的に不正に) 高い表示値を得ることは、合法的にできます。AOU 研究会の事務局も現時点では加工食品への表示は適切でないと考えているようです。

小城先生 ORAC については USDA を否定的見解を出していますし、消費者をまどわすような指標はよくないと思います。

文 献

- 1) J.T. Fox, S. Sakamuru, R. Huang, N. Teneva, S.O. Simmons, M. Xia, R.R. Tice, C.P. Austin, K. Myung, High-throughput