

研究

亜鉛錯体と糖尿病・ メタボリックシンドローム

京都薬科大学名誉教授・東京工科大学客員教授 桜井 弘

はじめに

金属と糖尿病との関係が報告されたのは、バンティングとベストがインスリンを発見した1922年よりも23年前の1899年のことであった¹⁾。フランスの医師らが、バナジン酸ナトリウム(NaVO_3)を投与すると、糖尿病の改善が見られると報告した。なぜ、遷移金属元素の一つであるバナジウム(V)が使われたのかは不明であるが、当時バナジウムは万能薬(panacea)のひとつとして使われていたらしいと推定されている。このころは、ドイツのレントゲンによるX線(1885年)やキュリー夫妻によるラジウムやポロニウムの発見(1898年)で代表されるように、人類の物質観が変革されていった時代でもあった。その後、1962年には若い糖尿病患者にアルファルファ(alfalfa)を食べさせると病態が改善されると報告された²⁾。その原因は、この野菜に含まれるマンガン(Mn)によると考えられた。後年、この現象は動物実験で確認された³⁾。また、2001年になり、糖尿病患者に NaVO_3 を経口投与すると、1型および2型糖尿病が改善されると報告された⁴⁾。ここに挙げたいくつかの例は、興味深いものであるが、組織的に研究が展開されたものではなかった。ここでは、金属と糖尿病に関して、組織的に研究された例をあげながら、特に亜鉛による糖尿病・メタボリックシンドロームの改善作用について、実験動物レベルでの研究を紹介させていただくこととする。

1. 簡便なインスリン様作用評価系の確立と経口投与可能なバナジル錯体の発見

a. インスリン様作用評価系の確立

ある化合物を人や動物に投与した後、血糖値を測定して、その降下作用を評価することは大学や製薬企業などの研究室でしばしば行われることである。しかし、多数の化合物を多数の動物を用いずに、血糖値降下作用を予測・評価できる実験系は、ほとんど知られていなかった。簡単な実験系を使って血糖値降下作用を予測できれば、化合物をスクリーニング出来るため、抗糖尿病作用を持つ化合物の発見のためには不可欠な方法論になると考えられた。

筆者らは、ラットの初代脂肪細胞を用いて、細胞からの遊離脂肪酸の放出抑制と脂肪細胞へのグルコースの取り込みを指標にして、簡便な実験系を確立した(図1)^{5,9)}。すなわち、エピネフリン(アドレナリン)共存下で、インスリンまたは化合物を脂肪細胞に添加すると、グルコースの細胞内への取り込みの増大と遊離脂肪酸(FFA)の細胞外への放出の抑制が観測出来る。

このとき脂肪細胞では、どのようなことが起こっているのだろうか? インスリンは、インスリン受容体を唯一の作用点としてそこに結合すると、インスリン受容体(insulin receptor substrate, IRS)タンパク質がリン酸化される。これが引き金となってリン酸化酵素(kinases)と脱リン酸化酵素(phosphatases)により種々のタンパク質にリン酸化-脱リン酸化反応が進行する。これは、

インスリンシグナルカスケード (ISC) といわれる。この最終段階で、細胞内のグルコース輸送体 (GLUT4) を細胞膜表面に移動させ、グルコースを細胞内に取り込ませる。しかし、多くの金属化合物は、細胞内に取り込まれると、タンパク質チロシン脱リン酸化酵素 (PTP1B) を阻害するか、あるいは ISC を構成する複数の酵素類に同時に作用しリン酸化を促進する¹⁰⁾。これらの作用は、ほぼ同時進行するため、本機構は、インスリンのそれとは異なり“アンサンブル機構”と名付けた^{5,9)}。

いくつかの金属化合物は、インスリンと同様に、細胞内のグルコース輸送体 (GLUT4) を細胞膜表面に移動させグルコースを細胞内に取り込ませることは、共焦点レーザー顕微鏡を用いて明らかにした^{11,12)}。また、遺伝子発現についても詳しく調べ、金属錯体投与による糖尿病状態の遺伝子発現制御も明らかにした¹³⁾。このインスリン様作用評価系を用いて様々な金属イオンを評価したところ、 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Se^{4+} 、 V^{3+} 、 V^{4+} (VO^{2+}) や Mn^{2+} などが高い活性を示した (図 2)¹⁴⁻¹⁷⁾。

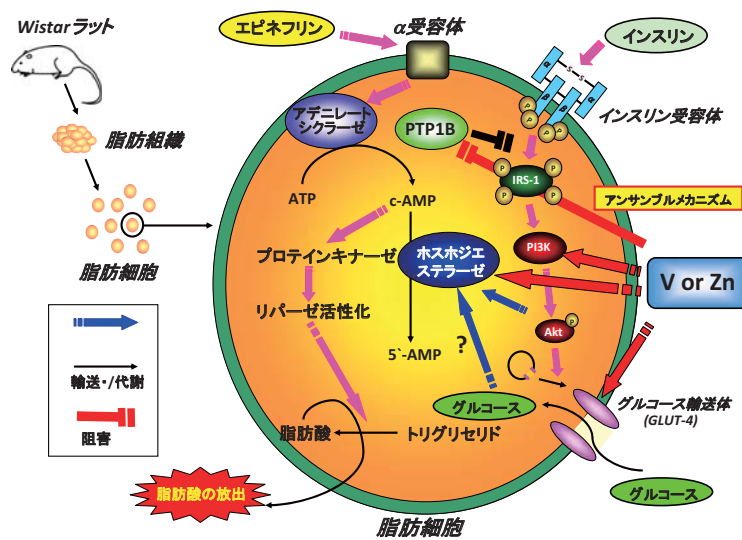


図 1 ラット脂肪細胞を用いるインスリン様作用の評価系⁵⁻⁹⁾

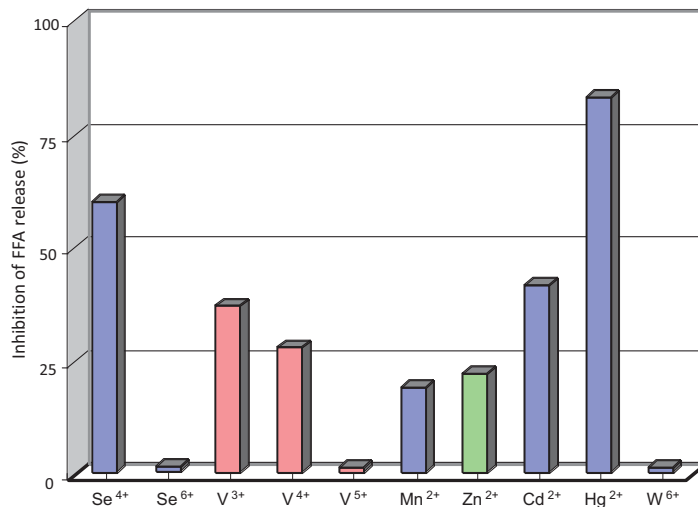


図 2 ラット脂肪細胞からの遊離脂肪酸放出抑制¹⁴⁻¹⁷⁾
(細胞数 = 2.5×10^6 cells/ml), 金属イオンの濃度 = 1 mM

b. バナジル錯体の発見

このような状況の中で、当時、生物無機化学的あるいは錯体化学的研究を進めていた V^{4+} (VO^{2+}) に注目して、抗糖尿病作用に関する研究を開始した。1990年に、初めて経口投与により1型類似糖尿病ラット (STZラット) の病態を改善出来る vanadyl-cysteinemethylester 錯体を見出した^{18,19)}。この発見に基づいて、より活性の高い錯体を探索した。Vanady-picolinate の関連錯体などを中心にして研究を展開し、経口投与により有効に血糖値降下作用を示すバナジル錯体を多数見出した (図3)²⁰⁾。なお、1990年から今日に至るまでの研究経過の展開については、参考文献を参照していただきたい^{8,9,14-18,21-23)}。

2. 亜鉛錯体による糖尿病・メタボリックシンドロームの改善・治療

a. 亜鉛族元素の物性

亜鉛族元素 Zn^{2+} , Cd^{2+} および Hg^{2+} は高い in vitro インスリン様活性を示すことは、すでに述べた。なぜこのような現象が示されるのであろうか? ここで亜鉛族元素の物性について、振り返ってみることとする。

亜鉛 (Zn) は元素周期表上第12族、第4周期に属する元素であり、そのすぐ下にはカドミウム (Cd)、水銀 (Hg)、さらには放射性元素コペルニシウム (Cn) がある。Zn, Cd, Hg の最外殻電子の s 軌道電子は $(ns)^2$ ($n = 3,4,5$) 状態にあり、2族のアルカリ土類金属元素 (Be, Mg, Ca, Sr, Ba, Ra) と同じである。しかし、アルカリ

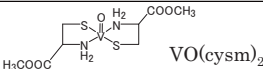
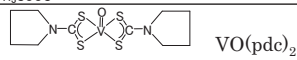
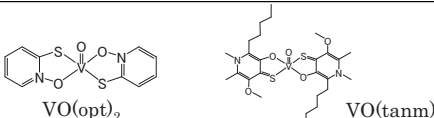
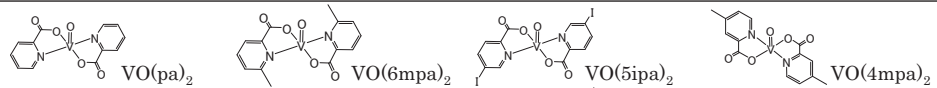
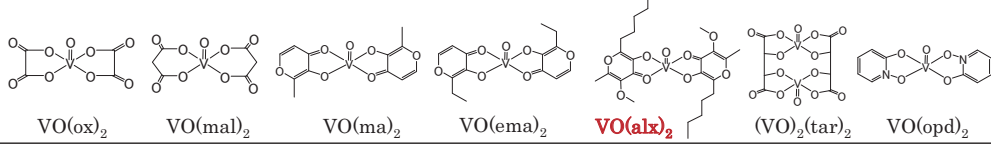
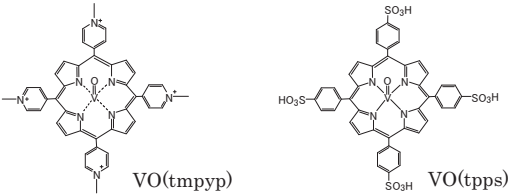
Coordination mode	Structure of vanadyl complex
$VO(N_2S_2)$	 $VO(cysm)_2$
$VO(S_4)$	 $VO(pdc)_2$
$VO(S_2O_2)$	 $VO(opt)_2$ $VO(tanm)$
$VO(N_2O_2)$	 $VO(pa)_2$ $VO(6mpa)_2$ $VO(5ipa)_2$ $VO(4mpa)_2$
$VO(O_4)$	 $VO(ox)_2$ $VO(mal)_2$ $VO(ma)_2$ $VO(ema)_2$ $VO(alx)_2$ $(VO)_2(tar)_2$ $VO(opd)_2$
$VO(N_4)$	 $VO(tmpyp)$ $VO(tpps)$

図3 実験動物において糖尿病改善作用を示すバナジウム錯体²⁰⁾

cysm = cysteine methylester, pdc = pyrrolidine dithiocarbamic acid, opt = 1-oxy-pyridine thiol, tanm = thioallixine-N-methyl, pa = picolinic acid, 6mpa = 6-methylpicolinic acid, 5ipa = 5-iodopicolinic acid, 4mpa = 4-methylpicolinic acid, ox = oxalic acid, mal = maleic acid, ma = maltol, ema = ethylmaltol, alx = allixine, tar = tartalic acid, opd = 1-oxy-pyridone, tmpyp = tetrakis(methylpyridinium)porphyrine, tpss = tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphyrine

土類金属元素と比べてイオン化電圧が大きく、反応性が低い。特に、第3イオン化電圧は第2イオン化電圧にくらべて著しく高いため、これらの原子から3個目の電子は取れにくくなっている。したがって、+2以上の酸化数を示すことはない。また、亜鉛族元素のd軌道電子はすべて飽和され、遷移金属元素としての性質を示さない。さらに、PearsonのHSAB則(Hard and Soft Acids and Bases)によると、 Zn^{2+} は中間的な酸であり、 Cd^{2+} と Hg^{2+} はやわらかい酸に属し、明らかにZnとCd、Hgには一線が画される。また、Znは電荷の変動が無く、常に+2を示し、タンパク質中では強いルイス酸性を示す。たとえば、 Zn^{2+} は配位した水分子からプロトン(H^+)を追い出し、生じた OH^- によりペプチドを加水分解する。しかし、CdやHgは、この性質を示さない。イオン半径は、大きい順に $Hg^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+}$ となり、 Zn^{2+} が最も小さい。このためZnでは、錯体形成時の配位数は最も小さくなる。このような物性が複雑に関係して、ZnはCdやHgと同族でありながら、生物反応では大きな差が現れると考えられている²⁴⁾。

亜鉛は、生物が健康に生きていくための必須元素であるが、CdとHgはむしろ毒性元素と考えられている。これまで生体や生物組織から200種類を超える亜鉛タンパク質・亜鉛酵素が発見され、亜鉛は無数ともいえる生命活動に関与していることはよく知られている²⁵⁻²⁸⁾。

b. 亜鉛を含む抗糖尿病・抗メタボリックシンドローム錯体の開発

バンティングとベストにより、糖尿病は牛インスリンにより治療できるという大発見から14年後に、スコットとフィッシャーは安定なインスリン-亜鉛-プロタミン複合体を製剤化した。その後、インスリンの生合成に亜鉛が必要であることや糖尿病患者では尿中への亜鉛の排泄昂進による血中亜鉛濃度の減少傾向が指摘されるようになった。インスリン製剤は注射剤として利用されている状況の中で、亜鉛と糖尿病との密接な関係に基づいて、われわれはインスリン注射とは異なった観点から、インスリン様作用を持ちながら経口投

与可能な亜鉛錯体の開発研究を展開することとした。

Znは糖尿病患者では、一般的に欠乏している^{29,30)}。したがって、Znサプリメントの有効性が主張されている³¹⁾。しかし、Znのbioavailabilityはそれほど高くないため、錯体化への応用研究は重要であった。2000年頃から研究を開始し、2002年には、初めて1日1回経口投与すると2型糖尿病動物の高血糖値を低下出来る事実を見出した³²⁾。その後、種々の化学構造を持つ錯体を多数提案した(図4)^{8,9,14-18,21-23)}。そのころ、亜鉛-ヒノキチオール錯体($Zn(hkt)_2$)が、2型糖尿病動物の血糖値およびメタボリックシンドロームを示す指標の一つと考えられているアジポネクチンレベルを改善する結果が得られた³³⁾。この現象をヒントにして研究をさらに展開した。

乾燥ニンニクから単離された化合物アリキシン(alx)を用いて、バナジウム-アリキシン錯体($VO(alx)_2$)や亜鉛-アリキシン錯体($Zn(alx)_2$)を合成し、これらの糖尿病改善における有効性を明らかにしていたが、アジポネクチンを改善するには至っていなかった。そこでアリキシンから誘導合成された化合物チオアリキシン-N-メチルのZn錯体($Zn(tanm)_2$)を検討したところ、2型糖尿病のみならずメタボリックシンドローム、すなわち、高血圧、脂質代謝やアジポネクチンレベルを改善出来ることを見出した(図5)^{34,35)}。これまで用いてきたアリキシンやチオアリキシン-N-メチルは、天然物かもしくはその半合成化合物であるため、錯体の大量合成は不可能である。そこで、配位子の大量合成と活性のより高い錯体の開発を目指して、同じ配位環境を持つ配位子の設計を試みた³⁶⁾。様々な検討の結果、アリキシン類似化合物として図6に示すような $Zn(hoqlt)_2$ 錯体を見出した(図6)³⁷⁾。

Zn錯体の作用機構も分子レベルで詳しく研究し^{12,38)}、V錯体とはほぼ同様にGLUT4を膜表面へ移動させるのみならず、脂質代謝にも係わることも明らかにできた¹²⁾。

一方、われわれは新しい亜鉛錯体の開発研究にも着手している。すなわち、消化管ホルモンの一

種であるインクレチンは、膵β細胞の各受容体に結合しインスリンの分泌を促進させ、糖代謝を円滑にしているが、血中に分泌されたのち速やかに dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) により加水分解される。そのため、食後の血糖を低下させる DPP4 阻害剤が注目され、いくつかの医薬品、たとえば、シタグリプチンリンやビルダグリプチンなどが開発されている。われわれは、(1)DPP4は、その活性中心に ⁶³¹Ser, ⁷⁰⁹Asp, ⁷⁴¹His を有するセリンプロテアーゼの一種であり、ペプチドN末端から Ala もしくは Pro を有するペプチドの2残基目にあるペプチドを選択的に分解する、(2)

現在臨床開発された DPP4 阻害機構を持つ医薬品はペプチド関連化合物である、などからペプチド性亜鉛錯体を合成し、それらの DPP4 阻害作用を検討した。現在いくつかの可能性ある錯体を見出しつつある³⁹⁾。

謝辞：本研究の大部分は、文部科学省科学研究費補助金・特別推進研究の支援のもとで、京都薬科大学と鈴鹿医療科学大学薬学部で行われた。第5回近畿亜鉛栄養治療研究会（2012年8月）で研究発表と総説執筆の機会を与えていただいた宮田學先生に感謝する。

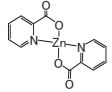
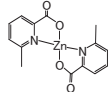
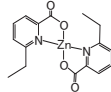
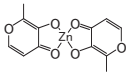
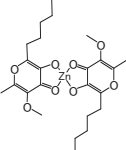
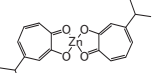
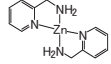
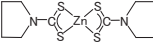
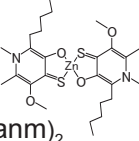
Coordination mode	Structure of zinc complex		
Zn(N ₂ O ₂)	 Zn(pa) ₂	 Zn(6mpa) ₂	 Zn(6epa) ₂
Zn(O ₄)	 Zn(ma) ₂	 Zn(alx) ₂	 Zn(hkt) ₂
Zn(N ₄)	 Zn(2ampy) ₂		
Zn(S ₄)	 Zn(pdc) ₂		
Zn(S ₂ O ₂)	 Zn(tanm) ₂		

図4 実験動物において糖尿病改善作用を示す亜鉛錯体^{8,9,14-18,21-23)}

pa = picolinic acid, 6mpa = 6-methylpicolinic acid, 6epa = 6-ethylpicolinic acid, ma = maltol, alx = allixine, hkt = hinokitiol, 2ampy = 2-aminomethylpicolinic acid, pdc = pyrrolidine dithiocarbamic acid, tanm = thioallixine-N-methyl

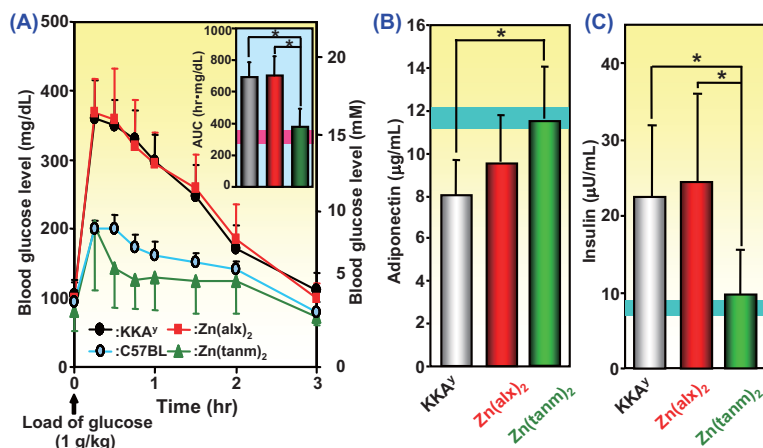


図5 KKA^Y マウスに一日1回を30日間にわたり経口投与した亜鉛錯体の作用 (投与量: 15 mg Zn/kg 体重)^{34,35)}
 (A) 耐糖能試験, (B) 血漿中アディポネクチン濃度, (C) インスリン濃度

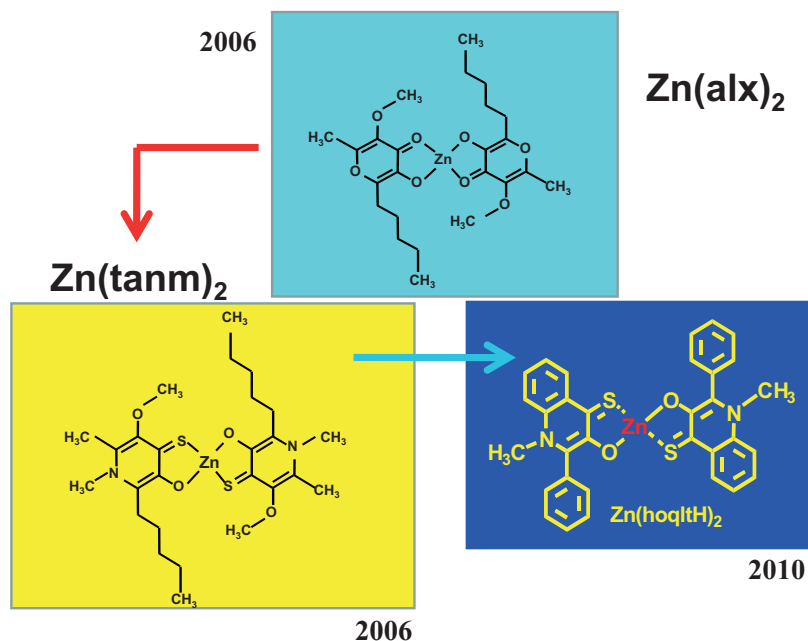


図6 亜鉛-アリキシン錯体の進化^{20,37)}

◆文献

- 1) Lyonnet B, Martz X, Martin E : L'emploi therapeutique des derives du vanadium. Presse Med 1 : 191-192, 1899
- 2) Rubenstein AH, Levin NW, Elliott GA : Manganese-induced hypoglycaemia. Lancet 2 : 1348-1351, 1962, and Nature 194:188-189, 1962
- 3) Nishida M, Sakurai H, Kawada J : Alteration of manganese distribution in organs of rats with streptozotocin. Naturwissenschaften 76 : 220-222, 1989
- 4) Cusi K, Cukier S, Defrenzo RE, et al : Vanadyl sulfate improves hepatic and muscle insulin sensitivity in type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metabol 86 : 1410-1417, 2001
- 5) Nakai M, Watanabe H, Fujiwara C, et al : Mechanism on insulin-like action of vanadyl

- sulfate : studies on interaction between rat adipocytes and vanadium compounds. *Biol Pharm Bull* 18 : 719-725, 1995
- 6) Adachi Y, Sakurai H : Insulin-mimetic vanadyl (IV) complexes as evaluated by both glucose-uptake and inhibition of free fatty acids (FFA)-release in isolated rat adipocytes. *Chem Pharm Bull* 52 : 428-433, 2004
 - 7) Kawabe K, Yoshikawa Y, Adachi Y, et al : Possible mode of action for insulinomimetic activity of vanadyl(IV) compounds in adipocytes. *Life Sci* 78 : 2860-2866, 2006
 - 8) Sakurai H, Yoshikawa Y, Yasui H : Current state for the development of metallo-pharmaceutics and anti-diabetic metal complexes. *Chem Soc Rev* 37 : 2383-2392, 2008
 - 9) 桜井 弘 : Treatment of diabetes in experimental animals by metallocomplexes. *薬学雑誌* 128 : 317-322, 2008
 - 10) Levina A, Lay PA : Metal-based anti-diabetic drugs : advances and challenges. *Dalton Trans* 40 : 11675-11686, 2011
 - 11) Hiromura M, Nakayama A, Adachi Y, et al : Action mechanism of bis(allixinato)-oxovanadium (IV) as a novel potent insulin-mimetic complex : regulation of GLUT4 translocation and FoxO1 transcription factor. *J Biol Inorg Chem* 12 : 1275-1287, 2007
 - 12) Nakayama A, Hiromura M, Adachi Y, et al : Molecular mechanism of antidiabetic zinc-allixin complexes : regulations of glucose utilization and lipid metabolism. *J Biol Inorg Chem* 13 : 11675-11686, 2008
 - 13) Hiromura M, Adachi Y, Machida H, et al : Glucose lowering effect by oral administration of bis(allixinato)oxidovanadium(IV) complex in streptozotocin-induced diabetic mice and gene expression profiling in their skeletal muscles. *Metallomics* 1 : 92-100, 2009
 - 14) Sakurai H, Kojima Y, Yoshikawa Y, et al : Antidiabetic vanadium(IV) and zinc(II) complexes. *Coord Chem Rev* 226 : 187-198, 2002
 - 15) Sakurai H : A new concept : The use of vanadium complexes in the treatment of diabetes mellitus. *The Chem Record* 2 : 237-248, 2002
 - 16) 桜井 弘 : Znを含む新しい抗糖尿病錯体. *化学* 57 (4) : 20-24, 2002
 - 17) Sakurai H, Yasui H, Adachi Y : The therapeutic potential of insulin-mimetic vanadium complexes. *Expert Opin Invest Drug* 12 : 1189-1243, 2003
 - 18) Sakurai H, Tsuchiya K, Nukatsuka M, et al : Insulin-like effect of vanadyl ion on streptozotocin-induced diabetic rats. *J Endocrinol* 126 : 451-459, 1990
 - 19) Sakurai H, Tsuchiya K, Nukatsuka M, et al : Insulin-mimetic action of vanadyl complexes. *J Clin Biochem Nutr* 8 : 193-200, 1990
 - 20) 桜井 弘 : 糖尿病・メタボリックシンドロームを改善する金属錯体の開発を目指して. *金属* 82 (5) : 12-18, 2012
 - 21) Sakurai H : The discovery of vanadyl and zinc complexes for treating diabetes and metabolic syndrome. *Expert Opin Drug Discov* 2 : 873-885, 2009
 - 22) 桜井 弘 : 亜鉛・バナジウムと糖尿病・メタボリックシンドロームとの関連性. *機能的食品と薬理栄養* 5 : 409-414, 2009
 - 23) Sakurai H : Overview and frontier for the development of metallopharmaceutics. *J Health Sci* 56 : 129-143, 2010
 - 24) 井口洋夫 : 元素と周期表 (改訂版), 裳華房, 1969
 - 25) 桜井 弘編 : 元素111の新知识 第2版, 講談社, 2009
 - 26) 桜井 弘 : 金属なしでは生きられない, 岩波書店, 2006
 - 27) 桜井 弘 : 金属は人体になぜ必要か, 講談社, 1996
 - 28) 桜井 弘編 : 生命元素事典, オーム社, 2006
 - 29) 荒川泰行, 荒川泰雄, 林 洋一ほか : 糖尿病と微量元素 *Functional Food* 2 : 79-89, 2008
 - 30) Kazi TG, Afridi HI, Kazi N, et al : Copper, chromium, manganese, iron, nickel, and zinc levels in biological samples of diabetes mellitus patients. *Biol Trace Elem Res* 122 : 1-18, 2008
 - 31) Li Y, Cai L, Fang W : Diabetes and metallothionein. *Min Rev Med Chem* 7 : 761-768, 2007
 - 32) Fugono J, Fujimoto K, Yasui H, et al : Metabolic study of zinc in the blood of normal rats given insulinomimetic zinc(II) complexes and improvement of diabetes mellitus in type 2 diabetes GK rats by their oral administration. *Drug Metab Pharmacok* 17 : 340-347, 2002
 - 33) Yamane M, Adachi Y, Yoshikawa Y, et al : A new anti-diabetic Zn(II)-hinokitiol(β -

- thujapilicin) complex with $Zn(O_4)$ coordination mode. *Chem Lett* 34 : 694-695, 2005
- 34) Adachi Y, Yoshida J, Kodera Y, et al : Oral administration of a zinc complex improves type 2 diabetes and metabolic syndromes. *Biochem Biophys Res Commun* 351 : 165-170, 2006
- 35) 桜井 弘 : 糖尿病・メタボリックシンドロームを治す金属錯体の開発研究. *化学* 62 (3) 12-15, 2007 (研究経過は参考文献参照)
- 36) Katoh A, Matsumura Y, Yoshikawa Y, et al : Evaluation of insulin-mimetic activities of vanadyl and zinc(II) complexes from the viewpoint of heterocyclic bidentate ligands. *J Inorg Biochem* 103 : 567-574, 2009
- 37) Sakurai H, Katoh A, Kiss T, et al : Metalloallixinate complexes with anti-diabetic and anti-metabolic syndrome activities. *Metallomics* 2 : 670-682, 2010
- 38) Buski W, Hiromura M, Sakurai H : Insulinomimetic Zn complex ($Zn(opt)_2$) enhances insulin signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes. *J Inorg Biochem* 101 : 692-699, 2007
- 39) Fujisawa Y, Uemura M, Komeda S, et al : Zinc complexes as dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) inhibitor mimetics. 22nd Sym Role Metals Biol Reac & Biol Med (SRM2012) Kanazawa, Abst p33, 2012