

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	渡 辺 宏 晃
論文審査担当者	主 査 山 田 充 彦 副 査 桑 原 宏 一 郎 ・ 小 泉 知 展
論文題目 In vitro inhibitory effects of sesamin on cytochrome P450 4F2 activity (In vitro におけるセサミンのシトクロム P450 4F2 活性に対する阻害効果)	
(論文の内容の要旨) <p>【背景・目的】ゴマは栄養価が高く健康によいとされ、世界中で広く利用されている食品である。ゴマやその主要なリグナンであるセサミンは血圧を低下させることがメタ解析により示されている。その機序として、セサミンが血管収縮因子である 20-ヒドロキシエイコサテトラエン酸 (20-HETE) の産生を抑制することによって惹起される可能性が示唆されている。20-HETE は主にシトクロム P450 4F2 (CYP4F2) によってアラキドン酸から生成されるが、in vitro 実験において、セサミンはヒト肝臓や腎臓のマイクロソームおよび CYP4F2 組換え酵素による 20-HETE 産生を阻害することが報告されている。しかし、セサミンが CYP4F2 の機能をどのような機序で阻害するのかは明らかではない。本研究では、CYP4F2 活性に対するセサミンの影響を in vitro で明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法】ヒト CYP4F2 組換え酵素を用いて、ルシフェリン-4F2/3 O-脱アルキル化酵素活性に対するセサミンの阻害効果を検討した。阻害が認められた場合、50%阻害濃度 IC₅₀ 値の他、阻害様式および阻害定数 K_i 値を算出した。次いで、代謝依存的阻害が認められた場合、不活性化の速度論的解析を行い、最大不活性化速度定数 k_{inactivation} 値および半値阻害剤濃度 K_i 値を算出した。</p> <p>【結果】セサミンは CYP4F2 活性を濃度依存的に阻害し、IC₅₀ 値 (mean ± S.D.) は 0.381 ± 0.031 μM であった。CYP4F2 によるルシフェリン-4F2/3 O-脱アルキル化反応は sigmoid 型の反応様式を示したことから、Hill 式に当てはめて速度論的パラメーターを算出したところ、セサミンは V_{max} を低下させたが、S₅₀ を上昇させた。一方、セサミンは Hill 係数 n には影響を及ぼさなかった。これらの結果から、セサミンは混合型の阻害様式を示すことが示唆された。見かけの K_i 値は 0.272 ± 0.041 μM であった。</p> <p>セサミンが CYP4F2 活性に対して代謝依存的な阻害作用を示すか否かを明らかにするため、プレインキュベーションの影響を検討した。セサミンは NADPH 存在下で組換え酵素とプレインキュベーションすることによって CYP4F2 阻害を顕著に増強した (プレインキュベーション時間が 20 分と 0 分のときの IC₅₀ 値はそれぞれ 0.0634 ± 0.0106 μM、0.399 ± 0.013 μM)。そこで、CYP4F2 に対するセサミンの代謝依存的な阻害の様式と強さを明らかにするため、不活性化の速度論的解析を行った。セサミンは CYP4F2 活性をプレインキュベーション時間依存的かつ濃度依存的に阻害し、k_{inactivation} 値および K_i 値はそれぞれ 0.354 ± 0.020 min⁻¹、1.12 ± 0.05 μM であった。セサミンによる不活性化は NADPH 依存性を示した。</p>	

【考察】本研究において、セサミンは CYP4F2 組換え酵素のルシフェリン-4F2/3 O-脱アルキル化活性を効果的に阻害することが明らかとなった。先行研究において、セサミンは 1 μM で CYP4F2 組換え酵素によるトコフェロールの ω -水酸化を強く阻害することや、アラキドン酸の ω -水酸化を濃度依存的に阻害すること (IC_{50} 値 1.87 μM) が報告されている。これらの知見から、セサミンは用いる基質によらず、CYP4F2 活性を阻害することが示された。さらに、本研究では、セサミンが CYP4F2 を不活性化することを明らかにした。この不活性化はプレインキュベーション時間依存的および濃度依存的であり、かつプレインキュベーション時に NADPH が必要であった。これらの結果は、セサミンによる CYP4F2 の不活性化がセサミンの代謝を介して引き起こされる可能性を示唆した。また、これまでに 17-オクタデシン酸や HET0016 が CYP4F2 を阻害することが知られているが、CYP4F2 を不活性化することにより阻害作用を示す化合物はセサミンが初めてである。セサミンの CYP4F2 に対する不活性化能 ($k_{\text{inactivation}}/K_i$) は 316 L/mmol/min であり、CYP2C9 に対する不活性化能 (138 L/mmol/min) よりも約 2.3 倍高かったことから、セサミンは CYP4F2 に対してより強力な不活性化剤であることが明らかとなった。

【結論】セサミンはヒト CYP4F2 の不活性化剤であることが示された。セサミンの抗高血圧作用は 20-HETE 産生に関与する CYP4F2 をセサミンが不活性化することによって惹起される可能性が示唆された。