

26M-am10

一酸化窒素によるロイコトリエン産生抑制機構

○高城 徳子¹, 土田 和徳¹, 上野 光一², 輿石 一郎¹ (¹日本薬大, ²千葉大院薬)

【緒言】マウスを用いた喘息モデルでは一酸化窒素 (NO) 吸入療法により症状が緩和されることが知られている。その一方、喘息患者では上皮細胞が iNOS を過剰発現し呼気中に NO を排出することが知られている。さらに、喘息治療にリポキシゲナーゼ阻害剤が有効であること、NO はリポキシゲナーゼの阻害効果を有することから、NO 産生とリポキシゲナーゼ活性との関係に興味をもたれる。本研究では、NO によるリポキシゲナーゼ阻害機構について検討した。

【実験】密閉容器内で P-NONOate 存在下リポキシゲナーゼとリノール酸 (1 mM) を反応させた。反応産物は逆相 HPLC を分離系とする LC-MS/MS およびフォトダイオードアレイ検出器により構造解析を行った。

【結果及び考察】NO 発生剤存在下、リポキシゲナーゼとリノール酸を密閉容器内で反応させたところ、NO 発生剤非存在下に比べて 13-HpODE 生成量が著しく低下した。反応産物の解析を LC-MS/MS および UV スペクトル測定装置で解析したところ、酵素上のリノール酸アリルラジカルに NO が付加した 13-NO-9Z,11E-ODE および 9-NO-10E,12Z-ODE が検出され、さらに、13-NO-9E,11E-ODE および 9-NO-10E,12E-ODE が検出された。また、微量ではあるが、12,13-Epoxy-9-NO-OME の生成が認められた。これらの結果より、Fe²⁺-リポキシゲナーゼと 13-HpODE との Pseudoperoxidase 反応により生成するアルコキシラジカルに NO が付加した後、二酸化窒素が Homolysis により脱離し、熱安定化した遊離型リノール酸アリルラジカルに NO が付加する経路が示唆された。これらの結果より、ロイコトリエン産生抑制は、NO によるリポキシゲナーゼの直接阻害ではなく Pseudoperoxidase 反応によりヒドロパーオキサイドが消費されるためであることが明らかとなった。