

エピガロカテキンガレートはブタ心臓における 9,10-フェナントレンキノンの 2 電子還元反応に起因するスーパーオキシド生成を防御する

○樋口 敏幸<sup>1</sup>, 岩瀬 晴信<sup>1</sup>, 森田 怜子<sup>1</sup>, 荒井 美也<sup>1</sup>, 白石 隆幸<sup>1</sup>, 島田 秀昭<sup>2</sup>, 今村 順茂<sup>1</sup> (<sup>1</sup>日本薬大, <sup>2</sup>熊本大教育)

【目的】我々は、ディーゼル排気ガス微粒子に含まれる 9,10-フェナントレンキノ (PQ) がブタ心臓可溶性画分を用いた反応系において、スーパーオキシドを生成すること、そのメカニズムとしては、ブタ心臓に存在する 4 量体カルボニル還元酵素 (TCBR) による PQ の 2 電子還元反応と、それに伴うレドックスサイクルが関与していることを報告してきた。本研究では、PQ に起因するスーパーオキシド生成を防御することを目的として、緑茶成分として知られているエピガロカテキンガレート (EGCG) を取り上げ、さらに検討を試みた。

【方法】スーパーオキシドの測定: 0.1M リン酸緩衝液 (pH 6.0)、NADPH 生成系、10  $\mu$ M PQ、酵素溶液 (ブタ心臓可溶性画分) からなる反応液に発光試薬 (MPEC) を添加した後、ルミノメーターを用いて 1 分間の発光積算値を測定し相対発光強度を求めた。酵素活性の測定: 0.1M リン酸緩衝液 (pH 6.0)、NADPH 生成系、0.5 mM 4-ベンゾイルピリジン (4-BP)、酵素溶液からなる反応液を 37°C で 10 分間インキュベートし、生成した還元体を HPLC 法により測定した。

【結果および考察】ブタ心臓可溶性画分を用いた反応系において、EGCG が TCBR 依存性の PQ の 2 電子還元反応に起因するスーパーオキシドの生成にどのような影響を及ぼすかを検討したところ、EGCG はスーパーオキシドの生成に対して顕著な防御効果を示した。しかし、EGCG は TCBR の基質である 4-BP の還元反応に対しては、ほとんど阻害効果を示さないことが判明した。これらの結果から、EGCG は TCBR の酵素機能を阻害することなく、PQ の 2 電子還元反応と、それに伴うレドックスサイクルを介して生成されたスーパーオキシドを捕捉することにより、防御効果を示すものと推察された。