

28amA-005S

Estradiol の 4 位水酸化を指標とするフラボン類の CYP1B1 阻害活性

○本田 晴菜¹, Xin MENG¹, 川村 洋貴¹, 今 由香莉¹, 清水 理愛¹, 伊藤 慎二¹
(¹北海道薬大)

【目的】 Estradiol (E2)は種々の CYPs により、主に2位水酸化あるいは4位水酸化を受けるが、このうち、4位水酸化体は発がんリスクの高いことが知られている。CYP1B1 はこの4位水酸化に関与し、乳がんとの関わりが指摘されているCYP 分子種である。したがって、CYP1B1 阻害剤は乳がん等の予防に役立つと思われる。現在、CYP1B1 阻害剤として、フラボン等のポリフェノール類が知られており、その阻害活性は、殆どの場合 7-ethoxyresorufin の脱エチル化 (EROD)で評価されているが、EROD は直接発がんとの関わりがない測定法である。今回、発がんとの関わりがある E2 の 4 位水酸化を指標とする、フラボン類の CYP1B1 阻害活性の評価を試みた。

【方法】 インキュベーション条件: Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4, 50 mM), NADPH 産生系 (NADP⁺ 0.5 mM, G6P 5.0 mM, MgCl₂ 5.0 mM, G6P-DH 1 u/mL), アスコルビン酸 (0.5 mM), EDTA (50 μM), リコンビナント rCYP1B1 (40 μM), E2 (50 μM), 阻害剤 (5~0.005 μM), 全量 0.5 mL. 37°C, 30 min. 後処理: 反応液を加熱し、上清に酢酸エチルを加え振盪混和後、遠心分離し上清である代謝物画分を得た。HPLC 条件: カラム; Mightysil RP-18GP (250×3.0 mm, i.d.), 40°C, 検出器; EC-8020 (Tosoh) 900 mV, 移動相; MeOH: リン酸緩衝液 (pH 3) = 55 : 45.

【結果】 阻害剤として、 α -naphthoflavone, β -naphthoflavone, flavone, acacetin, apigenin, chrysin, quercetin, fisetin, 5-hydroxy-7-methoxyflavone, 7-hydroxy-5-methoxyflavone, 5,7-dimethoxyflavone を用いたところ、EROD 法と同様に、 α -naphthoflavone 及び β -naphthoflavone に強い阻害活性が見られた。また、7-hydroxy-5-methoxyflavone 及び 5,7-dimethoxyflavone には阻害活性が殆ど見られなかったことから、5位へのメキシ導入は阻害活性の減弱に繋がることが分かった。