

インドール環含有トリプトファン代謝物の 生体内抗酸化物質としての可能性 ～スペクトル測定で見るペルオキシナイトライトとの反応性～

○池田啓一¹⁾、岩倉慶典¹⁾、新城智也¹⁾、川崎広明²⁾、東康彦¹⁾、
小林淳³⁾、刀祢重信⁴⁾、松本孝²⁾、山倉文幸⁵⁾

1) 北陸大学薬学部, 2) 昭和女子大学食健康科学部, 3) 高知県立大学健康栄養学部,
4) 東京電機大学理工学部, 5) 順天堂大学保健医療学部

【目的】

炎症などにおいて発生する活性窒素種（ペルオキシナイトライト（ONOO⁻）や NO₂）は、生体内でタンパク質やアミノ酸のチロシンに対し修飾反応を起こす。その結果として生ずる3-ニトロチロシンは、炎症性疾患、神経変性疾患を始めとする様々な疾患部位に検出されている。我々は、活性窒素種とタンパク質との反応により6-ニトロトリプトファン（6-NO₂Trp）やトリプトファン（Trp）の各種酸化物がタンパク質残基中に生ずることを見出した。遊離アミノ酸として存在するTrpについても、同様の反応により6-NO₂Trpや酸化物を生ずることが報告されている。そこで我々は、Trp同様にインドール骨格を持つTrp代謝物においても、同様にニトロ化反応が起こるのではないかと考えた。本研究では、TrpやTrp代謝物に特有の紫外吸収や蛍光、また、Trpの酸化やニトロ化による特有の可視吸収に注目し、Trp代謝物とONOO⁻との反応による蛍光および紫外-可視吸収スペクトルの変化から、反応性の違いや反応による主要な生成物を予測した。

【方法】

Trp, 5-ヒドロキシトリプトファン（5-OHTrp）、セロトニン塩酸塩、トリプタミン、3-インドール酢酸を試料とした。それらのTrp代謝物を中性条件炭酸ガス溶存下の溶液中にて、ONOO⁻（同仁化学製）を0.6 mMずつ、終濃度1.2, 2.4, 3.6, 4.8, 6.0 mMになるまで逐次添加し反応させた。反応の陰性対照では、各Trp代謝物添加前の溶液に6.0 mMのONOO⁻を添加し分解後、Trp代謝物を添加した。これらの反応液を希釈後、作成した試料の蛍光スペクトルと紫外-可視吸収スペクトルを測定した。

【結果および考察】

今回対象とした各Trp代謝物は、未反応の状態ですべて蛍光を有することを確認した。各Trp代謝物の蛍光スペクトル極大波長の蛍光強度は、ONOO⁻の添加濃度に従って減少した。各Trp代謝物の蛍光強度の比較から、6.0 mM ONOO⁻添加後の5-OHTrpでは、他のTrp代謝物に比べ減少幅が少ないことがわかった。紫外-可視吸収スペクトルとの関連から、5-OHTrpでは他のTrp代謝物に比べ、3.6 mM以上のONOO⁻との反応では、ニトロ化由来の400nm付近の吸収はそれ以上増加せず、酸化由来の350nm付近の吸収のみが増加していることから、酸化生成優位のため、インドール環の電子密度が下がらず、5-OHTrpの蛍光スペクトルの減少幅が少なかったのではないかと考えられる。また、ニトロ化由来の400nm付近の吸収から、どのTrp代謝物についても、6.0 mMのONOO⁻による修飾により、半分量以上が修飾されたと推測されたことから、生体内でこれらインドール環含有Trp代謝物は、既存の各機能以外にONOO⁻を消去する生体内抗酸化物質として作用する可能性も示唆された。