O−15

DMBAによる発がん、毒性発現における microsomal epoxide hydrolaseの生体内での役割

○宮田昌明[1]、工藤玄[2]、古川正幸[1]、高橋公一[1]、Frank J. Gonzalez[2]、山添康[1]（[1]東北大院・薬、[2]米国国立衛生研）

Role of microsomal epoxide hydrolase *in vivo* on the DMBA-induced toxicity and carcinogenicity

Masaaki MIYATA[1], Gen KUDO[2], Masayuki FURUKAWA[1], Koichi TAKAHASHI[1], Frank J. GONZALEZ[2], Yasushi YAMAZOE[1] ([1]Grad. Sch. Pharm. Sci. Tohoku Univ., [2]Natl. Cancer Inst., Natl. Inst. Health)

多環芳香族炭化水素であるDMBAは、免疫毒性や発がん性を有し、芳香環のエポキシ化及びメチル基の水酸化を経る二つの代謝活性化経路が知られている。ところが種々の臓器の毒性発現に対する各々の活性化経路の重要性についての知見はない。演者らはmicrosomal epoxide hydrolase (mEH) knockoutマウスを作成し、薬物や外来異物の代謝と毒性について解析してきた。本研究ではDMBAの発がん、毒性発現にmEHがどのように関与するのかmEH knockoutマウスを用いて解析した。

雄mEH knockoutマウスとwild-typeマウスに5日間DMBAを腹腔内投与した後、各臓器を単離し重量を測定した。脾臓においてwild-typeマウスで用量依存的に重量の減少が認められ、100mg/kg 投与においてコントロールの30%まで減少したが、knockoutマウスでは変化がなかった。一方胸腺ではknockout、wild-typeマウス共に重量の減少が認められ、肝臓、腎臓では共に変化がなかった。

雌マウスを用いてDMBAの皮膚２段階発がん実験と完全発がん実験を実施した。前者は25 μg DMBA処理の後、TPA 5 μgを1週3回、20週処理した。後者は12.8 μg DMBA処理を25週実施した。前者では15週でwild-typeマウスの70%以上にパピローマが生じたが、knockoutマウスでは15%以下だった。一方後者では25週でwild-typeマウスの80%にパピローマが生じたが、knockoutマウスではまったく認められなかった。以上の結果より生体内でDMBAの脾臓毒性、皮膚発がんにmEHが重要な役割を果たしていることが示唆された。

O−16

新規変異原物質 2-phenylbenzotriazole (PBTA) 誘導体のヒト CYP1A1 による代謝的活性化

○山崎義征[1]、藤田健一[1]、中山佳都夫[1]、若林敬二[2]、鎌滝哲也[1]（[1]北大・薬・代謝分析、[2]国立がんセ・研・がん予）

Metabolic activation of 2-phenylbenzotriazole (PBTA) derivatives by human CYP1A1

Yoshiyuki YAMAZAKI[1], Ken-ichi FUJITA[1], Kazuo NAKAYAMA[1], Keiji WAKABAYASHI[2] and Tetsuya KAMATAKI[1] (Lab. Drug Metab., Grad. Sch. Pharm. Sci, Hokkaido Univ; Cancer Prevention Div., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.)

【目的】2-Phenylbenzotriazole (PBTA) 誘導体は、河川水より単離された新規の変異原物質である。PBTA 誘導体は、ラット肝 S9 mix を添加した場合に、サルモネラ菌 TA98 株を用いた Ames 試験で変異原性を示す。しかし、これらの化学物質のヒトの薬物代謝酵素による代謝的活性化については不明である。本研究ではこれらの化学物質がヒトチトクローム P450 (CYP) によって代謝的に活性化されるか否か検討した。
【方法】ベンゼン環の 4 位の置換基が異なる 6 種類の PBTA 誘導体 (PBTA-1 [$-N(CH_3OC_2H_4)_2$]、PBTA-2 [$-N(C_2H_5)C_2H_4CN$]、PBTA-3 [$-NHC_2H_4OH$]、PBTA-diAc [$-N(CH_3OCOC_2H_4)_2$]、PBTA-diOH [$-N(HOC_2H_4)_2$]、PBTA-amino [$-NH_2$]) について、当研究室で樹立したヒト CYP および NADPH-CYP 還元酵素 (OR) を同時に発現するサルモネラ菌 TA1538 株を用いて変異原性試験を行った。11 種類の CYP 分子種について検討した。またヒト CYP1A1、OR およびサルモネラ菌 *O*-アセチル転移酵素 (OAT) を 3 種同時に発現するサルモネラ菌株を用いてアセチル抱合の関与を検証した。
【結果および考察】PBTA-1 に関しては CYP1A1 発現菌株を用いたときのみ復帰変異体数の上昇が認められた。PBTA-2、PBTA-3、PBTA-diAc、PBTA-diOH および PBTA-amino の場合も CYP1A1 にほぼ特異的に変異原活性化能が検出された。復帰変異体数が上昇した変異原物質濃度は 14-140 nM であった。CYP1A1、OR および OAT を 3 種同時に発現する菌株を用いたときは CYP および OR のみを発現する菌株を用いたときより PBTA 誘導体により誘発された復帰変異体数は多かった。

以上、検討した 6 種類の PBTA 誘導体はほぼ特異的にヒト CYP1A1 により活性化されて変異原性を示すことを明らかにし、代謝的活性化へのアセチル抱合の関与を検証した。

NII-Electronic Library Service