

多環芳香族化合物類 (PACs) による 代謝酵素誘導とDNA付加体生成

三崎健太郎^{1,2}, 松井三郎², 松田知成²¹京都大学工学研究科環境工学専攻, ²京都大学地球環境学大学院

Induction of Metabolic Enzymes and Formation of DNA adducts by polycyclic aromatic compounds

MISAKI KENTARO^{1,2}, MATSUI SABURO² and MATSUDA TOMONARI²¹Department of Environmental Engineering, Kyoto University, ²Graduate School of Global Environmental Studies, Kyoto University

【目的】

ディーゼル粉塵および大気浮遊粒子中にはベンゾ[a]ピレン (B[a]P) など様々な多環芳香族化合物類 (PACs) が存在し、これまで多くのDNA付加体が検出されてきた。細胞中の芳香族炭化水素レセプター (AhR) は、PACsをリガンドとして認識し、生体異物応答配列 (XRE) を介してチトクローム P450 (CYP) などの様々な代謝酵素を誘導する。B[a]Pは、CYP1A1などによりBPDEなどの代謝物に変換されDNAの付加体を形成する。またB[a]Pは、抗酸化剤応答配列 (親電子試薬応答配列、EpRE) を介して誘導されるアルドケト還元酵素 (AKR) による代謝を経て、カテコール体 ⇌ O-キノン体の変換サイクルに入ることが予想されており、そのとき発生する活性酸素 (ROS) によるDNA損傷の寄与も考えられる。さらに多環芳香族キノン類 (PAQs) も同様の変換サイクルによるROSの発生、およびそれによるDNA損傷が予想される。本研究では、これまで調べられてこなかったPAQs、多環芳香族ケトン類 (PAKs) を含め、様々なPACsによって、AhR、EpREを介したこれらの代謝酵素誘導、および安定なPAC-DNA付加体形成を調べた。

【方法】

ヒトの肝臓ガン (HepG2) 細胞を用いて、20種類の各PACsを5 μ M、24 h暴露させ、その中の6種類のPACsについては、24 h暴露での用量応答変化、5 μ M暴露での経時変化を調べ、CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1、GSTM1、NQO1、AKR1C1などの代謝酵素のmRNAをリアルタイムRT-PCRによって測定した。活性はGAPDHのmRNAに対

する比によって補正した。また、5 μ MのPACsを24 h暴露させ、生じた安定なPAC-DNA付加体を電気泳動で分離し、³²P-ポストラベル法で測定した。

【結果】

HepG2細胞において、AhR (XRE) を介するCYP系、NQO1などの代謝酵素誘導は、ベンゾ[k]フルオランテン (B[k]FA)、ジベンズ[a,h]アントラセン (DB[ah]A) などの多環芳香族炭化水素類 (PAHs) で特に強く24 h以後も誘導され続けるが、B[a]Pは前の2つより24 h後のCYP1A1、NQO1の誘導が少し少なかった。また、PAQである5,12-ナフトセンキノン (NCQ) も24 h後でB[a]Pと同程度の誘導を示した。5 μ M、24 h暴露でB[a]P、B[k]FAなどのPAHsでは安定なDNA付加体が顕著に見られた (それぞれ41、28 adducts per 10⁶ nucleotides) が、DB[ah]Aは1.6 adducts per 10⁶ nucleotidesと少なかった。またPAQsやPAKsによる安定なDNA付加体生成は全体的に少なく、これらの中ではシクロペンタ[cd]ピレン-3(4H)-オン (CPPO) が6.8 adducts per 10⁶ nucleotidesと一番多かった。一方、EpREを介するAKR1C1は、いくつかのPAQs (NCQなど) やPAKs (B[a]FO、B[b]FOなど) の他、B[a]P、B[k]FA、DB[ah]Aなどの強AhR活性PAHsにおいても大いに誘導され、24 h前後で誘導が下がる傾向が見られた。PAHsのほうが誘導により時間を要したことから、これらのPAHsではCYP1A1などによる代謝物がEpRE活性に関与していることが示唆された。今後これらのPACsによって生じる酸化的損傷を定量し、代謝酵素誘導との関連を調べる予定である。