

内在性 Ah レセプターリガンド候補 indirubin および indigo による酵素誘導

杉原数美¹⁾、山田剛士¹⁾、北村繁幸¹⁾、太田 茂¹⁾、山下敬介²⁾、岡村さおり²⁾、
安田峯生³⁾、藤井義明⁴⁾、佐伯憲一⁵⁾、松井三郎⁶⁾、松田知成⁶⁾

¹⁾広島大・医・薬、²⁾広島大・医・解剖、³⁾広島国際大・保健医療、⁴⁾東北大院・理、⁵⁾名古屋市大・薬 ⁶⁾京都大院・工

【目的】Ah レセプター (AhR) はダイオキシン (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin :TCDD) と結合する転写因子として見出されたが、いまだに生体内でのリガンドが見つかっていない。orphan receptor である。最近、Adachi ら¹⁾はヒト尿中より、AhR に結合する物質を単離精製、構造決定し、indigo および indirubin であることを明らかにした。組換え酵母を用いたレポーター試験で、indigo は TCDD と同程度、indirubin は TCDD の約 50 倍もの結合活性を示した。そこで本研究では、indigo および indirubin を *in vivo* で投与し、TCDD と同様な生体影響を生じるかを調べた。

【実験方法】酵素誘導実験では C57BL/6J:Jcl マウスに indigo あるいは indirubin を 3 日間腹腔内投与、肝より常法に従いミクロゾーム (Ms) を調製し、EROD(ethoxyresorfin-O-dealkylase)、MROD および PROD 活性を測定した。*In vivo* 実験では、indigo あるいは indirubin をマウス肝 Ms で反応後、生成した代謝物を HPLC を用いて調べた。

【結果・考察】マウスに indigo を 0.1,1,10,100mg/kg で投与したところ、いずれの投与量でも急性毒性は認められなかった。肝 Ms の酵素活性は、1.0 mg/kg で EROD が約 3 倍、MROD が 7 倍に誘導された。本酵素誘導は、AhR を欠損したマウス (*Ahr*^{-/-}) では、ごく僅かしか認められなかった。一方、indirubin を投与したところ、同じく急性毒性は示さなかったが、EROD が 1.6 倍、MROD で 2 倍増加し、PROD の亢進はなかった。また、indigo あるいは indirubin をマウス肝 Ms で代謝することにより、数種の代謝物の生成が認められた。

以上の結果より、*in vivo* において indigo および indirubin は、AhR を介して転写誘導を起こすことが明らかとなった。しかし、TCDD より高投与量を要し誘導率も低い。これは indigo および indirubin が生体内で代謝を受けやすく、多くが AhR と結合する以前に不活性化体に代謝されるためと考えられる。

1) Adachi, et al., J.Biol.Chem., 276, 31475-31478 (2001)

AhR mediated induction of drug metabolizing enzymes by indirubin and indigo

Kazumi Sugihara¹⁾, Tsuyoshi Yamada¹⁾, Shigeyuki Kitamura¹⁾, Shigeru Ohta¹⁾, Keisuke Yamashita²⁾, Saori Okamura²⁾, Mineo Yasuda³⁾, Yoshiaki Fujii-Kunyama⁴⁾, Ke'nich Saeki⁵⁾, Saburo Matsui⁶⁾ and Tomonad Matsuda⁶⁾

¹⁾ Institute of Pharmaceutical Sciences, ²⁾ Department of Anatomy, Hiroshima University School of Medicine, Japan. ³⁾ Faculty of Health Sciences, Hiroshima International University, Japan. ⁴⁾ Department of Chemistry, Graduate School of Science, Tohoku University, Japan. ⁵⁾ Nagoya City University, Japan. ⁶⁾ Department of Environmental Engineering, Kyoto University, Japan.

Aryl hydrocarbon receptor (AhR) is a ligand-binding transcription factor which was isolated as a TCDD receptor in the cell, but it remains an orphan receptor. Recently, Adachi *et al.*¹⁾ identified the endogenous ligands of AhR in human urine using the recombinant yeast assay, and determined them as indirubin and indigo. In this study, we demonstrated their physiological effect in mice. They induced ethoxyresorfin-O-dealkylase (EROD) and MROD in liver microsomes of C57BL/6J mice (*Ahr*^{+/+}), but did not in AhR-null (*Ahr*^{-/-}) mice. The effective dose of indigo and indirubin were more than 1 mg/kg. Though their binding activities with AhR were comparable with or more potent than TCDD, the induction of EROD or MROD was lower. Both indirubin and indigo were easily metabolized by liver microsome and some metabolites were detected as *in vitro* metabolites. These facts suggest that indirubin and indigo were easily metabolized and then the inducing ability of these compounds were weak compared with that of TCDD.