

Benzo[a]pyrene の抗アンドロゲン作用

岡村和政, 広瀬敏治, 木津良一, 鳥羽陽, 正宗行人, 早川和一
金沢大学薬学部

【目的】多環芳香族炭化水素(PAH)はディーゼル排気粉じんやタバコ煙中などに含まれ, 広く環境中に放出されている. これら PAH の一部や 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)などはアリル炭化水素受容体(AhR)を活性化させる. 近年, ヒト前立腺癌由来 LNCaP 細胞において, TCDD がアンドロゲンによる前立腺特異抗原(PSA)の発現を抑制するという報告が成されるなど, アンドロゲン受容体(AR)と AhR の間に相互作用が疑われた. 我々はこれまでに PSA プロモーターを用いたレポータージーンアッセイにおいて AhR を活性化させる PAH の Benzo[a]pyrene(BaP)などが遺伝子の発現を抑制するという知見を得ており, AR による遺伝子転写調節作用に AhR の影響が考えられた. そこで, AhR が結合する DNA 配列 Xenobiotic Responsive Element (XRE)が PSA プロモーター領域内に存在するかどうかを調べたところ, 8 カ所の XRE コア配列が確認できた. 本研究では, これら XRE が BaP の抗アンドロゲン作用に關与するかどうかの検討を行った.

【方法】制限酵素を用いて XRE コア配列を欠失させた種々の長さの PSA プロモーターを作成した. また, XRE のポイントミュータントを PCR 法により作成した. 作成したプロモーターはルシフェラーゼレポータープラスミドに連結させた. これらのプラスミドを前立腺癌由来の AR 安定発現 PC-3 細胞(PC-3/AR 細胞)にトランスフェクションし, 5 α -dihydrotestosterone (DHT)及び BaP の共存下でアッセイを行い, BaP の抗アンドロゲン作用を評価した.

【結果と考察】PSA プロモーター領域内で予想される XRE コア配列は全部で 8 カ所あり, それぞれの XRE を欠失させ, AR による転写活性化能について検討した結果, 上流から 6 番目までの XRE を欠失させた PC-3/AR 細胞は BaP による抗アンドロゲン作用を示したが, 7 番目以降を欠失させた細胞では BaP の抗アンドロゲン作用が消失した. また, 上流から 7 番目または 8 番目の XRE を変異させた細胞では 7 番目の XRE を変異させたプロモーターで BaP による抗アンドロゲン作用が消失した. これらの結果より, PC-3/AR 細胞において PSA プロモーター領域の上流から 7 番目の XRE が BaI(AhR)による抗アンドロゲン作用に關与していることが示唆された.

Antiandrogenic Activity of Benzo[a]pyrene

Kazumasa Okamura, Toshiharu Hirose, Ryoichi Kizu, Akira Toriba, Yukito Masamune, Kazuichi Hayakawa
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University, Japan

In this study, we investigated that antiandrogenic activity of Benzo[a]pyrene (BaP) in PC-3/AR cells transiently transfected with several types of prostate specific antigen (PSA) promoter-luciferase reporter plasmid. There are 8 points of xenobiotic responsive elements (XREs) on the PSA promoter. In deletion analysis of the PSA promoter, BaP shows antiandrogenic activity in the cells transfected with the plasmids deleted to the sixth XREs from the upstream region but the plasmids deleted to the seventh and eighth XRE did not. Moreover, in mutation analysis of the PSA promoter, the antiandrogenic activity of BaP were disappeared by the point mutation of the seventh XRE. These results suggest that the seventh XRE from the upstream region of PSA promoter has been involved in the antiandrogenic activity of BaP.