

エストロゲン前駆物質 2-ニトロフルオレンの ラット肝チトクローム P450 による代謝とその活性化

藤本隆志, 北村繁幸, 杉原数美, 吉原新一, 太田 茂

広島大院医歯薬

【目的】 2-Nitrofluorene(NF)は大気中に広く分布するニトロ多環芳香族炭化水素の代表的化合物である。NF の代謝活性化による遺伝毒性作用については既に多くの報告が存在するが、本化合物の内分泌攪乱作用についてはあまり検討されていない。既に我々は NF がエストロゲン前駆体であり、動物組織酵素によって代謝活性化されることによりエストロゲン活性を発現することを明らかにした。本研究では NF のラット肝ミクロゾームによる代謝を精査するとともに、二次代謝物の活性についても検討した。

【方法】 エストロゲン活性はイーストエストロゲンスクリーニングアッセイにより求めた。NF の代謝実験は、NADPH 存在下各種誘導剤で処理したラット肝ミクロゾームあるいはラット P450 発現系と反応させ、代謝物を HPLC で分析することによって行った。

【結果・考察】 NF はそれ自身ではほとんどエストロゲン活性を示さないが、3-methylcholanthrene 前処置ラットの肝ミクロゾーム(MC ミクロゾーム)と反応させることにより顕著にエストロゲン活性を発現した。MC ミクロゾームによる NF の主代謝物として 7-位水酸化体が認められ、本代謝物にはエストロゲン活性が認められた。肝ミクロゾームの 7-位水酸化活性は MC 前処置で上昇し、 α -naphthoflavone で抑制された。またラット P450 発現系では CYP1A1 でその活性が高かった。7-位水酸化体と MC ミクロゾームを反応させた場合でも、生成物の一つにエストロゲン活性が認められた。一方、phenobarbital 前処置ラットの肝ミクロゾームと NF を反応させても、ほとんどエストロゲン活性を示さなかった。この場合 PB ミクロゾームによる NF の主代謝物として 9-位水酸化体が認められたが、本代謝物にはエストロゲン活性は認められなかった。以上の結果から NF の代謝活性化には CYP1A1 が主に関与しており、一方 phenobarbital 誘導型 CYP2B は NF の解毒化に寄与していることが示唆された。

Metabolic Activation of Proestrogen 2-Nitrofluorene by Rat Hepatic Cytochrome P450

Takashi Fujimoto*, Shigeyuki Kitamura, Kazumi Sugihara, Shin'ichi Yoshihara and Shigeru Ohta

Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Japan

2-Nitrofluorene (NF) is a toxic nitropolycyclic aromatic hydrocarbon found in the environment. Previous studies demonstrated that NF is a proestrogen which require hydroxylation prior to eliciting estrogenic activity. Liver microsomes from 3-methylcholanthrene-treated rat (MC microsomes) preferentially formed estrogenic metabolite, 7-hydroxylated NF. The activity of 7-hydroxylation was higher in MC microsomes than those of untreated and phenobarbital-treated rats. α -naphthoflavone inhibited the formation of 7-hydroxylated NF. CYP1A1 (cDNA-expressed rat P450) showed the highest activity of 7-hydroxylation. These results suggested that 7-hydroxylation is mainly catalyzed by CYP1A1. When 7-hydroxy NF was incubated with MC microsomes, further activated metabolites were formed. In contrast, liver microsomes from rats treated with phenobarbital mainly formed 9-hydroxylated product, but 7-hydroxylated metabolite was not detected. 9-Hydroxylated NF showed no estrogenic activity. These results suggested that CYP1A1 play an important role on the bioactivation of NF and phenobarbital-inducible isozymes, CYP2B, show the detoxification potential of NF.