

内在性 Ah レセプターリガンド候補 indirubin による酵素誘導と TCDD との競合作用

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

1)広島大・医歯薬、2)広島国際大・保健医療、3)筑波大・先端、4)名古屋市大・薬学、5)京都大院・工

【目的】最近、ヒト尿中、血中より Ah レセプター(AhR)のリガンドとして、indirubin および indigo が検出された¹⁾。演者らは、*in vivo* 動物実験で indirubin および indigo が AhR を介して TCDD と同様な肝薬物代謝酵素誘導活性を示すことを明らかにし、内在性のリガンド候補としての可能性を示唆した。本研究では、indirubin による薬物代謝酵素誘導について更に検討を加えるとともに、TCDD との競合作用について調べた。

【実験方法】*In vivo* 酵素誘導実験では C57BL/6J:Jcl マウスに indirubin あるいは TCDD を経口投与し、肝より常法に従いミクロゾーム(Ms)を調製し、CYP 活性を測定した。また、ヒト肝癌由来細胞 HepG2 を用いた誘導実験では、micro-EROD 法により活性測定した。

【結果・考察】マウスに indirubin を 5mg/kg で 3 日間投与し、肝酵素誘導率の経時変化を調べたところ、投与終了 3 日後には約 50%、1 週間後には約 10%と減衰し、2 週間後にはほとんど活性誘導は消失していた。これは、TCDD による酵素誘導が投与後 4 週間を経過してもほぼ 80%以上維持されていたことと比較し、indirubin が代謝排泄されやすく、蓄積性がないことによると考えられる。indirubin は組換え酵母を用いた AhR レポーター試験で TCDD の約 50 倍もの結合活性を示すにもかかわらず、肝酵素誘導能は TCDD よりかなり低く肝毒性もほとんど認められないことより、AhR のアンタゴニスト作用が期待される。そこで、indirubin と TCDD との競合作用を *in vivo* で調べた。Indirubin 5mg/kg で経口前投与後、TCDD 30ng/kg あるいは 2.5µg/kg 経口単回投与し、さらに 3 日間 indirubin を投与したのち肝酵素活性を調べたところ、TCDD 30ng/kg 投与マウスにおいてわずかながら酵素誘導抑制傾向がみられたが、2.5µg/kg 投与ではほとんど影響は認められなかった。また、HepG2 に indirubin および TCDD を同時添加しても、酵素活性誘導の抑制は認められなかった。

以上、indirubin は酵母レポーター試験において TCDD より強い AhR 結合能を示すが *in vivo* での酵素誘導効果が低くまた早く消失し、*in vivo* および HepG2 細胞での同時投与で TCDD の作用に対する影響は認められなかった。

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

AhR mediated induction of drug metabolizing enzymes by indirubin and TCDD

Kazumi Sugihara¹⁾, Tsuyoshi Yamada¹⁾, Shigeyuki Kitamura¹⁾, Shigeru Ohta¹⁾, Keisuke Yamashita¹⁾, Saori Okamura¹⁾, Mineo Yasuda²⁾, Yoshiaki Fujii-Kuriyama³⁾, Ken'ichi Saeki⁴⁾, Saburo Matsui⁵⁾ and Tomonari Matsuda⁵⁾

1) Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Japan 2) Faculty of Health Sciences, Hiroshima International University, Japan 3) Tsukuba University, Japan. 4) Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, Japan 5) Department of Environmental Engineering, Kyoto University, Japan.

Indirubin was identified the endogenous ligands of AhR in human urine and serum using the recombinant yeast assay. In the previous investigation, we demonstrated that indirubin induced liver enzymes mediated by the aryl hydrocarbon receptor (AhR), but the induction was lower than that of TCDD. In this study, we investigated the effect of indirubin on the induction of CYP enzymes by TCDD, but no significant effects were observed *in vivo* mice and HepG2 cell assays.