

ディーゼル排気微粒子の肝毒性に対して 食品成分が誘導する薬物代謝酵素の役割の解明

井澤弘美*
青森県立保健大学

Key Words ①ディーゼル排気微粒子 ②ケルセチン ③シトクローム P450

I. 緒言

ディーゼル排気微粒子(Diesel Exhaust Particles:DEP)にはPAHs(Poly Aromatic Hydrocarbons)が含まれている。PAHsは芳香族炭化水素受容体(Aryl hydrocarbon Receptor:AhR)を介して毒性を発現させる。AhRは、シトクローム P450 1A1(CYP1A1)、シトクローム P450 1A2(CYP1A2)などの薬物代謝酵素の遺伝子発現を活性化させ、この遺伝子の発現により、様々な毒性を引き起こすものと考えられている。これまでの研究で、DEPを雄性マウスに皮下投与すると生殖毒性および肝CYP1A1酵素活性と血漿中テストステロン濃度の増加が確認された^{1,2)}。一方、AhRの活性化を抑制する効果が強いケルセチンを摂取しているマウスにDEPを投与したところ、雄性生殖毒性が軽減されることが見出された²⁾。

そこで本研究では、DEPが肝機能に影響を与えるかどうか、ならびにケルセチンの摂取によってその影響がどのように変化するかを確認した。さらに肝薬物代謝酵素のCYP1A1、CYP1A2、CYP2B1およびCYP2B2活性に影響を与えるかどうか、そしてこれらがケルセチンの摂取によってどのように変化するかを検討することを目的とした。

II. 研究方法

C57BL系統雄性マウスを用い、vehicle群、DEP群、DEP+Q0.01%群、DEP+Q0.1%群およびDEP+Q1%群に分け、任意のケルセチン濃度の飼料を与えた。vehicle群にはPBSを、DEP投与群には0.5mg/ml DEP懸濁液をそれぞれ50 μ l/匹ずつ週2回を6週に渡って全12回投与した。DEP最終投与の3日後に解剖し、採取した血漿および臓器を実験に供した。「青森県立保健大学における動物実験に関する指針」および「実験動物の飼養及び保管に関する基準」を遵守し、動物の健康と安全には十分に留意した。

AST活性、ALT活性および γ -GTP活性は、富士ドライケム3500V(富士フィルムメディカル株式会社、東京)にて測定した。

Ethoxyresorfin-O-deethylase(EROD)活性、Methoxyresorufin-O-Deethylase(MROD)活性、Benzylresorufin-O-Deethylase(BROD)活性およびPentoxyresorufin-O-Deethylase(PROD)活性はそれぞれCYP1A1活性、CYP1A2活性、CYP2B1活性およびCYP2B2活性の間接指標である。肝臓組織からミクロソーム画分を調製し、Kennedyらの方法³⁾を改良して測定した。

III. 結果および考察

1. AST活性、ALT活性、 γ -GTP活性およびAST/ALT比に及ぼすDEPとケルセチンの影響

すべての測定項目において、群間の統計学的有意差は認められなかった。このことから、DEP投与やケルセチン摂取による肝細胞障害はほとんどないと考えられた。これは既報に一致していた。

2. EROD 活性、MROD 活性、BROD 活性および PROD 活性に及ぼす DEP とケルセチンの影響

すべての測定項目において、群間の統計学的有意差は認められなかった。しかし、DEP を投与することにより、CYP 酵素活性の上昇傾向が認められ、特に CYP1A1 の場合は既報に一致していた(図 1)。また、ケルセチン摂取群では DEP の投与により、vehicle 群と同程度の活性を示す群もあった。このことから本研究では、ケルセチンを摂取しているマウスに DEP を投与することで、DEP に含まれる PAHs が AhR に結合し核内へ進入することをケルセチンが阻害し、その結果、CYP1A1 活性が低値傾向を示したのであろうと考えられた。また、CYP2B1、2B2 とも DEP が投与されたことで活性が高まった(図 2)。CYP2 ファミリーの発現には核内レセプターの 1 つである Constitutive Androstane Receptor: CAR が受容体として関与している。よって、DEP は CAR に何らかの影響を与え結果として CYP2 ファミリーの活性が高まったと考えられた。これもまた、CYP1A1 と同様にケルセチンが何らかの作用を示し、CYP2 ファミリーの酵素活性を低下させたのであろうと考えられた。

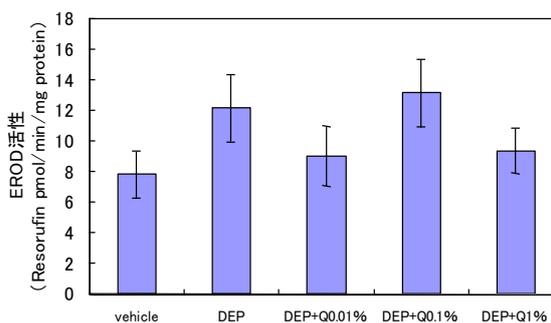


図 1. EROD 活性に及ぼす DEP とケルセチンの影響
値は平均±標準誤差で示した。

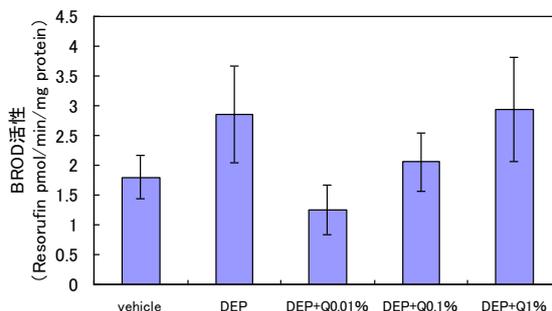


図 2. BROD 活性に及ぼす DEP とケルセチンの影響
値は平均±標準誤差で示した。

IV. 結論

本研究では、DEP の気管内投与とケルセチンの摂取による肝機能への影響は認められなかった。また、DEP 投与により、CYP 酵素活性の上昇傾向が認められ、ケルセチン摂取マウスに DEP を投与すると、CYP1A1、CYP2B1 および CYP2B2 では活性の低下傾向が認められた。このことは、ケルセチンが DEP による CYP 酵素活性の上昇を抑制する働きを持つことを示唆しており、これはケルセチンが DEP に含まれる物質の毒性発現を軽減させ、結果として肝 CYP 酵素活性が弱まったのではないかと考えられた。

V. 参考文献

- 1) Izawa H. et.al.: Journal of Reproduction and Development, 53, 5, 1069-1078 (2007)
- 2) Izawa H. et.al.: Biosci. Biotechnol. Biochem, 72(5)1235-1241 (2008)
- 3) Kennedy SW, Jones SP: Analytic Biochemistry, 22, 217-223 (1994)

VII. 発表

丹代靖子, 井澤弘美. ディーゼル排気微粒子による肝シトクローム P450 活性の変化に対するケルセチンの影響 2012 年度青森県保健医療福祉研究発表会 2013 年 2 月

* 連絡先: 〒030-8505 青森市浜館間瀬 58-1 E-mail: izawa_hiromi@ym.auwh.ac.jp