

論文内容要旨

紫外線吸収剤 Benzophenone-3 およびその誘導体の代謝と内分泌攪
乱活性への影響

応用生命科学部門 生体機能分子動態学

(主指導教員：太田 茂 教授)

基礎生命科学部門 生理化学

(副指導教員：櫛木 修 教授)

応用生命科学部門 生体機能分子動態学

(副指導教員：古武弥一郎 准教授)

渡部容子

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【序論】

紫外線吸収剤は、日焼け止め、化粧品類をはじめ多くの商品に含まれており、美白という美容的価値観が定着した現在では一般的に広く使用されている。紫外線吸収剤は、紫外線による皮膚がんや、光線過敏症などの予防に有効だとされているが、皮膚に直接塗布するものが多く、体内に吸収され、人体に影響を及ぼすことが懸念されている。

紫外線吸収剤のひとつである Benzophenone-3 (2-hydroxy-4-methoxybenzophenone; BP-3)は、多くの製品に使用されている。約 81%のパーソナルケア製品に含まれているという報告もあり、近年 BP-3 に対する毒性が再注目されている。BP-3 の毒性の一つとして内分泌ホルモンを攪乱させる可能性が挙げられ、BP-3 には弱いエストロゲン活性が報告されている²⁾。しかし、BP-3 は体内に吸収され、代謝を受けることから、BP-3 の毒性影響だけでなく、代謝物の影響も考慮しなければならない。BP-3 は、主に 2,4-dihydroxybenzophenone (2,4-diOH BP)に代謝されることが知られており、その他に 2,2'-dihydroxy-4-methoxybenzophenone (2'-OH BP-3)と 2,3,4-trihydroxybenzophenone (2,3,4-triOH BP)が代謝物として報告されている³⁾。本研究では、BP-3 の代謝をさらに深く精査し、内分泌攪乱活性に対する代謝の影響を検討した。

【方法】

BP-3 の代謝活性評価

BP-3 を未処置ラット肝ミクロソーム、3-methylcholanthrene (3-MC; CYP1A 誘導剤)、phenobarbital (PB; CYP2B, 2C 誘導剤)、dexamethasone (Dex; CYP3A 誘導剤)、acetone (Ace; CYP2E 誘導剤)前処置ラット肝ミクロソームを用いて代謝させた後、酢酸エチルで抽出、HPLC にて分析を行った。ラットおよびヒト CYP 分子種に関しても同様に HPLC で測定した。

代謝試料の作成

代謝試料は BP-3 を未処置、各種前処置ラット肝ミクロソームと代謝後、酢酸エチルで抽出し 10^{-2} M に DMSO で調整した。

エストロゲン活性および抗アンドロゲン活性

エストロゲン活性評価は、エストロゲン受容体 (ER) α , β を発現させた CHO-K1 cell を用い、luciferase reporter assay で評価した。また、抗アンドロゲン活性は、アンドロゲン受容体 (AR)を発現させた CHO-K1 cells を用い、luciferase reporter assay で dihydrotestosterone (DHT) 10^{-10} M に対する阻害活性で評価した。

【結果】

新規代謝物の同定

BP-3 をラット肝ミクロソームと代謝させ、新規代謝物質として 2,5-dihydroxy-4-methoxybenzophenone (5-OH BP-3)、2,4,5-trihydroxybenzophenone (2,4,5-triOH BP) および 2,3-dihydroxy-4-methoxybenzophenone (3-OH BP-3)を検出した。

各種前処置ラット肝ミクロソームによる代謝活性

BP-3 をラット肝ミクロソームで代謝することによって、主代謝物として 2,4-diOH BP と 5-OH BP-3 が検出された。2,4-diOH BP では、未処置ラット肝ミクロソームと比べ、PB および 3-MC 前処置ラット肝ミクロソームで顕著に増加し、5-OH BP-3 においては、Dex 前処置ラット肝ミクロソームで顕著に増加した。また、PB および 3-MC 前処置ラット肝ミクロソームでは、2,4,5-triOH BP および 2,3,4-triOH BP が検出され、3-OH BP-3 が 3-MC 前処置ラット肝ミクロソームで検出された。

ラット CYP 分子種による代謝活性

2,4-diOH BP と 5-OH BP-3 では、それぞれ、CYP1A1, 1A2, 2C6, 2E1 と CYP1A1, 1A2, 3A1, 3A2 で主に代謝された。2,4,5-triOH BP および 2,3,4-triOH BP は CYP1A1 でのみ代謝され、3-OH BP-3 では、CYP1A1 と 1A2 で代謝された。

ヒト CYP 分子種による代謝活性

2,4-diOH BP と 5-OH BP-3 では、それぞれ CYP1A1, 1A2, 2B6, 2C19 と CYP1A2 で代謝された。2,4,5-triOH BP および 2,3,4-triOH BP は主に CYP2D6 で代謝され、3-OH BP-3 では、CYP1A1 でのみ代謝された。

エストロゲン活性および抗アンドロゲン活性の代謝的影響

代謝試料を用い、エストロゲン活性および抗アンドロゲン活性を測定した結果、ER α 、ER β 共に PB, 3-MC, Ace 前処置および未処置のラット肝ミクロソームにおいて、BP-3 本来の活性より高い活性を示した。一方、Dex 前処置ラット肝ミクロソームにおいては、BP-3 本来の活性より低い活性となった。なお、抗アンドロゲン活性においては、BP-3 本来の活性が一番高く、代謝させることで活性が低下した。

各種代謝物のエストロゲン活性および抗アンドロゲン活性

各代謝物のエストロゲン活性では、ER α において、2,4-diOH BP が一番高い活性を示し、続いて BP-3, 2,3,4-triOH BP が活性を示したが、2,4,5-triOH BP, 3-OH BP-3, 5-OH BP-3 では活性を示さなかった。ER β において、2,4-diOH BP が一番高い活性を示し、続いて 2,3,4-triOH BP, BP-3 が活性を示したが、ER α 同様に 2,4,5-triOH BP, 3-OH BP-3, 5-OH BP-3 では活性を示さなかった。抗アンドロゲン活性は、2,4-diOH BP と BP-3 が弱い活性を示したが、他の代謝物は活性を示さなかった。

【考察・結論】

今回、新たに 3 つの新規代謝物 5-OH BP-3、2,4,5-triOH BP、3-OH BP-3 を同定することが出来た。内分泌攪乱活性の代謝的影響は、BP-3 を代謝させることでエストロゲン活性が増加した。この結果は、BP-3 が 2,4-diOH BP に代謝されることで、活性が増加したと考えられ、その傾向を支持するように 2,4-diOH BP が多く産生される PB 前処置ラット肝ミクロソームで、特に高いエストロゲン活性の増加が見られた。この結果から弱い活性しか示さなかった物質であっても体内に吸収され、代謝を受けることにより、活性が増強する可能性があることが示唆された。

【参考文献】

- 1) Liao, C. and Kannan, K., 2014, Environ Sci Technol. 48, 4103-4109.
- 2) Suzuki, T., Kiatmura, S., Khota, R., Sugihara, K., Fujimoto, N., Ohta, S., 2005, Toxicol. Appl. Pharmacol. 203, 9-17.
- 3) Okereke, C.S., Kadry, A.M., Abdel-Rahman, M.S., Davis, R.A., Friedman, M.A., 1993, Drug Metab. Dispos. 21, 788-791.