

P-027 フタル酸エステル類によるエストロゲンシグナル阻害活性とその機構

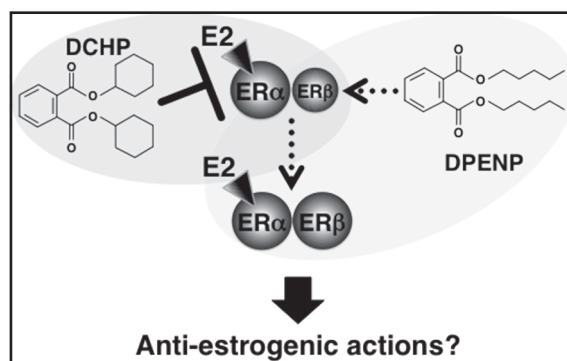
○岡崎 裕之¹, 池田(高露) 恵理子¹, 松本 昌也¹, 竹田 修三², 原口 浩一¹, 荒牧 弘範¹

(¹ 第一薬大, ² 広島国際大・薬)

【目的】フタル酸エステル類は、玩具や食品容器などのプラスチック製品に可塑剤として利用されてきた。その一方で、げっ歯類の精巣機能への影響(*Toxicol. Sci.*, 123: 206, 2011)や、ラットの子宮重量抑制(*Toxicol. Lett.* 146: 111, 2004)などの内分泌かく乱作用や発がん性に関する危険性が一部疑われていることもあり、各国で主に育児用品(特に子供の口に含まれる危険性があるもの)を中心として使用が規制されている。しかしながら、これらの化合物が内分泌系へ与える影響の詳細な機構については未だ不明な点を多く残している。エストロゲン受容体(ER)を介した女性ホルモン作用は、ER α あるいはER β に対する結合活性(=アゴニスト作用)を基に評価される。近年、我々はER α に結合せずにER β 発現の増加と活性化を介して17 β -estradiol(E2)/ER α 活性を抑制する化合物を見出しており、女性ホルモン作用のかく乱を示す化合物の新たな作用機構について提唱している(*Chem. Res. Toxicol.*, 26: 1073-1079, 2013ほか)。本研究では、9種類のフタル酸エステル類がエストロゲン受容体の発現、ならびにE2/ER α シグナルへ与える影響について検討した。その結果、ER β の発現誘導を示したdipentyl phthalate(DPENP)とdicyclohexyl phthalate(DCHP)を対象として、ER β の発現誘導と受容体の転写活性化についてそのメカニズムの詳細を明らかにすることを目的に検討を行った。

【方法】フタル酸エステル類(9種類: DEP, DPrP, DBP, DPENP, DCHP, DHP, DEHP, DOP, BPG) : 東京化成及び和光純薬から購入した(純度>98%)。細胞培養: 常法に従って、ER α 陽性ヒト乳がんMCF-7細胞、およびER α 陰性ヒト乳がんMDA-MB-231細胞を培養した。ER α 及びER β の転写活性測定: MCF-7, MDA-MB-231を用いてERE(E2応答配列)の活性化を指標としたレポータージーンアッセイにて行った。リアルタイムRT-PCR: 各化合物を曝露して48時間後に細胞を回収し、各mRNAの発現量を測定した。

【結果および考察】9種類のフタル酸エステル類について、各25 μ MをMCF-7に曝露し、ER β mRNAの発現量を測定したところ、DPENPとDCHPにおいて高い発現誘導が認められた(>2.0 fold vs Ctl.: それぞれ8倍, 4倍)。また、これらの化合物によるEREの活性化を指標とするレポータージーンアッセイを行った結果、DPENPとDCHPを曝露した細胞では顕著な活性の低下が認められた。細胞の生存率やER α mRNAには有意な差が認められなかったことから、DPENP/DCHPはE2/ER α の活性に抑制的に働くことが示唆された。そこで、ER α /ER β の転写活性化に対する影響を精査するべく、それぞれの発現ベクターを用いたレポータージーンアッセイを行った(MDA-MB-231細胞)。その結果、DCHPはER α /ER β の「活性化」は行わず、E2との共存下でE2誘導性の転写活性化を阻害した(IC₅₀ = ~5 μ M)。一方、DPENPではER α に対して弱い活性化作用を生じ(EC₅₀ = 4.39 μ M)、E2誘導性の転写活性化(ER α /ER β)に対して影響を与えなかった。DPENPとDCHPのいずれもER β の発現誘導を来すが、そのエストロゲン活性への影響には“それぞれ異なる作用”が認められたことから、これらの機構について更なる解析を進めている(図参照)。



Phthalates inhibit estrogen signaling: analysis of inhibitory mechanisms based on ER β expression.

○Hiroyuki Okazaki¹, Eriko Ikeda-Kohro¹, Masaya Matsumoto¹, Shuso Takeda², Koichi Haraguchi¹, Hironori Aramaki¹ (¹Daiichi Univ. Pharm., ²Fac. Pharm. Sci., Hiroshima Int'l Univ.)