

氏名	齋藤 啓太
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位授与番号	博甲第3397号
学位授与の日付	平成19年 3月23日
学位授与の要件	自然科学研究科生体機能科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	霊長類 CYP2C 酵素の構造と機能に関する研究: CYP2C19 を中心にして
論文審査委員	教授 成松 鎮雄 教授 森山 芳則 教授 岡本敬の介

学位論文内容の要旨

CYP2C19 は日本人に高い割合で遺伝子欠損が存在する代謝酵素であり、CYP2C19 酵素タンパク質の構造と機能との関連性を検討することは、CYP2C19 により主に代謝される医薬品の副作用軽減のための有効な知見となる。本研究では、酵母細胞発現系と部位特異的変異導入法を用いて、CYP2C19 の触媒作用の鍵を握るアミノ酸残基の役割を追究した。さらに、マーモセット肝臓から新規 CYP2C 酵素をコードする cDNA をクローニングし、タンパク質の構造と機能の関連性について考察した。これらの結果を踏まえてコンピューターを用いた分子モデリングにより、基質酸化反応における ヒトとマーモセット CYP2C 酵素の構造と機能の関係を考察した。

CYP2C19 の活性中心におけるアミノ酸残基の役割として、*S*-mephenytoin 及び tolbutamide の酸化反応においては、Asp-293 及び Glu-300 のカルボキシル基が基質の捕捉に関与していると考えられる。また hexobarbital 酸化反応においては Asp-293 及び Glu-300 に加えて Phe-476 が基質の捕捉及び基質エナンチオマー選択性の決定に関与していると推測される。

マーモセット肝臓から見出された新規 CYP2C 酵素である M-2C のアミノ酸配列の相同性はヒト CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 と各々87、78 及び77% であった。しかし、その活性中心の空洞の形状や基質特異性は、CYP2C8 よりもむしろ、CYP2C9 や CYP2C19 に近似しており、マーモセット肝臓中ではヒト CYP2C9 や CYP2C19 の役割を担っている可能性がある。

本研究により、CYP2C19 の活性中心において基質と相互作用するアミノ酸残基の役割の一部が明らかになり、テーラーメイド薬物療法の有効実施にむけた基礎的知見になると考えられる。またマーモセット M-2C の酵素化学的性質の検討を通じて、CYP2C 酵素の触媒作用におけるアミノ酸残基の新たな役割が解明された。このことはマーモセットを用いる前臨床試験データを、より高い精度でヒトへ外挿するための有用な知見となるものと期待される。

論文審査結果の要旨

現在、臨床で用いられている医薬品の約30%は光学活性医薬品であり、その体内動態を左右する薬物代謝酵素は、光学活性医薬品の薬効・毒性発現に重要な役割を担っている。シトクロム P450-2C19 (CYP2C19) は遺伝子多型性を有しており、特に日本人の約20%が機能欠損者であることから、CYP2C19 の光学活性薬物酸化反応の分子機構を解明することは、テーラーメイド薬物療法の有効実施にむけた基礎的治験をもたらすと考えられる。

本研究では部位特異的変異導入法と酵母発現系を用いて、CYP2C19 による光学活性医薬品の酸化的代謝において、CYP2C19 の活性中心に存在するアミノ酸残基の役割を検討すると共に、ヒトの代替実験動物として有用視されているマーモセットの肝臓から CYP2C 酵素をコードする cDNA をクローニングし、酵母発現酵素タンパク質の機能を検討した。

その結果、Asp-293 をアラニンに置換すると機能性 CYP が発現しないことから、恐らく活性中心構造の維持に重要と考えられる。Tolbutamide、S-Mephenytoin 及び Hexobarbital エナンチオマーを基質に用いた検討から、Glu-300、Phe-100 及び Phe-476 がこれら基質を疎水性相互作用、イオン性相互作用あるいは水素結合形成により捕捉する役割を持つことが示唆された。

マーモセット肝臓から得られた cDNA がコードする M-2C 酵素はアミノ酸配列の相同性はヒト CYP2C8 と近似するが、その基質特異性や活性中心空洞の形状はヒト CYP2C9 及び CYP2C19 に類似していることが明らかになった。M-2C はマーモセット肝臓において、ヒト CYP2C9 や CYP2C19 に相当する役割を担っているものと考えられる。

これらの知見は博士（薬学）に十分相当するものと判定した。