

氏名	磯部 隆史
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2921号
学位授与の日付	平成17年 3月25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	シトクロム P450-2D 酵素による三環系抗うつ薬デシプラミンの代謝的活性化機構
論文審査委員	教授 成松 鎮雄 教授 山本 重雄 教授 篠田 純男

#### 学位論文内容の要旨

イミプラミン (IMI) および デシプラミン (DMI) は临床上広く用いられている三環系抗うつ薬である。これら医薬品はシトクロム P450 (CYP) により代謝されるが、その中間代謝物が抗コリン作用、無顆粒球症及び肝機能障害など副作用を惹起する可能性も示唆されている。本研究では DMI による副作用発生機序の解明を最終目的に、DMI とラット CYP2D 酵素との代謝的相互作用について検討を行った。さらに、ヒトに対する DMI の影響を調べるため、CYP2D6 に対する DMI の代謝的相互作用についても検討した。

まず、安定性の高い CYP2D 酵素を作製し、ラット肝マイクロゾーム画分、ヒト肝マイクロゾーム画分及び CYP2D 酵素 (CYP2D1, CYP2D2 及び CYP2D6) 発現酵母マイクロゾーム画分間でブフラロール (BF) 1" 位水酸化反応に対する DMI の阻害効果を比較・検討した。その結果、CYP2D2 は DMI により阻害され、ラット CYP2D1 やヒト CYP2D6 は阻害されなかった。IMI 連続投与により阻害され、*in vitro* 条件下で IMI 及び DMI によって阻害されるラット肝 CYP2D 酵素は CYP2D2 であることが強く示唆された。さらに、DMI による CYP2D2 の BF 1" 位水酸化反応の阻害はメカニズム依存的な不活性化に起因することが確かめられた。

次に、DMI 由来の活性代謝物が CYP2D2 及び CYP2D6 に結合するか否かを明らかにするため、<sup>3</sup>H]-DMI と CYP2D2 あるいは CYP2D6 発現酵母マイクロゾーム画分を NADPH 存在下インキュベートし、Western blot 分析、イメージングアナライザー及び液体シンチレーションカウンターによる解析を行った。その結果、DMI は CYP2D2, CYP2D6 いずれによっても代謝的活性化を受け、DMI 由来活性代謝物の酵素タンパク質への結合が認められた。酵素と DMI 由来活性代謝物の結合モル比は 1 と推定された。酵素機能への影響から DMI 由来活性代謝物は CYP2D2 では活性中心に位置するアミノ酸残基と結合し、CYP2D6 では活性には直接影響を与えない部位に位置するアミノ酸残基と結合すると推察された。

これらの結果より、DMI 由来活性代謝物の結合後も CYP2D6 は DMI を代謝するため、結合部位を失った DMI 由来活性代謝物が活性中心を出て生体のタンパク質と結合し、抗原性を帯び、副作用の原因となる可能性は十分に考えられる。

## 論文審査結果の要旨

三環系抗うつ薬デシプラミンによる副作用発生機序の解明を最終目的に、デシプラミンと シトクロム P450-2D (CYP2D) 酵素の代謝的相互作用について検討を行った。本研究では非常に不安定なラット CYP2D2 を取り扱うことから、まず N-末端領域アミノ酸を置換した安定性の高い リコンビナント CYP2D2 を作製した。続いてラット及びヒト肝マイクロゾーム画分並びに CYP2D 酵素(CYP2D1, CYP2D2 及び CYP2D6) 発現酵母マイクロゾーム画分間でブフラロール 1" 位水酸化反応に対する デシプラミンの阻害効果を比較・検討した。その結果、ラット肝マイクロゾーム画分及び リコンビナント CYP2D2 のみ阻害を受け、デシプラミンによって阻害されるラット肝 CYP2D 酵素は CYP2D2 であることが強く示唆された。また、CYP2D2 がメカニズム依存的な不活性化を受けることも明らかになった。

次に、CYP2D2 と CYP2D6 の間でデシプラミン による影響が異なる理由を明らかにするため、 $[^3\text{H}]$ -デシプラミンと CYP2D2 あるいは CYP2D6 発現酵母マイクロゾーム画分を NADPH 存在下インキュベートし、Western blot 分析、イメージングアナライザー及び液体シンチレーションカウンターにより、デシプラミン由来代謝物の結合能解析を行った。その結果、デシプラミン は CYP2D2, CYP2D6 いずれによっても代謝的活性化を受け、デシプラミン由来活性代謝物の酵素タンパク質への結合が認められ、結合モル比は 1 と算出された。酵素機能への影響からデシプラミン由来活性代謝物は CYP2D2 では活性中心に位置するアミノ酸残基と結合するのに対し、CYP2D6 では活性には直接影響を与えない部位に位置するアミノ酸残基と結合すると推察された。CYP2D6 では デシプラミン由来活性代謝物結合後もデシプラミンを代謝し、デシプラミン由来活性代謝物が生体タンパク質と結合して抗原性を帯び、副作用の原因となる可能性が示唆された。

以上の知見は三環系抗うつ薬の副作用発現機構の一つを明らかにしたものであり、博士(薬学) の学位に値するものと判定した。