

氏名	神野 透人		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	薬学		
学位記授与番号	乙第 4356 号		
学位授与の日付	平成 23 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 5 条第 2 項該当)		
学位論文の題目	薬物代謝酵素 CYP2B6 及び UGT1A1/9/10 とそれらの発現制御因子 CAR の機能に及ぼす遺伝子多型性の影響		
論文審査委員	教授 成松 鎮雄	教授 檜垣 和孝	准教授 伊東 秀之 准教授 合葉 哲也

学位論文内容の要旨

本論文では、肝臓における主要な第 I 相薬物代謝酵素であるシトクロム P450 (CYP) 2B6、及び第 II 相薬物代謝酵素で肝における主要な UDP-グルクロン酸転移酵素 (UDP-glucuronosyl-transferase, UGT) である UGT1A1 及び UGT1A9、並びに小腸における主要分子種である UGT1A10 に着目し、酵素機能に対する遺伝子多型性の影響について検討を行った。さらに、UGT1A1 及び CYP2B6 の転写因子であるヒト constitutive androstane receptor (hCAR) の肝臓での発現様式を探索し、新規に見出した 4 種のスプライス変異体について生理的機能を検討した。

K262R のアミノ酸置換を有する 3 つの CYP2B6 アレル変異体、すなわち K262R、Q172H/ K262R 及び Q172H/K262R/R487C CYP2B6 の 7-ethoxy-4-trifluoromethylcoumarin O-脱エチル化活性 (CYP2B6 タンパク質当たりの V_{max} 値 及び CL_{int} (V_{max}/K_m) 値) は野生型 CYP2B6 に比べて有意に高く、K262R のアミノ置換が活性部位の立体構造を変化させる可能性、もしくは CYP2B6 タンパク質生合成過程でヘム抱き込み効率に影響を及ぼす可能性が示唆された。

次に、UGT1A1 変異体 G71R、P229Q 及び Y486D、並びに日本人癌患者から新規に見出した UGT1A9 変異体 D256N について、抗癌剤 irinotecan の活性代謝物 SN-38 グルクロン酸抱合反応を指標に機能解析した結果、Y486D UGT1A1 及び D256N UGT1A9 では SN-38 グルクロン酸抱合活性がほぼ完全に消失すること、G71R 及び P229Q UGT1A1 ではタンパク質発現量で補正した CL_{int} 値が野生型の約 50%に低下することが明らかになり、これらのアミノ酸置換が irinotecan の体内動態や活性代謝物 SN-38 による副作用発現に影響を及ぼす可能性が示された。

また、日本人で見出された 2 種類の UGT1A10 変異体 M59I 及び T202I について 7-hydroxy-4-trifluoromethylcoumarin 及び 17 β -estradiol に対するグルクロン酸抱合反応を速度論的に解析したところ、タンパク質発現量で補正した T202I 変異体の CL_{int} 値はいずれの基質でも野生型の約 50%まで低下し、経口摂取された医薬品を含む化学物質の小腸における初回通過代謝に影響を及ぼすことが示唆された。

さらに、hCAR のリガンド結合領域にアミノ酸 4 残基 VSPT が挿入された SV1、アミノ酸 5 残基 APYLT が挿入された SV2、これらの両者が挿入された SV3、及びアミノ酸 39 残基が欠失した SV4 を見出し、これらのスプライス変異体には構造的なトランス活性化能がないこと、SV1 及び SV2 は hCAR 特異的なリガンドである CITCO との結合能を、少なくとも部分的に保持していることを明らかにした。

以上の結果から、遺伝子多型により薬物代謝酵素機能が変化し、化学物質の体内動態に影響を及ぼすこと、また薬物代謝酵素の転写制御に関わる核内受容体の中には、代替スプライスによって分子的多様性を獲得し、リガンド親和性を異にするものの存在することが示唆された。

論文審査結果の要旨

肝臓の主要な第I相薬物代謝酵素 CYP2B6、第II相薬物代謝酵素 UGT1A1 及び UGT1A9、並びに小腸の主要分子種 UGT1A10 に着目し、酵素機能に対する遺伝子多型性の影響を検討した。更に CYP2B6 及び UGT1A1 のヒトにおける転写因 hCAR の肝臓発現様式を探索し、4 種の新規スプライス変異体の生理的機能を検討した。その結果、K262R のアミノ酸置換を持つ3種の CYP2B6 アレル変異体 (K262R、Q172H/K262R 及び Q172H/K262R/R487C) の 7-ethoxy-4-trifluoromethylcoumarin O-脱エチル化活性 {CYP2B6 タンパク質当たりの V_{max} 値及び CL_{int} (V_{max}/K_m) 値} は野生型に比べて有意に高く、K262R アミノ置換による活性部位の立体構造変化、またはタンパク質生合成過程におけるヘム抱き込み効率への影響が示唆された。次に UGT1A1 変異体 G71R、P229Q 及び Y486D、並びに UGT1A9 変異体 D256N について、抗癌剤 irinotecan の活性代謝物 SN-38 抱合反応を指標に解析した結果、Y486D UGT1A1 及び D256N UGT1A9 では活性が殆ど消失したこと、G71R 及び P229Q UGT1A1 では CL_{int} 値が野生型の約 50%に低下したことから、アミノ酸置換が irinotecan の体内動態や SN-38 による副作用発現に影響する可能性が示された。また2種類の UGT1A10 変異体 M59I 及び T202I について 7-hydroxy- 4-trifluoromethylcoumarin 及び 17β -estradiol 抱合反応を解析したところ、T202I 変異体の CL_{int} 値は両基質で野生型の約 50%まで低下し、化学物質の小腸初回通過代謝に影響することが示唆された。さらに hCAR のリガンド結合領域にアミノ酸4残基 VSPT が挿入された SV1、5残基 APYLT が挿入された SV2、両者が挿入された SV3、及びアミノ酸39残基が欠失した SV4 では構成的なトランス活性化能がないこと、SV1 及び SV2 は hCAR 特異的リガンド CITCO との結合能を一部保持していることが判明した。以上の結果から、遺伝子多型により薬物代謝酵素機能が変化し、化学物質の体内動態に影響を及ぼすこと、また薬物代謝酵素の転写制御に関わる核内受容体の中には、代替スプライスによって分子的多様性を獲得し、リガンド親和性を異にするものの存在することが示唆された。これらの知見を纏めた本論文は博士(薬学)に値するものと判定される。