

## 恒常性機能解析部門 Department of analysis of homeostasis

客員教授 渡部 烈 Visiting Professor Tadashi Watabe (Ph.D.)

### ◇研究目的 Aims of the research projects

現在市販されている西洋薬の大部分はヒト体内で主として肝に存在するシトクロム P-450 (CYP) のいずれかの分子種によって酸化的に代謝され、血中濃度を減じながら体外へ排泄される。ヒト CYP 分子種のうち、3A4, 2D6, 2C9 および 2C19 は市販西洋薬の約90%の種類代謝酵素となっており、関与している割合は 3A4>2D6>2C9=2C19 であり、3A4 の関与 (約50%) が特に高い。

和漢薬は西洋薬と併用するとき、これら CYP 分子種の強力な発現誘導剤となるか、または強力な阻害剤となって、西洋薬の血中濃度を減じるか、またはその血中濃度を上昇させて、西洋薬の効力を減じるか、中毒症状をひき起こす可能性がある。そのような例が、最近ヨーロッパで生薬セントジョーンズワート (SJW) とシクロスポリンの併用の例で報告され、重大な副作用として大きな注目を集めている。

本研究においては、ヒト CYP3A4, 2D6, 2C9 および 2C19 を発現プラスミドに組み込み、大腸菌中で発現させたものを用いて、和漢薬として汎用されている生薬抽出物の CYP 阻害効果をスクリーニングする。次いで高阻害作用を示した生薬エキス中の CYP 阻害成分を単離して、その構造を明らかにする。

以上の研究成果に基づいて、和漢薬と西洋薬の併用による相互作用発現の予知を行う。

### ◇研究概要 Research projects

#### 1. ヒトCYP分子種の大腸菌における発現と機能解析

CYP3A4 ならびに NADPH-CYP レダクターゼ (fp<sub>2</sub>) をコードする cDNA を膜親和性をもつシグナルペプチドをコードする cDNA と結合させ、発現プラスミドを構築し、大腸菌中に導入した。これにより大腸菌は、その細胞膜に CYP3A4 と CYP 電子伝達系である fp<sub>2</sub> をそれぞれ十分な濃度で含有することが Western blot 分析より明らかになった。

発現ヒト CYP3A4 および fp<sub>2</sub> を含む大腸菌細胞膜は、CYP3A4 の特異的基質であるエリスロマイシンの N-脱メチル化活性をヒト肝ミクロソームに匹敵するレベルで有しており、本研究の目的に適合していた。

#### 2. 生薬抽出物 (エキス) によるヒト CYP3A4 活性の阻害

わが国で汎用されている和漢薬を構成する代表的な生薬100種の各エキスについて、ヒト CYP3A4 および fp<sub>2</sub> を含む大腸菌膜を NADPH 共存下、エリスロマイシンとインキュベーションし、その N-脱メチル化活性に対する阻害効果を検討した。対照として、CYP3A4 特異的阻害剤ケトコナゾールを用いて阻害強度の評価を行った。

ヒト CYP3A4 の強力な阻害作用を示す生薬エキスは、100種類中カンゾウ、ゴミシ、ダイオウ、ケイヒ、マオウなどを含む22種類に及ぶことが明らかになった。

#### 今後の研究方針

- ①強力な阻害作用を示した22種の生薬エキス中に存在する阻害成分の HPLC/MS による検討。
- ②ヒト CYP2D6, 2C9, 2C19 および fp<sub>2</sub> の大腸菌での発現と、これら CYP 分子種に対する100種の生薬エキスの阻害効果の検討ならびに阻害成分の HPLC/MS による検索。