19S1-12

ヒト組織フェノール硫酸転移酵素の遺伝子多型と多型分子種の性質

○小澤正吾¹、清水万紀子^{1,2}、松本宜明²、福岡正道²、加藤貴彦³、大野泰雄¹

¹国立医薬品食品衛生研・薬理、²昭和薬大・薬物動態、

³産業医大・保健情報

CATALYTIC PROPERTIES OF POLYMORPHIC HUMAN
TISSUE PHENOL SULFOTRANSFERASES

Shogo OZAWA¹, Makiko SHIMIZU^{1,2}, Yoshiaki MATSUMOTO²,

Masamichi FUKUOKA², Takahiko KATO³, & Yasuo OHNO¹

¹Division of Pharmacology, National Institute of Health Sciences, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, ²Department of Clinical Pharmacology and Toxicology, Showa College of Pharmaceutical Sciences, Machida, Tokyo 194-8543, Department of Health Science Information, School of Health Sciences, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu 807-8555

〔目的〕 ヒト組織に発現している種々の硫酸転移酵素 (SULT) は内因性基質、薬物、一般化学物質の解毒、排泄に重要な役割を果たすと共に、基質によっては代謝活性化反応を触媒する。SULT は ST1、ST2 など遺伝子スーパーファミリーを構成している¹。これらのうち、ST1 ファミリーに属し、フェノール性基質の硫酸抱合反応を触媒する酵素 (PSULT) の活性には遺伝的多型に基づく個体差が認められる。血小板では、典型的基質 p-nitrophenol について、著しく低酵素活性 (約 7 分の 1 以下) で、熱不安定な酵素を有する亜集団が認められている²。本酵素は癌原性 aromatic amine の代謝活性化反応を触媒することが知られており、遺伝多型による個体差の分子機構を知ることは重要である (図 1)。そこで、我々は、米国人肝組織を検索し、肝 PSULT の主要分子種である ST1A3³ (TS-PST, P-PST, HAST1/2 に相当) の mRNA およびゲノム遺伝子の塩基配列を解析した⁴。その結果、アミノ酸の置換を伴う遺伝多型を見出したので、多型の日本人における出現頻度を調べた。また、多型の酵素の機能を調べるため、それらをコードする cDNA を、検索した肝組織より単離し、大腸

菌内に発現させた。さらに、それら多型と大腸癌や、膀胱癌感受性との関連を調べた。

図 1 Chemical structures of human ST1A3 substrates

〔方法〕 米国人 52 検体の肝組織を用い、上清画分の p-nitrophenol などの硫酸転移酵素活性を測定した。reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法で mRNA を、PCR 法でゲノム DNA の塩基配列を解析した。遺伝子多型の出現頻度を、健常日本人 (n=143) について PCR-restriction fragment length polymorphism 法で調べた。遺伝子多型により、アミノ酸配列に差異が

ある酵素分子種を大腸菌内に発現させ、部分精製酵素の活性を測定した。Western blot 法で酵素含量を測定し、各酵素分子種の活性を単位酵素量当たりで比較した。

[結果・考察] 米国人肝組織を用いた mRNA の解析より、コドン 213 および 223 において、それぞれ Arg/His, Met/Val の置換を起こす塩基配列の多型を見出した。日本人における、異型対立遺伝子の出現頻度は表 1 の通りであり、²²³Val 型 allele は調べた集団には認められなかった。

表 1 Number of Japanese and American individuals with ²¹³Arg/His and ²²³Met/Val alleles of ST1A3 gene

		Japanese (n=143)	American (n=52)
²¹³ Arg/His	aa	99 (69.2)	28 (53.8)
	ab	40 (28.0)	15 (28.8)
	bb	4 (2.8)	9 (17.3)
²²³ Met/Val	aa	143 (100.0)	49 (94.2)
	ab	0 (0.0)	3 (5.8)
	bb	0 (0.0)	0 (0.0)

In ²¹³Arg/His, a and b represent Arg and His, respectively; In ²²³Met/Val, a and b represent Met and Val, respectively.

大腸菌内に発現させた ²¹³Arg 型および ²¹³His 型酵素の p-nitrophenol をはじめ、いくつかの基質に対する酵素活性にはあまり大きな差異は認められなかった (表 2)。この結果は、血小板において、²¹³His 対立遺伝子をホモでもつヒトがそれ以外の遺伝子型を有するヒトの酵素活性の 7 分の 1 以下であったことと対照的であった。そこでこれらの酵素分子種を 37°C、45°C で前処理後、酵素活

性を測定したところ、²¹³His-ST1A3 は ²¹³Arg 酵素に比べて速やかに活性が失われた (表 3)。

表 2 Enzymatic activities of ²¹³Arg- and ²¹³His-ST1A3

	²¹³ Arg-ST1A3	²¹³ His-ST1A3
p-Nitrophenol	10.2 ± 1.2	7.5 ± 2.0
2-Naphthol	3.8 ± 1.9	2.5 ± 1.4
Minoxidil	5.8 ± 0.3	8.5 ± 0.2*
(+)-Isoproterenol	8.1 ± 0.1	9.4 ± 0.3*

nmol/min/nmol enzyme; *p<0.05

表 3 Half-life of ²¹³Arg- and ²¹³His-ST1A3

	²¹³ Arg-ST1A3	²¹³ His-ST1A3
Half-life at 37°C	14 hr	6 hr
Half-life at 45°C	20 min	4 min

これらのことより、²¹³His 型酵素の不安定性が異種細胞発現酵素でも再現され、²¹³His 型ホモのヒトの血小板の酵素が熱不安定で、低活性であったこととの関連が示唆された。日本人膀胱癌患者における症例対照研究では、Arylamine N-acetyltransferase 2 の遅延型対立遺伝子のホモ + ²¹³Arg-ST1A3 対立遺伝子の組み合わせを有するヒトが最も高い膀胱癌感受性を示した。²¹³Arg/His 多型は、TS-PSULT の遺伝的多型性の一部を説明しうるが、これ以外の本酵素の多型の機構をさらに検索する必要があることが明らかとなった。

[Abstract] Human phenol sulfotransferase (TS-PSULT) is known to be polymorphically distributed in tissues such as platelets and livers. Two polymorphic sites (²¹³Arg/His and ²²³Met/Val) were found on a TS-PSULT gene encoding a major hepatic form, ST1A3. The ²¹³Arg/His polymorphism, but not ²²³Met/Val, was found also with Japanese population (n=143). Recombinant ²¹³Arg (frequent)-type ST1A3 was more stable than ²¹³His (less frequent), while catalytic activity difference was within 2-fold. These results suggested the properties of ²¹³His-type enzyme may explain low platelet activities in homozygous ²¹³His individuals.

[References]

- 1) Yamazoe, Y., et al. (1994) *Chem.-Biol. Interact.* 92, 107-117.
- 2) Raftogianis, R. B., et al. (1997) *B. B. R. C.* 239, 298-304.
- 3) Ozawa, S., et al. (1995) *Pharmacogenetics* 5, S135-S140.
- 4) Ozawa, S., et al. (1998) *Chem.-Biol. Interact.* 109, 237-248.