原形質膜に存在する CYP2D6 の生理的意義とは？

都築 大輔

Daisuke TSUZUKI

薬物代謝に関与するシトクロム P450 (CYP) は肝細胞の小胞体膜に局在し、同じく小胞体 endoplasmic reticulum (ER) の膜結合酵素である NADPH 依存性シトクロム P450 還元酵素 (fp2) から供給される電子を利用して薬物の酸化反応を触媒する。さらにステロイドホルモンやプロスタノイドなどの内因性物質の酸化反応のために薬物代謝型とは異なる CYP 分子種が存在し、特にステロイドホルモン生合成に与る分子種にはミトコンドリアに局在するものがある。ところが近年、ER やミトコンドリアのみならず、核、ゴルジ体、リソゾーム、ペルオキシゾーム、および原形質膜 plasma membrane (PM) などにも CYP 分子種の存在することがわかってきた。特に PM については、薬物によって惹起される 2 型自己免疫性肝炎の血液検査指標とされる肝腎ミクロゾーム抗体 1 (Liver/kidney microsomal antibody type 1; LKM1) が CYP2D6 を認識することが示された¹⁾ことから、精力的に CYP 分子種の局在性が調べられ、CYP1A, -2B, -2C, -2D, -2E および -3A などのサブファミリーがヒトやラットの肝細胞、ウサギの肺細胞などの細胞表面に存在することが明らかにされている。ここ

では、細胞表面に存在する薬物代謝型 CYP 分子種をめぐる最近の話題を紹介したい。

細胞表面に存在する CYP2D6 はどのような機構で運ばれてくるのであろうか？ PM に存在する CYP 分子種については、細胞表面に抗体認識ドメインが存在する。497 個のアミノ酸残基で形作られる CYP2D6 蛋白上の LKM1 による認識エピトープは N-末端から 254 番目から 271 番目までの部位であり、図 (A) に示すように CYP2D6 の蛋白本体が PM 外側に位置することになるが、実はこのことが問題である。粗面 ER で作られた CYP2D6 蛋白の N-末端領域にはシグナルアンカードメインがあり、CYP2D6 蛋白はこの部分で錨を下ろす格好で ER 膜に繫留されている。もし ER の 1 部がベシクルを形成し、PM まで移動して融合する場合には、図 (B) に示すように ER 膜では本体が細胞質側、N-末端領域が管腔側と CYP2D6 のトポロジーが決まっていることから、CYP2D6 結合ベシクルが PM と融合した後も、CYP2D6 の本体は細胞質側、N-末端部位が細胞表面に位置することになるはずである。ところが上述のように実際には逆のトポロジーを示すことから、CYP 結合 ER ベシクルがそのまま PM に融合する可能性は否定される。

一般に分泌性蛋白質は ER 表面で tRNA とポリソームにより mRNA から翻訳・合成されると同時に ER の管腔側に移行し、N-グリコシル化を受けてゴルジ体へと運ばれた後、分泌顆粒に封入されて PM へと移行する。CYP も N-グリコシル化される部位を持てはいるものの、N-末端領域にあるシグナルアンカー部位の機能により、蛋白本体の ER 管腔への移行が妨げられ、ER 膜の表面に固定される。そこで何らかの機構で CYP2D6 の一部が ER 管腔側に移行し、グリコシル化され、ゴルジ体へと運ばれる経路が考えられる。Loeper ら²⁾は N-末端領域にアルギニンを 3 残基付加した CYP2D6 変異体を COS7 細胞および酵母細胞に発現させ、ER 管腔への移行と PM における発現との関連性を検討したが、変異体の N-グリコシル化と PM 移行性との間に有意な相関は見いだせなかった。ところが最近 Robin ら³⁾は 3-メチルコランズレン前処置ラットの肝 PM で CYP1A1/1A2 が誘導されること、ER に比べて特に CYP1A2 の合成速度と消失速度の高いこと、さらに細胞内ベシクル輸送系に対する種々の阻害剤により PM の CYP1A 酵素量が低下することを見だし、ER 膜結合性 CYP の PM への送達におけるベシクル輸送系関与を示唆している。Neve ら⁴⁾もラット CYP2E1 の

図 原形質膜における CYP2D6 のトポロジー(A)と, 細胞内ベシクル輸送における膜トポロジーの保持(B)

N-末端部位にリジンとアルギニン各1残基を挿入した変異体を発現させたマウス肝癌由来 H2.35 細胞において, CYP2E1 の膜貫通ドメインが ER 膜におけるトポロジーの逆転と PM への移行に重要であるとの結果を示した. 面白いことに細胞表面に存在する CYP はグリコシル化されていないようである. これらの知見から細胞表面に存在する, 少なくとも一部の CYP 分子種は, 恐らく生合成されると同時に ER 管腔に入り, ゴルジ体を経由しベシクル輸送に乗って PM へと移行したものと推察される. この間に ER 管腔内で CYP 蛋白は N-グリコシル化を受けるのかどうか, グリコシル化されるとすれば CYP はどの時点で脱グリコシル化されるのか, 膜トポロジー逆転はどのようにして起こるのか, また CYP 分子種は全て同じ経路をたどるのか, いずれも詳細は不明である.

細胞表面に存在する CYP2D6 の生理的意義に関しては, 現在のところほとんどわかっていない. PM には CYP に加えて fp2 も存在し, ER 膜と比較して総活性としては低いものの CYP2D6 を初めヒト PM に存在する種々の CYP 分子種による薬物代謝活性が報告されている. 冒頭で述べたように, 2 型自己免疫性肝炎で出現する LKM1 抗体が CYP 分子種を認識することから, 細胞表面に存在する CYP 分子種が直接薬物を酸化して生成する活性代謝物結合によりハプテン化するのか, あるいは活性代謝物アダクトを形成した ER 結合型 CYP が PM に運ばれ, 細胞表面に曝されることで抗原となるの

か, いずれにしても薬物性自己免疫肝炎においては細胞表面の CYP が重要な鍵を握ると考えられる. 最近 Loeper ら⁵⁾により CYP2D6 と酵母 fp2 の cDNA を組み込んだプラスミドで形質転換された酵母細胞の PM には, CYP2D6 が細胞表面, fp2 が細胞質側に存在しており, これら 2 種の酵素間で膜トポロジーの異なることが明らかにされた. このことは, fp2 から CYP への電子伝達を仲介する何らかの機構が酵母 PM に存在することを意味する. PM における CYP と fp2 間のトポロジーの違いと共に, この伝達機構が動物細胞にも共通するものなのか, あるいは酵母細胞独自のものなのか, 興味深いところである. これらのことを含めて PM に存在する CYP 分子種の生理的意義の解明が待たれる.

文 献

- 1) Loeper, J., Descatoire, D., Maurice, M., Beaune, P., Belghiti, J., Houssin, D., Ballet, F., Feldmann, G., Guengerich, F. P. and Pessayre, D. Cytochromes P-450 in human hepatocyte plasma membrane: recognition by several autoantibodies. *Gastroenterology*, **104**: 203-216 (1993).
- 2) Loeper J, Le Berre, A. and Pompon, D.: Topology inversion of CYP2D6 in the endoplasmic reticulum is not required for plasma membrane transport. *Mol. Pharmacol.*, **53**: 408-414 (1998).
- 3) Robin, M. A., Descatoire, V., Le Roy, M., Berson, A., Lebreton, F. P., Maratrat, M., Ballet, F., Loeper, J. and Pessayre, D. Vesicular transport of newly synthesized

- cytochromes P4501A to the outside of rat hepatocyte plasma membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **294**: 1063–1069 (2000).
- 4) Neve, E. P. and Ingelman-Sundberg, M.: Molecular basis for the transport of cytochrome P450 2E1 to the plasma membrane. *J. Biol. Chem.*, **275**: 17130–17135 (2000).
- 5) Loeper, J., Louerat-Oriou, B., Duport, C. and Pompon, D.: Yeast expressed cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) exposed on the external face of plasma membrane is functionally competent. *Mol. Pharmacol.*, **54**: 8–13 (1998).

(岡山大学大学院自然科学研究科)