薬物代謝酵素 Cytochrome P450 によるキラル選択的代謝への影響の検討

Study of Stereoselective Metabolism

by Drug-metabolizing Enzyme Cytochrome P450

○勝浦 彩, 松尾 智史, 永田 佳子, 金澤 秀子
共立薬科大学

○Aya Katsuura, Satoshi Matsuo, Yoshiko Nagata and Hideko Kanazawa
Department of Physical Pharmaceutical Chemistry, Kyoritsu University of Pharmacy

1. はじめに

薬物の体内動態は、吸収、分布、代謝、排泄からなる。薬物の多くは、肝臓で代謝反応を受けて不活性化される。薬物代謝には、酸化・還元・抱合などの多くの酵素群が関与しているが、ヒトの代謝反応の約80%には肝臓のミクロソーム分画中に存在するCytochrome P450(CYP)が関与している。薬物代謝に影響する要因として、遺伝多型や相互作用が挙げられる。遺伝多型により薬物代謝能に個人差が生じるため、薬効や副作用の発現頻度に遺伝多型が大きく関与する。薬物代謝酵素CYPの遺伝多型を解明することは、患者の代謝能などの体質に応じた「テーラーメイド医療」の実現において重要であり、患者個人に応じた安全かつ有効な薬物治療が可能となると考えられる。また、現在市販されている合成医薬品の多くは光学活性体が存在し、経済的な理由などにより、(S)体と(R)体を1:1で含むラセミ体として投与されている。しかし、(R)体と(S)体では薬物動態や薬理活性が大きく異なることが知られている。薬理活性においては、どちらか一方は薬理活性を示すが、もう一方は不活性で目的とする薬理効果に寄与しないものもある。薬物動態においても、(R)体、(S)体では代謝の受け方が異なることもある^{1,2)}。それだけでなく、人間や動物の内部環境に悪影響を及ぼす可能性もあるため、キラル選択的代謝の解明は重要であると考えられる。

近年、CYPの遺伝多型に関する研究が進展し、薬効・副作用発現の個人差との関係が明らかになってきている。CYP2D6は遺伝的にその代謝能が欠損しているPM(Poor Metabolizer)の存在が知られている。日本人では、約1.3%と少ないが、EM(Extensive Metabolizer)とPMの中間の代謝活性を示すIM(Intermediate Metabolizer)が約30%存在することが知られている。CYPの中でも、CYP2D6は基質となる薬物が多いため、適正投与において無視できない存在であり、CYP1A2は喫煙や食物により誘導されることが知られている。本研究では、医薬品適正使用のための患者の薬物治療の個別化への応用を目的として、基質に主にCYP2D6とCYP1A2で代謝されることが知られている抗不整脈薬のmexiletineを用いてCYP2D6の野生型のCYP2D6*1と遺伝子変異型のCYP2D6*10、CYP1A2の*in vitro*代謝実験を行うことでキラル選択的代謝への影響を検討した。また、CYP1A2の基質で多くの飲食物・嗜好品に含まれているcaffeineを用いて、相互作用を検討することを目的としてCYPでの*in vitro*代謝実験を行った。

2. 実験方法

リン酸緩衝液中(pH7.4)に光学活性医薬品であるmexiletineとNADPH-generating systemを加えてブレインキュベーションを行い、薬物代謝酵素(CYP)を加えて反応を開始し、インキュベーションを行なった。反応停止後に、遠心分離を行った。上清の固相抽出後にエバポレーションを行い、溶離液に溶解し、サンプルとした。コントロールには、CYPの代わりにリン酸緩衝液を用いた。HPLCでカラムにはCAPCELL PAK C18 (250×4.6mm I.D.)を用いて代謝物の確認

を行い、CHIRALCEL OD-R (250×4.6mm I.D.)を用いてキラル分離を行った。また、caffeineはHEPES緩衝液を用いてmexiletineと同様に反応を行い、CAPCELL PAK C18 (250×4.6mm I.D.)カラムを用いてHPLC測定を行った。

3. 結果・考察

光学活性医薬品の*in vitro*代謝実験において、基質に抗不整脈薬のmexiletineを用い、ODSカラムを用いて分析を行った結果、CYP2D6、CYP1A2どちらを用いた場合にも、代謝物を確認することができた。また、コントロールとして薬物代謝酵素を加えていないものを使用してPeak areaの減少率をキラルカラムを用いて分析を行うことで求めた。CYP2D6を用いた場合、(R)体の方が代謝率が大きくなるという結果が得られた。この結果より、mexiletineのCYP2D6による代謝は、(R)-mexiletineに立体選択的であることが確認できた。同様に、CYP1A2を用いて代謝実験を行った場合も、(R)体の方が(S)体よりも代謝率が大きく、mexiletineのCYP1A2による代謝は(R)-mexiletineに立体選択的であることが確認できた。これらの結果より、mexiletineの薬物代謝酵素(CYP)による代謝は、CYP2D6、CYP1A2のどちらの場合にも、(R)-mexiletineの方が選択的に代謝されることが確認された。また、野生型(正常)のCYP2D6*1と変異型(代謝能低下)のCYP2D6*10を用いて代謝を行った結果、代謝率に変化が見られ、(R)体、(S)体関わらず、野生型であるCYP2D6*1のほうが、変異型で代謝能の低下したCYP2D6*10より代謝率が大きくなるという結果が得られた。これらの結果より、MexiletineのCYP2D6による代謝は遺伝多型の影響を受けることが示唆される。CYP2D6は有効治療領域の狭い精神科領域や心血管領域の薬物の代謝に多く関わる分子種であるため、患者個人への適正投与を目的とした光学活性医薬品のキラル選択的代謝の解析は重要であると考えられる。

CaffeineをCYPを用いて*in vitro*代謝実験を行い、コントロールとして薬物代謝酵素を加えていないものを使用してODSカラムを用いて分析を行った結果、代謝物を確認することができた。この結果より、caffeineもCYPによる代謝を受け、代謝物を生成することが確認できた。飲食物や嗜好品などにcaffeineは多く含まれているため、同じCYPの分子種で代謝される薬物と同時に服用したときにCYPの競合が起こり、薬物相互作用の原因となることもある。そのため、caffeineと同じCYPの分子種で代謝される薬物を服用したときの体内動態の解析に応用できると考えられる。

4. 参考文献

- 1) H. Kanazawa, A. Okada, M. Higaki, H. Yokota, S. Okubo, F. Mashige, K. Nakahara, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 30(2003) 1817-1824.
- 2) H. Kanazawa, A. Okada, E. Igarashi, M. Higaki, T. Miyabe, T. Sano, R. Nishimura, *J. Chromatography A*, 1031, (2004) 213-218.