

P1-028

遺伝的多型を基盤とした立体構造解析からの 薬物代謝酵素チトクローム P450 の 機能部位推定方法の開発

徳光綾子、峯田克彦、遠藤俊徳
北海道大学大学院・情報科学研究科

Development of a prediction method for functional sites of cytochrome P450, a drug metabolizing enzyme, based on a structural analysis of genetic polymorphisms
Tokumitsu Ayako, Mineta Katsuhiko, and Endo Toshinori
Graduate School Information Science and Technology Hokkaido University

【目的】

本研究は、チトクローム P450 (CYP) 多型を例にとり、立体構造解析によって、活性部位やその他の機能領域における各種アミノ酸の変化による構造上の変化と、薬物代謝活性の関係を解析し、動物実験代替法としてヒトにおける薬物代謝・薬物動態予測を行う方法を開発することを目的とする。

【背景】CYP は生体内に存在し薬物代謝や生理活性物質の生合成に関与する酵素群の総称である。自然に存在する化合物代謝を行うほか、薬物代謝酵素として現存する薬物の約 8 割に関与し、薬効の発現に重要な役割を果たす。一方、プロモベンゼンなど一部の化学物質については代謝によって毒性発現することも知られている。個々の薬物に対応する CYP 分子種の性質と存在量は動物の種類によって異なり、同じ薬物を投与した場合でも代謝速度・薬効発現・活性・感受性において種差が見られる。このことから、動物実験からヒトにおける薬物代謝、薬物動態や薬効・毒性発現の予測は容易でなく、実験動物を使って得られた情報は、そのままヒトに当てはめることが出来ないという問題が生じている。近年、コンピューター技術の発展により、遺伝子上での配列比較や立体構造予測が可能となってきたため、コンピュータ上での解析から、上記のような種差による問題にとられず、直接ヒトでの機能予測が可能となると考える。

【方法】

既に立体構造が決定された 3 種類のヒトの CYP (CYP2C8, CYP2C9, CYP3A4) 及びウサギの CYP (CYP2B4, CYP2C5) を鋳型とし、相同性を考慮した上で薬物代謝酵素として主要な 16 種類の CYP 分子 (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2A13, CYP2B6, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2J2, CYP2S1, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43, CYP4B1) の立体構造モデリングを行った。これに基づき、正常な活性を変化させる原因となった遺伝子多型について立体構造上の位置を同定し、構造変化と、機能への影響の点から解析を行った。すなわち、アミノ酸変異による基質親和性や酵素活性、電荷分布、ポテンシャルエネルギー変化、親和性変化、及び基質結合候補部位について、各変異に

よって引き起こされる立体構造変化や物理化学的性質の解析と文献情報等から得られる *in vitro* での薬物投与における K_m 値・ V_{max} 値の変動についての関連性を調べた。

【結果】

CYP2B6 や CYP2D6 などの分子種では、遺伝子多型変異の I ヘリックス付近などへの局所集中が見られた。CYP2C9 の場合、ワルファリン (抗凝固薬) やトルブタミド (糖尿病治療薬) の薬物により薬物代謝活性の変化をもたらす変異は現在までに 6 種類が知られている。この中で CYP2C9*8 については、文献より代謝能力の向上といった酵素活性上昇が示されている。この活性上昇に結びつく立体構造上の物理化学的な理由を明らかにするため、基質が結合し得る空洞部位の探索を行った。すると、この CYP2C9*8 ではアミノ酸の変化によって疎水性基質が結合可能な空洞部位の体積が拡大していることがわかった。他の 5 種類の変異体では、種々の薬物との反応において大部分の反応速度定数 (K_m) の上昇と、最大反応速度 (V_{max}) の低下など酵素活性の低下が示されていた。CYP2C9*8 で拡大していた空洞部位の体積に大きな変化は見られなかったが、ヘムと相互作用すると考えられる部位において空洞部位の大きさに変化が見られた。この他、変異により CYP2C9*2 と CYP2C9*3 において新たな空洞部位が生じていた。

【考察】

酵素活性が上昇していた CYP2C9*8 において空洞部位の体積の拡大が見られた。このことは、基質の結合・通過が容易になったことを示唆すると考えられる。CYP2C9*2 と CYP2C9*3 では、変異によって新たに出現した空洞部位は基質ポケットまたは基質の移行を阻害する障害物となり、酵素活性に影響を及ぼした可能性がある。また、新たな薬物、未同定の薬物の代謝に寄与している可能性がある。このように遺伝子多型による変異部分を中心とした、CYP 分子の酵素活性の変動を立体構造・物理化学的観点から解析し、シミュレーションによる検証を加えることによって薬物代謝反応の予測を高精度に行えるようになり、これまでに比べ動物実験の数を大幅に削減出来るようになるだろう。