

300-am02S

32 種の CYP2C9 遺伝子多型バリエーションにおける酵素活性変化

新沼 優衣¹, ○齋藤 雄大¹, 高橋 理充¹, 塚田 智晴¹, 伊藤 雅¹, 平澤 典保¹,
平塚 真弘¹ (¹東北大院薬)

【目的】薬物代謝酵素 CYP2C9 には、これまでに 50 種以上の遺伝子多型バリエーションが報告されており、それが基質薬物であるワルファリンやトルブタミドなどの代謝や薬物応答性の個人差に影響することが示唆されている。しかしながら、酵素活性変化の程度が明らかになっていないバリエーションが多い。そこで本研究では、32 種類の CYP2C9 バリエーション酵素におけるワルファリン 7-水酸化およびトルブタミド水酸化活性の変化を網羅的に解析した。

【方法】CYP2C9*1-CYP2C9*5、CYP2C9*7-CYP2C9*14、CYP2C9*16-CYP2C9*24、CYP2C9*26-CYP2C9*35 の CYP2C9 cDNA を pcDNA-DEST40 哺乳動物発現ベクターにサブクローニングし、それぞれのバリエーション酵素を COS-7 細胞に発現させた。それらのミクロソーム画分に様々な濃度の S-ワルファリンを加えて反応させ、7-水酸化ワルファリン生成量を HPLC-蛍光検出により測定することで、酵素反応速度論的パラメータを算出した。また、トルブタミドは単一の基質濃度を用いて、バリエーション酵素の比活性を算出した。

【結果】ワルファリン水酸化活性において、6 種類のバリエーションでは、高濃度の基質を用いた場合でも酵素活性が完全に消失した。14 種類のバリエーションにおいては、 K_m 、 V_{max} および固有クリアランス (CL_{int}) のキネティックパラメータを算出することができた。また、ワルファリン代謝とトルブタミド代謝の比活性変化には、顕著な相関性が認められた。

【考察】これまで明らかにされていなかった CYP2C9 バリエーション酵素の機能変化を網羅的に明らかにした。特に、活性低下が認められたバリエーションのうち 6 種類のバリエーションは、CYP2C9 分子内の基質認識部位にアミノ酸置換を伴い、その構造変化が活性変化に大きく影響していると考えられた。