

氏 名	宮野 純子
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	薬 学
学位授与番号	博甲第2922号
学位授与の日付	平成17年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生体機能科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	$\beta$ -naphthoflavone 前処置 Hep G2 細胞における 4-hydroxypropranolol 硫酸抱合活性の変動機構解明
論文審査委員	教授 成松 鎮雄 教授 山本 重雄 教授 岡本敬の介

### 学位論文内容の要旨

硫酸転移反応は、薬物代謝の主要な第2相反応の一つであり、この反応を触媒する sulfotransferase (SULTs) の発現や機能に対する個人差は薬効や副作用発現の要因の一つとなる。本研究では、4-OH-PL 硫酸抱合反応に関する分子種の同定及びその酵素特性を明らかにするとともに、 $\beta$ -naphthoflavone (BNF) 前処置 Hep G2 細胞における 4-OH-PL 硫酸抱合活性上昇機構の解明を目的として以下の検討を行った。

まず BNF 前処置 Hep G2 細胞サイトゾル画分における SULTs の酵素学的特性の変化について検討した。その結果、Hep G2 細胞への BNF 添加により未処置コントロールに比べて 4-OH-PL 硫酸抱合活性が有意に上昇し、速度論的解析においても BNF 未処置と前処置の間で異なる酵素学的性質を示すことが明らかとなった。

続いて、6種の大腸菌発現ヒト SULTs 分子種を用いて 4-OH-PL 硫酸抱合活性を測定した結果、SULT1C1 及び 2A1 を除いた 4種の SULTs が 4-OH-PL 硫酸抱合活性を有することが明らかとなった。また、速度論的解析から、4-OH-PL 硫酸抱合反応における SULT1A3 の Km 値は BNF 前処置及び未処置 Hep G2 細胞サイトゾル画分の値と近似していること、及び各 SULTs 分子種の寄与率は SULT1A3 > 1E1 > 1A1 > 1B1 の順に高いことが示唆された。さらに BNF による SULTs 誘導の有無を mRNA 及び蛋白質量レベルで検討した結果、SULT1A3 は mRNA、蛋白質量いずれにおいても未処置コントロールに比べて高いことが認められた。

これらの結果は、ヒト肝における 4-OH-PL 硫酸抱合反応を触媒する主要な酵素が SULT1A3 であること、また Hep G2 細胞培養系における BNF による 4-OH-PL 硫酸抱合活性の上昇は SULT1A3 の誘導に起因することが示唆された。今後さらに SULT1A3 の誘導・転写制御機構に関する研究を展開することにより、分子多様性並びに遺伝子多型性を示す SULTs の性質の一端が解明され、患者の QOL を重視したテーラーメイド薬物療法に重要な基礎的知見をもたらすものと考えられる。

## 論文審査結果の要旨

硫酸抱合は主要な薬物代謝反応の一つであり、この反応を触媒する sulfotransferase (SULTs) の発現や機能は薬効や副作用発現の要因となる。本研究では、抗圧薬 propranolol (PL) の活性代謝物 4-hydroxypropranolol (4-OH·PL) 硫酸抱合反応の分子機構及び  $\beta$ -naphthoflavone (BNF) 前処置 Hep G2 細胞における 4-OH·PL 硫酸抱合活性上昇機構の解明を目的とした。

Hep G2 細胞を BNF 前処置することにより未処置に比べて 4-OH·PL 硫酸抱合活性が有意に上昇し、PL あるいは 4-OH·PL 添加による Hep G2 細胞増殖抑制作用が、BNF 前処置により軽減された。この原因として BNF による CYP1A 酵素と共に SULT 分子種の誘導が示唆された。そこで、大腸菌に各々発現させた 6 種の SULT 分子種を精製し、典型的基質に対する抱合活性を BNF 未処置並びに BNF 前処置 Hep G2 細胞と比較した結果、SULT1A3 と BNF 前・未処置 Hep G2 細胞の酵素化学的特性が類似しており、また反応への寄与は SULT1A3 が最も高いことが示唆された。さらに SULTs mRNA 及び蛋白質量の経時的変動を Real-time RT-PCR 及び Western blot 分析で解析した結果、BNF 前処置 Hep G2 細胞において誘導される SULT 分子種は SULT1A3 であり、SULT1E1 は逆に低下することが判明した。

本結果から、SULT1A3 は 4-OH·PL 硫酸抱合反応を触媒する主要な酵素であり、また HepG2 細胞において BNF 前処置により SULT1A3 の誘導されることが明らかとなった。本研究の進展により、分子多様性・遺伝子多型性を示す SULTs の性質の一端が解明され、患者の QOL を重視したテーラーメイド医療に重要な基礎的知見をもたらすと考える。

以上の知見は、ヒト由来細胞において CYP 誘導剤により CYP のみならずある特定の SULT 分子種が誘導されると同時に、ある特定の SULT 分子種は逆に低下する現象を酵素化学的に明らかにしたものであり、博士（薬学）の学位に値するものと判定した。