

Tegafurの5-fluorouracilへの代謝活性化における立体選択性に関する研究

山宮, 育郎

<https://hdl.handle.net/2324/1441177>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（薬学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名	山宮 育郎
論 文 名	Tegafur の 5-fluorouracil への代謝活性化における立体選択性に関する研究

論文審査の結果の要旨

経口制ガン剤であるテガフル (FT) はプロドラッグであり、生体内で活性本体の 5-フルオロウラシル (5-FU) に変換される。FT は分子内に不斉炭素を持つキラル化合物である (Fig. 1)。FT は臨床においてラセミ体として使用されているが、FT を経口投与したガン患者における血漿中濃度には明らかな立体選択性が存在し、*S* 体は *R* 体より高濃度で推移する。5-FU への代謝が FT の主消失経路と考えられるが、5-FU 変換活性に関する立体選択性が明らかにされていないため、FT 投与後の血中 5-FU 濃度に対する各異性体の寄与は不明であった。そこで本研究では、ヒト肝試料を用いて FT 立体異性体の 5-FU 変換活性に関する選択性につき、その規定因子が検討された。さらにヒトにおける FT の 5-FU への代謝およびその立体選択性に影響を及ぼす因子として、代謝酵素の遺伝子多型の影響も検討された。また、FT 代謝における立体選択性の種差に関する知見がないことから、この点についても解析が加えられた。

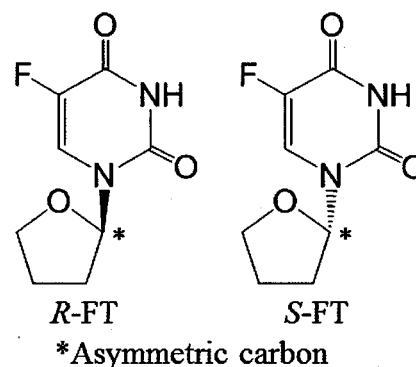


Fig. 1. Chemical structure of FT

これまで、FT の代謝にはミクロソーム中の cytochrome P450 (CYP) およびサイトゾル中の thymidine phosphorylase (TPase) が寄与することが報告されていたことから、先ずヒト肝 9,000 x g 上清を用いて FT の 5-FU への変換活性が検討された。その結果、*S* 体より *R* 体に高い 5-FU 変換活性が認められ、阻害試験の結果からは、FT の代謝に主に CYP が寄与することが明らかとなった。続いて、肝ミクロソームおよび CYP 発現系ミクロソームを用いて FT 異性体の 5-FU への変換活性に関する速度論的解析が実施され、いずれの異性体に対しても CYP2A6 が最も高い触媒活性を示すこと、並びに *R* 体で高い活性が認められることが見いだされた。また、CYP2A6 の *R* 体および *S* 体に対する K_m は、肝ミクロソームの高親和性酵素で得られる値と一致した。抗 CYP 抗体を用いた阻害試験の結果からは、FT 立体異性体からの 5-FU 生成には主に CYP2A6 が関与することが支持された。以上の結果から、FT の体内動態における立体選択性は CYP2A6 に対する基質特異性の違いが反映されたものであることが明らかにされた。

CYP2A6 は多くの遺伝子多型が存在する分子種であることから、日本人で比較的高い頻度で認められる CYP2A6*7 (Ile471Thr), CYP2A6*8 (Arg485Leu), CYP2A6*10 (Ile471Thr, Arg485Leu) および CYP2A6*11 (Ser224Pro) について、FT 立体異性体の 5-FU 変換活性に対する CYP2A6 遺伝子多型の影響が検討された。解析方法としては、変異型 CYP2A6 と CYP 活性発現に必須の NADPH-cytochrome P450 oxidoreductase をバキュロウイルス-昆虫細胞系に共発現後、ミクロソームでの酵素反応速度論的解析が行われた。その結果、野生型と比較して全ての変異型 CYP2A6 で FT の 5-FU への変換活性の低下が認められ、特に CYP2A6.7 および CYP2A6.10 では他の変異型と比較して V_{max} が大幅に低下した。一方、CYP2A6.8 および CYP2A6.11 では V_{max} に対する影響は小さいものの K_m が上昇した。また、各酵素反応速度論的パラメータに *R* 体および *S* 体で顕著な差は認められず、これらの遺伝子多型で置換されるアミノ酸残基は、FT 立体異性体の基質認識性には影響しないことが示唆された。

次に本研究では、ラット、イヌおよびサルを用いて FT 立体異性体の体内動態および 5-FU 変換活性の種差が検討された。ラットおよびサルにおける FT の体内動態はヒトと同じ立体選択性であり、*R* 体と比較して *S* 体が高濃度で推移したが、イヌでは *R* 体の血漿中濃度が高値を示した。肝試料を用いた速度論的解析の結果、ラットとイヌにおける薬物動態の立体選択性は CYP 活性の差に起因することが明らかにされた。一方、サルでは両異性体間に CYP 活性の差は認められず、*R* 体に対してのみ代謝活性を有する TPase が立体選択性の決定に寄与した。また、吸収率、分布容積およびタンパク質結合率に異性体で顕著な差は認められていない。このように、*in vivo* で観察される立体選択性は、すべての動物種で *in vitro* 酵素速度論のパラメータからの予測が可能であったが、FT の代謝活性および代謝酵素には明らかな種差が存在することが見い出された。

以上の検討から、ヒトにおいて *R* 体および *S* 体の 5-FU への変換に関わる主代謝酵素はいずれも CYP2A6 であり、この CYP に対する親和性の差異に基づき *S* 体と比較して *R* 体の 5-FU 変換活性が高いことが明らかにされた。このことから、FT ラセミ体投与後の 5-FU は主に *R* 体由来すると推察される。さらには、*R* 体がより効率的な 5-FU のプロドラッグであり、ラセミ体と比較しても優れた制ガン剤となる可能性を有することが示唆された。また、FT 代謝の立体異性体はすべての動物種で 5-FU への変換活性の選択性と合致し、いずれの種においても 5-FU への代謝活性化が FT の主消失経路であることを裏付けるものであった。一方、FT の代謝酵素および各立体異性体の 5-FU 生成に対する寄与率には明らかな種差の存在も見い出された。ヒトにおける FT の主代謝酵素である CYP2A6 の遺伝子変異は、立体選択性には影響を与えなかったものの、FT の代謝活性を著しく低下させた。このことは遺伝子多型を有するガン患者に投与された FT の血漿中濃度 (*R* 体と *S* 体の総和) が有意に上昇する報告と一致する。このように、本研究の解析によって、5-FU 変換活性は変異型 CYP2A6 を有するガン患者では有意に低下することが実証され、変異の有無が FT の抗腫瘍効果の強弱を左右する要因であることが判明した。この成果は、ガン治療に多用されている FT の有効活用に関して大変有用な知見と思慮される。従って、この成果を上げた申請者は博士 (薬学) の学位を授与するに相応しいと判定した。