

既に前号のニュースレターでお知らせいたしましたように、DMPK ニュースレターでは読者となる日本薬物動態学会会員の皆様にお役に立てそうな企画を試みておりますが、本号からは「レクチャーノート」と題しまして、皆様に興味を持っていただけたようなテーマを選び、シリーズで掲載することになりました。今号から順次掲載する内容は以下のように題した6テーマです。

- ・代謝酵素とトランスポーターの機能協関による異物解毒
- ・薬物相互作用：薬物動態学の医療現場への展開のために
- ・母集団薬物動態解析のイロハ
- ・統計質問箱
- ・ヒト代謝の in vitro からの予測戦略
- ・薬物トランスポーター

著者はニュースレター編集委員と各分野でご活躍の皆さんをお願いしてお届けいたします。

これらのレクチャーノートは、まずはニュースレター編集委員会で提案・議論した内容で始めることにしたものでありますが、ニュースレターの目標の一つとして「会員の皆様のご意見・ご要望を受けつけることにより、読者と著者あるいは会員間の対話を大事にする」を取り上げております。従いまして、今回から掲載いたします内容につきまして、ご質問やご要望をお待ちいたしております。例えば「レクチャーノート：統計質問箱」では、皆様が直面されるような問題点なども取り上げられればと思っております。いただきました全てについての採用は無理かもしれませんが、共通性の高いと判断された問題点やご指摘については積極的にニュースレターを通じてお知らせしたいと思えます。さらに、今回掲載いたしました6種類のテーマ以外にも取り上げたいと思われる内容を皆様からご提案いただけますと幸いです。皆様からのご意見は、「ニュースレターへの要望（質問）」と件名に明記されまして「[dmpk-ed@ps.toyaku.ac.jp](mailto:dmpk-ed@ps.toyaku.ac.jp)」までお寄せ下さい。

この新しい企画である「レクチャーノート」が学会員の皆様に少しでもお役に立てますことを祈っております。それでは、以下レクチャーノートを是非ご一読下さい。

## レクチャーノート：代謝酵素とトランスポーターの機能協関による異物解毒

東京大学大学院薬学系研究科 鈴木洋史  
東京理科大学薬学部 玉井郁巳

薬物体内動態の支配因子として、代謝酵素による解毒、トランスポーターによる排出に関する研究が進められてきましたが、多くの場合、一連の研究はそれぞれ独立して行われてきたものでした。しかしながら、両者が協奏的に機

能して、異物解毒に関与する例も多く報告されるに至っています。例えば、小腸上皮細胞に発現される排出ポンプ(MDR1 P-糖蛋白)の基質特異性は、CYP3Aと類似しています。このため、消化管管腔から上皮細胞内へ移行した基質薬物分子の一部は代謝を受けて不活化され、また代謝を免れた分子は排出ポンプにより再び管腔へと排出されてしまいます。このサイクルを繰り返すことによって、基質薬物の消化管吸収は制限されてしまいます。また、このような代謝酵素・トランスポーターの機能協関は、プロドラッグの吸収を考える上でも重要な検討課題となります。すなわち、脂溶性を上昇させるためにエステル型プロドラッグを合成する方法がとられることも多いのですが、一部のプロドラッグは、小腸上皮細胞内のエステラーゼにより、細胞内で親化合物(カルボン酸)にまで代謝されて、そのカルボン酸が排出ポンプの働きにより管腔内へと排出されてしまうために、プロドラッグ化によるバイオアベイラビリティの増大が望めない場合も多いのが現状です。このほか、例えば肝臓内で生成した抱合代謝物は、トランスポーターによって胆汁中および循環血中へと排泄されますが、モルヒネのように、薬理活性を有する6位および活性の低い3位グルクロン酸抱合体の排出方向の指向性の違いが観察される例もあります。このように、代謝酵素とトランスポーターの機能協関係は、異物解毒という視点からのみでなく、消化管吸収性、脳などへの標的組織移行性、プロドラッグの開発、活性代謝物の薬理効果発現にも密接に関与する問題となります。本レクチャーノートでは、これらの機能協関について現在まで得られている知見を概観し、将来展望を読者の皆様と共に考えてみたいと思います。

### (1) 抱合酵素と排出トランスポーター

東京大学大学院薬学系研究科 鈴木洋史

酵素とトランスポーターの機能協関により異物が解毒される例の一つとしては、グルタチオン抱合、およびそれに引き続く抱合体の細胞外への排出があげられる。この概念は、現 東京工業大学の石川智久博士らにより提唱され、精力的に研究が進められてきた<sup>1)</sup>。多くの求核試薬は、細胞内に5-10 mM程度と豊富に存在するグルタチオン(GSH;  $\gamma$ -Glu-Cys-Gly)のSH基と反応することにより抱合反応を受ける。この反応は、spontaneousに、またグルタチオン-S-転移酵素により触媒されて進行するが、さらに細胞内で生成されたグルタチオン抱合体(GS-X)の細胞外への排出を担うトランスポーターの存在が示唆され、GS-Xポンプという呼称を与えられてきた(図1)<sup>1)</sup>。その後、ドイツKeppler博士らのグループ、オランダBorst博士らのグループによりGS-Xポンプの実体として、多剤耐性関連蛋

白質 (multidrug resistance associated protein 1 ; MRP1/ABCC1) と称されるトランスポーターが同定された<sup>1-5)</sup>。なお、このような機能協関により解毒される化合物としては、シスプラチンや金属 (砒素等) があげられる<sup>1)</sup>。ここで、MRP1 は ATP-依存的な排出型トランスポーター (ATP-binding cassette transmembrane (ABC) transporter) の一つであり、ファミリーを形成している。現在、これらをコードする遺伝子群は ABCC 群として命名法が統一されつつある。さらに、石川博士らにより、酸化ストレスや重金属により、グルタチオン合成の律速酵素となる γ-グルタミルシステイン合成酵素と MRP1/ABCC1 が共に誘導を受けることも見出されており、両者の機能協関は異物に対する細胞の防御機構の一つと考えられるに至っている<sup>1,6,7)</sup>。なお、MRP1 はグルタチオン抱合体のほか、グルクロン酸抱合体、胆汁酸硫酸抱合体、および有機アニオン系化合物をも未変化体のまま基質とすることが知られている<sup>2-5)</sup>。MRP1 は殆どの体細胞に発現されるが、極性細胞においては basolateral 側膜上に発現され、肝臓における発現は低い<sup>2-5)</sup>。

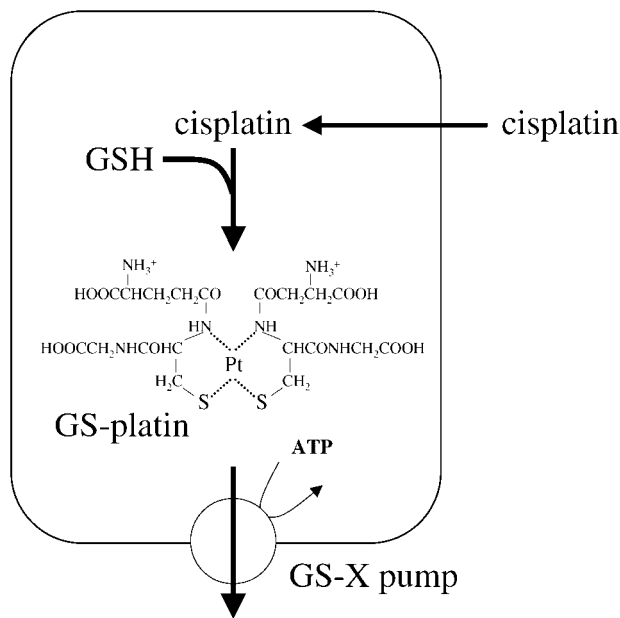


図1 グルタチオン抱合と排出ポンプの機能協関

いくつかの耐性細胞では、グルタチオン抱合の亢進、ならびに排出ポンプの発現誘導によりシスプラチン耐性を獲得している。これらの細胞内に取り込まれたシスプラチンは、グルタチオンとの抱合を受けてGS-プラチンへと変換され、その後細胞膜上に発現されるGS-Xポンプにより、ATP-依存的に細胞外へと排出される。Ishikawa and Ali-Osman, *J Biol Chem* 1993, 268, 20116 を改変し、著作権所有権の許可を得て引用。

異物解毒の中心臓器となる肝臓では、胆管側膜上に MRP2/ABCC2 が発現するが (図2)、その基質特異性は

MRP1 と極めて類似している<sup>2-5,8)</sup>。MRP2 は、ドイツ Keppler 博士ら、オランダ Oude Elferink 博士ら、九州大学の桑野博士ら、および筆者らにより MRP1 の類似体としてクローニングされたものである。MRP2 の生理的基質としてはビリルビンのグルクロン酸抱合体があげられ、その遺伝的欠損は、高ビリルビン血症 (血中抱合型ビリルビン濃度の上昇による黄疸発症) を示す Dubin-Johnson 症候群の発症へとつながる<sup>2-5,8)</sup>。これはグルクロン酸抱合酵素と MRP2 の機能協関を示す典型的な例である。このほかにも、MRP2 は肝細胞内で生成された、一連の生体内因性物質や異物のグルクロン酸抱合体 (エストラジオール17位グルクロン酸抱合体, SN-38 グルクロン酸抱合体, アセトアミノフェングルクロン酸抱合体, グリチルリチンなど) をも基質とする<sup>2,8)</sup>。事実、MRP2 を遺伝的に欠損し、高ビリルビン血症を示すラット (Eisai hyperbilirubinemic rats; EHBR) における、これらのグルクロン酸抱合体の胆汁排泄は、正常ラットに比べて激減していることが示されている<sup>2,8)</sup>。また、詳細については後にレクチャーノート (薬物トランスポーター) で述べる予定であるが、筆者らは MRP2 が有機アニオン系化合物の体内動態を決定する重要な因子の一つともなっていることを明らかとしてきた。一方、肝臓内で生成された硫酸抱合体の胆汁排泄は正常および EHBR 間で同等であり、その機構は未解明である。最近、筆者らは胆管側膜上に発現される ABC トランスポーター (breast cancer resistance protein; ABCG2) が硫酸抱合体を基質とすることを見出しており、現在薬物動態における意義に関する研究を進めている<sup>9)</sup>。

肝細胞内で生成されたグルクロン酸抱合体の一部は、血管側膜を介して血液中へも放出される (図2)。興味深いのは、モルヒネの例であり、薬理効果の高い6位および薬理効果の低い3位のO-グルクロン酸抱合体を比較した場合、前者は後者に比べて血液中へと放出されるルートに対する指向性が高い<sup>10)</sup>。筆者は、抱合代謝物の血液中への排出には OATP/SLC21A および OAT/SLC22A ファミリーが関与するものと想定している<sup>11)</sup>、この理論的背景については、いずれレクチャーノート (薬物トランスポーター) にて述べたいと思う (図2)。肝細胞内で生成された抱合体の排出の振り分けは、血管側膜上トランスポーターおよび MRP2 の輸送機能のみにより規定されるのか、あるいは抱合体の細胞内移送に何らかの細胞質蛋白が関与するかについては今後の解析が待たれる。なお、小腸上皮細胞内で生成された抱合代謝物も、管腔側へ排出されるか、血液側へ吸収されるかの運命をたどるが、この点については総説を参照されたい<sup>12)</sup>。

一方、硫酸転移酵素およびグルタチオン-S-転移酵素が細胞質酵素であるのに対し、UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGTs) は小胞体膜上に発現される酵素であり、その活性

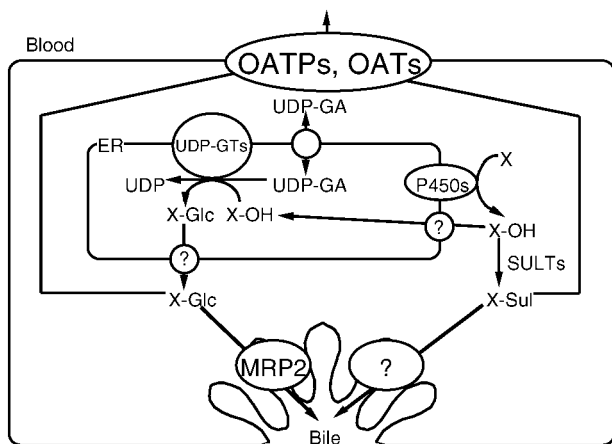


図2 肝臓における抱合とトランスポーターの機能協働

肝小胞体へUDP-GAが輸送され、小胞体内腔でグルクロン酸抱合を受けた後、生じたグルクロン酸抱合体は細胞質へと放出される。UDP-GAに対するトランスポーターと、グルクロン酸抱合体に対するトランスポーターが同一なものであるか否かについては、最終的な結論は得られていない。細胞質へと移送されたグルクロン酸抱合体は、MRP2、およびOATP/OATファミリーにより、胆汁および血液中へと排出されるものと考えられる。一方、細胞質で生成された硫酸抱合体は、BCRP等により胆汁排泄を受け、またOATP/OATファミリーにより血液へと排出されるものと考えられる。

部位は小胞体内腔に存在すると考えられている。従って、微視的には、小胞体膜上に存在するトランスポーターと転移酵素の機能協働についても考えなければならない(図2)。細胞質で合成されたUDP-グルクロン酸(UDP-GA)を小胞体内に輸送するトランスポーターの存在が知られているが<sup>13)</sup>、その分子の実体については最終的な結論は得られていない(図2)。最近、UDP-GAを輸送する小胞体膜上のトランスポーターが同定されたが<sup>14)</sup>、その一方でUDP-グルクロン酸転移酵素(UGT1A1)自体が、小胞体膜を介したUDP-GAの輸送に関与するという説も提出されている<sup>15)</sup>。未だ学会発表レベルではあるが、UGT1Aを遺伝的に欠損するGunnラット肝臓より調製した小胞体膜では、UDP-GA輸送が観察されないが、この変異ラットの肝臓にアデノウイルスベクターによりヒトUGT1A1遺伝子を導入すると、UDP-GAの小胞体輸送が観察されるというものである<sup>15)</sup>。また、小胞体内で生成された異物のグルクロン酸抱合体が細胞質へと放出される分子機構についても未解明である<sup>16)</sup>(図2)。肝細胞より調製されたミクロソーム膜を用いた実験結果から、UDP-GAの小胞体への流入にカップルして、異物の抱合体が細胞質へと放出されるという仮説も提唱されている<sup>13)</sup>。ゴルジ体に発現される糖スクレオチドトランスポーターに関する知見は集積されているものの、小胞体トランスポーターの解明が待たれている現状である。

今回は、今回の記事と関連して、UDP-グルクロン酸抱合酵素の遺伝子構造、発現調節機構、組織特異性、基質特異性などについて、姫路工業大学の井柳堯先生に概説をお願いする予定である。

#### 参考文献

- 1) Ishikawa, T., Li, Z. S., Lu, Y. P. and Rea, P. A. *Biosci. Rep.* 1997, **17**, 189.
- 2) Suzuki, H. and Sugiyama, Y. *Semin. Liv. Dis.* 1998, **18**, 359.
- 3) Keppler, D. and König, J. *Semin. Liv. Dis.* 2000, **20**, 265.
- 4) Leslie, E. M., Deeley, R. G. and Cole, S. P. *Toxicol.* 2001, **167**, 3.
- 5) Borst, P. and Oude Elferink R. *Ann. Rev. Biochem.* 2002, **71**, 537.
- 6) Ishikawa, T., Bao, J. J., Yamane, Y., Akimaru, K., Frindrich, K., Wright, C.D. and Kuo, M. T. *J Biol Chem.* 1996, **271**, 14981.
- 7) Yamane, Y., Furuichi, M., Song, R., Van, N. T., Mulcahy, R. T., Ishikawa, T. and Kuo, M. T. *J Biol Chem.* 1998, **273**, 31075.
- 8) Suzuki, H. and Sugiyama, Y. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2002, **54**, 1311.
- 9) Suzuki, H., Suzuki, M., Sugimoto, Y. and Sugiyama, Y. *Hepatol.* 2002, **36**, 218A.
- 10) Milne, R. W., Jensen, R. H., Larsen, C., Evans, A. M. and Nation, R. L. *Pharm Res.* 1997, **14**, 1014.
- 11) Suzuki, H. and Sugiyama, Y. *Semin. Liv. Dis.* 2000, **20**, 251.
- 12) Suzuki, H. and Sugiyama, Y. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2000, **12**, 3.
- 13) Banhegyi, G., Braun, L., Marcolongo, P., Csala, M., Fulceri, R., Mandl, J. and Benedetti, A. *Biochem J.* 1996, **315**, 171.
- 14) Muraoka, M., Kawakita, M. and Ishida, N. *FEBS Lett.* 2001, **495**, 87.
- 15) Ghosh, S. S., Lee, S. W., Thummala, N. R., Guha, C., Chowdhury, J. R., Chowdhury, N. R. *Hepatol.* 2002, **36**, 340A.
- 16) Attaglia, E. and Gollan, J. *J Biol Chem.* 2001, **276**, 23492.