

2016 年度 博士論文要旨

学生番号 G12-403	氏 名 安原 昌子
題 目 麦門冬湯が代謝酵素チトクローム P-450 に及ぼす影響の評価	
英文題目 Effect of Bakumondo-to on cytochrome P450 activities in rat liver microsomes	
<p>< 緒言 ></p> <p>麦門冬湯は、麦門冬、半夏、大棗、甘草及び人參から成る伝統的な生薬であり、気管支炎や気管支喘息、咳嗽といった慢性の気道疾患の治療に広く用いられている。臨床では、pranlukast や zafirlukast、theophylline などの薬剤と併用されることが頻繁にあるため、麦門冬湯と合成薬剤とで相互作用が生じる可能性がある。Pranlukast は CYP3A により代謝される。Zafirlukast は CYP2C9 及び CYP3A4 により代謝され、montelukast は CYP1A2 により代謝される。また、theophylline は CYP1A2 により代謝される。しかし、麦門冬湯がこれらの薬物代謝酵素活性に与える報告に関する報告はほとんどない。本研究では、麦門冬湯が CYP1A2、CYP2C 及び CYP3A に与える影響について評価した。</p> <p>< 方法 ></p> <ol style="list-style-type: none">1. 試薬 麦門冬湯は、ツムラ麦門冬湯エキス顆粒（医療用）を使用した。CYP1A2、CYP2C 及び CYP3A の活性を定量化するための外部試薬として、それぞれ、7-methoxyresorufin（以下、MRF）、7-methoxy-4-(trifluoromethyl)coumarin（以下、MFC）、7-benzoyloxyquinoline（以下、7-BQ）、7-benzoyloxy-4-trifluoromethylcoumarin（以下、BFC）を使用した。2. 動物 Icl:Wistar 系雄ラット（6 週齢）に麦門冬湯エキス顆粒（1 g/kg）を 1 日 2 回（8 時及び 18 時）、4 日間連続経口投与した。3. ラット肝臓試料の調製法 6 日目に、ラットより肝臓を摘出後、1.15%KCL を加えてホモジナイズしたものを遠心分離して調製した肝 microsomes をカリウムリン酸緩衝液中に懸濁させた。タンパク質濃度は Lowry 法によって測定した。標準タンパク質としてウシ血清アルブミンを用いた。4. CYP 活性の測定 CYP1A2 活性は、基質として MRF を用い、その O-脱メチル化により評価した。CYP2C 活性は、基質として MFC を用い、その O-脱メチル化により評価した。CYP3A 活性は、基質として 7-BQ 及び BFC を用い、7-BQ 及び BFC の代謝率により評価した。5. CYP イムノブロット解析 肝 microsomes のイムノブロット解析を行い、CYP タンパク質の発現量を測定した。6. 統計的分析 F 検定により、統計的有意差を評価した。等分散性である場合スチューデントの t 検定を、不等分散性である場合ウェルチの t 検定を実施した。両側確立 $p < 0.05$ を有意とした。	

学生番号 G12-403	氏 名 安原 昌子
<p><結果></p> <p>1. 麦門冬湯がラット肝臓 microsomes の CYP 活性に及ぼす影響</p> <p>MRF の O-脱メチル化活性 (CYP 1A2 活性を示す) は $42.5 \pm 7.8\%$ (control 群を 100%として) と有意に減少した。</p> <p>MFC の O-脱メチル化活性 (CYP 2C 活性を示す) は $158.0 \pm 29.6\%$ と有意に増加した。</p> <p>7-BQ の水酸化活性 (CYP 3A 活性を示す) は $81.5 \pm 7.8\%$ であり、control 群との間に有意差は認められなかった。</p> <p>BFC の水酸化活性 (CYP 3A 活性を示す) は $132.5 \pm 29.5\%$ であり、control 群との間に有意差は認められなかった。</p> <p>2. 麦門冬湯がラット肝臓 microsomes の CYP タンパク質発現量に及ぼす影響</p> <p>ラット CYP 1A2 の抗体を用いた SDS-PAGE イムノブロット解析より、control 群及び麦門冬湯投与群間における CYP 1A2 タンパク質の発現量に有意差は認められなかった。一方で、麦門冬湯投与群の CYP 2C タンパク質の発現量は、control 群と比較して 288.9%に増加した。CYP 3A タンパク質発現量に関しては、両群間で有意差は認められなかった。</p> <p><考察></p> <p>麦門冬湯は、慢性気道疾患に対して投与される生薬である。セント・ジョーンズ・ワートなど、一部の生薬では薬物代謝酵素活性阻害による相互作用が知られているが、麦門冬湯については CYP 活性への影響が明確ではなかった。本研究では、麦門冬湯の CYP 活性及び CYP タンパク質発現への影響を評価するために行った。</p> <p>CYP 1A2 は theophylline や tizanidine、caffeine の代謝酵素であり、気道炎症や慢性気管支炎の治療の際、麦門冬湯と theophylline が併用される場合がある。本研究では、麦門冬湯投与後に CYP 1A2 活性の有意な低下が認められたが、CYP 1A2 タンパク質発現量に関しては control 群と比較して有意な変化は認められなかった。これは、麦門冬湯による CYP 1A2 の活性阻害は、タンパク質発現量とは無関係に生じていることを示唆している。</p> <p>CYP2C はヒト肝臓 microsomes 中の CYP の内、25%を占め、zafirlukast や montelukast、omeprazole 及び phenytoin の代謝に関して、重要な役割を果たしている。Zafirlukast や montelukast といったロイコトリエン受容体拮抗薬は、喘息やアレルギー性鼻炎の治療において、麦門冬湯と併用される場合がある。本研究の結果、麦門冬湯投与群では control 群と比較して、酵素活性が 158.0%増加、タンパク質発現量が 288.9%増加したことが認められた。これらの結果から、CYP2C 活性の上昇はタンパク質発現量に依存すると考えられるため、麦門冬湯を長期にわたって投与する場合、CYP2C で代謝される薬物の併用を回避するように留意すべきであると考えられる。</p> <p>CYP 3A はヒトの肝臓における主要代謝酵素の一つである。CYP 3A は midazolam や felodipine、lovastatin、triazolam といった様々な薬剤を代謝するため、麦門冬湯が及ぼす影響について評価したが、CYP 活性及びタンパク質発現への</p>	

学生番号 G12-403	氏 名 安原 昌子
<p>影響は認められなかった。</p> <p>麦門冬湯は、CYP 2C タンパク質発現誘導に伴って酵素活性を上昇させる一方、CYP 1A2 の活性を低下させる。従って、臨床において CYP 1A2 や CYP 2C で代謝される薬剤を麦門冬湯と併用する際には、より慎重に使用することが望ましいと考える。</p>	