

資料 9

サル肝による交感神経β-受容体遮断薬の酸化代謝における立体選択性発現の分子機構
成松鎮雄(千葉大・薬・生物薬剤)、景山 節、
浅岡一雄(京都大・霊長研・分子生理)

我々はこれまでにラット、マウス、家兎およびヒト肝臓のミクロソーム(Ms)を用いて、光学的に活性な交感神経β-受容体遮断薬の酸化代謝における立体選択性の分子機構につき検討を行い、上記齧歯類とヒトの間かなりの種差があることを見出している。その種差発現の機作を解明するために、霊長類としてサルの肝臓を用いて同様の検討を行い、ヒトおよび齧歯類との類似性を見ることにした。ニホンザル(雄、n=4)肝からMsを調製し、シトクロムP450(P450)及びシトクロムb5含量を測定したところそれぞれ 1.098 ± 0.273 及び 0.602 ± 0.057 nmol/mg proteinであった。さらにラット肝P450-2D2に対する抗体を用いてWestern blot分析を行った結果、同抗体に交差する蛋白バンド(48KD)が認められた。このMs画分におけるβ遮断薬ブニトロロール(BTL)エナンチオマーの4位水酸化活性の速度論的パラメーターを下に示す。

Kinetic Parameters for Enantiomeric BTL 4-Hydroxyase Activity in Liver Microsomes from Male Japanese Monkeys

Parameter	(+)-BTL	(-)-BTL	(-)/(+)ratio
Km	1.37 ± 0.22	1.25 ± 0.09	0.94 ± 0.11
Vmax	7.40 ± 1.40	4.18 ± 0.79	$0.56 \pm 0.01^{**}$

Km, μ M; Vmax, nmol/min/mg protein. Values represents mean $\pm$ S.E. (n=4). **Significant difference (p<0.01).

いずれのエナンチオマーの4位水酸化活性も1相で解析され、Km値には差がないものの、Vmax値は(+)-BTLが(-)-BTLの1.8倍高かった。ニホンザル肝MsのBTLエナンチオマー4位水酸化活性は抗ラット肝P450-2D抗体、並びにP450-2D酵素の特異的阻害剤であるキニジンにより濃度依存的に阻害された。これらの結果より、ニホンザル肝MsによるBTLエナンチオマーの4位水酸化反応には(+)-BTL>(-)-BTLの立体選択性が観察され、これは恐らくP450-2D酵素のVmaxの差に起因するものと考えられる。また、ニホンザルの立体選択性は、ヒト及び家兎肝Msの同反応における立体選択性と一致したが、ラット肝Ms[(+)-BTL<(-)-BTL]とは逆であった。これがP450-2D酵素の種差によるものか、更に検討する必要がある。

資料 10

マカク属サルにおけるSTR多型の解析
針原伸二(東京大・理・生物)、本田克也(大阪大学・医・法医)、清水宏次(鳴門教育大)

DNAのSTR (short tandem repeat) 多型は、ヒトのみならず多くの動物において、高度に変異がみられることより、個体識別や親族の関係の特定ににきわめて有用な遺伝標識である。

タイのカニクイザルを対象として、ヒトで認められたSTR座位に相当する部位での多型の検出を試みたが、ヒトのY染色体のdinucleotide repeat 多型であるYAC11座位にあたるものに、変異が認められた。ヒトの変異を検出するプライマーを用いて得られたPCR産物には、144bp, 148bp, 150bp, 152bpの4通りの大きさがあり、少なくとも4つのalleleがあることが示された。ちなみに日本人では、148bpから158bpまでの6つのalleleがある。

また、同じくタイのカニクイザルを対象に、βグロビン遺伝子領域のRFLPs (Restriction fragment length polymorphisms) を検討した。

φβ₁グロビン遺伝子部領域では、制限酵素のPst Iによる2つのalleleが認められる多型が確かめられたが、これはアカゲザルやヒトにはないものである。EcoR Iによっては、アカゲザルにもみられたものと同一の多型がみられた。βグロビン遺伝子3'下流側ではヒトでもみられる、制限酵素BamH Iの部位の多型がみられた。

遺伝子頻度のデータに基づいた、ニホンザルとアカゲザル、カニクイザルの3者間の関係では、アカゲザルとカニクイザルが最も離れており、ニホンザルとアカゲザルが最も近い関係にある。