

酵母でヒト代謝物をつくる

生城 真一

医薬品が血中に取り込まれ肝臓に運ばれてから、複数の代謝酵素による変換を受けることを薬物代謝という。薬物代謝によって医薬品は水にとけやすく、体外へ排泄されやすい代謝物に変化する。これまでの代謝物の多くは、毒性が低減された安全な物質と考えられていたが、近年、一部の代謝物については毒性が高まり副作用などの悪影響を及ぼすことがわかってきた。医薬品の開発においては実験動物を用いて代謝研究をおこなうが、ヒト体内ではつくられるが動物ではつくられない代謝物があるなど、代謝経路にはヒトと動物で違いがあるため、製薬会社における通常の動物実験の段階では代謝物の安全性まで確認できないのが現状である。場合によっては臨床段階や市販後に初めて代謝物の危険性が副作用として現れる。2008年には米国食品医薬品局 (FDA) から「医薬品代謝物の安全性に関するガイダンス」が出され、医薬品開発の基礎研究の段階から、代謝物の安全性試験が必要となった。安全性試験とは、ヒトが医薬品を摂取したときにできる代謝物を合成し、ラットなどの実験動物に投与して急性毒性や遺伝毒性を調べることである。

ヒト体内でおこる薬物代謝経路をたどると、まず多くの医薬品は肝臓のシトクロム P450 (P450) という酵素添加酵素によって水酸基の導入を受けて、次に UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) という酵素によりグルクロン酸が付加される (抱合化)。この抱合化を受けた代謝物 (抱合体) は細胞膜に存在するトランスポーターによって細胞外にエネルギー依存的に排泄される。これら薬物代謝酵素は遺伝子ファミリーを形成しており基質特異性の異なるアイソザイムが複数存在することで、さまざまな化学構造をもつ医薬品の代謝に対応している。

生体内でつくられる代謝物の合成方法には、まず有機合成法があげられるが、開発初期における多様な化合物の網羅的な合成には困難なことが多い。また、実験動物に医薬品を投与して胆汁や尿から単離する方法があるが、数十 mg 程度はつくることができても、安全性確認に必要なグラム単位での製造には対応できない。そこで低コストでかつ簡便に大量の代謝物を調製する技術が望まれてきた。

1985年、榊らは出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を宿主として薬物代謝に関与する P450 電子伝達系を発現

させることに成功し、ヒト由来 P450 分子種発現酵母を用いてさまざまな医薬品の代謝物を調製することが可能となったり、さらに生城らはもう一つの薬物代謝酵素である UGT を酵母に P450 と同時に酵母で発現させることにより医薬品の連続的な代謝反応 (水酸化およびグルクロン酸抱合) を再現した²⁾。これら発現系の細胞抽出液により代謝物の調製が可能となったが、グルクロン酸抱合反応には補基質として高価な UDP-グルクロン酸を添加しなければならず、代謝物調製に関してはコスト面の問題があった。そこで酵母内でのグルクロン酸抱合反応を可能にするために、酵母が本来持っていない酵素、UDP-グルコース脱水素酵素遺伝子を導入し、酵母の中で UDP-グルクロン酸の供給が可能な酵母株を作り出した。この酵母株を用いて菌体培養液に医薬品を添加することにより容易かつ大量に薬物代謝酵素による代謝産物を調製することに成功した^{3,4)}。

また近年では食物から摂取したフラボノイドなどのポリフェノール類が異物として認識され、UGT によって非常に効率よく抱合体に変換された後、体外排泄されることが明らかにされてきた⁵⁾。さらに体内に残ったグルクロン酸抱合体を含むフラボノイド代謝物が炎症部位に蓄積し、脱抱合で産生されたアグリコン (抱合化を受ける前の化合物) が局所的な作用を及ぼす可能性が示され、食品成分の機能性についても代謝物が重要な役割を担っている可能性が示唆されている。

以上のように、医薬品のみならず生体にとって異物と認識される化合物は薬物 (異物) 代謝酵素によって変換をうけて、生体にさまざまな影響を及ぼすことが明らかとなってきた。今後、酵母を含めた代謝酵素発現系を用いたヒト代謝物の調製技術はますます重要になるものと思われる。

- 1) 榊:P450の分子生物学 第2版 (大村ら編), p.268 (2009).
- 2) Ikushiro, S. *et al.*: *Biochim. Biophys. Acta*, **1672**, 86 (2004).
- 3) 増山ら: 日本農芸化学会大会講演要旨集, p.222 (2010).
- 4) Dragan, C. A. *et al.*: *Drug Metab. Dispos.*, **38**, 509 (2010).
- 5) 生城ら: ビタミン, **83**, 351 (2009).