

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	小澤 秀介
論文審査担当者	主査 鷺塚 伸介 副査 中沢 洋三・中山 淳・松永 民秀
論文題目 Expression profile of cytochrome P450s and effects of polycyclic aromatic hydrocarbons and antiepileptic drugs on CYP1 expression in MOG-G-CCM cells (ヒトアストロサイトーマ由来 MOG-G-CCM 細胞におけるシトクロム P450 の発現プロファイルおよび多環芳香族炭化水素と抗てんかん薬による CYP1 遺伝子の発現解析)	
【背景・目的】 <p>てんかんは脳における神経細胞の異常活動に由来する発作を特徴とし、治療には薬物療法、外科治療、迷走神経刺激療法などがあるが、その主体は抗てんかん薬 (AEDs) による薬物療法である。てんかん患者の中には喫煙者も多く含まれており、国や地域によってはその喫煙率は一般人口よりも高いことが報告されている。近年、喫煙がてんかん発病およびてんかん発作のリスク因子である可能性が示されている。そのため、タバコの喫煙と AEDs 投与が脳機能に与える影響を明らかにすることは臨床上重要である。</p> <p>薬物代謝酵素であるシトクロム P450 (CYP) は、肝臓や小腸の他、様々な臓器に発現しており、脳においては中枢作用薬やニューロステロイドを含む種々の化合物の代謝に関与している。一般に、CYP は特定の生体外異物に応答し発現誘導を受ける。特に、CYP1 遺伝子はタバコ煙中に含まれる多環芳香族炭化水素 (PAHs) によって誘導されることが知られている。これまでに、喫煙者の脳において CYP1A1 および CYP1B1 の発現量が非喫煙者に比べて高い傾向を示すことが報告されている。このことから、タバコ煙中の PAHs が脳内 CYP1 遺伝子の発現調節に関わっている可能性が考えられる。また、CYP1 分子種はニューロステロイドである 17β-エストラジオールの代謝に関与することから、脳においてはニューロステロイドの機能維持に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。もしタバコ煙成分と薬物の間の相互作用により CYP1 遺伝子の過剰応答がヒト脳で起こるとすれば、ニューロステロイド調節機構が変動し、正常な脳機能形成に影響を及ぼす可能性が考えられる。しかし、PAHs が脳内 CYP1 遺伝子の発現調節に与える影響について詳細な研究は行われていない。特に、脳内 CYP1 遺伝子の発現における PAHs と AEDs の相互作用についての検討は皆無である。</p> <p>本研究では、ヒトアストロサイトーマ由来 MOG-G-CCM 細胞を用いて、CYP の発現プロファイル、ならびに PAHs および AEDs が CYP1 遺伝子の発現に与える影響を明らかにすることを目的とした。</p>	
【方法】 <p>MOG-G-CCM 細胞に主要なタバコ煙成分を含む各種 PAHs (13 化合物)、バルプロ酸 (VPA) を含む各種 AEDs (5 化合物) 等を処理し、CYP1A1 および CYP1B1 を含む各種 CYP 分子種の発現をリアルタイム PCR 法およびウェスタンブロッティング法により解析した。</p>	

【結果】

- 1) MOG-G-CCM 細胞には、種々の CYP 分子種が発現していた。中でも CYP1B1 が最も高度に発現しており、次いで CYP1A1 が高かった。
- 2) CYP1 を誘導する代表的な PAH である 3-メチルコラントレン (3-MC)、タバコ煙中の主要な PAH であるベンズ[a]アントラセン (B[a]A) およびベンゾ[a]ピレン (B[a]P)、AED である VPA は CYP1B1 および CYP1A1 の発現を誘導した。
- 3) 3-MC および VPA による CYP1B1 および CYP1A1 の発現誘導は芳香族炭化水素受容体 (AhR) アンタゴニストである GNF351 によって有意に抑制された。
- 4) VPA は 3-MC、B[a]A および B[a]P による CYP1B1 および CYP1A1 の誘導作用を増強した。カルバマゼピン、ラモトリギン、レベチラセタムおよびフェニトインは 3-MC の誘導作用に影響を与えなかった。
- 5) VPA はヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害作用を有するが、代表的な HDAC 阻害剤であるトリコスタチン A (TSA) は 3-MC による CYP1A1 の誘導作用を増強したが、CYP1B1 の誘導作用には影響を与えなかった。

【考察】

本研究結果より、MOG-G-CCM 細胞における CYP 分子種の発現プロファイルが明らかとなり、CYP1B1 の発現レベルが最も高いことが示された。CYP1B1 は正常脳だけでなく様々な脳腫瘍にも発現していることから、今後これらのモデル細胞としての有用性が期待される。

本研究において、3-MC および VPA が AhR シグナル伝達を介して CYP1B1 および CYP1A1 の発現を誘導することが明らかとなった。これまでに、VPA を含む種々の HDAC 阻害剤による両遺伝子の誘導は他の細胞株においても観察されている。また、HDAC 阻害剤による CYP1A1 誘導はヒストンアセチル化によりプロモーター領域への AhR 結合量が増加したことによって引き起こされることが示されている。このことから、HDAC 阻害も VPA による CYP1B1 および CYP1A1 の発現誘導に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

さらに、VPA は *CYP1B1* および *CYP1A1* 遺伝子の PAH 応答性を増強することが明らかとなった。*CYP1A1* については、TSA も同様の増強作用を示したことから、VPA による PAH 応答性の増強にはヒストンアセチル化が関与していることが示唆された。一方、*CYP1B1* については、TSA による増強作用は認められなかったが、他の細胞株においても同様に TSA による PAH 応答性の増強は観察されていない。対照的に、他の HDAC 阻害剤 (酪酸、パノビノスタット、ポリノスタット) では PAH 応答性の増強が報告されていることから、本研究で示された VPA による *CYP1B1* 遺伝子の PAH 応答性の増強作用もヒストンアセチル化が関与していることを一部説明できるものと考えられる。

【結論】

MOG-G-CCM 細胞における CYP 分子種の発現プロファイルを明らかにした。また、VPA による *CYP1* 遺伝子の誘導および PAH 応答性の増強には AhR やヒストンアセチル化が関与している可能性が示唆された。