

B34

大鼠 CYP3A2 是否會受到性荷爾蒙的調控?

朱炳光、翁冠霖、鄭靜玲*

嘉南藥理大學 藥學系

CYP3A 是最為主要的肝臟代謝酵素族，其中 CYP3A2 為大鼠肝臟最主要的代謝酵素。而在大鼠 CYP 3A2 的表現量上，公鼠比母鼠來的高。過去研究發現，CYP3A2 易被外在環境影響其表現含量，包括賀爾蒙、藥物等等。賀爾蒙方面，Testosterone 會使大鼠 CYP3A2 表現含量上升；藥物方面，Dexamethasone 亦能顯著誘導。此外，本實驗室過去之研究成果指出，與常用的 Midazolam 探針一樣，Mosapride 的清除率能夠反映大鼠 CYP3A2 的活性(杜建龍, 2013)，因此可作為活體的探針試藥。而西方點墨法是一個可以精確定量蛋白質的技術，因 CYP3A2 在肝臟之分佈不均勻，因此需取全肝來測量 CYP3A2 的表現量。我們將以西方點墨法的技術測量 CYP3A2 受到不同調控後的表現量，來驗證大鼠是否會受性荷爾蒙影響。另外，同組老鼠之 CYP3A2 表現量是否符合本實驗室過去之研究成果 Mosapride 清除率所預測之情形。

公鼠肝臟由成大藥學系周辰熹老師實驗室取得(杜建龍, 2013)。公鼠肝臟在執行藥動實驗時已分成三組：控制組(n=3)、事先以 Dexamethasone 進行酵素誘導的誘導組(n=6)、及事先將公鼠去勢的去勢組(n=6)。測量藥動後將老鼠犧牲。取肝加酵素抑制劑後冷凍。我們再將這三組公鼠的肝臟解凍後，組織磨碎，分次離心，得到微粒體。再使用 Lowry Method 測定微粒體中的粗蛋白質含量，以利計算在西方點墨法使用 rabbit anti-rat CYP3A2 抗體進行極專一之抗原抗體反應後之總表現量。標準品濃度由 0.625 至 10 pmol/mL，以吸收度對濃度，畫出標準檢量線，反推後得到肝臟微粒體 CYP3A2 含量並進行比較。

實驗結果得西方點墨法檢量線，其 R 值均大於 0.99。所得各組 CYP3A2 平均含量，由小至大為：去勢組、控制組、誘導組，其中去勢組含量過低，低於檢量線最低測量含量。根據先前的文獻指出，將公鼠去勢後，其 CYP3A2 的性別差異將會消失，即公鼠的 CYP3A2 含量將會降低很多，在給予 Testosterone 後性別差異則會再次出現(Kato & Onoda, 1970; Kramer et al., 1978)。本實驗之結果呼應文獻的報導。另外，同組老鼠以 Mosapride 作為體內活性探針試藥之結果，杜建龍(2013)所做 Mosapride 清除率在各組排列由小至大依序也為：去勢組、控制組、誘導組。

由本次實驗結果可知，西方點墨法標準檢量線呈現線性，變異不大，確認了我們西方點墨法本身的定量品質。而去勢組的 CYP3A2 含量確實如同文獻所顯示含量降低，因此，大鼠 CYP3A2 是會受到性荷爾蒙所調控。由於實驗時未即時了解去勢組的 CYP3A2 含量會如此低，導致我們檢量線範圍太小無法精確定量，因此未來應將西方點墨法之靈敏度提升以達到可定量去勢組與母鼠體內 CYP3A2 的程度。此外，使用西方點墨法來定量 CYP3A2 與體內活性探針 Mosapride 的清除率變化結果一致。證明 Mosapride 清除率確實能反映體內 CYP3A2 活性。

關鍵字：CYP3A2、Western blot、Sexual hormone、Rabbit anti-rat CYP3A2 Antibody