

第10回 北陸銀行若手研究者助成金 研究実績報告書

氏名	所属・職名		助成金額
深見 達基	医薬保健研究域 薬学系・准教授		710,000円
研究課題名	新規薬物代謝酵素アリルアセタミドデアセチラーゼの生理学的役割の解明		
研究の概要	<p>医薬品は治療に有益であるものの、生体にとっては異物であり、それらを無毒化および排泄を促進するために薬物代謝酵素が代謝している。申請者はアリルアセタミドデアセチラーゼ(AADAC)が種々の医薬品を加水分解することを明らかにし、医薬品の薬効および毒性発現を左右する酵素として重要であることを示してきた。本研究ではAADACが医薬品代謝のみならず、生体内物質をも代謝することにより生体の恒常性維持に参与している可能性を明らかにすることを目的とした。この目的を達成するために、Aadacノックアウトマウスを作製し、フェノタイプの観察や生化学検査を行い、生理機能に野生型マウスと差異が認められるかどうか解析する。その結果から考えられる生体内物質が検討つかない場合はメタボローム解析を行う。さらに、AADACの遺伝子欠損の例が欧州の調査により報告されているため、その欠損頻度の人種差について解析を行う。</p>		
研究の成果	<p>AADACの生体内基質を同定するために、CRISPR/Cas9技術によりAadacノックアウトマウス(Aadac KO)を作製した。Aadac発現の欠失は肝臓におけるmRNA、タンパク質およびフェナセチン加水分解酵素活性の評価により確認した。7週齢オスの体重は、Aadac KOと野生型で差はなかった。血漿中の生理学的パラメータを測定したところ、Aadac KOは野生型と比べて有意に低いトリアシルグリセリド値を示した。一方、肝臓中のトリアシルグリセリドは野生型よりもAadac KOで有意に高い値で認められた。トリアシルグリセリドの加水分解および合成に参与する既知の遺伝子の発現量は野生型とAadac KOで差異が認められなかった。よって、Aadacは肝臓においてトリアシルグリセリドの加水分解を触媒し、脂質のホメオスタシスに参与している可能性が示唆された。野生型マウスを絶食させるとAadac発現量が低下し、再摂食させると発現量が元に戻ることも、体内脂質を制御している可能性が示唆された。AADACがアセトキシ基を有する化合物を加水分解することから、<i>N</i>-アセチルシステインの加水分解に着目した。Aadac KOの肝臓では<i>N</i>-アセチルシステインの加水分解酵素活性が野生型と比較して有意に低い値を示したが、血漿および脳内ではその差異は認められなかった。Aadacの基質となり得る生体内物質について、さらにメタボローム解析を行うことで探索を続ける。また、AADAC遺伝子欠損の割合を白人、黒人、韓国人および日本人のゲノムDNAを用いて調べたところ、白人においてのみ0.7%の頻度で認められた。遺伝子欠損のみならず塩基置換によっても酵素活性が劇的に変化する可能性が考えられるため、今後AADACの遺伝子多型についてさらに解析するとともに、AADACの生体内意義についてさらに探求する。</p>		
研究成果発表状況	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tatsuki Fukami. Characterization of major drug-metabolizing hydrolase: AADAC, CES1, and CES2: species differences between human and experimental animals, International Meeting on 22rd MDO and 33rd JSSX, Oct 1-5, 2018, Kanazawa, Japan 2. Tatsuki Fukami. Elucidation of novel functions of non-CYP enzymes to promote understanding of drug toxicity and pharmacokinetics, International Meeting on 22rd MDO and 33rd JSSX, Oct 1-5, 2018, Kanazawa, Japan 		
経費の執行状況	費目	事項 (主な使用事項を記載)	執行額(円) (費目毎総額を記入)
	物品費	実験用試薬(アセチルコエンザイムA三リチウム塩 外)、実験用消耗品(Quick Titer Adenovirus Titer Immunoassay Kit 外)	593,792
	旅費		0
	人件費・謝金		0
	その他	日立液体クロマトグラフ UI パッド交換	116,208