

様式3

愛媛大学沿岸環境科学研究センター
共同利用・共同研究拠点「化学汚染・沿岸環境研究拠点」
共同研究報告書

平成 29 年 2 月 28 日

化学汚染・沿岸環境研究拠点 拠点長 殿

申請者（研究代表者）

所属機関 北海道大学

職 准教授

氏名 池中 良徳

下記の共同研究について、別紙の通り報告します。

1 研究課題

異物代謝第Ⅱ相抱合反応の種差の解明と化学物質蓄積特性

2 研究組織

氏名	所属	職	分担研究課題
代表者 池中良徳	北海道大学大学院 獣医学研究科	准教授	分担研究課題は設定していない。
分担者 石井千尋	北海道大学大学院 獣医学研究科	D3	
武田一貴	北海道大学大学院 獣医学研究科	D1	
豊巻治也	北海道大学大学院 獣医学研究科	D1	
拠点対応教員 野見山桂	愛媛大学	准教授	

3 研究内容 (別紙)

研究課題名：

異物代謝第 II 相抱合反応の種差の解明と化学物質蓄積特製

共同研究者名：

石井千尋¹、武田一貴¹、豊巻治也¹、野見山桂²

¹北海道大学

²愛媛大学

研究の目的

本研究では、第 II 相抱合反応の中で特にヒトの医薬品代謝の 4 割に関与すると報告されているグルクロン酸抱合体に注目し、何故グルクロン酸が脊椎動物の異物代謝に特徴的に用いられるようになったのか、比較生物・系統進化学的解析を行い、その起源を明らかにする事を目的とする。当該研究では、特に第 II 相抱合反応が明らかになっていない食肉目におけるグルクロン酸転移酵素 (UGT) の機能解析を行った。

研究の内容

グルクロン酸転移酵素 (UGT) は主に肝臓で発現し、多くの外因性物質や内因性物質をグルクロン酸抱合反応により代謝することで無毒化し、排泄を促す重要な薬物代謝酵素である。UGT はスーパーファミリーを形成しており 1 ファミリーと 2 ファミリーに大別され、更に 1 A, 2 A, 2 B サブファミリーに分けられる。その中でも肝での異物代謝に 1 A と 2 B サブファミリーが主に関与していると考えられている。UGT1 ファミリーは、主に内因性物質を代謝するビリルビングループ (1A1-1A5) と外因性物質を代謝するフェノールグループ (UGT1A6-1A10) に大別される。ネコ科動物では UGT1A6 の偽遺伝子化により、アセトアミノフェン等の薬物代謝能が低く毒性が強く現れることが知られている。また、近年キタゾウアザラシにおける UGT1A6 の偽遺伝子化が明らかになり、鰭脚類においてグルクロン酸抱合能が低い可能性が示唆された。

一方、2Bサブファミリーは非ステロイド抗炎症薬やオピオイド系化合物等の薬物や性ステロイドの代謝に重要であり、更にはPCBなどの環境化学物質の代謝にも関与することが示唆されている。UGT 2Bに関する動物種差の研究報告は乏しく、特にネコ科動物や野生動物のデータはほぼ存在しない。

そこで、本研究では、食肉目に属するネコ、イヌ及び鰐脚類3種(トド、キタオットセイ及びカスピカイアザラシ)の肝ミクロソームを用いたUGT活性測定、食肉目を中心とした哺乳類におけるUGT1およびUGT2Bファミリーに注目し、その動物種差を解明した。

研究成果

先ず、UGT1ファミリーについて解析した結果、鰐脚類3種は外因性物質であるアセトアミノフェン及び1-ヒドロキシピレンに対するUGT活性がネコと同程度に低く、トドおよびキタオットセイではUGT1A6の偽遺伝子化が明らかになった(Fig.1)。またUGT1ファミリーの系統解析及びシニテニー解析の結果、哺乳類のUGT1ファミリーは内因性物質代謝を担うUGT1A1相同遺伝子及び外因性物質代謝を担うUGT1A6相同遺伝子がそれぞれ遺伝子重複した後、動物種ごとに独自に遺伝子重複/欠損が起き、UGT1A2-1A5及びUGT1A7-1A10遺伝子が形成されたと示唆された(Fig.2)。ネコ科や鰐脚類は肉食中心の食性により植物由来の毒物曝露が少量だったため、UGT1A6-1A10の必要性が低く、遺伝子重複が頻繁に起こらず、UGT1A6の偽遺伝子化も起きたと考えられた。

一方、2B分子種では、イヌでは複数のUGT 2B分子種が存在し肝臓において高い活性を持つことが示唆された。一方でネコではUGT 2B活性が低く、分子種は数が少ないもしくは偽遺伝子化している可能性が示唆された。さらには鰐脚類でもUGT2分子種数が少なく、特にアザラシ科に属するゼニガタアザラシやカスピカイアザラシでは顕著な低活性が確認された。この結果はUGT1A6の偽遺伝子化と合わせ、ネコ及び一部の鰐脚類のUGT活性が全般的に低いことを示している。このことは、アセトアミノフェン同様にネコ科動物や鰐脚類で薬物高感受性による危険

性が示唆された。現代では、UGTにより代謝される多数の薬物や化学物質が合成され環境中に放出されており、これらの種では生体外異物に対するグルクロン酸抱合能が低いため、毒性影響が強くと現れることが懸念された。

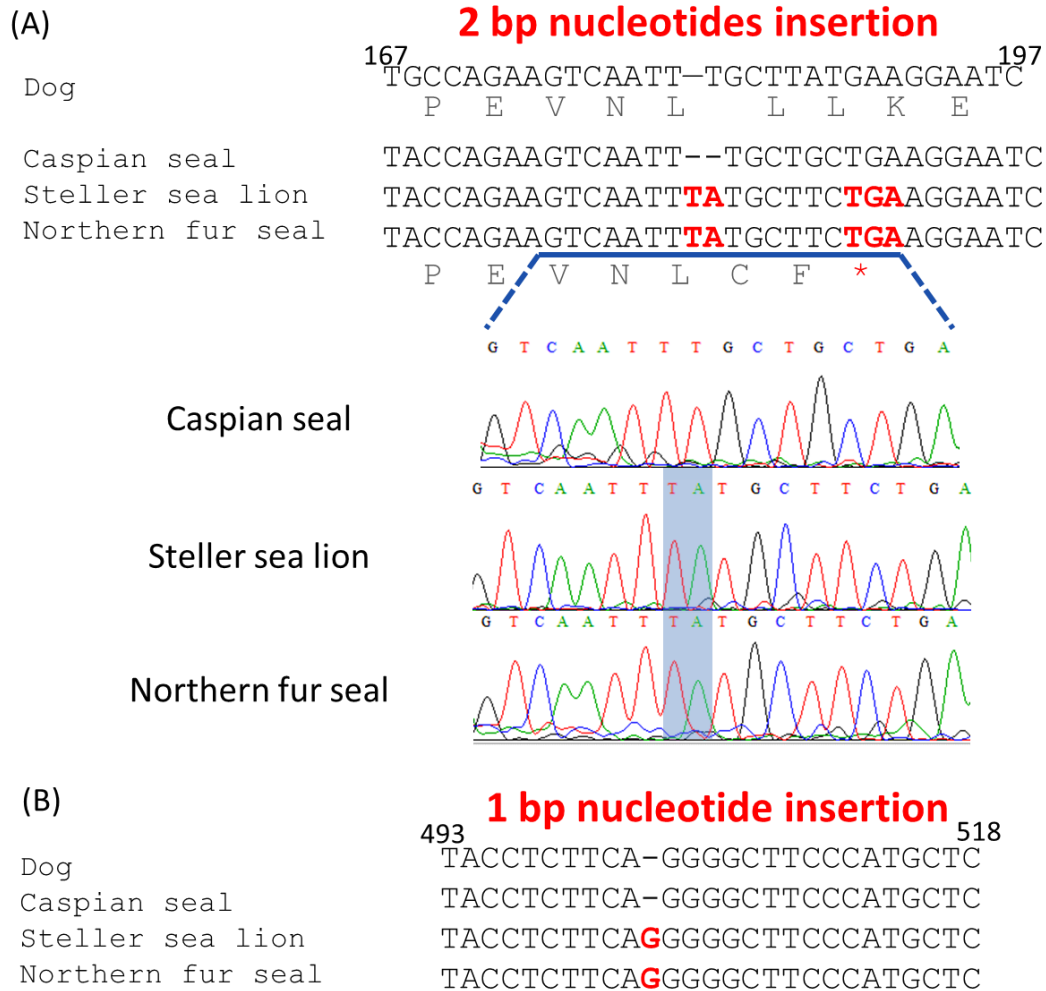


Fig. 1: トドおよびキタオットセイで明らかになった UGT1A の 2 塩基挿入による偽遺伝子化。

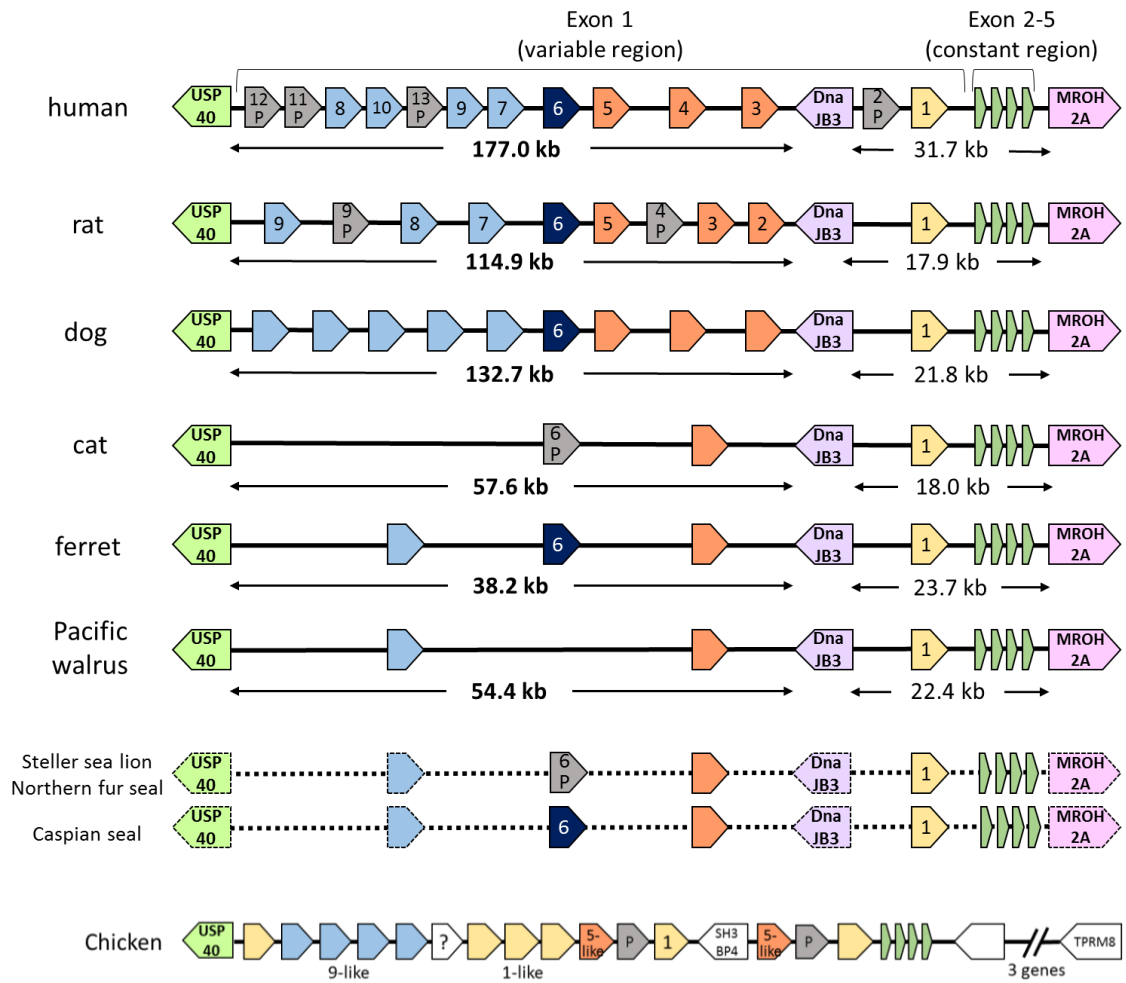


Fig. 2: UGT1A のシテニー解析。すべての UGT1A は USP40 と MROH2A 遺伝子の間に保存されている事が明らかになった。また、肉食性の強い動物の USP40-DNAJB3 遺伝子間距離は、他の動物に比べ短い傾向がある事が明らかになった。

今後の課題

当該研究では、主に食肉目に注目し、UGTの解析を行った。比較生物学・進化生物学的に考慮すると、グルクロン酸抱合はユニークな抱合体である。

第II相反応は、グルクロン酸・硫酸・グルタチオン・アセチル・メチル・アミノ酸抱合化等、多様であることが報告されている。多種ある抱合反応の中で、グルクロン酸抱合は、ヒトの医薬品代謝の40%以上に参与すると報告されているが、抱合反応を比較生物学的にメタ解析すると、グルクロン酸抱合を行うのは主に脊椎動物であり、他の無脊椎動物や植物では行われぬ。何故、脊椎動物がグルクロン酸を特異的に異物代謝に用いるようになったのか、その進化的背景やグルクロン酸抱合としての機能・役割は未だ明らかになっていない。

系統的にどの生物種からグルクロン酸抱合をその代謝反応に用いているのかを把握するとともに、抱合体がシグナルとなる細胞内デリバリーシステムが如何にして構築されてきたのか、その進化的背景を明らかにする事は今後の課題である。また、異物代謝系の成り立ちを、実験動物やヒトのみでなく、比較生物学的・系統進化的に明らかにし、生命科学としての一般化を図りたい。

成果発表リスト

Saengtienchai A, Ikenaka Y, Bortey-Sam N, Jermnark U, Mizukawa H, Kawai YK, Nakayama SMM, Ishizuka M. The African hedgehog (*Atelerix albiventris*): low phase I and phase II metabolism activities. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol*. 190: 38-47 (2016)

Mizukawa H, Nomiya K, Nakatsu S, Iwata H, Yoo J, Kubota A, Yamamoto M, Ishizuka M, Ikenaka Y, Nakayama S, Kunisue T, Tanabe S. Organohalogen compounds in pet dog and cat: Do pets biotransform natural brominated products in food to harmful hydroxylated substances? *Environ. Sci. Technol*. 50(1):444-52 (2016)

Takehi M, Ikenaka Y, Nakayama SMM, Kawai YK, Watanabe KP, Mizukawa H, Nomiyama K, Tanabe S, Ishizuka M. Uridine diphosphate-glucuronosyltransferase (UGT) xenobiotic metabolizing activity and genetic evolution in Pinniped species. *Tox Sci.* kfv144. (2015)

アクソルン サエンティエンチャイ、池中 良徳、ネスタ サム、ウスマ ジャムナーク、水川 葉月、中山 翔太、石塚 真由美、ハリネズミは化学物質高感受性種？ African hedgehog (*Atalerix albiventris*)で観察された低薬物代謝能、第 43 回日本毒性学会学術年会、2016 年 6 月 29 日～7 月 1 日、ウインクあいち、愛知 (ポスター発表)

近藤誉充、池中良徳、中山翔太、水川葉月、Aksorn Saengtienchai、Yared Beyene、坂本健太郎、和田昭彦、服部薫、三谷曜子、田辺信介、野見山桂、石塚真由美、野生動物及び実験動物におけるグルクロン酸抱合酵素の動物種差解明、第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年 9 月 6 日～8 日、日本大学生物資源科学部、藤沢市、神奈川県 (口頭発表)

近藤誉充、池中良徳、中山翔太、水川葉月、Aksorn Saengtienchai、Yared Beyene、坂本健太郎、和田昭彦、服部薫、三谷曜子、田辺信介、野見山桂、石塚真由美、UGT2B サブファミリーに着目した食肉目におけるグルクロン酸抱合能の動物種差解明、平成 28 年度内外環境応答・代謝酵素研究会、2016 年 9 月 17 日～18 日、静岡県立大学薬学部、静岡市、静岡県 (口頭発表)