

れる膜タンパク質とリサイクルされる膜タンパク質との選別と協調して行われることが必要である。LRRK1はEGFRを含む早期エンドソームの核方向への輸送と、ESCRT複合体によるEGFRのリソソーム分解経路選別の両方に機能することから、これらの二つのイベントを協調させるキーファクターとして機能していることが期待される。さらに、LRRK1はキナーゼ活性依存的にEGFRの細胞内トラフィックを制御している。この制御に参与するLRRK1キナーゼの基質の同定と、EGFRの細胞内トラフィックにおけるLRRK1キナーゼ活性の制御機構の解明が、今後の重要な研究課題である。

- 1) Paisan-Ruiz, C., *et al.* (2004) *Neuron*, 44, 595–600.
- 2) Zimprich, A., *et al.* (2004) *Neuron*, 44, 601–607.
- 3) Hanafusa, H., Ishikawa, K., Kedashiro, S., Saigo, T., Iemura, S., Natsume, T., Komada, M., Shibuya, H., Nara, A., & Matsumoto, K. (2011) *Nature Commun.*, 2, 158.
- 4) Raiborg, C. & Stenmark, H. (2009) *Nature*, 458, 445–452.
- 5) Woodman, P.G. & Futter, C.E. (2008) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 20, 408–414.
- 6) Driskell, O.J., Mironov, A., Allan, V.J., & Woodman, P.G. (2007) *Nature Cell Biol.*, 9, 113–120.
- 7) Raiborg, C., Wesche, J., Malerod, L., & Stenmark, H. (2006) *J. Cell Sci.*, 119, 2414–2424.
- 8) Hoeller, D., Crosetto, N., Blagoev, B., Raiborg, C., Tikkanen, R., Wagner, S., Kowanetz, K., Breitling, R., Mann, M., Stenmark, H., & Dikic, I. (2006) *Nat. Cell Biol.*, 8, 163–169.
- 9) Miaczynska, M., Pelkmans, L., & Zerial, M. (2004) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 16, 400–406.
- 10) von Zastrow, M. & Sorokin, A. (2007) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 19, 436–445.
- 11) Pines, G., Kostler, W.J., & Yarden, Y. (2010) *FEBS Lett.*, 584, 2699–2706.

花房 洋, 松本 邦弘

(名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻)

Regulation of intracellular trafficking of the EGF receptor by ROCO family kinase LRRK1

Hiroshi Hanafusa and Kunihiko Matsumoto (Department of Molecular Biology, Graduate School of Science, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-8602, Japan)

尿酸排出トランスポーター ABCG2/BCRP と痛風発症リスク

1. はじめに

ATP-binding cassette transporter G2 (ABCG2)/breast cancer resistance protein (BCRP) は, multidrug resistance gene 1 (MDR1/ABCB1)・multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1/ABCC1) 非依存的に抗がん剤耐性を示したヒト乳がん細胞から発見されたトランスポーターであり¹⁾, さまざまな組織の頂端膜において細胞内から細胞外への基質化合物の排出を担っている。発見の経緯もあり, 当初は抗がん剤耐性に関する研究が中心であったが, ABCG2が広範な組織分布と広い基質認識性を有することが次第に明らかとなり, 現在では多様な視点から研究が進められている²⁾. 本稿においては, ABCG2の生理的役割, 遺伝子多型に伴う薬物動態変動に加え, 最近見出されたABCG2による尿酸輸送および痛風発症リスクとの関連性について紹介する³⁾.

2. ABCG2の生理的役割

ABCG2はATP結合部位を一つしか持たないハーフトランスポーターであり, 分子間ジスルフィド結合により形成されるホモ二量体として機能している。肝臓, 腎臓, 小腸, 脳など多くの組織に発現しており, 基質化合物の胆汁中・尿中への排泄促進, 消化管吸収の抑制, 血液脳関門・胎盤・精巣におけるバリア機能などを担っていることが示されている。

輸送基質についても数多くの研究がなされており, ゲフィチニブなどの抗がん剤, ロスバスタチンなどのHMG-CoA還元酵素阻害薬, シプロフロキサシンなどのニューキノロン系抗菌薬をはじめとする薬物に加え, ステロイドホルモン・薬物の硫酸抱合体や植物エストロゲン, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP) に代表されるがん原性物質, 尿酸 (詳細は後述)^{3,4)}などを輸送することが報告されている。

PhIPなどのABCG2基質化合物は母乳中/血漿中濃度比が大きく, Abcg2ノックアウトマウスでその比が大幅に低下することは, 化合物の乳汁分泌におけるAbcg2の関与を示していると考えられる⁵⁾. マウスと同様, ヒトにおいても授乳期には乳腺におけるABCG2発現量が上昇するこ

とがわかっており⁵⁾, ABCG2 基質化合物は母乳中/血漿中濃度比が大きい傾向が見られることから, ヒトでも母親から乳児への積極的な ABCG2 基質の移行が生じている可能性は高い. 本来はリボフラビン (ビタミン B2) などの栄養物質の運搬のための経路だと思われるが⁶⁾, 乳児の有害物質への曝露リスクを高めてしまうことになる.

また, Abcg2 ノックアウトマウスはクロロフィル分解産物の体内蓄積に起因する光線過敏症様症状を呈することが示されているが⁷⁾, ヒト ABCG2 と光線過敏症との関連性については未だ不明の点が多い.

3. ABCG2 の遺伝子多型に伴う薬物動態変動

ABCG2 遺伝子多型の日本人におけるアレル頻度は高く, 発現量および機能変化を伴わない 34G>A (V12M) は 19.2%, タンパク質発現量が約半分に低下する 421C>A (Q141K) は 31.9%, 終止コドンが生じ機能欠損となる 376C>T (Q126X) は 2.8% であると報告されている⁸⁾.

これらの遺伝子多型のうち, 機能低下を伴い頻度も高い 421C>A (Q141K) については臨床的によく研究されており, 薬物動態の変動としてはスルファサラジンの消化管吸収の上昇⁹⁾, ロスバスタチンやフルバスタチンの経口投与時の血中濃度の上昇などが報告されている. また, ゲフィチニブ投与に伴う下痢発症リスクの上昇や, ロスバスタチン服用時の LDL コレステロール低下作用の有意な亢進¹⁰⁾ (421C を二つ持つヒトでは -50.2%, 421A を二つ持つヒトでは -57.0% であり, この違いは一般にスタチン系薬物の服用量を倍量にした際の LDL コレステロールの低下

率, 6% と比較しても大きい) などの薬理作用や毒性に関する知見も増え始めている. このように, ABCG2 の薬物動態制御因子としての重要性は認識されていたものの, ヒト生体内での生理的基質や生理機能については不明であった.

4. 尿酸排出トランスポーター ABCG2 と痛風発症リスク

ABCG2 の持つ意外な側面は, 近年の充実が目覚ましいゲノム情報をヒントに見出され, 高尿酸血症に引き続いて起こる生活習慣病である痛風の主要な病因遺伝子であることが示された³⁾.

台湾の研究グループにより, ヒト第 4 染色体長腕に未知の痛風病因遺伝子が存在する可能性が報告されていた¹¹⁾ が, 候補領域には多くの遺伝子が含まれており, 具体的な病因遺伝子は同定されていなかった. そこで, ABCG2 遺伝子がこの領域に存在すること, ABCG2 には機能変動を伴う頻度の高い遺伝子多型が存在すること, 既存の輸送基質との比較から尿酸が ABCG2 基質になりうると考えられたことなどの理由により, ABCG2 に着目し, 検討が進められた (ちなみに, 最近のゲノムワイド関連解析 (Genome-wide association study, GWAS) においても, 血清尿酸値の変動に関連する遺伝子として ABCG2 は多数報告されている^{12~14)}).

ABCG2 発現細胞から調製した細胞膜小胞を用いて輸送実験を行った結果, ABCG2 は生理的濃度では飽和しない高容量性・低親和性の尿酸輸送を担うことが明らかとなった (図 1) (尿酸の溶解度の比較的高い高 pH 下での実験で

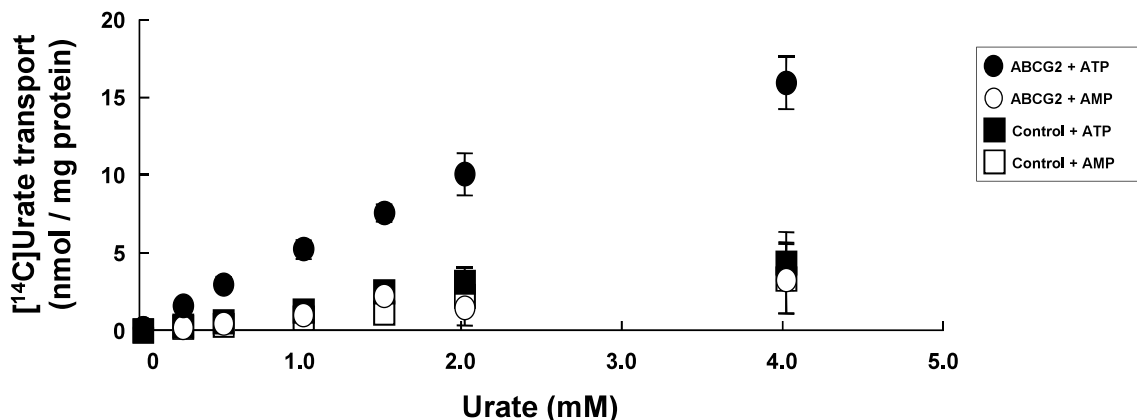


図 1 ABCG2 による ATP 依存性尿酸輸送
文献 3) より引用改変

ABCG2 を発現させた HEK293 細胞から調製した細胞膜小胞を用いて, ATP 存在下または非存在下における尿酸輸送実験を行った.

表1 ABCG2 機能低下に伴う痛風発症リスクの上昇

ABCG2 輸送活性	遺伝子型		被験者数		P 値	OR*	95% CI*
	Q126X	Q141K	痛風	健常者			
機能 1/4 以下	<u>T/T</u>	<u>C/C</u>	16	8	3.39×10^{-21}	25.8	10.3-64.6
	<u>T/C</u>	<u>A/C</u>					
機能 1/2	<u>T/C</u>	<u>C/C</u>	37	110	2.23×10^{-9}	4.34	2.61-7.24
	<u>C/C</u>	<u>A/A</u>					
機能 3/4	C/C	<u>A/C</u>	72	308	2.29×10^{-7}	3.02	1.96-4.65
機能正常	C/C	C/C	34	439		1.00	

*OR=odds ratio (オッズ比), 95% CI=95% confidence interval (信頼区間)

下線はリスク変異を示す

文献3)より引用改変

ABCG2の遺伝子型の組み合わせに基づいて予測される ABCG2 機能低下の程度と痛風発症についての関連解析の結果を示す。機能低下の程度は、Q141K で機能半分、Q126X で機能消失として計算した。オッズ比は ABCG2 の機能低下のない遺伝子型 (Q141K, Q126X がともに野生型) の組み合わせの場合との比較により計算した。

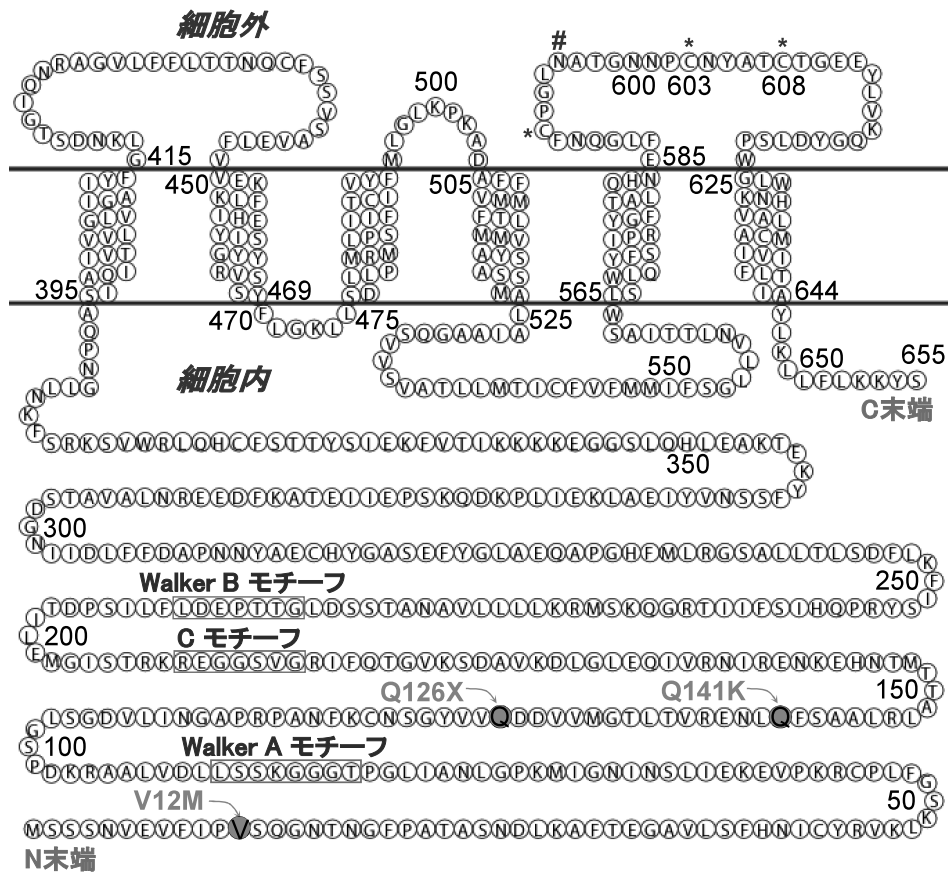
強引に求められた Km 値は 8.24 ± 1.44 mM であり、血清尿酸値 (例えば 7.0 mg/dL = 約 420 μ M) と比べてはるかに高い³⁾。また、ABCG2 の変異体を用いた解析の結果、他の輸送基質と同様、尿酸輸送においても $421C > A$ (Q141K) で機能の半減、 $376C > T$ (Q126X) では機能の消失が見られた (図2)。

次に、日本人の健康診断受診者のサンプルを用いて、血清尿酸値と ABCG2 遺伝子多型の関連性について量的形質座位 (quantitative trait locus, QTL) 解析を実施した結果、Q141K 変異の保持数が多いほど、血清尿酸値が上昇していた³⁾。また、ハプロタイプ頻度解析により、Q126X と Q141K の両変異は同じ染色体上には存在しないことが示された。そこで、両変異の頻度を日本人男性の痛風症例と健常者を対象に解析した結果、Q126X と Q141K の組み合わせから推定される尿酸輸送活性 (例えば、Q126X と Q141K を一つずつ持つヒトの機能は 1/4 と推定される) の低下に伴い、オッズ比で示される痛風発症リスクが最大で 25.8 倍も高まることが明らかとなった (表1)³⁾。また、ABCG2 の機能低下は日本人の痛風症例の約 8 割にみられ、ABCG2 機能が正常なヒトと比べて 3 倍以上にリスクを高めることがわかった。これらの結果は、ABCG2 が生理的に尿酸の体外への排泄に関与していること、その機能低下が血清尿酸値および痛風発症リスクの上昇をもたらすこと、さらには ABCG2 が痛風の主要な病因遺伝子であることを示すものであった。

5. おわりに

上述したものの以外にも、ABCG2 は side population に高発現している¹⁵⁾ (side population は各種組織に存在し幹細胞活性と相関が高いことが知られている細胞群であり、side population の分離は DNA 結合色素 Hoechst 33342 の ABCG2 による排出能を指標に行われている) など、実に多様な面を持つ分子である。一方で、未解明の研究課題も数多く残されており、side population における ABCG2 の生理的役割や、ABCG2 による尿酸動態制御のメカニズムなどは、今後の重要なテーマであろう。薬物動態制御因子・疾患リスク関連因子のどちらとしても ABCG2 の遺伝子多型情報は有用であり、来たる個別化医療においても、適切な薬物療法や予防医学に貢献するものと考えられる。

- 1) Doyle, L.A., Yang, W., Abruzzo, L.V., Krogmann, T., Gao, Y., Rishi, A.K., & Ross, D.D. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 95, 15665-15670.
- 2) 高田龍平, 鈴木洋史 (2009) 薬物トランスポーター活用ライブラリー (羊土社). 第2章-3: BCRP, 153-155.
- 3) Matsuo, H., Takada, T., Ichida, K., Nakamura, T., Nakayama, A., Ikebuchi, Y., Ito, K., Kusanagi, Y., Chiba, T., Tadokoro, S., Takada, Y., Oikawa, Y., Inoue, H., Suzuki, K., Okada, R., Nishiyama, J., Domoto, H., Watanabe, S., Fujita, M., Morimoto, Y., Naito, M., Nishio, K., Hishida, A., Wakai, K., Asai, Y., Niwa, K., Kamakura, K., Nonoyama, S., Sakurai, Y., Hosoya, T., Kanai, Y., Suzuki, H., Hamajima, N., & Shinomiya, N. (2009) *Sci. Transl. Med.*, 1, 5ra11.
- 4) Woodward, O.M., Kottgen, A., Coresh, J., Boerwinkle, E.,

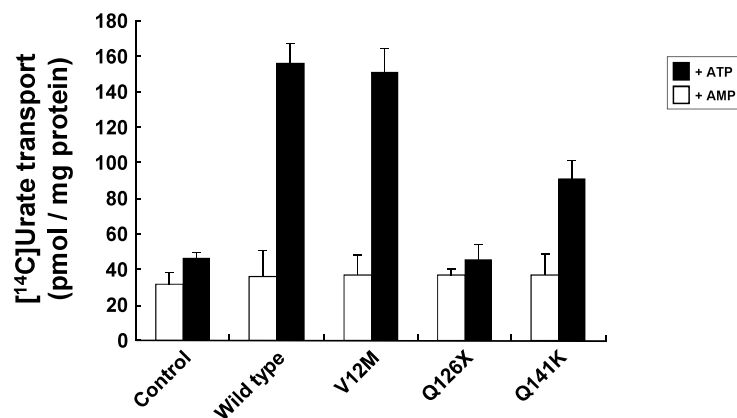


#: N型糖鎖結合部位 (N596)

*: ジスルフィド結合部位 (C592, C603 and C608)

A) ABCG2 のトポロジーモデル

V12M, Q126X, Q141K は日本人に高頻度に見られるアミノ酸置換を伴う三つの遺伝子多型を示す。



B) ABCG2 変異体による尿酸輸送

野生型 ABCG2 または三つの変異体を発現させた HEK293 細胞から調製した細胞膜小胞を用いて、ATP 存在下または非存在下における尿酸輸送実験を行った。

図 2 ABCG2 の遺伝子多型と尿酸輸送活性の低下
文献 3) より引用改変

- Guggino, W.B., & Kottgen, M. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **106**, 10338–10342.
- 5) Jonker, J.W., Merino, G., Musters, S., van Herwaarden, A.E., Bolscher, E., Wagenaar, E., Mesman, E., Dale, T.C., & Schinkel, A.H. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 127–129.
- 6) van Herwaarden, A.E., Wagenaar, E., Merino, G., Jonker, J.W., Rosing, H., Beijnen, J.H., & Schinkel, A.H. (2007) *Mol. Cell. Biol.*, **27**, 1247–1253.
- 7) Jonker, J.W., Buitelaar, M., Wagenaar, E., Van Der Valk, M. A., Scheffer, G.L., Scheper, R.J., Plosch, T., Kuipers, F., Elferink, R.P., Rosing, H., Beijnen, J.H., & Schinkel, A.H. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **99**, 15649–15654.
- 8) Maekawa, K., Itoda, M., Sai, K., Saito, Y., Kaniwa, N., Shirao, K., Hamaguchi, T., Kunitoh, H., Yamamoto, N., Tamura, T., Minami, H., Kubota, K., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Kamatani, N., Ozawa, S., & Sawada, J. (2006) *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **21**, 109–121.
- 9) Yamasaki, Y., Ieiri, I., Kusuhara, H., Sasaki, T., Kimura, M., Tabuchi, H., Ando, Y., Irie, S., Ware, J., Nakai, Y., Higuchi, S., & Sugiyama, Y. (2008) *Clin. Pharmacol. Ther.*, **84**, 95–103.
- 10) Tomlinson, B., Hu, M., Lee, V.W., Lui, S.S., Chu, T.T., Poon, E.W., Ko, G.T., Baum, L., Tam, L.S., & Li, E.K. (2010) *Clin. Pharmacol. Ther.*, **87**, 558–562.
- 11) Cheng, L.S., Chiang, S.L., Tu, H.P., Chang, S.J., Wang, T.N., Ko, A.M., Chakraborty, R., & Ko, Y.C. (2004) *Am. J. Hum. Genet.*, **75**, 498–503.
- 12) Dehghan, A., Kottgen, A., Yang, Q., Hwang, S.J., Kao, W.L., Rivadeneira, F., Boerwinkle, E., Levy, D., Hofman, A., Astor, B.C., Benjamin, E.J., van Duijn, C.M., Witteman, J.C., Coresh, J., & Fox, C.S. (2008) *Lancet*, **372**, 1953–1961.
- 13) Kolz, M., Johnson, T., Sanna, S., Teumer, A., Vitart, V., Perola, M., Mangino, M., Albrecht, E., Wallace, C., Farrall, M., Johansson, A., Nyholt, D.R., Aulchenko, Y., Beckmann, J. S., Bergmann, S., Bochud, M., Brown, M., Campbell, H., Connel, J., Dominiczak, A., Homuth, G., Lamina, C., McCarthy, M.I., Meitinger, T., Mooser, V., Munroe, P., Nauck, M., Peden, J., Prokisch, H., Salo, P., Salomaa, V., Samani, N.J., Schlessinger, D., Uda, M., Volker, U., Waeber, G., Waterworth, D., Wang-Sattler, R., Wright, A.F., Adamski, J., Whitfield, J.B., Gyllenstein, U., Wilson, J.F., Rudan, I., Pramstaller, P., Watkins, H., Doering, A., Wichmann, H.E., Spector, T.D., Peltonen, L., Volzke, H., Nagaraja, R., Vollenweider, P., Caulfield, M., Illig, T., & Gieger, C. (2009) *PLoS Genet.*, **5**, e1000504.
- 14) Kamatani, Y., Matsuda, K., Okada, Y., Kubo, M., Hosono, N., Daigo, Y., Nakamura, Y., & Kamatani, N. (2010) *Nat. Genet.*, **42**, 210–215.
- 15) Zhou, S., Schuetz, J.D., Bunting, K.D., Colapietro, A.M., Sam-path, J., Morris, J.J., Lagutina, I., Grosveld, G.C., Osawa, M., Nakauchi, H., & Sorrentino, B.P. (2001) *Nat. Med.*, **7**, 1028–1034.

高田 龍平¹⁾, 松尾 洋孝²⁾

¹⁾東京大学医学部附属病院薬剤部,

²⁾防衛医科大学校分子生体制御学講座)

A urate exporter gene *ABCG2/BCRP* and gout risk
Tappei Takada¹⁾ and Hirotaka Matsuo²⁾ (¹⁾Department of
Pharmacy, The University of Tokyo Hospital, 7-3-1 Hongo,
Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan, ²⁾Department of Inte-
grative Physiology and Bio-Nano Medicine, National De-
fense Medical College)