

ABC トランスポーターを介した薬剤輸送と脂質輸送

京都大学大学院農学研究科 応用生命科学専攻 細胞生化学研究室

植田和光

はじめに

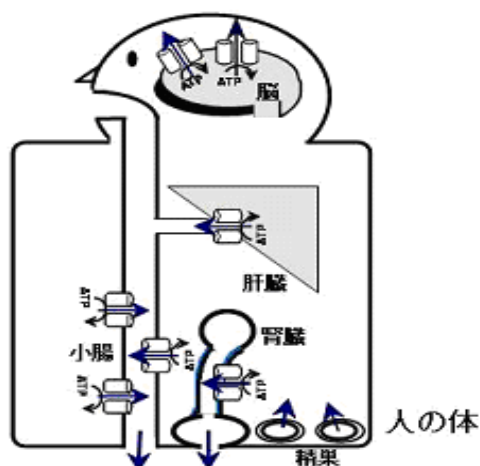
薬剤トランスポーターは、薬物の体内動態（吸収、分布、代謝、排泄、ターゲット部位での薬物実効濃度）を規定し、ひいては薬物の全体的な薬理効果や副作用をも左右する。それ故、それぞれの薬物トランスポーターの生理的役割を明らかにする研究は重要な意味を持つと思われる。本セミナーでは、ABC 蛋白質の薬物トランスポーターとしての機能とともに、最近明らかになりつつある脂質トランスポーターとしての ABC 蛋白質を紹介する。

1. ABC蛋白質とは

ABC(ATP-Binding Cassette)タンパク質は、200アミノ酸に渡って配列がよく保存されたATP結合ドメインを1機能分子あたり2つもつ膜タンパク質ファミリーであり、バクテリアからヒトまで生物界に幅広く存在する。それぞれの生物で重要な生理機能を果たしている。ヒトの染色体には49のABCタンパク質遺伝子がコードされており、それらの異常によってさまざまな疾病が引き起こされることから、ABCタンパク質が生理的に重要であることがわかる。また、バクテリアからヒトまであらゆる生物において、それぞれ数十から100以上のABCタンパク質が働いている。遺伝子ファミリーとしても最も大きなもののひとつであり、生物界全体にとって重要な役割を果たしている。

2. ABC蛋白質と薬物動態

MDR1、MRPやABCG2などの薬剤トランスポーターは様々な薬剤の体内動態を決定する重要な因子であるが、その中でもMDR1は分子量が300から2000までのさまざまな構造の脂溶性化合物を基質として輸送し、小腸からの吸収を抑制するため、多くの薬剤の体内動態に影響する。MDR1の輸送基質結合部位はリン脂質2重膜中にあると考えられており、MDR1の基質輸送は周囲の脂質環境に強く影響されると予想されるが、詳細な検討はこれまでなされていない。我々はMDR1の基質結合メカニズムを解明することを目指して、昆虫細胞発現系によって得られた精製ヒトMDR1をコレステロールを含むリポソームに再構成し、さまざまな薬剤によって誘導されるATP加水分解活性を測定した。その結果、コレステロールはMDR1と相互作用し、輸送基質とMDR1の結合を調節することによって、MDR1の幅広い基質認識に関与していることが示唆された。我々の開発したアッセイ系は様々な化合物のMDR1との相互作用を定量化する上で優れており、MDR1の阻害剤やMDR1によって排出されない化合物（たとえば脳内移行性の優れた薬物）のスクリーニングなどに有効と思われる。

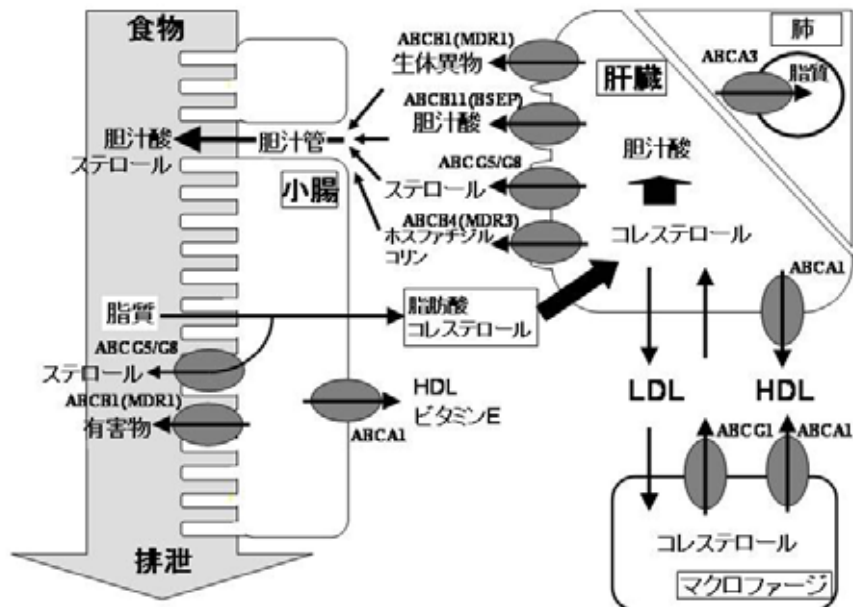


3. ABC蛋白質と脂質恒常性

動物はコレステロール、脂肪酸などの脂質を体内で合成するだけでなく、毎日の食事によって外界から摂取している。吸収された脂質は代謝の場である肝臓へ輸送され、さらに肝臓からそれぞれの組織へ輸送される。また、組織から肝臓への逆輸送、小腸における吸収と排泄、胆汁中への排泄などが統合されたネットワークによって恒常性が保たれている。細胞レベルにおいても脂質は細胞膜の外層-内層間、オルガネラ間でダイナミックに輸送され、さまざまな機能を果たしている。それ故、多くの膜蛋白質が脂質の組織間、細胞内の輸送に関与していると考えられるが、いまだ脂質トランスポーターに関する知見は限られている。

ABC蛋白質のひとつであるABCA1は高密度リポ蛋白質(HDL)の形成に必須であり、その異常はタンジール病を引き起こす。このことは、リン脂質やコレステロールなどの脂質の膜を介した輸送は、濃度勾配に従った自由拡散ではなくATPに依存したトランスポーターが関与していることを示している。ABCA1はapoA Ⅰにコレステロールとリン脂質を受け渡しHDLを新生する。ABCA1の変異は動脈硬化症の重要な危険因子であることが疫学的にわかっており、ABCA1の発現や活性の増強は脂質恒常性の改善の重要なターゲットである。しかし、ABCA1がapoA Ⅰと相互作用した後、どのようなメカニズムでコレステロールとリン脂質をapoA Ⅰに受け渡しHDLを形成しているのか。ABCA1は半減期1～2時間で速やかに分解されるが、どのような翻訳後修飾を受けるのかなど、多くの疑問が残されている。

また、ABCA1によって形成されるのはコレステロール含量の少ないpre β -HDLであり、さらにそこにABCG1によってコレステロールが渡されることによって成熟型HDLが形成されることが示唆されている。ABCG1はシトステロール排出に関わるABCG5、ABCG8と同様にハーフサイズのABC蛋白質であり、ABCG5/ABCG8がヘテロ2量体として機能するのに対して、ABCG1はホモ2量体として機能する。さらに、ABCG1がABCA1とは異なって、apoA-Ⅰに非依存的にリン脂質とコレステロールを輸送することを我々は見いだした。脂質ホメオスタシスにおけるABC蛋白質の役割を紹介し、創薬ターゲットとしての重要性を議論したい。



参考文献

1. Ban, N., *et al.* Cloning of ABCA17, a novel, rodent sperm-specific ATP-binding cassette (ABC) transporter that regulates intracellular lipid metabolism. **Biochem J** 389, 577-585(2005)
2. Hayashi, M., *et al.* Heterogeneity of High Density Lipoprotein Generated by ABCA1 and ABCA7. **J Lipid Res** 46, 1703-1711 (2005)
3. 小林 綾 他 創薬ターゲットとしてのABCタンパク質 日薬理誌 125, 185-193 (2005)
4. Munehira, Y., *et al.* α 1-syntrophin modulates turnover of ABCA1. **J Biol Chem** 279, 15091-15095 (2004)
5. Kimura, Y., *et al.* Microanalysis for MDR1 ATPase by high-performance liquid chromatography with a titanium dioxide column. **Anal. Biochem** 326, 262-266 (2004) .
6. Abe-Dohmae, S., *et al.* Human ABCA7 supports apolipoprotein-mediated release of cellular cholesterol and phospholipid to generate HDL. **J Biol Chem** 279(1), 604-11 (2004)
7. 植田和光 脂質ホメオスタシスにかかわるABCタンパク質 生化学 76, 525-531, 2004
8. Tanaka, A. R., *et al.* Effects of mutations of ABCA1 in the first extracellular domain on subcellular trafficking and ATP binding/hydrolysis. **J Biol Chem** 278, 8815-8819 (2003)
9. Shitan, N., *et al.* Involvement of CjMDR1, a plant MDR-type ABC protein, in alkaloid transport in *Coptis japonica*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 100: 751-756 (2003)
10. Tanaka, A. R., *et al.* ATP binding/hydrolysis by and phosphorylation of peroxisomal ABC proteins PMP70 (ABCD3) and ALDP (ABCD1). **J. Biol. Chem.**, 277: 40142-40147 (2002)
11. Matsuo, M., *et al.* Mutations in the linker domain of NBD2 of SUR inhibit transduction but not nucleotide binding. **EMBO J**, 21: 4250-4258 (2002)
12. Ueda, K., *et al.* Cooperative binding of ATP and MgADP in the sulfonylurea receptor is modulated by glibenclamide. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 96: 1268-1272 (1999)
13. Ueda, K., *et al.* Expression of a full-length cDNA for the human "MDR1" gene confers resistance to colchicine, doxorubicin, and vinblastine. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 84: 3004-3008 (1987)

< 略歴 >

氏名 植 田 和 光 (うえだ かずみつ)
生年月日 昭和29年2月15日(52歳)
学歴 昭和53年3月 京都大学農学部農芸化学科卒業
昭和57年4月 京都大学農学研究科農芸化学専攻博士課程中退
学位 昭和59年3月 京都大学農学博士
職歴 昭和57年4月 京都大学農学部農芸化学科助手
昭和60年7月 米国国立癌研究所へ留学 (昭和62年7月まで)
平成9年4月 京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻助手
平成11年6月 同助教授
平成15年4月 同教授 現在に至る
受賞 平成4年3月 日本農芸化学会奨励賞
学会関係 日本農芸化学会理事、日本癌学会評議員、日本生化学会評議員
編書 ABC蛋白質 学会出版センター (2005)