

ヒト皮膚組織に発現する薬物トランスポーターの定量とその個人差要因の解析

武知, 大貴

<https://hdl.handle.net/2324/1931844>

出版情報：九州大学, 2017, 博士（創薬科学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名	武知 大貴		
論 文 名	ヒト皮膚組織に発現する薬物トランスポーターの定量とその個人差要因の解析		
論文調査委員	主査	九州大学・薬学研究院・薬物動態学分野	教授 家入 一郎
	副査	九州大学病院・薬剤部	教授 増田 智先
	副査	九州大学・薬学研究院・グローバルヘルスケア分野	准教授 松永 直哉
	副査	九州大学・薬学研究院・薬物動態学分野	准教授 廣田 豪

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

薬物トランスポーターは細胞内外への基質の取り込み及び排泄を担う膜タンパク質の総称で、薬物の吸収、分布及び排泄に重要な役割を果たしている。近年では、薬物トランスポーターが臨床上重要な薬物間相互作用の原因となる事例も報告されており、薬物療法における重要性が認識されている。また、薬物トランスポーターの発現量・活性の個人差が薬物の体内動態に影響することも数多くの研究で報告されており、個人差要因を解明する研究は個別化医療を実現する上で重要である。

皮膚は成人で表面積 1.4~1.7 m²、総重量 3.2~4.8 kg に及ぶ人体最大の組織で、経皮水分蒸散量の制御や微生物及び化学物質侵入の防御といった両方向性バリアとして機能している。皮膚は薬物投与部位の一つでもあり、初回通過効果を回避できること、非侵襲的な投与が可能であること等、他の投与経路にはない利点が数多くあり、ドラッグデリバリーの観点でも注目を集めている。これまで、薬物の経皮吸収は受動拡散によるものと考えられてきたが、近年、動物モデルやヒト皮膚由来細胞を用いた研究で皮膚にも薬物トランスポーターが発現し、生化学的バリアとして機能することが報告されるようになった。これらの報告は、薬物の投与経路に限らず薬物トランスポーターが皮膚細胞内への薬物分布に関与し、皮膚での毒性及び/又は薬効発現に影響する可能性を想起させる。しかし、ヒト皮膚における薬物トランスポーターに関するこれまでの研究報告の大部分は、培養皮膚細胞や動物モデルを用いたものであり、一連の薬物トランスポーターの発現について多数例のヒト皮膚で検討した報告はなかった。

本研究ではヒト皮膚における薬物トランスポーターの発現プロファイル、発現量及び個人差に関する情報取得を目的に、48 例のヒト皮膚組織を用いて検討が行われた。また、遺伝子発現の個人差に影響する要因として広く知られる一塩基多型 (SNPs)、並びに遺伝子変異を伴わない遺伝子発現制御機構である「エピジェネティクス」の代表的機構である DNA メチル化に焦点を当て、発現量の個人差要因の解明に取り組んだ。さらに、免疫組織化学染色や臨床研究を通じ、皮膚における薬物トランスポーターの機能評価を展開した。

第 1 章では、薬物動態に重要とされる分子種を中心に、ABC トランスポーター 26 種及び SLC トランスポーター 25 種についてヒト皮膚における発現プロファイル及び発現量を real-time PCR 法を用いて検討した。その結果、ヒト皮膚では ABCC3、SLCO3A1、SLC22A3、SLC16A7、ABCA2、ABCC1 及び SLCO2B1 の順に高発現であり、最も高発現であった ABCC3 は、ヒト皮膚組織に構成的に発現する薬物トランスポーター総量の 20.0% を占めた。また、ABCC3 発現量の個人差 (9.5 倍) は比較的大きいことが明らかとなった。次いで、ABCC3 mRNA 発現量の個人差要因の解明

を試みた結果、プロモーター領域の SNPs との関係は見出せなかった一方で、ヒト皮膚における ABCC3 発現は約 10 kbp 上流に存在する CpG island の DNA メチル化頻度と負の相関を示した ($R_s: -0.323, P < 0.05$)。さらに、レポーターアッセイにより、当該 CpG island 存在下では転写活性が有意に上昇すること、脱メチル化剤を曝露した HaCaT 細胞では ABCC3 mRNA 発現が up-regulation を受けること、CRISPR/Cas9 system により当該 CpG island を欠損させた HaCaT 細胞では ABCC3 発現が有意に低下することを確認し、当該 CpG island が ABCC3 発現を調節するエンハンサーとして機能し、当該領域の DNA メチル化が ABCC3 発現の個人差に寄与する可能性があることを提言した。

第 2 章では、第 1 章で比較的高発現で個人差の大きい分子種であった SLC22A3 に着目した。SLC22A3 遺伝子の 5' 上流域約 2 kbp に存在する遺伝子多型を網羅的に解析した結果、14 種の SNPs を同定し、白人女性皮膚における SLC22A3 mRNA 発現量は -1603A ホモ型では有意に低値を示すことを明らかとした。-1603G>A の変異により転写活性が有意に低下することをレポーターアッセイで確認し、siRNA を用いた転写因子のノックダウンアッセイにより -1603G>A を介した SLC22A3 mRNA の発現変動に p53 が関与する可能性を示した。また、免疫組織化学染色により SLC22A3 は表皮全層、皮脂腺、汗腺及び毛包に局在することを明らかとした。さらに、皮膚における SLC22A3 の機能解析の一環として皮脂腺に着目し、皮脂量及び皮脂成分量の個人差と SLC22A3 遺伝子発現への影響を認めた変異 (-1603G>A) との関連を検討した。その結果、背部の定常皮脂量では遺伝子型間で差がある傾向を確認し、一部の皮脂成分について遺伝子型間で有意な差を認めたが、遺伝子型の影響は評価部位 (額及び背部) 及び評価時点 (定常及び回復) 間で一致するものではなかった。

比較的多数例の皮膚組織を用いて取得した本研究の知見は、皮膚での毒性・薬効発現の個人差を考察する上で重要であり、皮膚における薬物トランスポーターの生理機能等の類推にも役立つと考える。また、臨床的に意義のある薬物間相互作用等が報告されている SLC22A1 及び SLC22A2 の paralog である SCL22A3 が皮膚で比較的高発現であり、皮膚における局在及び個人差要因を解明できたことは、臨床意義のある知見に繋がる可能性がある。皮膚は薬物の投与部位としてますます多くの注目を集めているが、薬物の皮内動態及び制御に関する研究はまだ始まったばかりである。齧歯動物皮膚及びヒト皮膚由来細胞では、薬物トランスポーターが薬物輸送に寄与することが報告されていることから、ヒト皮膚 (臨床) における薬物トランスポーターの寄与について明らかとしていくことが今後の課題のひとつと考える。また、各薬物トランスポーターの基質群の特性から、皮膚の恒常性維持に薬物トランスポーターが重要な役割を果たしていることを類推でき、薬物輸送のみでなく、皮膚の機能維持及び疾患発症との関連研究を展開していくことも重要と言える。本研究の成果は、そうした研究の駆動力となり、皮膚科学研究の推進に寄与するものと考えられるため、博士 (創薬科学) の学位に値すると認める。