

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23689008

研究課題名(和文)新規薬効標的分子の探索を目指した尿酸の全身動態モデルの構築

研究課題名(英文) Construction of pharmacokinetic model of urate in the whole body to search for novel pharmacological target(s) of hyperuricemia

研究代表者

高田 龍平 (TAKADA, Tappei)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90376468

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,800,000円

研究成果の概要(和文)：生理的な尿酸輸送を担い、痛風の主要な病因遺伝子である尿酸トランスポーターABCG2について、モデル動物を用いた詳細な解析を行った結果、ABCG2は腸管への尿酸排出を担うことが明らかとなった。さらに、ヒト検体を用いた解析により、ABCG2の機能低下は従来の分類でいう産生過剰型高尿酸血症をもたらすことが示された。これらの結果から、尿中への尿酸排泄を基準にした従来の病型分類では産生過剰型に分類されていた高尿酸血症患者には、ABCG2の機能低下に伴う腎臓以外(腸管)からの尿酸排泄低下による高尿酸血症患者が含まれていることがわかり、新たな分類として「腎外排泄低下型」高尿酸血症を提唱することができた。

研究成果の概要(英文)：ABCG2, which is a physiological urate transporter and a major causative gene of gout, was revealed to mediate the intestinal secretion of urate by a series of in vivo experiments. In addition, ABCG2 dysfunction was revealed to increase the risk of classical overproduction type of hyperuricemia. From these pieces of information, it was suggested that classical overproduction type of hyperuricemia includes genuine overproduction type and extra-renal underexcretion type, which is caused by the dysfunction of ABCG2-mediated intestinal secretion of urate. Thus, we proposed a new classification of hyperuricemia, including extra-renal underexcretion hyperuricemia.

研究分野：医療系薬学

キーワード：薬理学 生理学 ゲノム トランスレーショナルリサーチ トランスポーター

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、東大と防衛医大、東京薬科大を中心とした多施設共同研究により、薬物動態制御因子として最も重要なトランスポーターの一つとして知られる ABCG2/BCRP (breast cancer resistance protein) が生理的な尿酸排出を担い、尿酸関連疾患である痛風の主要な病因遺伝子であることを報告した (*Science Translational Medicine*, 2009)。

生理的な尿酸輸送を担うトランスポーターとして URAT1/SLC22A12 (*Nature*, 2002) と GLUT9/SLC2A9 (*Am J Hum Genet*, 2008 など) が同定されていたため、ABCG2 は第3の生理的尿酸トランスポーターとして見出されたことになる。URAT1 と GLUT9 はいずれも稀な遺伝性疾患である腎性低尿酸血症の原因遺伝子であり、腎臓における尿酸の再吸収を担っている。一方、ABCG2 はさまざまな臓器の頂端膜に発現する ATP 依存性排出トランスポーターであり、尿酸の体外への分泌を担う排出ポンプとして機能していると考えられるが、ABCG2 が担う尿酸の排出経路については不明であった。

また、近年、ゲノム解析技術の進展に伴い、数多くのゲノムワイド関連解析 (Genome-wide association study, GWAS) が行われている。血清尿酸値の個人差を対象とした研究により、上述の ABCG2、URAT1、GLUT9 以外に、種々の尿酸トランスポーター候補分子が報告されているものの、尿酸動態における生理的役割は不明であり、解明が待たれていた。

2. 研究の目的

近年のゲノム研究の進展を契機として多くの血清尿酸値の個人差規定因子が見出されたが、痛風の主要な病因遺伝子である尿酸排出ポンプ ABCG2 を含む多くの因子の尿酸動態における役割は未解明のままであった。本研究は、ヒト尿酸代謝モデルマウスを用いて ABCG2 機能低下による血清尿酸値上昇の機序解明を行うとともに、ゲノムワイド関連

解析などで見出された尿酸トランスポーター候補分子の生理機能を明らかにし、尿酸の全身動態モデルを構築することを目的としていた。

3. 研究の方法

ヒトは多くの哺乳類が持つ尿酸代謝酵素 Urikase を遺伝的に欠損しているため、尿酸動態に関しては実験動物の結果をそのままヒトに外挿することはできない。そこで、Urikase 活性を失ったマウスモデルを構築し、種々の検討に用いた。Urikase 欠損マウスは数週齢のうちに死亡する個体が多く弱い系統であることが知られているため、Urikase 阻害剤であるオキシソンの連日投与によるケミカルノックアウトマウスを作製した。尿・胆汁・消化管への尿酸分泌速度を測定し、尿中に 2/3 が、糞中に 1/3 が排泄されるといわれるヒトの尿酸排泄と対応することを確認した後、*abcg2* 欠損マウスにも同様の処理を行い、ヒトの痛風発症リスクを高める ABCG2 機能低下型モデルを作製し、実験に用いた。

GWAS で見出された血清尿酸値制御因子のうち、細胞膜に発現し尿酸トランスポーター候補となる遺伝子については、高発現細胞株を作製し、細胞への取り込み実験や細胞膜小胞を用いたベシクル実験などにより輸送活性を評価した。加えて、臨床検体を用いた解析を行い、各遺伝子が血清尿酸値や尿酸動態にもたらす影響についても検討を行った。

4. 研究成果

野生型マウスと *abcg2* 欠損マウスにオキシソンの投与を行い、血清中尿酸濃度を比較したところ、ヒトと同様、ABCG2 機能低下に伴う血清尿酸値の上昇が観察された。しかしながら、*abcg2* 欠損マウスにおける尿中への尿酸排泄能の低下は見出されなかった。この傾向は ABCG2 の尿酸輸送能別に分類した高尿酸血症患者でも同様であった。このことは、ABCG2 による生理的な尿酸排泄が主に腎臓以外の臓器で行われていることを示唆して

いた。

両マウスの尿酸動態を詳細に調べたところ、*abcg2* 欠損マウスにおける腸管への尿酸排泄は野生型マウスの半分以下であった。これらの情報を基に各組織からの尿酸排泄量を定量的に比較した結果、*abcg2* 欠損マウスにおける血清尿酸値の上昇は腸管からの尿酸排泄低下により説明しうると考えられた。

さらに、ヒト検体を用いた解析により、ABCG2 の尿酸輸送能の低下が従来の分類でいう”産生過剰型”高尿酸血症をもたらすことが示された。マウスを用いた *in vivo* 実験の結果を考慮すると、尿中への尿酸排泄を基準にした従来の高尿酸血症の病型分類では”産生過剰型”に分類されていた高尿酸血症患者には、ABCG2 の機能低下に伴う腎臓以外（腸管）からの尿酸排泄低下による高尿酸血症患者が含まれていることがわかり、新たな分類として「腎外排泄低下型」高尿酸血症」を提唱した。

これらの成果に加え、ABCG2 の遺伝子多型と尿酸疾患との関連性については、(1) ABCG2 の機能低下は若年性痛風の主要な原因となること、(2) ABCG2 の機能低下は、上述の腎外排泄低下型高尿酸血症のみならず、尿中排泄低下型高尿酸血症の原因にもなりうること、(3) 生活習慣に関連する飲酒や肥満と比較して、ABCG2 の機能低下は血清尿酸値により強い影響力を持つこと、などを示すことができた。

他の尿酸トランスポーターについては、SLC トランスポーターファミリーに属する NPT1/SLC17A1 と OAT4/SLC22A11 が尿酸輸送能を有し、それらのトランスポーターの遺伝子多型が（尿中）尿酸排泄低下型高尿酸血症・痛風の発症リスクに影響を与えることが明らかとなった。現在、他の尿酸トランスポーター候補分子についても検討を行うとともに、尿酸の全身動態モデルの構築を進めている。

5 . 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計8件、全て査読有)

(1) Ichida K*, Matsuo H*, Takada T*, Nakayama A, Murakami K, Shimizu T, Yamanashi Y, Kasuga H, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Kawamura Y, Inoue H, Okada C, Utsumi Y, Ikebuchi Y, Ito K, Nakamura M, Shinohara Y, Hosoyamada M, Sakurai Y, Shinomiya N, Hosoya T, Suzuki H. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia.

Nat Commun. 2012 Apr 3;3:764.

(2) Matsuo H*, Ichida K*, Takada T*, Nakayama A*, Nakashima H, Nakamura T, Kawamura Y, Takada Y, Yamamoto K, Inoue H, Oikawa Y, Naito M, Hishida A, Wakai K, Okada C, Shimizu S, Sakiyama M, Chiba T, Ogata H, Niwa K, Hosoyamada M, Mori A, Hamajima N, Suzuki H, Kanai Y, Sakurai Y, Hosoya T, Shimizu T, Shinomiya N. Common dysfunctional variants in ABCG2 are a major cause of early-onset gout.

Sci Rep. 2013;3:2014.

(3) Matsuo H, Nakayama A, Sakiyama M, Chiba T, Shimizu S, Kawamura Y, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Oikawa Y, Takada T, Nakaoka H, Abe J, Inoue H, Wakai K, Kawai S, Guang Y, Nakagawa H, Ito T, Niwa K, Yamamoto K, Sakurai Y, Suzuki H, Hosoya T, Ichida K, Shimizu T, Shinomiya N. ABCG2 dysfunction causes hyperuricemia due to both renal urate underexcretion and renal urate overload.

Sci Rep. 2014 Jan 20;4:3755.

(4) Nakayama A, Matsuo H, Nakaoka H, Nakamura T, Nakashima H, Takada Y, Oikawa Y, Takada T, Sakiyama M, Shimizu S, Kawamura Y, Chiba T, Abe J, Wakai K, Kawai

S, Okada R, Tamura T, Shichijo Y, Akashi A, Suzuki H, Hosoya T, Sakurai Y, Ichida K, Shinomiya N. Common dysfunctional variants of ABCG2 have stronger impact on hyperuricemia progression than typical environmental risk factors.

Sci Rep. 2014 Jun 9;4:5227.

(5) Sakiyama M, Matsuo H, Shimizu S, Nakashima H, Nakayama A, Chiba T, Naito M, Takada T, Suzuki H, Hamajima N, Ichida K, Shimizu T, Shinomiya N. A common variant of organic anion transporter 4 (OAT4/SLC22A11) gene is associated with renal underexcretion type gout. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2014;29(2):208-10.

(6) Sakiyama M, Matsuo H, Takada Y, Nakamura T, Nakayama A, Takada T, Kitajiri S, Wakai K, Suzuki H, Shinomiya N. Ethnic differences in ATP-binding cassette transporter, sub-family G, member 2 (ABCG2/BCRP): genotype combinations and estimated functions. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2014;29(6):490-2.

(7) Chiba T, Matsuo H, Kawamura Y, Nagamori S, Nishiyama T, Wei L, Nakayama A, Nakamura T, Sakiyama M, Takada T, Taketani Y, Suma S, Naito M, Oda T, Kumagai H, Moriyama Y, Ichida K, Shimizu T, Kanai Y, Shinomiya N. NPT1/SLC17A1 is a renal urate exporter in humans and its common gain-of-function variant decreases the risk of renal underexcretion gout.

Arthritis Rheumatol. 2015 Jan;67(1):281-7.

(8) Matsuo H, Yamamoto K, Nakaoka H, Nakayama A, Sakiyama M, Chiba T, Takahashi A, Nakamura T, Nakashima H, Takada Y, Danjoh I, Shimizu S, Abe J, Kawamura Y, Terashige S, Ogata H, Tatsukawa S, Yin G, Okada R, Morita E, Naito M, Tokumasu A, Onoue H, Iwaya K, Ito T, Takada T, Inoue K, Kato Y, Nakamura Y,

Sakurai Y, Suzuki H, Kanai Y, Hosoya T, Hamajima N, Inoue I, Kubo M, Ichida K, Ooyama H, Shimizu T, Shinomiya N. Genome-wide association study of clinically defined gout identifies multiple risk loci and its association with clinical subtypes.

Ann Rheum Dis. 2015 Feb 2. pii: annrheumdis-2014-206191.

〔学会発表〕(計14件)

(1) 高田龍平、市田公美、松尾洋孝、中山昌喜、村上啓造、山梨義英、春日裕志、四ノ宮成祥、鈴木洋史 ABCG2/BCRP による腸管への尿酸排泄の低下は腎外排泄低下型高尿酸血症を引き起こす 日本薬学会第25年会 神戸 2012年5月24日~26日

(2) 高田龍平、鈴木洋史 Lifestyle-related diseases and transporters 第27回日本薬物動態学会年会 東京 2012年11月20日~22日(シンポジウム講演)

(3) 高田龍平、市田公美、松尾洋孝、中山昌喜、村上啓造、山梨義英、春日裕志、四ノ宮成祥、鈴木洋史 尿酸トランスポーター ABCG2/BCRP の機能低下型遺伝子多型は腎外排泄低下型高尿酸血症をもたらす 第33回日本臨床薬理学会学術総会 那覇 2012年11月29日~12月1日

(4) 高田龍平、市田公美、松尾洋孝、中山昌喜、村上啓造、山梨義英、春日裕志、四ノ宮成祥、鈴木洋史 Decreased ABCG2-mediated urate excretion from intestine is a common cause of hyperuricemia 第86回日本薬理学会年会 福岡 2013年3月21日~23日

【年会優秀発表賞受賞】

(5) Tappei Takada, Kimiyoshi Ichida, Hiroataka Matsuo, Akiyoshi Nakayama, Keizo Murakami, Yoshihide Yamanashi, Hiroshi Kasuga, Hiroshi Suzuki ABCG2 dysfunction increases serum uric acid by decreased intestinal urate excretion 15th

International Symposium on Purine and Pyrimidine Metabolism in Man Madrid, Spain 2013年6月9日～13日

【Poster Award 受賞】

(6) Tappei Takada, Kimiyoshi Ichida, Hirotaka Matsuo, Akiyoshi Nakayama, Hiroshi Suzuki Dysfunction of a urate exporter ABCG2 as a major risk factor of hyperuricemia and gout 15th International Symposium on Purine and Pyrimidine Metabolism in Man Madrid, Spain 2013年6月9日～13日(シンポジウム講演)

(7) Tappei Takada, Hirotaka Matsuo, Kimiyoshi Ichida, Akiyoshi Nakayama, Hiroshi Suzuki ABCG2/BCRP dysfunction as a major risk factor of gout BioMedical Transporters 2013 St. Moritz, Switzerland 2013年8月11日～15日(招待講演)

(8) Tappei Takada, Hirotaka Matsuo, Kimiyoshi Ichida, Akiyoshi Nakayama, Nariyoshi Shinomiya, Hiroshi Suzuki Molecular functional analysis of urate transporters related to “urate transport disorders” Molecular basis of uric acid transport and gout Prague, Czech Republic 2013年10月15日(シンポジウム講演)

(9) 高田龍平、鈴木洋史 トランスポーターによる尿酸動態制御と疾患 第7回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 仙台 2013年11月23日～24日(シンポジウム講演)

(10) 高田龍平 尿酸排出トランスポーター ABCG2 と高尿酸血症・痛風について 生理学研究所研究会 細胞センサーの分子機構・相互関連・ネットワーク研究会 岡崎 2013年11月28日～29日(招待講演)

(11) Tappei Takada, Kimiyoshi Ichida, Hirotaka Matsuo, Akiyoshi Nakayama, Hiroshi Suzuki Dysfunction of a urate

exporter ABCG2 increases serum uric acid by decreased intestinal urate excretion 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress (FIP PSWC 2014) Melbourne, Australia 2014年4月13日～16日

(12) 高田龍平、鈴木洋史 高尿酸血症・痛風と ABCG2/BCRP 遺伝子多型 医療薬学フォーラム 2014 / 第22回クリニカルファーマシーシンポジウム 東京 2014年6月28日～29日(シンポジウム講演)

(13) 高田龍平 尿酸排出トランスポーター ABCG2 と高尿酸血症・痛風 第46回日本動脈硬化学会総会・学術集会 東京 2014年7月10日～11日(シンポジウム講演)

(14) Tappei Takada, Yoshihide Yamanashi, Yu Toyoda, Hiroshi Miyata, Yusuke Tanaka, Hiroshi Suzuki Dysfunction of BCRP/ABCG2 increases serum uric acid level by decreased intestinal urate excretion 19th North American ISSX meeting/29th JSSX meeting San Francisco, CA, USA 2014年10月19日～23日

〔図書〕(計9件)

(1) 松尾洋孝、市田公美、高田龍平、中山昌喜、四ノ宮成祥 尿酸動態の支配要因としての尿酸トランスポーター 細胞工学(秀潤社) 2012年5月 31(5), 553-7

(2) 高田龍平 尿酸トランスポーターと高尿酸血症・痛風発作について教えてください 腎と透析(東京医学社) 2012年9月 73(3), 364-8

(3) 高田龍平 <最前線>尿酸トランスポーターと疾患 ファルマシア(日本薬学会) 2012年12月 48(12), 1144-8

(4) 高田龍平 生活習慣病とトランスポーター 薬事日報(薬事日報社) 2012年12月17日 4面

(5) 高田龍平 トランスポーターによる生活習慣病関連物質の体内動態制御機構の解明 Drug Delivery System (日本 DDS 学会) 2013年3月 28(2), 154-5

(6) 高田龍平、松尾洋孝、市田公美 尿酸排出トランスポーターと高尿酸血症の新たな発症メカニズム 日本医事新報「一週一話」(日本医事新報社) 2013年3月9日 4637, 48-9

(7) 高田龍平 生活習慣病関連物質のトランスポーターによる体内動態制御に関する研究 薬学雑誌(日本薬学会) 2013年4月1日 133(4), 451-61

(8) 豊田優、高田龍平 生活習慣病とトランスポーター - コレステロール動態を中心に 医学のあゆみ(医歯薬出版) 2013年4月6日 245(1), 23-9

(9) 高田龍平、松尾洋孝 ABC トランスポーターによる尿酸輸送 医学のあゆみ(医歯薬出版) 2013年4月6日 245(1), 11-5

〔その他〕

ホームページ

http://plaza.umin.ac.jp/~todayak/t_takada.php

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高田 龍平 (TAKADA, Tappei)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：9 0 3 7 6 4 6 8

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし