

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04007

研究課題名（和文）輸送担体の分解機構に着目した新たな創薬パラダイムの創出

研究課題名（英文）Development of a strategy of drug development for ABC transporter-related diseases

研究代表者

林 久允（Hayashi, Hisamitsu）

東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・助教

研究者番号：10451858

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、輸送担体の活性化を介した創薬戦略を立案すべく、アテローム性動脈硬化症の抑制作用を有するABC輸送担体ABCA1をモデルタンパク質とした研究開発を実施した。研究代表者のこれまでの成功事例に基づき、輸送担体の細胞膜を起点とする分解に関わる分子機序の解明に努めた。ライブラリースクリーニング、インタラクトーム解析、及びこれら解析に引き続く培養細胞、遺伝子改変マウスを用いた検証実験により、ABCA1の分解を促進する分子を複数同定することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生活習慣病から希少難病に至るまで、細胞膜に発現するABC輸送体の活性化により、治療が実現すると考えられる治療法未確立の疾患が明らかにされている。しかしながら、生体内でABC輸送体を活性化する方法論が未確立であるため、当該疾患群に対する医薬品開発は困難を極めている。本研究成果は、当該疾患群を対象とした医薬品開発の基盤構築に資する。

研究成果の概要（英文）：To establish a strategy of drug development for ABC transporter-related diseases, we analyzed molecular mechanism underlying degradation mechanism of cell surface-resident ABCA1, an ABC transporter that has an inhibitory effect on atherosclerosis. This is based on our basic and clinical evidence obtained from studies of other ABC transporters. We have performed library screening, interactome analysis, and subsequent verification experiments using cultured cells and genetically modified mice and identified multiple molecules that promote the degradation of cell surface-resident ABCA1.

研究分野：医療系薬学

キーワード：輸送担体 トランスポーター 創薬 タンパク質分解

## 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病から希少難病に至るまで、細胞膜に発現する ABC 輸送体の活性化により、治療が実現すると考えられる治療法未確立の疾患が明らかにされている(Theodoulou FL, *Biochem Soc Trans.* 2015;43(5):1033-40)。しかしながら、生体内で ABC 輸送体を活性化する方法論が未確立であるため、当該疾患群に対する医薬品開発は困難を極めている。

研究代表者は、肝実質細胞の毛細胆管側膜に発現し、胆汁酸の胆汁排泄を担う ABC 輸送体 bile salt export pump(BSEP)を対象とした研究から、「ABC 輸送体の細胞膜を起点とする分解機構の阻害を介し、ABC 輸送体の細胞膜発現量、機能を増強することが、疾病治療に繋がる」というエビデンスを取得している。具体的には、フェニル酪酸ナトリウムが、細胞膜上 BSEP の分解機構を抑制し、BSEP の細胞膜発現量、胆汁酸の胆汁排泄活性を増強することを独自に見出すとともに(Hayashi H, *Hepatology.* 2007;45(6):1506-1516)、本薬剤が BSEP の機能破綻が関連する種々の肝疾患に著効する可能性を臨床試験で確認した(Naoi S, *J Pediatr.* 2014;164(5):1219-1227, Hayashi H, *Hepatol Res.* 2016;46(2):192-200, Nakano S, *Sci Rep.* 2019;9(1):17075)。

## 2. 研究の目的

本研究では、研究代表者独自の成功事例に基づき、「ABC 輸送体の細胞膜を起点とする分解機構」を阻害し、ABC 輸送体の細胞膜発現量を高めることが、生体における ABC 輸送体の活性化、ひいては疾病治療に繋がることを、抗動脈硬化作用を有する ABC 輸送体 ABCA1 を用いて検証する。

## 3. 研究の方法

研究代表者は ABCA1 の細胞膜からの分解がユビキチン化を起点として生じることを見出している。本知見に基づき、細胞膜上 ABCA1 のユビキチン化に関わる候補分子群を同定すべくライブラリースクリーニング、インタラクトーム解析を実施した。さらにこれらの解析から見出した陽性遺伝子に関し、細胞膜上 ABCA1 の分解、発現量、機能に対する影響を HepG2 細胞、遺伝子改変マウスを用いて検証した。

## 4. 研究成果

HepG2 細胞において ABCA1 の細胞膜でのユビキチン化レベルを亢進し、細胞膜からの ABCA1 の分解を促

進する分子を複数同定することに成功した。当該分子群の遺伝子改変マウスを作出し、ABCA1 のユビキチン化状態、細胞膜発現量、機能に対する当該分子の影響を個体レベルで検証した。さらに、当該分子のアテローム性動脈硬化に対する影響を検証すべく、apoE KO マウスとのダブル KO マウスを作出した。現在、当該マウスに対し、アテローム動脈硬化病巣の作成に汎用される高脂肪食負荷試験を実施中である。大動脈のアテローム性動脈硬化病巣の傷害面積を算出することにより、ABCA1 の分解機構の制御がアテローム性動脈硬化症の抑制に働くことを確認する予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Zen Y, Kondou H, Nakazawa A, Tanikawa K, Hasegawa Y, Bessho K, Imagawa K, Ishige T, Inui A, Suzuki M, Kasahara M, Yamamoto K, Yoshioka T, Kage M, Hayashi H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Proposal of a liver histology based scoring system for bile salt export pump deficiency	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hepr.13494	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakano S, Osaka S, Sabu Y, Minowa K, Hirai S, Kondou H, Kimura T, Azuma Y, Watanabe S, Inui A, Bessho K, Nakamura H, Kusano H, Nakazawa A, Tanikawa K, Kage M, Shimizu T, Kusahara H, Zen Y, Suzuki M, Hayashi H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Effect of food on the pharmacokinetics and therapeutic efficacy of 4-phenylbutyrate in progressive familial intrahepatic cholestasis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-53628-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Imagawa Kazuo, Hayashi Hisamitsu, Sabu Yusuke, Tanikawa Ken, Fujishiro Jun, Kajikawa Daigo, Wada Hiroki, Kudo Toyochiro, Kage Masayoshi, Kusahara Hiroyuki, Sumazaki Ryo	4. 巻 63
2. 論文標題 Clinical phenotype and molecular analysis of a homozygous ABCB11 mutation responsible for progressive infantile cholestasis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 569 ~ 577
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s10038-018-0431-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hayashi H, Naoi S, Togawa T, Hirose Y, Kondou H, Hasegawa Y, Abukawa D, Sasaki M, Muroya K, Watanabe S, Nakano S, Minowa K, Inui A, Fukuda A, Kasahara M, Nagasaka H, Bessho K, Suzuki M, Kusahara H.	4. 巻 27
2. 論文標題 Assessment of ATP8B1 Deficiency in Pediatric Patients With Cholestasis Using Peripheral Blood Monocyte-Derived Macrophages.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 EBioMedicine.	6. 最初と最後の頁 187-199
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ebiom.2017.10.007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hisamitsu Hayashi
2. 発表標題 Development of Novel Medical Therapy for Pediatric Liver Diseases with Intrahepatic Cholestasis
3. 学会等名 APASL STC Tokyo 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 久允
2. 発表標題 進行性家族性肝内胆汁うっ滞症2型の病態解明を基盤とした創薬研究
3. 学会等名 京都小児外科セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 久允
2. 発表標題 トランスポーター関連希少疾患に対する新規治療戦略の開発を指向した創薬研究
3. 学会等名 第26回HAB研究機構学術年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hisamitsu Hayashi
2. 発表標題 Translational and reverse translational research on pediatric cholestatic liver diseases
3. 学会等名 THE 14th SUGIYAMA LABORATORY (RIKEN) OPEN SYMPOSIUM (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hisamitsu Hayashi
2. 発表標題 Repurposing of 4-phenylbutyrate for treatment of pediatric liver diseases with intrahepatic cholestasis
3. 学会等名 JDDW2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 久允
2. 発表標題 家族性肝内胆汁うっ滞症の成因、診断、治療に関する最新知見
3. 学会等名 第46回日本小児栄養消化器肝臓学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 久允
2. 発表標題 肝内胆汁うっ滞症に対する創薬研究を基盤としたリバーストランスレーショナルリサーチ
3. 学会等名 第2回若手研究者コミュニティ：順天堂大学 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 久允
2. 発表標題 難治性肝内胆汁うっ滞症の医薬品開発研究を基盤としたリバーストランスレーショナルリサーチ
3. 学会等名 第11回小児肝臓・肝移植研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐分 雄祐, 水谷 歩, 伊藤 彰吾, 伊藤 孝一, 楠原 洋之, 戸川 貴夫, 林 久允
2. 発表標題 家族性肝内胆汁うっ滞症2型の病型鑑別を目的としたABCB11の病変変異の解析
3. 学会等名 第36回日本小児肝臓研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水谷 歩, 佐分 雄祐, 伊藤 彰吾, 伊藤 孝一, 楠原 洋之, 戸川 貴夫, 林 久允
2. 発表標題 進行性家族性肝内胆汁うっ滞症患者が保因する変異が病変遺伝子のsplicingに及ぼす影響の検討
3. 学会等名 第36回日本小児肝臓研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水谷 歩, 佐分 雄祐, 伊藤 彰吾, 伊藤 孝一, 楠原 洋之, 戸川 貴夫, 林 久允
2. 発表標題 家族性肝内胆汁うっ滞症患者が保因する変異が病変遺伝子のsplicingに及ぼす影響の検討
3. 学会等名 第46回日本小児栄養消化器肝臓学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 守屋 一輝, 水野 忠快, 勝部 彬, 楠原 洋之, 林 久允
2. 発表標題 ユビキチンリガーゼAIP4を介した細胞膜上ABCA1の発現調節機構の解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----