

医薬品開発支援ツール「トランスポーター発現卵母細胞」の実用化

育成研究：JSTイノベーションプラザ石川 平成17年度採択課題
「ヒト型トランスポーター遺伝子の新規発現系構築による薬物生体膜透過評価系の創出」

代表研究者：金沢大学 自然科学研究科薬学系 教授 辻 彰



■ 研究概要

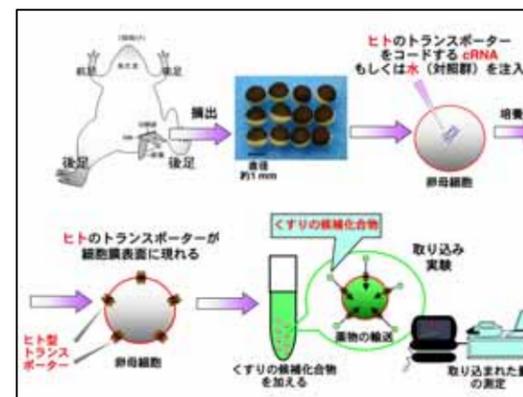
くすりの分子の生体内での挙動（薬物動態）を解析するためのツールとして「ヒト型トランスポーター遺伝子発現系」を実用化した。トランスポーターとは細胞膜に存在し、くすりの分子を細胞内に取り込み、または排出するタンパク質の総称であり、医薬品の効果や副作用とも深く関係する。

■ 研究内容、研究成果

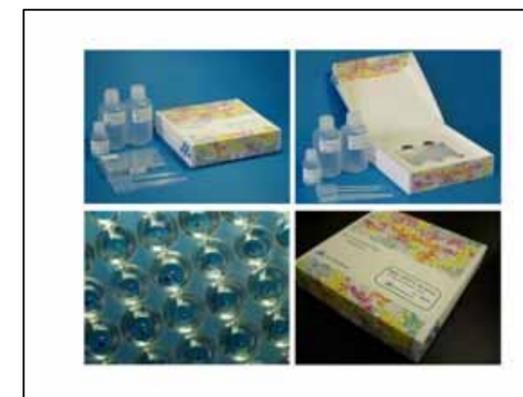
本発現系はアフリカツメガエルの卵（卵母細胞）にヒトのトランスポーター遺伝子（cRNA）を極細針で注入後、数日間培養することにより得られる（図1）。くすりの候補化合物と混合し、細胞内に取り込まれた量を測定することによって、トランスポーターによる認識の程度を評価することができる（図1）。この系はこれまで研究室レベルでは汎用されてきたものの、卵を生きた状態で製品化する困難さから、国内では工業製品として製造および販売を行うことに成功していなかった。本研究の技術的特徴および利点は、(i)国産メーカーにより、トランスポーター活性の高い卵母細胞を安価で速やかに供給できる点、(ii)トランスポーターと結合しその働きを調節する分子（アダプター）との共発現により生体環境に近い卵母細胞を造り出す点、(iii)製薬企業等で汎用される質量分析装置（LC-MS/MS）を用いた評価系を提供する点にある。本研究においては、高いトランスポーター活性を示すロットを安定供給するためのcRNA調製・導入方法、卵母細胞の培養方法、梱包・輸送方法や、くすりの定量のための卵母細胞処理方法などの技術を確認した。また、ユーザーが使い易いよう卵母細胞を扱うためのピペットや緩衝液等もセットにしたパッケージングを確立し計3種類のヒト型トランスポーターの実用化に成功した（図2）。水（対照群）を導入した卵母細胞に比べヒト型トランスポーターOCT1を導入した細胞では、モデル化合物であるテトラエチルアンモニウム（OCT1によって細胞内に取り込まれる）の顕著に高い取り込みが認められた（図3左）。この取り込みは、糖尿病治療薬メトホルミン共存下で低下したことから、メトホルミンがOCT1に対し競合的に働くことが示された（図3右）。さらに、アダプターPDZK1による種々トランスポーターの活性調節が確認できた。

■ 今後の展開、将来の展望

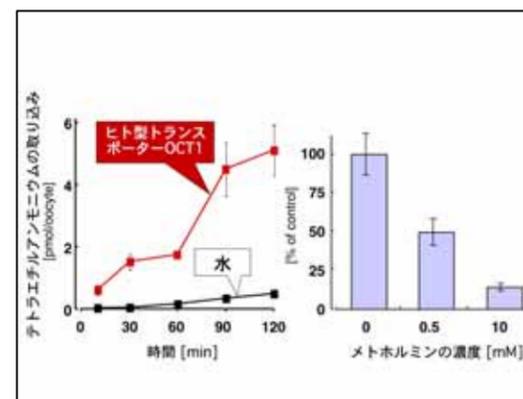
製薬企業等において利用可能な国産初の工業製品として、十分なトランスポーター活性を持った数種類の製品が完成した。2006年9月に米国の食品医薬品安全局（FDA）より出されたDraft Guidanceには、「ヒトの主要なトランスポーター」として今回実用化したすべてを含む多くのトランスポーターが明記されたことを考えると、今後はこれらトランスポーターとくすりの相互作用を念頭に入れた医薬品開発が求められ、本製品が医薬品開発の重要なツールになるものと期待される。また本研究は、「卵母細胞実用化のプラットフォーム」を国内で完成させた点でも意義深い。トランスポーターは近年、くすりの標的としても脚光を浴びており、薬物動態だけでなく、くすりの効き目と細胞毒性を評価する系としても応用可能である。また、ヒトゲノム上には少なくとも2-3万の遺伝子が存在することから、これらへの応用も期待される。一方、アダプター分子PDZK1はトランスポーター活性に必須であることが最近、辻研究室で見出されたことから、本研究で開発された共発現系や、さらに他のトランスポーター、代謝酵素、標的タンパク質等を導入した卵母細胞の実用化も期待される（図4）。今後は、工業化の面での技術改良による製造のコストダウンをはかりながら、これら新たな研究領域への拡大を目指した製品ラインナップの拡張を検討する。



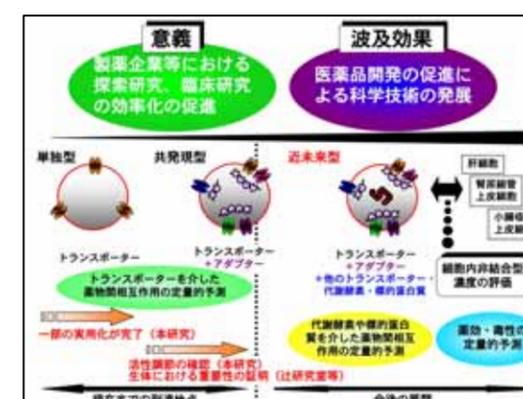
〔図1 アフリカツメガエル卵母細胞を用いたヒト型トランスポーター発現系の概念図〕



〔図2 本研究で完成させた製品〕



〔図3 ヒトOCT1を発現する卵母細胞へのテトラエチルアンモニウムの取り込み（左）とメトホルミンによる競合（右）〕



〔図4 本研究で達成された卵母細胞実用化プラットフォームの到達点と今後の展開〕

■ 研究体制

- ◆ 代表研究者
金沢大学 自然科学研究科薬学系 教授 辻 彰
- ◆ 研究者
加藤将夫准教授（金沢大学） 久保義行助教（金沢大学） 藪内 光代表取締役社長（株式会社ジェノメンブレン） 田中健之研究員（株式会社ジェノメンブレン） 富名腰 敬研究員（株式会社ジェノメンブレン）
- ◆ 共同研究機関
金沢大学
株式会社ジェノメンブレン

■ 研究期間

平成18年4月 ~ 平成20年3月