

## 《若手研究者紹介》



## 若きトランスポーター研究者の随想

高 田 龍 平\* Tappei Takada

東京大学医学部附属病院薬剤部

## 1. はじめに

私が研究室に配属され、研究を始めてから約12年が経ちました。学部4年生および大学院生の6年間を東京大学薬学部の分子薬物動態学教室（杉山雄一教授主宰）で過ごし、博士号取得後は東京大学医学部附属病院薬剤部（鈴木洋史教授主宰）にて教員として臨床・教育・研究に携わっています。若手研究者紹介の原稿ということですので、学生時代から現在までの研究内容その他について思いつくままに記したいと思います。気軽に読んで頂けると幸いです。

## 2. 学生時代

私と薬剤学研究との出会いは、学部4年時の教室配属で製剤設計学教室（現：分子薬物動態学教室）を選んだところから始まりました。当時は決して勤勉な学生ではなかったこともあり、一度も研究室見学に行かずに研究室を選ぶという、後輩には決して勧められない教室選択ではありましたが、杉山教授・鈴木洋史助教授（当時）のエネルギーな講義と、他学部にはない薬剤学という学問領域に惹かれて選びました。

\*東京生まれ、静岡育ち。1995年3月静岡県立静岡高校卒、1999年3月東京大学薬学部卒、2004年3月東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了（分子薬物動態学教室、杉山雄一教授）、博士（薬学）。2001年4月～2004年3月、日本学術振興会特別研究員（DC1）。2004年4月より東京大学医学部附属病院薬剤部助手、2007年4月より同助教、現在に至る。やる気に溢れた学生達と、インパクトのある研究を楽しみたい。連絡先：〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1  
E-mail: tappei-ky@umin.ac.jp

実際に教室に配属され、研究室のセミナーに参加し始めた頃は、研究の土台となる考え方や研究背景に関する知識の不足のため発表内容が理解できず、（当然ではありますが）適切な質問もできませんでした。少しでも早くこのギャップを埋めるための対策として、私の基礎実習（当時、教室配属～大学院入試休みまでの3ヶ月程度の期間、新人は簡単なミニテーマをもらって研究していました）のチューターだった大学院生の伊藤晃成さん（現：東大医・准教授/病院薬剤部・第一副部長）に目をつけて、毎回のセミナー中&セミナー後に質問攻めにしたことをよく覚えています。

当時の研究室には、杉山教授、鈴木助教授、加藤将夫助手（現：金沢大学大学院薬学系・教授）、楠原洋之助手（現：准教授）の各先生方、多くの企業からの研究生の方々や、その後大学教員になられた大学院生の伊藤晃成さん、設楽悦久さん（現：千葉大学大学院薬学研究院・准教授）、秋田英万さん（現：北海道大学大学院薬学研究所・助教）、本間雅さん（現：東大病院・薬剤部・助教）、同期の前田和哉くん（現：助教）らが在籍していました。活気に溢れ、若い一学生としてとても恵まれた環境で過ごすことができたと思います。また、杉山先生が研究室の若い学生を対象に開催して下さった薬物動態の勉強会は、単なる教科書の解説に留まらず、当時の創薬研究に関する杉山先生の問題意識や私見を伺える貴重な機会でした。毎月の予習は大変でしたが、月に一度の勉強会の機会をととても楽しみにしていたことを思い出します。

自分のそれまでの価値観ではまずい、ということに気付いたのもこの頃だと思います。私はもともと

地道な努力が苦手な人間で、学生時代は授業にもろくに出ず上手にノートを集め、テストはほぼ全て一夜漬けという、よく言えば要領のいい合理的な生き方をしていました。ですが、いざ研究を始めてみると、実験は基本的には一発でうまくいくものではなく、条件検討などの地道な繰り返しの作業が必要です。効率よく研究を進めるためには無駄を省くことはもちろん大切ですが、注意深い観察をしながらの地味な土台作りは研究に必須であることがわかり、考えを改めました。

自分の研究テーマとしては、薬物トランスポーターの発現制御機構の解析を中心に研究していました。学部4年～修士課程では主に multidrug resistance-associated protein 3 (MRP3) /ABCC3 の転写制御に関する研究を、博士課程では主に breast cancer resistance protein (BCRP) /ABCG2 の細胞内局在制御に関する研究を行いました。どちらも当時としてはかなりチャレンジングなテーマであり、研究の方針や実験の技術面などで悩むことも多く、大きな成果は挙げられませんでした。学生時代の研究生活で学んだ多くのことは今の自分にとって貴重な財産となっています。また、博士3年の1年間、修士1年の林久允くん（現：助教）と学部4年の浅野静佳さん（現：ノバルティスファーマ）の指導を担当する機会を与えて頂いたことは、その後の助手としての研究指導の開始に先立ち、とてもいい経験になりました。

また、博士2年夏の約2ヶ月間、サマースチューデント（当時、研究室ではこう呼ばれていました。一種のインターンシップにあたると思います）としてスイスのバーゼルにあるノバルティスのADME部門で研究する機会を頂きました。当時、まだ今ほど一般的ではなかったトランスポーターの機能評価実験系（細胞膜小胞を用いたベシクル実験、共発現系を用いた経細胞輸送実験など）の技術伝達を目的に含んだものではありましたが、私にとってはメガファーマにおける創薬研究に触れられる貴重な経験となりました。幸運なことに得られた成果を論文化することもでき<sup>1)</sup>、短い期間ではありましたがとても充実した時間でした。博士課程のほぼ中間点にあたる大事な時期にこのような機会を頂きました。Gerhard Gross 博士、Olivier Kretz 博士、Markus Weiss 博士、杉山先生、鈴木先生にはとても感謝し

ています。

### 3. 薬 剤 部

博士課程の半ばを過ぎた頃には、アカデミックな進路に進むことはほぼ決めていましたが、具体的な勤務先のイメージははっきりとしていませんでした。大学院修了が近付いた頃、学部時代からの私の直接の指導教官である鈴木先生（少し前に東大病院薬剤部に異動されていました）から声をかけて頂き、現在の職場で働くことになりました。

私が着任したのは鈴木教授誕生直前のタイミングで、研究室の学生も少なく多くの技術導入を行う必要がありましたので、鈴木研究室一期生として教室に配属となった山梨義英くん（現：東大病院・薬理動態学教室（寄附講座）・特任助教）、吉門崇くん（現：東大院薬・臨床分子解析学教室・助教）をはじめとするメンバーとともに、少しずつ実験系を立ち上げていきました。薬剤部の職員としての臨床業務も同時に覚えていかなければならず、大変な日々でしたが、ほぼ同時期に採用になった山本武人助手（現：助教）とともに、草間真紀子助手（現：東大院薬・医薬品評価科学教室・助教）の熱い指導の下で多くのことを教えて頂きました。その後、本間助手、伊藤助教授、樋坂章博講師（現：東大病院・薬理動態学教室（寄附講座）・特任准教授）が次々と研究室に加わり、現在の研究室の陣容となりました。

多くの東大薬学部出身者と同様、私も自分自身が薬剤師として働くことは想像していませんでしたが、縁あって現在の仕事に着くことができ、とてもいい経験ができていることを実感する毎日です。薬剤師としての視野を学べていることに加え、患者さんや他職種の医療従事者からの視点もイメージできるようになりましたし、医薬品の医療現場での使用の実態や問題点などを理解したり、TDM業務や服薬指導を通じて人の役に立っている実感が得られることは、現在のみならず将来にも役立つ貴重な経験だと思います。

私のグループでは、生活習慣病発症に関連する内因性物質を輸送するトランスポーターを主な研究対象にしています。ここでは、コレステロールトランスポーター Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) と尿酸トランスポーター BCRP/ABCG2 を中心に、現在までに行ってきた研究を紹介します。

#### 4. NPC1L1

学生時代は薬物を輸送するトランスポーターの研究に携わってきましたが、私の興味は少しずつシフトし、トランスポーターが生体内物質の体内動態制御を介して担う生理学的・病態生理学的機能に関する研究をしてみたい、と思うようになっていました。

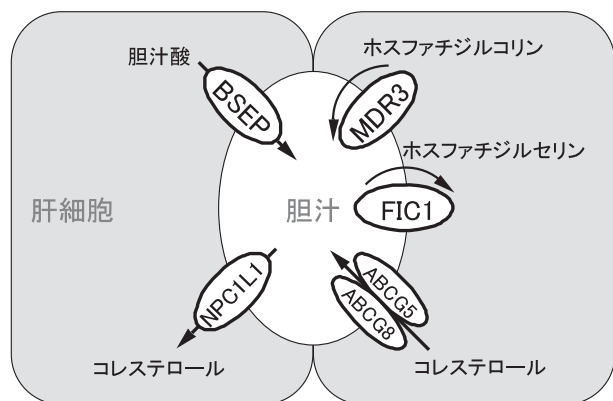


図1 毛細胆管膜上の胆汁脂質トランスポーター<sup>4)</sup>  
肝細胞毛細胆管膜(胆管側膜)上には多くのトランスポーターが発現し、適切な胆汁形成に役立っています。ヒトでは消化管に加え肝臓にもNPC1L1が高発現しています。

病院薬剤部での研究を始めるにあたり、単なる生理学研究ではなく、薬剤師が行う薬剤学研究としても意義のある研究課題はないだろうかと考えていた頃、新規脂質異常症治療薬エゼチミブ(ゼチーア: コレステロールの消化管吸収阻害を介してLDLコレステロール低下作用をもたらすと考えられている)の薬効標的分子としてNPC1L1を見出した論文を目にし<sup>2)</sup>、研究を開始することにしました。学生時代から秋田さんや林くんとともに胆汁酸研究に触れており、胆汁酸→リン脂質(ホスファチジルコリン)→コレステロールがこの順にトランスポーターを介して輸送され生じる胆汁形成に興味があったことも、決断を後押ししました(図1)<sup>3,4)</sup>。

ノックアウトマウスを用いた解析から、NPC1L1がコレステロールの消化管吸収に寄与することや、エゼチミブによる阻害作用に必要であることは示されていましたが<sup>2,5)</sup>、当時は*in vitro*機能解析系の報告はありませんでした。そこで、NPC1L1の高発現細胞株を構築することにしました。ヒト、ラット、マウスのいずれのNPC1L1遺伝子も全長配列を得るのが困難であること、NPC1L1を高発現する細胞は

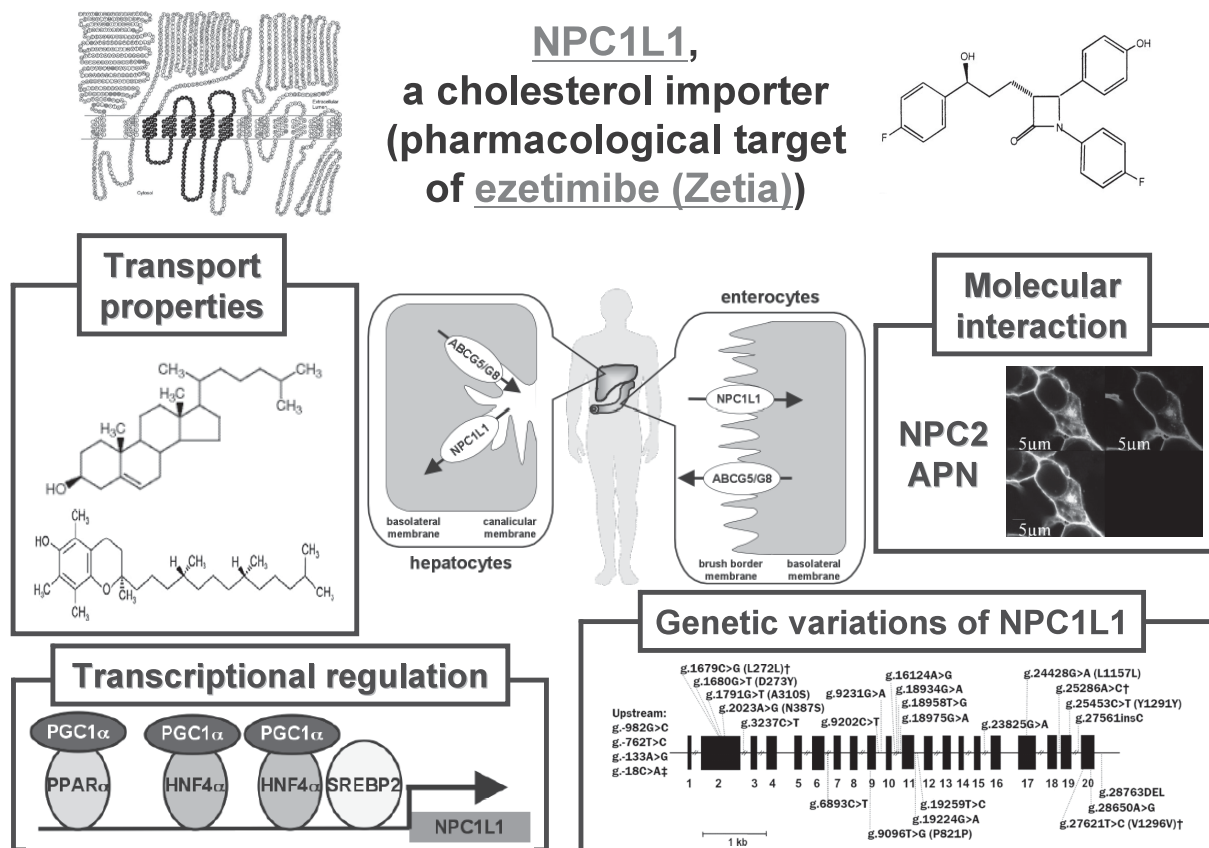


図2 NPC1L1 とエゼチミブ

## 痛風の遺伝子 突き止めた

痛風の主要な原因遺伝子を、防衛医大や東大など11大学・機関の共同研究チームが世界で初めて突き止めた。この遺伝子の変異によって最大で26倍発症しやすくなるという。5日付の米科学誌「サイエンス・トランスレーショナル・メディシン」電子版に発表する。

松尾洋孝・防衛医大助教と高田龍平・東大病院助教らは、腎臓や小腸で体外へ毒物を排出するポンプとして働く「ABC G 2」というたんぱく質に着目。

患者と健康な人計1093人について、ABC G 2を作る遺伝子の配列を比較した。

その結果、ポンプをつくれないう遺伝子変異や、ポンプの数が半分にしかない遺伝子変異が、患者の8割で見つかった。変異遺伝子を両親から受け継いだ場合は最大26倍、どちらか一方だけを受け継いだ場合は3～4倍、痛風を発症しやすくなることもわかった。松尾助教は「効果的な予防や治療に役立つだろう」と話している。

防衛医大・東大などチーム

図3 読売新聞 平成21年11月5日朝刊掲載記事(読売新聞社より許可を得て掲載)  
この成果は東大からプレスリリース(<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/news/news.php?newsid=575>), 日本経済新聞, 朝日新聞など全国紙五紙やNHK, Yahoo ニュースでも取り上げていただきました。

増殖が遅くなる傾向があること, NPC1L1の輸送活性は一部の細胞種でしか見えないこと(原因は現時点では不明ですが, 私達の実験手法ではいまのところCaco-2細胞のみ), などの種々の問題に直面しましたが, 少しずつ工夫を重ね克服し<sup>6)</sup>, 得られた細胞株を用いてNPC1L1の新規基質としてビタミンEを見出すなど<sup>7,8)</sup>, その後の研究に役立っています。NPC1L1については転写調節や相互作用分子, 機能の個人差などに関する研究も進めています(図

2), 依然として難しくも興味深い分子であり, これからの研究の発展が楽しみです。

## 5. BCRP/ABCG2

私が博士課程のときに研究対象にしていたBCRP/ABCG2は, もととはP-糖蛋白質(P-gp/MDR1/ABCB1)と同じく抗がん剤耐性に関わる分子として見出されましたが, その後の研究により広範な組織分布やさまざまな内因性・外因性基質, 多彩な生理機能が示されていました。

薬剤部に移って数年後のある日, 以前からの友人であった防衛医科大学校の松尾洋孝先生に, 「どうやらBCRP/ABCG2が尿酸を輸送し, 痛風発症リスクと関連する可能性があるから, いっしょに研究しませんか」と声をかけて頂きました。博士取得後, しばらくBCRP/ABCG2研究から離れていたこともあり, 二つ返事で…というわけではなかったのですが, 『腹を割って議論ができる, 気の合う仲間と共同研究がしたい!』という松尾先生の熱意に押され, 鈴木先生の許可の下, 伊藤先生, 大学院生の池淵祐樹くんとともに研究を開始しました。ベシクル実験による機能解析(主に東大担当)と多数の検体を用いた臨床研究(主に防衛医大担当)の同時進行でしたので, 毎晩のように電話でのディスカッションを重ね, 研究デザインを何度も練り直しながら研究を進めた

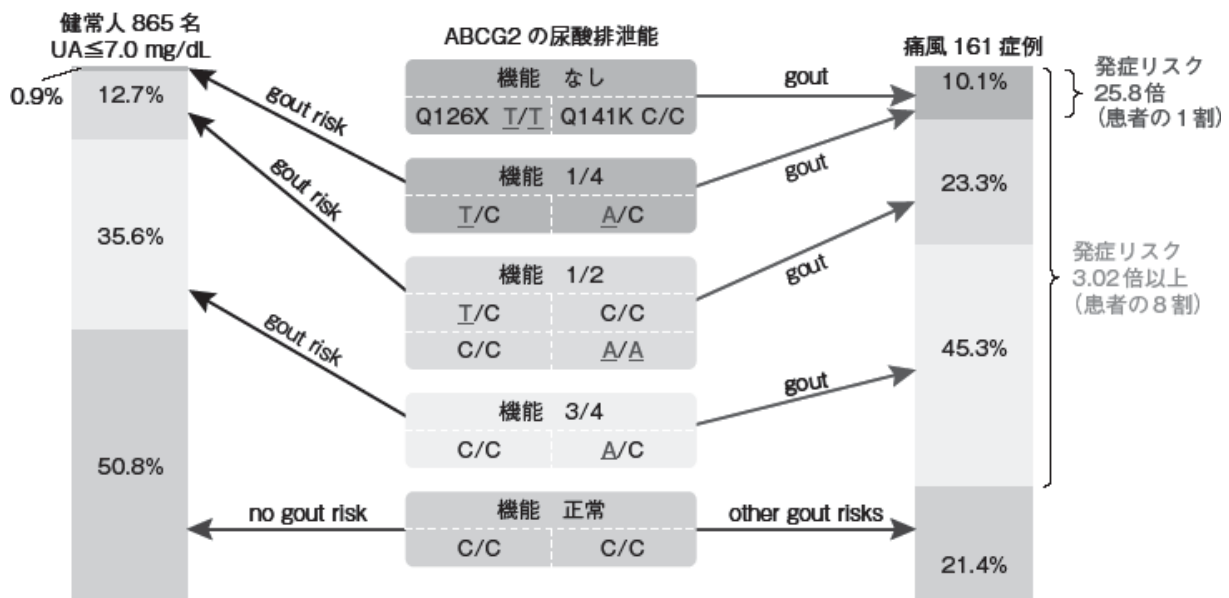


図4 BCRP/ABCG2の機能低下と痛風発症リスク<sup>9,10)</sup>  
BCRP/ABCG2の遺伝子多型の組み合わせに基づいて予測されるBCRP/ABCG2機能低下の程度に伴い, 痛風発症リスクは高値を示しました。UA: 血清尿酸値。

結果,最終的に何とか形にすることができました(図3)<sup>9)</sup>. BCRP/ABCG2は低親和性・高容量性の尿酸輸送能を持ち,高頻度に見られる遺伝子多型であるQ141Kが機能半減を, Q126Xが機能消失をもたらすこと, ABCG2の機能低下に応じて血中尿酸値が有意に上昇し, 遺伝子多型の組み合わせによっては痛風発症リスクが最大で25.8倍も高まることが明らかになりました(図4)<sup>9,10)</sup>. この成果は, ありふれた生活習慣病の1つである痛風の主要な病因遺伝子の世界初の発見となりましたが, 新たな生理機能として見出されたBCRP/ABCG2による尿酸排出や痛風発症との関連については未だ不明の点が多く残されていますので, 今後の研究で解明して行きたいと考えています.

## 6. お わ り に

以上, これまでの研究生活を思い出しつつ書かせて頂きました. 今後は, 生体内物質の全身動態の理解のために, 個々のトランスポーター分子のさまざまな特性を統合し, 一つのシステムとして捉えることを意識して研究を進めて行きたいと考えています. 今までにお世話になった多くの方々や, これから出会うであろう多くの仲間たちとの人の縁を大事にしながら, あまり自分の専門分野にこだわり過ぎることなく, 他の分野の研究者や一般の人にも興味を持ってもらえるような, わかりやすい研究をしたいです.

## 引 用 文 献

1) T. Takada, H.M. Weiss, O. Kretz, *et al.*, Hepatic transport of PKI166, an epidermal growth factor

receptor kinase inhibitor of the pyrrolo-pyrimidine class, and its main metabolite, ACU154, *Drug Metab Dispos.*, **32** (11), 1272–1278 (2004).

2) S.W. Altmann, H.R. Davis, Jr., L.J. Zhu, *et al.*, Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption, *Science*, **303** (5661), 1201–1204 (2004).

3) 高田龍平, 鈴木洋史, トランスポーターによる胆汁脂質輸送, *生化学*, **76** (6), 546–552 (2004).

4) 高田龍平, 鈴木洋史, ABCタンパク質による胆汁脂質分泌と遺伝性疾患, *最新医学*, **62** (11), 63–67 (2007).

5) 高田龍平, 鈴木洋史, NPC1L1・ABCG5/ABCG8によるコレステロール輸送と創薬, *遺伝子医学MOOK*, **12**, 231–236 (2009).

6) Y. Yamanashi, T. Takada, H. Suzuki, Niemann-Pick C1-like 1 overexpression facilitates ezetimibe-sensitive cholesterol and  $\beta$ -sitosterol uptake in Caco-2 cells, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **320** (2), 559–564 (2007).

7) K. Narushima, T. Takada, Y. Yamanashi, H. Suzuki, Niemann-Pick C1-like 1 mediates  $\alpha$ -tocopherol transport, *Mol. Pharmacol.*, **74** (1), 42–49 (2008). (*Mol. Pharmacol.*, 全論文中で月間ダウンロード回数10位以内(2008年4月))(Faculty of 1000 Biologyに採択(F1000 Factor 6.0, “Must Read”))

8) T. Takada, H. Suzuki, Molecular mechanisms of membrane transport of vitamin E, *Mol. Nutr. Food Res.*, **54** (5), 616–622 (2010).

9) H. Matsuo, T. Takada, K. Ichida, *et al.*, Common defects of ABCG2, a high-capacity urate exporter, cause gout: A function-based genetic analysis in a Japanese population, *Science Translational Medicine*, **1** (5), 5ra11 (2009). (*Science Translational Medicine* は, 2009年10月に創刊された, 米国科学誌 *Science* の医学系の姉妹誌で, 本論文は日本の研究グループによる最初の原著論文として掲載された)

10) 松尾洋孝, 高田龍平, 市田公美, 他, 痛風の主要な病因遺伝子 ABCG2 の同定, *実験医学*, **28** (8), 1285–1289 (2010).