

痛風に關与するトランスポーターの一塩基多型の機能解明

～痛風の病態解明と新規治療薬創製に期待～

ポイント

- ・痛風に關与するヒトモノカルボン酸輸送体 9 (hMCT9) の一塩基多型の発現系構築に成功。
- ・hMCT9 の二つの一塩基多型により、その輸送特性が変動することを解明。
- ・hMCT9 をターゲットとした新規作用機序の痛風治療薬の創製に期待。

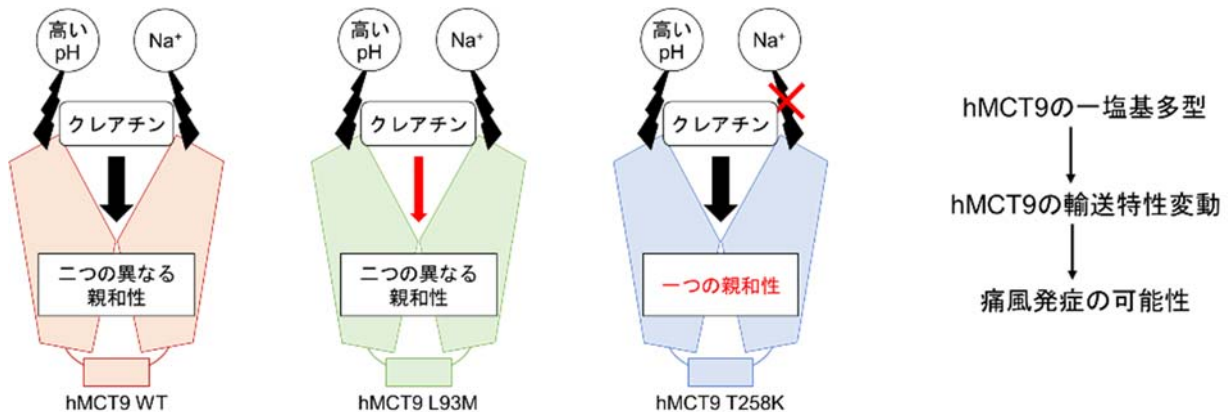
概要

北海道大学大学院生命科学院博士課程の山口敦史氏と同大学大学院薬学研究院の小林正紀教授らの研究グループは、部位特異的変異導入法及びアフリカツメガエル卵母細胞^{*1}を用いた発現系を使用して、hMCT9 の一塩基多型^{*2}により輸送特性が変動することを解明しました。

hMCT9 は二つの一塩基多型 (rs550527563、rs2242206) が知られています。rs550527563 は 93 番目のロイシン残基がメチオニン残基に変異しており (L93M)、早発型の痛風との関連が示唆されています。また、rs2242206 は 258 番目のスレオニン残基がリジン残基に変異しており (T258K)、腎負荷型^{*3}の痛風との関連が示唆されています。しかしながら、これらの一塩基多型により hMCT9 の生体内での役割やトランスポーター^{*4}としての機能がどのように変動するかは不明でした。研究グループはこれまでに hMCT9 野生型 (WT) はクレアチンを輸送すること、高い pH と Na⁺により輸送活性が増大する pH、Na⁺感受性のトランスポーターであること、クレアチンに対して二つの異なる親和性^{*5}を示すという特徴を有していることを明らかにしています。そこで、本研究では hMCT9 の二つの一塩基多型がトランスポーターとしての機能にどのような影響を及ぼすのかを明らかにするために、L93M と T258K を作製しアフリカツメガエル卵母細胞に発現させて、hMCT9 WT と比較することとしました。

本研究により hMCT9 L93M によりクレアチン輸送活性が低下する傾向にあること、hMCT9 T258K では Na⁺感受性が消失し、クレアチンに対しては一つの親和性のみを示すことを明らかとしました。これらの結果から、hMCT9 の一塩基多型によりその機能が変動することを明らかにしました。

なお、本研究成果は 2023 年 10 月 24 日 (火) に Life sciences 誌にオンライン掲載されました。



【背景】

高尿酸血症は遺伝的要因や生活習慣を含む環境要因が関与して発症するとされており、体内の尿酸が蓄積することで関節炎を主とした痛風発作が引き起こされる疾患です。遺伝的な要因としては尿酸産生を亢進させる遺伝子変異のほかに、尿酸トランスポーターの機能低下を引き起こす遺伝子変異も知られています。それらの遺伝子変異による尿酸輸送能の違いが、高尿酸血症や痛風の発症に関与すると考えられています。

ヒトモノカルボン酸輸送体 9 (hMCT9) は、クレアチンを細胞の内外へと輸送するトランスポーターです。研究グループはこれまでに、細胞外の pH が高い時や、Na⁺が存在する時にクレアチンの輸送活性が増大することを明らかにしています。加えて、クレアチンの濃度に応じて、異なる二つの親和性を示すことも見出しています。また、全ゲノム関連解析というヒトゲノム全体の一塩基多型と疾患との関連性を解析する研究により、hMCT9 が血中尿酸値と関連することが示唆されていました。hMCT9 の一塩基多型のうち、稀少な変異である rs550527563 では、93 番目のロイシン残基がメチオニン残基に変異しており (L93M)、早発型の痛風と関連することが報告されています。別の一塩基多型の rs2242206 は、258 番目のスレオニン残基がリジン残基に変異する多型であり、日本人痛風患者の約 4 割で認められています。この遺伝子変異は腎負荷型の痛風と関連することが報告されています。

hMCT9 の生体内での役割や、血中尿酸値との関連性に関する基礎的な知見は不足しています。しかしながら上述のような遺伝子解析により、hMCT9 の一塩基多型がその機能に何らかの影響を及ぼすことで、痛風発症に関連すると推察されます。加えて、先述の二つの一塩基多型はトランスポーターを構成しているアミノ酸残基の変異が生じていることから、トランスポーターとしての機能に影響していると考え、hMCT9 の野生型 (WT) と基質輸送機能を比較することとしました。

【研究手法】

hMCT9 の二つの一塩基多型を評価するため、部位特異的変異導入法を用いて変異体 (L93M と T258K) を作製しました。hMCT9 WT と作製した L93M、T258K の遺伝子をアフリカツメガエル卵母細胞に直接注入することで、hMCT9 WT、L93M、T258K を発現させた卵母細胞を得ました。この卵母細胞を用いて、放射標識されたクレアチンの輸送活性を測定し、WT と比較することで一塩基多型の影響を評価しました。

【研究成果】

hMCT9 WT、L93M、T258K はアフリカツメガエル卵母細胞に発現しており、すべての発現系にてクレアチンを輸送することが示されました。従って、二つの一塩基多型 (L93M と T258K) の発現系の構築に成功しました。

次に、一塩基多型による影響を評価するため、クレアチン輸送活性の比較を行いました。その結果、hMCT9 L93M では hMCT9 WT と比較して輸送活性が低下する傾向にあり、その機能が低下していることが示唆されました (図 1)。また、hMCT9 WT は高い pH や Na⁺の存在により、輸送活性は増大します。そこで、pH や Na⁺の影響を変異体で確認したところ、hMCT9 T258K では Na⁺の有無にかかわらず、同程度の輸送活性を維持していました (図 1)。さらにクレアチンに対する親和性を比較したところ、hMCT9 WT では異なる二つの親和性を示した一方で、hMCT9 T258K では一つの親和性のみ示し、親和性の程度も hMCT9 WT の異なる二つの親和性の中間的な値を示しました (図 2)。このことから、hMCT9 T258K では Na⁺に対する感受性や基質親和性が変動することが明らかとなりました。

hMCT9 L93M では早発型の痛風との関連が報告されています。本研究により、hMCT9 L93M における輸送機能の低下が、早期に痛風を発症する要因ではないかと推察されます。また、hMCT9 T258K では、腎負荷型の痛風と関連することから、hMCT9 が尿酸の腎外排泄に関与しているのではないかと報告されています。本研究では hMCT9 T258K が Na⁺感受性や基質親和性に関与していることから、腎以外における hMCT9 周辺環境要因による影響を受けているのではないかと考察しています。

【今後への期待】

本研究により、hMCT9 の一塩基多型がその機能に直接的な影響を及ぼすことが明らかとなりました。これらの機能変動による血中尿酸値の調節メカニズムは未解明ですが、更なる研究を推進することで、高尿酸血症や痛風の病態の一端を解明できるのではないかと考えています。また、将来的には hMCT9 をターゲットとした新規の高尿酸血症治療薬の創製に寄与することが期待されます。

【謝辞】

本研究は日本学術振興会科学研究費（22H04330）の助成を受け実施されました。

論文情報

論文名	Molecular characteristic analysis of single-nucleotide polymorphisms in <i>SLC16A9</i> /hMCT9. (SLC16A9/hMCT9 一塩基多型の分子特性評価)
著者名	山口敦史 ^{1,2} 、向井悠斗 ² 、佐久間智也 ³ 、菅沼雄大 ³ 、古堅彩子 ⁴ 、鳴海克哉 ⁴ 、小林正紀 ⁴ (¹ 北海道大学病院薬剤部、 ² 北海道大学大学院生命科学院、 ³ 北海道大学薬学部、 ⁴ 北海道大学大学院薬学研究院)
雑誌名	Life sciences (生化学・薬学の専門誌)
DOI	10.1016/j.lfs.2023.122205
公表日	2023年10月24日(火)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院臨床薬剤学研究室 教授 小林正紀 (こばやしまさき)

T E L 011-706-3770 F A X 011-706-3770 メール masaki@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <http://rinshoyakuzaigaku.pharm.hokudai.ac.jp/>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

クレアチン輸送活性の比較とNa⁺の影響評価

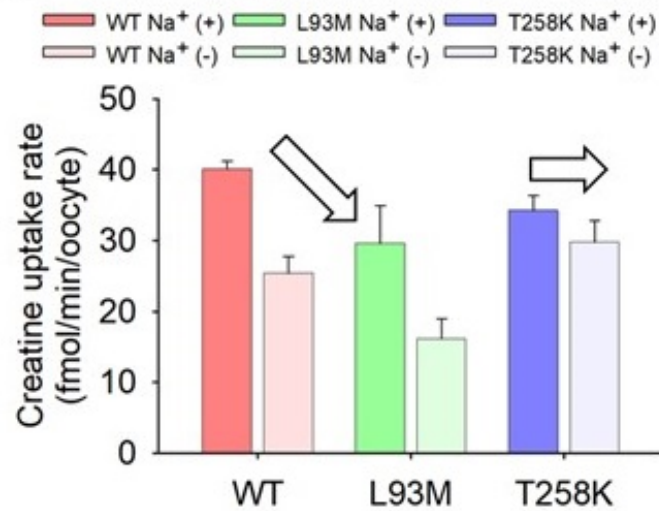


図 1. クレアチン輸送活性の比較と Na⁺の影響の評価。

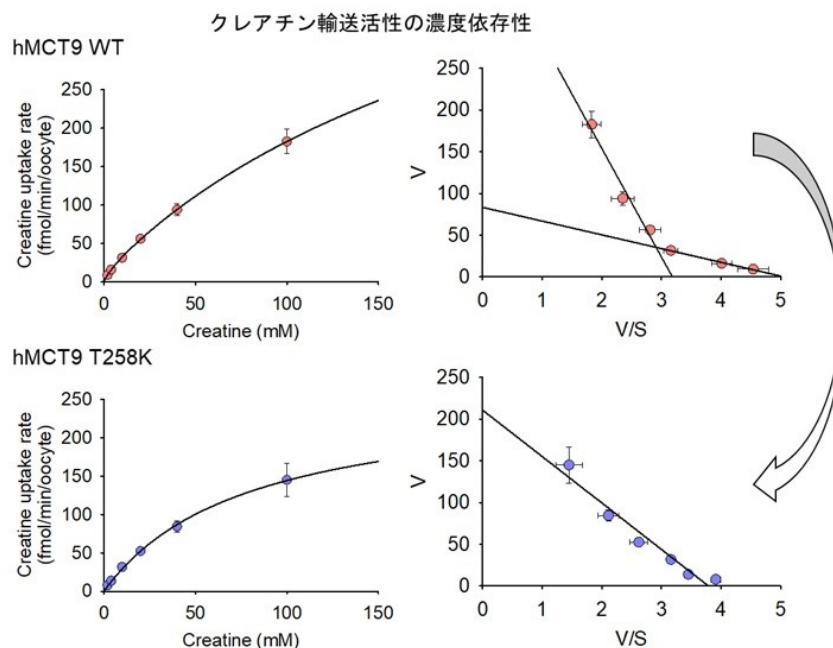


図 2. hMCT9 WT と hMCT9 T258K の、クレアチンに対する親和性の比較。

【用語解説】

- *1 アフリカツメガエル卵母細胞 … アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) より得られる卵母細胞で、その取扱いの容易さからトランスポーターなどの膜タンパク質の生物活性評価に汎用されている。
- *2 一塩基多型 … 人の遺伝子情報を担う DNA のうち、塩基配列が一つだけ異なること。
- *3 腎負荷型 … 尿酸産生増加と腎臓以外の尿酸排泄減少による高尿酸血症のこと。
- *4 トランスポーター … 生体膜において物質の輸送に関わるタンパク質のこと。
- *5 親和性 … 基質とトランスポーターの結合のしやすさのこと。