

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		人工カクテル異物代謝酵素を用いる環境汚染物質のハイスループット毒性評価法の構築			
研究テーマ (欧文) AZ		Development of high-throughput toxicity evaluation for environmental pollutants using artificial drug-metabolizing enzymes			
研究氏 代 表 者	カカナ CC	姓)ハニオカ	名)ノブミツ	研究期間 B	2013～ 2014年
	漢字 CB	埴岡	伸光	報告年度 YR	2014年
	ローマ字 CZ	Hanioka	Nobumitsu	研究機関名	横浜薬科大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		横浜薬科大学 教授			
<p>概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)</p> <p>生体異物を解毒・活性化する「異物代謝酵素」の機能の個人差に着目し、ヒトを取り巻く環境汚染物質のハイスループット毒性評価法の構築を目指して。以下の2研究課題を推進した。</p> <p>(1)異種細胞発現系異物代謝酵素によるシックハウス症候群化学物質の代謝 シックハウス症候群原因化学物質と異物代謝酵素の遺伝子多型の関連性を解明するために、野生型 CYP2E1 及び3種類のアミノ酸置換を伴う変異型 CYP2E1 (CYP2E1*2、CYP2E1*3 及び CYP2E1*4 酵素を酵母細胞に発現させ、これら酵素によるトルエン及びベンゼンの水酸化反応について検討した。野生型及び変異型 CYP2E1 発現酵母細胞マイクロゾームによるトルエン及びベンゼンの水酸化反応の速度論的パラメーター値には、野生型酵素と変異型酵素との間で有意な差は認められなかった。これらの結果から、酵母細胞を用いた in vitro 系において CYP2E1*2、CYP2E1*3 及び CYP2E1*4 におけるアミノ酸置換は CYP2E1 酵素のトルエン及びベンゼンに対する代謝能に顕著な影響を与えないことが明らかとなった。</p> <p>(2)人工多能性幹細胞(iPS細胞)由来肝細胞における異物代謝酵素の発現解析 iPS細胞を肝細胞様細胞に分化し、異物代謝酵素の mRNA の発現解析を行った。その結果、iPS細胞由来の肝細胞様細胞において、成人肝で発現している8種類のUGT分子種(UGT1A1、UGT1A6、UGT2B4、UGT2B7、UGT2B10、UGT2B11、UGT2B15 及び UGT2B17)の mRNA 発現が確認された。また、3-メチルコラントレンにより CYP1A1 及び CYP1B1、並びに UGT1A1 mRNA 発現が誘導されたことから、本研究において作製したヒト iPS細胞由来分化誘導肝細胞には薬物代謝酵素誘導能を有していることが確認された。</p>					
キーワード FA	異物代謝酵素	環境汚染物質	毒性評価法	人工多能性幹細胞	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA				研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC				シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	cDNA cloning and functional analysis of minipig UDP-glucuronosyltransferase 1A1							
	著者名 ^{GA}	Miyake Y, Hanioka N <i>et al.</i>	雑誌名 ^{GC}	Biol Pharm Bull					
	ページ ^{GF}	452~461	発行年 ^{GE}	2	0	1	3	巻号 ^{GD}	36(3)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Effect of UDP-glucuronosyltransferase 1A8 polymorphism on raloxifene glucuronidation							
	著者名 ^{GA}	Kokawa Y, Hanioka N <i>et al.</i>	雑誌名 ^{GC}	Eur J Pharm Sci					
	ページ ^{GF}	199~205	発行年 ^{GE}	2	0	1	3	巻号 ^{GD}	49(2)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Butylbenzyl phthalate hydrolysis in liver microsomes of humans, monkeys, dogs, rats and mice							
	著者名 ^{GA}	Takahara Y, Hanioka N <i>et al.</i>	雑誌名 ^{GC}	Biol Pharm Bull					
	ページ ^{GF}	703~706	発行年 ^{GE}	2	0	1	4	巻号 ^{GD}	37(4)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Functional characterization of cynomolgus monkey UDP-glucuronosyltransferase 1A9							
	著者名 ^{GA}	Yamamoto K, Hanioka N <i>et al.</i>	雑誌名 ^{GC}	Eur J Drug Metab Pharmacokinet					
	ページ ^{GF}	195~202	発行年 ^{GE}	2	0	1	4	巻号 ^{GD}	39(3)
雑誌	論文標題 ^{GB}	<i>In vitro</i> glucuronidation of propofol in microsomal fractions from human liver, intestine and kidney: tissue distribution and physiological role of UGT1A9.							
	著者名 ^{GA}	Mukai M, Hanioka N <i>et al.</i>	雑誌名 ^{GC}	Pharmazie					
	ページ ^{GF}	829~832	発行年 ^{GE}	2	0	1	4	巻号 ^{GD}	69(11)

欧文概要 EZ

The purpose of this study was to develop new high-throughput toxicity evaluation for environmental pollutants using artificial drug-metabolizing enzymes. To achieve this, we promoted two projects.

(1) Functional characterization of variant drug-metabolizing enzymes: effect of CYP2E1 polymorphism on metabolism of toluene and benzene

The values of kinetic parameters (K_m , V_{max} and C_{Lint}) for CYP2E1*2, CYP2E1*3 and CYP2E1*4 were comparable to those of wild-type CYP2E1 in any oxidative metabolism. The findings obtained may mean that the polymorphic alleles of CYP2E1 causing amino acid substitutions are not directly associated with the metabolic activation of benzene and toluene.

(2) Expression of drug-metabolizing enzyme mRNAs in human induced pluripotent stem cell derived hepatocyte-like cells

RT-PCR analysis showed that hepatocyte-like cells expressed UGTs (UGT1A1, UGT1A6, UGT2B4, UGT2B7, UGT2B10, UGT2B11, UGT2B1 and UGT2B1). Furthermore, 3-methylcholanthrene remarkably induced CYP1A1 and CYP1B1 mRNA expression levels in iPS cell-derived hepatocyte-like cells as well as human adult livers. The findings suggested that the expression and inducibility of CYP and UGT in iPS cell-derived hepatocyte-like cells are similar that of human livers.