

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		希少鳥類の保全に向けた薬理・毒性学的アプローチと臨床応用～タンチョウを例に～			
研究テーマ (欧文) AZ		Pharmacological and toxicological approaches and clinical application for conservation of endangered birds ~ Red-crowned cranes as an example ~			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓)クボタ	名)アキラ	研究期間 B	2017 ~ 2019 年
	漢字 CB	久保田	彰	報告年度 YR	2019 年
	ローマ字 CZ	Kubota	Akira	研究機関名	帯広畜産大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		帯広畜産大学獣医学研究部門・准教授			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)					
<p>タンチョウ (<i>Grus japonensis</i>) は現在、環境省の絶滅危惧Ⅱ類に分類され、保護増殖事業が行われている。その一環として傷病個体保護が行われ、投薬治療が必要になるケースが生じる。タンチョウに対する薬物の投与量は、知見の不足から、他の鳥類での報告を基に決定されている。しかし薬物感受性には種差があるため、外挿を基にした投薬は副作用の危険性がある。そこで本研究では、薬物感受性種差の要因となりうるシトクロム P450 (CYP) 1-3 に着目し、タンチョウにおける肝発現分子種の同定や主要分子種の機能解析などにより、種固有の薬物感受性に関する基礎情報を得ることを目的とした。</p> <p>道東にて野生下で、または釧路市動物園で収容後死亡した 14 羽の肝臓から全 RNA を抽出し、次世代シーケンス解析およびリアルタイム PCR 解析で肝発現 CYP1-3 遺伝子の同定・定量を行った。また主要肝発現 CYP 分子種については、全長配列を基に人工遺伝子を合成し、酵母発現系を用いて CYP タンパク質の異種発現を行った。その後酵母ミクロソームおよび肝臓ミクロソーム画分を用いて CYP 依存酵素活性を測定した。</p> <p>タンチョウ肝臓において優位に発現している CYP1-3 遺伝子のなかで、中央値で比較して CYP3A37 が最も多く発現し、CYP2AC1 がそれに続いた。タンチョウにおける肝 CYP1-3 発現パターンは、ニワトリなど他鳥種における発現パターンと顕著に異なっていたことから、薬物感受性の種差が示唆された。</p> <p>CYP3A37 および CYP2AC1 タンパク質を酵母細胞に発現させることに成功した。いずれの CYP 発現体も複数のヒト CYP2/3 基質をわずかに代謝した。続いて臨床現場で頻用される薬物の CYP 依存酵素活性への影響を評価したところ、CYP2AC1 酵素活性の一部はアゾール系抗真菌薬によってわずかに抑制された。本研究により、これまで機能未知の鳥類 CYP2AC1 について、基質代謝および薬物による阻害作用を確認した。一方、CYP3A37 酵素活性は、アゾール系抗真菌薬による阻害をほとんど受けなかった。</p> <p>肝ミクロソームを用いた試験では、多様な CYP1/2/3 基質の代謝に加え、頻用薬物および環境汚染物質による酵素活性への影響が認められた。なかでも、アゾール系抗真菌薬や、タンチョウで中毒事例のある有機リン系殺虫剤フェンチオンなどによる CYP1A 依存酵素活性の阻害作用が顕著に認められた。</p> <p>本研究により、CYP1A および CYP2AC によって代謝される薬物をアゾール系抗真菌薬と併用した場合、CYP 酵素の阻害によって併用薬の血中濃度が単独投与時よりも上昇する可能性が示唆された。アゾールを臨床現場で他の薬物と併用する際には、薬物相互作用に注意する必要があると考えられた。</p>					
キーワード FA	タンチョウ	シトクロム P450	感受性種差	薬物相互作用	

(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}	Hepatic transcriptional profile and tissue distribution of cytochrome P450 1-3 genes in the red-crowned crane <i>Grus japonensis</i>							
	著者名 ^{GA}	Kawai YK, et al.	雑誌名 ^{GC}	Comparative Biochemistry and Physiology, Part C					
	ページ ^{GF}	108643	発行年 ^{GE}	2	0	2	0	巻号 ^{GD}	228
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

The endangered red-crowned crane (*Grus japonensis*) is a protected species in eastern Hokkaido and injured specimens are treated with medication. The present study aimed at obtaining basic information on drug susceptibility in this species by clarifying expression profiles of *cytochrome P450 (CYP) 1-3* genes, CYP-dependent enzymatic activities, and their inhibitory profiles by clinically important drugs and environmental contaminants, using hepatic microsomes and heterologously expressed CYP enzymes.

We used 14 individuals found dead in the wild in eastern Hokkaido or in Kushiro City Zoo. Nine *CYP1-3* genes expressed in the liver of the red-crowned crane were identified by high-throughput sequencing. Based on the quantitative real-time PCR, *CYP3A37* was predominantly expressed in the liver, followed by *CYP2AC1*. The expression pattern in the crane was markedly different from that in other avian species, suggesting possible species difference in CYP-dependent metabolic profiles.

CYP3A37 and *CYP2AC1* abundantly expressed in the crane liver were successfully expressed in yeast cells. Yeast microsomes containing each of *CYP3A37* and *CYP2AC1* showed activities towards several substrates of human CYP2/3. Azole antifungals showed no inhibitory effects on the CYP-dependent activities in the yeast microsomes expressing *CYP3A37*, whereas ketoconazole showed slight inhibition of *CYP2AC1* activities.

Hepatic microsomes showed CYP-dependent enzymatic activities toward a variety of CYP substrates. Inhibitory effects of azole antifungals and organophosphorus pesticides to the hepatic microsomal CYP1A activities were observed.

Caution should be exercised when using azole antifungal drugs in combination with other classes of drugs that are presumed to be metabolized by CYP1A or CYP2AC enzymes. Combinations of these drugs might cause drug-drug interactions, which may lead to higher blood concentrations and, consequently, poisoning.