

論文要旨

ヒト薬剤代謝関連遺伝子にみられる一塩基置換が
タンパク質の機能と構造に及ぼす影響の生命情報学を用いた研究

坂本美佳

近年、塩基配列の解析技術が向上し、ヒトゲノムに存在する遺伝子の多様性（バリエーション）が数多く明らかになった。ヒトゲノム配列バリエーションデータベースgnomADや薬物代謝関連遺伝子データベースPharmVarなどに遺伝子のバリエーションの情報が登録されている。米国国立生物工学情報センター（National Center for Biotechnology Information, NCBI）のデータベースClinVarにはヒトゲノムのバリエーションと疾患との関係が記載されているが、ごく最近見つかったバリエーションについては疾患との関連についての情報はまだ十分ではない。個人の全ゲノム配列を対象とする解析、またはゲノムの1~2%に相当しタンパク質の情報をもつ領域である全エキソンを対象とした解析による薬剤の効果や疾患原因を探る検査が行われるようになり、影響未知のバリエーションが多く発見されることも問題となっている。

本研究ではヒトゲノム配列にみられる多様性のうち、薬剤の輸送と代謝に関連する遺伝子に着目した。薬物が細胞内で代謝される時、初めに細胞内への薬物の輸送、薬物が酸化・還元・加水分解をうける第1相反応、極性基の転移をうける第2相反応、最後に代謝された薬物の細胞外への排出がおこる。細胞内への輸送はSLCトランスポーターやチャネルが行い、ヒトシトクロムP450（P450）は第1相反応に関与し、多くの転移酵素が第2相反応に関与する。細胞外への排出は主にABCトランスポーターが行う。

P450には、多くのアイソザイムが存在し、薬物代謝のほか生体内のステロイド合成などに関わっている。P450をコードする遺伝子群には多くのバリエーションが見つかる。それらのバリエーションの出現頻度に地域差があることが知られている。また、それらのバリエーションにより薬物動態の違いが生じ、薬物の投与量に影響を与える事例があることも知られている。また、P450バリエーションについてはこれまで多くの研究が行われてきた。単一の遺伝子についての研究が多く、P450全体を俯瞰して解析したものは少ない。本研究では、P450遺伝子ミスセンスバリエーションの全体像を俯瞰することで、P450遺伝子ミスセンスバリエーションに共通してみられる特徴を明らかにすることをめざした。はじめに、地域の違いによるミスセンスバリエーションの発生箇所の偏りを検討した。その結果、P450遺伝子ミスセンスバリエーションのうち3つの地域（東アジア系、アフリカ系、ヨーロッパ系）で出現頻度が異なるバリエーションでは、リシンからメチオニンへの置換およびアルギニンからプロリンへの置換は、出現頻度の地域差が存在する割合が高い

傾向がみられた。基質認識部位とヘム結合領域にバリエーションがおこる割合には、一部の領域を除き、3つの地域での出現頻度の違いによる差がなかった。P450遺伝子ミスセンスバリエーションは一定の割合で中立的に起こり、タンパク質の機能に重要なアミノ酸残基を置換する場合、地域の外的環境の違いなどの要因によりミスセンスバリエーションの残りやすさが異なることが示唆された。

つぎに、P450遺伝子ミスセンスバリエーションのタンパク質機能への影響予測を試みた。既知のタンパク質への影響ありバリエーションとの距離の情報およびタンパク質相互作用に関わるアミノ酸残基との距離の情報によるランダムフォレスト法を用いた影響予測モデルを構築した。この影響予測モデルは、既存のミスセンスバリエーション影響予測法と比較しても良い成績であった。gnomAD exomeに存在するP450遺伝子ミスセンスバリエーションのうち影響未知のものに影響予測モデルを適用したところ、約1/3のミスセンスバリエーションがタンパク質への影響ありバリエーション候補と予測された。タンパク質の立体構造データから得られるアミノ酸残基間の空間的情報がP450遺伝子ミスセンスバリエーションの影響予測に役立つ可能性を示唆した。

さらに、薬物の代謝物の細胞外排出にかかわるタンパク質であるABCトランスポーターについて疾患原因となるバリエーションと立体配座の関係を解析した。ABCトランスポーターのアポ型とATP結合型を含む各種立体構造を比較し、膜貫通ドメイン中の分子内回転の中心点となるアミノ酸残基の周りの立体配座変化を見出した。また、この立体配座変化と、病原性バリエーションの位置を比較し、バリエーションによる立体配座変化の障害がATPの結合と膜表面相互作用を弱めることで疾患を引き起こす可能性を明らかにした。

本研究の成果は、病原性バリエーションがどのような機能をもつかを解明するため、立体構造データを利用した新しいアプローチである。そして、遺伝子バリエーションがもたらす個人差を明らかにし、疾患原因や薬物の効果などの個人差に対応した疾患予防や個別化医療を推進するための一助となることが期待される。