

8	RNA編集の時刻変動を基軸にした時間薬物療法	小柳 悟
---	------------------------	------

【目的】 薬物の吸収・分布・代謝・排泄に関わるトランスポーターやチトクローム P450 (CYPs) などの活性には大きな個人差が認められ、薬物治療の最適化における妨げのひとつになっている。過去 30 年近くにわたり、これら分子の DNA シーケンス解析を中心に様々な検討が行われてきたが、その個人差の原因は十分に解明されていない。一方、我々は生体機能の 24 時間周期の変動を制御する「時計遺伝子」によって、トランスポーターや CYPs、受容体など「薬効関連分子」の発現に時刻変動が引き起こされることを見出し、薬物の効果や体内動態が同一個体内でも時刻によって変容することを明らかにしてきた。また、最近の研究で RNA 編集酵素 (ADAR) が DNA の変化をとまわずに RNA の配列を時刻依存的に書き換え、薬効関連分子の発現・機能に概日リズムを引き起こすことを見出している。本研究では ADAR による RNA 編集を基軸に、薬物の効果・体内動態に時刻による変動が生じる機序について検討を行った。

【方法】 実験には自由摂食・摂水、明暗周期条件下 (明期 7:00~19:00) で飼育した ICR 雄性マウスおよび同様の環境下で飼育した雄カニクイザルを用いた。また、培養ヒト腎近位尿細管上皮細胞 (RPTECs) に ADAR1 に対する shRNA を発現するレンチウイルスを感染させることで、ADAR1-knockdown (KD) RPTECs を作製した。概日時計機構の同調実験では、RPTECs を 100 nM dexamethasone に 2 時間曝露し、時計遺伝子の発現リズムを指標にモデルの妥当性を確認した。各動物組織および培養細胞から調製したサンプルを対象に、mRNA 発現量は RT-PCR 法、タンパク質発現量は Western blotting 法で測定した。また、サンガー法でシーケンス解析し、RNA 編集の有無を確認した。

【結果】 マウス、カニクイザルに腎臓および概日時計機構を再構築した RPTECs においても ADAR1 の発現は有意な 24 時間周期の変動を示し、本酵素の発現リズムに応じて特定の遺伝子の RNA 上のアデノシンは時刻依存的にイノシンへと変換されていた。ADAR1-KD の RPTECs を対象に本酵素の有無によって発現が制御をうける薬物輸送トランスポーターの探索を行った。その結果、P 糖タンパク質 (P-gp) をコードするヒト *ABCB1* mRNA の発現低下および Multidrug Resistance Protein-4 (MRP4) をコードするヒト *ABCC4* mRNA の発現上昇が観察された。この原因について解析したところ、ADAR1 は P-gp をコードする *ABCB1* 遺伝子のイントロン 27 のスプライシング効率を時刻依存的に変容させ、その発現と薬物輸送活性に概日リズムを引き起こしていることが明らかになった。また、ADAR1 は *HIPK3* 遺伝子におけるバックスプライシングにも影響を及ぼし、環状 RNA である circHIPK3 の産生制御を介して MRP4 の翻訳および発現量に個体差が生じることが示唆された。概日時計機構を再構築した RPTECs において P-gp の発現は ADAR1 のリズムによって時刻依存的に変動したが、同細胞で MRP4 の発現には概日リズムが認められなかった。これは ADAR1 による MRP4 の発現制御を仲介する環状 RNA が細胞内で安定的に存在するためだと考えられた。これらの結果は、腎臓からの薬物排泄における投薬時刻の違いや個人差についての新たなメカニズムを示唆するものであり、ADAR1 は時計遺伝子とは異なる機構で薬効の効果や体内動態に関わる分子の発現や概日リズムを制御していることが明らかになった。

RNA 編集酵素 (ADAR1) による近位尿細管における薬物排泄トランスポーターの発現制御

