

安全性評価へのクロスオミックスアプローチ —ゲノミクスとメタボロミクスの統合解析—

住友化学株式会社 生物環境科学研究所

住田 佳代 福田 貴子

はじめに

オミックスとは、生体中の遺伝子、タンパク質、内因性代謝物などの分子全体を網羅的に解析する研究を意味する。近年、DNAを解析対象とするゲノミクス、タンパク質を対象とするプロテオミクス、代謝物を対象とするメタボロミクスなどの各種オミックス領域を統合的に解析するクロスオミックスが注目されている¹⁾。

クロスオミックスでは、各種オミックスの情報を統合的に扱い、分子の動的なネットワーク/パスウェイに結びつけ、遺伝子、タンパク質、代謝物がどのように連携・作用して多様な機能を創造しているのか、その生命現象を分子レベルのシステムとして理解することが可能となる。クロスオミックスは、システムズ・バイオロジーとも称され、医薬品・食品・環境など様々な分野で、早期の疾病診断や患者の選択、化学物質の安全性予測、バイオマーカー探索、あるいは化学物質の作用機序解析などに有用な手段と考えられている。当研究所では安全性評価へのクロスオミックス解析（ゲノミクスとメタボロミクス）の応用を試みている。本稿では、鎮痛・解熱剤であるアセトアミノフェンを投与したラットのクロスオミックス解析結果を紹介する。

アセトアミノフェンの毒性メカニズム

アセトアミノフェンを多量に摂取すると肝毒性が現れる。これは、肝臓内の代謝酵素（シトクロムP450）によりアセトアミノフェンが代謝されて生成する*N*-アセチル-*p*-ベンゾキノニンイミン（NAPQI）によるものと考えられている。通常、NAPQIは強い求電子性を持ち、肝臓内で解毒作用を有するグルタチオンのチオール基と反応し、抱合体となって無毒化されたメルカプツール酸抱合体として尿中に排泄される。しかし、多量摂取時には肝臓内のグルタチオンが枯渇し、NAPQIは肝細胞内のタンパク質や核酸と結合するため肝細胞が障害を受ける（Fig. 1）²⁾。

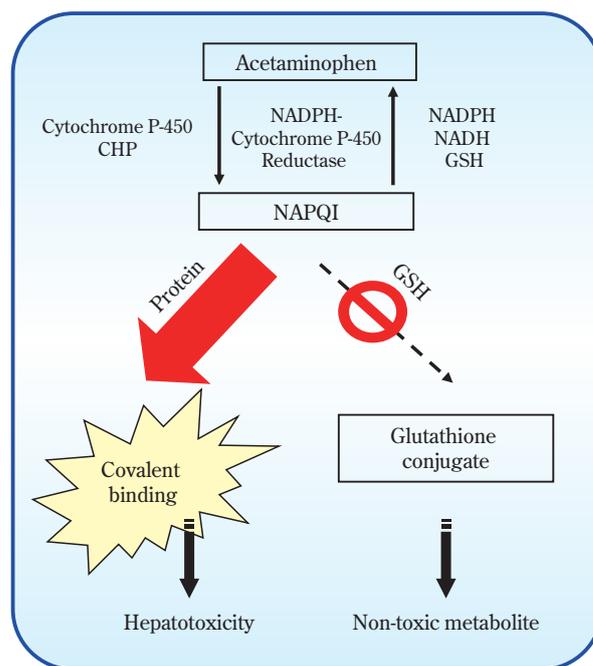


Fig. 1 Formation and decomposition pathway for NAPQI.

NAPQI, an electrophile, binds to protein or nucleic acid under the glutathione depletion. NAPQI, *N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine; CHP, cumene hydroperoxide; GSH, glutathione.

クロスオミックスによる解析

アセトアミノフェンを1000 mg/kgの用量で投与したラットの肝臓を用いて遺伝子の網羅的な発現変動を解析した（ゲノミクス）。また、肝臓、血漿および尿中代謝物を各種クロマトグラフ質量分析計で一斉分析し、代謝物の変動も解析した（メタボロミクス）。ゲノミクス解析では、グルタチオン関連酵素やセリン合成関連酵素の顕著な増加が認められた。一方、メタボロミクス解析では、グルタチオン、グルタミン酸、システイン、メチオニン、セリンの減少（肝臓中）、グルタミ

ン酸の増加（血漿及び尿中）が認められた。

それぞれのオミックス解析で得られた結果を統合解析用に開発されたソフトウェアを用いてデータ処理を行った。具体的には、両オミックスデータをグルタチオンが生体内で合成される過程を示したパスウェイ（生合成パスウェイ）あるいはグルタチオン抱合体が生体内で分解されるパスウェイ（代謝パスウェイ）上にマッピングし、各分子の動きを可視化した。生合成パスウェイにグルタチオンが合成される肝臓中のメタボロミクスデータとゲノミクスデータをマッピングしたところ、グルタチオンが消費されて減少し、それを補うために生合成が亢進されていることが考察できるマップを得ることができた（Fig. 2）。分子の動きとしては、グルタチオン合成の直接的な材料となるシステインやグルタミン酸の減少がみられ、合成経路に関わるグルタチオンシンセターゼ（GSHB）やグルタミン酸システインリガーゼ（GCL）などが増加すると共に酸化されたグルタチオンを還元型に戻すグルタチオンリダクターゼ（GSHR）の増加がみられた。また、システインを供給する上流に位置するメチオニンの減少及びその経路に関わるメチオニンアデノシルトランスフェラーゼ（MAT2A）やS-アデノシルホモシステインヒドロラーゼ（SAHH）などの酵素の増加が認められた。ホモ

システインからシステインに至る経路でセリンが必要であるが、これを供給するためにセリン生合成関連酵素（ホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼ（Phgdh）やホスホセリンアミノトランスフェラーゼ（Psat））が増加したものと考えられた。

一方、グルタチオン抱合体は肝臓から血中に放出されるため、代謝パスウェイには血漿及び尿中のメタボロミクスデータと肝臓のゲノミクスデータをマッピングした。その結果、グルタチオンが抱合体となり、さらに無毒化されたメルカプトツール酸抱合体へと代謝されていることが考察できた。すなわち、グルタチオンからグルタチオン抱合体を生成する酵素である複数のグルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）が肝臓中で増加しており、グルタチオン抱合体の代謝過程で生成するグルタミン酸の増加が血漿及び尿中で認められた（Fig. 3）。

以上のように、クロスオミックス解析を行うことにより、同一のパスウェイ上で代謝物の変動と遺伝子の変動を同時に評価することが可能となり、毒性作用機序の推定に有用な情報が得られた。今回は、アセトアミノフェンの代謝物であるNAPQIによるグルタチオン消費に対応した肝臓内での毒性作用機序の一端を分子レベルで理解することが出来た。

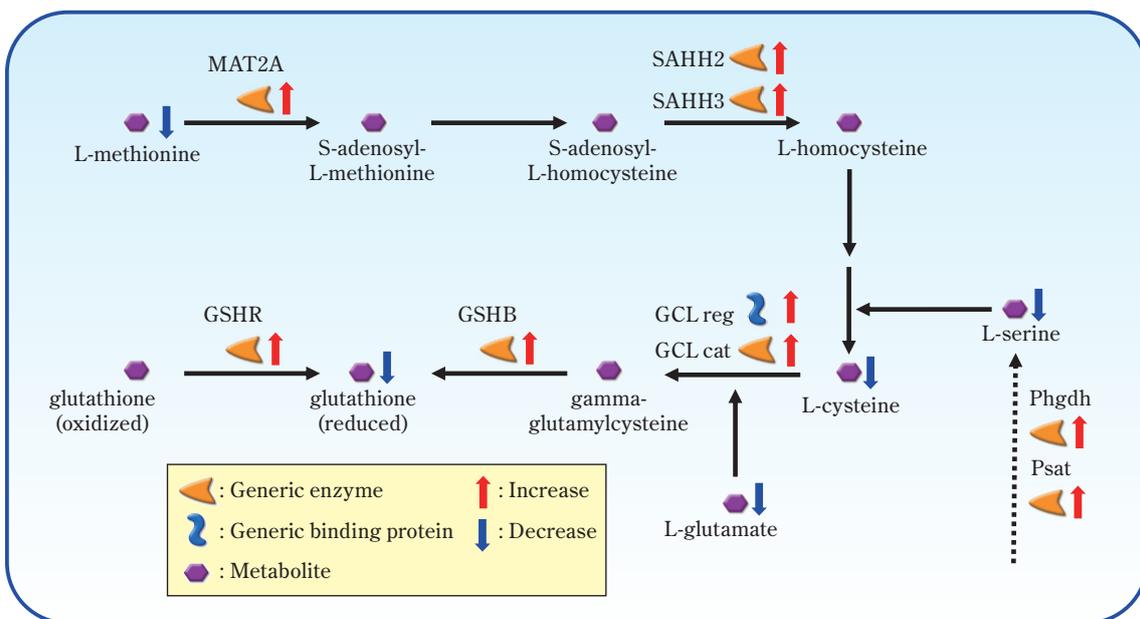


Fig. 2 Scheme depicting glutathione biosynthesis (Modified a pathway map from ThomsonReuters LLC.)

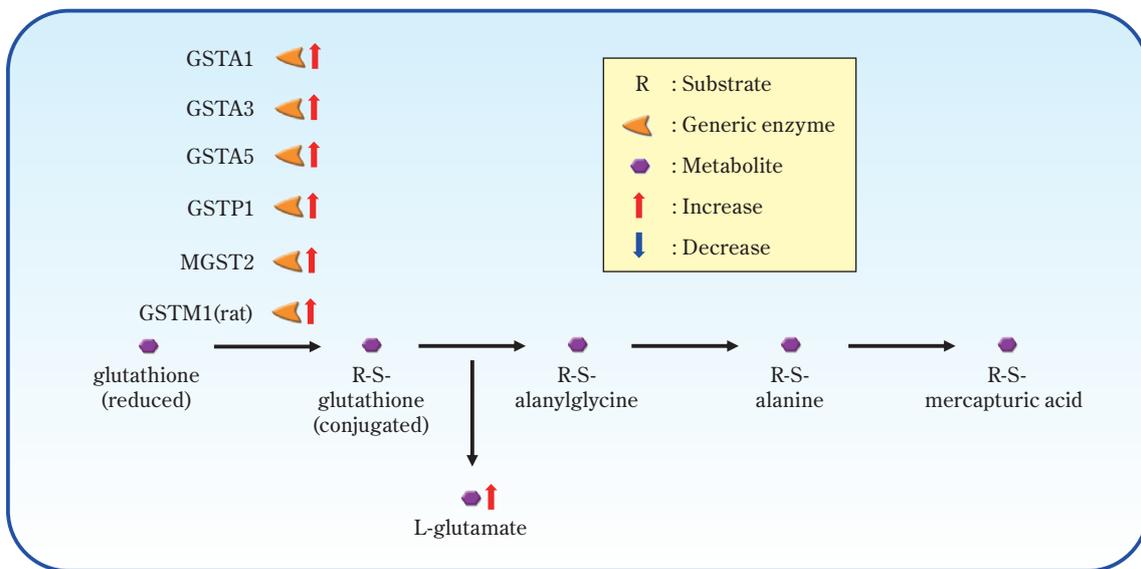


Fig. 3 Scheme depicting glutathione conjugate metabolism (Modified a pathway map from ThomsonReuters LLC.)

おわりに

これまで単一のおミックスでは捉えにくかった情報がクロスオミックス解析によって明らかになり、新規バイオマーカーの探索や化学物質の作用機序考察、安全性評価の精度向上の面で大きく貢献できるものと期待される。開発化合物の毒性発現機構を考察する場合、複数のオミックスデータから示される有害事象は確度の高い有用な手がかりとなり得ると考えられ、今後は従来の安全性評価に加えて積極的に利用していく予定である。

引用文献

- 1) S. P. Putri, Y. Nakayama, F. Matsuda, T. Uchikata, S. Kobayashi, A. Matsubara and E. Fukusaki, *J. Biosci. Bioeng.*, **115** (6), 579 (2013).
- 2) D.C. Dahlin, G. T. Miwa, A. Y. H. Lu and S.D. Nelson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81** (5), 1327 (1984).