

総 説

アルデヒドオキシターゼの種差, 個体差の解析

伊藤 邦郎

Species and Individual Difference of Aldehyde Oxidase

Kunio ITOH

*Educational Center for Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
Tohoku Medical and Pharmaceutical University.*

(Received November 20, 2017)

Aldehyde oxidase (AO) is a major member of the xanthine oxidase family belonging to the class of complex molybdo-flavoenzymes and plays an important role in the nucleophilic oxidation of *N*-heterocyclic aromatic compounds as well as various aldehydes. AO is homodimers with a subunit molecular weight of about 150 kDa and exhibit catalytic activity only as a dimer. An AO subunit contains a molybdopterin cofactor, an FAD and two different 2Fe-2S redox centers. The enzyme catalyzes oxidation of a wide range of endogenous and exogenous aldehydes and *N*-heterocyclic aromatic compounds.

The enzyme has been well known to show remarkable species differences. When the enzyme is focused on rabbit and monkey, the former showed extremely high activity towards cinchonidine and methotrxate but the latter exhibited only marginal activities. In contrast, monkey had several times greater activity than did rabbit towards zonisamide and (*S*)-RS-8359. In addition, marked differences in species, large differences in rat strains and individual differences of AO activities in some rat strains have been reported. However, little has been elucidated about any related molecular biological mechanisms. We examined the mechanism of individual variations, strain and species difference of AO using the technology of molecular biology.

Our recent studies regarding the inter- and intra-species difference of AO activities are described in this review.

**Key words** — aldehyde oxidase, individual differences, strain differences, species differences, dimer formation

1. はじめに

生体内での薬物代謝は主に肝臓で行われ, その中でも酸化代謝の多くの割合を cytochrome P450 (CYP) が担っている. そのため長年様々な研究が行われ, その機能については多くの研究者により明らかにされてきた. しかしながら, 薬物の酸化代謝に関わる酵素はCYPだけではなく, 多くの酵素が存在することが知られている. その一つに Aldehyde Oxidase (AO; EC 1.2.3.1) が挙げられるが, その機能解明は十分とは言えない.

AO は xanthine oxidase [XOR; xanthine dehydrogenase (XD) form EC 1.1.1.204; xanthine oxigenase (XO) form, EC 1.1.3.22] とともに molybdo-flavoenzyme (MFEs) に属し, 主に含窒素複素環化合物やアルデヒド類の酸化代謝に関わっている.<sup>1-8)</sup> AO は, 薬物代謝の中心的役割を担うとされる CYP と比べ多くの性質が対照的であ

る, AO は細胞質 (サイトソル画分) に局在し, 電子伝達系を内在しており, ピリジンスクレオチド等の補酵素は必要としない. 一方, CYP は小胞体 (ミクロソーム画分) に存在し, 補酵素に NADPH を必要とするなど, AO と CYP は細胞局在性, 基質特異性, 補酵素要求性など種々の性質が異なっている.

近年, AO はアルデヒドを有する化合物のみならず, 含窒素複素環化合物の代謝にも関与していることが報告されはじめ, 睡眠鎮痛剤のザレプロン, 抗マラリヤ薬のシンコナルカロイド, 抗ウイルス薬であるペンシクロビルのプロドラックである 6-デオキシペンシクロビルなどが基質となること, 内因性物質として, レチナールアルデヒドやニコチンアデニンジヌクレオチド (NAD) の代謝物である *N*-メチルニコチンアミドなども基質となることが報告されている. しかしながらその機能については十分に明らかになってはいないのが現状である.

AO の大きな特徴として, 動物種間における著し

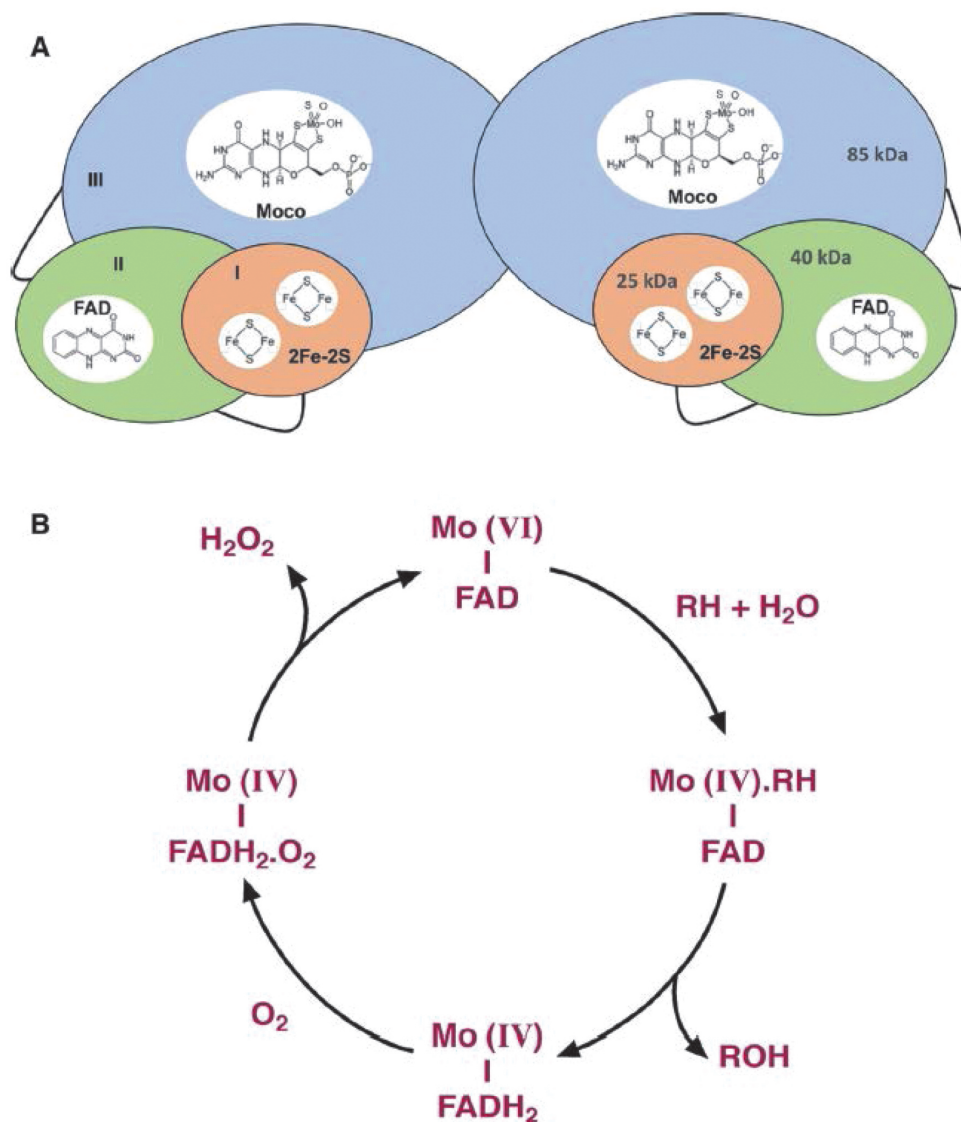


Fig. 1. General structure of vertebrate AOXs.<sup>18)</sup>

A) All vertebrate AOXs consist of two identical subunits consisting of an N-terminal domain containing the 2Fe/2S redox centers (orange). The N-terminal domain connected to the FAD-containing intermediate domain (green). A second unstructured hinge region links the intermediate domain with the C-terminal Moco domain which containing the substrate pocket (blue).

B) The catalytic cycle of the AOX enzymes is schematically represented.

い活性の種差が挙げられる。種々の基質を用いた検討から、その活性は一般に、ヒトやサル、霊長類で高く、モルモットやウサギ、ハムスターで中程度、ラットやマウスでは低く、イヌにおいては欠損していることが知られている。<sup>8-14)</sup> さらに、ラットとマウスに関しては系統差の存在が報告されている。<sup>15,16)</sup> このうちイヌにおけるAO活性の欠損に関しては、イヌAO遺伝子において複数のexonが欠損していることが報告されている。ラット系統差に関しては、一塩基変異により生じるGly 110 Serのアミノ酸置換によるダイマー形成量低下によるものであることを著者らが明らかにしてき

た。また、cinchona alkaloidsを基質とした際、他の動物種と比べウサギのみ高い活性が見られるという種差についても1アミノ酸の違いが大きな要因であることを明らかにしてきた。

本総説では、AOの機能解析を目的とし、AO活性の個体差、系統差および、動物種間でのAO活性の違いの要因について紹介する。

## 2. AOの構造と反応機構

AOは補欠分子にmolybdenum-pterin cofactor (MoCo)を有しており、xanthine oxidase / xanthine dehydrogenaseと同様にmolybdo-

flavoenzyme 群に分類されている。その構造はモノマーの分子量が 150 kDa からなる 300 kDa の二量体を形成して機能しており、各モノマーは 2 つの異なる 2Fe-2S クラスタを含む約 20 kDa の N-末ドメイン、FAD 結合部位を含む約 40 kDa の中心ドメインおよび molybdenum cofactor (MoCo) 結合部位と基質結合部位を含む約 85 kDa の C-末ドメインの 3 つの部分で 2 つのヒンジで連結した構造をしている<sup>17,18)</sup> (Fig. 1A)。補欠分子族の MoCo は molybdopterin として存在する。基質の水酸化は MoCo サイトで Mo-OH の求核的攻撃を介して行われ、同時にモリブデンは Mo (VI) から Mo (IV) に還元される。Mo (IV) は Fe-S クラスタへの急速な電子転送、ついで FAD への電子転送により Mo (VI) に再酸化される。最後のステップで、FAD から分子状酸素に電子が転送され、過酸化水素やスーパーオキシドアニオン等の活性酸素分子種が生じるとされている (Fig. 1B)。

また、最近の遺伝子解析の結果から、AO と高い相同性を持つホモログ AOH1, AOH2, AOH3 の

存在がマウスやラット等で報告されるようになったことから、これまで AO と呼ばれていた分子種は AOX1 と表記されるようになってきている。

### 3. ラットにおける AO 活性の個体差

ラット AO 活性の個体差を明らかにするために、個体間差の存在が示唆されていた Donryu 系ラット肝サイトソルでの活性の比較を行った。AO 活性の測定には、A タイプモノアミノキシダーゼ (MAO-A) の阻害活性を有する RS-8359 を基質として用いた。<sup>19,20)</sup> その結果、高活性群と低活性群の 2 群にほぼ 1 : 1 の比率で明確に分かれることが示された。<sup>21)</sup> 以下低活性群を poor metabolizer (PM)、高活性群を extensive metabolizer (EM)、高活性群の中でも特に活性の高い個体を ultrarapid metabolizer (UM) とした (Fig. 2)。

Lineweaver-Burk プロットから求めた速度論的パラメーターを比較したところ、 $K_m$  値には有意な差は認められなかったが、 $V_{max}$  は高活性群と低活性群間で約 20 倍の差が確認された。このことから

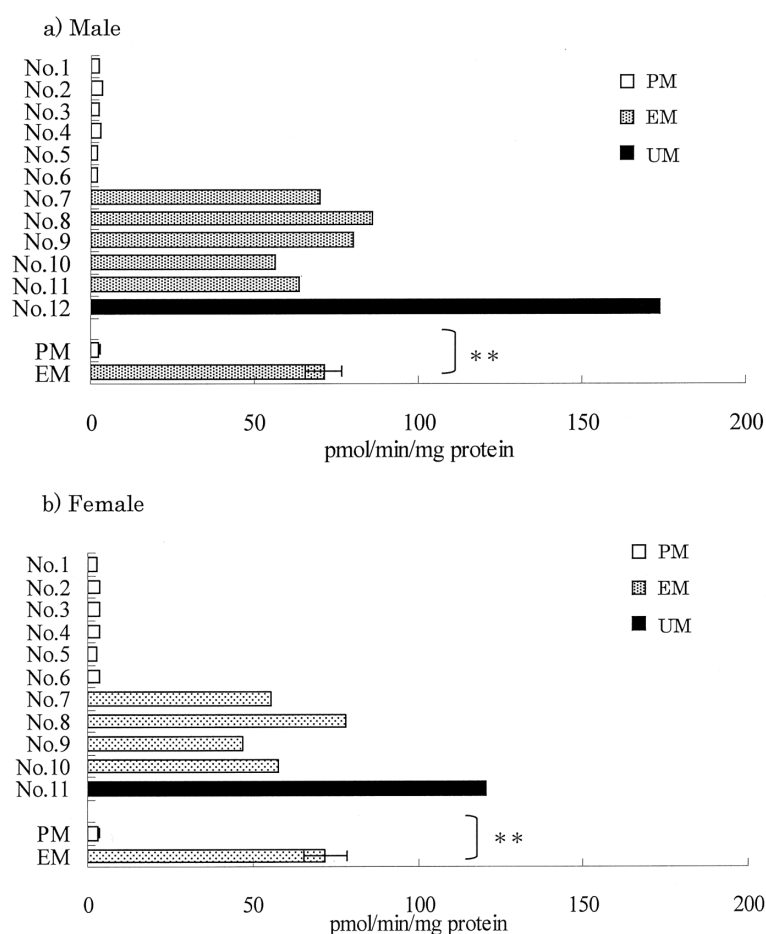


Fig. 2. Individual and mean data of 2-oxidation activity of the (S)-enantiomer of RS-8359 by aldehyde oxidase in 12 male and 11 female Donryu rats.

Table 1. Nucleotide Differences in the AO cDNA between the UM, EM and PM Groups of Donryu Rats and Donryu and Sprague-Dawely Rats.

Nucleotide No. in male SD <sup>a)</sup>	SD <sup>a)</sup>	SD <sup>b)</sup>	Donryu male		
	male	female	UM (1)	EM (5)	PM (6)
133	A	G	A	A/G	G
<b>377</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>G (Gly)</b>	<b>G/A (Gly/Ser)</b>	<b>A (Ser)</b>
405	C	G	G	G	G
408	G	T	T	T	T
1679	T	C	C	C	C
1759	T	T	C	C	C
1994	A	G	G	G	G
2563	G	A	A	A	A
<b>2604</b>	<b>T</b>	<b>T</b>	<b>C (Ala)</b>	<b>C/T (Ala/Val)</b>	<b>T (Val)</b>
2783	C	C	A	A	A
2872	T	C	C	C	C
2935	A	A	A	A/G	G
3739	G	A	A	A	A
3875	C	T	T	T	T
3993	G	C	C	C	C

The nucleotide sequences of Donryu rats were numbered with the reference to those of male SD rats (Wright et al., 1998). The number of rats for the analysis of nucleotide sequences is shown in the parentheses. Nucleotide substitutions accompanying amino acid changes are written in bold letters. The cDNA sequences in male and female Donryu rats were identical and differed in only ten positions when compared to male and female SD rats.

<sup>a)</sup> GenBank accession number; AF110478.

<sup>b)</sup> GenBank accession number; AF110477.

AO 活性の個体差は、酵素自体の性質の変化ではなく、AO タンパク発現量の違いに起因するのではないかと推察された。そこで引き続き、mRNA 量の測定、およびタンパク質発現量の測定を行ったが、その結果は予想に反して、AO タンパク質発現量は EM 群では PM 群に比べやや高い程度であり、mRNA 発現量では明確な差は確認されなかった。

ラット AO 活性の個体差が必ずしもタンパク質発現量によるものではないという結果から、AO タンパク質自身が変化している可能性を考慮し、タンパク質情報を有している遺伝子に原因があるのではないかと考え、ラット AO cDNA 解析を行った。すでに GenBank に登録されていた SD ラット肝 AO cDNA 情報と、Donryu 系ラット肝から単離した AO cDNA の塩基配列を比較したところ、2カ所でアミノ酸置換を伴う塩基変異を見いだした。UM では 377 塩基が G/G、2604 番目の塩基が C/C、EM では 377 塩基が G/A、2604 番目の塩基が C/T、PM では 377 塩基が A/A、2604 番目の塩基が T/T であった<sup>21)</sup> (Table 1)。

明らかとなった 377 番目および 2604 番目の 2カ

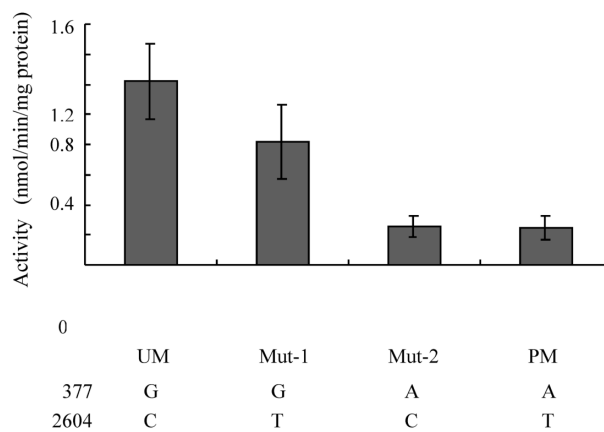


Fig. 3. 2-Oxidation activity of (S)-RS-8359 by recombinant AO protein expressed in *E. coli* M15 (pREP4).

Nucleotide sequence at 377 and 2604 are G and C in group UM, G and T in group Mut-1, A and C in group Mut-2, and A and T in group PM, respectively.

\*P<0.01 compared with UM group.

所のアミノ酸置換を伴う塩基変異が AO 活性に関与するのか、関与するとしたら 2カ所とも変異することが条件になるのか不明であった。そこでこの点を明らかにするために、UM (377G, 2604C)、PM (377A, 2604T) に加え 1カ所ずつ変異を有す

るようにラット AO cDNA を組み換え、Mut-1 (377G, 2604T), Mut-2 (377A, 2604C) を作製し、大腸菌発現系により AO タンパク質を発現させた。大腸菌発現 AO タンパク質を用いた活性測定の結果より、その程度は  $UM > Mut-1 > Mut-2 \approx PM$  となり、AO 活性に最も影響している箇所は 377 番目の塩基の G から C への変異であることが示された<sup>22)</sup> (Fig. 3)。遺伝子型と AO 活性の表現型が一致するかを確認するため、交配実験を行ったが、遺伝子型と AO 活性は対応するものであった。<sup>23)</sup> これまで表現型である活性を指標に、活性の低い個体を PM、活性の高い個体を EM として頻度は低いが多めに確認されたより活性の高い個体を UM としてきた。これまで得られた結果をもとに遺伝子多型の面からとらえると、377 番目の塩基が G/G, 2604 番目の塩基が C/C の配列をもつものを EM, 377 番目の塩基が A/A, 2604 番目の塩基が T/T の配列をもつものを PM とし、そのヘテロ型である 377 番目の塩基が G/A, 2604 番目の塩基が C/T である個体を Intermediate Metabolizer (IM) と表記するほうが適切であろう。

#### 4. ラットにおける AO 活性の系統間差

AO 活性についてはラットにおいて個体間差のみならず著しい系統間差も存在する。しかしながらその要因については明らかにされていなかった。そこで系統差の要因を量的なものと質的なものの 2 つの可能性を念頭に置き検討を行った。

まず、10 系統のラットにおいて RS-8359 を基質とし、活性測定を行った。<sup>24)</sup> その結果、ラット系統間において著しい AO 活性の差があることが示された (Fig. 4)。さらに、AO タンパク質の発現量に差があるのではないかと考え、抗ラット AO 抗体を用いた SDS-PAGE / Western blot 解析により

発現タンパク質量を比較した。活性と発現量の相関を見たところ、Donryu 系ラットの個体差の場合と同様に、有意な相関は見られなかった。AO は生体内では 300 kDa のホモダイマーとして存在していることから、ダイマーの形成程度に違いがあるのではないかと推測し、ダイマーの状態での確認を行うため SDS-PAGE ではなく Native-PAGE による Western blot 解析を行った。その結果、高活性の系統では 300 kDa のホモダイマーの位置に、低活性の系統では 150 kDa のモノマーの位置に AO タンパク質が存在することが明らかとなった (Fig. 5)。

さらに、300 kDa の位置にある AO タンパク質の量と活性の相関を見たところ、相関係数  $R^2 = 0.72$  と高い相関が確認されたことから、AO 活性におけるラット系統差の要因は AO 二量体形成の程度であることが示された。

AO 二量体形成が AO 遺伝子の 2 カ所の変異によるものであることを確認するため、Donryu rat で明らかにした 2 カ所のアミノ酸置換を伴う塩基

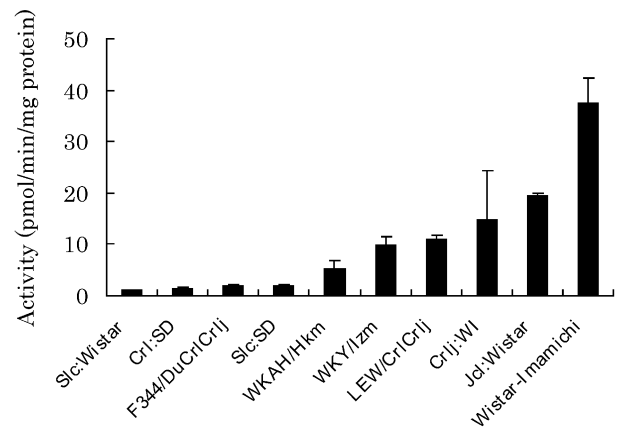


Fig. 4. 2-Oxidation activity of (S)-RS-8359 catalyzed by AO in liver cytosol from ten rat strains. Each bar represents the mean  $\pm$  SE of three rats.

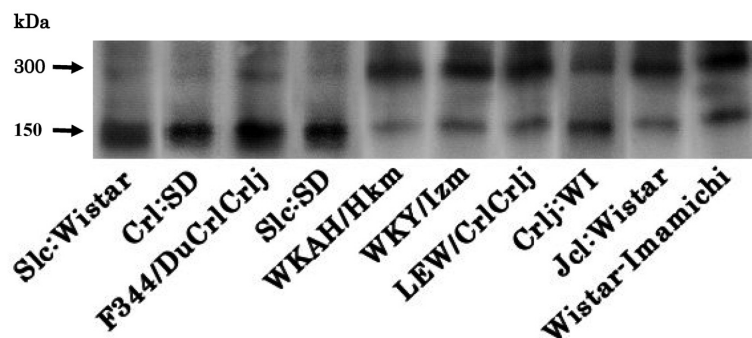


Fig. 5. Native-PAGE/Western blot analysis of AO protein in liver cytosol from ten strain rats.

変異, 377G>A (Gly 110 Ser) と 2604C>T (Ala 852 Val) が原因かどうか, 各系統ラットのゲノム DNA の当該塩基配列を解析した. その結果, 主に単量体として存在した Slc:Wistar, F344:DuCrlCrlj においては 377 番目の塩基が A (Ser), 2604 番目の塩基が T (Val) であるのに対し, 二量体が多く存在し比較的活性の高い WKAH/Hkm, WKY/Izm, LEC/CrlCrlj, JCL:Wistar JCL および Wistar-Imamichi では 377 が G (Gly), 2604 が C (Ala) であった.<sup>25)</sup> AO 活性のラット系統差においては, Beedhum<sup>5)</sup> らおよび Kitamura<sup>15)</sup> らによっても報告されているが, その要因は示されていない. 著者らが明らかにした 2 カ所の塩基変異によるアミノ酸置換が AO 活性のラット系統差の要因である可能性が高いと考えている. さらに, 代謝活性の高い WKAH/Hkm, WKY/Izm, LEC/CrlCrlj, JCL:Wistar JCL および Wistar-Imamichi では 300 kDa の位置にある AO タンパク質の量と AO 活性が高い相関を示したことから, AO タンパク質の発現量もその活性に影響していることが示唆された.

また, 系統差を検討していく中で Charles River の Crlj:Wistar については Donryu 系ラットの活性は UM, EM, PM と同様のパターンを示し, 遺伝子多型に基づく個体差の存在が示された. 一方, SD 系ラットについては 2 社 (Charles River および SLC) から購入したラットにおいて 2604 番目の塩基を調べたすべての個体で T (Val) であったが, 377 番目の塩基に着目すると A (Ser), A/G (Ser/Gly), G (Gly) の個体が存在し, 同じブリーダーから購入した同系統ラットにおいても AO 活

性に違いがあることが明らかとなった.

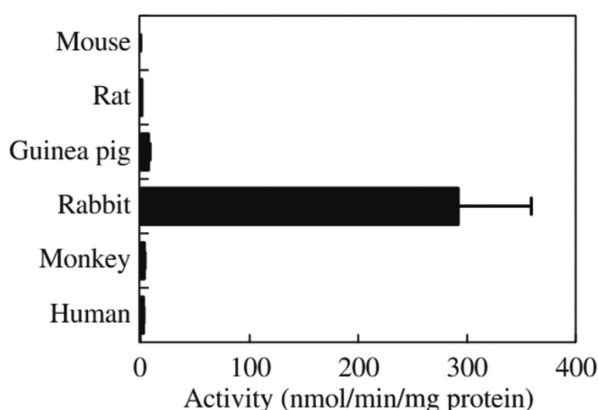
これらのことから, AO 活性のラット系統差および個体差の要因はアミノ酸置換を伴う AO 遺伝子上の 2 カ所の塩基変異であり, アミノ酸置換が起こることにより生体内において二量体で活性を有する AO タンパク質が二量体を形成できず, 結果として活性低下をもたらすことが明らかとなった. さらに, AO 発現系を用いた結果および SD 系ラットのデータから, 二量体形成には 377 番目の塩基がコードする 110 残基目のアミノ酸が重要であることが示された. 110 番目のアミノ酸が不斉性を持たないグリシンから光学活性なセリンに変わることにより, なぜ二量体形成が阻害されるのかについては今後の検討課題と考える.

## 5. キメラ AO タンパク質を用いた機能解析

cinchona alkaloids および methotrexate の代謝では他の動物種 AO と比べウサギ AO においては著しく高い活性を現すことが報告されている<sup>12,13)</sup>(Fig. 6). この要因を解明することは AO タンパク質の基質結合部位の構造に関する情報の取得につながるのではないかと考えられた. そこで cinchonidine の酸化活性がほとんど見られないサル AO を強い活性を示すウサギ型に変えるべく, 遺伝子工学的手法を用いサルとウサギの間でキメラ AO タンパク質を作製し, 種々の検討を行った.<sup>26)</sup>

ウサギおよびサルの各野生型 AO cDNA を発現用ベクターに組み込み, タンパク発現用大腸菌に導入した発現系を構築した. これをもとに, サル cDNA にウサギ cDNA を組み替えていくことで,

a) Cinchonidine<sup>12)</sup>



b) Methotrexate<sup>13)</sup>

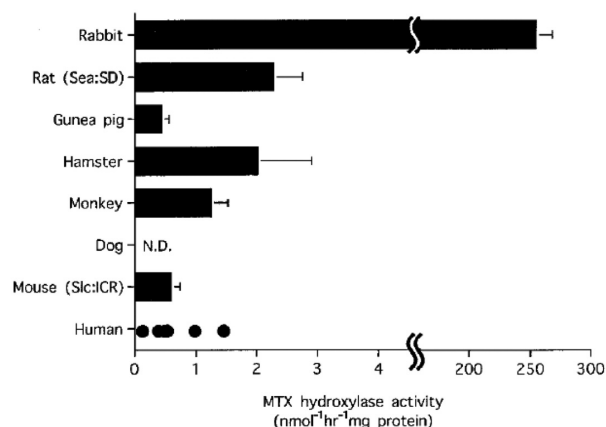


Fig. 6. 2'-Oxidation activity of cinchonidine (a) and methotrexate 7-hydroxylase activity (b) in liver cytosol from several mammalian species.



Table 2. Kinetic parameters for oxidation activity of cinchonidine and (S)-RS-8359 by mutant proteins of monkey and rabbit AOX1.

Mutants	Cinchonidine			(S)-RS-8359		
	$K_m$ ( $\mu\text{M}$ )	$V_{\text{max}}$ (nmol/min/ mg protein)	$V_{\text{max}}/K_m$ ( $\mu\text{l}/\text{min}/$ mg protein)	$K_m$ ( $\mu\text{M}$ )	$V_{\text{max}}$ (nmol/min/ mg protein)	$V_{\text{max}}/K_m$ ( $\mu\text{l}/\text{min}/$ mg protein)
Monkey AOX1 <sup>a</sup>						
11 (A1083T)	N.D.	N.D.	N.D.	20.5 ± 0.354	3.06 ± 0.509	149 ± 22.3
12 (V1085A)	21.2 ± 6.47	164 ± 8.74	8230 ± 2430	149 ± 10.1	12.1 ± 1.74	81.1 ± 6.47
Rabbit AOX1 <sup>b</sup>						
13 (A1081V)	N.D.	N.D.	N.D.	40.4 ± 0.212	7.58 ± 0.792	188 ± 20.6

N.D.: Activities were not detected and parameters were not calculated.

Each value is the mean ± S.D. for three separate experiments independently expressed in *E. coli*.

<sup>a</sup>Respective alanine at position 1083 and valine at position 1085 of monkey AOX1 were substituted by threonine and alanine, which are sequences of rabbit AOX1.

<sup>b</sup>Alanine at position 1081 of rabbit AOX1, which corresponds to position 1085 of monkey AOX1, was substituted by valine or glycine.

(Fig. 8). そこで、site-directed mutagenesis (SDM) 法を用いてサル AO cDNA を塩基置換することで、サル AO アミノ酸をウサギ型に置換させた変異型 AO タンパク質を作成し、各変異体で活性測定を行った。その結果、サル AO の 1083 番目と 1085 番目のアミノ酸をウサギ型に置換することで cinchonidine 活性が得られることを確認した。この 2 カ所の変異がともに必要なのか、あるいはどちらか一方が cinchonidine の酸化に関わっているかを明らかにするため、個々の変異体を作成し検討を行った。その結果、サル AO の 1085 番目のバリンをアラニンに置換することで高い cinchonidine 活性を示すことが明らかとなった (Table 2)。以上のことから、ウサギ AO が cinchonidine に対し特有の高い活性を示すためには、1085 番目のアミノ酸残基がアラニンであることが重要であると示された。

サル AO の 1083 番目のアラニンをトレオニンに置換した変異体においては cinchonidine に対する活性は検出できなかったが、(S)-RS-8359 に対しては野生型サル AO と同等のキネティックパラメータを示した。一方、1085 番目のバリンをアラニンに置換した変異体は cinchonidine に対し高い活性を示し、(S)-RS-8359 に対しては  $V_{\text{max}}$  値は野生型サル、 $K_m$  値は野生型ウサギ AO と同等の値を示すという興味ある結果が得られた。以上から、ウサギ AO が cinchonidine に対し特有の高い活性を示すためには、1085 番目のアミノ酸残基がアラニンであることが重要であることが明らかになった。

バリンやアラニンはともに基質と水素結合を形成し得る官能基を持たないため、この  $K_m$  値の変化は水素結合によるものではなく、基質が活性中心にアプローチする上での立体障害によるものと推察される。すでに結晶化されている *Rhodobacter capsulatus* の AO と同じ MFEs に属する XDH<sup>27)</sup> をテンプレートとして SWISS-MODEL<sup>28,29)</sup> を用いて予測したタンパク質の立体構造では、今回同定したウサギ AO の 1081 番目のアラニンは基質結合部位の入り口を形成しているループ上に存在している。ウサギ AO の Ala 1081 により基質結合部位の入り口への大きさが変化するとすれば、基質結合部位の狭いとされるウサギ AO のアラニン残基はそれに対応するサル AO のバリン残基よりも立体障害は小さい。よって、かさ高いバリンを持つサル AO よりも、アラニンを持つウサギ AO の方が広い入り口を持つと予想される。事実、(S)-RS-8359 よりもかさ高い cinchonidine や methotrexate に対してウサギ AO が活性を持つことは、ウサギ AO が先の報告とは異なり、サル AO よりも広い基質結合部位を持つということを支持するものと考えられる。また、基質濃度を終濃度 5 mM まで上げた検討においては野生型サル AO も微弱ながら cinchonidine や methotrexate に対し活性を示した。このことから、野生型サル AO が cinchonidine や methotrexate などのかさ高い基質に対して活性を持たないのは、基質結合部位がウサギ AO よりも狭く、 $K_m$  値が著しく高いためだと推察される。これは、アラニンよりもさらに立体障害の小さいグ



リシンに置換した変異体を用いた検討を行うことで新たな示唆が得られるかもしれない。基質結合部位の構造の問題に関しては、X線結晶構造解析がやはり決め手になるものと思われる。

サル AO Val 1085 Ala 変異体は、(S)-RS-8359 に対して  $K_m$  値はウサギ型になっているものの、 $V_{max}$  値では野生型サル AO と同じ程度であり、ウサギ AO の 2-3 倍の値を示した。また、制限酵素を用いて作製した種々のキメラ AO タンパク質も、サルの配列の割合が大きいものは (S)-RS-8359 に対して概ね高い  $V_{max}$  値を示す傾向にあった。これは、サル AO が一般に高い活性を示す要因の一つになっている可能性を示唆しているものと考えられる。今回明らかになった cinchonidine に対するサル AO とウサギ AO の種差は基質結合部位の相違によるが、この他に単位分子あたりの代謝能にも種差が存在することが示唆された。このことに関してはサル AO では 2 つの [2Fe-2S] クラスタ、FAD, molybdenum cofactor の 4 つの活性中心の物理的な距離やその酸化還元電位の高さなど、電子伝達系の機構が効率的なものとなっている可能性が考えられる。

## 6. おわりに

AO は遠い過去に遺伝子重複によって XOR から分岐したと考えられている。XOR が核酸代謝の中核を担い、長い期間高度に保存されてきた一方で、進化上の選択圧から開放された AO は幅広い生物種に渡りユニークな変化を繰り返してきた。そして現在、AO はヒトにおいて methotrexate 等の化学療法剤、抗マalaria薬の quinine 等、重要な医薬品の代謝に関わっている。医薬品の開発段階において実験動物種を選択は極めて重要であり、特に AO のような種差の大きい酵素を主な代謝経路とする医薬品の場合、その選択は慎重に行われる必要がある。cinchonidine や methotrexate のように、基質の種類により一般的な種差の順序から大きく逸脱する例もあり、安易な動物種を選択は、間違ったヒトへの外挿のリスクを高めることになる。新規医薬品開発候補品の代謝に AO が大きく寄与する場合、安全性試験や体内動態試験で用いる動物の選択には注意を要する。特に初期の前臨床試験においてはラットの系統の選択が大きく影響することが考えられる。また近年、ヒトにおける AO の個体差および遺伝子多型についての報告がなさ

れるようになってきている。<sup>30-33)</sup> 動物実験で得られた知見をヒントにヒト AO 活性の個体差の要因が解明されていくことと、ヒト AO の薬物動態学的な特徴を解明していくことで、本酵素で代謝される医薬品の適正使用に役に立つ知見が得られて行くのではないかと期待する。

**謝辞** 本研究は薬物動態学教室・前教授・田中頼久先生の指導のもと、配属学生の協力により進めることができました。田中先生および配属学生に感謝申し上げます。

## 利益相反

開示すべき利益相反はない。

## REFERENCES

- 1) Beedham C., *Drug. Metab. Rev.*, **16**, 119-156 (1985).
- 2) Beedham C., Molybdenum hydroxylases. In *Metabolism of Xenobiotics*. Gorrod J.W., Oeschlager H., Caldwell J. eds, Taylor & Francis, London and New York, pp.51-58 (1998).
- 3) Carpani G., Racchi M., Ghezzi P., Terao M., Garattini E., *Arch Biochem Biophys.*, **279**, 237-241 (1990).
- 4) Beedham C., "Molybdenum hydroxylase, in Enzyme systems that metabolise drug and other xenobiotics" ed. by Ioannides C., John Wiley, UK, pp.147-187 (2002).
- 5) Hille R., *Trends Biochem. Sci.*, **27**, 360-367 (2002).
- 6) Kitamura S., Sugihara K., Ohta S., *Drug Metab. Pharmacokin.*, **21**, 83-98 (2006).
- 7) Garattini E., Fratelli M., Terao M., *Cell Mol Life Sci.*, **65**, 1019-1048 (2008).
- 8) Nishino T., Okamoto K., Eger B.T., Pai E.F., Nishino T., *FEBS J.*, **275**, 3278-3289 (2008).
- 9) Rashidi M.R., Smith J.A., Clarke S.E., Beedham C., *Drug Metab. Dispos.*, **25**, 805-813 (1997).
- 10) Kawashima K., Hosoi K., Naruke T., Shiba T., Kitamura M., Watabe T., *Drug Metab. Dispos.*, **27**, 422-428 (1999).
- 11) Jordan C.G., Rashidi M.R., Laljee H., Clarke S.E., Brown J.E., Beedham C., *J. Pharm. Pharmacol.*, **51**, 411-418 (1999).
- 12) Itoh K., Yamamura M., Takasaki W., Sasaki T., Masubuchi A., Tanaka Y., *Biopharm Drug Dispos.*,

- 27, 133–139 (2006).
- 13) Kitamura S., Sugihara K., Nakatani K., Ohta S., Ohhara T., Ninomiya S., Green C.E., Tyson C.A., *IUBMB Life*, **48**, 607–611 (1999).
- 14) Terao M., Kurosaki M., Barzago M.M., Varasano E., Boldetti A., Bastone A., Fratelli M., Garattini E., *J Biol Chem*, **281**, 19748–19761 (2006).
- 15) Kitamura S., Nakatani K., Sugihara K., Ohta S., *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol Endocrinol*, **122**, 331–336 (1999).
- 16) Sasaki T., Masubuchi A., Yamamura M., Watanabe N., Hiratsuka M., Mizugaki M., Itoh K., Tanaka Y., *Biopharm Drug Dispos.*, **27**, 247–255 (2006).
- 17) Garattini E., Mendel R., Romão M.J., Wright R., Terao M., *Biochem J.*, **372**, 15–32 (2003).
- 18) Terao M., Romão M.J., Leimkühler S., Bolis M., Fratelli M., Coelho C., Santos-Silva T., Garattini E., *Arch Toxicol*, **90**, 753–780 (2016).
- 19) Yokoyama T., Karube T., Iwata N., *J Pharm Pharmacol*, **41**, 32–36 (1989).
- 20) Takasaki W., Yamamura M., Shigehara E., Suzuki Y., Tonohiro T., Hara T., Tanaka Y., *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 498–503 (1999).
- 21) Itoh K., Masubuchi A., Sasaki T., Adachi M., Watanabe N., Nagata K., Yamazoe Y., Hiratsuka M., Mizugaki M., Tanaka Y., *Drug Metab. Dispos.*, **35**, 734–739 (2007).
- 22) Adachi M., Itoh K., Masubuchi A., Watanabe N., Tanaka Y., *J Biochem Mol Biol*, **40**, 1021–1027 (2007).
- 23) Adachi M., Itoh K., Abe H., Tanaka Y., *Xenobiotica*, **38**, 98–105 (2008).
- 24) Itoh K., Maruyama H., Adachi M., Hoshino K., Watanabe N., Tanaka Y., *Xenobiotica*, **37**, 709–716 (2007).
- 25) Itoh K., Maruyama H., Adachi M., Hoshino K., Watanabe N., Tanaka Y., *Drug Metab Dispos.*, **35**, 1860–1864 (2007).
- 26) Fukiya K., Itoh K., Yamaguchi S., Kishiba A., Adachi M., Watanabe N., Tanaka Y., *Drug Metab Dispos.*, **38**, 302–307 (2010).
- 27) Truglio J.J., Theis K., Leimkühler S., Rappa R., Rajagopalan K.V., Kisker C., *Structure*, **10**, 115–125 (2002).
- 28) Arnold K., Bordoli L., Kopp J., Schwede T., *Bioinformatics*, **22**, 195–201 (2006).
- 29) Kopp J., Schwede T., *Nucleic Acids Res.*, **34** (Database issue), D315–318 (2006).
- 30) Al-Salmy H.S., *IUBMB Life*, **51**, 249–253 (2001).
- 31) Hartmann T., Terao M., Garattini E., Teutloff C., Alfaro J.F., Jones J.P., Leimkühler S., *Drug Metab Dispos.*, **40**, 856–864 (2012).
- 32) Ramirez J., Kim T.W., Liu W., Myers J.L., Mirkov S., Owzar K., Watson D., Mulkey F., Gamazon E.R., Stock W., Undevia S., Innocenti F., Ratain M.J., *Pharmacogenet Genomics*, **24**, 129–132 (2014).
- 33) Foti A., Dorendorf F., Leimkühler S., *PLoS One*, **12**, e0182061 (2017).