

| | | | |
|----------|----------------------------|---------|----------|
| 氏名 | よね 米 | ざわ 澤 | あつし 淳 |
| 学位(専攻分野) | 博士(薬学) | | |
| 学位記番号 | 薬博第629号 | | |
| 学位授与の日付 | 平成19年3月23日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 | | |
| 研究科・専攻 | 薬学研究科医療薬科学専攻 | | |
| 学位論文題目 | 白金系抗がん剤の動態特性と腎毒性発現機構に関する研究 | | |

論文調査委員 (主査) 教授 乾 賢一 教授 橋田 充 教授 高倉 喜信

論文内容の要旨

がん化学療法は外科的治療および放射線療法と並んでがん治療の中核を担っている。一方、抗がん剤の殺細胞効果は正常細胞にも及ぶことから、その投与量は副作用に対する個体の最大耐用量で設定され、殆どの患者に副作用が発現する。白金の錯体化合物であるシスプラチンは、様々な化学療法レジメンの主要薬物として位置づけられており、最も使用頻度の高い抗がん剤の一つである。シスプラチンは強い腎毒性を示すことから、腎障害を最小限にするための試行錯誤がなされてきたものの、その分子機構は未解明であった。シスプラチンの開発以降、その構造類似体としてカルボプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチンが登場し、腎毒性を殆ど示さないことを特徴としているが、骨髄抑制や神経毒性が問題となっている。

そこで著者は、シスプラチンによる腎毒性発現機構解明を目的とし、シスプラチンの動態特性と毒性発現の関連を構造類似薬との比較を行いながら系統的な解析を行い、以下の新知見を得た。

I. 腎有機カチオントランスポータ OCT2 を介したシスプラチンによる腎選択的な毒性発現機構

カチオン性薬物の腎移行を媒介する有機カチオントランスポータ OCT2 を HEK293 細胞に導入した発現系を用い、シスプラチンによる細胞毒性およびその輸送について検討した。細胞内からの乳酸脱水素酵素漏出を細胞毒性の指標としたところ、対照に比してラット (r) OCT2 発現細胞ではシスプラチンによる細胞毒性の増強と細胞内蓄積量の増大が認められた。また、その毒性は rOCT2 阻害薬シメチジンまたはコルチコステロンの共存により抑制された。一方、肝臓および腎臓に発現する rOCT1 によるシスプラチンの輸送は認められなかった。次に、ラット腎臓における rOCT2 発現量が雄性ホルモンによる制御を受けることに着目し、シスプラチンの腎挙動や尿細管障害と rOCT2 発現量との関連について調べた。その結果、rOCT2 発現量の高い雄性ラットにおいて雌性ラットに比べ高い腎臓へのシスプラチンの取り込みを示した。一方、rOCT2 の発現しない肝臓では取り込み速度に性差は認められなかった。さらに、尿細管障害の指標である尿中の N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ (NAG) 活性の増大は、2mg/kg のシスプラチンを投与した雄性ラットにおいて認められたが、去勢による rOCT2 発現低下に対応して回避された。これらの結果から、シスプラチンは腎特異的に発現する rOCT2 を介して組織中に蓄積し、腎選択的な毒性を誘発することが明らかとなった。

II. 白金系抗がん剤の腎蓄積と腎毒性

白金系抗がん剤の *in vivo* における腎毒性発現と動態特性の関係を調べるために、低用量 (2mg/kg) と高用量 (10mg/kg) の白金系抗がん剤をラットに腹腔内投与し、2日後の生化学的検査値の測定、腎組織標本の観察および腎組織中残存白金量の定量を行った。シスプラチン投与群では低用量より尿中の NAG 活性およびアルブミン値の上昇が認められ、高用量投与により糸球体濾過速度 (GFR) の低下と著明な組織学的変化が観察された。ネダプラチン投与群においても、低用量から尿中 NAG 活性の上昇を認めたが、GFR の低下および腎組織病変は認められなかった。一方、カルボプラチンおよびオキサリプラチンの投与による影響は認められなかった。投与2日後における腎組織中の残存白金量を比較したところ、シスプラチンの腎蓄積量は他の3薬物と比較して3倍程度高いことが示された。また、ネダプラチンの腎蓄積量は低く、組

織病変および腎機能障害も発現しないことから、ネダプラチン投与による尿中 NAG 活性の上昇は腎毒性とは無関係であることが示唆された。これらの結果から、4種の白金系抗がん剤の中でシスプラチンは最も高い腎蓄積性を示し、尿細管毒性に引き続き糸球体障害を誘発することが明らかとなった。

Ⅲ. ヒト有機カチオントランスポータによる白金系抗がん剤輸送と腎毒性発現

有機カチオントランスポータによる白金系抗がん剤の輸送特性を、発現系を用いて比較した。シスプラチンとオキサリプラチンは血管側側底膜に局在するヒト (h) OCT2 に強く輸送されることを見出した。また、シスプラチンは肝臓に発現する hOCT1 に、オキサリプラチンは胎盤などに広く発現する hOCT3 にも輸送されることが示された。次に、管腔側刷子縁膜に局在する H⁺/有機カチオンアンチポータ hMATE1 および hMATE2-K による輸送について検討したところ、細胞内酸性化の条件においてオキサリプラチンは hMATE2-K によって顕著に輸送されることが判明した。一方、同一条件におけるシスプラチン、カルボプラチンおよびネダプラチンの輸送は認められなかった。これらの結果から、シスプラチンは hOCT2 を介して腎組織中へ濃縮的に取り込まれるものの、刷子縁膜側の hMATE1 や hMATE2-K による分泌を受けにくいことから、強い腎毒性を発現することが明らかとなった。一方、オキサリプラチンは側底膜側の hOCT2 ならびに刷子縁膜側の hMATE1 および hMATE2-K を介した経細胞輸送を受けることから、最終的な組織蓄積量が低いために腎毒性が弱いことが強く示唆された。

以上より、著者は白金系抗がん剤の腎局所における動態と毒性の関連について精査し、一部の白金系抗がん剤が有機カチオントランスポータの基質となること、腎有機カチオントランスポータによる基質認識特性と輸送能が、白金系抗がん剤の腎毒性を規定する重要な分子機構であることを見出した。本研究成果は、臓器特異的な薬物トランスポータの機能特性に着目したシスプラチンの副作用回避法を考案する上で重要な基礎的知見を提供するとともに、臓器指向性を備えた次世代の白金系抗がん剤の開発にも有用な分子情報になると考えられる。

論文審査の結果の要旨

抗がん剤を用いた化学療法は外科手術および放射線照射と並びがん治療の中核を担うものの、抗がん剤の殺細胞効果は正常細胞にも及ぶため、投与量は副作用に対する個体の最大耐用量で設定され、殆どの患者に副作用が発現する。白金の錯体化合物であるシスプラチンは、最も使用頻度の高い抗がん剤の一つである。シスプラチンの強い腎毒性は用量規制因子であるにも拘らず、これまでその分子機構は未解明であった。申請者は、シスプラチンによる腎毒性発現機構解明を目的とし、シスプラチンの動態特性と毒性発現の関連を他の白金系抗がん剤との比較を行いながら系統的な解析を行い、以下の新知見を得た。

血中からの細胞内取り込み過程を媒介する腎特異的なトランスポータ OCT2 に着目し、外来遺伝子発現系を用いてシスプラチン処理による影響を調べたところ、対照に比してラット (r) OCT2 発現細胞ではシスプラチンによる細胞毒性の増強と細胞内蓄積量の増大が認められた。一方、肝臓および腎臓に発現する rOCT1 によるシスプラチンの輸送は認められなかった。次に、シスプラチン投与後のラット *in vivo* における尿中 N-アセチル- β -D-グルコサミニダーゼ (NAG) 活性は、腎 rOCT2 発現量に対応することが判明した。これらの結果から、シスプラチンは腎特異的に発現する rOCT2 を介して組織中に蓄積し、腎選択的な毒性を誘発することが明らかとなった。

次に、他の3種の白金系抗がん剤を用いて用量依存的な腎毒性の発現について調べたところ、シスプラチン投与群では低用量より腎障害の進展と著明な組織学的変化が観察されたが、カルボプラチンおよびオキサリプラチンの投与による影響は認められなかった。また、腎組織中の残存白金量を比較したところ、シスプラチンの腎蓄積量は他の3薬物と比較して3倍程度高いこと、また4種の白金系抗がん剤の中でシスプラチンは最も高い腎蓄積性とそれに伴う腎毒性を誘発することが明らかとなった。

さらに、有機カチオントランスポータによる白金系抗がん剤の輸送特性を、発現系を用いて比較した結果、シスプラチンとオキサリプラチンは血管側側底膜に局在するヒト (h) OCT2 に強く輸送されることが見出された。次に、管腔側刷子縁膜に局在する H⁺/有機カチオンアンチポータ hMATE1 および hMATE2-K による輸送について検討したところ、細胞内酸性化の条件においてオキサリプラチンは hMATE2-K によって顕著に輸送されることが判明した。一方、同一条件にお

けるシスプラチン、カルボプラチンおよびネダプラチンの輸送を認めなかった。これらの結果から、シスプラチンは hOCT2 を介して腎組織中へ濃縮的に取り込まれるものの、刷子縁膜側の hMATE1 や hMATE2-K による分泌を受けにくいことから、強い腎毒性を発現することが明らかとなった。一方、オキサリプラチンは側底膜側の hOCT2 ならびに刷子縁膜側の hMATE1 および hMATE2-K を介した経細胞輸送を受け尿細管分泌されるために、最終的な組織蓄積量が低く腎毒性が弱いことが強く示唆された。

以上の研究は、白金系抗がん剤の腎局所における動態と毒性の関連について精査し、一部の白金系抗がん剤が有機カチオントランスポータの基質となること、腎有機カチオントランスポータによる基質認識特性と輸送能が、白金系抗がん剤の腎毒性を規定する重要な分子機構であることを初めて明らかにしたものであり、今後のシスプラチンによる腎毒性回避への応用や臓器指向性を備えた次世代の白金系抗がん剤の開発に貢献するところ大であり、医療薬剤学の発展に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成19年2月22日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。