

(続紙 1)

京都大学	博士（薬学）	氏名	佐藤 朋子
論文題目	白金系抗腫瘍薬の経上皮輸送解析モデルおよび尿中バイオマーカーを指標としたヒト <i>in vivo</i> 腎毒性の評価系構築に関する研究		
(論文内容の要旨)			
生体に投与されたイオン性薬物の多くは、腎臓における糸球体ろ過や尿細管分泌・再吸収を経て最終的に尿中へ排泄される。ヒトにおけるカチオン性化合物の尿細管分泌は、有機カチオントランスポータ(hOCT2/SLC22A2)による血中から尿細管上皮細胞内への取り込み過程と、multidrug and toxin extrusion(hMATE/SLC47A)を介した細胞内から管腔中への排出という2段階の膜輸送過程の総和として考えられてきた。これまで、有機イオントランスポータ個々の機能評価が進められてきたものの、上皮細胞におけるイオン性薬物の方向選択的な経上皮輸送過程については、<i>in vitro</i>評価系の不足から不明な点が多く残されてきた。 そこで著者は、<i>in vivo</i>におけるカチオン性化合物の尿細管分泌機構を反映する上皮細胞モデルを樹立し、白金系抗腫瘍薬の動態特性と尿中バイオマーカーに着目した系統的な検討を行うことで、以下の新知見を得た。			
I. hOCT1/hMATE1、hOCT2/hMATE1およびhOCT2/hMATE2-Kダブルトランスフェクタントの樹立とカチオン性化合物の経細胞輸送解析			
イヌ腎由来上皮細胞MDCKを宿主とし、側底膜側にhOCT1またはhOCT2、頂側膜側にhMATE1またはhMATE2-Kを安定発現させたダブルトランスフェクタントの構築を試みた。その結果、肝細胞のモデルとしてhOCT1/hMATE1、腎近位尿細管上皮細胞のモデルとしてhOCT2/hMATE1、hOCT2/hMATE2-Kの樹立に成功した。次に、これらモデル細胞を用いて種々カチオン性化合物の経細胞輸送活性を調べたところ、側底膜側から頂側膜側へ方向選択的に輸送された。すなわち、ヒト近位尿細管上皮細胞において、hOCTとhMATEは協働的に機能していることが示された。さらに、hMATE1を介したカチオン性化合物の輸送活性はhMATE2-Kと比較して顕著に高いことが示された。			
II. ダブルトランスフェクタントを用いた白金系抗腫瘍薬の経上皮輸送解析			
腎近位尿細管上皮細胞モデルhOCT2/hMATE1およびhOCT2/hMATE2-Kを用いて、白金系抗腫瘍薬の経上皮輸送解析を行った。その結果、シスプラチン、オキサリプラチンは側底膜側から頂側膜側へ方向選択的に輸送された。特に、hOCT2/hMATE2-Kによる側底膜側から頂側膜側への方向選択的な輸送活性は、hOCT2/hMATE1における輸送活性に比して高かった。これらの結果から、白金系抗腫瘍薬の尿細管分泌にhOCT2、hMATE1およびhMATE2-Kが関与しており、特にhMATE2-Kの重要性が示唆された。			
III. シスプラチン投与患者における尿中バイオマーカーの発現変動			
京都大学医学部附属病院呼吸器内科においてシスプラチンを投与された肺がん			

患者を対象に、種々尿中バイオマーカーの経時的変動について調べた。その結果、シスプラチン腎症患者において、尿中バイオマーカーの多くが投与後3日目で顕著な増加を示した。さらに、著者の所属研究室において、ラットにおける新たなシスプラチン腎症のマーカー候補分子とされた**Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)**についても、シスプラチン投与後3日目から約3倍の上昇が見られた。これらの結果は、シスプラチン投与患者において非侵襲的に腎障害の評価が可能であることを示すと同時に、シスプラチン投与後3日目における尿細管上皮細胞障害を示唆するものである。

以上、著者はカチオン性化合物の尿細管分泌を反映する*in vitro*モデル細胞を樹立し、カチオン性化合物に加えて白金系抗腫瘍薬の尿細管分泌に関わる分子機構を明らかにした。さらに、肺癌患者を対象にシスプラチン投与後の尿中バイオマーカーの変動について明らかにした。本研究成果は、腎近位尿細管上皮細胞におけるhOCTおよびhMATEの機能協働を明らかにするとともに、薬剤性腎障害の新たなバイオマーカーを特定する上で有用な基礎的知見を提供するものと考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

1994年のラットOCT1のクローニング以来、様々な薬物トランスポータをコードする遺伝子がクローニングされてきたが、それぞれの機能的特性の解明には、個々の発現系がもっぱら用いられるのみであった。一方、肝臓や腎臓における異物排泄は方向選択的な経細胞輸送であるが、そのin vitro評価系の不足から詳細な解析は困難であった。申請者は、これらの問題点を解決するために、上皮細胞のそれぞれの細胞膜に局在するトランスポータを導入した細胞を構築し、よりin vivoに近い解析モデル系の構築を試みた。すなわち、イヌ腎由来MDCK細胞を宿主として、血管側側底膜に有機カチオントランスポータOCT1またはOCT2を、刷子縁膜側の有機カチオントランスポータとしてMATE1またはMATE2-Kを発現させたダブルトランスフェクタントを構築した。これらを用いた解析から、カチオン性薬物や白金系抗腫瘍薬の経細胞輸送を初めて再現することができ、個々の発現系では評価が困難であったアマンタジンやシスプラチンが腎有機カチオントランスポータによる経上皮輸送を受ける事を明確にした。一方、ヒトin vivoにおける解析は困難であることから、近位尿細管上皮細胞におけるシスプラチンの毒性発現を検出するバイオマーカーの探索に着手した。シスプラチンを投与されている肺がん患者由来の尿を用いた検討から、シスプラチンによる尿細管毒性を反映する尿中バイオマーカーの評価に成功し、シスプラチン腎症の個人差には有機カチオントランスポータの機能的差異が一部影響することを示すことが出来た。

本研究成果は、in vitroモデル系構築によるカチオン性薬物排泄機構の新しいスクリーニング系の確立のみならずシスプラチン腎症発症の分子メカニズム解明に貢献し、医療薬剤学の発展に寄与するところ大である。

よって本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成23年2月21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。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 年 月 日以降