

Molecular mechanism underlying the dosing-time dependency of cisplatin-induced nephrotoxicity

小田, 昌幸

<https://hdl.handle.net/2324/1441169>

出版情報 : 九州大学, 2013, 博士 (薬学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : やむを得ない事由により本文ファイル非公開 (3)

氏 名	小田 昌幸
論 文 名	シスプラチン誘発性腎障害における投与時刻依存性の分子メカニズム Molecular mechanism underlying the dosing-time dependency of cisplatin-induced nephrotoxicity

論文審査の結果の要旨

ヒトを初めとする多くの哺乳類には、生体機能の概日変動を制御する体内時計が備わっている。体内時計の本体は、時計遺伝子 *Clock*, *Bmal1*, *Per*, *Cry* などによって構成される転写/翻訳のフィードバックループであり、この機構は DBP, HLF, TEF などに代表される時計出力遺伝子を介して生体機能の概日リズムを制御している。時計出力遺伝子により制御される分子には、異物の代謝や排泄に関わる多くの酵素やトランスポーターが含まれている。そのため、薬物の吸収・分布・代謝・排泄に日内変動が生じ、薬物の効果や副作用に投薬時刻の違いによる差異が生じることが示されている。

シスプラチン (CDDP) は、固形癌に幅広く使用されている白金系抗がん剤であるが、副作用として腎障害が頻発する。腎障害は CDDP 療法における用量規制因子にもなっていることから、腎への障害を軽減するための研究が盛んに行われてきた。近年、腎臓において Organic cation transporter 2 (OCT2) と Multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1) の各トランスポーターが CDDP 誘発性の腎障害発症に重要な役割を担っていることが明らかにされた。一方、腎障害は CDDP を投与する時刻によって軽減できることが示されており、ヒトでは昼間から夕方に投与することでその発症が抑制される。しかしながら、その分子メカニズムは明らかにされていない。

そこで本研究の第一章では、マウスを対象に CDDP 誘発性腎障害の投与時刻依存性の分子メカニズム解明を目的として研究を行った。また、最適な CDDP の投薬時刻を摂食時間の操作によって調節できる可能性を検討するため、第二章では CDDP の体内動態に及ぼす時間制限摂食の影響についてマウスを用いて検討した。一方で、夜行性のマウスから得られたデータを元に、昼行性のヒトにおける CDDP の腎排泄の日内変動を予測することは困難であることから、第三章ではヒトと同じ霊長類であるカニクイザルを用いて、腎臓での *SLC22A2*/OCT2 と *SLC47A1*/MATE1 の発現リズムについて解析を行った。

第一章では、薬物動態学的観点から、マウスにおける CDDP 誘発性腎障害の投与時刻依存的な差異の分子メカニズム解明を目的として検討を行った。CDDP による腎障害は、マウスの活動期である暗期に投与することで軽減された。また、CDDP の腎クリアランスは暗期に高値を示し、腎 DNA に蓄積する Pt の量は低値を示した。マウス腎臓での CDDP の排泄に関わるトランスポーター *Slc22a2*/OCT2 の発現量は、暗期に低値となる有意な日内変動を示したが、*Slc47a1*/MATE1 の発現には有意なリズムは認められなかった。これらのことから、腎臓における OCT2 の発現リズムが腎臓細胞中への CDDP の蓄積に投与時刻依存的な差異を引き起こしていることが示唆された。*Slc22a2*/OCT2 の発現リズムは転写レベルで起こっていたことから、*Slc22a2* を制御する体内時計関連因子を探索した。その結果、時計遺伝子産物である CLOCK が PPAR α を介して *Slc22a2* の発現量に概日振動を引き起こしていることが示された。以上のことから、CDDP 誘発性腎障害の投与時刻依存性の分子メカニズムが明らかとなり、体内時計と腎臓における異物排泄機構との分子レベルでの関連性が示唆された。

時間薬物療法は、最適な時刻に薬物を投与することで、その効果の増強や副作用の軽減に有用な治療手段であるが、最適な投薬時刻が患者の就寝時間にあたる場合、実施することは困難となる。一方、摂食夕

イミングは明暗サイクルと同様に強力な体内時計の同調因子である。そのため、摂食時間帯を操作することで、末梢組織における時計遺伝子の概日振動の位相をずらし、最適な薬物投与タイミングを調節することが可能となる。そこで本研究では、摂食時間の操作が CDDP による腎障害を軽減させる最適な投薬時刻を調節できる可能性を検討するため、CDDP の体内動態に及ぼす時間制限摂食の影響を評価した。自由摂食条件下において夜行性のマウスは主に暗期に摂食を行うが、摂食時間を明期のみ制限したところ、マウスの腎臓において、*Per2* と *Ppara* の発現リズムの位相はほぼ逆位相にシフトした。この末梢時計の位相変化は、*Slc22a2*/OCT2 の発現リズムの位相にも影響を及ぼし、腎臓細胞中への CDDP 蓄積の投与時刻依存性を変化させたと考えられた。以上のことから、CDDP 誘発性腎障害を軽減させる最適な投与時刻は、摂食時間の操作によって調節できることが示唆された。

夜行性のマウスでは、CLOCK が PPAR α を介して *Slc22a2* の発現リズムを生み出し、CDDP 誘発性腎障害の投与時刻依存性を引き起こしていることが分かった。しかしながら、本知見で得られたマウスのデータを元に、昼行性であるヒトでの CDDP の腎排泄に日内変動が同様に生じているか否かを予測することは困難である。この課題を解決するため、カンクイザルの腎臓における *SLC22A2*/OCT2 と *SLC47A1*/MATE1 の発現パターンを解析した。その結果、サル *SLC22A2* の遺伝子発現量に日内変動は認められず、*SLC47A1* の発現量に有意な日内変動が観察された。このことから、CDDP の腎排泄の日内変動メカニズムには種差があることを示唆された。マウス *Slc22a2* の転写開始点上流の PPREs がカンクイザルとヒトで保存されていなかったことから、サルにおいて PPAR α は *SLC22A2* の発現リズム制御には関わっていないことが示唆された。また、サル *SLC47A1* の転写開始点上流と 1st イントロンには、時計遺伝子応答配列 PARREs と E'-box が複数存在していた。このうち、転写開始点上流と 1st イントロンの PARREs が DBP による *SLC47A1* の転写活性化に重要であったことから、DBP がサル *SLC47A1* の遺伝子発現に日内変動を引き起こしていることが示された。以上の知見から、昼行性のカンクイザルにおける CDDP の腎排泄の日内変動制御メカニズムは、夜行性のマウスとは異なることが示唆された。

本研究では、CDDP 誘発性腎障害の投与時刻依存性の分子メカニズムを明らかにし、体内時計と腎臓における異物排泄システムとの分子レベルでの関連性を示した。本知見は、CDDP による腎障害は投与時刻の最適化によって軽減できるだけでなく、食事の時間の操作により、最適な投与時刻を患者に合わせて操作することも示している。また、サルを用いた解析結果からトランスポーターの発現量の概日制御メカニズムには種差があることが明らかになった。このことは、ヒトにおける各々の薬物動態・薬力学制御因子の発現リズムが、体内時計の分子機構とどのようなメカニズムでリンクしているかを解明する重要性を示唆している。これらのことから、申請者は博士（薬学）の学位に値すると認める。