

平成21年 5月25日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007-2008

課題番号：19790123

研究課題名（和文）ヒト有機カチオントランスポータの変動と薬物動態学的重要性

研究課題名（英文）Pharmacokinetic importance of human organic cation transporter alteration

研究代表者

本橋 秀之（Motohashi Hideyuki）

京都大学大学院医学研究科・助教

研究者番号：30359822

研究成果の概要：本研究はカチオン性薬物の腎排泄において重要な役割を果たす膜輸送タンパク（トランスポータ）のヒト腎臓における発現変動について精査し、薬物排泄能との関連について明らかにすることを目的とした。ヒト正常腎皮質において有機カチオントランスポータ（hOCT）群中、hOCT2の発現量がかつとも高いこと、内因性のカチオンであるN-methylnicotinamideの尿中排泄クリアランス比がhOCT2のみと有意な相関を示すことを明らかにするとともに、N-methylnicotinamideがhOCT2の基質であることなどを、発現系をもちいて確認した。さらに2年次には症例を追加し、前年度に得られた成果について確認をおこなった。さらにhOCT2発現量との対応を示す検査値を探索したが、hOCT2発現量を反映する良好なマーカーを見いだすには至らなかった。本研究では、カチオントランスポータの薬物尿中排泄における重要性を明らかにした。これらの成果は臨床薬物動態学的に有用な知見と考える。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成19年度	2,000,000	0	2,000,000
平成20年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：医療系薬学

キーワード：医療薬剤学

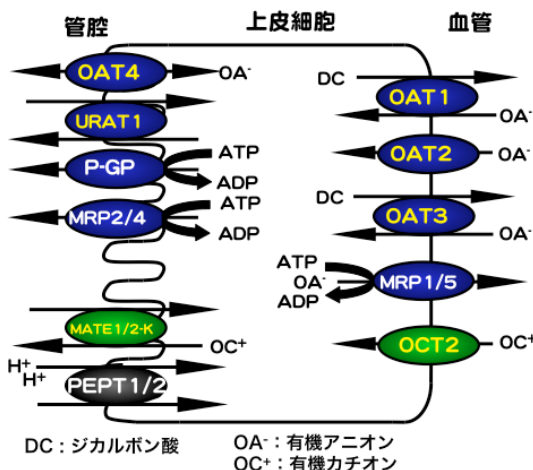
1. 研究開始当初の背景

腎臓は生体の解毒にとって最も重要な臓器の一つであり、異物排泄において主要な役割を果たしている。そのため腎機能の破綻は有害物質の体内蓄積につながり、生命にとって深刻な事態を引き起こす。また多くの薬物が腎臓を介して尿中へと排泄されていくため、

薬物体内動態の上でも重要である。腎臓はネフロンと呼ばれる機能単位から構成され、糸球体濾過、尿細管分泌及び再吸収の各過程を経て最終的に尿へと排泄される。このうち尿細管分泌及び再吸収過程は、尿細管上皮の経細胞輸送に媒介されるが、この経細胞輸送は血管側側底膜並びに管腔側刷子縁膜に存在

する効率的な特殊輸送系から成り立っている。これら輸送系の分子実体として輸送体タンパク質（トランスポーター）が同定され、*in vitro* 発現系などによって、広範な基質認識特性を示すこと、また遺伝子ファミリーを形成することなどが明らかにされてきた。

腎尿細管上皮細胞には基質の荷電状態などによって認識能の異なる多種の輸送系が存在することが *in vitro* 並びに *in vivo* 実験によって明らかにされてきた。その後有機アニオントランスポーター(OAT)や有機カチオントランスポーター(OCT)など機能特性の異なる膜タンパク質として同定された。尿管上皮細胞の有機カチオン輸送系については、血管側側底膜の細胞内負の膜電位を駆動力とする輸送系と管腔側刷子縁膜のプロトンと有機カチオンの逆輸送系が存在する。これらの分子実体は SLC22A ファミリーである有機カチオントランスポーター(OCT) および multidrug and toxin extrusion type transporter (MATE)として単離された。OCT および MATE は多様なカチオン性基質を輸送することが明らかにされた。



これまで、小腸や腎臓に発現するトランスポーターの機能特性や発現制御について研究を展開してきた。研究代表者は、高齢者や腎機能低下患者におけるトランスポーターの発現量変動や遺伝子多型について解析を行い、約100症例の正常腎組織を用い19種の尿管トランスポーターの発現プロファイルを同定していた。さらに腎疾患患者における有機アニオントランスポーターの発現変動と薬物腎排泄との関わりなどについても研究を展開し、腎機能検査役フェノールスルホンフタレイン(PSP)や腎生検後に感染症予防を目的として投与されるセファゾリンをモデル基質として、腎疾患患者におけるアニオントランスポーター発現変動との関連について解析した。その結果、尿管側底膜に発現する有機アニオントランスポーター hOAT3 発現量がセファゾリンや PSP の消失速度と相関することを見だし、さらにはトランスポー

タと薬物腎排泄能との対応は疾患の違いに影響を受けることを報告した。一方、有機カチオン輸送系についてはトランスポーターの変動と腎排泄機能に及ぼす影響については不明であった。

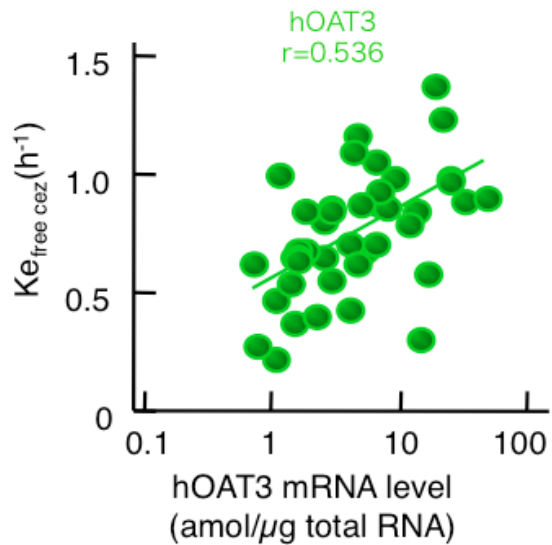


図1、セファゾリン消失速度定数とトランスポーター発現量との相関

2. 研究の目的

本研究では腎臓におけるカチオン性基質の排泄に関わるトランスポーター群について、発現変動及び腎有機カチオン排泄能に及ぼす影響を解明することを目的とした。すなわち腎有機カチオン排泄に関わる最も重要なトランスポーターを明らかにするとともに、さらにトランスポーター発現レベルが変動する要因及びメカニズムについて研究の展開を試みた。

3. 研究の方法

腎機能の評価

腎機能の評価は一般的な臨床検査値（クレアチニンクリアランス、BUNなど）を用いた。

腎トランスポーターの発現変動に関する検討

確定診断のため腎生検が施行される患者については、腎生検組織の一部を用いて薬物トランスポーター mRNA 発現量について検討した。測定は Real-time PCR 法を用いて定量数値化した。また、トランスポータータンパク質の発現については免疫組織染色によって検討した。抗有機カチオントランスポーター抗体は既に作成済みのものを用いた。

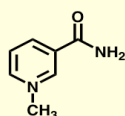
腎有機カチオン排泄能の評価

腎有機カチオン排泄能は内因性カチオンである N1-methylnicotinamide (NMN) の排泄速度を指標として用いた。NMN は肝臓において

ニコチンアミドが代謝され生成する。ほぼすべてが尿中へと排泄されることから、これまでも腎機能の指標として有効利用するための研究が進められてきていた。尿中排泄速度の算出は、臨床検査時に採取される血液及び尿検体の余剰分の提供を受けた。尿中並びに血中の NMN 濃度測定は高速家液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた。HPLC による NMN 測定法は既に確立されており、測定に必要な HPLC などは現有の設備を利用した。

N-methylnicotinamide (NMN)

- 1) Nicotinamideの代謝物
- 2) 糸球体濾過 (40%)、尿細管分泌 (60%)
- 3) 健康者におけるクリアランスは250 ml/min



4. 研究成果

腎臓からの薬物排泄には尿細管上皮細胞の細胞膜に発現するトランスポーターが重要な役割を果たしている。本研究ではカチオン性薬物の排泄を媒介する有機カチオントランスポーターファミリーの変動の、薬物動態学的重要性について明らかにすることを目的とした。まず有機カチオントランスポーターについて、ヒト腎組織における発現量について検討したところ、OCT2 が最も高い発現量を示した。一方、ラットなどの齧歯類では発現の認められた OCT1 はほとんど発現しておらず、腎臓における有機カチオントランスポーターの発現に種差が認められた。次に腎疾患患者における発現量について検討したところ、腎疾患患者において有意ではないものの正常腎組織と比較して低値を示す傾向が認められた。次にカチオン性薬物の排泄能を評価するために内因性カチオンである N-methylnicotinamide の尿中排泄クリアランスについて検討を行った。NMN クリアランスとトランスポーター発現量について相関解析をおこなったところ、OCT2 発現量とのみ有意な相関が認められた。さらに *in vitro* 発現系を用いた検討により NMN が OCT2 の良好な基質となることが示された。以上より、カチオン性薬物の排泄に腎尿細管側底膜トランスポーターの変動が寄与することが示された。

2 年次は症例を追加し、前年度に得られた成果について確認をおこなった。さらに、これらカチオン性薬物の排泄速度に関連する影響因子の探索および同定を試みた。N-methylnicotinamide の尿中排泄速度は腎機能検査値であるクレアチニンクリアランスと有意な相関を示した。一方、アニオン性薬物であるフェノールスルホンフタレインの消失速度との相関係数は低く、これらの結果はカチオン排泄能の変動がアニオン排泄能の変動と一部相関しない可能性を示唆し

ている。また、hOCT2 発現量と hOAT3 発現量との相関も必ずしも良好ではなく、これらは前述の N-methylnicotinamide の尿中排泄速度とフェノールスルホンフタレインの消失速度との関係に対応すると考えられた。さらに hOCT2 発現量との対応を示す検査値を探索したが、hOCT2 発現量を反映する良好なマーカーを見いだすには至らなかった。

本研究では、カチオントランスポーターの薬物尿中排泄における重要性を明らかにした。これらの成果は臨床薬物動態学的に有用な知見と考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 4 件)

① Analysis of regulatory polymorphisms in organic ion transporter genes (SLC22A) in the kidney. Ogasawara K, Terada T, Motohashi H, Asaka J, Aoki M, Katsura T, Kamba T, Ogawa O, Inui K. *J Hum Genet.* 53(7):607-14. (2008).

② Pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel with carboplatin or gemcitabine, and effects of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms in patients with urogenital cancers. Jiko M, Yano I, Sato E, Takahashi K, Motohashi H, Masuda S, Okuda M, Ito N, Nakamura E, Segawa T, Kamoto T, Ogawa O, Inui K. *Int J Clin Oncol.* 12(4):284-90. (2007).

③ Interaction and transport characteristics of mycophenolic acid and its glucuronide via human organic anion transporters hOAT1 and hOAT3. Uwai Y, Motohashi H, Tsuji Y, Ueo H, Katsura T, Inui K. *Biochem Pharmacol.* 2007 Jun 30;74(1):161-8. (2007).

④ Cl⁻-dependent upregulation of human organic anion transporters: different effects on transport kinetics between hOAT1 and hOAT3. Ueo H, Motohashi H, Katsura T, Inui K. *Am J Physiol Renal Physiol.* 293(1):F391-7. (2007).

〔学会発表〕 (計 1 件)

① 阿榮 高娃、本橋 秀之、桂 敏也、乾 賢一、代謝性アシドーシス時における腎有機イオントランスポーターの変動と薬物の腎排泄能への影響、日本薬学会第 129 回年会、2009 年 3 月 28 日、国立京都国際会館

〔図書〕（計1件）

①本橋秀之、乾 賢一：SLC の構造と機能：遺伝子医学 MOOK 1 2号「トランスポーター研究の基礎」, 36-41 (2009)

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本橋秀之 (Motohashi Hideyuki)

京都大学大学院医学研究科・助教

研究者番号：30359822