

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：33708

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15328

研究課題名(和文) シスプラチンの感受性時刻差 ～抗腫瘍効果と腎障害の統合評価～

研究課題名(英文) diurnal variation of cisplatin-induced anti-tumor effect and renal toxicity

研究代表者

吉岡 弘毅 (YOSHIOKA, HIROKI)

岐阜医療科学大学・薬学部・講師

研究者番号：30756606

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：赤色蛍光タンパク質RFPを組み込んだヒト大腸腺癌HT29細胞をNudeマウスに移植し、移植2週間が経過してから8時(明期)または20時(暗期)にシスプラチンを5 mg/kgの用量で週に3回投与を4週間続け、体重および腫瘍サイズを経時的に観察することで薬理作用(腫瘍サイズ、細胞増殖能)ならびに毒性作用(体重、尿素窒素)を指標に評価し、シスプラチンの最適な条件を探索した。実験の結果、薬理作用及び毒性作用はともに8時(明期)よりも20時(暗期)の方が強く顕れることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シスプラチンは白金を含有する悪性腫瘍に対する化学療法剤であり、多くのがん化学療法プロトコールにおいて中心的な役割を果たしているが、20-30%の患者で急性腎障害等の副作用が認めれる。薬理作用と毒性作用が異なる時刻であれば、患者のQOL向上に強く貢献できるものになるが、今回の結果では薬理作用及び毒性作用の強く顕れる時刻は一致していた。近年、医療費高騰の問題もあることから、シスプラチンの作用が強く出る時刻に投与すれば、医療費削減に貢献できる可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：Cisplatin-induced diurnal renal toxicity and chrono-pharmacology of anti-cancer reagent was already reported. However, there is no report evaluating chrono-toxicity and chrono-pharmacological effect by cisplatin at same time. In the present study, I investigated diurnal variation of cisplatin-induced anti-tumor effect and renal toxicity using Nude mice. I injected cisplatin 3 times for 4 weeks at ZT2 (8:00) or ZT14 (20:00). I demonstrated that cisplatin-induced renal toxicity, body weight reduction and anti-cancer effect were observed both at ZT2 (8:00) and ZT14 (20:00), respectively. Moreover, we showed that these effect at ZT14 (20:00) was observed stronger than that of ZT2 (8:00). My present result may be contributed to reduce medical bills by modulating cisplatin injection time.

研究分野：医療薬学

キーワード：時間薬理 時間毒性 シスプラチン

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

シスプラチン (CDDP) は白金を含有する悪性腫瘍に対する化学療法剤であり、多くのがん化学療法プロトコールにおいて中心的な役割を果たしている。しかし、20-30%の患者で急性腎障害等の副作用が見られることも知られている。CDDP の腎毒性を軽減させる手法として、CDDP の投与前後に大量輸液を行うことや、マンニトールなどの利尿薬によって強制排尿を行うことで急性腎障害を回避できる。現在は外来で化学療法を行う機会が増えているが、大量輸液の場合は、入院を余儀なくされることなど患者への使用は難しくなりつつある。また、カルボプラチンやオキサリプラチンなど副作用の少ない第二・第三世代の白金製剤も開発されているが、CDDP と比べると奏効率は低いことから、未だに CDDP が使用されている。そのため、CDDP の副作用を出来る限り低い条件下で、化学療法治療を行うことが患者への QOL 向上に寄与できると考えられる。

多くの生物には 24 時間周期で繰り返される概日リズムが存在する。睡眠・覚醒のサイクルをはじめ、自律神経やホルモン、体温、代謝 (シトクロム P450 [CYPs] など)、血圧などほぼすべての生体機能は約 24 時間のリズムで変動する。また、病気の発症 (喘息発作等) にも日内リズムが存在することが知られている。多くの医薬品が 24 時間周期の生体反応に応じて、処方時刻が調節されている。このように、生体リズムを考慮に入れる事、つまり、薬を飲む時刻を考慮した投与法を研究する学問は「時間薬理学」と呼ばれ、臨床でも時間薬理治療や時間化学療法として注目されている。また、薬は毒にもなることから、生体リズムに着目した毒性学である「時間毒性学」も知られており、医薬品や化学物質において、投与時刻によって毒性感受性が異なることも明らかになっている。このように、薬理および毒性作用が投与時刻で異なる結果は申請者やその他の研究者も明らかとしている。この結果は ED50 (50% 有効量)・LD50 (50% 数致死量)・TD50 (50% 中毒量) の値は投与時刻によって異なることを示唆するものであるが、不明瞭な点が多く残されている。

2. 研究の目的

医薬品は薬にもなるが、用量等を誤ると毒にもなる。シスプラチン (CDDP) は抗がん剤として広く処方されるが、その一方で腎障害等の有害作用が問題視されている。CDDP はラットやマウスにおいて、投与時刻によって毒性作用が異なることが報告されている (Kobayashi et al, *J Pharm Pharmacol*, 2000, Zha et al, *Cell Death and Dis*, 2020)。また、抗がん剤は多くの医薬品で、その薬効が時刻によって異なることも明らかとなっている (Huang et al, *J Int Med Res*, 2011)。しかし、CDDP を含めた医薬品における薬理作用と毒性作用を併せて検討した報告はない。本申請研究では、CDDP を例として、「時間」の概念を取り入れることで治療係数が変動するかを明らかにすることを、目的とする。

3. 研究の方法

【ヒト大腸癌細胞株の移植モデルに対する CDDP の抗腫瘍効果と腎障害の程度の時刻差の検証】

実験には、7 週齢のメス Balb/c ノードマウスを用いた。赤色蛍光タンパク質 RFP を組み込んだヒト大腸癌細胞株 HT-29 細胞 (RFP-HT29 細胞) を 2×10^6 個皮下へ移植した。皮下移植 2 週間後に CDDP の投与を開始した。投与量は 5 mg/kg の用量で、週に 3 回 (月・水・金) 投与し、4 週間継続して実施した。投与時刻は 8 時 (ZT2) または 20 時 (ZT14) に投与し、対照群には生理食塩水を投与した。体重は毎週測定し、移植腫瘍は 2 週間後から 1 週間ごとに測定した (ノギス法)。また、移植 2 週、4 週、6 週間後にはインビボイメージングシステムを用いて、赤色蛍光量を指標に移植腫瘍の大きさを測定した。実験終了時 (移植開始 6 週間) には、血液、腎臓および腫瘍を得て、各種解析を行った。

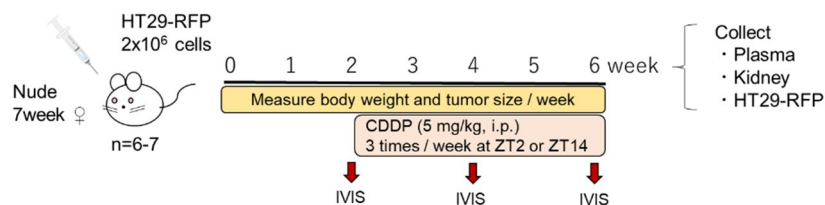


図1.実験の方法

4. 研究成果

(1) 体重変化および尿素窒素の評価

CDDP を投与することで、8 時 (ZT2) および 20 時 (ZT14) の両時刻で体重の減少が認められた。2 時刻で比較を行うと、8 時 (ZT2) よりも 20 時 (ZT14) の方が体重減少の程度は大きかった。血漿中の尿素窒素に関しては、8 時 (ZT2) では上昇傾向が認められたが、有意な変化は確認されなかったが、20 時 (ZT14) では軽度な増加が認められた。H&E 染色による組織学的解析では、CDDP による傷害は観察されなかった。

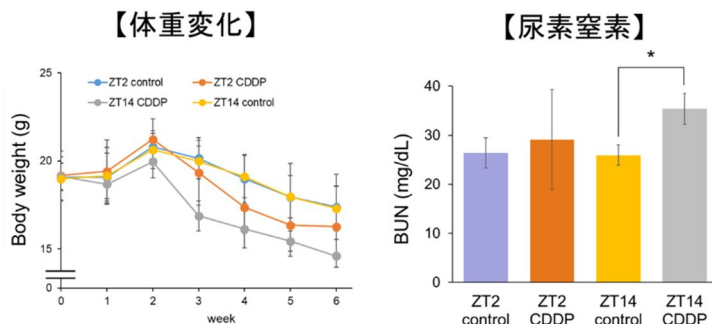


図2.体重変化および尿素窒素の評価

(2) 抗腫瘍作用の効果

RFP-HT29 細胞を皮下移植すると、経時的に腫瘍サイズが増加することがノギス法及び蛍光強度で確認された。この条件下で、CDDP を投与すると 8 時 (ZT2) および 20 時 (ZT14) の両時刻で RFP-HT29 細胞のサイズが縮小することが確認された。また、8 時 (ZT2) よりも 20 時 (ZT14) の方が腫瘍サイズの減少の程度が大きいことが認められた。細胞増殖能の指標として、Ki67 を用いた免疫染色によっても同様の結果が認められた。

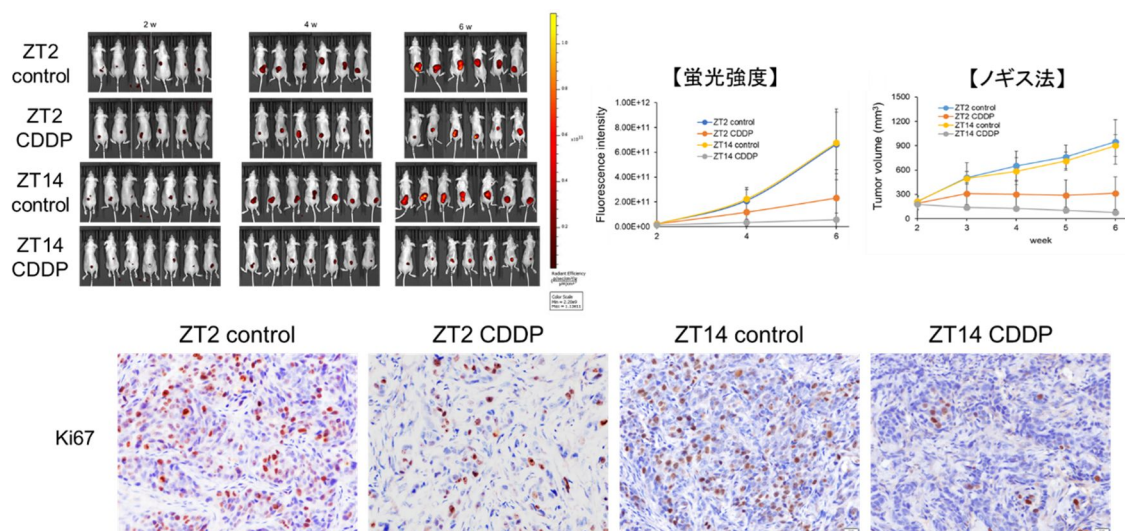


図3.抗腫瘍作用の効果

(3) 総括

本検討において、時刻によって薬理作用および毒性作用が異なるか統合的に評価した結果、薬理作用 (抗腫瘍作用) および毒性作用 (腎毒性および体重減少) は 8 時よりも 20 時の方が強く認められることが明らかにした。ヒトとマウスで昼行性と夜行性で差があるものの、時刻を調節することで CDDP の用量を減らした薬物治療が可能となることが示唆される。本検討では、感受性時刻差を示す薬理/毒性作用を機序解明には至っていないが、非常に重要な知見であるため、現在論文として投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hiroki Yoshioka, Satoshi Yokota, Sarah Tominaga, Yosuke Tsukiboshi, Masumi Suzui, Yasuro Shinohara, Masae Yoshikawa, Hayato Sasaki, Nobuya Sasaki, Tohru Maeda, Nobuhiko Miura	4. 巻 46
2. 論文標題 Involvement of Bmal1 and Clock in Bromobenzene Metabolite-Induced Diurnal Renal Toxicity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 824-829
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b23-00072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sarah Tominaga, Hiroki Yoshioka, Satoshi Yokota, Yosuke Tsukiboshi, Masumi Suzui, Makoto Nagai, Hirokazu Hara, Tohru Maeda, Nobuhiko Miura	4. 巻 28
2. 論文標題 Copper-induced diurnal hepatic toxicity is associated with Cry2 and Per1 in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Environmental Health and Preventive Medicine	6. 最初と最後の頁 78-78
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1265/ehpm.23-00205	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉岡弘毅、富永サラ、横田理、前田徹、三浦伸彦
2. 発表標題 シスプラチンによる腎障害に対する時計遺伝子発現変化の影響
3. 学会等名 第六回医薬品毒性機序研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 富永サラ、吉岡弘毅、杉本昌弘、三浦伸彦、前田徹
2. 発表標題 シスプラチンによる急性腎障害の感受性時刻差に関与する因子の探索
3. 学会等名 第94回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 吉岡弘毅、三上友理恵、松下幸平、横田理、富永サラ、前田徹、三浦伸彦
2. 発表標題 シスプラチンの感受性時刻差における抗腫瘍作用と腎障害の統合評価
3. 学会等名 日本薬学会第144年会（横浜）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 吉岡弘毅
2. 発表標題 シスプラチンによる急性腎毒性と時計遺伝子の関与
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会（札幌）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	三上 友理恵 (Mikami Yurie) (70801661)	九州大学・大学病院・助教 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------