

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590198

研究課題名(和文)腎透析がん患者におけるSN-38の排泄遅延のメカニズム解明・最適透析法設計

研究課題名(英文) Mechanism for the delayed elimination of SN-38 in cancer patients with severe renal failure and optimal treatment strategy

研究代表者

藤田 健一 (Fujita, Ken-ichi)

昭和大学・腫瘍分子生物学研究所・准教授

研究者番号：60281820

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：本申請研究では、(1)肝消失型であるSN-38のOATP1B1によるヒト肝細胞への取り込み活性を、尿毒素が直接的に阻害すること、(2)尿毒症血漿中に含まれる物質がOATP1B1および1B3の発現を低下することを明らかにした。これらの機序は少なくとも部分的には、透析を要するほど腎機能の低下したがん患者におけるSN-38の排泄の遅延の原因であると考えられる。これらの知見は、「肝消失型薬物であれば腎障害患者に比較的安全である」とする従来の常識が、イリノテカン塩酸塩には当てはまらないことを示す。

研究成果の概要(英文)：We have shown for the first time that uremic toxins such as CMPF inhibit SN-38 uptake in human hepatocytes at clinically relevant concentrations. OATP1B1 is a major contributor to the saturable uptake of SN-38 in human hepatocytes. The gene expression of SLC01B1 was down-regulated by uremic plasma. The inhibition by uremic toxins of OATP1B1-mediated SN-38 uptake and the down-regulated SLC01B1 gene expressions may be part of the mechanisms causing the delay of SN-38 elimination observed in patients with severe renal dysfunction.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：SN-38 排泄遅延 腎機能低下 尿毒素 OATP1B1 発現低下 肝消失型抗がん薬

### 1. 研究開始当初の背景

イリノテカン塩酸塩、特に活性代謝物である SN-38 は肝消失型の抗がん薬である。実地医療では、体調が良好であれば腎透析を施行しているがん患者に対しても、イリノテカン塩酸塩による標準的な治療が行われる。しかしながら腎透析を実施している患者におけるイリノテカン塩酸塩の薬物動態や薬物有害反応に関しては殆どデータがなかった。

申請者は前向きな臨床試験を行い、腎透析を施行中の 3 名のがん患者における SN-38 の消失速度定数は、5 名の正常な腎機能の患者と比較して 1/10 と極めて低い ( $P=0.025$ ) ことを世界に先駆けて見いだした (Fujita K et al. Drug Metab Dispos, 2011;39:161-4)。腎機能の低下した患者においては、好中球の減少が遷延したため、イリノテカン塩酸塩の次投与が、2 週間から 1 ヶ月遅延した。SN-38 の排泄の遅延が、透析患者における好中球減少の遷延の一因と考えられた。

しかしながら、SN-38 の排泄が、腎機能の低下したがん患者において著しく低下する原因は不明であった。

### 2. 研究の目的

本申請研究では、肝代謝、胆汁排泄型の SN-38 の排泄が、腎機能の顕著な低下により遅延するメカニズムを解明することを目的とする。これらの患者におけるイリノテカン塩酸塩による至適な治療方法の樹立を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) ヒト培養肝細胞における SN-38 の取り込みに関与する膜輸送担体の同定

浮遊型の凍結ヒト培養肝細胞を用いて、SN-38 の取り込みを検討した。膜輸送担体に特異的な阻害薬を添加することにより、SN-38 の肝取り込みに関与する膜輸送担体を同定した。

(2) 尿毒素による膜輸送担体の輸送活性阻害

代表的な有機アニオン系の尿毒素である、3-カルボキシ-4-メチル-5-プロピル-2-フラノプロピオネート (CMPF)、インドキシル硫酸 (IS)、インドール酢酸 (IA) および馬尿酸 (HA) が、SN-38 の肝取り込みに関与する膜輸送担体の輸送活性を阻害するか否かを検討した。浮遊型の凍結ヒト培養肝細胞ならびに膜輸送担体を安定的に発現する HEK293 細胞株を用いて検討した。

(3) SN-38 の肝取り込みに関与する膜輸送担体 mRNA の発現に対する尿毒症血漿の影響

推算糸球体濾過量 (eGFR) が 15 mL/min 以下の患者および 60 mL/min 以上の患者から血漿検体を得た。SN-38 の取り込みに関与する膜輸送担体の mRNA 発現量に対する尿毒症血漿の添加の影響を、接着型の凍結初代培養肝細胞を用いて検討した。

### 4. 研究成果

申請者は、透析患者における SN-38 の排泄のみが健常腎の患者と比較して遅延し、イリノテカンと SN-38 グルクロン酸抱合体の薬物動態は健常腎の患者と同等であることを見いだした。そこで、イリノテカン塩酸塩を SN-38 に活性化する酵素であるカルボキシエステラーゼ (CES) 2、または SN-38 の抱合的な解毒に関与する UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) 1A1 による代謝、および胆汁排泄に関与する膜輸送担体の変化ではなく、循環血中の SN-38 の肝細胞への取り込みが何らかの原因により低下したために、SN-38 の排泄が遅延した可能性を考えた。

(1) ヒト培養肝細胞における SN-38 の取り込みに関与する膜輸送担体の同定

まず、浮遊型の凍結ヒト肝細胞を用いて SN-38 の取り込みを検討した。ヒト肝細胞において SN-38 が時間および濃度依存的に取り込まれること、また SN-38 の濃度の上昇につれて取り込み速度が飽和すること、すなわち SN-38 の肝細胞への取り込みには膜輸送担体が関与することを初めて明らかにした (図 1)。

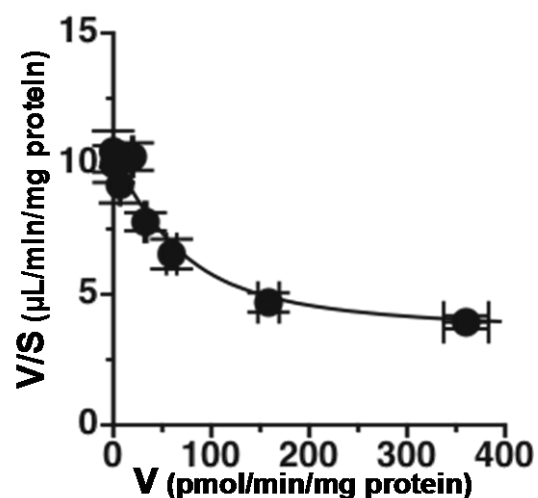


図 1. ヒト肝細胞における SN-38 の取り込み

これまでに、SN-38 は肝における取り込みに

関与する OATP1B1 と OATP1B3 の基質になることが知られていた (Nozawa T et al. Drug Metab Dispos, 2005;33:434-9; Yamazaki H et al. Cancer Lett, 2008;260:163-9). そこで, OATP1B1 の阻害薬であるエストロン-3-サルフェート (E3S), および OATP1B1 と 1B3 の阻害薬であるリファンピシン (RIF) を用いて, ヒト肝における SN-38 の取り込みに関する阻害を検討した. その結果, 肝細胞における SN-38 の取り込みには主として OATP1B1 が関与し, OATP1B3 も弱いながらも関与することを明らかにした (図 2). HEK293 細胞に発現する OATP1B1, 1B3 および 2B1 を用いた場合も結果は同様であった (図 3).

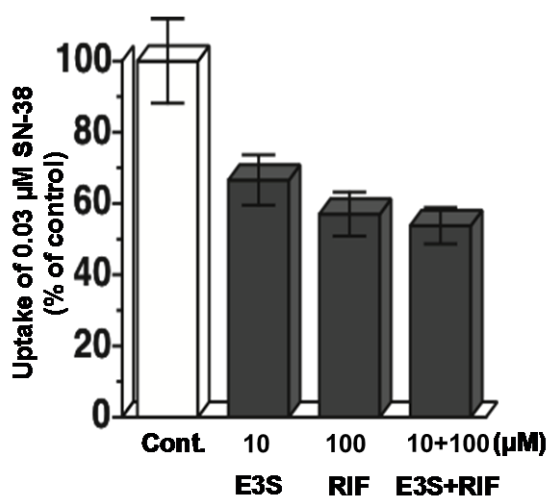


図 2. ヒト肝細胞における SN-38 の取り込みに対する E3S および RIF の影響

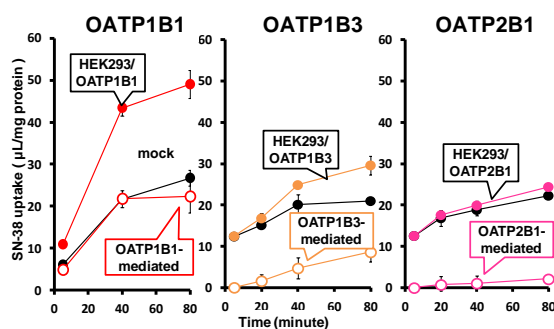


図 3. HEK293 に発現した OAPT による SN-38 の取り込み

(2) 尿毒素による膜輸送担体の輸送活性阻害

腎機能低下患者の血中には, 有機アニオンを含む様々な尿毒素が高濃度に存在する ( $\mu\text{M}$  ~  $\text{mM}$ ). そこでヒト肝細胞における OATP1B1

や OATP1B3 を介した SN-38 の取り込み活性を, 有機アニオン系の尿毒素が直接的に阻害する可能性を考えた. ヒト肝細胞における SN-38 の取り込みは, 4 つの有機アニオン系の尿毒素, CMPF, HA, IS および IA により阻害された. これらの尿毒素の中では, CMPF がヒト肝細胞および HEK293 細胞に安定的に発現した OATP1B1 による SN-38 の取り込みを最も強く阻害した (~30%) (図 4). これらの尿毒素を, 申請者らの臨床研究における腎機能低下患者の血漿中濃度に混合し (Mix1), SN-38 の肝取り込みに対する阻害効果を検討したところ, 取り込み活性は約 30%低下した (図 5). またこれらの尿毒素を, これまでに

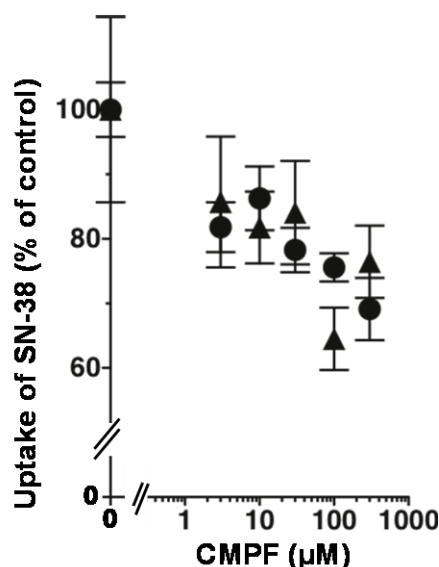


図 4. ヒト肝細胞における SN-38 の取り込みに対する CMPF の阻害

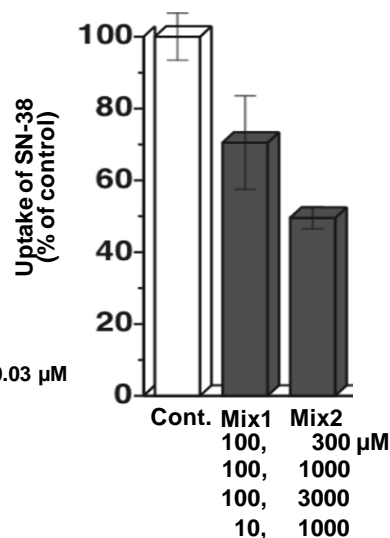


図 5. ヒト肝細胞における SN-38 の取り込みに対する尿毒素混合物の阻害効果

報告された最高の血漿中濃度に混合した場合(Mix2), SN-38 の肝取り込みは約 50%阻害された。

(3) SN-38 の肝取り込みに関与する膜輸送担体 mRNA の発現に対する尿毒症血漿の影響

ヒト肝細胞を尿毒症患者から調製した血漿, または健常腎の被験者から調製した血漿に 48 h 暴露し, OATP1B1, OATP1B3 および SN-38 の胆汁排泄に関与する膜輸送担体である ABCB1 の mRNA 発現量に対する腎機能の影響を検討した。尿毒症患者の血漿の添加により OATP1B1 および OATP1B3 の発現レベルは, 健常腎の場合と比較して有意に低下した(～60%) (図 6)。一方, ABCB1 の発現レベルは不変であった。

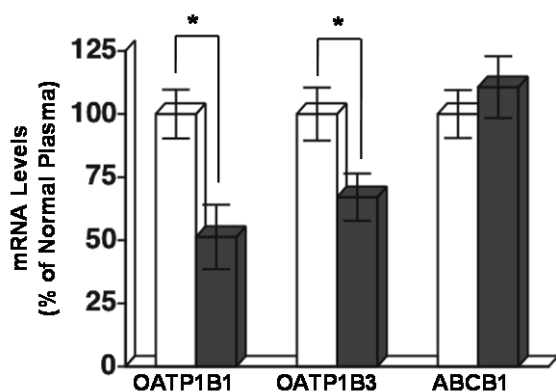


図 6. 尿毒症血漿中の成分による OATP1B1 および 1B3 mRNA 発現量の低下

(4)まとめ

以上, OATP1B1 による SN-38 のヒト肝細胞への取り込み活性に対する尿毒素の直接的な阻害, および尿毒症血漿中に含まれる何らかの化合物による OATP1B1 および OATP1B3 の発現低下を明らかにした。

## 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 藤田健一: 腎機能障害がん患者におけるイリノテカン塩酸塩の特異な体内動態, シスプラチンによる腎機能障害のメカニズム 月刊薬事, 査読無, 2013;55:49-54. <http://www.jiho.co.jp/tabid/162/Default.aspx>

- ② Fujita K, Sasaki Y(11 番目), Kato Y(12 番目)(他 9 名). Direct inhibition and down-regulation by uremic plasma components of hepatic uptake transporter for SN-38, an active metabolite of irinotecan, in humans. Pharm Res. 査読有, 2014;31:204-15. doi: 10.1007/s11095-013-1153-x.
- ③ 藤田健一: 腎機能障害患者における肝消失型抗がん薬の特異な体内動態について. ファルマシア「最前線」, 査読無, 2014;50:300-304. <http://farumashia.pharm.or.jp/mokuji/mokuji.html>
- ④ Fujita K, Sasaki Y. Optimization of cancer chemotherapy on the basis of pharmacokinetics and pharmacodynamics: from patients enrolled in clinical trials to those in the 'real world'. Drug Metab Pharmacokinet. 査読有, 2014;29:20-8. [https://www.jstage.jst.go.jp/browse/dmpk/29/0/\\_contents](https://www.jstage.jst.go.jp/browse/dmpk/29/0/_contents)

[学会発表] (計 10 件)

- ① Fujita K, Sugiura T, Nakamichi N, Akiyama Y, Sasaki Y, Kato Y: Partial inhibition by uremic toxins of hepatic uptake of an active metabolites SN-38 of irinotecan in humans. 71<sup>st</sup> Japan Cancer Association meeting, Sapporo, 2012, 9, 19-21
- ② Fujita K, Sugiura T, Umeda S, Okumura H, Nakamichi N, Sasaki Y, Kato Y: Characterization of hepatic uptake mechanism for SN-38, an active metabolite of the anticancer agent irinotecan in humans. The 18<sup>th</sup> International Society for the Study of Xenobiotics North American Regional meeting, Dallas, 2012, 10, 14-18
- ③ Sugiura T, Fujita K, Okumura H, Umeda S, Nakamichi N, Sasaki Y, Kato Y: Involvement of OATP and inhibition by uremic toxins in hepatic uptake of an anticancer agent SN-38 in humans. 27<sup>th</sup> Japanese Society for the Study of Xenobiotics annual meeting, Tokyo, 2012, 11, 20-22
- ④ Fujita K, Sugiura T, Umeda S, Okumura H, Nakamichi N, Sasaki Y, Kato Y: Partial inhibition by uremic toxins of

hepatic uptake of an active metabolite SN-38 of irinotecan in humans. 33<sup>rd</sup> Annual meeting of the Japanese Society of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Naha, 2012, 11, 29-12, 1

- ⑤ 藤田健一：透析を要するほど腎機能の低下したがん患者におけるイリノテカンの至適投与に向けた臨床研究（シンポジウム）. 第33回日本臨床薬理学会，那覇，2012，11，29-12，1
- ⑥ Fujita K, Sugiura T, Okumura H, Umeda S, Nakamichi N, Sasaki Y, Kato Y: OATP1B1-mediated hepatic uptake of SN-38, an active metabolite of irinotecan, and its inhibition by uremic toxins in humans. 114<sup>th</sup> American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics annual meeting, Indianapolis, 2013, 3, 6-9
- ⑦ Fujita K, Nakamichi N, Sunakawa Y, Shimada K, Kawara K, Sasaki Y, Kato Y: Down-regulation by uremic plasma components of hepatic uptake transporter for SN-38 in humans. 72<sup>nd</sup> Japan Cancer Association meeting, Yokohama, 2013, 10, 3-5
- ⑧ Okumura H, Fujita K, Masuo Y, Sugiura T, Nakamichi N, Watanabe Y, Suzuki H, Sunakawa Y, Shimada K, Kawara K, Sasaki Y, Kato Y: Direct Inhibition and Down-regulation by Uremic Plasma Components of Hepatic Uptake Transporter for SN-38, an Active Metabolite of Irinotecan, in Humans. 28<sup>th</sup> Japanese Society for the Study of Xenobiotics annual meeting, Tokyo, 2013, 10, 9-11
- ⑨ 藤田健一：透析を施行中のがん患者におけるイリノテカン塩酸塩の至適投与に向けた臨床・基礎研究（シンポジウム）. 第34回日本臨床薬理学会，東京，2013，12，4-6
- ⑩ 藤田健一：透析を実施中のがん患者におけるイリノテカン塩酸塩の至適投与に向けた臨床・基礎研究（シンポジウム）. 第47回制癌剤適応研究会，名古屋，2014，3，7

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

藤田 健一 (FUJITA, Ken-ichi)  
昭和大学・腫瘍分子生物学研究所・准教授

研究者番号：60281820

### (2) 連携研究者

佐々木 康綱 (SASAKI Yasutsuna)  
昭和大学・医学部・教授  
研究者番号：20235279

岡崎 康司 (OKAZAKI Yasushi)  
埼玉医科大学・医学部・教授  
研究者番号：80280733

加藤 将夫 (KATO Yukio)  
金沢大学・薬学系・教授  
研究者番号：30151440