

令和 2 年 5 月 13 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08411

研究課題名(和文)酸化ストレス応答性lncRNAを介した薬物動態制御タンパク質の発現調節機構の解明

研究課題名(英文) Analysis on the expression of protein regulating pharmacokinetics via oxidative stress-response lncRNA

研究代表者

池村 健治 (IKEMURA, Kenji)

三重大学・医学部附属病院・薬剤師

研究者番号：70513935

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：Long-noncoding RNA(lncRNA)は薬の薬効や副作用を規定する薬物トランスポータや薬物代謝酵素の発現調節への関与が指摘されている。本研究では、ヒト小腸上皮細胞において酸化ストレス暴露によりP-糖タンパク(P-gp)の発現量が上昇することを確認し、lncRNAの一種であるCRNDE(Colorectal neoplasia differentially expressed)がP-gpの発現量を調節することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

lncRNAは、年齢・性別・疾患により発現量が変動することから、これまで未解決であった薬の薬効や副作用発現の個人差の解明に寄与する可能性が高く、今後の更なる研究の発展が期待される。また、P-糖蛋白質はがん細胞における抗がん薬耐性化に密接に関わる分子であることから、P-糖蛋白質の新たな発現調節機構の解明により、抗がん薬の耐性化の克服や抗がん薬の安全かつ有効な薬物治療の実現にも貢献可能である。

研究成果の概要(英文)：Long-noncoding RNA (lncRNA) should regulate the expression of drug-metabolizing enzymes and drug transporters, which affect the efficacy and adverse effect of drugs. In the present study, we demonstrated that the expression level of P-glycoprotein (P-gp/MDR1) was increased in human colon carcinoma cell line Caco-2 cell by the exposure of oxidative stress. In addition, the present findings suggested that CRNDE (Colorectal neoplasia differentially expressed), which is a type of lncRNA, regulated the expression of MDR1.

研究分野：医療薬学

キーワード：Long-noncoding RNA 酸化ストレス 薬物トランスポータ P-糖蛋白質

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

薬物代謝酵素・薬物トランスポータは、薬物の体内動態、薬効、毒性を規定しており、これらの発現調節機構の解明は臨床においても重要な意味を持っている。これまで、これらタンパク質の発現調節機構に関する研究は、転写調節、翻訳調節、シグナル伝達系、DNAメチル化やヒストンのアセチル化を介したエピジェネティクスな制御などが主流であった。近年、機能性 non-coding RNA(ncRNA)の一種である Long non-coding RNA (lncRNA) が、様々な生命現象への関与が明らかとなり、新たな制御因子として注目され、酸化ストレス時にその発現が変動することが知られている。最近では、薬物代謝酵素・薬物トランスポータの発現調節における lncRNA の関与が指摘されており、lncRNA の発現変動が薬物体内動態の個体内・個体間変動の一因となる可能性が考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、薬物代謝酵素・薬物トランスポータの発現調節機構と薬物体内動態変動における酸化ストレス応答性 lncRNA の役割を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 培養腸上皮細胞における薬物トランスポータの発現変動に及ぼす酸化ストレスの影響に関する検討

ヒト結腸癌由来培養腸上皮細胞(Caco-2)細胞を用い、酸化ストレス発生物質である過酸化水素(50, 100, 250, 500 $\mu$ M)を暴露させ、P-糖タンパク質(P-gp/MDR1)の mRNA 発現量を RT-PCR 法により解析を行った。

(2) *In silico* 解析による MDR1 の発現調節に及ぼす lncRNA の同定

MDR1 の発現変動に関連した文献調査及び標的予測プログラムを用いた *in silico* 解析により、MDR1 の発現調節に関わる microRNA に対して結合配列を有する lncRNA の検索を行った。

(3) MDR1 の発現調節に及ぼす lncRNA の役割

Caco-2 細胞を使用し、同定した lncRNA に対する siRNA を用い、標的 lncRNA を特異的にノックダウンさせ、細胞から Total RNA を抽出し、RT-PCR 法により MDR1 mRNA 発現量の解析を行った。

### 4. 研究成果

(1) 培養上皮細胞における薬物トランスポータの発現変動に及ぼす酸化ストレスの影響に関する検討

Caco-2 細胞を用いて、過酸化水素を 24 時間暴露させたところ、過酸化水素の濃度依存的に MDR1 mRNA の発現量の上昇が認められた。(図 1)。

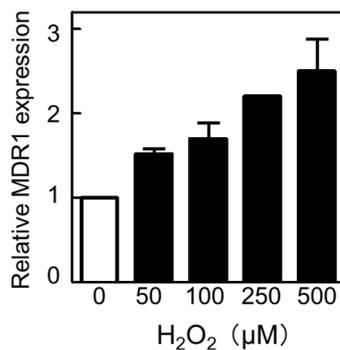


図 1 Caco-2 細胞における MDR1 mRNA 発現量に及ぼす過酸化水素の影響  
平均値 ± 標準誤差 (n=3)

(2) *In silico* 解析による MDR1 の発現調節に及ぼす lncRNA の同定

*in silico* 解析の結果から、micro RNA sponge と呼ばれる microRNA との相互作用により MDR1 の発現調節に関与しうる lncRNA (CRNDE: Colorectal neoplasia differentially expressed) を同定した。

(3) MDR1 の発現調節に及ぼす lncRNA の役割

Caco-2 細胞において、CRNDE の発現量を RT-PCR により確認した後、CRNDE に対する siRNA を用いて、CRNDE をノックダウンさせたところ、MDR1 mRNA 発現量の上昇が認められた(図 2)。

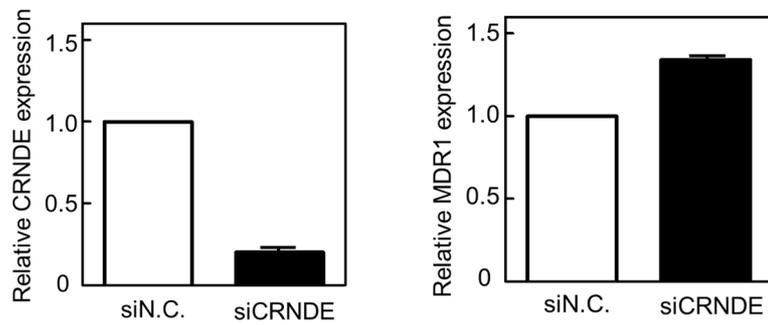


図 2. Caco-2 細胞における MDR1 mRNA 発現量に及ぼす CRNDE の役割  
 平均値 ± 標準誤差 (n=3)

以上より、CRNDE が P-gp の発現調節に関与する可能性を初めて示唆し、P-gp が関与する薬物体内動態の新たな変動要因と考えられる。さらに、lncRNA は、年齢・性別・疾患により発現量が変動することから、薬物トランスポータの発現量の個人差をもたらす原因となる可能性がある。以上より、薬物動態学分野における lncRNA 研究は、薬物体内動態の個体内・個体間変動の解明に寄与する可能性が高く、今後のさらなる研究の発展が期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 MIZUTANI HIDEKI, HAYASHI YUKA, HASHIMOTO MIYABI, IMAI MASANORI, ICHIMARU YOSHIMI, KITAMURA YUKI, IKEMURA KENJI, MIYAZAWA DAISUKE, OHTA KINYA, IKEDA YOSHIAKI, MAEDA TOHRU, YOSHIKAWA MASAE, HIRAKU YUSUKE, KAWANISHI SHOSUKE	4. 巻 39
2. 論文標題 Oxidative DNA Damage and Apoptosis Induced by Aclarubicin, an Anthracycline: Role of Hydrogen Peroxide and Copper	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 3443 ~ 3451
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.13490	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 Tanaka Hiroaki, Maki Shintaro, Magawa Shoichi, Nii Masafumi, Tanaka Kayo, Ikemura Kenji, Toriyabe Kuniaki, Ikeda Tomoaki	4. 巻 55
2. 論文標題 Maternal Blood Concentration of Tadalafil and Uterine Blood Flow in Pregnancy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medicina	6. 最初と最後の頁 708 ~ 708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/medicina55100708	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 Ikemura Kenji, Hiramatsu Shun-ichi, Shinogi Yuri, Nakatani Yusuke, Tawara Isao, Iwamoto Takuya, Katayama Naoyuki, Okuda Masahiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Concomitant febusostat enhances methotrexate-induced hepatotoxicity by inhibiting breast cancer resistance protein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-56900-2	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 Miyoshi Takekazu, Hisamitsu Takashi, Ishibashi-Ueda Hatsue, Ikemura Kenji, Ikeda Tomoaki, Miyazato Mikiya, Kangawa Kenji, Watanabe Yusuke, Nakagawa Osamu, Hosoda Hiroshi	4. 巻 302
2. 論文標題 Maternal administration of tadalafil improves fetal ventricular systolic function in a Hey2 knockout mouse model of fetal heart failure	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 110 ~ 116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcard.2019.12.013	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 Tachibana Ryota, Umekawa Takashi, Yoshikawa Kento, Owa Takao, Magawa Shoichi, Furuhashi Fumi, Tsuji Makoto, Maki Shintaro, Shimada Kyoko, Kaneda K. Michiko, Nii Masafumi, Tanaka Hiroaki, Tanaka Kayo, Kamimoto Yuki, Kondo Eiji, Kato Ineko, Ikemura Kenji, Okuda Masahiro, et al.	4. 巻 9
2. 論文標題 Tadalafil treatment in mice for preeclampsia with fetal growth restriction has neuro-benefic effects in offspring through modulating prenatal hypoxic conditions.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-36084-x	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 Wakai Eri, Ikemura Kenji, Sugimoto Hiroko, Iwamoto Takuya, Okuda Mamashiro	4. 巻 5
2. 論文標題 Risk factors for the development of hypermagnesemia in patients prescribed magnesium oxide: a retrospective cohort study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Health Care and Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40780-019-0133-7	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 Mizutani Hideki, Nishimoto Ayano, Hotta Saki, Ikemura Kenji, Imai Masanori, Miyazawa Daisuke, Ohta Kinya, Ikeda Yoshiaki, Maeda Tohru, Yoshikawa Masae, Hiraku Yusuke, Kawanishi Sshosuke	4. 巻 38
2. 論文標題 Oxidative DNA Damage Induced by Pirarubicin, an Anthracycline Anticancer Agent, in the Presence of Copper(II)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 2643 ~ 2648
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.12506	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 Hamada Yugo, Ikemura Kenji, Iwamoto Takuya, Okuda Masahiro	4. 巻 101
2. 論文標題 Stereoselective Inhibition of Renal Basolateral Human Organic Anion Transporter 3 by Lansoprazole Enantiomers	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pharmacology	6. 最初と最後の頁 176 ~ 183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000485920	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikemura Kenji, Hiramatsu Shunichi, Okuda Masahiro	4. 巻 8
2. 論文標題 Drug Repositioning of Proton Pump Inhibitors for Enhanced Efficacy and Safety of Cancer Chemotherapy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2017.00911	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 Ito Asami, Enokiya Tomoyuki, Kawamoto Eiji, Iwashita Yoshiaki, Takeda Taichi, Ikemura Kenji, Okuda Masahiro, Imai Hiroshi	4. 巻 4
2. 論文標題 Two cases of life-threatening arrhythmia induced by risperidone: evaluation of risperidone and 9-hydroxy-risperidone concentrations	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Acute Medicine & Surgery	6. 最初と最後の頁 341 ~ 343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ams2.277	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 Yoshikawa Kento, Umekawa Takashi, Maki Shintaro, Kubo Michiko, Nii Masafumi, Tanaka Kayo, Tanaka Hiroaki, Osato Kazuhiro, Kamimoto Yuki, Kondo Eiji, Ikemura Kenji, Okuda Masahiro, Katayama Kan, Miyoshi Takekazu, Hosoda Hiroshi, Ma Ning, Yoshida Toshimichi, Ikeda Tomoaki	4. 巻 31
2. 論文標題 Tadalafil Improves L-NG-Nitroarginine Methyl Ester-Induced Preeclampsia With Fetal Growth Restriction-Like Symptoms in Pregnant Mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 American Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 89 ~ 96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpx130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Enokiya Tomoyuki, Zhang Erquan, Ikemura Kenji, Muraki Yuichi, Iwashita Yoshiaki, Iwamoto Takuya, Imai Hiroshi, Maruyama Kazuo, Okuda Masahiro	4. 巻 109
2. 論文標題 Effect of lipid emulsion infusion on paliperidone pharmacokinetics in the acute overdose rat model: A potential emergency treatment for paliperidone intoxication	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 217 ~ 222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejps.2017.08.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikemura Kenji, Oshima Kosuke, Enokiya Tomoyuki, Okamoto Akiharu, Oda Hiroyasu, Mizuno Toshiro, Ishinaga Hajime, Muraki Yuichi, Iwamoto Takuya, Takeuchi Kazuhiko, Katayama Naoyuki, Okuda Masahiro	4. 巻 79
2. 論文標題 Co-administration of proton pump inhibitors ameliorates nephrotoxicity in patients receiving chemotherapy with cisplatin and fluorouracil: a retrospective cohort study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Chemotherapy and Pharmacology	6. 最初と最後の頁 943 ~ 949
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00280-017-3296-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murasaka Toshiki, Ikemura Kenji, Enokiya Tomoyuki, Muraki Yuichi, Ikemura Mayumi, Terada Koji, Iwamoto Takuya, Okuda Masahiro	4. 巻 3
2. 論文標題 Impact of the number of repeated inhalations and patient characteristics on the residual amount of inhaled laninamivir octanoate hydrate dry powder in pediatric patients with influenza	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Health Care and Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40780-017-0094-7	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 Mizutani Hideki, Hotta Saki, Nishimoto Ayano, Ikemura Kenji, Miyazawa Daisuke, Ikeda Yoshiaki, Maeda Tohru, Yoshikawa Masae, Hiraku Yusuke, Kawanishi Shousuke	4. 巻 37
2. 論文標題 Pirarubicin, an Anthracycline Anticancer Agent, Induces Apoptosis Through Generation of Hydrogen Peroxide	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 6063 ~ 6069
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.12054	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12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 加藤千佳、若井恵里、池村健治、岩本卓也、奥田真弘
2. 発表標題 入院時持参薬に内服降圧薬を含む患者の血圧管理に及ぼす薬剤数及び処方内容の複雑性の影響
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 若井恵里、池村健治、加藤千佳、岩本卓也、奥田真弘
2. 発表標題 入院時持参薬における薬剤数及び処方複雑性が高血圧の治療効果に及ぼす影響
3. 学会等名 第29回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池村真弓、石橋美紀、池村健治、岩本卓也、奥田真弘
2. 発表標題 LC-MS/MS用抗てんかん薬一斉分析キットを用いた分析法の開発と評価
3. 学会等名 第29回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中谷祐介、平松駿一、池村健治、岩本卓也、奥田真弘
2. 発表標題 有害事象自発報告システム（FAERS）を用いたメトトレキサートの肝障害発現にフェブキソスタット併用が与える影響に関する解析
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 若井恵里、池村健治、加藤千佳、岩本卓也、奥田真弘
2. 発表標題 入院時持参薬における処方複雑性が服薬管理及び糖尿病の治療効果に及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平松駿一、池村健治、篠木優里、依功、岩本卓也、片山直之、奥田真弘
2. 発表標題 大量メトトレキサート療法時の肝障害発現に対するフェブキソスタット併用の影響
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenji Ikemura, Shunichi Hiramatsu, Yutaka Fujisawa, Takuya Iwamoto, Masahiro Okuda
2. 発表標題 Proton pump inhibitors as promising concomitant agents ameliorating cisplatin-induced nephrotoxicity
3. 学会等名 78th FIP World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shunichi Hiramatsu, Kenji Ikemura, Yutaka Fujisawa, Takuya Iwamoto, Masahiro Okuda
2. 発表標題 Concomitant lansoprazole ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity by reducing renal cisplatin accumulation in rats
3. 学会等名 2018 International Meeting on 22nd MDO and 33rd JSSX (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平松駿一、池村健治、藤澤豊、岩本卓也、奥田真弘
2. 発表標題 ランソプラゾールは腎におけるヒト有機カチオントランスポーター2によるシスプラチンの輸送を阻害する
3. 学会等名 日本薬物動態学会第32回年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiramatsu S, Ikemura K, Fujisawa Y, Iwamoto T, Okuda M
2. 発表標題 Concomitant lansoprazole ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity: an epidemiological and in vivo rat evidence.
3. 学会等名 第11回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Enokiya T, Zhang E, Ikemura K, Muraki Y, Iwashita Y, Iwamoto T, Imai H, Maruyama K, Okuda M
2. 発表標題 Effect of lipid emulsion infusion on paliperidone pharmacokinetics in the acute overdose rat model: A potential emergency treatment for paliperidone intoxication.
3. 学会等名 15th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Okuda M, Ikemura K, Hamada Y, Kaya C, Enokiya T, Muraki Y, Nakahara H, Fujimoto H, Kobayashi T, Iwamoto T
2. 発表標題 Impact of Lansoprazole Coadministration on Pemetrexed-induced Hematotoxicity: Stereoselective Inhibition of Human Organic Anion Transporter 3 by Lansoprazole Enantiomers.
3. 学会等名 FIP PSWC 2017 6th Pharmaceutical Sciences World Congress (国際学会)
4. 発表年 2017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
研究分担者	奥田 真弘  (OKUDA Masahiro)  (70252426)	三重大学・医学部附属病院・教授    (14101)	