

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18922

研究課題名(和文) オキサリプラチンの後根神経節細胞への蓄積機構解明に基づく末梢神経障害回避法の開発

研究課題名(英文) Molecular mechanism underlying improvement of oxaliplatin-induced neuropathy by duloxetine

研究代表者

梶原 望渡 (Kajiwara, Moto)

京都大学・医学研究科・薬剤師(特定)

研究者番号：70645506

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：一過性にヒト(h)およびラット(r)有機カチオントランスポーター(OCT)1、OCT2、OCT3を発現させたHEK293細胞を種々の濃度のデュロキセチン(DLX)とオキサリプラチン(L-OHP)混合液で処置したところ、DLX処置により細胞培養液中の乳酸脱水素酵素量の減少およびカスパーゼ活性の低下が認められ、細胞内のPt蓄積量も減少した。今回の検討により、脊椎後根神経節へのL-OHPの蓄積抑制と、DLXによるL-OHPの末梢神経障害抑制効果の関連性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：HEK293 cells transiently expressing human (h) or rat (r) organic cation transporter (OCT) were treated with oxaliplatin (L-OHP) and various concentrations of duloxetine (DLX). Lactate dehydrogenase activity and caspase activity induced by L-OHP was reduced by DLX treatment. Amount of Pt accumulated in cells was also decreased by DLX treatment. Those results suggested that DLX improved L-OHP induced peripheral neuropathy by interfering with L-OHP incorporation in dorsal root ganglion.

研究分野：トランスポーター

キーワード：トランスポーター オキサリプラチン 末梢神経障害

## 1. 研究開始当初の背景

白金系抗がん薬であるオキサリプラチンは、治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌および結腸癌における術後補助化学療法、治癒切除不能な膵癌に適応を有する。オキサリプラチンは大腸がん治療における頻用薬であり、標準的化学療法である FOLFOLX 療法 (レボホリナート、フルオロウラシリン、オキサリプラチン) や CapeOX 療法 (カペシタピン、オキサリプラチン) などに用いられている。しかし、副作用である末梢神経障害は日常生活に大きな影響を及ぼすため患者の Quality of Life (QOL) を低下させる。特に約半数 (48%) の患者において発症する (Am J Clin Oncol, 36, 331-337, 2013) 慢性症状である蓄積性の末梢神経障害は、治療終了後 1 年以上の長期間にわたって継続する場合も少なくなく (Care Cancer, 22, 1999-2007, 2014)、オキサリプラチンを中心とする化学療法の継続する上での解決すべき問題点として位置づけられている。蓄積性の末梢神経障害の症状は、手足のしびれ感や痛み、感覚異常である。そして、進行するとボタンが留めにくい、文字が書きにくい、歩きにくく急な方向転換で転びやすいなどの日常生活に支障をきたす機能障害も出現する。現在、オキサリプラチンによる末梢神経障害に対して様々な予防薬や治療薬が試みられているが、有効な予防策・治療法は未だに確立されていない (日薬理誌, 143, 126-130, 2014)。オキサリプラチンの蓄積性の末梢神経障害は、後根神経節細胞 (DRG) にオキサリプラチンが蓄積し、細胞の代謝や軸索原形輸送が障害されることにより生じると言われている (Cancer Treat Rev, 34, 368-377, 2008)。また近年、DRG へのオキサリプラチンの取り込みには、有機カチオントランスポーター (OCT) が関与することが報告さ

れた (Proc Natl Acad Sci U S A, 110, 11199-11204, 2013)。

さらに、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI) デュロキセチンが、オキサリプラチンなどの抗がん薬の蓄積性末梢神経障害による疼痛を軽減すると報告された (JAMA, 309, 1359-1367, 2013)。

## 2. 研究の目的

本研究では、デュロキセチンを、オキサリプラチンと併用することで、OCT を介したオキサリプラチンの DRG への取り込みを防ぐことができ、蓄積性の末梢神経障害の発症を予防へとつながるのではないかと仮説を立て、検討を行った (図 1)。



図 1. 仮説

## 3. 研究の方法

ヒトまたはラット OCT を一過性に発現させた HEK293 細胞をオキサリプラチンおよびデュロキセチンで処置した。その後、回収した培養液上清の乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性ならびにカスパーゼ活性を測定し、細胞毒性の評価を行った。また、取り込み実験後の HEK293 細胞内の白金 (Pt) 定量は ICP-MS を用いて総 Pt 量として評価した。

## 4. 研究成果

細胞毒性の指標である培養液中の LDH 活

性はデュロキセチンの濃度依存的に低下した。各々のトランスポーターについて 50% 阻害濃度を算出したところ、rOCT1 で 1.1  $\mu$ M、rOCT2 で 1.9  $\mu$ M、rOCT3 で 28.1  $\mu$ M、hOCT1 で 1.9  $\mu$ M、hOCT2 で 5.4  $\mu$ M、hOCT3 で 1.8  $\mu$ M だった。また、アポトーシスの指標である培養液中のカスパーゼ活性もデュロキセチンを共存下で抑制された。オキサリプラチンの細胞毒性と細胞内取り込み量に比例関係があることが知られており、細胞毒性の低下は細胞内へのオキサリプラチン取り込みがデュロキセチンにより阻害された可能性を示した。最後に、オキサリプラチンとデュロキセチンを同時処置した後の細胞内白金蓄積量を ICP-MS で定量した結果、デュロキセチン処置によりオキサリプラチンの取り込みが阻害されることが判明した。さらに、その阻害効果はデュロキセチンを前処理時により強く認められることがわかった。

今回の検討により、DRG へのオキサリプラチンの蓄積抑制と、デュロキセチンによるオキサリプラチンの末梢神経障害抑制効果の関連性が示唆された。

## 5 . 主な発表論文等 ( 研究代表者は下線 )

[ 雑誌論文 ] ( 計 9 件 )

1. Nakagawa S, Nishihara K, Miyata H, Shinke H, Tomita E, Kajiwara M, Matsubara T, Iehara N, Igarashi Y, Yamada H, Fukatsu A, Yanagita M, Matsubara K, Masuda S. Molecular Markers of Tubulointerstitial Fibrosis and Tubular Cell Damage in Patients with Chronic Kidney Disease. PLoS One、査読有、Vol.28 巻、2015、e0136994 DOI: 10.1371/journal.pone.0136994.

eCollection 2015.

2. 矢野貴久、川尻雄大、山田孝明、末次王卓、山本奈々絵、土谷祐一、松川公美、梶原望渡、増田智先、メトトレキサート血中濃度測定における化学発光免疫測定法 (CLIA 法) と従来法との比較検討、TDM 研究、査読有、33 巻、2016、9-14

3. 矢野貴久、川尻雄大、末次王卓、山田孝明、山本奈々絵、梶原望渡、増田智先、電気化学免疫測定法 (ECLIA 法) を用いた tacrolimus および cyclosporin A 血中濃度測定に関する臨床的評価、移植、査読有、52 巻、2016、382-389

4. 梶原望渡、増田智先、トランスポーターがかかわる薬物間相互作用、日病薬誌、査読無、51 巻、2015、967-970

5. 梶原望渡、増田智先、腎臓のトランスポーターと化学療法剤、化学療法の領域、査読無、31 巻、394-398、2015

6. 梶原望渡、増田智先、抗がん薬とトランスポーター、月刊薬事、査読無、58、393-397、2016

7. Kajiwara M and Masuda S. Role of mTOR Inhibitors in Kidney Disease. Int J Mol Sci. 査読有、Vol.17, 2016, DOI: 10.3390/ijms17060975

8. Kajiwara M, Ban T, Matsubara K, Nakanishi Y, Masuda S. Urinary Dopamine as a Potential Index of the Transport Activity of Multidrug and Toxin Extrusion in the Kidney. Int J Mol Sci. 査読有、Vol.17, 2016, DOI: 10.3390/ijms17081228.

9. Tanaka S, Chen-Yoshikawa TF, Kajiwara M, Menju T, Ohata K, Takahashi M, Kondo T, Hijiya K, Motoyama H, Aoyama A, Masuda S, Date H. Protective Effects of Imatinib on Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Lung. *Ann Thorac Surg.* 査読有、Vol. 102, 2016  
DOI:10.1016/j.athoracsur.2016.05.037.

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 矢野 貴久、川尻 雄大、山田 孝明、末次 王卓、梶原 望渡、増田 智先、メトトレキサート血中濃度測定における化学発光免疫測定法 (CLIA 法) と従来法との比較検討、第 32 回日本 TDM 学会・学術大会、2015 年 5 月 23 日～24 日、キッセイ文化ホール (長野県)

2. Moto Kajiwara, Satohiro Masuda. Critical role of renal H<sup>+</sup>/organic cation antiporter (multidrug and toxin extrusion) in natriuresis as a dopamine transporter  
*BioMedical Transporters 2015*, 2015 年 8 月 9 日～13 日、Lugano (Switzerland)

3. M. Kajiwara, Y. Tamura, H. Shinke, S. Nakagawa, T. Yano, K. Matsubara, S. Masuda. Gene expression analysis of isolated proximal tubules in rat model of tacrolimus-induced chronic kidney disease.  
2nd International Caparica Conference on Urine Omics & 2<sup>nd</sup> International Caparica Conference In Translational Nephrology, 2015 年 9 月 28 日～30 日、Caparica (Portugal)

4. Kimitaka Suetsugu, Hiroaki Ikesue,

Mayako Uchida, Takahisa Yano, Hiroyuki Watanabe, Takaaki Yamada, Takehiro Kawashiri, Moto Kajiwara, Toshihiro Miyamoto, Motoaki Shiratsuchi, Nobuaki Egashira, Satohiro Masuda. Analysis of the variable factors in the blood tacrolimus concentration during the switch from continuous intravenous infusion to oral administration after allogeneic hematopoietic stem cell Transplantation.

The 14th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology、2015 年 10 月 11 日～14 日、Rotterdam (Netherlands)

5. M. Kajiwara, S. Masuda. Impact of Tubular Luminal H<sup>+</sup>/organic cation antiporter, MATE, on Imatinib-induced Fluid Retention.  
*kidney week 2015 (ASN2015)*、2015 年 11 月 3 日～8 日、San Diego (USA)

6. 梶原 望渡、伴 毅、花田 有希、松原 和夫、増田 智先. MATE を介するドパミンの尿細管分泌は Na<sup>+</sup>利尿を促進する  
第 58 回日本腎臓学会学術総会、2015 年 6 月 5 日～7 日、名古屋国際会議場 (名古屋)

7. 川尻 雄大、矢野 貴久、末次 王卓、山田 孝明、梶原 望渡、増田 智先. ECLIA 法を用いたタクロリムスおよびシクロスポリンの血中濃度測定に関する臨床的評価  
第 51 回日本移植学会、2015 年 10 月 1 日～3 日、ホテル日航熊本、熊本公徳会武道場 (熊本県)

8. 増田 智先、梶原 望渡 がん化学療法における腎異物排泄機構の重要性

日本薬物動態学会第30回年会(招待講演)  
2015年11月12日~14日、タワーホール船堀(東京)

9. S. Masuda, M. Kajiwara, N Tsuchimoto, H. Shinke, M. Uesugi, S. Uemoto, K. Matsubara. Identification of a useful biomarker for tacrolimus-induced nephrotoxicity in liver transplant patients

2nd International Caparica Conference on Urine Omics & 2<sup>nd</sup> International Caparica Conference In Translational Nephrology (招待講演)(国際学会)、2015年9月28日~30日、Caparica (Portugal)

10. 梶原望渡, 測定法の多様性  
第34回日本TDM学会・学術大会、2017年9月23日~24日、京都

11. 梶原望渡, 伴毅, 中西洋一, 松原和夫, 増田智先, 腎局所で産生されるドパミンの尿細管分泌を担うMATEトランスポーターの機能障害は体液貯留を引き起こす  
第27回日本医療薬学会年会、2017年11月3日~5日、千葉

12. 梶原望渡, 中川俊作, 松原和夫, 増田智先、デュロキセチンのオキサリプラチン誘発性末梢神経障害抑制メカニズムの解明  
日本薬学会第138年会、2018年3月25日~28日、金沢

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

梶原望渡(KAJIWARA, Moto) 京都大学医学研究科 薬剤師(特定) 研究者番号: 70645506

(2)研究協力者

〔その他の研究協力者〕

増田智先(MASUDA, Satohiro) 九州大学病院薬剤部 教授・薬剤部長

松原和夫(MATSUBARA, Kazuo) 京都大学医学部附属病院薬剤部 教授・薬剤部長

中川俊作(NAKAGAWA, Shunsaku) 京都大学医学部附属病院薬剤部 助教