

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：34315

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390138

研究課題名(和文)腎薬剤排出系の生理学的・薬物動態学的意義の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the physiological and pharmacokinetic significance of the renal drug excretion systems

研究代表者

桂 敏也 (KATSURA, TOSHIYA)

立命館大学・薬学部・教授

研究者番号：10283615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円、(間接経費) 4,260,000円

研究成果の概要(和文)：腎臓の近位尿細管に局在する薬物の運び屋タンパク質(トランスポーター)の役割について明らかにすることを目的として、トランスポーターを発現していないマウスを用いた解析を行った。その結果、腎臓のトランスポーターによって運ばれることがわかっている薬物であっても、その尿中排泄における寄与は異なっていることが明らかになった。またトランスポーター機能低下によって薬物の血中濃度や組織中濃度が変動し、薬物の副作用を引き起こすことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the physiological and pharmacokinetic significance of the renal drug transporters, we carried out the pharmacokinetic and toxicokinetic analyses of various drugs using transporter-deficient mice. It was demonstrated that the contribution of renal drug transporters to urinary excretion vary among substrate drugs. In addition, it was found that loss of transporter function lead to the changes in blood and tissue concentration of drugs, which in turn causes the adverse reaction of drugs.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：薬物動態学 薬学 生理学 薬物トランスポーター 医薬品適正使用

1. 研究開始当初の背景

小腸や腎臓、肝臓などの上皮細胞では、血管側(側底膜)と管腔側(刷子縁膜)に機能特性の異なる薬物トランスポーターが局在し、薬物の臓器移行性や薬物輸送の方向性(吸収・分泌)の決定に重要な役割を果たしている。これまで、種々薬物トランスポーターの構造・機能解析が精力的に進められ、個々の薬物動態学的意義が明らかにされつつあるが、一つの薬物トランスポーターに対して様々な薬物・化合物が基質となるものの、その体内動態特性が異なる例も多く見受けられる。また、生体異物の排除に働く薬物トランスポーターの内因性基質が見いだされ、生理学的にも重要な役割を果たしている例も報告されている。本研究で対象とする腎薬剤排出系の一つであるプロトン/有機カチオン逆輸送体(MATEファミリー)は、その分子実体の同定が2005年と比較的最近であり、一部の典型的基質を用いた動態解析や、腎臓および肝臓における役割しか研究が進められておらず、またMATEの生理学的役割も明らかにされていないのが現状であった。

2. 研究の目的

本研究では、すでに樹立しているMate1ノックアウトマウスを用いて、様々なカチオン性化合物の動態解析を行い、腎排泄におけるMATEの寄与率や血中濃度推移の変化などについて野性型マウスとの比較解析を実施する。次に、MATE/OCT2共発現MDCK細胞を用いて種々化合物の経細胞輸送の速度論的解析を行い、MATE、OCT2単独の場合の速度論パラメーターとの相関解析や経細胞輸送とマウスにおける分泌能との比較解析を行う。さらに、プロトン共役型輸送モデルを構築し、MATEによる基質輸送の分子機構を明確にするとともに、モノアミンなどの内因性カチオンの輸送や個体レベルでの変化について検討することによって、MATEの薬物動態学的、生理学的意義を解明し、新薬開発における基礎的情報の提供や生体の恒常性維持機構を明確にすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 既に樹立したMate1ノックアウトマウスを用いて、種々カチオン性化合物の動態解析を行い、野性型マウスとの比較からin vivoにおけるMATEの役割を明確にする。生体内での代謝が無視できる場合はRI標識化合物とGFRの指標としてイヌリンを静脈内へ投与し、経時的に採血と採尿を行う。さらに、投与60分後に屠殺して各組織を回収する。それぞれ、液体シンチレーションカウンターを用いて小分子濃度を測定し、薬物動態学的パラメーターを算出する。生体内での代謝が考えられる化合物については非標識体を投与し、HPLCやLC-MS/MSを用いて定量する。

(2) 病態モデル動物や発達期などのモデル動物を用いて、種々薬物トランスポーターの発現変動について検討し、基質薬物の動態変化との関連性について明確にする。

(3) 近位尿細管において管腔側刷子縁膜に発現するMATEと血管側側底膜に発現するOCT2、OAT1、OAT3との共同在性について、ヒト腎組織を用いた免疫組織化学的検討により明確にする。

4. 研究成果

(1) Mate1ノックアウトマウスを用いて、種々カチオン性化合物の体内動態解析を実施した。糖尿病治療薬メトホルミンに関しては、MATEの欠損によって尿中排泄の低下と血中濃度の顕著な上昇が認められ、メトホルミンの排泄にMATEが主要な役割を果たしていることを明確にした。また、MATEの欠損によって肝臓への蓄積が顕著に増加し、メトホルミンの重篤な副作用である乳酸アシドーシスの発症を引き起こすことを明らかにした。さらに、MATEの欠損によってメトホルミンを含む複数の化合物の心臓への蓄積が上昇し、MATEの機能欠損が薬物の心毒性発現に關与している可能性を示した。また、禁煙補助薬のバレニクリンの尿細管分泌にMATEが關与していることを示した。一方で、抗アレルギー薬フェキソフェナジンはMATEの輸送基質であるにも関わらず、その尿細管分泌にはMATEがほとんど寄与しないことが判明した。このようにin vitroにおいてMATEに輸送される薬物であっても、その尿細管分泌における寄与は異なることや、MATEを介した組織移行にも差異が認められることを、種々化合物を用いた検討により明らかにした。さらに、東京大学杉山名誉教授、楠原教授等との共同研究により、メタボローム解析の結果から、チアミンがMATEの内因性基質であることを明らかにし、MATE機能のマーカーとして有用であることを示した。

(2) 代謝性アシドーシスモデルラットを作成し、薬物トランスポーターの発現変動とモデル薬物の体内動態について検討した結果、カチオン性薬物の尿細管分泌への影響は小さいものの、有機アニオントランスポーターの発現低下によりアニオン性薬物の排泄能が低下することを明らかにした。また、新生児の発達過程での腎臓における有機アニオントランスポーターの発現変動と、それに伴う薬物分泌能の変化についても明確にした。さらに、薬物排出タンパク質であるBCRPの機能欠損により、分子標的抗がん薬スニチニブの体内動態が大きく変動し、その副作用発現に影響することを見いだした。

(3) ヒト腎臓におけるMATEの局在を免疫

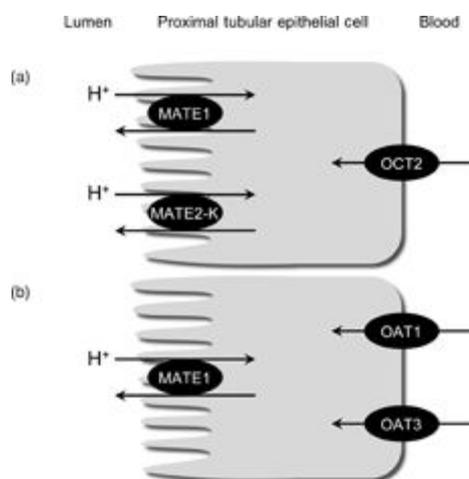


図1 ヒト近位尿細管における薬物トランスポータの局在

組織化学的手法により検討し、管腔側の MATE と血管側の OCT2, OAT1, OAT3 が同じ近位尿細管セグメントに発現していることを明確にし(図1)血管側の OCT2, OAT1, OAT3 と管腔側の MATE が協働して薬物の尿細管分泌を担っていることを示した。

今後、ノックアウトマウス等で得られた個体レベルでの動態特性の情報と化合物側の情報を集積し、モデル構築を行うことで、新薬開発段階における動態予測などに有用な情報を与えることが可能となるものと考えられる。

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 19 件)

1. Ishii T, Hatano E, Taura K, Mizuno T, Kawai T, Fukudo M, Katsura T, Uemoto S. Sorafenib in a hepatocellular carcinoma patient with end-stage renal failure: A pharmacokinetic study. *Hepatol. Res.*, in press (2014) 査読有
2. Kato K, Mori H, Kito T, Yokochi M, Ito S, Inoue K, Yonezawa A, Katsura T, Kumagai Y, Yuasa H, Moriyama Y, Inui K, Kusuvara H, Sugiyama Y. Investigation of endogenous compounds for assessing the drug interactions in the urinary excretion involving multidrug and toxin extrusion proteins. *Pharm. Res.*, **31**: 136-147 (2014) 査読有
3. Motohashi H, Nakao Y, Masuda S, Katsura T, Kamba T, Ogawa O, Inui K. Precise comparison of protein localization among OCT, OAT, and MATE in human kidney. *J. Pharm. Sci.*, **102**: 3302-3308 (2013) 査読有

4. Kunimatsu S, Mizuno T, Fukudo M, Katsura T. Effect of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein inhibition on the pharmacokinetics of sunitinib in rats. *Drug Metab. Dispos.*, **41**: 1592-1597 (2013) 査読有

5. Fukudo M, Ikemi Y, Togashi Y, Masago K, Kim YH, Mio T, Terada T, Teramukai S, Mishima M, Inui K, Katsura T. Population pharmacokinetics/pharmacodynamics of erlotinib and pharmacogenomic analysis of plasma and cerebrospinal fluid drug concentrations in Japanese patients with non-small cell lung cancer. *Clin. Pharmacokinet.*, **52**: 593-609 (2013) 査読有

6. Shibata M, Hashi S, Nakanishi H, Masuda S, Katsura T, Yano I. Detection of 22 antiepileptic drugs by ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry applicable to routine therapeutic drug monitoring. *Biomed. Chromatogr.*, **26**:1519-1528 (2012) 査読有

7. Mizuno T, Fukudo M, Terada T, Kamba T, Nakamura E, Ogawa O, Inui K, Katsura T. Impact of genetic variation in breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) on sunitinib pharmacokinetics. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **27**: 631-639 (2012) 査読有

8. Kajiwara M, Masuda S, Watanabe S, Terada T, Katsura T, Inui K. Renal tubular secretion of varenicline by multidrug and toxin extrusion (MATE) transporters. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **27**: 563-569 (2012) 査読有

9. Togashi Y, Masago K, Masuda S, Mizuno T, Fukudo M, Ikemi Y, Sakamori Y, Nagai H, Kim YH, Katsura T, Mishima M. Cerebrospinal fluid concentration of gefitinib and erlotinib in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **70**: 399-405 (2012) 査読有

10. Toyama K, Yonezawa A, Masuda S, Osawa R, Hosokawa M, Fujimoto S, Inagaki N, Inui K, Katsura T. Loss of multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1) is associated with metformin-induced lactic acidosis. *Br. J. Pharmacol.*, **166**: 1183-1191 (2012) 査読有

11. Nomura M, Motohashi H, Sekine H, Katsura T, Inui K. Developmental expression of renal organic anion transporters in rat kidney and its effect on renal secretion of phenolsulfonphthalein. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, **302**: F1640-F1649 (2012) 査読有

12. Togashi Y, Masago K, Fukudo M, Tsuchido Y, Okuda C, Kim YH, Ikemi Y, Sakamori Y,

Mio T, Katsura T, Mishima M. Efficacy of increased-dose erlotinib for central nervous system metastases in non-small cell lung cancer patients with epidermal growth factor receptor mutation. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **68**: 1089-1092 (2011) 査読有

13. Gaowa A, Motohashi H, Katsura T, Inui K. Effects of metabolic acidosis on expression levels of renal drug transporters. *Pharm. Res.*, **28**: 1023-1030 (2011) 査読有

〔学会発表〕(計 15 件)

1. 吉松宏樹ら、リボフラビンの腸管吸収における RFVT3/SLC52A3 の役割 . 日本薬学会第 133 年会、平成 25 年 3 月 30 日、パシフィコ横浜 (横浜市) .

2. Kamada M et al., MATE1 functions as an efflux transporter in the heart. 日本薬物動態学会第 27 回年会、平成 24 年 11 月 21 日、タワーホール船堀 (東京都江戸川区) .

3. Kato K et al., Effect of pyrimethamine, a potent inhibitor of multidrug and toxin extrusion (MATE), on the urinary excretion of endogenous metabolites in humans. 日本薬物動態学会第 27 回年会、平成 24 年 11 月 21 日、タワーホール船堀 (東京都江戸川区) .

4. Terada T et al., PK/PD approaches for optimal molecular targeted cancer therapy. 日本薬物動態学会第 27 回年会、平成 24 年 11 月 21 日、タワーホール船堀 (東京都江戸川区) .

5. 八尾祉顕ら、リボフラビンの肝取り込みにおける RFVT/SLC52A の関与 . 第 34 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、平成 24 年 11 月 16 日、京都大学薬学部 (京都市) .

6. 増田智先ら、有機カチオントランスポーターの機能変動と薬剤性腎障害、第 55 回日本腎臓学会学術総会、平成 24 年 6 月 1 日、パシフィコ横浜 (横浜市) .

7. 水野知行ら、腎細胞がんおよび肝細胞がん患者におけるソラフェニブの母集団薬物動態解析 . 日本薬剤学会第 27 年会、平成 24 年 5 月 24 日、神戸国際会議場 (神戸市) .

8. 米澤 淳ら、H⁺/有機カチオンアンチポータ MATE1 の機能低下による副作用発現の増強 . 日本薬学会第 132 年会、平成 24 年 3 月 31 日、北海道大学 (札幌市) .

9. Katsura T et al., Importance of MATE1 in renal excretion and tissue distribution of cationic drugs. 1st HD Physiology International Symposium, 平成 24 年 1 月 21 日、東京大学 (東京都文京区) .

10. Yonezawa A et al., Role of MATE1 on pharmacokinetics and pharmacodynamics of metformin. International Symposium on PPF Molecular Pharmacokinetics, 平成 24 年 1 月 17 日、一ツ橋ホール (東京都千代田区) .

11. 遠山佳奈ら、メトホルミンの PK/PD における MATE の役割 . 第 33 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、平成 23 年 11 月 24 日、岡山大学 (岡山市) .

12. 米澤 淳ら、シスプラチン腎症における腎排出型トランスポータ MATE1 の役割 . 第 54 回日本腎臓学会学術総会、平成 23 年 6 月 16 日、パシフィコ横浜 (横浜市) .

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

桂 敏也 (KATSURA TOSHIYA)

立命館大学・薬学部・教授

研究者番号 : 10283615

(3) 連携研究者

本橋 秀之 (MOTOHASHI HIDEYUKI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号 :

米澤 淳 (YONEZAWA ATSUSHI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号 : 90452341