〈抄録〉第23回 日本臨床薬理学会年会 2002年12月10~11日 大阪

腎尿細管上皮細胞のMDR1/P糖蛋白質に及ぼす 各種抗腫瘍性白金錯体の影響

高 良 恒 史^{*1} 辻 本 雅 之^{*1} 國 府 美 里^{*1} 中 島 亜 紀^{*1}
山 田 志 穂^{*1} 柴 田 敏 之^{*2} 奥 村 勝 彦^{*2} 大 西 憲 明^{*1}
横 山 照 由^{*1}

【目 的】

近年、腎尿細管上皮細胞には、物質の再吸収または分泌を担う種々のトランスポータの局在が明らかにされている¹⁾。これらトランスポータのうち、ABCスーパーファミリーに属するMDR1/P糖蛋白質は異物排出ポンプとして機能し、生体防御機構の一部を担っていると考えられている^{2, 3)}。

一方、抗腫瘍性白金錯体であるシスプラチンは幅広い抗腫瘍スペクトルを有しているが、投与量制限因子となる腎毒性も有している。このような薬物による腎毒性発現下において、腎臓は恒常性維持のために何らかの生体防御機構を活性化していることが推測される。すなわち、MDR1の機能および発現が腎毒性発現時に何らかの影響を受けている可能性は十分に考えられるが、そのような情報は顕著に少ないのが現状である。

既に我々は、腎尿細管上皮由来LLC-PK₁細胞をMDR1の非基質であるシスプラチンで48時間短期曝露することにより、MDR1 mRNAが誘導され、またその機能も亢進することを明らかにしている⁴⁾。そこで今回、他の抗腫瘍性白金錯体であるカルボプラチンまたはネダプラチンがMDR1の機能および発現に及ぼす影響について評価し、シスプラチンの場合と比較検討した。

【方 法】

ブタ腎尿細管上皮由来細胞株LLC-PK₁は、Medium199を用いて常法に従い継代培養した。実験には、白金錯体未処置または48時間処置したLLC-PK₁細胞を用いた。抗腫瘍性白金錯体による増殖阻害試験は、WST-1法により行った。また、MDR1の輸送能は、MDR1基質であるローダミン123 (10 μM)を用いて、細胞内蓄積量および細胞外排出量を蛍光光度法で測定することにより評価した。さらに、MDR1 mRNAの発現変動は、細胞から全RNAを抽出後RT-PCRを行うことにより評価した。

【結 果】

LLC-PK₁細胞におけるシスプラチン、カルボプラチンおよびネダプラチンの50%増殖阻害濃度(IC₅₀値)は、それぞれ2.56, 28.1 および1.19 μMであった。

LLC-PK₁細胞におけるローダミン123の取り込みはシスプラチンまたはネダプラチンで前処置することにより有意に低下したが、カルボプラチン前処置による影響は認められなかった。また、反応開始5および15分間のローダミン123排出後の細胞内残存率はシスプラチン前処置により有意に低下したが、カルボプラチンおよびネダプラチンによる影響は観察されなかった。さらに、MDR1 mRNAの発現もシスプラチン処置のみにより増大傾向を示し、他の2剤による影響は認められなかった。

^{*1} 京都薬科大学病院薬学
〒607-8414 京都市山科区御陵中内町 5

^{*2} 神戸大学医学部附属病院薬剤部

【考 察】

薬物未処置の LLC-PK₁ 細胞における MDR1 基質であるローダミン 123 の取り込みは, MDR1 の代表的基質/阻害剤であるシクロスポリン (CsA, 10 μ M) を共存させることにより有意に増大した。また, 細胞外へのローダミン 123 の排出も CsA により抑制されることを確認した。なお, ローダミン 123 は MRP1 によっても輸送される可能性が報告されているが⁵⁾, CsA の MRP1 に対する阻害作用は弱いこと⁶⁾を考慮すると, ローダミン 123 の輸送は, 主に MDR1 を介したものであると推察される。従って, 内因性に発現した MDR1 がトランスポータとして機能している LLC-PK₁ 細胞は, 腎尿細管における MDR1 の誘導を評価するツールとして最適であると考えられることから, 本細胞を用いて MDR1 に対する抗腫瘍性白金錯体の影響を検討した。

シスプラチンで 48 時間前処置した LLC-PK₁ 細胞において MDR1 mRNA の発現が上昇し, その機能も亢進した。また, カルボプラチンの場合, MDR1 mRNA の発現変動は観察されず, その機能も影響を受けなかった。さらに, ネダプラチンは MDR1 mRNA の発現に影響を及ぼさなかったものの, ローダミン 123 の取り込み低下が観察された。これはローダミン 123 排出実験および RT-PCR の結果より, MDR1 の誘導に起因するものではないと考えている。これらの結果は, 臨床においてシスプラチンを投与した場合, MDR1 が誘導される可能性を示すものである。さらに, シスプラチンと MDR1 の基質である薬物を併用した際, シスプラチンは併用薬物の体内動態に影響を及ぼす可能性も示された。一方, カルボプラチンおよびネダプラチンは, シスプラチンの場合と異なり, MDR1 基質の腎動態に影響しないものと考えられた。

また, LLC-PK₁ 細胞におけるカルボプラチンおよびネダプラチンの IC₅₀ 値はそれぞれ 28.1 および 1.19 μ M であり, シスプラチンの IC₅₀ 値 (2.56 μ M) と比較して約 10 倍およびほぼ同等であった。す

なわち, カルボプラチンの毒性は他の 2 剤より低いことが示された。この結果から, シスプラチン, カルボプラチンおよびネダプラチンによる MDR1 の機能および発現変動の程度と細胞毒性の強弱は無関係であることが示された。従って, その他の要因, 例えば, MDR1 の誘導機構に関与する転写調節因子, シグナル伝達系などに及ぼす各薬物の影響が異なることなどが挙げられる。

本研究をまとめると, カルボプラチンおよびネダプラチンは, シスプラチンの場合と異なり, LLC-PK₁ 細胞の MDR1 を誘導しないことが示唆された。

【引用文献】

- 1) Inui, K., Masuda, S., Saito, H.: Cellular and molecular aspects of drug transport in the kidney. *Kidney Int.*, **58**: 944-958 (2000).
- 2) Fromm, M. F.: P-glycoprotein: a defense mechanism limiting oral bioavailability and CNS accumulation of drugs. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**: 69-74 (2000).
- 3) Tanigawara, Y.: Role of P-glycoprotein in drug disposition. *Ther. Drug Monit.*, **22**: 137-140 (2000).
- 4) Takara, K., Tsujimoto, M., Kokufu, M., et al.: Up-regulation of MDR1 function and expression by cisplatin in LLC-PK₁ cells. *Biol. Pharm. Bull.*, In press.
- 5) Daoud, R., Kast, C., Gros, P., et al.: Rhodamine 123 binds to multiple sites in the multidrug resistance protein (MRP1). *Biochemistry*, **39**: 15344-15352 (2000).
- 6) Kim, W. J., Kakehi, Y., Hirai, M., et al.: Multidrug resistance-associated protein-mediated multidrug resistance modulated by cyclosporin A in a human bladder cancer cell line. *Jpn. J. Cancer Res.*, **86**: 969-977 (1995).