薬 剤 学, **71** (4), 228–232 (2011)

≪若手研究者紹介≫

腎薬物トランスポータの役割と薬物動態学的な意義

本 橋 秀 之* Hideyuki Motohashi
京都大学医学部附属病院薬剤部

1. は じ め に

生体に投与された薬物は吸収・分布・代謝・排泄の過程を経て，体外へと排泄されて行く．このうち吸収，分布，排泄過程には膜輸送を媒介する薬物トランスポータが関与することが知られている．薬物トランスポータの機能および変動は薬物の体内動態を規定する重要な因子である．長年これらトランスポータ研究が精力的にすすめられてきたが，著者は主に腎臓における薬物トランスポータの研究をおこなってきた．

2. ヒト腎薬物トランスポータの発現 [1~3)]

腎臓は，肝臓と並び薬物の排泄において重要な臓器である．尿中への薬物排泄は糸球体濾過，尿細管分泌，尿細管再吸収の各過程からなっており，これらのうち尿細管分泌および再吸収には輸送体（トランスポータ）が関与することが知られていた．膜小胞や培養細胞を用いた研究からトランスポータ機能については明らかにされたものの，分子実体は解明されていなかった．1986 年多剤耐性の原因遺伝子として MDR1 が同定され，さらに 1994 年に有機カチオントランスポータ（OCT）が腎臓からクローニングされた．OCT は尿細管側底膜の膜電位依存性カチオントランスポータの分子実体であり，我々の研究室においても OCT2 を同定した．その後，腎薬物トランスポータが次々にクローニングされ（図 1），1997 年に側底膜有機アニオントランスポータ（OAT）が遠藤教授らのグループによって同定された．

薬物トランスポータの分子実体が次々と同定され，それぞれについて培養細胞発現系などを駆使して機能特性が明らかにされていった．しかし，ヒト腎臓における薬物トランスポータの重要性については不明な点も多かった．そこで著者らはこれらトランスポータのヒト腎臓における重要性について明らかにすることを目的として，臨床研究に着手した．まずヒト腎臓における薬物トランスポータの発現プロファイルを明らかにするため，ヒト腎皮質におけるトランスポータ発現量を検討した．その結果，ヒト腎臓においてヒト（h）OAT1 および hOAT3 が他

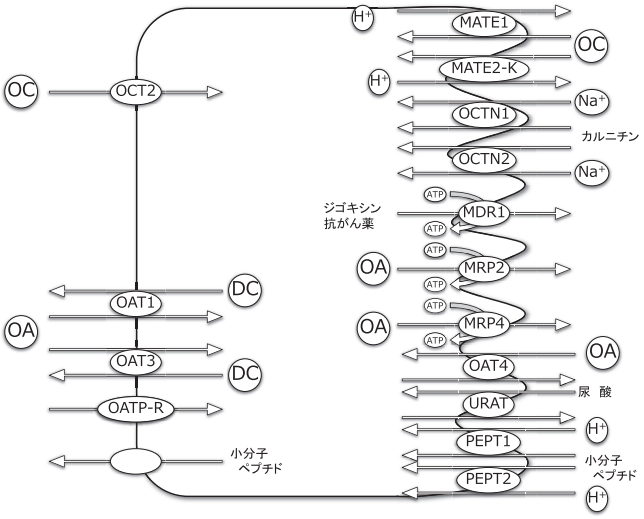


図 1 腎臓に発現する薬物トランスポータ

*2001 年京都大学大学院薬学研究科博士後期課程医療薬科学専攻修了．薬学（博士）取得．2001～2002 年財団法人ヒューマンサイエンス振興財団リサーチ・レジデント．2002 年～京都大学医学部附属病院薬剤部助手（現助教）．連絡先：〒606–8507 京都市左京区聖護院川原町 54 E-mail: motohasi@kuhp.kyoto-u.ac.jp

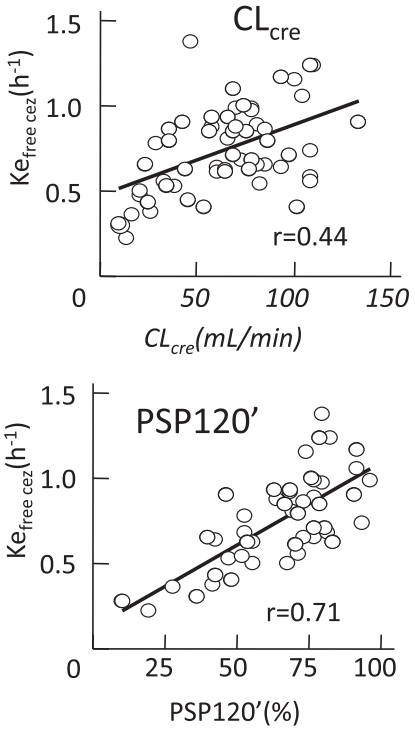


図 2　セファゾリン消失速度と腎機能検査値との相関

の薬物トランスポータと比較して高い発現量を示しており，薬物腎排泄において主要な役割を果たすと考えられた．さらに免疫組織染色の結果，hOAT1 および hOAT3 はともに近位尿細管側底膜に発現することが示された．しかし，連続切片を用いた検討から，これらのトランスポータの尿細管局在は異なっており，hOAT1 は hOAT3 と比較してより広く分布することが判明した．

腎機能低下患者においては健常な患者と比較して腎排泄型薬物の排泄遅延に起因した副作用発現が，薬物療法の上で深刻な問題となる．そこで，腎疾患時における薬物トランスポータの変動および薬物腎排泄の影響について検討した．具体的には腎疾患患者の余剰生検組織を用いて腎疾患時におけるトランスポータ発現量を定量するとともに，薬物の腎排泄能について評価した．

腎機能検査後に感染予防のため用いられる抗生物質セファゾリンの消失速度について検討したところ，セファゾリンの消失速度は腎機能と共に低下することが明らかとなった．腎機能の指標であるクレアチニンクリアランスとの相関係数は 0.44 であった．一方，腎機能検査の一つであるフェノールスルホンフタレイン（PSP）排泄試験との相関係数は 0.71 であり，クレアチニンクリアランスより良好な相関

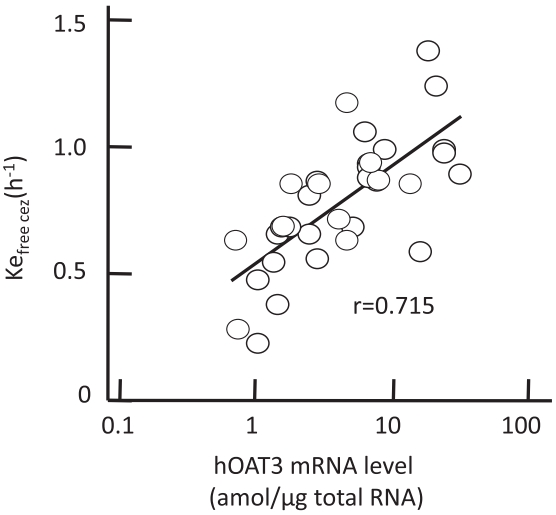


図 3　セファゾリン消失速度と hOAT3 発現量との相関

を示した（図 2）．PSP はほぼすべてが未変化体として尿細管分泌される腎機能検査薬である．セファゾリンもアニオン輸送系によって尿細管分泌される薬物であり，これらの結果は尿細管分泌を受けるアニオン性薬物の排泄速度を評価するためには，主に糸球体濾過速度（一部カチオントランスポータによる分泌）の指標であるクレアチニンクリアランスよりも PSP 試験値が適していることを示した．さらにトランスポータ発現量について解析したところ hOAT3 mRNA 発現量がセファゾリンの消失速度定数と有意な相関を示した（図 3）．著者らは hOAT3 発現培養細胞を用いセファゾリンおよび PSP は共に hOAT3 の良好な基質であることも明らかにし，これらの結果からトランスポータ発現量が薬物の尿細管分泌能の規定因子の一つであることが示唆された．

ヒト腎臓における hOCT1 および hOCT2 の発現について検討したところ，他の薬物トランスポータと比較して hOCT2 の発現量は高かったが，hOCT1 の発現はほとんど認められなかった．さらに免疫組織染色の結果，ヒト腎臓にはラットと異なり hOCT1 タンパク質の発現が認められなかったのに対して，hOCT2 タンパク質は近位尿細管に広く分布することが明らかとなった．したがって OCT の発現には種差が認められること，さらにヒト腎臓では主に hOCT2 が側底膜の有機カチオン輸送において重要な役割を果たしていることが明らかとなった．

3. 薬物トランスポータの変動と薬物動態に及ぼす影響

薬物トランスポータの発現変動並び機能の変動は薬物動態に大きな影響を及ぼす．薬物によるトランスポータの競合的な阻害は，薬物相互作用の原因の一つである．また，トランスポータ機能の活性調節メカニズムを明らかにすることは個体内での薬物動態の変動機構を明らかにするための重要な情報となる．

3.1 有機アニオントランスポータを介した薬物相互作用

まずhOAT1及びhOAT3の基質認識特性の差異について，アフリカツメガエル卵母細胞発現系やhOAT1，hOAT3安定発現HEK293細胞（HEK-hOAT1，HEK-hOAT3）を用いて検討した．種々セフェム系抗生剤の取り込みについて検討を加えたところ，検討した全てのセフェム系抗生剤の取り込みはHEK-hOAT1よりもHEK-hOAT3において高かった．またH_2受容体拮抗薬であるファモチジンもhOAT3の基質であることを明らかにした．以上の結果から，hOAT1及びhOAT3による認識性は基質によって異なることを明らかにした．免疫抑制剤ミコフェノール酸はシクロスポリンやタクロリムスなどと共に，移植医療における免疫抑制を目的に用いられる．ミコフェノール酸はグルクロン酸抱合を受け尿中へと排泄されるが，未変化体はほとんど排泄されないことが知られていた．さらに代謝物の腎排泄には尿細管分泌が関与すると考えられてきた．著者らは，ミコフェノール酸およびグルクロン酸抱合体のhOAT1およびhOAT3による輸送について検討した．その結果，hOAT1およびhOAT3による未変化体の輸送はほとんど観察されなかったものの，グルクロン酸抱合体はhOAT3の良好な基質となることが明らかとなった．したがって，主にグルクロン酸抱合体が尿中に排泄されるのはhOAT3の基質認識特性が一部関与すると考えられた．

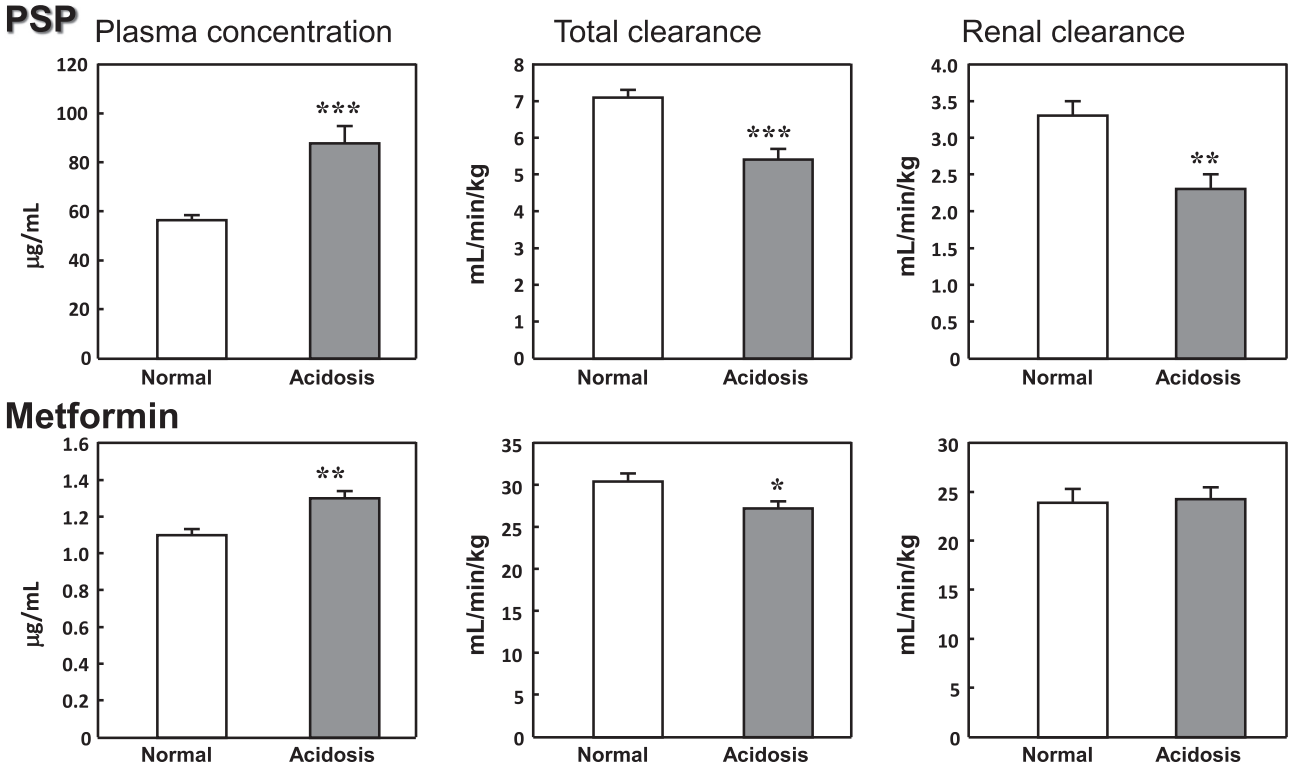
hOAT1およびhOAT3は抗がん薬メトトレキサート（MTX）の尿細管分泌にも関与すると考えられる．MTXと非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）の相互作用はMTXの腎排泄を遅らせ血中濃度を上昇させるため，併用注意とされている．ラット（r）OAT1によるMTX輸送に及ぼす各種非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）の影響について検討したところ，インドメタシン，ケトプロフェン，フルフェナム，イブプロフェン，フェニルブタゾンなど多くのNSAIDsがOAT1によるMTXの輸送を阻害した．さらに，ラットにMTXとNSAIDsを同時に投与すると，MTXの排泄速度が低下し，腎蓄積が低下した．またhOAT1およびhOAT3によるMTX輸送はロキソプロフェンおよび代謝物であるtrans-OH体によって顕著に阻害された．これら一連の結果からMTXとNSAIDsとの相互作用の少なくとも一部はhOAT1およびhOAT3の阻害に起因することが示唆された．

3.2 Cl^-イオンによる有機アニオントランスポータの活性変動[4]

次にhOAT1及びhOAT3の活性調節機構について検討した．これまでラット腎側底膜小胞を用いた検討において，Cl^-は尿細管側底膜における有機アニオン輸送に対して調節因子として働くことが知られていた．しかしながら，この活性調節に関する分子レベルでの情報は不明であった．そこで，hOAT1及びhOAT3の活性調節因子としてCl^-に着目し，両トランスポータを介した種々化合物の輸送に及ぼすCl^-の影響について解析した．Cl^-をグルコン酸に置換することによる，HEK-hOAT1およびHEK-hOAT3への種々化合物の取り込み活性への影響について評価したところ，検討した化合物の取り込みはすべてグルコン酸共存下よりもCl^-共存下において高かった．さらにhOAT1及びhOAT3の代表的基質であるPAH及びエストロン硫酸を用いて速度論的解析を行った．グルコン酸をCl^-へ置換することによって，HEK-hOAT1によるPAH取り込みのVmax値のみが3倍まで増加し，一方HEK-hOAT3によるエストロン硫酸取り込みにおいてはKm値が1/3まで減少した．従って，Cl^-はhOAT1及びhOAT3の輸送活性を上昇させるものの，その活性調節機構は異なり，hOAT1においては基質のtranslocation過程に，hOAT3においては基質の認識過程に関与することが示唆された．

3.3 アシドーシス病態時におけるトランスポータの変動[5]

腎臓は体内老廃物の排泄，水・電解質の排出調節及び酸塩基平衡の維持などに関与し，生体の恒常性維持において重要な役割を担っている．代謝性アシ



Each column represents the mean ± SE of 4 ~ 5 rats. *$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.001$ significantly different from normal rats.

図 4　アシドーシス時における薬物腎排泄の変動

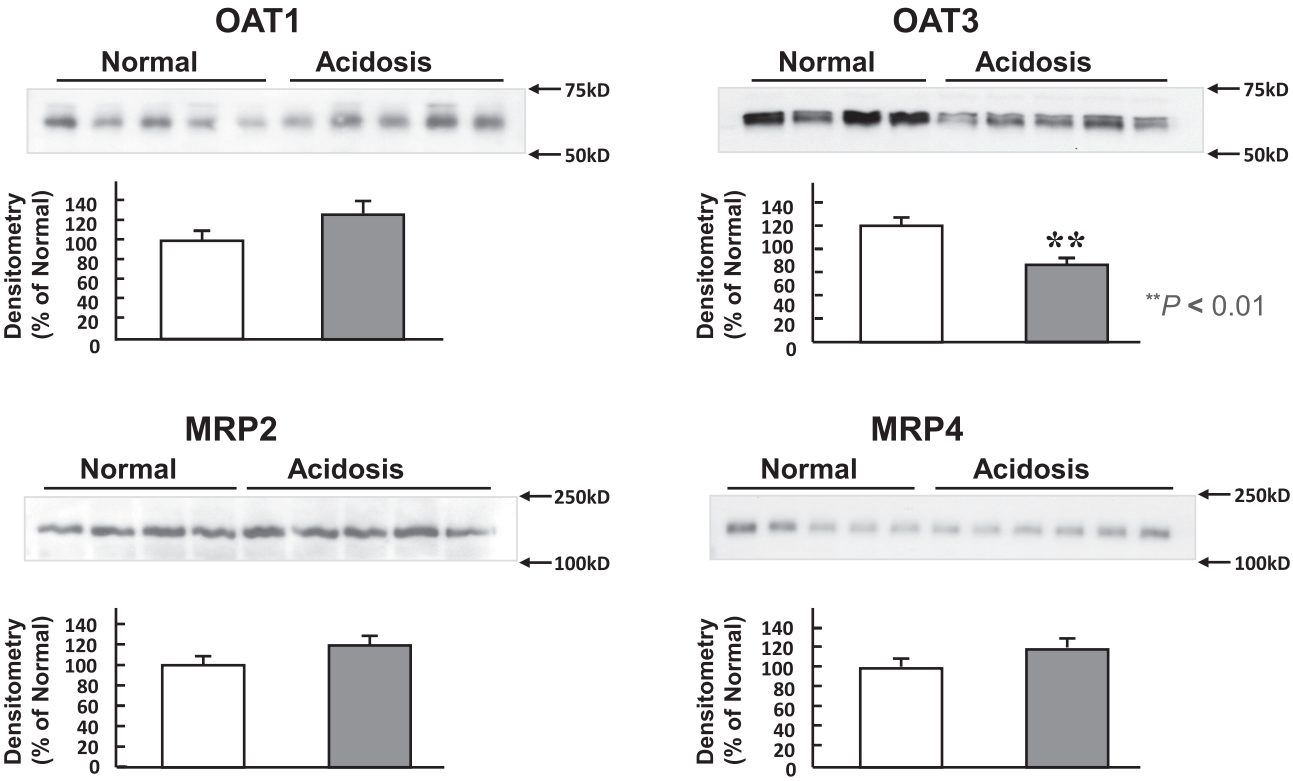


図 5　アシドーシス時における腎薬物トランスポータの変動

ドーシスとは，体内における酸性代謝物の産生や体外からの酸負荷の増大によって血液が酸性化される病態である．代謝性アシドーシス時には，血中の H^+ 濃度が上昇するため，近位尿細管での HCO_3^- の再吸収が低下し，腎障害が起こることが報告されている．これまで，代謝性アシドーシス時に H^+ 排泄に関わる Na^+/H^+exchanger（NHE）3 や system N glutamine（Gln）transporter SN1（SNAT3）の活性及び発現量が上昇することが報告されているが，代謝性アシドーシス時における腎薬物トランスポータの発現変動と薬物腎排泄能への影響については不明であった．そこで代謝性アシドーシスモデル動物を用いて薬物トランスポータの変動と薬物腎排泄について検討した．代謝性アシドーシスモデルラットの PSP 腎排泄への影響について調べた結果，代謝性アシドーシスモデルラットにおいてPSPの血中濃度はNormalラットと比べ高値を示し，全身クリアランス及び腎クリアランス両方とも有意に低下した（図 4）．一方，メトホルミン投与群では変動が見られなかった．これらの結果から，代謝性アシドーシス時には，アニオン性薬物の体内動態が変化することが示唆された．さらに薬物トランスポータの発現量について検討したところ，PSP の血管側から細胞内への取り込みに主に関わるトランスポータ rOAT3 タンパク発現量が代謝性アシドーシスモデルラットではNormalラットと比べ顕著に低下した（図 5）．一方，rOAT1 や PSP 刷子縁膜のトランスポータ群では変動が見られなかった．これらの結果から，代謝性アシドーシス時には，rOAT3 のタンパク発現量が減少し，PSP の全身クリアランス及び腎クリアランスの低下を引き起こすことが示唆された．

4. おわりに

薬物腎排泄に関わる多くのトランスポータがこれまで同定され，機能特性や制御メカニズムについて明らかにされてきた．さらに，機能や発現に影響する遺伝子多型も明らかにされつつあり，臨床における重要性もますます大きくなってきている．これまで得られた薬物トランスポータに関する知見を，さらに臨床における薬物治療に応用するための研究が必要とされると考える．

引用文献

1) H. Motohashi, Y. Sakurai, H. Saito, S. Masuda, Y. Urakami, M. Goto, A. Fukatsu, O. Ogawa, K. Inui, Gene expression levels and immunolocalization of organic ion transporters in the human kidney, *J. Am. Soc. Nephrol*., **13**, 866–874 (2002).
2) Y. Sakurai, H. Motohashi, H. Ueo, S. Masuda, H. Saito, M. Okuda, N. Mori, M. Matsuura, T. Doi, A. Fukatsu, O. Ogawa, K. Inui, Expression levels of renal organic anion transporters (OATs) and their correlation with anionic drug excretion in patients with renal diseases, *Pharm. Res*., **21**, 61–67 (2004).
3) Y. Sakurai, H. Motohashi, K. Ogasawara, T. Terada, S. Masuda, T. Katsura, N. Mori, M. Matsuura, T. Doi, A. Fukatsu, K. Inui, Pharmacokinetic significance of renal OAT3 (SLC22A8) for anionic drug elimination in patients with mesangial proliferative glomerulonephritis, *Pharm. Res*., **22**, 2016–2022 (2005).
4) H. Ueo, H. Motohashi, T. Katsura, K. Inui, Cl^--dependent upregulation of human organic anion transporters: Different effects on transport kinetics between hOAT1 and hOAT3, *Am. J. Physiol. Renal. Physiol*., **293**, F391–F397 (2007).
5) A. Gaowa, H. Motohashi, T. Katsura, K. Inui, Effects of metabolic acidosis on expression levels of renal drug transporters, *Pharm. Res*., **28**, 1023–1030 (2011).