

MPS を活用した動態・毒性評価とトランスレーショナル研究への応用

いまおか ともき

今岡 知己

第一三共株式会社 薬物動態研究所



略歴

- 2002年3月 東京大学薬学部卒業
- 2004年3月 東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了
- 2007年3月 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了
- 2007年4月 第一三共株式会社入社
- 2018年10月 University of Washington (WA,USA) visiting scientist (～2020年9月)
- 2020年10月 第一三共株式会社薬物動態研究所 現在に至る

オクラトキシン A (OTA)は多くの食品に含まれているマイコトキシンであり、発がん性、腎毒性、催奇形性を有することが知られている。中でも尿細管上皮細胞の壊死や線維化といった重篤な腎毒性が問題になっている。しかしながら、OTAの毒性メカニズムやその毒性に対する遺伝的リスク要因は明らかにされておらず、その原因として *in vitro* でヒト腎臓機能を模した毒性評価可能な適切なモデルがないことが挙げられる。

近年、培養デバイス上にマイクロ流路を導入、shear stress を付加させることで *in vivo* の微少環境を模した *microphysiological system* (MPS)技術が注目されている (1)。腎臓に関して言えば、いくつかの研究グループがヒト腎尿細管細胞を MPS 上で培養させた腎 MPS の構築に成功し、ヒト尿細管構造や機能を *in vitro* 上で再現することに成功している(2)。更に構築した腎 MPS を用いて polymixin B、Cisplatin、ゲンタマイシンやカドミウムといった腎毒性物質に対する応答性を評価することが可能であることが発表されている(3)。

このような背景から我々は腎 MPS を用いて OTA に対する用量-毒性反応性評価、OTA 毒性発現メカニズムの解明、OTA 毒性リスクファクターを明らかにすることを目的として研究を行った。腎 MPS を用いた OTA の用量-毒性反応性試験結果、OTA の LC50 値は 0.375 – 1.21 μ M と臨床で OTA が原因と推定される腎毒性患者におけるヒト尿中 OTA 濃度と近い値であることが分かった。また、OTA の代謝物として反応性代謝物である OTQ/OTHQ (Ochratoxin quinone, Ochratoxin hydroquinone)が動物およびヒト肝臓ミクロソーム中に認められることから(4)、これら OTQ/OTHQ が OTA の毒性に関係し P450 と GST(s)がそれぞれ OTA の代謝活性化および解毒に関与しているとの仮説を立て腎 MPS 上で検討を行った。P450 および GST のグローバル阻害薬としてそれぞれ 1-aminobenzotriazole (ABT) および 6-(7-Nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio) hexanol (NBDHEX)の腎 MPS 上での OTA-induced toxicity に対する影響を評価したところ NBDHEX (3 μ M)処理により毒性は有意に増大し、一方で ABT (1 mM)処理では逆に毒性が低減する結果を得た。このことは GSTs および P450 がそれぞれ OTA の解毒および代謝活性化として関与していることを示唆するものである。さらに OTA 処理した腎 MPS より RNA を抽出、トランスクリプトーム解析を実施したところ、GST を含む NRF2 (nuclear factor (erythroid derived-2)-like 2)に制御された遺伝子が顕著に発現低下していることが明らかになった。以上の結果より OTA が GSTs を負に発現制御することにより反応性代謝物である OTQ/OTHQ のグルタチオン抱合/解毒が低下、OTQ/OTHQ が細胞内に蓄積することで OTA 毒性が引き起こされていることが示唆された。さらに、腎臓特異的な OTA 毒性機構を検討するため、腎 MPS を用いて OTA の尿細管上皮細胞への取り込みに対する Transporter の関与を有機アニオントランスポーター阻害薬であるプロベネシド存在下・非存在下により確認した。OTA の腎尿細管上皮細胞への取り込みはプロベネシド(1 mM)存在下で顕著に低下することから OTA の尿細管取り込みに有機アニオントランスポーターが関与していると考えられた。腎臓特異的なトランスポーターにより OTA の腎臓特異的な分布が引き起こされ、強い腎毒性が生じているものと考えられた。一連の腎 MPS を用いた試験結果により OTA の腎毒性発症メカニズムや OTA 毒性の遺伝的毒性リスクファクターが明らかになり、OTA の腎毒性評価に対するリスクアセスメント法構築の一助になることが期待される。また、本発表では腎 MPS を用いた毒性評価に加え、薬物動態的観点から腎 MPS を活用した薬物のクリアランス評価に対しての最新の知見も合わせて紹介する。

REFERENCES

1. R. Paoli, J. Samitier, Mimicking the Kidney: A Key Role in Organ-on-Chip Development. *Micromachines* (Basel) 7:126 (2016).
2. K. J. Jang et al., Human kidney proximal tubule-on-a-chip for drug transport and nephrotoxicity assessment. *Integr Biol* (Camb) 5, 1119-1129 (2013).
3. E. J. Weber et al., Development of a microphysiological model of human kidney proximal tubule function. *Kidney Int* 90, 627-637 (2016).
4. Dai, J., Park, G., Wright, M.W., Adams, M., Akman, S.A. and Manderville, R.A. 2002. Detection and characterization of a glutathione conjugate of ochratoxin A. *Chem Res Toxicol* 15, 1581-1588.