

腎臓の薬物輸送の分子機序 revisit：関根孝司先生に捧ぐ

安西尚彦

千葉大学大学院医学研究院薬理学

【要 約】

生体を構成する細胞の生存と機能維持にとって、細胞膜を介したイオンや有機物質の輸送は不可欠である。細胞膜は脂質二重層により構成されているため、脂溶性の低分子物質は障壁が無く、単純拡散で通過できる。しかしイオンや生体代謝に関与する多くの水溶性有機物質は脂質二重層膜には不透過であり、それらの膜通過には特別な装置を必要とする。これがトランスポーター等の膜輸送タンパク質である。

トランスポーターはチャンネルとは異なり輸送のたびに基質結合部位の向きを細胞内・外に一回ごとにスイッチしながら物質を輸送する。このためトランスポーターの輸送率はチャンネルのそれよりも極めて遅くなる。さらにトランスポーターは、輸送基質として内因性物質だけでなく、薬物や環境化学物質を含む多くの外因性物質も認識し、「多選択性」の輸送を特徴とする。

トランスポーターはATPの加水分解エネルギーを利用して輸送を行うABC(ATP binding cassette)ファミリーと、ATPのエネルギーを用いないで輸送を行うSLC(Solute carrier)ファミリーの二つがあり、ヒトにおいてはそれぞれ48、および560種類の遺伝子が同定されている。

体内では主に有機イオンとして認識される薬物は、腎臓で糸球体濾過、再吸収、分泌の過程を経るが、薬物の体外排出は近位尿細管における「分泌」がメインとなり、管腔側および血管側に分かれる尿細管上皮におけるトランスポーターの非対称的配置が薬物排泄分子機序の基盤

となる。

1997年、当時杏林大学薬理学におられた故関根孝司先生が発見クローニング法を用い、4年に渡る月日を費やし、世界に先駆けて同定したのが腎臓の有機酸トランスポーターOAT1である。関根先生の業績を振り返りながら、同氏が道を切り開いた腎臓の薬物輸送研究の現状を総括してみたい。

【キーワード】

有機酸、薬物、尿細管、上皮輸送、トランスポーター

【本 文】

1、薬物の生体内運命：薬物動態

我々をとりまく環境に存在する無数の(天然ないし人工の)化学物質が存在するが、その中で直接あるいは間接的に摂取・適用することで「ヒトの生体機能に影響を及ぼす化学物質」を薬物(クスリ)という。

筆者がその身をおく「薬理学」とは、「薬物と生体の相互作用」の解明を目指す学問であり、所謂「薬理作用」と呼ばれる薬物の生体に対する作用を調べる学問が「薬力学」"Pharmacodynamics"であり、これに対し「吸収・代謝・分布・排泄」という生体の薬物に対する作用を調べる学問が「薬物動態学」"Pharmacokinetics"である。このように生体と薬物は相互に作用を及ぼし合うことが薬理学の大前提となる。臨床において薬物治療を行う際、薬物の種類を問わず考慮に入れなければならない

いのが薬物動態であり、例えば薬物はその効果を生じるためには、作用部位に適当な濃度で存在しなければならないことや、体内における薬物および代謝物の量は時間とともに変化して行く、といった事実は、体内での薬物の動きを研究する学問である薬物動態学によりもたらされたと言える。

この薬物動態と先述の薬力学はともに薬物効果の個人差に影響することが知られているが、薬力学の関与するパートは血中に存在する薬物が作用部位に到達して初めて影響がでる極めて狭い範囲に限定されるのに対し、体への取込みに始まり、体内への分布を経てより親水性であることを獲得する代謝から体外への排泄へと進む、薬物作用以外の体内における多くの過程を支配するのは薬物動態であり、その薬物効果の個人差にも薬物動態が大きな影響を及ぼすことは自明の理であると言える。

この体内への薬物の吸収、分布、代謝、排泄の過程において共通する現象が「生体膜の透過」というステップであり、脂質二重層である生体膜通過の可否が、薬物の吸収や分布を決定する。大部分の薬物が脂溶性であることを考慮すれば、その透過は脂溶性拡散により行われ、イオンの輸送の一部が（一次性的の）能動輸送で行わ



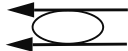
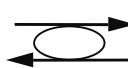
れるのに対し、多くの薬物は「トランスポーター」と呼ばれる膜輸送タンパク質による促進拡散により行われる。

2、トランスポーターとは

トランスポーターはチャネルとは異なり細胞膜を貫通する水路である“pore（穴）”は存在せず、輸送のたびに基質結合部位の向きを細胞内・外に一回ごとにスイッチ・リセットするトランスロケーションを繰り返しながら物質を輸送するとされる。このためトランスポーターの輸送率（ $10^2 \sim 10^4$ 個/秒）はチャネルの輸送率（ $10^6 \sim 10^8$ 個/秒）よりも極めて遅くなる¹⁾。さらに有機イオンのトランスポーターでは、チャネルとは異なり輸送基質として内因性物質だけでなく、薬物や環境化学物質を含む多くの外因性物質も認識するものがある。この「多選択性」の輸送もトランスポーターの特徴と言える。

トランスポーターは、単一基質の輸送か、あるいは複数種類の基質が同時に輸送されるのか、さらに同時輸送の場合には同一方向か、逆方向かといった輸送形式の点と、ATPの加水分解による化学エネルギーと共役するかどうかという観点から分類されている（表1）。現在ATPの加水分解エネルギーを利用した能動

表1. トランスポーターの輸送様式

	生体必須物質 トランスポーター	有機イオン（薬物） トランスポーター
一次性能動輸送 	Na⁺,K⁺-ATPase H⁺,K⁺-ATPase ポンプ	P-glycoprotein MRPs ABC
単輸送 	GLUTs (Glucose transporters)	OCTs (Organic cation transporters)
共輸送 	SGLT (Na-glucose cotransporter)	PEPT (Peptide transporter)
逆輸送 	NHE (Na ⁺ -H ⁺ exchanger)	OAT (Organic anion transporter)

輸送を行う ABC (ATP-binding cassette) ファミリーと、ATP のエネルギーを用いず、共輸送・逆輸送・単輸送などを行う SLC (Solute carrier) ファミリーの二つに分けられる²⁾。前者は ABCA ~ ABCG までのファミリーに分類され、ヒトにおいては 48 種類の ABC トランスポーター遺伝子が同定されている。後者は現在 SLC1 ~ SLC52 までのファミリーに分類され、ヒトにおいてはゲノム概要配列解明に伴い現在までに 564 種類の SLC トランスポーター遺伝子が同定されている。

トランスポーターは本来個々の細胞への栄養供給、不要代謝産物除去のために成立し、進化して来たものと考えられるが、多細胞生物においてはその役割も質的な変化を遂げ、個々の細胞の生存維持の目的のみではなく、組織の特異機能の一端を担うものもある。その顕著な例が神経組織における神経伝達物質の回収と消化管や腎尿細管など上皮組織における経上皮輸送である³⁾。

3、腎臓の薬物輸送

腎臓における有機イオン排泄能を世界で初めて明らかにしたのは、American Society of Nephrology 米国腎臓学会の最も古く権威のある賞として知られる Homer W. Smith Award に名を残す Homer W. Smith 氏であり⁴⁾、その後有機酸の PAH (*para*-aminohippurate パラアミノ馬尿酸) の輸送能の解析から有効腎血流量 (effective RBF) 測定を確立している⁵⁾。その後蛋白結合型の薬物の多くは糸球体濾過を受けず、続く近位尿細管においてポンプやトランスポーター (輸送体) 等により尿細管液中に分泌されることから腎臓の「薬物排泄センター」としての役割が確立した。

体内に取り込まれた内因性物質、薬物、環境化学物質など様々な有機化合物は、主に肝臓での代謝を経て、親水性の有機アニオン (有機酸) および有機カチオン (有機塩基) となり、その後高度に発達した器官である肝臓や腎臓より体外に排泄される。この腎臓における排泄の中心は近位尿細管における分泌であり、内

因性および外因性化合物の尿細管分泌を司る輸送経路は、輸送基質の選択性から有機アニオンおよび有機カチオン輸送システムに分けられて理解されてきた⁶⁾。腎臓や肝臓での分泌経路は細胞局在から 2 つのトランスポーター群に大別される。血中から尿細管細胞や肝細胞内へ取込みを行なう基底側膜に分布するものと、尿細管細胞や肝細胞内から尿細管腔や胆管腔内に排出を行なう管腔側膜に分布するものである。以下には我々の研究グループが 1990 年代から継続的に研究を行っている有機アニオンを基質とするトランスポーター OATs (Organic Anion Transporters)⁷⁾ について述べる。

4、有機酸トランスポーター OATs の分子同定

1997 年、当時杏林大学医学部薬理学教室に所属していた故関根孝司先生 (前東邦大学医療センター大橋病院小児科教授) がアフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いた発現クローニング法により、まず世界に先駆けて有機酸トランスポーター Organic Anion Transporter:OAT の最初の分子同定に成功した⁸⁾。これを皮切りに、その後次々と新しい OAT が同定され続け、現在ヒトでは OAT1・OAT2・OAT3・OAT4・URAT1・OAT7 と 6 つのアイソフォームが同定されている⁹⁾。これら一群のトランスポーターは全長約 550 アミノ酸から構成される 12 回膜貫通型蛋白質であると推定されており、N 末端と C 末端はともに細胞内に位置し、第一膜貫通部位と第二膜貫通部位の間には複数の糖鎖を含んだ大きな細胞外ループが、第六膜貫通部位と第七膜貫通部位の間には推定リン酸化部位を含んだ大きな細胞内ループが存在するのが共通の特徴である¹⁰⁾。近い将来 OATs の立体構造が明らかになることが期待される。

OATs のほとんどは腎臓近位尿細管において共発現していることが免疫組織染色で明らかとされている。これに加えて OAT1 および OAT3 が近位尿細管血管側に、OAT4 が近位尿細管腔側に局在し⁹⁾、これら 3 つのトランスポーターが輸送基質を一部共有することから、当初、腎臓近位尿細管においては血管側の OAT1・

OAT3を入り口とし、管腔側のOAT4を出口とする有機陰イオン分泌経路が想定されてきたが、次項に述べるヒトOATv1の同定¹¹⁾により、近位尿細管ではOAT1とOAT3の両者により取り込まれた有機アニオンは管腔側のABCトランスポーターMRP2ないしMRP4、あるいはOATv1により尿細管腔へと排出され、OAT4は一部の有機アニオンの再吸収に関与するものと考えられる¹²⁾(図1)。

5、腎臓の薬物トランスポーターと薬理作用

経尿細管上皮性有機酸(薬物)分泌は、血管側から細胞内への取込みが主に有機酸トランスポーターOAT1(*SLC22A6*)およびOAT3(*SLC22A8*)で行われた後、どのようにして管腔側で排出されるのかが長らく不明であった。従来腎近位尿細管細胞膜小胞を用いた実験データから、同部位にて電位駆動性輸送担体が有機酸分泌を担う事が示唆されており、著者らの研究グループは発現クローニング法により世界に先駆けてブタ腎臓から電位駆動性有機酸トランスポーターpOATv1の同定に成功した¹³⁾。そ

のアミノ酸相同性からヒトではSLC17ファミリーで腎臓に発現するI型Na⁺-リン酸トランスポーター1(NPT1/*SLC17A1*)がその候補であることが示唆されていたが、その電位駆動性の有機酸輸送特性は明らかではなかった。

最近筆者らは、orphan transporterのNPT4(*SLC17A3*)が、同じSLC17ファミリーに属し、ラットではリン酸を輸送すると報告されていた*SLC17A3*(NPT4)がGWASで血清尿酸値との関連因子であると報告されたことに着目し、アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いてその輸送特性を解析した。その結果、hNPT4は電位駆動性のPAH輸送特性を示し、特にfurosemideなどのループ利尿薬やチアジド系利尿薬と著明に相互作用することが示され、hNPT4は尿細管管腔側での有機酸排出を担うに相応しい特性を持つ事が明らかになった¹¹⁾。そこで我々はhNPT4が腎近位尿細管管腔側膜における電位(差)駆動性の有機酸排出トランスポーターVoltage-driven Organic Anion Transporter: OATv1であり、ループ利尿薬やチアジド系利尿薬の排出経路となることに加

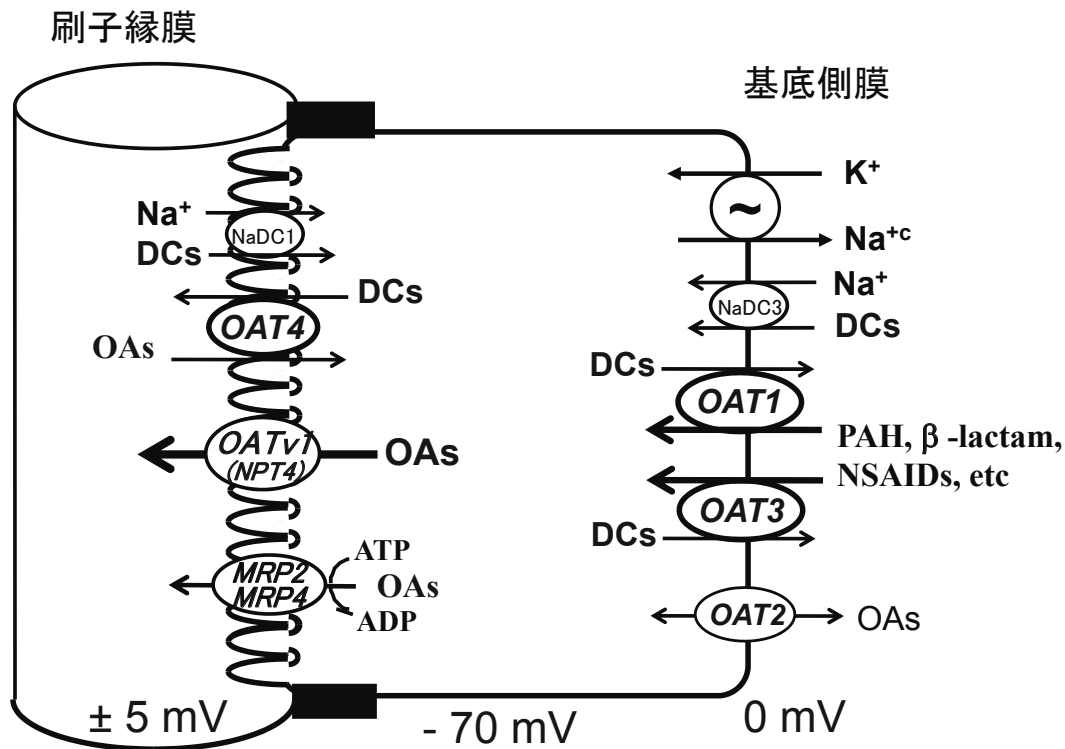


図1. 近位尿細管細胞における有機アニオン輸送。OAs：有機酸、DCs：ジカルボン酸

え、NPT4 は同時に尿酸の排出を担う事から、近位尿細管での経上皮性尿酸再吸収時に血管側に移行しきれない尿酸の管腔側へのリーク経路となる可能性を示唆した¹⁴⁾。OATv1 (NPT4) を標的とする薬物間相互作用が、これらの薬物投与時にみられる高尿酸血症の誘因となる可能性も考慮に入れる必要があると言える¹⁴⁾。

以上のように、本研究によりこれまで不明であった経尿細管上皮性有機酸分泌路における管腔側の排出路が明らかにできた。

【文 献】

- 1) 安西尚彦、遠藤 仁：腎臓の有機溶質・薬物トランスポーター 第一回 トランスポーター総論、高尿酸血症と痛風、15、160-163、2007
- 2) 安西尚彦：膜輸送蛋白質 Up-to-Date、日腎会誌 50、110-113、2008
- 3) 金井好克：総論 薬効標的のトランスポーター、遺伝子 MOOK 12 最新トランスポーター研究 2009 (杉山雄一ほか編集)、29-34、メディカルドウ、2009
- 4) Smith HW, Goldring W, Chasis H : THE MEASUREMENT OF THE TUBULAR EXCRETORY MASS, EFFECTIVE BLOOD FLOW AND FILTRATION RATE IN THE NORMAL HUMAN KIDNEY. J Clin Invest. 17 (3) :263-278, 1938
- 5) Smith HW, Finkelstein N, Aliminosa L, et al. : THE RENAL CLEARANCES OF SUBSTITUTED HIPPURIC ACID DERIVATIVES AND OTHER AROMATIC ACIDS IN DOG AND MAN. J Clin Invest. 24 (3) : 388-404, 1945.
- 6) 関根孝司、遠藤 仁： 有機アニオントランスポーター, Annual Review 腎臓 1998 巻 Page103-108
- 7) 関根孝司：多選択性有機アニオントランスポーターファミリー (OAT family) の同定と薬物輸送における役割の解析, 日本薬理学雑誌 117 (3) : 177-186, 2001
- 8) Sekine T, Watanabe N, Hosoyamada M, et al : Expression cloning and characterization of a novel multispecific organic anion transporter. J Biol Chem, 272: 18526-18529, 1997
- 9) Anzai N, Kanai Y, Endou H. : Organic anion transporter family: current knowledge. J Pharmacol Sci. 100: 411-426, 2006.
- 10) 遠藤 仁, 細山田真, 車 碩鎬：有機イオントランスポーターファミリー、C 蛋白質・核酸・酵素、46 : 604-611, 2001
- 11) Jutabha P, Anzai N, Kitamura K、 他 : Human sodium phosphate transporter 4 (hNPT4/SLC17A3) as a common renal secretory pathway for drugs and urate, J Biol Chem、285 : 35123-35132、2010
- 12) Otani N, Ouchi M, Hayashi K, et al. Roles of organic anion transporters (OATs) in renal proximal tubules and their localization. Anat Sci Int. 92: 200-206, 2017.
- 13) Jutabha P, Kanai Y, Hosoyamada M, et al. Identification of a novel voltage-driven organic anion transporter present at apical membrane of renal proximal tubule. J Biol Chem. 278: 27930-27938, 2003.
- 14) 安西尚彦：利尿薬による薬物性高尿酸血症の発症機序、医薬の門、52 : 1-5、2012