

## 論文の内容の要旨

論文題目 微小管重合阻害薬の心毒性発現機序に関する研究

氏名 栃内 亮太

微小管重合阻害薬は、炎症性疾患や悪性腫瘍の治療薬として応用されている。一方、微小管重合阻害薬には心毒性が存在する。特に、微小管上の colchicine バインディングサイトに結合する微小管重合阻害薬である combretastatin A4 disodiumphosphate (CA4DP) では顕著な心毒性が認められており、がん化学療法における大きなリスクファクターとなっている。しかしながら、微小管重合阻害薬の心毒性について発現機序を解析した報告はほとんどなく、詳細は明らかになっていない。そこで本研究では、CA4DP および CA4DP と同様に colchicine バインディングサイトに結合して微小管の働きを妨げる colchicine を用いて、心毒性発現機序を考察することとした。

微小管は心筋細胞の形態維持やミトコンドリアの配列および膜電位維持に重要な役割を果たしていることから、微小管重合阻害薬による心筋傷害に細胞形態の変化あるいは adenosine triphosphate (ATP) の産生抑制が関与している可能性が考えられた。そこで、まずは colchicine および CA4DP がヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (hiPS-CM) の細胞形態、細胞生存性および ATP 産生に与える影響を評価することにより、微小管重合阻害薬が心筋細胞に直接的に与える毒性作用について考察した。その結果、colchicine および CA4DP は hiPS-CM の細胞形態を変化させることおよび拍動を亢進させることが示されたが、細胞生存性および ATP 産生には影響を与えないことが明らかとなった。これらのことから、微小管重合阻害薬によって誘発される心筋傷害は、心筋細胞に対する直接的な細胞毒性が原因ではなく、虚血あるいは自律神経系の異常などに起因した二次的な作用によって誘発されることが示唆された。

次に、微小管重合阻害薬の心毒性をラットを用いて考察可能であるかについて確認するために、ラットに colchicine および CA4DP の投与に起因した心電図変化を誘発することを試み、ヒトと共通する心電図変化が誘発されるか評価するとともに、検出された心電図変化から心毒性発現機序を考察することとした。その結果、colchicine および CA4DP 投与ラットの心電図において、ST segment の明瞭化あるいは QT 間隔の延長といった ST-T 部分の異常が認められた。これらの変化は、ヒトにおいて報告されている ST-T 部分の異常と関連すると考えられ、CA4DP あるいは colchicine を投与したラットを用いて心毒性の発現機序を検討することによって、ヒトにおける心毒性の発現機序を考察できるものと考えられた。また、これらの変化は虚血あるいは自律神経系の異常に関連したものと推察された。

続いて、微小管重合阻害薬の心毒性発現機序に自律神経系の活動の変化が関与しているかについて考察するために、colchicine および CA4DP 投与ラットの心電図情報を用いてパワースペクトル解析による心拍変動解析を実施した。その結果、colchicine および CA4DP の投与によって副交感神経系の活動が亢進したことが明らかとなり、微小管重合阻害薬が自律神経系の活動バランスを変化させていることが考えられた。一方、心筋傷害を誘発するような交感神経系の明らかな活動亢進は検出されなかったことから、微小管重合阻害薬の投与によって生じる心筋傷害には、自律神経系の異常とは別の機序が関与している可能性が推察された。

最後に、colchicine および CA4DP をラットに投与することで心筋傷害を誘発し、病理組織学的解析を行った。また、電子顕微鏡学的解析を用いて、詳細な解析を実施した。さらに、心臓病変が虚血と関連している可能性が示唆されたため、心臓における低酸素領域の検出を試みた。その結果、colchicine 投与ラットの心臓において、心室中隔および左心室壁内層に好発する心筋細胞の空胞化および好酸性顆粒状変性および壊死が認められた。これらの変化はミトコンドリアの腫大が特徴的な変化であり、微小管重合阻害薬が骨格筋に

誘発する病変とは異なる病態であることが明らかとなった。また、心筋細胞の変性・壊死領域と一致して、組織低酸素マーカーの pimonidazole が検出された。さらに、血管内皮細胞のアポトーシスが認められた。血管内皮細胞の変化は、心筋細胞の変化よりも低用量の colchicine によって誘発された。CA4DP を投与したラットの心臓においては、colchicine 投与ラットの心臓と共通した組織変化が認められ、観察された病変は微小管重合阻害薬に特徴的な変化であることが示唆された。これらのことから、微小管重合阻害薬によって誘発される心筋傷害は、毛細血管内皮細胞の障害による微小循環の障害に起因した虚血が原因となって生じる変化であると考えられた。

本研究を通じて、微小管阻害薬によってラットに誘発される心電図変化および心筋病変の毒性病理学的変化が明らかになった。また、心毒性発現機序の一端を考察できた。微小管重合阻害薬の投与によりラットの心電図に誘発された変化は、ST-T 部分の変化という点でヒトと類似しており、ラットを用いた本研究成果をヒトに外挿できる可能性は高いと考えられた。また、微小管重合阻害薬を添加した hiPS-CM の拍動増加は、新生仔の心筋細胞で報告されている結果と類似していたことから、hiPS-CM を用いた微小管重合阻害薬の心毒性評価を成人に外挿する際には限界点もあると考えられた。しかしながら、本研究において、微小管重合阻害薬のヒトの心筋細胞に対する傷害性に関するポテンシャルを評価することは可能であると考えられ、本研究によりヒトにおける心毒性発現機序を考察する上で重要な情報を提供できたものと思われる。本研究を通じた心毒性発現機序の解明により、微小管重合阻害薬の非臨床試験における適切な心毒性評価手法の選択、さらには臨床における心毒性の対策方法の考案に繋がると期待され、本研究の成果が、抗がん剤など、微小管重合阻害薬の開発の効率化と安全性向上に貢献できると考えられる。