

## 2014年度日本臨床薬理学会海外研修員報告： 研修完了報告書

日野ひとみ

研修先：Division of Clinical Pharmacology and Toxicology, The Hospital for Sick Children, University of Toronto, Canada（指導者：伊藤真也教授）

研修時身分：博士研究員

研修テーマ：パクリタキセル・クレモホールによる末梢神経障害に対するリボフラビンの発症予防効果の検討

研修期間：2015年8月1日～2017年8月31日

所属機関：公立学校共済組合四国中央病院 小児科，愛媛大学医学部 小児科

### 1. はじめに

私は2015年8月1日から2017年8月31日までカナダにあるトロント小児病院（The Hospital for Sick Children, 通称 Sick Kids）の臨床薬理学部門（Division of Clinical Pharmacology and Toxicology）で研修させていただきました。伊藤真也教授のもと、基礎研究部門にて「パクリタキセル・クレモホールによる末梢神経障害に対するリボフラビンの発症予防効果の検討」をテーマに研鑽を積んでまいりました。その研修内容について報告します。

### 2. トロント大学とトロント小児病院

トロント周辺ではトロント市を含む5つの地域が大トロント地域（Greater Toronto Area, GTA）として、北米第5位の規模を誇る大都市圏を形成しています。そのGTAには Sick Kids を含む9つの病院がトロント大学関連病院として、Toronto Academic Health Science Network（TAHSN）でつながっており、全ての病院がガイドラインや雇用などで同様の基準を使用するなど、臨床や研究を発展させています。TAHSNのおかげで Sick Kids の研究室のみでなく、トロント大学の研究室からの助けを得ることも比較的容易です。トロント大学図書館の扱う膨大な図書へのアクセスは研究を行ううえで大きな助けとなりました。

### 3. トロント小児病院の臨床薬理学部門

伊藤先生は、「妊娠と薬」という、妊娠・授乳婦の薬物療法に関わる全ての人にとって、臨床で即戦力となる薬物治療コンサルテーションの本を出版されています。臨床研究部門では妊娠・授乳婦に関する systematic review をまとめ

られ、基礎研究部門では乳腺をメインとした、薬物動態に関する研究が行われています。癌薬物療法における薬剤耐性に関わる、薬剤排出ポンプである膜たんぱく、BCRP（Breast Cancer Resistance Protein）の基質の一つにリボフラビン（RF: ビタミンB<sub>2</sub>）が含まれるという報告があり<sup>1)</sup>、基礎研究部門ではリボフラビンが母乳と薬において重要な役割をしているのではないかという仮説を立て、研究を進めているところでした。その研究の過程でリボフラビントランスポーターは乳腺のみではなく、脳にも比較的多く分布しており<sup>2)</sup>、脳神経分野においても重要な意味があるのではないかと推測されるようになりました。リボフラビンの欠乏症としては、口角炎や皮膚炎などが有名ですが、近年、先天性リボフラビントランスポーター異常症に軸索障害性末梢神経障害が起こり、リボフラビンの補充が有効であることが報告されました<sup>3)</sup>。そこで、小児神経科医を目指す私に、リボフラビンと脳神経分野における薬というテーマが与えられました。

### 4. 研究について

#### 4.1. リボフラビンとパクリタキセル

既にリボフラビントランスポーターを含むプラスミドを研究室が作製しており、まず、それを利用し、リボフラビンの取り込みに作用する薬を当てることから始めました。軸索障害性末梢神経障害をキーワードとし、いくつかの薬剤を試したところ、有糸分裂阻害薬である抗がん剤のパクリタキセルがそのトランスポーターに作用しているようだということがわかりました。それをもとにした起案を命じられました。

その後、数回のミーティングを重ねて、既存の論文から理にかなった仮説が組み立てられるか、それを証明するには何をすればよいか、ということを経験しました。この期間が最も重要で、通常は3カ月程度を費やし、一番時間をかけるところということでした。私は限られた期間であることから2週間と短縮されましたが、この期間の先生とのやりとりは日本ではあまり重要視されていなかったトレーニングで、研究を行ううえで最も重要であると、のちのちまで実感しました。

#### 4.2. リボフラビンと末梢神経障害

リボフラビンは、水溶性のビタミンで、体内に吸収されると、フラビンモノヌクレオチド (FMN) およびフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) に変換されます。エネルギーキャリアである還元型フラビンジヌクレオチド (FADH<sub>2</sub>) は FMN と合わせて、ミトコンドリアの電子伝達系でエネルギー産生に利用されます。一方、神経細胞は、軸索内を神経伝達物質が盛んに運ばれるなど、エネルギー産生の盛んな細胞になります。それゆえに、エネルギー供給不全により脆弱性が表立つ器官になると仮説を立てました。先天性リボフラビントランスporter異常症ではリボフラビンの取り込みが障害され、軸索障害性末梢神経障害が発症することが知られていますので、パクリタキセルによるリボフラビンの取り込み阻害とリボフラビンの補充による末梢神経障害の発症予防が証明されれば、リボフラビンをパクリタキセルの末梢神経障害に対する予防薬として提案できると考えました。

#### 4.3. リボフラビンとパクリタキセルとクレモホール

パクリタキセルは疎水性の薬剤で、100 mg を溶解するために用いられる溶剤全 16.7 mL のうち、半分に 8.35 mL のポリオキシエチレンヒマシ油 (クレモホール) を使用します。末梢神経障害は有効成分のパクリタキセルのみではなくその溶剤であるクレモホールのみでも発症することが問題となっています<sup>4)</sup>。

リボフラビントランスporterを組み込んだプラスミドを HEK293 (ヒト胎児腎細胞) にトランスフェクションし、radioisotope でラベリングしたリボフラビンの取り込みを評価しました。この実験系で、パクリタキセルではなく、溶剤のクレモホールにリボフラビンの取り込み阻害作用が用量依存性に証明されました。

#### 4.4. マウスの末梢神経障害モデル

次に動物モデルを利用して、リボフラビンによる末梢神経障害の予防が可能であるかどうかを検討することにしました。パクリタキセルのマウスによる末梢神経障害モデルは既に確立されています<sup>5,6)</sup>。4回のパクリタキセル投与に

より、末梢神経障害モデルを作製し、同日に末梢神経障害の発症予防目的にリボフラビンを投与します。その前後で、フィラメントを使用した疼痛試験 (von-Frey filament test) を行いました。残念ながら、動物モデルではリボフラビン皮下投与では末梢神経障害の予防効果を証明することはできませんでした。今後、理論上、血中濃度が高値を示すと考えられる腹腔内投与によるリボフラビンの予防効果を検討する価値があると考えます。

#### 5. さいごに

海外での経験は、ただ研究に集中できたのみではなく、私の中に今まででは想像できなかった化学反応を引き起こしました。自分自身を見つめ直すいい機会でもあり、今後自分はどのように生きていきたいのか、日本人とはどういう人種なのかということ、比べるものが身近にあるが故に改めて考えさせられました。日本の良さを再確認し、日本と海外の違いを知り、世界をより小さく感じるようになりました。日本の良さと他国との違いを理解したうえで、日本の更なる発展により深く思いを馳せることができるようになりました。このような貴重な海外研修をご支援いただきました日本臨床薬理学会の先生方、日本製薬工業協会の皆様方に心より感謝申し上げます。

#### 文 献

- 1) van Herwaarden AE, Wagenaar E, Merino G, Jonker JW, Rosing H, Beijnen JH, et al. Multidrug transporter ABCG2/breast cancer resistance protein secretes riboflavin (vitamin B2) into milk. *Mol Cell Biol.* 2007; **27**(4): 1247-53. doi: 10.1128/MCB.01621-06.
- 2) Wu AM, Dedina L, Dalvi P, Yang M, Leon-Cheon J, Earl B, et al. Riboflavin uptake transporter Slc52a2 (RFVT2) is upregulated in the mouse mammary gland during lactation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2016; **310** (7): R578-85. doi: 10.1152/ajpregu.00507.2015.
- 3) Foley AR, Menezes MP, Pandraud A, Gonzalez MA, Al-Odaib A, Abrams AJ, et al. Treatable childhood neuropathy caused by mutations in riboflavin transporter RFVT2. *Brain.* 2014; **137**(Pt 1): 44-56. doi: 10.1093/brain/awt315.
- 4) Gelderblom H, Verweij J, Nooter K, Sparreboom A. Cremophor EL: the drawbacks and advantages of vehicle selection for drug formulation. *Eur J Cancer.* 2001; **37**(13): 1590-8.
- 5) He Y, Wang ZJ. Nociceptor beta II, delta, and epsilon isoforms of PKC differentially mediate paclitaxel-induced spontaneous and evoked pain. *J Neurosci.* 2015; **35** (11): 4614-25. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1580-14.2015.
- 6) Deng L, Cornett BL, Mackie K, Hohmann AG. CB1 knockout mice unveil sustained CB2-mediated antiallodynic effects of the mixed CB1/CB2 agonist CP55,940 in a mouse model of paclitaxel-induced neuropathic pain. *Mol Pharmacol.* 2015; **88** (1): 64-74. doi: 10.1124/mol.115.098483.