

＝奨励賞 受賞総説＝

カドミウム曝露腎細胞における ABC トランスポーター応

答反応

森 稚景

愛知学院大学大学院 薬学研究科 医療薬学専攻 衛生薬学講座

1. はじめに

カドミウム (Cadmium : Cd) は、顔料や合金、めっきなど様々な用途で幅広く利用されているが、銅および亜鉛などの金属採掘の過程により副産物として排出され、環境中にも広く存在する有害重金属である。Cd による健康影響については、工場などの職場での曝露および米や海産物などの食品を介した長期微量曝露によって腎臓、肝臓、呼吸器、生殖器、骨などへの障害が認められている¹⁾。我が国では、富山県神通川流域において、Cd 環境汚染を介した長期曝露による腎障害および骨軟化症を主症状とするイタイイタイ病が発生している²⁾。Cd の生物学的半減期は非常に長い (ヒト : 15-30 年)、微量長期曝露による高齢者の健康影響が問題となっている³⁾。特に、Cd 慢性曝露は、アポトーシスおよびオートファジー誘導性細胞死の誘導、活性酸素種 (ROS) の生成、並びに細胞間接着の破壊などを介して、腎近位尿細管障害を引き起こすことが知られている^{4,5)}。

一方、腎臓には多数の化合物を排出および再吸収する様々なトランスポーターが存在する。その中で、ABC (ATP-binding cassette) トランスポーターは腎臓で膜タンパク質として存在し、ATP 加水分解エネルギーを利用して外因性および内

因性の化学物質を輸送する^{6,7)}。近年、筆者を含めていくつかの研究グループから ABC トランスポーターと Cd 毒性との関連性について研究報告されている。そこで本稿では、腎臓由来細胞の Cd 応答性における ABC トランスポーターの関わりについて、筆者の研究成果を中心に紹介したい。

2. ABCB1 遺伝子発現に及ぼす Cd の影響

ABC トランスポーターは 7 つのサブファミリー (ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF, ABCG) に分類され、その中でも MDR 1 (multidrug resistance 1) として知られる ABCB1 は腎臓、小腸、血液脳関門、肝臓、生殖器などに多く発現して、体外からの侵入異物を排除している⁸⁾。特に腎臓においては近位尿細管細胞の刷子縁膜に発現しており、*ABCB1* 遺伝子によってコードされるタンパク質は P-糖タンパク質 (P-gp) とも呼ばれる。P-gp の基質あるいは阻害剤となる薬物が多く存在し、抗がん剤耐性の一部は、腫瘍細胞における P-gp の過剰発現に起因することも示されている^{9,10)}。本筆者は、ヒト由来腎近位尿細管上皮細胞 (HK-2 細胞) を用いて、Cd 処理による *ABCB1* mRNA レベルおよび *ABCB1* タンパク質レベルの変動を調べた。その結果、Cd は HK-2 細胞の

ABCB1 mRNA レベルを用量および時間依存的に有意に増加させた¹¹⁾。さらに、Cd は HK-2 細胞の *ABCB1* タンパク質レベルも著しく増加させた¹¹⁾。これらの結果は、Cd が HK-2 細胞で *ABCB1* の遺伝子発現を誘導することにより、*ABCB1* タンパク質レベルを増加させることを示唆しており、近位尿細管細胞が Cd に曝されると *ABCB1* タンパク質レベルが増加するため、結果として *ABCB1* の基質が細胞から排出されやすくなる可能性が考えられる。

3. 腎臓細胞における Cd 毒性発現に及ぼす ABC トランスポーターの影響

腎近位尿細管細胞の刷子縁膜には、ABC トランスポーターの一種である *ABCG2* (別名 *BCRP*, breast cancer resistance protein) も発現しており、複数の薬毒物の排出促進に関わっている^{12, 13)}。*ABCG2* の発現が低レベルであるヒト胎児腎細胞 (HEK293 細胞) に、*ABCG2* 発現 vector を導入したところ、Cd 処理による細胞内 Cd 蓄積濃度が対照細胞に比べて低く、Cd 処理によるアポトーシス誘導も著しく低下されたことが報告されている¹⁴⁾。さらに、*Bcrp* (*ABCG2*) ノックアウトマウスに Cd (5.5 mg/kg weight) を腹腔内に単回投与したところ、対照群に比べて腎臓内 Cd 濃度が顕著に増加した¹⁴⁾。以上の結果より、腎細胞での *ABCG2* トランスポーターの発現亢進は、細胞内 Cd または基質の蓄積を低下させることによって、細胞死を抑制すると考えられる。一方、ラットおよびイヌ由来の腎臓細胞への *Abcb1* 高発現 vector の導入も Cd によるアポトーシス誘導を有意に減弱させた¹⁴⁾。しかしながら、これらの *Abcb1* 高発現細胞における Cd の蓄積は対照細胞と同程度であり、*Abcb1* 高発現による ceramide (アポトーシス誘導性脂質) の排出促進とアポトーシス抑制との関わりが示唆されている¹⁵⁾。筆者も、HK-2 細胞での Cd 毒性と *ABCB1* との関係を探るため、RNAi

法で *ABCB1* ノックダウンさせ、Cd による細胞毒性発現を Alamar blue 法を用いて解析した。その結果、*ABCB1* siRNA 処理による HK-2 細胞において、*ABCB1* タンパク質レベルは著しく低下したが、Cd 毒性への影響は認められなかった¹¹⁾。以上の結果より、*ABCB1* トランスポーターの発現抑制は、Cd 毒性発現にほとんど影響しないかもしれない。

4. まとめ

本稿では、一部の腎臓由来細胞における Cd 曝露による ABC トランスポーターの発現変動およびその発現変動による Cd 毒性発現変化に関する知見を紹介した。ABC トランスポーター遺伝子を高発現させた一部のほ乳類細胞は、Cd に対して抵抗性を示したが、HK-2 細胞における *ABCB1* のノックダウンは、Cd 毒性を変動しなかった。ABC トランスポーターは複数のサブファミリーが存在することが知られており、細胞ごとに Cd を基質とするトランスポーターは異なる可能性が考えられる。筆者は、Cd が HK-2 細胞の *ABCB1* の発現を増加することを見出した。*ABCB1* は、副作用として腎毒性を引き起こす抗がん剤も基質としていることが知られている^{16, 17)}。したがって、*ABCB1* は、ヒト由来の腎細胞における Cd 毒性には関与しないものの、腎臓で作用する薬物の排泄を促進し、その薬理作用の喪失、または副作用の軽減をもたらす可能性が考えられる。今後の研究により、近位尿細管での薬毒物トランスポーターの発現調節による有害物質の毒性修飾および医薬品の薬理作用や副作用の修飾機構の解明が期待される。最後に、令和 4 年度愛知学院大学薬学会奨励賞をいただき、本稿を借りてお礼を申し上げます。

Reference

- 1) Thévenod F, Lee WK: Cadmium and cellular

- signaling cascades: interactions between cell death and survival pathways. *Arch Toxicol*, **87**, 1743-1786 (2013).
- 2) Aoshima K: [Itai-itai disease: Lessons from the investigations of environmental epidemiology conducted in the 1970's, with special reference to the studies of the Toyama Institute of Health]. *Nihon Eiseigaku Zasshi*, **72**, 149-158 (2017).
 - 3) Järup L, Akesson A: Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol*, **238**, 201-208 (2009).
 - 4) Tokumoto M, Lee JY, Satoh M: Transcription Factors and Downstream Genes in Cadmium Toxicity. *Biol Pharm Bull*, **42**, 1083-1088 (2019).
 - 5) Lee JY, Tokumoto M, Satoh M: Novel Mechanisms of Cadmium-Induced Toxicity in Renal cells. *Springer Nature*, 153-162 (2019).
 - 6) Klein I, Sarkadi B, Váradi A: An inventory of the human ABC proteins. *Biochim Biophys Acta*, **1461**, 237-262 (1999).
 - 7) Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC: Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **84**, 7735-7738 (1987).
 - 8) Borst P, Elferink RO: Mammalian ABC transporters in health and disease. *Annu Rev Biochem*, **71**, 537-592 (2002).
 - 9) Walsh N, Larkin A, Kennedy S, Connolly L, Ballot J, Ooi W, Gullo G, Crown J, Clynes M, O'Driscoll L: Expression of multidrug resistance markers ABCB1 (MDR-1/P-gp) and ABCC1 (MRP-1) in renal cell carcinoma. *BMC Urol*, **9**, 6 (2009).
 - 10) Washio I, Nakanishi T, Ishiguro N, Bister B, Tamai I: Effect of endogenous multidrug resistance 1 and P-glycoprotein expression on anticancer drug resistance in colon cancer cell lines. *Biopharm Drug Dispos*, **40**, 32-43 (2019).
 - 11) Mori C, Lee J-Y, Tokumoto M, Satoh M: Effect of Cadmium on the Expression of ABCB1 Transporter in Human Proximal Tubular Cells. *BPB Reports*, **4**, 74-77 (2021).
 - 12) George B, You D, Joy MS, Aleksunes LM: Xenobiotic transporters and kidney injury. *Adv Drug Deliv Rev*, **116**, 73-91 (2017).
 - 13) Klaassen CD, Aleksunes LM: Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: function and regulation. *Pharmacol Rev*, **62**, 1-96 (2010).
 - 14) Wen X, Kozlosky D, Zhang R, Doherty C, Buckley B, Barrett E, Aleksunes LM: BCRP/ABCG2 Transporter Regulates Accumulation of Cadmium in Kidney Cells: Role of the Q141K Variant in Modulating Nephrotoxicity. *Drug Metab Dispos*, **49**, 629-637 (2021).
 - 15) Lee WK, Torchalski B, Kohistani N, Thévenod F: ABCB1 protects kidney proximal tubule cells against cadmium-induced apoptosis: roles of cadmium and ceramide transport. *Toxicol Sci*, **121**, 343-356 (2011).
 - 16) Das U, Dakshinamurthy KV: Safety and efficacy of everolimus in chronic allograft nephropathy. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, **24**, 910-916 (2013).
 - 17) Tang SC, Sparidans RW, Cheung KL, Fukami T, Durmus S, Wagenaar E, Yokoi T, van Vlijmen BJ, Beijnen JH, Schinkel AH: P-glycoprotein, CYP3A, and plasma carboxylesterase determine brain and blood disposition of the mTOR Inhibitor everolimus (Afinitor) in mice. *Clin Cancer Res*, **20**, 3133-3145 (2014).