

論文内容の要旨

Crizotinib-Induced Abnormal Signal Processing in the Retina

クリゾチニブは網膜における異常な信号処理を誘発する

日本医科大学大学院医学研究科 感覚情報科学分野

研究生 石井 俊行

PLoS One 第10巻 第8号 (2015) 掲載

【目的】

肺癌の治療薬として用いられる分子標的薬では、いくつか特徴的な副作用が報告されている。中でも *anaplastic lymphoma kinase* (ALK) 阻害薬であるクリゾチニブでは、高頻度に視覚障害が報告されている。一方、同じ ALK 阻害薬であるアレクチニブでは視覚障害がほとんど認められない。本研究では、視覚障害が視覚経路のどのレベルで現れているのかを検討するため、その起点となる網膜を解析対象とし、クリゾチニブとアレクチニブが網膜の出力細胞である網膜神経節細胞の応答に及ぼす影響を、マルチ電極システムを用いた *ex vivo* モデルで解析した。

【方法】

1、細胞外記録

網膜をマウス (C57BL6) の眼球より摘出し、酸素を十分に含ませたリンゲル液に保存した。網膜を 4-6mm 四方に切り取り、マルチ電極システムの電極に載せ、複数の網膜神経節細胞より同時に細胞外記録を行った。光刺激には、1 秒ずつ明暗を繰り返すタイプの刺激を用いた。活動電位の検出及び発火頻度の解析には、MATLAB を使用した。クリゾチニブ (1 μ M) 及びアレクチニブ (1 μ M) の投与には、*bath application* を用いた。クリゾチニブ及びアレクチニブ濃度は、臨床における反復投与試験の C_{max} の値に準じて設定した。

2、Quantitative PCR

摘出した網膜から mRNA を抽出し逆転写した後、quantitative PCR (qPCR) を行った。各 mRNA の発現レベルは、 β -actin を指標とし、 $\Delta\Delta CT$ 法を用いて解析した。

【結果】

クリゾチニブにより 43.6% (101 個中 44 個)、アレクチニブにより 24.1% (87 個中 21 個) の網膜神経節細胞の発火頻度が変化した。発火頻度の変化はいずれの薬でも、発火頻度の上昇と減少の 2 種類の変化が認められた。クリゾチニブ及びアレクチニブの網膜神経節細胞への影響を直接比較するために、両方の薬を同じサンプルに投与した細胞を抽出して検討したところ、クリゾチニブに影響を受ける細胞数は、アレクチニブに影響を受ける細胞数よりも有意に多かった。

クリゾチニブやアレクチニブは、光刺激に対する応答の嗜好性も変化させた。嗜好性の変化は、OFF 型神経節細胞から ONOFF 型へ、また ONOFF 型神経節細胞から OFF 型への変化として観察された。発火頻度への影響と同様、光刺激に対する嗜好性は、クリゾチニブにより影響を受ける細胞数が有意に多かった。

また、クリゾチニブ及びアレクチニブが標的とする ALK、並びにクリゾチニブがその他に標的としている MET 及び ROS1 の mRNA が、網膜内で発現しているかどうかを qPCR にて検討したところ、すべての mRNA の発現が認められた。

【考察】

クリゾチニブ及びアレクチニブの網膜の光応答への影響を検討したところ、網膜神経節細胞の発火頻度に変化がみとめられ、発火頻度へ影響がみられる細胞数は、クリゾチニブ投与群で

アレクチニブ投与群よりも多かった。また、光刺激に対する嗜好性に影響を受ける細胞もクリゾチニブ投与群で多かった。これらのことは、クリゾチニブ及びアレクチニブが、網膜における視覚情報の障害に関与していることを示唆するものである。

また、網膜へのクリゾチニブ投与により高頻度に認められた網膜神経節細胞の障害は、臨床におけるクリゾチニブ投与による副作用（視覚障害）の発現頻度の高さに関与しているものと考えられる。このことは、クリゾチニブとアレクチニブの標的タンパクへの選択性の違いから、MET 及び ROS1 による影響が考えられる。しかしながら、網膜における MET 及び ROS1 のタンパクレベルでの発現は確認されていないことから、今後さらなる検討が必要と考えられる。