

論文審査の結果の要旨

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 年 8 月掲載

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 (約 60% の被験者) に視覚障害が報告されている。一方、同じ作用機序を持つアレクチニブでは視覚障害がほとんど認められない (5%未満)。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。1.5~5 ヶ月齢のマウス (C57BL6) の眼球より網膜を摘出し、マルチ電極システムを用いて、複数の網膜神経節細胞より同時に細胞外記録を行った。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の濃度は、臨床における反復投与試験で得られた C_{max} の値に準じて設定した。データ取得後、発火頻度の推移や光刺激に対する応答の嗜好性を、*Peri-stimulus time histogram* や *spike triggered average* にて解析検討した。また、網膜から mRNA を抽出し、*real time PCR* にてクリゾチニブ及びアレクチニブが標的とするタンパク質の mRNA の発現が網膜でみられるかを検討した。クリゾチニブ及びアレクチニブ投与により網膜神経節細胞の発火頻度に変化が認められた。発火頻度の変化はいずれの薬物においても、影響がみられない細胞、上昇する細胞及び減少する細胞の 3 種類が認められた。クリゾチニブに影響を受けた細胞は、アレクチニブに影響を受けた細胞よりも有意に多かった。また、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 型応答から ONOFF 型へ、また ONOFF 型応答から OFF 型への変化などとして観察された。光刺激に対する嗜好性は、発火頻度への影響と同様、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。さらに、網膜における標的タンパク質の mRNA の発現解析では、クリゾチニブ及びアレクチニブが標的とする ALK だけでなく、クリゾチニブの標的となる MET 及び ROS1 の mRNA の発現が認められた。

以上、クリゾチニブ及びアレクチニブが網膜に作用し、光刺激に対する応答の嗜好性にも影響を与えることが、今回の研究により初めて明らかとなった。また、クリゾチニブの投与による視覚障害の発現頻度の増大に MET 及び ROS1 が関与している可能性が示唆された。これらの結果は、クリゾチニブが、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。

学位論文第二次審査では、実験結果の解釈、薬物間での副作用発現頻度の違いのメカニズム、薬物のターゲットとなりうる網膜神経節細胞の同定方法などを中心に慎重な質疑がなされた。また網膜レベルでの薬物作用アッセイ系としての今後の臨床応用への発展などについても検討がなされたが、いずれも的確な回答が得られた。以上のことから本論文を学位論文として認定した。