

の解析

プラスミドベクターpSPORT1 に挿入されている cDNA を発現プラスミドベクターpcDNA3.1 にサブクローニングし、挿入部の 3'-末端外側を制限酵素で切断して、直線化した。これから、T7 RNA ポリメラーゼを用いて、Cap analogue の存在下で *in vitro* 転写を行い、Cap 化された cRNA を合成した。エタノール沈澱にて精製後、マイクロピペットを用いてアフリカツメガエル卵母細胞に微量注入 (50 nl/oocyte) することにより、発現させた。2~3 日間培養の後、放射能標識基質を培地中に添加し、卵母細胞への取り込みを測定することにより、機能活性を評価した。放射能標識基質の卵母細胞内への取り込みは、卵母細胞を界面活性剤で溶解後、液体シンチレーションカウンターにより測定した。

UST6 に関しては、発現プラスミドベクターpcDNA3.1 を用いてマウス腎近位尿管由来 S2 細胞に遺伝子導入して安定発現細胞を作出し、同様に輸送機能の解析を行った。

トランスポーターの組織発現は、得られた cDNA を ^{32}P -dCTP でラベルし、ノーザンブロットを行うことにより評価した。また、予想されるペプチド配列に対するペプチド抗体を作製し、ウェスタンブロット、及び免疫組織化学的検討を行った。加えて、マウス腎凍結切片を用いた *in situ* ハイブリダイゼーションによる遺伝子発現の組織内解析を行った。

(2) 遺伝子発現変動の解析

ヒト膀胱癌由来T24細胞を、 $2 \times 10^5/90$

mm plateの密度で蒔き、対数増殖期開始時にBCH (20 mM)、KYT0193 (100 μM) 添加し、非添加群とともに、3時間、12時間後にRNAを抽出し、Human Whole Genome (Amersham Biosciences)を用いて遺伝子発現を測定した。ハイブリダイゼーション、及び解析をCodeLinkシステムによって行った。両化合物において共通に2倍以上の変化を示した遺伝子群を対象とし、それらの遺伝子の cis elementを比較した。

転写領域解析は、K mean クラスタ後、クラスタごとに解析した。各遺伝子の転写開始点上流1000塩基と下流100塩基を解析の対象とした。解析にはTOUCAN ver.2.2.0 (Stein Aerts and Peter Van Loo, Univ. of Leuven, Belgium) を用いた。

(倫理面への配慮)

本年度は、ヒト個人を対象とした研究や、個々人の遺伝子の解析等は含まない。本年度は、主にヒト由来のすでに確立された細胞株、及びアフリカツメガエル卵母細胞を実験に使用した。実験動物としては、アフリカツメガエルのみを用い、その使用にあたっては、麻酔下での操作を実施し、十分な配慮のもとに行った。

C. 研究結果

(1) 薬物及び毒性化合物の細胞膜輸送体の分子同定。

SLC22 ファミリーの代表的遺伝子である有機アニオントランスポーターOAT1の翻訳領域の塩基配列を用いて公開されたヒトゲノム及びマウスゲノムシーケン

スデータベース及び EST (expressed sequence tag)データベースの BLAST 検索を行い、4種の OAT1 類似配列 (UST6、OAT10、OAT11、OAT12) を見い出した。これに相当する cDNA を得、それを用いて機能解析及組織発現の検討を行った。

- UST6

マウス UST6 の cDNA を含むクローンについて、塩基配列決定のための合成プライマーを用いてダイターミネーターサイクルシーケンシング法 (Applied Biosystems 社) により、cDNA の塩基配列を決定した。これにより、マウス UST6 遺伝子の塩基配列が得られた。また、cDNA の塩基配列を常法により解析して、cDNA の翻訳領域とそこにコードされるマウス UST6 のアミノ酸配列を決定した。UST6 は、ヒト有機アニオントランスポーター OAT1 と 40%、ヒト有機アニオントランスポーター OAT2 と 38%、ヒト有機アニオントランスポーター OAT3 と 39%、ヒト有機アニオントランスポーター OAT4 と 43% のアミノ酸配列の相同性を有していた。SOSUI アルゴリズムにより、UST6 のアミノ酸配列を解析した結果、12 の膜貫通領域 (membrane-spanning domain) が予想された。また、第 1 の親水性ループに糖鎖付加部位、第 6 膜貫通部位と第 7 膜貫通部位の間の細胞内親水性ループにプロテインキナーゼ C 依存性のリン酸化部位と考えられる部位があった。

UST6 の cDNA の断片を ^{32}P -dCTP でラベルしてプローブとして、マウス各組

織から抽出した poly(A)⁺RNA を用いて、ノーザンブロットングを行なった。その結果、腎のみにハイブリダイゼーションバンドが検出され、UST6 が腎特異的に発現する遺伝子であることが明らかになった。

UST6 の予想されるアミノ酸配列に相当する合成オリゴペプチドに対する特異抗体を Altman らの方法に準じて作製した [Altman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 第 81 巻、2176-2180 項、1984 年]。常法に従い、マウス腎パラフィン切片をペプチドアフィニティー精製抗 UST6 抗体 (1:100) で処理後、ジアミノペンチジンで発色した。また、染色の特異性を検討する目的で、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の抗原ペプチドの存在下でペプチドアフィニティー精製抗 UST6 抗体 (1:100) で処理する実験も行った。その結果、腎遠位尿細管細胞に染色が見られ、この染色は、抗原ペプチドの存在下で抗 UST6 ペプチドアフィニティー精製抗体を作用させた場合には検出されず、染色の特異性が示された。UST6 の染色は、緻密班細胞を含む腎遠位尿細管細胞の管腔膜に限局し、UST6 タンパク質は腎遠位尿細管細胞管腔膜に存在することが明らかになった。

UST6 遺伝子 cRNA 20ng をアフリカツメガエル卵母細胞に注入することによって発現させ、3日間培養した。UST6 遺伝子 cRNA を注入した卵母細胞及び対照として水を注入した卵母細胞について、基質として [^3H] プロスタグランジン E1 (1 nM)、 [^3H] プロスタグランジン E2 (1 nM)、 [^3H] プロスタグランジン D2 [^3H] (1 nM)、及び プロスタグランジ

ンF2 α (1 nM)を含むND96 溶液[96 mM 塩化ナトリウム、2 mM 塩化カリウム、1.8 mM 塩化カルシウム、1 mM 塩化マグネシウム、5 mM HEPES、pH7.4] 中にて卵母細胞を60分間放置して、細胞内に取り込まれた放射能のカウントで基質の取り込み率を測定した。その結果、 ^3H プロスタグランジンE1 (1 nM)、 ^3H プロスタグランジンE2 (1 nM)、 ^3H プロスタグランジンD2 (1 nM) 及び ^3H プロスタグランジンF2 α (1 nM) の取り込みは、UST6 を発現させた卵母細胞では、対照として水を注入した卵母細胞に比し、有意に高値を示した。

UST6 の機能特性に関するより詳細な解析を施行する目的で、UST6 の cDNA を発現プラスミドベクターpcDNA3.1 にサブクローニングし、マウス腎近位尿管由来 S2 細胞に遺伝子導入して安定発現細胞 S2- UST6 細胞を作出した。S2- UST6 細胞は、UST6 cRNA を注入して発現させたアフリカツメガエル卵母細胞と同様に、 ^3H プロスタグランジン E1 (1 nM)、 ^3H プロスタグランジン E2 (1 nM)、 ^3H プロスタグランジン D2 (1 nM) 及び ^3H プロスタグランジン F2 α (1 nM) の取り込み活性を示した。それぞれの取り込みの時間経過を測定したところ、1分間は直線性を示すことが明らかになったため、取り込みの初速度を測定する目的で30秒を取り込み測定時間とした。各基質に対して輸送初速度の濃度依存性を検討したところ、Michaelis-Menten 型の飽和型の濃度依存性を示し、Eadie-Hoffstee plot から、プロスタグランジン E1、プロスタグラン

ジン E2、プロスタグランジン D2 及びプロスタグランジン F2 α のそれぞれについて、 K_m が 163.6 ± 0.61 nM(平均 \pm 標準誤差)、 94.9 ± 2.91 nM、 113.4 ± 6.05 nM、及び 374.4 ± 17.93 nM、 V_{max} が 5.91 ± 0.24 fmol/mg protein/min、 2.28 ± 0.26 fmol/mg protein/min、 2.05 ± 0.39 fmol/mg protein/min、及び 6.51 ± 0.46 fmol/mg protein/min と算出された。

S2- UST6 細胞による ^3H プロスタグランジン E2 (1 nM) の取り込み実験において、系への各種有機アニオン及び有機カチオン添加の影響を調べたところ、有機アニオン及び有機カチオンのうちで、sulfobromophthalein (BSP)のみが $1 \mu\text{M}$ の濃度で有意な cis-阻害効果を示した。また、濃度を高めることにより、フロセミド、インドメタシンをはじめとする多くの有機アニオンが、S2- UST6 細胞による ^3H プロスタグランジン E2 の取り込みを阻害することが明らかになった。

以上のように UST6 は腎遠位尿管の管腔側膜に存在するプロスタグランジンに選択性のある有機アニオントランスポーターであり、薬物やその代謝産物を含む有機アニオンにも親和性を示すトランスポーターであることが明らかとなった。

- OAT10

マウス OAT10 の cDNA を含むクローンについて、ダイターミネーターサイクルシーケンシング法により塩基配列を決定し、翻訳領域とそこにコードされるマウス OAT10 のアミノ酸配列を決定した。OAT10 は、SLC22 ファミリーの各有機

アニオントランスポーターと36%程度の相同性を有していた。SOSUI アルゴリズムにより、12の膜貫通領域が予想された。OAT10のcDNAの断片を³²P-dCTPでラベルしてプローブとして、マウス各組織から抽出したpoly(A)⁺RNAを用いて、ノーザンブロットングを行なったところ、腎及び脳にハイブリダイゼーションバンドが検出された。腎と脳では異なったサイズのmRNAが発現しており、組織特異的なalternative splicingが予想され、腎と脳では異なったタンパク質が発現している可能性がある。

OAT10のcDNAを鋳型として作製したDIG-標識RNAプローブを用いて、マウス腎凍結切片に対して*in situ*ハイブリダイゼーションを行った。その結果、腎髄質外層外帯から髄放線にかけて尿細管に一致して強い陽性シグナルが観察された。

OAT10の予想されるアミノ酸配列に相当する合成オリゴペプチドに対する特異抗体を作製し、マウス腎凍結切片をペプチドアフィニティー精製抗OAT10抗体(1:100)で処理後、ジアミノベンチジンで発色した。また、染色の特異性を検討する目的で、100 µg/mlの抗原ペプチドの存在下でペプチドアフィニティー精製抗OAT10抗体(1:100)で処理する実験も行った。その結果、*in situ*ハイブリダイゼーションの結果と一致し近位尿細管細胞に染色が見られ、この染色は、抗原ペプチドの存在下で抗OAT10ペプチドアフィニティー精製抗体を作用させた場合には検出されず、染色の特異性が示された。OAT10の染色は、腎近位尿細管

細胞の管腔膜に局限し、OAT10タンパク質は腎近位尿細管細胞管腔膜に存在することが明らかになった。

OAT10遺伝子cRNA 20ngをアフリカツメガエル卵母細胞に注入することによって発現させ、3日間培養した。OAT10遺伝子cRNAを注入した卵母細胞及び対照として水を注入した卵母細胞について、基質として、種々の有機アニオンを含むND96溶液[上記]中にて卵母細胞を60分間放置して、細胞内に取り込まれた放射能のカウントで基質取り込み率を測定した。その結果、¹⁴Cパラアミノ馬尿酸(10 µM)、³Hエストロン硫酸(0.05 µM)、³Hタウロコール酸(0.5 µM)、¹⁴Cα-ケトグルタル酸(10 µM)、¹⁴Cコハク酸(10 µM)、¹⁴C尿酸(2 µM)、³HオクラトキシシンA(0.3 µM)、¹⁴Cサリチル酸(10 µM)、³HプロスタグランジンF2αの取り込みが、OAT10を発現させた卵母細胞では、対照として水を注入した卵母細胞に比し、有意に高値を示した。

OAT10は腎近位尿細管の管腔側膜に存在する多選択性の有機アニオントランスポーターであることが明らかとなった。

- OAT11

OAT11は、SLC22ファミリーの各有機アニオントランスポーターと36%程度の相同性を有していた。SOSUI アルゴリズムにより、12の膜貫通領域が予想された。OAT11のcDNAの断片を³²P-dCTPでラベルしてプローブとして、マウス各組織から抽出したpoly(A)⁺RNAを用いて、ノーザンブロットングを行

なったところ、精巢のみにハイブリダイゼーションバンドが検出された。

OAT11 遺伝子 cRNA 20ng をアフリカツメガエル卵母細胞に注入することによって発現させ、3日間培養した。OAT11 遺伝子 cRNA を注入した卵母細胞及び対照として水を注入した卵母細胞について、基質として、種々の有機アニオンを含む ND96 溶液[上記] 中にて卵母細胞を60分間放置して、細胞内に取り込まれた放射能のカウントで基質取り込み率を測定した。その結果、 $[^3\text{H}]$ cAMP (0.05 μM)、 $[^3\text{H}]$ タウロコール酸 (0.5 μM)、 $[^{14}\text{C}]$ パラミノ馬尿酸 (10 μM) の取り込みが、OAT11 を発現させた卵母細胞では、対照として水を注入した卵母細胞に比し、有意に高値を示した。

OAT11 は精巢に存在する多選択性の有機アニオントランスポーターであることが明らかとなった。

- OAT12

OAT12 は、SLC22 ファミリーの各有機アニオントランスポーターと30%程度の相同性を有していた。SOSUI アルゴリズムにより、12の膜貫通領域が予想された。OAT12のcDNAの断片を ^{32}P -dCTPでラベルしてプローブとして、マウス各組織から抽出したpoly(A)⁺RNAを用いて、ノーザンブロッティングを行ったところ、腎及び脳にハイブリダイゼーションバンドが検出された。

OAT12 遺伝子 cRNA 20ng をアフリカツメガエル卵母細胞に注入することによって発現させ、3日間培養した。OAT12 遺伝子 cRNA を注入した卵母細胞及び対

照として水を注入した卵母細胞について、基質として、種々の有機アニオンを含む ND96 溶液[上記] 中にて卵母細胞を60分間放置して、細胞内に取り込まれた放射能のカウントで基質取り込み率を測定した。その結果、 $[^3\text{H}]$ タウロコール酸 (0.5 μM)、 $[^{14}\text{C}]$ 尿酸 (10 μM)、 $[^3\text{H}]$ オクラトキシン A (0.3 μM) の取り込みが、OAT12 を発現させた卵母細胞では、対照として水を注入した卵母細胞に比し、有意に高値を示した。

OAT12 は腎及び脳に存在する多選択性の有機アニオントランスポーターであることが明らかとなった。

(2) 多選択性アミノ酸輸送系 B⁰ の分子同定。

腎近位尿細管の管腔側に存在し、生理的には中性アミノ酸の原尿中からの再吸収を担当し、基質選択性が広いことより種々の毒性化合物の輸送に関わるとされているアミノ酸輸送系 B⁰ は、過去15年に及ぶ分子クローニングの努力にも関わらず、分子実体が明らかにされていなかった。輸送系 B⁰ の遺伝的欠損は、アミノ酸尿症の一つである Hartnup 病を惹起するとされていたため、ヒトゲノムデータベースを用い、Hartnup 病遺伝子座でトランスポーター遺伝子を探索する *in silico* のポジショナルクローニングを行った。

Hartnup 病遺伝子座の一つである 5p15 の領域で、Na⁺-依存性トランスポーターファミリーの BLAST 検索を行ったところ、Na⁺/Cl⁻依存性トランスポーターファミリー (SLC6) の exon が集積する部

位を見い出した。その exon を SLC6 のメンバーとの相同性から 4 つの exon cluster に分類し、EST (expressed sequence tag) データベースを検索したところ、そのうちの 1 つがドパミントランスポーター (SLC6A3) であり、他の 3 つが機能未同定の遺伝子であった。これらを実験動物卵母細胞に発現させ、アミノ酸輸送活性を検討し、そのうちの 1 つ (SLC6A19) にアミノ酸輸送活性を見い出した。SLC6A19 のコードするトランスポーター (B⁰AT1) は、Na⁺依存性に中性アミノ酸全般を輸送する輸送系 B⁰ に相当する基質選択性を示した。ロイシンに対する Km は、1.2mM であった。B⁰AT1 の発現は、ノーザンブロットにより腎と小腸に認められ、特異抗体を用いた免疫組織化学的検討により腎では近位尿細管の管腔側膜に局在することが確認された。

同定した輸送系 B⁰ アミノ酸トランスポーター B⁰AT1 は、その広い基質選択性のためアミノ酸類似の化合物を輸送すると推定される。本研究においては、B⁰AT1 がメチル水銀-システイン抱合体を輸送するかどうかを検討した。メチル水銀はチオール基と親和性があり、生体内ではシステインと非酵素的に容易に反応してシステイン抱合体として存在する。B⁰AT1 をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、¹⁴C 標識ロイシン取り込みに対するメチル水銀-システイン抱合体の抑制効果の検討、及び B⁰AT1 によるシステイン存在下で ¹⁴C 標識メチル水銀の取り込み測定を行った結果、B⁰AT1 がメチル水銀-システイン抱合体を輸送することが示さ

れた。

(3) トランスポーター抑制物質の細胞内機序のマイクロアレイによる解析

悪性腫瘍は、急速で持続的な増殖を行うが、その増殖維持のためにアミノ酸のトランスポーターの発現が亢進し、アミノ酸の細胞への大量の取り込みを維持している。従って、これら腫瘍細胞型のトランスポーターは腫瘍細胞増殖の律速段階の一つとなり、このため腫瘍細胞のトランスポーターは、悪性腫瘍の新たな治療標的となる可能性がある。

すでに昨年度までの研究で、悪性腫瘍には、多選択性の中性アミノ酸のトランスポーターが高発現し、古典的インヒビター BCH (2-aminobicyclo-(2,2,1)-heptane-2-carboxylic acid) 及び新たに合成した高親和性インヒビター KYT0193 により腫瘍細胞増殖抑制が達成されることを明らかにしたが、その細胞内機序を検討する目的で、マイクロアレイによる解析を行った。

ヒト膀胱癌由来 T24 細胞を、対数増殖期開始時に BCH (20 mM)、KYT0193 (100 μ M) 添加し、非添加群とともに、3 時間、12 時間後に RNA を抽出し、マイクロアレイ Human Whole Genome を用いて CodeLink システムにより遺伝子発現を測定した。その結果、BCH、KYT0193 でともに発現が上昇する遺伝子は、3 時間、1 2 時間でそれぞれ 2 個及び 1 個、ともに発現が減少する遺伝子は、3 時間、1 2 時間でそれぞれ 6 個及び 6 3 個であった。ともに発現が減少する遺伝子は、3 時間、1 2 時間のそれぞれで異なったものであ

った。

12時間の時点で、BCH、KYT0193とともに発現が減少する63遺伝子に着目し、転写領域解析を行った。転写領域解析は、K mean クラスタ後、クラスタごとに解析した。各遺伝子の転写開始点上流1000塩基と下流100塩基を解析の対象とした。解析にはTOUCAN ver.2.2.0 (Stein Aerts and Peter Van Loo, Univ. of Leuven, Belgium) を用いた。各クラスタ遺伝子群に優位に存在する予想転写因子モジュール(複合体)の検出を試みた結果、Forkhead protein familyのFOXD3 and HFH3、及びZinc finger protein familyのGFI1が、それらの遺伝子変動の背景にある転写因子モジュールの一部を形成すると予想された。

D. 考察

トランスポーター(輸送体)は、細胞膜あるいは細胞内膜系を介する物質の輸送を媒介する膜タンパク質であり、糖やアミノ酸等の栄養素や、アニオン性、カチオン性薬物及び外来性異物、あるいは薬物、外来性異物の代謝物等の親水性化合物の経細胞膜輸送にとって必須の分子である。従来その実体把握が困難であったため、特に病態との関わりに関しては一部を除いて詳細な研究はなされていなかった。しかし、公表されたヒトゲノム配列によると、トランスポーターと思われるタンパク質をコードする遺伝子は予想以上に多く、5~10%の疾患がトランスポーター異常を原因とすると推定されている。トランスポーターには、特徴的なATP結合配列を持ちATP加水分解により能動輸送を行うABC(ATP binding

cassette)トランスポーターと、ATP加水分解活性を持たないSLC(solute carrier)トランスポーターがある。特にSLCトランスポーターは多様性に富み、1~43のファミリーが知られている。将来的には、全遺伝子の網羅的解析の一貫として、トランスポーター遺伝子の解析が疾患解析の中に組み込まれ、さらにトランスポーターの遺伝子多型とその表現型に関する情報が蓄積され、病態との関わりが包括的に把握されていくものと思われる。

トランスポーターは、もともとは細胞が栄養素を取り込み、代謝産物や異物を排泄するために成立し、進化してきたものと考えられる。従って、トランスポーターの第一の役割は、「個々の細胞の生存維持」であり、生存に必要な栄養素(糖、アミノ酸、脂肪酸、ヌクレオシド、ビタミン等)の細胞への供給、及び代謝産物(有機酸、尿酸等)や外来性異物の排出を行うことである。細胞への栄養素の供給を担当するトランスポーターは、一般に特異性が高く、必要な栄養素を必要なだけ取り込むのに適している。これに対して、代謝産物(有機酸等)や外来性異物の排出を担当するトランスポーターは、一般に特異性が低く、限られた分子種で多くの代謝産物や未知の外来性異物等にも対応できるようになっており、生体防御に適した特性を有している。

この広い基質選択性は、時には災いし細胞障害の誘因となることがある。それは、トランスポーターが毒性化学物質通過の経路となり、トランスポーターが存在するためにかえってその毒物に対する感受性が賦与される場合である。その顕著な例がMPTP(1-methyl-4-phenyl-

1,2,3,6-tetrahydropyridin)によって惹起されるパーキンソン症候群である。MPTPは脳内で酸化されMPP⁺ (1-methyl-4-phenylpyridinium)となり、これがドパミントランスポーターの基質となるためドパミントランスポーターが存在するドパミン作動性神経終末から取り込まれてドパミン作動性神経細胞を破壊する。また、薬物の細胞毒性も、細胞が特定の薬物を輸送することにより生じる場合がある。その例として、セファロリジン腎障害があげられる。セファロsporin系抗生物質であるセファロリジンの腎毒性は、近位尿細管の血管側の有機アニオントランスポーターを介して、セファロリジンが尿細管上皮細胞に取り込まれることによって生じる。また、メチル水銀は、生体内でシステインと結合してメチオニン類似の構造を取るため、アミノ酸トランスポーターを介して体内に分布し細胞内に取り込まれ、毒性を発揮する。このようにトランスポーターが存在することが細胞毒性発現の原因となることがある(トランスポーター介在毒性、Transporter-mediated toxicity)。

腎毒性の発現には、腎毒性物質の細胞内への侵入が第一のステップとなるが、特に尿細管細胞は異物排泄のための多くのトランスポーターを備えているため、腎毒性発現にこれらのトランスポーターが重要な寄与をする。これらの代謝産物(有機酸等)や外来性異物の排出を担当するトランスポーターは、一般に上述の特異性の低い多選択性トランスポーターであり、その広い基質選択性のために毒性物質の細胞内侵入の経路となる。このようなトランスポーターの存在が特定の化学物質の腎毒性発現の重要な因子とな

る。DNAマイクロアレイ解析による化学物質の腎毒性の評価において、化学物質の腎毒性発現に関わるトランスポーターの全遺伝子の機能と腎毒性発現における役割に関する情報が必須のものとなるため、本研究は腎型多選択性トランスポーターのファミリーであるSLC22の機能未同定の遺伝子の機能解析を先行させている。同時に他のトランスポーターファミリーにおいても化学物質の腎毒性発現に関わる遺伝子の同定を平行させている。

本年度、分子同定の対象としたのは、SLC22及びSLC6に分類される、薬物及び毒性化合物の細胞膜輸送を担当するトランスポーターである。本年度は、ゲノム情報のBLAST検索を行い、腎遠位尿細管の管腔側膜に存在するプロスタグランジンに選択性のある有機アニオントランスポーターUST6、腎近位尿細管の管腔側膜に存在する多選択性の有機アニオントランスポーターOAT10、精巣に存在する多選択性の有機アニオントランスポーターOAT11、腎及び脳に存在する多選択性の有機アニオントランスポーターOAT12、及び腎近位尿細管の管腔側に存在する多選択性のアミノ酸トランスポーターB⁰AT1の5種の新規トランスポーターを同定し、解析を行った。

UST6は、緻密班細胞を含む腎遠位尿細管細胞の管腔側膜に存在し、プロスタグランジンを選択的に輸送するトランスポーターである。緻密班細胞が管腔内のNa⁺、Cl⁻等の塩濃度を感知し、その情報を輸入細動脈、輸出細動脈に伝達し、糸球体濾過が調節されるが、その伝達物質の一つとしてプロスタグランジンが知られている。緻密班細胞はCOX2を有し、腎臓内でプロスタグランジンを産生でき

る細胞の一つである。この緻密班細胞が発するプロスタグランジン情報の通路として UST6 が位置付けられるが、これが高濃度の有機アニオンで阻害されることから、アニオン性化合物による腎機能障害において考慮する必要があるトランスポーターであり、腎毒性化学物質との関わりで今後の検討が必要とされる。

OAT10 は、腎近位尿細管の管腔側膜に存在する多選択性の有機アニオントランスポーターであり、パラアミノ馬尿酸、エストロン硫酸、タウロコール酸、 α -ケトグルタル酸、コハク酸、尿酸、オクラトキシン A、サリチル酸、プロスタグランジン F₂ α 等を輸送することが本研究によって示された。この基質選択性は、セファロリジンの腎毒性を媒介する近位尿細管上皮細胞の血管側の多選択性有機アニオントランスポーターOAT1 の基質選択性と類似する。また、OAT10 は管腔側に存在し、OAT1 は血管側に存在することから、OAT1 を介して近位尿細管細胞に取り込まれた有機アニオンが OAT10 を介して管腔中に排出される可能性が示唆される。OAT1 と OAT10 のバランスによって近位尿細管細胞中への有機アニオンの滞留が決まる可能性があり、化学物質の尿細管毒性の決定要因として重要な寄与をしている可能性が考えられ、今後この観点からの検討が必要とされる。

Hartnup 病の原因遺伝子として同定した B⁰AT1 は、広い基質選択性を有する Na⁺依存性中性アミノ酸トランスポーターであり、小腸上皮及び腎近位尿細管の管腔側膜に存在し、生理的には小腸上皮及び腎近位尿細管からの基質アミノ酸の

吸収を担当する。しかし、その広い基質選択性のためアミノ酸類似の化合物を輸送し、それが化学物質の腎毒性の発現に寄与する可能性が指摘されている。メチル水銀はチオール基と親和性があり、生体内ではシステインと非酵素的に容易に反応してシステイン抱合体として存在するが、本研究において、B⁰AT1 がメチル水銀-システイン抱合体を輸送することが明らかになった。

本研究で明らかにした OAT11 及び OAT12 は、その機能的意義及び毒性学的意義を明らかにするためには、より詳細な検討が必要とされるが、cDNA、抗体等の分子プローブが本研究によって得られ、これらを用いてその詳細が明らかにされていくものと期待される。

悪性腫瘍は、急速で持続的な増殖を行うが、その増殖維持のために糖やアミノ酸のトランスポーターの発現が亢進し、それらの栄養素の細胞への大量の取り込みを維持している。従って、これらの栄養素のトランスポーターは腫瘍細胞増殖の律速段階の一つとなっており、このため悪性腫瘍細胞は、細胞の生存維持におけるトランスポーターの役割を研究する上で、有用な材料とされている。また、こういった悪性腫瘍細胞のトランスポーターは、その機能抑制により細胞増殖抑制が得られる可能性が期待され、新しい観点からの抗腫瘍薬の標的としての可能性を有している。特に、腫瘍細胞の必須アミノ酸の輸送を担当するトランスポーターは、腫瘍細胞が自ら合成できない必須栄養素の細胞への供給を担当するものであり、その抑制薬は、腫瘍細胞のいわゆる「兵糧攻め」を可能とすると考えられている。

前年度までの研究で、悪性腫瘍には多選択性の中性アミノ酸のトランスポーターLAT1が高発現し、古典的インヒビター BCH (2-aminobicyclo-(2,2,1)-heptane-2-carboxylic acid) 及び新たに合成した高親和性インヒビター KYT0193により腫瘍細胞増殖抑制が達成されることを明らかにしたが、その細胞内機序を検討する目的で、マイクロアレイによる解析を行った。その結果、BCH、KYT0193とともに発現が減少する遺伝子が化合物処理後12時間で63個検出されたため、それらに対して転写領域解析を行い、Forkhead protein familyのFOXD3 and HFH3、及びZinc finger protein familyのGFI1が、それらの遺伝子変動の背景にある転写因子モジュールの一部を形成すると予想された。酵母ツーハイブリッド法による解析により、FOXD3がショウジョウバエのLAT1相同トランスポーターに結合することが報告されており、また同様に酵母ツーハイブリッド法による解析により、ショウジョウバエのLAT1相同トランスポーターが、GFI1相同タンパク質と結合する亜鉛トランスポーターと結合することが報告されている。今回、共通のトランスポーター分子に作用する2種の構造の異なる化学物質を用いて、それが惹起する共通な遺伝子変動を追跡することにより、信頼性を持って化学物質の作用機序を解析できることが明らかになった。今後この方向性で、さらに多種の化学物質に関して同様な検討を進める計画である。

E. 結論

本研究により、プロスタグランジン系化合物を輸送する腎特異的な有機アニオントランスポーターUST6、腎、脳に発現する広い基質選択性を示す有機アニオントランスポーターOAT10、精巣に発現する有機アニオントランスポーターOAT11、腎、脳を中心とした発現を示す有機アニオントランスポーターOAT12、及びアミノ酸類似構造を持つ毒性化学物質の輸送経路となる多選択性のアミノ酸トランスポーターB⁰AT1の5種の新規トランスポーターが同定された。また本研究により、腫瘍細胞増殖抑制効果を有する構造の異なるアミノ酸トランスポーター阻害物質による増殖抑制効果のDNAマイクロアレイ解析により、化合物の効果発現の細胞内機序の一端が明らかとなった。

F.健康危機情報

特記すべきこと無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Takeda M, Norshio R, Onozato ML, Tojo A, Hasannejad H, Hang XL, Narikawa S and Endou H.: Evidence for a role of human organic anion transporters in the muscular side effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *Eur. J. Pharmacol.* 483: 133-138,2004.
2. Sakata T, Anzai N, Shin HJ, Norhiro R, Hirata T, Yokoyama H, Kanai Y and Endou H.: Novel single nucleotide polymorphisms of organic cation transporter 1 (*SLC22A1*) affecting transport functions. *Biochem Biophys Res Comm.* 313: 789-793, 2004.
3. Hasannejad H, Takeda M, Taki K, Jung SH, Babu E, Jutabha P, Khamdang S, Aleboyeh M, Onodera ML, Tojo A, Enomoto A, Anzai N, Narikawa S, Huang,

- XL, Niwa T, Endou H.: Interactions of human organic anion transporters with diuretics. *J Pharmacol Exp Ther.* 308(3): 1021-1029, 2004.
4. Khamdan S, Takeda M, Shimoda M, Noshiro Ri, Narikawa S, Huang XL, Enomoto A, Piyachaturawat P and Hitoshi E: Interactions of human- and rat-organic anion transporters with pravastatin and cimetidine. *J. Pharmacol Sci.* 94: 197-202, 2004.
 5. Verrey F, Closs EI, Wagner CA, Palacin M, Endou H, Kanai Y.: CATs and HATs: the SLC7 family of amino acid transporters. *Pfluegers Arch.* 447:532-542, 2004.
 6. Ekaratanawong S, Anzai N, Jutabha P, Miyazaki H, Noshiro R, Takeda M, Kanai and Endou H.: Human organic anion transporter 4 is a renal apical organic anion / dicarboxylate exchanger in the proximal tubules. *J Pharmacol Sci* 94:297-304, 2004.
 7. Hosoyamada M, Kimiyoshi I, Enomoto A, Hosoya T, and Endou H: Function and localization of urate transporter 1 in mouse kidney. *J Am Soc Nephrol* 15: 261-268, 2004.
 8. Yoon JH, Kim YB, Kim MS, Park JC, Cook JK, Kook KK, Jung HM, Kim SG, Yoo H, Ko YM, Lee SH, Kim BY, Chun HS, Kanai Y, Endou H and Kim DK: Expression and functional characterization of the system L amino acid transporter in KB human oral epidermoid carcinoma cells. *Cancer Lett.* 205: 215-226, 2004.
 9. Park JC, Kim YB, Yoon H, Kim HJ, Kim SN, Kanai Y, Endou H and Kim DK: Preferential expression of L-type amino acid transporter 1 in ameloblasts during rat tooth development. *Anat Histol Embryol* 33:119-124, 2004.
 10. Ishikawa T, Tsuji A, Inui K, Sai Y, Anzai N, Wada M, Endou H and Sumino Y: The genetic polymorphism of drug transporters: functional analysis approaches. *Pharmacogenomics* 5(1): 67-99,2004.
 11. Inatomi J, Horita S, Braverman N, Sekine T, Yamada H, Suzuki Y, Kawahara K, Moriyama N, Kudo A, Kawakami H, Shimadzu M, Endou H, Fujita T, Seki G, Igarashi T.: Mutation and functional analysis of *SLC4A4* in a patient with proximal renal tubular acidosis. *Pfluegers Arch-Eur. J. Physiol.* 448: 438-444, 2004.
 12. Ichida K, Hosoyamada M, Hisatome I, Enomoto A, Hikita M, Endou H and Hosoya T: Clinical and molecular analysis of patients with renal hypouricemia in Japan-influence of URAT1 gene on urinary urate excretion. *J Am Soc Nephrol* 15:164-173, 2004.
 13. Iwai N, Mino Y, Hosoyamada M, Tago N, Kokubo Y and Endou H.: A high prevalence of renal hypouricemia caused by inactive *SLC22A12* in Japanese. *Kidney Int.* 66:935-944, 2004.
 14. Koepsell H, Endou H.: The SLC22 drug transporter family. *Pfluegers Arch.* 447: 666-676,2004.
 15. Hassannejad H, Takeda M, Narikawa S, Huang XL, Enomoto A, Taki K, Niwa T, Shin HJ, Onozato ML, Tojo A and Endou H: Human organic cation transporter 3 mediates the transport of antiarrhythmic drugs. *Euro J Pharmacol.* 499: 45-51, 2004.
 16. Anzai N, Miyazaki H, Noshiro R, Khamdang S, Chairoungdua A, Shin HJ, Enomoto A, Sakamoto S, Hirata T, Tomita K, Kanai Y and Endou H: The multivalent PDZ domain-containing protein PDZK1 regulates transport activity of renal urate-anion exchanger URAT1 via its C terminus. *J Biol Chem* 279(44): 45942-45950, 2004.
 17. Miyazaki H, Sekine T and Endou H: The multispecific organic anion transporter family: properties and pharmacological significance. *Trends Pharmacol Sci.* 25(12): 654-662, 2004.
 18. Nishibori Y, Liu L, Hosoyamada M, Endou H, Kudo A, Takenaka H., Higashihara E, Bessho F, Takahashi S, Kershaw D, Ruotsalainen V, Tryggvason K, Khoshnoodi J, Yan K: Disease-causing missense mutations in NPHS2 gene alter

- normal nephrin trafficking to the plasma membrane. *Kidney Int.* 66: 1755-1765, 2004.
19. Nozaki Y, Kusuhara H, Endou H and Sugiyama Y: Quantitative evaluation of the drug-drug interactions between methotrexate and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the renal uptake process based on the contribution of organic anion transporters and reduced folate carrier. *J Pharmacol Exp Ther.* 309(1): 226-234, 2004.
 20. Nagata Y, Kusuhara H, Imaoka T, Endou H. and Sugiyama Y: Involvement of rat organic anion transporter 3 in the uptake of an organic herbicide, 2,4-dichlorophenoxyacetate, by the isolated rat choroids plexus. *J Pharm Sci* 93(11): 2724-2732, 2004.
 21. Kikuchi R, Kusuhara H, Abe T, Endou H and Sugiyama Y: Involvement of multiple transporters in the efflux of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coA reductase inhibitors across the blood-brain barrier. *J Pharmacol Exp Ther.* 311(3): 1147-1153, 2004.
 22. Nagata Y, Kusuhara H, Hirono S, Endou H and Sugiyama Y: Carrier-mediated uptake of H₂-receptor antagonists by the rat choroids plexus: involvement of rat organic anion transporter 3. *Drug Metab. Dispos.* 32: 1040-1047, 2004.
 23. Kim do K, Kim JJ, Hwang S, Kook JH, Lee MC, Shin BA, Bae CS, Yoon JH, Ahn SG, Kim SA, Kanai Y, Endou H, Kim JK. System L-amino acid transporters are differently expressed in rat astrocyte and C6 glioma cells. *Neurosci Res.* 50(4):437-46, 2004,
 24. Nishida A, Iwata H, Kudo Y, Kobayashi T, Matsuoka Y, Kanai Y, Endou H. Measurement of glutamate uptake and reversed transport by rat synaptosome transporters. *Biol Pharm Bull.* 27(6):813-6, 2004.
 25. Nishida A, Iwata H, Kudo Y, Kobayashi T, Matsuoka Y, Kanai Y, Endou H. Nicergoline enhances glutamate uptake via glutamate transporters in rat cortical synaptosomes. *Biol Pharm Bull.* 27(6):817-20, 2004.
 26. Kim do K, Ahn SG, Park JC, Kanai Y, Endou H, Yoon JH. Expression of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) and 4F2 heavy chain (4F2hc) in oral squamous cell carcinoma and its precursor lesions. *Anticancer Res.* 24(3a): 1671-5, 2004.
 27. Takabe W, Kanai Y, Chairoungdua A, Shibata N, Toi S, Kobayashi M, Kodama T, Noguchi N. Lysophosphatidylcholine enhances cytokine production of endothelial cells via induction of L-type amino acid transporter 1 and cell surface antigen 4F2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 24(9):1640-5, 2004.
 28. Kleta R, Romeo E, Ristic Z, Ohura T, Stuart C, Arcos-Burgos M, Dave MH, Wagner CA, Camargo SR, Inoue S, Matsuura N, Helip-Wooley A, Bockenbauer D, Warth R, Bernardini I, Visser G, Eggermann T, Lee P, Chairoungdua A, Jutabha P, Babu E, Nilwarangkoon S, Anzai N, Kanai Y, Verrey F, Gahl WA, Koizumi A. Mutations in SLC6A19, encoding B⁰AT1, cause Hartnup disorder. *Nat Genet.* 36(9):999-1002, 2004.
 29. Palacin M, Kanai Y. The ancillary proteins of HATs: SLC3 family of amino acid transporters. *Pflugers Arch.* 447(5):490-4, 2004.
 30. Kanai Y, Hediger MA. The glutamate/neutral amino acid transporter family SLC1: molecular, physiological and pharmacological aspects. *Pflugers Arch.* 447(5):469-79, 2004.
 31. 細山田 真、金井 好克、遠藤 仁：尿酸トランスポーターの分子実体、*Gout and Nucleic Acid Metabolism* 28(1), 1-5, 2004.
 32. 金井 好克：尿素トランスポーターの分子実体と尿濃縮における役割、*腎と透析* 57(4)、478-482、2004
 33. 金井 好克：近位尿細管輸送機能異常—基礎医学的観点から、*腎と透析* 58(2)、185-189、2005。
 34. 金井 好克：グリア細胞のシスチン—グルタミン酸交換輸送機構と酸化ストレス、*Clinical Neuroscience* 23(2)、219-222、2005。

35. 金井 好克：シスチン尿症、先端医療シリーズ 31 腎臓病—診断と治療の最前線、浅野泰、下条文武、秋澤忠男編、pp.49-54、先端医療技術研究所、東京、2004。
36. 金井 好克：アミノ酸代謝、腎臓ナビゲーター、浦信行、柏原直樹、熊谷裕生、竹内和久編、pp.48-49、メディカルレビュー社、東京、2004。
2. 口頭発表
1. 浦野 和子、細山田 真、遠藤 仁、谷口 敦夫、山中 寿、鎌谷 直之：高尿酸血症症例における URAT1 のゲノム変異解析。第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会、岡山、平成 16 年 4 月 15 日。
 2. Anzai N: Identification of the intracellular binding protein with proton-coupled oligopeptide transporter PEPT2 using yeast two-hybrid assay. HASEB Meeting 2004, Washington, U.S.A., April 16, 2004.
 3. Hirata T: Characterization of a novel rat organic anion transporter OAT5 as an organic anion/dicarboxylate exchanger at the apical membrane of renal proximal tubules. HASEB Meeting 2004, Washington, U.S.A., April 16, 2004.
 4. Jutagha Promsuk: Functional characterization of a voltage -driven organic anion transporter OAT1: the exit path of organic anion at the apical membrane of renal proximal tubule. HASEB Meeting 2004, Washington, U.S.A., April 16, 2004
 5. 金井好克：シンポジウム「アミノ酸トランスポーター抑制による抗腫瘍効果の検討。第 8 回がん分子標的治療研究会総会、鹿児島、平成 16 年 5 月 13 日。 .
 6. Sirinun Nilwarangkoon, Masato Okubo, Kyohei Yamada, Kei-ichi Ishibashi, Keiko Koizumi, Makiko Shimokawa, Toshiaki Shibasaki: Human Nramp2 as a cadmium transporter. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology. Tochigi, My 26, 2004.
 7. Ferdous G: Minamata Disease: System L mediated transport of Methylmercury-Cysteine conjugate and its transporter-mediated toxicity. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology. Tochigi, My 26, 2004. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology. Tochigi, My 26, 2004.
 8. Miyazaki H: Transport mechanisms of an organic anion transporter 4. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology. Tochigi, My 26, 2004. Naohiko Anzai: Functional regulation of transporters by PDZ-domain proteins. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
 9. Yuewei Li: Identification of a novel system y+ amino acid transporter CAT6. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
 10. Arthit Chairoungdua: Identification of a neutral amino acid transporter corresponding to System L2. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.

11. Ellappan Babu: Identification of a novel system L amino acid transporter structurally distinct from heterodimeric amino acid transporters. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
12. Mohhammad Javan: Possible regulatory role for protein-protein inter-actions of LAT1 amino acid transporter in cell membrane. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
13. Rafiqul Islam: Anti-tumor effects of newly developed high affinity inhibitors of tumor-specific amino acid transporter. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
14. Nesar Ahmed: 4F2hc and LAT1 overexpression in clear cell renal cell carcinoma and its clinicopathological relevance. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
15. Hirata Taku: Identification and functional analysis of a novel rat renal organic anion transporter OAT5. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
16. Jutabha Promsuk: A voltage-driven organic anion transporter OATV1: the exit path of organic anion at the apical membrane of renal proximal tubule. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
17. Hasannejad Habib: Interactions of human organic anion transporters with diuretics. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
18. Sudarat Nimtvilai: Molecular identification of a novel carnitine transporter specific to human testis. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
19. Shin Ho Jung: Identification of a novel organic anion transporter mediating carnitine transport in mouse liver and kidney. The 47th Annual Meeting Japanese Society of Nephrology, Tochigi, May 27, 2004.
20. 細山田 真、市田 公美、細谷 龍男、遠藤 仁：マウス尿酸トランスポーター (mURAT1)発現の性差および年齢差。第 47 回日本腎臓学会学術総会，宇都宮，栃木，平成 16 年 5 月 28 日。
21. 林 道也，小川節郎，入部雄司，遠藤 仁：Compound A 腎症の分子機序：6 Compound A システイン抱合体の有機アニオントランスポーター (OAT4) による細胞膜輸送 [P2M06]，日本麻酔学会第 51 回学術集会，名古屋，平成 16 年 5 月 28 日。
22. 安西尚彦，宮崎博喜，平田 拓，金井好克，遠藤 仁：マルチバレント PDZ ドメインタンパク質 PDZK1 による尿酸トランスポーターURAT1 の輸送機能調節，第 81 回日本生理

- 学会大会, 札幌, 平成 16 年 6 月 2 日.
23. Shin Ho Jung, 土田浩生, 安西尚彦, 榎本 篤, Cha Seok Ho, 金井好克, 遠藤 仁: Identification of a novel organic anion transporter mediating carnitine transport in mouse liver and kidney. 第 110 回日本薬理学会関東部会, 静岡, 平成 16 年 6 月 5 日.
 24. Arthit Chairoungdua: Establishment of the N-ethylmaleimide sensitive system L2 amino acid transporters family, SLC43. ASBMB 2004, Boston, U.S.A., June 15, 2004.
 25. 安西尚彦, 平田 拓, 宮崎博喜: ステロイド硫酸抱合体を輸送する新規肝特異的有機アニオントランスポーター-OAT7 の同定. 第 77 回日本内分泌学会学術総会, 京都, 平成 16 年 6 月 24 日.
 26. Javan Mohamamad, 金井好克, Arthit Chairoungdua, 坂本信一, Islam Rafiqul, 安西尚彦, 遠藤 仁: 中性アミノ酸トランスポーター LAT1 結合タンパク質によるヒト膀胱癌由来 T24 細胞のアミノ酸輸送活性調節. 第 31 回日本トキシコロジー学会学術年会, 大阪, 平成 16 年 7 月 7 日.
 27. Golam Ferdous, Ellappan Babu, Arthit Chairoungdua, 安西尚彦, 金井好克, 遠藤仁: 新規輸送系 L アミノ酸トランスポーターの同定とメチル水銀輸送特性の検討. 第 31 回日本トキシコロジー学会学術年会, 大阪, 平成 16 年 7 月 7 日.
 28. 本 光喜, 岡村美和, 武藤朋子, 櫻田陽子, 三森国敏: マウス二段階肝発がんモデルを用いた dicyclanil による肝発がんメカニズムの分子病理学的解析. 第 31 回日本トキシコロジー学会学術年会, 大阪, 平成 16 年 7 月 7 日.
 29. 金井好克: 尿細管機能異常症の基礎. 第 26 回腎臓セミナー, 東京, 平成 16 年 8 月 28 日.
 30. Sakata T, Anzai N, Jutabha P, Enomoto A, Hirata T, Yokoyama H, Cha S.H, Miyazaki H, Kanai Y and Endou H: Molecular identification of a novel renal apical organic anion transporter OAT5 that transports the mycotoxin ochratoxin A. ICT-X, Tampere, Finland, July 11-15, 2004.
 31. Hirata T, Kanai Y, Matsuda A, Iribe Y, Kim DK, Islam R, Muto T, Chairoungdua A, Kohno M, Hasegawa M and Endou H: Variation of gene expression profile by the inhibition of single molecular target LAT1, system L amino acid transporter in laryngeal squamouscell-carcinoma cells. ICT-X, Tampere, Finland, July 11-15, 2004.
 32. 平田 拓, 金井好克, Promsuk Jutabha, Arthit Chairoungdua, Ellappan Babu, 安西尚彦, 小泉昭夫, 遠藤 仁: ヒトゲノム塩基配列情報をもとにしたポジショナルクローニングによる上皮型アミノ酸輸送系 B0 の分子同定及び Hartnup

- 病関連変異の実証. 分子腎臓研究会
第10回研究発表会, 目白, 東京, 平成
16年9月14日.
33. Anzai N, Miyazaki H, Chairoungdua A,
Enomoto A, Hirata T, Sakamoto S,
Kanai Y and Endou H: The multivalent
PDZ domain-containing protein PDZK1
modulates transport activity of renal
urate-anion exchanger URAT1 via its C-
terminal. *Transporters* 2004,
Cambridge, Great Britain, Sept 2-5,
2004.
34. Kanai Y and Endou H: Amino acid
transporters in cancer: A target for anti-
cancer therapy. The 17th Korea-Japan
joint seminar on Pharmacology, Jeonju,
Korea, Oct 1, 2004.
35. Shin HJ, Anzai N, Enomoto A, Kim DK,
Kanai Y and Endou H: Functional
characterization and tissue localization
of SLC22 organic anion transporter
OAT7. The 17th Korea-Japan joint
seminar on Pharmacology, Jeonju, Korea,
Oct 1, 2004.
36. Kim DK, Kim JK, Kim IN, Hwang S,
Choi BK, Jung KY, Lee S, Kanai Y and
Endou H: System L amino acid
transporters are differently expressed in
rat astrocyte and C6 glioma cells. The
17th Korea-Japan joint seminar on
Pharmacology, Jeonju, Korea, Oct 1,
2004.
37. 金井好克: アミノ酸トランスポー
ターをとりまく蛋白質間相互作用. 平成
16年度生理学研究所研究会「バ
イオ分子センサー研究会」, 岡崎, 平
成16年9月9日.
38. Kanai Y: The Na⁺-independent system-L
like amino acid transporter family.
*Membrane Transport Proteins;
Physiological and Pathophysiological
Implications.* Les Diablerets,
Switzerland, Oct 3, 2004.
39. Iribe Y, Mutou T, Kanai Y and Endou H:
Transcriptional profiling in human
bladder carcinoma cells after application
of L-Type amino acid transporter
inhibitors. *Toxicogenomics International
Forum 2004*, Kyoto, Oct 12, 2004.
40. 安西尚彦, 宮崎博喜, 平田拓, Arthit
Chairoungdua, 榎本 篤, 金井
好克, 遠藤 仁: マルチバレン
ト PDZ ドメインタンパク質による
腎尿酸トランスポーターURAT の輸
送調節. 第77回日本生化学会大会,
横浜, 平成16年10月13日.
41. 亀山 恵¹, 竹口紀晃¹, 田淵圭章²,
浅野真司³, Arthit Chairoungdua⁴,
金井好克⁴ (¹富山医薬科大・薬, ²
富山医科薬大・生命科学実験セ, ³
立命館大・情報理工, 杏林大・医・
薬理⁴): ヒト癌細胞におけるL型ア
ミノ酸トランスポーター1のサブユ
ニット間相互作用の役割, 第77回
日本生化学会大会, 横浜, 平成16
年10月13日.
42. 安西尚彦, 宮崎博喜, 野城理絵,
Chiroundua A, 平田 拓, 金井好
克, 遠藤 仁: PDZ ドメインタン
パク質 PDZK1 による尿酸トランス
ポーターURAT1 輸送機能制御. 第
111回日本薬理学会関東部会, つく

- ば, 平成 16 年 10 月 23 日.
43. 金井好克: 尿細管トランスポーター: ポストゲノムの視点から. 第 34 回日本腎臓学会東部学術大会, 東京, 平成 16 年 11 月 5 日.
 44. 金井好克: アミノ酸トランスポーターの上皮細胞における極性集積と細胞膜移行を規定する因子の探索. 生理学研究所研究会「生体防御の最前線: 上皮輸送制御因子の構造活性相関」, 岡崎, 平成 16 年 11 月 16 日.
 45. 金井好克: 尿酸トランスポーターの機能制御と疾患. 第 26 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 東京, 平成 16 年 11 月 26 日.
 46. 安西尚彦, 宮崎博喜, 平田 拓, 坂田 武, 金井好克, 遠藤 仁: 有機アニオントランスポーターOAT4 と 2 つの PDZ タンパク質との相互作用. 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 平成 16 年 12 月 8 日.
 47. 金井好克: ヘテロ二重体型アミノ酸トランスポーターの細胞内極性集積の機序. 生理学研究所研究会「生体防御の最前線: 上皮輸送制御因子の構造活性相関」, 岡崎, 平成 16 年 11 月 16 日.
 48. Chairoungdua A: SLC43, the N-ethylmaleimide (NEM) sensitive system L2 amino acid transporter family. American Society for Cell Biology Annual Meeting, Washington, DC, USA, Dec 8, 2004.
 49. 金井好克: 有機溶質トランスポーターを巡るタンパク質間相互作用: トランスポーターの機能協調を可能とする分子複合体の探索. 日本生体エネルギー研究会 (JBEG) 第 30 回 JBEG2004「膜と輸送とエネルギー」と, 大阪, 平成 16 年 12 月 17 日.
 50. 金井好克: ヘテロ二重体型アミノ酸トランスポーターの細胞内極性集積の機序. 日本生物物理学会シンポジウム, 京都, 平成 16 年 12 月 14 日.
 51. Kanai Y: The role of amino acid transporters in the methylmercury transport. NIMD Forum 2005-Pre-Conference- Current problems in risk evaluation and risk management of methylmercury and cadmium. メチル水銀とカドミウムの生体影響に関する合同ワークショップ, 水俣, 平成 17 年 1 月 13 日.
 52. 安西尚彦: 腎尿細管トランスポーターと細胞内結合タンパク質. 第 19 回関東腎研究会, 東京, 平成 17 年 1 月 15 日.
 53. Kanai Y: The role of amino acid transporters in the methylmercury transport. NIIMD Forum 2005 'Joint Workshop on Health Effects of Methylmercury and Cadmium. Minamata, Jan 12, 2005.
 54. 金井好克: アミノ酸輸送体阻害薬による細胞増殖抑制の細胞内機序と遺伝子発現解析. トキシコゲノミクスを用いた医薬品安全性評価予測システムの構築とその基盤に関する研究・報告会. 渋谷, 東京, 平成 17 年 1 月 25 日.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予知を含む。）

「中性アミノ酸トランスポーターによる癌の検出法、及びそのためのキット」

特願 2004-76282

アミノ酸輸送体阻害薬による 細胞増殖抑制の細胞内機序と 遺伝子発現解析

杏林大学医学部薬理学教室
金井 好克

トランスポーターとは?

トキシコロジーとトランスポーター

Transporter-mediated Toxicity

新規有機アニオントランスポーター

悪性腫瘍とアミノ酸トランスポーター

-悪性腫瘍における発現

-LAT1抑制による細胞増殖抑制

-LAT1抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序

シグナル系解析からのアプローチ

-LAT1抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序

DNAマイクロアレイ解析からのアプローチ

トランスポーターとは

トキシコロジーとトランスポーター

Transporter-mediated Toxicity

- 新規有機アニオントランスポーター
- 悪性腫瘍とアミノ酸トランスポーター
- 悪性腫瘍における発現
- LAT1抑制による細胞増殖抑制
- LAT1抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序
- シグナル系解析からのアプローチ
- LAT1抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序
- DNAマイクロアレイ解析からのアプローチ

