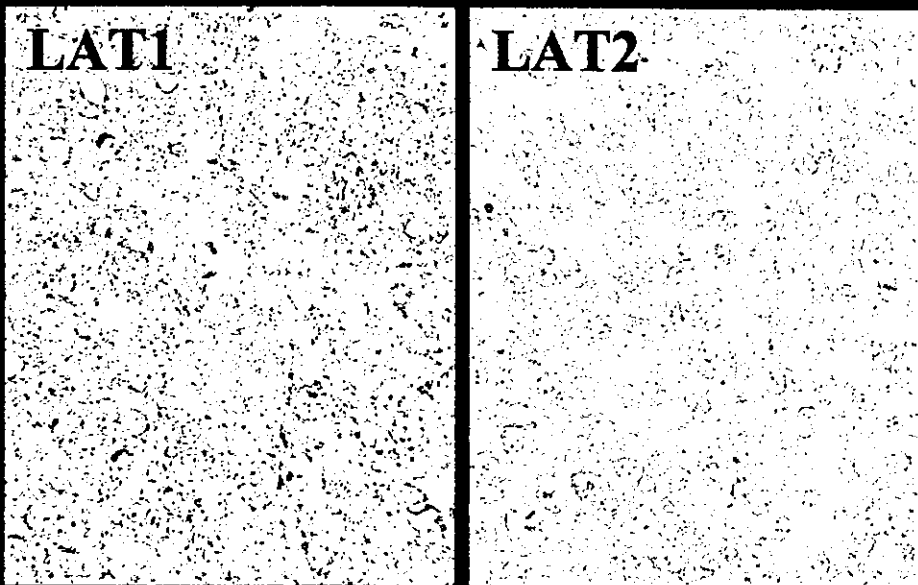
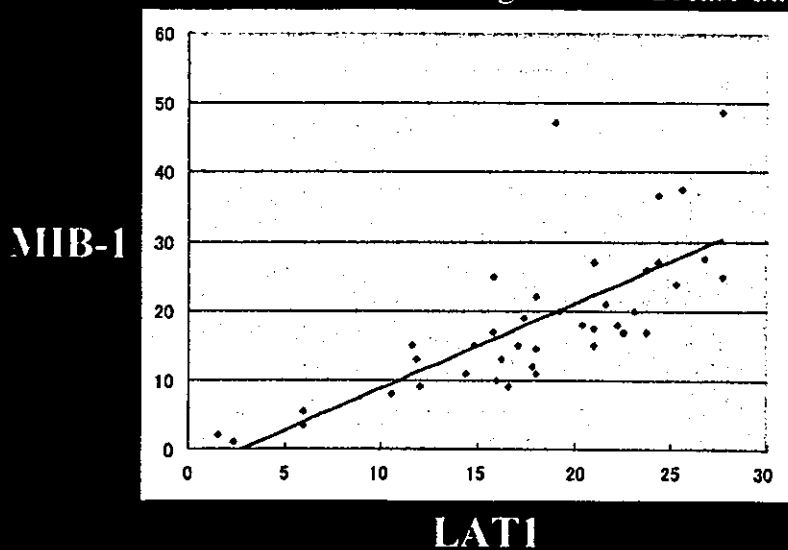


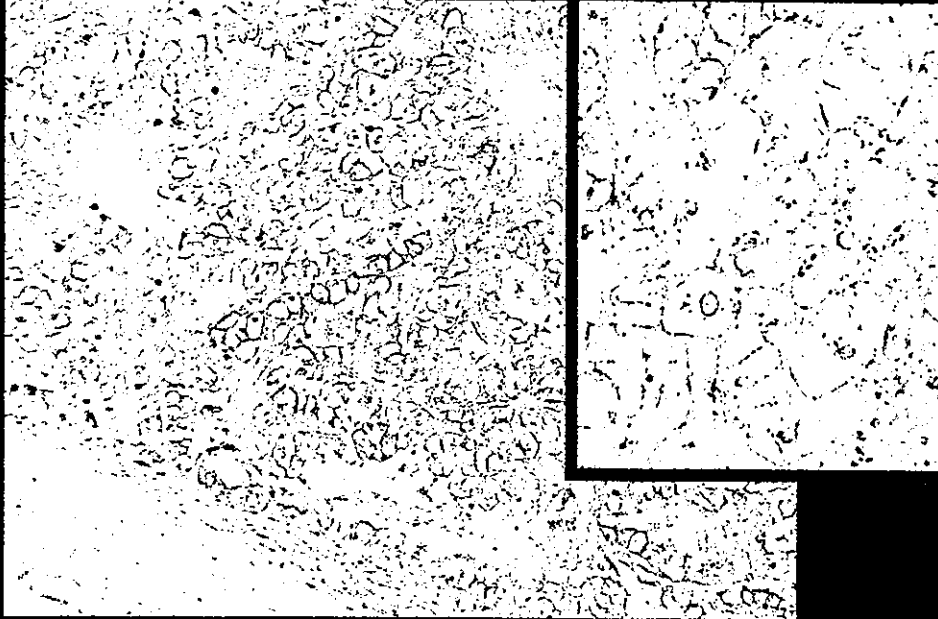
# LAT1 & LAT2 in laryngeal cancer



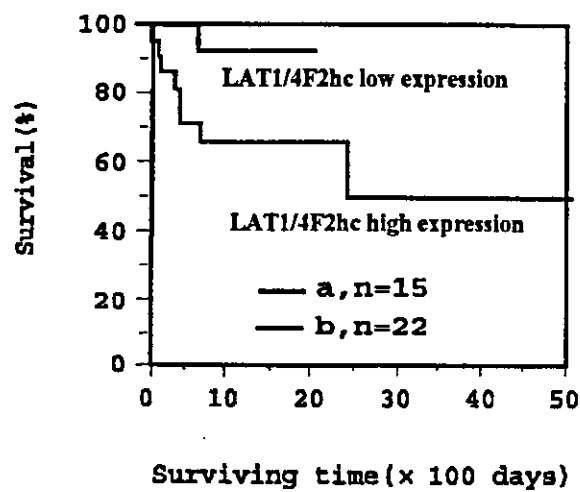
Correlation between MIB-1 labeling index and LAT1 staining index Breast Cancer

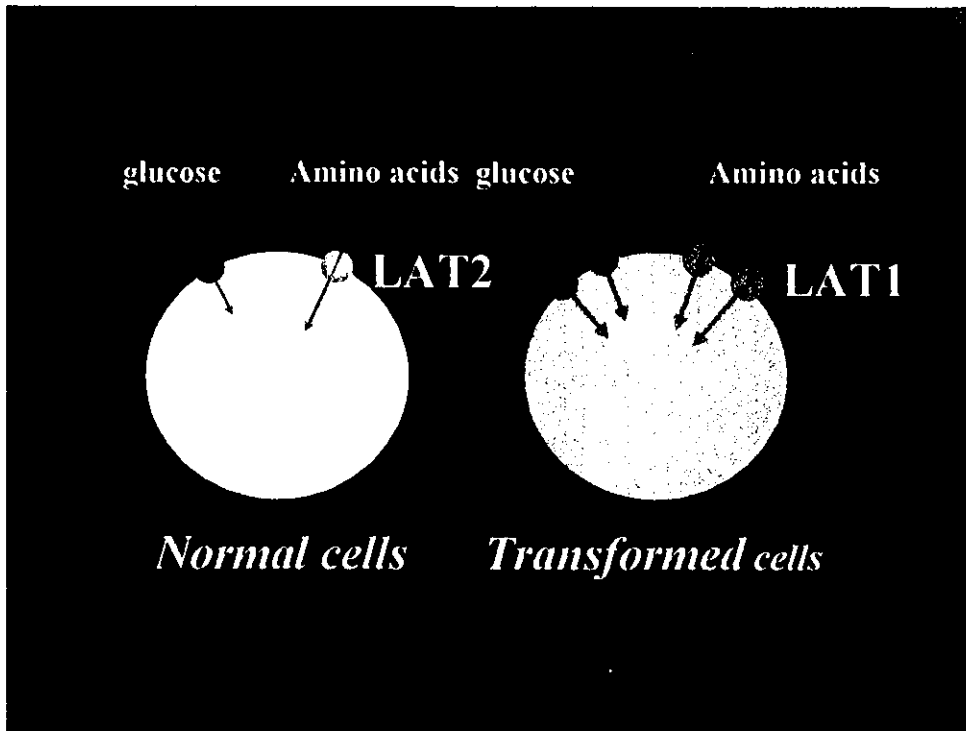


## Expression of LAT1 in renal carcinoma



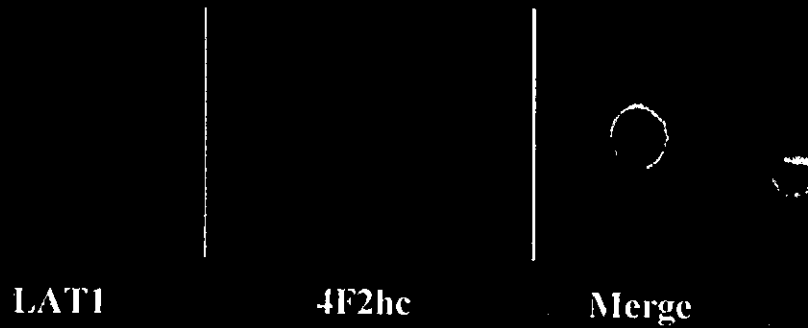
## LAT1/4F2hc high expression group exhibits poor prognosis in renal cancer



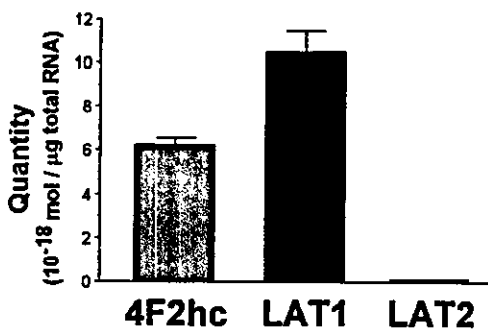


トランスポーターとは？  
 トキコロンとトランスポーター  
 Transporter-mediated toxicity  
 - 新規有機アミノ酸トランスポーター  
 - 悪性腫瘍とアミノ酸トランスポーター  
 - 悪性腫瘍における発現  
 - LAT1 抑制による細胞増殖抑制  
 - LAT1 抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序  
 - シグナル系解析からのアプローチ  
 - LAT1 抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序  
 - DNAマイクロアレイ解析からのアプローチ

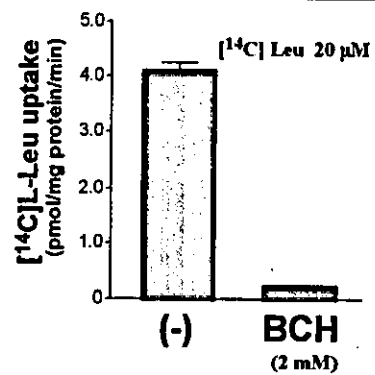
*LAT1 and 4F2hc in T24 human bladder carcinoma cells*



**LAT1-mediated Leu transport in T24 cells**

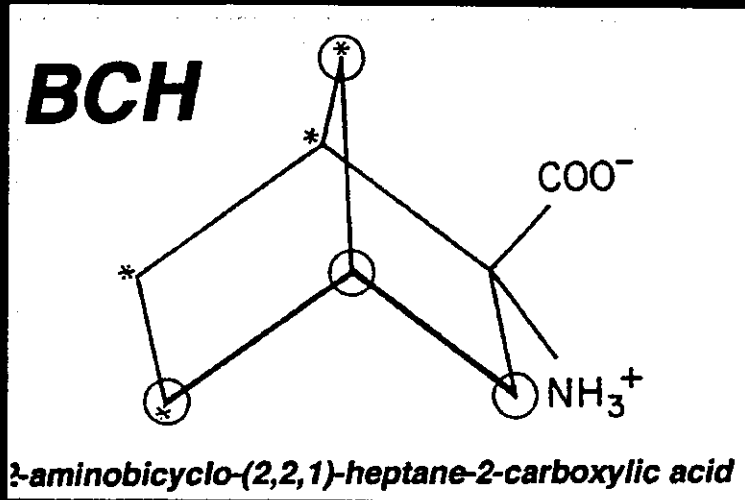


mRNA quantity by  
Taqman PCR

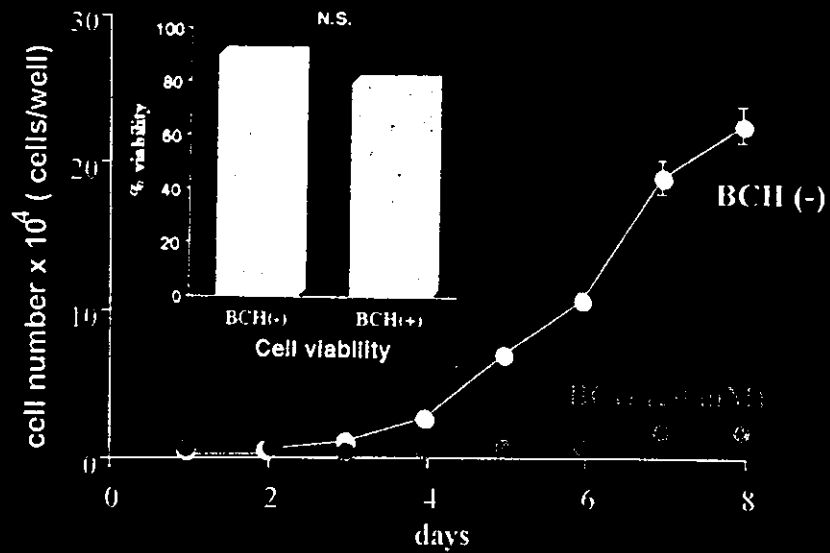


Inhibition by BCH

## System L inhibitor



## The effect of BCH on T24 cell growth

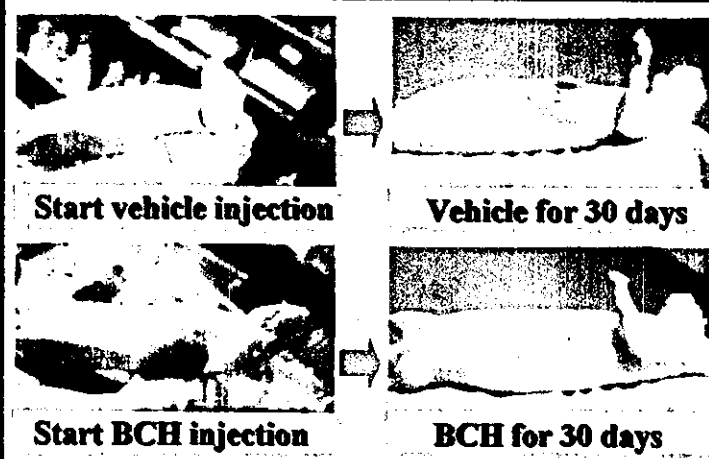


# The effect of BCH on tumor growth

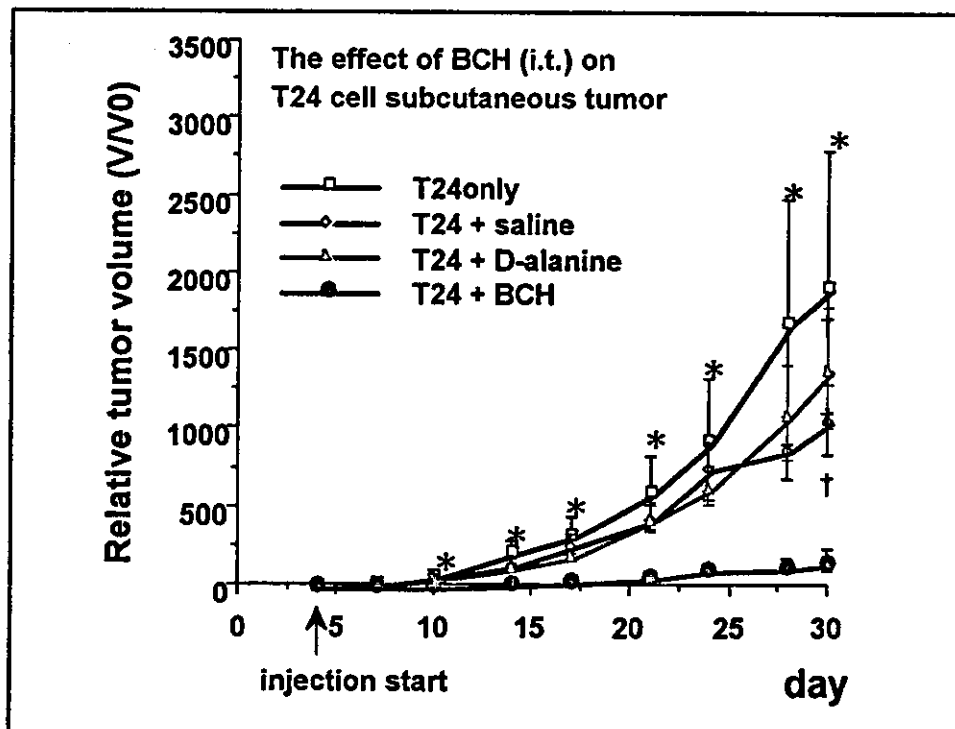
T24 cell tumor in nude mice

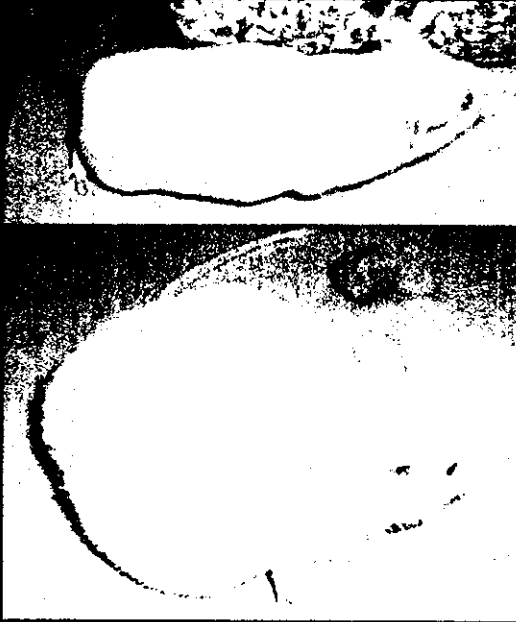
4 days after inoculation

34 days after inoculation



BCH 258 mM 0.1 ml i.t. twice a day



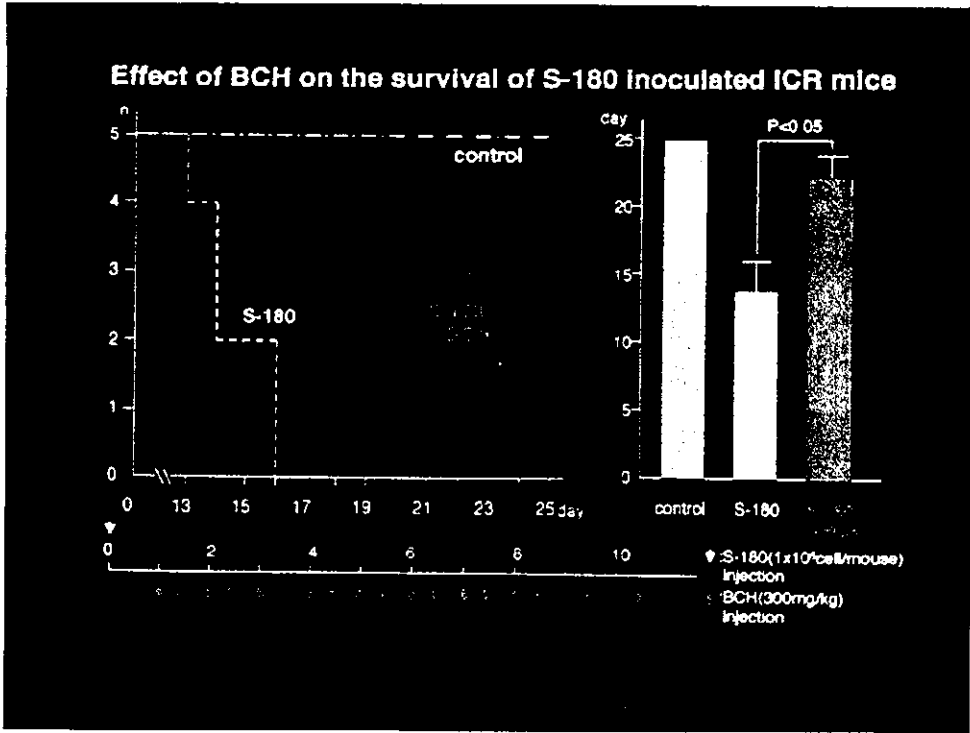


**ICR mice**

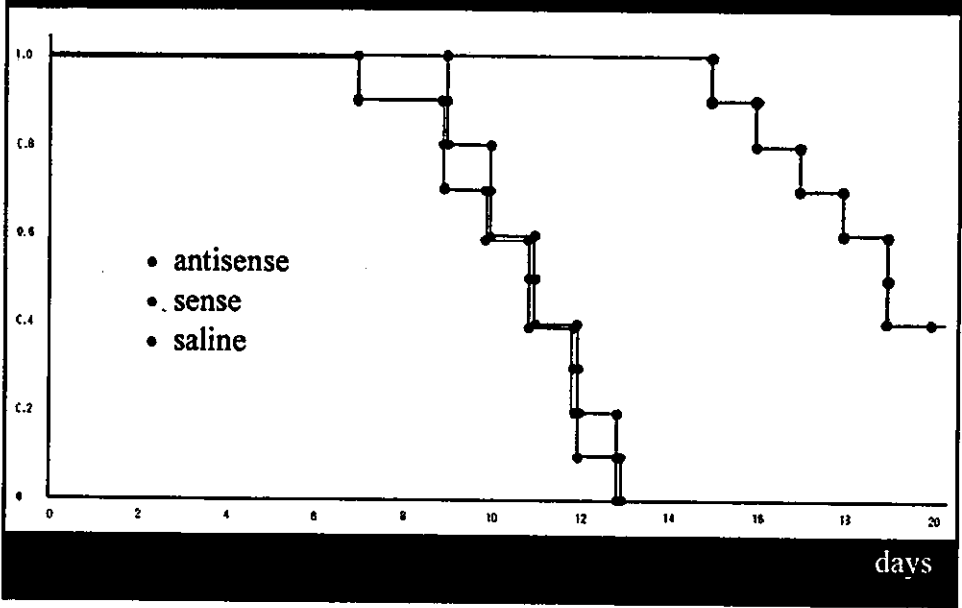
S-180 cell ( $1 \times 10^6$ )  
implantation to  
peritoneal cavity

- S-180 (+) group
- S-180 (-) group
- BCH
- antisense DNA ( $100 \mu\text{M}$ )
- sense DNA ( $100 \mu\text{M}$ )
- saline

Injection twice a day  
every day

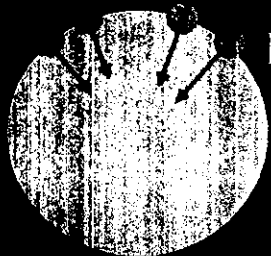


Survival of S-180 ascites tumor mice treated with antisense oligo DNA against LAT1

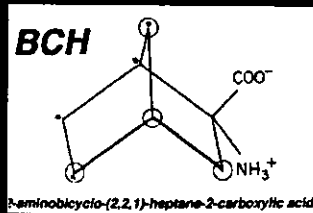


glucose

Amino acids



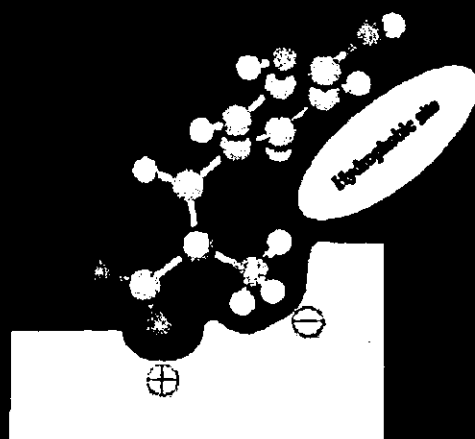
LAT1



*Transformed cells*



## Substrate binding site of LAT1

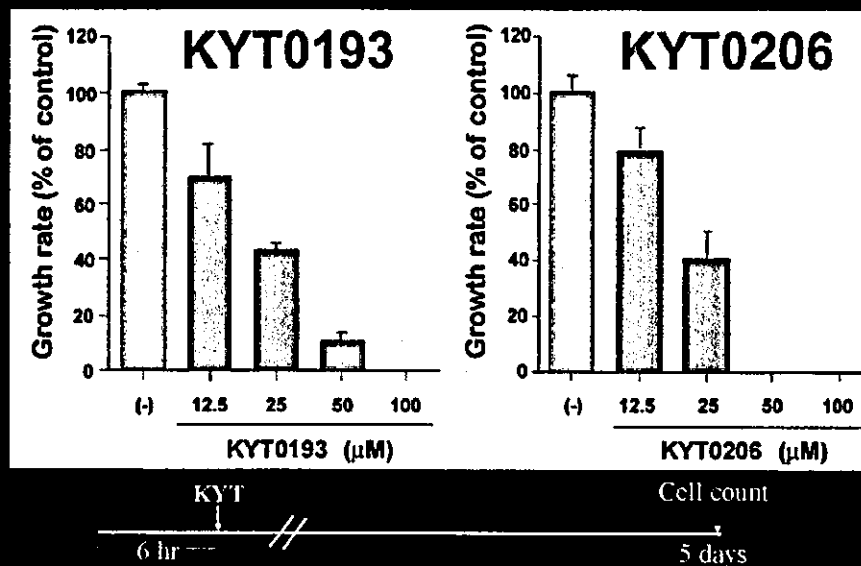


## Kinetic parameters

Compounds	LAT1		LAT2	
	$K_i$ ( $\mu\text{M}$ )	$K_m$ ( $\mu\text{M}$ )	$K_i$ ( $\mu\text{M}$ )	$K_m$ ( $\mu\text{M}$ )
Leucine	114	80.3	480	304
BCH	132		315	
melphalan	205		–	
T3	1.68		–	
T4	115		–	
KYT0193	0.12		0.28	
KYT0206	0.30		–	
KYT0213	1.57		0.56	

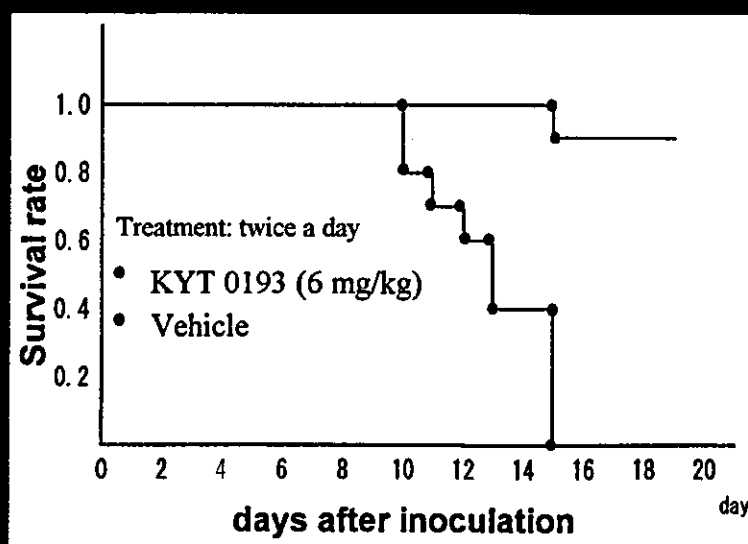
## The effects on T24 cell growth

*in vitro*

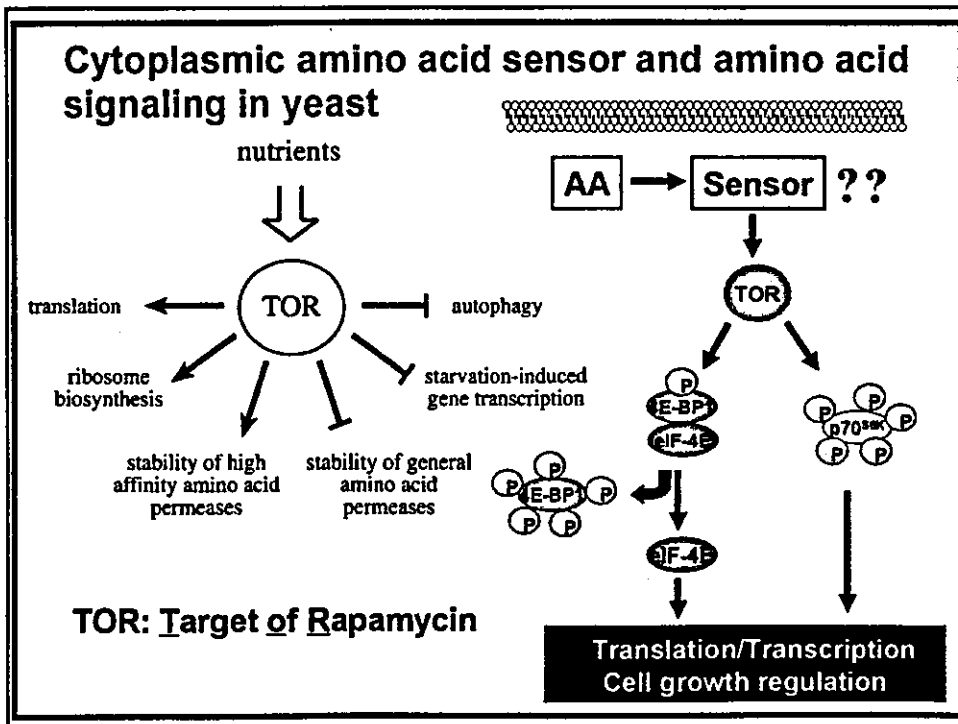


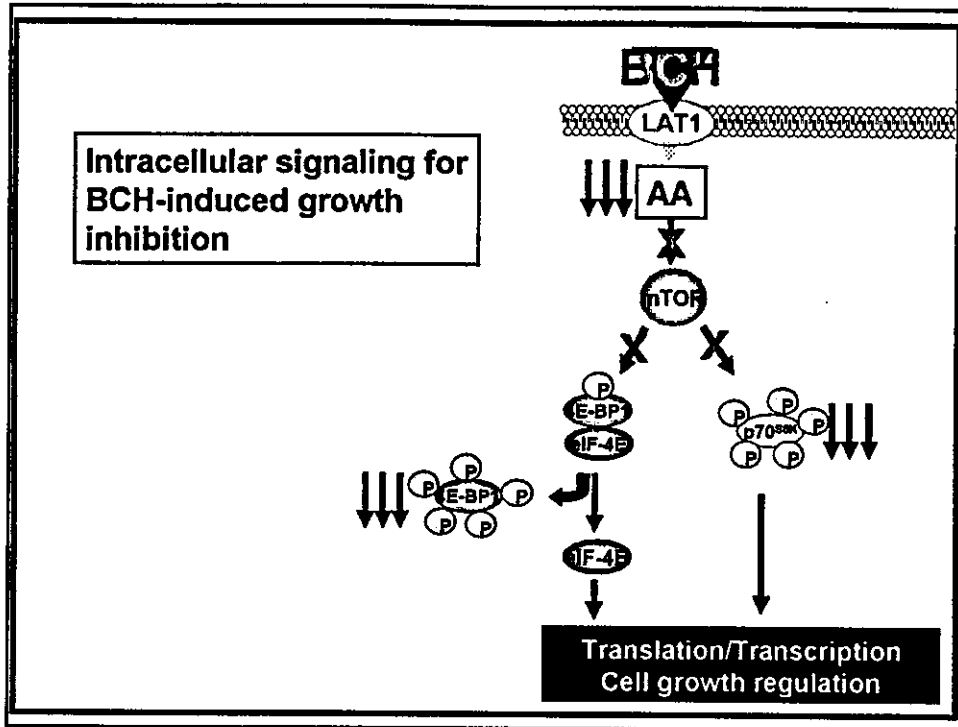
## Survival of S180 ascites tumor mice by KYT0193

*in vivo*



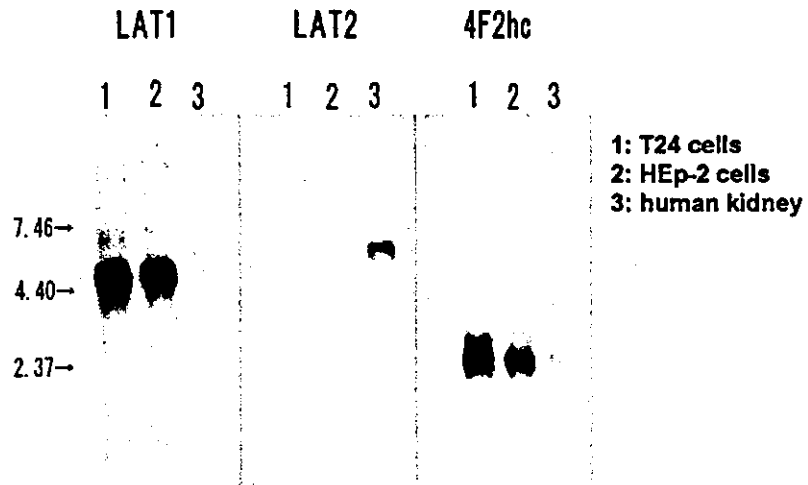
トランスポーターとは？  
トキコロンとトランスポーター  
Transporter-mediated toxicity  
新規有機アニオントランスポーター  
悪性腫瘍とアミノ酸トランスポーター  
- 悪性腫瘍における発現  
- LAT1抑制による細胞増殖抑制  
- LAT2抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序  
- LAT2抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序  
- LAT1抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序  
DNAマイクロアレイ解析からのアプローチ



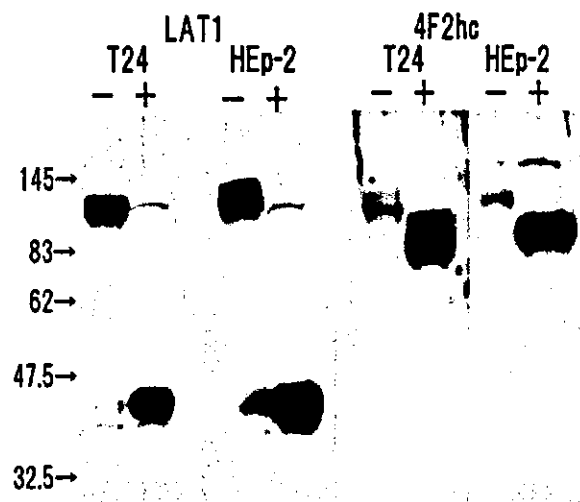


トランスポーターとは？  
トキシコロジーとトランスポーター  
Transporter-mediated Toxicity  
-新規有機アミノ酸トランスポーター  
悪性腫瘍とアミノ酸トランスポーター  
-悪性腫瘍における発現  
-LATI抑制による細胞増殖抑制  
-LATI抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序  
シグナル系解析からのアプローチ  
-LATI抑制による細胞増殖抑制の細胞内機序  
DNAマイクロアレイ解析からのアプローチ

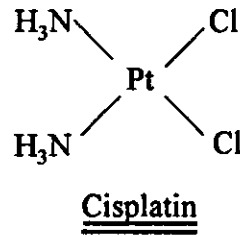
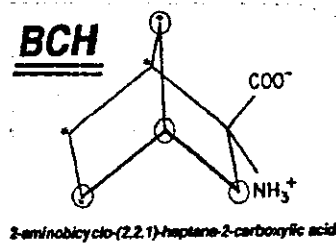
### Expression of LAT1 and 4F2hc in HEp-2 and T24 cells



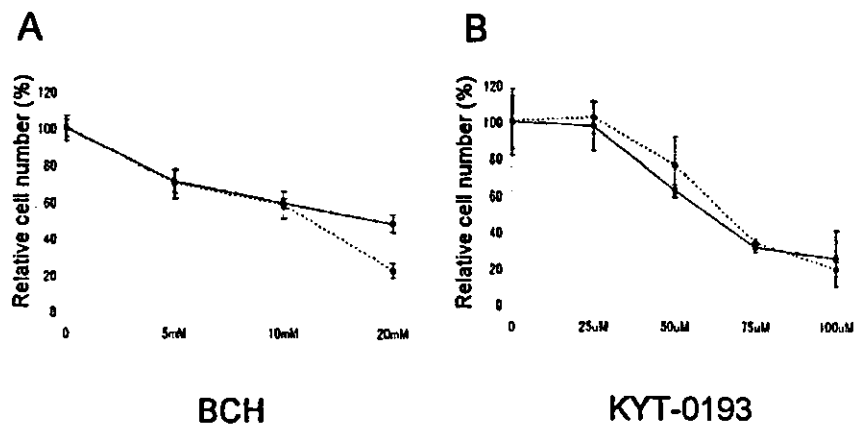
### Immunodetection of LAT1 and 4F2hc by Western blots



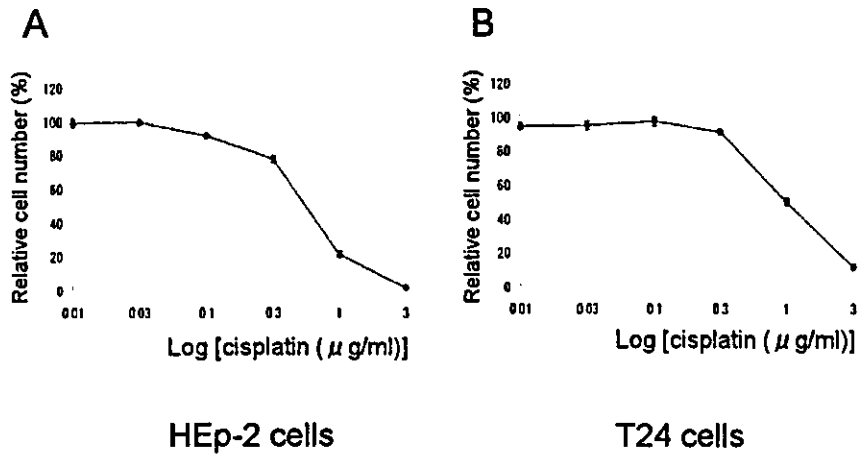
## 化学物質の構造式



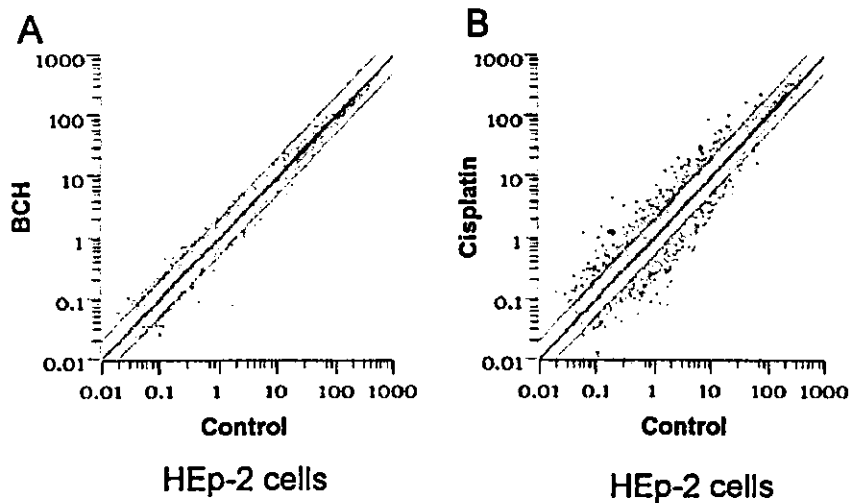
## Inhibition of cell growth by the inhibition of LAT1



## Inhibition of cell growth by cisplatin treatment



## Scatter plot analysis of the gene expression profiles



## Summary of gene expression profiles in BCH- and cisplatin-treatments of HEp-2 cells

	BCH specific	Cisplatin specific	Common to BCH and cisplatin
Number of genes increased >2-fold	27	356	28
Number of genes decreased >2-fold	43	382	13

### BCHとKYT0193で共通に変動する遺伝子に基づいた転写領域解析によるLAT1抑制の細胞内機序の探索

T24細胞 20x10<sup>4</sup> /90 mm plate 播種

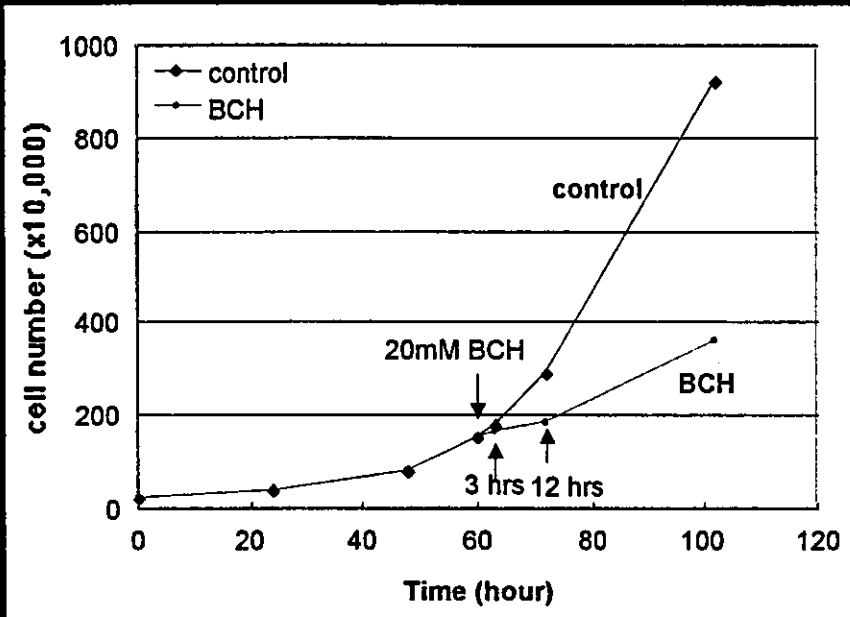
対数増殖期開始時にBCH (20 mM)、KYT0193 (100μM)投与  
3時間、12時間後の遺伝子発現プロファイリングを行う。

CodeLink (Human Whole Genome) アマシャム

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。

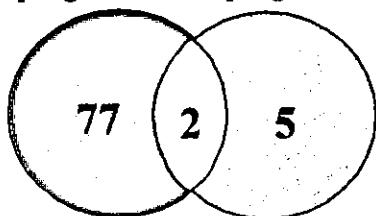


LAT1抑制によるT24細胞増殖の抑制 (BCHによる抑制)

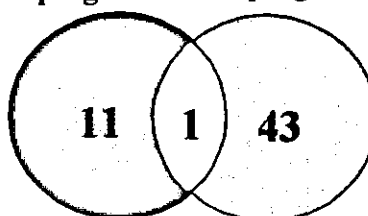


Number of genes which showed more than two fold change

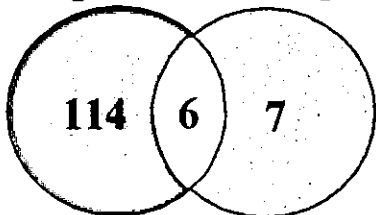
BCH 3hrs upregulated    KYT0193 3hrs upregulated



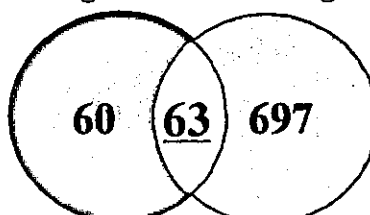
BCH 12hrs upregulated    KYT 12hrs upregulated

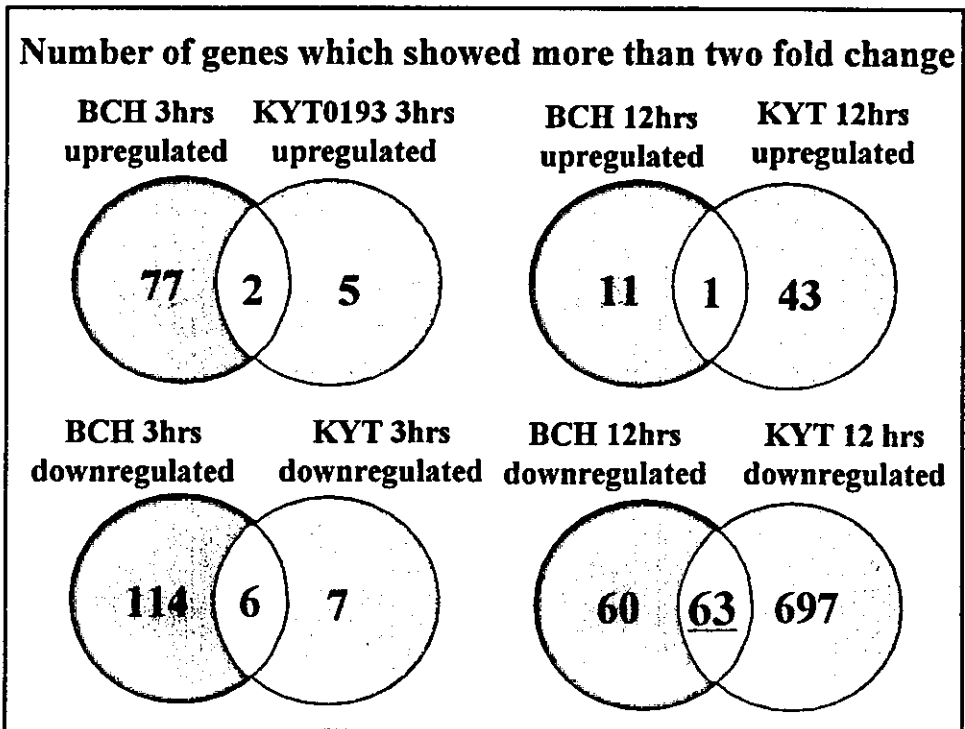
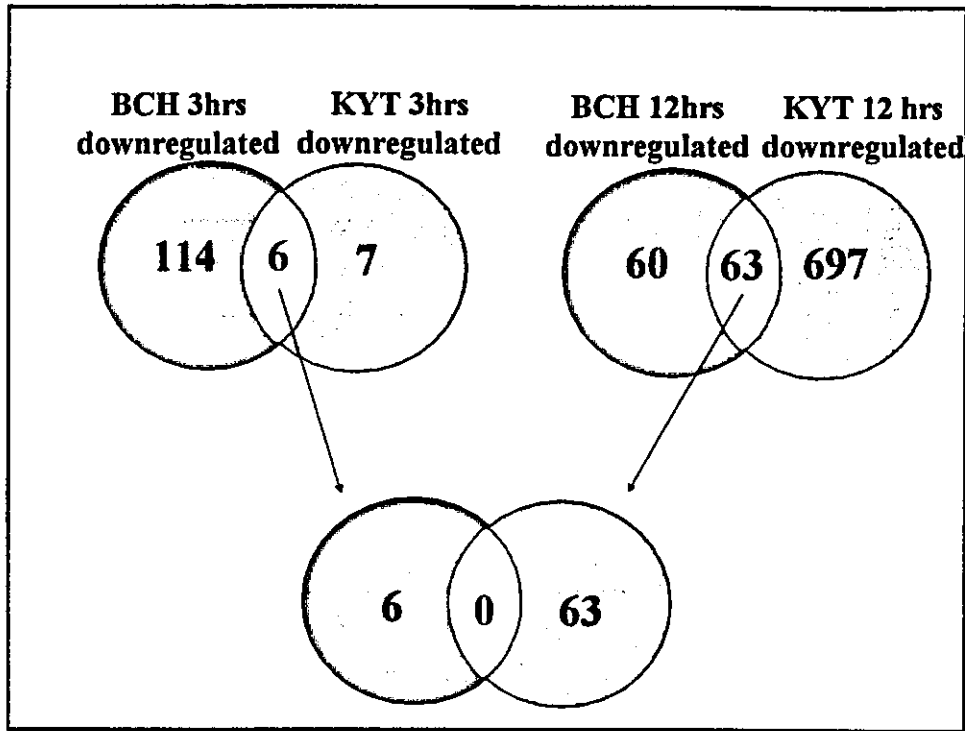


BCH 3hrs downregulated    KYT 3hrs downregulated



BCH 12hrs downregulated    KYT 12 hrs downregulated





## 転写領域解析

K mean クラスタ後、クラスターごとに解析した。

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)

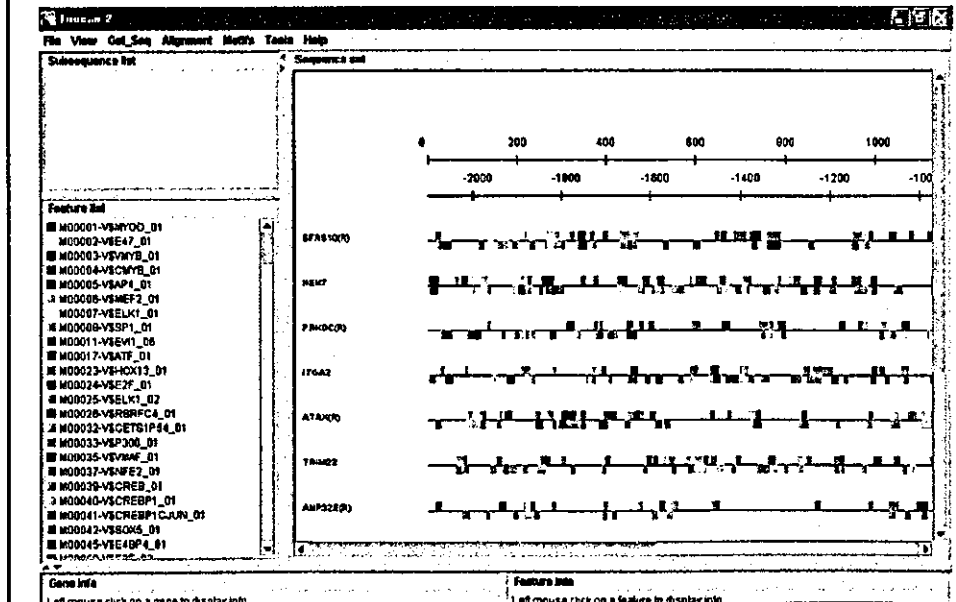
### TOUCANでの解析

1、各クラスター遺伝子群に優位に存在する予想転写因子結合サイトの検出

2、各クラスター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

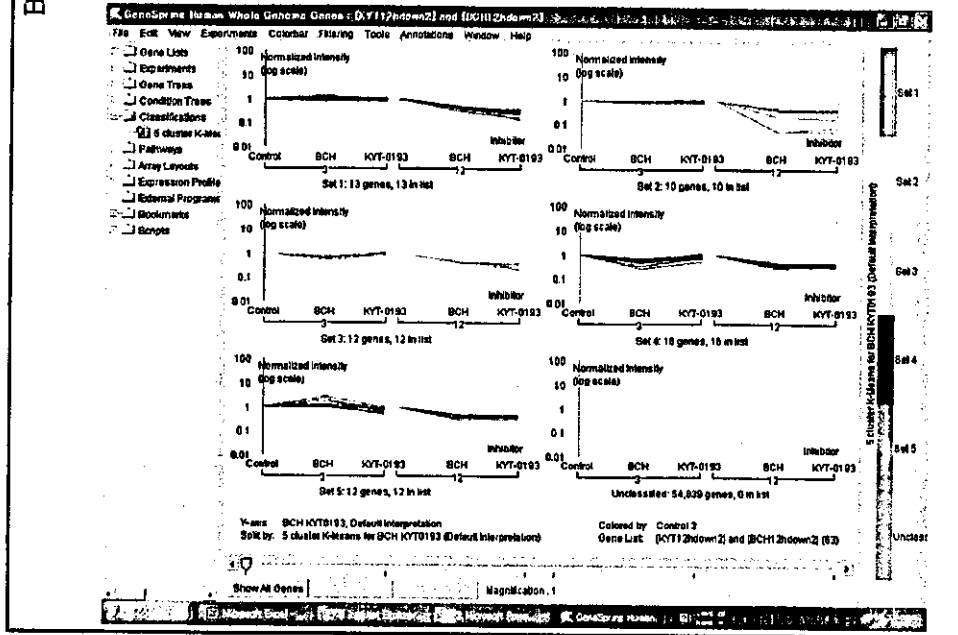
### TOUCANでの解析

1、各クラスター遺伝子群に優位に存在する予想転写因子結合サイトの検出



## TOUCANでの解析

### 2、各クラスター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



## トキシコロジーとトランスポーター

生体必須物質トランスポーターを標的とする毒性(薬効)の発現

薬物・外来性異物トランスポーターを介する毒性物質(薬物)の細胞内侵入による毒性の発現  
Transporter-mediated Toxicity