

一般的なSLC22ファミリーのメンバーに輸送基質であるパラアミノ馬尿酸、エストロン硫酸、オクラトキシン A、尿酸、 α -ケトグルタル酸、テトラエチルアンモニウム、カルニチンに対する輸送活性を示さず、構造上もSLC22ファミリーの他のメンバーと異なることと矛盾なく、他のメンバーと異なった基質認識をするトランスポーターであることが明らかとなった。

OAT9は、種々の有機アニオンと相互作用する。OAT9を介するニコチン酸の取込みは、インドメタシン、ベンジル酸や、バニルマンデル酸、ホモバニル酸等のカテコールアミンの代謝物により強く抑制され、その基質結合部位は、これらの化合物を受け入れることが示唆された。

(3) セファロリジン及びオクラトキシン A のトランスポーター介在毒性

トランスポーター介在毒性を評価する *in vitro* のモデル系を確立する目的で、有機アニオントランスポーターOAT3安定発現S2細胞を用いて、セファロリジン及びオクラトキシン A の毒性、及びOAT3インヒビターであるProbenecidの効果を検討した。細胞の培養開始から24時間後に化合物暴露を開始し、化合物暴露後、12、24、36、48、120時間後にMTTアッセイを行い、細胞毒性を評価したところ、セファロリジン、オクラトキシン A とともに濃度依存的、時間依存的な毒性を示した。トランスポーター介

在毒性を検討する目的で、トランスポーターインヒビターで毒性が十分抑制される化合物濃度として、セファロリジンは0.2 mM、オクラトキシン A は1 μ Mに決定した。

この濃度の化合物暴露に対して、OAT3トランスポーターインヒビターProbenecidは、濃度依存的な抑制効果を示した。0.1 mMのProbenecidではそれ自体の毒性がほとんど検出されず、セファロリジン(0.2 mM)及びオクラトキシン A (1 μ M)の毒性とともに十分に抑制した(図5)。図5において、特に72時間以前においては、0.1 mMのProbenecidは、セファロリジン(0.2 mM)及びオクラトキシン A (1 μ M)の毒性をほぼ完全に抑えることができた。以上のように、有機アニオントランスポーターOAT3安定発現S2細胞を用い、セファロリジン及びオクラトキシン A のトランスポーター介在毒性を評価する *in vitro* のモデル系が確立された。

(3) セファロリジン及びオクラトキシン A のトランスポーター介在毒性の遺伝子的背景

上記で決定した条件(セファロリジン0.2 mM、オクラトキシン A 1 μ M)に対して、Probenecid 0.1 mM)では、図6に示すように、セファロリジン暴露により大きな遺伝子発現変動が観察されるが、これはトランスポーターインヒビターであるProbenecid(0.1 mM)によって抑制された。Probenecid

(0.1 mM) 自体は大きな遺伝子発現変動は誘発されなかった (図 6)。この事実は、図 5 に示した細胞毒性についての検討結果と良く一致するものである。

トランスポーター介在毒性の遺伝子的背景を明らかにする目的で、図 4 に示すように、「トランスポーター抑制薬により抑制される成分」を算出し、トランスポーター介在毒性に関わる遺伝子発現変動とした。これは、暴露腎毒性化合物による遺伝子発現変動は、トランスポーターを介する成分とトランスポーターを介さない成分からなるため、純粹にトランスポーターを介する成分のみを抽出する必要があるためである。図 4 に提示する数式から算出される遺伝子発現変動値を対象として、以下の解析を行った。

図 7 に、セファロリジンにより発現変動が観察された遺伝子を列挙する。図 7 で下線を付した遺伝子は、酸化ストレスとの関連で発現が変動することが知られているものである。solute carrier family 7 member 11 は、シスチントランスポーター、solute carrier family 6 member 9 は、グリシントランスポーターであり、それぞれグルタチン生成の基質としてのシスチン (細胞内でシステインとなる) とグリシンを細胞に供給する。glutamate-cysteine ligase の catalytic subunit と modifier subunit は、グルタチン生成に関わる酵素のサブユニットである。これらは、酸化ス

トレス際して発現が上昇に、細胞がグルタチンを生成して、酸化ストレスに対抗するために必要な要素である。以上のように、セファロリジンにより酸化ストレスが細胞に生じていることが、遺伝子発現変動から推察される。

これに対してオクラトキシン A による遺伝子発現変動は、図 8 に示すように未知の遺伝子が多く、図 8 の表からは、その細胞内機序に関する意味付けが難しい。

セファロリジン及びオクラトキシン A のトランスポーター介在毒性において発現変動が見られた遺伝子に関して、パスウェイ解析を行った結果を図 9 及び図 10 に示す。これらの図には、発現変動の見られた遺伝子 (図 9 及び図 10 の青地に黒文字) から想定されるその発現変動の背景にある転写因子 (図 9 及び図 10 の白地に赤文字) も加えてある。

今回のマイクロアレイ解析から得られた遺伝子発現変動とパスウェイ解析、転写因子解析から予想されるその背景にある転写因子に関して、図 11 に示すように、半定量 RT-PCT による確認の作業が現在進行中である。

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、1~45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 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。ゲノム情報の BLAST 検索を行い、腎尿細管に腎特異的プロスタグランジントランスポーター OAT-PG、腎近位尿細管の管腔側膜に存在するニコチン酸を中心とする有機アニオンを基質とし、SLC22 ファミリーの他のメンバーとは異なった基質選択性を示す OAT9 を明らかにした。

本研究で明らかにした OAT-PG 及び OAT9 の毒性学的意義を明らかにするため

には、遺伝子ノックアウトを含んだより詳細な検討が必要とされる。現在、OAT9 のノックアウトマウスの解析が進行中させている。

前述のように、腎毒性の発現には、腎毒性物質の腎尿細管細胞内への侵入が第一のステップとなるが、腎毒性物質の多くは水溶性物質であり、それらは、腎尿細管細胞の血管側から取込まれ、管腔側から尿中に排泄される過程で、尿細管上皮細胞に毒性を発揮する。腎毒性物質の細胞内への取込みを媒介し、細胞内への取込みの律速過程となるトランスポーターが、特定の腎毒性物質の腎毒性発現の規定因子として重要な要素となるが、このようなトランスポーター介在毒性の例として、本年度は、セファロリジンとオクラトキシン A を研究の対象とした。

セファロリジン及びオクラトキシン A は、ともに腎近位尿細管の血管側の SLC22 ファミリーの多選択性有機アニオントランスポーター OAT1 及び OAT3 を介して腎近位尿細管細胞へ取込まれ、腎毒性を惹起する。培養細胞系に高濃度の化合物を用いると、種々の非選択的な経路を経て毒性を発揮するが、実際の *in vivo* での毒性は、多くのアニオン系の腎毒性物質が有機アニオントランスポーターへの親和性のため選択的に尿細管細胞に取込まれて、比較的低濃度域で発生する毒性が臨床上問題となる。従って、多くの *in vitro* の毒性実験が扱っている高濃度暴露によって生じる細胞毒性は、実際の生体内で生じる毒性を反映しているとは言い難い。そこで、本研究は、毒性物質が高親和性にトランスポーターによって選択的に輸送されることにより毒性を発揮する

系を in vitro で構築し、その系を用いて腎毒性化合物の毒性評価をその毒性発現機序の検討を行うこととした。この方針のもとに、本年度の研究において、腎毒性物質として知られるセファロリジンとオクラトキシン A のトランスポーター介在毒性を in vitro で再現できる評価系を確立した。

確立したトランスポーター介在毒性評価系を用い、マイクロアレイ解析を行ったところ、腎毒性物質によって惹起される遺伝子発現変動が、トランスポーターインヒビターにより抑制されることが明らかになり、遺伝子発現変動の観点からも、本評価系がトランスポーター介在毒性評価系として適したものであることが検証された。

本評価系において、特にセファロリジンによる細胞毒性の背景に酸化ストレスがあることが示され、これは従来のセファロリジン毒性の細胞内機序に関する仮説を網羅的解析の観点から実証するものである。

本年度の研究の延長上に、毒性発現に関する細胞内機序が明らかにできると考え、さらに検討を続行させている。

E. 結論

化合物の腎毒性にはトランスポーター介在毒性が重要な位置を占め、その in vitro の評価系の確立が、in vivo における化合物の腎毒性評価に必須である。本年度は、腎有機アニオントランスポーター安定発現細胞を用いて、セファロリジンとオクラトキシン A のトランスポーター介在毒性を in vitro で再現できる評価系を確立した。これを用いマイクロアレイ解析を行い、遺伝子発現変動の観点から本評価系の有用性を実証し

た。さらに、マイクロアレイ解析により、セファロリジンのトランスポーター介在毒性には、酸化ストレスがその背景にあることが実証された。

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. Park SY, Kim JK, Kim IJ, Choi BK, Jung KY, Lee S, Park KJ, Chairoungdua A, Kanai Y, Endou H and Kim DK: Reabsorption of neutral amino acids mediated by amino acid transporter LAT2 and TAT1 in the basolateral membrane of proximal tubule. *Arch Pharm Res* 28(4): 421-432, 2005.
2. Yoon JH, Kim IJ, Kim H, Kim HJ, Jeong MJ, Ahn SG, Kim SA, Lee CH, Choi BK, Kim JK, Jung KY, Lee S, Kanai Y, Endou H, Kim do K: Amino acid transport system L is differently expressed in human normal oral keratinocytes and human oral cancer cells. *Cancer Lett.* 222: 237-245, 2005.
3. Anzai N, Jutabha, P, Kanai Y and Endou H: Integrated physiology and proximal tubular organic anion transport. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 14: 472-479, 2005.
4. Anzai N, Jutabha P, Enomoto A, Yokoyama H, Nonoguchi H, Hirata T, Shiraya K, Xin H, Cha SH, Takeda M, Miyazaki H, Sakata T, Tomita K, Igarashi T, Kanaai Y and Endou H: Functional Characterization of rat organic anion transporter 5 (*Slc 22a19*) at the apical membrane of renal proximal tubules. *J Pharmacol Exp Ther* 315: 534-544, 2005.
5. Miyazaki H, Anzai N, Ekaratonawong S, Sakata T, Shin HJ, Jutabha P, Hirata T, Xin H, Nonotuchi H, Tomita K, Kanai Y and Endou H: Modulation of renal apical organic anion transporter 4 function by two

- PDZ domain-containing proteins. *J. Am. Soc Nephrol* 16: 3498-3506, 2005.
6. Wakui S, Yokoo K, Takahashi H, Muto T, Suzuki Y, Kanai Y, Hano H, Furusato M, Endou H: CYP1 and AhR expression in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinoma of rats prenatally exposed to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. *Toxicology* 211: 231-241, 2005.
 7. Yasuoka Y, Kawada H, Suzuki Y, Sato M, Endou H, Obinata M, Kawahara K: Establishment of a Mouse Macula Densa Cell Line with an nNOS Promoter Driving EGFP Expression.. *Jpn J Physiol.* 55: 365-372, 2005.
 8. Sawamiphak S, Sophasan S, Endou H, Boonchird C: Functional expression of the rat organic anion transporter 1 (rOAT1) in *Saccharomyces cerevisiae*.. *Biochim Biophys Acta.* 1720: 44-51, 2005.
 9. Villar SR, Brandoni A, Anzai N, Endou H, Torres AM.: Altered expression of rat renal cortical OAT1 and OAT3 in response to bilateral ureteral obstruction. *Kidney Int.* 68: 2704-2713, 2005.
 10. Enomoto A, Endou H: Roles of organic anion transporters (OATs) and a urate transporter (URAT1) in the pathophysiology of human disease. *Clin Exp Nephrol.* 9: 195-205, 2005.
 11. Kang DH, Han L, Ouyang X, Kahn AM, Kanellis J, Li P, Feng L, Nakagawa T, Watanabe S, Hosoyamada M, Endou H, Lipkowitz M, Abramson R, Mu W, Johnson RJ: Uric acid causes vascular smooth muscle cell proliferation by entering cells via a functional urate transporter. *Am J Nephrol.* 25: 425-433, 2005.
 12. Tahara H, Kusuhara H, Endou H, Koepsell H, Imaoka T, Fuse E, Sugiyama Y: A species difference in the transport activities of H2 receptor antagonists by rat and human renal organic anion and cation transporters. *J Pharmacol Exp Ther.* 315: 337-345, 2005.
 13. Srimaroeng C, Jutabha P, Pritchard JB, Endou H, Chatsudthipong V: Interactions of stevioside and steviol with renal organic anion transporters in S2 cells and mouse renal cortical slices. *Pharm Res.* 22:858-866, 2005.
 14. Anzai N, Enomoto A, Endou H: Renal urate handling: clinical relevance of recent advances. *Curr Rheumatol Rep.* 7: 227-234, 2005.
 15. Morita N, Kusuhara H, Nozaki Y, Endou H, Sugiyama Y: Functional involvement of rat organic anion transporter 2 (Slc22a7) in the hepatic uptake of the nonsteroidal anti-inflammatory drug ketoprofen. *Drug Metab Dispos.* 33: 1151-1157, 2005.
 16. Kuroda M, Kusuhara H, Endou H, Sugiyama Y: Rapid elimination of cefaclor from the cerebrospinal fluid is mediated by a benzylpenicillin-sensitive mechanism distinct from organic anion transporter 3. *J Pharmacol Exp Ther.* 314: 855-861, 2005.
 17. Monica Torres A, Mac Laughlin M, Muller A, Brandoni A, Anzai N, Endou H: Altered renal elimination of organic anions in rats with chronic renal failure. *Biochim Biophys Acta.* 1740: 29-37, 2005.
 18. Hediger MA, Johnson RJ, Miyazaki H, Endou H: Molecular physiology of urate transport. *Physiology (Bethesda)* 20: 125-133, 2005.
 19. Hosoyamada M, Yan K, Nishibori Y, Takiue Y, Kudo A, Kawakami H, Shibasaki T, Endou H: Nephron and podocin expression around the onset of puromycin aminonucleoside nephrosis. *J Pharmacol Sci.* 97: 234-241, 2005.
 20. Wakida N, Tuyen do G, Adachi M, Miyoshi T, Nonoguchi H, Oka T, Ueda O, Tazawa M, Kurihara S, Yoneta Y, Shimada H, Oda T, Kikuchi Y, Matsuo H, Hosoyamada M, Endou H, Otagiri M, Tomita K, Kitamura K: Mutations in human urate transporter 1 gene in presecretory reabsorption defect type of familial renal hypouricemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 90: 2169-2174, 2005.
 21. Taniguchi A, Urano W, Yamanaka M, Yamanaka H, Hosoyamada M, Endou H,

- Kamatani N: A common mutation in an organic anion transporter gene, SLC22A12, is a suppressing factor for the development of gout. *Arthritis Rheum.* 52: 2576-2577, 2005.
22. Tsuji K, Yamauchi K, Yang M, Jiang P, Bouvet M, Endo H, Kanai Y, Yamashita K, Moossa AR, Hoffman RM: Dual-color imaging of nuclear-cytoplasmic dynamics, viability, and proliferation of cancer cells in the portal vein area. *Cancer Res*, 66: 303-306, 2006
 23. Nakanishi K, Matsuo H, Kanai Y, Endou H, Hiroi S, Tominaga S, Mukai M, Ikeda E, Ozeki Y, Aida S, Kawai T: LAT1 expression in normal lung and in atypical adenomatous hyperplasia and adenocarcinoma of the lung. *Virchows Arch.* 448: 142-150, 2006.
 24. Takahashi R, Ishihara H, Tamura A, Yamaguchi S, Yamada T, Takei D, Katagiri H, Endou H, Oka Y: Cell type-specific activation of metabolism reveals that beta-cell secretion suppresses glucagon release from alpha-cells in rat pancreatic islets. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 290: E308-E316, 2006.
 25. Sekine T, Miyazaki H, Endou H: Molecular physiology of renal organic anion transporters. *Am J Physiol Renal Physiol.* 290: F251- F 261, 2006.
 26. Wakui S, Yokoo K, Takahashi H, Muto T, Suzuki Y, Kanai Y, Hano H, Furusato M, Endou H: Prenatal 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl exposure modulates induction of rat hepatic CYP 1A1, 1B1, and AhR by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 210: 200-211, 2006.
 27. Shigeta, Y, Kanai, Y, Chairoungdua, A, Ahmed, N, Sakamoto, S, Matsuo, H, Kim, DK, Fujimura, M, Anzai, N, Mizoguchi, K, Ueda, T, Akakura, K, Ichikawa, T, Ito, H, Endou, H: A novel missense mutation of *SLC7A9* frequent in Japanese cystinuria cases affecting the C-terminus of the transporter. *Kidney Int.*, in press.
 28. Noshiro R, Anzai, N, Sakata, T, Miyazaki, H, Terada, T, Shin, HJ, He, H, Miura, D, Inui, K, Kanai, Y, Endou, H: The PDZ domain protein PDZK1 interacts with human peptide transporter PEPT2 and enhances its transport activity. *Kidney Int*, in press.
 29. 金井 好克 : 注目される腎関連蛋白-17: Glucose transporter2 (GLUT2)、腎と透析 59、582-584、2005。
 30. 金井 好克 : 注目される腎関連蛋白-18: Urate transporter1 (URAT1)、腎と透析 59、586-588、2005。
 31. 金井 好克 : 腎尿細管のトランスポーター : 疾患から機能へのアプローチ、日本尿路結石症学会誌 4 (2) : 1-17、2005。
 32. 金井 好克 : ことばのカルテ : アミノ酸トランスポーター、Medical Tribune 39 (2) : 34、2005。
 33. 金井 好克 : 有機カチオン/アニオントランスポーター、日本臨牀 2006 年増刊号「分子腎臓病学-分子生物学的アプローチと分子病態生理学-」 169-175、2006。
 34. 金井 好克 : アミノ酸輸送体と疾患、医学のあゆみ 216、692-698、2006。
 35. 金井 好克 : アミノ酸トランスポーター、細胞工学 25、280-286、2006。
2. 口頭発表
 1. Kanai Y: Mechanisms of membrane targeting of amino acid transporters in epithelial cells, 'Featured topics: Amino acid transporter'. *Experimental Biology 2005/XXXV International Congress of Physiological Sciences*, San Diego, USA, April 3, 2005
 2. Hirata T, Anzai N, Yokoyama H, Sabolic I, Kanai Y and Endou H:

- Functional characterization of a novel organic anion transporter OAT8 from the kidney. *Experimental Biology* 2005/XXXV International Congress of Physiological Sciences, San Diego, USA, April 4, 2005.
3. 金井好克: 有機溶質ベクトル輸送を担う輸送体分子とタンパク質間相互作用—膜輸送分子複合体の実体の解明に向けて—. 特定領域公開シンポジウム「イオン・水・小分子のベクトル輸送の分子基盤とシグナル伝達に関する研究」, 東京, 平成17年4月16日.
 4. Kanai Y: Regulation of function and localization of heterodimeric amino acid transporters by protein-protein interactions. “Symposia Regulation of ion channels and transporters through the protein-protein interactions.” The 82nd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Sendai, May 18, 2005.
 5. 安西尚彦, 宮崎博喜, 平田拓, 金井好克, 遠藤仁: 有機アニオントランスporter-OAT4 と 2 つの PDZ タンパク質の相互作用. 第 82 回日本生理学会大会, 仙台, 平成 17 年 5 月 18 日
 6. 入部雄司¹, 金井好克¹, 遠藤 仁¹, 林道也², 小川節郎²: (¹ 杏林大学医学部薬理学教室, ² 日本大学医学部麻酔科学教室): Compound A 腎症の分子機序 (7) Compound A システイン抱合体の有機アニオントランス porter (OATV1) による細胞膜輸送. 日本麻酔科学会第 52 回学術集会, 神戸, 平成 17 年 6 月 3 日.
 7. 何 新, 安西尚彦, Ho Jung Shin, 坂田武, 上野剛, 福富俊之, 遠藤仁, 金井好克: ヒト有機アニオントランスporter-hOAT2 によるニコチン酸輸送. 第 112 回日本薬理学会関東部会, 東京, 平成 17 年 6 月 18 日.
 8. 安西尚彦: PDZ タンパク質 PDZ1 による尿酸トランスporter-URAT1 輸送機能制御. 第 48 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 平成 17 年 6 月 23 日.
 9. 安西尚彦: Yeast Two-hybrid 法を用いたヒトペプチドトランスporter-PEPT2 結合タンパク質の同定. 第 48 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 平成 17 年 6 月 23 日.
 10. 安西尚彦: 新規腎尿細管有機アニオントランスporter-OAT8 の機能解析, 第 48 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 平成 17 年 6 月 23 日.
 11. Chairoungdua A, Kanai Y, Babu Ellapan, Endou H: Identification and characterization of Na⁺-independent neutral amino acid transport system L2. 第 48 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 平成 17 年 6 月 23 日.
 12. Rafiqul I, Jutabha P, Chairoungdua A,

- Hirata T, Anzai N, Kanai Y and Endou H: Transport of methylmercury through the epithelial type amino acid transport system B0. 第32回日本トキシコロジー学会学術年会. 東京, 平成17年6月29日.
13. Akagi Y, Sanuka N, Takagi F, Yokoo K, Muto T, Kanai Y, Endou H and Wakui S: Prenatal 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl exposure modulates rat testis: #2. 第32回日本トキシコロジー学会学術年会. 東京, 平成17年6月29日.
14. Takagi F, Akagi Y, Sanuka N, Yokoo K, Muto T, Kanai Y, Endou H and Wakui S: Prenatal 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl exposure modulates rat testis: #1. 第32回日本トキシコロジー学会学術年会. 東京, 平成17年6月29日.
15. Muto T, Kanai Y, Wakui S, Endou H: Expression of a system L-type amino acid transporter 1 in the rat Leydig cell tumor after prenatal exposure to di(n-butyl)phthalate. 第32回日本トキシコロジー学会学術年会. 東京, 平成17年6月30日.
16. 金井好克, 遠藤仁: 腎毒性発現機構: トランスポーター介在毒性を中心に. 第32回日本トキシコロジー学会学術年会シンポジウム「トキシコゲノミクスを用いた腎毒性発現機構の解析」. 東京, 平成17年7月1日.
17. 金井好克: トランスポーターと糖鎖、「糖鎖の生物機能に関する研究会」, 東京, 平成17年7月16日.
18. 金井好克, 安西尚彦, 平田拓, Arthit Chairoungdua, ヘテロ二量体型アミノ酸トランスポーターの局在を決定する因子、生理学研究所研究会「生体膜輸送分子複合体の分子構築と生理機能」. 平成17年7月19日, 岡崎.
19. Kanai Y: Amino acid transporters: from disease to function. International Symposium on Biological Membrane Transport 2005, Awaji Island, Hyogo, Aug 9, 2005.
20. Hirata T, Shiraya K, Jutabha P, Anzai N, Endou H and Kanai Y: Identification and characterization of a novel renal prostaglandin-specific organic anion transporter (OAT-PG) structurally distinct from PGT. International Symposium on Biological Membrane Transport 2005, Awaji Island, Hyogo, Aug 8, 2005.
21. Anzai N, Miyazaki H, He X, Ueno T, Fukutomi T, Jutabha P, Kanai Y and Endou H: Regulation of renal urate/anion exchanger URAT1 transport function by PDZ domain

- protein PDZK1: Effect of PDZK1 SNPs. International Symposium on Biological Membrane Transport 2005, Awaji Island, Hyogo, Aug 9, 2005.
22. Hirata T, Shiraya K, Jutabha P, Anzai N, Endou H and Kanai Y: Identification and characterization of a novel renal prostaglandin-specific organic anion transporter (OAT-PG) structurally distinct from PGT. International Symposium on Biological Membrane Transport 2005, Awaji Island, Hyogo, Aug 8, 2005.
23. Kanai Y: Amino acid transporters and cancer biology. BioMedical Transporters 2005-Bridging basic and applied sciences, St. Gallen, Switzerland, Aug 15, 2005.
24. Anzai N: Regulation of renal urate/anion exchanger URAT1 transport function by PDZ domain protein PDZK1: Effect of PDZK1 SNPs. BioMedical Transporters 2005-Bridging basic and applied sciences, St. Gallen, Switzerland, Aug 16, 2005.
25. 金井 好克: 腎尿細管のトランスポーター: 疾患から機能へのアプローチ. 日本尿路結石症学会第15回学術集会, 大磯, 平成17年8月26日.
26. 金井 好克: アミノ酸トランスポーター. 第2回インビトロジェン・シンポジウム「バイオサイエンスの最先端」. 湘南, 平成17年9月1日~3日.
27. 安西尚彦, 白矢勝子, 平田拓, Promsuk Jutabha, 小野里マリステラリカ, 藤乗嗣泰, 波多野亮, 真田覚, 松原光伸, 遠藤仁, 金井好克: 新規腎特異的プロスタグランジントランスポーターOAT-PGの同定と機能解析. 分子腎臓研究会第11回研究発表会, 東京, 平成17年9月3日.
28. 安西尚彦, 坂田武, 金井好克: 癌抑制遺伝子SLC5A産物SMCTの細胞内結合タンパク質の同定. 第64回日本癌学会学術総会「より個別的な治療を目指して」, 札幌, 平成17年9月13日~16日.
29. Endou H and Kanai Y: Transporter-mediated organ toxicity. ASIATOX-EC meeting, Shenyang, China, Sept 18-21, 2005.
30. Li Y, 金井正美, 平田拓, 安西尚彦, 川上速人, 遠藤 仁, 金井好克: 新規塩基性アミノ酸トランスポーターの同定と機能解析. 第113回日本薬理学会関東部会, 千葉, 平成17年10月1日.
31. 平田拓, Babu E, Rafiqul I, Hassannejad H, 安西尚彦, 遠藤仁, 金井好克: 新規有機アニオントランス

- ポーターOAT9の機能解析. 第113回日本薬理学会関東部会, 千葉, 平成17年10月1日.
32. 安西尚彦, 横山宏和, Ljubojevic M, 平田拓, 何新, Sabolic I, 金井好克, 遠藤仁: 新規腎尿細管有機アニオントランスポーターOAT8の機能解析と局在. 第113回日本薬理学会関東部会, 千葉, 平成17年10月1日.
33. Nesar A, Kongsuphol, P, Kanai, Y: Involvement of transmembrane and NH terminal intracellular domains of heavy chain subunits of heterodimeric amino acid transporters in the recognition. 第78回日本生化学大会, 神戸, 平成17年10月20日.
34. Chairoungdua A, Sanwung P, Endou H, Kanai Y.: RACK1, the L-type amino acid transporter1 (LAT1)-interacting protein, plays role in membrane targeting. 第78回日本生化学大会, 神戸, 平成17年10月20日.
35. Sangwung, P, Chairoungdua A, Jutabha P, Fujimura M, Endou H, Kanai Y: C-terminus of the heterodimeric amino acid transportere LAT1 plays role in membrane targeting. 第78回日本生化学大会, 神戸, 平成17年10月20日.
36. Kongsuphol P, Chairoungdua A, Endou H, Kanai Y: Reduction of mTOR activity by inhibited LAT1, the neutral amino acid transporter. 第78回日本生化学大会, 神戸, 平成17年10月20日.
37. Ueno T, Anzai N, Nkata T, Ekaratanawong S, Miyazaki H, Kobayashi Y, Kanai Y: Identification of intracellular binding porotein with carnitine transporter 1 (CT1) in rat brain using yeast two-hybrid screening. 第78回日本生化学大会, 神戸, 平成17年10月20日.
38. Fukutomi T, Anzai N, Sakata T, He X, Kanai Y: Interaction of PDZ domain proteins with Na⁺-dependent monocarboxylate transporter (SMCT). 第78回日本生化学大会, 神戸, 平成17年10月21日.
39. Yuewei Li, Kanai-Azuma, M, Hirata T, Anzai N, Kawakami H, Endou H, Kanai Y: Identification and characterization of a novel cationic amino acid transporter (CAT5) from the mouse placenta. 第78回日本生化学大会, 神戸, 平成17年10月21日.
40. Anzai N, Sakamoto S, Chairoungdua A, Ichikawa T, Endou H, Kanai : Role of intracellular C-terminal domain of the catalytic subunit of system ^{b,0}

- for its trafficking and the protein-protein interaction. 第 78 回日本生化学大会, 神戸, 平成 17 年 10 月 21 日.
41. He X, Anzai N, Ueno T, Fukutomi T, Endou H, Kanai Y: Transport of nicotinic acid by human organic anion transporter 1 (hOAT1). 第 78 回日本生化学大会, 神戸, 平成 17 年 10 月 21 日.
 42. Hirata T, Nimitvilai S, Ellappan B, Nomura K, Nilwarangkoon S, Mitani S, Gengyo-Ando, K, Anzai N, and Kanai: Identification and characterization of *C. elegans* cationic amino acid transporter orthologues. 第 78 回日本生化学大会, 神戸, 平成 17 年 10 月 21 日.
 43. Kanai Y: Amino Acid Transporters: Cancer target discovery. 13th NA ISSX MEETING/20th JSSX MEETING, Maui, U.S.A., Oct 26, 2005.
 44. Chairoungdua A, Kongsuphol P, Endou H, Kanai Y: Reduction of mTOR activity by inhibited the neutral amino acid transporter, LAT1. The American Society for Cell Biology. 45th Annual Meeting, San Francisco, U.S.A., Nov. 10, 2005.
 45. Hirata T, Shiraya K, Jutabha P, Anzai N, Onozato LO, Tojo A, Hatano R, Sanada S, Matsubara M, Endou H and Kanai: Identification and characterization of a novel renal prostaglandin-specific organic anion transporter (OAT-PG) structurally distinct from PGT. ASN 38th Annual Renal Week Meeting, Philadelphia, U.S.A, Nov 11, 2005.
 46. Jutabha P, Anzai N, Endou H, Kanai Y: Interaction of the multivalent PDZ domain protein PDZK1 with type I sodium-phosphate cotransporter (NPT1). ASN 38th Annual Renal Week Meeting, Philadelphia, U.S.A., Nov. 11, 2005.
 47. 平田拓, 金井好克: 塩基性アミノ酸トランスポーターの線虫オルソログの同定とその機能解析. 第 34 回杏林医学会総会, 東京, 平成 17 年 11 月 19 日.
 48. Nesar A, Chairoungdua A, 金井好克: ヘテロダイマー型アミノ酸トランスポーターの複合体形成に関わるサブユニット間の相互認識機序. 第 34 回杏林医学会総会, 東京, 平成 17 年 11 月 19 日.
 49. Li Y, 平田拓, 安西尚彦, 入部雄司, 金井好克: 塩基性アミノ酸トランスポーターCAT5 の基質認識機序の解析. 第 34 回杏林医学会総会, 東京, 平成 17 年 11 月 19 日.

50. Rafiqul I, Chairoungdua A, 平田拓, 安西尚彦, 金井好克: 上皮型アミノ酸輸送系 B0 によるメイル水銀輸送の検討. 第 34 回杏林医学会総会, 東京, 平成 17 年 11 月 19 日.
51. 何 新, 安西尚彦, 金井好克: ヒト有機アニオントランスポーター hOAT2 によるニコチン酸輸送. 第 34 回杏林医学会総会, 東京, 平成 17 年 11 月 19 日.
52. 安西尚彦, Jutabha Promsuk, 平田拓, 横山宏和, 野々口博史, 波多野亮, 真田覚, 松原光伸, 五十嵐隆, 富田公夫, 金井好克, 遠藤仁: 新規腎特異的有機アニオントランスポーター Oat5 の同定: 5/6 腎摘ラットでの mRNA 発現変動. 第 6 回腎不全病態治療研究会, 伊勢原, 平成 17 年 11 月 26 日.
53. 安西尚彦, 坂田 武, 武田理夫, 遠藤 仁, 金井好克: 有機カチオントランスポーター OCT3 (SLC22A3) の遺伝子多型 (SNPs) と輸送機能解析. 第 26 回日本臨床薬理学会年会. 別府, 平成 17 年 12 月 2 日.
54. 金井好克: 尿酸トランスポーターの薬理. 第 26 回日本臨床薬理学会年会シンポジウム「薬物トランスポーター: 最新の治験と今後の方向性». 別府, 平成 17 年 12 月 3 日.
55. 平田 拓, Sudarat N, Ellappan B, 野村一也, 三谷昌平, 安藤恵子, 安西尚彦, 金井好克: 塩基性アミノ酸トランスポーターの線虫オルソログの同定とその機能解析. 第 28 回日本分子生物学会年会, 福岡, 平成 17 年 12 月 7 日~10 日.
56. 安西尚彦, 金井好克, Chairoungdua A, 遠藤 仁: アミノ酸の細胞内取込み y 構成による抗腫瘍効果の検討. 第 3 回日本予防医学会学術総会. 金沢, 平成 17 年 12 月 10 日.
57. Chairoungdua A, Kongsuphol P, Endou H, Kanai Y: Reduction of mTOR activity by inhibited the neutral amino acid transporters, LAT1. The American Society for Cell Biology 4th Annual Meeting, San Francisco, U. S. A., Dec 15, 2005.
58. 安西尚彦, 遠藤 仁: 腎尿細管上皮細胞管腔側における有機アニオントランスポーター OATs 機能発現の分子基盤: PDZ タンパク質の役割. 生理学研究所研究会「宿主防御機構としての上皮膜機能の調節因子」, 岡崎, 平成 18 年 1 月 30 日.
59. Kanai Y: Transporters of pharmacogenomics: Recent advances in the molecular identification of SLC22 organic anion transporters. Pharmacogenomics: A Step Toward Personalized Medicine, Busan, Korea,

- Feb. 17, 2006.
60. 金井好克、遠藤仁： SLC22 有機アニオントランスポーターの最近の進展、第 79 回日本薬理学会年会シンポジウム「薬効・副作用を支配する薬物トランスポーター」，東京，平成 18 年 3 月 8 日。
61. 金井好克： 招待講演「トランスポーターの分子機能と病態」。文部科学省平成 17 年度「魅力ある大学院教育」イニシアティブ選定シンポジウム」，東京，平成 18 年 3 月 12 日。
62. 金井好克，安西尚彦，平田 拓，Chairoungdua A，上野 剛： 有機溶質上皮輸送におけるトランスポートソーム。特定領域研究公開シンポジウム「生体膜トランスポートソームの分子構築と生理機能」，東京，平成 18 年 3 月 25 日。
63. 安西尚彦，金井好克： PDZ タンパク質による有機アニオントランスポーターの制御。第 83 回日本生理学会大会シンポジウム，前橋，平成 18 年 3 月 30 日。
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予知を含む。）
該当無し。

化学物質による腎臓発現遺伝子の制御と機能調節

杏林大学医学部薬理学教室
金井 好克

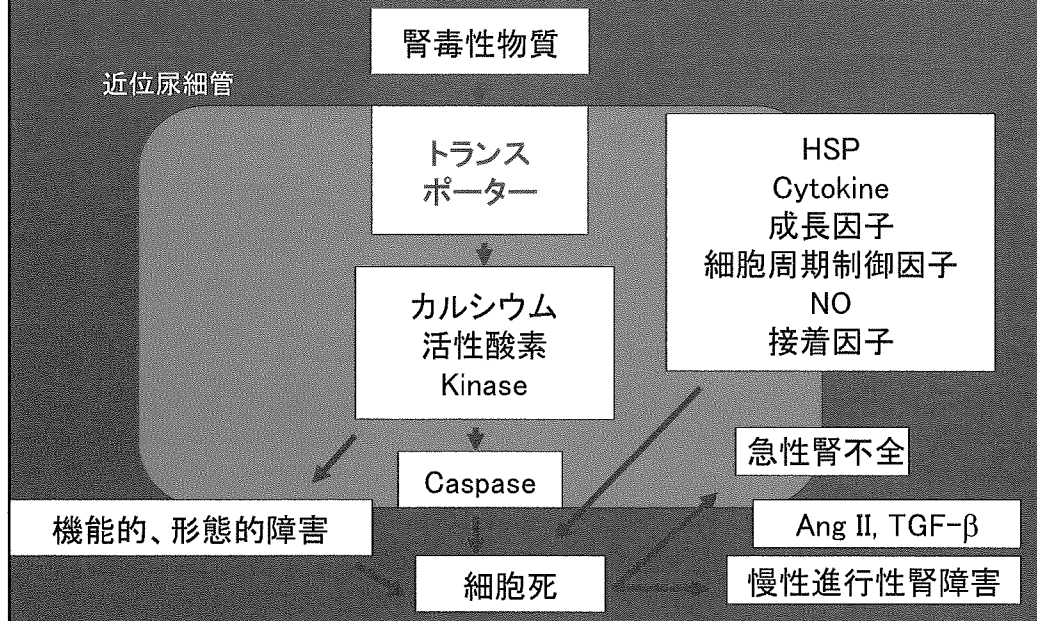
トキシコロジーとトランスポーター

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
トランスポーター介在毒性
(Transporter-mediated Toxicity)

(Kanai and Endou, J. Toxicol. Sci. 28: 1-17, 2003).

腎毒性(尿細管障害)の分子機構



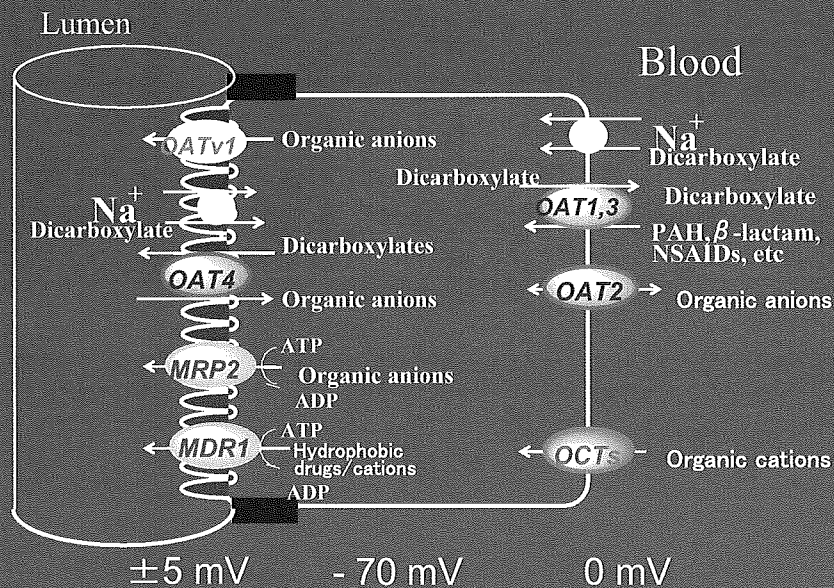
トランスポーター介在毒性 Transporter-mediated toxicity

- MPTPによるParkinson症候群
- メチル水銀による水俣病
- アニオン性薬物による尿細管障害
 - セファロリジン腎障害
 - マイコトキシンによる腎障害

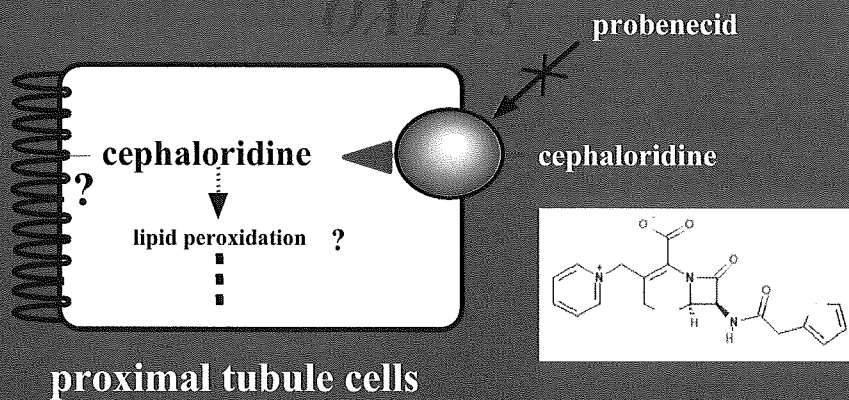
アニオン性薬物による 尿細管障害

有機アニオントランスポーターにより、薬物が尿細管上皮に取り込まれ、毒性を発揮する。

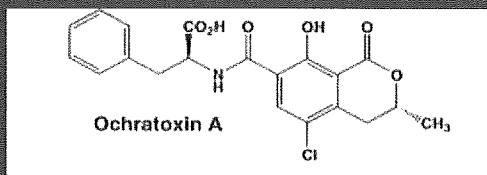
近位尿細管における有機イオン輸送メカニズム



尿細管細胞へのセファロリジンの蓄積

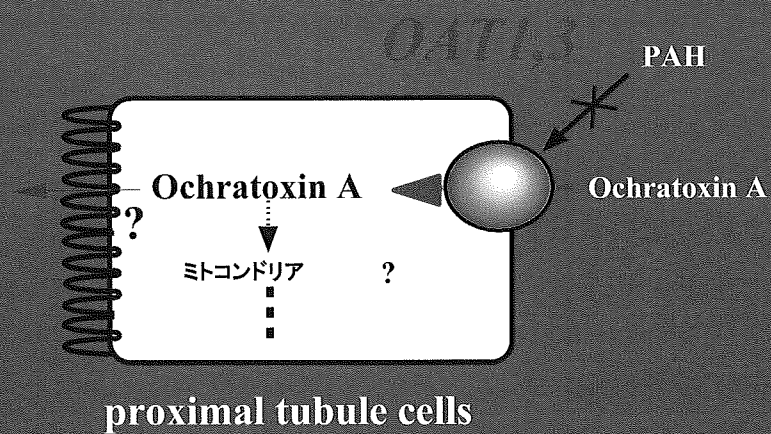


オクラトキシンA



- Aspergillus, Penicilliumの産生するマイコトキシン
- 腎毒性、癌原性を持つ
- バルカン腎症(BEN)類似の慢性間質性腎症(CIN)

尿細管細胞へのオクラトキシンAの蓄積



トランスポーター介在毒性による腎障害へのアプローチ

- 腎尿細管多選択性トランスポーターの分子同定と腎障害物質輸送活性の検討
- マイクロアレイによるトランスポーター介在毒性の分子機序の解析

トランスポーター介在毒性による腎 障害へのアプローチ

- 腎尿細管多選択性トランスポーターの分子同定と腎障害物質輸送活性の検討
- マイクロアレイによるトランスポーター介在毒性の分子機序の解析

SLC22 family orphan transporters

