有機アニオントランスポーター遺伝子群の
機能解明と制がん剤デリバリーへの応用

阿部　高明

研究のねらい

有機アニオントランスポーター遺伝子群は胆汁酸や甲状腺ホルモン、抱合型ステロイドなどの内因性化合物やジゴキシン、プラバスタチン、メトトレキセートといった薬物やオピオイドなどのペプチド化合物を輸送する蛋白質である。我々は今日までにヒトおよびラット遺伝子 15 種類以上を単離し、それまで多くの疑問があった胆汁酸、甲状腺を含めた各種ホルモン等の輸送研究を分子生物学的に明らかにした[1～19]。

ヒト肝臓特異的有機アニオントランスポーターLST-1 と相同性を有する新しいクローン LST-2 は正常ではヒト肝臓のみに弱く発現しているが胃がん、大腸がん、膵臓がんにおいて多量に発現していたこと、各種発現系の結果から LST-2 はメトトレキセートを飽和的にかつ濃度依存的に輸送すること、培養細胞への LST-2 遺伝子の導入は細胞のメトトレキセートに対する感受性を高めることから有機アニオントランスポーター遺伝子群が消化器固形がんにおいて抗がん剤に対する感受性を決定するトランスポーターであることが明らかとなった。そこで本研究では有機アニオントランスポーター遺伝子群を用いた新たながん治療法の開発を目的とした。

研究成果

我々は LST-2 を発現するアデノウイルスを作製し、アデノウイルを導入した動物細胞は効率的に各種基質を輸送することを明らかにした。さらに LST-2 を導入することによりその細胞はメトトレキセートに対する感受性が増加し、導入細胞が死にやすくなることを確認した。次にスキッドマウス皮下に移植したがん細胞に LST-2 のアデノウイルスを注入し、抗がん剤を投与したところ腫瘍細胞の著明な消退が認められ、LST-2 はがん治療に役立つことが *in vivo* レベルでも明らかとなった。そこでこのアイデアを JST より特許出願した（特許出願2）。

また、LST-2 を強制発現させた培養細胞を用いて、蛍光標識胆汁酸輸送に対する阻害力を指標として LST-2 に特異的な薬物を探し、新たな抗がん剤を探索するハイスループット検討系を確立し、製薬メーカの持つ化合物ライブラリーから LST-2 の特異基質となりうる基本薬剤の探索を開始した。更にがん細胞の質的診断に欠かせない LST-2 に対する特異的モノクローナル抗体を作製した。

LST−2 を用いた消化器固形がん特異的指向性システムの開発はその治療に役立つのみならず、転移がんや腹膜播種巣の治療にも有効な手段となりさらに放射性標識化を行いシンチグラフィーに利用することで微小がん病巣や転移病巣の画像診断を可能にする。また LST−2 に特異的に輸送される基質に抗がん剤を結合させ、細胞内に取り込まれた段階で基質から切断され作用する様に薬物をデザインすることによって副作用少ない治療法が開発できると考えられた。また LST−2 の細胞外部位に対するモ

ノクローナル機能阻止抗体を作製しスキッドマウスに移植したがん細胞に対する特異性と抗増殖作用を今後検討する予定である。

さらに我々はさきがけ研究の過程で腎臓からの薬物排泄において重要な役割を担う新規遺伝子 OATP-R を発見した[20)]。腎不全と腎透析を受ける患者の数は年々増加の一途を辿っており、毎年3万人以上が新たに透析導入されている。また高齢者は腎機能の低下によって薬物の体内蓄積が起こり、投与された薬物の予期せぬ反応や副作用が現れる。薬物の体内動態には肝臓と腎臓が大きく関与している。なかでも水溶あるいは水溶性に化学変化を受けた薬物は腎臓から尿中に排泄される。しかし排泄に関わる腎臓側の因子が解明されておらず、さらに透析では除去できない尿毒症物質の体内への蓄積が問題となっており新たな尿毒症物質の排泄システムの構築が急がれていた。我々の発見した OATP-R は血液から腎臓に薬物を送り込む輸送蛋白質で、心不全や不整脈の治療に用いられる薬物であるジゴキシンの輸送体であることが明らかになった。また OATP-R が尿毒症物の排泄に関与する重要な遺伝子であることが明らかとなった。OATP-R の発見により腎機能低下が認められる患者並びに薬剤性腎障害を発症した患者の薬物輸送蛋白質の発現プロフイールを検討し個々の患者に最適な薬剤選択や投与法を確定するオーダーメイド医療が可能になると考えられる。また尿毒症物質を排除する新たな血液浄化システムの開発と腎臓移行性を目標とした創薬のターゲットとしても今後有用であると考えられた。

今後の展開

今後、今まで抗がん剤のスクリーニングから漏れていた有機アニオン系抗がん剤のスクリーニングを積極的に行い、新たながん治療方法の開発を続ける。

また有機アニオントランスポーターを OATP-R を用いて腎不全時における腎不全物質の排出を目的とした新たな治療の開発を行い、透析導入に至までの期間の延長を図りたい。

研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. Abe, T., Suzuki, T., Unno, M., Tokui, T. and Ito, S.: Thyroid hormone transporters: recent advances. *Trends in Endocrinol. Metab.* 13: 215-220, 2002
2. Abe, T., Suzuki, T., Ito, S., Unno, M., Onogawa, T. and Tokui, T.: The Human hepatocyte-specific organic anion transporter encoded by the SLC21A8 gene. *Gastroenterology* 122: 1545-1546, 2002
3. Unno, M., Abe, T, Onogawa, T., Adachi, H., Ando, T., Ohtsuka, H., Sato, T., Katayose, Y., Suzuki, M. and Matsuno, S.: Functional analysis using adenovirus-mediated over-expression of liver-specific organic anion transporter, LST-1/OATP-C/OATP2 and LST-2/OATP8. *Hepatology* 36: 1121 Part 2 Suppl. S, 2002
4. Kodawara, T., Masuda, S., Wakasugi, H., Uwai, Y., Futami, T., Saito, H., Abe, T. and Inu, K.: Oraganic anion transporter oatp2-mediated interaction between digoxin and aminodarone in

the liver. *Pharmaceutical Res.* 19: 738-43, 2002

5. Shitara, Y., Sugiyama, D., Kusuhara, H., Kato, Y., Abe, T., Meier, P. J., Itoh, T. and Sugiyama, Y.: Comparative inhibitory effects of different compounds on rat oatp1(slc21a1)- and oatp2(slc21a5)-mediated transport. *Pharmaceutical Res.* 19: 147-153, 2002
6. Ito, A., Yamaguchi, K., Onogawa, T., Unno, M., Suzuki, T., Nishio, T. Suzuki, T., Sasano, H., Abe, T. and Tamai, M.: Distribution of organic anion-transporting polyoeotide 2 (oatp2) and oatp3 in the rat retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 43: 858-863, 2002
7. Sasaki, M., Suzuki, H., Ito, K., Abe, T. and Sugitama, Y.: Transcellular transport of organic anions across a double-transfected Madin-Darby canine kidney II cell mnolayer expressing both human organic anion-transporting polypeptide(OATP2/SLC21A6) and multidrug resistance-associated protein 2(MRP2/ABCC2). *J. Biol. Chem.* 277: 6497-6503, 2002
8. Sugiyama, D., Kusuhara, H., Shitara, Y., Abe, T. and Sugiyama, Y.: Effect of 17beta-estradiol-D-17beta-glucuronide on the rat organic anion transporting polypeptide 2-mediated transport differs depending on substrates. *Drug Metab. Dispos.* 30: 220-223, 2002
9. Kodawara, T., Masuda, S., Wakasugi, H., Uwai, Y., Futami, T., Saito, H., Abe, T. and Inui, K.: Organic anion transporter oatp2-mediated interactin between digoxin and aminodarone in the rat liver. *Pharmaceutical Res***.** 19: 738-743, 2002
10. Adachi, H., Suzuki, T., Abe, M., Asano, N., Mizutamari, H., Tanemoto, M., Nishio, T., Onogawa, T., Toyohara, T., Kasai, S., Satoh, F., Suzuki, M., Tokui, T., Unno, M., Shimosegawa, T., Matsuno, S., Ito, S. and Abe, T.: Molecular characterization of human and rat organic anion transporter OATP-D. *Am. J. Physiol.* 285: F1188-1197, 2003
11. Hagiwara, K., Nunoki, K., Ishii, K., Abe, T. and Yanagisawa, T.: Differential inhibition of the transient outward currents of Kv1.4 and Kv4.3 by endothelin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310: 634-640, 2003
12. Arima, S., Kohagura, K., Xu, H.L., Sugawara, A., Abe, T**.**, Satoh, F., Takeuchi, K. and Ito, S.: Nongenomic vascular action of aldosterone in the glomerular microcirculation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 14: 2255-2263, 2003
13. Ito, A., Yamaguchi, K., Tomita, H., Suzuki, T, Tohru, O., Sato, T., H., Mikkaichi, T., Nishio, T., Suzuki, T., Unno, M., Sasano, H., Abe, T. and Tamai, M.: Distribution of rat organic anion transporting polypeptide -E (oatp-E) in the rat eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 44: 4877-4884, 2003
14. Suzuki, T., Onogawa, T., Asano, N., Mizutamari, H., Mikkaichi, T., Tanemoto, M., Abe, M., Satoh, F., Unno, M., Nunoki, K., Suzuki, M., Hishinuma, T., Goto, J., Shimosegawa, T., Matsuno, S., Ito, S. and Abe, T.: Identification and characterization of novel rat and human gonad specific organic anion transporters. *Mol. Endocrinol.* 17: 1203-1215, 2003
15. Ohtsuki, S., Takizawa, T., Takanaga, H., Terasaki, N., Kitazawa, T., Sasaki, S., Abe, T., Hosoya, K. and Terasaki, T.: In vitro study of the functional expression of organic anion transporting polypeptide 3 at rat choroid plexus epithelial cells and its involvement in the cerebrospinal fluid-to-blood transport of estrone-3 sulfate. *Mol. Pharmacol.* 63: 532-537, 2003

16. Tanemoto, M., Abe, T., Obara, N., Abe, M, Satoh, F. and Ito, S.: Successful treatment of severe hypertension with combination of angiotensin converting enzyme inhibitor and angiotensin II receptor blocker. *Hypertension Res.* 26: 863-868, 2003
17. Kusuhara, H., He, Z., Nagata, Y., Nozaki, Y., Ito, T., Masuda, H., Meier, P. J., Abe, T. and Sugiyama, Y.: Expression and functional involvement of organic anion transporting polypeptide subtype 3(Slc21a7) in rat choroid plexus. *Pharm. Res.* 20: 720-727, 2003
18. Sato, K., Sugawara, J., Sato, T., Mizutamari, H., Suzuki, T., Mikkaichi, T., Ito, A., Onogawa, T., Tanemoto, M., Unno, M., Abe, T. and Okamura, K.: Expression of organic anion transporting polypeptide E(OATP-E) in human placenta. *Placenta* 24: 144-148, 2003
19. Unno, M. and Abe, T.: Similarity and dissimilarity of LST-1/OATP2/OATP-C (SLC21A6) and OATP8/LST-2 (SLC21A8). *J. Gastroenterol.* 38: 108-109, 2003
20. Mikkaichi, T., Suzuki, T., Onogawa, T., Tanemoto, M., Mizutamari, H., Okada, M., Masuda, S., Tokui, T., Eto, N, Abe, M., Cyaki, T., Unno, M., Hishinuma, T., Inui, K, Ito, S., Goto, J. and Abe, T.: Isolation and characterization of a digoxin transporter and its rat homologue expressed in the kidney. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 101: 3569-3574,

（2）特許出願

研究期間累積件数：4件

1. 阿部高明：「肝臓に発現している新規トランスポーター遺伝子(LST-1)」（特願平 11-156750。出願日：1999/6/2）
2. 阿部高明：「癌細胞内部への抗癌剤の選択的」（特願 2002—227543、2002/8/5）
3. 阿部高明：「腎臓の薬物排泄機能に関する有機アニオントランスポーター」（特願 2002-228131。出願日：2002/8/6）
4. 阿部高明：「新規なヒト肝特異的アニオントランスポーター及びそれをコードする遺伝子」（特願 2004-104750。出願日：2004/8/6）

（3）受賞

平成 14 年度：　ウルソ賞、
　　持田医学薬学振興財団研究奨励賞

平成 15 年度：　日本薬物動態学会奨励賞
　　東北医学会賞金賞

平成 16 年度：　三共生命科学財団研究奨励賞
　　病態代謝研究会研究奨励賞
　　宮城腎臓協会研究奨励賞

平成 17 年度：　第 78 回日本内分泌学会奨励賞