

研究課題別評価

1 研究課題名: 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

2 研究者氏名: 阿部 高明

3 研究の狙い:

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。

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。

4 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、アデノウイルス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。

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の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。

5 自己評価:

さきがけ研究期間で得られた成果により有機アニオントランスポーターががん治療に有効なツールになりうることを更に明らかにした。当初、有機アニオン系抗がん剤であるメトトレキセートを中心とした抗がん剤のスクリーニングを考えていたが、LST-1 と LST-2 を識別する抗がん剤は見つからなかった。そのためハイスループットの系を作製し、製薬会社に化合物ライブラリーの提供

あるいはスクリーニングの提案をした中で、1社が共同研究に応じてくれた。このような共同研究先をJSTが仲介するシステムを構築して頂けるとより研究が進展すると思われた。

6 研究総括の見解:

有機アニオントランスポーターLST-2遺伝子は、ヒト肝臓でのみ弱く発現しているが、すい臓がんをはじめとするヒト消化器がんで強く発現していることを見出し、がん細胞選択的に抗がん剤の導入を期待し、本研究を遂行した。LST-2遺伝子をアデノウイルスベクターで導入した動物細胞はメトトレキセートを取り込みやすく、死にやすくなり、マウス皮下に移植したLST-2遺伝子導入ヒトがん細胞の増殖が抑制されることを明らかにし、がん細胞選択的制がん剤導入によるがん治療へのユニークな方法を開発した。LST-2で特異的にトランスポートされる抗がん剤を工夫することにより、がん治療に大きく貢献するものと考えられ、さきがけ研究としてすばらしい成果を挙げたと評価する。

7 主な論文等:

論文

1. Abe, T., Suzuki, T., Unno, M., Tokui, T., 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., 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., 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., Inui, K.; Organic anion transporter oatp2-mediated interaction between digoxin and aminodarone in the liver. *Pharmaceutical Res.* 19: 738-43. (2002)
5. Shitara, Y., Sugiyama, D., Kusuhashi, H., Kato, Y., Abe, T., Meier, P. J., Itoh, T., 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., Tamai, M.; Distribution of organic anion-transporting polypeptide 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., Sugitama, Y.; Transcellular transport of organic anions across a double-transfected Madin-Darby canine kidney II cell monolayer 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., Kusuhashi, H., Shitara, Y., Abe, T., 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., Inui, K.; Organic anion transporter oatp2-mediated interaction between digoxin and aminodarone in the rat liver. *Pharmaceutical Res.* 19: 738-743. (2002)
10. Adachi, H., Suzuki, T., Abe, M., Asano, N., Mizutani, 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., 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., 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., 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., 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., 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., 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., 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. Kusuhashi, H., He, Z., Nagata, Y., Nozaki, Y., Ito, T., Masuda, H., Meier, P. J., Abe, T., 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., Okamura, K.; Expression of organic anion transporting polypeptide E(OATP-E) in human placenta. *Placenta* 24: 144-148. (2003)
 19. Unno, M., 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., Abe, T.; Isolation and characterization of novel kidney-specific digoxin transporters. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 101: 3569-3574. (2004)

特許

1. 特願平 11-156750 肝臓に発現している新規トランスポーター遺伝子(LST-1)。
2. 特願 2002-227543 癌細胞内部への抗癌剤の選択的輸送組成物。
3. 特願 2002-228131 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。
4. 特願 2004-104750 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。

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