

# Roles of transporter adaptors as regulatory mechanism for drug absorption and disposition

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Kato, Masao メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00034708">https://doi.org/10.24517/00034708</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



# 研究成果報告書

---

## 薬物動態制御因子としての トランスポーターアダプター

---

18590137

平成18年度～平成19年度科学研究費補助金  
( 基盤研究 (C) ) 研究成果報告書

平成20年5月

研究代表者 加藤 将 夫  
金沢大学自然科学研究科 准教授

金沢大学附属図書館



1300-05200-7

## 【はしがき】

近年、トランスポーター研究は国内外の多くのグループによって精力的になされ、トランスポーターが薬物動態学上、重要な働きをすることが明らかとされつつある。特に、肝臓、腎臓、小腸、血液脳関門等における薬物の生体膜透過に、これらトランスポーターが主要な役割を果たし、トランスポーター遺伝子の多型による薬物動態の個人差、あるいは、トランスポーターを介した薬物間・薬物食物間相互作用の事例などが増えている。今後、これらトランスポーターを標的とした医薬品開発や、既に医薬品とされている薬物の適正使用が期待される。

一方で、薬物トランスポーターの持つ輸送機能や、細胞膜表面での局在を制御する分子も、トランスポーターを介して薬物の生体内挙動、ひいてはその薬効や毒性に、何らかの影響を与える可能性がある。しかし、現在まで、そのような視点に立った研究は皆無であった。研究代表者加藤らは、このような観点から、薬物トランスポーターの制御因子の探索を目的とした研究を、平成 16-17 年度の文部科学省科学研究費補助金基盤研究 C「肝腎トランスポーターを介した薬物間相互作用の分子基盤」等において展開した。その結果、分子内に 2 ないし 4 つの PDZ ドメインを有する 4 つのタンパク質 (PDZK1, PDZK2, NHERF1, NHERF2 ; PDZ タンパク質群) が、腎臓や小腸の刷子縁膜に局在する薬物トランスポーター (有機アニオントランスポーター OATP-A, OAT4、有機カチオントランスポーター OCT3, OCTN1, OCTN2、ペプチドトランスポーター PEPT1, PEPT2 等) の C 末端と特異的に結合することを見いだすとともに、PDZK1 が有機カチオン/カルニチントランスポーター OCTN2 の機能制御因子であることを見いだした。

しかしながら、加藤らのこれまでの研究は、yeast two-hybrid や pull-down などの *in vitro* 試験系を用いたタンパク質間相互作用の解析が中心であり、これら PDZ タンパク質の、トランスポーターの機能や局在に及ぼす役割については、培養細胞系を用いた遺伝子共発現系において、PDZK1 と OCTN2 との関係を解明したのみである。他のトランスポーターに及ぼす PDZK1 や他の PDZ タンパク質の役割は不明である。さらには、培養細胞系で見られる現象 (PDZK1 は OCTN2 との共発現で、OCTN2 の細胞膜表面での発現量を変化させず、その輸送機能を 6 倍上昇させる) が、生体内で起こる現象を反映しているか否かも不明である。従って、PDZ タンパク質によるトランスポーター制御を *in vivo* で実証する必要がある。

本研究は、トランスポーターの持つ薬物輸送特性を、(i) PDZタンパク質存在下と非存在下で比較すること、(ii) 正常およびPDZタンパク質遺伝子欠損マウスとで比較することにより、PDZタンパク質等のアダプター分子の薬物動態的役割の解明を目指して実施され、以下の知見を得た。

1. PDZK1は薬物を輸送するトランスポーターであるPEPT1、PEPT2 (いずれもペプチドトランスポーター)、OCTN1、OCTN2 (いずれも有機カチオン/カルニチントランスポーター) の薬物輸送能に影響を与える共通の制御因子であること。一方で、PDZK2はOCTN2の制御因子であること。
2. PDZK1はPEPT1、OCTN2、有機アニオントランスポーターOATP1Aと、小腸吸収上皮細胞または腎近位尿細管刷子縁膜表面で共局在する一方、PDZK2は近位尿細管刷子縁膜直下でOCTN2と共局在すること。

3. PDZK1が小腸上部および中部細胞膜表面におけるPEPT1、OCTN2、OATP1Aの局在に必須の因子であり、PDZK1の欠損によって、これらトランスポーターの局在不全と基質薬物の吸収低下が起こること。
4. 低分子量GTP結合タンパク質Rab8が、PEPT1およびグルコーストランスポーターSGLT1の小腸細胞膜表面での局在に必須であり、Rab8の遺伝子欠損は栄養吸収不全（致死）を引き起こすこと。

以上の知見は、薬物動態制御因子としてのアダプター分子（PDZK1、Rab8）の役割を *in vivo* および *in vitro* で実証した初めての例である。特に、薬物の消化管吸収に関わる小腸吸収上皮細胞においては、複数のトランスポーターが複数のアダプターを介したネットワークとして機能することが、本研究によって初めて示され、今後の医薬品開発や臨床における医薬品の適正使用において、薬物動態を考える上での重要な知見と考えられる。

これまでのトランスポーター研究のほとんどは、個々のトランスポーター分子に着目したものであり、本研究のようにアダプター分子との相互作用を解明した例は、ごくわずかである。本研究によって、トランスポーターがアダプター分子と *in vivo* で相互作用することが実証されたことから、今後はトランスポーターの生体内での機能や役割を考える上で、アダプター分子を考慮に入れた解析が必要と考えられる。アダプターとトランスポーターを共発現させた培養細胞系は、トランスポーターのみを発現させたものに比べ、より生体に近いと考えられ、そのような共発現条件での薬物動態解析が、生体内での現象をより適切に反映させたものである可能性がある。今後は、この仮説を実証し、ヒトにおける薬物動態、薬効、毒性を定量的に予測できるシステムの開発に貢献したいと考える。

### 【研究組織】

研究代表者 : 加藤 将 夫 (金沢大学自然科学研究科 准教授)  
 研究分担者 : 辻 彰 (金沢大学自然科学研究科 教授)

### 【交付決定額】

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
平成 18 年度	2,000,000	0	2,000,000
平成 19 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総 計	3,500,000	450,000	3,950,000

## 【研究発表】

### (1) 学会誌発表

- 1) Kato Y, Sugiura M, Sugiura T, Wakayama T, Kubo Y, Kobayashi D, Sai Y, Tamai I, Iseki S, Tsuji A. Organic cation/carnitine transporter OCTN2 (Slc22a5) is responsible for carnitine transport across apical membranes of small intestinal epithelial cells in mouse. *Mol Pharmacol.* 70(3): 829-837, 2006.  
..... 1
- 2) Watanabe C, Kato Y, Sugiura T, Kubo Y, Wakayama T, Iseki S, Tsuji A. PDZ adaptor protein PDZK2 stimulates transport activity of organic cation/carnitine transporter OCTN2 by modulating cell-surface expression. *Drug Metab Dispos.* 34(11): 1927-1934, 2006 and Cover Caption of Vol. 34(11), 2006.  
..... 10
- 3) Sugiura T, Kato Y, Kubo Y, Tsuji A. Mutation in an adaptor protein PDZK1 affects transport activity of organic cation transporter OCTNs and oligopeptide transporter PEPT2. *Drug Metab Pharmacokin.* 21(5): 375-383, 2006.  
..... 19
- 4) Mitsuoka K, Kato Y, Kubo Y, Tsuji A. Functional expression of stereoselective metabolism of cephalexin by exogenous transfection of oligopeptide transporter PEPT1. *Drug Metab Dispos.* 35(3): 356-362, 2007.  
..... 28
- 5) Nishimura T, Kubo Y, Kato Y, Sai Y, Ogihara T, Tsuji A. Characterization of the uptake mechanism for a novel loop diuretic, M17055, in Caco-2 cells: Involvement of organic anion transporting polypeptide (OATP)-B. *Pharm Res.* 24(1): 90-98, 2007.  
..... 35
- 6) Kato Y, Watanabe C, Tsuji A. Regulation of drug transporters by PDZ adaptor proteins and nuclear receptors. *Eur J Pharm Sci*, (review) 27(5): 487-500, 2006.  
..... 44
- 7) Sato T, Mushiake S, Kato Y, Sato K, Sato M, Takeda N, Ozono K, Miki K, Kubo Y, Tsuji A, Harada R, Harada A. The Rab8 GTPase regulates apical protein localization in intestinal cells. *Nature* 448(7151): 366-369, 2007.  
..... 58
- 8) Nishimura T, Amano N, Kubo Y, Ono M, Kato Y, Fujita H, Kimura Y, Tsuji A. Asymmetric intestinal first-pass metabolism causes minimal oral bioavailability of midazolam in cynomolgus monkey. *Drug Metab Dispos.*, 35(8): 1275-1284, 2007.  
..... 85
- 9) Yagi Y, Aoki M, Iguchi M, Shibasaki S, Kurosawa T, Kato Y, Tsuji A. Transporter-mediated Hepatic Uptake of Ulifloxacin, an Active Metabolite of a Prodrug-type New Quinolone Antibiotic Prulifloxacin in Rats. *Drug Metab Pharmacokin.* 22(5): 350-357, 2007.  
..... 95

## (2) 口頭発表

### <招待講演>

- 1) Yukio Kato, Yoshiyuki Kubo and Akira Tsuji. Role of SLC xenobiotic transporters and their regulatory mechanisms PDZ proteins in drug delivery and disposition. 9th European Symposium on Controlled Drug Delivery, April 5-7, 2006, Noordwijk aan Zee, Netherlands.
- 2) Yukio Kato, Yoshiyuki Kubo and Akira Tsuji. PDZ adaptor proteins as regulatory mechanisms for organic cation/carnitine transporter OCT/OCTN family. The 3rd Korea-Japan Joint Symposium on Drug Delivery and Therapy, April 20-21, 2006, Hoam Faculty Center of Seoul National University, Korea.
- 3) Yukio Kato, Yoshiyuki Kubo and Akira Tsuji. Intestinal transporters as possible target for oral drug delivery. GPEN (Globalization of Pharmaceuticals Education Network) 2006, October 25-27, 2006, The University of Kansas, USA.
- 4) Yukio Kato. Role of SLC transporters and their adaptor proteins in intestinal drug absorption APSTJ Global Education Seminar 2007 (Supported by Capsugel Japan Inc), September 14, 2007, University of Tokyo, Japan.

### <一般講演>

- 1) 中村忠勝、久保義行、加藤将夫、辻 彰  
有機カチオンの組織分布におけるOCTN2の寄与  
第21回日本薬物動態学会年会、11月29日-12月1日、2006、江戸川区総合区民ホール、東京
- 2) 小野みどり、天野信之、西村友宏、久保義行、加藤将夫、辻 彰、三輪哲生  
カニクイザルにおける薬物動態特性：(3)小腸初回通過効果の定量的評価  
第21回日本薬物動態学会年会、11月29日-12月1日、2006、江戸川区総合区民ホール、東京
- 3) 加藤将夫、西村友宏、久保義行、天野信之、小野みどり、三輪哲生、辻 彰  
カニクイザルにおける薬物動態特性：(4)エトポシドの消化管吸収機構  
第21回日本薬物動態学会年会、11月29日-12月1日、2006、江戸川区総合区民ホール、東京
- 4) 杉浦智子、久保義行、加藤将夫、辻 彰  
PDZアダプタータンパク質PDZK1による発現・機能調節  
第21回日本薬物動態学会年会、11月29日-12月1日、2006、江戸川区総合区民ホール、東京

- 5) 杉本宏史、久保義行、加藤将夫、辻 彰  
PDZ タンパク質による SLC トランスポーターの機能制御と、薬物スクリーニングにおける有用性  
第 21 回日本薬物動態学会年会、11 月 29 日-12 月 1 日、2006、江戸川区総合区民ホール、東京
- 6) 高原誓子、久保義行、加藤将夫、辻 彰  
 $\beta$ -ラクタム抗生物質の胆汁中排泄における分子量閾値のメカニズム  
第 21 回日本薬物動態学会年会、11 月 29 日-12 月 1 日、2006、江戸川区総合区民ホール、東京
- 7) 矢來幸弘、青木 信、井口真紀、芝崎茂樹、黒沢 亨、加藤将夫、辻 彰  
プルリフロキサシンの肝臓取り込みにおけるトランスポーターの関与  
第 21 回日本薬物動態学会年会、11 月 29 日-12 月 1 日、2006、江戸川区総合区民ホール、東京
- 8) 大竹 亨、内海理恵、杉浦智子、西村友宏、久保義行、若山友彦、加藤将夫、井関尚一、辻 彰  
マウス小腸における有機アニオン性薬物 estrone-3-sulfate の Oatp 介在吸収  
日本薬学会第 127 年会、3 月 28-30 日、2007、富山国際会議場他、富山
- 9) 加藤将夫、杉浦智子、杉本宏史、大竹 亨、久保義行、辻 彰  
アダプタータンパク質 PDZK1 のトランスポーター機能制御による消化管吸収への影響  
日本薬剤学会第 22 年会、5 月 21-23 日、2007、大宮ソニックシティ、大宮
- 10) Tomoko Sugiura, Yukio Kato, Yoshiyuki Kubo and Akira Tsuji. Intestinal absorption of cephalixin is governed by PDZK1 as a regulatory mechanism of oligopeptide transporter PEPT1 (Slc15a1) in mice. 4th World Conference on Drug Absorption, Transport and Delivery, Kanazawa Excel Hotel Tokyu, June 20-22, 2007, Kanazawa, Japan
- 11) Yukio Kato, Tomoko Sugiura, Yoshiyuki Kubo, Tomohiko Wakayama, Shoichi Iseki and Akira Tsuji. Functional Regulation of Intestinal Oligopeptide Transporter PEPT1 by PDZ domain-containing protein PDZK1. Biomedical Transporters 2007 5th International Research Conference, August 12-16, 2007, Kursaal Congress Center, Bern, Switzerland
- 12) Yukio Kato, Yasuhito Nakadera, Mikihiro Sugiura, Yoshiyuki Kubo, Takashi Sato, Akihiro Harada and Akira Tsuji. A small GTP-binding protein Rab8 deficiency leads to mislocalization of Pept1 with a reduced absorption of cephalosporin in mouse small intestine. 8<sup>th</sup> International ISSX Meeting, Sendai International Center, October 9-12, 2007, Sendai

- 13) Tomoko Sugiura, Yukio Kato, Tomohiko Wakayama, Yoshiyuki Kubo, Shoichi Iseki and Akira Tsuji. PDZ adaptor protein PDZK1 regulates the intestinal absorption of  $\beta$ -lactam antibiotics via activation of oligopeptide transporter PEPT1 (Slc15a1) in mice. 8<sup>th</sup> International ISSX Meeting, Sendai International Center, October 9-12, 2007, Sendai
- 14) Katsuaki Ito, Hai Thien Nguyen, Yukio Kato, Yoshiyuki Kubo, Akira Tsuji. Involvement of P-gp and MRP1 in transdermal drug permeation. 8<sup>th</sup> International ISSX Meeting, Sendai International Center, October 9-12, 2007, Sendai
- 15) Tatsuya Miyazaki, Yukio Kato, Yoshiyuki Kubo and Akira Tsuji. Transporter-mediated Intestinal Absorption of Celiprolol in Mice. 8<sup>th</sup> International ISSX Meeting, Sendai International Center, October 9-12, 2007, Sendai
- 16) Keisuke Mitsuoka, Rie Utsumi, Sosuke Miyoshi, Yoshihiro Murakami, Yoshiyuki Kubo, Yukio Kato, Shintaro Nishimura, Akira Tsuji. A Novel PET Tracer for Tumor-Imaging in Human Cancer Xenografts; Potential Advantages in Differential Diagnosis between Tumor and Inflammation. 8<sup>th</sup> International ISSX Meeting, Sendai International Center, October 9-12, 2007, Sendai
- 17) Tomoko Sugiura, Yukio Kato, Yoshiyuki Kubo and Akira Tsuji. Intestinal absorption of cephalixin is governed by PDZK1 as a regulatory mechanism of oligopeptide transporter PEPT1 (Slc15a1) in mice. 2007 AAPS Annual Meeting and Exposition, November 11-15, 2007, San Diego, USA
- 18) 光岡圭介、三好荘介、村上佳裕、平岩真理子、内海理恵、久保義行、加藤将夫、西村伸太郎、辻 彰  
ペプチドトランスポーターを標的とした新規癌検出PETトレーサーの開発  
第29回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、2007、11月26-27日、仙台国際センター、仙台
- 19) 加藤 将夫、杉浦 智子、中寺 康仁、宮崎 達也、久保 義行、辻 彰  
マウス小腸に発現するペプチド(Pept1)および有機アニオントランスポーター(Oatp1a)とPDZアダプターの機能解析  
第29回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、2007、11月26-27日、仙台国際センター、仙台
- 20) 加藤清香、伊藤克彰、久保義行、加藤将夫、辻 彰  
メトトレキサートの消化管毒性に対するMrp1の寄与機構  
日本薬学会第128年かい、3月26-28日、2008、パシフィコ横浜、横浜



### (3) 出版物

- 1) 加藤将夫、内海理恵、辻 彰  
薬物輸送を制御するアダプタータンパク質  
遺伝子医学 MOOK (7) 最新創薬学 2007、杉山雄一編  
株式会社メディカルドゥ、pp. 142-148 (2007 年 4 月)
  
- 2) 加藤将夫  
トランスポーター・アダプターを介した栄養物・薬物の生体膜透過  
薬剤学 67(1): 27-31 (2007)

### **【研究成果による工業所有権の出願・取得状況】**

なし