

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2005-2008
 課題番号：17390158
 研究課題名（和文）腎特異的なストレス応答機構と異物解毒システムの機能連関解析に基づく腎障害防御戦略
 研究課題名（英文）Strategy for protection of kidney injury based on functional relation between renal specific stress response mechanisms and xenobiotic detoxication systems
 研究代表者
 齋藤 秀之（SAITO HIDEYUKI）
 熊本大学・医学部附属病院・教授
 研究者番号：40225727

研究成果の概要：虚血再灌流及び白金系抗癌薬誘発急性腎不全モデルラットにおいて、低酸素誘導因子の上昇に伴い腎近位尿細管上皮細胞に局在する有機アニオントランスポータおよび有機カチオントランスポータの発現・輸送機能が減少し、尿毒症物質やイオン型薬物の体内動態が著明に変動することを明らかにした。さらに、尿毒症物質の一つであるインドキシル硫酸がこれらトランスポータの発現変動並びに腎障害の進展に密接に関与することを突き止めた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	4,700,000	0	4,700,000
2006年度	3,600,000	0	3,600,000
2007年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2008年度	2,900,000	870,000	3,770,000
年度			
総計	14,800,000	1,950,000	16,750,000

研究分野：薬物動態学、薬物毒性学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：急性腎障害、薬剤性腎障害、薬物トランスポータ、抗癌薬、腎尿細管

1. 研究開始当初の背景

(1)腎臓は血漿の糸球体濾過とともに、尿細管における水や電解質の再吸収並びに薬物や代謝産物等の異物排泄を営んでおり、体内環境調節臓器及び解毒機構として重要な役割を担っている。従って、薬剤性腎障害、虚血性腎障害または腎炎等に伴う腎機能の低下は、体液バランスや腎特異的な異物解毒システムの破綻を生じ生命活動維持に重大な影響を及ぼす。これまで申請者等は、腎障害モデル動物において尿細管に存在する複数種の薬物輸送タンパク質群（薬物ト

ランスポータ）が各々異なる機序により遺伝子発現調節を受けること、個々のトランスポータの発現変動と薬物排泄動態との間に良好な相関が認められることを明らかにした。さらに、ヒト型腎薬物トランスポータの遺伝子発現量と薬物排泄能との相関解析に基づき、有機アニオントランスポータの臨床的な機能・役割について明らかにしてきた。一方、腎障害に伴う薬物トランスポータの発現変動が、どのような機序または生理的因子により調節されているかについては解明されていない。腎障害時に誘導

される生理因子や毒性代謝物の影響、あるいはトランスポーター発現調節に関わる細胞内因子の破綻等の関与が推測されているが、実体については解明されていない。

一方、外界からの過剰な刺激や生命を脅かす脅威（バイオストレス）に対して適応するストレス応答機構の病態生理的役割が注目されつつある。特に、ストレス応答機構を発動させる緊急シグナルとして酸素濃度の変化や毒素・環境因子等が明らかにされており、これらのストレスを感知し適応するための生理因子が複数種見出されている。虚血性腎障害時に誘導される低酸素応答因子(HIF-1)は、下流域に位置する様々な機能調節因子、組織再生因子、脂溶性薬物の尿細管分泌・解毒を担うP-糖タンパク質等の遺伝子発現調節、細胞死(アポトーシス)誘導に関わることにより、腎組織・機能障害の修復や細胞障害の防御システムに重要な役割を果たしていることが示唆されている。

2. 研究の目的

本研究課題では、腎障害モデル動物及び *in vitro* 培養細胞系を主として用い、ストレス応答関連因子(HIF、日リズム調節因子)と薬物トランスポーター群との機能的な協働及び相互作用について動物、細胞及び分子レベルで系統的に精査し、腎特異的なストレス応答機構・機能制御と異物解毒システムとの機能関連情報を基盤とした腎障害防御戦略を確立することを到達目的とした。シスプラチン、メソトレキサート(抗癌薬)やバンコマイシン(抗生物質)等の薬剤投与による急性腎障害、また虚血性・再灌流による急性腎障害に伴って尿細管異物解毒システムの異常・破綻が生じる結果、尿毒症物質等の障害性産物が腎組織や体内臓器に蓄積することで種々の組織機能障害が惹起されるが、薬物トランスポーター群を媒体とする解毒システムへの影響・関連因子については不明である。従って、ストレス応答機構と腎固有解毒システムの機能的な協働メカニズムを系統的に解明することができれば、腎障害適応機序に関する理解が進展するとともに、腎障害発症の防御あるいは修復促進を図るための選択的腎保護薬のスクリーニング系の確立等、新たなストラテジー構築が可能となる。また、本研究課題で提案する内容は、従来未着手であった研究発想を含むため、学術的な観点や特許性も含め独創性の高い研究プロジェクトを展開することができる。本研究を実施することにより、腎特異的なストレス適応機序の一端が解明されることが予想され、波及的に腎機能防御効果を示す医薬品開発戦略や薬物治療法の確立に対して新たな視点から情報を提供し得るものと期待される。特に、シスプラチン等抗癌剤投与に伴う急性腎障害の予防・軽減法の早期開発が臨床的観点からも必要とされているため、本研究の実施は緊要性が高い。

3. 研究の方法

本研究課題では、ストレス応答関連因子(低酸素誘導因子 HIF、時計関連遺伝子群)と腎固有解毒システム(尿細管薬物トランスポーター群により構築)の機能的連関(図1参照)について腎障害モデル動物、培養細胞系並びに分子・細胞生物学的手法を用いて系統的かつ多角的に分析・究明し、腎ストレス適応システムについて得られた情報を基盤とする腎障害防御法の確立を目標として、以下の研究を実施した。

(1) 虚血再灌流による急性腎障害ラットにおけるストレス応答関連因子群並びに薬物トランスポーター群の発現変動解析

1) 虚血再灌流による腎障害モデルの作成: 対象として体重約 250 g、12 週齢 Wistar 系雄性ラット(九動(株))を用い、動物実験は National Institute of Health の動物実験ガイドラインに準じて行った。ラットは、I 群: 対照群(開腹手術のみ施行)並びに II 群: 腎障害群(虚血再灌流を施行)の 2 群に分けた。血管クランプを用いて両側の腎動脈を 30 分間完全閉塞させた後開放し、腎臓を再灌流した。再灌流前、後 3, 6, 9, 12 及び 24 時間後に各群ラットを麻酔下で断頭屠殺後採血を行い、血清クレアチニン(Cr)及び血清尿素窒素(BUN)を測定した。また、膀胱内に PE-50 カテーテルを留置し、0-3 時間、3-6 時間、6-12 時間、12-24 時間毎に採尿を行い、尿量、尿中 Cr と Na 排泄量を測定する。虚血再灌流前、3, 6, 9, 12 及び 24 時間後に麻酔下断頭屠殺したラットより腎臓を速やかに摘出し、下記に示す方法に準じて mRNA 及びタンパク質を分離精製した。

2) 血液生化学値の測定: 血液生化学データ測定用の採血は麻酔下断頭屠殺後ヘパリン添加にて行い、遠心分離後血清を凍結保存した後、血清 Na、血清 K、Cr、BUN 及び血清総蛋白を測定した。血清 Cr の測定はアルカリピクリン酸法を用い、血中 BUN 測定はウレアーゼ・UV 法を用いて測定した。

3) 尿検体の測定: 尿中 Na、K および Cl 排泄量をイオン選択電極法にて測定した。尿中 Cr 測定は酵素法を用い、尿中尿素窒素はウレアーゼ UV 法を用いて測定した。

4) 腎組織検体の採取: 腎組織検体は麻酔下断頭屠殺後、直ちに採取した。摘出した腎検体は逆転写(RT)-PCR 用、病理検査用に分割して保存した。組織染色用の検体は等張リン酸緩衝液にて洗浄後 TissueTek Compound でコーティングし、液体窒素にて凍結した。RT-PCR 用検体は直ちに凍結し必要時まで -80℃にて凍結保存した。腎検体の一部は、タンパク質分解酵素阻害薬を含む緩衝液を用いてホモジナイズし、ウエスタンブロット分析に供した。腎検体の一部を用い、HE 染色により組織障害の病理検査を行った。

4-1. メッセンジャー(m)RNA の抽出: 摘出し

た腎臓を液体窒素で瞬時凍結固定した後、MagNAPureLC RNA アイソレーションキットを用いた全自動核酸抽出装置 (MagnaPureLC、ロシュダイアグノスティック社製；現有設備) により mRNA を分離精製した。

4-2. RT-PCR 法による検出: 逆転写酵素反応 (RT) を用いて RNA を鋳型とした cDNA の合成反応を行い、合成 cDNA を鋳型として degenerate プライマーを用いた PCR 増幅反応を行った。PCR 反応条件は常法に従い、プライマー条件を考慮した温度・増幅サイクル数を設定した。PCR 増幅産物はアガロースゲル電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色して検出した。

4-3. リアルタイム PCR による mRNA 定量: リアルタイム PCR 反応は、対象とする各種因子・トランスポータの遺伝子配列を基に作成した TaqMan プローブ (Applied Biosystems 社による受注販売) を用い、リアルタイム PCR 解析装置 (シーケンスディテクションシステム ABI PRISM 7900、現有設備) にて行った。

4-4. 免疫染色による腎内タンパク質発現部位の同定: 凍結保存した腎組織をクリオスタットにて薄切し、室温にて乾燥した後アセトン固定した。非特異的の反応を除去するために、二次抗体と同種の血清を用いてブロッキングした後、一次抗体を添加し室温で反応させた。薬物トランスポータに対する 1 次抗体は京都大学医学部附属病院薬剤部より供与されたものを使用した。2 次抗体はマウスまたはウサギ IgG を使用し、一定時間検体とインキュベーション後洗浄し、蛍光顕微鏡または共焦点レーザー顕微鏡 (熊本大学医学部総合研究棟の現有設備) にて染色像を観察した。

5) 各種生理因子・トランスポータの mRNA 及びタンパク質の発現解析:

5-1. ストレス応答因子の発現: 低酸素誘導因子 HIF-1 及び熱ショック誘導因子 HSF-1 に対する特異抗体を用いてウエスタンブロット分析並びに免疫染色を行い、腎臓における HIF-1 及び HSF-1 の誘導並びに発現部位について精査した。また、両因子の mRNA 発現変動についてリアルタイム PCR により検討する。mRNA 発現量の測定値は、内部標準である β -アクチンまたは 18SrRNA の発現量で補正し相対値として算出した。

5-2. 時計関連遺伝子群の発現: 虚血再灌流に伴う時計関連遺伝子 (CLOCK, BMAL1, Per2) の概日リズム振動及び発現変動についてリアルタイム PCR により比較検討した。

5-3. 薬物トランスポータ群の発現: 虚血再灌流に伴う腎尿細管有機アニオントランスポータ (OAT1, OAT3)、有機カチオントランスポータ (OCT1, OCT2)、多剤耐性獲得関連薬物トランスポータ (P-糖タンパク質 / MDR1, MRP2) の mRNA 発現をノーザンブロット分析及びリアルタイム PCR により精査した。さらに、これらトランスポータタンパク質の

発現変動及び腎内発現分布変化についてウエスタンブロット分析及び免疫染色によって調べた。

6) 統計処理: 血液生化学データ並びに mRNA 発現量の変化については、One-way analysis of variance (ANOVA) を用いた後、Scheffe's F test を行い有意差判定した。

(2) 薬剤投与による急性腎障害ラットの作成とストレス応答因子並びに薬物トランスポータ群の発現変動解析

1) シスプラチン投与による腎障害モデルの作成: 対象として体重約 250 g、12 週齢 Wistar 系雄性ラット (九動 (株)) を用いた。ラットは、I 群: 対照群 (生理食塩水投与) 並びに II 群: 腎障害群 (シスプラチン投与) の 2 群に分けた。シスプラチンの投与量は、既報に従い 5mg/kg 腹腔内投与とした。シスプラチン投与 3~5 日間後に各群ラットを麻酔下で断頭屠殺後採血を行い、血清クレアチニン及び血清尿素窒素を測定した。また、膀胱内に PE-50 カテーテルを留置し、0-3 時間、3-6 時間、6-12 時間、12-24 時間毎に採尿を行い、尿量、尿中 Cr と Na 排泄量を測定した。シスプラチン投与前、後 3~5 日後に麻酔下断頭屠殺した後腎臓を摘出し、mRNA 及びタンパク質を分離精製した。

以下、虚血再灌流腎障害において計画する実験と基本的に同様の実験を実施し、ストレス応答関連因子群並びに薬物トランスポータ群の発現に及ぼすシスプラチン腎障害の影響について評価・解析を行った。

2) 血液生化学値の測定: 前項に記載した方法に従って行った。

3) 尿検体の測定: 前項に記載した方法に従って行った。

4) 腎組織検体の採取: 前項に記載した方法に従って行った。

4-1. mRNA の抽出

4-2. RT-PCR 法による検出

4-3. リアルタイム PCR による mRNA 定量

5) 各種トランスポータの mRNA 及びタンパク質の発現解析: 前項に記載した方法に従って行った。

4. 研究成果

(1) 急性腎障害時における腎尿細管有機イオントランスポータ (Slc22a) 群の発現・機能変動

急性腎不全は、短期間で腎機能に重度の障害が生じ、体液の水・電解質異常をきたす症候群であり、他の臓器不全を伴うことが多く高い死亡率を示す。腎臓近位尿細管上皮細胞側底膜には有機イオントランスポータ (Slc22a) 群に分類される有機アニオントランスポータ (Organic Anion Transporter, OAT) 及び有機カチオントランスポータ (Organic Cation Transporter, OCT) が発現

しており、血液中の不要代謝産物や外因性異物の尿細管上皮細胞内への取り込みを媒介することから、薬物動態制御因子としての関与が示唆されている。腎疾患に伴う有機イオントランスポータ群の発現及び機能変動は、腎排泄型薬物の体内動態に影響を及ぼすと想定されるが、急性腎障害時における有機イオントランスポータの発現変動に関する報告は殆どない。そこで本研究では、虚血再灌流及びシスプラチン誘発急性腎不全モデルラットを用い、急性腎障害時における有機イオントランスポータの発現・機能変動並びに薬物動態変動との関連について精査した。

1. 虚血性急性腎障害時における有機イオントランスポータ発現・機能

虚血再灌流・急性腎不全モデルラットにおいて低酸素誘導因子 HIF-1 の発現上昇に伴い有機アニオントランスポータ rOAT1 及び rOAT3 の mRNA 及び蛋白質発現量の有意な減少が観察された。さらに、虚血再灌流ラットにおいて有機カチオントランスポータ rOCT1 及び rOCT2 mRNA 発現の有意な減少が認められた。一方、rOCT1 蛋白質発現に影響は認められなかったが、rOCT2 では蛋白質発現の顕著な減少が観察された。虚血再灌流ラットから作製した腎切片におけるパラアミノ馬尿酸 (PAH)、エストロン硫酸 (ES) 及びテトラエチルアンモニウム (TEA) の取り込み量が低下したことから、尿細管側底膜における有機アニオン及び有機カチオンの輸送活性が減少していることが明らかとなった。これらの虚血再灌流ラット尿細管側底膜における有機アニオン及び有機カチオン輸送活性の減少機序として、rOAT1、rOAT3 及び rOCT2 の発現抑制、並びに Na⁺/K⁺-ATPase 発現量低下に伴うこれらトランスポータの駆動力減弱が少なくとも一部関与する可能性が示唆された。薬物動態解析の結果から、虚血再灌流ラットにおいて rOAT1 及び rOAT3 の輸送基質である尿毒症物質インドキシル硫酸 (IS) の血中濃度が上昇すること、rOCT1 及び rOCT2 の輸送基質である TEA の腎クリアランスが低下することが観察された。また、rOAT3、rOCT1 及び rOCT2 の輸送基質である H₂ 受容体拮抗薬 famotidine の血中濃度上昇、並びに腎クリアランスの低下が認められた。IS、TEA 並びに famotidine の虚血再灌流ラットにおける体内動態変動の要因として、有機イオントランスポータの発現・機能減少が関与することが強く示唆された。さらに、虚血再灌流ラットにおいて腎刷子縁膜型 H⁺/有機カチオンアンチポータ rMATE1 (rat multidrug and toxin extrusion 1) mRNA 及び蛋白質発現の減少が認められたことから、TEA の腎クリアランス減少に rMATE1 の発現減少が関与する可能性が示唆された。

2. シスプラチン誘発腎障害時における有機イオントランスポータ発現・機能

シスプラチン (10 mg/kg) 誘発急性腎障害ラットにおいて rOAT1、rOAT3 及び rOCT2 の mRNA 及び蛋白質発現量の有意な減少が観察された。また、シスプラチン腎障害ラットにおいて rMATE1 の mRNA 発現の有意な減少と蛋白質発現の減少傾向が認められた。シスプラチン腎障害ラットから作成した腎切片における PAH、ES 及び TEA の取り込み量が低下したことから、尿細管側底膜における有機アニオン及び有機カチオンの輸送活性が減少していることが判明した。経口吸着剤 AST-120 の併用は、rOAT1、rOAT3 の mRNA 及び蛋白質発現、並びに ES 及び TEA の腎切片取り込み量を有意に回復させた。シスプラチン腎障害ラットにおいて血清中 IS 中濃度の上昇、静脈内投与後の famotidine の腎クリアランス低下が観察された。これらのシスプラチン腎障害ラットにおける IS 並びに famotidine の体内動態変動に有機イオントランスポータの発現・機能減少が関与することを明らかにした。AST-120 の併用により、シスプラチンによる腎障害の進展及び血清中 IS 濃度の上昇は有意に抑制されたが、famotidine の体内動態に対する影響は認められなかった。

血清 Mg 濃度低下時のシスプラチンの投与は、正常な血清 Mg 濃度時では腎毒性が観察されないシスプラチン投与量 (2.5 mg/kg) においても腎障害を惹起させることが示された。それに伴い、rOAT1 及び rOAT3 mRNA 及び蛋白質発現量の著しい減少並びに血清 IS 濃度の有意な上昇が観察された。また、Na⁺/K⁺-ATPase 蛋白質発現量が減少したこと、PAH 及び ES の腎切片取り込み量が有意に低下していたことから、rOAT1 及び rOAT3 の輸送機能の低下が示唆された。また、PAH 及び ES の動態解析から、両薬物の血中濃度上昇及び腎クリアランスの低下が認められた。rOCT2 mRNA 及び蛋白質発現の顕著な減少も示されたことから、腎尿細管側底膜における有機カチオン輸送活性が減少すること、カチオン性薬物の腎排泄挙動が影響を受ける可能性が示唆された。

(2) 有機イオントランスポータ発現に及ぼす IS の影響

マイクロダイセクション法により単離した近位曲尿細管 (PCT) における rOAT1、rOAT3、rOCT1 及び rOCT2 の mRNA 発現量が IS を含む medium でインキュベートすることにより減少した。また、Luciferase assay の結果より IS 及びシスプラチンは、hOAT3 プロモータ活性を減少させることが判明した。これらの結果から、腎障害時における血清 IS 濃度の上昇に伴い、rOAT1、rOAT3、rOCT1 及び rOCT2 の mRNA 発現抑制が惹起される可能性が示唆された。また、IS 及びシスプラチンは hOAT3

の mRNA 発現を転写レベルで減少させる可能性が示唆された。以上の結果から、虚血再灌流及びシスプラチン誘発急性腎不全モデルラットにおいて、腎近位尿細管側底膜に局在する有機アニオントランスポータ rOAT1 及び rOAT3、有機カチオントランスポータ rOCT2 の発現・輸送機能が減少し、尿毒症物質やアニオン性及びカチオン性薬物の体内動態が変動することを明らかにした。また、尿毒症物質の一つである IS がこれらトランスポータの発現変動に密接に関与する可能性を初めて示した。

(3)シスプラチン誘発腎障害時における有機イオントランスポータ発現・機能変動並びに薬物動態変動

シスプラチン (10 mg/kg) 誘発急性腎不全モデルラットを用いて、シスプラチン誘発腎障害時における有機イオントランスポータの発現・輸送機能変動を精査した。シスプラチン腎障害ラットにおいて rOAT1、rOAT3 及び rOCT2 の mRNA 及び蛋白質発現量の有意な減少が観察された。また、シスプラチン腎障害ラットにおいて rMATE1 の mRNA 発現の有意な減少と蛋白質発現の減少傾向が認められた。シスプラチン腎障害ラットから作成した腎切片における PAH、ES 及び TEA の取り込み量が減少していたことから、尿細管側底膜における有機アニオン及び有機カチオンの輸送活性が減少していることが判明した。シスプラチン腎障害ラットにおいて血清中 IS 中濃度の上昇、静脈内投与後の famotidine の腎クリアランス低下が観察された。これら IS 並びに famotidine のシスプラチン腎障害ラットにおける体内動態変動に腎近位尿細管に発現する有機イオントランスポータの発現・機能減少が関与することが明らかとなった。AST-120 の併用により、シスプラチンによる腎障害の進展及び血清中 IS 濃度の上昇は有意に抑制され、rOAT1、rOAT3 の mRNA 及び蛋白質発現、並びに ES 及び TEA の腎切片取り込み量の有意な回復が観察された。一方、famotidine の体内動態に対する AST-120 併用の影響は認められなかった。

血清 Mg 濃度低下時のシスプラチンの投与は、正常な血清 Mg 濃度時では腎毒性が観察されないシスプラチン投与量 (2.5 mg/kg) であっても腎障害を惹起させることが示された。それに伴い、rOAT1 及び rOAT3 mRNA 及び蛋白質発現量の著しい減少並びに血清 IS 濃度上昇が観察された。また、Na⁺/K⁺-ATPase 蛋白質発現量が減少したこと、PAH 及び ES の腎切片取り込み量が有意に低下していたことから、rOAT1 及び rOAT3 の輸送機能の低下が示唆された。また、PAH 及び ES の動態解析から、両薬物の血中濃度上昇及び腎クリアランスの低下が認められた。rOCT2 mRNA 及び蛋白質発現の顕著な減少も示されたことから、

腎尿細管側底膜における有機カチオンの輸送活性の減少すること、並びにそれに伴うカチオン性薬物の腎排泄挙動が影響を受ける可能性が示唆された。

(4)白金系抗癌薬シスプラチンの体内動態に及ぼす血清マグネシウム濃度の影響

ラットを用い、シスプラチン誘発腎障害発現における血清マグネシウム (Mg) 濃度の影響について精査した。低 Mg 食の摂食を 7 日間行うことにより、血清 Mg 濃度が低下すること、また、血清 Mg 濃度の低下に伴い、低投与量シスプラチンによって急性腎障害が惹起されることを認めた。血清 Mg 濃度の低下によるシスプラチン血漿中濃度の変動は認められなかったが、腎臓内濃度は血清 Mg 濃度の低下に伴い約 2 倍の増加が認められた。この時、シスプラチン腎取り込みに寄与する側底膜型有機カチオントランスポータ rOCT2 発現量が増加し、それに伴うカチオン性物質であるテトラエチルアンモニウムの腎切片への取り込み活性は約 2 倍に上昇した。従って、血清 Mg 濃度の低下により rOCT2 発現量が増加し、シスプラチンの腎臓への取り込みが亢進したことが、血清 Mg 濃度低下時におけるシスプラチン誘発急性腎障害の惹起に少なくとも一部関与することが示唆された。さらに、シスプラチン誘発腎障害により rOCT2 発現量は低下したが、シスプラチンの腎組織 Kp 値は増加したことから、rOCT2 の機能低下時に異なる尿細管トランスポータがシスプラチンの腎蓄積に関与することが示唆された。

以上、虚血再灌流及び cisplatin 誘発急性腎不全モデルラットにおいて、腎近位尿細管側底膜に局在する有機アニオントランスポータ rOAT1 及び rOAT3、有機カチオントランスポータ rOCT2 の発現・輸送機能が減少し、尿毒症物質やアニオン性及びカチオン性薬物の体内動態が変動することを明らかにした。また、尿毒症物質の一つである IS がこれらトランスポータの発現変動に関与する可能性を初めて示した。本研究結果は、急性腎不全の病態発症機序の究明並びに治療戦略、腎不全時の薬物動態変動機構の解明とそれに基づく医薬品適正使用に有用な基礎的知見になるものである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

Yokoo K, Hamada A, Tazoe K, Sasaki Y, Saito H. Effects of oral administration of S-1 on the pharmacokinetics of SN-38, irinotecan active metabolite, in patients with advanced colorectal cancer, *Ther Drug Monit.* in press, 2009. (査読有)

Morisaki T, Matsuzaki T, Yokoo K, Kusumoto M, Iwata K, Hamada A, Saito H. Regulation of renal organic ion transporters in cisplatin-induced acute kidney injury and uremia in rats. *Pharm Res.* 25:2526-2533, 2008. (査読有)

Matsuzaki T, Morisaki T, Sugimoto W, Yokoo K, Sato D, Nonoguchi H, Tomita K, Terada T, Inui K, Hamada A, Saito H. Altered pharmacokinetics of cationic drugs caused by down-regulation of renal rOCT2 (Slc22a2) and rMATE1 (Slc47a1) in ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury. *Drug Metab Dispos.* 36:649-654. 2008. (査読有)

Hira A, Watanabe H, Maeda Y, Yokoo K, Sanematsu E, Fujii J, Sasaki JI, Hamada A, Saito H. Role of P-glycoprotein in accumulation and cytotoxicity of amrubicin and amrubicinol in MDR1 gene-transfected LLC-PK1 cells and human A549 lung adenocarcinoma cells. *Biochem Pharmacol.* 75:973-980, 2008. (査読有)

Hirayama C, Watanabe H, Nakashima R, Nanbu T, Hamada A, Kuniyasu A, Nakayama H, Kawaguchi T, Saito H. Constitutive overexpression of P-glycoprotein, rather than breast cancer resistance protein or organic cation transporter 1, contributes to acquisition of imatinib-resistance in K562 cells. *Pharm Res.* 25:827-835, 2008. (査読有)

Matsuzaki T, Watanabe H, Yoshitome K, Morisaki T, Hamada A, Nonoguchi H, Kohda Y, Tomita K, Inui K, Saito H. Downregulation of organic anion transporters in rat kidney under ischemia/reperfusion-induced acute renal failure. *Kidney Int.* 71:539-547, 2007. (査読有)

Iwata K, Matsuzaki T, Watanabe H, Morisaki T, Ohmura T, Hamada A, Saito H. Involvement of indoxyl sulfate in renal and central nervous system

toxicities during cisplatin-induced acute renal failure. *Pharm Res.* 24:662-671, 2007. (査読有)

[学会発表](計 15 件)

Saito H. et al., Indoxyl sulfate is involved in the down-regulation of renal organic anion transporter OAT3 under ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury. The 41st Annual Meeting of American Society of Nephrology, 平成 20 年 11 月 7 日、フィラデルフィア.

Yokoo K. et al., Pathophysiological regulation of Slc22A organic anion transporters in cisplatin-induced acute kidney injury and uremia in rats. The 41st Annual Meeting of American Society of Nephrology, 平成 20 年 11 月 7 日、フィラデルフィア.

Saito H. et al., Down-regulation of organic ion transporter (Slc22A) family members by ischemia/reperfusion-induced acute renal failure, The 40th Annual Meeting of American Society of Nephrology, 平成 19 年 11 月 1 日、サンフランシスコ.

森崎崇文ら、シスプラチン誘発急性腎障害ラットにおける有機イオントランスポータ (Slc22A) ファミリーの発現・機能制御とファモチジン動態変動との関連、第 30 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、平成 19 年 11 月 26 日、仙台.

松崎尊信ら、虚血再灌流・急性腎不全ラットにおける有機アニオントランスポータ rOAT1 及び rOAT3 の発現変動解析、第 21 回日本薬物動態学会年会、平成 18 年 11 月 30 日、東京.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 秀之 (SAITO HIDEYUKI)
熊本大学・医学部附属病院・教授
研究者番号:40225727

(2) 研究分担者

濱田 哲暢 (HAMADA AKINOBU)
熊本大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号:00322313
渡辺 博志 (WATANABE HIROSHI) (平成 18 年度研究分担者)
熊本大学・薬学部・講師
研究者番号:70398220

(3) 連携研究者

野々口 博史 (NONOGUCHI HIROSHI) (平成 19 年度は研究分担者)
熊本大学・大学院・医学薬学研究部・准教授
研究者番号:30218341