

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03401

研究課題名(和文) 肝・小腸-腎臓間の異物解毒連携におけるトランスポーターに関する薬物動態学研究

研究課題名(英文) Pharmacokinetic study on transporters in the xenobiotic detoxification among the liver, small intestine and kidney

研究代表者

楠原 洋之 (Kusuhara, Hiroyuki)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・教授

研究者番号：00302612

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：トランスポーターは化合物の膜輸送に関わり、基質となる化合物の体内動態の決定要因となる。トランスポーター遺伝子クラスター欠損マウス由来組織(腎臓)のメタボローム解析を実施し、トランスポーターの生理的基質を同定することに初めて成功した。また、*in vitro*においてトランスポーター基質を探索するため、共発現細胞モデルの構築ならびに、*in vivo*外挿性の高い細胞モデルである吸収上皮細胞モデルを用いた薬物輸送評価方法を確立することに成功した。本研究により、新規トランスポーター遺伝子の基質を同定することにも成功し、基質が未同定であるオーファントランスポーターの生理機能を理解する上で重要な知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トランスポーターは薬物を初めとする多様な化合物の膜輸送に関わり、高濃度基質存在下における輸送の飽和(すなわち非線形性)、併用薬による発現誘導や機能阻害(薬物相互作用)、遺伝的要因等による個体間変動、疾病時の発現変動等により、薬物動態の変動を招く要因となる。そのため、膜輸送を担うトランスポーター分子の機能解明は重要な課題である。本研究では、メタボロミクス解析等により生理的な化合物を対象として基質を探索することで、オーファントランスポーター機能解明に成功した。その研究成果を通じて、薬物の血中動態や組織の決定要因を解明することに貢献する研究成果を得た。

研究成果の概要(英文)：Transporters are deeply involved in the pharmacokinetics of substrate compounds by mediating their membrane transport. We performed metabolome analysis of tissue (kidney) derived from transporter gene cluster-deficient mice, and succeeded in identifying the physiological substrates of transporters for the first time. In addition, in order to explore transporter substrates *in vitro*, we succeeded in constructing a co-expression cell model and establishing a drug transport evaluation method using an absorptive epithelial cell model, which is a cell model with high *in vivo* extrapolation. In this study, we also succeeded in identifying a substrate of a novel transporter gene, making great progress in understanding the physiological functions of orphan transporters whose substrates have not yet been identified.

研究分野：薬物動態学

キーワード：トランスポーター 膜輸送 基質同定 体内動態 メタボロミクス解析

## 1. 研究開始当初の背景

生体内の薬物の動態は、肝臓における薬物代謝や胆汁排泄や腎臓における尿中排泄などクリアランスと末梢臓器への組織分布により決定される。この動態特性は、薬物の標的たんぱく質への暴露を制御することを通じて、その薬効発現や有害事象発現に極めて重要な要因の1つである。さらに市販薬の大部分は経口剤であり、経口投与後の消化管吸収やアベイラビリティは経口剤開発の成否を決定する要因となる。このような肝臓や腎臓、消化管における薬物の動態において、細胞膜の透過過程に種々のトランスポーター分子が関与することが明らかにされてきた。特に、複数の薬物を基質とするトランスポーターは薬物トランスポーターと呼ばれ、細胞内への取り込み過程と細胞内からの排出過程の双方に働き、薬物の効率的な除去や吸収に不可欠の役割を果たす。このような薬物トランスポーターが体内動態に関与することで、高濃度基質存在下における輸送の飽和(すなわち非線形性)、併用薬による発現誘導や機能阻害(薬物相互作用)、

遺伝的要因等による個体間変動、疾病時の発現変動等により、薬物動態の変動を招く要因となり、その結果、通常時とは異なる薬物応答性を示すことが想定される。そのため、医薬品開発あるいは、市販後の適正使用に貢献するために、トランスポーター分子を明らかにしていくことを研究課題としている。トランスポーター遺伝子群に対して、基質が同定されていないオーファントランスポーターは多数存在しており、基質となる薬物を同定するための技術開発が必要である。近年、薬物トランスポーターの内因性基質を薬物相互作用のバイオマーカーを利用することが、医薬品開発では進められており、既存の薬物トランスポーターに対しても新たに内因性基質が同定されている。そのための技術として、生体試料中に多数に存在する化合物を網羅的に解析するメタボローム解析技術の貢献が大きい。トランスポーターの機能変動時に生体試料中で濃度の変動を示す化合物は基質となる可能性が高く、新規の基質を同定することで、その生理機能の理解を深めることができる。このような技術を利用することで、オーファントランスポーターの機能解析に成功した事例もある。オーファントランスポーターの中には、全身循環や局所の薬物動態を決定する要因として、未知のトランスポーターが存在する可能性が考えられ、そのようなトランスポーター分子の機能を解明するための技術開発に対する期待も大きい。

## 2. 研究の目的

本研究は、薬物動態において重要な組織である肝臓、腎臓、小腸における薬物トランスポーターの機能を解明するための方法論を構築することを目的とした。そのための方法論として、第1の目的として、生体試料中に存在する多数の化合物の中から、トランスポーターの機能の有無により変動を示す化合物を抽出する方法として、メタボローム解析を採用した。適用トランスポーターとして前述の背景から、SLC17A1-4を対象とした。第2の目的として、薬物動態研究が最終的にヒト薬物動態を予測することを目的としていることから、ヒト *in vitro* プラットホームの拡充は不可欠である。そのため、近年、培養方法の発見により、注目されているクリプト由来未分化細胞を活用した分化細胞を構築し、小腸における薬物吸収・分泌を評価するためのプラットホームとしての有用性を明らかにすることを目的として、以下の研究を実施した。

## 3. 研究の方法

### 1) Slc17a クラスターノックアウトマウスの作製

Slc17a1~4 はマウス染色体上にクラスターを形成している。C57BL/6J を対象として CRISPR-Cas9 システムを利用することで、Slc17a1~4 を同時に欠損したマウスを作出した。遺伝子欠損の確認は、ゲノム配列の PCR 増幅の有無で判定した。マウスを交配し、cKO ラインを確立した。遺伝子型は、マウスゲノムを増幅し、増幅される cDNA 長により判定した。2 系統のマウスの肝臓や腎臓から、RNA を常法により調製し、Slc17a1~4 の発現量を real-time PCR により確認した。作出した cKO マウスは通常食で飼育を行い、以降の研究に用いた。cKO マウスにおいて変動する内因性代謝物を検出するため、Human Metabolome Technologies 社に委託して、マウス腎臓におけるメタボローム解析を実施した。

### 2) *in vivo* 体内動態試験

マウスをイソフルラン麻酔下、ヒーターマット (Natsume Seisakusho, Tokyo, Japan) での保温下で実施した。薬物の投与は頸静脈から行った。Syringe Infusion Pump を用いて、定速持続投与した。投与開始後 20, 40, 60 分後に血液を、頸静脈から採取した。尿は試験終了時に回収した。血液は遠心し、血漿を調製した後、除タンパクを行い LC-MS/MS の解析に供した。実験終了時に、尿および臓器を摘出した。臓器はホモジネート後、除タンパクをして、LC-MS/MS 解析を行った。また尿はミリ Q 水で希釈して、LC-MS/MS 解析を行った。投与速度と実験終了時の血漿中濃度の比から全身クリアランスを、尿中排泄量と血漿中濃度(あるいは血漿中濃度の AUC) の比により、評価化合物の腎クリアランスを算出した。

### 3) 強制発現系を用いた *in vitro* 輸送実験

HEK293 細胞を宿主細胞として使用した。常法により、HEK293 細胞を培養し、トランスポーター遺伝子を導入したプラスミドをリポフェクション試薬により、細胞へ導入し、一過的に強制発現させることで過剰発現細胞を得た。トランスポーターの発現は Western blot 等により確認した他、免疫染色により細胞内局在を決定した。In vitro 輸送実験は、培地を洗浄により除いた後、評価化合物を含むバッファーを添加し、設定した時間、インキュベーションした後、細胞を氷冷したバッファーで洗浄し、細胞内への薬物蓄積量を評価した。対照にはトランスポーター遺伝子を含まないプラスミドを導入した細胞を用いた。細胞を破碎後、除タンパクした後、LC-MS/MS を用いて薬物量を定量した。膜電子による影響を評価するため、Na<sup>+</sup>イオンを、K<sup>+</sup>イオンに置換した high K<sup>+</sup>バッファーを用いて、負の膜電位の状態から中性付近の膜電子にまで変動させた。そのほかは、通常の in vitro 輸送実験と同様である。カルシニューリンの作用を共発現系により評価する場合には、トランスフェクションする総プラスミド DNA 量を 10 μg とした。

#### 4) 化合物の定量

LC-MS/MS(QTRAP5500)を用いて、各薬物に対して、液体クロマトグラフィのカラムや移動相を適切に選択し、MSのパラメータを最適化することで、分析系を構築した。テスト化合物に対して、スタンダード化合物として用いた検量線を作製し、生体試料(細胞破碎液、薬液、血漿や組織由来溶液)中の化合物濃度を定量した。希釈倍率や溶液を考慮し、薬物速度論の解析に供した。

#### 6) 腸クリプト由来分化細胞を用いた in vitro 輸送実験

既報に従い小腸クリプト(陰窩)を単離後、マトリゲルに包埋し、Wnt、Noggin、R-spondin 遺伝子導入細胞から調製した conditioned medium(CM 培地)を用いて 3 次元培養を行った。その後、WRN を含まない通常培地で培養することで、吸収上皮細胞への分化を誘導した。プレートあるいは化合物の細胞透過性評価のため、cell culture insert に播種した。WRN を含まない培地に置換後、一定期間後に分化細胞として実験に供した。cell culture insert に播種した場合は、経上皮電機抵抗値を指標として、輸送実験を行う日を決定した。常法に従い、薬液添加後、一定時間に細胞を回収して、細胞内蓄積量を比較する。あるいは頂側膜側、基底膜側に薬液を添加し、一定時間ごとに反対側の培地を回収することで、吸収方向(Apical-to-basal)および分泌方向(Basal-to-apical 方向)の経細胞輸送を決定した。

### 4. 研究成果

#### 1) SLC17A ファミリーメンバーの機能解明に関する研究

マウス染色体では、SLC17A1 4 がクラスターを形成していることから、ノックアウトマウス(cKO)を交配し、複数の系統を得、SLC17A1 4 の肝臓・腎臓の発現量が低下している系統を複数確立した。肝臓では Slc17a2 の発現がもっとも高く、Slc17a3 と Slc17a4 の発現が検出された。腎臓では、Slc17a1 と Slc17a3 の発現が同程度で認められ、Slc17a2 と Slc17a4 の発現は認められなかった。この cKO マウスを用いて、cKO および野生型マウス腎臓とで、359 化合物に注目したメタボローム解析を行った。多数の化合物を定量した中で、有意に高い濃度を示した化合物がパントテン酸(1.7 p0.05 および 2.4 p4.6E-07)であった。そのほか、3-hydroxybutylic acid および citramalic acid の腎臓中の蓄積も認められた。

メタボローム解析の結果をサポートするため、パントテン酸の標準化合物を用いて、LC-MS/MS の定量条件を構築し、通常食飼育下でマウスを飼育し、パントテン酸の血漿中濃度を定量した。その結果、メタボローム解析の結果と一致し、cKO マウスではパントテン酸濃度が 2 倍程度高い値を示すことを確認し、Slc17a1 4 の内因性基質として、新たにパントテン酸が示唆された。肝臓や腎臓内濃度を定量した結果、いずれの組織においても内因性パントテン酸濃度の増大が認められた。この機序を理解するため、パントテン酸の薬物動態試験を実施した。内因性パントテン酸と区別するため、安定同位体標識した [<sup>13</sup>C3, <sup>15</sup>N]-パントテン酸を用いて、静脈内投与後のトレーサー試験をマウスにおいて実施した。パントテン酸を静脈内の持続投与時に、尿を回収し、投与量と尿中回収量のマスバランスを確認した。マウスにおいてパントテン酸の未変化体尿中排泄は主排泄経路ではないことを確認した。内因性パントテン酸濃度は、2 つの cKO ラインで一致した結果を示すものの、 [<sup>13</sup>C3, <sup>15</sup>N]-パントテン酸に関してライン 3 では血漿中濃度が高く全身クリアランスの低下を検出したが、ライン 1 では全身クリアランスは同定であった。腎クリアランスを計測した結果、両ラインのマウスで減少傾向は認められるものの、野生型マウスとの比較において有意差を示すには至らなかった。全身クリアランスに対する寄与率が小さい(0.5%程度)ことから、腎臓内動態の変化が血中動態に与える影響は極めて小さいと考えられる。肝臓中濃度は、血漿中濃度が増大していたライン 3 で顕著に増加したものの、ライン 1 では野生型マウスと同程度であった。

In vitro で基質として同定した Acetazolamide を用いた in vivo 持続投与試験も実施したが、野生型マウスとの比較において、血漿中濃度ならびに組織中濃度において、野生型マウスと有意な変動を示す速度論パラメータは検出されず、尿中排泄も有意な変動は認められなかった。

Slc17a3/SLC17A3 遺伝子を一過性に HEK293 細胞に発現させ、薬物輸送能を確認した。mSlc17a3 も hSLC17A3 と同様に、薬物の輸送を有し、通常膜電位条件で利尿剤である

hydrochlorothiazide 等の、高 K<sup>+</sup>バッファーで置換した歳の脱分極条件で薬物の蓄積が認められ、少なくとも *in vitro* では薬物輸送能を有していることを確認した。過剰発現により増大した蓄積量が阻害剤 telaprevir により低下しており、SLC17A3 によるものであることを確認した。パントンの輸送に関しては、Slc17a3 の過剰発現により細胞内蓄積量の低下が認められ、脱分極により、過剰発現による細胞内蓄積量の低下が認められなくなった。これらの結果は、Slc17a3 が生理的な条件下で、細胞内からの排出輸送に働くことを示唆する結果である。一方で、SLC17A2 遺伝子を MDCK 細胞に導入し、細胞内局在を検討した結果、SLC17A2 遺伝子は頂側膜と側底膜への局在が認められた。当該細胞を用いて PAH の細胞内の取り込み量を評価したが、非発現細胞と同程度であり、SLC17A2 の輸送活性を検出するには至らなかった。

cKO マウスの腎臓から抽出した RNA に対して RNAseq を行い、トランスクリプトーム解析を実施した。その結果、野生型マウスとの間に有意な発現変動は認められなかった。また OATP2B1 の過剰発現 HEK に対して、RNAseq を実施したところ、導入遺伝子 (OATP2B1) 以外のトランスポーターの発現変動も複数認められた。これらのトランスポーターの機能を当該細胞を用いて評価し、発現量変動が機能と関連するか評価することは必要であるものの、オーファントランスポーター機能の解明の上で、外因性遺伝子の過剰発現による内因性トランスポーターの発現変動がアーチファクトを誘発する可能性があることを示唆する結果である。

## 2) トランスポーター機能解析方法に関する研究成果

トランスポーター解析方法として、細胞膜上の発現を増やす方法論として恒常的活性型カルシニューリンとの共発現について検討した。当初、シクロスポリン A による OATP1B 介在性薬物相互作用の機序解明を目的として、カルシニューリンの Constitutive Active 体 (CA) と酵素活性を欠損した dominant negative 体を強制発現させることで、OATP1B1 に対する発現量や輸送活性に与える影響を評価した。膜粗画分 (crude membrane) を調製し、発現量に対する影響も評価した。その結果、CA 体との共発現により、OATP1B1 の発現量が增大することを確認した。さらに発現量の増大に伴って、OATP1B1 基質の細胞内蓄積量の増加も認められた。OATP1B1 基質に対する影響は輸送活性の低い化合物に対して、より顕著であった。OATP1B1 のホモログである OATP1B3 に対して検討したところ、元の発現量が低いベクター pcDNA3.1 は CA 体の共発現により輸送活性の増大が認められたが、発現量の高い pCMV6 ベクターでは CA 体の共発現による輸送活性の増大は認められなかった。CA 体との共発現は、トランスポーター遺伝子を搭載したベクターの種類との選択にもよるが、発現量を確保する上で有用な選択肢の 1 つであると考えられる。これまで pcDNA3.1 を発現ベクターとして研究に利用してきたが、同じプラスミド量ならば、pCMV6 を用いた場合に高い発現を得ることが出来ることも確認することができた。この発現量増加の要因を解明するため mRNA の定量を行った。その結果、CA 体の共発現によりトランスポーター遺伝子の mRNA 量が増加していることを確認し、プラスミドからの転写に対してカルシニューリンが正に働いている、あるいは mRNA の分解を抑制していることが示唆された。

## 3) 消化管における薬物輸送機構の解析

小腸クリプト領域を単離し、マトリゲル中において 3D 培養することにより、拡大培養すること、継代培養の条件を構築した。さらに、培地中に添加している未分化性の維持に関わる Wnt シグナル関連物質を培地から除去、もしくは濃度を下げることによって、スフェロイドより単離した細胞から吸収上皮細胞が大部分を占める *in vitro* 腸管モデルを構築出来ることを確認した。当該細胞をトランスウェルチャンパー上で培養することにより、小腸上皮細胞様細胞の単層膜を形成し、細胞を介した薬物輸送を吸収方向ならびに分泌方向の方向性を検討することが可能となると考えた。小腸吸収上皮細胞において代表的な排出トランスポーター P-gp や BCRP の基質薬物を用いて、吸収・分泌方向の輸送を再現できることを確認した。さらに、ヒト初代培養小腸 (空腸) 上皮細胞において利尿薬 (フロセミド) の薬物透過を評価した結果、新たに分泌方向が優位となる方向性輸送が認められ、既知 BCRP 阻害剤 (Ko143)、医薬品添付文書中にロスバスタチンとの薬物相互作用が報告されている HIF1-PH 阻害剤 (vadadustat, roxadustat および daprodustat) を添加した場合、BCRP 介在性薬物相互作用が報告されている vadaustat と roxadustat ではフロセミドの分泌方向の輸送が低下しているが、daprodustat は対照群を同定であることを見出した。ロスバスタチンについても同様の作用が認められたことから、フロセミドとロスバスタチンの消化管吸収を抑制するトランスポーターの機能は同じと考えられる。いずれも水溶性の高い基質であることから、頂側膜側における排出輸送に加えて、基底膜側からの細胞内への取り込み過程もトランスポーターの関与も想定され、さらなるトランスポーター研究を実施することが不可欠である。

小腸における薬物輸送に関わるトランスポーターを解明するための基盤技術として、小腸クリプト由来の未分化細胞の調製技術を活用し、領域の異なるクリプト由来の上皮細胞を取得した。SLC17A4 や SLCO2B1 など SLC トランスポーターの発現に加えて、P-gp、BCRP、MRP2 の mRNA レベルの発現を検出した。種々薬物について、これらトランスポーターに対する阻害剤 (3 種類) を利用し、阻害剤存在化において種々薬物の細胞内蓄積量を比較した結果、薬物によって阻害剤の感受性は異なり、トランスポーターの寄与率が異なることが示唆された。すなわち、小腸では複数の排出トランスポーター分子が発現することで、多様な化合物の吸収を抑制する

ことが示唆された。小腸には、PXR 等の核内受容体の発現も認められ、典型リガンドを培地中に添加するによる標的遺伝子の発現誘導も認められた。トランスポーター介在性の薬物相互作用を広く評価できる基盤技術となり得る。

#### 4) オーフアントランスポーターの機能解明

研究代表者の研究室で細胞膜の有機カチオントランスポーターとして機能解析を行ったトランスポーターSLC35F2 について、そのホモログ SLC35F6 がミトコンドリアに発現しているとの報告に基づいて、ミトコンドリアに注目した *in vitro* 試験を行った。ミトコンドリアが毒性発現の標的とすることが知られている抗ウイルス薬 adefovir を用いて、ミトコンドリアに局在する adenylate kinase (AK4) を強制発現させ、細胞増殖に対する感受性試験を実施した。Adefovir は細胞内でリン酸化を受けることで活性体へと変換されることから、AK4 が毒性に関与する場合、AK4 の強制発現により adefovir の毒性感受性が増大することが想定される。AK4 はミトコンドリアへの局在を確認した。AK4 の発現さらに adefovir を輸送する OAT1 を一過的に発現させたが、adefovir による薬剤感受性の増加は認められなかった。SLC35F6 は、既報とは異なり、HEK293 細胞において、ミトコンドリアの局在は認められなく、リソソームへの局在が認められた。これがリソソームをターゲティングした分布によるものか、あるいは分解経路としてリソソームに局在化しているのかは不明である。SLC35F6 ホモログであるオーファントランスポーターSLC35F1 について、HEK293 細胞における細胞膜への局在を確認したことから、新たな基質化合物を探索した。その結果、複数の化合物の細胞内蓄積量が、SLC35F1 強制発現細胞で増加することを確認した。SLC35F1 の基質はこれまで明らかにされておらず、当研究により初めて、基質を明らかにするに至った。SLC35F1 の基質化合物を解明したことにより、輸送駆動力の解明や SLC35F1 の生理機能、また、SLC35F1 以外の SLC35F に属するトランスポーターの機能解明にも繋がることを期待される。OAT2、OAT7、SLC22A25、OATP2A1 の強制発現系細胞を樹立し、daprodustat の細胞内取り込み量を比較したが、非発現細胞との有意差を検出するには至らなかった。

本研究では、基質が未同定であるオーファントランスポーターの機能解析方法として、上記の通り、内因性基質に注目した解析、発現方法、*in vitro* モデルの構築の3つの視点から研究を行った。対しては、KO マウスの臓器を対象としてメタボローム解析を実施することで、Slc17a1~4 の新たな基質としてパントテン酸を同定した。強制発現系では Slc17a3 の基質となることを確認したものの、マウス血漿中濃度の変動は Slc17a3 の主たる発現組織である腎臓の動態変動とは有意差を示すほど強くは関連しておらず、cKO マウスにおけるパントテン酸の動態変動を解明するには至らなかった。内因性基質の動態解析を行う上で、安定同位体標識化合物を用いて、LC-MS/MS 上で内因性化合物と分離する方法論は、トランスポーターの発現変動による機能変動を捉える上で有益である。また、オーファントランスポーターとして SLC35F1 の基質を新たに同定し、SLC35F1 が細胞膜上でトランスポーターとして機能することを初めて実証した。SLC35F1 にはホモログが存在していることから、SLC35F1 の機能解析で得た知見を適用することで、SLC35F を軸とした生体内機能の解明に繋がるものと考えている。発現方法に関しては、偶発的な発見であるがカルシニューリン CA との共発現系の利用が有用であることを確認した。当該条件により、輸送活性の低い化合物に対する検出力の向上が期待され、オーファントランスポーターの機能解析に貢献するものである。として、小腸上皮細胞における薬物輸送機構を解明するための *in vitro* プラットホームとして、クリプト由来細胞の活用を検討した。当該細胞は消化管において重要であることが確定している排出トランスポーターの機能を有し、吸収上皮細胞における薬物の方向性輸送を解明することが可能になる。その結果に基づいて、消化管における薬物相互作用の評価に適用できることも確認し、新たにフロセミドを被相互作用薬とするトランスポーター介在性の薬物相互作用として、BCRP 阻害が示唆された。当該 *in vitro* モデル系において、細胞内への取り込みに働く SLC トランスポーターの関与を実証していくことが今後の検討課題である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Michiba Kazuyoshi, Maeda Kazuya, Shimomura Osamu, Miyazaki Yoshihiro, Hashimoto Shinji, Oda Tatsuya, Kusahara Hiroyuki	4. 巻 50
2. 論文標題 Usefulness of Human Jejunal Spheroid Derived Differentiated Intestinal Epithelial Cells for the Prediction of Intestinal Drug Absorption in Humans	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Disposition	6. 最初と最後の頁 204 ~ 213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1124/dmd.121.000796	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto Yoshiki, Michiba Kazuyoshi, Maeda Kazuya, Kusahara Hiroyuki	4. 巻 148
2. 論文標題 Quantitative prediction of pharmacokinetic properties of drugs in humans: Recent advance in in vitro models to predict the impact of efflux transporters in the small intestine and blood brain barrier	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 142 ~ 151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2021.10.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Rizki-Safitri Astia, Tokito Fumiya, Nishikawa Masaki, Tanaka Minoru, Maeda Kazuya, Kusahara Hiroyuki, Sakai Yasuyuki	4. 巻 3
2. 論文標題 Prospect of in vitro Bile Fluids Collection in Improving Cell-Based Assay of Liver Function	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Toxicology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/ftox.2021.657432	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Mochizuki Tatsuki, Mizuno Tadahaya, Maeda Kazuya, Kusahara Hiroyuki	4. 巻 37
2. 論文標題 Current progress in identifying endogenous biomarker candidates for drug transporter phenotyping and their potential application to drug development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Pharmacokinetics	6. 最初と最後の頁 100358 ~ 100358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dmpk.2020.09.003	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyake Takeshi, Kimoto Emi, Luo Lina, Mathialagan Sumathy, Horlbogen Lauren M., Ramanathan Ragu, Wood Linda S., Johnson Jillian G., Le Vu H., Vourvahis Manoli, Rodrigues A. David, Muto Chieko, Furihata Kenichi, Sugiyama Yuichi, Kusuvara Hiroyuki	4. 巻 109
2. 論文標題 Identification of Appropriate Endogenous Biomarker for Risk Assessment of Multidrug and Toxin Extrusion Protein Mediated Drug Drug Interactions in Healthy Volunteers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Pharmacology & Therapeutics	6. 最初と最後の頁 507 ~ 516
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cpt.2022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 楠原洋之
2. 発表標題 MPSによるQuantitative Systems Pharmacologyの高度化への期待
3. 学会等名 細胞アッセイ研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 楠原洋之
2. 発表標題 内因性基質を用いたトランスポーター介在性薬物相互作用の評価
3. 学会等名 題8回医薬品RSフォーラム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 楠原洋之
2. 発表標題 rediction of transporter-mediated drug-drug interactions usingthe endogenous biomarkers
3. 学会等名 16th Korea-Japan Clinical Pharmacology Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 楠原洋之
2. 発表標題 In vitro血液脳関門モデルを用いた薬物の方向性輸送に関わるトランスポーターの同定
3. 学会等名 日本薬学会第36年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梨本 遥馬、楠原洋之
2. 発表標題 肝特異的トランスポーターSLC17A2の 基質探索のための哺乳発現細胞の構築
3. 学会等名 第28回HAB研究機構学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nozomi Kubota, Tatsuki Mochizuki and Hiroyuki Kusuvara
2. 発表標題 Analysis of hepatic uptake mechanism of daprodustat, a HIF-PH inhibitor using OATP1B-expression system
3. 学会等名 日本薬物動態学会 第36回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三宅健之、水野忠快、楠原洋之
2. 発表標題 腎有機カチオントランスポーターOCT2の発現調節を担う遺伝子変異および 転写因子の探索
3. 学会等名 日本薬学会第35年会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 楠原洋之
2. 発表標題 内在性代謝物を用いた薬物トラスポーターのフェノタイピングの現状と展望
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroyuki Kusuvara
2. 発表標題 Application of Transporter Biomarkers to DDI Risk Assessment
3. 学会等名 An ISSX and IQ Consortium Virtual Workshop Event（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 楠原 洋之, 三宅 健之, 木本 絵美, Lina Luo, Lauren Horlbogen, Ragu Ramanathan, Vu H Le, Manoli Vourvahis, A. David Rodrigues, 武藤 智恵子, 降旗 謙一, 杉山 雄一
2. 発表標題 MATE1介在性薬物相互作用を検出するための内因性バイオマーカーに関する探索的臨床研究
3. 学会等名 第41回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 道場 一祥、前田 和哉、楠原 洋之
2. 発表標題 マウス消化管crypt由来分化細胞培養系を活用した消化管における薬物輸送評価系の構築に向けた基礎検討
3. 学会等名 第5回トラスポーター研究会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 道場 一祥、前田 和哉、楠原 洋之
2. 発表標題 マウス消化管crypt由来分化細胞を活用した消化管吸収評価系の構築に向けた基礎 検討
3. 学会等名 細胞アッセイ研究会「細胞アッセイ技術の現状と将来」
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	前田 和哉  (Maeda Kazuya)  (00345258)	北里大学・薬学部・教授   (32607)	
研究 分担者	水野 忠快  (Mizuno Tadahaya)  (90736050)	東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・助教   (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	Pfizer		