

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22700886

研究課題名(和文)腎癌細胞における有機アニオントランスポーターOAT1の薬剤感受性への寄与

研究課題名(英文) Involvement of organic anion transporter OAT1 on the chemo-sensitivity in renal cancer cells

研究代表者

鈴木 絵里子 (Suzuki, Eriko)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：00468513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：腎癌への化学療法は、現在、その感受性の低さから不可能とされている。そこで我々は、腎癌細胞における有機アニオン系化合物取り込みに関与するトランスポーターであるOAT1に着目し、これらの発現を制御することによって腎癌化学療法を再び可能にすることを目標に研究を行った。結果、OAT1発現腎癌細胞において、アニオン性抗がん剤の効率的取り込み、および細胞死の誘導が確認された。EGFP-OAT1過剰発現細胞を用いたin vivoイメージングを当初計画していたが、画像取得装置の不備により計画を断念した。

研究成果の概要(英文)：Kidney cancer cells are usually resistant to chemotherapy, therefore chemotherapy has not been a standard treatment for kidney cancer. We focused on organic anion transporter OAT1 expressed in renal glomerular endothelial cells and involved in resorption of general drug. Our study demonstrated that OAT1 expressing kidney cancer cells exhibits increased cell death concomitant with increased incorporation of anionic cancer drug including vincristine. In vivo imaging using EGFP-OAT1 overexpressing cells was as first planned, however it was abandoned due to the absence of appropriate image-capturing system.

研究分野：総合領域

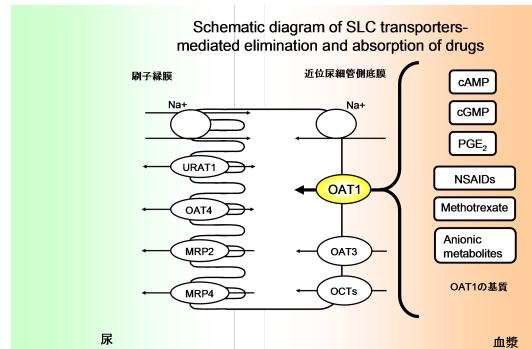
科研費の分科・細目：腫瘍学

キーワード：がん細胞の特性

### 1. 研究開始当初の背景

トランスポーターとは、医薬品を含む低分子化合物の細胞膜透過を制御し、細胞内への取り込みあるいは排出を担う膜タンパク質群の総称である。これらは、肝臓、腎臓、小腸など体内のさまざまな組織に発現し、薬物、内因性物質の吸収、分布、排泄に重要な役割を果たしている。特に異物解毒にとり重要な組織である腎臓には、異物排泄に働く薬物トランスポーター群が発現し、これまで多くの *in vivo*, *in vitro* の研究により、トランスポーターの組織特異的発現は、基質薬物の組織分布や消失経路、また薬効や毒性の重要な決定因子となっていることが明らかとなってきた。生体に投与された薬物の多くは肝臓を中心とする臓器における薬物代謝酵素によって極性が付与されて水溶性代謝物に変換される。これら代謝薬物はプラス乃至マイナスの荷電を有するが、それらの多くは有機陰イオンであり、細胞膜の透過に際して特異的な輸送膜タンパク質、即ちトランスポーターが必要である。腎癌を始めとする固形腫瘍においては、薬剤排出型トランスポーターP糖タンパク、MRPなどの薬剤耐性への関与が報告されているが、薬剤の取り込みに働くトランスポーターの関与については、未解明な点が多かった。近年、methotrexateを含む、低分子量で比較的親水性の高い薬物や一部の両親媒性有機アニオン化合物の取り込みに関して、腎臓近位尿細管上皮細胞表面に発現する、複数のOrganic Anion Transporter (OAT)が同定され、上記の化合物の尿細管分泌に関与することが示唆された。このトランスポーターは、脳や肝臓にも弱いながら発現は見られるが、最も高発現しているのが腎の近位尿細管である。そこで、その大部分が近位尿細管から派生するとされる腎癌においては、OATのような薬剤を一過的に取り込むトランスポーターの発現低下が、既存の化学療法への抵抗性をもたらす要因となり得ると考えた。

即ち、化学療法に対して抵抗性を示す腎癌における、抗癌剤の取り込み型トランスポーターであるOAT1の発現調節機構および薬剤耐性への寄与の解析は、腎癌における薬剤耐性獲得の新たな機序の解明に繋がると考えられる。



### 2. 研究の目的

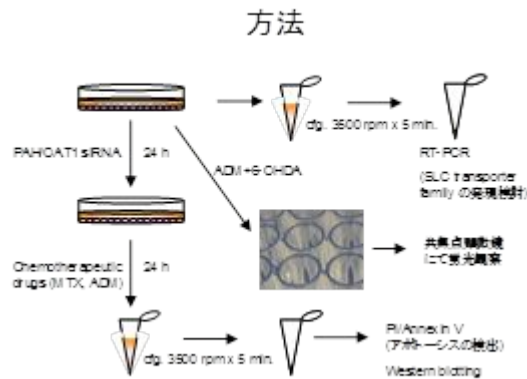
本研究の目的は、以下の3点に分類される。

- (1) OAT1の基質特異性・発現調節機構の解明：カチオン性およびアニオン性薬物および代謝物の取り込みにかかわるOAT1に焦点を絞り、遺伝子レベルで発現調節を担う因子を特定する。
- (2) 腎癌臨床倦怠における検討：OAT1の発現レベルと腎癌の悪性度・予後との相関の検討
- (3) 動物体内での解毒・排出機能を明らかにする。：分子機構解析と共に、動物の生体内における分子の挙動を追う。

### 3. 研究の方法

OATトランスポーターファミリーの発現につき、PCR法を用いて種々の腎癌細胞について検討を行い、トランスポーター発現レベルの高い細胞を用いて、ノックダウンによる抗癌剤感受性の向上をapoptosis検出により定性・定量評価する。さらに、トランスポーターの阻害剤処理により同様の結果が得られるか否かを検討する。併行して、臨床検体におけるOAT1発現レベルと、患者のデータから腎癌悪性度、腫瘍の種類や部位、予後などについて情報を収集し、発現レベルとの相関

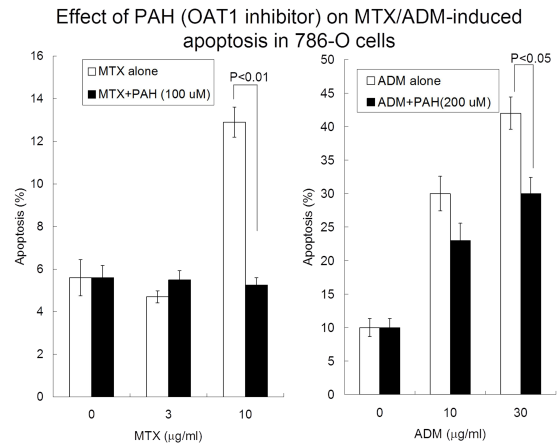
を評価する。また、in vivo イメージングにより、EGFP-OAT1 の過剰発現細胞の担癌マウスへの導入により、抗癌剤投与による腫瘍縮小効果が増大するか否かを評価する。



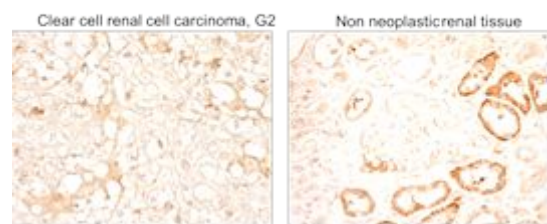
#### 4. 研究成果

OAT1 発現 786-O 腎癌細胞において、アニオン性抗癌剤の効率的取り込み、および細胞死の誘導が確認された。さらに、この効果は、カチオン性抗癌剤であるアドリアマイシンによっても認められた。さらに、抗癌剤感受性の増加は、OAT1 発現腎癌細胞においてのみ認められ、その効果は p-aminohippuric acid (PAH, OAT1 阻害剤)によって減弱し、同様に OAT1 の siRNA によるノックダウンによっても、抗癌剤処理による細胞死誘導効果の低下が認められた。以上のことより、OAT1 は、アニオン性の抗癌剤の細胞内取り込み (ADM)EGFP-OAT1 過剰発現細胞を用いた in vivo イメージングを当初計画していたが、画像取得装置の不備により計画を断念した。慶應義塾大学病院より供与された、腎癌患者の臨床検体(組織切片)の免疫組織染色の結果、患者の正常な腎臓組織においては、特に近位尿細管周辺部位における OAT1 の発現が確認されたものの、腫瘍部位においては、OAT1 発現の低下が認められた。即ち、腎癌組織においても、腫瘍では OAT1 発現を低下させる機序があり、これが腎癌が抗癌剤に対して抵抗性を有する(抗癌剤の取り込みに関与するトランスポーターの発現低下)要因の一つと

なっていることが示唆された。



#### Expression profile of OAT1 in renal tissue



#### 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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

[その他]  
 ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 絵里子 (SUZUKI, Eriko)

国立大学法人東京農工大学・大学院農学研  
究院・助教

研究者番号：00468513

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：