

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23790168
 研究課題名（和文） 腎臓特異的有機アニオントランスポーターSLCO4C1の輸送特性解析
 研究課題名（英文） Characterization of kidney specific organic anion transporter SLC04C1
 研究代表者
 山口 浩明（YAMAGUCHI HIROAKI）
 北海道大学・大学院薬学研究院・准教授
 研究者番号：80400373

研究成果の概要（和文）：本研究では、SLCO4C1の新規輸送基質の探索およびヒト培養腎細胞HK-2におけるSLCO4C1の寄与について評価した。その結果、SLCO4C1はキノリン酸やインドール-3-酢酸などの一部の尿毒症物質を輸送基質とすることが明らかとなった。さらに、ジゴキシンやウアバインなどの強心配糖体の腎排泄過程において重要な役割を担っていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Novel substrates for SLC04C1 were searched and the contribution of SLC04C1 to the renal uptake of the substrates in renal proximal tubular epithelial cells HK-2 cells was examined. As results, quinolinic acid and indole-3-acetate were found as novel substrates for SLC04C1. SLC04C1 mainly contributes to renal uptake of digoxin and ouabain in HK-2 cells.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医療薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：薬物動態・代謝学、異物排泄、トランスポーター

1. 研究開始当初の背景

(1) SLCO4C1は、ヒトにおいて腎臓で機能している唯一のSLCO(OATP)ファミリーのメンバーであることから、イオン性化合物の腎排泄に関与している可能性が大きい。特に、腎臓において重要な役割を担っている有機カチオントランスポーターOCT2や有機アニオントランスポーターOAT1、OAT3によって説明がつかない薬物の尿細管取り込み機構として働いている可能性が高い。

(2) 研究代表者らはSLCO4C1トランスジェニックラットを用いた検討を行い、ラット腎臓にヒトSLCO4C1を過剰発現させると、腎不全時における尿毒症物質の血中濃度が低下し、血圧低下を示すことを明らかにした

(J. Am. Soc. Nephrol., 20: 2546-2555, 2009)。現在、腎不全を患い血液透析を受けている患者数は、国内で毎年約1万人ずつ増えている。腎機能の低下により、薬物や尿毒症物質が体内に蓄積しやすくなり、腎臓の細胞が傷害され腎機能がさらに低下するといった負のスパイラルが起こる。SLCO4C1分子の詳細な把握は、薬物動態を理解するとどまらず、病態生理学的にも非常に重要である。

(3) 研究代表者らは、新規輸送基質（エストロン硫酸、胆汁酸）を発見し、さらに基質認識部位が複数存在することを見出している（Drug Metab. Pharmacokinet., 25: 314-317, 2010）。

(4) しかしながら、SLCO4C1 発現系を用いた輸送機能解析は進展していない。その背景として SLCO4C1 発現系の作成・維持が困難であることが推察される。

2. 研究の目的

SLCO4C1 の薬物動態学的かつ病態生理学的意義を明らかにするため、SLCO4C1 を介した基質輸送特性に関する詳細な検討を行う。

3. 研究の方法

(1) SLCO4C1 発現細胞における尿毒症物質の取り込みを評価した。

(2) ヒト正常腎近位尿管上皮細胞株 HK-2 におけるジゴキシンおよびウアバインの輸送解析を行った。

4. 研究成果

(1) 種々の尿毒症物質が SLCO4C1 の輸送基質となることが推察されていることに関して、それら化合物の SLCO4C1 発現細胞における取り込みを評価することとした。キノリン酸、インドール-3-酢酸についての取り込み評価を行ったところ、SLCO4C1 発現細胞における優位な取り込みが観察された (図 1)。

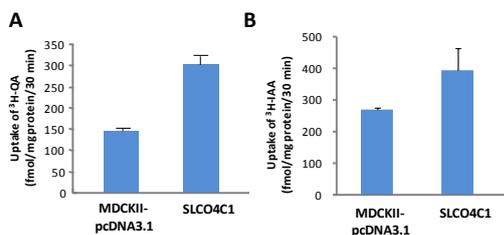


図 1 SLCO4C1 を介したキノリン酸 (A) とインドール-3-酢酸の輸送 (B)

(2) ①ヒト近位尿管由来 HK-2 細胞におけるジゴキシン取り込みに関して、SLCO4C1 の寄与を検討した。ジゴキシン取り込みは、ウアバインの添加により 25%まで取り込みが低下した (図 2)。このとき、P-糖タンパク質の阻害剤であるシクロスポリン添加によってジゴキシンの取り込みは上昇した。②経細胞輸送実験を行ったところ、ジゴキシン、ウアバインは側底膜輸送過程において強く相互に阻害することが明らかとなった (図 3)。したがって、SLCO4C1 を介した血管側からの取り込み過程がこれらの薬物の排泄に重要であることが示された。一方でジゴキシンおよびウアバインとシクロスポリンの相互作用は、頂側膜側すなわち尿管側で起こることが示唆された。頂側膜側に発現している P-糖タンパク質を阻害した結果によるものと考えられる。

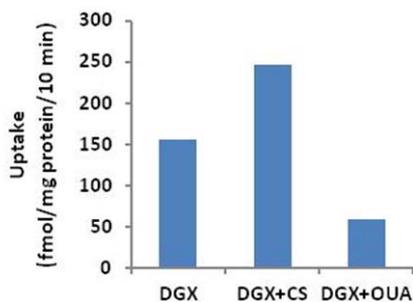


図 2 HK-2 細胞におけるジゴキシン取り込みにおよぼすウアバインとシクロスポリンの影響

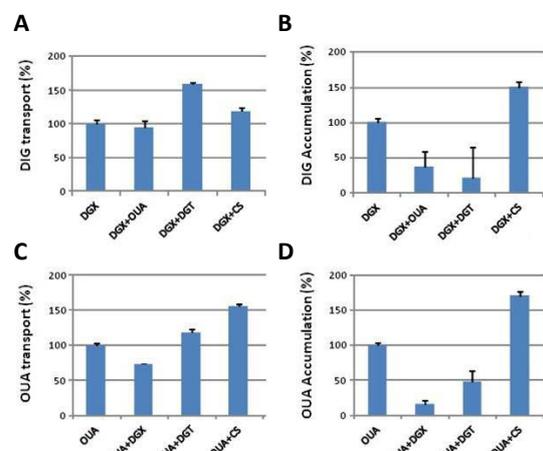


図 3 HK-2 細胞におけるジゴキシンおよびウアバインの経細胞輸送 (A、C) と細胞内蓄積量 (B、D)

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 11 件)

(1) 伊藤創、山口浩明ら、他 8 名 (2 番目)、Quantification of intact carboplatin in human plasma ultrafiltrates using hydrophilic interaction liquid chromatography/tandem mass spectrometry and its application to a pharmacokinetic study, Journal of Chromatography B, 917-918 巻、2013、18-23、査読有
DOI: 10.1016/j.jchromb.2012.11.024

(2) 駒澤宏紀、山口浩明ら、他 4 名 (2 番目)、Renal Uptake of Substrates for Organic Anion Transporters Oat1 and Oat3 and Organic Cation Transporters Oct1 and Oct2 is Altered in Rats with Adenine-Induced Chronic Renal Failure, Journal of Pharmaceutical Sciences, 102 巻、2013、

1086-1094、査読有
DOI: 10.1002/jps.23433

(3) 山口浩明ら、他11名(1番目)、Quantitative determination of paclitaxel and its metabolites, 6a-hydroxypaclitaxel and *p*-3'-hydroxypaclitaxel, in human plasma using column-switching liquid chromatography/tandem mass spectrometry、Biomedical Chromatography、27 巻、2013、539-544、査読有
DOI: 10.1002/bmc.2826

(4) 三枝大輔、芝可奈子、山口浩明ら、他13名(11番目)、Simultaneous quantitation of sphingoid bases and their phosphates in biological samples by liquid chromatography/ electrospray ionization tandem mass spectrometry、Analytical and Bioanalytical Chemistry、403 巻、2012、1897-1905、査読有
DOI: 10.1007/s00216-012-6004-9

(5) 小林正紀、日高和宏、山口浩明ら、他6名(8番目)、スタチンの骨格筋障害に及ぼす酸・アルカリ化誘導剤の影響、YAKUGAKU ZASSHI、132 巻、2012、609-615、査読有
https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/132/5/132_5_609/_pdf

(6) 小倉次郎、寺田悠介、山口浩明ら、他11名(13番目)、The Decrease in Farnesoid X Receptor, Pregnane X Receptor and Constitutive Androstane Receptor in the Liver after Intestinal Ischemia-Reperfusion、Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences、15 巻、2012、616-631、査読有
<http://ejournals.library.ualberta.ca/index.php/JPPS/issue/view/1388>

(7) 小倉次郎、桑山果織、山口浩明ら、他11名(13番目)、Intestinal Ischemia-Reperfusion Increases Efflux for Uric Acid Via Paracellular Route in the Intestine, but Decreases that Via Transcellular Route Mediated by BCRP、Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences、15 巻、2012、295-304、査読有
<http://ejournals.library.ualberta.ca/index.php/JPPS/issue/view/1237>

(8) 伊藤創、山口浩明ら、他10名(2番目)、A full validated hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the quantification of oxaliplatin in human

plasma ultrafiltrates、Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis、71 巻、2012、99-103、査読有
DOI: 10.1016/j.jpba.2012.08.010

(9) 山口浩明ら、他11名(1番目)、A rapid and sensitive LC/ESI-MS/MS method for quantitative analysis of docetaxel in human plasma and its application to a pharmacokinetic study、Chromatography B、893-894 巻、2012、157-161、査読有
DOI: 10.1016/j.jchromb.2012.02.003

(10) 鳴海克哉、小林正紀、山口浩明ら、他8名(9番目)、Regulation of human monocarboxylate transporter 4 in skeletal muscle cells: The role of protein kinase C (PKC)、International Journal of Pharmaceutics、428 巻、2012、25-32、査読有
DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.02.021

(11) 古堅彩子、山口浩明ら、他10名(2番目)、Quantification of intracellular and extracellular prostanoids stimulated by A23187 by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry、Journal of Chromatography B、879 巻、2011、3378-3385、査読有
DOI: 10.1016/j.jchromb.2011.09.003

[学会発表] (計10件)

①古堅彩子、山口浩明、田中伸明、椎田成美、井関健、Contribution of multidrug resistance-associated proteins (MRP) to the release of prostanoids from human lung adenocarcinoma epithelial A549 cells、日本薬物動態学会 第27回年会、2012年11月20日、タワーホール船堀(東京都)

②阿部高明、山口浩明、後藤順一、眞野成康、SLC01B3-specific compound LST-02、日本薬物動態学会 第27回年会、2012年11月20日、タワーホール船堀(東京都)

③山口浩明、DCF療法における各抗がん薬血中濃度の解析、第46回医療薬学公開シンポジウム(招待講演)、2012年07月28日、にぎわい交流館(秋田県)

④小林正紀、合田圭祐、知寄郁美、山口浩明、井関健、Statins regulate multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2, ABC2) expression and function: involvement of SREBP-1 mediated gene regulation、日本薬物動態学会第26年会、

2011年11月16日、広島国際会議場（広島県）

⑤小倉次郎、桑山果織、高谷厚、寺田悠介、辻本高志、小泉貴寛、山口浩明、井関健、The decrease in bcrp transport activity after intestinal ischemiareperfusion、日本薬物動態学会第26年会、2011年11月16日、広島国際会議場（広島県）

⑥古堅彩子、山口浩明、井関健、LC/MS/MS analysis of extracellular and intracellular prostanooids in cultured cells: evaluation of functional importance of mrp4 in prostanoid release、日本薬物動態学会第26年会、2011年11月16日、広島国際会議場（広島県）

⑦伊藤創、山口浩明、藤川あす歌、山田武宏、眞野成康、井関健、抗悪性腫瘍薬オキサリプラチンのHILIC/MS/MSによる血中濃度測定法の確立、第22回クロマトグラフィー科学会議、2011年10月22日、東北大学（仙台市）

⑧山口浩明、藤川あす歌、伊藤創、田中申明、山田武宏、眞野成康、井関健、LC/ESI-MS/MSによる血中ドセタキセルの簡易定量法の構築とその臨床応用、第22回クロマトグラフィー科学会議、2011年10月22日、東北大学（仙台市）

⑨落合愛美、小林正紀、川岸亨、笠師久美子、山口浩明、山田武宏、井関健、臨床検査値の変動から推測されるスタチン系薬物由来の副作用発生率の解析研究、第21回日本医療薬学会年会、2011年10月1日、神戸国際会議場（兵庫県）

⑩大竹翔、鳴海克哉、小林正紀、山口浩明、井関健、PKCを介した糖代謝制御およびMCT4発現変動への関連性、第21回日本医療薬学会年会、2011年10月1日、神戸国際会議場（兵庫県）

〔その他〕

ホームページ等

北海道大学大学院薬学研究院・生命科学院
臨床薬剤学研究室

<http://rinyaku.pharm.hokudai.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 浩明 (YAMAGUCHI HIROAKI)

北海道大学・大学院薬学研究院・准教授

研究者番号：80400373

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし