

東京大学大学院薬学系研究科 教授

杉山 雄一

「異物排除システムの分子基盤」

## 1. 研究実施の概要

生体は、免疫系とは異なる防御機構として、医薬品を含めた広範な低分子異物に対する排除機構を獲得してきた。この排除機構に関与する蛋白質には、多様性、遺伝的多型の存在、大きな種差、広範な基質特異性という共通の特性が存在する。一方、基幹となる排除機構の遺伝的欠損は、病態発症に密接に関連している。従来、異物排除機構としては代謝反応に関する精力的な検討がなされてきたが、細胞膜上に発現されるトランスポーターも異物排除において重要な役割を果たす。本研究は、トランスポーターによる排除機構を解明すること、トランスポーターの体内動態における役割を解明し、その制御方法を見出すことを基本構想としている。そして、本基本構想を達成するために、以下の6項目が企画された。これらは、1) *in vitro* 単離細胞・生細胞を用いた輸送機構の解析、2) トランスポーターの同定、および cDNA 導入細胞における機能解析、3) 遺伝的にトランスポーターを欠損した動物、遺伝子ノックアウト動物における薬物体内動態解析、4) 生理学的薬物速度論モデルに基づく *in vitro* 実験系から *in vivo* 体内動態の予測、5) 異物排出システムによる薬剤耐性の獲得機構の解析、および異物排出システム破綻による疾病発症機構の解析、6) 異物排出トランスポーター蛋白分子の分子構造解析、である。これらの項目は、支援を受けた5年間を通じ、一次性能動輸送グループ(東京大学・杉山研究室)、二次性能動輸送グループ(金沢大学・辻研究室)、異物排出蛋白分子構造解析グループ(大阪大学・産業科学研究所・山口研究室)、薬剤耐性機構解析グループ(九州大学・桑野研究室)により分担、実施された。具体的には研究内容の項目を参照されたいが、一連の研究の結果、当初の目的通りの成果を得られることができた上、一部については新展開も見られた。

ATP の加水分解を利用して、基質の細胞外への排出を担う一次性能動輸送担体(ATP-binding cassette transmembrane transporter (ABC トランスポーター))に関しては、特に多剤耐性蛋白質(MDR1/ABCB1, multidrug resistance associated protein 2; MRP2/ABCC2、MRP3/ABCC3)に焦点をあてた解析を進めた。これらの膜蛋白質は多剤耐性を獲得した癌細胞膜上に発現され、抗癌剤の細胞外への排出に関与するものであるが、正常細胞にも発現され、異物解毒に関与している。生理的条件下では主として肝細胞胆管側膜上に発現される MRP2 の機能に関する情報は、この遺伝子を欠損している変異ラットと正常ラットとの間での比較検討により得られた。その結果、MRP2 は従来知られているビリルビングルクロン酸抱合体などのほかに、エストラジオールグルクロン酸抱合体、還元型葉酸などを生理的基質とし、その胆汁排泄を担うことが明らかとされた。さらに MRP2 は临床上重要な種々の薬物の胆汁排泄を担い、その機能調節は薬物体内動態、ひいては薬理効果にもつながることが示された。ヒトにおける MRP2 の欠損は、黄疸を特徴とする Dubin-Johnson 症候群の発症につながる。本研究では、本疾患患者の遺伝子を解析することにより、新規な変異部位を見出すことができた。さらにこれらの変異に伴い、MRP2 蛋白分子の機能が低下する機構を明らかとすることができた。また、C型肝炎感染者では MRP2 の機能低下が見出されるが、ここには炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  が関与することを明らかとし、さら

にその転写調節機構も解明することができた。MRP2 機能が低下した場合には MRP3 が肝細胞血管側膜上に発現誘導されるが、肝灌流実験の結果、病態時には胆汁酸を血液側へと排出する機能を有することが示唆された。また、MRP3 は胆汁酸によっても誘導されるが、その誘導には FTF が関与することを明らかとした。また、MRP2 がシスプラチン耐性に関与することを見出したほか、これら ABC トランスポーターの種々臨床癌における発現と化学療法反応性との関連に関する知見が得られた。また、特に MDR1 については、発現亢進機構に関する検討が行われた。その結果、プロモーター領域の CpG 部位のメチル化が発現上昇に重要であること、プロモーター領域の活性化が遺伝子再配列によることなどが明らかとされた。また、プロモーター領域に存在する Y-box に結合する Y-box 結合蛋白 (YB-1) の核移行が P-糖蛋白質の発現に重要であることが臨床癌試料においても確認され、YB-1 の多彩な機能を解明することができた。MDR1 は血液脳関門を形成する脳毛細血管内皮細胞にも発現されており、基質の脳移行を制限しているが、*in vivo* における機能を予測する *in vitro* 実験系を構築することができた。また、平成 11 年度には、代謝・排泄協関解析グループの協力を得て、UDP-グルクロン酸転移酵素を酵母に発現させることに成功し、生成されたグルクロン酸抱合体が MRP2 により排泄されるという、代謝・排泄協関に関する検討を行う基礎を築くことができた。

二次性能動輸送は、一般に共輸送あるいは逆輸送のように、*solute-solute coupling* により輸送が行われるという特徴を有する。数多くの新規トランスポーターの同定、機能解析がなされたが、その中にはヒト有機アニオントランスポーター (Organic anion transporting polypeptide (OATP) ファミリー) が含まれる。一般に、肝臓に関しては主として OATP ファミリーが、腎臓に関しては *organic anion transporter* (OAT) ファミリー (特に OAT1 および OAT3) が、有機アニオンの肝細胞および尿細管への取り込みにそれぞれ関与しているが、各トランスポーターの寄与率を決定する方法論を提示することができた。この結果、*in vitro* cDNA 発現系から *in vivo* における体内動態を予測することが可能となった。また、有機カチオンの肝移行に関しては、トランスポーター (*organic cation transporter 1*; OCT1) ノックアウトマウスを用いた検討がなされ、肝臓への薬物取り込み、および肝臓を標的とする副作用発現に関与することが示された。これらのトランスポーターによる輸送性を制御することにより、薬物体内動態、薬理効果・副作用発現を制御しうることが示された。

腎臓における有機カチオン輸送に関しては、新規に OCTN ファミリーを同定することができた。このうち、OCTN1 および OCTN2 は典型的な有機カチオンである *tetraethylammonium* をプロトンとの逆輸送により輸送することが明らかとされた。OCTN2 は  $\text{Na}^+$ -依存的にカルニチンを輸送することを見出し、カルニチン欠乏症の疾患遺伝子と同定した。また、上述のように OCTN2 は広く内因性物質および異物を認識するものの、基質により輸送機構が異なるという性質を有することが明らかとされた。さらにペプチドトランスポーター (PEPT1 および 2) の発現は、小腸上皮細胞および腎尿細管上皮細胞に局限されているものの、株化腫瘍細胞においては発現が増大していることを見出した。この

結果は、本トランスポーターを標的として、腫瘍細胞選択的な薬物送達が可能となることを示唆しているものである。事実、担癌マウスに PEPT 基質となるベスタチンを投与したところ、PEPT 発現腫瘍では顕著な増殖抑制効果が見られている。さらに、PEPT の基質として、ペプチド結合を有さない valacyclovir を同定することができた。

トランスポーターの構造に関する研究も精力的に進められた。主として細菌の異物排出タンパクの構造および機能が進められたが、これは細菌の異物排出トランスポーターは、大量産生が容易であること、遺伝子操作が容易であることにより、とくに構造決定とタンパク工学的解析に適していることに着目したためである。その結果、大腸菌の主要異物排出タンパク AcrB の結晶構造解析を行い、3.5Å で立体構造を決定することに成功した。またテトラサイクリン排出蛋白を素材として、構成アミノ酸全部を一つずつ Cys 残基に置換した完全 Cys 走査変異体を構築し、部位特異的の化学修飾により詳細なトポロジーを決定し、機能残基の解析を行った。さらに、ゲノム解析の結果、明らかとなった大腸菌染色体上の 37 種類の異物排出蛋白質遺伝子候補全てについて解析を進め、そのうちの 19 種類が実際に何らかの薬物・毒物を排出することを明らかとした。さらに、細菌の環境応答システムである二成分情報伝達系によって異物排出蛋白質遺伝子発現が制御されていることを見出した。

## サブグループごとの研究実施概要

### 一次性能動輸送グループ

薬物体内動態に特に影響を与える肝細胞、小腸上皮細胞、腎尿細管上皮細胞、血液脳関門を形成する脳毛細血管内皮細胞を中心とし、これらの細胞に発現されるトランスポーター群の同定、機能解析を行った。さらに、単に cDNA 産物の機能を解析するのみに留まらず、薬物速度論解析の手法を用いて、目的とする薬物の動態に対して、着目しているトランスポーターがどの程度寄与しているのかを定量化した。一連の検討を通じ、トランスポーターの薬物体内動態における重要性を示し、またその制御により体内動態、ひいては薬理効果・副作用発現をも調節できることを示すことができた。そして、*in vivo* における輸送機能を反映し、また薬物体内動態を定量的に予測できる *in vitro* 実験系を構築することができた。

### 二次性能動輸送グループ

薬物の吸収・排泄・分布に関わる組織として重要な小腸、腎臓、肝臓あるいは血液脳関門を形成する各細胞には、薬物あるいはその代謝物を認識して、積極的な取り込みあるいは異物として排出輸送に働くトランスポーター群が存在する。本研究では、有機アニオン性、有機カチオン性およびオリゴペプチド性薬物の輸送に関与するイオン駆動型トランスポーター群をコードする遺伝子をクローニングし、その組織分布と細胞内局在性を明らかにし、「吸収」または「分泌」に関わるトランスポーター群の遺伝子発現細胞系を用いて薬

物構造認識・輸送の分子機構を明確にすることによって、特定組織・細胞におけるトランスポーターを介した薬物体内動態制御機構の解明を目的とした。本研究では特に受動輸送あるいは二次性能動輸送を中心に研究を行った。

#### 異物排出蛋白分子構造解析グループ

本グループは、主に細菌の異物排出タンパクの構造と機能に関する解析を担当した。

(1) 異物排出タンパクの X 線結晶構造解析：大腸菌の主要異物排出タンパク AcrB の結晶構造解析を行い、異物排出タンパクでは世界で初めて 3.5Å で立体構造を決定することに成功した。これにより、構造をもとに異物認識機構・膜輸送機構を論じることが可能になった。

(2) 大腸菌異物排出タンパク遺伝子ライブラリの構築と解析：ゲノム解析の結果、大腸菌染色体には 37 種類もの異物排出タンパク遺伝子と推定される内在性遺伝子の存在が明らかになった。私たちはそれら全てをマルチコピーベクターにクローニングして強制発現させ、その性質を調べた。その結果、19 種類が実際に何らかの薬物・毒物を排出することが明らかになった。さらに、細菌の環境応答システムである二成分情報伝達系によって異物排出タンパク遺伝子発現がコントロールされていることを見だし解析した。

(3) 異物排出タンパクの部位特異変異導入による解析：テトラサイクリン排出蛋白を素材として、構成アミノ酸全部を一つずつ Cys 残基に置換した完全 Cys 走査変異体を構築し、部位特異的の化学修飾により詳細なトポロジーを決定し、機能残基の解析を行った。

#### 薬剤耐性機構解析グループ

当グループでは、特に一次性能動輸送担体 (ABC トランスポーター) に焦点をあて、以下の検討を行った。

- (1) ABC トランスポーターの発現様式と生理機能解析
- (2) MRP2 遺伝子変異による Dubin-Johnson 症候群発症機構の解析
- (3) ABC トランスポーターの肝疾患における発現変化と胆汁酸による制御機構の解析
- (4) ABC トランスポーターの遺伝子多型に基づいた薬効・副作用の予測と個別化治療への応用
- (5) ABC トランスポーターの癌における発現様式の解析と薬剤感受性への関与

## 2. 研究構想

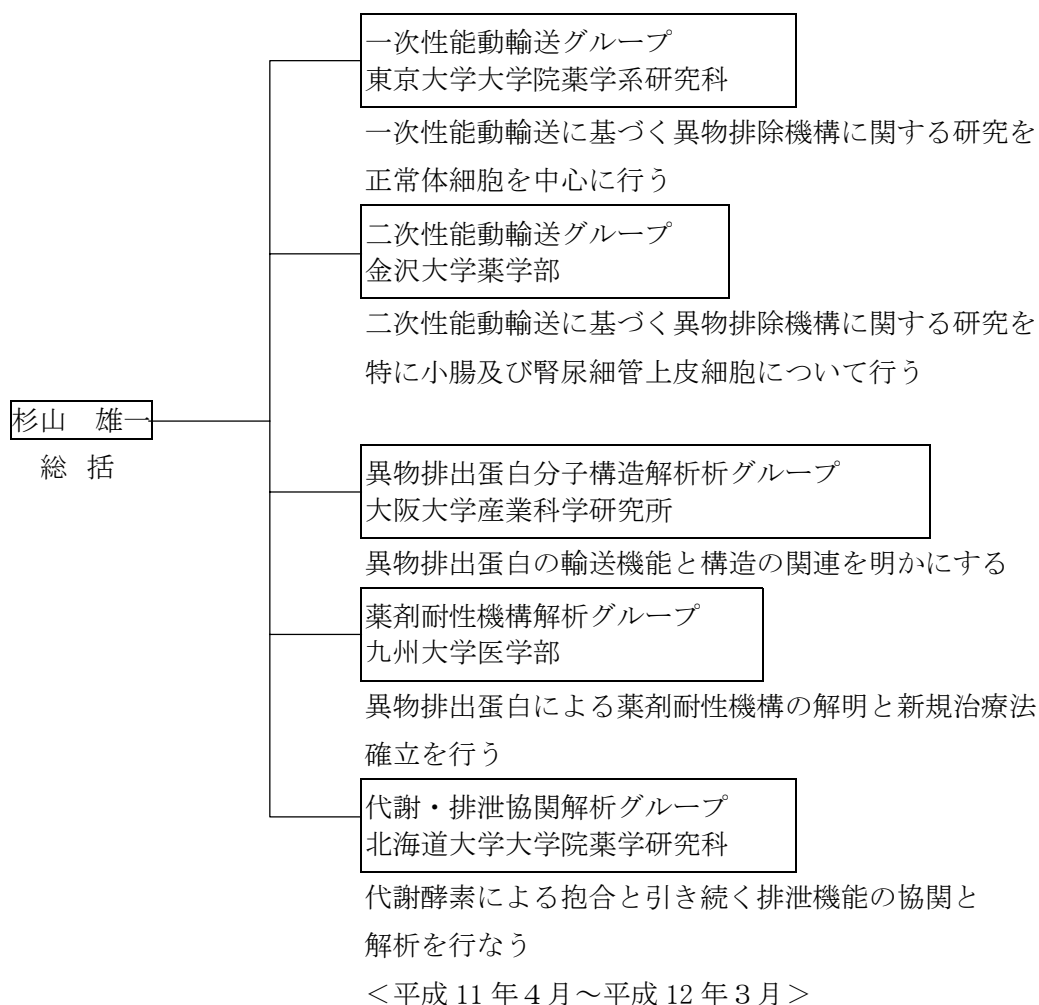
本研究は、トランスポーターによる排除機構を解明すること、トランスポーターの体内動態における役割を解明し、その制御方法を見出すことを目指したものである。この目的のため、特に生体防御に関係する、そして言葉を変えれば薬物体内動態を考える上で重要となる、小腸上皮細胞、腎尿細管上皮細胞、肝細胞、血液脳関門を形成する脳毛細血管内皮細胞などに発現される一次性能動輸送担体に焦点をあて、これらの同定、

機能解析を進める。特に、cDNA 発現系と、臓器を構築している体細胞、単離膜小胞、灌流臓器、および *in vivo* における輸送特性との比較検討を行うことにより、また正常および遺伝子破壊動物における基質薬物の体内動態を比較検討することにより、同定されたトランスポーターの異物解毒・薬物動態における役割について定量的な結論を得る。そして、*in vitro* 遺伝子発現系からヒト *in vivo* における薬物動態を予測しうるシステムを開発することを研究構想とした。また、いくつかのトランスポーターは、遺伝性疾患と密接に関係していることから、疾患遺伝子の同定も試みる。さらに、一次性能動輸送担体の中には、癌細胞の多剤耐性となるものも多く見出されることから、これらの基質特異性について検討を加え、抗癌剤耐性スペクトルを明らかとするとともに、排出型トランスポーターがどのような機構により発現誘導されるのかに関する知見を得て、癌化学療法の際の標的を同定することも研究構想とした。さらに、トランスポーターの構造と機能を解析することは重要な研究課題となる。そこで、主として細菌の異物排出蛋白質をモデルとし、その構造と機能を解析することを研究構想とした。細菌の異物排出蛋白質は、大量産生が容易であること、遺伝子操作が容易であることにより、とくに構造決定とタンパク工学的解析に適しており、さらに、病原細菌の多剤耐性原因であることから、臨床的重要性も高い。そこで主として X 線結晶解析と遺伝子操作により、異物認識機構・異物排出機構の解析を行う。

なお、一次性能動輸送グループは、一次性能動輸送に基づく異物排除機構に関する研究を正常体細胞を中心に行う。二次性能動輸送グループは、二次性能動輸送に基づく異物排除機構に関する研究を特に小腸および腎尿細管上皮細胞について行う。異物排出蛋白分子構造解析グループは、異物排出蛋白の輸送機能と構造の関連を明らかにする。薬剤耐性機構解析グループは、異物排出蛋白による薬剤耐性機構の解明と新規治療法確立を行う。

### 3. 研究実施体制

#### (1) 体制



### 4. 研究期間中の主な活動

#### (1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成 11 年 1 月 18 日～ 1 月 19 日	ISRT (International symposium on the role of transporters in the host defense mechanism)	東京大学 安田講堂	259 名	生体防御のメカニズムについて、異物排除システムの分子基盤の観点から検討を加えてきた本研究分野は最近世界にもめざましい発展をとげており、当研究グループの研究結果並びに海外において最先端の研究を行っている研究グループの発表を基に討論を進め、ますますの発展をはかる。

## 5. 主な研究成果

(1) 論文発表 (国内 2 件、海外 138 件)

### 一次性能動輸送グループ (海外 48 件)

1. T. Hirohashi, H. Suzuki, K. Ito, K. Ogawa, K. Kume, T. Shimizu and Y. Sugiyama: Hepatic expression of multidrug resistance-associated protein (MRP)-like proteins maintained in Eisai hyperbilirubinemic rats(EHBR). *Mol.Pharmacol.* 53, 1068-1075 (1998).
2. H. Kusuhara, H. Suzuki, M. Naito, T. Tsuruo and Y. Sugiyama: Characterization of efflux transport of organic anions in a mouse brain capillary endothelial cell line (MBED4). *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 285, 1260-1265 (1998).
3. T. Yamada, Y. Kato, H. Kusuhara, M. Lemaire and Y. Sugiyama: Characterization of the transporter of a cationic octapeptide, octreotide, in rat bile canalicular membrane:Possible involvement of P-glycoprotein. *Biol.Pharm.Bull.* 21, 874-878 (1998).
4. H. Kusuhara, Y.-H. Han, M. Shimoda, E. Kokue, H. Suzuki and Y. Sugiyama: Reduced folate derivatives are endogenous substrates for cMOAT in rats. *Am.J.Physiol.* 275, G789-G796 (1998).
5. K. Niinuma, Y. Kato, H. Suzuki, C.A. Tyson, V. Weizer, J.E. Dabbs, R. Froelich, C.E. Green and Y. Sugiyama: Primary active transport of organic anions on bile canalicular membrane in humans. *Am.J.Physiol.* 276, G1153-1164 (1999).
6. Y. Han, Y. Kato, H. Kusuhara, H. Suzuki, M. Shimoda, E. Kokue and Y. Sugiyama: Kinetic profile of overall elimination of 5-methyltetrahydropteroylglutamate in rats. *Am.J.Physiol.* 276, E580-587 (1999).
7. Y. Kato, S. Akhteruzzaman, A. Hisaka and Y. Sugiyama: Hepatobiliary transport governs the overall elimination of peptidic endothelin antagonists in rats. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 288, 568-574 (1999).
8. X. Chu, Y. Kato and Y. Sugiyama: Possible involvement of P-glycoprotein in biliary excretion of CPT-11 in rats. *Drug Metab. Disp.* 27, 440-441 (1999).
9. X. Chu, Y. Kato, K. Ueda, H. Suzuki, K. Niinuma, C.A. Tyson, V. Weizer, J.E. Dabbs, R. Froelich, C.E. Green and Y. Sugiyama: Biliary excretion mechanism of CPT-11 and its metabolites in humans: Involvement of primary active transporters. *Cancer Res.* 58, 5137-5743 (1998).
10. S. Akhteruzzaman, Y. Kato, A. Hisaka and Y. Sugiyama: Primary active transport of peptidic endothelin antagonists on bile canalicular membrane in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 288, 575-581 (1999).
11. S.-H. Song, H. Suzuki, R. Kawai, C. Tanaka, I. Akasaka and Y. Sugiyama: Dose-dependent effect of PSC 833 on its tissue distribution and on the biliary excretion of endogenous substrates in rats. *Drug Metab. Disp.* 26, 1128-1135 (1998).
12. H. Kouzuki, H. Suzuki, K. Ito, R. Ohashi and Y. Sugiyama: Contribution of sodium taurocholate co-transporting polypeptide to the uptake of Ligands into rat hepatocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286, 1043-1050 (1998).
13. H. Ishizuka, K. Konno, H. Naganuma, K. Nishimura, H. Kouzuki, H. Suzuki, B. Stieger, P.J. Meier and Y. Sugiyama: Transport of temocaprilat into rat hepatocytes: Role of organic anion



- transportin gpolyptide (oatp1). *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 287, 37-42 (1998).
14. Y. Kiuchi, H. Suzuki, T. Hirohashi, C.A. Tyson and Y. Sugiyama: cDNA cloning and inducible expression of human multidrug resistance associated protein 3 (MRP3). *FEBS Lett.* 433, 149-152 (1998).
  15. H. Kouzuki, H. Suzuki, R. Ohashi, K. Ito and Y. Sugiyama: Contribution of organic anion transporting polypeptide to the uptake of its possible substrates into rat hepatocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 288, 627-634 (1999).
  16. S. Kinoshita, H. Suzuki, K. Ito, K. Kume, T. Shimizu and Y. Sugiyama: Transfected rat cMOAT is functionally expressed on the apical membrane in Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells. *Pharm. Res.* 15, 1851-1856 (1999).
  17. X.-Y. Chu, H. Suzuki, K. Ueda, Y. Kato, S. Akiyama and Y. Sugiyama: Active efflux of CPT-11 and its metabolites in human KB-derived cell lines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 288, 735-741 (1999).
  18. M. Honma, H. Suzuki, H. Kusuhara, M. Naito, T. Tsuruo and Y. Sugiyama: High affinity efflux transport system for glutathione conjugates on the luminal membrane of a mouse brain capillary endothelial cell line (MBEC4). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 288, 198-203 (1999).
  19. S.H. Song, H. Suzuki, R. Kawai and Y. Sugiyama: Effect of PSC 833a, P-gp modulator, on the disposition of vincristine and digoxin in rats. *Drug Metab. Disp.* 27, 689-694 (1999).
  20. S.H. Song, H. Suzuki, T. Terasaki, M. Lemaire and Y. Sugiyama: Modulation of the tumor disposition of vinca alkaloids by PSC 833 in vitro and in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 287, 963-968 (1998).
  21. Y.H. Han, Y. Kato and Y. Sugiyama: Nonlinear disposition kinetics of a novel antifolate, MX-68, in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291:204-212 (1999).
  22. H. Kusuhara, H. Suzuki and Y. Sugiyama: The role of P-glycoprotein and canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT) in the hepatobiliary excretion of drugs. *J. Pharm. Sci.* 87, 0125-1040 (1998).
  23. K. Ogawa, H. Suzuki, T. Hirohashi, T. Ishikawa, P.J. Hirose, T. Akizawa, M. Yoshioka and Y. Sugiyama: Characterization of the inducible nature of MRP3 in rat liver. *Am. J. Physiol.* 278, G438-446 (2000).
  24. I. Kino, Y. Kato, J.H. Lin and Y. Sugiyama: Renal handling of biphosphonate alendronate in rats. *Biopharm. Drug & Dispos.* 20, 193-198 (1999).
  25. H. Ishizuka, K. Konno, T. Shiina, H. Naganuma, N. Nishimura, K. Ito, H. Suzuki and Y. Sugiyama: Species differences in the transport activity for organic anions across the bile canalicular membrane. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 290, 1324-1330 (1999).
  26. S. Akhteruzzaman, Y. Kato, H. Kouzuki, H. Suzuki, A. Hisaka, B. Stieger, P.J. Meier and Y. Sugiyama: Carrier-mediated hepatic uptake of peptidic endothelin antagonists in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 290, 1107-1115 (1999).
  27. H. Sasabe, Y. Kato, A. Tsuji and Y. Sugiyama: Differences in the hepatobiliary transport of two quinolone antibiotics, grepafloxacin and lomefloxacin, in the rat. *Biopharm. Drug Disp.* 20, 151-158 (1999).
  28. M. Achira, H. Suzuki, K. Ito and Y. Sugiyama: Comparative studies to determine the selective inhibitors for P-glycoprotein and cytochrome P450 3A4. *AAPS Pharm Sci* 1, E18 (1999).
  29. Y. Gotoh, H. Suzuki, S. Kinoshita, T. Hirohashi, Y. Kato and Y. Sugiyama: Involvement of an

- Organic Anion Transporter (cMOAT / MRP2) in Gastrointestinal Secretion of Glutathione Conjugates in Rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 292, 433-439 (2000).
30. H. Kouzuki, H. Suzuki, B. Stieger, P.J. Meier and Y. Sugiyama: Characterization of the transport properties of organic anion transporting polypeptide1 (oatp1) and Na<sup>+</sup>/taurocholate co-transporting polypeptide (Ntcp): comparative studies on the inhibitory effect of their possible substrates in hepatocytes and cDNA-transfected COS-7 cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 292, 505-511 (2000).
  31. Y.H. Han, Y. Kato and Y. Sugiyama: Binding and transport of methotrexate and its derivative, MX-68, across the brush- border membrane in rat kidney. *Biopharm. Drug Disp.* 20, 361-367 (1999).
  32. Y.H. Han, Y. Kato, Y. Watanabe, K. Terao, Y. Asoh and Y. Sugiyama: Carrier-mediated hepatobiliary transport of a novel antifolate, N-[4-[(2,4-dianninopteridine-6-yl)methyl]-3,4-dihydro-2H-1,4-benzothiazin-7-yl]carbonyl-L-homoglutamic acid, in rats. *Drug Metab. Dispos* 29, 394-400 (2001).
  33. A. Nishino, Y. Kato, T. Igarashi and Y. Sugiyama: Both cMOAT/MRP2 and another unknown transporter(s) are responsible for the biliary excretion of glucuronide conjugate of the non-peptide angiotensin II antagonist, Telmisaltan. *Drug Metab. Disp.* 28, 1146-1148 (2000).
  34. H. Suzuki and Y. Sugiyama: Role of metabolic enzymes and efflux transporters in the absorption of drugs from the small intestine. *Eur. J. Pharm. Sci.* 12, 3-12 (2000).
  35. Y. Adachi, H. Suzuki and Y. Sugiyama: Comparative studies on in vitro methods for evaluating in vivo function of MDR1 P-glycoprotein. *Pharm. Res.* 18, 1660-1668 (2001).
  36. Y. Sugiyama and Y. Kato: Tissue selective drug delivery utilizing Transporters and receptors. In *Biomaterials and Drug Delivery toward New Millennium* Ed. By K.D. Park, I.C. Kwon, N. Yui, S.Y. Jeong and K. Park. pp. 383-393 (2000).
  37. N. Morita, H. Kusuhara, T. Sekine, H. Endou and Y. Sugiyama: Functional characterization of rat organic anion transporter 2 (OAT2) in LLC-PK1 cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 298, 1179-1184 (2001).
  38. H. Kusuhara and Y. Sugiyama: Role of transporters in the tissue-selective distribution and elimination of drugs: transporters in the liver, kidney, intestine and brain. *Journal of Controlled Release* 78, 43-54 (2002).
  39. H. Kusuhara and Y. Sugiyama: Drug-drug interactions involving the membrane transport process. In "Drug-drug interactions" (Ed. by Rodrigues) pp. 123-188 (2001).
  40. M. Horikawa, Y. Kato and Y. Sugiyama: Reduced gastrointestinal toxicity following inhibition of the biliary excretion of irinotecan and its metabolites by probenecid in rats. *Pharm. Res.* 19, 1345-1353 (2002)
  41. H. Akita, H. Suzuki and Y. Sugiyama: Sinusoidal efflux of taurocholate is enhanced in MRP2-deficient rat liver. *Pharm. Res.* 18, 1119-1125 (2001).
  42. H. Kouzuki, H. Suzuki and Y. Sugiyama: Pharmacokinetic study of the hepatobiliary transport of indomethacin. *Pharm. Res.* 17, 432-438 (2000).
  43. A. Morikawa, Y. Gotoh, H. Suzuki, T. Hirohashi and Y. Sugiyama: Biliary excretion of 17 $\beta$ -estradiol 17 $\beta$ -D-glucuronide is predominantly mediated by cMOAT/MRP2. *Pharm. Res.* 17, 546-552 (2000).
  44. H. Suzuki and Y. Sugiyama: Transport of drugs across the hepatic sinusoidal membrane:

- Sinusoidal drug influx and efflux in the liver. *Semin. Liv. Dis.* 20, 251-263 (2000).
45. D.-S. Wang, J.W. Jonker, Y. Kato, H. Kusuhara, A.H. Schinkel and Y. Sugiyama: Involvement of organic cation transporter 1 in the hepatic and intestinal distribution of metformin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 302, 510-515 (2002).
  46. Y. Gotoh, Y. Kato, B. Stieger, P.J. Meier and Y. Sugiyama: Gender difference in the Oatp1-mediated tubular reabsorption of estradiol 1  $\beta$ -D- glucuronide in rats. *Am. J. Physiol.* 282, E1245-1254 (2002).
  47. D. Sugiyama, H. Kusuhara, Y. Shitara, T. Abe and Y. Sugiyama: Effect of 17  $\beta$  estradiol-D-17  $\beta$  -glucuronide (E<sub>2</sub>17  $\beta$  G) on the rat organic anion Transporting polypeptide 2(rOatp2)-mediated transport differs depending on substrates. *Drug Metab. Dispos.* 30, 220-223 (2002).
  48. M. Hasegawa, H. Kusuhara, D. Sugiyama, K. Ito, S. Ueda, H. Endou and Y. Sugiyama: Functional involvement of rat organic anion transporter 3 (rOat3; *Slc22a8*) in the renal uptake of organic anions. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 300, 746-753 (2002).

二次性能動輸送グループ (海外 44 件)

1. H. Toyobuku, Y. Sai, I. Tamai and A. Tsuji: Enhanced Delivery of Drugs to the Liver by Adenovirus-Mediated Heterologous Expression of the Human Oligopeptide Transporter PEPT1. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 301, 812-819 (2002).
2. K. Naruhashi, I. Tamai, N. Inoue, H. Muraoka, Y. Sai, N. Suzuki and A. Tsuji: Involment of multidrug resistance-associated protein 2 in intestinal secretion of grepafloxacin in rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 344-349 (2001).
3. I. Tamai, T. Nozawa, M. Koshida, J. Nezu, Y. Sai and A. Tsuji: Functional characterization of human organic anion transporting polypeptide OATP-B in comparison with liver-specific OATP-C. *Pharm. Res.* 18, 1262-1269 (2001).
4. F. Ishikawa, M. Katsura, I. Tamai and A. Tsuji: Improved nasal bioavailability of elcatonin by insoluble power formulation. *Int. J. Pharm.* 224, 105-114 (2001).
5. I. Tamai, K. China, Y. Sai, D. Kobayashi, J. Nezu, E. Kawahara and A. Tsuji: Na<sup>+</sup>-coupled transport of L-carnitine via high-affinity carnitine transporter OCTN2 and its subcellular localization in kidney. *Biochim. Biophys. Acta.* 1512, 273-284 (2001).
6. K. Naruhashi, I. Tamai, N. Inoue, H. Muraoka, Y. Sai, N. Suzuki and A. Tsuji: Active intestinal secretion of new quinolone antimicrobials and the partial contribution of P-glycoprotein. *J. Pharm. Pharmacol.* 53, 699-709 (2001).
7. Y. Higashi, K. Yokogawa, N. Takeuchi, I. Tamai, M. Nomura, N. Hashimoto, J. Hayakawa, K. Miyamoto and A. Tsuji: Effect of gamma-butyrobetaine on fatty liver in juvenile visceral steatosis mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 53, 527-533 (2001).
8. R. Ohashi, I. Tamai, J. Nezu, H. Nikaido, N. Hashimoto, A. Oku, Y. Sai, M. Shimane, and A. Tsuji: Molecular and physiological evidence for multifunctionality of carnitine/organic cation transporter OCTN2. *Mol. Pharmacol.* 59, 358-366 (2001).
9. K. Naruhashi, I. Tamai, Y. Sai, N. Suzuki and A. Tsuji: Secretory-transport of p-aminohippuric acid across intestinal epithelial cells in Caco-2 cells and isolated intestinal tissue. *J. Pharm. Pharmacol.* 53, 73-81 (2001).
10. I. Tamai, R. Ohashi, J. Nezu, Y. Sai, D. Kobayashi, A. Oku, M. Shimane and A. Tsuji:

- Molecular and functional characterization of organic cation/carnitine transporter family in mice. *J. Biol. Chem.* 275, 40064-40072 (2000).
11. I. Tamai, T. Ogiwara, H. Takanaga, H. Maeda and A. Tsuji: Anion antiport mechanism is involved in transport of lactic acid across intestinal epithelial brush-border membrane. *Biochim. Biophys. Acta.* 1468, 285-292 (2000).
  12. T. Nakanishi, I. Tamai A. Takaki, and A. Tsuji: Cancer cell-targeted drug delivery utilizing peptide transporter. *Int. J. Cancer* 88, 274-280 (2000).
  13. I. Tamai, J. Nezu, H. Uchino, Y. Sai, A. Oku, M. Shimane and A. Tsuji: Molecular identification and characterization of novel members of the human organic anion transporter (OATP) family. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 273, 251-260 (2000).
  14. H. Uchino, I. Tamai, K. Yamashita, Y. Minemoto, Y. Sai, H. Yabuuchi, K. Miyamoto, E. Takeda and A. Tsuji: p-Aminohippuric acid transport at renal apical membrane mediated by human inorganic phosphate transporter NPT1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 270, 254-259 (2000).
  15. E. Mayatepek, J. Nezu, I. Tamai, A. Oku, M. Katsura, M. Shimane and A. Tsuji: Two novel missense mutations of the OCTN2 gene (W283R and V446F) in a patient with primary systemic carnitine deficiency. *Human Mutation (Online)* 15, 118 (2000).
  16. H. Uchino, I. Tamai, H. Yabuuchi, K. China, K. Miyamoto, E. Takeda and A. Tsuji: Faropenem transport across the renal epithelial luminal membrane via inorganic phosphate transporter Npt1. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 574-577 (2000).
  17. A. Tsuji: Tissue selective drug delivery utilizing carrier-mediated transport system. *J.Cont.Rel.* 62, 239-244 (1999).
  18. A. Koizumi, J. Nozaki, T. Ohura, T. Kayo, Y. Wada, J. Nezu, R. Ohashi, I. Tamai, Y. Shoji, G. Takada, S. Kibira, T. Matsuishi and A. Tsuji: Genetic epidemiology on carnitine transporter OCTN2 gene in a Japanese population and phenotype characterizations in Japanese pedigrees with primary systemic carnitine deficiency. *Human Mol. Genet.* 8, 2247-2254 (1999).
  19. R. Ohashi, I. Tamai, H. Yabuuchi, J. Nezu, A. Oku, Y. Sai, M. Shimane and A. Tsuji: Na<sup>+</sup>-dependent carnitine transport by OCTN2 and its pharmacological and toxicological relevance. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291, 778-784 (1999).
  20. T. Ogihara, I. Tamai and A. Tsuji: Structural characterization of substrates for the anion exchange transporter in Caco-2 cells. *J. Pharm. Sci.* 88, 1217-1221 (1999).
  21. I. Tamai, Y. Sai, A. Ono, Y. Kido, H. Yabuuchi, H. Takanaga, E. Satoh, T. Ogihara, O. Amano, S. Izeki and A. Tsuji: Immunohistochemical and functional characterization of pH-dependent intestinal absorption of weak organic acids by monocarboxylic acid transporter MCT1. *J. Pharm. Pharmacol.* 51, 1113-1121 (1999).
  22. K. Yokogawa, M. Yonekawa, I. Tamai, R. Ohashi, Y. Tatsumi, Y. Higashi, M. Nomura, N. Hashimoto, H. Nikaido, J. Hayakawa, J. Nezu, A. Oku, M. Shimane, K. Miyamoto and A. Tsuji, Loss of wild-type carrier-mediated L-carnitine transport activity in hepatocytes of juvenile visceral steatosis mice. *Hepatology*, 30, 997-1001 (1999).
  23. K. Yokogawa, K. Miya, I. Tamai, Y. Higashi, M. Nomura, K. Miyamoto and A. Tsuji: Characteristics of L-carnitine transport in cultured hepatoma HLF cells from man. *J. Pharm. Pharmacol.* 51, 935-940 (1999).
  24. K. Yokogawa, M. Takahashi, I. Tamai, H. Konishi, M. Nomura, S. Moritani, K. Miyamoto and A. Tsuji: P-glycoprotein-dependent disposition kinetics of tacrolimus: Studies in mdrla

- knockout mice. *Pharm. Res.* 16, 1213-1218 (1999).
25. M. Murata, I. Tamai, H. Kato, O. Nagata, H. Kato and A. Tsuji: Efflux transport of a new quinolone antibacterial agent, HSR-903, across the blood-brain barrier. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 290, 51-57 (1999).
  26. H. Yabuuchi, I. Tamai, J. Nezu, K. Sakamoto, A. Oku, M. Shimane, Y. Sai and A. Tsuji: Novel membrane transporter OCTN1 mediates multispecific, bidirectional and pH-dependent transport of organic cations. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 289, 768-773 (1999).
  27. M. Murata, I. Tamai, Y. Sai, O. Nagata, H. Kato and A. Tsuji: Carrier-mediated lung distribution of HSR-903, a new quinolone antibacterial agent. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 289, 79-84 (1999).
  28. K. Yokogawa, Y. Higashi, I. Tamai, M. Nomura, N. Hashimoto, H. Nikaido, J. Hayakawa, K. Mitamoto and A. Tsuji: Decreased tissue distribution of L-carnitine in juvenile visceral steatosis mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 289, 224-230 (1999).
  29. T. Shiraga, K. Miyamoto, H. Tanaka, H. Yamamoto, Y. Taketani, K. Moriya, I. Tamai, A. Tsuji and E. Takeda: Cellular and molecular mechanisms of dietary regulation on rat intestinal H<sup>+</sup>/peptide transporter PepT1. *Gastroenterology*, 116, 354-362 (1999).
  30. J. Nezu, I. Tamai, A. Oku, R. Ohashi, H. Yabuuchi, N. Hashimoto, H. Nikaido, Y. Sai, A. Koizumi, Y. Shoji, G. Takada, T. Matsuishi, M. Yoshino, H. Kato, T. Ohura, G. Tsujimoto, J. Hayakawa, M. Shimane and A. Tsuji: Primary systemic carnitine deficiency is caused by mutations in a gene encoding sodium ion-dependent carnitine transporter. *Nature Genet.* 21, 91-94 (1999).
  31. A. Tsuji: P-glycoprotein-mediated efflux transport of anticancer drugs at the blood-brain barrier. *Ther. Drug Monit.* 20, 588-590 (1998).
  32. M. Murata, I. Tamai, Y. Sai, O. Nagata, H. Kato, Y. Sugiyama and A. Tsuji: Hepatobiliary transport kinetics of HSR-903, a new quinolone antibacterial agent. *Drug Metab. Dispos.* 26, 1113-1119 (1998).
  33. I. Tamai, T. Nakanishi, H. Nakahara, Y. Sai, V. Ganapathy, F.H. Leibach and A. Tsuji: Improvement of L-dopa absorption by dipeptidyl derivation, utilizing peptide transporter PepT1. *J. Pharm. Sci.* 87, 1542-1546 (1998).
  34. P.V. Balimanen, I. Tamai, A. Guo, T. Nakanishi, H. Kitada, F.H. Leibach, A. Tsuji and P.J. Sinko: Direct evidence for peptide transporter (PepT1)-mediated uptake of a nonpeptide prodrug, valacyclovir. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 250, 246-251 (1998).
  35. M. Kawahara, T. Nanbo and A. Tsuji: Physiologically based pharmacokinetic prediction of p-phenylbenzoic acid disposition in the pregnant rat. *Biopharm. Drug Dispos.*, 19, 445-453 (1998).
  36. H. Yabuuchi, I. Tamai, K. Morita, T. Kouda, K. Miyamoto, E. Takeda and A. Tsuji: Hepatic sinusoidal membrane transport of anionic drugs mediated by anion transporter Npt1. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 286, 1391-1396 (1998).
  37. Y. Sai, M. Kajita, I. Tamai, J. Wakama, T. Wakamiya and A. Tsuji: Adsorptive-mediated endocytosis of a basic peptide in enterocyte-like Caco-2 cells. *Am. J. Physiol.* 275, G514-520 (1998).
  38. Y. Sai, M. Kajita, I. Tamai, J. Wakama, T. Wakamiya and A. Tsuji: Adsorptive-mediated transcytosis of a synthetic basic peptide, 001-C8 in Caco-2 cells. *Pharm. Res.* 15, 1305-1309

(1998).

39. I. Tamai, R. Ohashi, J. Nezu, H. Yabuuchi, A. Oku, M. Shimane, Y. Sai and A. Tsuji: Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2. *J. Biol. Chem.* 273, 20378-20382 (1998).
40. N. Hashimoto, F. Suzuki, I. Tamai, H. Nikaido, M. Kuwajima, J. Hayakawa and A. Tsuji: Gene-dose effect on carnitine transport activity in embryonic fibroblasts of JVS mice as a model of human carnitine transporter deficiency. *Biochem. Pharmacol.* 55, 1729-1732 (1998).
41. Y. Sai, M. Kajita, I. Tamai, M. Kamata, J. Wakama, T. Wakamiya and A. Tsuji: Intestinal absorption of fluorescence-derivatized cationic peptide 001-C8-NBD via adsorptive-mediated transcytosis. *Bioorg. Med. Chem.* 6, 841-848 (1998).
42. T. Ogihara, I. Tamai and A. Tsuji: Application of fractal kinetics for carrier-mediated transport of drugs across intestinal epithelial membrane. *Pharm. Res.* 15, 620-625 (1998).
43. H. Yabuuchi, I. Tamai, Y. Sai and A. Tsuji: Possible role of anion exchanger AE2 as the intestinal monocarboxylic acid/anion antiporter. *Pharm. Res.* 15, 411-416 (1998).
44. T. Wakamiya, M. Kamata, S. Kusumoto, H. Kobayashi, Y. Sai, I. Tamai and A. Tsuji: Design and synthesis of peptides passing through the blood-brain barrier. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 71, 699-709 (1998).

異物排出蛋白分子構造解析グループ (国内 2 件、海外 19 件)

1. T. Kimura-Someya, S. Iwaki and A. Yamaguchi: Site-directed chemical modification of cysteine-scanning mutants around transmembrane segment II and its flanking regions of the Tn10-encoded metal-tetracycline/H<sup>+</sup> antiporter reveals a transmembrane water-filled channel. *J. Biol. Chem.* 273, 32806-32811 (1998).
2. T. Hirata, E. Fujihira, T. Kimura-Someya and A. Yamaguchi: Membrane topology of the *Staphylococcal* tetracycline efflux protein Tet(K) determined by antibacterial resistance gene fusion. *J. Biochem.* 124, 1206-1211 (1998).
3. T. Kawabe and A. Yamaguchi: Transmembrane remote conformational suppression of the Gly-332 mutation of the Tn10-encoded metal-tetracycline/H<sup>+</sup> antiporter. *FEBS Lett.*, 457, 169-173 (1999).
4. S. Konishi, S. Iwaki, T. Kimura-Someya and A. Yamaguchi: Cysteine-scanning mutagenesis around transmembrane segment VI of Tn10-encoded metal-tetracycline/H<sup>+</sup> antiporter. *FEBS Lett.* 461, 315-318 (1999).
5. Y. Someya, T. Kimura-Someya and A. Yamaguchi: Role of the charge interaction between Arg<sup>70</sup> and Asp<sup>120</sup> in the Tn10-encoded metal-tetracycline/H<sup>+</sup> antiporter of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 275, 210-214 (2000).
6. Y. Kubo, S. Konishi, T. Kawabe, S. Nada and A. Yamaguchi: Proximity of periplasmic loops in the metal-Tetracycline/H<sup>+</sup> antiporter of *Escherichia coli* observed on site-directed chemical cross-linking. *J. Biol. Chem.* 275, 5270-5274 (2000).
7. T. Kimura-Someya, S. Iwaki, S. Konishi, N. Tamura, Y. Kubo and A. Yamaguchi: Cysteine-scanning mutagenesis around transmembrane segments I and II and their flanking loop regions of Tn10-encoded metal-Tetracycline/H<sup>+</sup> antiporter. *J. Biol. Chem.* 275, 18692-18697 (2000).
8. T. Kawabe, E. Fujihira and A. Yamaguchi: Molecular construction of a multidrug exporter

- system, AcrAB: molecular interaction between AcrA and AcrB, and cleavage of the N-terminal signal sequence of AcrA. *J. Biochem. (Tokyo)* 128, 195-200 (2000).
9. S. Iwaki, N. Tamura, T. Kimura-Someya, S. Nada and A. Yamaguchi: Cysteine-scanning mutagenesis of transmembrane segments 4 and 5 of the Tn10-encoded metal-tetracycline/H<sup>+</sup> antiporter reveals a permeability barrier in the middle of a transmembrane water-filled channel. *J. Biol. Chem.* 275, 22704-22712 (2000).
  10. 山口明人、西野邦彦: 薬剤排出蛋白質とゲノム創薬への応用 バイオサイエンスとインダストリー 58, 11-16 (2000).
  11. S. Ryu, T. Kawabe, S. Nada and A. Yamaguchi: Identification of basic residues involved in drug export function of human multidrug resistance-associated protein 2. *J. Biol. Chem.* 275, 39617-39624 (2000).
  12. S. Nada, S. Murakami, S. Okamoto, Y. Kubo and A. Yamaguchi: Monoclonal Antibody That Binds to the Central Loop of the Tn10-Encoded Metal-Tetracycline/H<sup>+</sup> Antiporter of *Escherichia coli*. *J. Biochem.* 129, 87-91 (2001).
  13. K. Nishino and A. Yamaguchi: Overexpression of the Response Regulator *evgA* of the Two-Component Signal Transduction System Modulates Multidrug Resistance Conferred by Multidrug Resistance Transporters. *J. Bacteriol.* 183, 1455-1458 (2001).
  14. N. Tamura, S. Konishi, S. Iwaki, T. Kimura-Someya, S. Nada and A. Yamaguchi: Complete Cysteine-Scanning Mutagenesis and Site-Directed Chemical Modification of the Tn10-Encoded Metal-Tetracycline/H<sup>+</sup> Antiporter. *J. Biol. Chem.* 276, 20330-20339 (2001).
  15. N. Kobayashi, K. Nishino and A. Yamaguchi: Novel Macrolide-specific ABC-type Efflux Transporter in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 183, 5639-5644 (2001).
  16. K. Nishino and A. Yamaguchi: Analysis of a Complete Library of Putative Drug Transporter Genes in *Escherichia Coli*. *J. Bacteriol.* 183, 5803-5812 (2001).
  17. E. Fujihira, N. Tamura and A. Yamaguchi: Membrane Topology of a Multidrug Efflux Transporter, AcrB, in *Escherichia coli*. *J. Biochem.* 131, 145-151 (2002).
  18. K. Nishino and A. Yamaguchi: EvgA of the two-component signal transduction system modulates production of the YhiUV multidrug transporter in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 184, 2319-2323 (2002)
  19. 西野邦彦、山口明人: 細菌ゲノムに潜む薬剤耐性因子 日本細菌学会 vol.57 2, 461-472 (2002).
  20. S. Nagakubo, K. Nishino, T. Hirata and A. Yamaguchi: The Putative Response Regulator BaeR Stimulates Multidrug Resistance of *Escherichia coli* via a Novel Multidrug Exporter System, MdtABC. *J. Bacterio.* 184, 4161-4167 (2002).
  21. S. Murakami, R. Nakashima, E. Yamashita and A. Yamaguchi: Crystal Structure of Bacterial Multidrug Efflux Transporter AcrB. *Nature* 419, 587-593 (2002).

薬剤耐性機構解析グループ (海外 27 件)

1. M. Ashizuka, T. Fukuda, T. Nakamura, K. Shirasuna, K. Iwai, H. Izumi, K. Kohno, M. Kuwano and T. Uchiumi: Novel translational control through an iron-responsive element by interaction of multifunctional protein YB-1 and IRP2. *Mol Cell Biol.* 22, 6375-6383 (2002).
2. Z.S. Chen, T. Kawabe, M. Ono, S. Aoki, T. Sumizawa, Furukawa, T. Uchiumi, M. Wada, M. Kuwano and S.I. Akiyama: Effect of multidrug resistance-reversing agents on transporting

- activity of human canalicular multispecific organic anion transporter. *Mol Pharmacol.* 56, 1219-1228 (1999).
3. Z.S. Chen, K. Lee, S. Walther, R.B. Raftogianis, M. Kuwano, H. Zeng and G.D. Kruh: Analysis of methotrexate and folate transport by multidrug resistance protein 4 (ABCC4): MRP4 is a component of the methotrexate efflux system. *Cancer Res.* 62, 3144-3150 (2002).
  4. M. Furukawa, T. Uchiumi, M. Nomoto, H. Takano, R.I. Morimoto, S. Naito, M. Kuwano and K. Kohno: The role of an inverted CCAAT element in transcriptional activation of the human DNA topoisomerase II $\alpha$  gene by heat shock. *J Biol Chem.* 273, 10550-10555 (1998).
  5. S. Haga, E. Hinoshita, K. kezaki, M. Fukui, G.L. Scheffer, T. Uchiumi and M. Kuwano: Involvement of the multidrug resistance protein 3 in drug sensitivity and its expression in human glioma. *Jpn J Cancer Res.* 92, 211-219 (2001).
  6. T. Harada, J. Nagayama, K. Kohno, L.A. Mickley, T. Fojo, M. Kuwano, and M. Wada: Alu-associated interstitial deletions and chromosomal re-arrangement in 2 human multidrug-resistant cell lines. *Int J Cancer.* 86, 506-511 (2000).
  7. T. Harada, A. Nishie, K. Torigoe, K. Ikezaki, T. Shono, Y. Maehara, M. Kuwano and M. Wada: The specific expression of three novel splice variant forms of human metalloprotease-like disintegrin-like cysteine-rich protein 2 gene in Brain tissues and gliomas. *Jpn J Cancer Res.* 91, 1001-1006 (2000).
  8. M.J. Harris, M. Kuwano, M. Webb and P.G. Board: Identification of the apical membrane-targeting signal of the multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2/MOAT). *J Biol Chem.* 276, 20876-20881 (2001).
  9. K. Hashimoto, T. Uchiumi T. Nakamura, T. Ebihara, T. Konno, M. Wada, S. Sakisaka, F. Maniwa, T. Amachi, K. Ueda and M. Kuwan: Trafficking-defect and functional-defect by mutations of the ATP-binding domains in multidrug resistance protein 2 (MRP2, ABCB2) in patients with Dubin-Johnson syndrome. *Hepatology* 36, 1236-1245 (2002).
  10. E. Hinoshita, K. Taguchi, A. Inokuchi, T. Uchiumi, N. Kinukawa, M. Shimada, M. Tsuneyoshi, K. Sugimachi and M. Kuwano: Decreased expression of an ATP-binding cassette transporter, MRP2, in human livers with hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 35, 765-773 (2001).
  11. E. Hinoshita, T. Uchiumi, K. Taguchi, N. Kinukawa, M. Tsuneyoshi, Y. Maehara, K. Sugimachi and M. Kuwano: Increased expression of an ATP-binding cassette superfamily transporter, multidrug resistance protein 2, in human colorectal carcinomas. *Clin Cancer Res.* 6, 2401-2407 (2000).
  12. A. Inokuchi, E. Hinoshita, Y. Iwamoto, K. Kohno, M. Kuwano and T. Uchiumi: Enhanced expression of the human multidrug resistance protein 3 by bile salt in human enterocytes. A transcriptional control of a plausible bile acid transporter. *J Biol Chem.* 276, 46822-46829 (2001).
  13. T. Kawabe, Z.S. Chen, M. Wada, T. Uchiumi, M. Ono, S. Akiyama and M. Kuwano: Enhanced transport of anticancer agents and leukotriene C4 by the human canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT/MRP2). *FEBS Lett.* 456, 327-331 (1999).
  14. H. Kusaba, M. Nakayama, T. Harada, M. Nomoto, K. Kohno, M. Kuwano and M. Wada: Association of 5' CpG demethylation and altered chromatin structure in the promoter region with transcriptional activation of the multidrug resistance 1 gene in human cancer cells. *Eur J Biochem.* 262, 924-932 (1999).



15. J. Nagayama, M. Iino, Y. Tada, H. Kusaba, A. Kiue, K. Ohshima, M. Kuwano and M. Wada: Retrovirus insertion and transcriptional activation of the multidrug-resistance gene in leukemias treated by a chemotherapeutic agent in vivo. *Blood*. 97, 759-766 (2001).
16. M. Nakayama, M. Wada, T. Harada, J. Nagayama, H. Kusaba, K. Ohshima, M. Kozuru, H. Komatsu, R. Ueda and M. Kuwano: Hypomethylation status of CpG sites at the promoter region and overexpression of the human MDR1 gene in acute myeloid leukemias. *Blood*. 92, 4296-4307 (1998).
17. T. Okamoto, H. Izumi, T. Imamura, H. Takano, T. Ise, T. Uchiumi, M. Kuwano and K. Kohno: Direct interaction of p53 with the Y-box binding protein, YB-1: a mechanism for regulation of human gene expression. *Oncogene*. 19, 6194-6202 (2000).
18. K. Shibahara, K. Sugio, T. Osaki, T. Uchiumi, Y. Maehara, K. Kohno, K. Yasumoto, K. Sugimachi and M. Kuwano: Nuclear expression of the Y-box binding protein, YB-1, as a novel marker of disease progression in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 7, 3151-3155 (2001).
19. Y. Tada, M. Wada, K. Kuroiwa, N. Kinugawa, T. Harada, J. Nagayama, M. Nakagawa, S. Naito and M. Kuwano: MDR1 gene overexpression and altered degree of methylation at the promoter region in bladder cancer during chemotherapeutic treatment. *Clin Cancer Res*. 6, 461846-27 (2000).
20. Y. Tada, M. Wada, T. Migita, J. Nagayama, E. Hinoshita, Y. Mochida, Y. Maehara, M. Tsuneyoshi, M. Kuwano, and S. Naito: Increased expression of multidrug resistance-associated proteins in bladder cancer during clinical course and drug resistance to doxorubicin. *Int J Cancer*. 98, 630-635 (2002).
21. Y. Tada, M. Wada, K. Taguchi, Y. Mochida, N. Kinugawa, M. Tsuneyoshi, S. Naito and M. Kuwano: The association of death-associated protein kinase hypermethylation with early recurrence in superficial bladder cancers. *Cancer Res*. 62, 4048-4053 (2002).
22. T. Tanaka, T. Uchiumi, E. Hinoshita, A. Inokuchi, S. Toh, M. Wada, H. Takano, K. Kohno and M., Kuwano: The human multidrug resistance protein 2 gene: functional characterization of the 5'-flanking region and expression in hepatic cells. *Hepatology*. 30, 1507-1512 (1999).
23. T. Tanaka, T. Uchiumi, M. Nomoto, K. Kohno, T. Kondo, K. Nishio, N. Saijo and M. Kuwano: Cellular balance of glutathione levels through the expression of gamma-glutamylcysteine synthetase and glutathione thiol transferase genes in human hepatic cells resistant to a glutathione poison. *Biochim Biophys Acta*. 1427, 367-377 (1999).
24. S. Toh, M. Wada, T. Uchiumi, A. Inokuchi, Y. Makino, Y. Horie, Y. Adachi, S. Sakisaka and M. Kuwano: Genomic structure of the canalicular multispecific organic anion-transporter gene (MRP2/cMOAT) and mutations in the ATP-binding-cassette region in Dubin-Johnson syndrome. *Am J Hum Genet*. 64, 739-746 (1999).
25. K. Torigoe, T. Harada, H. Kusaba, T. Uchiumi, K. Kohno, E.D. Green, S.W. Scherer, L.C. Tsui, D. Schlessinger, M. Kuwano and M. Wada: Localization of 67 exons on a YAC contig spanning 1.5 Mb around the multidrug resistance gene region of human chromosome 7q21.1. *Genomics*. 49, 14-22 (1998).
26. T. Uchiumi, E. Hinoshita, S. Haga, T. Nakamura, T. Tanaka, S. Toh, M. Furukawa, T. Kawabe, M. Wada, K. Kagotani, K. Okumura, K. Kohno, S. Akiyama, and M. Kuwano: Isolation of a novel human canalicular multispecific organic anion transporter, cMOAT2/MRP3, and its

expression in cisplatin-resistant cancer cells with decreased ATP-dependent drug transport. Biochem Biophys Res Commun. 252, 103-110 (1998).

27. M. Wada, S. Toh, K. Taniguchi, T. Nakamura, T. Uchiyama, K. Kohno, I. Yoshida, A. Kimura, S. Sakisaka, Y. Adachi and M. Kuwano: Mutations in the canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT) gene, a novel ABC transporter, in patients with hyperbilirubinemia II/Dubin-Johnson syndrome. Hum Mol Genet. 7, 203-207. (1998).

(2) 特許出願

1. 発明者 : 辻 彰、崔 吉道、玉井郁巳

発明名称 : 臓器感染用トランスポーター強制発現ベクター

出願番号 : 2000-308880

出願日 : 平成 12 年 10 月 10 日

国際出願番号 : PCT/JP01/08894

国際出願日 : 2001 年 10 月 10 日

公開番号 : 2002-112769

公開日 : 2002 年 4 月 16 日

2. 発明者 : 辻 彰、玉井郁巳、崔 吉道、由井伸彦、大谷 亨、宮本賢一

発明名称 : 組織特異的トランスポーター阻害剤

出願番号 : 2001-188843

出願日 : 平成 13 年 6 月 21 日

国際出願番号 : PCT/JP02/06104

国際出願日 : 2002 年 6 月 19 日

(3) 新聞報道等

受賞

1. 辻 彰

平成 14 年度日本薬学会賞 (平成 14 年 3 月 25 日)

生体膜輸送の分子機構に関する生物薬剤学的研究

(4) その他特記事項

特になし