

異物応答に関する核内受容体 Constitutive androstane receptor (CAR) の局在調節機構

菅野裕一朗,* 井上 義雄

The Mechanism for Subcellular Localization of Nuclear Receptor CAR

Yuichiro KANNO* and Yoshio INOUE

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University, 2-2-1 Miyama, Funabashi, Chiba 274-8510, Japan

(Received September 8, 2010)

Animals including human beings have defense mechanisms against the toxicity of xenobiotics such as medicinal compounds and environmental pollutants. Receptor-type transcriptional factors, such as aryl hydrocarbon receptor (AhR), constitutive androstane receptor (CAR) and pregnane X receptor (PXR), play important roles in the defense against xenobiotic toxicities. In the absence of stimuli, these receptors are distributed predominantly in the cytoplasmic compartment. Following xenobiotic stimuli, receptors translocate into the nucleus and transactivate its target genes. However, the exogenously expressed CAR translocates spontaneously into the nucleus in immortal cells. Previously, we identified subcellular localization signals in rat CAR: nuclear localization signal (NLS), nuclear export signal (NES) and cytoplasmic retention region (CRR). Lack of CRR function might be responsible for the spontaneous nuclear accumulation of CAR in immortal cells. Further, the nuclear import of CAR is regulated by the importin-Ran system, which is required for maintaining an intact microtubule network. Clarifying the mechanisms underlying the nuclear translocation of CAR would be useful for the establishment of novel assay systems for the screening of ligands and activators of CAR using immortal cells without sacrificing animals.

Key words—constitutive androstane receptor; nuclear receptor; cytochrome P450

1. はじめに

生体には環境化学物質や医薬品などの生体外異物を認識し、応答する機構が備わっている。その中で細胞内に存在する異物認識受容体として、Aryl hydrocarbon receptor (AhR), Constitutive androstane receptor (CAR), Pregnane X receptor (PXR) 等が知られている。これらの異物認識受容体は転写因子であり、通常は細胞質に局在している。生体外異物を認識し活性化した受容体は核へ移行し、標的遺伝子プロモーター上に存在する応答配列に結合し転写を促進する。異物認識受容体の標的遺伝子として、主に生体外異物の代謝・排泄を促進する酵素やトランスポーターが知られている。異物認識受容体として知られる CAR や PXR は、リガンド特異性が低く、非常に多くの化学物質を認識することが知

られている。さらに、これらの受容体のリガンド特異性には種差が存在する。ヒト CAR (hCAR) のリガンドである 6-(4-chlorophenyl)-imidazo [2,1-b] [1,3] thiazole-5-carbaldehyde *O*-(3,4-dichlorobenzyl) oxime (CITCO) はマウス CAR (mCAR) のリガンドとはならず、逆に mCAR のリガンドである 1,4-bis [2-(3,5-dichloropyridyloxy)] benzene (TCP-OBOP) は hCAR やラット CAR (rCAR) のリガンドにはならないことが知られている。¹⁻⁴⁾ 同様に、ヒト PXR (SXR) の特異的リガンドとしてリファンピシンが、また、マウス及びラット PXR (mPXR, rPXR) の特異的リガンドとして pregnenolone 16 α -carbonitrile (PCN) が知られている。⁵⁾ CAR や PXR は、多くの医薬品の代謝に関与する CYP2B6 や CYP3A4 等を誘導することから、薬物相互作用の予測においても、これらの受容体を活性化するリガンドの情報は非常に重要である。しかしながら前述したように、それぞれの受容体のリガンドには種差が存在するためラットやマウスなどの動

東邦大学薬学部 (〒274-8510 千葉県船橋市三山 2-2-1)

*e-mail: ykanno@phar.toho-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 130 年会シンポジウム S33 で発表したものを中心に記述したものである。

物実験で得られたデータがかならずしもヒトに適用できるとは限らない。さらに、CAR や PXR は不活化培養細胞において初代培養肝細胞や肝臓と異なった細胞内挙動を示すため、不活化培養細胞を用いた予測も困難である。本稿では、核内受容体スーパーファミリーの一員である CAR の細胞内における局在の調節機構についてわれわれの研究成果を中心に概観する。

2. 核内受容体 CAR の構造・機能と活性調節機構

CAR は一般的な核内受容体と同様に DNA 結合領域 (DBD) とリガンド結合領域 (LBD) を持っている。CAR は主に肝臓と小腸で発現しており、Cytoplasmic CAR retention protein (CCRP) や heat shock protein 90 (Hsp90) と複合体を形成し通常細胞質に局在している。^{6,7)} CAR はリガンドの結合により直接的に、また、アクチベーターとして知られているフェノバルビタール (PB) などにより未知の情報伝達系を介して間接的に活性化を受けると核内へ移行する。核内では、別の核内受容体であるレチノイド X 受容体 (RXR) とヘテロダイマーを形成し、標的遺伝子プロモーター上に存在する応答配列 (DR4 モチーフ) に結合し、その転写を促す [Fig. 1(B)]。CAR の標的遺伝子として第一相代謝酵素である CYP2B, CYP2C や CYP3A などのシトクローム P450 や第二相代謝酵素である UDP-Glucuronosyltransferase 1A (UGT1A) などの抱合酵素、一般に第三相酵素とされる Multidrug resistance protein 2 (MRP2) などのトランスポーターが知られている。⁸⁻¹²⁾ また、CAR の活性化によって生体外異物のみでなく生体内のホルモンや脂質などの代謝も影響を受ける [Fig. 1(A)]。¹³⁻¹⁶⁾ さらに近年、マウスに CAR のリガンドを投与することにより血糖値の低下や抗肥満作用が報告がされている。^{17,18)} しかし、生体内での CAR の生理作用についてはほとんど明らかとなっていない。

一般的な核内受容体はマウストラップにたとえられる。アゴニスト (ネズミ) の結合 (カゴの中へ侵入) によりコアクチベーターと結合し易い構造 (フタが閉じる) になり、転写活性化因子複合体を形成し基本転写因子の働きを助ける。一方、アンタゴニスト (例えばウサギ) が結合すると (フタが開まらない)、コリプレッサーをリクルートし転写を抑制

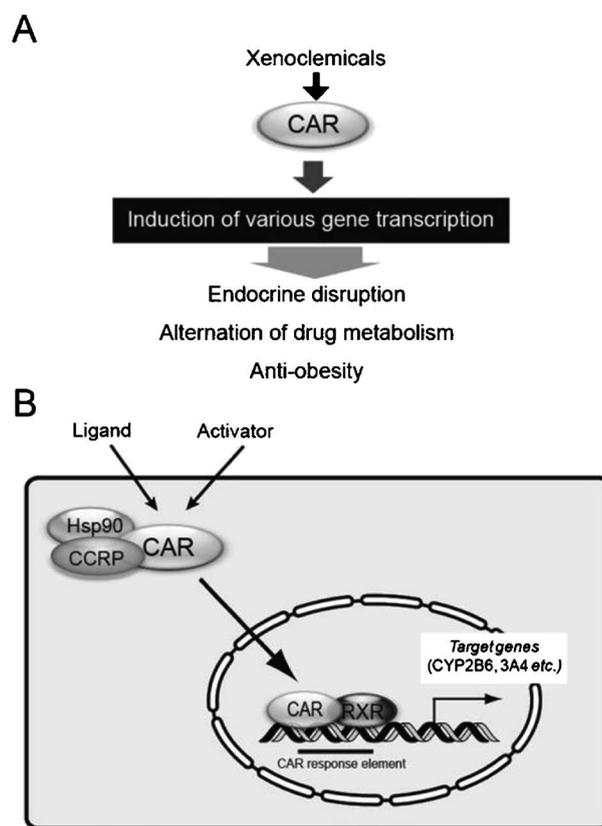


Fig. 1. Introduction to the Functions of CAR

A) Summary of CAR functions. B) CAR exists in a complex with hsp90 and CCRP in the cytoplasm. Activators and ligands of CAR elicit nuclear translocation of CAR. Following nuclear translocation, CAR binds to the CAR response element with heterodimer partner RXR and trans-activates target genes, such as CYP2B6 and 3A4. Hsp90, heat shock protein 90; CCRP, cytoplasmic CAR retention protein; RXR, retinoid X receptor.

する。しかしながら、CAR の場合には、リガンド非結合状態 (空カゴ) でもコアクチベーターをリクルートし (フタが閉じている)、転写を促進することができるため、細胞内での局在により転写調節因子として機能しているものと考えられる。実際、PB は CAR のリガンドではないが、間接的に核移行を誘起することで転写活性化能を発揮させることから、アクチベーターとして知られている。¹⁹⁾ しかし、PB による CAR の活性化機構は現在のところほとんど明らかになっていない。CAR はアクチベーターによる活性化又はリガンドの結合により核内へ移行し標的遺伝子の転写を促進するが、一方でアンドロステノールやアンドロスタノールなどのリガンドはインバースアゴニストと呼ばれ、核内に移行した CAR はコリプレッサーをリクルートする (閉じていた空カゴのフタが開く) ことで転写を抑制する。²⁰⁾ これらのことより、核内に局在する

CAR はリガンドが存在していなくても転写活性化を示すため、他の核内受容体とは異なり、細胞質から核への局在の変化が CAR を介した転写調節のファーストステップであり、非常に重要である。

3. 核内受容体 CAR の細胞内局在調節シグナル

生体内や初代培養肝細胞で観察される CAR の細胞内挙動は肝がん細胞を用いた *in vitro* 実験では再現されない。初代培養肝細胞では CAR は細胞質に局在しており、PB やリガンドにより核内に移行した後、CAR 応答配列を組み込んだレポーター遺伝子の転写活性化がみられる。一方、肝がん細胞に発現させた CAR は自発的に核内へ移行し、レポーター遺伝子の転写活性化を誘起するため、アクチベーターやリガンドによる転写活性化を観察することができない。²¹⁾ このように、不死化した細胞株では CAR は生体内とは異なった挙動を示すため、CAR の活性化による標的遺伝子の発現誘導を観察することが困難である。また、前述したように CAR のリガンドには種差がみられるため実験動物の初代培養肝細胞を用いた実験で得られた結果をそのままヒトにあてはめることもできない。

CAR は C 末端側にアクチベーターによる核移行に重要な配列である Xenochemical response signal (XRS) モチーフを持っており、アミノ酸配列を変異させるとアクチベーターによる核移行がみられなくなることがマウスを用いた *in vivo* 実験で報告されている。²²⁾ そこで、われわれは肝がん細胞における自発的な核移行への XRS モチーフの関与を検討するために、肝がん細胞及び初代培養肝細胞に rCAR の XRS 配列の機能を消失させた変異体を発現させ PB 処置に対する応答を調べた。^{23,24)} 初代培養肝細胞においては他の研究グループの報告²²⁾と同様に PB による rCAR の核移行は XRS の変異により認められなくなったが、肝がん細胞での自発的な核移行は観察された。一方、hCAR では肝がん細胞においても XRS の変異体の核への局在がみられなくなり、XRS のみでは局在の差異の説明ができないことがわかった。

われわれは rCAR には塩基性アミノ酸に富んだクラスターを 1 ヶ所に持つ (monopartite) 古典的核移行シグナル NLS (NLS1) と LBD 全体に分布する非古典的な NLS2 が存在することを見出した [Fig. 2(A)]. 一方で hCAR では NLS1 が機能

しておらず、この原因として、hCAR NLS1 ではアルギニンがグルタミンに置換していることが明らかとなった。マウス CAR の場合も hCAR と同様にグルタミンを有することから、NLS として機能していないものと推測される。そこで、これら NLS と XRS の関係を検討した。前述したように NLS1, NLS2 を含む野生型 rCAR では XRS に変異を導入しても肝がん細胞における自発的な核移行が認められたが、NLS1 を欠失させた変異体では XRS の変異により核移行は阻害された。さらに NLS1 と NLS2 の両者の欠失変異体では核移行は認められなかった。これらのことから XRS のみでは NLS として働かず、XRS は NLS2 の機能を調節しているモチーフであると考えられる。これまでの結果から、hCAR と rCAR の NLS には種差が存在し、hCAR の自発的な核移行は NLS2 の働きによるものであり、XRS へ変異を導入した rCAR では NLS1 が自発的な核移行を担っていることが示唆された。ちなみに、われわれは核外輸送シグナル NES にも種差が存在していることも明らかとしている。²³⁾

NLS を持つ分子量 40–60 kDa 以上のタンパク質はインポーチンと Ran よって認識され、核膜孔を介し輸送される。^{25–28)} Cargo であるタンパク質はインポーチン α を介して、又は直接インポーチン β によって NLS が認識される。インポーチンと結合した Cargo は核内へ運ばれ、そこでインポーチン β に Ran-GTP が結合することにより Cargo は乖離する。Cargo を放したインポーチン β は Ran-GTP と複合体を形成して細胞質に戻る。細胞質では Ran の GTPase 活性により GTP が GDP に変換されるとインポーチン β は再び Ran と離れて Cargo 結合能を獲得する。そこで、CAR がこのようなインポーチン-Ran システムで核内へ輸送されているか否かを検討することとした。²⁹⁾ GTPase 活性を欠く Ran 変異体を細胞内で過剰発現させると、このシステムによる Cargo の核輸送がかく乱されることが報告されている。³⁰⁾ 蛍光タンパク質を融合させた CAR (GFP-CAR) と Ran 変異体を発現させその局在を観察したところ、CAR の核移行は Ran 変異体の過剰発現によって抑制された。この結果より、CAR の核内への輸送はインポーチン β -Ran システムによって行われていることが示唆された。CAR の核内輸送に関与するインポーチン β ファミリー

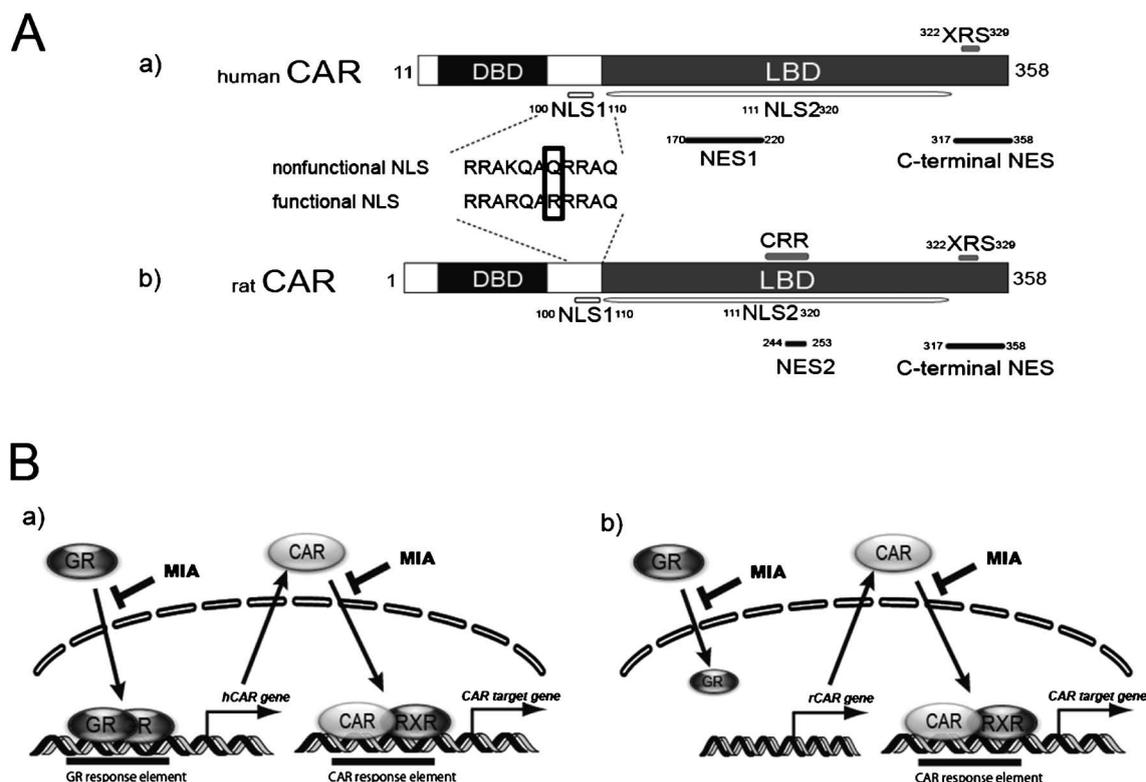


Fig. 2. Schematic Illustration of the Difference in Intracellular Localization Signals and Regulation by Microtubule Interfering Agent (MIA) between rCAR and hCAR

A) Depiction of full length rCAR and hCAR (358 and 348 amino acids, respectively), with the positions of the DNA-binding domain (DBD) and ligand binding domain (LBD). Figure shows the nuclear localization signals (rat NLS1 and common NLS2s), nuclear export signals (human NES1, rat NES2, and common C-terminal NESs), rat cytoplasmic retention region (CRR), and common Xenochemical response signals (XRSs). B) a) In human, microtubule network disruption affects the PB-dependent induction of CYP2B at two steps: the nuclear translocation of GR responsible for the expression of CAR and the nuclear translocation of CAR itself. b) In rat, since rCAR is not the target gene of GR, microtubule network disruptors affect only the nuclear translocation of CAR.

の分子種を探索し、インポーチン 13 (IPO13) が CAR と相互作用することを見出した。IPO13 は N 末端側に核移行及び Ran との結合領域を持ち C 末端側には Cargo との結合領域を持つ双方向型 (異なる 2 種類の Cargo を核膜孔を介して細胞質と核の反対方向へ輸送する) 輸送タンパク質である。免疫共沈降法により、IPO13 の C 末端の Cargo 結合領域と CAR の LBD との間で結合していることが判明した。すなわち、IPO13 は CAR の LBD に存在する NLS2 を認識していることが示唆された。IPO13 の C 末端領域断片は IPO13 の核膜孔輸送に対するドミナントネガティブ体として機能することが報告されている。そこで、この断片を初代培養肝細胞に GFP-CAR とともに発現させたところ、PB による CAR の核移行は抑制され、PB による CAR の核輸送は NLS2 を介したインポーチン-Ran システムによって行われていることが明らかとなった。

4. XRS, NLS 及び NES 以外の細胞内局在調節シグナル

これまで、XRS, NLS, NES の機能のみでは説明がつかなかった未処置の初代培養肝細胞と肝がん細胞との間にみられた CAR の細胞内局在性の違いを明らかにする目的で、種々の CAR ディレクションミュータントを作製し、これら変異体 CAR の細胞内での局在を初代培養肝細胞と肝がん細胞間で比較検討した。その結果、220-258 番目のアミノ酸からなる領域が CAR の細胞質への保持に重要である (CRR と命名) ことがわかった。²⁴⁾ rCAR では、この領域が未処置の初代培養肝細胞においては NLS1 及び NLS2 よりも優位に働いていること、肝がん細胞では、CRR の機能が失われており、NLS1 及び NLS2 による自発的な核移行が起こってしまったものと考えられる。CRR がどのようにして CAR を細胞質に保持しているのかが解明され、肝がん細胞で CAR を細胞質に保持させることが可能になれ

ば、初代培養肝細胞を用いることなく CAR を介した薬物代謝酵素の誘導を観察することが可能になるものと期待される。

これまでの報告より、核内受容体の核移行には微小管ネットワークが重要であることが知られている。^{31,32} Hsp90 などを通して微小管に結合したグルココルチコイド受容体 (GR) は、ダイニンをモーターとして微小管上を移動するモデルが提唱されている。

ヒト初代培養肝細胞において PB による CYP の誘導が微小管重合阻害剤 (MIA) であるコルヒチンで阻害されることが報告されている。^{33,34} このメカニズムとして、CAR の発現誘導に関与している GR の核移行がコルヒチンによって阻害され、CAR の発現量が減少するために PB による CYP の誘導が抑制されることが提唱されていたが、CAR の核移行に対する直接的な影響は明らかとなっていなかった。そこで CAR の核移行への微小管ネットワークの関与を検討した。³⁵

最初に MIA であるコルヒチンとノコダゾールの CAR の発現量に対する影響について検討した。ウエスタンブロット及び Real-time RT-PCR によってタンパク質量及び mRNA 発現量を検出したところ大きな変化は認められなかった。また、GR のアゴ

ニストであるデキサメタゾンによる CAR mRNA の誘導もみられなかったことから、ラット初代培養肝細胞では CAR は GR によって制御を受けていないことがわかった。次に、PB による CYP2B mRNA 及び CAR の応答配列を含む PB-responsive enhancer module (PBREM) レポーター活性の誘導に対する MIA の影響を検討したところ、両アッセイ系において MIA による PB 誘導の抑制が観察された。これらのことから、微小管ネットワークは CAR の PB による活性化に直接的に関与していることが示唆された。さらに、GFP 融合 CAR タンパク質の細胞内局在、核画分のウエスタンブロットにより、CAR の核移行がノコダゾールの前処理により阻害されることが明らかとなった。以上の結果より GR などの核内受容体と同様に CAR の核移行もまた微小管ネットワークにより制御されていることがわかった。条件の違いにより、MIA はこれまでの報告にある GR の核移行阻害を介した CAR の発現抑制と CAR の核移行への直接的な阻害の2つの経路で CYP2B タンパク質の発現を抑制していることが考えられる [Fig. 2(B)]。ラットにおいては CAR の発現は GR によって制御を受けておらず、MIA による PB 誘導抑制機構にも種差が存在することがわかった。

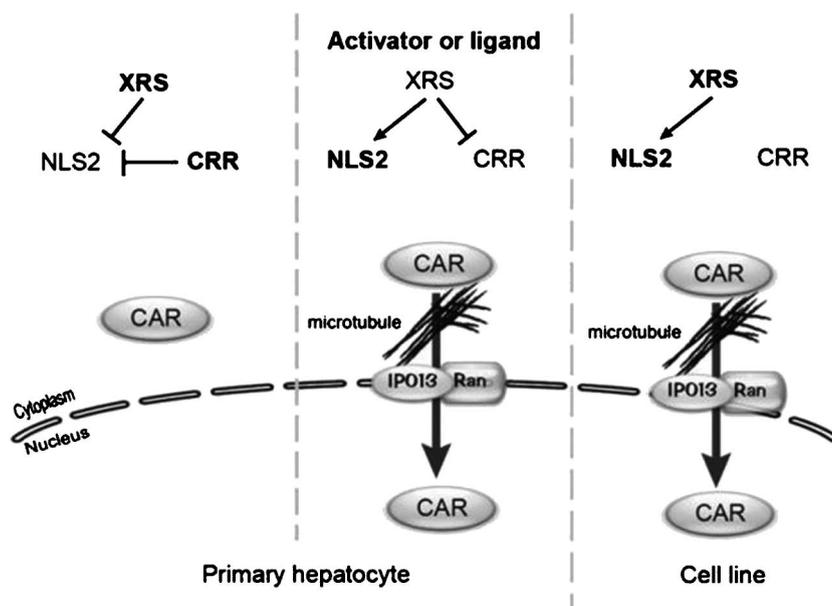


Fig. 3. Putative Subcellular Localization Mechanism of CAR

CAR is retained to the cytoplasm in primary hepatocyte in the absence of any activators or ligands, since NLS is suppressed by CRR and XRS (left). Upon stimulation, NLS2 is activated by XRS and suppression by CRR is canceled (middle). In immortalized cells, CAR spontaneously translocates into the nucleus since CAR lacks CRR function (right).

5. おわりに

これまでの研究結果より、CARの核移行のメカニズムは以下のように考えられる (Fig. 3)。初代培養肝細胞ではCARはCRR及びXRSによりNLSの機能が抑制されており、細胞質に局在している。リガンド及びアクチベーターによる刺激によりXRSを介したNLS2の活性化が引き起こされると同時にCRRによる抑制も解除され、CARは微小管を介して細胞質を移動し、NLS2を認識したIPO13により核膜孔を通過して核内へ移動し、標的遺伝子の転写を促進する。一方、肝がん細胞においては、XRSによるNLS2の恒常的な抑制解除及びCRRの機能の欠落によってCARは自発的に核へ輸送されてしまう。

このようにCARの核移行には様々なシグナルが関係していることがわかってきたが、CRRやXRSによるNLSの制御機構など、いまだ不明な点も多く残っている。また、近年、CARは異物代謝に加え、生体内におけるグルコースや脂質などのエネルギー代謝にも関係していることが明らかとなっており、環境汚染物質による代謝異常やメタボリックシンドロームとの関係も推測され、CARの活性化機構を明らかにすることにより、さらにCARの生理機能も明らかになっていくものと考えている。不死化細胞株におけるCARの細胞内局在の異常のメカニズムが明らかとなれば、環境化学物質の生体への毒性や薬物相互作用の予測などを培養細胞系で再現できることが期待される。

REFERENCES

- 1) Tzameli I., Pissios P., Schuetz E. G., Moore D. D., *Mol. Cell. Biol.*, **20**, 2951–2958 (2000).
- 2) Maglich J. M., Parks D. J., Moore L. B., Collins J. L., Goodwin B., Billin A. N., Stoltz C. A., Kliewer S. A., Lambert M. H., Willson T. M., Moore J. T., *J. Biol. Chem.*, **278**, 17277–17283 (2003).
- 3) Kobayashi K., Yamanaka Y., Iwazaki N., Nakajo I., Hosokawa M., Negishi M., Chiba K., *Drug Metab. Dispos.*, **33**, 924–929 (2005).
- 4) Moore L. B., Parks D. J., Jones S. A., Bledsoe R. K., Consler T. G., Stimmel J. B., Goodwin B., Liddle C., Blanchard S. G., Willson T. M., Collins J. L., Kliewer S. A., *J. Biol. Chem.*, **275**, 15122–15127 (2000).
- 5) Jones S. A., Moore L. B., Shenk J. L., Wisely G. B., Hamilton G. A., McKee D. D., Tomkinson N. C., LeCluyse E. L., Lambert M. H., Willson T. M., Kliewer S. A., Moore J. T., *Mol. Endocrinol.*, **14**, 27–39 (2000).
- 6) Kobayashi K., Sueyoshi T., Inoue K., Moore R., Negishi M., *Mol. Pharmacol.*, **64**, 1069–1075 (2003).
- 7) Yoshinari K., Kobayashi K., Moore R., Kawamoto T., Negishi M., *FEBS Lett.*, **548**, 17–20 (2003).
- 8) Ferguson S. S., LeCluyse E. L., Negishi M., Goldstein J. A., *Mol. Pharmacol.*, **62**, 737–746 (2002).
- 9) Goodwin B., Hodgson E., D'Costa D. J., Robertson G. R., Liddle C., *Mol. Pharmacol.*, **62**, 359–365 (2002).
- 10) Sugatani J., Kojima H., Ueda A., Kakizaki S., Yoshinari K., Gong Q. H., Owens I. S., Negishi M., Sueyoshi T., *Hepatology*, **33**, 1232–1238 (2001).
- 11) Kast H. R., Goodwin B., Tarr P. T., Jones S. A., Anisfeld A. M., Stoltz C. M., Tontonoz P., Kliewer S., Willson T. M., Edwards P. A., *J. Biol. Chem.*, **277**, 2908–2915 (2002).
- 12) Saini S. P., Sonoda J., Xu L., Toma D., Uppal H., Mu Y., Ren S., Moore D. D., Evans R. M., Xie W., *Mol. Pharmacol.*, **65**, 292–300 (2004).
- 13) Maglich J. M., Watson J., McMillen P. J., Goodwin B., Willson T. M., Moore J. T., *J. Biol. Chem.*, **279**, 19832–19838 (2004).
- 14) Roth A., Looser R., Kaufmann M., Blattler S. M., Rencurel F., Huang W., Moore D. D., Meyer U. A., *Mol. Pharmacol.*, **73**, 1282–1289 (2008).
- 15) Rezen T., Tamasi V., Lovgren Sandblom A., Bjorkhem I., Meyer U. A., Rozman D., *BMC Genomics*, **10**, 384 (2009).
- 16) Maglich J. M., Lobe D. C., Moore J. T., *J. Lipid Res.*, **50**, 439–445 (2009).
- 17) Dong B., Saha P. K., Huang W., Chen W., Abu Elheiga L. A., Wakil S. J., Stevens R. D., Ilkayeva O., Newgard C. B., Chan L., Moore D. D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 18831–18836 (2009).
- 18) Gao J., He J., Zhai Y., Wada T., Xie W., *J. Biol. Chem.*, **284**, 25984–25992 (2009).

- 19) Kawamoto T., Sueyoshi T., Zelko I., Moore R., Washburn K., Negishi M., *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 6318–6322 (1999).
- 20) Forman B. M., Tzamelis I., Choi H. S., Chen J., Simha D., Seol W., Evans R. M., Moore D. D., *Nature*, **395**, 612–615 (1998).
- 21) Kanno Y., Inouye Y., *J. Health Sci.*, **54**, 261–266 (2008).
- 22) Zelko I., Sueyoshi T., Kawamoto T., Moore R., Negishi M., *Mol. Cell. Biol.*, **21**, 2838–2846 (2001).
- 23) Kanno Y., Suzuki M., Miyazaki Y., Matsuzaki M., Nakahama T., Kurose K., Sawada J., Inouye Y., *Biochim. Biophys. Acta*, **1773**, 934–944 (2007).
- 24) Kanno Y., Suzuki M., Nakahama T., Inouye Y., *Biochim. Biophys. Acta*, **1745**, 215–222 (2005).
- 25) Davis L. I., *Annu. Rev. Biochem.*, **64**, 865–896 (1995).
- 26) Pante N., Aebi U., *J. Cell Sci. Suppl.*, **19**, 1–11 (1995).
- 27) Nigg E. A., *Nature*, **386**, 779–787 (1997).
- 28) Mattaj J. W., Englmeier L., *Annu. Rev. Biochem.*, **67**, 265–306 (1998).
- 29) Kanno Y., Miyazaki Y., Inouye Y., *Biochim. Biophys. Acta*, **1803**, 968–974 (2010).
- 30) Kaku N., Matsuda K., Tsujimura A., Kawata M., *Endocrinology*, **149**, 3960–3969 (2008).
- 31) Harrell J. M., Murphy P. J., Morishima Y., Chen H., Mansfield J. F., Galigniana M. D., Pratt W. B., *J. Biol. Chem.*, **279**, 54647–54654 (2004).
- 32) Galigniana M. D., Scruggs J. L., Herrington J., Welsh M. J., Carter Su C., Housley P. R., Pratt W. B., *Mol. Endocrinol.*, **12**, 1903–1913 (1998).
- 33) Dvorak Z., Modriansky M., Pichard Garcia L., Balaguer P., Vilarem M. J., Ulrichova J., Maurel P., Pascussi J. M., *Mol. Pharmacol.*, **64**, 160–169 (2003).
- 34) Dvorak Z., Maurel P., Vilarem M. J., Ulrichova J., Modriansky M., *Cell Biol. Toxicol.*, **23**, 63–73 (2007).
- 35) Kanno Y., Miyama Y., Ando M., Inouye Y., *Mol. Pharmacol.*, **77**, 311–316 (2010).