

平成13年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第3分野

医薬品等開発のための評価方法の開発に関する研究

第4分野

稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

第3分野

医薬品等開発のための評価方法の開発に関する研究

医薬品の適性使用に向けたヒト薬物代謝特性の解析・ 予測支援システムの構築とハイスループット試験系に ついての研究

所 属 国立公衆衛生院 衛生薬学部
研究者 頭金 正博

分担研究者

- | | |
|-------------------------|--------|
| (1) 大塚製薬(株) 徳島研究所 | 宮本 剛八郎 |
| (2) 武田薬品工業(株) 薬物機能第一研究所 | 朝日 知 |
| (3) 岡山大学医学部 | 難波 正義 |

要旨

培養肝細胞株やヒト遺伝子導入培養細胞を用いてヒトにおける薬物代謝酵素の特性を解析する実験系および臨床での薬物代謝能を簡便に測定する方法の開発を試みた。その結果、ヒト検体を想定した肝細胞調製法とヒト CYP3A4 遺伝子転写活性の測定法および臨床での CYP1A2 による代謝能を測定する方法を開発した。

1. 研究目的

ヒトでの薬物代謝酵素の活性には個人差が存在し、これが医薬品の体内動態に影響をおよぼすことによって、有効性や副作用発現の個人差につながることは広く認識されている。従って、個別の患者に最適な薬物療法を行うためには、ヒトでの薬物代謝の特性に影響を与える因子を解析し、個々の患者毎の薬物代謝能を予測することが重要になる。しかし、ヒトでの薬物代謝特性の解析には、実験手技および倫理的な面からの制約が多い。また、シトクロム P450(CYP)の特性には動物種差があることから、実験動物から得られた薬物代謝酵素の特性に関する情報をそのままヒトに外挿することはできない。以上の観点から、ヒトでの薬物代謝能の変動をおこす修飾因子を解析し医薬品の薬効や副作用を予測する簡便な実験系の構築が求められている。そこで、本研究ではヒト肝培養細胞株やヒト遺伝子導入培養細胞を用いてヒトでの薬物代謝酵素の特性を解析する実験系の構築を試みた。また、比較的ヒトに類似した薬物代謝特性を示すカニクイザルから新たな CYP 分子種のクローニングを試みた。さらに、実際の患者での薬物代謝能を簡便にかつ安全に測定する方法を開発し、個人差や生理的・病理的状态等の因子に基づいて薬物代謝特性を予測し、ヒトにおける薬物代謝能の解析・予測システムの確立をめざすことを目的とした。

2. 研究方法

(1) 肝細胞の調製と培養

新たに開発したスライス器具を用いてマウス切除肝組織を、3%寒天内に固定し、幅約 1 mm のスライスにした。スライスを PBS で洗った後、1%コラゲナーゼ液で、3-4 時間、37 度で処理した。軽くピペッティングして、さらに細胞を分散しメッシュを通すことによって寒天や、コラゲナーゼ処理で分散しなかった大きな組織片を除いた。その後、400g, 3 min, 遠心して細胞を集めた。Percoll gradient で、遠心して、肝実質

細胞を集め、細胞を培地で一度洗った。集めた細胞を培養、37 度、5% 炭酸ガスフラン器、プラスチックシャーレ使用し培養した。培地は DMEM + 2% FBS + 10 µg/ml insulin + 10 µg/ml transferrin + 3 mM nicotinamide を用いた。以上の方法で得た、肝細胞の機能を肝細胞に特異的である Tyrosine aminotransferase (TAT)活性で検討した。

(2) ヒト CYP3A4 誘導能を評価するためのレポーター遺伝子測定系の構築

CYP3A4 遺伝子の 5' -上流域の-362bp から+11bp までの領域と-7836bp から-7208bp までの領域を PCR 法により作製し、*Bgl* II 切断部位で接合した。このコンストラクトをルシフェラーゼベクター (pGL3-Basic) の *Mlu* I、*Hind* III 切断部位に挿入した後に、このベクターを *Xmn* I で切断し、コスミドベクター pAxcw の *Swa* I サイトに組み込んだ。この pAxcw を親ウイルス DNA-TPC と一緒に 293 細胞へトランスフェクションして、相同組換えにより AdCYP3A4-362-7k を得た。CYP3A 誘導剤 (デキサメサゾン、リファンピシンおよびクロトリマゾール、濃度：10 µM) を含む培地で 24 時間培養した細胞に AdCYP3A4-362-7k を感染させ、さらに CYP3A 誘導剤の存在下に 48 時間培養を行った。細胞溶解剤を用いて細胞を溶解した後、細胞抽出液中のルシフェラーゼ活性をルミノメータを用いて測定した。

(3) ヒトでのテオフィリンおよびカフェイン代謝能の測定

本研究における臨床研究は国立公衆衛生院、東京慈恵会医科大学付属病院、共立薬科大学のそれぞれの研究倫理審査委員会の承認のもと被験者から文書による同意を得て実施した。

東京慈恵会医科大学付属病院呼吸器内科通院中の気管支喘息患者 4 名は、長期的にテオフィリン徐放製剤 (テオドール) を、1 日 2 回、12 時間毎に服用している。より正確なデータを得るために、採血前一週間は、正確に 12 時間間隔で服用するように指導し、服薬状況を確認するために服薬チェックシートの記入を義務づけた。全ての患者の服薬コンプライアンスは良好であった。患者の基礎データを表 3-1 に示した。被験患者から 5mL を採血し、血漿を得た。内標準物質として β -hydroxyethyltheophylline を加えた後、血漿から Sep-pakC18 Cartridge (Waters) を用いてテオフィリンおよび代謝物である 3-methylxanthine (3X)、1-methyluric acid (1U)、1,3-dimethyluric acid (13U) の固相抽出を行った。抽出した検体を HPLC 法による測定の試料とした。

健康人ボランティア 30 名から文書で同意を得た後、カフェインの投与および採尿を行った。採尿前日の午後 6 時からカフェインを含む飲食物を制限した被験者に採尿当日の朝食時に缶コーヒー 1 缶 (ネスカフェ ファイン N: ネスレ日本株式会社) を摂取してもらい、缶コーヒー飲用後 4 時間後から 1 時間の蓄尿を行い尿量を測定した。採尿した尿は、1N HCl にて pH3.5 に調整した後、徐たんぱくを行い内標準物質として β -hydroxyethyltheophylline をくわえた。カフェインおよび代謝物の 3-methylxanthine (3X)、1-methyluric acid (1U)、1,3-dimethyluric acid (13U) をクロロホルム: イソプロパノールで抽出し、HPLC 法による測定の試料とした。

(4) カニクイザル肝臓で発現している新規 CYP 分子種のクローニング

カニクイザルの初代培養肝細胞から mRNA を抽出し、RT-PCR により薬物代謝酵素のクローニングを行った。また、それらを異種細胞で発現させ種々の代謝活性を測定した。

3. 研究成果

(1) 薬物代謝酵素の特性を保持した肝細胞培養系の確立に関する基礎的検討

ラットなどの動物の肝細胞の培養化の場合は、肝臓をコラゲナーゼで還流して、分散細胞を初代培養に使用する。しかし、ヒトの手術材料では、この還流法は適用できない。したがって、切除された肝組織のブロックから分散肝細胞を用意する必要がある。我々は、ヒト肝組織が入手出来たとき、分散細胞を調製する準備のために、マウスの切除肝組織を用い6回の実験を行い、切除肝組織から分散細胞を得る方法を現在までに確立した。この方法で得た、肝細胞の機能を肝細胞に特異的である Tyrosine aminotransferase (TAT) 活性で検討した。その2実験例のデータを以下に示す。

表1 肝スライスから調製した肝細胞の TAT 活性の比較

	TAT activity unit ($\mu\text{M}/\text{min}/\mu\text{g}$ protein)	
	Exp 1	Exp 2
Resected liver tissue	578	875
Collagenase-dispersed liver cells	357	610
Liver cells after 24 hr in culture	131	567

(2) ヒト CYP3A4 誘導能を評価するためのレポーター遺伝子測定系の構築

ヒト CYP3A4 誘導能を評価するためのレポーター遺伝子 (AdCYP3A4-362-7k) を組換えアデノウイルスを用いて作成した (図 2-1)。AdCYP3A4-362-7k は AdCYP3A4-362 と同様に真核細胞のプロモーターやエンハンサーが含まれていないため、本コンストラクトによるプロモーター活性を発現したルシフェラーゼ量として測定することができる。AdCYP3A4-362 を培養細胞である HepG2 細胞 (ヒト肝癌由来細胞株)、H4IIE 細胞 (ラット肝癌由来細胞株) および LS174T 細胞 (ヒト結腸腺癌由来細胞株) に感染させて、CYP3A 誘導剤による影響を調べた。HepG2 細胞をデキサメサゾンあるいはクロトリマゾールで処理するとルシフェラーゼ発現量が増加し、CYP3A4 遺伝子の転写活性化が認められたが、リファンピシンによる作用は観察されなかった (図 2-2)。リファンピシンによる用量依存的な転写活性化作用は LS174T 細胞において見られたが、LS174T 細胞ではデキサメサゾンおよびクロトリマゾールに対する反応は認められず、用いた細胞の種類によって誘導剤に対する応答性が異なっていた。AdCYP3A4-362-7k を用いて AdCYP3A4-362 と同じ条件でレポーターアッセイを実施した。その結果、HepG2 細胞を用いた場合、10 μM のデキサメサゾン、リファンピシンおよびクロトリマゾール処理によって、ルシフェラーゼ活性は DMSO 処理した場合に比べて、それぞれ約 1.4 倍、約 6 倍および約 22 倍に上昇した。LS174T 細胞の場合にはリファンピシン処理した場合のみにルシフェラーゼの活性が約 9 倍上昇した。H4IIE 細胞ではデキサメサゾンで約 71 倍、クロトリマゾールで約 9 倍の活性上昇が認められたが、リファンピシンではその作用は認められなかった (図 2-3)。

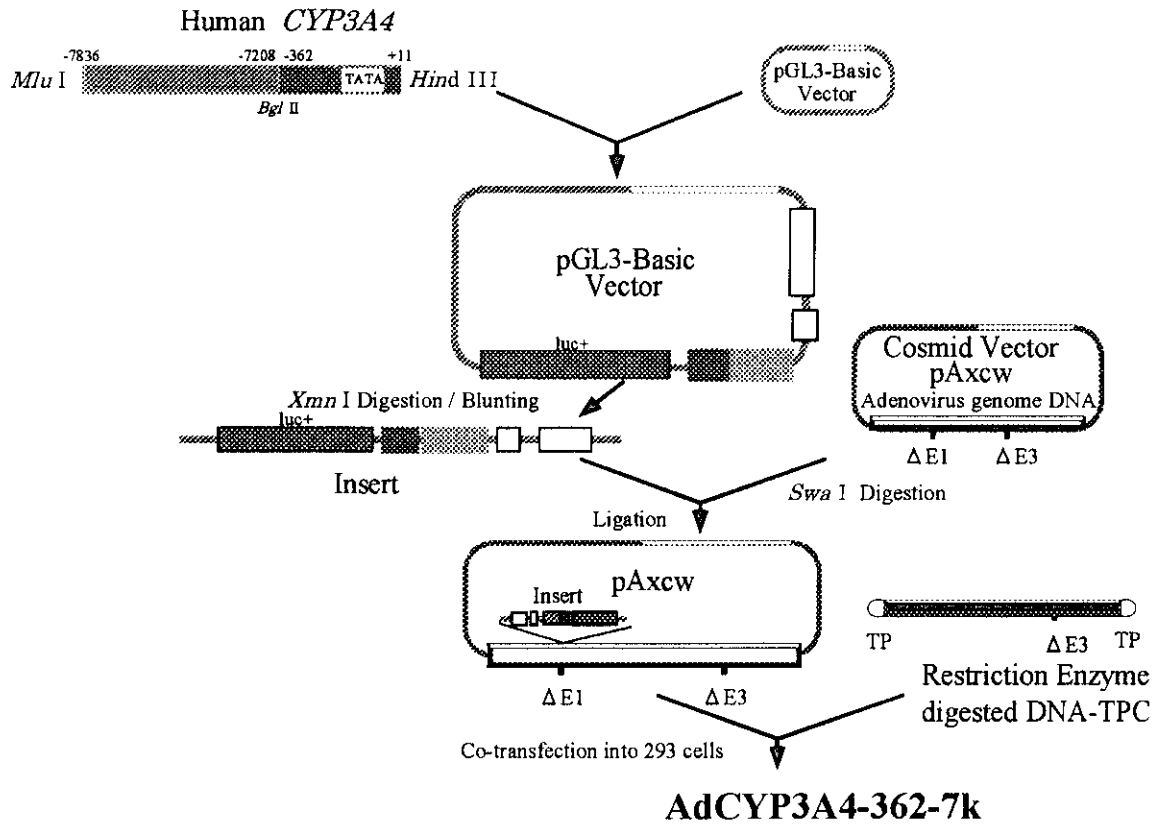


図 2-1 ヒト CYP3A4 レポーター遺伝子 AdCYP3A4-362-7k の構築

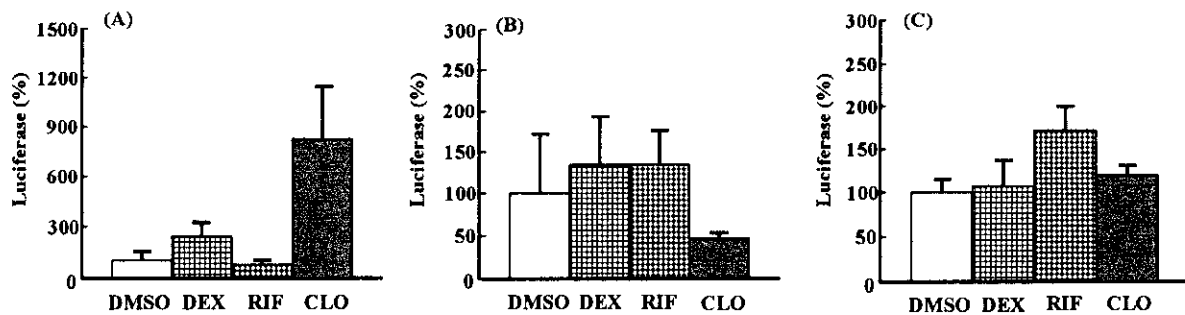


図 2-2 種々の培養細胞における CYP3A 誘導剤による AdCYP3A4-362 の転写活性

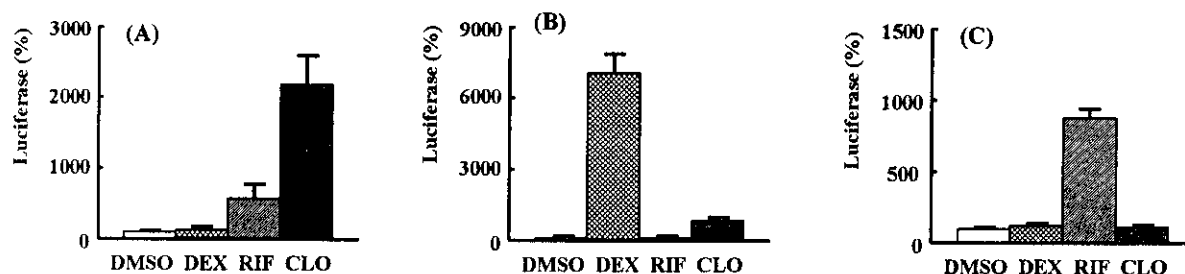


図 2-3 種々の培養細胞における CYP3A 誘導剤による AdCYP3A4-362-7k の転写活性

(3) ヒト CYP1A2 活性の個人間変動とテオフィリン代謝能の関係

テオフィリンの経口徐放性製剤 (テオドール) はバイオアベイラビリティがほぼ 1 であり、投与した量のほとんどが消化管から吸収され、85~90%が肝臓の CYP で代謝を受ける。テオフィリン (13X) から 3-methylxanthine (3X) への経路には CYP1A2 が関与している。また CYP1A2 は 13X から 1-methylxanthine (1X) を生成し、さらに xanthine oxidase により 1-methyluric acid (1U) を生成する。1, 3-dimethyluric acid (13U) は、CYP1A2、CYP2E1、CYP3A4 により生成する。そこで、テオフィリン服用患者でのテオフィリン代謝における CYP 各分子種の関与を明らかにするため、代謝能指標として 4 つの指標、つまり、3X/13X、1U/13X、13U/13X、3X+1U/13X、3X+1U+13U/13X の指標を測定した。血中テオフィリン濃度より計算した CL_{tot} を表 3-2、テオフィリンの未変化体に対する代謝物のモル濃度比を表 3-3 に示した。CYP1A2 活性を示すと考えられる 3X/13X では個人差が認められたが、CYP1A2 以外の分子種が関与している代謝能を示している 13U/13X の値については 1 人を除いてほぼ一定の値を示し、大きな個人差は認められなかった。

表 3-1 患者基礎データ

No	年齢	性別	身長(cm)	体重(kg)	BMI	喫煙本数 /day	間接喫煙	カフェイン含有飲物 /day
1	63	F	154	62	26.1	0	なし	緑茶 3
2	60	F	144	42	20.3	0	なし	緑茶 2、紅茶 1
3	68	F	153	58	24.8	0	あり	緑茶 3、コーヒー 2
4	48	F	156	58	23.8	0	あり	コーヒー 5

表 3-2 患者のテオフィリン血中濃度とクリアランス

No	テオドール [®] 処方	血中濃度($\mu\text{g/mL}$)	Cl_{tot} (mL/min)
1	100mg 2T/ 2x 朝夕	13.919	20.0
2	100mg 2T/ 2x 朝夕	3.359	82.7
3	100mg 2T/ 2x 朝夕	7.108	39.1
4	100mg 4T/ 2x 朝夕	9.204	60.4

表 3-3 患者のテオフィリン未変化体及び各代謝物と未変化体に対する代謝物のモル濃度比

No (theophylline)	血中濃度($\mu\text{g/mL}$)				モル濃度比				
	13X	3X	13U	1U	3x /13X	1U /13X	13U /13X	3X+1U /13X	3X+1U+13U /13X
1	13.92	0.45	0.46	0.14	0.035	0.031	0.010	0.045	0.076
2	3.36	0.96	0.39	0.16	0.310	0.107	0.048	0.359	0.465
3	7.11	0.73	0.41	0.33	0.111	0.053	0.046	0.156	0.209
4	9.20	1.21	0.64	0.53	0.143	0.064	0.057	0.200	0.264

次に健常人での CYP1A2 代謝能の変動幅を評価するため、尿中のカフェイン代謝物を測定した。CYP1A2 活性の指標としてカフェイン (137X、未変化体) に対する代謝物 1,7-dimethylxanthine(17X) と 1,7-dimethyluric acid (17U) のモル濃度比 (17X+17U/137X) を用い、被験者の尿中モル濃度比 (17X+17U/137X) の頻度のグラフを図 3-1 に示した。被験者 31 人の結果を見るとかなりのばらつきがみられ、幅広い範囲の値を示した。最低値は 7.40、最大値は 41.57 を示し、平均値は 26.50 であった。モル濃度比が 20 から 30 までの値を示す被験者が最も多く、全体の約 6 割を占めた。一方、最も低い代謝活性を示した被験者は最も高い代謝活性を示した被験者の約 6 分の 1 程度の活性であった。

また、今回はカフェイン代謝能による性差は見られなかった。喫煙の有無に関しては、喫煙者の数も少なかったためか、喫煙者と非喫煙者との代謝能の間に有意差は見られなかったため、報告されている CYP1A2 の誘導は確認できなかった。しかし、今回の研究では、性差、喫煙とも報告されているような傾向は見られた。性別と喫煙の有無における尿中モル濃度比 (17X+17U/137X) の比較を図 3-2 に示した。

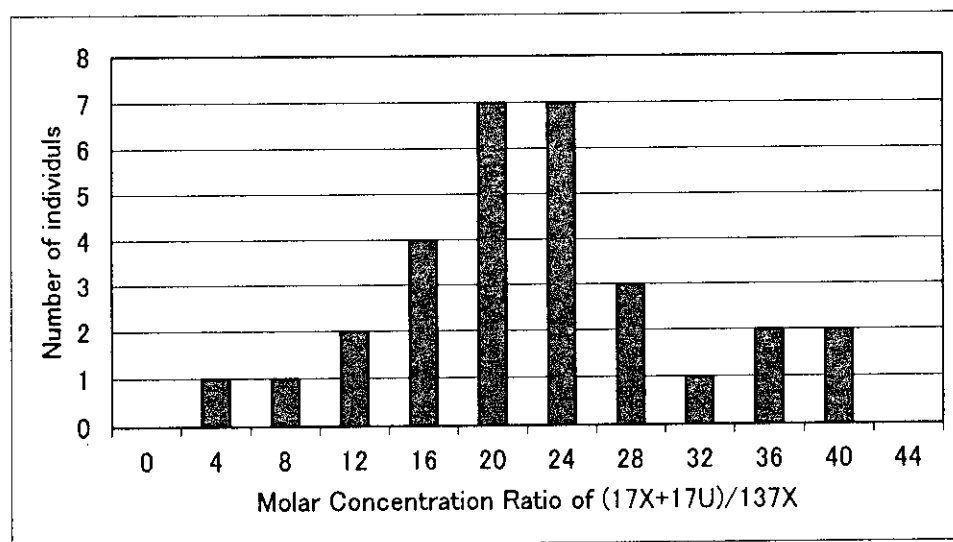


図 3-1 尿中モル濃度比 (17X+17U/137X) の頻度

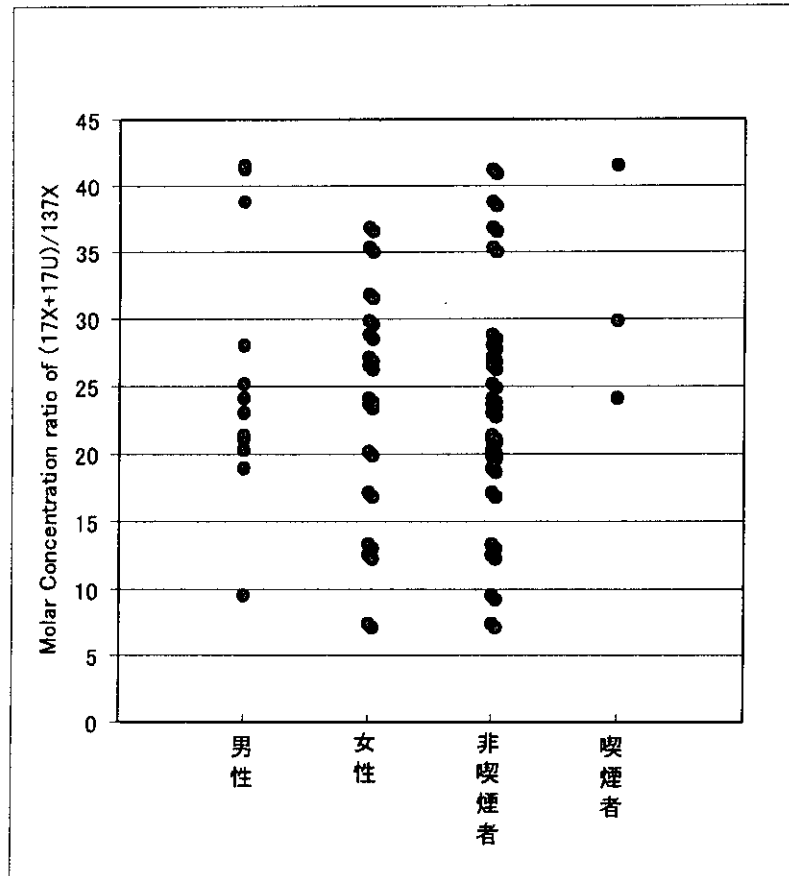


図 3-2 性別と喫煙の有無における尿中モル濃度比 (17X+17U)/137X) の比較

(4) カニクイザル肝臓で発現している新規 CYP 分子種のクローニング

CYP2C ファミリーに属すると考えられる cDNA を 2 種類得た。そのひとつは CYP2C20 であったが、もう一方は新規 CYP2C 分子種であった。また、アミノ酸が置換した変異体が得られた。さらに、これら CYP2C 分子種を大腸菌に発現させるための、発現系を構築した。

4. 考察

(1) 薬物代謝酵素の特性を保持した肝細胞培養系の確立に関する基礎的検討

本研究から切除肝組織をもちいて分散肝細胞を調製する操作をほぼ確立することができた。分散後肝細胞の TAT 活性が表 1 に示す実験 1 では元の肝組織の約半分、培養 24 時間で急速に低下する。実験 2 では、TAT 活性の維持が良くできている。これば、実験手技、特に細胞分離手技の向上が現れた結果と考える。今後、この肝細胞の機能をできるだけ維持し得る培養条件を今後検討する必要がある。機能を維持した肝細胞を増殖させるためには、迅速な分散細胞の採集方法、肝細胞増殖因子などのサイトカインを含む培地の検討、シャーレ表面のコーティングの工夫、スヘロイド培養等のさらなる工夫が必要であると考える。

(2) ヒト CYP3A 誘導能を評価するためのレポーター遺伝子測定系の構築

dNR 領域を含むプロモーターを組み込んだアデノウイルス AdCYP3A4-362-7k を用いてレポーターアッセイを実施すると、AdCYP3A4-362 を用いた場合には十分に認められなかったリファンピシンによる転写活性化がヒト肝細胞由来の HepG2 細胞において観察された。ヒト結腸由来の LS174T 細胞では AdCYP3A4-362 の場合よりも強いリファンピシンによる転写活性化が検出された。これらの結果は ER-6 サイトを含む領域に dNR 領域を連結させることによって、リファンピシンによる転写活性化が増強されたことを示している。しかし、ラット肝細胞由来の H4IIE 細胞ではリファンピシンによる転写活性化は認められなかった。この結果はリファンピシンがヒトでは CYP3A 分子種を強く誘導するがラットではほとんど誘導しないことから、リファンピシンによる CYP3A 誘導の種差は CYP3A 遺伝子の塩基配列の差異によるものではなく、動物種間における転写活性化などの細胞内環境に関わる因子の応答性の違いに依存することが示唆された。HepG2 細胞ではクロトリマゾールによるルシフェラーゼ活性の上昇率が AdCYP3A4-362-7k を用いた場合の方が AdCYP3A4-362 を用いた場合より高くなり、ラット肝細胞由来の H4IIE 細胞でもクロトリマゾールによる転写活性化が認められた。すなわち dNR 領域を連結することにより、肝臓由来の細胞ではクロトリマゾールによる転写活性化が認められるようになった。しかし、結腸由来の LS174T 細胞ではクロトリマゾールによる誘導は認められなかった。

(3) ヒト CYP1A2 活性の個人間変動とテオフィリン代謝能の関係

テオフィリン服用患者での未変化体、3-methylxanthine (3X)、1-methyluric acid (1U)、1,3-dimethyluric acid (13U) の血中濃度を測定し、テオフィリンの全身クリアランスおよびテオフィリンから各々の代謝物への代謝活性をテオフィリン(未変化体)に対する各代謝物のモル濃度比で表示し、テオフィリン代謝能を評価した。今回の被験者においては、テオフィリンの代謝に影響をおよぼすと思われる薬剤を併用している患者はいなかった。また、理想体重の 130%の肥満によりテオフィリンの分布容積が小さくなるため、テオフィリンクリアランスが低下するという報告があるがこれに該当する患者はいなかった。加齢による肝薬物代謝能低下も留意すべき点だが、今回は、患者集団の年齢が近いために考慮はしなかった。

全身クリアランスを見てみると No. 1 の患者が 20.0mL/min とに低い値を示している(表 3-1)。この患者は、臨床検査値から肝機能障害があると判断された。全身クリアランスだけではなく、4 つの代謝能指標、全てにおいて患者の中で最低値を示した。一般に、血中テオフィリン濃度と血中 13U 濃度は高い相関があると報告されている。他 3 名の患者の 13U/13X においては、やや個人差があるものの、ほぼ一定の値を示しているが、No. 1 の患者は 0.010 と他の患者の約 5 分の 1 の値を示した(表 3-3)。これらを総合的に考えると、No. 1 の患者は、肝機能障害によるクリアランスの低下がこれらの結果を生む原因となったと考えられる。

テオフィリンから 3X への代謝過程に CYP1A2 が関与することから、3X/13X は 4 つの代謝能指標の中で CYP1A2 活性を最も強く反映していると考えられる。各患者における 3X/13X をみると個人差が認められた(表 3-3)。テオフィリンから 13U に代謝される過程では、CYP1A2 のみならず、CYP2E1、CYP3A4 もともに代謝に関与している。そのため、13U/13X の代謝能指標は、他の分子種にも依存した代謝能を反映していると考えられる。各 CYP 分子種による代謝活性とヒト肝における各 CYP 分子種の割合を考慮すると、CYP1A2 による代謝活性は CYP2E1 と CYP3A4 による活性より高いが、ヒト肝中の分子種含量は、CYP3A と CYP2E1 の和は、CYP1A2 の含量よりも約 3 倍多い。従って、テオフィリンから 13U への代謝においては、CYP3A4 と CYP2E1 による反応と CYP1A2 による反応はほぼ同程度に関与していると思われる。前述したように、肝機能が正常と思われる患者においては大きな個人差はみられなかったことから、CYP2E1 と CYP3A4 の活性に個人差が少ないと考えられた。

以上の結果から、テオフィリン代謝能は、CYP1A2 に依存した活性には個人差があるが、CYP2E1 や CYP3A4

に依存した活性には個人差は少ないと考えられた。すなわち、テオフィリン代謝能の個人差には、体内の CYP1A2 含量が大きく影響していることが示唆された。

カフェインは、ヒト CYP1A2 活性を *in vivo* で評価するためのプローブ薬として頻用されている。そこで、併用薬や病態の影響を受けない健常人での CYP1A2 活性の個人間変動についてカフェイン代謝を指標にして調べた。ヒトにおいてはカフェインから 17X および 17X から 17U へと代謝される過程に CYP1A2 が関与するとされている。そこで、今回の研究においては (17X+17U)/137X の代謝指標を採用し、図 3-1 の結果を得た。この表から、(17X+17U)/137X で表した代謝能にはかなりの個人差がみられる。カフェインから 17X に代謝される過程は CYP1A2 のみが関与しているが、17X から 17U への反応に CYP1A2、CYP2A6 が、同程度の 17U を生成する。これらを考えると CYP2A6 による (17X+17U)/137X への影響も考えなくてはならない。CYP2A6 には遺伝子多型が存在し、酵素活性に影響を及ぼす変異型が報告されている。現在までの知見によれば、日本人を含む東洋人では、欧米白人に比べ CYP2A6 の遺伝的欠損者の頻度は明らかに高いと考えられ、また、人種全体での平均的な酵素活性が低い可能性もある。日本人では、CYP2A6 の遺伝子欠損型が 18.4% の頻度で存在すると言われている。この遺伝的欠損によるカフェイン代謝能への影響は、ある程度考慮する必要があると思われる。しかし、肝臓中の各 CYP 分子種の組成を考えると、CYP1A2 の含量が約 13%、CYP2A6 の含量が約 4% と 3 倍ほど CYP1A2 の含量の方が多いため、(17X+17U)/137X のカフェイン代謝能指標は、CYP1A2 活性を示していると思われる。すなわち、基礎疾患もなく、肝機能や併用薬等の影響を考慮する必要がない健常人においても CYP1A2 の発現量には大きな個人差が存在していることが明らかになった。従って、CYP1A2 活性は健常人においてもおきな個人差があり、この個人差がテオフィリンクリアランスの個人差の原因であると考えられた。

CYP1A2 の個人差が生じる要因として、喫煙などの生活習慣による違いが考えられるが、今回はその誘導性を確認するには至らなかった。喫煙者が少なかったことが原因と思われるが、一般に、喫煙者のカフェイン代謝能指標は、高い値を示した(図 3-2)。また、男女別に比較してみたところ、結果で示したように有意差は認められなかった。今後、ヒトでの CYP1A2 活性の変動を生じる要因の解析が必要になる。

(4) カニクイザル肝臓で発現している新規 CYP 分子種のクローニング

サルに関する薬物代謝酵素に関する情報は限られており、個々の CYP 分子種についての特性は不明な点が多い。今回クローニングされた CYP 分子種は、サル薬物代謝酵素およびヒトへの外挿方法についての重要な情報を提供するものと考えられる。

5. まとめ

- (1) 肝スライス切片から肝実質細胞を分離する方法を開発し、肝機能を維持した状態で培養する方法を検討した。
- (2) 薬物による薬物代謝酵素の誘導を予測することができる評価系として、アデノウイルスベクターを用いたレポーター遺伝子測定系を構築し、薬物の CYP3A4 遺伝子誘導能を解析した。dNR 領域を含んだ組換えアデノウイルス AdCYP3A4-362-7k を用いることによって、各種 CYP3A 誘導剤による CYP3A4 遺伝子の転写活性化が認められるようになり、AdCYP3A4-362 を用いた場合の誘導応答に比べ、その応答性に改善が見られた。
- (3) ヒトでのカフェイン代謝や、テオフィリン服用患者での代謝物の測定結果からテオフィリンの代謝を

行っている CYP1A2 の活性は他の CYP 分子種に比べて個人差が大きいことが示唆された。このことが、CYP2E1 や CYP3A4 等の分子種で代謝される薬剤に比べてテオフィリンクリアランスが大きな個人差を生じる原因の一つであると考えられた。従って、CYP1A2 活性を予測することがテオフィリンの適正な使用にとって重要になる。

- (4) カニクイザル肝細胞よりシトクロム P450 のクローニングを行い、CYP2C ファミリーに属する分子種の cDNA を 2 種類得た。

6. 研究発表

- (1) 秦 聡美、頭金 正博、ヒト末梢血液中の CYP 分子種の定量と薬物代謝能の評価 日本薬学会 第 121 回年会 札幌 2001 年
- (2) 野崎 功, 難波正義: Human cytochrome P450 2E1 導入ヒト肝癌細胞株 (HLE/2E1) の樹立とその性状. *Tiss. Cult. Res. Commun.* 20, 1-3, 2001
- (3) Fukaya, K., Asahi, S., Nagamori, S., Sakaguchi, M., Gao, C., Miyazaki, M. and Namba, M.: Establishment of a human hepatocyte line (OUMS-29) having CYP 1A1 and 1A2 activities from fetal liver tissue by transfection of SV40 LT. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Animal* 37, 266-269, 2001
- (4) Yoshitomi, S., Ikemoto, K., Takahashi, J., Miki, H., Namba, M. and Asahi, S.: Establishment of the transformants expressing human cytochrome P450 subtypes in HepG2, and their applications on drug metabolism and toxicology. *Toxicol. In Vitro* 15, 245-256, 2001
- (5) Inoue, Y., Miyazaki, M., Tsuji, T., Sakaguchi, M., Fukaya, K., Huh, N.H., and Namba, M.: Reactivation of liver-specific gene expression in an immortalized human hepatocyte cell line by introduction of the human HNF4 α 2 gene. *Int. J. Mol. Med.* 8: 481-487, 2001

7. 知的所有権の取得状況

無し

平成13年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

第3分野

医薬品等開発のための評価方法の開発に関する研究

第4分野

稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

平成14年9月10日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社