

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7分野

ヒト組織を用いた薬物の有効性、安全性に関する研究

## 免疫抑制剤の体内動態並びに薬効発現に関わる蛋白群の遺伝子解析を基盤とした移植臓器における拒絶反応防御に関する研究

所 属 京都大学医学部附属病院 薬剤部  
研究者 乾 賢一

### 分担研究者

- (1) 京都大学医学部附属病院薬剤部 齋藤秀之、増田智先、
- (2) 京都大学医学部附属病院臓器移植医療部 田中紘一、上本伸二
- (3) 国立小児病院小児医療研究センター 辻本豪三
- (4) 藤沢薬品工業株式会社薬物動態研究所 加賀山 彰

### 要 旨

免疫抑制剤タクロリムスに着目し、生体肝移植術後の拒絶反応防御法の確立を目指して系統的な解析を行った。その結果、小腸MDR1発現量を考慮したタクロリムス初期投与量設定の有効性が示唆された。また、タクロリムスの代謝物生成には大きな個人差があること、一部の遺伝子が拒絶反応発現と関わることを示唆された。

### 1. 研究目的

我々は京都大学医学部附属病院での生体肝移植治療において、免疫抑制剤タクロリムス(FK-506)の血中濃度モニタリングに携わり、これまで800例近くの術後管理に貢献してきた。また、生体肝移植患者小腸粘膜に発現する薬物輸送体P-糖タンパク質のmRNA発現量が、術後初期のタクロリムス血中濃度/経口投与量比と良好な負の相関を示すことを明らかにしてきた。しかし、生体肝移植後の拒絶反応発現は、患者の予後に関わる重要な問題であるが、タクロリムスに対する応答性を含めた拒絶反応の支配因子については不明な点が多い。従って、患者一人ひとりに対する適切な有効治療域の設定は、拒絶反応を予防できるだけでなく、予期せぬ副作用の発現も未然に防止できる。

そこで本研究では、このような背景と問題点を踏まえて生体肝移植患者におけるタクロリムス投与方法確立(適切な有効治療域の設定と投与設計法の確立)を最終目標とし、以下の研究計画を実施した。1) 生体肝移植手術時の胆管再建の際に切除される小腸組織片・移植肝組織片を用い、患者個々の小腸・肝臓P-糖蛋白質及びCYP3A4発現量を定量的に解析し、得られた結果とタクロリムス体内動態との比較解析を行った。特に、小腸MDR1 mRNA発現とタクロリムス体内動態との比較解析についてはプロスペクティブな評価を行った。2) MDR1遺伝子多型について、既に知られている部位を中心に多型解析を行い、種々表現型との比較解析を行った。3) 患者の全血由来の総RNA画分を抽出し、タクロリムスの体内動態並びに薬理効果発現に関わる諸遺伝子群の発現レベルを定量数値化し、患者の容態との比較を行った。4) 生体部分肝移植術において、移植肝は術後徐々に機能・サイズが回復することから、2/3肝摘出ラットを用い、肝再生期におけるタクロリムス体内動態の変動について速度論的解析を行った。5) 生体肝移植患者由来の臨床検体を用いたヒトにおけるタクロリムスの血液中分布特性について、タクロリムスの未変化体及び代謝物のLC/MS/MSを用いた高感度検出法の開発、6) 拒絶反応関連遺伝子群の抽出のための臓器別標準化cDNAライブラリーの作成とそれに基づく臓器別標準化cDNAマイクロアレイの作成を行った。

### 2. 研究方法

- (1) ヒト小腸組織の採取と粗膜画分およびtotal RNA画分の抽出

生体肝移植手術における胆管再建の際に切除される小腸組織を試料として用いた。切除後、直ちに液体窒素中で凍結した。凍結組織は37℃で急速に溶解し、粘膜部分を剥離した後に粗膜画分と total RNA 画分を同時抽出した。得られる粘膜部分が微量である場合や小腸移植患者由来の生検組織を使用する場合には、total RNA 画分の抽出を優先した。

#### (2) ヒト小腸組織に発現する P-糖蛋白質および CYP3A4 の定量

特異抗体を用いたタンパクレベルでの定量解析並びに拮抗 PCR 法を用い、MDR1 mRNA および CYP3A4 mRNA を同時定量した。また、迅速な定量法を確立するため、ABI プリズム 7700 を用いたりリアルタイム PCR による検出法の開発と評価を行った。

#### (3) ヒト全血由来の総 RNA 画分を用いた各種タクロリムス薬理効果発現に関わる遺伝子群の定量

臓器移植と拒絶反応並びに免疫抑制剤の薬理効果発現に関わる遺伝子群について、それぞれに特異的な反応条件と標準遺伝子を作成し、リアルタイム PCR 法での定量数値化を試みた。

#### (4) 生体肝移植患者におけるタクロリムス代謝能の高感度評価法の開発

日々の薬物血中濃度モニタリングのために採取された末梢血（約2mL）の余剰分を用いて、全血、白血球、血漿の3画分の調製を行った。胆汁検体については、24時間あたりの胆汁流量を測定した後に廃棄されるものの一部を取り分け、京都大学医学部附属病院内において前処理を行い、藤沢薬品工業（株）薬物動態研究所での LC/MS/MS 測定を行った。定量限界はそれぞれ試料中濃度として0.5ng/mLであった。

#### (5) 2/3 肝摘ラットの作成とタクロリムス体内動態の経時的な解析

定法に従い、Wistar 系雄性ラットの肝臓 2/3 をエーテル麻酔下で摘出した。術後、経時的にタクロリムスの各種動態パラメータを求めた。

#### (6) 臓器別標準化 cDNA マイクロアレイの作成と IgA 腎症モデルマウスの解析

サブトラクション法を応用し、約5,000 遺伝子を用いたガラスアレイの作成を行った。このようにして作成した内の腎臓標準化 cDNA マイクロアレイを用いて、IgA 腎症モデルマウスである HIGA マウスの遺伝子発現解析を行った。

### 3. 研究成果

#### (1) 生体肝移植患者の小腸組織における P-糖蛋白質及び CYP3A4 の定量とタクロリムス体内動態との比較解析

我々はこれまで、生体肝移植患者の小腸 P-糖タンパク質発現量は術後初期のタクロリムス血中濃度/経口投与量 (C/D) 比と良好な負の相関を示すことを明らかにしてきた。生体肝移植患者に対するタクロリムス治療は、移植後一日目の夕刻より経口投与で開始される。すなわち、術時検体を受け取った後タクロリムスの投与量を設定するまでに、小腸 P-糖タンパク質の発現量が定量数値化されれば、得られたデータを臨床に還元することが可能になると考えられる。拮抗 PCR 法による MDR1 mRNA レベルの定量には、約1日半を要したため、得られたデータの迅速な臨床応用を考慮した場合、時間的に不利である。一方、リアルタイム PCR 法による解析を併用することにより、大幅な所要時間の短縮化が見込まれる。本研究では、術時検体を用いた小腸 P-糖タンパク質発現量の定量解析に必要な時間の算定と、データの迅速なフィードバックの可能性について調べた。その結果、術時検体を受け取った後 RNA の抽出と逆転写、リアルタイム PCR による解析に要する時間は、最速で約6時間、平均で10時間程度であり、移植後一日目から始まるタクロリムス投与量の設定に十分間に合うことが分かった。さらに、小腸 P-糖タンパク質発現量とタクロリムス C/D 比との比較解析についてプロスペクティブな評価を試みた結果、小腸 P-糖タンパク質発現量は術直後のタクロリムス C/D 比と良好な逆相関を示すことが確認された。従って、本研

研究成果はタクロリムスの初期投与量設定に利用可能であることが示唆された。

## (2) MDR1 遺伝子多型解析

MDR1 遺伝子において既に存在が明らかとなっている一塩基多型 (SNP) を中心に解析を行った。その結果、それぞれのアレル頻度についてはこれまで日本人において解析されたデータと類似するものであった。我々は、生体肝移植患者において MDR1 C3435T 多型は小腸 P-糖タンパク質の発現量やタクロリムス体内動態との相関を示さないこと、小腸 CYP3A4 発現量と有意な相関関係を示すことを明らかにした。

## (3) 拒絶反応発現・タクロリムス薬理効果発現に関わる遺伝子群の探索

移植直後の拒絶反応が頻発すると考えられる POD3~POD10 に着目し、それらタンパク質をコードする mRNA 発現量の定量と臨床所見との比較解析を試みた。その結果、いくつかの遺伝子について拒絶反応発現との相関を示す傾向が認められた。今後、解析症例の積み重ねを行い、術後早期における拒絶反応発現の予測因子となる遺伝子群の抽出を行う予定である。

## (4) 生体肝移植患者におけるタクロリムス代謝能の高感度評価法の開発

生体肝移植患者の特に術後初期においては、血中胆汁酸量、コレステロール量、ビリルビン値などが総て高く、同じ血液でも粘性が極めて高い。また、胆汁についてもタンパクを含む場合があり一般的な抽出・前処理が困難である。さらに、in vitro のレベルにおいて、現在知られているタクロリムスの代謝物は 8 種類であり (Fig. 1)、代謝物それぞれの生成速度と臨床各症状との対応については全く知られていない。本研究では、まず最初に、日本人生体肝移植患者由来の臨床検体を用いて、タクロリムスの未変化体並びに代謝物の高感度定量法の開発を試みた。ヒト血液検体並びに胆汁検体におけるタクロリムスの未変化体及び代謝物の定量を行った結果、ある患者では代謝物がほぼ検出されなかったのに対し、ある患者では M1、M2、M3 の 3 種類の代謝物が検出された。また、LC/MS/MS で得られた全血中濃度の結果は、採血当日に測定している IMx により得られた結果とほぼ対応するものであった。さらに、IMx における検出限界 (2ng/mL) を考え併せると、我々が開発したヒト臨床検体中のタクロリムス濃度測定法は、検出感度が高いため (検出限界: 0.5ng/mL 以下) 一般的に分布量が低いと考えられている白血球中のタクロリムス濃度を測定するのに適している。白血球中のタクロリムス濃度は、全血中濃度と比較して 2%~50% と大きくばらつくことが判明した。

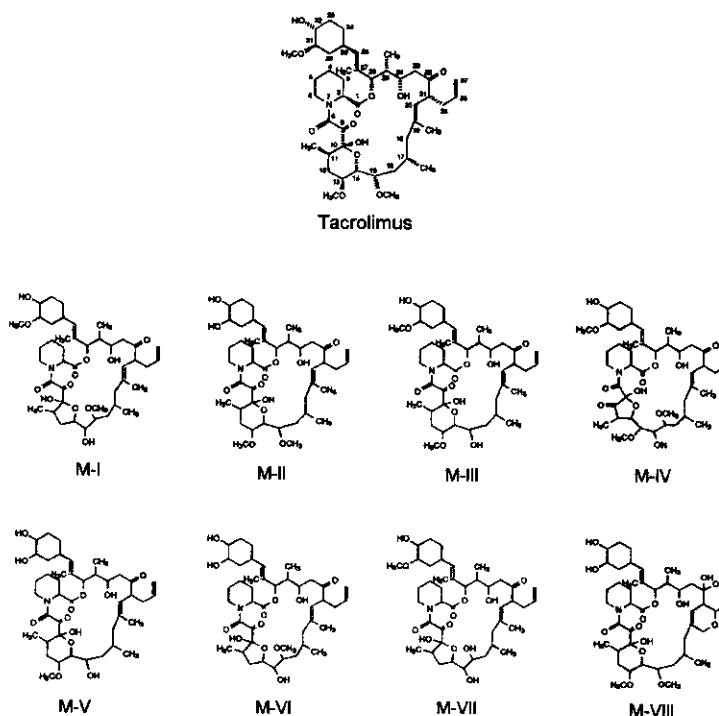


Fig. 1 タクロリムス及びその代謝物 (M-I~M-VIII) の構造

#### (5) モデル動物を用いた解析

2/3肝摘出ラットを用い、切除後経時的にタクロリムスの体内動態について詳細な解析を行った。その結果、2/3肝摘出後早期(～2日迄)では、タクロリムスの肝クリアランスは著明な低下を示し、残存肝重量との相関性を示さなかった。一方、2/3肝摘出4日以降では、肝重量の回復に伴うタクロリムスクリアランスの上昇(回復)が認められ、摘出14日以降では模擬処置群と変わらないレベルにまでタクロリムスのクリアランス速度は回復していた。同時に経口投与されたタクロリムスの小腸における代謝・消失速度の変動について調べたところ、観察期間を通じてほぼ一定であった。以上の結果は、2/3肝摘出後早期においては、CYP3A活性が顕著に低下すること、回復期においては肝組織重量の回復に従ったクリアランスの回復すなわち単位肝重量あたりのCYP3A活性は維持されることを示すものである。

#### (6) 臓器別標準化cDNAマイクロアレイの作成とIgA腎症モデルマウスの解析

腎標準化ライブラリーより、任意に4,224クローンを選択し、マイクロアレイを作成した。様々な遺伝子をランダムにスポットしたマイクロアレイでは、解析可能なシグナル強度が得られないスポットが多数存在していたが、本研究において我々が作成した標準化cDNAマイクロアレイでは、80%以上のスポットにおいて、解析可能なシグナル強度が確保できた。

そこで、IgA腎症モデルマウスであるHIGAマウスの遺伝子発現解析を行った。その結果、組織学的に腎病変が観察されない生後6週齢のマウスにおいて、多くの遺伝子発現に変動が認められた。一方、組織学的にIgA腎症と診断される25週齢のHIGAマウス腎mRNA発現量は、6週齢で認められたほどには発現変動を示さないことも明らかとなった。変動が認められた遺伝子の中にはPDGFなどヒトIgA腎症において発現更新する遺伝子や、メサンギウム細胞の増殖に関わる遺伝子なども存在した。

### 4. 考察

まず、術時検体を用いた小腸P-糖タンパク質発現量の定量とそれに基づくタクロリムス初期投与量設定については、リアルタイムPCR法を組み合わせることにより、検体中のRNA抽出からmRNA発現量定量数値化までの所要時間が十分短縮された。従って、移植後最初のタクロリムス投与量の設定に十分利用可能であることが示唆された。今後、得られたデータに基づくタクロリムスの初期投与量設定のシミュレーションを積み重ね、小腸P-糖タンパク質発現量を考慮したタクロリムス初期投与量設定法を開発する予定である。

腎移植患者におけるタクロリムスの血中濃度を有効域にコントロールするために、アフリカ系の患者はコーカサス系の患者と比較して2倍の投与量が必要であること、健常人における免疫抑制剤シクロスポリンの消失速度が、アフリカ系米国人においてヨーロッパ系米国人の25%高いことが明らかにされている。さらに、MDR1 C3435T変異は、日本人などのモンゴリアンやヨーロッパ系白人に多く(約50%の頻度)、アフリカ系民族にはほとんど見出されないこと(約80%が野生型ホモ)が知られている(Lancet, 358, 383, 2001)。本研究において、我々はMDR1 C3435T多型がCYP3A4発現量と良好に相関するという結果を得た。これらの背景を考え併せると、タクロリムスやシクロスポリンなど主に肝CYP3A4を介して代謝消失を受ける薬物については、その代謝消失に大きな民族差が存在すること、その民族差はMDR1遺伝子のC3435T変異と強く連鎖する可能性が示唆された。今後、MDR1 C3435T多型でグループ分けし、網羅的な遺伝子多型解析を行うことによって未知のCYP3A4遺伝子多型が見出されると考えられる。

拒絶反応を始めとして、臓器移植患者における免疫反応や炎症反応が発現した場合、サイトカイン類など多くの遺伝子発現が誘導される。本年度では、タクロリムスによる免疫抑制反応や拒絶反応に関係すると考えられた遺伝子総てについて、mRNA定量系の確立を試みた。次年度以降は、解析対象遺伝子の追加・淘汰を繰り返し、真に拒絶反応発症の予測因子となり得る遺伝子の同定と臨床応用への可能性について解析を進める予定である。

生体肝移植患者由来の臨床検体を用いたヒトにおけるタクロリムスの血液中分布特性について、タクロリムスの未変化体及び代謝物のLC/MS/MSを用いた高感度検出法の開発を行った。その結果、LC/MS/MSで得られた未変化体血中濃度の結果は、IMxで測定している日々のタクロリムス血中濃度と

対応したものであり、測定法の違いによる誤差は小さいものであると考えられた。また、LC/MS/MSによる検出法が、IMxによって得られたデータよりも高感度であることから、微量検体の場合や分布の程度が低いと考えられている血漿・白血球中の測定に適すると考えた。さらに、胆汁中代謝物濃度がある臨床症状と密接な関わりがあるという予備的な結果も得ていることから、今後解析症例をさらに積み重ね、臨床症状とタクロリムス未変化体並びに代謝物の体内動態を詳細に比較解析し、拒絶反応または感染症との関係について因果関係を見出す予定である。

我々はこれまで、生体肝移植患者におけるタクロリムス消失速度、すなわち肝クリアランスは術後日数の経過に従い増大することを明らかにした (Yasuhara et al., *Transplant Proc*, 27, 1108, 1995)。しかしながら、移植直後においてはタクロリムスの体内動態は肝クリアランスよりもむしろ小腸P-糖タンパク質発現量と良好に逆相関することを見出している (研究成果5)。本研究において2/3肝摘出後のラットにおけるタクロリムスクリアランスは、肝組織の再生が開始されるまで低値を示した状態を推移していた。これらの結果は、タクロリムスの肝クリアランスが術後早期と肝再生期において異なるというこれまでの臨床において認められた現象と対応するものであり、本モデルラットは移植直後のレシピエントにおけるタクロリムス体内動態の変動を調べる上で有用なツールになり得ると考えられる。

今年度作成した標準化cDNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析は、80%以上という高い確率でシグナル強度の定量数値化を可能とした。この中で、腎標準化マイクロアレイを用いたIgA腎症モデルマウスのmRNA発現解析の結果から、HIGAマウス腎mRNA発現プロファイルの変化が組織学的な腎症の発症と進展よりも速く認められることが判明した。従って、マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析は、病態時における遺伝子発現変化を調べられるだけでなく、病変発症の予知という観点からも応用性が高いことが示唆された。cDNAマイクロアレイを応用した遺伝子発現解析を行えば、生体肝移植術後早期に頻発する拒絶反応の発現予測と、迅速な対応を可能とするのみならず、早期拒絶反応防御法確立にも応用できると考えられる。

## 5. まとめ

初年度である平成13年度では、本研究課題の到達目標である臓器移植患者における拒絶反応防御法確立に向けた、研究技術基盤の開発を主に達成することができた。すなわち、京都大学医学部附属病院移植外科による末期肝不全患者に対する生体部分肝移植治療の実施、京都大学医学部附属病院薬剤部による術後管理並びに術時検体（小腸・肝臓組織）を用いた免疫抑制剤タクロリムス体内動態関連遺伝子の発現量とその臨床応用と、血液検体を用いたタクロリムス薬理効果関連遺伝子群の発現量定量、藤沢薬品工業薬物動態研究所による血液中タクロリムス及びその代謝物のプロファイル作成のための高感度定量法の開発、国立小児病院小児医療研究センターによる網羅的な遺伝子発現解析のための標準化cDNAマイクロアレイ作成と応用という広範囲且つ詳細な研究計画を実施した。次年度以降では、生体肝移植患者における拒絶反応関連遺伝子群の抽出と特定を目指し、解析症例を積み重ねる予定である。

本研究目標の達成によって、臓器移植患者における有効かつ安全な免疫抑制剤の使用法確立並びに拒絶反応の予測とその防御のための貴重な基礎情報が得られるものとする。

## 6. 研究発表

1. Shimomura, M., Masuda, S., Saito, H., Sakamoto, S., Uemoto, S., Tanaka, K., and Inui, K.: Roles of the jejunum and ileum in the first-pass effect as absorptive barriers for orally administered tacrolimus. *J Sug Res*, (2002) in press.
2. Yamaguchi, H., Yano, I., Saito, H., and Inui, K.: Pharmacokinetic role of P-glycoprotein in oral bioavailability and intestinal secretion of grepafloxacin *in vivo*. *J Pharmacol Exp Ther*, (2002) in press.
3. 増田智先、乾 賢一：薬物動態における薬物トランスポーターの分子機構（特集：ゲノム世紀の創薬開発研究と薬物療法）。*日本臨床*, (2002) 60(1), 65-73 [総説]。
4. Okabe, H., Yano, I., Hashimoto, Y., Saito, H. and Inui, K.: Evaluation of increased bioavailability of tacrolimus in rats with experimental renal dysfunction. *J Pharm Pharmacol*,

- (2002) *54*(1): 65-70.
5. Hashida, T., Masuda, S., Uemoto, S., Saito, H., Tanaka, K., and Inui, K.: Pharmacokinetic and prognostic significance of intestinal MDR1 expression in recipients of living-donor liver transplantation. *Clin Pharmacol Ther* (2001) **69**(5), 308-316.
  6. Fukatsu, S., Yano, I., Igarashi, T., Hashida, T., Takayanagi, K., Saito, H., Uemoto, S., Kiuchi, T., Tanaka, K. and Inui, K.: Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult recipients receiving living-donor liver transplantation. *Eur J Clin Pharmacol*, (2001) **57**(6-7), 479-484.
  7. Motohashi, H., Masuda, S., Katsura, T., Saito, H., Sakamoto, S., Uemoto, S., Tanaka, K. and Inui, K.: Expression of peptide transporter following intestinal transplantation in the rat. *J Surg Res*, (2001) **99**(2), 294-300 .
  8. Motohashi, H., Katsura, T., Saito, H. and Inui, K.: Effects of tacrolimus and cyclosporin A on peptide transporter PEPT1 in Caco-2 cells. *Pharm Res*, (2001) **18**(5), 713-717.
  9. 橋田 亨、乾 賢一：免疫抑制剤の血中濃度モニタリング：臓器移植後のモニタリングと臨床検査。 *臨床病理*, (2001) **49**(7), 662-664.
  10. Katsuma, S., Shiojima, S., Hirasawa, A., Suzuki, Y., Takagaki, K., Murai, M., Kaminishi, Y., Hada, Y., Koba, M., Muso, E., Miyawaki, S., Ohgi, T., Yano, J., and Tsujimoto, G., Genomic analysis of a mouse model of immunoglobulin A nephropathy reveals an enhanced PDGF-EDG5 cascade. *Pharmacogenomics J* (2001) **1** (3): 211-217.
  11. Katsuma, S., and Tsujimoto, G., Genome medicine promised by microarray technology. *Expert Rev Mol Diagn* (2001) **1** (4): 377-382.
  12. Tsujimoto, G., Katsuma, S., Shiojima, S., Hirasawa, A., and Tanoue, A., Functional genomic research of alpha1-adrenoceptors. *J Cardiovasc Pharmacol* (2001) **38** Suppl 1 S1-5.
  13. Awaji, T., Hirasawa, A., Shirakawa, H., Tsujimoto, G., and Miyazaki, S., Novel green fluorescent protein-based ratiometric indicators for monitoring pH in defined intracellular microdomains. *Biochem Biophys Res Commun* (2001) **289** (2): 457-462.
  14. Yamauchi, J., Itoh, H., Shinoura, H., Miyamoto, Y., Tsumaya, K., Hirasawa, A., Kaziro, Y., and Tsujimoto, G., Galphaq-dependent activation of mitogen-activated protein kinase kinase 4/c-Jun N-terminal kinase cascade. *Biochem Biophys Res Commun* (2001) **288** (5): 1087-1094.
  15. Katsuma, S., Nishi, K., Tanigawara, K., Ikawa, H., Shiojima, S., Takagaki, K., Kaminishi, Y., Suzuki, Y., Hirasawa, A., Ohgi, T., Yano, J., Murakami, Y., and Tsujimoto, G., Molecular monitoring of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by cDNA microarray-based gene expression profiling. *Biochem Biophys Res Commun* (2001) **288** (4): 747-751.
  16. Homma, N., Tsujimoto, G., and Hashimoto, K., Electrophysiologic effects of an antiarrhythmic agent, bidisomide, on sodium current in isolated rat ventricular myocytes: comparison with mexiletine and disopyramide. *Jpn J Pharmacol* (2001) **86** (1): 23-31.
  17. Yamauchi, J., Hirasawa, A., Miyamoto, Y., Itoh, H., and Tsujimoto, G., Beta2-adrenergic receptor/cyclic adenosine monophosphate (cAMP) leads to JNK activation through Rho family small GTPases. *Biochem Biophys Res Commun* (2001) **284** (5): 1199-1203.
  18. Hirasawa, A., Awaji, T., Xu, Z., Shinoura, H., and Tsujimoto, G., Regulation of subcellular localization of alpha1-adrenoceptor subtypes. *Life Sci* (2001) **68** (19-20): 2259-2267.
  19. Yamauchi, J., Tsujimoto, G., Kaziro, Y., and Itoh, H., Parallel regulation of mitogen-activated protein kinase kinase 3 (MKK3) and MKK6 in Gq-signaling cascade. *J Biol Chem* (2001) **276** (26): 23362-23372.
  20. Takei, Y., Swietlik, M., Tanoue, A., Tsujimoto, G., Kouzarides, T., and Laskey, R., MCM3AP, a novel acetyltransferase that acetylates replication protein MCM3. *EMBO Rep* (2001) **2** (2): 119-123.

21. Yamauchi, J., Itoh, H., Shinoura, H., Miyamoto, Y., Hirasawa, A., Kaziro, Y., and Tsujimoto, G., Involvement of c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase in alpha1B-adrenergic receptor/Galphaq-induced inhibition of cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* (2001) **281** (4): 1019-1023.
22. Katahira, S., Sugawara, T., Tsujimoto, G., Sugiyama, A., Tada, Y., Hashimoto, K., Effects of alpha1-adrenoceptor blockade on canine ischemia/reperfusion-induced arrhythmias. *Asia Pacific J Pharmacol* (2001) **15**:47-56

7. 知的所有権の取得状況

- 1) 特許取得 該当なし
- 2) 実用新案登録 該当なし
- 3) その他 特になし



---

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7分野

ヒト組織を用いた薬物の有効性、安全性に関する研究

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