

間で FLU-1-N-OH 体の濃度に有意な差異は認められず、FLU-1-N-OH 体が究極の活性化体ではなくさらなる代謝活性化あるいは何らかの因子を毒性発現に必要とする可能性が示された。

#### E. 結論

ヒトにおける flutamide の肝障害に関連すると考えられる FLU-1-N-OH 体がヒト肝のミクロゾーム画分により生成されることが示され、その経路に主に carboxylesterase と CYP3A4 が関与することが示された。一方マウスにおいては CYP3A ではなく CYP1A の関与が示唆されヒトとマウスで主要な代謝活性化酵素に種差が存在することが示唆された。また前立腺癌患者の尿中代謝物として FLU-1-N-OH 体が検出されそのほとんどが抱合体として検出されたが、その濃度に肝障害の認められる群と認められない群間に差異は認められなかった。このことより flutamide の肝障害発現には FLU-1-N-OH 体に加えてさらに何らかの因子が必要であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- 1) 大瀧雅人、宮田昌明、長井大地、山添康 Flutamide 誘発肝障害における N-水酸化代謝物、N-[4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl]hydroxylamine の関与 日本薬学会第 126 回年会、2006. 仙台
  - 2) 大瀧雅人、宮田昌明、山添康 N-[4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl]hydroxylamine の変異原性 日本環境変異原学会 第 35 回年会、2006, 堺
- G. 知的財産権の出願、登録状況  
登録および登録予定共になし

**Table 1**

Effects of NADPH, carboxylesterase inhibitor, and CYP inhibitors on the metabolism of flutamide and FLU-1 in human liver microsomes

Substrate	Product	% of control (mean ± S.D.)				
		Control	- NADPH (1.6 mM)	+ BNPP (500 µM)	+ Ellipticine (1 µM)	+ Miconazole (10 µM)
flutamide	OH-flutamide	100.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	N.T.	32.6 ± 7.5	94.2 ± 9.5
	FLU-1	100.0 ± 0.0	124.9 ± 5.3	0.0 ± 0.0	N.T.	N.T.
FLU-1	FLU-1-N-OH	100.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	N.T.	94.4 ± 9.6	47.0 ± 14.8
	FLU-3	100.0 ± 0.0	1.9 ± 1.7	N.T.	102.3 ± 2.3	80.5 ± 13.4

*N.T., not tested.*

Flutamide or FLU-1 (100 µM) was incubated with or without NADPH, or with BNPP, ellipticine or miconazole at 37°C for 30 min in human microsomes, and formed products were determined by LC/MS .

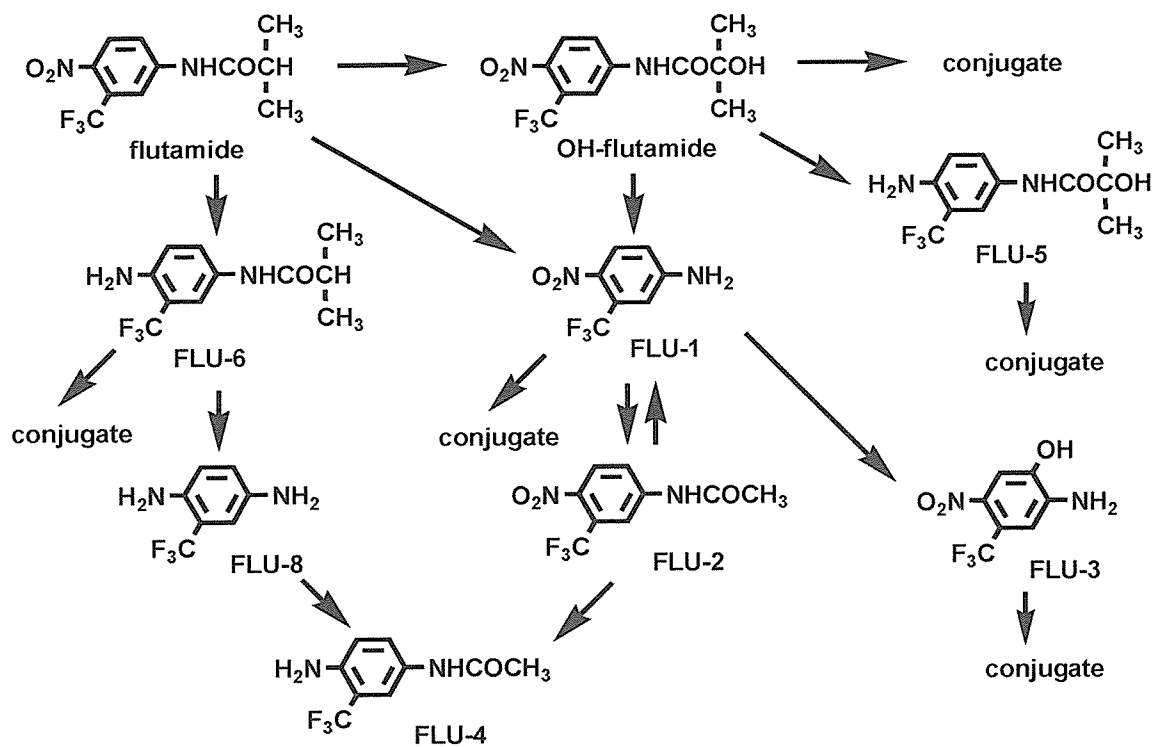
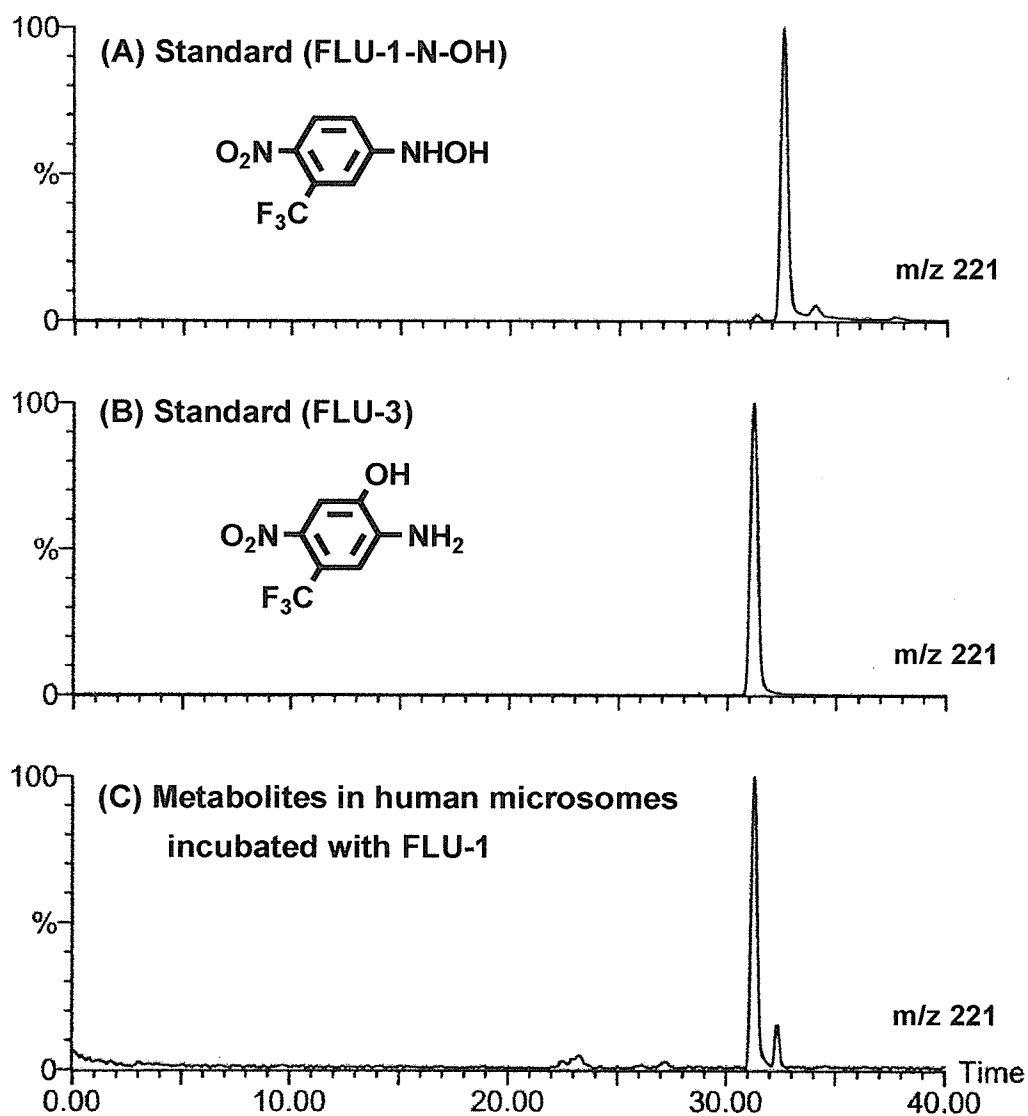
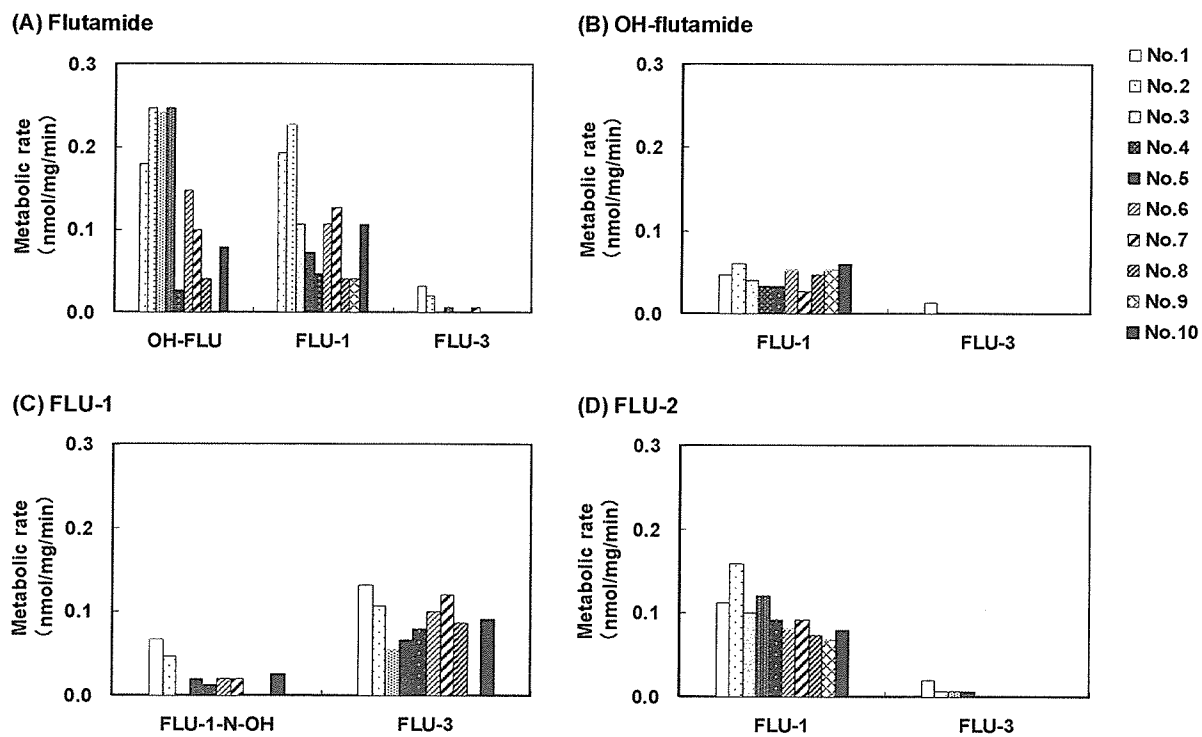


Fig. 1 Metabolic pathway of flutamide.

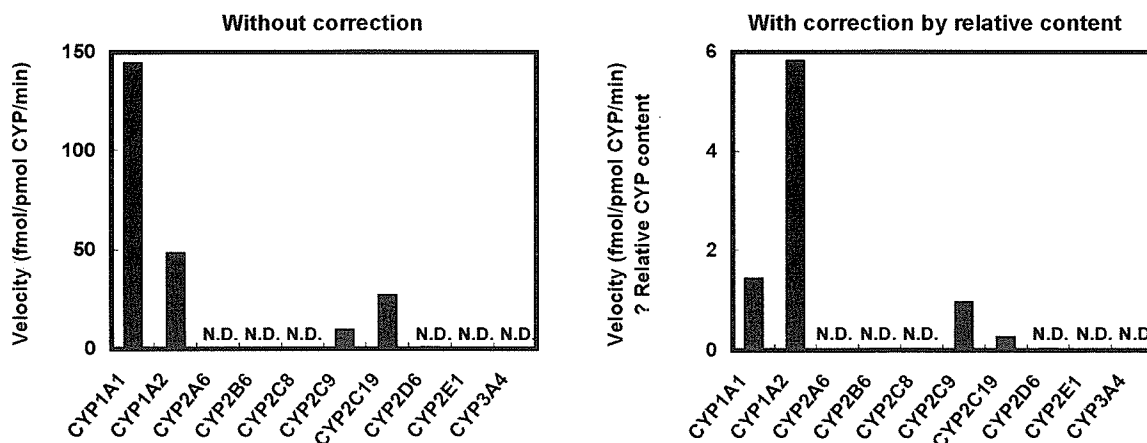


**Fig. 2** LC/ESI-MS chromatograms of FLU-1 metabolites formed by human liver microsome. Representative peak profile of authentic sample of FLU-1-N-OH (A), FLU-3 (B), and incubation extract of FLU-1 with human liver microsome at 37°C for 30 min (C).



**Fig. 3** Metabolism of flutamide and its three metabolites in human liver microsomes. One hundred  $\mu\text{M}$  of flutamide (A), OH-flutamide (B), FLU-1 (C), and FLU-2 (D) were incubated with ten human liver microsomes preparations at  $37^\circ\text{C}$  for 30 min. Metabolites formed were determined by LC/MS.

(A) Flutamide 1  $\mu\text{M}$



(B) Flutamide 100  $\mu\text{M}$

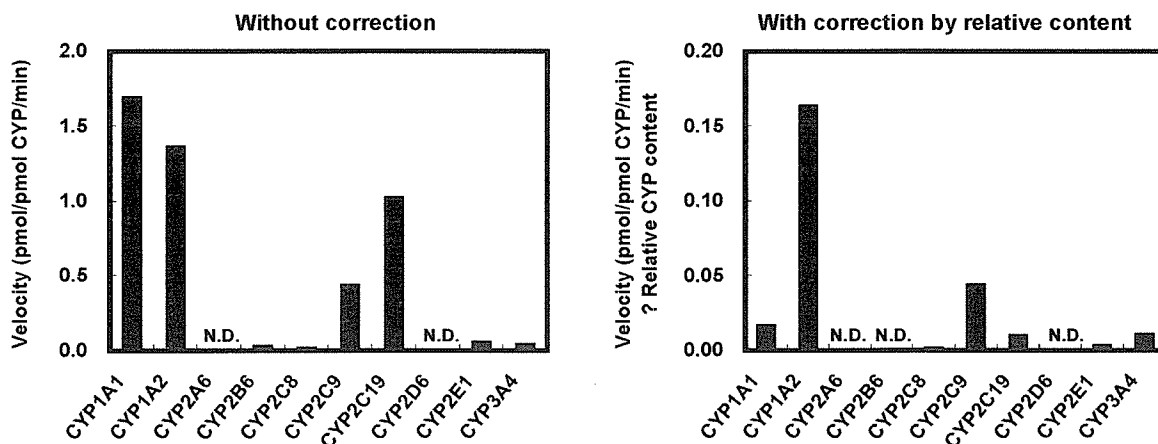
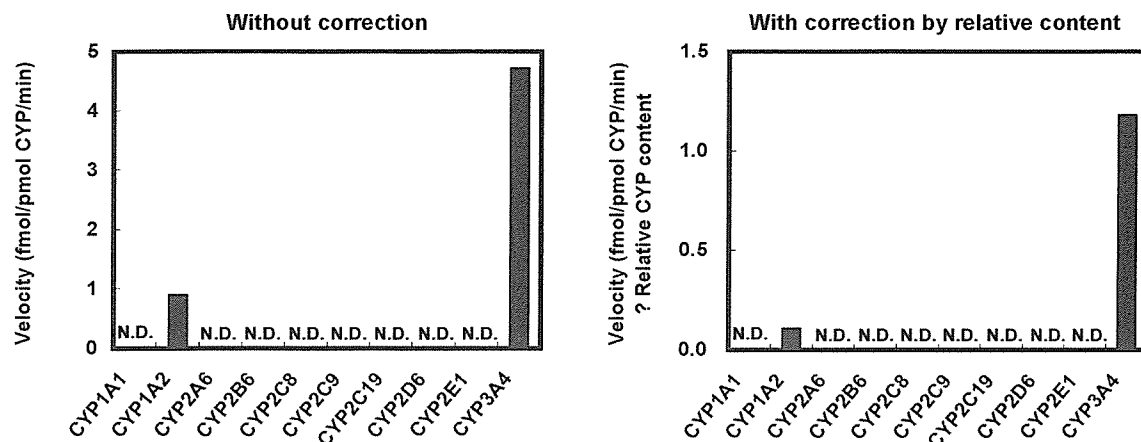
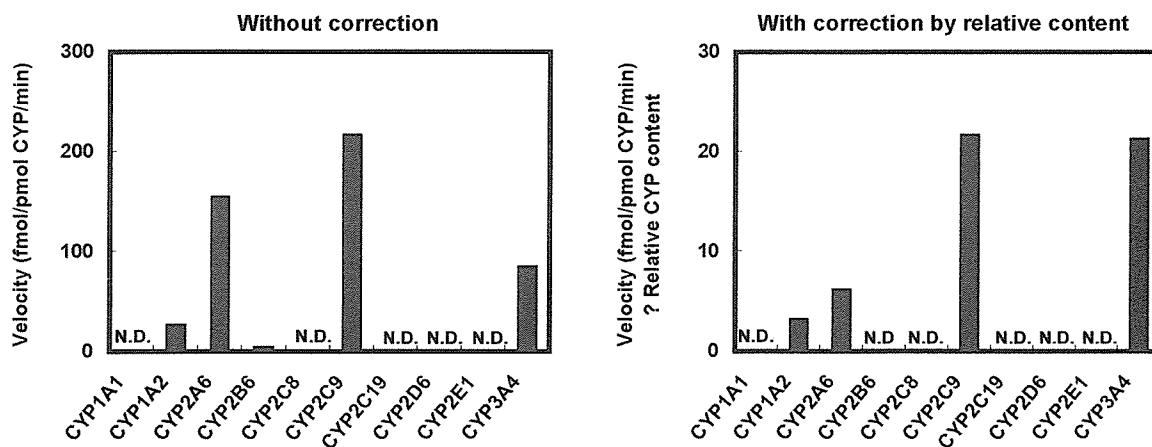


Fig. 4 Formation of OH-flutamide from flutamide by human CYP isoforms. Flutamide (A:1  $\mu\text{M}$ , B:100  $\mu\text{M}$ ) was incubated at 37°C for 120 min with microsomes (1 mg/ml) from human B lymphoblastoid cells expressing each of ten CYP isoforms. Left graphs show net enzymatic reaction velocity without correction. Right graphs show relative velocity corrected with the reported content ratio of CYP isoforms in human liver microsomes (Shimada et al., 1994). Formed OH-flutamide content was determined by LC/MS. Data represent a representative experiment. N.D., not detected.

(A) FLU-1 1  $\mu$ M

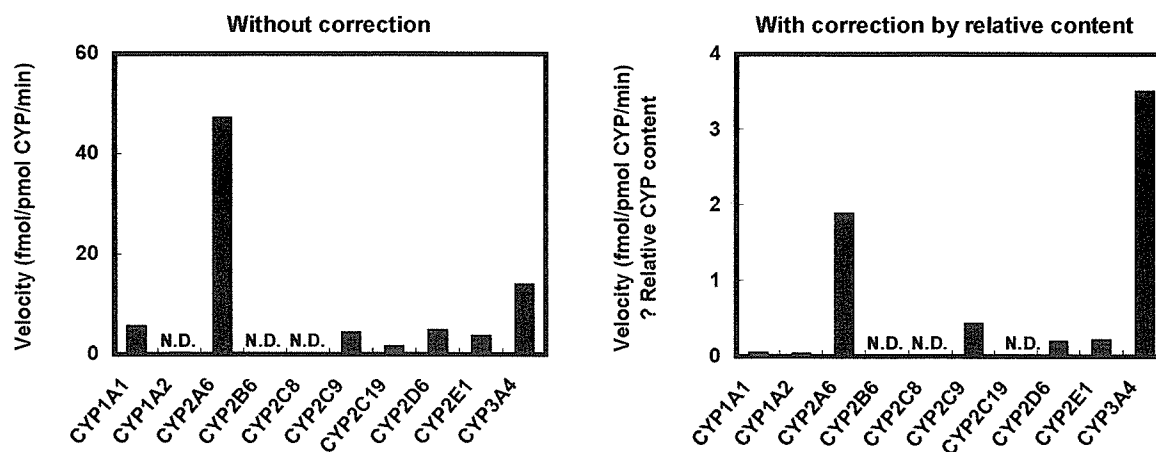


(B) FLU-1 100  $\mu$ M

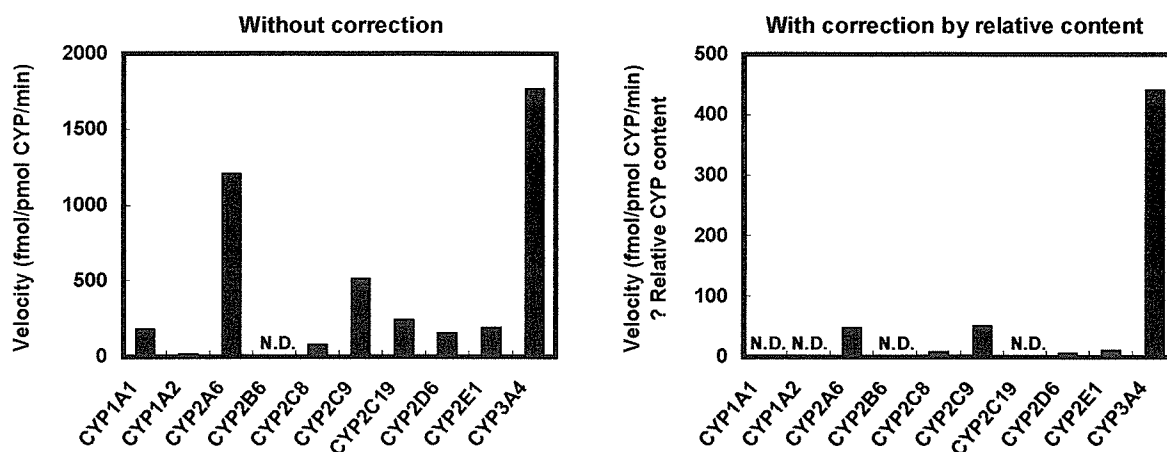


**Fig. 5** Formation of FLU-1-N-OH from FLU-1 by human CYP isoforms. FLU-1 (A:1  $\mu$ M, B:100  $\mu$ M) was incubated at 37°C for 120 min with microsomes (1 mg/ml) from human B lymphoblastoid cells expressing each of nine CYP isoforms or for 30 min with microsome (100  $\mu$ M) from insect cells infected with baculovirus carrying CYP3A4.

(A) FLU-1 1  $\mu$ M



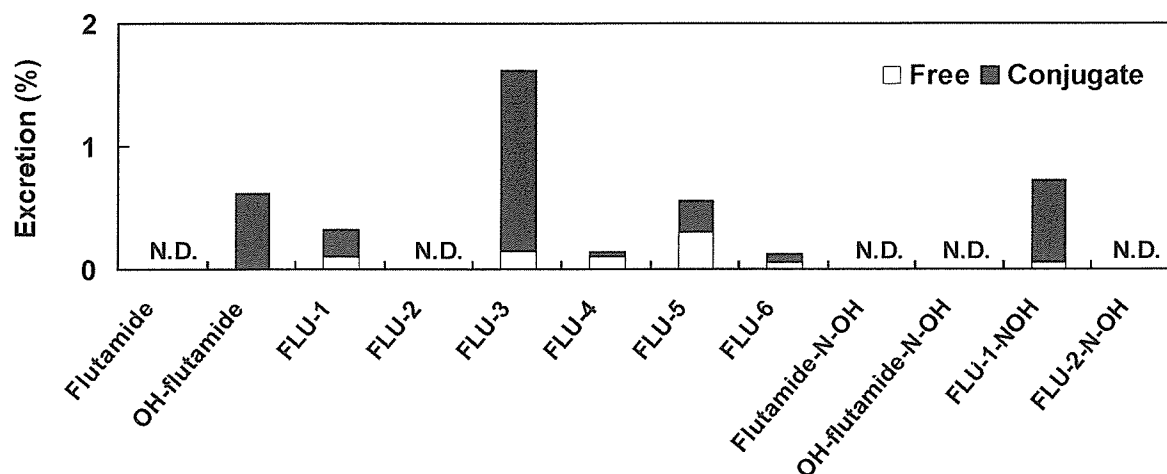
(B) FLU-1 100  $\mu$ M



**Fig. 6** Formation of FLU-3 from FLU-1 by human CYP isoforms. FLU-1 (A:1  $\mu$ M, B:100  $\mu$ M) was incubated at 37°C for 120 min with microsomes (1 mg/ml) from human B lymphoblastoid cells expressing each of nine CYP isoforms or for 30 min with microsome (100 pM) from insect cells infected with baculovirus carrying CYP3A4.



(A) patients with normal hepatic function



(B) patients with flutamide-induced hepatic dysfunction

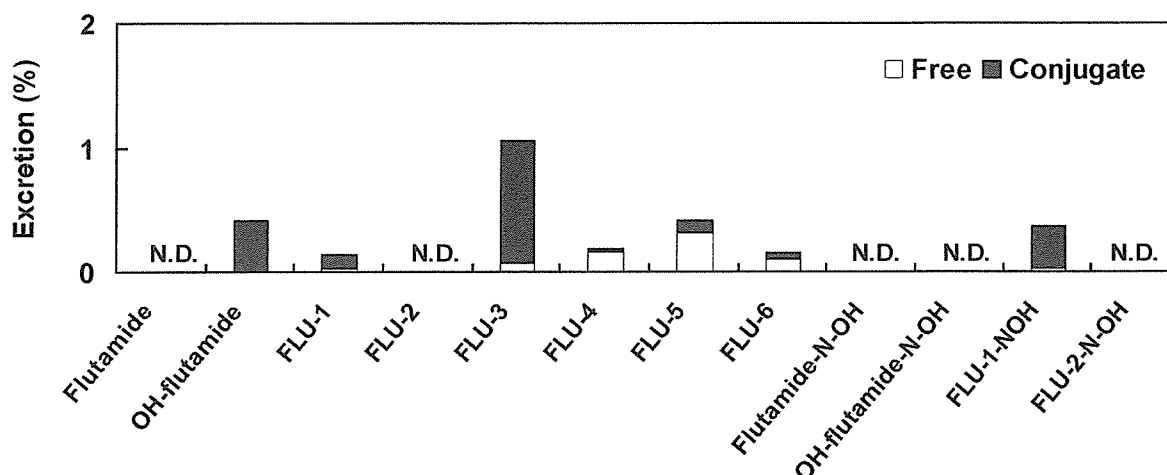
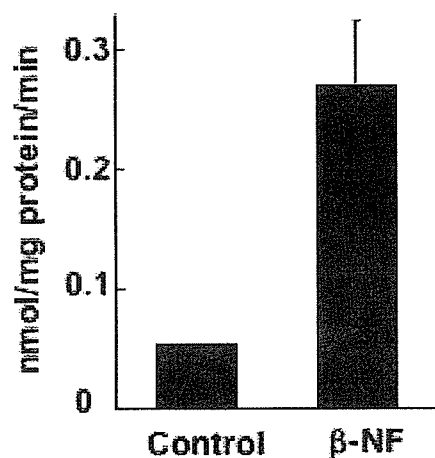
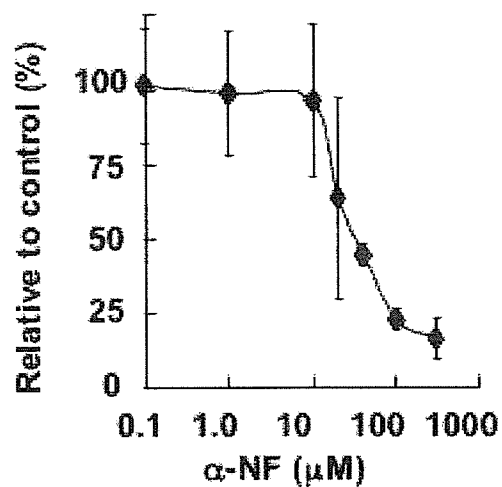


Fig. 7 Urinary excretion rate of flutamide and its metabolites in prostate cancer patients treated with flutamide (125mg, 3 times daily). Urine was pooled for 3 h after oral intake of flutamide in the morning of day 28 from 25 patients with normal hepatic function (A), and 4 patients with flutamide-induced hepatic dysfunction (B). LC/MS was used for the determination of each metabolite in non-treated urine (open column) and  $\beta$ -glucuronidase-treated urine (solid column). Data represent mean of each patients group. N.D., not detected.

(A) FLU-1 N-hydroxylation

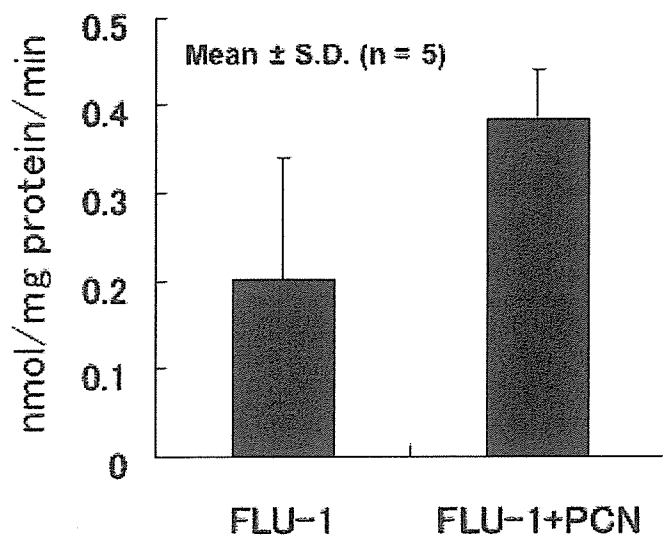


(B) Effect of α-NF on FLU-1 N-hydroxylation



**Fig. 8** FLU-1 N-hydroxylation and its inhibition using mouse liver microsomes. (A) FLU-1-N-hydroxylase activity was measured using liver microsomes from mice treated with β-NF (80 mg /kg) for 3 days. FLU-1 N-hydroxylase activity was measured by HPLC. (B) Inhibition study was conducted with α-NF. α-NF (0.1 ~ 300 μM) was preincubated with microsomes and NADPH for 15 min prior to the addition of FLU-1. Data are shown as the mean ± S.D. (n = 5).

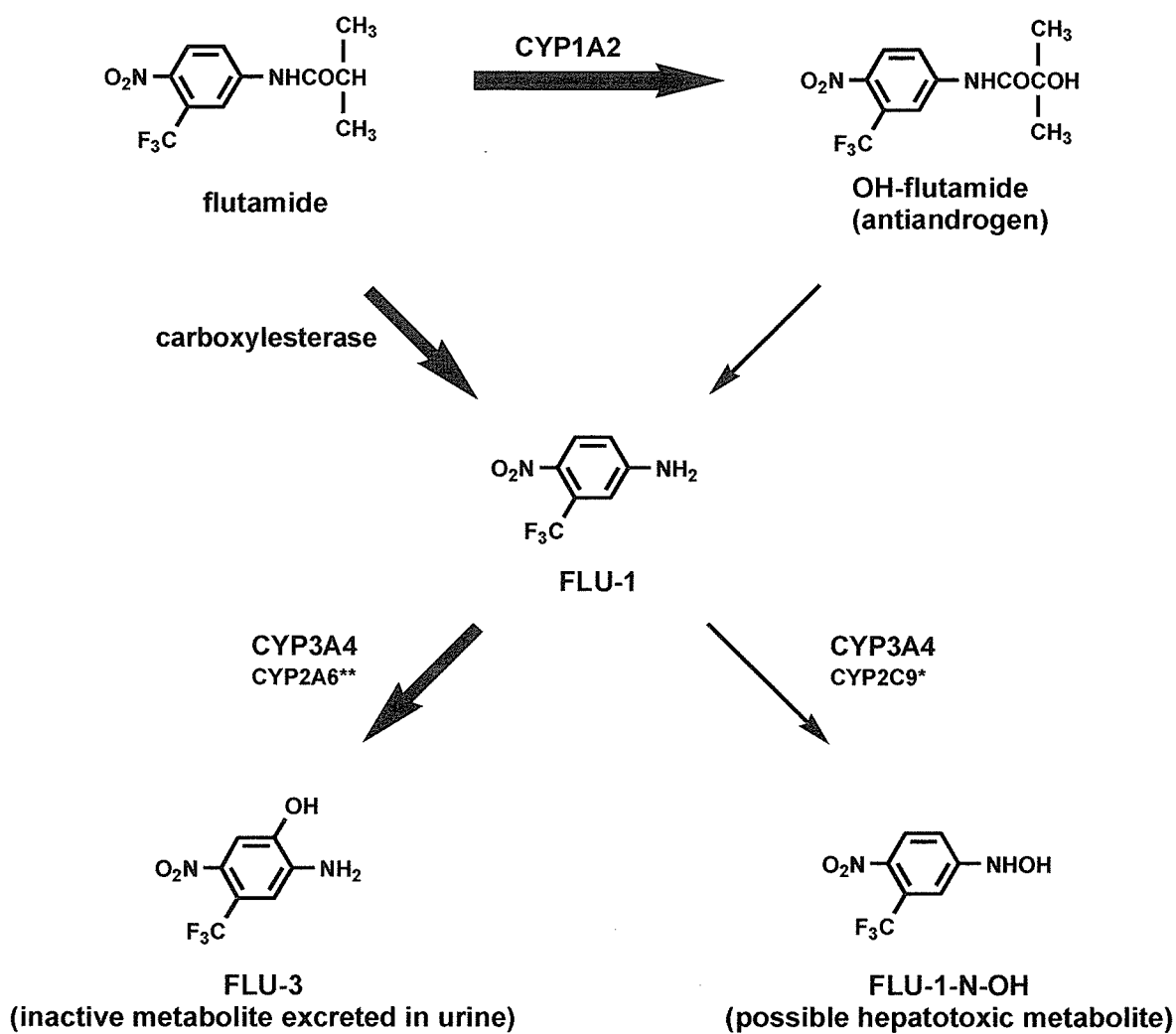
**(A) FLU-1 N-hydroxylation**



**(B) Cyp3a protein level**



**Fig. 9** FLU-1 N-hydroxylation and Cyp3a protein levels in hepatic microsomes from mice treated with FLU-1 or FLU-1 plus PCN (100 mg/kg for 3 days). (A) FLU-1 N-hydroxylase activity was measured by HPLC. Data are shown as the mean  $\pm$  S.D. (n = 5). (B) Immunoblot analysis of Cyp3a. Cyp3a proteins were detected using anti-rat CYP3A2 antibody



**Fig. 10** Proposed metabolic pathway of flutamide in humans and its catalyzing enzymes.

**\***, Catalyzing enzyme at lower substrate concentration.

**\*\***, Catalyzing enzyme at higher substrate concentration.

厚生労働科学研究費補助金（トキシコゲノミクス研究事業）

「非侵襲試料を用いた新規高感度安全性予測系の開発」

分担研究報告書

質量分析計を用いたメタボロミクス手法による毒性マーカー検索法の開発

分担研究者 矢本 敬 三共株式会社 安全性研究所

分担研究者 堀 弥 杏林製薬株式会社 創薬研究所

分担研究者 宮田昌明 東北大学大学院薬学研究科

**研究要旨** ヒトへの応用が簡便な、尿などの非侵襲試料を用いた新規メタボロミクス高感度安全性予測系の確立を目的として、ヒトで肝障害の発生が報告されているアセトアミノフェン(APAP)のラット肝障害モデルについて、質量分析計を用いた尿サンプルのメタボロミクス解析を行った。APAP 投与群（100、500 および 800 mg/kg）および対照群の尿サンプルにおけるポジティブイオンモードによる UPLC/ToF MS 解析で 3255 ピークを含む MS スペクトルが検出された。投与薬物の代謝物の影響を取り除くため薬物を投与しない群（対照群）で検出される 1372 ピークのみをまず抽出した。これらのピークのうち APAP 投与群で有意に変動する 341 ピークを選択し、PCA 解析によりクラスター形成と分離に寄与する複数種の代謝物ピークを取得した。一方肝障害マーカーの ALT 活性の上昇に相関する 175 ピークを抽出し、同様に PCA 解析によりクラスター形成と分離に寄与する代謝物ピークを取得した。これらの 2 種類の解析手法により 2 つの共通の代謝物ピークを取得した。上記のように簡便な前処理法で得られた質量スペクトルを統計学的手法の組み合わせにより網羅的に解析することで、APAP 誘発肝障害時のバイオマーカー候補となる代謝物ピークを特定することに成功した。以上のように非侵襲試料のメタボロミクス手法による解析から新規肝障害マーカーの探索法を検討し、尿成分から薬物性肝障害のバイオマーカー候補を特定する解析手法を確立した。

A. 研究目的

ヒトへの応用が簡便な、尿などの非侵襲試料を用いた新規メタボロミクス高感度安全性予測系の確立を目的として、ヒトで肝障害の発現が報告されている薬剤

について質量分析(MS)によるメタボロミクス手法の確立ならびに毒性および薬効と細胞環境変化に基づく内因性物質の代謝変動情報との相関に関する知見を得る。ヒトで肝障害が報告されているアセトア

ミノフェン (APAP) のラット肝障害モデルから得られた尿サンプルを用いてメタボロミクス手法の確立とバイオマーカー探索法について検討する。特に投与薬物の代謝物の影響を取り除いて解析する手法を開発するとともに、複数の統計学的手法を組み合わせるにより、より精度の高い解析手法の確立を目指した。

## B. 研究方法

### 1. 試験施設および所在地

#### 1-1. 動物実験、MS 測定および解析

試験施設：三共株式会社 安全性研究所

所在地：静岡県袋井市堀越 717

#### 1-2. MS 測定および解析

試験施設：杏林製薬株式会社 創薬研究所

所在地：栃木県下都賀郡野木町 2399-1

### 2. 試薬

アセトアミノフェン (APAP: シグマアルドリッチ ジャパン株式会社)

カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC-Na: 和光純薬工業株式会社)

アジ化ナトリウム (和光純薬工業株式会社)

アセトニトリル (HPLC 用、関東化学)

ギ酸アンモニウム (特級、関東化学)

### 3. 使用機器

冷却遠心機 CF7D2 (日立工機株式

会社)

遠心機 LC06-SP (株式会社トミー精工)

自動分析装置 TBA-2000FR (東芝メディカル株式会社)

遠心機 5415D (Eppendorf)

LC システム Ultra high performance liquid chromatography (UPLC) (ACQUITY)

ToF MS システム LCT Premier XE (Waters)

データ処理装置 MassLynx 4.0 (Waters)

### 4. 実験動物

8 週齢の雄性 F344/DuCrIcrlj ラット (日本チャールス・リバー株式会社) を購入し、1 週間環境に馴化させた後、9 週齢で試験に使用した。動物室の環境は 23 ± 1°C、照明 12 時間/日 (7 時-19 時) に設定した。動物は、馴化期間および前処置投与期間にはラット用ブラケットケージ (有限会社新東洋製作所) で個別飼育し、APAP 投与後にラット用ステンレス製メタボリックケージ (小原医科産業株式会社) に移して個別飼育した。飼料と飲水は放射線 (30 kGy、<sup>60</sup>Co-γ線) を照射した固形飼料 (Certified Rodent Diet 5002: PMI Nutrition International, Inc.) と 7 ppm クロール水 (自動給水装置) をそれぞれ自由に摂取させた。

### 5. 被験物質、投与用量および投与方法

APAP の投与用量は 100、500 および 800 mg/kg とし、投与容量はラットの体

重 100 g あたり 1 mL とした。各個体の投与容量は投与日に測定した体重に基づいて算出した。被験物質はガラス製注射筒（株式会社夏目製作所）と金属製胃ゾンデ（株式会社夏目製作所）を用いて強制経口投与した。

## 6. 群構成

投与 1~3 日前に体重の平均値および分散に大きな差が出ないように群分けを行った。各群は雄 5 例で構成した。APAP を投与する 3 群の他に、溶媒を投与する対照群を設けた。

## 7. 検体調製

APAP の溶媒には注射用水（大塚製薬株式会社）に CMC-Na を 0.5% の割合で添加したものを使用し、APAP の 1, 5 および 8% 懸濁液を調製した。

## 8. 尿サンプル採取

アジ化ナトリウムを 1% になるように注射用水に溶解した。この溶液 1 mL を防腐剤として 50 mL 遠心分離用コニカルチューブ（ベクトンディッキンソン）に分注し、メタボリックケージの尿回収ポート部の下端にチューブを固定した。チューブをドライアイスで冷却した状態で、APAP 投与後 24 時間で排泄される尿を採取した。24 時間採取後、尿を室温で融解し、遠心分離（3000 rpm、5 min）した。この上清の容量をメスピペットで測定し、尿量とした。尿は分注し分析に用いるまで -80°C で保存した。

## 9. 採血および組織サンプル採取

APAP 投与 24 時間後に各個体の体重を測定した。次いで、エーテル麻醉下で、テルモ注射針（18G：テルモ株式会社）を取り付けたテルモシリンジ（10 mL：テルモ株式会社）を用いて腹大動脈から全採血することにより安楽死させた。解剖して肉眼的観察を行った後、肝臓および腎臓を採取し、重量を測定した。得られた血液は凝固促進型分離剤入りスピッツ管（コアラ・チューブ S：株式会社シノテスト）に注入し、室温で約 30 分間放置した。その後、冷却遠心機で遠心分離（4°C、3000 rpm、10 min）して血清を得た。血清は 0.5 mL を血液化学的検査に使用した。残りは分注し分析に用いるまで -80°C で保存した。

## 10. 血液化学的検査

得られた血清を用いて自動分析装置で検査を実施した。以下に検査項目を示す。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アルカリホスファターゼ（ALP）、総ビリルビン（T.BIL）、総コレステロール（T.CHO）、トリグリセライド（TG）、グルコース（GLU）、総タンパク（T.PRO）、アルブミン（ALB）、A/G 比（A/G）、尿素窒素（UN）、クレアチニン（CRE）、カルシウム（Ca）、無機リン（IP）、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、クロール（Cl）

## 11. 病理組織学的検査

採材した肝臓および腎臓は 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従って病理組織標本を作製した。病理組織標本

はヘマトキシリン・エオジン染色を施し、光学顕微鏡で観察した。

## 1 2 . MS 用試料の調製

対照群および APAP 投与群のラット尿各 4 サンプルを融解後、13,000 rpm で 5 分間遠心し、上清を脱イオン水で 4 倍希釈したものを MS 測定試料とした。

## 1 3 . UPLC/ToF MS の測定条件

### 1 3 - 1 . Ultra high performance liquid chromatography (UPLC)

システム : ACQUITY UPLC

カラム : ACQUITY UPLC BEH C18, 50×2.1 mm, 1.7 μm

流速 : 0.5 mL/分

移動相 : A : 0.1% ギ酸水溶液、B : 0.1% ギ酸アセトニトリル溶液

勾配 : 0~20% B : 3 分、20~100% B : 4 分

注入量 : 2 μL

サンプル温度 : 10°C

カラム温度 : 40°C

### 1 3 - 2 . Time of flight mass spectrometry (ToF MS)

システム : LCT Premier XE

TOF モード : W モード

イオン化モード : Electrospray ionization (ESI) ポジティブ

キャピラリー電圧 : 3600 V

コーン電流 : 50 V

ソース温度 : 100°C

脱溶媒ガス温度 : 300°C

スキャン範囲 : 100~1000 m/z

スキャン時間 : 0.2 秒

データ処理装置 MassLynx V4.1

## 1 4 . MS スペクトルデータ解析

UPLC/ToF MS で取得したピークデータは、MarkerLynx V4.1 (Waters) を用いて、各ピークのイオン強度と全ピークのイオン強度との比を計算することにより標準化した (設定パラメータの詳細は Appendix 1 に示す)。対照群で検出されたピークを解析の対象とするために、標準化されたピークデータを Microsoft EXCEL 2003 に取り込み、対照群 4 例のうち 3 例以上でピーク強度がゼロであったピークを解析から除外した。続いて、対照群と比較し、APAP 投与群で平均値が 1.5 倍を超える増加、あるいは 0.67 倍を下回る低下を示し、統計的に有意 (有意水準 5%) であったピークを APAP 投与により変動した内因性代謝物のピークとして抽出した。このように抽出されたピークに関して、MarkerLynx V4.1 を用いて主成分分析 (PCA) を実施した。

## 1 5 . 統計学的方法

体重、器官重量、臓器/体重比、尿量および血液化学的検査値は、統計解析パッケージ SAS® System Release 8.2 (SAS Institute Inc.) を用いて処理し、平均値と標準偏差を算出した。対照群 (APAP 非投与群) と APAP 投与群との平均値の有意差検定は、Dunnnett 検定を用いて実施し、いずれも有意水準を 1% および 5% とした。

MS スペクトルデータ解析については、対照群と APAP 投与群とのピークデータの有意差検定は、Microsoft EXCEL 2003



のF検定およびStudent's t検定を用いて実施し、有意水準を5%とした。また、ピークデータとLog変換したALT値との相関は、Microsoft EXCEL 2003を用いてSpearman順位相関係数を算出し、有意水準5%で検定した。

## C. 研究結果

### 1. アセトアミノフェン投与試験

Table 1 に解剖時の病理学的検査および尿量の結果を示す。

APAP 800 mg/kg 投与群で体重の減少および肝臓の相対重量の増加が認められた。また、500 および 800 mg/kg 投与群で尿量の増加が観察された。

Table 2 に血液化学的検査の結果を示す。

800 mg/kg 投与群では、AST および ALT に顕著な増加が認められ、ALP および T.BIL にも有意な増加が認められた。また、500 mg/kg 投与群においても AST、ALT および T.BIL の増加傾向が認められた。

病理組織学的には、800 mg/kg 投与群の肝臓において小葉中心性に軽度な肝細胞壊死が観察された。

### 2. MS ピークデータの抽出

APAP 投与群 (100、500 および 800 mg/kg) および対照群の尿サンプルにおけるポジティブイオンモードによるUPLC/ToF MS 解析では、本試験で設定した解析条件 (Appendix 1) において3255 ピークを含むMSスペクトルが検出された。このうち、1372 ピークが対照群の4例中2例以上で検出されたことから、

これらのピークを内因性の代謝物として解析の対象とした。APAP 投与群では、対照群に対して 108 ピークが増加 ( $P < 0.05$ , Fold change  $> 1.5$ )、233 ピークが減少 ( $P < 0.05$ , Fold change  $< 0.67$ ) を示した (Figure 1 および Appendix 4, 5)。

### 3. 主成分分析 (PCA) によるマーカー候補ピークの探索

APAP 投与群において有意な増減を示した341ピークに関してPCA解析を実施した。その結果、Component 1 および 3 の組合せにおいて、対照群および各 APAP 投与群のクラスターが分離可能であった (Figure 2)。Loadings plot において、サンプルのクラスタリングと分離に強く寄与するピークは原点から離れた位置に示され、ピーク 539, 1569, 1620, 2122, 2410, 2740 等がクラスター分離への影響が強いピークであることが推察された (Figure 3)。これらのピークに関して各サンプルのピーク強度比をTrend plot に示す (Figure 4)。ピーク 1569 は APAP 500 および 800 mg/kg 投与群において増加を示した。逆に、ピーク 539 および 2410 は同群で減少した。一方、ピーク 1620, 2122 および 2740 では、APAP 500 mg/kg 投与群において増加するプロファイルが認められた。

### 4. 肝障害マーカーとの相関性に基づいたマーカー候補ピークの探索

対照群において検出された 1372 ピークに関して、肝障害マーカーである血清 ALT 活性に相関性の高いピークの抽出を行った。その結果、175 ピークに有意な

相関性 (Spearman 順位相関、 $P < 0.05$ ) が認められ、このうち 92 ピークは、APAP 投与により有意な増加 ( $P < 0.05$ , Fold change  $> 1.5$ ) を示したピークと共通していた (Appendix 5)。ALT 活性との相関が認められた 175 ピークに関して PCA 解析を行った結果、Component 1 および 2 の組合せにおいて各群でクラスターを形成した (Figure 5)。クラスターの形成と分離にはピーク 1569 の寄与が高く、その他に 409, 437, 489, 505, 786, 2459, 3075 等の関与も推察された (Figure 6)。これらの Trend plot は Figure 7 に示した。

#### D. 考察

薬物投与による代謝物プロファイルの変化には、内因性代謝物の変化以外に、薬物に由来する成分の変化が強く影響することが、薬物誘発肝障害モデルを用いた昨年度の分担研究において明らかとなっている。したがって、医薬品の開発ならびに安全性研究には内因性代謝物の変化を詳細に捉えることが重要である。本研究では、内因性代謝物に絞った解析の一手法として、薬物を投与しないラットの尿において検出される代謝物ピークに関して、薬物投与により変動する尿代謝物プロファイルの取得を行った。

対照群に対して有意な変動 ( $P < 0.05$ , Fold change  $> |1.5|$ ) を示した内因性代謝物のピークを、MarkerLynx V4.1 を用いた PCA 解析によって、APAP 投与群および対照群のクラスターの形成と分離に寄与する代謝物ピークを取得した (Figure 3)。これらのピークは APAP 投与による代謝変化をモニターするマーカー

一になり得ると考えられる。クラスターの移動は APAP 濃度に依存した直線的な変化ではなく、各群での特徴的な変動を示すピークの影響を反映していた (Figure 2, 4)。血中 ALT の増加傾向を示した APAP 500 mg/kg 投与群では、特徴的に増加したピーク (1332, 1620 および 2122) が認められ、肝障害を発症する以前の代謝変化を検索するツールとして利用できる可能性がある。

また、肝障害マーカーである ALT 活性の上昇に相関した内因性代謝物ピークを抽出し、さらに PCA 解析によりクラスターの形成と分離に寄与するピークの選抜を行った。その結果、肝障害バイオマーカーの候補となり得るピークが取得された (Figure 7)。このうち、1569 と 2459 は、対照群に対する変動に基づいて、PCA 解析から取得されたピーク (Figure 4) と共通していた。特に 1569 は PCA 解析におけるクラスター形成に強く関与することから、肝障害バイオマーカーの有望な候補であると考えられる。

このように、対照群において検出される内因性代謝物のピークへの絞り込みや、既存の肝障害マーカーとの相関性に基づく絞り込みを行い、PCA 解析によりクラスターの形成と分離に強く寄与するピークを抽出することから、バイオマーカー候補を探索することが可能であった。今後、各成分の構造解析を行うとともに、BSO 処置によるグルタチオン枯渇に関する代謝物ピークの絞り込みや、他の肝障害モデルにおけるバイオマーカー候補の探索を検討し、これまでに得られたバイオマーカー候補の有用性や解析方法の検

証、ならびに新しいマーカー候補の探索につなげていきたい。

#### E. 結論

尿などの非侵襲試料を用いた新規メタボロミクス高感度安全性予測系の確立を目的として、ヒトで肝障害の発生が報告されている APAP のラット肝障害モデルを用い、質量分析計を用いた尿サンプルのメタボロミクス手法の開発を行った。薬物を投与しない群（対照群）で検出されるピークのみをまず抽出した後、それらについて解析を実施することで投与薬物の代謝物の影響を取り除くことに成功した。さらに毒性指標との相関性等による絞り込みと PCA 解析の絞り込みを組み合わせることでバイオマーカー候補を精度よく抽出出来ることが示された。以上のことよりバイオマーカー検索のための質量分析計を用いたメタボロミクス手法の基礎的な解析法が確立されたと考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

安藤洋介、牧野俊彦、清沢直樹、伊藤和美、山内秀介、渡辺恭子、柴谷由佳梨、古川忠司、寺西宗広、高崎 渉、真鍋 淳、矢本 敬：薬物代謝酵素誘導剤によるラット肝タンパク質発現の変化：第 33 回日

本トキシコロジー学会学術年会、平成 18 年 7 月 3 日～5 日、愛知

牧野俊彦、安藤洋介、伊藤和美、荒川真悟、木下順三、寺西宗広、矢本 敬、真鍋 淳：薬物代謝酵素誘導剤によるイヌ肝肥大と遺伝子・タンパク質発現の変化：第 33 回日本トキシコロジー学会学術年会、平成 18 年 7 月 3 日～5 日、愛知

熊谷和善、伊藤和美、安藤洋介、斉藤有司、鈴木洋子、石川加代子、渡辺恭子、清沢直樹、矢本 敬、寺西宗広、真鍋 淳：ラットグルタチオン枯渇モデルにおける化学物質による毒性発現への影響：第 33 回日本トキシコロジー学会学術年会、平成 18 年 7 月 3 日～5 日、愛知

五十嵐功、前嶋孝典、熊谷和善、本多久美、間 芳江、荒川真悟、柴田勝好、安藤洋介、伊藤和美、矢本 敬、寺西宗広、真鍋 淳：化学物質誘発肝障害に対する Gap junction を介する細胞間コミュニケーションの関わり：第 33 回日本トキシコロジー学会学術年会、平成 18 年 7 月 3 日～5 日、愛知

伊藤和美、渡辺恭子、熊谷和善、鈴木洋子、斉藤有司、寺田仁美、清沢直樹、寺西宗広、古川忠司、矢本 敬、中江 大、真鍋 淳：F344 ラットにおける

acetaminophen 誘発肝障害に  
3-aminobenzamide が与える影響：第 33  
回日本トキシコロジー学会学術年会、平  
成 18 年 7 月 3 日～5 日、愛知

寺西宗広、熊谷和善、谷 吉朗、伊藤和  
美、藤本和則、安藤洋介、矢本 敬、真  
鍋 淳：ワークショップ II. 医薬品開発  
の毒性評価上問題となっているトピック  
ス．特異体質性薬物障害の現状と将来：  
第 23 回日本毒性病理学会学術総会、平成  
19 年 1 月 30 日、31 日、東京

熊谷和善、清沢直樹、伊藤和美、安藤洋  
介、牧野俊彦、袴田志野婦、矢本 敬、  
真鍋 淳、寺西宗広：Kupffer 細胞不活化  
が cycloheximide による肝障害に与える  
影響：第 23 回日本毒性病理学会学術総会、  
平成 19 年 1 月 30 日、31 日、東京