

厚生労働科学研究費補助金  
創薬基盤推進研究事業

---

薬物誘発性肝障害患者のゲノム解析と  
発症機構研究

---

平成 19 年度  
総括研究報告書

主任研究者	鈴木	洋史
分担研究者	矢富	裕
分担研究者	後藤	順
分担研究者	吉田	晴彦

平成 20 年 4 月

# 目 次

I. 総括研究報告書	1
薬剤誘発性肝障害患者のゲノム解析と発症機構研究	1
II. 添付資料	15
添付資料1：本研究においてリストアップしたDILI被疑薬リスト	15
添付資料2：薬物誘発性肝障害研究の体制	17
添付資料3：血中薬物濃度測定系の詳細	18
添付資料4：HLA遺伝子解析法の詳細	19
添付資料5：集積したDILI患者の肝機能マーカー変動と服用薬剤	20
添付資料6：DILI患者の肝機能マーカー変動と 薬物血中濃度推移の関連性	37
添付資料7：DMET2.0による遺伝子多型解析結果の例	44
添付資料8：DILI患者検体12検体のDMET2.0解析結果	64

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
総括研究報告書

研究課題：薬物誘発性肝障害患者のゲノム解析と発症機構研究  
課題番号：H19-ゲノム-一般-004

主任研究者：

○鈴木 洋史（東京大学医学部附属病院・薬剤部教授・部長）

分担研究者：

○矢富 裕（東京大学医学部附属病院・検査部教授・部長）

○後藤 順（東京大学医学部附属病院・神経内科・講師）

○吉田 晴彦（東京大学医学部附属病院・消化器内科・講師）

【研究要旨】

薬物性肝障害（DILI）は比較的高頻度に認められる有害作用であるが、その発症メカニズムや発症リスクとなる患者の遺伝的素因等については、一部の薬剤を除き、ほとんど解明されておらず、有効な防御手段が構築されていないのが現状である。本研究においては、医療上重要な問題となっている DILI を克服すべく、東京大学医学部附属病院（以下当院）において DILI を発症した患者の網羅的な遺伝子解析および薬物血中濃度測定を実施し、遺伝的素因と DILI 発症リスクとの関連性を明らかにすることで、より安全性の高い薬物治療を可能とするための基盤を構築することを目的としている。

研究初年度である平成 19 年度は、当院神経内科、消化器内科、検査部のバックアップの下、当院において DILI を発症した症例を効率的に集積するシステムを構築した。また、患者検体の網羅的遺伝子解析、血中薬物濃度測定を行うための技術的基盤の整備を推進した。さらに構築した症例集積システムおよび解析技術を用いて、当院において DILI を発症した患者のサンプルを収集し、血中薬物濃度測定、遺伝子解析を実施した。

当初の研究計画通りに平成 19 年度に構築・整備できた検体収集システムおよび解析技術は、実際の臨床検体の集積、解析に適したものであり、多数検体に対し網羅的な遺伝子解析、血中薬物濃度測定を行う体制は順調に構築されていると考えられる。平成 20 年度以降は、本システムを用いたさらなる症例集積、解析を行うとともに、in vitro 実験による DILI 発症の分子メカニズムの解明に向け検討を進める。

## A. 研究目的

全米の統計では、薬物の有害作用による死亡者は年間 10 万人超と、死因の第 4 位を占めており、医療上のみならず、医療経済学的にも大きな問題となっている。一般に薬物誘発性毒性は肝障害として現れることが多く、我々の所属する東京大学医学部附属病院（以下当院）においても、薬物誘発性肝障害（DILI）発症患者は、年間約 100 名程度と見積られるが、臨床の現場では治療が優先されるために、肝障害が生ずる傾向にあれば直ちに治療薬が変更され、再投与されることは実際的にはない。従って、DILI であるかどうかの鑑別は難しく、原因薬も特定されないことが殆どである。薬物療法の安全性を確保する上でも、また後述のように、安全な医薬品を効率よく開発する上でも、DILI が惹起された患者の遺伝情報を解析し、どのような遺伝的背景が、どの薬物に対する障害性を増強させるのかに関する情報の蓄積が急務である。

本研究では、当院にて生じた DILI を中心とする薬剤性有害反応を対象とし、各患者の血中薬物濃度解析から原因薬を推定するとともに、網羅的な遺伝子解析を行う。そして、遺伝的要因と薬物性肝障害発症等の関係を明らかにし、データベース化することにより、有効かつ安全な薬物治療を目的とした個別化医療を実践する基盤を築くことを目的としている（図 1）。



図 1 薬物性肝障害データベースの概念図

構築されたデータベースは匿名化され、当院のみならず、他院にも使用可能であり、あまねく国民の福祉向上に貢献できるものとなることが期待される。併せて、原因と推定される薬物については、市販のヒト肝試料及び代謝酵素発現系を用いて *in vitro* 実験を実施し、毒性発現の機構を探るとともに、現在の創薬のプロセスの肝毒性評価基準が妥当なものであるかを検証することも目的としている（図 2）。

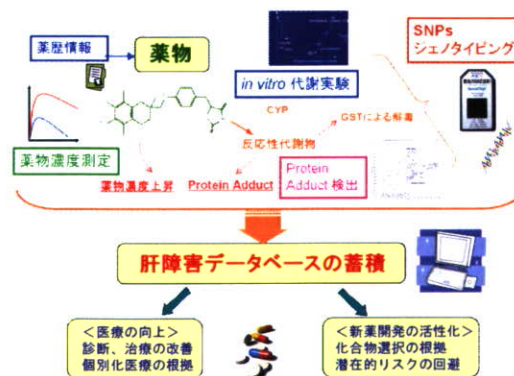


図 2 本研究の全体像

研究初年度である平成 19 年度は、当院において過去に発生した DILI 症例を抽出し、起因薬物を絞り込むとと

もに、DILI 発症症例を効率的に抽出するための症例報告システムの構築、および薬物血中濃度測定系・遺伝子解析実験系・in vitro 実験系など本研究に必要とされる基盤技術の整備を中心に研究を推進した。さらに、本研究に対する同意取得を行った DILI 症例 13 例について、構築したシステムを利用して、肝機能マーカー推移の調査、DMET2.0 による遺伝子解析、血中薬物濃度の測定を実施した。

## B. 研究方法

### 1) 過去の DILI 症例を対象とした原因薬剤の解析

当院消化器内科にて保管されている消化器内科へのコンサルテーション記録を過去2年分にわたって解析し、原因薬剤と疑われた薬剤の抽出を行った。その結果および2)に述べるシステムに則って抽出された DILI 患者の服用薬剤を基に、測定対象薬剤を選定した。

### 2) DILI 症例の効率的な収集を可能とするエントリーシステムの構築

臨床において肝障害は様々な要因で発生するため、本研究を成功に導くためには、薬剤性以外の肝障害患者症例を可能な限り除外することが極めて重要である。当院においては、DILI が疑われる症例の場合、一般に消化器内科医師へのコンサルテーションが行われる。専門医による精査の結果、ウイルス性、胆汁鬱滞、胆石など薬剤

性以外の原因を否定し得た場合に DILI の鑑別がなされることが多い。したがって、消化器内科のコンサルテーション記録を基に症例抽出を行うことにより、本研究において要求される精度の高い症例抽出が可能と考えられた。

そこで、本研究では分担研究者・吉田晴彦講師（当院消化器内科）の協力を得て、消化器内科のコンサルテーション記録検索に基づく効率的な症例収集システムの構築を試みた。

また、当院検査部においては、生化学検査に用いた血清検体の余剰分を3週間凍結保存するルールが運用されている。本研究においては、DILI 発症前後での血中薬物濃度の時間的推移を追跡する必要があるため、分担研究者・矢富裕教授の協力の下、DILI 発症患者の入手可能な残余検体をすべて回収するための枠組みを構築した。

### 3) LC-MS/MS システムを用いた薬物血中濃度一斉分析系の構築

本研究を効率的に遂行するために必要とされる血中薬物濃度測定系が有すべき特徴は以下の通りである。  
a) 理論的には本邦で使用されうるすべての薬剤が測定対象となり得るため、広範な薬物を特異的かつ高感度に検出可能であること。  
b) 少量の検体量で、多くの薬物を測定する必要があるため、複数薬剤の同

時定量が可能であること。

c) 必要に応じて、親化合物のみならず、活性代謝物の定量・同定にも応用が可能であること。

以上を満たす分析装置として質量分析計を接続した高速液体クロマトグラフィー (LC-MS/MS) を導入し、血中薬物濃度測定系の構築を行った。検体の前処理には、広範な化合物に対して高い回収率が見込める有機溶媒による除タンパク法を採用した。薬物の選定については、過去の DILI 症例や、本研究への参加の同意が得られた患者の服薬歴を基に、DILI の起因薬となった可能性の高い薬物を優先して検討を行った。

#### 4) 遺伝子多型解析の技術基盤の整備

本研究における解析対象遺伝子としては第一に薬物体内動態関連因子に着目した。これは、DILI の発症メカニズムには様々な仮説が提唱されているが、薬物の代謝活性化が重要な役割を担うとの仮説が一般に広く受け入れられているためである。薬物体内動態関連因子については、古くから精力的な研究が行われ、機能的に重要な遺伝子多型はほぼ調べ尽されていることから、新規 SNPs 探索よりは既知 SNPs の網羅的検出に重点を置き、DNA チップを利用する。

一方で、体質特異的な副作用の発症には、抗原提示に関わる HLA 遺伝子群、特に細胞障害性 T 細胞への抗原提示に関わる HLA-A, B, C といったヒ

ト主要組織適合遺伝子複合体クラス I (MHC-I) 遺伝子群が重要と考えられる。そのため、HLA 遺伝子群のエクソン領域の中でも特に多型性に富む領域であるエクソン 2, 3 領域の全長シーケンス解析系を構築した。

#### 5) DILI 発症患者の実サンプル解析

上記で構築した症例エントリーシステムおよび解析技術を用いて、平成 19 年度に同意取得可能であった DILI 患者 13 例のうち、12 例について DMET 2.0 を用いた薬物動態関連因子の網羅的な遺伝子多型解析を行うとともに、被疑薬の服用と肝機能マーカーの変動の関連性が比較的明瞭であった 5 症例については薬物血中濃度測定を実施した。

#### 6) In vitro 実験系の構築

DILI の発症メカニズムを解明するために必要となる in vitro 実験系の整備を行った。DILI の発症には、薬物の活性代謝物と生体内タンパク質の複合体 (protein adduct) あるいはその断片が抗原として細胞表面に提示され細胞障害性 T リンパ球を活性化する、との仮説のもと、薬物の代謝に関わる CYP 等の代謝酵素が物理的に活性代謝物が最も相互作用しやすいタンパク質であると想定して検証を進める。平成 19 年度には、必要となる CYP 分子種の cDNA を市販のヒト肝 cDNA をテンプレートとしてクローニングを行った。



(倫理的側面への配慮)

研究の実施にあたっては、厚生労働・文部科学・経済産業省合同の「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した。下記の項目の倫理的配慮を適切に行うため、研究計画書および患者説明文書を作成し、東京大学医学部のヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を受け、研究を進めた。

- 遺伝子試料は匿名化し、個人情報を個人が特定できる形で研究機関の外部に持ち出すことを禁止した。
- 文書にて研究の目的および方法を十分に説明し了解を得た後、提供者の自由意思に基づき書面によるインフォームド・コンセントを得て試料の提供を受けた。
- 必要に応じて遺伝子カウンセリングの体制を構築した。

## C. 研究結果及び考察

### 1) 過去の DILI 症例を対象とした原因薬剤の解析

過去の DILI 症例の解析、および本研究への参加同意の得られた患者の服薬歴を基に抽出した DILI 被疑薬を添付資料 1 に示す。幅広い薬物がリストアップされているが、1 日当たりの服用量が数百 mg 以上の比較的用量の多い薬剤が多く含まれている傾向がある。

### 2) DILI 症例の効率的な収集を可能とするエントリーシステムの構築

当院消化器内科においては、詳細な肝コンサルト記録をリアルタイムに

専用ファイルにファイリングしている。肝コンサルト記録には当該症例の症状推移や診断結果が詳細に記述されており、DILI の可能性が高い症例を抽出することが可能と考えられた。

そこで、分担研究者・吉田晴彦講師の協力を得て、定期的に肝コンサルト記録をチェックし、DILI 症例を抽出し、主治医の了解を得たうえで、主任研究者・鈴木洋史を始めとする薬剤部スタッフが同意取得を行う一連のシステムを構築した。また、よりスムーズな症例抽出を可能とするため、DILI 症例を診察した肝コンサルト担当医師は、主治医への診断結果返却時に、本研究への協力依頼を添付することとした (図 3)。

本システムの運用により、週に 1~2 件程度の DILI 症例を抽出することが可能であった。当院は特定機能病院指定され、重症患者が多い医療機関で

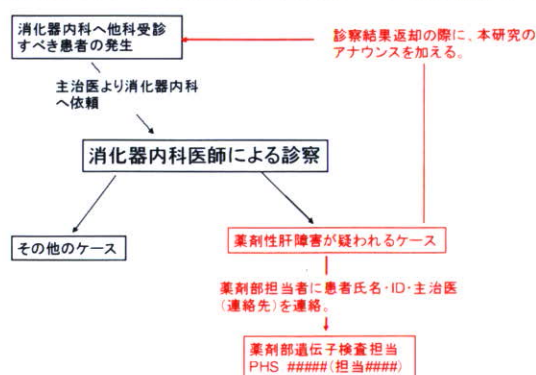


図 3 消化器内科のコンサルトを利用した DILI 報告システムの概要

あるため、DILI 発症患者の中でも原疾患の重篤度から同意取得が不可能である例もあるものの、本研究の承認から現在までに 13 症例とほぼ 2~3 件



1/月程度の症例が集積できたことから、本エントリーシステムは当院における DILI 症例の効率的な集積に適しており、平成 20 年度以降の臨床症例収集にも適応可能と考えられた。

一方、当院検査部においては、血清検体については採血日から約3週間フリーザー内で保管され、患者 ID 番号をもとに特定患者の検体のみを検索・回収することが可能となっている。そこで、分担研究者・矢富裕教授の協力を得て、DILI 発症患者の血清検体の余剰分を DILI 発症時から最大3週間まで遡って回収する体制を構築した。

以上の同意取得から検体回収の一連の流れを添付資料2に示した。本システムの特徴として、1)専門医の診断を基に DILI 症例を抽出することから、従来の単に GOT、GPT といった肝機能マーカー変動を基準とした症例抽出に比較して、診断の正確性が高いと期待されること、2)DILI 発症時から最大3週間分の同一患者の血清検体が回収可能であるため、DILI 発症に至る過程での薬物血中濃度やその他のバイオマーカーの変動を解析することが可能であること、が挙げられる。このような DILI 症例集積システムは他に類を見ないものであり、本研究を遂行する上での極めて重要な基盤となるものであると確信している。

### 3) LC-MS/MS システムを用いた薬物血中濃度一斉分析系の構築

方法の項に示した、本研究において要求される性能に最も近い機能を有

する Waters 社製 Quattro Premium XE システムを選定し、実験に用いた。本研究においては、サンプルごとに測定対象薬物が異なることが予測されるため、可能な限り同一の分析条件で多種類の薬物を一斉分析可能な測定系の構築を志向して検討を行った。研究協力者・山本武人助教、樋坂章博客員准教授らのリーダーシップの下、バッファー組成、グラジエント条件、検出条件などを試行錯誤した結果、添付資料3に示す測定条件により、約30種類の薬物について、任意の組み合わせで同時分析が可能となっている。分析結果の典型例を図4に示した。一部の薬物では、臨床濃度域が低く、検出感度が不足していることから、現在は固相抽出 (SPE) 等による検体濃縮を検討している。

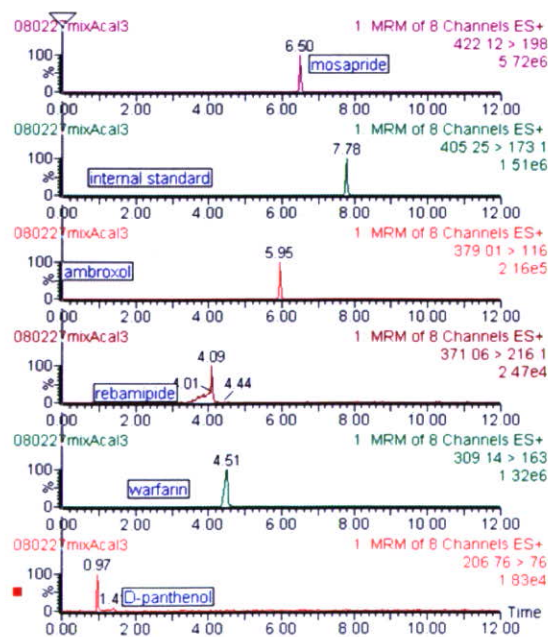


図4 代表的なクロマトグラム



#### 4) 遺伝子多型解析の技術基盤の整備

本研究における薬物動態関連因子の遺伝子多型解析には、解析対象となっている遺伝子の種類の数・妥当性から、Affymetrix 社製の DNA チップ「DMET 3.0」が最適と判断した。DMET 3.0 による遺伝子解析を可能とするため、分担研究者・後藤順講師（神経内科・臨床ゲノム診療部）の研究室に既に設置されている Affymetrix 社製 Gene Chip Scanner 3000TG のバージョンアップを行った。実際には Affymetrix 社内で DMET 3.0 の開発が遅れ、平成 19 年度中に DMET 3.0 を利用した遺伝子解析は実施不可能であったため、前バージョンである DMET 2.0 による遺伝子解析を Affymetrix 社に依頼し実施した。なお、平成 20 年度には DMET 3.0 がリリースされる予定とのことであり、今後は DMET 3.0 を用いた遺伝子解析を順次行っていく予定である。

一方、HLA 遺伝子解析系については、HLA-A、B、C について既報の文献を基にプライマーを設計し、PCR-direct sequence 法による判定系の構築を行った。市販のヒトゲノム DNA パネルを対象として実際に得られた典型的な電気泳動図を示すが（添付資料 4）、シグナル強度、分離とも良好であり、多型判定に使用しうるダイレクトシーケンス条件を設定できたと判断している。平成 20 年度には本法を用いて被験者の HLA 遺伝子の解析を行う予定である。

#### 5) DILI 発症患者の臨床検体の解析

本研究の承認から現在までに 13 名の薬物誘発性肝障害患者から本研究参加への同意を取得した。13 名の患者の臨床検査値推移、服薬歴等を添付資料 5 に示した。

これら症例の中から、薬物服用歴と肝機能障害変動に因果関係があることが疑われ、かつ薬物血中濃度の測定が現在までに構築した測定系で可能であった 5 症例（症例 2, 5, 8, 9, 11）に関しては、薬物血中濃度の測定を実施した。その結果を添付資料 6 に示す。症例 2, 11 では itraconazole 濃度が、症例 5, 9 ではそれぞれ warfarin、mianserin が肝障害発症時に臨床濃度域より高めの濃度推移となっており、濃度の低下に伴って肝機能マーカーが低下していく様子が観察できる。特に症例 2 では因果関係の保障はないものの、itraconazole の投与再開に合わせて、肝機能マーカーの上昇を認めており、itraconazole が起因薬物である可能性が高いと考えられた。一方、症例 8 については、phenytoin、carbamazepine とともに臨床濃度域よりむしろ低めの濃度であり、DILI の起因薬特定にはさらに詳細な検証が必要と考えられた。

また、12 名の被験者については、DMET 2.0 による遺伝子多型解析を affymetrix 社に依頼し、実施した。研究開始時点では予期しなかったことではあるが、実際に収集した患者検体には一部、白血球数が健常成人に比べ大幅に低下している症例もあり、常法

に従った遺伝子抽出法では、遺伝子解析に必要とされる濃度の DNA サンプルを得ることが困難であった。そこで、各社の遺伝子抽出キットを購入し収量や純度に関して検討を行ったところ、invitrogen 社の GeneCatcher Kit を用いることで当研究室では最良の結果が得られることが判明した。添付資料 7 には網羅的遺伝子多型解析の結果を、添付資料 8 にはその中から、機能的に重要性の高い遺伝子多型を抽出しまとめたものを示した。機能的に重要な多型の頻度については、コントロール 30 例と比較して有意な偏りは認められなかった。

症例数が 12 例であるため、明確な結論を出すことは困難であるが、DILI 発症のリスクは単純に薬物動態関連因子の遺伝子多型のみでは説明できないことが想定された。さらなる症例の集積を行い、薬物動態関連因子に加え、HLA 遺伝子など免疫応答に関連する分子の遺伝子解析も積極的に進めていく必要があると考えられた。

#### 6) In vitro 実験系の準備

CYP 分子種中でも特に薬物代謝において重要と考えられる分子種である CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4 の cDNA クローニングを行った。上記 4 種の cDNA については変異のない完全長 cDNA がクローニングできており、今後速やかに in vitro 実験に供する予定である。また、protein adduct の陽性コントロールとして CYP2E1 なども順次クローニン

グを行っていく予定である。

#### D. 評価

##### 1) 達成度について

平成 19 年度は、DILI 症例の効率的な収集システムの構築および運用、血中薬物濃度測定、網羅的遺伝子解析の技術的基盤の整備を特に優先して推進した。

症例収集システムに関しては、結果の項に述べたように、非常にクオリティーが高く、情報量も多い症例が蓄積されつつあることから、本研究の遂行に適したシステムを構築することができたと確信している。敢えて改善点をあげるとすれば、DILI 症例には一定頻度で原疾患が非常に重篤なため、本人からの同意取得が不可能な症例が存在する点であろう。その点に関しては、今後は主治医と緊密に連絡をとりつつ、配偶者など代諾者からの同意取得を考慮することで、解決可能であると考えている。

LC-MS/MS を用いた薬物血中濃度の高感度同時分析系の構築に関しては、現時点で約 30 種類の薬物を同一条件で一斉分析を行う測定系の構築に成功している。本法は前処理もアセトニトリルによる除タンパクのみであるため、大量の検体の分析を行うことが予測される本研究の基盤技術として適していると考えられる。一部、臨床用量が少なく、予測される血中濃度が低い薬物については、分析系の確立には至っていないが、有機溶媒抽出や SPE を用いた分析法の検討を急い

であり、程無く解決されると考えている。

遺伝子解析系については、DMET 2.0 は問題なくワークしたことから、同様の原理に基づく DMET 3.0 による薬物動態関連因子の網羅的遺伝子解析も問題なく実施できると判断された。一方、HLA 遺伝子についても、すでに目標とする遺伝子領域を特異的に増幅する PCR プライマーおよび PCR 条件の大半は設定済みであり、現在は、残された領域の direct-sequence 条件の検討が順調に進んでいる。

以上に述べたように、平成 20 年以降に予定されている臨床検体の解析、および基礎研究による薬物誘発性肝障害の発症メカニズムの解明に必要な技術的基盤は確実に築かれつつある。

## 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

DILI 発症患者を対象として遺伝子解析を行った研究は過去にも報告されているが、本研究においては、DILI 発症患者の遺伝子解析を行うと同時に、DILI 発症前後の血清中薬物濃度を高感度分析し、薬物動態学的側面からも、DILI の発症機構解明に迫ろうとする点に学術的な特色を見出すことができる。このような研究は国際的にもほとんど行われておらず本研究の完成により得られる情報の学術的・国際的意義は極めて高いものと確信している。さらに、本研究において

は、DILI 患者の抽出に際して、単に肝機能マーカーの上昇だけでなく、消化器内科の専門医の診断結果も加味することにも特徴である。このような高精度の診断を行うことにより、本研究により得られるデータの信頼性はさらに高まるものと確信している。

一方、DILI を誘発する薬物と DILI 発症患者の遺伝子背景の関係を網羅的にまとめたデータベースは現在までに報告されていないことから、本研究により得られる情報は、有効かつ安全な個別化薬物療法の基礎になることが期待される。さらに基礎研究からのアプローチにより DILI の発症メカニズムが明らかになることで、より安全性の高い薬剤開発が可能となることが期待され、本研究の社会的意義はきわめて高いと確信している。

## 3) 今後の展望について

上述のように平成 19 年度には研究遂行に必要な技術的基盤の整備を積極的に推進した。平成 20 年度、21 年度には、さらなる DILI 症例の集積を行い、遺伝子解析・薬物血中濃度測定を実施するとともに、以下に示すような研究展開を予定している。いずれもより安全性の高い薬物治療の達成に直接貢献しうる研究であり、意義深い研究課題であると確信している。

### a) DILI の Biomarker に関する研究

近年の報告で、肝臓中で合成されるオフトアルミン酸が肝臓への酸化ストレスの Biomarker として使用できる可能性があることが示唆されている。

本研究で得られた血清検体の多くは、肝機能マーカー (GOT、GPT、rGTP、ALP など) が上昇して低下していく期間をカバーするように集積できていることから、薬物誘発性肝障害においてオフタルミン酸がどのように変動するかを追跡するサンプルとしては極めて有用である。そこで、平成 20 年度以降には、本研究で得られた検体中のオフタルミン酸およびその他のバイオマーカー候補物質の測定を行う。この研究は、DILI の新規バイオマーカーの発見につながる可能性があり、DILI の早期発見・重症化防止の観点から、非常に意義深い研究課題であると確信している。

b) より広汎な重篤薬剤副作用症例の収集・解析

平成 19 年度は、DILI 症例に限定して症例を収集したが、臨床医より脳症、皮疹などの遺伝子解析の提案が寄せられたことから、平成 20 年度以降は DILI 症例を集積すると同時に、その他の薬剤副作用症例の収集も開始することを予定しており、そのための倫理申請も行っている。現時点では予測症例数や診断基準の都合上、薬剤性脳症と薬疹に着目する予定である。

c) In vitro 実験系による DILI 発症メカニズムの解明

上述の検証により、肝障害の起因薬物であることが疑われた薬剤を中心として DILI 発症メカニズムに関する検討を加える。

E. 結論

DILI 症例の効率的なエントリー体制を構築し、薬物血中濃度測定・遺伝子解析に必要とされる技術的基盤は整備された。今後は構築されたシステム、技術的基盤を利用した遺伝子解析、薬物血中濃度測定を実施するとともに、DILI 発症のメカニズム解明のため、in vitro からのアプローチも推進し、DILI の克服を目指す。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

主任研究者：鈴木洋史

以下には 2007 年に出版された、また 2008 年に出版される予定の論文リストを示す。

【原著論文】

1. Ohno Y, Hisaka A, Ueno M and Suzuki H. General framework for the prediction of oral drug interactions caused by CYP3A4 induction from in vivo information. Clin Pharmacokinet (in press).
2. Iwayanagi Y, Takada T and Suzuki H. HNF4alpha is a Crucial Modulator of the Cholesterol-Dependent Regulation of NPC1L1. Pharm Res. in press
3. Ohno Y, Hisaka A and Suzuki H. General framework for the quantitative prediction of CYP3A4-mediated oral drug interactions based on the AUC increase by coadministration of



- standard drugs. Clin Pharmacokinet. 2007;**46**(8): 681-96.
4. Okada K, Shoda J, Kano M et al. (Suzuki H 18 人中 18 番目). Inchinkoto, a herbal medicine, and its ingredients dually exert Mrp2/MRP2-mediated choleresis and Nrf2-mediated antioxidative action in rat livers. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2007;**292**(5): G1450-63.
  5. Yamamoto T, Ito K, Honma M et al. (Suzuki H 5 人中 5 番目) Cholesterol-lowering effect of ezetimibe in uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A-deficient (Gunn) rats. Drug Metab Dispos. 2007;**35**(9): 1455-8.
  6. Shoda J, Okada K, Inada Y et al. (Suzuki H 9 人中 9 番目). Bezafibrate induces multidrug-resistance P-Glycoprotein 3 expression in cultured human hepatocytes and humanized livers of chimeric mice. Hepatol Res. 2007;**37**(7): 548-56.
  7. Okuwaki M, Takada T, Iwayanagi Y et al. (Suzuki H 7 人中 7 番目). LXR alpha transactivates mouse organic solute transporter alpha and beta via IR-1 elements shared with FXR. Pharm Res. 2007;**24**(2): 390
  8. Yamanashi Y, Takada T, Suzuki H. Niemann-Pick C1-like 1 overexpression facilitates ezetimibe-sensitive cholesterol and beta-sitosterol uptake in CaCo-2 cells. J Pharmacol Exp Ther. 2007;**320**(2): 559-64.
- 【総説・著書】
1. 高田龍平、鈴木洋史. ABC タンパク質による胆汁脂質分泌と遺伝性疾患. 最新医学 2007; 62(11): 63-67
  2. 山本武人、樋坂章博、鈴木洋史. ゲノムと薬物代謝. 最新医学 2007; 62(9): 210-220
  3. 山本武人、鈴木洋史. 薬物体内動態の個人差と遺伝素因. ゲノム医学 2007; 7(3): 39-44
  4. 伊藤晃成、鈴木洋史. 肝における輸送体のソーティング調節. 遺伝子医学 MOOK 最新創薬学 2007 (杉山雄一編) pp135-141, 2007
- 【学会発表】
1. Suzuki H, Yoshikado T, Ito K and Takada T. Functional analysis of ABCB4 and its mutants in vitro. 2<sup>nd</sup> FEBS Special Meeting ABC2008, Innsbruck, Austria. Mar. 1~8, 2008
  2. Kozawa M, Honma M and Suzuki H. Prediction of the time profiles for the human in vivo induction of CYP enzymes from in vitro data. 8<sup>th</sup> International ISSX Meeting, Sendai, Japan. Oct. 9~12, 2007
  3. Yoshikado T, Takada T, Ito K and Suzuki H. Characterization of cholestatic ABCB4 mutants using in vitro adenovirus expression system. 8<sup>th</sup> International ISSX Meeting, Sendai, Japan. Oct. 9~12, 2007

4. Takada T, Yamanashi Y, Narushima K and Suzuki H. Construction of NPC1L1 expression system and evaluation of its transport properties. Biomedical Transporters 2007, Bern, Switzerland. Aug. 12~16, 2007
5. 山梨義英、高田龍平、吉門崇、鈴木洋史. NPC1L1 による NPC2 の胆汁分泌制御. 日本薬学会第 128 年会 横浜 2007 年 3 月 26 日~28 日
6. 苅谷嘉顕、本間雅、青木重樹、鈴木洋史 骨芽細胞における RANKL 分泌過程への Rab27a の関与. 日本薬学会第 128 年会 横浜 2007 年 3 月 26 日~28 日
7. 苅谷嘉顕、本間雅、鈴木洋史. 骨芽細胞における分泌型リソソームの細胞内輸送を制御する分子の解析. 特定領域研究「G タンパクシグナル」&「膜輸送複合体」合同若手ワークショップ 箱根 2008 年 1 月 26 日~28 日
8. 高田龍平、岩柳有起、鈴木洋史 HNF4 $\alpha$ ・SREBP2 による NPC1L1 の転写調節機構. 第 1 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 東京 2007 年 12 月 15 日~16 日
9. 本間雅、苅谷嘉顕、鈴木洋史. RANKL 細胞内トラフィッキングは Vps33a によって制御されている. 第 30 回日本分生学会・第 80 回日本生化学会大会合同大会 横浜 2007 年 12 月 11 日~15 日
10. 高田龍平、岩柳有起、成島和哉、山梨義英、鈴木洋史 NPC1L1 によるコレステロール輸送およびその調節機構の解析 第 29 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 仙台 2007 年 11 月 26 日~27 日
11. 本間雅、苅谷嘉顕、千葉厚、鈴木洋史. 破骨細胞分化に関連するシグナル分子の細胞内挙動. 第 29 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 仙台 2007 年 11 月 26 日~27 日
12. 伊藤晃成、小林和弘、高田龍平、杉山雄一、鈴木洋史 肝細胞血管側の胆汁酸排泄輸送体 ABCC3/MRP3 遺伝子多型の機能解析 第 29 回胆汁酸研究会 筑波 2007 年 11 月 24 日

**分担研究者：矢富裕**

以下には 2007 年度に出版された論文の中で主要なものを示す。

**【原著論文】**

1. Nakamura K, Ohkawa R, Okubo S, Tozuka M, Okada M, Aoki S, Aoki J, Arai H, Ikeda H, and Yatomi Y. Measurement of lysophospholipase D/autotaxin activity in human serum samples. Clin Biochem. 2007; 40: 274-277
2. Kume Y, Ikeda H, Inoue M, Tejima K, Tomiya T, Nishikawa T, Watanabe N, Ichikawa T, Kaneko M, Okubo S, Yokota H, Omata M, Fujiwara K, and Yatomi Y. Hepatic stellate cell damage may lead to decreased plasma ADAMTS13 activity in rats. FEBS Lett. 2007; 581: 1631-1634

3. Watanabe N, Ikeda H, Nakamura K, Ohkawa R, Kume Y, Aoki J, Hama K, Okudaira S, Tanaka M, Tomiya T, Yanase M, Tejima K, Nishikawa T, Arai M, Arai H, Omata M, Fujiwara K, and Yatomi Y. Both plasma lysophosphatidic acid and serum autotaxin levels are increased in chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 2007; 41: 616-623
4. Watanabe N, Ikeda H, Nakamura K, Ohkawa R, Kume Y, Tomiya T, Tejima K, Nishikawa T, Arai M, Yanase M, Aoki J, Arai H, Omata M, Fujiwara K, and Yatomi Y. Plasma lysophosphatidic acid level and serum autotaxin activity are increased in liver injury in rats in relation to its severity. *Life Sci*. 2007; 81: 1009-1015
5. Ikeda H, Kume Y, Tejima K, Tomiya T, Nishikawa T, Watanabe N, Ohtomo N, Arai M, Arai C, Omata M, Fujiwara K, and Yatomi Y. Rho-kinase inhibitor prevents hepatocyte damage in acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007; 293: G911-917
- Watanabe T, Ida M, Goto J and Tsuji S. Familial cases presenting very early onset autosomal dominant Alzheimer's disease with I143T in presenilin-1 gene: implication for genotype-phenotype correlation. *Neurogenetics*. 2008; 9(1): 65-67
2. Tsuji S, Onodera O, Goto J and Nishizawa M. Sporadic ataxias in Japan - a population-based epidemiological study. *Cerebellum*. 2007; 7: 1-9
3. Hara K, Momose Y, Tokiguchi S, Shimohata M, Terajima K, Onodera O, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Hirasawa M, Mizuno Y, Ogata K, Goto J, Kanazawa I, Nishizawa M and Tsuji S. Multiplex families with multiple system atrophy. *Arch Neurol*. 2007; 64(4): 545-551.
4. Matsumoto L, Yamamoto T, Higashihara M, Sugimoto I, Kowa H, Shibahara J, Nakamura K, Shimizu J, Ugawa Y, Goto J, Dalmau J and Tsuji S. Severe hypokinesia caused by paraneoplastic anti-Ma2 encephalitis associated with bilateral intratubular germ-cell neoplasm of the testes. *Mov Disord*. 2007; 22(5): 728-731.

分担研究者：後藤順

以下には 2007 年度に出版された論文の中で主要なものを示す。

【原著論文】

1. Arai N, Kishino A, Takahashi Y, Morita D, Nakamura K, Yokoyama T,

分担研究者：吉田晴彦

以下には 2007 年度に出版された論文の中で主要なものを示す。

【原著論文】

1. Yamashiki N, Yoshida H, Tateishi R, Shiina S, Teratani T, Yoshida H,

- Kondo Y, Oki T, Kawabe T, Omata M. Recurrent hepatocellular carcinoma has an increased risk of subsequent recurrence after curative treatment. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 22(12): 2155-60.
2. Yanai A, Maeda S, Hikiba Y, Shibata W, Ohmae T, Hirata Y, Ogura K, Yoshida H, Omata M. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* sabA genotype in Japanese clinical isolates. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 22(12): 2228-32.
  3. Tsujino T, Sugita R, Yoshida H, Yagioka H, Kogure H, Sasaki T, Nakai Y, Sasahira N, Hirano K, Isayama H, Tada M, Kawabe T, Omata M. Risk factors for acute suppurative cholangitis caused by bile duct stones. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 19(7):585-8.
  4. Ohki T, Tateishi R, Shiina S, Sato T, Masuzaki R, Yoshida H, Kanai F, Obi S, Yoshida H, Omata M. Obesity did not diminish the efficacy of percutaneous ablation for hepatocellular carcinoma. *Liver Int.* 2007; 27(3):360-7.
  5. Sasahira N, Tada M, Isayama H, Hirano K, Nakai Y, Yamamoto N, Tsujino T, Toda N, Komatsu Y, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Outcomes after clearance of pancreatic stones with or without pancreatic stenting. *J Gastroenterol.* 2007; 42(1): 63-9.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし



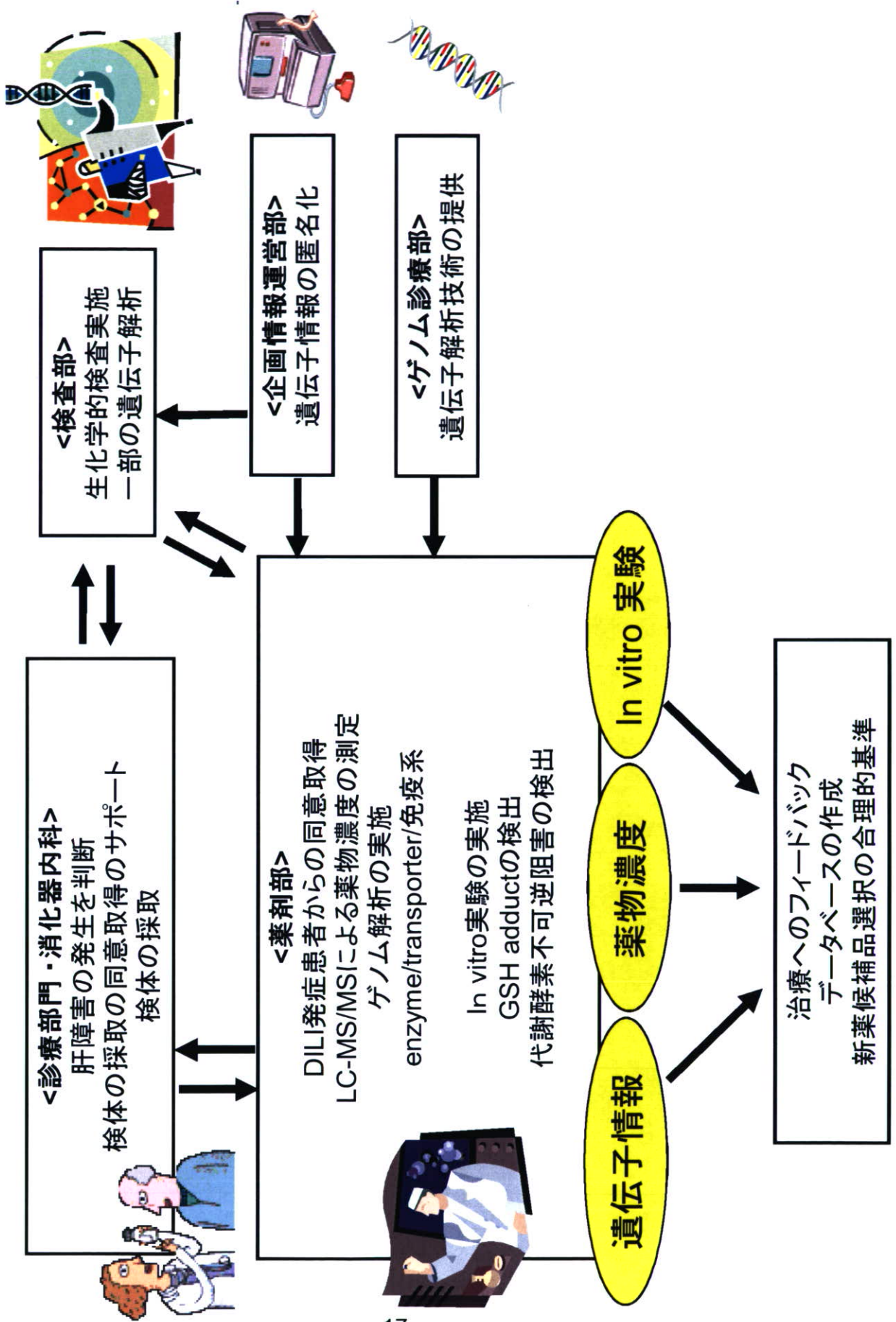
添付資料1 本研究においてリストアップしたDILI被疑薬リスト

一般名	常用量(1日量)	薬効分類
リセドロン酸ナトリウム	2.5mg	骨粗鬆症治療剤
サラソスルファピリジン	1000mg	抗リウマチ薬
ニザチジン	300mg	H <sub>2</sub> 受容体拮抗剤
ニフェジピン	20~60mg	Ca拮抗薬
塩酸ナフトピジル	25~75mg	排尿障害改善薬
塩酸モキシフロキサシン	400mg	ニューキノロン系抗菌薬
ゾピクロン	7.5~10mg	睡眠障害改善薬
カンレノ酸	50~100mg	抗アルドステロン性利尿・降圧剤
アルファカルシドール	0.5~1ug	活性型ビタミンD3製剤
アルギン酸ナトリウム	1~3g	消化性潰瘍用剤
フェニトイン	300mg	抗てんかん薬
塩酸オロパタジン	10mg	アレルギー性疾患治療剤
イトラコナゾール	100~200mg	アゾール系抗真菌薬
ゾニサミド	100~600mg	抗てんかん薬
トシル酸トスフロキサシン	300~600mg	ニューキノロン系抗菌薬
オメプラゾール	20mg	プロトンポンプ阻害剤
ファモチジン	40mg	H <sub>2</sub> 受容体拮抗剤
クエン酸モサプリド	15mg	消化管運動機能改善薬
レボフロキサシン	300~600mg	ニューキノロン系抗菌薬
クラリスロマイシン	400~800mg	マクロライド系抗生物質
フドステイン	1200mg	気道分泌細胞正常化剤
ロスバスタチンナトリウム	2.5~10mg	HMG-CoA還元酵素阻害剤
クロルプロマジン	50~450mg	精神神経安定剤
ミソプロストール	800ug	抗NSAID潰瘍剤
アロプリノール	300mg	高尿酸血症治療剤
オクトレオチド	100~300ug	持続性ソマトスタチンアナログ製剤
フルコナゾール	50~200mg	アゾール系抗真菌薬
コハク酸シベンゾリン	300~450mg	不整脈治療剤
セファゾリン	1~5g	セフェム系抗生物質製剤
塩酸テプレノン	150mg	消化性潰瘍用剤
マレイン酸トリメブチン	300mg	消化管機能改善薬
アシクロビル	1000mg	抗ウイルス化学療法剤
カンレノ酸	100~600mg	注射用抗アルドステロン剤
ランソプラゾール	30mg	プロトンポンプ阻害剤
テイコプラニン	400~800mg	グリコペプチド系抗生物質製剤
カルバマゼピン	400~1200mg	抗てんかん薬
塩酸トラゾドン	75~200mg	抗うつ薬
塩酸ミアンセリン	30~60mg	四環系抗うつ薬
バルプロ酸	400~1200mg	抗てんかん薬
エチゾラム	1~3mg	精神安定剤
スルピリド	150~600mg	消化性潰瘍用剤
塩酸ミルナシプラン	25~100mg	セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害剤
ナプロキセン	300~600mg	鎮痛・抗炎症剤
ロサルタンカリウム	25~100mg	アンギオテンシン受容体拮抗薬
シクロスポリン	300mg	カルシニューリン阻害薬
アスピリン	100mg	抗血小板剤
スルファメトキサゾール	1600mg	合成抗菌剤
トリメプリム	320mg	合成抗菌剤
チクロピジン	200~600mg	抗血小板薬
ラベプラゾール	20mg	プロトンポンプ阻害剤
塩酸タムスロシン	0.2mg	排尿障害改善薬
セフォチアム塩酸塩	0.5~2g	セフェム系抗生物質製剤
パンテノール	20~500mg	パンテノール製剤
アセトアミノフェン	0.5~1.5g	解熱鎮痛剤
プロメタジン	25~200mg	抗パーキンソン剤
セフォゾプラン	1~2g	セフェム系抗生物質製剤

## 添付資料1 本研究においてリストアップしたDILI被疑薬リスト(続)

一般名	常用量(1日量)	薬効分類
ポリコナゾール	200mg	トリアゾール系抗心筋薬
フェノバルビタール	30~200mg	抗てんかん薬
センノシド	12~24mg	緩下剤
プレドニゾン	5~60mg	ステロイド剤
酢酸クロルマジノン	50~100mg	前立腺肥大治療剤
アルプロスタジル	500ug	プロスタグランジンE1製剤
カンデサルタンシレキセチル	2~8mg	アンギオテンシン受容体拮抗薬
セフカペンピボキシル塩酸塩	300~450mg	セフェム系抗生物質製剤
アレンドロン酸ナトリウム	5mg	骨粗鬆症治療剤
酒石酸ゾルピデム	5~10mg	睡眠導入剤
セフェピム	2~4g	セフェム系抗生物質製剤
ミノサイクリン	100~200mg	テトラサイクリン系薬剤
レバミピド	300mg	胃炎・胃潰瘍治療剤
アンブロキソール	45mg	気道潤滑去痰剤
ロフラゼブ酸エチル	2~4mg	抗不安薬
プラバスタチン	10~20mg	HMG-CoA還元酵素阻害剤
ベタヒスチンメシル酸塩	18~36mg	抗めまい薬
メロペネム	0.5~2g	カルバペネム系抗生物質
スルタミシリン	6g	ペニシリン系抗生物質
ベンズブロマロン	50~150mg	尿酸排泄促進薬
フロセミド	20~40mg	利尿降圧剤
チオペンタール	100mg	全身麻酔剤
リツキシマブ	600mg	抗悪性腫瘍剤
デメチルクロルテトラサイクリン	450~600mg	テトラサイクリン系薬剤
プロチゾラム	0.25~0.5mg	睡眠導入剤
ロキソプロフェン	180mg	鎮痛・抗炎症剤
セフトリアキソン	1~4g	セフェム系抗生物質製剤
ワルファリン	3~10mg	抗凝固剤

# 添付資料2：薬物誘発性肝障害研究の体制



## 添付資料3: 血中薬物濃度測定系の詳細

### 分析装置

Detector: Waters Quattro Premium XE (triple Q)

LC system: Waters UPLC system

Column: Aquity C18 BEH (2.1 mm X 100 mm, 1.7µm)

Column temp: 40°C

### 定量に際して最適化したLC条件

Solvent composition

Solvent A: water (containing 0.1% formic acid)

Solvent B: acetonitrile (containing 0.1% formic acid)

Gradient program

Time	%A	%B	flow
0	90	10	0.3mL/min
2	85	15	0.3mL/min
8	5	95	0.3mL/min
10	90	10	0.3mL/min



### 各薬物に対して確立したMS検出条件

compound	parent mass	dauter mass	cone votage	collision energy	ESI
acyclovir	226.1	151.9	20	12	+
ambroxol	379.01	116	30	18	+
brotizolam	394.92	314.1	50	26	+
canrenoic acid	357.44	313.3	45	24	-
carbamazepine	237.11	194.1	35	22	+
cefazolin	455	155.9	20	16	+
cefepime	481.36	166.9	25	26	+
ceftriaxone	555.02	167	25	24	+
chlorpromazine	319.07	85.9	30	18	+
cyclosporin	1202.76	100	75	70	+
D-panthenol	206.76	76	25	16	+
famotidine	338.07	189	25	20	+
flosemide	329.01	204.9	30	22	-
itraconazole	705.14	392.3	60	36	+
levofloxacin	362.05	262.2	35	28	+
lovastatin	405.25	173.1	20	22	+
loxoprofen	245.1	82.9	25	16	-
mianserin	265.11	208.1	35	20	+
minocycline	458.1	441.3	30	22	+
mosapride	422.12	198	35	24	+
nizatidine	332.08	155	30	20	+
phenobarbital	231.07	85	30	12	-
phenytoin	252.07	102	30	20	-
pravastatin	423.24	100.9	35	36	-
predonisolone	361.16	147	25	28	+
promethazine	285.13	85.9	25	16	+
rabeprazole	358.25	163.8	25	24	-
rebamipide	371.06	216.1	40	18	+
sulbactam	232.01	188	20	10	-
sulfamethoxazole	254.05	92	30	24	+
tacrolimus	802.51	560.4	40	14	-
thiopental	241.11	57.9	30	16	-
trimethoprim	291.07	230.1	45	24	+
valproic acid	146.95	105.9	35	10	+
vancomycin	1450.39	1307.4	65	36	+
voriconazole	350.27	126.8	30	40	+