

200708007B

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

ストレス遺伝子チップを用いた医薬品の副作用機構の解明と、
副作用のない新規医薬品開発戦略の確立

平成 17 年度～19 年度 総合研究報告書

主任研究者 水島 徹

平成 20 (2008) 年 3 月

目次

I. 総合研究報告

ストレス遺伝子チップを用いた医薬品の副作用機構の解明と、副作用のない新規医薬品開発戦略の確立 -----1

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----16

III. 研究成果の刊行物・別刷 -----19

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

（総合）研究報告書

ストレス遺伝子チップを用いた医薬品の副作用機構の解明と、
副作用のない新規医薬品開発戦略の確立

主任研究者 水島 徹 熊本大学大学院医学薬学研究部教授

研究要旨

様々な方法で新たに120ほどの新規ヒトストレス遺伝子を発見し、それを既に開発していたヒトストレス遺伝子チップに加え、改良型ヒトストレス遺伝子チップを開発した。

これまでの研究を基に我々は、膜傷害性のないNSAIDsは胃潰瘍副作用のないNSAIDsになることを発見している。本研究で我々は、複数の膜傷害性のないNSAIDsを発見しそれらが胃潰瘍を起こさないこと、及び既存薬と変わらない抗炎症作用を示すことを見いだした。以上の結果は、ストレス遺伝子チップを用いた解析（トキシコゲノミックス）が副作用のない医薬品の開発にも有用であることを示している。

一方我々はトキシコゲノミックスから得られた情報を基に、副作用感受性の個人差を規定している遺伝子多型を同定し副作用感受性の予測システムを確立できると考え、NSAIDs潰瘍を例としてその証明を行いたいと考えている。本研究で我々は、NSAIDsにより誘導される遺伝子の解析、微生物をNSAIDs耐性化する遺伝子の解析から、NSAIDs潰瘍感受性の個人差を規定している遺伝子の候補を十数個選定した。またSNPのデータベースからNSAIDs潰瘍感受性が変化させるSNP22種を同定した。

さらに我々は、薬剤性間質性肺炎副作用が問題になっている抗リウマチ薬等に関しても同様のトランスクリプトソーム解析を行い、これらの医薬品が抗炎症作用を持つタンパク質の発現を強く抑えることがこの副作用の原因であることを示唆すると共に、これまで成功していなかった薬剤性間質性肺炎の実験動物モデルの確立に成功した。

A. 研究目的

製薬企業を始め、新しい物質を商品化する企業にとって、毒性試験は必須である。現在、動物実験で毒性試験を行っているため、莫大な費用と時間がかかるという問題に加え、生死に関する（あるいは視覚的に判断できる）毒性しか分からないという問題もある。そこで新しい毒性試験法の確立が求められている。動物実験に代わる方法として、新規物質を細胞に作用させ、誘導される遺伝子を網羅的に解析することによって、その物質の毒性を予想する方法が考えられている

（本プロジェクトの指定研究はこのようなプロジェクトであると我々は考えている）。そのためには、ストレス遺伝子（種々のストレスによって誘導される遺伝子）を網羅した DNA チップ（ストレス遺伝子チップ）が有効である。本研究提案の目標の一つは、ヒトストレス遺伝子チップを開発したという実績を基に、更なるストレス遺伝子の網羅的同定を行い、改良型ヒトストレス遺伝子チップを開発することである。即ち本研究は、本プロジェクトの指定研究を支える研究と位置づけることができる。

またこのストレス遺伝子チップを使って、臨床現場でその副作用が問題になっている既存の医薬品（消化管・肝・腎毒性が臨床で問題になっている抗菌薬、抗ウイルス薬、免疫抑制薬など）の細胞傷害機構を調べることによりその副作用メ

カニズムを解明し、副作用のない新しい医薬品の開発戦略を確立する研究も行う。我々はこの方法で、胃潰瘍を起こさない安全な NSAIDs の開発法を確立した。そこで本研究で我々は、この開発戦略に従い新しい NSAIDs を合成し、実際にその NSAIDs に胃潰瘍副作用がないことを示し、トキシコゲノミックスが副作用のない医薬品の開発に貢献することを実証する。同時にこの研究は、NSAIDs 潰瘍に苦しんでいる多くの患者さんを救うことにもつながる（米国では年間 16500 人が NSAIDs 潰瘍で亡くなっており、これはエイズ死者数よりも多い）。

一方本研究で我々は、微生物を利用して、医薬品の細胞毒性（副作用）に関する新しいヒト遺伝子を同定し、副作用感受性の個人差を規定している遺伝子多型を同定する。細胞はストレスに対し、適切な遺伝子を発現することによって、自らをストレス耐性化する。そこで我々は、まず比較的短時間で遺伝子解析が出来る微生物を用いて、特定の医薬品に対して細胞を耐性化する遺伝子を検索し、次にその遺伝子のヒトホモログを取り、その遺伝子多型と副作用感受性の個人差との相関性を調べる。

B. 研究方法

新規ストレス遺伝子の検索

ストレスとしては、NSAIDs、アルコール、活性酸素を使用した。細胞に各ス

ストレスを与えた時に誘導される遺伝子を、既存の DNA チップ (ゲノム情報からランダムに遺伝子をチップ化したもの) を使って検索した。また我々が既に作成しているストレス遺伝子チップも用いた。一方未知の遺伝子の発見を目指して、ディファレンシャルディスプレイ法でも検索を行った。同定された遺伝子に関しては、RT-PCR 法で確認するとともに、DNA チップに用いるための配列をコンピューターを使って検索した。

副作用のないNSAIDsの発見

我々が見いだした NSAIDs の膜傷害性に関する構造活性相関を基に、新たに 30 種の NSAIDs を合成した。また大正製薬、及び三共から 1000 種以上の NSAIDs を入手した。まずこれらの膜傷害性を我々が特許化している方法で調べ (一次スクリーニング)、次に細胞傷害性をモルモット胃粘膜初代培養細胞で調べた (二次スクリーニング)。さらに COX 阻害活性を確認し COX-2 選択性を持たないものを選択した後 (三次スクリーニング)、動物実験で胃潰瘍副作用と抗炎症作用を調べた。

また同定したリード化合物に関して、誘導体を合成した。

間質性肺炎副作用に関する研究

抗癌剤 (ゲフィチニブ (イレッサ))、抗リウマチ薬 (レフルノミド、エタネル

セプト、インフリキシマブ)、漢方薬 (小紫胡湯、牛車腎気丸) による間質性肺炎副作用が臨床現場で大きな問題になっている (多数の死者が報告されている)。しかし、その発症メカニズムはほとんど分かっていない。さらにこれらの医薬品は欧米でもよく使用されているが、我が国ほど間質性肺炎副作用は問題になっていない。そこでこれらの医薬品による間質性肺炎副作用発症機構を解明し、副作用の少ない新薬を開発することは大変重要である。NSAIDsの研究を参考に、最近臨床現場でその間質性肺炎副作用が問題になっている種々の医薬品 (抗癌剤 (ゲフィチニブ (イレッサ))、抗リウマチ薬 (レフルノミド、エタネルセプト、インフリキシマブ)、漢方薬 (小紫胡湯、牛車腎気丸) のストレス遺伝子チップによる解析を行った。

また siRNA 法や各種阻害剤などを用いて、これらの医薬品によるこれら遺伝子の抑制機構を解析した。そしてその抑制がこれらの医薬品の主作用 (抗癌や抗リウマチなど) と関連があるのかを調べた。またこれらの遺伝子を恒常的に発現しているトランスジェニックマウス、及びこれらの遺伝子のノックアウトマウスを入手し、間質性肺炎誘導性を調べ、これらの遺伝子が間質性肺炎に関与しているかを調べた。また有機化学合成によりこれらの医薬品の誘導体を合成した。

C.研究結果

NSAIDs により誘導される遺伝子

junction plakoglobin

hypothetical protein similar to mouse Fbw5

KIAA0013 gene product

small optic lobes (*Drosophila*) homolog

glucosidase, beta; acid (includes glucosylceramidase)

zinc finger protein homologous to Zfp103 in mouse

solute carrier family 1 (neutral amino acid transporter), member 5

interferon induced transmembrane protein 1

upstream transcription factor 1

protease, serine, 8 (prostasin)

seven transmembrane domain protein

PHD finger protein 3

fucosyltransferase 1 (galactoside 2-alpha-L-fucosyltransferase, Bombay

phenotype included)

PTD008 protein

phosphoenolpyruvate carboxykinase 2 (mitochondrial)

Sequence 5 from Patent WO9954461.

KIAA0842 protein

BCL2/adenovirus E1B 19kD-interacting protein 1

vascular endothelial growth factor

stratifin

RAD9 (*S. pombe*) homolog

fucosyltransferase 1 (galactoside 2-alpha-L-fucosyltransferase, Bombay

phenotype included)

copine I

myo-inositol 1-phosphate synthase A1

S100 calcium-binding protein P

four and a half LIM domains 3

KIAA0339 gene product

poly(A)-binding protein, nuclear 1

ubiquitin-conjugating enzyme E2M (homologous to yeast UBC12)

ferritin, light polypeptide

nuclear receptor subfamily 1, group H, member 2

Sequence 1 from Patent WO9966039.

inhibitor of DNA binding 1, dominant negative helix-loop-helix protein

poly(rC)-binding protein 4

RAP1, GTPase activating protein 1

seven transmembrane domain protein

lymphocyte adaptor protein

Incyte EST

orilla DNA for Ig alpha-1 constant region

selenoprotein W1

Cas-Br-M (murine) ectropic retroviral transforming sequence c

SHC (Src homology 2 domain-containing) transforming protein 1

Homo sapiens mRNA; cDNA

DKFZp434C107 (from clone DKFZp434C107)

Human full length insert cDNA clone YX37A07

ATP synthase, H+ transporting,

mitochondrial F0 complex, subunit c (subunit 9), isoform 2
N-methylpurine-DNA glycosylase
translocase of inner mitochondrial membrane 13 (yeast) homolog B
glutamate receptor, ionotropic, kainate 3
thioredoxin reductase beta
Homo sapiens clone 24767 mRNA sequence, sal (Drosophila)-like 2
Human partial GDH gene for uridine diphospho-glucose dehydrogenase, exons 6-7
endothelial differentiation, sphingolipid G-protein-coupled receptor, 5
kinesin family member C3
Human cDNA: FLJ21161 fis, clone CAS10040, highly similar to CHPIMRF Pan troglodytes interferon-inducible mRNA fragment
ephrin-B2
hypothetical protein FLJ10709
serologically defined colon cancer antigen 31 Sequence 81 from Patent WO9951727

エタノールにより誘導される遺伝子
Rhesus monkey p53 mRNA, complete cds.
major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1
actinin, alpha 4
ATPase, Ca++ transporting, plasma membrane 2
Human bone sialoprotein (BNSP) gene, exons 6 and 7.
ribosomal protein S6 kinase, 70kD, polypeptide 2
KIAA1484 protein
G protein-coupled receptor kinase-interactor 1
ryanodine receptor 3
hypothetical protein FLJ20277
glycoprotein, synaptic 2
procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 3
heme oxygenase (decycling) 1
activating transcription factor 3
ribosomal protein, large, P1
phosphoinositide-3-kinase, catalytic, gamma polypeptide
translocase of inner mitochondrial membrane 17 (yeast) homolog B
Rab geranylgeranyltransferase, alpha subunit
interleukin 1 receptor-like 2
glutathione S-transferase M2 (muscle)
cysteinyl-tRNA synthetase
ring finger protein 15
ATPase, Class II, type 9A
dysferlin, limb girdle muscular dystrophy 2B (autosomal recessive)
CG10153 gene product
STIP1 homology and U-Box containing protein 1
hypothetical protein FLJ12628
adenine phosphoribosyltransferase
matrix metalloproteinase-like 1

Homo sapiens cDNA: FLJ21504 fis, clone COL05662
metallothionein 1L
translocase of inner mitochondrial membrane 17 (yeast) homolog B
ring finger protein 5
cholinergic receptor, nicotinic, beta polypeptide 1 (muscle)

活性酸素により誘導される遺伝子

endothelin converting enzyme 1
microsomal triglyceride transfer protein (large polypeptide, 88kD)
KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 1
hypothetical protein
glutathione synthetase
Homo sapiens cDNA: FLJ23529 fis, clone LNG06042
Fc fragment of IgG, receptor, transporter, alpha
protein (peptidyl-prolyl cis/trans isomerase)
NIMA-interacting 1
KIAA0664 protein
cytokine-inducible kinase
cysteine-rich protein 2
Homo sapiens mRNA for FLJ00067 protein, partial cds
smooth muscle myosin light chain kinase; smMLCK
linker for activation of T cells
cholinergic receptor, nicotinic, beta

polypeptide 3
KIAA0683 gene product
hypothetical SBBI03 protein
myomesin 1 (skelemin) (185kD)
Human Fanconi anaemia group A gene, exons 39, 40, 41, 42 and 43
collagen, type I, alpha 2、HLA-B associated transcript-5
mutS (E. coli) homolog 5
mitogen-activating protein kinase kinase kinase 2
eukaryotic translation elongation factor 1 gamma

これらの新規ストレス遺伝子を加えた、改良型ストレス遺伝子チップを開発し、それが DNA チップとして機能することを確認した。

副作用のないNSAIDsの発見

自ら合成した NSAIDs、及び協力企業から得た NSAIDs を出発材料とし、スクリーニングを行った。まずこれらの膜傷害性を我々が特許化している方法で調べ（一次スクリーニング）、対照医薬品であるイブプロフェンより膜傷害性の少ない 60 種を選択した。次に細胞傷害性をモルモット胃粘膜初代培養細胞で調べた（二次スクリーニング）。その結果、選択した 60 種のほとんどが、イブプロフェンより弱い細胞傷害性を示した。この結果は、NSAIDs の細胞傷害性の原因が

その膜傷害性にあるという我々の考えを支持している。さらに COX 阻害活性を確認し COX-2 選択性を持たないものを選択した後 (8 種)、それらの NSAIDs に関して、動物実験で胃潰瘍副作用を調べた。その結果、全ての NSAIDs はイブプロフェンより弱い胃潰瘍副作用を示した。この結果は、NSAIDs 潰瘍の原因が、その細胞傷害性 (膜傷害性) にあるという我々の考えを支持している。さらに特に胃潰瘍副作用の少なかった4種に関して抗炎症作用を調べところ、イブプロフェンより弱い抗炎症作用を示すものが2種、同程度の抗炎症作用を示すものが2種存在した。この結果は、NSAIDs の細胞傷害性 (膜傷害性) は、NSAIDs の抗炎症作用には関係がないという我々の考えを支持している。以上のスクリーニングにより、胃潰瘍副作用の少ない NSAIDs を発見できた。

さらに有用なリード化合物に関して誘導体を合成したところ、合成した誘導体の中には、リード化合物よりも膜傷害性・細胞傷害性、胃潰瘍副作用が少なく、COX-2 選択性がなく血栓副作用を示さず、かつ既存の NSAIDs とほぼ同程度の抗炎症作用を示す NSAIDs を得ること (リード化合物の最適化) に成功した。

NSAIDs潰瘍感受性の個人差を規定している遺伝子多型を同定

我々はトキシコゲノミクスから得られた情報を基に、副作用感受性の個人差を規定している遺伝子多型を同定し副作用感受性の予測システムを確立できると考え、NSAIDs 潰瘍を例としてその証明を行いたいと考えている。本年度我々は、NSAIDs により誘導される遺伝子の解析から S100p, clausin-1, clausin-4, clausin-12, HO-1, GRP78, ORP150, COX-2, GRP94, CHOP を、微生物を NSAIDs 耐性化する遺伝子の解析から HSP72, HSP90, HSP104, HSP60, HSF1, TETRAN を、NSAIDs 潰瘍感受性の個人差を規定している遺伝子の候補として選定した。次に SNP のデータベースからこれらの遺伝子の SNP を検索した。その中で我々は TETRAN と HSP72 に注目した。

TETRAN の主な SNP (TETRAN-SNP-1, TETRAN-SNP-2) に注目し、その遺伝子を培養細胞で発現し、TETRAN 活性 (NSAIDs 排出活性) を測定した。TETRAN-SNP-1 では野生型と変わらない NSAIDs 排出活性を示したのに対し、TETRAN-SNP-2 では野生型の 30%程度の排出活性しか示さなかった。一方、HSP72 の主な SNP (HSP72-SNP-1, HSP72-SNP-2, HSP72-SNP-3) に注目し、その遺伝子を培養細胞で発現し、HSP72 活性 (NSAIDs 耐性化活性) を測定したところ、SNP-3 では野生型と変わらない NSAIDs 排出活性を示したのに対し、SNP-1, 2 では野生型より弱い活性を示し

た。

他の遺伝子(COX-1、COX-2、PGES、HSP70、GRP78、HO-1、TETRA)に関しても、遺伝子多型のデータベースから候補遺伝子。に関する情報を得て、その中から胃粘膜細胞の NSAID 感受性を規定する遺伝子多型 22 種同定した。

間質性肺炎副作用に関する研究

最近臨床現場でその間質性肺炎副作用が問題になっている種々の医薬品（抗癌剤（ゲフィチニブ（イレッサ））、抗リウマチ薬（レフルノミド、エタネルセプト、インフリキシマブ）、漢方薬（小紫胡湯、牛車腎気丸）のストレス遺伝子チップによる解析を行った。その結果、これらの医薬品が SOD、HO-1、Nrf2、HSP など抗炎症作用を持つタンパク質の発現を強く抑えることを見出した。この結果は、これらの医薬品が抗炎症タンパク質を低下させることにより、間質性肺炎を引き起こしている可能性を初めて示すものである。

ゲフィチニブ、レフルノミド、エタネルセプト、インフリキシマブを用いて検討したところ、これらの薬剤が HSF1 のリン酸化を抑制することを見出した。HSF1 はリン酸化され活性化させ、HSP などの遺伝子発現を促進することが知られている。そこでまず HSF1 を過剰発現させた細胞を用いて解析したところ、これら薬剤による SOD、HO-1、Nrf2、HSP

の発現抑制が見られなくなった。この結果は、これら薬剤は HSF1 のリン酸化を抑制し、HSF1 を不活性化することにより、これら遺伝子の発現を抑制していることを示唆している。HSF1 が、HO-1、Nrf2、SOD の発現制御に寄与していることが示唆されたのはこれが初めてである。

またこれらの遺伝子の過剰発現細胞を用いて、これら薬剤の作用（抗癌作用や抗リウマチ作用）をコントロール細胞と比較したところ、大きな差は見られなかった。従って、これら遺伝子の発現抑制はこれらの医薬品の主作用とは関連がないと考えられる。

一方、Nrf2 ノックアウトマウス、HSP70 トランスジェニックマウスにおいて、ブレオマイシン誘導性肺炎（間質性肺炎のモデル）を野生型マウスと比較したところ、Nrf2 ノックアウトマウスではより肺炎を起こしやすいこと、逆に HSP70 トランスジェニックマウスでは肺炎を起こしにくいことを見出した。この結果は、これら薬剤（ゲフィチニブ、レフルノミド、エタネルセプト、インフリキシマブ）による Nrf2、HSP70 の発現抑制が、間質性肺炎副作用に寄与していることを示唆している。

一方、レフルノミドの誘導体を合成しているが、まだ全ての合成が完了していないので、副作用を調べるには至っていない。

薬剤性間質性肺炎研究が遅れていたの

は、その動物モデルが確立されていなかったためである。我々は、TNF- α (薬剤性間質性肺炎において重要な役割を果たしている)、及び低用量プレオマイシン (高用量プレオマイシン単独で、間質性肺炎症状が現れる) をあらかじめ投与したマウスに、レフルノミドやエタネルセプトを投与すると、間質性肺炎症状が見られることを見出し、薬剤性間質性肺炎モデルを確立したと考えている。このモデルにおいて、PC-SOD (SODを修飾し安定性を高めた製剤で、現在、間質性肺炎治療薬としての臨床試験中)、及びHO-1の誘導剤により、この間質性肺炎様症状が改善することを見出した。以上の結果は、これらの医薬品が抗炎症タンパク質を低下させることにより、間質性肺炎を引き起こしている可能性を示している

D. 考察

本研究で開発した改良型ストレス遺伝子チップは、トキシコゲノミックスの研究に有用であると考えられる。実際我々はこのDNAチップを用いてNSAIDsで誘導されるストレス遺伝子の解析を行い、NSAIDs潰瘍感受性の個人差を規定している遺伝子多型の候補遺伝子の同定に成功した。

これまでの我々の研究から、COX-2に対する選択性がなく、かつ膜傷害性のないNSAIDsは、胃潰瘍誘発副作用、及び心筋梗塞誘発副作用のない真に安全な

NSAIDsになることが示唆されていた。今年度我々はこのアイデアに従い、実際にCOX-2に対する選択性がなく、かつ膜傷害性のないNSAIDsのスクリーニングを行い、そのようなNSAIDsが胃潰瘍誘発副作用、及び心筋梗塞誘発副作用のない真に安全なNSAIDsであることを示した。この結果は我々のアイデアが正しいことを示すだけでなく、新しい医薬品開発への道を開いたという点でも評価できる。

臨床現場で問題になっているのが、NSAIDs感受性に関する個人差である。即ち、同じ量のNSAIDsを投与しても、胃潰瘍を発症する患者としない患者がおり、NSAIDs感受性に関する個人差を予測することが出来れば、画期的である。今回我々は、NSAIDs感受性に関与する遺伝子のSNP解析を行い、複数の興味深いSNPを発見した。その中には、細胞のNSAIDs感受性を変化させるものもあり、NSAIDs感受性に関する個人差を予測する方法論の確立に貢献すると思われる。

本研究で開発した改良型ストレス遺伝子チップは、トキシコゲノミックスの研究に有用であると考えられる。

これまでの我々の研究から、COX-2に対する選択性がなく、かつ膜傷害性のないNSAIDsは、胃潰瘍誘発副作用、及び心筋梗塞誘発副作用のない真に安全なNSAIDsになることが示唆されていた。

昨年度我々はこのアイデアに従い、実際に COX-2 に対する選択性がなく、かつ膜傷害性のない NSAIDs のスクリーニングを行い、そのような NSAIDs が胃潰瘍誘発副作用、及び心筋梗塞誘発副作用のない真に安全な NSAIDs であることを示した。そして今年度はその化合物の作用をより強く、副作用をより弱くすることに成功した。この化合物は新しい NSAIDs の候補として既に前臨床試験を行っている。

また臨床現場で問題になっている間質性肺炎の研究に関しては、薬剤性間質性肺炎の発症メカニズムが全く分かっていないので、その解明を目標としている。本研究により、抗炎症タンパク質の発現抑制が薬剤性間質性肺炎の原因であるという新しい可能性が示された。また、これまで実験動物モデルが確立されていないことが研究の足かせになっていたが、本研究で我々は、そのモデルを確立したと考えている。これは今後の薬剤性間質性肺炎研究に大きく貢献すると思われる。

E. 結論

本研究により、トキシコゲノミックスの有用性（副作用機構の解明、副作用感受性の診断、副作用の少ない新薬の開発）が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Mima, S., Tsutsumi, S., Ushijima, H., Takeda, M., Fukuda, I., Yokomizo, K., Suzuki, K., Sano, T., Nakanishi, T., Tomisato, W., Tsuchiya, T. and Mizushima, T. Induction of claudin-4 by non-steroidal anti-inflammatory drugs and its contribution to their chemopreventive effect. *Cancer Res.* 65, 1868-1876. (2005)
2. Arai, Y., Tanaka, K., Ushijima, H., Tomisato, W., Tsutsumi, S., Aburaya, M., Hoshino, T., Yokomizo, K., Suzuki, K., Katsu, T., Tsuchiya, T. and Mizushima, T. Low direct cytotoxicity of nabumetone on gastric mucosal cells. *Dig. Dis. Sci.* 50, 1641-1646. (2005)
3. Tomisato, W., Tanaka, K., Tsutsumi, S., Hoshino, T., Yokomizo, K., Suzuki, K., Katsu, T., and Mizushima, T. Low direct cytotoxicity and cytoprotective effects of nitric oxide-releasing indomethacin. *Dig. Dis. Sci.* 50, 1927-1937. (2005)
4. Sone, M., Hayashi, H., Yamamoto, H., Hoshino, T., Mizushima, T., and Nakashima, T. Upregulation of HSP by geranylgeranylacetone protects the cochlear lateral wall from endotoxin-induced inflammation. *Hearing Research* 204, 140-146. (2005)
5. Tanaka, K., Tomisato, W., Hoshino, T., Ishihara, T., Nanba, T., Aburaya, M., Katsu, T., Suzuki, K., Tsutsumi, S. and

- Mizushima, T. Involvement of intracellular Ca^{2+} levels in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 280, 31059-31067. (2005)
6. Ushijima, H., Tanaka, K., Takeda, M., Katsu, T., Mima, S. and Mizushima, T. Geranylgeranylacetone protects membranes against non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Mol. Pharmacol.* 68, 1156-1161. (2005)
7. Tsutsumi, S., Namba, T., Tanaka, K., Arai, Y., Ishihara, T., Aburaya, M., Mima, S., Hoshino, T., and Mizushima, T. Celecoxib up-regulate endoplasmic reticulum chaperones that inhibit celecoxib-induced apoptosis in human gastric cells. *Oncogene* 25, 1018-1029. (2006)
8. Yamada, Y., Shiota, S., Mizushima, T., Kuroda, T. and Tsuchiya T. Functional gene cloning and characterization of MdeA, a multidrug efflux pump from *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm Bull.* 29, 801-804. (2006)
9. Aburaya, M., Tanaka, K., Hoshino, T., Tsutsumi, S., Suzuki, K., Makise M., Akagi, R. and Mizushima, T. Heme oxygenase-1 protects gastric mucosal cells against non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J. Biol. Chem.* 281,33422-33432. (2006)
10. Makise, M., Takahashi, N., Matsuda, K., Yamairi, F., Suzuki, K., Tsuchiya, T., and Mizushima, T. Mechanism for the degradation of origin recognition complex containing Orc5p with a defective walker A motif and its suppression by over-production of Orc4p in yeast cells. *Biochem. J.* 402,397-403. (2007)
11. Hoshino, T., Nakaya, T., Araki, W., Suzuki, K., Suzuki, T. and Mizushima, T. Endoplasmic reticulum chaperones inhibit the production of amyloid-b peptides. *Biochem. J.* 402,581-589. (2007)
12. Namba, T., Hoshino, T. Tanaka, K., Tsutsumi, S., Ishihara, T., Mima S., Suzuki, K., Ogawa, S. and Mizushima, T. Up-regulation of 150-kDa oxygen-regulated protein (ORP150) by celecoxib in human gastric carcinoma cells. *Mol. Pharmacol.* 71,860-870.(2007)
13. Tanaka, K., Tsutsumi, S., Arai, Y., Hoshino, T. Suzuki, K., Takai, E., Itoh, T., Takeuchi, K., Nakai, A. and Mizushima, T. Genetic evidence for a protective role of heat shock factor 1 against irritant-induced gastric lesions. *Mol. Pharmacol.* 71,985-993. (2007)
14. Mizushima, T. Various stress proteins protect gastric mucosal cells against non-steroidal anti-inflammatory drugs.

- Inflammopharmacology* 15,67-73. (2007)
15. Namba, T., Ishihara, T., Tanaka, K., Hoshino, T. and Mizushima, T. Transcriptional activation of ATF6 by endoplasmic reticulum stressors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 355,543-548. (2007)
 16. Mima, S., Ushijima, H., Hwang, H-J., Tsutsumi, S., Makise, M., Yamaguchi, Y., Tsuchiya, T., Mizushima, H. and Mizushima, T. Identification of the *TPO1* gene in yeast, and its human orthologue TETRAN, which cause resistance to NSAIDs. *FEBS Lett.* 581,1457-1463. (2007)
 17. Ishihara, T., Hoshino, T. Namba, T., Tanaka, K. and Mizushima, T. Involvement of up-regulation of PUMA in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 356,711-717. (2007)
 18. Katsu, T., Imamura, T., Komagoe, K., Masuda, K. and Mizushima, T. Simultaneous measurements of K⁺ and calcein release from liposomes and the determination of pore size formed in the membrane. *Anal. Sci.* 23,517-522. (2007)
 19. Tanaka, K. Namba, T., Arai, Y., Fujimoto M., Adachi, H., Sobue, G., Takeuchi, K., Nakai, A. and Mizushima, T. Genetic evidence for a protective role for heat shock factor 1 and heat shock protein 70 against colitis. *J. Biol. Chem.* 282,23240-23252. (2007)
 20. Hoshino, T., Nakaya, T., Homan, T., Tanaka, K., Sugimoto, Y., Araki, W., Narita, M., Narumiya, S., Suzuki, T. and Mizushima, T. Involvement of prostaglandin E2 in production of amyloid-b peptides both in vitro and in vivo. *J. Biol. Chem.* 282,32676-32688. (2007)
2. 学会発表 (招待講演のみ)
 1. 水島徹 NSAIDs 潰瘍発症の分子機構と HSP 誘導薬による保護 愛媛県病院薬剤師会学術講演会 (2005)(愛媛)
 2. 水島徹 NSAIDs 研究の新展開 北海道大学での特別講演 (2005)(札幌)
 3. 水島徹 NSAIDs 研究の新展開 大正富山製薬(株) 研究所での特別講演 (2005)(さいたま)
 4. Tohru Mizushima Induction of Claudin-4 by Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Its Contribution to Their Chemopreventive Effect. Digestive Disease Week (2005) (Chicago)
 5. 水島徹 NSAIDs 研究の新展開 熊本県薬剤師会総会特別講演 (2005) (熊本)

6. 水島徹 NSAIDs 研究の新展開 京都薬科大学での特別講演 (2005) (京都)
7. 水島徹 熊本大学薬学部創薬研究センター新設紹介・副作用のない NSAIDs の開発 熊本大学イブニングセミナー (2005) (東京)
8. 水島徹 HSP 誘導剤と創薬 再春館製薬 (株) での招待講演 (2005) (熊本)
9. 水島徹 HSP 誘導剤とその臨床応用 日本癌学会ランチョンセミナー (2005) (札幌)
10. Tohru Mizushima Inhibition of amyloid- β production by endoplasmic reticulum chaperones. Second International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine (2005) (Tomar)
11. 水島徹 NSAIDs 潰瘍発症の分子機構と HSP 誘導による胃粘膜保護 名古屋大学医学部での招待講演 (2005) (名古屋)
12. 水島徹 熊本大学附属創薬研究センターについて 創薬拠点形成シンポジウム (2005) (熊本)
13. 水島徹 NSAIDs の新たな薬理作用と毒性のない HSP 誘導薬の臨床応用 第一製薬 (株) での招待講演 (2005) (東京)
14. 水島徹 NSAIDs による TJ 関連遺伝子誘導と抗癌作用 日本分子生物学会での招待講演 (2005) (福岡)
15. 水島徹 熊本大学附属創薬研究センターについて 住友会招待講演 (2006) (熊本)
16. 水島徹 NSAIDs 潰瘍発症の分子機構と HSP 誘導による胃粘膜保護 第 15 回熊本県臨床薬学フォーラムでの招待講演 (2006) (熊本)
17. 水島徹 創薬研究センターの紹介、及び副作用のない NSAIDs の開発 熊本県製薬協会年会での特別講演 (2006) (熊本)
18. 水島徹 HSP 誘導による胃粘膜保護 名古屋 GGA 研究会での特別講演 (2006) (名古屋)
19. 水島徹 熊本大学附属創薬研究センターについて 創薬研究センター開所記念式典 (2006) (熊本)
20. Tohru Mizushima HSP and Skin. AISET (Anti-aging International Symposium) (2006) (Tokyo)
21. Tohru Mizushima Heme oxygenase-1 protects gastric mucosal cells against non-steroidal anti-inflammatory drugs. 12th International Conference on Ulcer Research (2006) (Osaka)
22. 水島徹 PLGA ナノ粒子を用いた DDS 戦略 日本 DDS 学会シンポジウム (2006) (東京)
23. 水島徹 レシチン化 SOD による潰瘍性大腸炎治療 日本炎症・再生学会シンポジウム (2006) (東京)

24. 水島徹 非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) の抗癌作用に関する分子機構の解明 癌研セミナー (2006) (東京)
25. 水島徹 基礎研究と創薬研究 鹿児島大学での招待講演 (2006) (鹿児島)
26. Tohru Mizushima Molecular mechanism for chemopreventive effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs. The Fifth Sino-Japan Joint Conference for Cancer Research Molecular Targets for Cancer Therapeutics (2006) (Shanghai)
27. 水島徹 薬の作り方、使い方 市民講演会 (2006) (熊本)
28. 水島徹 NSAIDs 潰瘍発症の分子機構と HSP 誘導による胃粘膜保護 臨床ストレス応答学会特別講演 (2006) (京都)
29. 水島徹 NSAIDs 潰瘍発症の分子機構と HSP 誘導による胃粘膜保護 つくば GI リサーチセミナー特別講演 (2006) (つくば)
30. 水島徹 薬学部へ行って薬を作ろう 九州薬科学研究教育連合主催講演会 招待講演 (2006) (福岡)
31. 水島徹 DDS スペシャリスト養成プログラムについて 教育研究拠点 FD セミナー 招待講演 (2006) (熊本)
32. 1. Tohru Mizushima Direct genetic evidence for a protective role of heat shock proteins against irritant-induced gastric lesion. 2. Tohru Mizushima Molecular mechanism for chemopreventive effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs. Meeting of the pacific basin group on gastroduodenal disorders. Digestive Disease Week (2007) (Washington)
33. Tohru Mizushima Molecular mechanism for chemopreventive effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs. 3rd International Congress on Gastrointestinal Oncology. 3rd INTERNATIONAL CONGRESS ON GASTROINTESTINAL ONCOLOGY (2007) (Greece)
34. 水島徹 胃潰瘍、炎症性腸疾患に対する HSP の保護効果 第 29 回日本フリーラジカル学会学術集会ランチョンセミナー (2007) (名古屋)
35. 水島徹 分子標的創薬と Translational 研究 第 28 回日本炎症・再生医学会 (2007) (東京)
36. 水島徹 胃潰瘍、炎症性腸疾患に対する HSP の保護効果 第 35 回日本潰瘍学会イブニングセミナー (2007) (鳥取)
37. 水島徹 熱ショック蛋白質の炎症性腸疾患における役割 第 26 回サイトプロテクション研究会 (2007) (京都)

G.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

該当なし

研究成果に刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Mima, S., Tsutsumi, S., Ushijima, H., Takeda, M., Fukuda, I., Yokomizo, K., Suzuki, K., Sano, T., Nakanishi, T., Tomisato, W., Tsuchiya, T. and Mizushima, T.	Induction of claudin-4 by non-steroidal anti-inflammatory drugs and its contribution to their chemopreventive effect	<i>Cancer Res</i>	65	1868-1876	2005
Arai, Y., Tanaka, K., Ushijima, H., Tomisato, W., Tsutsumi, S., Aburaya, M., Hoshino, T., Yokomizo, K., Suzuki, K., Katsu, T., Tsuchiya, T. and Mizushima, T.	Low direct cytotoxicity of nabumetone on gastric mucosal cells.	<i>Dig. Dis. Sci.</i>	50	1641-1646	2005
Tomisato, W., Tanaka, K., Tsutsumi, S., Hoshino, T., Yokomizo, K., Suzuki, K., Katsu, T., and Mizushima, T.	Low direct cytotoxicity and cytoprotective effects of nitric oxide-releasing indomethacin.	<i>Dig. Dis. Sci.</i>	50	1927-1937	2005
Sone, M., Hayashi, H., Yamamoto, H., Hoshino, T., Mizushima, T., and Nakashima, T.	Upregulation of HSP by geranylgeranylacetone protects the cochlear lateral wall from endotoxin-induced inflammation.	<i>Hearing Research</i>	204	140-146	2005
Tanaka, K., Tomisato, W., Hoshino, T., Ishihara, T., Nanba, T., Aburaya, M., Katsu, T., Suzuki, K., Tsutsumi, S. and Mizushima, T.	Involvement of intracellular Ca ²⁺ levels in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis.	<i>J. Biol. Chem</i>	280	31059-31067	2005
Ushijima, H., Tanaka, K., Takeda, M., Katsu, T., Mima, S. and Mizushima, T.	Geranylgeranylacetone protects membranes against non-steroidal anti-inflammatory drugs.	<i>Mol. Pharmacol.</i>	68	1156-1161	2005
Tsutsumi, S., Namba, T., Tanaka, K., Ishihara, T., Arai, Y., Aburaya, M., Suzuki, K., Hoshino, T. and Mizushima, T.	Celecoxib up-regulate endoplasmic reticulum chaperones that inhibit celecoxib-induced apoptosis in human gastric cells.	<i>Oncogene</i>	25	1018-1029	2006
Yamada, Y., Shiota, S., Mizushima, T., Kuroda, T. and Tsuchiya, T.	Functional gene cloning and characterization of MdeA, a multidrug efflux pump from <i>Staphylococcus aureus</i> .	<i>Biol Pharm Bull</i>	29	801-804	2006
Aburaya, M., Tanaka,	Heme oxygenase-1	<i>J. Biol. Chem.</i>	281	33422-33432	2006

K., Hoshino, T. Tsutsumi, S., Suzuki, K., Makise M., Akagi, R. and Mizushima, T.	protects gastric mucosal cells against non- steroidal anti- inflammatory drugs.				
Makise, M., Takahashi, N., Matsuda, K., Yamairi, F., Suzuki, K., Tsuchiya, T., and Mizushima, T.	Mechanism for the degradation of origin recognition complex containing Orc5p with a defective walker A motif and its suppression by over- production of Orc4p in yeast cells.	<i>Biochem. J.</i>	402	397-403	2007
Hoshino, T., Nakaya, T., Araki, W., Suzuki, K., Suzuki, T. and Mizushima, T.	Endoplasmic reticulum chaperones inhibit the production of amyloid- b peptides.	<i>Biochem. J.</i>	402	581-589	2007
Namba, T., Hoshino, T. Tanaka, K., Tsutsumi, S., Ishihara, T., Mima S., Suzuki, K., Ogawa, S. and Mizushima, T.	Up-regulation of 150- kDa oxygen-regulated protein (ORP150) by celecoxib in human gastric carcinoma cells.	<i>Mol. Pharmacol.</i>	71	860-870	2007
Tanaka, K., Tsutsumi, S., Arai, Y., Hoshino, T. Suzuki, K., Takai, E., Itoh, T., Takeuchi, K., Nakai, A. and Mizushima, T.	Genetic evidence for a protective role of heat shock factor 1 against irritant-induced gastric lesions.	<i>Mol. Pharmacol.</i>	71	985-993	2007
Mizushima, T.	Various stress proteins protect gastric mucosal cells against non- steroidal anti- inflammatory drugs.	<i>Inflammopharmacolo gy.</i>	15	67-73	2007
Namba, T., Ishihara, T., Tanaka, K., Hoshino, T. and Mizushima, T.	Transcriptional activation of ATF6 by endoplasmic reticulum stressors.	<i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i>	355	543-548	2007
Mima, S., Ushijima, H., Hwang, H-J., Tsutsumi, S., Makise, M., Yamaguchi, Y., Tsuchiya, T., Mizushima, H. and Mizushima, T.	Identification of the <i>TPO1</i> gene in yeast, and its human orthologue TETRAN, which cause resistance to NSAIDs.	<i>FEBS Lett.</i>	581	1457-1463	2007
Ishihara, T., Hoshino, T. Namba, T., Tanaka, K. and Mizushima, T.	Involvement of up- regulation of PUMA in non-steroidal anti- inflammatory drug- induced apoptosis.	<i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i>	356	711-717	2007
Katsu, T., Imamura, T., Komagoe, K., Masuda, K. and Mizushima, T.	Simultaneous measurements of K+ and calcein release from liposomes and the determination of pore size formed in the	<i>Anal. Sci.</i>	23	517-522	2007

	membrane.				
Tanaka, K. Namba, T., Arai, Y., Fujimoto M., Adachi, H., Sobue, G., Takeuchi, K., Nakai, A. and <u>Mizushima, T.</u>	Genetic evidence for a protective role for heat shock factor 1 and heat shock protein 70 against colitis.	<i>J. Biol. Chem.</i>	282	23240-23252	2007
Hoshino, T., Nakaya, T., Homan, T., Tanaka, K., Sugimoto, Y., Araki, W., Narita, M., Narumiya, S., Suzuki, T. and <u>Mizushima, T.</u>	Involvement of prostaglandin E2 in production of amyloid- β peptides both in vitro and in vivo.	<i>J. Biol. Chem.</i>	282	32676-32688	2007