

## 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

トランスクリプトーム解析を利用した医薬品の副作用発症機構の解明と、それに基づいた副作用予測システム、副作用治療法、及び副作用の少ない新薬の開発戦略の確立

研究代表者 水島 徹 慶應義塾大学薬学部教授

### 研究要旨

平成25年度我々は、小柴胡湯（間質性肺炎を起こす漢方薬）解析を行った。その結果、小柴胡湯が活性酸素の産生酵素である NADPH オキシダーゼを活性化すること、及び抗酸化タンパク質である SOD の発現を抑制することを見出した。また、これらの抑制がこれら医薬品による間質性肺炎の原因であることを示唆した。

一方我々は、保有する既存薬ライブラリーから SOD の発現を抑制するものを検索し、それらがマウスで肺線維化を起こすのかを検討した。その結果、複数の既存薬が SOD の発現を抑制すると同時に肺の線維化を起こすことを見出し、その内一部に関しては、薬剤性間質性肺炎を起こしたという臨床報告があった。以上の結果は、新薬候補品が SOD の発現を抑制するのかを調べることにより、その間質性肺炎副作用を予測することが可能であることを提唱した。

さらに横紋筋融解症が問題になっている抗脂血症薬、薬剤性過敏症（薬疹）が問題になっている抗てんかん薬、スティーブンス・ジョンソン症候群が問題になっている抗生物質に関して、当該副作用発症機構を解明するために、それぞれの薬を細胞に作用させ、そこでおこる遺伝子発現変化を現在解析している。

## A. 研究目的

既存薬による副作用発症機構が理解されていないため、基礎研究段階で新薬候補品の副作用を予測出来ずに(臨床試験で初めて副作用が発見され)臨床試験が失敗している。そこで本研究で我々は、トランスクリプトーム解析を基に医薬品の副作用発症機構を解明し、新薬候補品の副作用を予測するシステムを確立する。また、副作用の少ない新薬の開発や副作用治療法の確立も目指す。以下に、我々のこれまでの研究成果を述べる。

アスピリンを代表とする NSAID は優れた抗炎症薬として世界中でよく使用されているが、その胃潰瘍副作用 (NSAID 潰瘍) が臨床現場で大きな問題になっている (米国では年間 16500 人が亡くなっている)。我々は NSAID が誘導する遺伝子を網羅的に解析し (トランスクリプトーム解析) NSAID が膜傷害性を持つこと、及びこれが NSAID 潰瘍の原因であることを見出した。この成果を受けて製薬企業は、膜傷害性を指標に新薬候補品の胃潰瘍副作用を予測するスクリーニングを開始している。また我々は、膜傷害性の少ない NSAID の合成に世界で初めて成功し、それらが十分な抗炎症作用を示すにも関わらず、ほとんど胃潰瘍を起こさないことを見いだした (現在、製薬企業で開発中)。

また我々は、間質性肺炎副作用が問題になっているレフルノミドに関しても、トランスクリプトーム解析を行った。その結果、レフルノミドが上皮間葉転換 (EMT) を起こすこと、及びこれが間質性肺炎副作用の原因であることを明らかにした。一部の製薬企業では EMT 誘導を指標に新薬候補品の間質性肺炎副作用を予測するスクリーニングを開始している。また我々は、この EMT 誘導を抑制する薬剤の肺内投与が、レフルノミド依存のマウス間質性肺炎を抑制することを見出した (副作用治療法の確立に繋がる成果)。

以上の成果を受けて本研究で我々は、他の薬剤による間質性肺炎副作用 (平成 23-24 年度実施) 及び薬疹など他の副作用 (平成 24-25 年度実施) に関して、トランスクリプトーム解析を用いて副作用発症機構を解明し、新薬候補品の副作用を予測するシステムを確立すると共に、副作用の少ない新薬の開

発、及び副作用治療法の確立も目指す。

## B. 研究方法

### (1) ゲフィチニブの間質性肺炎副作用に関する研究

ゲフィチニブ (イレッサ) の間質性肺炎 (肺繊維症) 副作用による死亡者は多く、社会問題になっている。一方、ある種の肺癌治療にはこの医薬品が必要不可欠であり、その治療法の確立、及び副作用の少ないゲフィチニブ誘導体 (改良薬) の開発が急務になっている。

最近我々は、ゲフィチニブによる遺伝子発現変化の網羅的解析から、ゲフィチニブが熱ショックタンパク質 (HSP) 70 (強力な細胞保護作用と抗炎症作用を持つ) の発現を強く抑制することを発見した。また我々はマウスを用いて、ゲフィチニブ依存に肺繊維化を起こす系 (薬剤性間質性肺炎の動物モデル) を確立し、このモデルにおいてゲフィチニブ依存に HSP70 の発現が抑制されること、及び HSP70 過剰発現マウス (ゲフィチニブによる HSP70 発現抑制が起こらないマウス) では、ゲフィチニブ依存の肺繊維化も見られないことを見出した。以上の結果は、ゲフィチニブは HSP70 の発現を抑制することにより、間質性肺炎 (肺繊維症) を起こすことを示唆している。そこで以下に述べる研究を行う。

HSP70 に着目した新薬候補品の間質性肺炎副作用予測システムの確立 (平成 23 年度実施)

我々が保有する既存薬ライブラリーから HSP70 の発現を抑制するものを検索し、それらがマウスで肺線維化を起こすかを検討した。肺線維化を起こした既存薬 (10 数種) に関して、症例報告や副作用データベースを用いて、間質性肺炎副作用の有無を調べた。その結果、複数の既存薬に関して間質性肺炎副作用報告があり、HSP70 発現抑制作用を調べることが間質性肺炎副作用の予測システムとして有用であることを示唆した。今後、製薬企業にこのシステムの導入を促す (目標: 少なくとも 3 社)。

HSP70 誘導薬による、ゲフィチニブ依存性間質性肺炎治療法の確立 (平成 23 年度実施)

上述の結果は、HSP70 誘導薬がゲフィチニブ依存の間質性肺炎治療に有効であることを示唆している。我々は日本で最もよく使われている胃薬・ゲラニルゲラニルアセトン（GGA、商品名セルベックス）が HSP70 を誘導することを報告している（*JBC*, 2007, 2009, 2010 など）。そこで我々が確立した動物モデルを用いて、ゲフィチニブ依存性間質性肺炎治療薬としての GGA の有効性を検討したところ、GGA 投与によりゲフィチニブ依存の肺繊維化、及び HSP70 の発現抑制が見られなくなることを見出した。今後臨床研究へ繋げるための準備を行う。（GGA は既に臨床で使われているので、すぐに臨床研究を行うことが出来る）（目標：25 年度中の臨床研究開始）

間質性肺炎副作用の少ないゲフィチニブ誘導体の発見（平成 24 年度実施予定）

数多くのゲフィチニブ誘導体を合成しその中から、試験管内で HSP70 発現抑制効果がなく、かつゲフィチニブと同程度の癌細胞増殖抑制効果を有するものを選択する。次に動物実験を行い、ゲフィチニブと同程度の抗癌作用を持ち、かつ肺繊維化を起こさないものを選択する。特許を取得したのち、間質性肺炎副作用の少ないゲフィチニブ改良薬としての開発を製薬企業へ提案する。（目標：25 年度中の特許出願）

### （2）他の薬剤性間質性肺炎に関する研究（平成 24 年度実施予定）

レフルノミドやゲフィチニブ以外にも、抗癌剤（イマチニブなど）、抗リウマチ薬（メトトレキサートなど）、漢方薬（小紫胡湯など）が間質性肺炎を起こすことが知られているが、その発症機構は分かっていない。そこで、これらの薬剤による遺伝子発現変化の網羅的解析（トキシコゲノミクス・データベース等を利用する）からその副作用発症機構を解明する。

また上述のゲフィチニブの場合と同様の方法で、新薬候補品の副作用を予測するシステムの確立、副作用治療法の確立、副作用の少ない誘導体の発見を目指す。（目標：少なくとも 2 薬剤の副作用機構の解明）

### （3）他の副作用に関する研究（平成 25 年度実施予定）

抗脂血症薬による横紋筋融解症、抗てんかん薬による薬剤性過敏症（薬疹）、抗生物質によるスティーブンス・ジョンソン症候群、糖尿病薬による肝障害などに関しても、副作用発症機構を解明し、新薬候補品の副作用を予測するシステムを確立すると共に、副作用治療法の開発、及び副作用の少ない誘導体の発見を目指す。（目標：少なくとも 2 薬剤の副作用機構の解明）

## C. 研究結果

平成 25 年度我々は、小柴胡湯（間質性肺炎を起こす漢方薬）解析を行った。その結果、小柴胡湯が活性酸素の産生酵素である NADPH オキシダーゼを活性化すること、及び抗酸化タンパク質である SOD の発現を抑制することを見出した。また、これらの抑制がこれら医薬品による間質性肺炎の原因であることを示唆した。

一方我々は、保有する既存薬ライブラリーから SOD の発現を抑制するものを検索し、それらがマウスで肺線維化を起こすのかを検討した。その結果、複数の既存薬が SOD の発現を抑制すると同時に肺の線維化を起こすことを見出し、その内一部に関しては、薬剤性間質性肺炎を起こしたという臨床報告があった。以上の結果は、新薬候補品が SOD の発現を抑制するのかを調べることにより、その間質性肺炎副作用を予測することが可能であることを提唱した。

さらに横紋筋融解症が問題になっている抗脂血症薬、薬剤性過敏症（薬疹）が問題になっている抗てんかん薬、スティーブンス・ジョンソン症候群が問題になっている抗生物質に関して、当該副作用発症機構を解明するために、それぞれの薬を細胞に作用させ、そこで起こる遺伝子発現変化を現在解析している。

## D. 考察

結果の欄に記載した。

## E. 結論

結果の欄に記載した。

F.健康危険情報  
該当なし

G.研究発表

1. 論文発表

1. Nakashita, M., Suzuki, H., Miura, S., Taki, T., Uehara, K., Mizushima, T., Nagata, H. and Hibi, T. Attenuation of acetic acid-induced gastric ulcer formation in rats by glucosylceramide synthase inhibitors. *Dig. Dis. Sci.* 58, 354-362. (2013)
2. Matsuda, M., Hoshino, T., Yamakawa, N., Tahara, K., Adachi, H., Sobue, G., Maji, D., Ihn, H. and Mizushima, T. Suppression of UV-induced wrinkle formation by induction of HSP70 expression in mice. *J. Invest. Dermatol.* 133, 19-28. (2013)
3. Yamakawa, N., Suemasu, S., Watanabe, H., Tahara, K., Tanaka, K., Okamoto, Y., Ohtsuka, M., Maruyama, T. and Mizushima, T. Comparison of pharmacokinetics between loxoprofen and its derivative with lower ulcerogenic activity, fluoro-loxoprofen. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 28, 118-124. (2013).
4. Tanaka, R., Watanabe, H., Kodama, A., Chuang, VTG, Ishima, Y., Hamasaki, K., Tanaka, K., Mizushima, T., Otagiri, M. and Maruyama, T. Long-acting human serum albumin-thioredoxin fusion protein suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis progression. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 345, 271-283. (2013).
5. Ishihara, T., Yamashita, Y., Takasaki, N., Yamamoto, S., Hayashi, E., Tahara, K., Takenaga, M., Yamakawa, N., Ishihara, T., Kasahara, T. and Mizushima, T. Prostaglandin E<sub>1</sub>-encapsulated nanoparticles improve walking activity in an experimental rat model of intermittent claudication. *J. Pharm. Pharmacol.* 65, 1187-1194. (2013).
6. Yamashita, Y., Hanaya, K., Sugai, T., Mizushima, T. and Shoji, M. Chemo-enzymatic enantioconvergent approach toward ethyl shikimate from ethyl 5-hydroxy-3,4-isopropylidenedioxy cyclohex-1-enecarboxylate. *Tetrahedron* 69, 6527-6532. (2013).
7. Hoshino, T., Suzuki, K., Matsushima, T., Yamakawa, N., Suzuki, T. and Mizushima, T. Suppression of Alzheimer's disease-related phenotypes by geranylgeranylacetone in mice. *PLoS One* 8, e76306. (2013).
8. Tanaka, K., Ishihara, T., Sugizaki, T., Kobayashi D., Yamashita, Y., Tahara, K., Yamakawa, N., Iijima, K., Mogushi, K., Tanaka, H., Sato, K., Suzuki, H. and Mizushima, T. Mepenzolate bromide displays beneficial effects in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Communications* 4, 2686. (2013).
9. Yamakawa, N., Suzuki, K., Yamashita, Y., Katsu, T., Hanaya, K., Shoji, M., Sugai, T. and Mizushima, T. Structure-activity relationship of celecoxib and rofecoxib for the membrane permeabilizing activity. *Bioorg. & Medic. Chem.* 22, 2529-2534. (2014).
10. Tanaka, K., Kurotsu, S., Asano, T., Yamakawa, N., Kobayashi D., Yamashita, Y., Yamazaki, H., Ishihara, T., Watanabe, H., Maruyama, T., Suzuki, H. and Mizushima, T. Superiority of pulmonary administration of mepenzolate bromide over other routes as treatment for chronic obstructive pulmonary disease. *Sci. Rep.* 28, 4510. (2014).
11. Sawazaki, R., Ishihara, T., Usui, S., Hayashi, E., Tahara, K., Hoshino, T., Higuchi, A., Nakamura, S., Tsubota, K. and Mizushima, T. Diclofenac protects cultured human corneal epithelial cells against hyperosmolarity and ameliorates corneal surface damage in a rat model of dry eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55, 2547-2556. (2014).

2. 学会発表 (招待講演のみ)
- 1 水島徹 レシチン化 SOD の開発 東京大学大学院新領域研究科での招待講演 (2013) (柏)
  - 2 水島徹 ドラッグリポジショニングとは何か、新薬開発にどのような道が開けるのか レギュラトリーサイエンス エキスパート研修会での招待講演 (2013) (東京)
  - 3 水島徹 ドラッグリポジショニング-既存薬を利用した新薬開発- 第 55 回鹿児島消化器病研究会での特別講演 (2013) (鹿児島)
  - 4 水島徹 PC-SOD 吸入製剤の開発 日本薬学会シンポジウムでの招待講演 (2013) (横浜)
  - 5 水島徹 ストレスから体を守るタンパク質・HSP の働きと、その医薬品・化粧品への応用 榊原記念病院定例講演会での特別講演 (2013) (東京)
  - 6 水島徹 熱ショックタンパク質 (HSP) の機能とその応用 第 29 回動物植物工学シンポジウムでの招待講演 (2013) (東京)
  - 7 水島徹 ヒートショックプロテイン (HSP) と分子シャペロン 第 56 回センサーネットワーク研究会特別講演 (2013) (東京)
  - 8 水島徹 ドラッグリポジショニング (DR) の現状と今後の展望 日本バイオインダストリー協会での招待講演 (2013) (東京)
  - 9 水島徹 ドラッグリポジショニング (DR) の考えに基づく新規アルツハイマー治療薬の開発 学術会議シンポジウム「リバーストランスレシヨナルリサーチ」での招待講演 (2013) (東京)
  - 10 水島徹 ドラッグリポジショニングに関するイントロダクション 日本バイオインダストリー協会での招待講演 (2013) (東京)
  - 11 水島徹 ドラッグリポジショニング-既存薬の新しい作用機構の発見と適応拡大- 感染病態研究フロンティアでの特別講演 (2013) (東京)
  - 12 水島徹 臨床試験に直結する DDS 研究を目指して 第 29 回日本 DDS 学会での受賞講演 (2013) (京都)
  - 13 水島徹 人の命を救う新薬を薬学部から世界へ DR と DDS による 21 世紀型新薬開発戦略の提案 崇城大学薬学部での招待講演 (2013) (熊本)
  - 14 水島徹 慶應ネットワークによるドラッグリポジショニング創薬研究シンポジウム-医工薬連携による慶應初創薬を目指して-での招待講演 (2013) (東京)
  - 15 水島徹 慶應ネットワークによるドラッグリポジショニング創薬研究シンポジウム-医工薬連携による慶應初創薬を目指して-での招待講演 (2013) (東京)
  - 16 Tohru Mizushima Scientist as a pharmacist, Pharmacist as a Scientist. Invited lecture in 12<sup>th</sup> Asia Pacific Pharmaceutical Symposium in JAPAN. (2013) (Tokyo)
  - 17 水島徹 HSP によるシミ・シワ予防 GGA・HSP 勉強会での招待講演 (2013) (東京)
  - 18 水島徹 美容・健康で活用できる HSP の知識 ダイエット&ビューティーフェア 2013 での招待講演 (2013) (東京)
  - 19 水島徹 HSP の様々な機能とドラッグリポジショニング 日本生化学会シンポジウムでの招待講演 (2013) (横浜)
  - 20 水島徹 胃潰瘍を起こさない NSAID の開発 日本線維筋痛症学会シンポジウムでの招待講演 (2013) (横浜)
  - 21 水島徹 ドラッグリポジショニングの現状と展望 生命医薬情報学連合大会シンポジウムでの招待講演 (2013) (東京)
  - 22 水島徹 非ステロイド抗炎症薬の抗アルツハイマー病効果の分子機構と創薬 日本認知症学会シンポジウムでの招待講演 (2013) (松本)
  - 23 水島徹 ドラッグリポジショニング-既存薬の新しい作用機構の発見と適応拡大- 日本ストレス学会での特別講演 (2013) (徳島)
  - 24 水島徹 ドラッグリポジショニング-既存薬の新しい作用機構の発見と適応拡大- 持田製薬研

- 25 研究所での特別講演 (2013)(御殿場)  
Tohru Mizushima Drug repositioning Case Study for COPD. Invited lecture in BIT's 1<sup>st</sup> Annual International Symposium of Drug Repositioning-2013 (2013) (Haikou)
- 26 水島徹 ドラッグリポジショニング-既存薬の新しい作用機構の発見と適応拡大- 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団、医薬品品質分野 次世代リーダー育成研修講座での招待講演 (2013)(東京)
- 27 水島徹 ドラッグリポジショニングの現状と課題 日本分子生物学学会シンポジウムの招待講演 (2013)(神戸)
- 28 水島徹 潰瘍学を考える 日本潰瘍学会シンポジウムの招待講演 (2013)(大阪)
- 29 水島徹 人の命を救う薬を作ろう 熊本学園大学付属高校での特別講演 (2013)(熊本)
- 30 水島徹 リポジショニングによる医薬品開発 公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団での招待講演 (2013)(東京)
- 31 水島徹 安く早く確実に安全な医薬品を開発する戦略ドラッグリポジショニング 富山大学・生命融合科学によるファーマ・メディカルエンジニアリングシンポジウムでの招待講演 (2013)(富山)
- 32 水島徹 NSAID潰瘍の発症機構とその対策 日本消化器内視鏡学会関東地方会での招待講演 (2013)(東京)
- 33 水島徹 ドラッグリポジショニング JST-ERATO 河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクトシンポジウムでの招待講演 (2014)(東京)
- 34 水島徹 ドラッグリポジショニング 第2回 TR シンポジウムでの招待講演 (2014)(東京)
- 35 水島徹 **熱ショックタンパク質の機能とその応用** 豊橋創造大学での招待講演 (2014)(豊橋)
- 36 水島徹 ドラッグリポジショニングの現状と課題 千里ライフサイエンス専門実務セミナー・新規効能治療薬の創製「ドラッグ・リポジショニングを用いて」での基調講演 (2014)(大阪)
- 37 水島徹 分子シャペロンと創薬 Diabetes Scientific Seminarでの特別講演 (2014)(東京)
- 38 水島徹 ドラッグリポジショニングの現状と課題 日本薬学会シンポジウムでの招待講演 (2014)(熊本)
- 39 Tohru Mizushima Identification of a unique NSAID, fluoro-loxoprofen with gastroprotective activity. Invited lecture in the 4th International Forum in Annual Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology. (2014)(Tokyo)
- 40 Tohru Mizushima Therapeutic effect of lecithinized superoxide dismutase (PC-SOD) on idiopathic pulmonary fibrosis in humans and bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Invited lecture in the International Advanced Drug Delivery Symposium. (2014)(Taipei)

#### H.知的財産権の出願・登録状況

##### 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

## 研究成果の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
Nakashita, M., Suzuki, H., Miura, S., Taki, T., Uehara, K., Mizushima, T., Nagata, H. and Hibi, T.	Attenuation of acetic acid-induced gastric ulcer formation in rats by glucosylceramide synthase inhibitors.	<i>Digestive Diseases and Sciences</i>	58	354-362.	2013
Matsuda, M., Hoshino, T., Yamakawa, N., Tahara, K., Adachi, H., Sobue, G., Maji, D., Ihn, H. and <u>Mizushima, T.</u>	Suppression of UV-induced wrinkle formation by induction of HSP70 expression in mice	<i>J. Invest. Dermatol</i>	133	19-28	2013
Yamakawa, N., Suemasu, S., Watanabe, H., Tahara, K., Tanaka, K., Okamoto, Y., Ohtsuka, M., Maruyama, T. and <u>Mizushima, T.</u>	Comparison of pharmacokinetics between loxoprofen and its derivative with lower ulcerogenic activity, fluoro-loxoprofen.	<i>Drug Metab. Pharmacokin et.</i>	28	118-124	2013
Tanaka, R., Watanabe, H., Kodama, A., Chuang, VTG, Ishima, Y., Hamasaki, K., Tanaka, K., <u>Mizushima, T.</u> , Otagiri, M. and Maruyama, T.	Long-acting human serum albumin-thioredoxin fusion protein suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis progression.	<i>Biochem. Pharmacol.</i>	345	271-283.	2013
Ishihara, T., Yamashita, Y., Takasaki, N., Yamamoto, S., Hayashi, E., Tahara, K., Takenaga, M., Yamakawa, N., Ishihara, T., Kasahara, T. and <u>Mizushima, T.</u>	Prostaglandin E <sub>1</sub> -encapsulated nanoparticles improve walking activity in an experimental rat model of intermittent claudication.	<i>Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.</i>	65	1187-1194	2013
Yamashita, Y., Hanaya, K., Sugai, T., <u>Mizushima, T.</u> and Shoji, M.	Chemo-enzymatic enantioconvergent approach toward ethyl shikimate from ethyl 5-hydroxy-3,4-isopropylidenedioxycyclohex-1-enecarboxylate.	<i>Tetrahedron</i>	69	6527-6532	2013
Hoshino, T., Suzuki, K., Matsushima, T., Yamakawa, N., Suzuki, T. and <u>Mizushima, T.</u>	Suppression of Alzheimer's disease-related phenotypes by geranylgeranylacetone in mice.	<i>PLoS One</i>	8	e76306	2013
Tanaka, K., Ishihara, T., Sugizaki, T., Kobayashi D., Yamashita, Y., Tahara, K., Yamakawa, N., Iijima, K., Mogushi, K., Tanaka, H., Sato, K., Suzuki, H. and <u>Mizushima, T.</u>	Mepenzolate bromide displays beneficial effects in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease.	<i>Nature Communications</i>	4	2686	2013

Yamakawa, N., Suzuki, K., Yamashita, Y., Katsu, T., Hanaya, K., Shoji, M., Sugai, T. and <u>Mizushima, T.</u>	Structure-activity relationship of celecoxib and rofecoxib for the membrane permeabilizing activity.	<b><i>Bioorg. &amp; Medic. Chem.</i></b>	22	2529-2534	2014
Tanaka, K., Kurotsu, S., Asano, T., Yamakawa, N., Kobayashi D., Yamashita, Y., Yamazaki, H., Ishihara, T., Watanabe, H., Maruyama, T., Suzuki, H. and <u>Mizushima, T.</u>	Superiority of pulmonary administration of mepenzolate bromide over other routes as treatment for chronic obstructive pulmonary disease.	<b><i>Scientific Reports</i></b>	28	4510	2014
Sawazaki, R., Ishihara, T., Usui, S., Hayashi, E., Tahara, K., Hoshino, T., Higuchi, A., Nakamura, S., Tsubota, K. and <u>Mizushima, T.</u>	Diclofenac protects cultured human corneal epithelial cells against hyperosmolarity and ameliorates corneal surface damage in a rat model of dry eye.	<b><i>Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.</i></b>	55	2547-2556	2014