

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

特異体質性薬物性肝障害における免疫学的因子の

作用機序解明と予測試験系の開発研究

平成 23 年度～25 年度 総合研究報告書

主任研究者 横 井 毅

平成 26 (2014) 年 5 月

目 次

I. 平成 23～25 年度 総括研究報告書

特異体質性薬物誘導性肝障害における免疫学的因子の作用機序解明と予測試験系の開発研究

横井 毅 ----- 1 - XXVIII

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- XXVIII - XXXVI

III. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 1 - 405

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

特異体質性薬物誘導性肝障害における免疫学的因子の
作用機序解明と予測試験系の開発研究

主任研究者 横井 毅 名古屋大学大学院医学系研究科

医薬品の開発において、安全な薬の開発と使用を妨げる最大の課題は、ヒト特異的に発現する予測困難な毒性・副作用にある。医薬品による重篤な副作用の中で薬物性肝障害の報告数は多く、薬効が秀でた薬や開発候補化合物が、開発途中で断念することや、臨床試験の中止や上市後の販売停止は、製薬会社のみならず患者や社会にとっても大きな損失である。特に最近FDAが、解決すべき最重要課題としている「ヒト特異的薬物性肝障害の発現の早期解決」が切望されている。また、2013年12月に武田薬品工業株式会社が、第III相臨床試験の後期で、肝障害発症により開発を中止した糖尿病治療薬 fasiglifam (TAK-875)も記憶に新しい。近年、反応性代謝物の生成量を *in vitro* で精査する手法が急速に一般化したものの、薬物誘導性の肝障害の予測性は向上していないこと認識されるようになってきた。その主な原因は、denger signalと言われる肝障害発症における様々な因子の中で、免疫学的因子の関与が全く考慮・評価されていないことに起因していると我々は考えている。こうした研究は殆ど行われていない。我々はこの問題を解決し、我が国の創薬に資することを目的として研究を進めている。本研究成果により、臨床試験段階または市販後に肝障害で薬が潰れることを防ぐことが高い確立で期待でき、我が国の医薬品開発に資すること大であると考えられるとともに、患者の利益を向上させるなど、極めて社会性が高い研究であると考えられる。

過去3年間の研究をとおして、下図に示すように、急性肝障害モデルを7種類、連投による肝障害モデルを3種類確立し、論文として報告することができた。これまでに、薬物誘導性肝障害モデルとしては、アセトアミノフェンのみが研究対象であったが、我々の研究によって、以下の10種類の薬も新たな研究対象として将来多くの研究者に使用されるモデルであると確信する。我々が、こうしたモデルと正常のマウスを用いて作成できた理由は、薬の体内動態を考えた投与方法を行ったからである。グルタチオンを低下させるBSOの併用投与を採用した場合や、フェニトインのように、最初に血中濃度を急速に上げる必要があり、i.p.とp.o.の両方を使い分ける方法を考案した。また、カルバマゼピンのように、酵素誘導を想定して、後半

薬物性肝障害モデル動物と発症関連因子

	Drug	Important factor	Reference
単回投与	ANIT	Th17	<i>Toxicology</i> , 275: 50-57 (2010)
	Diclofenac	IL-1 β /Th17	<i>Toxicology</i> , 293: 107-114 (2012)
	Dicloxacillin	Th2	<i>Toxicol. Lett.</i> , 200: 139-145 (2011)
	Flucloxacillin	Th17/TLR4	<i>J. Appl. Toxicol.</i> , in press
	Flutamide	Th2	<i>J. Appl. Toxicol.</i> , 32: 815-822 (2012)
	Halothane	Th17	<i>Toxicol. Sci.</i> , 111: 302-310 (2009)
	Methimazole	Th2	<i>J. Appl. Toxicol.</i> , 32: 823-833 (2012)
連続投与	Carbamazepine	Th17	<i>Toxicol. Sci.</i> , 130: 4-16 (2012)
	Phenytoin	DAMPs/Th17	<i>Toxicol. Sci.</i> , 136: 250-263 (2013)
	Azathiopurine	ROS/XO	<i>Toxicol. Lett.</i> , 224: 215-224 (2014)

ANIT: α -naphthylisothiocyanate, TLR: toll-like receptor

に投与量を増量するなどの様々な工夫をした。こうした動物モデルにおいて、それぞれの薬によって関連する免疫/炎症関連因子が異なることが明らかになった。すなわち、アザチオプリンのような免疫/炎症因子が関わらない場合には、ROS やミトコンドリア毒性の関与が明確となった。その他の薬においては、Th2 または Th17 が dominant に関与する場合には、Balb/c 系統のメスが最適な動物である。また、これまで検討した薬で、Th1 が主に関わる場合は無かった。Th1 または自然免疫系が関わる場合には、C57BL/6 系統が適することが示唆されているが、Th1 の関与による細胞障害性は、従来の創薬の早い段階のスクリーニングでオミットされているのではないかと考えている。しかし、フェニトインの場合の様に、DAMPs が主に関わり、Th17 の関与が低く、C57BL/6 系統が適するという結果となった。いずれにしても、マウスの系統の使い分けについて、Balb/c と C57BL/6 の使用方法について有益な情報を提供した。個々の内容の概略は、以下に要約するが、薬物性肝障害の発症機序を体系的に整理できれば、in vivo でマウスを使用した創薬初期のスクリーニングへの適用が可能になると思われる。

さらに、様々な薬の肝障害モデルを用いて、in vitro で使用できるバイオマーカーの選択についても、報告を行った。すなわち、薬効類似薬と比較検討することによって、肝障害に関わるバイオマーカーを特異的に pick up を行い、これを in vitro に応用する検討を行った。この研究内容は、今後さらに深化させ、汎用性と予測性が高い系とする必要が有る。

以上、これまでの研究で、特異体質性といわれる薬による肝障害であっても、そのモデルを作成でき、機序が明らかにされれば、特異体質性という曖昧に表現を使用する必要がなくなると思われる。そうした、時代が少し見えてきたと考えている。

研究期間中に著書（分担）3 件、和文総説 6 件、海外英文総説 5 件、国内和文

原著論文 0 件、海外英語原著論文 5 2 件、招聘講演（国外、国際）1 3 件、招聘講演（国内）4 5 件、一般学会発表（国外、国際）1 2 件、一般学会発表（国内）5 4 件を行った。

分担研究者：金沢大学医薬保健研究域薬学系・准教授 中島美紀

分担研究者：金沢大学医薬保健研究域薬学系・助教 深見達基

以下に特筆すべき研究成果について、個々に概略を紹介する。

1. 薬物性肝障害の *in vivo* マウスモデルの確立と機序解析と cell-based のスクリーニング試験系の開発研究（研究成果に関する一覧表 英文原著論文#1）

薬物性肝障害の発症機序を包括的に捉えるためには、肝障害性を有する種々の薬物を用いて多くのモデルにおいて比較検討することが肝要である。また、薬物性肝障害の発症メカニズムを把握して、そのメカニズムに基づいた毒性試験系を構築することができれば、高感度に毒性予測を行うことが可能であると考えられる。本研究では、薬物性肝障害の発症機序について新たな知見を与え、毒性を予測できる試験系を開発することを目的とした。第一に、ジクロフェナク誘導性肝障害のモデルマウスを作製し、発症メカニズム解析を行った。その結果、

ジクロフェナク誘導性肝障害において様々な炎症性因子が肝臓において発現変動することを示した。その中でも肝障害の非常に早い段階において発現上昇が認められた IL-1b が肝障害の発症に寄与することを示した。これらの結果から、これまで当研究室で着目してきた Th 細胞関連因子に加えて、肝障害の発症初期に着目することが重要であると考えられた。第二に、これまでに薬物性肝障害において関与することが報告されてきた因子が、一般的なメカニズムとして提唱できるかについて検討するために、複数の薬物性肝障害をマウスに惹起させ、肝臓中の mRNA 発現変動解析により肝障害発症に重要なメディエーターの探索を行った。薬物性肝障害における炎症性因子の発現変動パターンは薬物によって多様であることが明らかとなった。S100A8、S100A9、RAGE および NALP3 は複数の薬物性肝障害に共通して発現量の増加が認められ、これらの因子が免疫を介した肝障害を予測する毒性マーカーとして有用である可能性が示唆された。また、薬物投与によって TLR4 および RAGE のリガンドが

誘導されることが、薬物性肝障害の発症の一因である可能性を示した。

2. フルクロキサシリン誘導性肝障害モデルマウスの作製および発症メカニズムの検討(研究成果に関する一覧表 英文原著論文#2)

薬物性肝障害の原因薬物は多岐にわたるが、特に抗菌薬は薬物性肝障害の注意喚起が多いことで知られている。抗菌薬の中でもイソキサゾリル系の合成ペニシリンであるフルクロキサシリンはペニシリナーゼ耐性をもつ優れた抗生物質であり、*Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) が関与する感染症に適用される。しかし、フルクロキサシリンを服用した患者においてまれに重篤な肝障害を発症することがあり、重篤化した患者の中には死亡例や肝移植例も報告されている。発症頻度は10万人に8.5人であり、比較的高い割合である。フルクロキサシリンにより肝障害を発症した患者の中には発熱、好酸球増多、免疫細胞の浸潤といったアレルギー様の症状を伴うことより、免疫反応の関与が示唆されている。現在までの報告では、フルクロキサシリン誘導性肝障害を実験動物で再現した例はなく、また免疫学的因子に着目してメカニズムを研究した報告もない。そこで、本研究はフルクロキサシリン誘導性肝障害をマウスで再現し、その発症メ

カニズムを解明することを目的とした。その結果、本研究においてフルクロキサシリン誘導性肝障害モデルマウスにおいて免疫学的因子が発症および増悪に関与していることを明らかにした。その中でも high mobility group box 1 (HMGB1) と Toll like receptor (TLR)4 が関係するシグナル伝達が発症に関与している可能性、さらにインターイキン (IL-17) が増悪因子である可能性を示すことができた。よって、得られた結果はフルクロキサシリン誘導性肝障害および他の薬物性肝障害の発症メカニズム解明に有用な情報を提供しうると考えられる。

3. 免疫学的機序による薬物誘導性肝障害の発症における miRNA の関与(研究成果に関する一覧表 英文原著論文)#3)

Halothane (HAL) 誘導性肝障害モデルマウスは好中球および Interleukin (IL)-17 などの炎症性サイトカイン等の様々な免疫因子が関与することが知られ、免疫学的機序による薬物誘導性肝障害の代表的なモデルである。近年 miRNA が免疫細胞の分化や増殖、サイトカイン産生などを制御していることが報告され、免疫因子との関連が示されている。本研究では、肝臓中の miRNA が肝障害の発症前に変動することで、その発症に関与してい

る可能性を明らかにすることを目的とした。HAL 誘導性肝障害モデルマウスを用いて、経時的に肝 miRNA の発現を網羅的に解析したところ、HAL 投与後いずれの時間においても、検出された miRNA の約 25-50%が 2 倍以上の発現変動しており、肝障害の発症よりもかなり早期の段階から多くの肝 miRNA が発現変動することを明らかにした。これらの変動した miRNA の生体内での機能を明らかとするため、各 miRNA の標的遺伝子が関与する経路を KEGG pathway 解析によりアノテーションすることで調べた。HAL 投与後いずれの時間においても免疫および炎症に関わる経路に加え、多くの経路が変動している可能性が示された。特に、HAL 投与 3 時間後以降と比較して、1 時間後に発現が低下する miRNA の推定標的経路において、免疫および炎症関連の経路が多く予測されたため、mRNA の誘導よりも早期に miRNA がそれらの発現調節を担っている可能性が示された。また、ISO 投与群で認められた経路と比較して、HAL 投与 1 時間後において発現低下する miRNA の推定標的経路において、免疫および炎症に関する経路が多く認められた。よって、HAL 投与 1 時間後において顕著に発現低下する miRNA の中で、報告されている標的遺伝子が免疫、炎症および肝障害に関連する遺伝子である miRNA に注目した。その結果、miR-21、miR-29b、miR-106b、miR-125b-5p およ

び miR-200c の 5 種類の miRNA が該当した。それぞれの miRNA の発現量およびその標的遺伝子の発現量を測定した。その中で、HAL 投与による miR-106b の発現低下およびその標的遺伝子である STAT3 タンパク質発現量の有意な増加が認められた。従って、HAL 誘導性肝障害におけるメカニズムにおいて最も特徴的な免疫因子である IL-17 の産生を担う転写因子である STAT3 の関与を、肝障害発症よりも早期に発現変動した miRNA だけを解析することから見出した。さらに、これまでに HAL 誘導性肝障害モデルマウスにおいて報告されている IL-17 産生を、STAT3 が担っているかを、P-STAT3 を測定することで検証した。その結果、HAL 投与 6 時間後において STAT3 の有意な活性化が認められた。以上、HAL 誘導性肝障害における肝障害発症機序の一つとして、HAL 投与による miR-106b の発現低下に続く、STAT3 mRNA およびタンパク質発現量の増加が亢進され、STAT3 の活性化によって IL-17 の産生を担う Th17 細胞への分化が促進されている可能性が示された。本研究は、薬物誘導性肝障害において、肝 miRNA の早期の発現変動を指標にした機構解析が可能であることを示した。なお、本研究内容は、分担研究者 中島美紀の報告書に詳しく記載している (p.83 から)。

4. アザチオプリン誘導性肝障害にお

ける酸化ストレスと免疫および炎症関連因子の関与（研究成果に関する一覧表 英文原著論文#5）

アザチオプリン (Azathioprine, AZA) は免疫抑制剤の一つであり、治療患者の約 2%に肝障害が認められている。これまでの報告から、AZA 誘導性肝障害には酸化ストレスが関与することが示唆されている。しかし、酸化ストレスの要因は明らかにされておらず、発症メカニズムには不明な点が多く残されている。また、AZA 投与患者において発熱や発疹といった症状が稀に認められていることから、免疫および炎症反応の寄与が疑われるが、免疫系および炎症関連因子の関与を検討した報告は未だにない。本研究では AZA 誘導性肝障害モデルを作製し、発症メカニズムにおける酸化ストレス、免疫および炎症関連因子の関与について検討を行った。

マウスへのAZA反復経口投与を行ったところ、6日間AZA 200 mg/kg投与において、肝障害マーカーである血漿中ALT値は最高値を示した。この結果から、以降の検討ではAZA 200 mg/kgを反復経口投与することによりAZA誘導性肝障害モデルを作製し、詳細なメカニズムを解析することとした。また、AZA 200 mg/kgの7日間投与により、約50%のマウスの死亡が認められたことから、反復投与期間は6日間までとした。AZA誘導性肝障害における酸化ストレスの関与

を検討するため、抗酸化物質であるグルタチオンの肝臓中含量を測定したところ、AZA投与により有意な低下が認められた。また、酸化ストレスマーカーである肝臓中プロテインカルボニル含量およびSOD活性は、AZA投与によりそれぞれ経日的な上昇および減少が認められた。さらに、抗酸化剤tempolを併用投与したところ、血漿中ALT値の有意な低下が認められ、肝臓中SOD活性の低下が抑制された。これらの結果から、AZA誘導性肝障害に酸化ストレスが関与していることが示された。キサンチンオキシダーゼによる活性酸素 (reactive oxygen species, ROS) 産生がAZA誘導性肝障害に関与するか検討する目的で、キサンチンオキシダーゼ阻害剤allopurinolを併用投与した。その結果、血漿中ALT値とROSの一種であるH₂O₂の血漿中濃度に有意な低下が認められた。このことから、キサンチンオキシダーゼにより触媒される反応によって産生されるROSが、酸化ストレスの要因となりAZAの肝毒性を惹起する可能性が示された。AZA投与後の自然免疫の活性化に関与する因子の肝臓中 mRNA発現変動を解析したところ、TLR-2、TLR4、receptor for advanced glycation end products、S100A8およびS100A9において有意な発現上昇が認められた。また、TLR4のリガンドであるhigh-mobility group box 1の血漿中タンパク質濃度は、AZA投与により経日

的な上昇が認められた。さらに、TLR4アンタゴニストeritoranを併用投与したところ、血漿中ALT値の有意な低下が認められた。これらの結果から、AZA誘導性肝障害にTLR4シグナル経路を介した自然免疫系の活性化が関与することが示された。AZA投与後の炎症関連因子の肝臓中mRNA発現変動を解析したところ、炎症性サイトカインであるinterleukin-1 およびtumor necrosis factor- α や、好中球の遊走に関わるケモカインであるmacrophage inflammatory protein-2の有意な発現上昇が認められた。また、AZA投与後の肝臓において、抗ミエロペルオキシダーゼ抗体陽性細胞が認められた。これらの結果から、AZA誘導性肝障害に好中球の肝臓への浸潤を伴った炎症反応が関与することが示唆された。以上、本研究ではAZA誘導性肝障害モデルマウスを作製し、ROS産生に伴う酸化ストレスおよび自然免疫系を介した炎症反応が関与することを明らかとした。本研究において作製した肝障害モデルと肝障害メカニズムの情報は、臨床における薬物誘導性肝障害発症の回避に繋がるものと期待される。なお、本研究内容は、主任研究者 横井毅の報告書に詳しく記載している (p.33から)。

5. アシルグルクロニドによる細胞毒性の評価およびメカニズム解析 (研究成果に関する一覧表 英文原著論文

#6)

近年、薬物または反応性代謝物による直接のストレスの他に、免疫細胞活性化に伴う炎症反応を介した肝障害が注目されている。アシルグルクロニド (AG) は比較的反応性が高いことから細胞毒性に対する関与が示唆されているが、その毒性を直接証明した報告はない。本研究では AG による細胞毒性について炎症性因子を指標として評価検討した。最初に、AG による炎症性因子の発現誘導についてヒト末梢血単球細胞 (PBMC) を用いて評価し、ジクロフェナクアシルグルクロニド (DCF-AG)、プロベネシドアシルグルクロニド (Pro-AG) およびトルメチンアシルグルクロニド (Tol-AG) において炎症性因子の発現が誘導されることを見出した。また、DCF-AG が炎症性因子の発現を強く誘導することから、そのメカニズム解明のために MAPK 経路を解析した結果、DCF-AG による炎症性因子の発現誘導には p38 および c-Jun N-terminal kinase (JNK) 経路が関与することが示された。次に、PBMC 中の各細胞に与える影響についてフローサイトメトリーにより検討した。PBMC 中の CD3 および CD19 陽性細胞に対する AG の影響は認められなかったが、CD14 陽性細胞においてのみ DCF-AG、Pro-AG および Tol-AG により細胞生存率の低下が認められた。また第 I 章と同様に、MAPK 経路の解析

の結果、DCF-AG 処置による CD14 陽性細胞に対する細胞傷害には p38 経路が関与することを明らかにした。本研究では、AG が炎症性因子の発現を誘導すること、PBMC 中の CD14 陽性細胞特異的に細胞傷害性を示すこと、それらに p38 経路が関与することを初めて明らかにし、AG が薬物誘導性肝傷害の原因の一因になる可能性を示した。本研究で明らかにした AG の細胞毒性およびメカニズムの情報は、臨床における薬物誘導性肝障害の予測に役立ち、医薬品開発に資することが期待される。

6. フェニトイン誘導性肝障害マウスの作出と発症メカニズムの解明 (研究成果に関する一覧表 英文原著論文#7)

抗てんかん薬フェニトイン (DPH) は、肝障害や薬物過敏性症候群を引き起こす事が報告されている。ヒトにおける DPH 誘導性肝障害では、肝組織に免疫細胞の浸潤が認められる事から免疫因子の関与が示唆されている。しかし、これまでに DPH 誘導性肝障害モデル動物の報告はなく、その発症メカニズムは不明な点が多い。本研究では、DPH 誘導性肝障害モデルマウスを作出し、免疫や炎症反応及び薬物代謝酵素による代謝的活性化の視点から、肝障害発症メカニズムを解析した。雌性 C57BL/6 マウスに DPH と L-buthionine sulfoximine (BSO) を 5 日間併用投与

する事で肝障害モデルを作製し、肝臓中の抗酸化物質、免疫及び炎症に関する因子を測定した。P450 阻害剤である 1-aminobenzotriazole (ABT) を併用投与し、代謝的活性化の影響を検討した。DPH と BSO の 5 日間の併用投与により、DPH 最終投与後 24-48 時間後に ALT 値が有意に上昇した。自然免疫因子においては、NACHT, LRR and PYD domains-containing protein (NALP) 3, interleukin (IL)-1 mRNA の有意な発現上昇が見られ、血漿中 high-mobility group box (HMGB) 1 タンパク質の上昇が認められた。獲得免疫系では Retinoic acid-related orphan receptor (ROR)- γ , IL-6, IL-23 mRNA の有意な発現上昇及び、血漿中 IL-17 タンパク質の上昇が認められた事から、T helper (Th) 17 細胞の関与が示唆された。ABT の投与により ALT 値の有意な低下が認められた。以上、DPH 誘導性肝障害モデルマウスを作出し、肝障害発症における代謝的活性化及び免疫因子の関与を明らかにした。

7. カルバマゼピン誘導性肝障害のモデルマウスの作製およびメカニズム解析 (研究成果に関する一覧表 英文原著論文#12)

鎮痙薬である carbamazepine (CBZ) は稀に肝障害を惹起することが報告されている。CBZ 連投により種々の CYP

が誘導され、毒性を有する反応性代謝物を生成すると考えられている。これまでの *in vitro* における報告などから、反応性代謝物が肝臓のタンパク質と結合し、免疫反応およびネクローシスなどの細胞傷害が起きることで肝障害が惹起されると考えられているが、実験動物でその肝障害の再現に成功した例はない。そこで CBZ 誘導性肝障害マウスモデルを確立し、そのメカニズムを免疫・代謝の両面から検討した。10 週齢の BALB/c マウスに CBZ を 4 日間 400 mg/kg を、5 日目に 800 mg/kg を投与した群において血中 ALT と AST 値の有意な上昇が認められ、肝組織染色において、著しいネクローシスが認められた。一方で、構想類似薬であるオクスカルバゼピン(OXC) 投与群では肝障害は惹起されなかった。以降、肝障害の惹起された条件におけるメカニズムの詳細な検討を行った。血中濃度の検討から、CBZ 誘導性肝障害の発症に 3-OH CBZ が関与する可能性が示された。炎症を惹起する S100A8、S100A9 およびそれらのレセプターである TLR4 と RAGE の肝臓 mRNA の上昇が認められた。炎症性サイトカインやケモカインの mRNA を網羅的に解析したところ、IL-17 が免疫系細胞の浸潤を介して、CBZ 誘導性肝障害の発症に関与することが示された。本研究では CBZ 誘導性肝障害モデルマウスを作出に成功し、肝障害

のメカニズムを代謝・免疫の両面から明らかにした。本研究で作製した肝障害モデルと肝障害メカニズムの情報は、臨床における薬物誘導性肝障害発症の回避に繋がる研究に役立つものと期待される。

8 . NASH および Steatosis モデルマウスに対するタモキシフェンの影響 (研究成果に関する一覧表 英文原著論文#13)

近年、非アルコール性脂肪肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD) の罹患率が増加している。NAFLD とは 飲酒歴を有さないものの肝への脂肪沈着を認める疾患群 (Steatosis) であり、欧米では人口の約 30%が NAFLD を有していると推測されている。NAFLD の多くは肥満、耐糖能異常、脂質異常症を始めとしたメタボリック症候群に起因しており、肥満や糖尿病とともに今後も世界的な増加が予想される疾患である。Steatosis は今まで悪性ではないと考えられていたが、肝硬変や肝癌へと進行する病型が潜んでいることが明らかになってきたが、適切な治療薬は存在しない。本検討ではこれらの肝障害モデルマウスを作製し、作製したモデルマウスに対するタモキシフェン (TAM) の影響を検討した。その結果、Steatosis モデルマウスにおいて、TAM が肝障害の程度を減弱させることを

示した。また、その作用の一因として TAM による ERK1/2 活性化が関与することが示唆された。Steatosis に対して TAM を投与して改善を示した報告は本研究が初めてである。Steatosis は肥満により肝臓における中性脂肪の過剰な蓄積が生じ、細胞が変性することで発症するといわれている。TAM 投与により steatosis モデルマウスの ALT 値および AST 値の低下が認められ、組織染色においては、細胞の肥大化および炎症の減弱が認められた。また遺伝子レベルにおいても炎症性因子の低下が認められた。本研究は、steatosis および NASH モデルマウスに対して、TAM の post 投与が肝障害改善作用を示すことを初めて明らかにした報告であり、また肝障害に対する薬物治療を考える上で役立つ有用な情報が提供できると考えられる。

9 . 免疫学的機序による薬物性肝障害における代謝的活性化の評価（研究成果に関する一覧表 英文原著論文#15）

本研究においては、ヒト単球由来細胞株である THP-1 細胞を用いて代謝的活性化を考慮した *in vitro* 試験系を構築し、反応性代謝物による免疫学的因子の活性化について評価した。その結果、肝障害を惹起する報告のある 10 種の薬物について検討した結果、アルベンダゾール、アミオダロン

(AMD) および代謝物であるデスエチルアミオダロン (DEA) 処置において、CYP3A4 による CD 発現量の有意な増加が認められた。AMD 処置 24 時間後の DEA およびその代謝物であるジデスエチルアミオダロン (DiDEA) 生成量を HPLC により定量した結果、AMD の約 40% が DEA に、約 1.3% が DiDEA に代謝されていることを明らかとした。また、AMD および DEA 処置により、TNF

および IL-8 の mRNA 発現量およびタンパク質産生量を測定した結果、CYP3A4 存在下において処置濃度依存的な増加が認められた。以上、AMD などの肝障害性薬物について、CYP3A4 による代謝的活性化を介した免疫反応の活性化が示唆されたことより、本試験系は *in vitro* において代謝的活性化による免疫反応の関与を評価し得る手段となると考えられた。

10 . ジクロフェナク (DIF) 誘導性肝障害における免疫学的因子の影響（研究成果に関する一覧表 英文原著論文#17）

本研究では、臨床で高い頻度で使用され、稀に重篤な肝障害を惹起することが知られている DIF 誘導性肝障害における免疫学的因子の関与について明らかにすることを目的として検討した。その結果、DIC 投与マウスにおいて血漿中 ALT 値および AST 値の上昇が認められ、薬物投与 24 時間に

最も高値を示した。また、肝細胞壊死および肝組織への好中球の浸潤が認められた。肝臓中における免疫学的因子の mRNA 発現変動を解析した結果、IL-1b、IL-6、macrophage inflammatory protein (MIP) -2 および monocyte chemoattractant protein (MCP) -1 などの様々な炎症性サイトカインおよびケモカインの発現上昇が認められた。また、Th17 への分化に關与する転写因子である retinoid-related orphan receptor (ROR) -gt の発現上昇および、Th1 分化に關与する転写因子である T box expressed in T cells (T-bet) の発現低下が認められた。さらに、ハロタンなどの薬物誘導性肝障害への關与が明らかにされている IL-17 のタンパク質量の増加が認められた。以上より、DIC 誘導性肝障害において様々な免疫学的因子が発現変動すること、その中でも IL-17 を初めとする Th17 因子の關与が示唆された。

1 1 . ハロタン誘導性肝障害に対する女性ホルモンの影響 (研究成果に関する一覧表 英文原著論文#20)

本研究は、女性において重篤な肝障害発症が多く認められる原因を説明することを目的としたものである。全身麻酔薬であるハロタン (HAL) は約 20%以上の患者に軽度な肝障害を引き起こし、さらに稀に重篤な肝障害

を引き起こすことが知られている。また、HAL 誘導性肝障害発症のリスクファクターの一つに女性が挙げられており、実際に臨床における肝障害報告は女性が多い。近年 HAL 誘導性肝障害モデルを再現できるマウスモデルが開発され、ヒトと同様に雄性マウスと比較して雌性マウスで重篤な肝障害発症が認められることが報告されている。女性で重篤な肝障害発症が多いメカニズムを解明するために、女性ホルモンであるエストロゲン (E2) とプロゲステロン (Prog) が HAL 誘導性肝障害に与える影響について主としてマウスを用いて検討した。その結果、HAL 誘導性肝障害に対して E2 投与による肝障害減弱作用および Prog 投与による肝障害悪化作用が認められた。これらの作用は HAL の活性代謝物である TFA と肝臓中タンパク質とのアダクト形成には変化を示さず、HAL 投与後の炎症反応を介して肝障害の程度に影響を及ぼすことを示した。さらに、E2 および Prog は E2 レセプターおよび Prog レセプターを介して免疫反応を調節し、肝障害の程度を変化させることが示された。

1 2 . プロゲステロンによる薬物誘導性肝障害悪化メカニズムの解明 (研究成果に関する一覧表 英文原著論文#27)

HAL だけでなく他の肝障害性化

合物においても Prog 投与による肝障害悪化作用が認められ、これらは CXCL1 を初めとする免疫因子の活性化を介していることを見出した。さらに、これらの免疫因子の活性化には ERK 経路の活性化や、クッパー細胞が関与し、Prog による肝障害悪化に寄与していることが示された。また、Prog レセプターのアンタゴニストを肝障害惹起後に投与した際にも、HAL 誘導性肝障害を減弱させることを示した。本研究では、女性ホルモンが薬物誘導性肝障害の程度に影響を与えることを示した。また、Prog が ERK 経路やクッパー細胞を介して薬物誘

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表など

著書(分担) 3件、和文総説 6件、海

1. 著書

- 1) Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. MicroRNA-Regulation of P450 and Pharmacogenetics in press. 「Handbook Pharmacogenomics and Straified Medicines」 Sandosh Padmanabhan Ed. Elsevier, Watham (2013) in press.
- 2) 横井 毅. 薬物代謝反応・代謝酵素の多様性と薬物相互作用の予測 p198-204. 「In vitro 毒性・動態評価の最前線」小島肇監修、シーエムシー出版 (2013).
- 3) 横井 毅. 第 II 相代謝の評価と創薬 p224-231. 「医薬品開発に必要なストラ

導性肝障害の悪化に寄与することを初めて明らかにし、これらの女性ホルモンが薬物誘導性肝障害の性差メカニズムの一因になりうる可能性を示した。さらに、肝障害惹起後の RU 投与により肝障害減弱が認められたことから、薬物誘導性肝障害に対する新たな治療手段になりうることが期待された。

以上、研究期間中に論文発表できた代表的な研究の内容について概略を述べた。論文の別刷写しは、本報告書の後半に添付されている。

外英文総説 5件、国内和文原著 0件、海外英文原著 52件、招聘講演(海外、国際) 13件、招聘講演(国内) 45件、一般学会発表(海外、国際) 12件、一般学会発表(国内) 54件。

テージと各種試験法」日本薬理学会編 (2011).

2. 和文総説

- 1) 織田進吾、横井 毅. 薬物性肝障害における免疫・炎症因子の関与。日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌 8: in press (2014).
- 2) 横井 毅. 薬物代謝と免疫・炎症を考慮した薬物性肝障害の理解と展望。毒性質問籍 16: in press (2014).
- 3) 横井 毅. 薬物代謝と免疫・炎症を考慮した薬物性肝障害の理解と展望。日本薬理学雑誌 143: in press (2014).

- 4) 横井 毅 . 薬物代謝と肝障害 . **月刊薬** 56: 21-25 (2014).
- 5) 横井 毅 . 医薬品開発および臨床に資する薬の副作用の軽減・回避・予測研究. **名古屋大学医学部学友時報** 763: 3-4 (2013).
- 6) 横井 毅 . 体内動態と薬物相互作用の基礎と応用-食品成分への展開- . **食品加工技術** 33: 7-13 (2013).

3 . 英文総説

- 1) Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima. MicroRNAs as mediators of drug toxicity. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **53: 377-400 (2013)**.
- 2) Tatsuki Fukami and Tsuyoshi Yokoi. The Emerging role of human esterases. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **27: 466-477 (2013)**.
- 3) Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima. Toxicological implications of modulation of gene expression by microRNAs. *Toxicol. Sci.*, **123: 1-14 (2011)**.
- 4) Tsuyoshi Yokoi. Current topics in drug metabolism and drug toxicity. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **26: 1-2 (2011)**.
- 5) Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. MicroRNAs from biology to future pharmacotherapy: regulation of cytochrome P450s and nuclear receptors. *Pharmacol. Ther.*, **131: 330-337 (2011)**.

4 . 英文原著論文

- 1) Azusa Yano, Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Development of a cell-based assay system considering drug metabolism and immune- and inflammatory-related factors for the risk assessment of drug-induced liver injury. *Toxicol. Lett.*, **in press (2014)**.

- 2) Seng Chuan Tang, Rolf W. Sparidans, Ka Lei Cheung, Tatsuki Fukami, Selvi Durmus, Els Wagenaar, Tsuyoshi Yokoi, Bart J. M. van Vlijmen, Jos H. Beijnen, and Alfred H. Schinkel. P-glycoprotein, CYP3A and plasma carboxylesterase determine brain and blood disposition of the mTOR inhibitor everolimus (Afinitor) in mice. *Clin. Cancer Res.*, **in press (2014)**
- 3) Shinya Endo, Azusa Yano, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Involvement of miRNAs in the early phase of halothane-induced liver injury. *Toxicology*, **319: 75-84 (2014)**.
- 4) Kei Takahashi, Naoyuki Tatsumi, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima. Integrated analysis of rifampicin-induced microRNA and gene expression changes in human hepatocytes. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **in press (2014)**.
- 5) Shohei Takai, Satonori Higuchi, Azusa Yano, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Involvement of immune- and inflammatory-related factors in flucloxacillin-induced liver injury in mice. *J. Appl. Toxicol.*, **in press (2014)**.
- 6) Mai Shimizu, Tatsuki Fukami, Yusuke Ito, Takaya Kurokawa, Motoki Kariya, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Indiplon is hydrolyzed by arylacetamide acetylase in human liver. *Drug Metab. Dispos.*, **42: 751-758 (2014)**.
- 7) Shuichi Kuno, Fuminori Sakurai, Kahori Shimizu, Naoya Matsumura, Soonih Kim, Hitoshi Watanabe, Katsuhisa Tashiro, Masashi Tachibana, Tsuyoshi Yokoi, and Hiroyuki Mizuguchi. Development of mice exhibiting hepatic microsomal activity of human CYP3A4 comparable to that in human liver microsomes by intravenous administration of an adenovirus vector

- expressing human CYP3A4. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, in press (2014).
- 8) Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima. Epigenetic regulation of the tissue-specific expression of human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A10. *Biochem. Pharmacol.*, **87**: 660-667 (2014).
 - 9) Kentaro Matsuo, Eita Sasaki, Satonori Higuchi, Shohei Takai, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. Involvement of oxidative stress and immune- and inflammation-related factors in azathioprine-induced liver injury. *Toxicol. Lett.*, **224**: 215-224 (2014).
 - 10) Kyotaka Muta, Tatsuki Muta, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. N-glycosylation during translation is essential for human arylacetamide deacetylase enzyme activity. *Biochem. Pharmacol.*, **87**: 352-359 (2014).
 - 11) Taishi Miyashita, Kento Kimura, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. Evaluation and mechanistic analysis of the cytotoxicity of the acyl glucuronide of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Drug Metab. Dispos.*, **42**: 1-8 (2014).
 - 12) Kei Takahashi, Yuki Oda, Yasuyuki Toyoda, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima. Regulation of cytochrome b5 expression by miR-223 in human liver; effects on cytochrome P450 activities. *Pharm. Res.*, **31**: 780-794 (2014).
 - 13) Eita Sasaki, Kentaro Matsuo, Azumi Iida, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. A novel mouse model for phenytoin-induced liver injury: involvement of immune-related factors and P450-mediated metabolism. *Toxicol. Sci.*, **136**: 250-263 (2013).
 - 14) Kei Takahashi, Shin-ichi Yokota, Naoyuki Tatsumi, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima. Cigarette smoking substantially alters plasma microRNA profiles in healthy subjects. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **272**: 154-160 (2013).
 - 15) Yukiko Kato, Takeshi Izukawa, Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Moshe Finel, Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima. Human UGT2B10 in drug N-glucuronidations: substrate screening and comparison with UGT1A3 and UGT1A4. *Drug Metab. Dispos.*, **41**: 1389-1397 (2013).
 - 16) Ryota Higuchi, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Prilocaine- and lidocaine-induced methemoglobinemia is caused by human carbosylesterase-, CYP2E1- and CYP3A4-mediated metabolic activation. *Drug Metab. Dispos.*, **41**: 1220-1230 (2013).
 - 17) Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima. Epigenetic regulation is a crucial factor in the repression of UGT1A1 expression in the human kidney. *Drug Metab. Dispos.*, **41**: 1738-1743 (2013).
 - 18) Ching Ho Poon, Tsz Yan Wong, Yanfei Wang, Yuki Tsuchiya, Miki Nakajima, Tsuyoshi Yokoi, and Lai K. Leung. The citrus flavanone naringenin suppresses CYP1B1 transactivation through antagonizing xenobiotic-responsive element binding. *Br. J. Nutr.*, **109**: 1598-1605 (2013).
 - 19) Makoto Kataoka, Yuki Terashima, Katsuhiko Miuno, Yoshie Masaoka, Shinji Saluma, Tsuyoshi Yokoi and Shinji Yamashita. Establishment of MDCKII cell monolayer with metabolic activity by CYP3A4 transduced with

- recombinant adenovirus. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **28**: 125-131 (2013).
- 20) Yuki Kobayashi, Tatsuki Fukami, Ryota Higuchi, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. Metabolic activation by human arylacetamide deacetylase, CYP2E1, and CYP1A2 causes phenacetin-induced methemoglobinemia. *Biochem. Pharmacol.*, **84**: 1196-1206 (2012).
- 21) Masakazu Kakuni, Mayu Morita, Kentaro Matsuo, Yumiko Katoh, Miki Nakajima, Chise Tateno, and Tsuyoshi Yokoi. Chimeric mice with a humanized liver as an animal model of troglitazone-induced liver injury. *Toxicol. Lett.*, **214**: 9-18 (2012).
- 22) Satonori Higuchi, Azusa Yano, Shohei Takai, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Metabolic activation and inflammation reactions involved in carbamazepine-induced liver injury. *Toxicol. Sci.*, **130**: 4-16 (2012).
- 23) Taishi Miyashita, Yasuyuki Toyoda, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Hepatoprotective effect of tamoxifen on steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in mouse models. *J. Toxicol. Sci.*, **37**: 931-942 (2012).
- 24) Yukitaka Yoshikawa, Taishi Miyashita, Satonori Higuchi, Koichi Tsuneyama, Shiya Endo, Yasuyuki Toyoda, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Mechanisms of the hepatoprotective effects of tamoxifen against drug-induced and chemical-induced acute liver injuries. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **264**: 42-50 (2012).
- 25) Shingo Oda, Miki Nakajima, Masahiko Hatakeyama, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Preparation of a specific monoclonal antibody against human UGT1A9 and evaluation of UGT1A9 protein levels in human tissues. *Drug Metab. Dispos.*, **40**: 1620-1627 (2012).
- 26) Shinya Endo, Yasuyuki Toyoda, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Activation of human monocytic THP-1 cells by metabolic activation of hepatotoxic drugs. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **27**: 621-630 (2012).
- 27) Yuki Kobayashi, Tatsuki Fukami, Mai Shimizu, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Contributions of arylacetamide deacetylase and carboxylesterase 2 to flutamide hydrolysis in human liver. *Drug Metab. Dispos.*, **40**: 1080-1084 (2012).
- 28) Mai Shimizu, Tatsuki Fukami, Yuki Kobayashi, Masataka Takamiya, Yoshihiro Aoki, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. A novel polymorphic allele of human arylacetamide deacetylase leads to diminished enzyme activity. *Drug Metab. Dispos.*, **40**: 1183-1190 (2012).
- 29) Kornphimol Kulthong, Rawiwan Maniratanachote, Yuki Kobayashi, Tatsuki Fukami and Tsuyoshi Yokoi. Effects of silver nanoparticles on hepatic cytochrome P450 enzyme activity. *Xenobiotica*, **42**: 854-862 (2012).
- 30) Yuki Oda, Miki Nakajima, Takuya Mohri, Masataka Takamiya, Yasuhiro Aoki, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator in human liver is regulated by miR-24. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **260**: 222-231 (2012).
- 31) Atsushi Iwamura, Tatsuki Fukami, Ryota Higuchi, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Human α/β hydrolase domain containing 10 (ABHD10) is a responsible enzyme for deglucuronidation of mycophenolic acid acyl-glucuronide in liver. *J. Biol. Chem.*, **287**: 9240-9249 (2012).

- 32) Azusa Yano, Satonori Higuchi, Koichi Tsuneyama, Tasuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Involvement of immune-related factors in diclofenac-induced acute liver in mice. *Toxicology*, **293**: 107-114 (2012).
- 33) Theerada Taesotikul, Miki Nakajima, Wichitra Tassaneeyakul, and Tsuyoshi Yokoi. Effects of *Phyllanthus amarus* extract on the pharmacokinetics of midazolam and cytochrome P450 activities in rats. *Xenobiotica*, **42**: 641-648 (2012).
- 34) Masanori Kobayashi, Satonori Higuchi, Mika Ide, Satomi Nishikawa, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. Th2 cytokines-mediated methimazole-induced liver injury in mice. *J. Appl. Toxicol.*, **32**: 823-833 (2012).
- 35) Yuki Kobayashi, Tatsuki Fukami, Akinori Nakajima, Akinobu Watanabe, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Species differences in tissue distribution and enzyme activities of arylacetamide deacetylase in human, rat, and mouse. *Drug Metab. Dispos.*, **40**: 671-679 (2012).
- 36) Yu Yamaura, Miki Nakajima, Shingo Takagi, Tatsuki Fukami, Koichi Tsuneyama, and Tsuyoshi Yokoi. Plasma microRNA profiles in rat models of hepatocellular injury, cholestasis, and steatosis. *PLoS One*, **7**: e30250 (2012).
- 37) Yasuyuki Toyoda, Shinya Endo, Koichi Tsuneyama, Taishi Miyashita, Azusa Yano, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Mechanism of exacerbative effect of progesterone on drug-induced liver injury. *Toxicol. Sci.*, **126**: 16-27 (2012).
- 38) Yukiko Kato, Miki Nakajima, Shingo Oda, Tasuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Human UGT-glucuronosyltransferase isoforms involved in haloperidol glucuronidation and quantitative estimation of their contributions. *Drug Metab. Dispos.*, **40**: 240-248 (2012).
- 39) Satonori Higuchi, Masanori Kobayashi, Azusa Yano, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Involvement of Th2 cytokines in the mouse model of flutamide-induced acute liver injury. *J. Appl. Toxicol.*, **32**: 815-822 (2012).
- 40) Shingo Oda, Miki Nakajima, Yasuyuki Toyoda, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Progesterone receptor membrane component 1 modulates human cytochrome P450 activities in an isoform-dependent manner. *Drug Metab. Dispos.*, **39**: 2057-2065 (2011).
- 41) Akinori Nakajima, Tatsuki Fukami, Yuki Kobayashi, Akinobu Watanabe, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Human arylacetamide deacetylase is responsible for deacetylation of rifamycins: rifampicin, rifabutin, and rifapentine. *Biochem. Pharmacol.*, **82**: 1747-1756 (2011).
- 42) Katsuhiko Kida, Miki Nakajima, Takuya Mohri, Yuki Oda, Shingo Takagi, Tasuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Peroxisome proliferator-activator receptor α is regulated by miR-21 and miR-27b in human liver. *Pharm. Res.*, **28**: 2467-2476 (2011).
- 43) Hiroko Hosomi, Tatsuki Fukami, Atsushi Iwamura, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. Development of a highly sensitive cytotoxicity assay system for CYP3A4-mediated metabolic activation. *Drug Metab. Dispos.*, **39**: 1388-1395 (2011).
- 44) Tomomi Hioki, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Human paraoxonase 1 is the enzyme responsible for pilocarpine hydrolysis. *Drug Metab. Dispos.*, **39**: 1345-1352 (2011).

- 45) Tosu Usui, Takanori Hashizume, Takashi Katsumata, Tsuyoshi Yokoi, and Setsuko Komuro. *In vitro* investigation of the glutathione S-transferase M1 and T1 null genotypes as risk factors for troglitazone-induced liver injury. *Drug Metab. Dispos.*, **39**: 1303-1310 (2011).
- 46) Yasuyuki Toyoda, Taishi Miyashita, Shinya Endo, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. Estradiol and progesterone modulate halothane-induced liver injury in mice. *Toxicol. Lett.*, **204**: 17-24 (2011).
- 47) Atsushi Iwamura, Tatsuki Fukami, Hiroko Hosomi, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. CYP2C9-mediated metabolic activation of losartan detected by a high sensitive cell-based screening assay. *Drug Metab. Dispos.*, **39**: 838-846 (2011).
- 48) Yuko Abe, Rhoichi Fujiwara, Shingo Oda, and Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima. Interpretation for the effects of protein kinase C inhibitors on human UGT-glucuronosyltransferase 1A (UGT1A) proteins in cellulo. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **26**: 256-265 (2011).
- 49) Satonori Higuchi, Masanori Kobayashi, Yukitaka Yoshikawa, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. IL-4 mediated dicloxacillin-induced liver injury in mice. *Toxicol. Lett.*, **200**: 139-145 (2011).
- 50) Toshihisa Koga, Ryoichi Fujiwara, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. Toxicological evaluation of acyl glucuronides of NSAIDs using HEK293 cells stably expressing human UGT and human hepatocytes. *Drug Metab. Dispos.*, **39**: 54-60 (2011).
- 51) Shin-ichi Yokota, Eriko Higashi, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima. Human CYP2A6 is regulated by nuclear factor-erythroid 2 related factor 2. *Biochem. Pharmacol.*, **81**: 289-294 (2011).
- 52) Katsuhiko Mizuno, Yasuyuki Toyoda, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. Stimulation of pro-inflammatory responses by mebendazole in human monocytic THP-1 cells through an ERK signaling pathway. *Arch. Toxicol.*, **85**: 199-207 (2011).

4. 招待講演 (国際・国外学会)

- 1) Tsuyoshi Yokoi. Regulation of human nuclear receptors and cytochrome P450s by microRNAs. Keynote Presentation in International Conference of Genomic Research Asia 2012, November 13-14, 2012, Deajeon, South Korea
- 2) Tsuyoshi Yokoi. Regulation of cytochrome P450s and nuclear receptors by microRNAs and its toxicological implications. Lecture in The Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Louisville, October 19, 2012, Louisville, USA
- 3) Tsuyoshi Yokoi. MicroRNA Regulation of Foreign Compound Metabolism. Short Course in RNAi Therapeutics: A Primer on microRNAs and Their Regulatory Role in Regulation of Expression. 18th North American Regional ISSX Meeting, October 14-18, 2012, Dallas, USA
- 4) Tsuyoshi Yokoi. Approaches to predict drug-induced liver injury. Seminar in Faculty of Medicine, Khon Kaen University, September 14, 2012. Khon Kaen, Thailand.
- 5) Miki Nakajima. Glycosylation and epigenetic regulation of human UGTs. 18th North American Regional Meeting,

2012.10.14-18, Dallas, USA

- 6) Tsuyoshi Yokoi. Role of drug-metabolizing enzymes in drug-induced toxicity: influence of microRNA and immune-related factors. The 8th Congress of Toxicology in Developing Countries (8CTDC) September 10-13, 2012. Bangkok, Thailand.
- 7) Tsuyoshi Yokoi. Toxicological implications of modulation of gene expression by microRNAs. 19th Microsomes and Drug Oxidations and 12th European International Society for the Study of Xenobiotics Meeting. 2012.6.17-21, Noordwijk aan Zee, the Netherlands.
- 8) Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi. Toxicological implication of modulation of gene expression by microRNAs. 19th Microsomes and Drug Oxidations and 12th European International Society for the Study of Xenobiotics Meeting. 2012.6.17-21, Noordwijk aan Zee, the Netherlands.
- 9) Tsuyoshi Yokoi. Regulation of cytochrome P450s and nuclear receptors by microRNAs and its toxicological implications. 2012 ADME & Predictive Toxicology Meeting (Keynote presentation), March 13-14, 2012, Munich, Germany.
- 10) Tsuyoshi Yokoi. Prediction of immune-mediated drug-induced liver injury in pre-clinical drug development. World Pharma Congress 2011 (Symposium), June 7-9, 2011, Philadelphia, PA, USA.
- 11) Tsuyoshi Yokoi. Approaches to predict drug-induced liver injury. 4th Asia-Pacific ISSX Meeting (Symposium), April 22-25, 2011, Tainan, Taiwan.
- 12) Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima. Regulation of human cytochrome P450s

and nuclear receptors by microRNAs. 4th Asia-Pacific ISSX Meeting (Symposium), April 22-25, 2011, Tainan, Taiwan.

- 13) Tsuyoshi Yokoi. MicroRNA regulation of cytochrome P450 drug-metabolizing enzymes. Experimental Biology 2011 (Symposium), April 9-13, 2011, Washington DC, USA.

5. 招待講演 (国内学会等)

- 1) 横井 毅. 薬物性肝障害の予測試験系の開発とバイオマーカー. 薬物動態談話会 4月例会、特別講演、2014年4月15日、千里ライフサイエスタウン、大阪
- 2) 横井 毅. 薬物性肝障害の動物モデルの作出と発症メカニズムの解析. シンポジウム「特異体質性薬物毒性の研究最前線」日本薬学会第134年会、2014年3月30日 熊本市青年会館ホール、熊本
- 3) 中島美紀: 薬による microRNA の発現変動と薬効・副作用予測 日本薬学会第134年会 2014.3.28-30 シンポジウム 熊本
- 4) 横井 毅. 薬の副作用発現の個人差と創薬. 名古屋大学 予防早期医療創成センター第4回ワークショップ 2014年1月29日 名古屋大学野依記念学術交流館、名古屋
- 5) 横井 毅. 転写因子のマイクロRNAによる発現制御機構. 近畿大学薬学部大学院特別講演、2013年12月7日 近畿大学39号館講義室、大阪
- 6) 横井 毅. 薬物性肝障害における免疫学的因子の関与 シンポジウム「薬疹の理解に必要な免疫学」第43回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2013年11月29-31日 ホテル日

航金沢、金沢

- 7) 横井 毅. 薬物動態・毒性研究の創薬における重要性 2013年11月21日 岐阜薬科大学特別講義 大学院講義室、岐阜薬科大学、岐阜
- 8) 横井 毅. 薬が効くヒトと効かないヒト-遺伝子多型と薬物相互作用- 第9回名古屋大学ホームカミングデイ公開講演会 2013年10月19日 ESホール、名古屋大、名古屋
- 9) 横井 毅. Biomarkers for Drug-induced Liver Injury. Symposium at 28th Japanese Society for the study of Xenobiotics (JSSX) 2013年10月9-11日、船堀タワーホール、Tokyo
- 10) 中島美紀. New knowledge of the microRNA-mediated regulation of drug metabolism. Symposium at 28th Japanese Society for the study of Xenobiotics (JSSX) 2013年10月9-11日、船堀タワーホール、Tokyo
- 11) 横井 毅. ミクロゾームの生化学. 金沢大学医学部 (特別講義) 2013年10月4日、金沢大学医学部第1講義室、金沢.
- 12) 横井 毅. 薬効と毒性のバイオマーカーとしてのマイクロRNA 第50回薬剤学懇談会研究討論会(シンポジウム) 2013年6月26-28日、ホテル シャトレーゼガトーキングダムサッポロ、札幌
- 13) 横井 毅. 生体と薬物「薬物代謝酵素」福井大学医学部 (特別講義) 2013年6月6日、福井大学医学部第3講義室、福井
- 14) 横井 毅. マイクロRNAによる薬物代謝酵素の活性変動と毒性バイオマーカーとしての可能性、(シンポジウム) 第30回日本TDM学会学術大会、2013年5月25-26日、市民会館崇城大学ホール、熊本
- 15) 横井 毅. 転写因子のマイクロRNAによる発現制御機構、昭和薬科大学大学院特別講演、2013年5月16日、昭和薬科大学講堂、町田
- 16) 横井 毅. 安全性・有効性のバイオマーカーとしてのマイクロRNA、第27回日本薬物動態学会ワークショップ、基調講演、2013年5月9-10日、学術総合センター一橋講堂、東京
- 17) 横井 毅. 薬物誘導性肝障害に免疫学的機序が果たす役割、第155回日本獣医学会学術集会、2013年3月30日、東京大学農学部講堂、東京
- 18) 横井 毅. 薬物代謝と毒性領域の前臨床試験の新たな展開、近畿バイオ、金沢大学セミナー&ブレイクストーミング in 関西; 製薬、化学、食品、化粧品等に展開する安全創薬研、2013年2月18日、公益財団法人 都市活力研究所セミナー室、大阪
- 19) 横井 毅. 薬物動態・安全性とmicroRNA、第4回新たな創薬パラダイムの創出、システム薬学研究機構シンポジウム 2013年1月10日、東京大学医科学研究所講堂、東京
- 20) 横井 毅. 薬物代謝と毒性領域の前臨床試験の新たな展開、JBA バイオセミナーシリーズ; 製薬、化学、食品、化粧品等に展開する安全創薬研、2013年1月8日、バイイングストリー協会(JBA)第一会議室、東京
- 21) 横井 毅. 薬物性肝障害とバイオマーカーとしてのマイクロRNA、安全性評価研究会セミナー 2012年12月8日、東京
- 22) Miki Nakajima. Control of xeno/endobiotics-metabolizing P450s by microRNAs. チトクロムP450発見50周年記念シンポジウム 2012年12月2-3

日 博多

- 23) Miki Nakajima, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Adverse drug reactions caused by P450 and non-P450 enzymes: methemoglobinemia and liver injury. Symposium at 27th Japanese Society for the study of Xenobiotics (JSSX) 2012年 11月 20-22日、Chiba
- 24) 横井 毅. 体内動態と薬物相互作用の基礎と応用～食品成分への展開～. 第 10 回日本食品・機械研究会フォーラム (特別講演) 2012年 9月 26-27日、裾野.
- 25) 横井 毅. ミクロゾームの生化学. 金沢大学医学部 (特別講義) 2012年 9月 21日、金沢.
- 26) 中島美紀. 薬・異物ならびに生体内ホルモンの代謝を制御するマイクロ RNA 第 4 回 RNAi 研究会 2012年 8月 30日 -9月 1日 広島
- 27) 横井 毅. 薬物性肝障害の予測試験系とバイオマーカー. 第 16 回薬物動態談話会セミナー (特別講演) 2012年 8月 22-23日、三島 .
- 28) 横井 毅. 毒作用発現バイオマーカーとしてのマイクロ RNA. 第 39 回日本毒性学会学術年会 (教育講演) 2012年 7月 17-19日、仙台 .
- 29) 横井 毅. 特異体質性薬物性肝障害の前臨床基礎研究.シンポジウム「薬物性肝障害-最新知見を基に-」第 39 回日本毒性学会学術年会、2012年 7月 17-19日、仙台.
- 30) 横井 毅. 生体と薬物「薬物代謝酵素」福井大学医学部 (特別講義) 2012年 6月 13日、福井 .
- 31) 横井 毅. 特異体質性薬物性肝障害モデル. シンポジウム「医薬品開発に貢献した疾病モデル-成果と課題、今後の期待-」第 59 回日本実験動物学会総会、2012年 5月 24-26日、別府 .
- 32) 横井 毅. 薬物誘発性肝障害における代謝と免疫の役割. 第 26 回日本薬物動態学会ワークショップ 2012年 4月 22-23日、東京.
- 33) 横井 毅. MicroRNA による薬物代謝酵素と関連核内受容体の調節機構. シンポジウム「核内受容体と生体調節」環境ホルモン学会 第14回年会 2011年 12月 1日、東京.
- 34) 横井 毅. マイクロ RNA による薬物代謝酵素と核内レセプターの発現調節および毒性バイオマーカーの研究. 九州大学大学院薬学研究院特別講演 2011年 11月 24日、福岡.
- 35) 横井 毅. 薬物動態関連遺伝子の多型・発現調節と薬物相互作用. 日本法科学技術学会 第 17 回学術集会 特別講演 2011年 11月 17日、東京.
- 36) 横井 毅. ミクロゾームの生化学と薬物代謝. 金沢大学医学部特別講義 2011年 11月 1日、金沢.
- 37) 中島美紀. マイクロ RNA : 毒性学・異物代謝研究の新展開 フォーラム 2011 : 衛生薬学・環境トキシコロジー 2011年 10月 27-28日 金沢
- 38) 中島美紀. 薬物動態と microRNA の働き 第 319 回 CBI 学会研究講演会 2011年 8月 26日 東京
- 39) 山浦 優、中島美紀、高木信伍、深見達基、常山幸一、田尻和人、峯村正実、横井 毅: 肝疾患患者の血中 microRNA プロファイル解析に基づいた病型診断バイオマーカーの同定、第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会 2011年 7月 11-13日 シンポジウム 横浜
- 40) 中島美紀. 薬物動態における

microRNA の役割と microRNA の発現変動 第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会 2011 年 7 月 11-13 日、横浜.

- 41) 横井 毅. 臨床で役立つ薬物代謝酵素の知識. 福井大学医学部特別講義 2011 年 6 月 03 日、福井.
- 42) 横井 毅. マイクロ RNA による薬物代謝関連遺伝子の発現調節. 富山大学薬学部特別講演 2011 年 5 月 26 日、富山.
- 43) 横井 毅. 薬物性免疫毒性研究の進歩. シンポジウム「薬物誘発性免疫毒性研究の新展開と反応性代謝物の役割」第 18 回 HAB 研究機構学術年会 2011 年 5 月 20-21 日、東京.
- 44) 中島美紀. マイクロ RNA の薬物動態への関与と新規毒性評価への展望 第 25 回日本薬物動態学会ワークショップ 2011 年 5 月 12-13 日、東京.
- 45) 横井 毅. 特異体質性薬物毒性の回避戦略. シンポジウム「毒性回避戦略に焦点」第 25 回日本薬物動態学会ワークショップ 2011 年 5 月 12-13 日、東京.

6 . 一般講演【国際・国外学会】

1. Tsuyoshi Yokoi, Eita Sasaki, Atsushi Iwamura, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, Toshiyuki Kume. Identification of a P450-mediated hepatotoxicity-associated glutathione-conjugate of phenytoin in phenytoin-induced liver injury in mice. 53rd Annual Meeting and ToxExpo. March 23-27, 2014 Phoenix, USA
2. Eita Sasaki, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. A novel mouse model for phenytoin-induced liver injury: involvement of immune-related factors and P450-mediated metabolism. 53rd Annual Meeting and ToxExpo. March 23-27, 2014 Phoenix, USA
3. Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima. Epigenetic regulation is a crucial factor for the tissue-specific expression of human UGT1A10. 53rd Annual Meeting and ToxExpo. March 23-27, 2014 Phoenix, USA
4. Yuki Oda, Miki Nakajima, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. miR-34a-dependent regulation of human retinoid X receptor α is associated with progress of liver fibrosis. 18th North American Regional Meeting, 2012.10.14-18, Poster, Dallas, USA
5. Masataka Nakano, Miki Nakajima, Yasunari Fukushima, Shinichi Yokota, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Human CYP2A6 is regulated by miR-126*. 18th North American Regional Meeting, 2012.10.14-18, Poster, Dallas, USA
6. Tsuyoshi Yokoi, Satonori Higuchi, Azusa Yano, Shohei Takai, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, and Miki Nakajima. Metabolic activation and inflammation reactions involved in carbamazepine-induced liver injury. 18th North American Regional Meeting, 2012.10.14-18, Poster, Dallas, USA
7. Shingo Oda, Miki Nakajima, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi: Epigenetic regulation is a crucial factor for defective expression of UGT1A1 in human kidney. 19th Microsomes and Drug Oxidations and 12th European International Society for the Study of Xenobiotics Meeting. 2012.6.17-21 Poster, Noordwijk aan Zee, the Netherlands.
8. Miki Nakajima, Yu Yamaura, Shingo Takagi, Naoyuki Tatsumi, Tatsuya Sato,

Tatsuki Fukami, Koichi Tsuneyama, and Tsuyoshi Yokoi. MicroRNAs as biomarkers of liver injury: profiles in plasma and liver from rat models. 19th Microsomes and Drug Oxidations and 12th European International Society for the Study of Xenobiotics Meeting. 2012.6.17-21 Poster, Noordwijk aan Zee, the Netherlands.

9. Tatsuki Fukami, Yuki Kobayashi, Ryota Higuchi, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Phenacetin-induced methemoglobinemia is caused by metabolic activation by human arylacetamide deacetylase, CYP2E1, and CYP1A2. 19th Microsomes and Drug Oxidations and 12th European International Society for the Study of Xenobiotics Meeting. 2012.6.17-21 Poster, Noordwijk aan Zee, the Netherlands.
10. Theerada Taesotikul, Miki Nakajima, Wichitra Tassaneeyakul, and Tsuyoshi Yokoi. Inhibitory effects of Thai medicinal plants on human UGT1A1 and UGT2B7 activities. 19th Microsomes and Drug Oxidations and 12th European International Society for the Study of Xenobiotics Meeting. 2012.6.17-21 Poster, Noordwijk aan Zee, the Netherlands.
11. Shingo Oda, Miki Nakajima, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. PGRMC1 interacts with human drug-metabolizing P450s to modulate their activities. 4th Asia Pacific ISSX Meeting, 2011.4.22-25, Tainan, Taiwan.
12. Kornphimol Kulthong, Rawiwan Maniratanachote, Yuki Kobayashi, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Effects of silivernanoparticles on rat hepatic cytochrome P450 enzymes. The 3rd BMB International Conference. 2011.4.6-8, ChiangMai, Thailand.

7. 一般講演【国内学会】

1. 織田進吾、深見達基、横井 毅、中島美紀：ヒト UGT1A1 と UGT1A10 の組織特異的な発現におけるエピジェネティック機構の関与 日本薬学会第 133 年会 2013.3.28-30 口頭 横浜
2. 黒川尚也、深見達基、中島美紀：ジルチアゼム加水分解酵素活性の種差の原因となる酵素の同定 日本薬学会第 134 年会 2014.3.28-30 ポスター 熊本
3. 古川陽一、織田進吾、加藤有紀子、深見達基、中島美紀：ヒトおよびラットにおけるテルミサルタングルクロン酸抱合酵素活性の評価 日本薬学会第 134 年会 2014.3.28-30 ポスター 熊本
4. 加藤有紀子、織田進吾、畠山雅彦、岡崎道貴子、深見達基、横井 毅、中島美紀：ヒト UGT1A10 モノクローナル抗体の作製とその評価 日本薬学会第 134 年会 2014.3.28-30 ポスター 熊本
5. 深見達基、清水麻衣、渡邊旭延、中島彰紀、中島美紀、横井 毅：ヒト新規薬物加水分解酵素アリルアセタミドデアセチラーゼの基質特異性について 日本薬学会北陸支部第 125 回例会 口頭 2013.11.17 金沢
6. 伊藤祐介、深見達基、中島美紀、横井毅：ヒトにおけるプロベネシドアシルグルクロニド生成と分解を担う酵素の同定 日本薬学会北陸支部第 125 回例会 口頭 2013.11.17 金沢
7. 岡崎道貴子、畠山雅彦、織田進吾、中島美紀：薬物代謝酵素ヒト UDP-グルクロン酸転移酵素(UGT)アイソザ

イムに対する特異的マウスモノクローナル抗体の作製 第41回静岡実験動物研究会 口頭 2013.10.18 静岡

receptor a の発現制御は肝線維化の進行の一因となる 第5回日本RNAi研究会 ポスター 2013.8.29-8.31 広島

8. Yukiko Kato, Takeshi Izukawa, Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Moshe Finel, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima. Human UGT2B10 in drug N-glucuronidation: substrate screening and comparison with UGT1A3 and UGT1A4. 日本薬物動態学会第28回年会, 2013.10.9-11, ポスター 東京
9. Eita Sasaki, Atsushi Iwamura, Toshiyuki Kume, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. A reactive metabolite formed by P450, which is readily subjected to glutathione conjugation, would be causal for phenytoin-induced liver injury. 日本薬物動態学会第28回年会, 2013.10.9-11, ポスター 東京
10. Masataka Nakano, Takuya Mohri, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima. Allele specific regulation of human CYP2E1 by a microRNA. 日本薬物動態学会第28回年会, 2013.10.9-11, 口頭 東京
11. Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima. Screening of specific inhibitors for human intestinal UGT1A8 and UGT1A10. 日本薬物動態学会第28回年会, 2013.10.9-11, ポスター 東京
12. 中野正隆、茂利拓也、深見達基、横井毅、中島美紀：ヒト CYP2E1 3'-UTR 上の SNP が miR-570 結合性およびヒト肝における CYP2E1 発現量に与える影響 第5回日本 RNAi 研究会 ポスター 2013.8.29-8.31 広島
13. 小田祐輝、中島美紀、深見達基、横井毅：miR-34a によるヒト retinoid X receptor a の発現制御は肝線維化の進行の一因となる 第5回日本 RNAi 研究会 ポスター 2013.8.29-8.31 広島
14. 中島美紀、山浦優、辰巳直之、高木信伍、深見達基、常山幸一、田尻和人、峯村正実、横井毅：肝疾患患者の血中 microRNA プロファイルを用いた病型診断法の検討 第40回日本毒性学会学術年会 2013.6.17-19 ポスター 千葉
15. 辰巳直之、中島美紀、山浦優、深見達基、常山幸一、横井毅：NAFLD の進行に關与する肝臓中 microRNAs の解析：モデルラットを用いた検討 第40回日本毒性学会学術年会 2013.6.17-19 ポスター 千葉
16. 宮下泰志、深見達基、中島美紀、横井毅：アシルグルクロニドによる細胞毒性のメカニズム解析 第40回日本毒性学会学術年会 2013.6.17-19 ポスター 千葉
17. 松尾研太郎、樋口悟法、常山幸一、深見達基、中島美紀、横井毅：アザチオプリン誘導性肝障害マウスにおける発症メカニズムの解析 第40回日本毒性学会学術年会 2013.6.17-19 ポスター 千葉
18. 伊藤祐介、深見達基、中島美紀、横井毅：プロベネシドからのアシルグルクロニド生成とその逆反応を担うヒト薬物代謝酵素の同定 第40回日本毒性学会学術年会 2013.6.17-19 ポスター 千葉
19. 佐々木永太、常山幸一、深見達基、中島美紀、横井毅：フェニトイン誘導性肝障害マウスの作出と発症メカニズムの解明 第40回日本毒性学会学術年会 2013.6.17-19 ポス

ター 千葉

20. 飯田あずみ、矢野 梓、常山幸一、深見達基、中島美紀、横井 毅：ラットにおける代謝を考慮したカルバマゼピン誘導性肝障害のメカニズム解析 第40回日本毒性学会学術年会 2013.6.17-19 ポスター 千葉
21. 辰巳直之、中島美紀、山浦優、深見達基、常山幸一、横井 毅：慢性肝障害の進行に伴って発現変動するラット肝臓中 microRNA とその意義 日本薬学会第133年会 2013.3.28-30 ポスター 横浜
22. 久野周一、田代克久、清水かほり、櫻井文教、立花雅史、松村直哉、金 淳二、横井 毅、水口裕之：ヒト CYP3A4 発現アデノウイルスベクターの開発および薬物誘導性肝障害評価への応用に関する検討 日本薬学会第133年会 2013.3.28-30 ポスター 横浜
23. 織田進吾、深見達基、横井 毅、中島美紀：ヒト UGT1A1 と UGT1A10 の組織特異的な発現におけるエピジェネティック機構の関与 日本薬学会第133年会 2013.3.28-30 口頭 横浜
24. 宮下泰志、木村健人、深見達基、中島美紀、横井 毅：ジクロフェナクアシルグルクロニドの細胞毒性に関する検討 日本動物実験代替法学会第25回大会 2012.12.7-9 ポスター 東京
25. 高橋 圭、中島美紀、深見達基、横井毅：miR-223 はヒトシトクロム b5 発現を制御してシトクロム P450 活性を調節する 第35回日本分子生物学会年会 2012.12.11-14 ポスター 福岡
26. Masataka Nakano, Miki Nakajima, Yasunari Fukushima, Shin-ichi Yokota, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Role of microRNA in human CYP2A6 regulation. チトクロム P450 発見 50 周年記念シンポジウム 2012.12.2-3 ポスター 福岡
27. Taishi Miyashita, Kento Kimura, Shinya Endo, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. An in vitro investigation of immunotoxicology of diclofenac acyl glucuronide. 日本薬物動態学会第27回年会, 2012.11.20-22, ポスター 東京
28. Shingo Oda, Masahiko Hatakeyama, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima. Preparation of specific monoclonal antibodies against each human UGT1A6, -1A8, -1A9, -1A10, -2B4, and -2B10. 日本薬物動態学会第27回年会, 2012.11.20-22, ポスター, 東京
29. Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima. The reason why human UGT1A10 is expressed in intestine but not in liver. 日本薬物動態学会第27回年会, 2012.11.20-22, ポスター 東京
30. Masataka Nakano, Miki Nakajima, Yasunari Fukushima, Shinichi Yokota, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Role of microRNA in human CYP2A6 regulation. 日本薬物動態学会第27回年会, 2012.11.20-22, 口頭 東京
31. Yuki Oda, Miki Nakajima, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi. Regulation of human retinoid X receptor a by miR-34a: Association with liver fibrosis. 日本薬物動態学会第27回年会, 2012.11.20-22, 口頭 東京
32. Kyotaka Muta, Tatsuki Fukami, Miki

- Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi.
N-Glycosylation is essential for enzyme activity in human arylacetamide deacetylase. 日本薬物動態学会第 27 回年会, 2012.11.20-22, 口頭 東京
33. Ryota Higuchi, Tatsuki Fukami, Yuki Kobayashi, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Methemoglobinemia caused by prilocaine and lidocaine is attributed to their metabolites formed by human carboxylesterases, CYP2E1 and CYP3A4. 日本薬物動態学会第 27 回年会, 2012.11.20-22, 口頭 東京
34. 矢野 梓、深見達基、中島美紀、横井 毅：薬物性肝障害の発症機序の解明研究 第 39 回日本毒性学会学術年会 2012.7.17-19 シンポジウム 仙台
35. 小林祐喜、深見達基、樋口良太、中島美紀、横井 毅：フェナセチンによるメトヘモグロビン血症におけるアリルアセタミドデアセチラーゼの関与 第 39 回日本毒性学会学術年会 2012.7.17-19 ポスター 仙台
36. 樋口悟法、常山幸一、深見達基、中島美紀、横井 毅：カルバマゼピン誘導性肝障害における代謝的活性化と炎症の関与 第 39 回日本毒性学会学術年会 2012.7.17-19 ポスター 仙台
37. 高井翔平、樋口悟法、矢野 梓、常山幸一、深見達基、中島美紀、横井 毅：フルクロキサシリン誘導性肝障害モデルマウスによる発症メカニズムの解析 第 39 回日本毒性学会学術年会 2012.7.17-19 ポスター 仙台
38. 樋口悟法、常山幸一、深見達基、中島美紀、横井 毅：カルバマゼピン誘導性肝障害モデルマウス作製およびメカニズム解析 日本薬学会第 132 年会 2012.3.28-31 口頭 札幌
39. 小林祐喜、深見達基、中島美紀、横井 毅：フェナセチン誘導性メトヘモグロビン血症における arylacetamide deacetylase (AADAC) および CYP1A2、CYP2E1 の関与 日本薬学会第 132 年会 2012.3.28-31 口頭 札幌
40. 山浦 優、中島美紀、佐藤達哉、高木信伍、深見達基、常山幸一、横井 毅：肝細胞障害モデルラットにおける中心静脈域および門脈域 miRNAs 発現変動と血中 miRNAs 発現変動との関係 日本薬学会第 132 年会 2012.3.28-31 ポスター 札幌
41. 高井翔平、樋口悟法、常山幸一、矢野 梓、深見達基、中島美紀、横井 毅：フルクロキサシリン誘導性肝障害モデルマウスにおける免疫学的因子の関与 日本薬学会第 132 年会 2012.3.28-31 ポスター 札幌
42. Toru Usui, Takanori Hashizume, Takashi Katsumata, Setsuko Komuro, Tsuyoshi Yokoi, and Masashi Yabuki. In vitro investigation of the glutathione transferase M1 and T1 null genotypes as risk factors for troglitazone-induced liver injury. 第 24 回日本薬物動態学会年会 2011.11.16-18 広島
43. Masakazu Kakuni, Mayu Morita, Yumiko Katoh, Miki Nakajima, Chise Tateno, and Tsuyoshi Yokoi. Troglitazone-induced liver toxicity in chimeric mice with humanized liver. 第 24 回日本薬物動態学会年会 2011.11.16-18 広島
44. Mai Shimizu, Tatsuki Fukami, Yuki Kobayashi, Akinobu Watanabe, Miki

- Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi.
Genetic polymorphisms of human
arylacetamide deacetylase lead to
decreased enzyme activity. 第 24 回日
本薬物動態学会年会 2011.11.16-18
口頭 広島
45. Tomomi Hioki, Tatsuki Fukami, Miki
Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi. Human
paraoxonase 1 is a polymorphic
enzyme responsible for pilocarpine.
第 24 回日本薬物動態学会年会
2011.11.16-18 口頭 広島
46. Kei Takahashi, Miki Nakajima, Shin-ichi
Yokota, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi
Yokoi. Change of microRNA and
mRNA expression in human
hepatocytes by rifampicin. 第 24 回日
本薬物動態学会年会 2011.11.16-18
口頭 広島
47. Shingo Oda, Miki Nakajima, Tatsuki
Fukami, and Tsuyoshi Yokoi.
Epigenetic regulation contributes to
defective expression of UGT1A1 in
human kidney. 第 24 回日本薬物動態
学会年会 2011.11.16-18 口頭 広
島
48. Yu Yamaura, Miki Nakajima, Tatsuya
Sato, Shingo Takagi, Tatsuki Fukami,
Koichi Tsuneyama, and Tsuyoshi
Yokoi. Altered hepatic microRNAs
expression in rat models of chronic
liver injury and its association with
pathogenesis. 第 24 回日本薬物動態
学会年会 2011.11.16-18 ポスター
広島
49. 横田真一、高橋 圭、中島美紀、深見
達基、横井 毅：血中 microRNA の
発現に及ぼす喫煙の影響、第 38 回
日本トキシコロジー学会学術年会
2011.7.11-13 口頭&ポスター 横
浜
50. 宮下泰志、豊田泰之、常山幸一、深見
達基、中島美紀、横井毅：Steatosis
および NASH モデルマウスに対す
るタモキシフェンの影響、第 38 回
日本トキシコロジー学会学術年会
2011.7.11-13 口頭&ポスター 横
浜
51. 矢野 梓、樋口悟法、常山幸一、深見
達基、中島美紀、横井 毅：ジクロ
フェナク誘導性肝障害における免
疫学的因子の関与、第 38 回日本ト
キシコロジー学会学術年会
2011.7.11-13 口頭&ポスター 横
浜
52. 遠藤慎也、豊田泰之、深見達基、中島
美紀、横井 毅：免疫学的機序によ
る薬物性肝障害における代謝的活
性化の評価、第 38 回日本トキシコ
ロジー学会学術年会 2011.7.11-13
口頭&ポスター 横浜
53. 豊田泰之、常山幸一、深見達基、中島
美紀、横井 毅：薬物誘導性肝障害
に対する女性ホルモンの影響、第 38
回日本トキシコロジー学会学術年
会 2011.7.11-13 ポスター 横浜
54. 小林雅典、樋口悟法、深見達基、中島
美紀、横井 毅：Methimazole 誘導
性肝障害への IL-4 の関与、第 38 回
日本トキシコロジー学会学術年会
2011.7.11-13 ポスター 横浜
55. 古賀利久、藤原亮一、深見達基、中島
美紀、櫻山英二、横井 毅：アシル
グルクロニドの細胞毒性および遺
伝毒性に関する検討 第 18 回 HAB
研究機構学術年会 2011.5.21-22
ポスター 東京

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

別紙 4
研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
横井 毅	第II相代謝の評価と創薬	岩尾洋、奥山茂、飯野正光、斉藤亜紀良、赤池昭紀、山田久陽	実験薬理学「創薬研究の戦略」	金芳堂	東京	2011	224-231

総説

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima	microRNAs as mediators of drug toxicity	<i>Annual Review Pharmacology and Toxicology</i>	53	377-400	2013
Tatsuki Fukami and Tsuyoshi Yokoi	The emerging role of human esterases	<i>Drug Metab. Pharmacokinetics</i>	27	466-477	2012
中島 美紀	シトクロムP450と転写因子のmicroRNAによる発現制御	薬学雑誌	132	107-116	2012
Tsuyoshi Yokoi and Miki Nakajima	Toxicological implications of modulation of gene expression by microRNAs.	<i>Toxicological Sciences</i>	123	1-14	2011
Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi	MicroRNAs from biology to future pharmacotherapy: regulation of cytochrome P450s and nuclear receptors.	<i>Pharmacology & Therapeutics</i>	131	330-337	2011

雑誌 (英文原著論文)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
(#1) Azusa Yano, Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Development of a cell-based assay system considering drug metabolism and immune- and inflammatory-related factors for the risk assessment of drug-induced liver injury.	<i>Toxicology Letters</i>		in press	2014

(#2) Shohei Takai, Satonori Higuchi, Azusa Yano, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Involvement of immune- and inflammatory-related factors in flucloxacillin-induced liver injury in mice.	<i>Journal of Applied Toxicology</i>		in press	2014
(#3) Shinya Endo, Azusa Yano, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Involvement of miRNAs in the early phase of halothane-induced liver injury.	<i>Toxicology</i>	319	75-84	2014
(#4) Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Tsuhyoshi Yokoi, and Miki Nakajima	Epigenetic regulation of the tissue-specific expression of human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A10.	<i>Biochemical Pharmacology</i>	87	660-667	2014
(#5) Kentaro Matsuo, Eita Sasaki, Satonori Higuchi, Shohei Takai, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi	Involvement of oxidative stress and immune- and inflammation-related factors in azathioprine-induced liver injury.	<i>Toxicology Letters</i>	224	215-224	2014
(#6) Taishi Miyashita, Kento Kimura, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi	Evaluation and mechanistic analysis of the cytotoxicity of the acyl glucuronide of nonsteroidal anti-inflammatory drugs.	<i>Drug Metabolism and Disposition</i>	42	1-8	2014
(#7) Eita Sasaki, Kentaro Matsuo, Azumi Iida, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	A novel mouse model for phenytoin-induced liver injury: involvement of immune-related factors and P450-mediated metabolism.	<i>Toxicological Sciences</i>	136	250-263	2013
(#8) Kei Takahashi, Shin-ichi Yokota, Naoyuki Tatsumi, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima	Cigarette smoking substantially alters plasma microRNA profiles in healthy subjects.	<i>Toxicology and Applied Pharmacology</i>	272	154-160	2013
(#9) Ryota Higuchi, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Prilocaine- and lidocaine-induced methemoglobinemia is caused by human carboxylesterase-, CYP2E1- and CYP3A4-mediated metabolic activation.	<i>Drug Metabolism and Disposition</i>	41	1220-1230	2013

(#10) Shingo Oda, Tatsuki Fukami, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima	Epigenetic regulation is a crucial factor in the repression of UGT1A1 expression in human kidney	<i>Drug Metabolism and Disposition</i>	41	1738-1743	2013
(#11) Masakazu Kakuni, Mayu Morita, Kentaro Matsuo, Yumiko Katoh, Miki Nakajima, Chise Tateno, and Tsuyoshi Yokoi	Chimeric mice with a humanized liver as an animal model of troglitazone-induced liver injury	<i>Toxicology Letters</i>	214	9-18	2012
(#12) Satonori Higuchi, Azusa Yano, Shohei Takai, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Metabolic activation and inflammation reactions involved in carbamazepine-induced liver injury	<i>Toxicological Sciences</i>	130	4-16	2012
(#13) Taishi Miyashita, Yasuyuki Toyoda, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Hepatoprotective effect of tamoxifen on steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in mouse models	<i>Journal of Toxicological Sciences</i>	37	931-942	2012
(#14) Yukitaka Yoshikawa, Taishi Miyashita, Satonori Higuchi, Koichi Tsuneyama, Shinya Endo, Tohru Tsukui, Yasuyuki Toyoda, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Mechanism of the hepatoprotective effects of tamoxifen against drug-induced and chemical-induced acute liver injuries	<i>Toxicology and Applied Pharmacology</i>	264	42-50	2012
(#15) Shinya Endo, Yasuyuki Toyoda, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Stimulation of human monocytic THP-1 cells by metabolic activation of hepatotoxic drugs	<i>Drug Metabolism and Pharmacokinetics</i>	27	621-630	2012
(#16) Shingo Oda, Miki Nakajima, Masahiko Hatakeyama, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi	Preparation of a specific monoclonal antibody against human UGT1A9 and evaluation of UGT1A9 protein levels in human tissues	<i>Drug Metabolism and Disposition</i>	40	1620-1627	2012
(#17) Azusa Yano, Satonori Higuchi, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi.	Involvement of immune-related factors in diclofenac-induced acute liver injury in mice.	<i>Toxicology</i>	293	107-114	2012
(#18) Masanori Kobayashi, Satonori Higuchi, Mika Ide, Satomi Nishikawa, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Th2 cytokine-mediated methimazole-induced acute liver injury in mice.	<i>Journal of Applied Toxicology</i>	32	823-833	2012

(#19) Yu Yamaura, Miki Nakajima, Shingo Takagi, Tatsuki Fukami, Koichi Tsuneyama, and Tsuyoshi Yokoi	Plasma microRNA profiles in rat models of hepatocellular injury, cholestasis, and steatosis	<i>PLoS ONE</i>	7	e30250	2012
(#20) Yasuyuki Toyoda, Shinya Endo, Koichi Tsuneyama, Taishi Miyashita, Azusa Yano, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Mechanism of exacerbative effect of progesterone on drug-induced liver injury.	<i>Toxicological Sciences</i>	126	16-27	2012
(#21) Satonori Higuchi, Masanori Kobayashi, Azusa Yano, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Involvement of Th2 cytokines in the mouse model of flutamide-induced acute liver injury.	<i>Journal of Applied Toxicology</i>	32	815-822	2012
(#22) Katsuhiko Mizuno, Yasuyuki Toyoda, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Stimulation of pro-inflammatory responses by mebendazole in human monocytic THP-1 cells through an ERK signaling pathway.	<i>Archives of Toxicology</i>	85	199-207	2011
(#23) Toshihisa Koga, Rhoichi Fujiwara, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi.	Toxicological evaluation of acyl glucuronides of NSAIDs using HEK293 cells stably expressing human UGT and human hepatocytes.	<i>Drug Metabolism and Disposition</i>	39	54-60	2011
(#24) Satonori Higuchi, Masanori Kobayashi, Yunitaka Yoshikawa, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi.	IL-4 mediated dicloxacillin-induced liver injury in mice.	<i>Toxicological Letters</i>	200	139-145	2011
(#25) Yuko Abe, Ryoichi Fujiwara, Shingo Oda, Tsuyoshi Yokoi, and Miki Nakajima	Interpretation for the effects of protein kinase C inhibitors on human UDP-glucuronosyl transferase 1A (UGT1A) proteins in cellulo.	<i>Drug Metabolism and Pharmacokinetics</i>	26	256-265	2 2011
(#26) Atsushi Iwamura, Tatsuki Fukami, Hiroko Hosomi, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi.	CYP2C9-mediated metabolic activation of losartan detected by a high sensitive cell-based screening assay.	<i>Drug Metabolism and Disposition</i>	39	838-846	2011

(#27) Yasuyuki Toyoda, Taishi Miyashita, Shinya Endo, Koichi Tsuneyama, Tatsuki Fukami, Miki Nakajima and Tsuyoshi Yokoi.	Estradiol and progesterone modulate halothane-induced liver injury in mice.	<i>Toxicological Letters</i>	204	17-24	2011
(#28) Toru Usui, Takanori Hashizume, Takashi Katsumata, Tsuyoshi Yokoi, and Setsuko Komuro	In vivo investigation of the glutathione S-transferase M1 and T1 null genotypes as risk factors for troglitazone-induced liver injury.	<i>Drug Metabolism and Disposition</i>	39	1303-1310	2011
(#29) Hiroko Hosomi, Tatsuki Fukami, Atsushi Iwamura, Miki Nakajima, and Tsuyoshi Yokoi	Development of a highly sensitive cytotoxicity assay system for CYP3A4-mediated metabolic activation.	<i>Drug Metabolism and Disposition</i>	39	1388-1395	2011
(#30) Shingo Oda, Miki Nakajima, Yasuyuki Toyoda, Tatsuki Fukami, and Tsuyoshi Yokoi	Progesterone receptor membrane component 1 modulates human cytochrome P450 activities in an isoform-dependent manner.	<i>Drug Metabolism and Disposition</i>	39	2057-2065	2011

個別の分担報告書などは、図表が pdf で貼付けてあり、up できません。
ご了承ください。

横井 毅