

令和 3 年 5 月 1 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06749

研究課題名(和文) 肺障害性薬物による肺線維症誘発に関わる細胞内・細胞外経路の解明

研究課題名(英文) Studies on intracellular and extracellular pathways involved in drug-induced pulmonary fibrosis

研究代表者

湯元 良子 (Yumoto, Ryoko)

広島大学・医系科学研究科(薬)・准教授

研究者番号：70379915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：メトトレキサート(MTX)など臨床で用いられる薬剤の中には肺障害を誘発するものが多い。近年、肺線維症の主たる原因の一つとして、肺胞上皮型細胞が筋線維芽細胞へと形質転換する上皮間葉転換(EMT)の関与が注目されているが、薬剤誘発性肺線維症の発症機構を細胞・分子レベルで解析した報告は乏しい。

本研究ではヒト由来培養肺胞上皮細胞A549を用いて薬剤誘発性肺線維症誘発の分子機構について解析し、MTX誘発性EMTには細胞周期の停止、TGF- β シグナル経路を介したATF3の発現上昇、PAI-1の分泌増加およびuPARとの相互作用が関与している可能性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬剤性肺障害のうち、肺線維症は非常に重篤な障害であるが、その発症機構を細胞・分子レベルで解析した報告は乏しく、また有効な予防方法・治療方法はない。

本研究では薬剤誘発性EMTによる肺線維症に関わる分子機構を細胞内経路、細胞外経路の両面から解明することによって、肺線維症に対する新たな予防法や治療戦略を考案し得るところに学術的・社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Several anticancer drugs including methotrexate (MTX) cause serious lung diseases such as pulmonary fibrosis. Although evidences showing the association of epithelial-mesenchymal transition (EMT) with pulmonary fibrosis are increasing, the mechanism underlying anticancer drug-induced EMT has been poorly understood.

In this research, we indicated that MTX-induced EMT may be related to cell cycle arrest in human alveolar epithelial cell line, A549. It was also suggested that the transforming growth factor (TGF)- β -related signaling pathway may partly be involved in MTX-induced EMT, and MTX may induce EMT via upregulation of ATF3 expression and increase of PAI-1 secretion followed by interaction of PAI-1 with uPAR.

研究分野：医療薬理学

キーワード：薬剤誘発性肺線維症 上皮間葉転換(EMT) 肺胞上皮型細胞 細胞周期の停止 細胞外分泌因子(PAI-1) 肺線維症モデル動物

1. 研究開始当初の背景

ブレオマイシン (BLM) やメトトレキサート (MTX)をはじめ、臨床で用いられる薬剤の中には肺障害を誘発するものが多い。薬剤性肺障害のうち、特に肺線維症は5年後の死亡率が約50%にも上る非常に重篤な障害である。近年、肺線維症の主たる原因の一つとして、肺胞上皮II型細胞が筋線維芽細胞へと形質転換する上皮間葉転換 (Epithelial Mesenchymal Transition : EMT) の関与が注目されているが、薬剤による EMT や肺線維症の発症機構を細胞・分子レベルで解析した報告は乏しく、また有効な予防方法・治療方法はない。我々はこれまで、ラット肺由来 RLE-6TN 細胞に肺胞上皮II型細胞に特有なオルガネラであるラメラ体の膜上に発現している Abca3 の遺伝子を導入することによってII型細胞の形質を高めた RLE/Abca3 細胞を樹立し、薬剤性肺障害研究に有用であることを報告してきた。この細胞やヒト肺由来 A549 細胞を用いて、BLM や MTX によって EMT 誘発性サイトカイン Transforming growth factor (TGF)- β 1 による EMT と類似した形質変化が誘発されることを報告している。

また、TGF- β 1 や MTX 処置によって誘発される A549 細胞の EMT 様形態変化が TGF- β 受容体阻害剤である SB431542 (SB) で阻害されること、EMT のマーカーである α -Smooth muscle actin (α -SMA) の mRNA 発現上昇が SB で抑制されること、リン酸化 Smad2 タンパク質 (TGF- β 受容体の下流の転写因子) の増加も SB で抑制されることから、MTX による EMT の誘発には TGF- β 1/Smad2 を介したシグナル伝達経路が関与している可能性が示唆された。一方で、MTX 処置によって上昇した TGF- β 1 の遺伝子発現も SB によって抑制されたことから、細胞外に分泌される TGF- β 1 が EMT 誘発に関与している可能性も考えられた。しかし、SB による TGF- β 受容体の阻害のみでは MTX 誘発性の EMT は完全には抑制されず、また TGF- β の中和抗体の添加によっても EMT が抑制されなかったことから、薬剤性肺障害には TGF- β 経路とは異なる経路も関与している可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では①薬剤処置によって変化する細胞内経路を介した EMT 誘発と②細胞外分泌因子が関与する EMT 誘発経路 (オートクリン) の両面から、肺障害性薬剤による肺線維症誘発の分子機構について解析することを目的とする。

3. 研究の方法

薬物処置: ヒト由来培養肺胞上皮細胞 A549 に BLM (60 μ M)、TGF- β 1 (10 ng/mL)、パクリタキセル (PTX, 25 nM) を播種後1日目から72時間処置、あるいは MTX (0.3 μ M) を播種後1日目から72または144時間処置し、葉酸 (FA, 300 μ M) 共存の影響も検討した。また、thymidine (THY, 1 mM) および nocodazole (NOC, 100 ng/mL) は播種後1日目から24時間あるいは72時間処置した。

mRNA 発現解析: A549 細胞から total RNA を抽出後、逆転写反応によって cDNA を調製し、real-time PCR 法にて mRNA 発現量を定量した。さらに microarray を用いて、網羅的な遺伝子発現変動を解析した。

A549 細胞の cloning: A549 細胞を限界希釈法により 20 cells/100 mm dish となるように播種し、12日間培養後、クローニングシリンダーを用いて各コロニーを単離・培養した。

肺線維症モデル動物の作出: マウスおよびラットにそれぞれ 5 mg/kg および 15 mg/kg の BLM を単回経肺投与し、14あるいは21日後の肺を単離後、Hydroxyproline Assay Kit (Cell Biolabs, Inc.) を用いてヒドロキシプロリン量を定量し、線維化の指標とした。

4. 研究成果

1) 細胞周期と EMT の関連性:

MTX で144時間処置した A549 細胞から抽出した遺伝子を microarray で解析した結果、未処置群と比較して、MTX によって発現変動比が増減を含め4倍以上であった遺伝子が470種類見出された。そのうち MTX antagonist である FA によって発現変動が未処置群のレベルまで抑制された100種類の遺伝子群を GO 解析および KEGG による Pathway 解析したところ、細胞周期をアノテーション情報として含む遺伝子が最も有意に多く含まれていることが明らかになった (Table 1)。

また、細胞周期停止薬である THY および NOC は、A549 細胞をそれぞれ S 期および G2/M 期に停止させ、EMT マーカーである α -smooth muscle actin (α -

Table 1. KEGG による Pathway 解析

Term	Count	%	P-value
cell cycle	9	9.7	5.0E-8
oocyte meiosis	8	8.6	4.5E-7
p53 signaling pathway	5	5.4	2.1E-4
progesterone-mediated oocyte maturation	5	5.4	5.8E-4
HTLV-I infection	6	6.5	5.1E-3

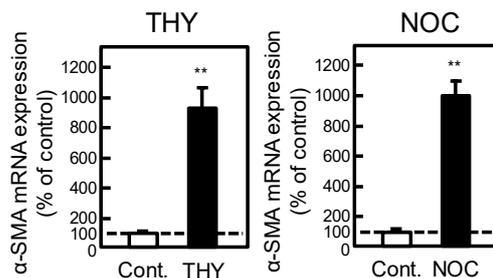


Fig. 1. α -SMA の mRNA 発現に及ぼす THY および NOC の影響 ** p<0.01, vs Cont.

SMA)の mRNA 発現を顕著に増加させたことから (Fig. 1)、細胞周期の停止が EMT の誘発に関与する可能性が示された。

A549 細胞の細胞周期は、抗がん剤である BLM, MTX および PTX 処置によって、それぞれ G2/M、S、および G2/M 期に停止し、 α -SMA のタンパク質発現レベルはいずれの薬物によっても G1 期と比べて、S および G2/M 期で有意に高くなった。また、セルソーティングによって MTX 処置細胞をそれぞれ G1, S および G2/M 期の細胞集団に分取し、各細胞集団の α -SMA の mRNA 発現レベルを比較した結果、未処置群の G1 期の場合と比べて、MTX 処置細胞の全ての細胞周期における α -SMA の mRNA 発現レベルは有意に高かった。さらに、MTX 処置細胞において、G1 期と比較して S および G2/M 期における α -SMA の mRNA 発現が有意に高いことが明らかになった (Fig. 2)。一方、細胞周期を停止させた細胞に抗がん剤を処置した場合、 α -SMA の発現増強作用は認められなかった。

以上の結果から、A549 細胞において、薬剤誘発性 EMT には細胞周期の停止が一部関与している可能性が示された。

2) EMT における ATF3 の関与 :

1) の microarray 解析データを用いて、MTX 処置によって発現が 4 倍以上増加し、(MTX+FA) / MTX < 0.25 かつ 0.5 < (MTX+FA) / control < 2.0 の範囲で変化した遺伝子が 17 種類抽出された。その一つである activating transcription factor 3 (ATF3) は、ATF/CREB ファミリー転写因子であり、ATF3 の発現レベルは、ほとんどの細胞において無刺激状態では極めて低いものの、DNA 損傷などのストレスシグナルによって発現の誘導及び活性化が認められ、細胞内ホメオスタシスの制御に関与していると考えられている。さらに、遊走性乳癌細胞 MCF10CA に ATF3 遺伝子を導入した際に EMT が誘導され、ATF3 を knockdown した際には EMT が抑制されることも報告されている。そこで、A549 細胞を MTX で処置したところ、ATF3 mRNA 発現は顕著に増加し、さらに FA の共存によって発現増加抑制効果が認められた (Fig.3)。そのメカニズムを解明するため、ER ストレス誘発性薬物 thapsigargin (TG : 0.1 μ M) を処置した結果、ATF4 および ATF3 の mRNA 発現の増加を認めたものの、 α -SMA の mRNA 発現を有意に低下させた。また、ATF4 の mRNA 発現に対する MTX の影響は認められなかったことから、MTX による ATF3 誘導に ER ストレスは関与しない可能性が示された。

次に、線維化誘発因子である TGF- β 1 によって活性化される SMAD 経路について検討した。SMAD 経路は、EMT の誘発と深く関係し、当研究室でも A549 細胞における MTX 誘発性 EMT に SMAD 経路が関与することを報告している。また、SMAD 経路の伝達を担う転写因子 SMAD3 のリン酸化によって ATF3 の発現が誘導されるとの報告があることから、MTX は SMAD 経路を介して ATF3 の mRNA 発現を増加させている可能性が考えられた。そこで、MTX による ATF3 の mRNA 発現の増加に対する TGF- β レセプターキナーゼ阻害剤 SB431542 (SB)の影響について検討を行った。その結果、MTX によって増加した ATF3 mRNA は SB の共存によって発現が有意に抑制され (Fig. 4)、MTX による ATF3 の発現誘導に SMAD 経路が関与している可能性が示された。

3) A549 細胞の cloning および各クローン細胞における ATF3 発現と EMT の関連解析 :

ヘテロな細胞集団と考えられる A549 細胞に対してセルクローニングを行い、20 種類のクローン

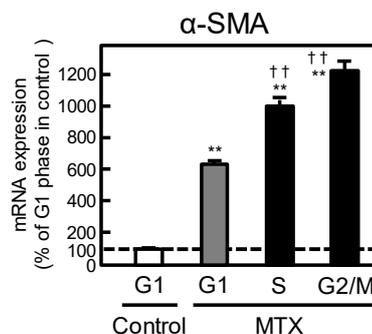


Fig. 2. MTX 処置後の各細胞周期における α -SMA の mRNA 発現

**p<0.01, vs G1 phase in Control

††p<0.01, vs G1 phase in MTX

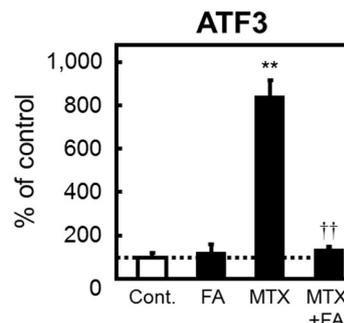


Fig. 3. ATF3 mRNA の発現に及ぼす MTX および FA の影響 mean \pm S.E. (n=3), **p<0.01, vs control. ††p<0.01, vs MTX.

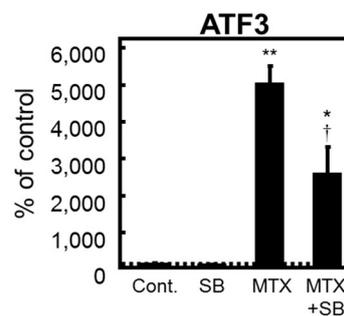


Fig. 4. MTX による ATF3 mRNA の発現増加に及ぼす SB の影響

mean \pm S.E. (n=3), *p<0.05, **p<0.01, vs control. †p<0.05, vs MTX.

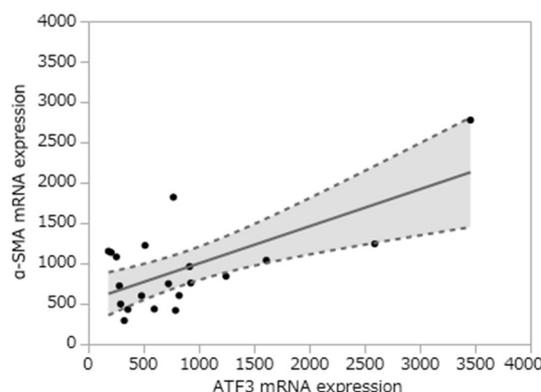


Fig. 5. 各クローン細胞における MTX による ATF3 と α -SMA の mRNA 発現の増加率の相関図

各プロットは一つのクローン細胞を、網掛け部分は 95%信頼区間を示す。

細胞を得た。各クローン細胞において、MTX による ATF3 および α -SMA の mRNA 発現の増加率 (%) を算出し、ATF3 の増加率を横軸に、 α -SMA の増加率を縦軸にプロットし、二変量解析を行った。その結果、ATF3 と α -SMA の発現変動には比較的高い相関関係が認められることが明らかになった (Fig. 5)。従って、MTX による ATF3 の発現誘導が、MTX による EMT の誘発に関連している可能性が強く示唆された。

4) EMT 誘発における細胞外分泌因子の関与:

次に、MTX 誘発性 EMT に関与する細胞外分泌因子を探索するため、1) の microarray 解析データを用いて、MTX 処置によって発現変動比が 8 倍以上増加した 65 種類の遺伝子について、GO term に "extracellular region" 並びに "extracellular space" を持つ遺伝子を検索した。その結果、24 遺伝子が候補として挙げられ、serine-type endopeptidase inhibitor activity や fibrinolysis pathway など plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) の活性に関わるアノテーション情報を持った遺伝子が統計的に有意に多いことが明らかとなり、PAI-1 が MTX 誘発性 EMT に関与している細胞外分泌因子である可能性が見出された。

Fig. 6 に示すように、細胞内の PAI-1 の mRNA およびタンパク質発現は MTX の処置によって有意に上昇したが、SB の共存によってそれら発現上昇は有意に抑制された。さらに、細胞外への PAI-1 分泌量も、MTX によって有意な上昇が認められた (Fig. 7)。従って、PAI-1 が MTX 誘発性 EMT に関与する分泌因子であり、その分泌には TGF- β シグナル経路が関与している可能性が示唆された。

PAI-1 の発現と EMT の指標である α -SMA の mRNA 発現との相関関係について解析するため、ヘテロな細胞集団の A549 細胞に対してセルクローニングを行い、30 種類の新たなクローン細胞を得た。各クローン細胞において MTX による PAI-1 及び α -SMA の mRNA 発現の増加率 (%) を算出し、二変量解析を行ったところ、PAI-1 と α -SMA の発現変動には比較的高い正の相関関係が認められた (Fig. 8)。

さらに、MTX 誘発性 EMT に対する PAI-1 の阻害剤である tiplaxtinin の影響について検討を行った結果、MTX によって増加した EMT マーカーである α -SMA の mRNA 発現は、tiplaxtinin の共存によって有意に抑制された (Fig. 9)。

以上の結果から、MTX による PAI-1 の発現増加が MTX による EMT の誘発に関与している可能性が示唆された。

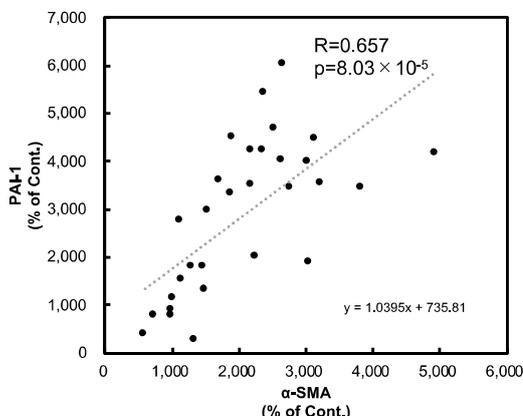


Fig. 8. Relationship between mRNA expression level of PAI-1 and α -SMA induced by MTX in cloned A549 cells

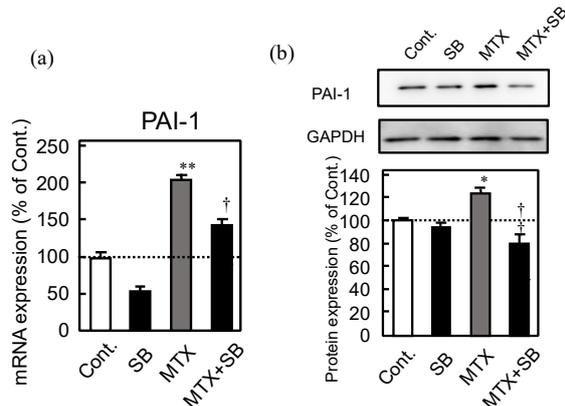


Fig. 6. Effect of SB on MTX-induced increase in mRNA (a) and protein (b) expression of PAI-1. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, vs Cont. † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$, vs MTX.

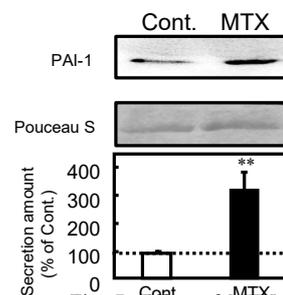


Fig. 7. Effect of MTX on PAI-1 secretion. ** $p < 0.01$, vs Cont.

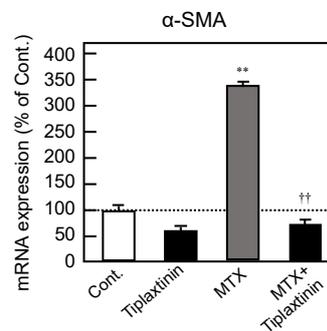


Fig. 9. Effect of tiplaxtinin on MTX-induced increase in mRNA expression of α -SMA. ** $p < 0.01$, vs Cont., †† $p < 0.01$, vs MTX.

細胞外へと分泌された PAI-1 は urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) と相互作用し、細胞内シグナル伝達経路を活性化し、EMT の誘発に関与していることが報告されている。そこで、MTX 誘発性 EMT に対する uPAR のノックダウンの影響について検討を行った結果、si uPAR の導入による uPAR の mRNA およびタンパク質発現に有意な低下が認められ (Fig. 10a, b)、さらに MTX によって増加した α -SMA の mRNA 発現は uPAR のノックダウンによって有意に抑制された (Fig. 10 c)。

従って、MTX によって細胞外に分泌された PAI-1 は uPAR との相互作用を介して EMT の誘発に関与している可能性が示唆された。

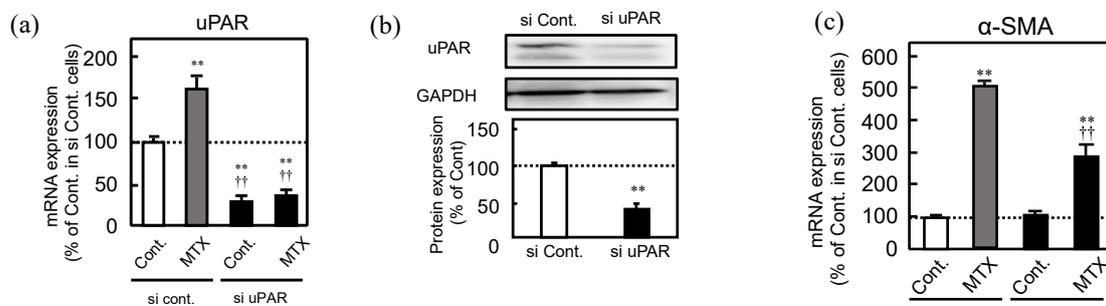


Fig. 10. Effect of knockdown of uPAR on uPAR mRNA (a) and protein (b) expression and MTX-induced increase in mRNA expression of α -SMA (c).
 ** $p < 0.01$, vs Cont. in si cont. †† $p < 0.01$, vs MTX in si cont.

5) 肺線維症モデル動物での検討:

マウスおよびラットにそれぞれ 5 mg/kg および 15 mg/kg の BLM を単回経肺投与し、14 あるいは 21 日後の肺を単離後、ヒドロキシプロリン量を定量した結果、いずれにおいても control 群と比較して BLM 投与群で有意なヒドロキシプロリン量の増加が認められた。さらに、BLM 投与後のマウス肺から単離した初代培養肺胞上皮 II 型細胞において、投与 14 日後には α -SMA mRNA の有意な増加が認められ、投与 21 日後には線維化の原因である細胞外マトリックスの主成分であるコラーゲン (col1A1) の mRNA の発現が有意に増加した。また、BLM 投与後のラット肺から単離した初代培養肺胞上皮 II 型細胞における α -SMA および col1A1 の mRNA 発現は、投与 7 日後には変化が認められなかったが、投与 14 日後においては有意に増加した。当研究室では *in vitro* 培養細胞実験において II 型肺胞上皮細胞のマーカーである Abca3 の mRNA 発現が EMT 誘発に伴って有意に減少していることを報告していることから、BLM 投与後 14 日のラット肺から単離した初代培養肺胞上皮 II 型細胞の Abca3 を免疫染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した結果、Abca3 の発現がタンパク質レベルで低下していることが確認された。

従って、マウスおよびラットにそれぞれ 5 mg/kg および 15 mg/kg の BLM を単回経肺投与することによって肺線維症モデル動物の作出に成功したと考えられる。今後はこれらのモデル動物を用いて *in vivo* においても *in vitro* と同様なメカニズムで EMT が誘発されるかなどについて検討する予定である。

以上の結果から、ヒト由来培養肺胞上皮細胞 A549 において、MTX 誘発性 EMT には細胞周期の停止や、細胞内因子として ATF3、細胞外因子として TGF- β シグナル経路を介した PAI-1 の分泌、および uPAR との相互作用が関与している可能性が示された。これらの知見は、臨床現場で頻発している薬剤誘発性肺線維症の発症メカニズムの一部を解明するものであり、肺線維症の防御法や治療法を開発する上で有用な基礎的知見になると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamagami, Y., Kawami, M., Ojima, T., Futatsugi, S., Yumoto, R., Takano, M.	4. 巻 525
2. 論文標題 Role of plasminogen activator inhibitor-1 in methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial A549 cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 543-548
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.02.131	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ojima, T., Kawami, M., Yumoto, R., Takano, M.	4. 巻 37
2. 論文標題 Differential mechanisms underlying methotrexate-induced cell death and epithelial-mesenchymal transition in A549 cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Toxicol Res.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s43188-020-00067-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takano, M., Deguchi, J., Senoo, S., Izumi, M., Kawami, M., Yumoto, R.	4. 巻 35
2. 論文標題 Suppressive effect of quercetin against bleomycin-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Drug Metab. Pharmacokinet.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dmpk.2020.08.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uddin, M., Kawami, M., Yumoto, R., Takano, M.	4. 巻 393
2. 論文標題 Effect of transforming growth factor- 1 on functional expression of monocarboxylate transporter 1 in alveolar epithelial A549 cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 889-896
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00210-019-01802-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawami, M., Honda, N., Hara, T., Yumoto, R. and Takano, M.	4. 巻 34
2. 論文標題 Investigation on inhibitory effect of folic acid on methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition focusing on dihydrofolate reductase.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Drug Metab. Pharmacokinet.	6. 最初と最後の頁 396-399
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dmpk.2019.08.003.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawami, M., Harada, R., Ojima, T., Yamagami, Y., Yumoto, R. and Takano, M.	4. 巻 424
2. 論文標題 Association of cell cycle arrest with anticancer drug-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Toxicology	6. 最初と最後の頁 152231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tox.2019.06.002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawami, M., Honda, N., Miyamoto, M., Yumoto, R. and Takano, M.	4. 巻 71
2. 論文標題 Reduced folate carrier-mediated methotrexate transport in the human distal lung epithelial NCI-H441 cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Pharm. Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 167-175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jphp.13022.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takano, M., Takeuchi, T., Kuriyama, S. and Yumoto, R.	4. 巻 229
2. 論文標題 Role of peptide transporter 2 and MAPK signaling pathways in the innate immune response induced by bacterial peptides in alveolar epithelial cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Life Sci.	6. 最初と最後の頁 173-179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lfs.2019.05.042.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawami, M., Harabayashi, R., Harada, R., Yamagami, R., Yumoto, R. and Takano, M.	4. 巻 497
2. 論文標題 Folic acid prevents methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition via suppression of secreted factors from the human alveolar epithelial cell line A549	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 457-463
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.02.111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawami, M., Yamada, Y., Issarachot, O., Junyaprasert, V. B., Yumoto, R., Takano, M.	4. 巻 73
2. 論文標題 P-gp modulating effect of Azadirachta indica extract in multidrug-resistant cancer cell lines	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pharmazie	6. 最初と最後の頁 104-109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1691/ph.2018.7116.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawami, M., Shimonakamura, T., Yumoto, R. and Takano, M.	4. 巻 21
2. 論文標題 Transport of AOPP-albumin into human alveolar epithelial A549 cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Pharm. Pharm. Sci.	6. 最初と最後の頁 247-255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18433/jpps29905	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takano, M., Higashi, M., Ito, H., Toyota, S., Hirabayashi, Y. and Yumoto, R.	4. 巻 73
2. 論文標題 Functional expression of breast cancer resistance protein and cholesterol effect in human erythrocyte membranes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pharmazie	6. 最初と最後の頁 700-705
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1691/ph.2018.7116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計27件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 10件）

1. 発表者名 本多未来一、川見昌史、湯元良子、高野幹久
2. 発表標題 肺胞上皮におけるメトトレキサート誘発性上皮間葉転換とNrf2の関連解析
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 普久原梨沙、小島崇路、湯元良子、川見昌史、高野幹久
2. 発表標題 メトトレキサート誘発性上皮間葉転換におけるITGA2の関与
3. 学会等名 第59回日本薬学会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sorahito Futatsugi, Ryoko Yumoto, Masashi Kawami, Mikihisa Takano
2. 発表標題 Relationship between abemaciclib-induced cytotoxicity and epithelial-mesenchymal transition in a549 cells.
3. 学会等名 35nd JSSX Annual Meeting in Tsukuba (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Miho Izumi, Shunsuke Senoo, Masashi Kawami, Ryoko Yumoto, Mikihisa Takano
2. 発表標題 Role of high glucose and advanced glycation end products in inducing epithelial-mesenchymal-transition in alveolar epithelial cells
3. 学会等名 35nd JSSX Annual Meeting in Tsukuba (国際学会)
4. 発表年 2020年

1 . 発表者名 Ryoko Yumoto, Ayano Yamamoto, Takashi Konaka, Shinnosuke Takenaka, Masashi Kawami, Mikihisa Takano
2 . 発表標題 Role of microRNAs in drug-induced epithelial-mesenchymal transition in human lung-derived alveolar type II epithelial cell model A549/ABCA3.
3 . 学会等名 12th International ISSX Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masashi Kawami, Ryoko Yumoto, Mikihisa Takano
2 . 発表標題 Potent inhibitory effect of vandetanib on methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial A549 cells.
3 . 学会等名 AAPS 2019 PharmSci 360 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Mohi Uddin, Masashi Kawami, Ryoko Yumoto, Mikihisa Takano
2 . 発表標題 Relationship between TGF β 1 induced EMT and monocarboxylate transporter 1 (MCT1) in alveolar epithelial A549 cells.
3 . 学会等名 AAPS 2019 PharmSci 360 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Takamichi Ojima, Ryoko Yumoto, Masashi Kawami, Mikihisa Takano
2 . 発表標題 Association of methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition with apoptosis in human alveolar adenocarcinoma cell line A549 cells
3 . 学会等名 34nd JSSX Annual Meeting in Tsukuba
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 Takuya Hara, Ryoko Yumoto, Masashi Kawami, Mikihisa Takano
2. 発表標題 Role of nuclear factor erythroid 2 like-2 in methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in cultured human alveolar epithelial A549 cells.
3. 学会等名 34nd JSSX Annual Meeting in Tsukuba
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masashi Kawami, Ryoko Yumoto, Mikihisa Takano
2. 発表標題 Suppressive effect of vandetanib on drug-induced epithelial-mesenchymal transition via inhibition of p53 pathway
3. 学会等名 34nd JSSX Annual Meeting in Tsukuba
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Konaka, Ayano Yamamoto, Shinnosuke Takenaka, Masashi Kawami, Ryoko Yumoto, Mikihisa Takano
2. 発表標題 In vitro and In vivo study on association of miR-484 with drug-induced epithelial-mesenchymal transition.
3. 学会等名 第13回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ayano Yamamoto, Masashi Kawami, Takashi Konaka, Shinnosuke Takenaka, Ryoko Yumoto, Mikihisa Takano
2. 発表標題 Role of miR-34a/p53 axis in drug-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells.
3. 学会等名 第13回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yohei Yamagami, Sorahito Futatsugi, Ryoko Yumoto, Masashi Kawami, Mikihisa Takano
2. 発表標題 Role of plasminogen activator inhibitor-1 in methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells.
3. 学会等名 第13回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川見昌史、山上洋平、湯元良子、高野幹久
2. 発表標題 メトトレキサート誘発性上皮間葉転換に及ぼすPAI-1の影響解析
3. 学会等名 第11回日本RNAi研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川見昌史、山上洋平、妹尾俊祐、湯元良子、高野幹久
2. 発表標題 肺胞上皮細胞における薬物誘発性上皮間葉転換を抑制する化合物の探索とその特性解析
3. 学会等名 日本薬剤学会第35年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小中崇史、山本彩乃、竹中慎之介、川見昌史、湯元良子、高野幹久
2. 発表標題 肺障害性薬物によるヒト肺胞上皮II型細胞モデルA549/ABCA3の上皮間葉転換とmiRNAの関連解析
3. 学会等名 日本薬剤学会第35年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹中慎之介、山本彩乃、川見昌史、湯元良子、高野幹久
2. 発表標題 新規肺胞上皮細胞モデルを用いた肺障害性薬物による上皮間葉転換とmiR-34aの関連解析
3. 学会等名 第58回日本薬学会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 二木空人、山上洋平、湯元良子、川見昌史、高野幹久
2. 発表標題 肺胞上皮細胞におけるメトトレキサート誘発性上皮間葉転換に対するSrc阻害剤の影響解析
3. 学会等名 第58回日本薬学会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yohei Yamagami, Ryoko Yumoto, Masashi Kawami, Mikihisa Takano
2. 発表標題 Role of plasminogen activator inhibitor-1 in methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in cultured human alveolar epithelial A549 cells
3. 学会等名 2018 MD0/33nd JSSX Annual Meeting in Kanazawa (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ayano Yamamoto, Masashi Kawami, Ryoko Yumoto, Mikihisa Takano
2. 発表標題 Role of miR-34a and p53 pathway in drug-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells
3. 学会等名 2018 MD0/33nd JSSX Annual Meeting in Kanazawa (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masashi Kawami, Takamichi Ojima, Risako Harada, Ryoko Yumoto, Mikiyoshi Takano
2. 発表標題 Search for the compound preventing drug-induced epithelial-mesenchymal transition and its mechanism in alveolar epithelial RLE/Abca3 cells
3. 学会等名 2018 MDO/33nd JSSX Annual Meeting in Kanazawa (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shunsuke Senoo, Junya Deguchi, Ryoko Yumoto, Mikiyoshi Takano
2. 発表標題 Study on association of drug-induced cell cycle arrest with epithelial-mesenchymal transition in A549 cells
3. 学会等名 2018 MDO/33nd JSSX Annual Meeting in Kanazawa The 1st Workshop of The Research Center for Drug Development and Biomarker Discovery (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川見昌史、山本彩乃、湯元良子、高野幹久
2. 発表標題 肺障害性薬物による肺胞上皮細胞の上皮間葉転換とmiRNAの関連解析
3. 学会等名 日本薬学会第33年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 原拓也、本田奈津子、湯元良子、川見昌史、高野幹久
2. 発表標題 肺胞上皮細胞におけるメトトレキサート誘発性上皮間葉転換に対する葉酸代謝機構の影響解析
3. 学会等名 第57回日本薬学会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小島崇路、原田梨紗子、湯元良子、川見昌史、高野幹久
2. 発表標題 In 肺胞上皮細胞におけるメトトレキサート誘発性上皮間葉転換に対する葉酸代謝機構の影響解析
3. 学会等名 第57回日本薬学会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masashi Kawami, Yohei Yamagami, Risako Harada, Takamichi Ojima, Ryoko Yumoto, Mikihisa Takano
2. 発表標題 In vitro study on secreted factors associated with drug-induced epithelial-mesenchymal transition in A549 cells
3. 学会等名 The 1st Workshop of The Research Center for Drug Development and Biomarker Discovery (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川見昌史、原田梨紗子、小島崇路、湯元良子、高野幹久
2. 発表標題 肺胞上皮細胞に対するメトトレキサートの抗がん効果と上皮間葉転換誘発作用の関連解析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------