

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590173

研究課題名（和文）薬物動態関連酵素誘導研究の新展開：新規酵素誘導の分子機構解明に関する研究

研究課題名（英文）A new study of enzyme induction involved in pharmacokinetic: Identification of molecular mechanism for a novel enzyme induction

研究代表者

永田 清（NAGATA KIYOSHI）

東北薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：80189133

研究成果の概要（和文）：

薬物代謝酵素 CYP3A4 と排出型トランスポーターMRP3 は、共通の薬物により肝臓にて誘導をされることから類似した新規分子機構が存在することが予測された。クロトリマゾールおよび Aryl hydrocarbon Receptor (AhR) のリガンドである多環芳香族炭水素化合物は HepG2 細胞にて CYP3A4 および MRP3 を強く誘導した。しかし、CYP3A4 の誘導には、いずれの化学物資も Pregnane X Receptor (PXR) の活性化が関与し、AhR は関与しないことが判明した。一方、MRP3 の誘導には PXR は関与せず、エンハンサー領域の遺伝子解析より AhR 結合配列に類似する領域（-6,8Kb）が誘導に関わることを見いだしたが、AhR は MRP3 の誘導には関与しないことが明らかとなった。本研究から CYP3A4 誘導には PXR が主に関わっており、MRP3 の誘導には既存のレセプターが関与しない新規遺伝子転写活性化機構が関わっていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Drug metabolizing enzyme CYP3A4 and excretory transporter MRP3 are induced by same compounds, being predicted the existence of similar molecular mechanism in both induction. CYP3A4 and MRP3 were strongly induced by treatment with clotrimazole and aryl hydrocarbon receptor (AhR) ligands such as polycyclic aromatic hydrocarbons. Those compounds induced CYP3A4 through activation of pregnane X receptor (PXR) but not through activation of AhR. On the other hand, MRP3 induction was not involved in AhR activation, although a region including a nucleotide sequence similar to AhR binding cis-element was found in an enhancer region (-6.8Kb). Together with these results, CYP3A4 is predominantly induced through activation of PXR and MRP3 seems to be induced through a novel gene transcription involving no receptor previously reported.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2009 年度 | 2,200,000 | 660,000 | 2,860,000 |
| 2010 年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 2011 年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,700,000 | 1,110,000 | 4,810,000 |

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：MRP3、酵素誘導、転写因子、核内レセプター、CYP3A4

1. 研究開始当初の背景

薬物の血中濃度に大きな影響を与える薬物代謝酵素やトランスポーター等の薬物動態関連酵素の発現は、種々の要因によって影響を受けるために大きな個人差を引き起こしやすい。中でも非常に強い酵素誘導を起こす薬物は、他の薬物の薬効を低下させ薬物相互作用を引き起こすために、現在の医薬品の開発あるいは薬物療法においては、薬物投与による薬物動態関連酵素誘導を事前に予測することが大変重要となっている。これらの酵素誘導は、主に肝臓と小腸において認められ、特に近年、小腸における酵素誘導も薬物相互作用を引き起こすことが判明し大きな問題となっている。現在、薬物を含む多くの化学物質が、これらの酵素誘導を引き起こすことが明らかとなっているが、誘導様式と化学物質の構造相関性は明らかとなっておらず、その詳細な分子機構も明らかとなっていない。そのため、薬物を合成する過程において予めその化学構造から酵素誘導を予測できず、事前の酵素誘導の回避は難しい。

2. 研究の目的

化学物質の曝露による薬物動態関連酵素の誘導をより正確に予測するために、従来から説明されている酵素誘導分子機構に加え、申請者が見出した新規酵素誘導分子機構を詳細に解明することが必要である。現在申請者の研究から CYP3A4 および MRP3 の誘導に関与する遺伝子上の新規領域はすでに明らかになっており、本研究ではこの領域中に存在する転写因子が結合するシス-エレメントを同定する。これと平行して誘導に関与する新規レセプターの同定を行い、その誘導分子機構が同じであるか否かを明らかとする。

3. 研究の方法

1) CYP3A4 誘導に関わる新規シス-エレメントの同定

申請者が見出した CYP3A4 誘導に必須の DNA 領域(mieCYP3A4)には、核内レセプターが結合する TGAAC 様塩基配列が複数力所存在している。しかも、この領域はリファンピシン型とクロトリマゾール型の CYP3A4 誘導を引き起こすためには重要である事も判明している。本研究では、この DNA 領域を解析し、リファンピシン型誘導に関わっているシス-エレメントおよびクロトリマゾール型誘導に

必要なシス-エレメント(特異的塩基配列)をそれぞれ同定する。

ヒト MRP3 誘導に関わる新規シス-エレメントの同定

申請者は CYP3A4 を誘導するクロトリマゾール型に分類される化学物質がヒト MDR3 の誘導を引き起こす事を見いだしており、また、その誘導にはヒト MDR3 遺伝子のエンハンサー領域約 7kbp あたりが必要である事を既に突き止めている。本研究では、誘導に関わる領域(約 100bp)をさらに解析し、シス-エレメントを同定する事によりどのような転写因子が結合可能か予測する。

3) CYP3A4 誘導に関わる新規レセプターの探索

肝臓における CYP3A4 誘導には、現在の所 3 つの遺伝子領域が関与する事が報告されているが、中でも我々が見いだした mieCYP3A4 領域はリファンピシン型誘導には必須であり、PXR が中心的役割を担っている事が判明している。一方、クロトリマゾール型 CYP3A4 誘導にも PXR が関与するが、mieCYP3A4 領域を用いた転写活性化の研究から、PXR 以外のレセプターの関与も予測された。本研究では肝臓に高く発現している既存のレセプターに的を絞って、それらの siRNA を用いて mRNA の発現を抑制する事で、PXR 以外のどのレセプターが誘導に関与するのか否かを調べる。

4) ヒト MRP3 誘導に関わる新規レセプターの探索

申請者の現在までのリガンドあるいは shRNA を用いた研究結果より、ヒト MRP3 の誘導には薬物動態関連酵素誘導に関与する事が報告されている核内レセプター(PXR, CAR, VDR, FXR, LXR, GR)は関与しない事が判明している。誘導に関与するシス-エレメントが同定され、その結果より核内レセプターの関与が予測されたならば、先に調べた以外の核内レセプターの siRNA を用いて mRNA の発現抑制を行い誘導に関与するレセプターを見いだす。核内レセプターでない場合は、他の既知のレセプターについても同様に siRNA を用いて mRNA の発現抑制する事で検討を行う。

4. 研究成果

1) CYP3A4 の誘導分子機構について

本研究では、既知の CYP3A4 誘導剤である RIF、

CTZ と、近年 CYP3A4 誘導を引き起こすことが明らかとなった PAHs、さらに PAHs 同様 CYP1A1/1A2 の誘導剤である TCDD について CYP3A4 遺伝子転写活性化機構の比較検討を行った。PAHs の多くは CYP3A4 を誘導するが、本研究では、PAHs の中でも特に D[a, h]A において CYP3A4 レポーター活性および CYP3A4 mRNA 発現レベルの顕著な上昇が認められたため、PAHs として D[a, h]A を用いた。

CYP3A4 遺伝子の転写活性化では、シスエレメント prER-6、dNR-1 および mRE3A4 が重要な役割を果たすことが報告されている。まず、4 種の化合物における prER-6 および dNR-1 の関与を検討したところ、dNR-1 に変異を導入したプラスミド pCYP3A4-362-7.7km では、RIF と CTZ は顕著にレポーター活性が減少していたが、D[a, h]A および TCDD におけるレポーター活性の低下は RIF、CTZ と比較して弱かった。したがって、D[a, h]A および TCDD による CYP3A4 遺伝子転写活性化には、dNR-1 と pER-6 以外の領域が関与している可能性が示唆された。更に、CYP3A4 プロモーター領域に mRE3A4 を直結させたプラスミド pCYP3A4-362+mRE において、CTZ、D[a, h]A および TCDD では顕著なレポーター活性の上昇が認められたことから、mRE3A4 はこれら 3 種の化合物による CYP3A4 遺伝子転写活性化に重要なシスエレメントである可能性が示唆された。

次に、mRE3A4 の配列中に含まれる各ハーフサイトに変異を導入し、各化合物におけるレポーター活性を比較検討した。 α 、 β ハーフサイトは近年見出された direct repeat (DR) -4 型のシスエレメント、the essential distal nuclear receptor binding element for CYP3A4 induction (eNR3A4) であり、PXR が結合することが報告されている。および β ハーフサイトへの変異の導入により RIF、CTZ、D[a, h]A および TCDD において著しくレポーター活性が低下したため、今回用いた 4 種の化合物による CYP3A4 遺伝子転写活性化は、eNR3A4 を介して引き起こされることが示唆された。更に、eNR3A4 は PXR の結合サイトであることから、D[a, h]A および TCDD による転写活性化にも PXR が関与する可能性が考えられた。今回、D[a, h]A と TCDD における PXR の関与を明らかにするため、HepG2 細胞に Ad-hPXR を 0、1、5、10 MOI で感染させ、ウイルス力価ごとの CYP3A4 レポーター活性を比較検討したが、D[a, h]A および TCDD では RIF、CTZ 程のレポーター活性の上昇は認められなかった。そこで、pCYP3A4-362-7.7k を染色体内に導入して樹立された 3-1-20 細胞に hPXR-siRNA を導入し、PXR の発現をノックダウンさせることによる

CYP3A4 遺伝子転写活性化への影響を検討した。Fig. 10 に示すように、既知の PXR リガンドである RIF および CTZ だけではなく、D[a, h]A、TCDD においても hPXR-siRNA により著しい CYP3A4 レポーター活性の低下が認められ、D[a, h]A および TCDD による CYP3A4 遺伝子転写活性化には PXR が重要であることが示唆された。今後ゲルシフトアッセイなどを用い、D[a, h]A および TCDD に対する PXR の関与を確認する予定である。また、HepG2 細胞にレポータープラスミドを一過性に発現させて検討を行ったレポーター活性は、CYP3A4 レポーター安定発現細胞株を用いたコントロールのレポーター活性よりも低かった。この原因は不明であるが、MOI の増加に対する上昇率が低かったことから、あるいは PXR 以外の転写因子が関与する可能性も考えられる。

更に、mRE3A4 における複数のハーフサイトのうち、CTZ、D[a, h]A、TCDD では γ ハーフサイトへの変異の導入でもレポーター活性が低下した。RIF ではレポーター活性が上昇していたことから、このハーフサイトを介する転写活性化には、PXR 以外の他の転写因子が関与する可能性がある。現在、この γ ハーフサイト近辺の配列に一塩基ずつ変異を導入したレポータープラスミドを作成し、CTZ、D[a, h]A、TCDD による転写活性化に関わるシスエレメントの同定を進めている。

また、CYP3A の誘導には種差が存在することが知られている。そこで、RIF、CTZ、D[a, h]A および TCDD の CYP3A 分子種誘導における種差を明らかにするため、ラット肝癌由来 Reuber 細胞に Ad-hPXR を感染させ、hPXR を発現させた条件下での pCYP3A4-362-7.7k における CYP3A4 レポーター活性を検討した。Ad-hPXR 0 MOI と比較して、Ad-hPXR を感染させ hPXR を発現させた場合に CYP3A4 レポーター活性の著しい上昇が認められたことから、今回用いた 4 種の化合物による CYP3A 誘導にも種差が存在する可能性が示唆された。そこで、ラットにおける CYP3A4 ホモログである CYP3A1 の mRNA 発現レベルについて、RIF、3-MC および DEX による影響を検討した。これまでの研究より、RIF による CYP3A 誘導の種差は、ヒトとラットの間で PXR の ligand binding domain (LBD) の相同性が 76%と低いために起こると考えられている。Ad-hPXR を感染させない場合、RIF による CYP3A1 mRNA の発現は低かったことから、RIF は Reuber 細胞内在性のラット PXR を活性化させないと推測された。一方、hPXR の発現下、

RIFによりCYP3A1 mRNAの発現レベルが著しく上昇したことから、RIFによるCYP3A分子種の種差はPXRに起因するという報告は本検討においても認められた。しかし、PAHsである3-MCでは、hPXRを発現させてもCYP3A1 mRNA発現レベルの上昇は認められなかったため、PAHsによるCYP3A分子種誘導の種差には、PXRの種差以外の要因が存在する可能性が示唆された。その1つとして、今回の検討から、動物間におけるシスエレメントの差異が考えられる。dNR-1およびprER-6のDNA配列はヒトとラットの両方に存在するが、mRE3A4に相同性の高いDNA配列はマウスやラットのCYP3A遺伝子近傍には見出せない。したがって、今回明らかとなった、CYP3A4遺伝子転写活性化にmRE3A4が重要であるPAHsなどの化合物では、ヒトとその他の動物間において、CYP3A誘導に種差が生じる可能性が考えられる。

更に、転写活性化に関与する配列が異なると、それに伴う転写因子の種類も異なることが推測される。一般にPAHsおよびTCDDはaryl hydrocarbon receptor (AhR)のリガンドとなり、CYP1A1/1A2の誘導を引き起こすことが知られている。しかし、AhRがCYP3A4遺伝子転写活性化へ及ぼす影響については報告がなく、未だ不明な点が多い。今回の検討では、3-MCによりCYP3A4 mRNA発現レベルは上昇するが、ラットのCYP3A1 mRNA発現レベルは上昇しないという種差が認められた。更に、hPXRを発現させず、Reuber細胞内在性の転写因子のみでは、D[a,h]AによるCYP3A4レポーター活性は上昇しなかった。一方で、3-MCによりヒトCYP1A1 mRNA、ラットCYP1A1 mRNAは共に発現が上昇したことから、AhRはReuber細胞中にも発現しており、またAhRの活性化にはヒトとラットの間での種差が少ないと考えられる。これにも関わらずPAHsによるCYP3A誘導の種差が認められることから、AhRはCYP3A分子種に対し、直接影響を及ぼさない可能性が示唆された。更にこの予測を明確にするため、今後、ヒトについてもAhRの過剰発現あるいはノックダウンを用い、PAHsおよびTCDDによるCYP3A4遺伝子転写活性化機構におけるAhRの関与について検討を重ねる必要がある。

本研究の結果より、CYP3A4遺伝子転写活性化機構には、誘導剤により重要となるシスエレメントが異なることが示された。また、これまで不明な点が多かったPAHsおよびTCDDによるCYP3A4遺伝子転写活性化機構において、mRE3A4中のeNR3A4を介してPXRが関与する可能性があること、更に他にも転写活性化に関わる可能性のあるハーフサイトが存在することを見出した。現在PXRは、constitutive androstane

receptor (CAR) や vitamin D receptor (VDR)、GR、hepatocyte nuclear factor 4 (HNF4) などの多様な核内受容体および転写因子と相互に作用し、CYP3A4遺伝子の転写活性化機構に作用していると考えられている。今後、eNR3A4に加えて、CTZ、D[a,h]A、TCDDによるCYP3A4遺伝子転写活性化に重要だと考えられるmRE3A4中の γ ハーフサイト近傍の配列を更に解析し、関与し得る転写因子を含めた検討を行う予定である。

2) MRP3の誘導分子機構について

代表的な核内受容体のリガンドを用いて、ヒトMRP3遺伝子の転写調節への影響を検討した。本実験を進めるにあたり、ヒトMRP3遺伝子プロモーター上流領域をPCR法にて単離してレポーターコンストラクトに組み込み、pGL3-hMRP3-10kを構築した。本章における実験では、ヒト肝癌由来HepG2細胞においてPXRのリガンドであるクロトリマゾールによるヒトMRP3遺伝子の転写活性化が認められた。しかし、同様にPXRのリガンドである

rifampicin、そしてVDR、FXR、PPAR γ 、RXRおよびRARのリガンドである薬物による転写活性化は認められなかった。更に、ヒト大腸癌由来細胞においてはいずれの薬物でもヒトMRP3遺伝子の転写活性化は認められなかった。本研究およびヒトにおいてMRP3は肝で誘導されるが腸で誘導されないことから、クロトリマゾールによるMRP3遺伝子の転写活性化には、肝細胞にのみ発現している転写調節因子が深く関与している可能性が考えられた。

そこでヒトPXR過剰発現によるMRP3遺伝子転写活性化への影響を検討した。ヒトPXR過剰発現によって、クロトリマゾールによるMRP3遺伝子転写活性化が増加しなかったことから、HepG2細胞においてクロトリマゾールによるMRP3遺伝子転写活性化にPXRが関与している可能性は非常に低いことが示唆された。また、ヒト肝初代継代細胞を用いた実験においてもMRP3のmRNA量はPXRのリガンドにより増加せず、本研究による結果と一致した。次にヒトCYP3A4遺伝子およびヒトMRP3遺伝子の転写調節機構に共通点があることから、ヒトCYP3A4遺伝子転写活性化化合物を用いて、それらのヒトMRP3遺伝子転写活性化への影響を検討した。その結果、ヒトMRP3遺伝子はCYP3A4のクロトリマゾール型誘導化合物により転写活性化されることが分かった。このことから、クロトリマゾール型誘導化合物によるヒトCYP3A4遺伝子およびヒトMRP3遺伝子の転写活性化に関与している転写因子は同一である可能性が示された。また、クロトリマ

ゾールによるMRP3 遺伝子転写活性化にPXR が関与しなかったことから、クロトリマゾールによる遺伝子転写活性化にはPXR を介した経路以外の経路がある可能性が示唆された。

次に、cAMPを介したシグナル伝達系がヒトMRP3 遺伝子転写調節に関与している可能性を考え、cAMPシグナル伝達系を活性化させる数種の薬物を用いて、それらのヒトMRP3遺伝子転写活性化への影響を検討した。しかし、どの薬物によってもヒトMRP3遺伝子の転写活性化は有意に増加せず、cAMPを介したシグナル伝達系が関与していない事が示唆された。

そこでヒト MRP3 遺伝子転写活性化に関与するシスエレメントを検索し、その転写因子を特定するためにレポーターコンストラクトの改変を行った。pGL3-MRP3-10k に組み込んだ MRP3 上流断片をタ側から漸減させたレポーターコンストラクトを複数作成し、レポーターアッセイを行った。そして、MRP3 遺伝子上流 8kb-6kb の領域を欠失させた場合にクロトリマゾールによる MRP3 遺伝子転写活性化が低下する事が示され、この領域の存在するシスエレメントがクロトリマゾールによるヒトMRP3 遺伝子転写活性化に関与している可能性が考えられた。また、イソキサチオンによる MRP3 遺伝子転写活性化も同一の領域を欠失させた場合に低下することから、クロトリマゾールとイソキサチオンによる MRP3 遺伝子転写活性化には同一の転写因子およびシスエレメントが関与していると考えられた。今回の検討で、ヒト MRP3 遺伝子転写活性化に PXR が関与しているという従来の認識とは異なり、PXR ではない他の転写因子がヒト MRP3 遺伝子転写活性化に関与している可能性が高いことが示された。そこで、pGL3-basic に挿入したヒト MRP3 遺伝子上流 10 kb 断片を 5' 側から漸減させたレポータープラスミドを数種作成し、レポーターアッセイを行った。その結果、MRP3 の転写活性化に関与するシスエレメントは MRP3 遺伝子上流の約 7 kb 付近に存在することが明らかとなった。

この遺伝子領域には、CYP3A4 遺伝子転写活性化に重要である DR 領域や AhR と ARNT のヘテロダイマーが特異的に結合する配列である XRE 配列に類似した配列の存在がしており (Fig. 12)、なかでも MRP3 遺伝子転写活性化に AhR の関与の可能性が示唆されたことから、この XRE 類似配列が MRP3 遺伝子転写活性化におけるシスエレメントとして中心的な役割を果たしていることが予想される。そこで XRE 類似配列が MRP3 転写活性化に関与するシスエレメントであるか明らかにする為、MRP3 レポータープラスミドである pGL3-MRP3 ACC65 における XRE 類似配列領域に変異を導入し、それによるレポーター活性への影響を測定した。

結果、-6812b のアデニンをチミンへ変異を加えたレポータープラスミドでは、CLO、DB、TCDD 処理の全てにおいて、pGL3-MRP3 ACC65 と比べて、レポーター活性の著しい増加が認められた。また同位置のアデニンをシトシンへ変異を加えたレポータープラスミドでは CLO、DB、TCDD 処理の全てにおいて、pGL3-MRP3 ACC65 と比べて、レポーター活性の低下が認められた。次に-6810b のグアニンをアデニンへ変異を加えたレポータープラスミドでは、CLO、DB、TCDD 処理の全てにおいて、レポーター活性の著しい低下が認められた。同様に -6809b から -6806b 間においても変異による、レポーター活性の著しい低下が認められた。一方で XRE 類似配列を一塩基変異させたところ (-6809 C>A、-6808 G.>A、-6807 T>A、-6806 G>A) 著しいレポーター活性の低下が認められた。このことから、XRE 類似配列が MRP3 遺伝子転写活性化に関わるシスエレメントである可能性は極めて高いことが示唆された。XRE は転写因子 AhR が特異的に結合する配列であることから、AhR が MRP3 遺伝子転写活性化に関与する可能性が考えられたが、TCDD 処理による MRP3 mRNA の発現レベルの増加が認められず、MRP3 の遺伝子発現誘導には他の新規遺伝子転写活性化機構の存在が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計10件)

- ① Kumagai T, Suzuki H, Sasaki T, Sakaguchi S, Miyari S, Yamazoe Y, Nagata K. Polycyclic aromatic hydrocarbons activate CYP3A4 gene transcription through human pregnane X receptor. *Drug Metab Pharmacokinet.*, 2012 27 : 200-206.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmpk/27/2/27_DMPK-11-RG-094/_article
- ② Sakaguchi S, Takahashi S, Sasaki T, Kumagai T, Nagata K. Progression of Alcoholic and Non-alcoholic Steatohepatitis: Common Metabolic Aspects of Innate Immune System and Oxidative Stress. *Drug Metab Pharmacokinet.*, 2011 226:30-46.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmpk/26/1/26_DMPK-10-RV-087/_article
- ③ Tumor necrosis factor-alpha-nuclear factor-kappa B-signaling enhances St2b2 expression during 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced epidermal hyperplasia .Matsuda T, Shimada M, Sato A, Akase T, Yoshinari K, Nagata K, Yamazoe Y. *Biol Pharm Bull.* 2011 34:183-90

- https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/34/2/34_2_183/_article
- ④ Sato W, Suzuki H, Sasaki T, Kumagai T, Sakaguchi S, Mizugaki M, Miyairi S, Yamazoe Y, Nagata K. Construction of a system that simultaneously evaluates CYP1A1 and CYP1A2 induction in a stable human-derived cell line using a dual reporter plasmid. *Drug Metab Pharmacokinet.*, 2010 25:180-189.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmpk/25/2/25_2_180/_article
- ⑤ Suzuki H, Sasaki T, Kumagai T, Sakaguchi S, Nagata K. Malondialdehyde-modified low density lipoprotein (MDA-LDL)-induced cell growth was suppressed by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J Toxicol Sci.*, 2010 35:137-147.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jts/35/2/35_2_137/_article
- ⑥ Tachibana S, Yoshinari K, Chikada T, Toriyabe T, Nagata K, Yamazoe Y. Involvement of Vitamin D receptor in the intestinal induction of human ABCB1. *Drug Metab Dispos.*, 2009 7:1604-1610.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19460946>
- ⑦ Aoyama K, Yoshinari K, Kim HJ, Nagata K, Yamazoe Y. Simultaneous expression of plural forms of human cytochrome P450 at desired ratios in HepG2 cells: adenovirus-mediated tool for cytochrome P450 reconstitution. *Drug Metab Pharmacokinet.*, 2009 24:209-217.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmpk/24/3/24_3_209/_article
- ⑧ Toriyabe T, Takada T, Aratsu Y, Matsubara T, Yoshinari Y, Nagata K, Yamazoe Y. Unveiling a new essential cis-element for the transactivation of the *CYP3A4* gene by xenobiotics. *Mol Pharmacol.*, 2009 75: 677-684.
<http://molpharm.aspetjournals.org/content/75/3/677.long>
- ⑨ Nagata K. Drug Metabolism Catalyzed by Cytochrome P450. *Folia Pharmacol. Jpn.*, 2009 134:146-148.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/fpj/134/3/134_3_146/_article
- ⑩ Interaction of cytochrome P450 3A4 and UDP-glucuronosyltransferase 2B7: evidence for protein-protein association and possible involvement of CYP3A4 J-helix in the interaction. Takeda S, Ishii Y, Iwanaga M, Nurrochmad A, Ito Y, Mackenzie PI, Nagata K, Yamazoe Y, Oguri K, Yamada H. *Mol Pharmacol.* 2009 75:956-964
<http://molpharm.aspetjournals.org/content/75/4/956.long>
- [学会発表] (計 17 件)
- ① Sakaguchi S, Miura A, Takahashi S, Sasaki T, Kumagai T, Nagata K. In vitro での酸化ストレスモデルとしての鉄存在下 actinomycin D による TNF- α 誘導肝細胞障害の構築と NO の影響 日本薬学会第 132 年会 (札幌) 平成 24 年 3 月 28 日
- ② Sasaki T, Tanaka Y, Takahashi S, Kumagai T, Sakaguchi S, Matsunaga T, Nagata K. Hapatocyte nuclear factor-6 enhances expression of CYP3A4 in HepG2 cells and hepatocyte-like cells differentiated from human induced pluripotent stem cells. 第 26 回日本薬物動態学会年会 (広島) 平成 23 年 11 月 22 日
- ③ Kumagai T, Sugawara R, Miura M, Sasaki T, Miyairi S, Nagata K. Indirubin, a component of Ban-Lan-Gen, activates CYP3A4 gene transcription through human pregnane X receptor. 第 26 回日本薬物動態学会年会 (広島) 平成 23 年 11 月 22 日
- ④ Sugawara R, Kumagai T, Miura M, Takahashi S, Sasaki T, Sakaguchi S, Miyairi S, Nagata K. 板藍根による CYP3A4 活性誘導の検討 第 50 回日本薬学会東北支部大会 (仙台) 平成 23 年 10 月 29 日 (仙台)
- ⑤ 山田健太、佐々木崇光、高橋昌悟、松永民秀、永田 清: iPS 細胞を用いた肝分化誘導法の検討 第 50 回記念日本薬学会東北支部大会、2011 年 10 月 29 日 (仙台)
- ⑥ Takamitsu Sasaki, Yutaka Tanaka, Shogo Takahashi, Takeshi Kumagai, Shuhei Sakaguchi, Tamihide Matsunaga, Kiyoshi Nagata: Hepatocyte nuclear factor-6 enhances expression of CYP3A4 in HepG2 cells and hepatocyte-like cells differentiated from human induced pluripotent stem cells. 26th JSSX Annual Meeting, November 28th 2011 (広島)
- ⑦ Yuki Kondo, Takahiro Iwao, Masayoshi Saito, Takuro Niwa, Koichi Kurose, Kiyoshi Nagata, Tamihide Matsunaga: Effect of quercetin on

- differentiation into hepatocyte-like cells from human induced pluripotent stem cells. 26th JSSX Annual Meeting, November 29th 2011 (広島).
- ⑧ Ishii Y, Miyauchi Y, Koba H, Takeda S, Nagata K, Mackenzie IP, Yamazoe Y, Yamada H, Protein-protein Association of cytochrome P450 and UDP-Glucuronocyltransferase: Its Relevance to Enzyme Function. 25th JSSX Annual Meeting In Tokyo, Omiya, October 17th 2010 p180
- ⑨ Kobe H, Ishii Y, Nurrochmad A, Ikushiro S, Yamazoe Y, Nagata K, Mackenzie IP, Yamada H. Comparison of Catalytic Properties between UDP-Glucuronocyltransferase 1A7*3, an Allelic Variant, and Its Wild-type 1A7*1. 25th JSSX Annual Meeting In Tokyo, Omiya, October 18th 2010 p283
- ⑩ CYP3A4 転写活性に影響を与える FBS 中誠分の同定 福士素子、熊谷健、佐々木崇光、永田清 第49回日本薬学会東北支部大会 福島 2010年10月9日 p61
- ⑪ MRP3 における新規転写誘導機構の解明 沼田善弘、佐々木崇光、佐藤渉、松井怜美、鳥谷部貴洋、山添康、永田清 第49回日本薬学会東北支部大会 福島 2010年10月9日 p62
- ⑫ HepG2 細胞を用いた TNF- α 誘導肝障害モデルの構築 坂口修平、鈴木祐之、高橋昌悟、高橋尚子、永田清 日本薬学会 129 年会、京都、2009年3月29日、要旨集3 p.41
- ⑬ Novel Transcriptional Activation of the CYP3A4 gene Kiyoshi Nagata (Invited speaker) The 3rd Asian Pacific Regional ISSX Meeting, Bangkok. Thailand, May 10th 2009, p.17
- ⑭ Suppression Mechanism by Polycyclic Aromatic Carbons in Malondialdehyde-modified Low-Density Lipoprotein-induced Cell Growth Hiroyuki Suzuki, Takeshi Kumagai, Kiyoshi Nagata The 3rd Asian Pacific Regional ISSX Meeting, Bangkok, Thailand, May 10th 2009, p.50
- ⑮ アデノウイルスベクターを用いた薬物代謝・毒性評価系の確立 高橋昌悟、福士素子、鈴木祐之、佐々木崇光、熊谷健、山添康、永田清、第48回日本薬学会東北支部大会。仙台、2009年10月24日。要旨集 p.62
- ⑯ CYP1A1 , CYP1A2 誘導スクリーニングのための in vitro 同時評価系の構築, 佐藤渉, 田中大, 佐々木崇光, 熊谷健, 宮入伸一, 永田清, 第48回日本薬学会東北支部大会, 仙台。2009年10月24日, 要旨集 p.63
- ⑰ 多環芳香族炭化水素類による CYP3A4 転写活性化分子機構の解析 庄司理恵, 熊谷健, 佐々木崇光, 鳥谷部貴祥, 山添康, 永田清, 第48回日本薬学会東北支部大会, 仙台, 2009年10月24日, 要旨集 p.67

[図書] (計4件)

- ① 永田 清、化学物質の代謝・代謝的活性化、「考える衛生化学」, 第4版 平山晃久編 広川書店 pp. 415-443 (2011)
- ② 永田 清、薬物代謝酵素の個人変動の要因、「予防医学としての衛生化学 -健康と環境-」, 吉原新一、繪柳玲子編 広川書店 pp. 241-251 (2010)
- ③ 永田 清、医薬品の毒性に影響する要因、医薬品安全性学 第2版、吉田武美、竹内幸一編 広川書店 pp. 49-67 (2010)
- ④ 永田 清、酵素誘導、薬物代謝学 第3版、加藤隆一、山添康、横井毅編、東京化学同人 pp. 127-139 (2010)

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
永田 清 (NAGATA KIYOSHI)
東北薬科大学・薬学部・教授)
研究者番号: 80189133
- (2) 研究分担者
()
研究者番号:
- (3) 連携研究者
()
研究者番号: