

## F.研究発表

### 1.論文発表

K. Fukuzawa , Y. Inokami , J. Terao Membrane localizations of carotenoids and  $\alpha$ -tocopherol and their antioxidant properties for singlet oxygen. In "Phytochemicals and phytopharmaceuticals" (eds. Shahidi F., and Ho C. -T.) 175-184 (1999).

K. Fukuzawa Singlet oxygen scavenging in phospholipid membranes. Methods in Enzymology "Singlet oxygen, UV-A and ozone" (eds. Packer L., and Sies H.) 319, 101-110 (2000).

### 2.学会発表

福澤健治、井神靖季、小暮健太郎、徳村 彰、寺尾純二、鈴木 旭：リポソーム膜における  $\alpha$ -トコフェロールの存在様態と一重項酸素脱活活性：第10回ビタミンE研究会（札幌, 1999, 1)

福澤健治、小暮健太郎、徳村 彰、柴田 瑩、向井和男：スーパーオキシド依存性リポソーム膜脂質過酸化反応：発ガン性鉄錯体 $Fe^{3+}$ -NTAおよび $Fe^{3+}$ -EDDAの過酸化誘導特性と膜荷電：日本薬学会第119年会（徳島, 1999, 3)

福澤健治、小暮健太郎、徳村 彰、土屋浩一郎、堤下靖之、丹羽峰雄：LPSによるマウスNO合成酵素の誘導に対する食餌性ビタミンEの影響：日本薬学会第119年会（徳島, 1999, 3)

福澤健治、小暮健太郎、徳村 彰、土屋浩一郎、堤下靖之、丹羽峰雄：食餌性ビタミンEはLPSによるマウス肝NO合成酵素の誘導を増大する：日本ビタミン学会第51回大会（静岡, 1999, 6)

小暮健太郎、森田元喜、真鍋華子、徳村 彰、福澤健治：コハク酸トコフェロールによる血管平滑筋細胞死の機構解析：第72回日本生化学会大会（横浜, 1999, 10)

森田元喜、小暮健太郎、真鍋華子、徳村 彰、福澤健治：ラット血管平滑筋細胞におけるNO産生に対するビタミンEコハク酸誘導体の影響：第72回日本生化学会大会（横浜, 1999, 10)

徳村彰、四宮淳也、小暮健太郎、田中保、里内清 福澤健治：高度不飽和脂肪酸を有するリゾホスファチジン酸及びそのアセチル化物の血小板凝集活性：第72回日本生化学会

大会 (横浜, 1999, 10)

松島明美、松本満、小暮健太郎、福澤健治、吉村哲郎：PTIOの吸収スペクトルを利用した新たなNOの定量法：第72回日本生化学会大会 (横浜, 1999, 10)

千川隆志、井形高明、加藤真介、浜田佳孝、小暮健太郎、福澤健治：ラット急性脊髄損傷後のNeurotrophin-3の発現動態と抗酸化剤の効果：第34回日本パラプレジア医学会 (北九州, 1999, 11)

福澤健治： $\alpha$ -トコフェロール (ビタミンE) の膜内存在様態と抗酸化ダイナミクス：日本化学会中国四国支部第31回化学懇談会 (徳島, 1999, 12)

Kenji Fukuzawa, Kentaro Kogure, Motoki Morita, Hanako Manabe, Akira Tokumura : Effect of vitamin E on inducible nitric oxide synthase expression in vivo and in vitro : 2nd International conference on food factors (Kyoto, 1999, 12)

Kentaro Kogure, Motoki Morita, Hanako Manabe, Akira Tokumura, Kenji Fukuzawa : Effect of vitamin E succinate on generation of nitric oxide in rat vascular smooth muscle cells stimulated with lipopolysaccharide and interferon-g : 2nd International conference on food factors (Kyoto, 1999, 12)

Akira Tokumura, Tuneki Sumida, Masaoki Toujima, Kentaro Kogure, Kenji Fukuzawa : Platelet-activating factor(PAF)-like oxidized phospholipids: relevance to atherosclerosis : 2nd International conference on food factors (Kyoto, 1999, 12)

福澤健治、小暮健太郎、真鍋華子、徳村 彰、土屋浩一郎、堤下靖之、丹羽峰雄：LPS投与によるマウス肝NO合成酵素誘導に対する食餌生ビタミンEの影響：第11回ビタミンE研究会 (倉敷, 2000, 1)

徳村 彰、富永恭子、安田勝彦、小暮健太郎、福澤健治：卵巣癌患者血清リゾホスホリパーゼDによる生理活性リン脂質リゾホスファチジン酸の産生：第9回臨床生理活性脂質研究会 (東京, 2000, 2)

小暮健太郎、森田元喜、真鍋華子、徳村 彰、福澤健治：トコフェロールコハク酸エステルによるアポトーシス誘導機構の解析：日本薬学会第120年会 (岐阜, 2000, 3)

金谷由美、徳村 彰、小暮健太郎、北原真樹、田中作彌、福澤健治：高コレステロール食を与えたウサギの血清リゾホスホリパーゼD活性の変動：生理活性リン脂質リゾホスファチジン酸の産生亢進：日本薬学会第120年会 (岐阜, 2000, 3)

**G.知的所有権の取得状況**

**1.特許取得**

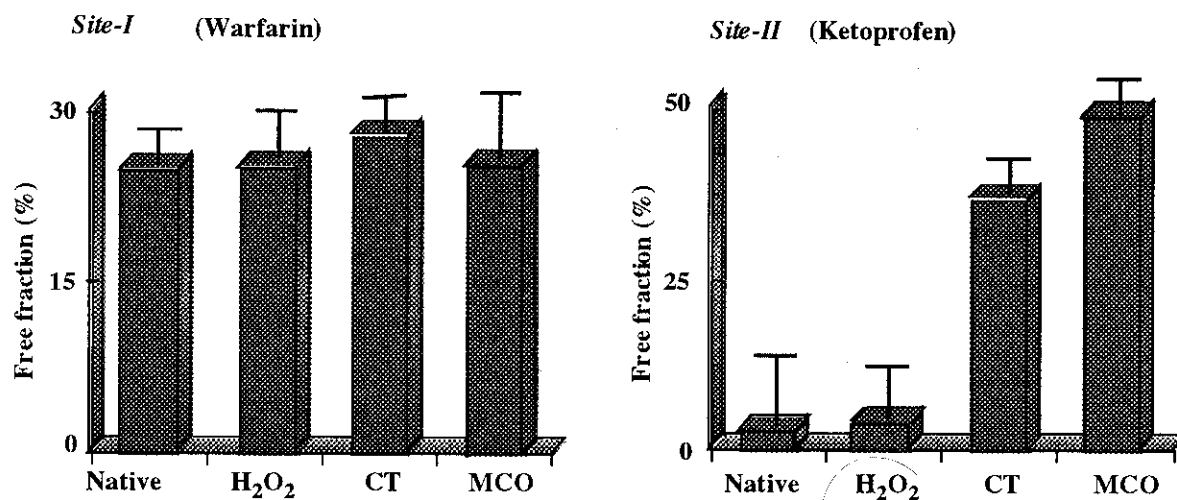
なし

**2.実用新案登録**

なし

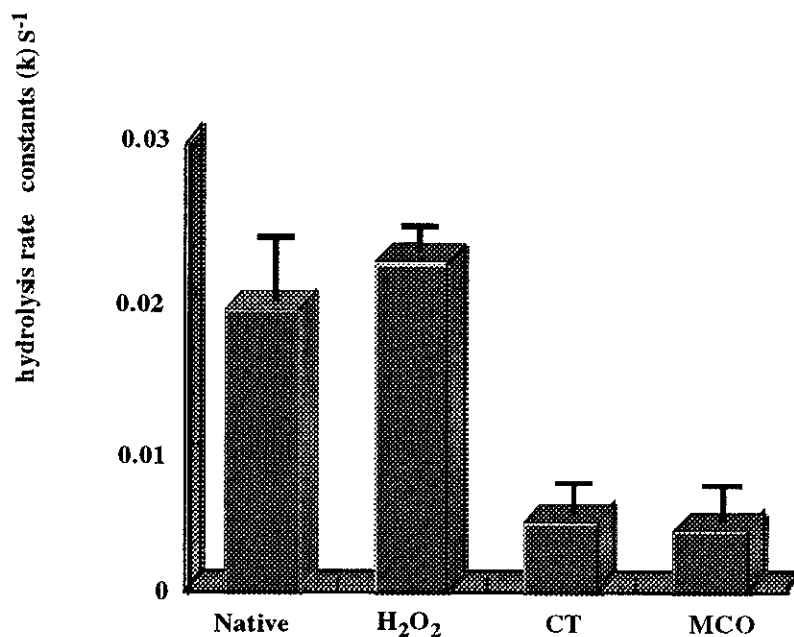
**3.その他**

なし



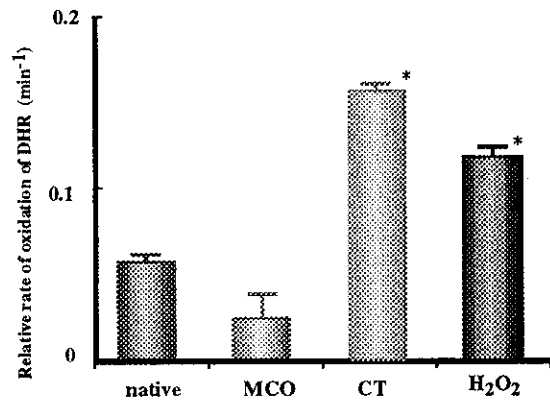
**Fig. 1 Effect of oxidation on free fraction of the ligands bound Site I and Site II on HSAs**

MCO; HSA treated with metal catalyzed oxidation for 144hr, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; HSA treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 12hr, CT; HSA treated with Chloramine -T for 10hr, Native; Native -HSA. The following concentrations were used: [ligands]=1mM, [native and oxidized HSA]=10μM



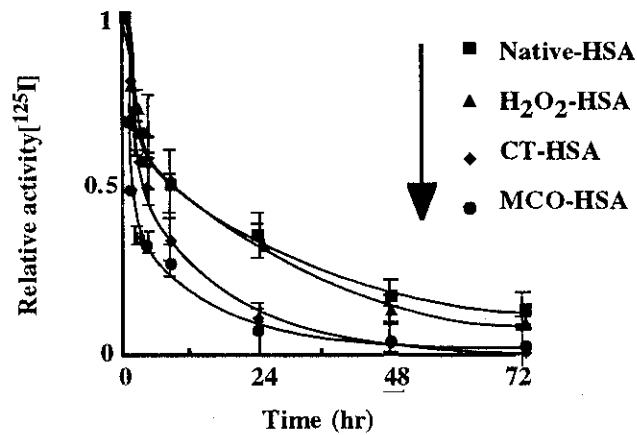
**Fig.2 Effect of oxidation in HSA on hydrolysis rate constants (k) of p- nitrophenyl acetate at pH 7.4 and 25°C**

MCO-HSA; HSA treated with metal catalyzed oxidation for 144hr, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; HSA treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 12hr, CT; HSA treated with Chloramine -T for 10hr, Native; Native -HSA. The following concentrations were used: [NPA]=4μM, [native and oxidized HSA]=20μM



**Fig.3 Antioxidant action of native and oxidized HSAs**

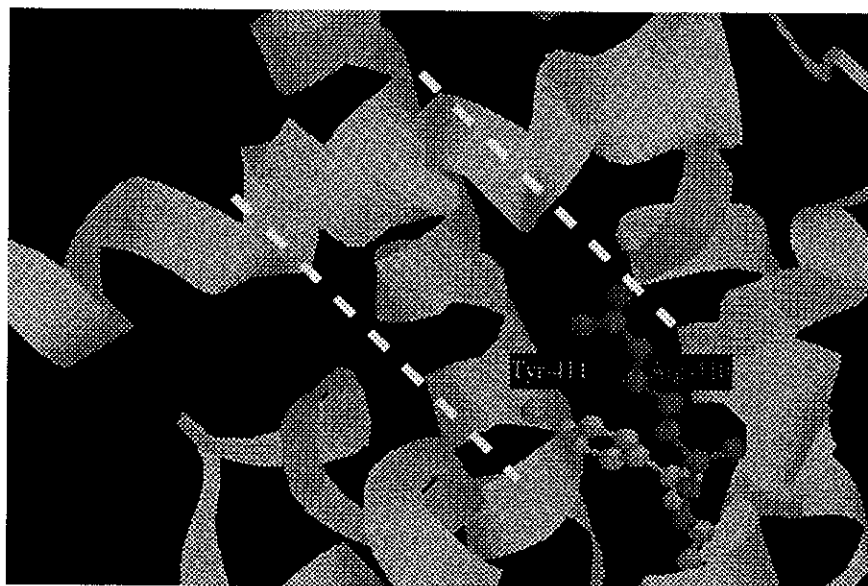
Native; Native -HSA , MCO; HSA treated with metal catalyzed oxidation for 144hr, CT; HSA treated with Chloramine -T for 10hr, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; HSA treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 12hr . DHR: dihydrorhodamine.  
 \* ; p < 0.001vs native-HSA.



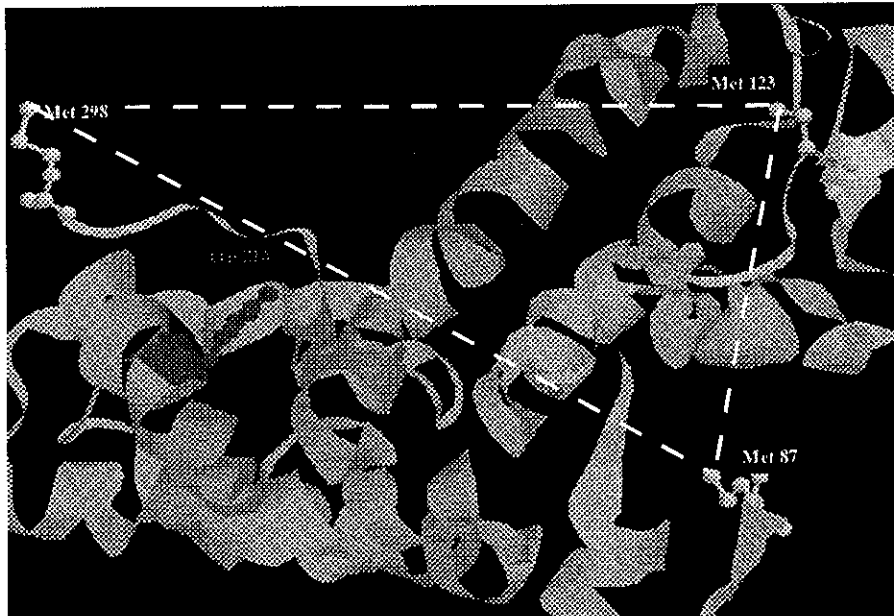
**Fig.4 Plasma relative radio-activity of HSA after single intravenous administration of <sup>125</sup>I-native and -oxidized HSAs**  
 All values are mean ± SD(N=3)

**Table.1 Half-life of native and oxidized HSAs**

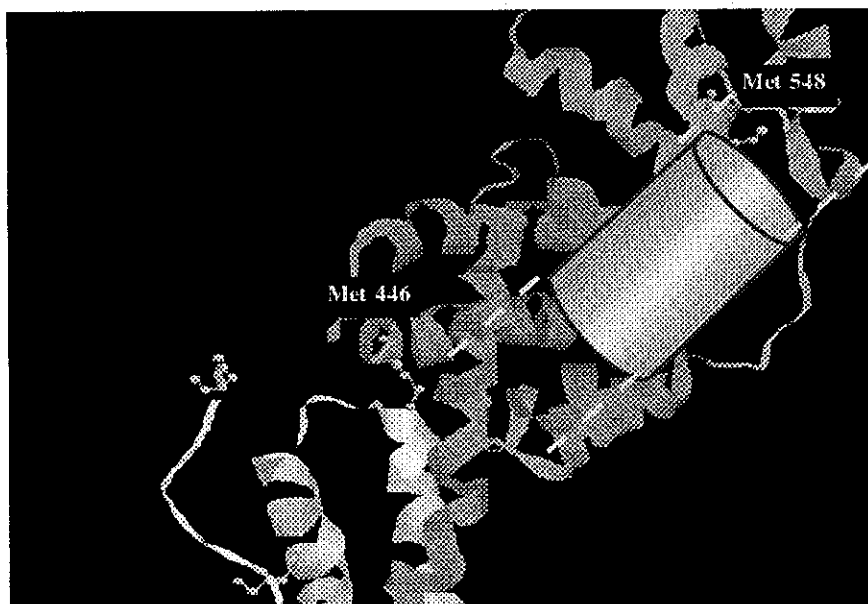
<b>Oxidized-HSA</b>	<b>T<sub>1/2</sub> (hr)</b>
<b>Native-HSA</b>	<b><i>30.64 ± 2.51</i></b>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-HSA</b>	<b><i>27.1 ± 2.44</i></b>
<b>CT-HSA</b>	<b><i>14.14 ± 1.56</i></b>
<b>MCO-HSA</b>	<b><i>13.58 ± 2.11</i></b>



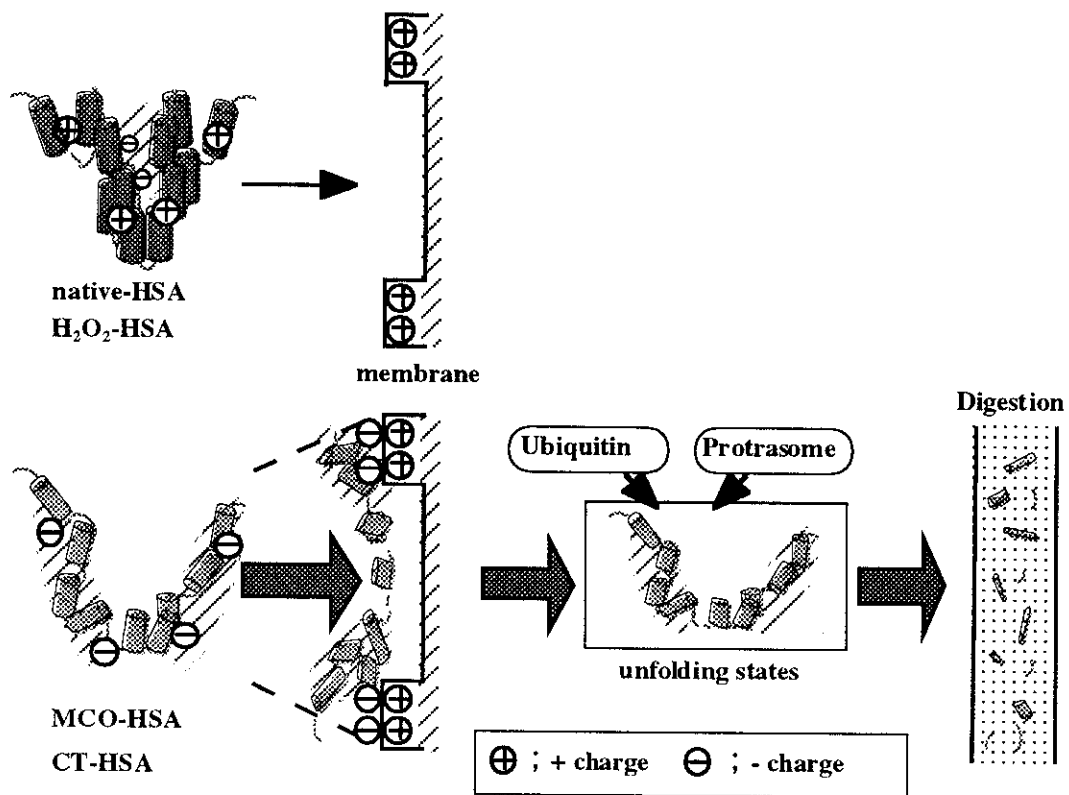
**Scheme 1 Orientation of Tyr-411 and Arg-410 to hydrophobic pocket**



**Scheme 2** Location of Methionine residues in Site I



**Scheme 3** Location of Methionine residues in Site II



**Scheme 4** Possible mechanism for the uptake of native and oxidized HSAs