

た)

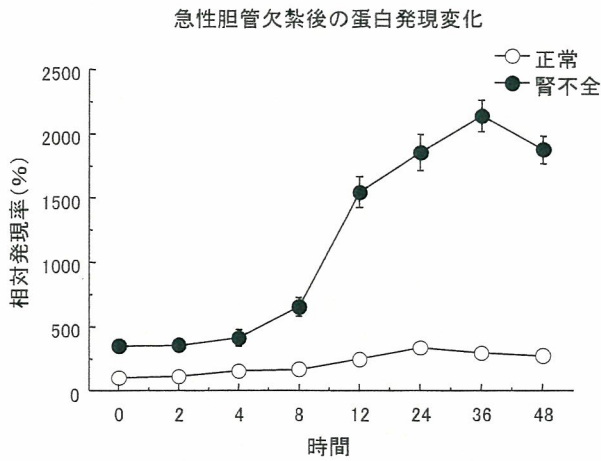


図3 腎不全モデルにおける急性胆管欠紮時肝における ABCA8 蛋白の発現の変化

肝臓以外の臓器に関しては、膵臓、精巣、副腎、脂肪組織などを検討したが、腎不全による明らかな変化は確認できなかった。

昨年までに正常ラットにおいては Phenobarbital 反復投与後に胆管欠紮を行うことで、更に3-4倍の遺伝子発現の増加が確認されたので、更にこの併用を試みた。しかし、有意な発現上昇は確認できなかった(図4)。

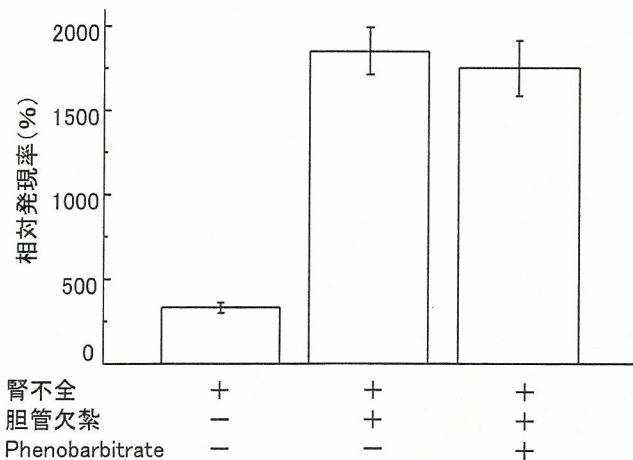


図4 Phenobarbital 反復投与後の腎不全モデルにおける急性胆管欠紮時後24時間での ABCA8 蛋白発現量(正常マウスでの発現を100%とし

2. ヒト ABCA8 を組み入れたバキュロウイルスと昆虫培養細胞 sf9 を用いた蛋白質の大量作成

様々なベクターを用いたが、Sapphire™ Baculovirus に遺伝子を接続したウイルスを感染させることで、組み換え蛋白の精製が可能であった。SDS-PAGE および以前作成しておいた抗体を用いて、その発現を確認した。獲得できた蛋白量は最高200mg/Lであった(図5)。

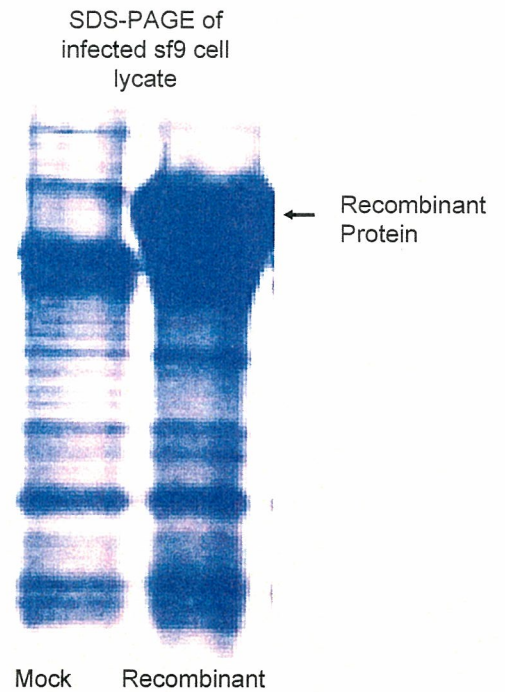


図5 SDS-PAGE による組み換え蛋白

D. 考察

抱合型ビリルビンを効率よく輸送する非細胞性代謝機能代替デバイスに、この新規蛋白 ABCA8 を用いるには、蛋白を大量に得ることが必要である。そのための一つの手段として、この蛋白を内在する臓器・細胞から、

蛋白を効率よく抽出し使用する必要があると考え様々な方法を模索した。その結果、慢性腎不全としておくことがチトクローム P450 の誘導薬を前処置することよりも有意な発現増加を起こすことが明らかになった。腎機能障害時に代償性に肝・消化管機能が変化するということが、近年明らかになってきており、今回の結果もそのような考え方に沿うものと考えられる。このような現象の機序については、現時点では不明である。他の膜蛋白においては遺伝子上流域にある pregnane X receptor の発現が腎不全において変化するという報告もあり、同様の機序が推定されるが、これについては今後の検討が必要であると考えられる。また腎不全で増加する様々な尿毒症性物質のうち、どれがこの誘導に関与するのかも不明であり、今後検討の余地がある。

一方様々なベクターを用いた結果、昆虫細胞を用いて、ヒト ABCA 8 蛋白の精製が可能となった。ナノテクノロジーを応用した非細胞性代謝機能代替デバイスへの応用は今年度内にはできなかったが、今後はこれを用いて様々な検討が可能となると考えられる。

E. 結論

マウス肝臓を用いて、抱合型ビリルビンをはじめとする異物排泄に関与する新しい膜蛋白 ABCA 8 の mRNA・蛋白の発現をより増加させる条件を検討した。慢性腎不全状態において更に胆管欠繋すると、発現が上昇することが明らかになった。また、この蛋白を高発現させた細胞を大量作成できる系を確立した。今後は非細胞系代謝機能付与デバイス

に応用する予定であり、これにより現行の人工肝臓よりも機能の高いものが開発可能であると考えられ、肝不全治療法が大きく進歩するものと期待される。

F. 健康危険情報

該当する情報は無い。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Muto S, Tsuruoka S, Miyata Y, Fujimura A, Asano Y, Kusano E. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on Na⁺ and K⁺ transport in the rabbit cortical collecting duct. *Nephron Physiol.* 102(3-4):p51-60, 2006.
- (2) Sugimoto KI, Araki N, Ohmori M, Harada KI, Cui Y, Tsuruoka S, Kawaguchi A, Fujimura A. Interaction between grapefruit juice and hypnotic drugs: comparison of triazolam and quazepam. *Eur J Clin Pharmacol.* 62:209-215, 2006, .
- (3) Yamamoto H, Tsuruoka S, Ioka T, Ando H, Ito C, Akimoto T, Fujimura A, Asano Y, Kusano E. Indoxyl sulfate stimulates proliferation of rat vascular smooth muscle cells. *Kidney Int.* 69:1780-1785, 2006.
- (4) Tsuruoka S, Kawaguchi A, Harada K, Fujimura A. Favorable effect on postgraduate clinical practice of a drug-interaction exercise for undergraduate students. *Eur J Clin Pharmacol.* 62:571-6, 2006.
- (5) Tsuruoka S, Watanabe S, Purkerson JM,

- Fujimura A, Schwartz GJ. Endothelin and Nitric Oxide Mediate the Adaptation of the Cortical Collecting Duct to Metabolic Acidosis. *Am J Physiol Renal Physiology*. 291:F866-73, 2006.
- (6) Takahashi M, Sakurai M, Enosawa S, Endo M, Omasa T, Tsuruoka S, Matsumura T. A double-compartment cell culture apparatus: its construction and biochemical evaluation for bioartificial liver support system. *Cell Transplantation*, 15 : 945- 952, 2006.
- (7) Tsuruoka S, Kitoh Y, Kawaguchi A, Sugimoto KI, Hayasaka T, Saito T, Fujimura A. Clearance of imidapril, an angiotensin-converting enzyme inhibitor, during hemodialysis in hypertensive renal failure patients: Comparison with quinapril and enalapril. *J Clin Pharmacol*. In press.
- (8) Taniguchi J, Tsuruoka S, Mizuno A, Sato JI, Fujimura A, Suzuki M. TRPV4 as a flow sensor in the flow-dependent K⁺ secretion from the cortical collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiology*. In press.
- (9) Tsuruoka S, Kaneda T, Ioka T, Fujimura A. Dosing time-dependent variation of bone resorption by cyclosporin A in rats femurs. *Eur J Pharmacol*. In press.
2. 学会発表
- (1) 鶴岡秀一。人工腎臓の可能性。第 141 回日本獣医学会学術集会 日本比較薬理・毒性学会シンポジウム「基礎獣医学から腎臓を考えてみよう」2006 年 3 月 18-21 日、つくば。
- (2) 鶴岡秀一、藤村昭夫、今井正、Eric Swenson。カドミウム(Cd)による近位尿細管障害 — 管腔膜結合型炭酸脱水酵素 (CA) の影響 —。第 48 回日本腎臓学会学術総会。2006 年 6 月 14-16 日、東京。(日腎誌 48 : 205、2006)。
- (3) 井岡崇、鶴岡秀一、伊藤千春、山本尚史、藤村昭夫、草野英二。エリスロポエチンは血管内皮前駆細胞の cGMP 産生を抑制する。第 51 回日本透析医学会学術集会・総会。2006 年 6 月 23-25 日、横浜。(透析会誌 39:Suppl1 774, 2006)
- (4) 渡辺聖二、鶴岡秀一、沖田信夫、森貞直哉、藤村昭夫、Schwartz GJ、白幡聡。一酸化窒素 (NO) とエンドセリンは代謝性アシドーシスにおける皮質集合管の適応に重要である。第 41 回日本小児腎臓学会学術集会、平成 18 年 6 月 22-24 日、名古屋。
- (5) Tsuruoka S, Nishiki K, Ioka T, Saito Y, Kurabayashi M, Fujimura A. Defect in PTH-induced luminal calcium (Ca) absorption in connecting tubules of Klotho Mice. *American Society of Nephrology's 39th Annual Renal Week*. San Diego CA. Nov 14-19,2006. (*J.Am.Soc.Nephrol* 16: 355 A,2006 in abstract form).
- (6) Ioka T, Tsuruoka S, Ito C, Yamamoto H, Akimoto T, Iwaguro H, Asahara T, Fujimura A, Kusano E. Significant correlation between erythropoietin (EPO)-induced hypertension and mRNA expression of erythropoietin receptor(EPOR) subtype in circulating endothelial progenitor cells (EPCs) of hemodialysis patients. *American Society of*

Nephrology's 39th Annual Renal Week. San
Diego CA. Nov 14-19,2006.
(J.Am.Soc.Nepbrol 16: 7 A,2006 in abstract
form).

H.知的財産権の出願・登録状況
なし

III. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

装置化へ向けた各種素材および基盤技術の統合

分担責任者 黒田 章夫 広島大学・大学院先端物質科学研究科・教授

研究要旨： 正の自由エネルギー変化を示す生体反応の多くは ATP を要求する。タンパク質-人工基材が複合した機能性膜を動かすためにも ATP の供給が必須である。ポリリン酸はリン酸が高エネルギーリン酸結合により直鎖状に結合した無機ポリマーである。ポリリン酸はリン酸を加熱すると合成できることから最も安価で安定なリン酸供与体である。昨年度までの研究で、マグネシウムやカルシウムを内包したポリリン酸顆粒が ATP の供給源になりうること、ポリアミン分子によりその安定性が向上することがわかった。このポリリン酸顆粒は半透膜を通り抜けることがないので、タンパク質-人工基材が複合した機能性膜を動かすための ATP の供給源になり得ると思われた。しかし、このポリリン酸やポリリン酸顆粒をポリリン酸キナーゼと共に輸送タンパク質により近い場所、すなわち機能性膜の基材に直接結合させることが出来れば、膜に固定された輸送タンパク質に対してより安定かつ速やかに ATP を供給できると考えられた。そこで、本年度は機能性膜の基材としての利用が検討されているアノディスク上に結合させたポリリン酸-ポリリン酸キナーゼによる ATP 再生系構築に向けた基盤研究を行った。具体的には、アルミナ粒子を用いて最適化した条件でポリリン酸およびポリリン酸キナーゼをアノディスクに結合させ、ATP 消費反応を共役させた場合の ATP 再生効率について検討した。その結果、アルミナ素材に対しては pH 5.7 の条件下で最も効率よくポリリン酸およびポリリン酸キナーゼが結合することが明らかとなった。また同条件でポリリン酸-ポリリン酸キナーゼを結合させたアノディスク上で少なくとも複数回 ATP を再生できることがわかった。ポリリン酸-ポリリン酸キナーゼによる ATP 再生系を固体表面に構築し得ることを初めて示した。

A. 研究目的

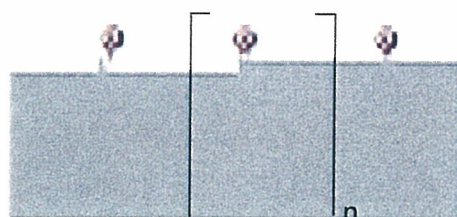
生体反応の多くは正の自由エネルギー変化を示し、その多くは ATP の加水分解と共役して起こる。ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発におけるタンパク質-人工基材が複合した機能性膜を動かすためにも ATP の供給が必須である。絵野沢グルー

プでは細胞表面に存在し細胞内外の物質輸送を行うチャンネルタンパク分子を人工膜に固定化するという新規な発想を展開している。薬物代謝酵素系や細胞膜上のチャンネルタンパク質は分子種群をなし、新しい分子が続々と遺伝子レベルで同定されている。これらの機能性タンパク質は、それぞれ異なった基質

特異性を有するので肝・腎不全の病態を改善するために必要な分子種を選び出すことができる。こうして再構成された人工合成膜であるナノ代謝代替デバイスに生きた細胞のように統合した選択的・能動輸送を行わせ、人工透析を行うことを目標としている。

現在行われている血液濾過透析や血漿交換を組み合わせた血液浄化法は、劇症肝炎をはじめ様々な疾患に対する治療法の基幹といえる。しかしながら、ひとりの患者に対し大量の血漿が必要であることや亜急性劇症肝炎では昏睡からの一時的な覚醒効果はみられるものの最終的な救命率の向上は得られないなど問題点も多い。この血液浄化法の限界の背景には、中空糸カラムによる血中物質の除去が単に膜の孔径にのみ依存し、生体にとって要不要の別なく排除してしまうという原因が考えられる。病期の体液には為害性物質だけでなく疾患に反応して治癒を促す物質も存在し、これらも透析・濾過によって排除されてしまう。絵野沢グループの研究では理想的な血液浄化は生体が行っているように毒性物質のみを選択的に取り除くシステムであるという発想の元に計画されたものである。

さて、ATP 供給系は実際今までに幾つか確立されている。しかしながらそれらは非常に高価な高エネルギーリン酸結合の化合物を利用しており、しかも不安定な低分子である。ATP と同様の高エネルギーリン酸結合によって1000個近くのリン酸が結合した無機ポリマーであるポリリン酸は、リン酸を加熱するだけで合成できる最も単純で、非常に安価な高エネルギーリン酸化合物である(図1)。ポリリン酸は多くの生物から検出されるものの、長い間分子生物学的な解析は行われてこなか



$n = 1 \sim 1000$

図1, ポリリン酸の構造

った。しかし、1990年代に入ってポリリン酸合成酵素(ポリリン酸キナーゼ)の遺伝子(*ppk*)がスタンフォード大学のArthur Kornberg研究室でクローニングされると、分子生物学的な解析が急速に進みだした。その結果、ポリリン酸を作れない大腸菌変異株では定常期に死滅しやすくなることや、緑膿菌の*ppk*変異株では運動性が悪くなり、感染力が低下することがわかってきた。大腸菌のポリリン酸キナーゼはATPの末端のリン酸基をポリリン酸に転移して約700個のリン酸がつながったポリリン酸を合成する。しかし過剰のポリリン酸とADPが存在すると、逆反応によりATPを生産することが出来る(図2)。ポリリン酸は、うまくすれば非常に安価なATPの代替として働かせることができる魅力的な分子でもある。

本プロジェクトにおいて、機能性膜の素材としてアノディスク(Whatman社)の利用が

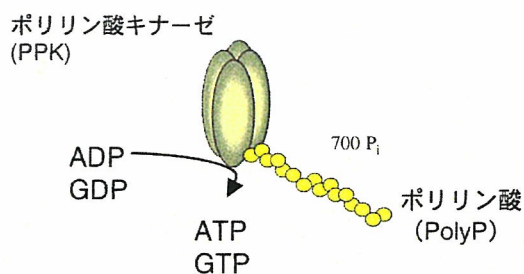


図2, ポリリン酸合成酵素

検討されている。アノディスクはハニカム構造を持つアルミナ素材の人工膜で、膜輸送タンパク質 MDR1 をコーティングしてエネルギー依存的な膜輸送をできることが確認されている。この能動輸送を効率よく行うためにはエネルギー源となる ATP の安定的な供給が重要となる。アノディスク上にポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼを用いた ATP 合成系を構築出来れば、機能性膜上のトランスポーターに対して安定的かつ自律的に ATP を供給できると考えられた (図 3)。そこで、本研究ではアノディスク上にポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼを固定化し、安定的かつ自律的に ATP を供給する系の構築を目指した。

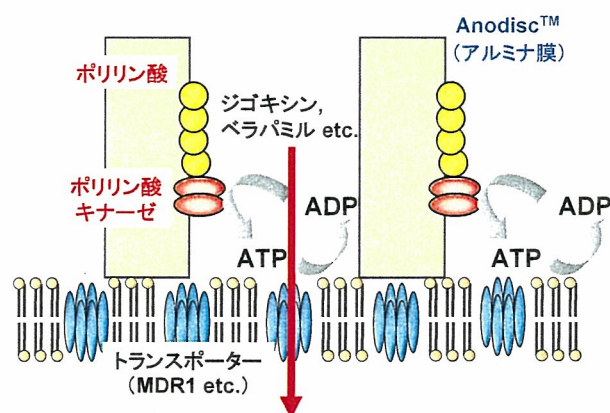


図 3. 本研究の目標の概念図

B. 研究方法

1) アルミナ粒子に対するポリリン酸の結合能

10 mg のアルミナ粒子 (和光純薬) に 100 mM の可溶性ポリリン酸 (平均鎖長 65, phosphate glass, シグマ社) を含む 100 mM の緩衝液 (グリシン-HCl (pH 3)、コハク酸-NaOH (pH 4、5、5.7)、HEPES-KOH (pH 7.2)、Tris-HCl (pH 8)) 50 μ l を添加し、氷上で 30 分間静置した。遠心 (12,000 g、10 sec) して上清を取り除き、

ポリリン酸結合時と同じ pH の緩衝液で沈殿を 4 回洗浄した。再び遠心 (12,000 g、10 sec) して上清を取り除き、40 μ l のポリリン酸キナーゼ反応液 (50 mM HEPES-KOH、40 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、4 mM MgCl_2 、100 μ M ADP、15 ng ポリリン酸キナーゼ、pH 7.2) を添加して 37°C で 1 時間静置した。合成された ATP 量は ATP バイオルミネッセンスアッセイキット CLS II (Roche) を用いて測定した。

2) アルミナ粒子に対するポリリン酸キナーゼの結合能

前項で調製したポリリン酸結合アルミナ粒子に、ポリリン酸キナーゼを含む 100 mM のコハク酸-NaOH (pH 5.7) または HEPES-KOH 緩衝液 (pH 7.2) 20 μ l を添加した。同緩衝液で洗浄後、40 μ l の ADP 溶液 (50 mM HEPES-KOH、40 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、4 mM MgCl_2 、100 μ M ADP、pH 7.2) を添加し、37°C で 1 時間静置した後 ATP 量を測定した。

3) アノディスクへのポリリン酸およびポリリン酸キナーゼの結合

アノディスク (直径 25 mm、孔径 0.1 μ m、Whatman 社) に、0.9 μ mol のポリリン酸、0.3 ng のポリリン酸キナーゼを含む 100 mM のコハク酸-NaOH 緩衝液 (pH 5.7) 50 μ l を添加し、4°C で 30 分間静置した。同緩衝液で洗浄後、40 μ l の ADP 溶液 (pH 5.7) を添加し、37°C で 1 時間静置した後 ATP 量を測定した。また、アノディスク孔内の元素組成の分析には X 線分析装置 (JED-2200、日本電子) を用いた。

4) アノディスク上での ATP 再生

前項で作成したポリリン酸 - ポリリン酸キ

ナーゼ結合アノディスクに 500 μM の ADP を 10 μl 滴下した後、反応液（コハク酸-NaOH 緩衝液 (pH 5.7)、40 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、4 mM MgCl_2 、1 mM グルコース、1 mM NADP、0.5 U ヘキソキナーゼ、0.5 U グルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼ) 90 μl を添加して NADPH を合成した。1 ユニットのヘキソキナーゼ、グルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼは、それぞれ 1 μM のグルコース 6-リン酸、NADPH を作る活性である。NADPH は 340 nm の吸収波長で測定した。また、発色反応は上記反応液に 1 mM のニトロブルーテトラゾリウムと 0.5 U のジアホラーゼを添加して行った。

C. 研究結果

1) アルミナ粒子に対するポリリン酸の結合能

アノディスクの素材であるアルミナに対するポリリン酸の結合条件を検討した。 γ -アルミナの等電位点 (pH^0) は 7.4~8.6 であり、中性溶液中でのアルミナ表面はほぼ無電荷であると考えられる。ポリリン酸は強く負に荷電した化合物であることから、アルミナ表面が正に帯電する酸性溶液中で強く結合することが予想された。しかしポリリン酸は強い酸性条件下では容易に分解される。そこで結合時における溶液の pH を検討したところ、pH 5.7 で最も多くポリリン酸が結合することがわかった (図 4)。

2) アルミナ粒子に対するポリリン酸キナーゼの結合能

アルミナに対するポリリン酸キナーゼの結合能について検討した。ポリリン酸キナーゼ

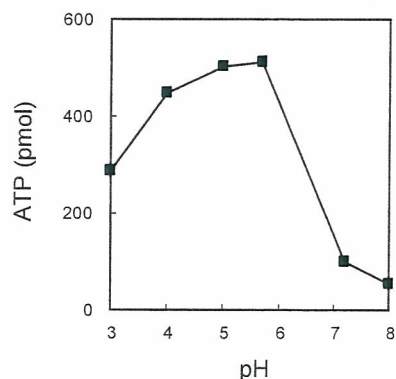


図 4. 各 pH におけるポリリン酸の結合量

の結合・洗浄は、ポリリン酸がアルミナに最も結合する pH 5.7、あるいはポリリン酸キナーゼの至適 pH である pH 7.2 の条件で行った。その結果、いずれの pH 条件でも ATP 合成活性が確認された (図 5)。また、ポリリン酸とポリリン酸キナーゼの結合順を変えてもほぼ同量の ATP が合成された (図 6)。このことからポリリン酸、ポリリン酸キナーゼともにアルミナへの結合能があることが明らかとなった。

3) アノディスクへのポリリン酸およびポリリン酸キナーゼの結合

ポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼを結合させたアノディスクを作成した。5 nmol の ADP 溶液をポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼ結合

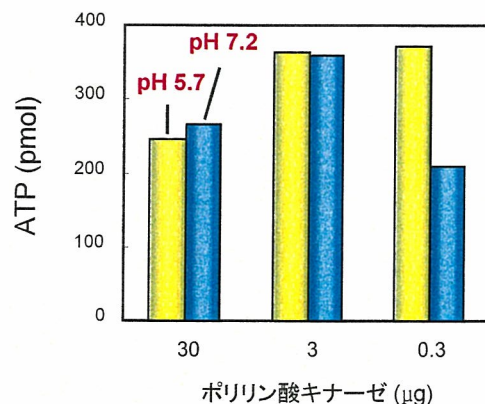


図 5. ポリリン酸キナーゼを結合させたアルミナ粒子による ATP 合成

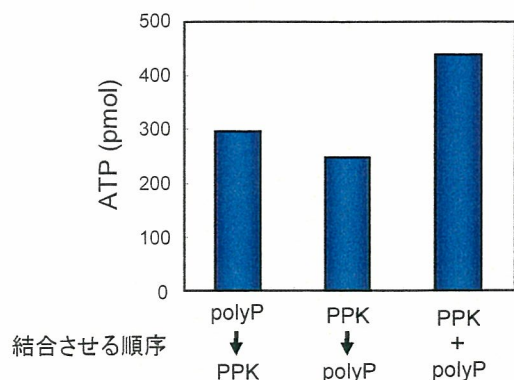


図6, ポリリン酸およびポリリン酸キナーゼの結合順と ATP 合成量

アノディスクに滴下したところ、1 nmol の ATP が合成された。これはポリリン酸キナーゼ反応で 5 nmol の ADP から合成される最大 ATP 量である。また、このアノディスクを垂直方向に切断し、X 線分析装置を用いて孔内部の元素組成を調べたところ、ポリリン酸由来と思われるリンの分布が確認できた(図7)。アノディスクの孔内にポリリン酸およびポリリン酸キナーゼを結合させ、ATP を合成できることがわかった。

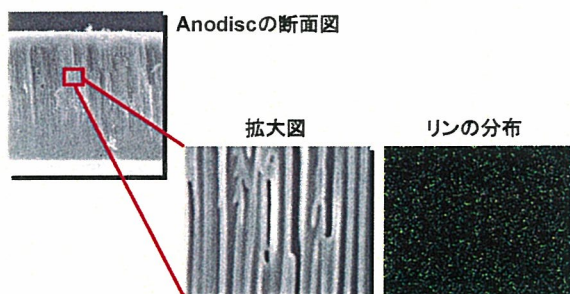


図7, アノディスク断面の電子顕微鏡写真とリンの分布

4) アノディスク上での ATP 再生

ポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼを結合したアノディスク上における ATP 再生系を構築した。ATP を消費する系としてはグルコース、ヘキソキナーゼを用いた。グルコースのリン酸化によって生じるグルコース 6-リン酸は直

ちにデヒドロゲナーゼによってグルコン酸になり、生じた還元力によって NADPH が生成する。この系には ATP は入っていない。ADP が ATP に再生されない限りグルコースがリン酸化されず、NADPH も合成されない。NADPH の定量をすることによって ATP が合成されているかを確認した。その結果、添加した ADP と等モルの ATP から生成される NADPH 量の 2 倍以上の NADPH が生成された。さらにこの反応系にジアホラーゼによる発色反応を共役させたところ、発色強度に明らかな違いが見られた(図8)。ポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼを結合したアノディスク上で ATP 再生系が機能することがわかった。

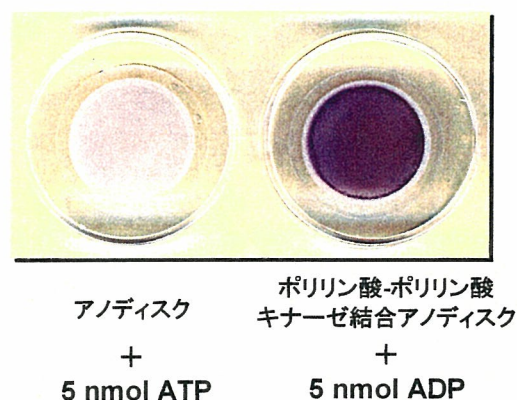


図8, アノディスク上のポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼ系による ATP 再生

E. 結論

タンパク質 - 人工基材が複合した機能性膜を動かすためには ATP の安定的な供給が必須である。本年度は機能性膜の基材上に結合させたポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼ系による ATP 再生系構築に向けた基盤研究を行った。ポリリン酸は数十から 100 個程度のリン酸が結合したポリマーである。昨年度までの研究で、マグネシウムやカルシウムを内包したポリリン酸顆粒が ATP の供給源になりうる

こと、ポリアミン分子によりその安定性が向上することがわかった。このポリリン酸顆粒は半透膜を通り抜けることがないので、タンパク質 - 人工基材が複合した機能性膜を動かすための ATP の供給源になり得ると思われた。しかし、このポリリン酸やポリリン酸顆粒をポリリン酸キナーゼと共に輸送タンパク質により近い場所、すなわち機能性膜の基材に直接結合させることが出来れば、膜に固定された輸送タンパク質に対してより安定かつ速やかに ATP を供給できると考えられた。そこで、本研究では機能性膜の基材としての利用が検討されているアノディスク上において、ポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼを用いた ATP 再生系を確立することを目指した。具体的には、アルミナ粒子を用いて最適化した条件でポリリン酸およびポリリン酸キナーゼをアノディスクに結合させ、グルコースとグルコースキナーゼを組み合わせた ATP 消費系に対して連続的に ATP を供給できるかについて検討した。その結果、アルミナ素材に対しては pH 5.7 の条件下で最も効率よくポリリン酸およびポリリン酸キナーゼが結合することが明らかとなった。また同条件でポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼを結合させたアノディスク上で少なくとも複数回 ATP を再生できることがわかった。ポリリン酸 - ポリリン酸キナーゼによる ATP 再生系を固体表面に構築し得

ることを初めて示した。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) K. Taniguchi, K. Nomura, Y. Hata, T. Nishimura, Y. Asami, A. Kuroda, The Si-tag for Immobilizing Proteins on a Silica Surface, *Biotechnology and Bioengineering*, in press.

2) K. Motomura, N. Takiguchi, H. Ohtake, A. Kuroda, Polyamines affect polyphosphate accumulation in *Escherichia coli*, *J. Environ. Biotech.*, 6, 41-46 (2006)

3) K. Nomura, J. Kato, N. Takiguchi, H. Ohtake, A. Kuroda, Inorganic polyphosphate stimulates Lon-mediated proteolysis of nucleoid proteins in *Escherichia coli*, *Cell. Mol. Biol.*, 52, 23-29 (2006)

2. 学会発表

1) 黒田章夫、超高感度 ATP 検査試薬およびバイオによるアスベスト検出、日本生物工学会産学連携シンポジウム、平成 19 年 2 月 8 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者名	論文タイトル	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
安部隆, 西澤松彦	MEMS バイオ電池技術	池田篤治	バイオ電気化学の実際 - バイオセンサ・バイオ電池の実用展開 -	シーエムシー出版	日本	2007 3月予定	
大政健史	生体触媒反応の速度論のおさらい	化学工学会バイオ部会	バイオプロダクション	コロナ社	東京	2006	78-83
高木睦, 大政健史	動物細胞の形質転換と培養	日本化学会(今中忠行編集委員)	第5版 実験化学講座 29巻 バイオテクノロジーの基本技術	丸善	東京	2006	61-75
山崎文靖, 西永正典, 杉浦哲朗, 佐藤隆幸.	PWV に影響する要因とその機序. 血圧.	宗像正徳 編集.	「PWVを知る PWVで診る」	中山書店	東京	2006	67-71

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawada T, Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Kamiya A, Uemura K, Mori H, Sugimachi M	Hypothermia reduces ischemia- and stimulation-induced myocardial interstitial norepinephrine and acetylcholine releases	JAppl Physiol	102	622-7	2006
Maruo T, Nakatani S, Jin Y, Uemura K, Sugimachi M, Ueda-Ishibashi H, Kitakaze M, Ohe T, Sunagawa K, Miyatake K.	. Evaluation of transmural distribution of viable muscle by myocardial strain profile and dobutamine stress echocardiography	Am J Physiol Heart Circ Physiol.	292	H921-7	2006
Kamiya A, Kawada T, Mizuno M, Miyamoto T, Uemura K, Seki K, Shimizu S, Sugimachi	Baroreflex increases correlation and coherence of muscle sympathetic nerve activity (SNA) with renal and cardiac SNAs.	J Physiol Sci	56	325-33	2006
Kawada T, Miyamoto T, Miyoshi Y, Yamaguchi S, Tanabe Y, Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M	.Sympathetic neural regulation of heart rate is robust against high plasma catecholamines	. J Physiol Scil	56	235-45	2006
Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Uemura K, Kamiya A, Shishido T, Mori H, Sugimachi M.	Effects of Ca ²⁺ channel antagonists on nerve stimulation-induced and ischemia-induced myocardial interstitial acetylcholine release in cats	Am J Physiol Heart Circ Physiol	291	H2187-91	2006
Aiba T, Shimizu W, Hidaka I, Uemura K, Noda T, Zheng C, Kamiya A, Inagaki M, Sugimachi M, Sunagawa K.	Cellular basis for trigger and maintenance of ventricular fibrillation in the Brugada syndrome model: high-resolution optical mapping	J Am Coll Cardiol	47	2074-85,	2006
Michikami D, Kamiya A, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Yamamoto K, Ariumi H, Iwase S, Sugeno J, Sunagawa	Short-term electroacupuncture at Zusanli resets the arterial baroreflex neural arc toward lower sympathetic nerve activity	Am J Physiol Heart Circ Physiol	291	H318-26	2006

K, Sugimachi M.					
Sugimachi M, Sunagawa K.		NipponRinsho	64	348-52	2006
Yokokawa M, Takaki H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Kurita T, Kamakura S, Shimizu W	Spatial distribution of repolarization and depolarization abnormalities evaluated by body surface potential mapping in patients with Brugada syndrome	Pacing Clin Electrophysiol	29	1112-21.	2006
Takaki H, Sakuragi S, Nagaya N, Suzuki S, Goto Y, Sato T, Sunagawa K	Postexercise VO ₂ "Hump" phenomenon as an indicator for inducible myocardial ischemia in patients with acute anterior myocardial infarction.	Int J Cardiol	111	67-74	2006
Zhang Y, Kakinuma Y, Ando M, Katare RG, Yamasaki F, Sugiura T, Sato T.	Acetylcholine inhibits the hypoxia-induced reduction of connexin43 protein in rat cardiomyocytes.	J Pharmacol Sci	101	214-222	2006
佐藤隆幸, 砂川賢二	バイオニック治療戦略	循環器専門医	14	9-15	2006
Kuwabara M, Kakinuma Y, Ando M, Katare RG, Yamasaki F, Doi Y, Sato T.	Nitric oxide stimulates vascular endothelial growth factor production in cardiomyocytes involved in angiogenesis.	J Physiol Sci	56	95-101	2006
Yamasaki F, Ushida T, Yokoyama T, Ando M, Yamashita K, Sato T	Artificial baroreflex: Clinical application of a bionic baroreflex system.	Circulation	113	634-639	2006
Monden Y, Kubota T, Tsutsumi T, Inoue T, Kawano S, Kawamura N, Ide T, Egashira K, Tsutsui H, Sunagawa K	Soluble TNF receptors prevent apoptosis in infiltrating cells and promote ventricular rupture and remodeling after myocardial infarction.	Cardiovasc Res	73	794-805	2007
Sagara Y, Hirooka Y, Nozoe M, Ito K, Kimura Y, Sunagawa K	Pressor response induced by central angiotensin II is mediated by activation of Rho/Rho-kinase pathway via AT1 receptors.	J Hypertens	25	399-406	2007
Kimura Y, Hirooka Y, Sagara Y, Sunagawa K	Long-acting calcium channel blocker, azelnidipine, increases endothelial nitric oxide synthase in the brain and inhibits	Clin Exp Hypertens	29	13-21	2007

	sympathetic nerve activity.				
Ohtani K, Egashira K, Nakano K, Zhao G, Funakoshi K, Ihara Y, Kimura S, Tominaga R, Morishita R, Sunagawa K	Stent-based local delivery of nuclear factor-kappaB decoy attenuates in-stent restenosis in hypercholesterolemic rabbits.	Circulation	114	2773-9	2006
Matsusaka H, Kinugawa S, Ide T, Matsushima S, Shiomi T, Kubota T, Sunagawa K, Tsutsui H	Angiotensin II type 1 receptor blocker attenuates exacerbated left ventricular remodeling and failure in diabetes-associated myocardial infarction.	J Cardiovasc Pharmacol	48	95-102	2006
Hizume T, Morikawa K, Takaki A, Abe K, Sunagawa K, Amano M, Kaibuchi K, Kubo C, Shimokawa H	Sustained elevation of serum cortisol level causes sensitization of coronary vasoconstricting responses in pigs in vivo: a possible link between stress and coronary vasospasm	Circ Res	99	767-75	2006
Ohtani K, Egashira K, Ihara Y, Nakano K, Funakoshi K, Zhao G, Sata M, Sunagawa K.	Angiotensin II type 1 receptor blockade attenuates in-stent restenosis by inhibiting inflammation and progenitor cells	Hypertension	48	664-70	2006
Ito K, Hirooka Y, Kimura Y, Sagara Y, Sunagawa K	Ovariectomy augments hypertension through rho-kinase activation in the brain stem in female spontaneously hypertensive rats.	Hypertension	48	651-7	2006
Imayama I, Ichiki T, Inanaga K, Ohtsubo H, Fukuyama K, Ono H, Hashiguchi Y, Sunagawa K	Telmisartan downregulates angiotensin II type 1 receptor through activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma	Cardiovasc Res.	72	184-90	2006
Nakano K, Egashira K, Tada H, Kohjimoto Y, Hirouchi Y, Kitajima S, Endo Y, Li XH, Sunagawa K	A third-generation, long-acting, dihydropyridine calcium antagonist, azelnidipine, attenuates stent-associated neointimal formation in non-human primates	J Hypertens	24	1881-9	2006
Matsushima S, Kinugawa S, Ide T, Matsusaka H, Inoue	Overexpression of glutathione peroxidase attenuates myocardial remodeling and preserves diastolic	Am J Physiol Heart Circ Physiol	291	H2237-45	2006

N, Ohta Y, Yokota T, Sunagawa K, Tsutsui H	function in diabetic heart.				
Fukuyama K, Ichiki T, Imayama I, Ohtsubo H, Ono H, Hashiguchi Y, Takeshita A, Sunagawa K.	Thyroid hormone inhibits vascular remodeling through suppression of cAMP response element binding protein activity.	Arterioscler Thromb Vasc Biol	26	2049-55	2006
Yamada T, Uehara K, Kawanishi R, Mizutani T, Sunagawa K, Araya J, Kawabata Y.	Immunohistochemical detection of ubiquitin-positive intracytoplasmic eosinophilic inclusion bodies in diffuse alveolar damage.	Histopathology	48	846-54	2006
Hirooka Y, Kimura Y, Nozoe M, Sagara Y, Ito K, Sunagawa K	Amlodipine-induced reduction of oxidative stress in the brain is associated with sympatho-inhibitory effects in stroke-prone spontaneously hypertensive rats.	Hypertens Res	29	49-56	2006
Ono H, Ichiki T, Ohtsubo H, Fukuyama K, Imayama I, Iino N, Masuda S, Hashiguchi Y, Takeshita A, Sunagawa K	CAMP-response element-binding protein mediates tumor necrosis factor-alpha-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in endothelial cells.	Hypertens Res.	29	39-47	2006
Kawano S, Kubota T, Monden Y, Tsutsumi T, Inoue T, Kawamura N, Tsutsui H, Sunagawa K.	Blockade of NF-kappaB improves cardiac function and survival after myocardial infarction	Am J Physiol Heart Circ Physiol	291	H1337-44	2006
Matsushima S, Ide T, Yamato M, Matsusaka H, Hattori F, Ikeuchi M, Kubota T, Sunagawa K, Hasegawa Y,	Overexpression of mitochondrial peroxiredoxin-3 prevents left ventricular remodeling and failure after myocardial infarction in mice	Circulation	113	1779-86	2006

Kurihara T, Oikawa S, Kinugawa S, Tsutsui H.					
Matsusaka H, Ide T, Matsushima S, Ikeuchi M, Kubota T, Sunagawa K, Kinugawa S, Tsutsui H.	Targeted deletion of p53 prevents cardiac rupture after myocardial infarction in mice	Cardiovasc Res	70	457-65	2006
Matsusaka H, Ide T, Matsushima S, Ikeuchi M, Kubota T, Sunagawa K, Kinugawa S, Tsutsui H	Targeted deletion of matrix metalloproteinase 2 ameliorates myocardial remodeling in mice with chronic pressure overload.	Hypertension	47	711-7	2006
Tomoko MATSUMOTO, Ryuji KOHNO	Performance of Super-Orthogonal Convolutional Coding for Ultra-Wideband Systems in Multipath and Multiuser Channels	Wireless Personal Communications Journal, Kluwer Academic Publishers			2006
Hiroki HARADA, Ryuji KOHNO	Interference Reduction Using a Novel Pulse Set for UWB-CDMA Systems	IEICE TRANS.FUND AMENTALS	89	3050-58	2006
谷口 健太郎, 河野 隆 二	TDOA 型センサネットワークにおける 階層型粒子フィルタを用いた位置推定 法	電子情報通信 学会論文誌 A	89-	1068-78	2006
M. Togo, A. Takamura, T. Asai, H. Kaji, M.Nishizawa	An enzyme-based microfluidic biofuel cell using vitamin k3-mediated glucose oxidation	Electrochimica Acta		In press	2007
水野 敏秀, 西中 知 博, 片桐 伸将, 佐藤 正喜, 田中 秀典, 柏 原 進, 酒井 一成, 松田 智昌, 築谷 朋	ナノサーフェステクノロジーによる 新規生体適合性表面処理 TOYOBO-NCVC コーティングの開発と 補助人工心臓および膜型人工肺への応 用.	分子心血管病	7	375-381	2006

典, 本間 章彦, 巽 英介, 妙中 義之					
Enosawa S, Miyashita T, Saito T, Omasa T, Matsumura T.	The significant improvement of survival times and pathological parameters by bioartificial liver with recominant HepG2 in porcine liver failure model.	Cell Transplantation	15	873-880	2006
Takahashi M, Sakurai M, Enosawa S, Omasa T, Tsuruoka S, Matsumura T.	Double-compartment cell culture apparatus: construction and biochemical evaluation for bioartificial liver support.	Cell Transplantation	15	945-952	2006
大政健史	「工業動物細胞」のゲノム解析 10g/l へ向けたチャレンジ	化学と生物	45	9-11	2007
Abe-Dohmae S, Ueda K, Yokoyama S.	ABCA7, a molecule with unknown function	FEBS Lett.	580	1178-82.	2006
Abe-Dohmae S, Kato KH, Kumon Y, Hu W, Ishigami H, Iwamoto N, Okazaki M, Wu CA, Tsujita M, Ueda K, Yokoyama S.	Serum amyloid A generates high density lipoprotein with cellular lipid in an ABCA1- or ABCA7-dependent manner.	J Lipid Res.	47	1542-50	2006
Kobayashi A, Takanezawa Y, Hirata T, Shimizu Y, Misasa K, Kioka N, Arai H, Ueda K, Matsuo M.	Efflux of sphingomyelin, cholesterol, and phosphatidylcholine by ABCG1.	J Lipid Res.	47	1791-802	2006
Matsumura Y, Ban N, Ueda K, Inagaki N.	Characterization and classification of ATP-binding cassette transporter ABCA3 mutants in fatal surfactant deficiency.	J Biol Chem.	281	34503-14	2006
Mutoh K, Mitsuhashi J, Kimura Y, Tsukahara S, Ishikawa E, Sai K, Ozawa S, Sawada J, Ueda K, Katayama K, Sugimoto Y.	A T3587G germ-line mutation of the MDR1 gene encodes a nonfunctional P-glycoprotein.	Mol Cancer Ther.	5	877-84	2006
Nagao S, Murao K, Imachi H, Cao WM, Yu X, Li J, Matsumoto K, Nishiuchi T, Ahmed RA, Wong NC, Ueda K, Ishida T.	Platelet derived growth factor regulates ABCA1 expression in vascular smooth muscle cells.	FEBS Lett.	580	4371-6	2006
Takahashi K, Kimura Y, Kioka N, Matsuo M, Ueda K.	Purification and ATPase activity of human ABCA1.	J Biol Chem.	281	10760-8	2006

Yazaki K, Yamanaka N, Masuno T, Konagai S, Shitan N, Kaneko S, Ueda K, Sato F.	Heterologous expression of a mammalian ABC transporter in plant and its application to phytoremediation.	Plant Mol Biol.	61	491-503	2006
Kimura Y, Kioka N, Kato H, Matsuo M, Ueda K.	Modulation of drug-stimulated ATPase activity of human MDR1/P-glycoprotein by cholesterol.	Biochem J.	401	597-605	2007
Muto S, Tsuruoka S, Miyata Y, Fujimura A, Asano Y, Kusano E.	Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on Na ⁺ and K ⁺ transport in the rabbit cortical collecting duct.	Nephron Physiol	102	51-60	2006
Sugimoto KI, Araki N, Ohmori M, Harada KI, Cui Y, Tsuruoka S, Kawaguchi A, Fujimura A.	Interaction between grapefruit juice and hypnotic drugs: comparison of triazolam and quazepam.	Eur J Clin Pharmacol.	62	209-215	2006
Yamamoto H, Tsuruoka S, Ioka T, Ando H, Ito C, Akimoto T, Fujimura A, Asano Y, Kusano E.	Indoxyl sulfate stimulates proliferation of rat vascular smooth muscle cells.	Kidney Int.	69	1780-85	2006
Tsuruoka S, Kawaguchi A, Harada K, Fujimura A.	Favorable effect on postgraduate clinical practice of a drug-interaction exercise for undergraduate students.	Eur J Clin Pharmacol.	62	571-6	2006
Tsuruoka S, Watanabe S, Purkerson JM, Fujimura A, Schwartz GJ.	Endothelin and Nitric Oxide Mediate the Adaptation of the Cortical Collecting Duct to Metabolic Acidosis.	Am J Physiol Renal Physiol	291	F866-73	2006
Takahashi M, Sakurai M, Enosawa S, Endo M, Omasa T, Tsuruoka S, Matsumura T.	A double-compartment cell culture apparatus: its construction and biochemical evaluation for bioartificial liver support system.	Cell Transplantation,	15	945-952	2006
Tsuruoka S, Kitoh Y, Kawaguchi A, Sugimoto KI, Hayasaka T, Saito T, Fujimura A.	Clearance of imidapril, an angiotensin-converting enzyme inhibitor, during hemodialysis in hypertensive renal failure patients: Comparison with quinapril and enalapril.	J Clin Pharmacol		In press	2007
Taniguchi J, Tsuruoka S, Mizuno A, Sato JI, Fujimura A, Suzuki M.	TRPV4 as a flow sensor in the flow-dependent K ⁺ secretion from the cortical collecting duct.	Am J Physiol Renal Physiol.		In press	2007
Tsuruoka S, Kaneda T, Ioka T, Fujimura A.	Dosing time-dependent variation of bone resorption by cyclosporin A in rats femurs.	Eur J Pharmacol.		In press	2007
K. Taniguchi, K. Nomura, Y. Hata, T. Nishimura, Y. Asami, A. Kuroda	The Si-tag for Immobilizing Proteins on a Silica Surface	Biotechnology and Bioengineering		in press	2007

K. Motomura, N. Takiguchi, H. Ohtake, A. Kuroda	Polyamines affect polyphosphate accumulation in Echerichia coli	J. Environ. Biotech	6	41-46	2006
K Nomura, J. Kato, N. Takiguchi, H. Ohtake, A. Kuroda	Inorganic polyphosphate stimulates Lon-mediated proteolysis of nucleoid proteins in Escherichia coli	Cell. Mol. Biol	52	23-29	2006

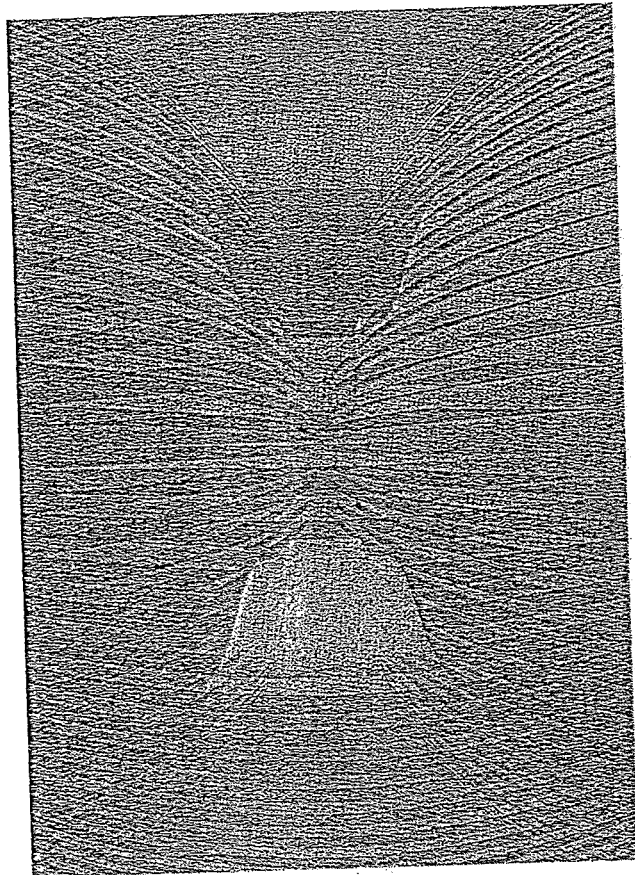


PWVを知る

脈波伝播速度
Pulse Wave Velocity

PWVで診る

編集
宗像正徳
東北労災病院



中山書店