

主任研究者 柴田 克己

I. 総合研究報告

15. トリプトファン-ニコチンアミド経路の鍵物質であるキノリン酸に関する研究

分担研究者 福岡伸一 青山学院大学 教授

要旨

本研究成果から、ハンチントン病（HD）における神経変性のメカニズムを次のように提案する。ユビキタスに発現する異常伸長ハンチンチンが原因となり、末梢においてトリプトファン代謝異常が起こる。3-hydroxyanthranilate oxygenase の発現上昇および aminocarboxymuconate-semialdehyde decarboxylase (ACMSD) の発現低下により血中キノリン酸（QA）濃度が上昇し、その結果、尿中 QA 濃度も上昇する。一方、中枢においては ACMSD 発現および QPRT 発現の低下により脳内 QA 濃度が上昇する。脳内で上昇した QA はアストロサイトにケモカインの誘導を起し、ケモカインが炎症反応を引き起こす。この炎症反応によりミクログリアが活性化されサイトカインを放出するとともに、活性化したミクログリアがさらに QA を生成させる。サイトカインは活性酸素種を生成させることで QA の毒性を亢進させ、またミクログリアの indoleamine-2,3-dioxygenase 発現を誘導する。この悪循環の繰り返しが脳内 QA レベルを上昇させ、末梢側と中枢側の両側から脳血液関門を破綻に導く。さらに破綻した脳血液関門から強力なキノリン酸生成能を持つマクロファージが浸入し、さらなる QA 濃度の上昇を引き起こす。脳内濃度が上昇した QA は NR2B サブタイプを含む神経細胞に強く反応し、神経脱落を引き起こす。

(2004年)

トリプトファン-NAD 経路解析のための
動物モデル設計

食事由来 NAD 必要量を正確に把握するためには、内的な合成経路、すなわちトリプトファン-NAD 経路の寄与率を求める必要がある。最も決定的な方法は、この経路を遮断した状態の実験モデルを作り、そのときの NAD 所要量を求めることである。そこでトリプトファン-NAD 経路の律速酵素であるキノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (QPRT) を人為的に欠損させた遺伝子ノックアウトマウスの作出を目指した。

この実験モデルのもうひとつの有用性は、QPRT 欠損によってトリプトファン代謝産物のひとつで神経毒性を持つキノリン酸 (QA) の生体内濃度、特に脳内濃度が上昇する危険性があり、これが神経細胞変性疾患のモデルになりうる点である。また必須アミノ酸トリプトファンの過剰摂取が脳神経細胞に及ぼす影響を解析するためのモデルともなりうる。

QPRT ノックアウトマウスの作出については、遺伝子構造の解析、ノックアウトベクターによる組み換え、組み換え型マウス ES 細胞の選別に成功した。この ES 細胞を用いてキメラマウスの作出に成功した。しかし、複数のキメラマウスを繰り返して産出下にもかかわらず、組み換え遺伝子が生殖細胞系列に移行したマウスを得ることができなかった。現在、再度、キメラマウス産出を試みると共に、生殖細胞系列への移行を妨げる特別な原因の有無を究

明中である。

このため研究方針を変更し、キノリン酸による神経細胞死のメカニズム解明のモデルとして、ハンチントン病 (HD) マウスを用いて検討を進めることにした。

(2005 年度)

ハンチントン病 (HD) マウスにおけるトリプトファン代謝関連酵素群の酵素活性測定

卵巣移植済の 6 週齢雌ハンチントン病トランスジェニックマウス (系統名: B6CBA-Tg(HDExon1)62Gpb/1J stock No: 002810) (以後, HD マウスと略す) を米国ジャクソン研究所より購入した. 交配相手として 6 週齢雄マウス (系統名: C57BL/6NCr1Cr1j) を日本チャールスリバーより購入した. 雌 HD マウスと雄 C57BL/6NCr1Cr1j マウスを交配させ, 仔マウスを誕生させた (これを F1 系とした). 仔マウスは 4 週齢で離乳し, イヤーパンチによる耳標, 尻尾の回収及び体重測定を行った. 以後, 1 週毎に体重を測定した. 回収した尻尾を用い, ジェノタイピング法により, 正常型 (野生型) あるいは HD 型 (ヘテロ型) の遺伝子型を決定した.

HD マウスの肝臓および腎臓における Trp 代謝関連酵素 (3-HAO, ACMSD, QPRT) の酵素活性を測定し, HD マウスにおける Trp 代謝異常の有無を調べた. HD マウスが, 8 週齢まで正常に発育した後, 顕著に体重が減少し, 11 週齢で HD に特徴的な舞踏運動を示した事より, 8 週齢を発症前, 11 週齢を発症後とし, 8 週齢, 11 週齢における正常型, HD 型の肝臓, 腎臓における 3-HAO, ACMSD, QPRT の酵素活性を測定した.

QA 生成に関わる 3-HAO の活性は肝臓の方が腎臓よりも 7~8 倍程度高く, 週齢に

よる有意な差は観察されなかった. 正常マウスと HD マウスを比較すると, 両臓器, 両週齢とも HD マウスで活性が上昇しており, 11 週齢の肝臓においては有意 ($P<0.05$) に上昇していた.

QA 生成を抑制する ACMSD の活性は腎臓の方が肝臓よりも高く, 週齢による有意な差は観察されなかった. 正常マウスと HD マウスを比較すると, 両臓器, 両週齢とも HD マウスで活性が低下しており, 8 週齢, 11 週齢の肝臓においては有意 ($P<0.05$ (8 週齢), $P<0.01$ (11 週齢)) に低下していた.

QA を消去する QPRT の活性は肝臓の方が腎臓よりも 3~4 倍程度高く, 週齢による有意な差は観察されなかった. 正常マウスと HD マウスの比較でも有意な差は観察されなかった.

HD マウスにおけるトリプトファン代謝産物の定量

肝臓における ACMSD 活性の低下と 3-HAO 活性の上昇は, 血中 QA 濃度の上昇を誘引すると考えられたので, 血液成分を反映する尿中の Trp 代謝産物量を測定した. 8 週齢, 11 週齢における正常マウス, HD マウスの尿中 AnA, XA, KA, 3-HA, QA を HPLC を用いて定量し, クレアチニン量で補正を行った.

正常マウスと HD マウスを比較すると, AnA は 8 週齢, 11 週齢ともに HD マウスで低下傾向にあり, 8 週齢で有意 ($p<0.005$) に低下していた. KA も 8 週齢,

11 週齢ともに HD マウスで低下傾向にあった。QA は 8 週齢, 11 週齢ともに HD マウスで上昇傾向にあり, 8 週齢で有意 ($p<0.05$) に上昇していた。XA は測定の不具合により一部データが得られなかった。3-HA は傾向性が見られなかった。

HD マウスにおけるトリプトファン代謝関連酵素群の遺伝子発現解析

末梢におけるトリプトファン代謝異常から, 脳内においても同様な代謝異常が生じている可能性が推察された。そこで, HD マウス的大脑皮質, 小脳, 線条体および海馬における Trp 代謝関連酵素 (3-HAO, ACMSD, QPRT, IDO) の遺伝子発現変化をリアルタイム PCR 法により解析した。脳内におけるトリプトファン代謝関連酵素の酵素活性は非常に低く, 酵素活性測定法では脳内トリプトファン代謝異常が観察できないため, リアルタイム PCR 法による遺伝子発現解析を試みた。

3-HAO は 8 週齢において HD マウス的大脑皮質, 小脳で有意 ($p<0.05$) に低下していた。他の部位では遺伝子型の違いによる有意な差は観察されなかったが, HD マウス小脳の 8 週齢と 11 週齢とを比較すると 11 週齢で発現上昇していた。

ACMSD は 8 週齢において HD マウス的大脑皮質, 小脳で有意 ($p<0.05$) に低下し, 11 週齢においても HD マウス的大脑皮質で有意 ($p<0.001$) に低下していた。遺伝子型の違いによる有意な差は他の

部位では観察されなかった。

QPRT は 8 週齢において HD マウス的小脳, 線条体で有意 ($p<0.05$ (小脳), $p<0.001$ (線条体)) に低下し, 11 週齢においても HD マウス的小脳で有意 ($p<0.01$) に低下していた。遺伝子型の違いによる有意な差は他の部位では観察されなかったが, 小脳において他の部位よりも 3 倍程度 QPRT は高発現であった。IDO は 8 週齢において HD マウス的小脳, 海馬で低下傾向であり, 海馬では有意 ($p<0.05$) に低下していた。11 週齢においても HD マウス的大脑皮質, 線条体, 海馬で有意 ($p<0.05$ (大脑皮質), $p<0.001$ 線条体), $p<0.005$ (海馬)) に低下していた。遺伝子型の違いによる有意な差は他の部位では観察されなかったが, 線条体では他の部位よりも顕著に IDO が高発現であった。

(2006 年度)

キノリン酸薬理作用の電気生理学的解析

トリプトファン代謝異常が脳内で観察された事より、QA が脳内に蓄積している可能性が示唆された。そこで、QA が神経脱落を引き起こす作用機序を明らかにするために、パッチクランプ法による電気生理学的解析を大脳皮質帯状回の神経細胞に対して行った。

2 週齢～4 週齢の Wistar ラットをハロセン麻酔後、素早く脳を取り出し不必要な部分をトリミングした。スライサーを用い、95%O₂, 5%CO₂ でバブルした氷冷塩化コリン溶液 (ナトリウム-コリン置換 ACSF)

(120 mM NaCl, 3 mM KCl, 28 mM NaHCO₃, 1.25 mM NaH₂PO₄-2H₂O, 22 mM Glucose, 2.5 mM CaCl₂, 1.3 mM MgCl₂) 中で厚さ 400 μm のスライス標本を作製した。スライス標本は ACSF (12 mM NaCl, 0.3 mM KCl, 2.6 mM NaHCO₃, 1.25 mM NaH₂PO₄-2H₂O, 15 mM Glucose, 8 mM MgCl₂) が飽和し 95%O₂, 5%CO₂ でバブルしたチャンバー中に静置し、室温で 2 時間程度の回復期間をおいた後、測定に用いた。還流速度：2 ml/min, 還流液温度：室温で実験を行った。記録電極は内液：K-methane 溶液 (150 mM K-methanesulphonate, 5 mM KCl, 0.1 mM EGTA, 5 mM Na-HEPES, 3 mM Mg-ATP, 0.4 mM Na-GTP) 抵抗：6-10 MΩ のもを用いた。薬液の投与法は還流法と局所法を使い分け、局所法では刺激電極内液を QA : 10 mM, NMDA : 500 μM とした。

QA による神経細胞の興奮は QA 濃度依存的に増加した。また NMDA レセプターアンタゴニストの AP-5 と NMDA レセプター NR2B サブタイプ特異的アンタゴニストの ifenprodil によりキノリン酸による神経興奮が抑制された。競合阻害剤である AP-5 存在下で、QA および NMDA の NMDA レセプターに対する親和性を調べた結果、QA に対して異なる親和性を示す細胞種が確認された。一方、それらの細胞種における NMDA に対する親和性に差はみられなかった。本実験に用いられた神経細胞には NMDA レセプターサブタイプのうち NR2A と NR2B の局在が報告されている。これらことから、QA に対する親和性の違いは細胞膜上に分布するサブタイプの違いによると考えられた。さらに、非競合阻害剤である ifenprodil 存在下で、QA と NMDA による神経興奮を解析した結果、QA は NR2B に対する反応性が高く、NMDA は NR2A に対する反応性が高いことが明らかになった。

考察および総括

本研究では、HD マウス末梢組織におけるトリプトファン代謝経路の異常を発見した。特に、肝臓では、3-HAO 活性が有意に上昇し、ACMSD 活性が有意に低下した。肝臓において、ACMS 生成酵素である 3-HAO 活性の上昇と ACMS を消去する ACMSD 活性の低下が ACMS 量の増加を引き起こし、またキノリン酸 (QA) を消去する QPRT 活性が変動しないことで、結果として QA 量を増加させると考察できる。実際、HD マウスの尿中トリプトファン代謝産物測定では、尿中 QA 濃度が有意に上昇しており、先の考察と一致する。抗結核薬ピラジナミド摂取やフタル酸エステル摂取による腎臓、肝臓 ACMSD 活性の低下が、尿中 QA 濃度の上昇を誘導することが報告されており、ACMSD 活性の低下が QA の生成の増加に深く関わることを推察できる。さらに、肝臓の機能として消化管から吸収された栄養に富む血液を肝門脈から受け取り、様々な栄養物の代謝や貯蔵を行うこと、尿は血液が腎臓の糸球体で濾過されたもので、血液成分の反映であるということより、末梢における ACMSD 活性の低下が血中 QA 濃度の上昇を誘導し、血液を反映する尿中の QA 濃度が上昇したと考察できる。腎臓切除による腎機能低下ラットが、肝臓 ACMSD 活性の低下や尿中、血清中の QA 濃度の上昇を示すだけでなく、脳脊髄液、大脳皮質、小脳、海馬線条体、視床においてもキノリン酸濃度の上昇を示すという報告より、末梢における代謝異常が中枢のキノリン酸濃度の上昇に影響する可能性がある

る。

HD マウス脳各部位におけるトリプトファン代謝関連酵素の遺伝子発現解析より、ACMSD 発現量が正常マウスと比較して低下あるいは同等である事を発見した。さらに QPRT 発現量も低下あるいは同等であり、これらの遺伝子発現量の低下は QA 生成を促進させる。HD 患者では 3-HAO 活性が上昇し、AD 患者では組織染色による発現が上昇していると報告されているが、今回の結果とは一致しない。本実験では週齢差をなくすために、発症が確認されずとも 11 週齢を発症とした。一方、上記 2 例は発症後死後脳における報告であることが大きく異なる。HD マウスにおける ACMSD および QPRT 発現量が発症前の 8 週齢でも低下していたより、両遺伝子の発現量の低下が病態発症の引き金となり、また、病態進行の促進要因であった可能性も考えられる。8 週齢、11 週齢の時点に加え、さらに詳細な検討が必要である。

ホールセルパッチクランプ法により、QA が NMDA レセプター NR2B サブタイプに対し、強い反応性を示すことを発見した。NR2B サブタイプは HD 患者で選択的神経脱落が起こる線条体に強く発現するサブタイプである。本実験では線条体特異的な ACMSD および QPRT 発現量の低下が起きていない。しかし、選択的神経脱落が、部位による QA 生成量の違いではなく、部位による QA に対する感受性の違いに起因している可能性がある。本実験で観察された神経興奮は 100 μ M 以上の QA 濃度を必要とした。初代神経培養に対する QA の毒性

濃度は数時間～数日の暴露期間で数百 μM レベルであり、数週間の暴露期間で数百nMレベルであった。これらの報告から慢性的なQAの暴露であれば低濃度でも神経細胞に損傷を与えることも可能性がある。HDにおける脳内QAレベルは不明であるが、HIV感染ではQA濃度が μM レベルに達すると報告されており、十分にQAが毒性を示す濃度である。さらに、QAはフリーラジカルの生成能を持つことが報告されており、またHD患者脳内で上昇し、フリーラジカル生成能を持つ3-HKとQAとの共暴露によりその毒性が増加する。さらに、QAがミトコンドリアに作用しミトコンドリア機能不全を起こすとの報告もある。さらに、NMDAレセプターアンタゴニストとして作用するKAがHDで低下している報告もあり、本研究の尿中KA濃度の低下とも一致する。このように、QAはNMDAレセプターに対する興奮毒性を示すだけでなく、活性酸素種の生成やミトコンドリアの機能不全の誘導などの複合的作用によって神経細胞の脱落を引き起こすと考察できる。

本研究から、HDにおける神経変性のメカニズムを次のように提案する。ユビキタスに発現する異常伸長ハンチンチンが原因となり、末梢においてトリプトファン代謝異常が起こる。3-HAOの発現上昇およびACMSの発現低下により血中QA濃度が上昇し、その結果、尿中QA濃度も上昇する。一方、中枢においてはACMSD発現およびQPRT発現の低下により脳内QA濃度が上昇する。脳内で上昇したQAはアストロサ

イトにケモカインの誘導を起こし、ケモカインが炎症反応を引き起こす。この炎症反応によりミクログリアが活性化されサイトカインを放出するとともに、活性化したミクログリアがさらにQAを生成させる。サイトカインは活性酸素種を生成させることでQAの毒性を亢進させ、またミクログリアのIDO発現を誘導する。この悪循環の繰り返しで脳内QAレベルを上昇させ、末梢側と中枢側の両側から脳血液関門を破綻に導く。さらに破綻した脳血液関門から強力なキノリン酸生成能を持つマクロファージが浸入し、さらなるQA濃度の上昇を引き起こす。脳内濃度が上昇したQAはNR2Bサブタイプを含む神経細胞に強く反応し、神経脱落を引き起こす。

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）
日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する基礎的研究
平成16年度～18年度 総合研究報告書

主任研究者 柴田 克己

I. 総合研究報告

16. 母乳分泌における脂溶性ビタミンの細胞内輸送機構の解析

分担研究者 玉井 浩 大阪医科大学小児科 教授

要旨

乳腺細胞における脂質の分泌は、細胞内の lipid droplet に組み込まれて、milk fat globule として細胞外に分泌される。そこに至るまでのビタミン E の細胞内転送機構は不明であった。乳腺細胞においても α -TTP 遺伝子発現が確認されたことから、ビタミン E の転送機構は肝臓と同様のメカニズムが考えられる。

1 研究目的

母乳は子供の急速な成長と発達にとって重要であり、十分なエネルギーと必須栄養素を供給する。感染予防物質・細胞・ホルモン・酵素・成長因子・結合タンパク質など多くの物質を含んでいる。脂溶性ビタミン群も同様に母乳中に含まれ、授乳を通じて乳児に供給される。

成熟母乳中の脂質および脂溶性ビタミン濃度の構成と濃度はさまざまである。特に脂溶性ビタミン濃度は母親の摂取量の影響を受ける。しかし大多数は高値を呈することが多い。例外として母乳中のビタミンK濃度は低値であるため、新生児出血性疾患予防のために、出生後にビタミンKが投与される。

ビタミンEは抗酸化作用をもつ脂溶性ビタミンである。生体内で活性を有するビタミンEは、主に α -トコフェロールである。 α -トコフェロールはホメオスタシスの維持に重要な役割を有する。脂溶性ビタミンであるビタミンEについては、肝細胞内における α -トコフェロール輸送タンパク質

(α -TTP: α -tocopherol transfer protein) が同定され、細胞内輸送機構が明らかにされている。 α -TTPの役割として、血中の α -トコフェロール濃度を一定に保つことが考えられる。

母乳中のビタミンE濃度は母体の摂取量にもよるが、ほぼ充足されている。すなわち乳腺細胞においては、ビタミンEを積極的に細胞外に輸送する機構の存在が考えられる。近年、母乳分泌のメカニズムは詳細に解明されつつあり、乳腺細胞における母

乳構成物質の細胞内輸送についてもいまだ検討中の段階である。しかし乳腺細胞においてはまだ検討されていない。今回我々は、乳腺細胞におけるビタミンE輸送機構について明らかにする。

2 これまでの研究経過

α -TTPは、東京大学薬学部新井洋由教授らにより報告された。 α -TTPタンパク質は、主に肝臓、小脳、子宮に局在しており、細胞内での α -トコフェロールの移動に関係している。 α -TTP遺伝子は、脊髄小脳失調症を伴う家族性ビタミンE欠乏症の原因遺伝子であることが判明した。また α -TTP遺伝子欠損マウスでは、雌は不妊となる。申請者らは彼らとの共同研究で、 α -TTP遺伝子について以下の結果が得られた。

1) 妊娠初期の子宮内皮細胞に発現し、妊娠初期に必要な(Biol Reprod; 2002)。

2) 胎盤の栄養膜にも発現し、妊娠の維持に必須である(Placenta; 2003)。

さらに我々は以下のことを明らかにした。

3) 酸化ストレスあるいは血液中ビタミンE濃度により調節される

(Free Radic Res; 1998、Free Radic Res; 2002)。

4) 白血球においても発現が認められ、抗酸化に関係する可能性がある(Free Radic Res; 2003)。

次にビタミンEの輸送が積極的に必要と思われる乳腺細胞においても α -TTP遺伝子が存在するか否かを検討した。その結果、乳腺細胞(MCF-7およびMCF-10培養細胞)において α -TTP mRNAをPCR法にて確認し

た。

3 方法

ヒト培養細胞である Ishikawa cell (子宮内膜腺癌)、FLC-5 (肝癌)、MCF-10 (乳腺線維嚢胞) を用いて、添加実験を行った。添加リガンドとして、成長因子・ホルモン・ビタミン・脂溶性リガンドを用いた。添加 24 時間後の培養細胞から RNA を抽出し、real-time RT PCR 法を用いて、 α -TTP 遺伝子発現を検討した。

4 結果

1) 各培養細胞における α -TTP 遺伝子発現の確認 (図 1)

RT-PCR 法にて α -TTP 遺伝子発現を確認した。

2) リガンド添加実験 (図 2)

各培養細胞において、リガンド添加を行った結果、22(R) hydroxycholesterol (22R HC) 添加後、 α -TTP 遺伝子発現が有意に上昇した ($p < 0.05$)。

3) 各培養細胞における LXR 遺伝子発現の確認 (図 3)

4) ヒト初代肝臓培養細胞における 22R HC 添加実験 (図 4)

ヒト初代培養細胞でも α -TTP 遺伝子発現が有意に上昇した ($p < 0.05$)。

5) 濃度依存実験 (図 5)

α -TTP 遺伝子発現の上昇は濃度依存的であ

った。

5 考察

乳腺細胞における脂質の分泌は、細胞内の lipid droplet に組み込まれて、milk fat globule として細胞外に分泌される。そこに至るまでのビタミン E の細胞内転送機構は不明であった。乳腺細胞においても α -TTP 遺伝子発現が確認されたことから、ビタミン E の転送機構は肝臓と同様のメカニズムが考えられる。

LXR はコレステロール代謝を制御する転写因子であり、肝臓においてコレステロール異化作用を有する CPY 7a 遺伝子発現を亢進し、また末梢細胞や小腸においてコレステロールのトランスポーターである ABCA 1 遺伝子発現を誘導する。以上の結果から、 α -TTP 遺伝子発現は LXR を介したコレステロール代謝機構の中で調節されている可能性が示唆された (図 6)。

今後 α -TTP 遺伝子のプロモーター領域を取得し、転写活性実験を行い、転写レベルにおける発現調節を解析する予定である。また哺乳ラットの乳腺組織において α -TTP 遺伝子発現を確認する。

ビタミン E は乳児にとって重要な抗酸化物質である。今後、乳腺細胞におけるビタミン E の輸送機構が解明されることにより、母乳を介した酸化ストレスに対する防御機構が明らかになると思われる。

6 発表論文

1) Okamoto N, Murata T, Tamai H, Tanaka H, Nagai H.

Effects of alpha tocopherol and probucol supplements on allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of allergic asthma.

Int Arch Allergy Immunol.

2006;141(2):172-80.

2) Takitani K, Zhu CL, Inoue A, Tamai H.

Molecular cloning of the rat beta-carotene 15,15'-monooxygenase gene and its regulation by retinoic acid.

Eur J Nutr. 2006 Sep;45(6):320-6.

3) Yoshikawa S, Morinobu T, Hamamura K,

Hirahara F, Iwamoto T, Tamai H.

The effect of gamma-tocopherol administration on alpha-tocopherol levels and metabolism in humans.

Eur J Clin Nutr. 2005 Aug;59(8):900-5.

4) Hiroi M, Ogihara T, Hirano K, Hasegawa M,

Morinobu T, Tamai H, Niki E.

Regulation of apoptosis by glutathione redox state in PC12 cells exposed simultaneously to iron and ascorbic acid.

Free Radic Biol Med. 2005 Apr

15;38(8):1057-72.

5) Inoue A, Muranaka S, Fujita H, Kanno T,

Tamai H, Utsumi K.

Molecular mechanism of diclofenac-induced apoptosis of promyelocytic leukemia:

dependency on reactive oxygen species, Akt, Bid, cytochrome and caspase pathway.

Free Radic Biol Med. 2004 Oct

15;37(8):1290-9

6) Takitani K, Inoue A, Koh M, Kawakami C,

Kuno T, Kawamura N, Miyake M, Tamai H.

Pharmacokinetics of low-dose all-trans retinoic acid in Japanese children with cancer.

J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 2004

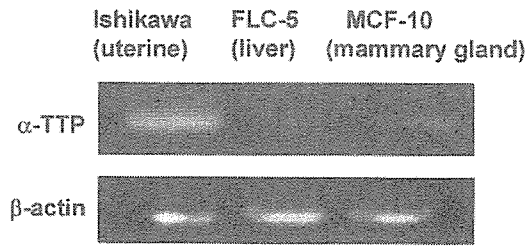
Jun;50(3):219-21.

7) Nakakura H, Ashida A, Hirano K, Tamai H.

Oxidative stress in a rat model of nephrosis can be quantified by electron spin resonance.

Pediatr Nephrol. 2004 Mar;19(3):266-70.

☒1



☒2

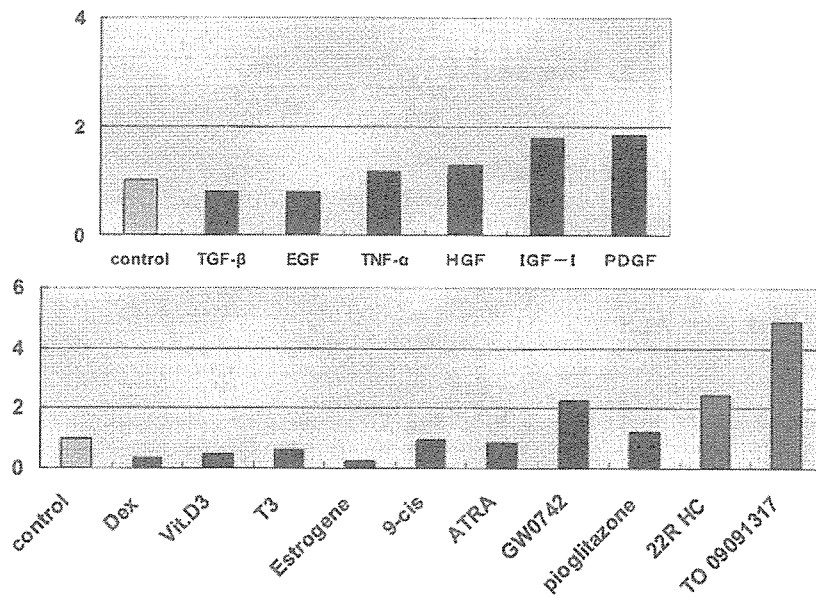


図3

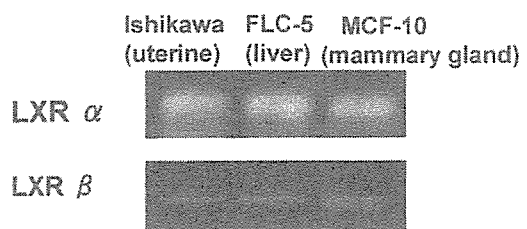


図4

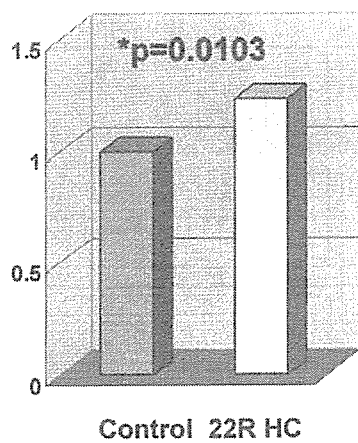


図5

MCF-10細胞

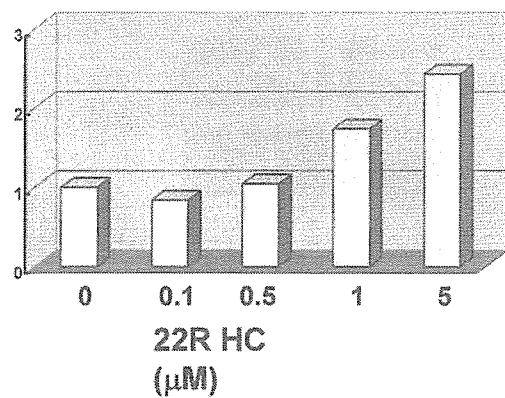
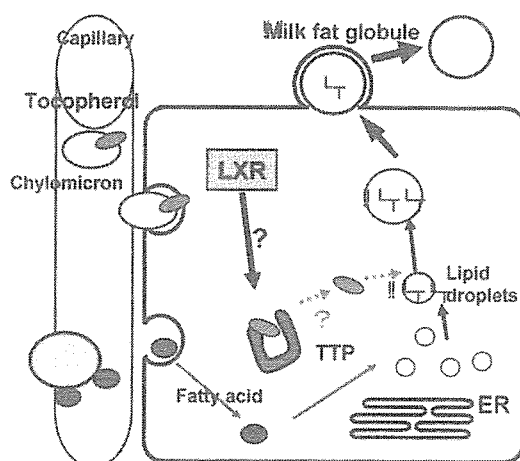


図6 乳腺細胞



厚生労働科学研究費補助金
循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業

日本人の食事摂取基準(栄養所要量)の策定に関する研究

平成16年度～18年度 総合研究報告書

Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷

主任研究者 柴田 克己

平成19(2007)年3月

目 次

II. 研究成果の刊行に関する一覧表	001
III. 研究成果の刊行物・別刷	015

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

平成16年度 (2004年度)

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻	頁	出版年
柴田克己	水溶性ビタミン	臨床栄養	105	856-860	2004
渡邊敏明, 谷口歩美, 福井徹, 太 田万理, 福 渡努, 米久 保明得, 西 牟田守, 柴 田克己	日本人女性の母乳中ビオチン, パントテン酸およびナイアシンの含量	ビタミン	78	399-407	2004
柴田克己	水溶性ビタミン	静脈経腸栄養	19	29-33	2004
Fukuwatari T, Ohsaki S, Fukuoka S, Sasaki R, & Shibata K	Phthalate esters enhance quinolinic acid production by inhibiting α -amino- β -carboxymuconate- ϵ -semialdehyde decarboxylase (ACMSD), a key enzyme of the tryptophan pathway.	Toxicol. Sci.	81	302-308	2004
福渡努, 真藤 こず恵, 太田 万理, 佐々木 隆造, 柴田克 己	魚類における3-ヒドロキシアンスラニル酸オキシゲナーゼ/アミノカルボキシムコン酸セミアルデヒド脱炭酸酵素活性比からのトリプトファン-ニコチンアミド変換率の推定	ビタミン	78	409-411	2004
Fukuwatari T, Ohta M, Sugimoto E, Sasaki R, & Shibata K	Effects of dietary di(2-ethylhexyl)phthalate, a putative endocrine disrupter, on enzyme activities involved in the metabolism of tryptophan to niacin in rats.	Biochim. Biophys. Acta	1672	67-75	2004

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻	頁	出版 年
Fukuwatari T, Honda N, Sasaki R, & Shibata K	Establishment of niacin-deficient mice.	J. Creative Approach for Health	3	19-25	2004
伊藤康宏, 米倉麗子, 斉藤邦明, 柴田克己, 内藤純子, 中上寧, 長村洋一	運動とトリプトファン代謝－血中動態からの推測－	健康創造研究会誌	3	13-18	2004
Takahashi Y, Tanaka A, Nakamura T, Fukuwatari T, Shibata K, Shimada N, Ebihara I, & Koide H	Nicotinamide suppresses hyperphosphatemia in hemodialysis patients.	Kidney Internatuional	65	1099-1104	2004
福渡努, 鈴浦千絵, 佐々木隆造, 柴田克己	代謝攪乱物質ビスフェノールAのトリプトファン-ニコチンアミド転換経路の攪乱部位	食品衛生学会誌	45	231-238	2004
Kimura N, Fukuwatari T, Sasaki R, & Shibata K	The necessity of niacin in rats fed on a high protein diet.	Biosci. Biotechnol. Biochem.	69	273-279	2005
Ihara H, Shino Y, & Hashizume N	Recommended dietary allowance for vitamin C in the United State is also applicable to a population of young Japanese women.	J. Clin. Lab. Anal.	18	305-308	2004
鈴木久美子, 佐々木晶子, 新澤佳世, 戸谷誠之	離乳前乳児の哺乳量に関する研究	栄養学雑誌	62	369-372	2004

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻	頁	出版年
Okubo H, & Sasaki S	Underreporting of energy intake among Japanese women aged 18-20 years and its association with reported nutrient and food group intakes.	Pub. Health Nutr.	7	911-917	2004
渡邊敏明	外挿法－エビデンスの乏しい性・年齢階級への対応－	臨床栄養	105	718-724	2004
渡邊敏明, 大口憲一, 榎原周平, 福井徹	ビオチン欠乏状態の指標としての尿中3-ヒドロキシイソ吉草酸の高速液体クロマトグラフィによる測定法の検討	生物試料分析	27	309-312	2004
奥田涼子, 谷口歩美, 榎原周平, 福井徹, 渡邊敏明	ATPを指標としたビオチンの微生物学的定量法の検討	Trace Nutrients Research	21	141-147	2004
Watanabe T, Oguchi K, Ebara S, & Fukui T	Measurement of 3-hydroxyisovaleric acid in urine of biotin-deficient infants and mice by HPLC.	J. Nutr.	135	615-618	2005
Suhara Y, Kamao M, Tsugawa N, & Okano T	Method for the determination of vitamin K homologues in human plasma using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry	Anal. Chem.	77	757-763	2005
Kamao M, Suhara Y, Tsugawa N, & Okano T	Determination of plasma vitamin K by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection using vitamin K analogs as internal standards.	J. Chromatogr. B	816	41-48	2005
Yamada H, Waki M, Yamada K, & Umegaki K	Lymphocyte and plasma vitamin C levels in type 2 diabetic patients with and without diabetes complications.	Diabetes Care	27	2491-2492	2004