

201008026A

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

漢方薬「熊胆」の作用機序の解明からC型肝炎治療薬の開発

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 半田 宏

平成23（2011）年 5月

研究報告書目次

目 次

I. 総括研究報告		
漢方薬「熊胆」の作用機序の解明からC型肝炎治療薬の開発	-----	1
II. 分担研究報告		
1. ウルソデオキシコール酸標的タンパク質に関する研究	-----	3
半田 宏		
2. ウルソデオキシコール酸の分子標的に関する研究	-----	8
今井 剛		
3. ウルソデオキシコール酸の薬理活性に関する研究	-----	10
末松 誠		
4. ウルソデオキシコール酸の転写因子に対する影響に関する研究	-----	12
小田泰子		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	14

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
総括研究報告書

漢方薬「熊胆」の作用機序の解明からC型肝炎治療薬の開発

研究代表者 半田 宏 東京工業大学 ソリューション研究機構／大学院生命理工学研究科

研究要旨 漢方薬「熊胆」の主成分であるウルソデオキシコール酸（ursodeoxycholic acid; UDCA）は胆汁酸代謝物の1種であり、肝機能改善薬として知られている。最近ではC型肝炎に対する有効な治療薬としても利用されている。平成22年度では、UDCAの薬理作用機構の解明を目的にUDCA結合タンパク質を探索し、培養細胞を用いてUDCAの機能を解析した。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

半田 宏・東京工業大学 ソリューション研究機構／大学院生命理工学研究科・教授
今井 剛・東京工業大学 バイオフロンティアセンター・特任教授
末松 誠・慶應義塾大学 医学部・教授、医学部長
小田 泰子・慶應義塾大学 薬学部・専任講師

A. 研究目的

漢方薬「熊胆」は「熊の胆（くまのい）」とも呼ばれる動物性生薬である。古くから万病の薬として知られ、鎮痛、鎮痙、消炎、鎮静、解毒などの目的に利用されてきた。「熊胆」の主成分であるウルソデオキシコール酸（ursodeoxycholic acid; UDCA）は胆汁酸代謝物の1種であり、利胆作用を示すことから、肝機能改善薬として知られている。最近ではC型肝炎に対する有効な治療薬としても利用されている。本研究ではUDCAの薬理作用機構の分子レベルでの解明を目的に、UDCAの標的タンパク質を単離・同定する。また、培養細胞または実験動物を用いてUDCAの機能を解析する。本研究の成果によって、漢方薬「熊胆」の有用性に対して科学的根拠を提供できるものと考えている。

B. 研究方法

UDCA標的タンパク質を単離・同定するには、UDCAに選択的に結合するタンパク質を得る必要がある。そこで、UDCA結合タンパク質を効率的に得るべく、東京工業大学の半田教授が独自に開発した高機能性アフィニティ磁性ビーズをタンパク質精製用担体に用いた。UDCAを高機能性アフィニティ磁性ビーズ上に固定化し、磁気分離を含むアフィニティ精製によりラットの肝臓抽出液からUDCA結合タンパク質（群）を単離・同定した。

一方で、肝炎患者の骨密度が低いという報告を参考に、UDCAの骨芽細胞における作用を解析した。骨芽細胞株MC3T3-E1細胞を培養し、UDCAを投与した後、骨芽細胞分化活性を測定した。骨芽細胞分化測定法はALP（アルカリフォスファターゼ）活性測定法とオステオカルシン転写量測定法を用いた。また、UDCAと同様の薬理作用を有する薬剤を用い、培養細胞を用いて薬理作用を比較した。

さらに、転写因子に対するUDCAの作用を調べるために、マウスマクロファージ系細胞株(RAW 264.7 cells)およびヒト単球系細胞株(THP-1 cells)を用い、炎症性サイトカインをELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) 法により測定した。

詳細は各分担研究報告書を参照。

(倫理面への配慮)

本研究は試験管内実験・培養細胞実験・マウス動物実験から構成されており、生化学的実験やマウス等の動物実験に関する倫理面に配慮して研究を進めている。平成22年度は組み換え遺伝子実験を行ったため、各分担研究者の所属研究機関に対して利用申請した。

C. 研究結果

UDCA固定化磁性ビーズを作製し、ラットの肝臓抽出液を用いてUDCA結合タンパク質のアフィニ

ティ精製を検討したところ、UDCA に選択的に結合したタンパク質が複数得られた。さらに、UDCA に対してより結合能（アフィニティ）の強いタンパク質を過剰量の UDCA を用いて探索し、いくつかのタンパク質を UDCA 結合タンパク質（群）として得ることができた。

骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞に UDCA を加えて培養を続けると、ALP の酵素活性、オステオカルシンの転写活性いずれも、UDCA 濃度依存的に上昇した。

UDCA と同様の薬理作用を有する薬剤 A を培養細胞に投与して細胞の挙動を調べ、UDCA を投与した細胞と異なる挙動を示したことがわかった。

また、RAW 264.7 細胞および THP-1 細胞いずれにおいても、200 μ M の UDCA によって LPS (Lipopolysaccharide) 刺激で活性化された転写因子 NF- κ B が抑制された。

詳細は各分担研究報告書を参照。

D. 考察

UDCA 固定化磁性ビーズを利用したアフィニティ精製により、ラットの肝臓抽出液から UDCA に対して高い結合能（アフィニティ）を有する UDCA 結合タンパク質（群）を得ることができ、これらは UDCA 標的タンパク質の可能性が高いと考えられる。

骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞において、UDCA 濃度依存的に骨芽細胞分化促進活性が上昇したことから、骨芽細胞（MC3T3-E1 細胞）にも UDCA 標的タンパク質が存在することが示唆される。

肝機能改善作用を有し、UDCA に類似した構造を持つ薬剤 A を用いた培養細胞の実験から、UDCA は薬剤 A とは異なる作用機構（標的因子が異なるなど）を介して薬理活性を示していることが示唆された。

炎症性サイトカインの産生に深く関わる転写因子 NF- κ B の活性化が UDCA によって抑制されたため、活性化された NF- κ B の抑制に UDCA 標的タンパク質が関与している可能性がある。

詳細は各分担研究報告書を参照。

E. 結論

UDCA 固定化磁性ビーズを用いたアフィニティ精製によって、ラットの肝臓抽出液から UDCA 標的タンパク質として可能性の高い UDCA 結合タンパク質（群）を単離した。また、UDCA 濃度依存的に骨芽細胞分化促進活性が上昇し、炎症性サイトカインの産生に深く関わる転写因子 NF- κ B の活性化が UDCA によって抑制された。よって、培養細胞を用いた実験から骨芽細胞やマクロファージなどにも UDCA 標的タンパク質が存在していることが示唆された。

F. 健康危険情報

本研究では該当する健康危険情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

各分担研究報告書を参照

2. 学会発表

各分担研究報告書を参照

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

各分担研究報告書を参照

2. 実用新案登録

各分担研究報告書を参照

3. その他

各分担研究報告書を参照

ウルソデオキシコール酸標的タンパク質に関する研究

研究分担者 半田 宏 東京工業大学 ソリューション研究機構／大学院生命理工学研究科

研究要旨 漢方薬「熊胆」の主成分であるウルソデオキシコール酸（ursodeoxycholic acid; UDCA）は肝機能改善薬として知られ、最近ではC型肝炎に対する有効な治療薬としても利用されている。生体内におけるUDCAの薬理作用機構を解明するために、高機能性アフィニティ磁性ビーズとラットの肝臓抽出液を用いて、UDCA結合タンパク質を探索した。

A. 研究目的

漢方薬「熊胆」の主成分であるUDCAの生体内における薬理作用機構を分子レベルで理解するために、高機能性アフィニティ磁性ビーズとラットの肝臓抽出液を用いて、UDCA結合タンパク質を探索した。

B. 研究方法

UDCA標的タンパク質を単離・同定するには、UDCAに選択的に結合するタンパク質を得る必要がある。そこで、当グループが独自に開発した高機能性アフィニティ磁性ビーズを用いてUDCA結合タンパク質を探索することとした。UDCA結合タンパク質をアフィニティ精製するソース（タンパク質ライブラリー）にはラットの肝臓抽出液を用いた。UDCAを高機能性アフィニティ磁性ビーズ上に固定化し、磁気分離を含むアフィニティ精製によりUDCA結合タンパク質（群）を単離・同定する。

（倫理面への配慮）

本研究は試験管内実験・培養細胞実験・マウス動物実験から構成されており、生化学的実験やマウス等の動物実験に関する倫理面に配慮して研究を進めている。平成22年度は組み換え遺伝子実験を行う可能性があったため、所属研究機関に対して利用申請した。

C. 研究結果

UDCAのカルボン酸を利用して高機能性アフィニティ磁性ビーズ上にUDCAを固定化した。ここで、アフィニティ精製における比較検討のため、薬理活性を示さないデオキシコール酸（deoxycholic acid; DCA）を固定化した磁性ビーズも作製した。アフィニティ精製を検討するタンパク質ライブラリーには、UDCAの肝機能改善作用を踏まえ、ラットの肝臓から作製した抽出液を選択した。UDCA固定化磁性ビーズを用い、ラット肝臓の抽出液からUDCA結合タンパク質をアフィニティ精製したところ、複数のタンパク質が得られた。同様に、DCA固定化磁性ビーズを用いたアフィニティ精製においても結合タンパク質が得られたが、これら精製の結果を比較すると、UDCAに対してのみ結合しているタンパク質がいくつか得られた。さらに、過剰量のUDCAを用いた薬剤溶出実験や結合阻害実験を試みたところ、より選択的にUDCAに結合しているタンパク質を得ることができた。現在、これらタンパク質を単離し、質量分析によって同定を進めている。

D. 考察

UDCA固定化磁性ビーズを用いたラットの肝臓抽出液からのアフィニティ精製により、UDCA結合タンパク質を得ることができ、ラットの肝臓抽出液にUDCAと結合する（相互作用する）タンパク質（群）が存在していることが考えられる。特に、薬理活性のないDCA固定化磁性ビーズを用いたアフィニティ精製との比較、過剰量のUDCAを用いた薬剤溶出実験や結合阻害実験を通じて、UDCAに対してより結合能（アフィニティ）の高いUDCA結合タンパク質が得られたことから、ラットの肝臓抽出液にUDCA標的タンパク質が存在している可能性が高い。今後、これらUDCA結合タンパク質を質量分析によって同定し、さらに解析を進めることで、UDCA標的タンパク質を同定したい。

E. 結論

UDCA固定化磁性ビーズを用いたアフィニティ精製により、UDCAに対して結合能（アフィニティ）の高いUDCA結合タンパク質が得られた。それ故、ラットの肝臓抽出液にUDCA標的タンパク質が存在している可能性が高い。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Yasuma, A.; Ochiai, T.; Azuma, M.; Nishiyama, H.; Kikuchi, K.; Kondo, M.; Handa, H. “Exogenous coproporphyrin III production from *Corynebacterium aurimucosum* and *Microbacterium oxydans* in erythrasma lesions.” *J. Med. Microbiol.* in press.
- Hatakeyama, M.; Kishi, H.; Kita, Y.; Imai, K.; Nishio, K.; Karasawa, S.; Masaike, Y.; ASkamoto, S.; Sandhu, A.; Tanimoto, A.; Gomi, T.; Kohda, E.; Abe, M.; Handa, H. “A two-step ligand exchange reaction generates highly water-dispersed magnetic nanoparticles for biomedical applications.” *J. Mater. Chem.* **21**, 5959-5966 (2011).
- Ito, T.; Ando, H.; Handa, H. “Teratogenic effects of thalidomide: molecular mechanisms.” *Cell. Mol. Life Sci.* **68**, 1569-1579 (2011).
- Aizawa, M.; Abe, Y.; Ito, T.; Handa, H.; Nawa, H. “mRNA Distribution of the Thalidomide Binding Protein Cereblon in Adult Mouse Brain.” *Neurosci. Res.* **69**, 343-347 (2011).
- Taneda, T.; Zhu, W.; Cao, Q.; Watanabe, H.; Yamaguchi, Y.; Handa, H.; Wada, T. “Erythropoiesis is refulated by the transcription elongation factor Foggy/Spt5 through gata1 gene regulation.” *Genes Cells* **16**, 231-242 (2011).
- Maekawa, N.; Hiramoto, M.; Sakamoto, S.; Ikeda, M.; Naitou, M.; Acharya, H. P.; Kobayashi, Y.; Suematsu M.; Handa, H.; Imai, T. “High performance affinity chromatography method for identification of 15-deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 interacting factors using magnetic nanobeads.” *Biomed. Chromatogr.* **25**, 466-471 (2011).
- Morimoto, Y.; Takamura, T.; Park, S. Y.; Sakamoto, S.; Kawata, S.; Handa, H.; Sandhu, A. “Detection of 8 nm Diameter Superparamagnetic Beads by Magnetically-Induced Manipulation of Micrometer-Sized Magnetid Beads: A Novel Protocol for Magnetically-Labeled Biosensing.” *J. Appl. Phys.* **49**, 04DL07 (2010).
- Chiba, K.; Yamamoto, J.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Promoter-proximal pausing and its release molecular mechanisms and physiological functions.” *Exp. Cell Res.* **316**, 2723-2730 (2010).
- Sandhu, A.; Handa, H.; Abe, M. “Synthesis and applications of magnetic nanoparticles for biorecognition and point of care medical diagnostics.” *Nanotechnology* **21**, 442001 (2010).
- Kim, S.; Yamamoto, J.; Chen, Y.; Aida, M.; Wada, T.; Handa, H.; Yamaguchi, Y. “Evidence that cleavage factor Im is a heterotetrameric protein complex controlling alternative polyadenylation.” *Genes Cells* **15**, 1003-1013 (2010).
- Park, S. Y.; Ko, J. K.; Handa, H.; Sandhu, A. “Exploring magneto-optical properties of biofunctionalized magnetic chains for developing label-free immunoassays.” *J. Appl. Phys.* **107**, 09B324 (2010).
- Kume, K.; Iizumi, Y.; Shimada, M.; Ito, Y.; Kishi T.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Role of N-end rule ubiquitin ligases UBR1 and UBR2 in regulating the leucine-mTOR signaling pathway.” *Genes Cells* **15**, 339-349 (2010).
- Ito, T.; Ando, H.; Suzuki, T.; Ogura, T.; Hotta, K.; Imamura, Y.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity.” *Science* **327**, 1345-1350 (2010).
- Park, S. Y.; Handa, H.; Sandhu, A. “Magneto-optical biosensing platform based on light scattering from self-assembled chains of functionalized rotating magnetic beads.” *Nano Lett.* **10**, 446-451 (2010).
- Tominaga, A.; Sugawara, H.; Futagawa, T.; Inoue, K.; Sasaki, K.; Minamino, N.; Hatakeyama, M.; Handa, H.; Miyata, A. “Characterization of the testis-specific promoter region in the human pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) gene.” *Genes Cells* **15**, 595-606 (2010).
- Masaike, Y.; Takagi, T.; Hirota, M.; Yamada, J.; Ishihara, S.; Yung, T. M. C.; Inoue, T.; Sawa, C.; Sagara, H.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.; Takahashi, Y.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Identification of dynamin-2-mediated endocytosis as a new target of osteoporosis drugs, bisphosphonates.” *Mol. Pharmacol.* **77**, 262-269 (2010).
- Hiramoto, M.; Maekawa, N.; Kuge, T.; Ayabe, F.; Watanabe, A.; Masaike, Y.; Hatakeyama, M.; Handa, H.; Imai, T. “High-performance affinity chromatography method for identification of L-arginine interacting factors using magnetic nanobeads.” *Biomed. Chromatogr.* **24**, 606-612 (2010).

2. 学会発表

- 半田 宏 “標的分子の同定から生命の謎への挑戦”、日本農芸化学会シンポジウム「標的分子への結合から解き明かされる食品因子の新たな生理機能性」、京都女子大学、2011年3月28日
- 坂本 聡、河田慎太郎、内藤靖之、望月勇輔、岸 寛、畠山 士、半田 宏 “高機能性蛍光磁性ビーズを利用する生体分子の高速・高精度検出システムの開発”、日本化学会第91春季年会、神奈川県 横浜キャンパス、2011年3月27～28日
- 半田 宏 “機能性磁性ナノ粒子を用いた病態分子メカニズムの解明”、日本化学会第91春季年会 ナノ生体分子科学、神奈川県 横浜キャンパス、2011年3月27日
- 半田 宏 “半田ビーズによるサリドマイド催奇性の原因因子の発見”、日本化学会第91春季年会 ケミカルバイオロジーシンポジウム、神奈川県 横浜キャンパス、2011年3月27日
- 勝亦 優、平瀬 匠、星野昭裕、土屋真紀子、入江新司、中山雅人、牛田 弘、内藤靖之、河田慎太郎、坂本 聡、半田 宏 “時間分解蛍光磁性ビーズを用いたイムノクロマトグラフィー法による高感度イムノアッセイの検討”、日本化学会第91春季年会、神奈川県 横浜キャンパス、2011年3月26日
- 半田 宏 “アフィニティ磁性ビーズの作製と医療バイオへの応用”、東京農業大学 先端研究タイプAプロジェクトシンポジウム「食材に含有される生体調節機能物質のケミカルバイオロジー2」ープロジェクト最終報告会ー、東京農業大学 世田谷キャンパス 図書館4階 視聴覚ホール、2011年2月28日
- 半田 宏 “ケミカルターゲットから生命の謎への挑戦”、東京大学 分生研セミナー、東京大学 分子細胞生物学研究所、2010年12月16日
- 伊藤雄気、梨本明宏、羽瀬康嘉、坂本 聡、加部泰明、半田 宏 “内分泌攪乱物質ビスフェノールAの生体内作用機構解析”、第33回日本分子生物学会 第83回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2010)、神戸ポートアイランド、2010年12月7～10日
- 河野あゆみ、山口雄輝、堀越正美、半田 宏 “Analysis of histone variant H2A.Z with comprehensive point mutants”、第33回日本分子生物学会 第83回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2010)、神戸ポートアイランド、2010年12月7～10日
- 曹 青福、半田 宏、山口雄輝、陳 業熹 “新規転写伸長因子hRtf1が関与する転写制御の分子機構”、第33回日本分子生物学会 第83回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2010)、神戸ポートアイランド、2010年12月7～10日
- 伊藤拓水、安藤秀樹、鈴木孝幸、小椋利彦、山口雄輝、半田 宏 “サリドマイド催奇性における主要な標的因子の同定”、第33回日本分子生物学会 第83回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2010)、神戸ポートアイランド、2010年12月7～10日
- Yamamoto, J.; Yamaguchi, Y.; Handa H. “Evidence that DSIF and NELF interact with the Integrator complex and participate in 3'-end processing of U1 snRNA”、第33回日本分子生物学会 第83回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2010)、神戸ポートアイランド、2010年12月7～10日
- 安藤秀樹、伊藤拓水、堀田健太郎、山口雄輝、半田 宏 “ゼブラフィッシュ発生工学を用いたサリドマイド催奇性機構の解明 (ワークショップ)”、第33回日本分子生物学会 第83回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2010)、神戸ポートアイランド、2010年12月7～10日
- Ando, H.; Ito, T.; Suzuki, T.; Ogura, T.; Yamaguchi, Y.; Handa H. “Characterization of thalidomide teratogenicity by zebrafish biology”、第16回武田科学振興財団生命科学シンポジウム、シェラトン都ホテル東京、2010年12月1～2日
- 半田 宏 “アフィニティFGビーズによるサリドマイド催奇性の原因因子の解明”、次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム、東京大学 理学部 小柴ホール、2010年11月27日
- 山口雄輝、安藤秀樹、伊藤拓水、半田 宏 “サリドマイドによる催奇性の分子機構：ナノビーズ技術を用いたアプローチ”、第20回日本医療薬学会年会、幕張メッセ、2010年11月13～14日
- 畠山 士、西尾広介、政池由佳、岸 寛、羽生尚広、伊藤拓水、安藤秀樹、坂本 聡、半田 宏 “アフィニティ磁性ビーズの作製及びそれを用いた生体物質の革新的分離・精製技術”、第16回高分子ミクロスフェア討論会、福井大学 総合研究棟、2010年11月12日
- 坂本 聡、望月勇輔、河田慎太郎、内藤靖之、畠山 士、半田 宏 “新規高機能性蛍光・磁性ビーズの作製と応用”、第16回高分子ミクロスフェア討論会、福井大学 総合研究棟、2010年11月12日
- 半田 宏 “医療バイオの応用に向けた磁性ビーズの高機能化”、(社)表面技術協会 『ナノテク部

会』研究会：ナノマテリアルの創製・機能化・応用展開、東京理科大学 森戸記念館、2010年11月8日

- 半田 宏 “アフェニティ磁性ビーズの作製と医療バイオへの応用”、文部科学省 学術研究高度化推進事業 ハイテクリサーチセンターシンポジウム、慶應義塾大学 理工学部 日吉キャンパス、2010年11月6日
- 半田 宏 “医療バイオへの応用に向けた磁性ビーズの高機能化”、幹細胞実用化に向けた評価基盤技術開発プロジェクト、産業技術総合研究所、2010年10月12日
- 半田 宏 “サリドマイド催奇性の謎を解き明かしたアフィニティFGビーズ”、学習院大学 生命科学シンポジウム、学習院大学 西5号館、2010年10月9日
- Yamaguchi, Y.; Handa, H. “The Role of Transcription Elongation Factors in Gene Expression” P-TEFb and regulation of transcriptional elongation, Schloss Ringberg, Kreuth (Germany), 2010.9.18-23.
- Yamamoto, J.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. ”Evidence that DSIF and NELF interact with the Integrator complex and participate in 3'-end processing of U1 snRNA”, 9th EMBL Conference Transcription and Chromatin, EMBL Heidelberg (Germany), 2010.8.28-31.
- Yamaguchi, Y.; Chen, Y.; Cao, Q.; Handa, H. ”Chromatin-dependent and -independent roles of DSIF and the Paf1 complex in transcription elongation”, 9th EMBL Conference Transcription and Chromatin, EMBL Heidelberg (Germany), 2010.8.28-31.
- 半田 宏 “半世紀の戦い～サリドマイドの機構を解明”、東工大バイオフェスタ2010、東京工業大学 蔵前ホール、2010年8月19日
- 半田 宏 “ビーズテクノロジーによるサリドマイド催奇性原因因子の解明”、がん研究開発費 骨髄腫に関する研究班第一回班会議、慶應義塾大学 薬学部、2010年8月7日
- 半田 宏 “アフィニティ磁性ビーズによるサリドマイド催奇性の原因因子の発見”、北東北ナノメディカルクラスター研究会 サマーキャンプ、秋田ビューホテル、2010年7月30日
- 半田 宏 “薬剤標的タンパク質から創薬への可能性と課題”、平成22年度維持会員定例会議ならびに学術懇話会、霞ヶ関ビル 東海校友会館、2010年7月28日
- 半田 宏 “アフィニティFGビーズによるサリドマイド催奇性の原因因子の解明”、慶應義塾大学 医学部 衛生学公衆衛生学教室セミナー、慶應義塾大学 医学部リサーチパーク、2010年7月26日
- 半田 宏 “高機能性磁性ビーズの作製および医療バイオへの応用”、静岡県立大学 月例薬学セミナー、静岡県立大学 大学院薬学研究科、2010年7月20日
- 伊藤拓水、安藤秀樹、山口雄輝、半田 宏 “サリドマイド催奇性における主要な標的因子セレブロン の同定”、東北大学 加齢医学研究所セミナー、東北大学 加齢医学研究所、2010年7月2日
- Ando, H.; Ito, T.; Suzuki, T.; Ogura, T.; Hotta, K.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Cereblon, A First Protein Target for the Thalidomide Birth Defect” 9th International Meeting on Zebrafish Development and Genetics, Overture Center, Madison, WI (USA), 2010.6.16-20.
- Ito, T.; Ando, H.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity by using high-performance affinity magnetic beads” Cancer summer symposium, MIT, MA (USA), 2010.6.10-12.
- Ando, H.; Ito, T.; Suzuki, T.; Ogura, T.; Hotta, K.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Cereblon, A Primary Target for the Thalidomide Birth Defect” 2nd Joint Meeting of the SFB and JSBD 2010, From Cells to Organs, Institute Pasteur (France), 2010.5.26-28.
- Sakamoto, S.; Handa, H. “Development of highly functionalized magnetic beads applicable to drug discovery research”, Particles 2010 Conference, the Regal Sun Resort, Orlando, FL (USA), 2010.5.22-25.
- 半田 宏 “サリドマイド催奇性の分子機構の解明”、日本ケミカルバイオロジー学会 第5回年会、慶應義塾大学 日吉キャンパス 協生館、2010年5月18～19日
- 坂本 聡、河田慎太郎、内藤靖之、望月勇輔、畠山 士、半田 宏 “蛍光磁性ビーズによる高速・高感度バイオマーカー検出システムの開発”、日本ケミカルバイオロジー学会 第5回年会、慶應義塾大学 日吉キャンパス 協生館、2010年5月18～19日
- 安藤秀樹、伊藤拓水、鈴木孝幸、小椋利彦、堀田健太郎、山口雄輝、半田 宏 “初めて見つかったサリドマイド催奇性の標的タンパク質セレブロン”、埼玉大学 脳科学セミナー、埼玉大学 脳科学融合研究センター、2010年4月23日
- 半田 宏 “ウイルスカプシドタンパク質の自己集合化によるナノカプセル形成技術の開発と応用”、第一回分子ロボティクス研究会、東京工業大学 田町キャンパス キャンパスイノベーションセン

ター、2010年4月16日

- Ando, H.; Ito, T.; Suzuki, T.; Ogura, T.; Hotta, K.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. "Cereblon, A Primary Protein Target for the Thalidomide Birth Defect" OIST Seminar、独立行政法人 沖縄科学技術研究基盤整備機構、2010年4月8日
- Handa, Hiroshi. "The Role of Transcription Elongation Factors in Genome Expression" Dynamics of Eukaryotic Transcription during Development (C4) Keystone Symposia, Big Sky Resort, Big Sky, MT (USA), 2010.4.7-12.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

- 「マグネタイト微粒子の製造方法」半田 宏、阿部正紀、郷右近展之、池田森人、西尾広介 特許第4621911号（特願2005-035257）
 - 「ポリマー被覆微粒子の製造方法およびポリマー被覆微粒子」半田 宏、阿部正紀、郷右近展之、壺内信吾、畠山 士、西尾広介、池田森人、成松宏樹 特許第4669951号（特願2004-363638）
- =特許出願=
- 「膵臓β細胞増殖因子を利用した医薬組成物」今井 剛、半田 宏 特願2010-140444
 - 「新たに同定したインスリン分泌制御因子を用いた抗糖尿病薬剤のスクリーニング法」今井 剛、半田 宏 特願2010-196952
 - 「骨形成促進剤」今井 剛、半田 宏 特願2010-219371
 - 「インスリン分泌促進剤、これを主成分又は添加した糖尿病予防・改善剤及び同食品」今井 剛、半田 宏 特願2010-220786
 - 「標識磁性粒子を用いた被検物質の検出方法、及び被検物質の検出システム」平瀬 匠、勝亦 優、土屋真紀子、星野昭裕、入江新司、中山雅人、半田 宏、坂本 聡、河田慎太郎、内藤靖之 特願2011-053415
 - 「ポリマー被覆フェライト微粒子および製造方法」半田 宏、畠山 士、坂本 聡、岸 寛 PCT/JP2010/006364（特願2009-249902）
 - 「ウイルス外殻タンパク質被覆構造体及びその製造方法」半田 宏、土井浩司、榎本輝也 PCT/JP2010/064667（特願2009-207632）
 - 「サリドマイド標的因子を利用したスクリーニング法」半田 宏、安藤秀樹、伊藤拓水、堀田健太郎 PCT/JP2010/068272（特願2009-241290）

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

ウルソデオキシコール酸の分子標的に関する研究

研究分担者 今井 剛 東京工業大学 バイオフロンティアセンター 特任教授

研究要旨 肝炎患者において骨密度が有意に低いという報告があったため、ウルソデオキシコール酸（UDCA）を培養骨芽細胞に投与し、UDCAの骨芽細胞における作用を調べた。その結果、UDCAの骨芽細胞分化誘導活性が認められた。

A. 研究目的

平成22～23年度でUDCAの分子標的（標的タンパク質）を精製・同定するため、平成22年度ではUDCAの分子標的組織の同定を目的とした。

B. 研究方法

漢方薬「熊胆」はUDCAを主成分としており、主に肝炎患者に多く使用されている。ある報告から、肝炎患者の骨密度は低いことが示唆された。そのため、UDCAの骨芽細胞における作用機構を解析するため、骨芽細胞株MC3T3-E1細胞を培養し、UDCAを投与して骨芽細胞分化活性を測定した。骨芽細胞分化測定法はALP（アルカリフォスファターゼ）活性測定法とオステオカルシン転写量測定法の2種類を用いた。ALPもオステオカルシンも骨芽細胞分化測定ではスタンダードなマーカーである。

（倫理面への配慮）

今年度はヒト、動物、RI等是用いていない。しかし、遺伝子組換え実験は行ったため、所属機関の遺伝子組換えに関する委員会への申請などを行った。

C. 研究結果

骨芽細胞株MC3T3-E1細胞にUDCAを加えて培養を続けると、ALP活性・オステオカルシン転写活性共に、UDCA濃度依存的に上昇することが判明した。再現性の確認のため、数回実験を繰り返し、統計学的に検定したところ、これら活性上昇は統計学的に有意であった。

D. 考察

UDCA濃度依存的な骨芽細胞分化促進活性の上昇は統計学的に有意であったため、UDCAには骨芽細胞を分化させる活性があると考えられる。

E. 結論

漢方薬「熊胆」の主成分であるUDCAは骨芽細胞分化誘導活性を有する。よって、平成22年度の目的であるUDCAの分子標的組織として骨を同定できた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Tange, S.; Imai, T.; Nakanishi, A. "An SV40 mutant defective in VP4 expression exhibits a temperature-sensitive growth defect." *Virus Res.* **157**, 116-120 (2011).
- Maekawa, N.; Hiramoto, M.; Sakamoto, S.; Ikeda, M.; Naitou, M.; Acharya, H. P.; Kobayashi, Y.; Suematsu M.; Handa, H.; Imai, T. "High performance affinity chromatography method for identification of 15-deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 interacting factors using magnetic nanobeads." *Biomed. Chromatogr.* **25**, 466-471 (2011).
- 今井 剛、西永正典、中村知子、奥宮清人、松林公蔵、土居義典、松下健二 "高齢者住民における保有歯数と認知機能" "Association with the lipid and sugar metabolism parameters, the number of teeth and cognitive function in elderly population." *愛知学院大学歯学会誌*, **48**, 59-66 (2010).
- Hiramoto, M.; Maekawa, N.; Kuge, T.; Ayabe, F.; Watanabe, A.; Masaike, Y.; Hatakeyama, M.; Handa,

H.; Imai, T. "High-performance affinity chromatography method for identification of L-arginine interacting factors using magnetic nanobeads." *Biomed. Chromatogr.* **24**, 606-612 (2010).

- 今井 剛、西永正典、松下健二 "高齢者の残存歯数と認知機能との関連性" *鹿児島大学医学雑誌*, **61**, 47-51 (2010).
2. 学会発表
- 前川尚也、伊崎美加、池田麻里衣、福井由宇子、川井絢也、稲富 聡、今井 剛 "キノコ類におけるアルギニン誘導性インスリン分泌促進活性" 日本きのこ学会第14回大会、東京、2010年9月16日

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
- 「膵臓β細胞増殖因子を利用した医薬組成物」今井 剛、半田 宏 特願2010-140444
 - 「新たに同定したインスリン分泌制御因子を用いた抗糖尿病薬剤のスクリーニング法」今井 剛、半田 宏 特願2010-196952
 - 「骨形成促進剤」今井 剛、半田 宏 特願2010-219371
 - 「インスリン分泌促進剤、これを主成分又は添加した糖尿病予防・改善剤及び同食品」今井 剛、半田 宏 特願2010-220786
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

ウルソデオキシコール酸の薬理活性に関する研究

研究分担者 末松 誠 慶應義塾大学 医学部 教授／医学部長

研究要旨 「熊胆」の主成分であるウルソデオキシコール酸（ursodeoxycholic acid; UDCA）は肝機能改善薬として知られている。そこで、同様の薬理作用を有する薬剤との比較から、UDCAの薬理作用機構を調べた。

A. 研究目的

漢方薬「熊胆」の主成分であるUDCAと同様の薬理作用を有する薬剤を用いた比較実験により、生体内におけるUDCAの薬理作用機構の理解を目指した。

B. 研究方法

UDCAは肝機能改善作用を示すことから、市販されている肝機能改善薬Aを比較検討材料として選択した。薬剤Aの構造はUDCAと一部類似していることから、UDCAが薬剤Aと同様の作用機構を介して薬理作用を示すことが期待される。

（倫理面への配慮）

本研究にて行う組換え遺伝子実験などについては、所属研究機関に対して申請済である。

C. 研究結果

薬剤A、UDCAそれぞれを培養細胞に投与して継続的に細胞を培養したところ、薬剤Aを投与した細胞とUDCAを投与した細胞それぞれ異なる挙動を示した。

D. 考察

薬剤Aの構造がUDCAと類似していることから、薬剤Aで処理した培養細胞がUDCAで処理した培養細胞と同様の挙動を示すことを期待したが、異なる挙動を示したため、UDCAは薬剤Aとは異なる作用機構（標的因子が異なるなど）を介して薬理活性を示しているものと考えられる。

E. 結論

UDCAは市販の肝機能改善薬Aとは異なる作用機構を介して薬理作用を示していることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Kubo, A.; Ohmura, M.; Wakui, M.; Harada, T.; Kajihara, S.; Ogawa, K.; Suemizu, H.; Nakamura, M.; Setou, M.; Suematsu, M. "Semi-quantitative analyses of metabolic systems of human colon cancer metastatic xenografts in livers of superimmunodeficient NOG mice." *Anal. Bioanal. Chem.* in press.
- Soga, T.; Sugimoto, M.; Honma, M.; Mori, M.; Igarashi, K.; Kashikura, K.; Ikeda, S.; Hirayama, A.; Yamamoto, T.; Yoshida, H.; Otsuka, M.; Tsuji, S.; Yatomi, Y.; Sakuragawa, T.; Watanabe, H.; Nihei, K.; Saito, T.; Kawata, S.; Suzuki, H.; Tomita, M.; Suematsu, M. "Serum Metabolomics Reveals γ -Glutamyl Dipeptides as Biomarkers for Discrimination among Different Forms of Liver Disease." *J. Hepatol.* in press.
- Ikeda, K.; Kubo, A.; Akahoshi, N.; Yamada, H.; Miura, N.; Hishiki, T.; Nagahata, Y.; Matsuura, T.; Suematsu, M.; Taguchi, R.; Ishii I. "Triacylglycerol/phospholipid molecular species profiling of fatty livers and regenerated non-fatty livers in cystathionine beta-synthase-deficient mice, an animal model for homocysteinemia/homocystinuria." *Anal. Bioanal. Chem.* in press.
- Ishimoto, T.; Nagano, O.; Yae, T.; Tamada, M.; Motohara, T.; Oshima, H.; Oshima, M.; Ikeda, T.; Asaba, R.; Yagi, H.; Masuko, T.; Shimizu, T.; Ishikawa, T.; Kai, K.; Takahashi, E.; Imamura, Y.; Baba, Y.; Ohmura, M.; Suematsu, M.; Baba, H.; Saya, H. "CD44 variant regulates redox status in cancer cells by

stabilizing the xCT subunit of system xc(-) and thereby promotes tumor growth.” *Cancer Cell* **19**, 387-400 (2011).

- Yamamoto, T.; Takano, N.; Ishiwata, K.; Suematsu, M. “Carbon monoxide stimulates global protein methylation via its inhibitory action on cystathionine β -synthase.” *J. Clin. Biochem. Nutr.* **48**, 96-100 (2011).
- Shimizu, N.; Yoshikawa, N.; Ito, N.; Maruyama, T.; Suzuki, Y.; Takeda, S.; Nakae, J.; Tagata, Y.; Nishitani, S.; Takehana, K.; Sano, M.; Fukuda, K.; Suematsu, M.; Morimoto, C.; Tanaka, H. “Crosstalk between glucocorticoid receptor and nutritional sensor mTOR in skeletal muscle.” *Cell Metab.* **13**, 170-182 (2011).
- Tsugawa, H.; Suzuki, H.; Satoh, K.; Hirata, K.; Matsuzaki, J.; Saito, Y.; Suematsu, M.; Hibi, T. “Two amino acids mutation of ferric uptake regulator determines *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole.” *Antioxid. Redox Signal.* **14**, 15-23 (2011).
- Hattori, K.; Kajimura, M.; Hishiki, T.; Nakanishi, T.; Kubo, A.; Nagahata, Y.; Ohmura, M.; Yachie-Kinoshita, A.; Matsuura, T.; Morikawa, T.; Nakamura, T.; Setou, M.; Suematsu, M. “Paradoxical ATP elevation in ischemic penumbra revealed by quantitative imaging mass spectrometry.” *Antioxid. Redox Signal.* **13** 1157-1167 (2010).
- Hirano, Y.; Okimoto, N.; Kadohira, I.; Suematsu, M.; Yasuoka, K.; Yasui, M. “Molecular mechanisms of how mercury inhibits water permeation through aquaporin-1: understanding by molecular dynamics simulation.” *Biophys. J.* **98**, 1512-1519 (2010).
- Kurihara, T.; Kubota, Y.; Ozawa, Y.; Takubo, K.; Noda, K.; Simon, M. C.; Johnson, R. S.; Suematsu, M.; Tsubota, K.; Ishida, S.; Goda, N.; Suda, T.; Okano H. “von Hippel-Lindau protein regulates transition from the fetal to the adult circulatory system in retina” *Development* **137**, 1563-1571 (2010).
- Katayama, Y.; Shimokata, K.; Suematsu, M.; Ogura, T.; Tsukihara, T.; Yoshikawa, S.; Shimada, H. “Cell-free synthesis of cytochrome c oxidase, a multicomponent membrane protein.” *J. Bioenerg. Biomembr.* **42**, 235-240 (2010).
- Sakuragawa, T.; Hishiki, T.; Ueno, Y.; Ikeda, S.; Soga, T.; Yachie-Kinoshita, A.; Kajimura, M.; Suematsu, M. “Hypotaurine is an Energy-Saving Hepatoprotective Compound against Ischemia-Reperfusion Injury of the Rat Liver.” *J. Clin. Biochem. Nutr.* **46**, 126-134 (2010).
- Nishimoto, K.; Nakagawa, K.; Li, D.; Kosaka, T.; Oya, M.; Mikami, S.; Shibata, H.; Itoh, H.; Mitani, F.; Yamazaki, T.; Ogishima, T.; Suematsu, M.; Mukai, K. “Adrenocortical zonation in humans under normal and pathological conditions.” *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**, 2296-2305 (2010).
- Kajimura, M.; Fukuda, R.; Bateman, R. M.; Yamamoto, T.; Suematsu, M. “Interactions of multiple gas-transducing systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO, and H₂S gas biology.” *Antioxid. Redox Signal.* **13**, 157-192 (2010).

2. 学会発表
該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
 - 「GAPDHの酵素活性阻害剤」加部泰明、半田 宏、末松 誠 特願 2010-192513 (2010/8/30)
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

ウルソデオキシコール酸の転写因子に対する影響に関する研究

研究分担者 小田 泰子 慶應義塾大学 薬学部 専任講師

研究要旨 漢方薬「熊胆」の主成分であるウルソデオキシコール酸（UDCA）は、免疫担当細胞において、LPS刺激に伴う転写因子 NF- κ B 活性化を有意に抑制することが分かった。

A. 研究目的

漢方薬「熊胆」の主成分であるUDCAの作用機構解明の一環として、細胞内情報伝達に關与する転写因子への影響を調べた。今年度は、多くの転写因子の中から著名なNF- κ Bを選択し、炎症性サイトカイン産生系を実験系に用いた。

B. 研究方法

細胞：マウスマクロファージ系細胞株（RAW 264.7 cells）およびヒト単球系細胞株（THP-1 cells）を用いた。

炎症性サイトカインの定量：細胞培養上清を用い、ELISA（Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay）法で測定した。

リポータージーンアッセイ：転写因子 NF- κ B が結合するリポータージーンをエレクトロポレーション法により細胞へ導入し、24時間後に薬物刺激を行い、8から12時間後にルシフェラーゼ活性を測定した。

ゲルシフトアッセイ：薬物処理した細胞の核抽出液を用い、consensus NF- κ B binding sequenceを含むオリゴヌクレオチドを³²Pで標識し、結合活性を調べた。

（倫理面への配慮）

組換え遺伝子実験については慶應義塾大学薬学部に申請済である。

C. 研究結果

リポータージーンアッセイおよびゲルシフトアッセイの結果から、UDCAは両細胞とも200 μ MにおいてLPS（Lipopolysaccharide）刺激で活性化される転写因子NF- κ Bを抑制した。一方、細胞培養上清中のサイトカイン量を定量したところ、上述したNF- κ B への抑制効果と相関しないケースがあった。

D. 考察

炎症性サイトカインの産生に深く関わる転写因子NF- κ Bの活性化に対してUDCAが抑制的に作用することを明らかにした。一方、細胞培養上清中の炎症性サイトカイン量との相関が認められなかったことから、他の要素の関与が示唆された。

E. 結論

免疫担当細胞株において、LPS刺激に伴う転写因子NF- κ Bの活性化が200 μ MのUDCAによって有意に抑制されたことが分かった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Oda, T.; Xu, J.; Ukai, K.; Nakazawa, T.; Namikoshi, M. "12'-Hydroxyl group remarkably reduces Roridin E cytotoxicity." *Mycoscience* **51**, 317-320 (2010).

2. 学会発表

- Oda, T.; Namikoshi, M. "Regulation of inflammatory cytokine production by lobohedleolide." 14TH INTERNATIONAL CONGRESS OF IMMUNOLOGY, Kobe, Japan (2010/08).
- 小田泰子、北村美里、中澤孝浩、浪越通夫 "LPS 刺激した RAW 264.7 細胞による炎症性サイトカインの産生への magnolol の影響"、日本薬学会第 131 年会、静岡、DVD 要旨集 31P-051 (2011/03).

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

書籍

＝半田 宏＝

- 西尾広介、池田森人、成松宏樹、壺内信吾、郷右近展之、半田 宏 “磁性ビーズ開発と医療への展開” 医療分野における材料と機能膜 (監修：樋口亜紺)、シーエムシー出版、東京、印刷中 (2011).
- 伊藤拓水、半田 宏 “サリドマイド催奇性の分子機構” 生化学、社団法人日本生化学会、2011, **83**(2), 118.
- 伊藤拓水、安藤秀樹、半田 宏 “サリドマイドによる催奇形性の分子機構：セレブロン[®]の生物学的活性” 血液内科、科学評論社、62(1) (2011).
- 畠山 士、坂本 聡、Sandhu, A.、阿部正紀、半田 宏 “アフェニティ磁性ビーズを用いた生体物質の革新的な分離・精製技術” 月刊マテリアルインテグレーション、株式会社ティー・アイ・シー、2010, (9), pp.17-23.
- 畠山 士、半田 宏 “アフェニティ磁性微粒子とスクリーニング自動化システム” コアシェル微粒子の設計・合成技術・応用の展開 (監修：川口春馬)、シーエムシー出版、東京、pp.204-214 (2010).
- 伊藤拓水、坂本 聡、半田 宏 “ついに解明！サリドマイドが起こす催奇性の謎 -標的分子瀬レブロンを突き止めたFGビーズ” 化学、株式会社化学同人、京都、2010, **65**(8), 47-51.
- 伊藤拓水、安藤秀樹、鈴木孝幸、小椋利彦、山口雄輝、半田 宏 “サリドマイド催奇性の原因因子の発見” 実験医学、羊土社、東京、2010, **28**(13), 2115-2118.
- 安藤秀樹、伊藤拓水、鈴木孝幸、小椋利彦、山口雄輝、半田 宏 “サリドマイド催奇性、標的因子の同定” 細胞工学、株式会社学研メディカル秀潤社、東京、2010, **29**(8), 812-813.
- 壺内信吾、西尾広介、池田森人、成松宏樹、郷右近展之、半田 宏 “創薬に向けた磁気アフェニティビーズの創製” ナノ粒子・マイクロ粒子の調製と応用技術 (監修：川口春馬)、シーエムシー出版、東京、pp.219-228 (2010).

＝今井 剛＝

該当なし

＝末松 誠＝

- 末松 誠、菱木貴子、久保亜紀子、大村光代、梶村眞弓、加部泰明、高野直治、山本雄広 “ガス分子を介した代謝システム制御機構：酸素とグルコースが紡ぐ複雑系” 細胞工学、秀潤社、30 (2011).

＝小田泰子＝

該当なし

=半田 宏=

- Yasuma, A.; Ochiai, T.; Azuma, M.; Nishiyama, H.; Kikuchi, K.; Kondo, M.; Handa, H. "Exogenous coproporphyrin III production from *Corynebacterium aurimucosum* and *Microbacterium oxydans* in erythrasma lesions." *J. Med. Microbiol.* in press.
- Hatakeyama, M.; Kishi, H.; Kita, Y.; Imai, K.; Nishio, K.; Karasawa, S.; Masaike, Y.; ASkamoto, S.; Sandhu, A.; Tanimoto, A.; Gomi, T.; Kohda, E.; Abe, M.; Handa, H. "A two-step ligand exchange reaction generates highly water-dispersed magnetic nanoparticles for biomedical applications." *J. Mater. Chem.* **21**, 5959-5966 (2011).
- Ito, T.; Ando, H.; Handa, H. "Teratogenic effects of thalidomide: molecular mechanisms." *Cell. Mol. Life Sci.* **68**, 1569-1579 (2011).
- Aizawa, M.; Abe, Y.; Ito, T.; Handa, H.; Nawa, H. "mRNA Distribution of the Thalidomide Binding Protein Cereblon in Adult Mouse Brain." *Neurosci. Res.* **69**, 343-347 (2011).
- Taneda, T.; Zhu, W.; Cao, Q.; Watanabe, H.; Yamaguchi, Y.; Handa, H.; Wada, T. "Erythropoiesis is refulated by the transcription elongation factor Foggy/Spt5 through gata1 gene regulation." *Genes Cells* **16**, 231-242 (2011).
- Maekawa, N.; Hiramoto, M.; Sakamoto, S.; Ikeda, M.; Naitou, M.; Acharya, H. P.; Kobayashi, Y.; Suematsu M.; Handa, H.; Imai, T. "High performance affinity chromatography method for identification of 15-deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 interacting factors using magnetic nanobeads." *Biomed. Chromatogr.* **25**, 466-471 (2011).
- Morimoto, Y.; Takamura, T.; Park, S. Y.; Sakamoto, S.; Kawata, S.; Handa, H.; Sandhu, A. "Detection of 8 nm Diameter Superparamagnetic Beads by Magnetically-Induced Manipulation of Micrometer-Sized Magnetid Beads: A Novel Protocol for Magnetically-Labeled Biosensing." *J. Appl. Phys.* **49**, 04DL07 (2010).
- Chiba, K.; Yamamoto, J.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. "Promoter-proximal pausing and its release molecular mechanisms and physiological functions." *Exp. Cell Res.* **316**, 2723-2730 (2010).
- Sandhu, A.; Handa, H.; Abe, M. "Synthesis and applications of magnetic nanoparticles for biorecognition and point of care medical diagnostics." *Nanotechnology* **21**, 442001 (2010).
- Kim, S.; Yamamoto, J.; Chen, Y.; Aida, M.; Wada, T.; Handa, H.; Yamaguchi, Y. "Evidence that cleavage factor Im is a heterotetrameric protein complex controlling alternative polyadenylation." *Genes Cells* **15**, 1003-1013 (2010).
- Park, S. Y.; Ko, J. K.; Handa, H.; Sandhu, A. "Exploring magneto-optical properties of biofunctionalized magnetic chains for developing label-free immunoassays." *J. Appl. Phys.* **107**, 09B324 (2010).
- Kume, K.; Iizumi, Y.; Shimada, M.; Ito, Y.; Kishi T.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. "Role of N-end rule ubiquitin ligases UBR1 and UBR2 in regulating the leucine-mTOR signaling pathway." *Genes Cells* **15**, 339-349 (2010).
- Ito, T.; Ando, H.; Suzuki, T.; Ogura, T.; Hotta, K.; Imamura, Y.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. "Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity." *Science* **327**, 1345-1350 (2010).
- Park, S. Y.; Handa, H.; Sandhu, A. "Magneto-optical biosensing platform based on light scattering from self-assembled chains of functionalized rotating magnetic beads." *Nano Lett.* **10**, 446-451 (2010).
- Tominaga, A.; Sugawara, H.; Futagawa, T.; Inoue, K.; Sasaki, K.; Minamino, N.; Hatakeyama, M.; Handa, H.; Miyata, A. "Characterization of the testis-specific promoter region in the human pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) gene." *Genes Cells* **15**, 595-606 (2010).
- Masaike, Y.; Takagi, T.; Hirota, M.; Yamada, J.; Ishihara, S.; Yung, T. M. C.; Inoue, T.; Sawa, C.; Sagara, H.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.; Takahashi, Y.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. "Identification of dynamin-2-mediated endocytosis as a new target of osteoporosis drugs, bisphosphonates." *Mol. Pharmacol.* **77**, 262-269 (2010).
- Hiramoto, M.; Maekawa, N.; Kuge, T.; Ayabe, F.; Watanabe, A.; Masaike, Y.; Hatakeyama, M.; Handa, H.; Imai, T. "High-performance affinity chromatography method for identification of L-arginine interacting factors using magnetic nanobeads." *Biomed. Chromatogr.* **24**, 606-612 (2010).

=今井 剛=

- Tange, S.; Imai, T.; Nakanishi, A. "An SV40 mutant defective in VP4 expression exhibits a temperature-sensitive growth defect." *Virus Res.* **157**, 116-120 (2011).
- Maekawa, N.; Hiramoto, M.; Sakamoto, S.; Ikeda, M.; Naitou, M.; Acharya, H. P.; Kobayashi, Y.; Suematsu M.; Handa, H.; Imai, T. "High performance affinity chromatography method for identification of 15-deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 interacting factors using magnetic nanobeads." *Biomed. Chromatogr.* **25**,

466-471 (2011).

- 今井 剛、西永正典、中村知子、奥宮清人、松林公蔵、土居義典、松下健二 “高齢者住民における保有歯数と認知機能” ”Association with the lipid and sugar metabolism parameters, the number of teeth and cognitive function in elderly population.” *愛知学院大学歯学会誌*, **48**, 59-66 (2010).
- Hiramoto, M.; Maekawa, N.; Kuge, T.; Ayabe, F.; Watanabe, A.; Masaie, Y.; Hatakeyama, M.; Handa, H.; Imai, T. “High-performance affinity chromatography method for identification of L-arginine interacting factors using magnetic nanobeads.” *Biomed. Chromatogr.* **24**, 606-612 (2010).
- 今井 剛、西永正典、松下健二 “高齢者の残存歯数と認知機能との関連性” *鹿児島大学医学雑誌*, **61**, 47-51 (2010).

=末松 誠=

- Kubo, A.; Ohmura, M.; Wakui, M.; Harada, T.; Kajihara, S.; Ogawa, K.; Suemizu, H.; Nakamura, M.; Setou, M.; Suematsu, M. “Semi-quantitative analyses of metabolic systems of human colon cancer metastatic xenografts in livers of superimmunodeficient NOG mice.” *Anal. Bioanal. Chem.* in press.
- Soga, T.; Sugimoto, M.; Honma, M.; Mori, M.; Igarashi, K.; Kashikura, K.; Ikeda, S.; Hirayama, A.; Yamamoto, T.; Yoshida, H.; Otsuka, M.; Tsuji, S.; Yatomi, Y.; Sakuragawa, T.; Watanabe, H.; Nihei, K.; Saito, T.; Kawata, S.; Suzuki, H.; Tomita, M.; Suematsu, M. “Serum Metabolomics Reveals γ -Glutamyl Dipeptides as Biomarkers for Discrimination among Different Forms of Liver Disease.” *J. Hepatol.* in press.
- Ikeda, K.; Kubo, A.; Akahoshi, N.; Yamada, H.; Miura, N.; Hishiki, T.; Nagahata, Y.; Matsuura, T.; Suematsu, M.; Taguchi, R.; Ishii I. “Triacylglycerol/phospholipid molecular species profiling of fatty livers and regenerated non-fatty livers in cystathionine beta-synthase-deficient mice, an animal model for homocysteinemia/homocystinuria.” *Anal. Bioanal. Chem.* in press.
- Ishimoto, T.; Nagano, O.; Yae, T.; Tamada, M.; Motohara, T.; Oshima, H.; Oshima, M.; Ikeda, T.; Asaba, R.; Yagi, H.; Masuko, T.; Shimizu, T.; Ishikawa, T.; Kai, K.; Takahashi, E.; Imamura, Y.; Baba, Y.; Ohmura, M.; Suematsu, M.; Baba, H.; Saya, H. “CD44 variant regulates redox status in cancer cells by stabilizing the xCT subunit of system xc(-) and thereby promotes tumor growth.” *Cancer Cell* **19**, 387-400 (2011).
- Yamamoto, T.; Takano, N.; Ishiwata, K.; Suematsu, M. “Carbon monoxide stimulates global protein methylation via its inhibitory action on cystathionine β -synthase.” *J. Clin. Biochem. Nutr.* **48**, 96-100 (2011).
- Shimizu, N.; Yoshikawa, N.; Ito, N.; Maruyama, T.; Suzuki, Y.; Takeda, S.; Nakae, J.; Tagata, Y.; Nishitani, S.; Takehana, K.; Sano, M.; Fukuda, K.; Suematsu, M.; Morimoto, C.; Tanaka, H. “Crosstalk between glucocorticoid receptor and nutritional sensor mTOR in skeletal muscle.” *Cell Metab.* **13**, 170-182 (2011).
- Tsugawa, H.; Suzuki, H.; Satoh, K.; Hirata, K.; Matsuzaki, J.; Saito, Y.; Suematsu, M.; Hibi, T. “Two amino acids mutation of ferric uptake regulator determines *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole.” *Antioxid. Redox Signal.* **14**, 15-23 (2011).
- Hattori, K.; Kajimura, M.; Hishiki, T.; Nakanishi, T.; Kubo, A.; Nagahata, Y.; Ohmura, M.; Yachie-Kinoshita, A.; Matsuura, T.; Morikawa, T.; Nakamura, T.; Setou, M.; Suematsu, M. “Paradoxical ATP elevation in ischemic penumbra revealed by quantitative imaging mass spectrometry.” *Antioxid. Redox Signal.* **13**, 1157-1167 (2010).
- Hirano, Y.; Okimoto, N.; Kadohira, I.; Suematsu, M.; Yasuoka, K.; Yasui, M. “Molecular mechanisms of how mercury inhibits water permeation through aquaporin-1: understanding by molecular dynamics simulation.” *Biophys. J.* **98**, 1512-1519 (2010).
- Kurihara, T.; Kubota, Y.; Ozawa, Y.; Takubo, K.; Noda, K.; Simon, M. C.; Johnson, R. S.; Suematsu, M.; Tsubota, K.; Ishida, S.; Goda, N.; Suda, T.; Okano H. “von Hippel-Lindau protein regulates transition from the fetal to the adult circulatory system in retina” *Development* **137**, 1563-1571 (2010).
- Katayama, Y.; Shimokata, K.; Suematsu, M.; Ogura, T.; Tsukihara, T.; Yoshikawa, S.; Shimada, H. “Cell-free synthesis of cytochrome c oxidase, a multicomponent membrane protein.” *J. Bioenerg. Biomembr.* **42**, 235-240 (2010).
- Sakuragawa, T.; Hishiki, T.; Ueno, Y.; Ikeda, S.; Soga, T.; Yachie-Kinoshita, A.; Kajimura, M.; Suematsu, M. “Hypotaurine is an Energy-Saving Hepatoprotective Compound against Ischemia-Reperfusion Injury of the Rat Liver.” *J. Clin. Biochem. Nutr.* **46**, 126-134 (2010).
- Nishimoto, K.; Nakagawa, K.; Li, D.; Kosaka, T.; Oya, M.; Mikami, S.; Shibata, H.; Itoh, H.; Mitani, F.; Yamazaki, T.; Ogishima, T.; Suematsu, M.; Mukai, K. “Adrenocortical zonation in humans under normal and pathological conditions.” *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**, 2296-2305 (2010).
- Kajimura, M.; Fukuda, R.; Bateman, R. M.; Yamamoto, T.; Suematsu, M. “Interactions of multiple gas-transducing systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO, and H₂S gas biology.” *Antioxid. Redox Signal.* **13**, 157-192 (2010).

=小田泰子=

- Oda, T.; Xu, J.; Ukai, K.; Nakazawa, T.; Namikoshi, M. "12'-Hydroxyl group remarkably reduces Roridin E cytotoxicity." *Mycoscience* **51**, 317-320 (2010).

