

201110017A

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23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 半田 宏

平成24（2012）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	-----	4
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23年度では、UDCAの薬理作用機構の解明を目的にUDCAに特異的に結合するタンパク質(UDCAbp)を単離・同定した。また、培養細胞とマウスを用いてUDCAbp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

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として用い、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した。ここから、UDCAを用いたタンパク質の溶出実験などにより、UDCAに対して特異的に結合するタンパク質(UDCAbp)を選定した。さらに、UDCAの対照物質としてデオキシコール酸(deoxycholic acid; DCA)を用いて、DCA固定化磁性ビーズによるアフィニティ精製との比較からもUDCAbpを選定した。こうして得られたUDCAbpを質量分析によって同定した。

UDCAbpの組換えタンパク質を作製し、UDCAとの結合活性を調べた。UDCAbpの下流シグナル因子を探索し、UDCAを用いてUDCAbp下流シグナル因子の機能を解析した。

骨芽細胞を用いて、UDCAbpを過剰発現させた細胞、およびノックダウンさせた細胞をそれぞれ作製し、UDCAの薬理効果について解析した。

UDCAbp強制発現マウスを作製し、骨密度を調べた。

炎症性培養細胞を用い、UDCAbpと相互作用する因子の共存下で、UDCAまたはDCAによる炎症性サイトカインの変化をELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)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・動物実験(マウス)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23年度は組み換え遺伝子実験、マウスを用いた実験を行ったため、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 結合タンパク質が複数得られた。これらから UDCA に対して結合能（アフィニティ）の強いタンパク質を選定するために、過剰量の UDCA を用いた薬剤溶出実験と結合阻害実験を試みた。さらに、UDCA の対照物質として DCA を選択し、DCA 固定化磁性ビーズを用いたアフィニティ精製によって得られたタンパク質と比較した。その結果、UDCA に特異的に結合するタンパク質 (UDCAbp) として2つのタンパク質を単離し、質量分析によって分子量の大きい順に UDCAbp1 (酵素) と UDCAbp2 (イオンチャネル) と同定した。平成 23 年度では、UDCAbp2 に着目し、組換え UDCAbp2 を作製して UDCA との結合活性を調べたところ、UDCA 固定化磁性ビーズに対して組換え UDCAbp2 が結合した。

UDCA と UDCAbp2 が複合体を形成すると考えられるため、UDCA を用いて UDCAbp2 の下流シグナルを調べたところ、下流シグナル因子として2つのタンパク質 (factor1、factor2) を同定した。UDCAbp2 と factor1、factor2 の結合状態を調べたところ、UDCAbp2 と factor1 は結合し、UDCAbp2 と factor2 は極めて弱く結合していた。ここに UDCA が存在すると UDCAbp2 と factor1 の結合は弱くなったが、UDCAbp2 と factor2 の結合に変化は見られなかった。

UDCAbp2 の強制発現ベクターおよびノックダウンベクターを作製して骨芽細胞に導入し、骨芽細胞マーカーの変化を調べた。その結果、UDCAbp2 が強制発現された骨芽細胞において ALP (アルカリフォスファターゼ) 活性およびオステオカルシンがともに促進されていた。一方、UDCAbp2 がノックダウンされた骨芽細胞では ALP 活性およびオステオカルシンが抑制された。さらに、UDCA 添加による影響を調べたところ、野生型細胞では ALP 活性やオステオカルシンが上昇したが、ノックダウン細胞では変化が見られなかった。

UDCAbp2 が強制発現されたマウスを作製して骨密度を調べたところ、遺伝子改変マウスは野生型マウスに比べて高い骨密度を有していた。

培養細胞を用い、UDCA の添加や外部刺激による炎症性サイトカイン量の変化を ELISA によって調べたところ、UDCAbp2 相互作用因子が存在すると、UDCA 添加による TNF- α 産生量の抑制がなくなることが分かった。

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 に対して特異的に結合するタンパク質 (UDCAbp) として UDCAbp1 (酵素) と UDCAbp2 (イオンチャネル) を単離・同定することに成功した。さらに、UDCAbp2 が UDCA に対して結合活性を有していたことから、UDCAbp2 は UDCA 標的タンパク質である可能性が高いと考えられる。

UDCAbp2 の下流シグナルを調べ、細胞内で複合体を形成している2つの因子 (factor1、factor2) を同定した。UDCA 存在下における複合体解析(結合活性解析)から、細胞内における UDCAbp2 と factor1、または UDCAbp2 と factor2 の複合体形成変化が UDCA の薬理活性に関連すると考えられる。

UDCAbp2が強制発現またはノックダウンされた細胞においてALP活性またはオステオカルシンが有意に変化していたことから、UDCAbp2は骨芽細胞分化促進因子であると推察される。

UDCAbp2遺伝子改変マウスは野生型マウスに比べて高い骨密度を有していたことから、UDCAbp2 はマウス生体においても骨芽細胞分化促進活性を有していると考えられる。

また、炎症性培養細胞において、UDCAbp2相互作用因子の存在下、UDCA添加によってTNF- α 産生量の抑制効果が解除されたことから、炎症性培養細胞内にUDCAによって応答されるUDCAbp2シグナルの存在が示唆される。

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 結合タンパク質 (UDCAbp) を2種単離し、質量分析により UDCAbp1 (酵素) と UDCAbp2 (イオンチャネル) を同定した。そして、結合活性実験や培養細胞を用いた実験、遺伝子改変マウスを用いた実験から、UDCAbp2 が UDCA 標的タンパク質であることを強く示唆するデータが得られた。今後、UDCAbp2 についてさらに機能解析を進める。また、UDCAbp1 についても解析を進めていく予定である。

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 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、UDCA に特異的に結合するタンパク質を単離・同定した。

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、単離・同定する。

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、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の肝機能改善作用を踏まえ、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）として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化学的に固定化し、磁気分離を含むアフィニティ精製によってUDCA結合タンパク質（群）を単離した。過剰量のUDCAや対照物質を用いた実験により、UDCAに対して高い結合能（アフィニティ）を有するUDCA結合タンパク質を選定した。

（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23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。UDCA固定化磁性ビーズを用い、ラットの肝臓から作製した抽出液から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に対して結合しているタンパク質があることが分かった。以上の実験結果から、UDCAに対して特異的に結合しているタンパク質を2つ単離し、質量分析によって分子量の大きい順にUDCAbp1（酵素）、UDCAbp2（イオンチャンネル）と同定した。

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UDCA結合タンパク質のアフィニティ精製によって得られたタンパク質は、過剰量のUDCAを用いた薬剤溶出実験や結合阻害実験、DCA固定化磁性ビーズのアフィニティ精製との比較も行っていることから、UDCAに対して特異的に結合するタンパク質（UDCAbp）であり、UDCA標的タンパク質である可能性も非常に高い。

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結合タンパク質 (UDCAbp) を2つ単離し、質量分析によってそれぞれUDCAbp1 (酵素)、UDCAbp2 (イオンチャネル) と同定した。特に、分担研究者の研究結果からUDCAbp2はUDCAとの結合活性が確認されたため、UDCA標的タンパク質である可能性が高いと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Okuda-Ashitaka, E.; Minami, T.; Tsubouchi, S.; Kiyonari, H.; Iwamatsu, A.; Noda, T.; Handa, H.; Ito, S. "Identification of NIPSNAP1 as a nocistatin-interacting protein involving pain transmission." *J. Biol. Chem.* **287**, 10403-10413 (2012).
- Sakamoto, S.; Hatakeyama, M.; Ito, T.; Handa, H. "Tools and methodologies capable of isolating and identifying a target molecule for a bioactive compound." *Bioorg. Med. Chem.* **20**, 1990-2001 (2012).
- Enomoto, T.; Kukimoto I.; Kawano, M.-A.; Yamaguchi, Y.; Berk, A. J.; Handa, H. "In vitro reconstitution of SV40 particles that are composed of VP1/2/3 capsid proteins and nucleosomal DNA and direct efficient gene transfer." *Virology* **420**, 1-9 (2011).
- Kitai, Y.; Fukuda, H.; Enomoto, T.; Asakawa, Y.; Suzuki, T.; Inouye, S. Handa, H. "Cell selective targeting of a simian virus 40 virus-like particle conjugated to epidermal growth factor." *J. Biotechnol.* **155**, 251-256 (2011).
- Yasuma, A.; Ochiai, T.; Azuma, M.; Nishiyama, H.; Kikuchi, K.; Kondo, M.; Handa, H. "Exogenous coproporphyrin III production by *Corynebacterium aurimucosum* and *Microbacterium oxydans* in erythrasma lesions." *J. Med. Microbiol.* **60**, 1038-1042 (2011).
- Hatakeyama, M.; Kishi, H.; Kita, Y.; Imai, K.; Nishio, K.; Karasawa, S.; Masaike, Y.; Sakamoto, 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- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J2 interacting factors using magnetic nanobeads." *Biomed. Chromatogr.* **25**, 466-471 (2011).

2. 学会発表

- 坂本 聡、内藤靖之、河田慎太郎、望月勇輔、岸 寛、畠山 士、半田 宏 "機能性蛍光磁性ビーズを利用する疾患マーカーの高速・高精度検出システムの開発"、日本化学会第92春季年会、慶應義塾大学 日吉キャンパス、2011年3月25~28日
- 半田 宏、坂本 聡 "サリドマイド催奇性の謎を解明"、日本農芸化学会2012年度大会 (シンポジウム課題2012年度大会 (シンポジウム課題: 食品機能学と薬理学: 接点と相違点から学ぶ次のアプローチ)、京都女子大学、2012年3月25日
- Hideki Ando, Takumi Ito, Hiroshi Handa "USE OF ZEBRAFISH FOR IDENTIFICATION OF TARGETS OF TERATOGENICITY" SOT Annual Meeting, Moscone Convention Center, San Francisco, CA (USA), 2012.3.11-15.
- 半田 宏 "サリドマイド催奇性の謎を解明 ~Deciphering the mystery of thalidomide teratogenicity~"、KMC Frontier Seminar、北里大学 北里生命科学研究所、2011年12月14日
- 榎本輝也、半田 宏 "高機能性ウイルス様粒子 (VLP) の開発と応用"、ライフ・エンジニアリング 第2回シンポジウム、東京工業大学 大岡山キャンパス 蔵前会館、2011年12月6日
- 坂本 聡、半田 宏 "薬剤・高機能性食品開発を目指したケミカルバイオロジー"、ライフ・エンジニアリング 第2回シンポジウム、東京工業大学 大岡山キャンパス 蔵前会館、2011年12月6日

- 畠山 士、半田 宏 “バイオセンシング用高機能性磁気ビーズ”、ライフ・エンジニアリング 第2回シンポジウム、東京工業大学 大岡山キャンパス 蔵前会館、2011年12月6日
- M. Kallumadil, M. Abe, T. Ueda, Y. Kitamoto, N. Matsushita, and H. Handa “Optimisation of Ferrite Cores for the Use in Magnetic Hyperthermia Applicator Coils” Asia-Pacific Interdisciplinary Research Conference (AP-IRC), Toyohashi University of Technology, 2011.11.17-18.
- M. Hatakeyama, S. Sakamoto, and H. Handa “Construction of highly-functionalized magnetic beads” Asia-Pacific Interdisciplinary Research Conference (AP-IRC), Toyohashi University of Technology, 2011.11.17-18.
- Hiroshi Handa “Development of high-performance affinity magnetic beads and their application to chemical biology”、2011理研生化学シンポジウム「次世代の分子標的探索に向けて」、理化学研究所 和光キャンパス 大河内記念ホール、2011年10月20～21日
- 半田 宏 “高機能性磁性ビーズのケミカルバイオロジーへの応用”、新学術領域研究・天然物ケミカルバイオロジー・キックオフシンポジウム、慶應義塾大学 日吉キャンパス 藤原宏記念ホール、2011年10月11日
- 山口雄輝、伊藤拓水、安藤秀樹、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”、BioJapan 2011 アカデミックシーズ発表会、パシフィコ横浜、2011年10月5～7日
- 畠山 士、岸 寛、北 善紀、今井乾介、西尾広介、唐澤慧記、政池由佳、坂本 聡、Sandhu Adarsh、谷本伸弘、五味達哉、甲田英一、阿部正紀、半田 宏 “二段階リガンド交換反応を用いた水高分散性ナノ磁性微粒子の作製とバイオメディカル分野への応用”、第35回日本磁気学会学術講演会、朱鷺メッセ（新潟コンベンションセンター）、2011年9月27～30日
- 半田 宏 “高機能性磁性ビーズのケミカルバイオロジーへの応用－サイドマイド催奇性の原因因子の発見－”、和漢研セミナー、富山大学 和漢医薬学総合研究所、2011年9月29日
- 伊藤拓水、劉 舒捷、安藤秀樹、柴田哲男、半田 宏 “サリドマイドの光学異性体間におけるセレブロン結合能の相違”、第84回日本生化学会大会、京都国際会館、2011年9月21～24日
- 半田 宏 “半田ビーズの開発から生命の謎に挑戦”、第84回日本生化学会フォーラムー生化学的解析が複雑系に挑む現代生物学の扉を開くー、京都国際会館、2011年9月23日
- 畠山 士、半田 宏 “高機能性ナノ磁性微粒子と医療・バイオへの応用”、育成研究成果報告2011 研究・技術シーズ発表会ー先端バイオ・医療技術の創出ー、慶應義塾大学 医学部 総合医科学研究棟1Fラウンジ、2011年9月14日
- Yuki Yamaguchi, Junichi Yamamoto, Yuri Hagiwara, and Hiroshi Handa “DSIF and NELF interact with the Integrator complex and coordinate transcription and 3'-end processing of U1 snRNA in conjunction with CTD phosphorylation”, Transcriptional Elongation in Health & Disease, Lucca (Italy), 2011.9.11-16.
- Yuki Yamaguchi, Junichi Yamamoto, and Hiroshi Handa “DSIF and NELF interact with the Integrator complex and participate in 3'-end processing and termination of U1 snRNA” Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Mechanisms of Eukaryotic Transcription, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (USA), 2011.8.30-9.3.
- Kunitoshi Chiba, Yuki Yamaguchi, and Hiroshi Handa “A possible new connection between transcription elongation and mRNA turnover”, Cold Spring Harbor Laboratory Eukaryotic mRNA processing meeting, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (USA), 2011.8.23-27.
- 伊藤拓水、安藤秀樹、山口雄輝、半田 宏 “サリドマイドによる催奇形性の分子機構”、第29回日本骨代謝学会学術集会、大阪国際展示場、2011年7月30日
- 半田 宏 “薬剤ターゲットから生命の謎を解くー半田ビーズによるサリドマイド催奇形性の解明ー”、第51回日本先天異常学会学術集会 特別企画「サリドマイド事件から半世紀ー私たちが学んだこと、これからすべきことー」、シェーンバッハ・サボー（砂防会館 別館）、2011年7月23日
- Teruya Enomoto, Yuki Yamaguchi, Iwao Kukimoto, Arnold J. Berk, and Hiroshi Handa “In vitro reconstitution of SV40 particles that are composed of VP1/2/3 capsid proteins and nucleosomal DNA and direct efficient gene transfer”, ICGEB DNA Tumour Virus Meeting, Stazione Marittima Congress Centre, Trieste (Italy), 2011.7.19-24.
- Vipul GUPTA and Hiroshi HANDA “Development of High Affinity Purification Nanobeads and its Application in Screening of Paclitaxel and Docetaxel Binding Proteins”、京都大学GCOE国際シンポジウム The 5th International Symposium、京都大学 百周年記念時計台記念館 国際交流ホール、2011年7月9～10日

- 半田 宏 “ビーズテクノロジーとケミカルバイオロジーの融合：サリドマイド催奇性の原因因子の発見”、桜山感染症研究会、名古屋市立大学、2011年6月22日
- 半田 宏 “骨髄腫治療薬サリドマイドに関する最新の話”、セルセラピーセミナー、前橋テルサ、2011年6月17日
- Kunitoshi Chiba, Yuki Yamaguchi, and Hiroshi Handa “A novel mechanism of co-transcriptional quality control for mRNA capping” EPFL-ETHZ-Tokyo Tech Joint Symposium Chemistry, Bioscience & Biomaterials for Bio-Eco & Bio-Med Technology, EPFL, Lausanne (Switzerland), 2011.6.9-10.
- Satoki Karasawa, Satoshi Sakamoto, and Hiroshi Handa “Development of High-Performance Affinity Magnetic Beads and its Application to Screening of Vitamin K2 Target Protein”, EPFL-ETHZ-Tokyo Tech Joint Symposium Chemistry, Bioscience & Biomaterials for Bio-Eco & Bio-Med Technology, EPFL, Lausanne (Switzerland), 2011.6.9-10.
- 半田 宏、川野雅章 “ウイルスカプシドタンパク質を利用したDDS用医療材料の創製”、第27回日本DDS学会～DDS が拓くライフイノベーション～、東京大学 本郷キャンパス、2011年6月9日
- 唐澤慧記、東 基記、宮澤啓介、坂本 聡、加部泰明、半田 宏 “Vitamin K2によるがん細胞のアポトーシス誘導機構の解明”、日本ケミカルバイオロジー学会第6回年会、東京工業大学 大岡山キャンパス（講堂・百年記念館）、2011年5月23～25日
- 坂田未希、伊藤拓水、岸 努、安藤秀樹、山口雄輝、半田 宏 “サリドマイド標的タンパク質CRBNに結合する因子の解析”、日本ケミカルバイオロジー学会第6回年会、東京工業大学 大岡山キャンパス（講堂・百年記念館）、2011年5月23～25日
- 伊藤拓水、安藤秀樹、山口雄輝、半田 宏 “サリドマイド標的因子セレブロンNの機能解析”、日本ケミカルバイオロジー学会第6回年会、東京工業大学 大岡山キャンパス（講堂・百年記念館）、2011年5月23～25日
- 加部泰明、半田 宏、末松 誠 “ヘム/COによるGAPDHを介した細胞制御機構の解明”、日本ケミカルバイオロジー学会第6回年会、東京工業大学 大岡山キャンパス（講堂・百年記念館）、2011年5月23～25日
- 坂本 聡、政池由佳、廣田雅隆、山田 丈、高木 毅、石原 聡、澤 智華、加部泰明、相良 洋、半田 宏 “骨粗鬆症薬アミノビスフォスフォネートの新規タンパク質の解析”、日本ケミカルバイオロジー学会第6回年会、東京工業大学 大岡山キャンパス（講堂・百年記念館）、2011年5月23～25日
- 今井 剛、前川尚也、伊崎美加、深山優子、福井由宇子、平本正樹、安藤秀樹、坂本 聡、小林雄一、半田 宏 “新規PGJ2標的因子の同定とその骨代謝制御機構の解明”、日本ケミカルバイオロジー学会第6回年会、東京工業大学 大岡山キャンパス（講堂・百年記念館）、2011年5月23～25日
- 半田 宏 “新規アフィニティ磁性ビーズの作製とそれによるサリドマイド催奇性の原因因子の単離・同定”、モレキュラー・キラリティー2011、東京工業大学 大岡山キャンパス 西8号館デジタル多目的室、2011年5月20日
- Hiroshi Handa “Application of Beads Technology for Chemical Biology”, 2011 KSBMB annual meeting, Grand Ballroom, COEX, Seoul (Korea), 2011.5.16-18.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

＝特許出願＝

- 「細胞傷害性T細胞誘導剤」半田 宏、川野雅章、松井政則 特願2011-107874
- 「mRNAのpoly(A)鎖および/または3'末端配列の一部を切断し、翻訳反応を抑制する技術」和田忠士、竹田圭、半田宏 特願2011-160512
- 「機能性物質含有微粒子とそれを利用する高感度センサによる高精度生体分子検出システム」半田 宏、畠山 士、坂本 聡 特願2011-260624
- 「骨粗鬆症治療薬のスクリーニング法」今井 剛、半田 宏 特願2012-027946

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 漢方薬「熊胆」の主成分であるウルソデオキシコール酸（UDCA）の新規標的因子を解析した。新規UDCA標的因子の下流シグナル因子を同定し、これら因子が形成する複合体に対するUDCAの影響を調べた。また、マウスを用いて新規UDCA標的因子を解析した。

A. 研究目的

平成23年度では漢方薬「熊胆」の主成分であるUDCAの作用機序を解明するべく、UDCA標的因子の同定、標的因子のシグナルの解明を目指した。標的因子・シグナル因子が明らかになれば、同因子結合活性を指標に第二世代の薬剤開発が可能になると期待される。

B. 研究方法

アフィニティ精製によって同定されたUDCAbp2（イオンチャネル）の組換えタンパク質を作製し、UDCA固定化磁性ビーズを用いて結合活性を調べた。UDCAとUDCAbp2の複合体を解析すべく、UDCAbp2の下流シグナルに存在する因子の同定と解析を試みた。また、UDCAbp2強制発現マウスを作製し、遺伝子改変マウスの表現型を解析した。

（倫理面への配慮）

遺伝子組換え委員会、感染実験委員会、動物実験委員会、動物実験倫理委員会等の所属機関への届出・承認を受けた実験方法・手技を用いて研究を進めた。

C. 研究結果

293FT細胞を用いてイオンチャネルの1種であるUDCAbp2の組換えタンパク質を作製し、UDCA固定化磁性ビーズを用いてUDCAに対する結合活性を調べたところ、UDCAbp2はUDCAと結合した。

UDCAbp2がUDCAと複合体を形成すると考えられるため、UDCAbp2の下流シグナルを調べたところ、2つの下流シグナル因子（factor1、factor2）を同定することができた。これら因子の結合状態を解析したところ、UDCAbp2とfactor1は結合し、UDCAbp2とfactor2は極めて弱く結合していた。また、factor1とfactor2は強く結合していた。そこで、UDCA存在下でこれらの結合の変化を調べたところ、UDCAbp2とfactor1の結合は弱くなったが、UDCAbp2とfactor2の結合、およびfactor1とfactor2の結合は変化しなかった。

UDCAbp2発現ベクターを用いてUDCAbp2強制発現マウスを作製し、UDCAbp2遺伝子改変マウスの表現型を解析したところ、遺伝子改変マウスは野生型マウスに比べて高い骨密度を有していた。

D. 考察

アフィニティ精製によって同定されたUDCAbp2がUDCAに対して結合したことから、UDCAbp2がUDCA標的タンパク質であることが示唆される。UDCAbp2の下流シグナル因子（factor1、factor2）については、UDCAが存在しないとUDCAbp2とfactor1の複合体が形成され、factor2は単独で存在すると推測され、UDCAが存在するとUDCAとUDCAbp1の複合体、およびfactor1とfactor2の複合体が形成されることが推測された。よって、細胞内におけるUDCAbp2とfactor1、またはUDCAbp2とfactor2の複合体形成変化がUDCAの薬理活性に関連すると考えられる。

UDCAbp2遺伝子改変マウスは野生型マウスに比べて高い骨密度を有していたことから、UDCAbp2はマウス生体において骨芽細胞分化促進活性を示すと考えられる。

E. 結論

UDCAbp2とUDCAとの結合活性実験、UDCAbp2の下流シグナルの解析、UDCAbp2遺伝子改変マウ

スの表現型解析から、UDCAbp2がUDCAの新規標的タンパク質であることが強く示唆される。

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- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J2 interacting factors using magnetic nanobeads.” *Biomed. Chromatogr.* **25**, 466-471 (2011).

2. 学会発表

- 福井由宇子・大脇亜紀子、林 友子・今井 剛、諸橋憲一郎 “早期老化症様表現型を示すポリコームグループ遺伝子Cbx2ノックアウトマウス” 日本基礎老化学会第34回年会、2011年6月15日、東京
- 前川尚也、伊崎美加、深山優子、福井由宇子、平本正樹、安藤秀樹、坂本 聡、小林雄一、半田 宏、今井 剛 “新規PGJ2標的因子の同定とその骨代謝制御機構の解明” 日本ケミカルバオロジー学会第6回年会、2011年5月23～25日、東京

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

＝特許出願＝

- 「骨粗鬆症治療薬のスクリーニング法」今井 剛、半田 宏 特願2012-027946

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、培養細胞を用いて、アフィニティ精製によって同定された UDCA 結合タンパク質の機能を解析した。

A. 研究目的

タンパク質を強制発現、およびノックダウンさせた培養細胞を用い、漢方薬「熊胆」の主成分である UDCA の薬理作用を調べる。

B. 研究方法

アフィニティ精製によって同定された UDCA 結合タンパク質（UDCAbp2）を強制発現、およびノックダウンさせるベクターを作製し、培養細胞に導入し、UDCAbp2 が強制発現、およびノックダウンされた培養細胞におけるタンパク質の変化を調べた。UDCAbp2 がノックダウンされた培養細胞において、UDCA 添加によるタンパク質の変化を調べた。

（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

FLAG タグ付きの UDCAbp2 強制発現ベクターを 293FT 細胞にトランスフェクションし、細胞抽出液を抗 FLAG 抗体によって Western blotting し、UDCAbp2 が強制発現されていることを確認した。次に UDCAbp2 強制発現ベクターを導入した細胞に UDCAbp2 ノックダウンベクターを加えて、UDCAbp2 の変化を確認したところ、加えた UDCAbp2 ノックダウンベクター量依存的に UDCAbp2 が減少していた。

これら 2 つのベクターを骨芽細胞に導入して骨芽細胞マーカーの変化を調べた。UDCAbp2 強制発現ベクターが導入された骨芽細胞では ALP（アルカリフォスファターゼ）活性およびオステオカルシンがともに促進されていた。一方で、UDCAbp2 ノックダウンベクターが導入された骨芽細胞では ALP 活性およびオステオカルシンが抑制されていた。

野生型細胞と UDCAbp2 ノックダウン細胞に UDCA を加えて、骨芽細胞マーカーの変化を調べたところ、野生型細胞では UDCA 添加により ALP 活性やオステオカルシンが上昇したが、UDCAbp2 ノックダウン細胞では UDCA 添加によって ALP 活性やオステオカルシンは変化しなかった。

D. 考察

UDCAbp2 が強制発現、またはノックダウンされた骨芽細胞において、ALP 活性やオステオカルシンといった骨芽細胞マーカーが有意に変化し、UDCA 添加によって UDCAbp2 ノックダウン細胞内における ALP やオステオカルシンが変化しなかったことから、UDCAbp2 は骨芽細胞分化促進因子であると推察され、UDCA は UDCAbp2 を介して ALP 活性やオステオカルシンを制御していると考えられる。

E. 結論

UDCAbp2 が強制発現、またはノックダウンされた骨芽細胞を用いた実験から、UDCAbp2 は UDCA の標的タンパク質（骨芽細胞分化促進因子）であることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Kajimura, M.; Nakanishi, T.; Takenouchi, T.; Morikawa, T.; Hishiki, T.; Yukutake, Y.; Suematsu, M. "Gas biology: Tiny molecules controlling metabolic systems." *Respir. Physiol. Neurobiol.* in press.

- Higashiyama, M.; Hokari, R.; Hozumi, H.; Kurihara, C.; Ueda, T.; Watanabe, C.; Tomita, K.; Nakamura, M.; Komoto, S.; Okada, Y.; Kawaguchi, A.; Nagao, S.; Suematsu, M.; Goda, N.; Miura S. “HIF-1 in T cells ameliorated dextran sodium sulfate-induced murine colitis.” *J. Leukoc. Biol.* in press.
 - Yamada, H.; Akahoshi, N.; Kamata, S.; Hagiya, Y.; Hishiki, T.; Nagahata, Y.; Matsuura, T.; Takano, N.; Mori, M.; Ishizaki, Y.; Izumi, T.; Kumagai, Y.; Kasahara, T.; Suematsu, M.; Ishii, I. “Methionine excess in diet induces acute lethal hepatitis in mice lacking cystathionine γ -lyase, an animal model of cystathioninuria.” *Free Radic. Biol. Med.* **52**, 1716-1726 (2012).
 - Tamada, M.; Nagano, O.; Tateyama, S.; Ohmura, M.; Yae, T.; Ishimoto, T.; Sugihara, E.; Onishi, N.; Yamamoto, T.; Yanagawa, H.; Suematsu, M.; Saya, H. “Modulation of glucose metabolism by CD44 contributes to antioxidant status and drug resistance in cancer cells.” *Cancer Res.* **72**, 1438-1448 (2012).
 - Morikawa, T.; Kajimura, M.; Nakamura, T.; Hishiki, T.; Nakanishi, T.; Yukutake, Y.; Nagahata, Y.; Ishikawa, M.; Hattori, K.; Takenouchi, T.; Takahashi, T.; Ishii, I.; Matsubara, K.; Kabe, Y.; Uchiyama, S.; Nagata, E.; Gadalla, M. M.; Snyder, S. H.; Suematsu, M. “Hypoxic regulation of the cerebral microcirculation is mediated by a carbon monoxide-sensitive hydrogen sulfide pathway.” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 1293-1298 (2012).
 - Akahoshi, N.; Ishizaki, I.; Naya, M.; Maekawa, T.; Yamazoe, S.; Horiuchi, T.; Kajimura, M.; Ohashi, Y.; Suematsu, M.; Ishii, I. “TOF-SIMS imaging of halide/thiocyanate anions and hydrogen sulfide in mouse kidney sections using silver-deposited plates.” *Anal. Bioanal. Chem.* **402**, 1859-1864 (2012).
 - Nishiyama, Y.; Goda, N.; Kanai, M.; Niwa, D.; Osanai, K.; Yamamoto, Y.; Senoo-Matsuda, N.; Johnson, R. S.; Miura, S.; Kabe, Y.; Suematsu, M. “HIF-1 α induction suppresses excessive lipid accumulation in alcoholic fatty liver in mice.” *J. Hepatol.* **56**, 441-447 (2012).
 - Noma, N.; Simizu, S.; Kambayashi, Y.; Kabe, Y.; Suematsu, M.; Umezawa, K. “Involvement of NF- κ B-mediated expression of galectin-3-binding protein in TNF- α -induced breast cancer cell adhesion.” *Oncol. Rep.* **27**, 2080-2084 (2011).
 - Ochiai, D.; Goda, N.; Hishiki, T.; Kanai, M.; Senoo-Matsuda, N.; Soga, T.; Johnson, R. S.; Yoshimura, Y.; Suematsu, M. “Disruption of HIF-1 α in hepatocytes impairs glucose metabolism in diet-induced obesity mice.” *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **415**, 445-449 (2011).
 - Shinmura, K.; Tamaki, K.; Sano, M.; Nakashima-Kamimura, N.; Wolf, A. M.; Amo, T.; Ohta, S.; Katsumata, Y.; Fukuda, K.; Ishiwata, K.; Suematsu, M.; Adachi, T. “Caloric restriction primes mitochondria for ischemic stress by deacetylating specific mitochondrial proteins of the electron transport chain.” *Circ. Res.* **109**, 396-406 (2011).
 - 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.* **400**, 1895-1904 (2011).
 - 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).
2. 学会発表
- 加部泰明、半田 宏、末松 誠 “へム/COによるGAPDHを介した細胞制御機構の解明”、日本ケミカルバイオロジー学会第6回年会、東京工業大学 大岡山キャンパス（講堂・百年記念館）、2011年5月23～25日

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

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）の新規標的タンパク質候補を解析し、UDCA標的タンパク質候補と相互作用する因子が存在すると、UDCA添加によってTNF- α 産生量が抑制されなくなることが分かった。

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、今年度はアフィニティ精製によって同定されたUDCA結合タンパク質（UDCAbp2）がUDCA標的タンパク質であるかどうかを検証する。

B. 研究方法

アフィニティ精製によって得られたUDCAに対して特異的に結合するタンパク質のうち、イオンチャネルであるUDCAbp2に関する情報を収集し、炎症性培養細胞を用いてUDCAbp2と相互作用する因子にUDCAがどのように影響するかを調べた、

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：培養細胞に用いる培地や、UDCAbp2相互作用因子やUDCAを加える条件を検討し、その培養上清中の炎症性サイトカイン量をELISA（Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay）によって定量分析した。

（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

UDCAbp2と相互作用する因子が存在すると、UDCA添加によってTNF- α 産生が抑制されないことが分かった。

D. 考察

ELISAによる炎症性サイトカイン量の定量から、UDCAbp2相互作用因子が存在すると、UDCAがTNF- α 産生量の抑制効果を解除すると考えられる。

E. 結論

UDCAbp2と相互作用する因子が存在すると、UDCAによってTNF- α 産生量が変化することが分かった。今後、UDCAbp2と相互作用する因子についてさらに情報を収集し、ELISAだけでなく、リポーターアッセイや免疫沈降実験を行い、UDCAbp2の機能解析を進める。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Oda, T.; Wewengkang, D. S.; Kapojos, M. M.; Mangindaan, R. E. P.; Lee, J.-S.; Namikoshi, M. "Lobohedleolide induces interleukin-8 production in LPS-stimulated human monocytic cell line THP-1." *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod. (IJARNP)* **4**, 16-21 (2011).

2. 学会発表

- 小田泰子、北村美里、山崎寛之、R. E. P. Mangindaan、浪越通夫 “炎症性サイトカイン産生系に効果を示す海洋天然物の探索” 日本薬学会第 132 年会、北海道大学 札幌キャンパス、2012 年 3 月 28～31 日
- 小田泰子、北村美里、山崎寛之、R. E. P. Mangindaan、浪越通夫 “海洋天然物 13 種の V79 細胞に

対する細胞障害性について” 日本薬学会第 132 年会、北海道大学 札幌キャンパス、2012 年 3 月 28～31 日

- 小田泰子、北村美里、浪越通夫 “LPS 刺激した細胞株から産生されるサイトカインへの海洋天然物の作用点” 第 84 回日本生化学会大会、国立京都国際会館、京都、2011 年 9 月 21～24 日

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

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

=半田 宏=

- 坂本 聡、岸 寛、今井乾介、畠山 士、半田 宏 “熱を用いた診断材料（非アパタイト系・鉄酸化物系）－温熱治療可能な機能性酸化鉄（マグネタイト）の開発” セラミックス機能化ハンドブック 第5編 バイオマテリアル 第3章 治療用材料 第4節、株式会社エヌ・ティー・エス、東京(2011).
- 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 第Ⅲ編 バイオセパレーション 第7章（監修：樋口亜紺）、シーエムシー出版、東京 (2011).
- 壺内信吾、池田森人、成松宏樹、半田 宏 “ナノ磁性流体” ソフトナノテクノロジーにおける材料開発 第Ⅳ編 第2章 ナノ磁性流体（監修：田中順三・下村政嗣）、シーエムシー出版、東京 (2011).
- 畠山 士、半田 宏 “高機能性ナノ磁性粒子と医療・バイオへの応用” ナノ融合による先進バイオデバイス 第1編 第1章 ナノマテリアル 2（監修：民谷栄一）、シーエムシー出版、東京 (2011).
- 畠山 士、加部泰明、半田 宏 “医薬品分野における分散技術” ナノ粒子分散系の基礎と応用 第2章（監修：角田光雄）、シーエムシー出版、東京 (2011).
- Kawano, M.-A.; Xing, L.; Lam, K. S.; Handa, H.; Miyamura, T.; Barnett, S.; Srivastava, I. K.; Cheng, R. H. “Design Platforms of Nanocapsules for Human Therapeutics or Vaccines.”, *Development of Vaccines*, pp.125-139 (2011).
- 伊藤拓水、安藤秀樹、半田 宏 “サリドマイドの催奇性メカニズム” 化学と生物、学会出版センター、49(12), 819-824 (2011).

=今井 剛=

該当なし

=末松 誠=

該当なし

=小田泰子=

該当なし

＝半田 宏＝

- Okuda-Ashitaka, E.; Minami, T.; Tsubouchi, S.; Kiyonari, H.; Iwamatsu, A.; Noda, T.; Handa, H.; Ito, S. "Identification of NIPSNAP1 as a nocistatin-interacting protein involving pain transmission." *J. Biol. Chem.* **287**, 10403-10413 (2012).
- Sakamoto, S.; Hatakeyama, M.; Ito, T.; Handa, H. "Tools and methodologies capable of isolating and identifying a target molecule for a bioactive compound." *Bioorg. Med. Chem.* **20**, 1990-2001 (2012).
- Enomoto, T.; Kukimoto I.; Kawano, M.-A.; Yamaguchi, Y.; Berk, A. J.; Handa, H. "In vitro reconstitution of SV40 particles that are composed of VP1/2/3 capsid proteins and nucleosomal DNA and direct efficient gene transfer." *Virology* **420**, 1-9 (2011).
- Kitai, Y.; Fukuda, H.; Enomoto, T.; Asakawa, Y.; Suzuki, T.; Inouye, S. Handa, H. "Cell selective targeting of a simian virus 40 virus-like particle conjugated to epidermal growth factor." *J. Biotechnol.* **155**, 251-256 (2011).
- Yasuma, A.; Ochiai, T.; Azuma, M.; Nishiyama, H.; Kikuchi, K.; Kondo, M.; Handa, H. "Exogenous coproporphyrin III production by *Corynebacterium aurimucosum* and *Microbacterium oxydans* in erythrasma lesions." *J. Med. Microbiol.* **60**, 1038-1042 (2011).
- Hatakeyama, M.; Kishi, H.; Kita, Y.; Imai, K.; Nishio, K.; Karasawa, S.; Masaike, Y.; Sakamoto, 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).

＝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).

＝末松 誠＝

- Kajimura, M.; Nakanishi, T.; Takenouchi, T.; Morikawa, T.; Hishiki, T.; Yukutake, Y.; Suematsu, M. "Gas biology: Tiny molecules controlling metabolic systems." *Respir. Physiol. Neurobiol.* in press.
- Higashiyama, M.; Hokari, R.; Hozumi, H.; Kurihara, C.; Ueda, T.; Watanabe, C.; Tomita, K.; Nakamura, M.; Komoto, S.; Okada, Y.; Kawaguchi, A.; Nagao, S.; Suematsu, M.; Goda, N.; Miura S. "HIF-1 in T cells ameliorated dextran sodium sulfate-induced murine colitis." *J. Leukoc. Biol.* in press.
- Yamada, H.; Akahoshi, N.; Kamata, S.; Hagiya, Y.; Hishiki, T.; Nagahata, Y.; Matsuura, T.; Takano, N.; Mori, M.; Ishizaki, Y.; Izumi, T.; Kumagai, Y.; Kasahara, T.; Suematsu, M.; Ishii, I. "Methionine excess in diet induces acute lethal hepatitis in mice lacking cystathionine γ -lyase, an animal model of cystathioninuria." *Free Radic. Biol. Med.* **52**, 1716-1726 (2012).
- Tamada, M.; Nagano, O.; Tateyama, S.; Ohmura, M.; Yae, T.; Ishimoto, T.; Sugihara, E.; Onishi, N.; Yamamoto, T.; Yanagawa, H.; Suematsu, M.; Saya, H. "Modulation of glucose metabolism by CD44 contributes to antioxidant status and drug resistance in cancer cells." *Cancer Res.* **72**, 1438-1448 (2012).
- Morikawa, T.; Kajimura, M.; Nakamura, T.; Hishiki, T.; Nakanishi, T.; Yukutake, Y.; Nagahata, Y.; Ishikawa, M.; Hattori, K.; Takenouchi, T.; Takahashi, T.; Ishii, I.; Matsubara, K.; Kabe, Y.; Uchiyama, S.; Nagata, E.; Gadalla, M. M.; Snyder, S. H.; Suematsu, M. "Hypoxic regulation of the cerebral microcirculation is mediated by a carbon monoxide-sensitive hydrogen sulfide pathway." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 1293-1298 (2012).
- Akahoshi, N.; Ishizaki, I.; Naya, M.; Maekawa, T.; Yamazoe, S.; Horiuchi, T.; Kajimura, M.; Ohashi, Y.;

- Suematsu, M.; Ishii, I. "TOF-SIMS imaging of halide/thiocyanate anions and hydrogen sulfide in mouse kidney sections using silver-deposited plates." *Anal. Bioanal. Chem.* **402**, 1859-1864 (2012).
- Nishiyama, Y.; Goda, N.; Kanai, M.; Niwa, D.; Osanai, K.; Yamamoto, Y.; Senoo-Matsuda, N.; Johnson, R. S.; Miura, S.; Kabe, Y.; Suematsu, M. "HIF-1 α induction suppresses excessive lipid accumulation in alcoholic fatty liver in mice." *J. Hepatol.* **56**, 441-447 (2012).
 - Noma, N.; Simizu, S.; Kambayashi, Y.; Kabe, Y.; Suematsu, M.; Umezawa, K. "Involvement of NF- κ B-mediated expression of galectin-3-binding protein in TNF- α -induced breast cancer cell adhesion." *Oncol. Rep.* **27**, 2080-2084 (2011).
 - Ochiai, D.; Goda, N.; Hishiki, T.; Kanai, M.; Senoo-Matsuda, N.; Soga, T.; Johnson, R. S.; Yoshimura, Y.; Suematsu, M. "Disruption of HIF-1 α in hepatocytes impairs glucose metabolism in diet-induced obesity mice." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **415**, 445-449 (2011).
 - Shinmura, K.; Tamaki, K.; Sano, M.; Nakashima-Kamimura, N.; Wolf, A. M.; Amo, T.; Ohta, S.; Katsumata, Y.; Fukuda, K.; Ishiwata, K.; Suematsu, M.; Adachi, T. "Caloric restriction primes mitochondria for ischemic stress by deacetylating specific mitochondrial proteins of the electron transport chain." *Circ. Res.* **109**, 396-406 (2011).
 - 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.* **400**, 1895-1904 (2011).

=小田 泰子=

- Oda, T.; Wewengkang, D. S.; Kapojos, M. M.; Mangindaan, R. E. P.; Lee, J.-S.; Namikoshi, M. "Lobohedleolide induces interleukin-8 production in LPS-stimulated human monocytic cell line THP-1." *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod. (IJARNP)* **4**, 16-21 (2011).

