

201208010A

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24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 半田 宏

平成25（2013）年 5月

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	-----	7
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	-----	9
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24年度では、昨年度に引き続き、培養細胞とマウスを用いてUDCA特異的結合タンパク質(UDCAbp)の解析を進め、UDCAが持つ薬理作用機構の解明を目指した。

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 大学院生命理工学研究科・特任教授
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分散性ポリマー被覆型磁性ビーズをタンパク質精製用担体として使い、UDCA以外の熊胆の胆汁酸成分としてデオキシコール酸(deoxycholic acid; DCA)を固定化した磁性ビーズを用いたアフィニティ精製によりDCA結合タンパク質を探索した。

昨年度までに得られたUDCAbpのうち、イオンチャネルUDCAbp2に着目し、UDCAbp2遺伝子改変マウスを作製し、UDCAbpの発現解析を行った。また、UDCAbp2遺伝子改変マウスの頭蓋骨初代培養系を立ち上げ、野生型マウスの初代培養細胞との比較により、UDCAの薬理作用に対してUDCAbp2の関与を調べた。

漢方薬「熊胆」はUDCAを含む複数の成分（主に胆汁酸代謝物）を有していることから、これらが相加的または相乗的に相互作用して薬理作用を示すと考えられる。そこで、熊胆中のUDCA以外の成分（DCAなど）に有効成分があるかどうかを探索した。

Hep3B細胞（ヒト肝臓がん由来細胞）の細胞質内のUDCAbp2結合因子の変化をウエスタンブロット法で検出した。UDCAで処理されたRAW 264.7細胞（免疫担当細胞）またはHep3B細胞における転写因子NF- κ Bの活性化状態の変化をレポーター遺伝子アッセイ法で検出した。

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24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

昨年度まで行なってきた UDCA 特異的結合因子 (UDCAbp) のアフィニティ精製と同様に DCA 固定化磁性ビーズを作製し、DCA 結合タンパク質のアフィニティ精製を検討した。その結果、DCA 固定化ビーズに結合するタンパク質は得られたものの、DCA に対して特異的に結合するタンパク質が得られなかった。

UDCAbp2発現ベクターを用いてUDCAbp2強制発現マウスを作製し、UDCAbp2の発現を調べたところ、肝実質細胞でのUDCAbp2の強制発現は見られなかった。その一方で、骨芽細胞にてUDCAbp2の発現が見られた。UDCAbp2遺伝子改変マウスの頭蓋骨初代培養系を立ち上げることに成功し、UDCAbp2遺伝子改変マウスとその兄弟の野生型マウスの初代培養細胞を比較検討したところ、UDCAの薬理作用にUDCAbp2が必要であることを見出した。

文献検索などから、熊胆中のUDCA以外の胆汁酸成分について解析を進め、肝臓保護活性を有するような成分を見つけ出そうとしたが、期待する成分を見出すことができなかった。

LPS刺激したRAW 264.7細胞をUDCAで処理すると、LPSで活性化されたNF- κ Bが抑制されていた。また、Hep3G細胞において恒常的に活性化されているNF- κ BがUDCA処理によっても抑制された。Hep3G細胞におけるUDCAbp2結合因子の変化を調べたところ、UDCAの添加量が増加するにつれ、細胞質内のUDCAbp2結合因子量が上昇した。

詳細は各分担研究報告書を参照。

D. 考察

DCA は熊胆の成分の1つであるが、熊胆が持つ薬理作用に関与している報告はほとんどない。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、UDCA が示す薬理作用をサポートするようなタンパク質などが DCA 結合因子として得られることを期待したが、そのような因子は得られなかった。よって、これまでに得られている UDCAbp の *in vitro* 解析、*in vivo* 解析をさらに進めることによって、UDCA の薬理作用が解明できるのではないかと考えられる。

UDCAbp2 強制発現マウスの発現解析から、UDCAbp2 は骨形成などに関与する因子であると考えられる。これまでに得られたラットの肝臓抽出液を用いたアフィニティ精製の結果を踏まえると、UDCAbp2 は UDCA が持つ肝機能改善作用に関与する可能性だけでなく、骨形成にも関与する可能性があると考えられる。

UDCA 以外の熊胆に含まれる胆汁酸成分に肝臓保護活性を示すような成分が見出すことができなかったことから、UDCA 以外の胆汁酸成分は肝機能改善作用にほとんど関与せず、その一方で、UDCA が持つ薬理作用を阻害するような成分ではないと推測される。

UDCA 添加量が増加すると、イオンチャネルである UDCAbp2 の結合因子量が細胞質内で上昇したことから、これら因子は UDCA によって変調を受けると考えられる。その一方で、UDCA 添加量に左右されない、LPS 刺激で誘導される細胞質内タンパク質があることも分かってきた。UDCA は細胞毒性が低く、高濃度の UDCA を用いた実験が報告されており、UDCA は細胞内タンパク質間の会合を非特異的に阻害するとも考えられてきた。よって、今回の実験結果から、UDCAbp2 が UDCA 標的因子の1つとして機能し、UDCA の薬理作用を制御していることが示唆される。

詳細は各分担研究報告書を参照。

E. 結論

DCA固定化磁性ビーズを用いたアフィニティ精製により、DCAに特異的に結合するタンパク質を得ることができなかった。しかし、DCAはUDCAと異なる作用を有していることから、精製条件を変えることでDCA特異的結合タンパク質が得られる可能性がある。遺伝子改変マウスを用いた実験からUDCAbp2が骨形成にも関与するUDCA標的因子であることが示唆された。UDCA以外の熊胆中に含まれる胆汁酸成分は薬理作用を示さない一方で、薬理作用を阻害しないとも考えられる。LPS刺激によって、あるいは恒常的に活性化された転写因子NF- κ BがUDCA濃度依存的に抑制されること、細胞質内のUDCAbp2結合因子量がUDCA処理によって変化したことから、UDCAbp2がUDCAの薬理作用に関与するUDCA標的因子であると示唆された。

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

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。本研究では、生体内における UDCA の薬理作用機構を解明するために、UDCA 以外の熊胆の胆汁酸成分に結合する因子のアフィニティ精製を検討した。

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、分散性ポリマー被覆型磁性ビーズを用いるアフィニティ精製を通じて、UDCA以外の熊胆の胆汁酸成分の結合タンパク質を探索した。

B. 研究方法

当研究グループが独自に開発した分散性ポリマー被覆型磁性ビーズを用い、ラットの肝臓抽出液からのアフィニティ精製によって、これまでにUDCA特異的結合タンパク質としてUDCAbp1(酵素)、UDCAbp2(イオンチャネル)を単離・同定した。ここで、UDCA以外の熊胆に含まれる胆汁酸成分に有効成分がないかどうかを探索すべく、UDCAと同じ分子量を有し、水酸基の位置が異なるデオキシコール酸(deoxycholic acid; DCA)の結合タンパク質をアフィニティ精製によって探索した。

(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24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と同様にDCAもカルボン酸を有していることから、ここを利用して分散性ポリマー被覆型磁性ビーズ上にDCAを固定化し、ラットの肝臓から作製した抽出液からDCA結合タンパク質のアフィニティ精製を検討した。その結果、DCA固定化ビーズに結合するタンパク質は得られたものの、DCAに対して特異的に結合するタンパク質が得られなかった。

D. 考察

UDCA固定化磁性ビーズを用いたアフィニティ精製ではUDCA特異的結合タンパク質(UDCAbp)を得ることができたが、今回の実験条件ではDCAの特異的結合タンパク質は得られなかった。DCAはUDCAとは異なる機能を持つことが知られていることから、ラットの肝臓から作製した抽出液とは異なる細胞粗抽出液などを用いることで、DCAに特異的に結合するタンパク質が得られる可能性がある。

E. 結論

UDCA以外の熊胆の胆汁酸成分に特異的に結合するタンパク質を得ることができなかった。しかし、精製条件を変えることでUDCA以外の熊胆の胆汁酸成分に対して特異的に結合タンパク質が得られる可能性はある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Kang, J.; Shen, Z.; Lim, J.-M.; Handa, H.; Wells, L.; Tantin, D. "Regulation of Oct1 transcription activity by O-GlcNAc modification." *FASEB J.* in press (2013).
- Hotta, K.; Nashimoto, A.; Yasumura, E.; Suzuki, M.; Azuma, M.; Iizumi, Y.; Shima, D.; Nabeshima, R.;

- Hiramoto, M.; Okada, A.; Sakata-Sogawa, K.; Tokunaga, M.; Ito, T.; Ando, H.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.; Aizawa, S.; Imai, T.; Yamaguchi, Y.; Watanabe, H.; Handa, H. 2-Vesnarinone suppresses TNF α mRNA expression by inhibiting valosin-containing.” *Mol. Pharmacol.* **83**, 930-938 (2013).
- Karasawa, S.; Azuma, M.; Kasama, T.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.; Imai, Y.; Yamaguchi, Y.; Miyazawa, K.; Handa, H. “Vitamin K2 Covalently Binds to Bak and Induces Bak-Mediated Apoptosis” *Mol. Pharmacol.* **83**, 613-620 (2013).
 - Kawano, M.; Matsui, M.; Handa, H. “SV40 virus-like particles as an effective delivery system and its application to a vaccine carrier.” *Expert Rev. Vaccines* **12**, 199-210 (2013).
 - Kershaw, J.; Leuze, C.; Aoki, I.; Obata, T.; Kanno, I.; Ito, H.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Systematic changes to the apparent diffusion tensor of in vivo rat brain measured with an oscillating-gradient spin-echo sequence.” *Neuroimage* **70**, 10-20 (2013).
 - Yamaguchi, Y.; Shibata, H.; Handa, H. “Transcription elongation factors DSIF and NELF: Promoter-proximal pausing and beyond.” *Biochim. Biophys. Acta* **1829**, 98-104 (2013).
 - Diamant, G.; Amir-Zilberstein, L.; Yamaguchi, Y.; Handa, H.; Dikstein, R. “DSIF restricts NF- κ B signaling by coordinating elongation with mRNA Processing of negative feedback genes.” *Cell Reports* **2**, 1-10 (2012).
 - Wada, T.; Hara, M.; Taneda, T.; Qingfu, C.; Takara, R.; Moro, K.; Takeda, K.; Kishimoto, T.; Handa, H. “Antisense morpholino targeting just upstream from a poly(A) tail junction of maternal mRNA removes the tail and inhibits translation.” *Nucleic Acids Res.* **40**, e173 (2012).
 - Ito, Y.; Ito, T.; Karasawa, S.; Enomoto, T.; Nashimoto, A.; Hase, Y.; Sakamoto, S.; Mimori, T.; Matsumoto, Y.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Identification of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (DNA-PKcs) as a novel target of Bisphenol A.” *PLoS ONE* **7**, e50481 (2012).
 - Lopez-Girona, A.; Mendy, D.; Ito, T.; Miller, K.; Gandhi, A. K.; Kang, J.; Karasawa, S.; Carmel, G.; Jackson, P.; Abbasian, M.; Mahmoudi, A.; Cathers, B.; Rychak, E.; Gaidarova, S.; Chen, R.; Schafer, P. H.; Handa, H.; Daniel, T. O.; Evans, J. F.; Chopra, R. “Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide.” *Leukemia* **26**, 2326-2335 (2012).
 - Ito, T.; Handa, H. “Deciphering the mystery of thalidomide teratogenicity.” *Congenit. Anom.* **52**, 1-7 (2012).
 - 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).
2. 学会発表
- 坂本 聡、辻田公二、長谷川祐一、小野雅之、畠山 士、加部泰明、糸長 誠、末松 誠、半田 宏 “分散性磁気微粒子の高精度計数による生体分子検出技術の開発”、日本化学会第93春季年会、立命館大学 びわこ・くさつキャンパス (BKC)、2013年3月22~25日
 - 半田 宏 “天然物ケミカルバイオロジーの最先端 –ケミカルで知り、ケミカルで動かす–”、伊那谷アグリイノベーション推進機構設立準備会第2回シンポジウム、飯田女子短期大学、2012年12月18日
 - 半田 宏 “「ケミカルによる生命の謎への挑戦」(Challenge to the mystery of life by chemical)”、日本糖鎖コンソーシアムシンポジウム、東京コンファレンスセンター、2012年11月29日
 - 板野 理、飯田修史、今井乾介、松田祐子、畠山 士、坂本 聡、國領大介、長谷川博俊、青木伊知男、半田 宏、北川雄光 “高機能性磁性ビーズを用いた診断システム開発”、第14回SNNS研究会学術集会、ウイנק愛知、2012年11月16~17日
 - 半田 宏 “Unlock the secret of life with chemical compounds -Identification of a target of thalidomide teratogenicity-”、京都大学セミナー、京都大学、2012年11月15日
 - Hiroshi Handa “Expansion from chemical target identification to drug discovery”, The 1st International Symposium on Chemical Biology of Natural Products: Target ID and Regulation of Bioactivity, Kyoto Century Hotel, Kyoto, 2012.10.31-11.1.
 - Hiroshi Handa and Satoshi Sakamoto “Expansion from chemical target identification to drug discovery by the beads technology - CRBN is a target for next generation thalidomide drugs-“Kyoto Century Hotel, Kyoto, 2012.10.31-11.1.

- 半田 宏 “化合物ターゲットから創薬への展開”、生命医薬情報学連合大会、タワーホール船堀、2012年10月14～16日
- 半田 宏、坂本 聡 “ビーズテクノロジーによる標的探索と生物学的評価”、新学術領域研究・天然物ケミカルバイオロジー～分子標的と活性制御～・第2回公開シンポジウム、東京大学 弥生講堂、2012年6月17～18日
- 坂本 聡、伊藤雄気、梨本明宏、羽瀬康嘉、加部泰明、半田 宏 “可塑剤ビスフェノールAの細胞障害作用機構の解析”、日本ケミカルバイオロジー学会第7回年会、京都大学 百周年時計台記念館 百周年記念ホール、2011年6月7～9日
- 半田 宏、“サリドマイド催奇性の謎を解く”、山梨科学アカデミー交流大会、ベルクラシック甲府、2012年5月28日

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＝

- 「相乗的抗糖尿病治療薬剤」 今井剛、半田宏、山口雄輝 特願2012-108729
- 「ナノ粒子を用いた遺伝子導入方法」小野寺 宏、半田 宏、坂本 聡、島山 士 特願2012-123305
- 「骨、関節又は歯異常症の治療物質のスクリーニング方法」今井 剛、半田 宏、山口雄輝 特願2012-140671
- 「被検物質の検出システム」平瀬 匠、中山雅人、半田 宏、坂本 聡、内藤靖之 特願2012-153054
- 「ポリマー微粒子の製造方法」半田 宏、坂本 聡、河田慎太郎 特願2013-071029

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 漢方薬「熊胆」の主成分であるウルソデオキシコール酸（UDCA）の特異的結合因子（UDCAbp）をマウスによって解析した。UDCAbp2強制発現マウスにおけるUDCAbp2を解析し、骨芽細胞にてUDCAbp2が発現していることを確認した。また、UDCAbp2遺伝子改変マウスの頭蓋骨初代培養系を立ち上げ、UDCAの薬理作用にUDCAbp2が関与することを示唆するデータを得た。

A. 研究目的

平成24年度では、遺伝子改変マウスを用いたUDCA特異的結合因子（UDCAbp）の解析による、漢方薬「熊胆」の主成分であるUDCAの作用機序の解明を目指す。

B. 研究方法

昨年度までに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）の遺伝子改変マウスを作製して、マウス内のUDCAbp2の発現を調べた。また、UDCAbp2遺伝子改変マウスの頭蓋骨初代培養系を構築し、UDCAbp2遺伝子改変マウスとその兄弟の野生型マウスにおける初代培養細胞を比較した。

（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

UDCAbp2発現ベクターを用いてUDCAbp2強制発現マウスを作製し、UDCAbp2の発現を調べたところ、肝実質細胞でのUDCAbp2の強制発現は見られなかった。その一方で、骨芽細胞にてUDCAbp2の発現が見られた。UDCAbp2遺伝子改変マウスの頭蓋骨初代培養系を立ち上げることに成功し、UDCAbp2遺伝子改変マウスとその兄弟の野生型マウスの初代培養細胞を比較検討し、UDCAの薬理作用にUDCAbp2が必要であることを見出した。

D. 考察

アフィニティ精製によって同定されたUDCAbp2が強制発現されたマウスを用いたUDCAbp2の発現解析から、UDCAbp2は骨形成などに関与する因子であると考えられる。しかし、UDCAbp2遺伝子改変マウスの肝実質細胞においてUDCAbp2の発現は見られなかった。昨年度までに得られたラットの肝臓抽出液を用いたアフィニティ精製の結果から、UDCAbp2はUDCAが持つ肝機能改善作用に関与する可能性だけでなく、骨形成にも関与する可能性があるものと推察される。

E. 結論

遺伝子改変マウスを用いた実験からUDCAbp2が骨形成にも関与するUDCA標的因子であることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Imai, T. "Adipogenesis and osteoblastogenesis in aging Adipocyte: signaling pathways, molecular regulation and impact on human disease." In press (2013). Nova publication accepted.
- Hotta, K.; Nashimoto, A.; Yasumura, E.; Suzuki, M.; Azuma, M.; Iizumi, Y.; Shima, D.; Nabeshima, R.; Hiramoto, M.; Okada, A.; Sakata-Sogawa, K.; Tokunaga, M.; Ito, T.; Ando, H.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.;

Aizawa, S.; Imai, T.; Yamaguchi, Y.; Watanabe, H.; Handa, H. 2-Vesnarinone suppresses TNF α mRNA expression by inhibiting valosin-containing.” *Mol. Pharmacol.* **83**, 930-938 (2013).

- Karasawa, S.; Azuma, M.; Kasama, T.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.; Imai, Y.; Yamaguchi, Y.; Miyazawa, K.; Handa, H. “Vitamin K2 Covalently Binds to Bak and Induces Bak-Mediated Apoptosis” *Mol. Pharmacol.* **83**, 613-620 (2013).

2. 学会発表

- Imai T. “NEW DRUG TARGET DISCOVERY WITH MAGNETIC NANOBEADS TECHNOLOGY-HIGH PERFORMANCES AFFINITY PURIFICATION FOR IDENTIFICATION OF 15-DEOXY- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ INTERACTING FACTORS USING MAGNETIC NANOBEADS”, 2nd Biotechnology World Congress, Dubai (UAE), 2013.2.18-21.
- Imai T. “High performance affinity chromatography method for identification of 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ interacting factors using magnetic nanobeads.” NanoMedicine 2012, Shenzhen (China), 2012.11.1-3.

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=

- 「相乗的抗糖尿病治療薬剤」 今井剛、半田宏、山口雄輝 特願2012-108729
- 「骨、関節又は歯異常症の治療物質のスクリーニング方法」 今井 剛、半田 宏、山口雄輝 特願 2012-140671

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。熊胆には UDCA 以外の胆汁酸成分も含まれていることから、これらについて解析した。

A. 研究目的

UDCA以外の漢方薬「熊胆」の胆汁酸成分の解析により、UDCAが示す薬理作用の解明を目指す。

B. 研究方法

漢方薬「熊胆」は UDCA を含む複数の成分（主に胆汁酸代謝物）を有していることから、これらが相加的または相乗的に相互作用して薬理作用を示すと考えられる。そこで、熊胆中の UDCA 以外の成分（デオキシコール酸; deoxycholic acid (DCA) など）に有効成分があるかどうかを探索した。

（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

文献検索などから、熊胆中のUDCA以外の胆汁酸成分について解析を進め、肝臓保護活性を有するような成分を見つけ出そうとしたが、期待する成分を見出すことができなかった。

D. 考察

熊胆中にはUDCA以外にDCAなど様々な胆汁酸代謝物が存在するが、UDCA以外に肝臓保護活性を示す成分を見出すことができなかったことから、UDCA以外の胆汁酸成分は肝機能改善作用にほとんど関与せず、その一方で、UDCAが持つ薬理作用を阻害するような成分ではないとも推測される。

E. 結論

文献検索などから、UDCA以外の熊胆中にある胆汁酸成分に肝臓保護活性を示す成分を見出すことはできなかった。これら成分は薬理作用を示さないものの、薬理作用を阻害しないと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Tsukada, K.; Tajima, T.; Hori, S.; Matsuura, T.; Johnson, R. S.; Goda, N.; Suematsu, M. “Hypoxia-inducible factor-1 is a determinant of lobular structure and oxygen consumption in the liver.” *Microcirculation* in press (2013).
- Bai, Z.; Cai, L.; Umemoto, E.; Takeda, A.; Tohya, K.; Komai, Y.; Veeraveedu, P. T.; Hata, E.; Sugiura, Y.; Kubo, A.; Suematsu, M.; Hayasaka, H.; Okudaira, S.; Aoki, J.; Tanaka, T.; Albers, H. M.; Ovaa, H.; Miyasaka, M. “Constitutive lymphocyte transmigration across the basal lamina of high endothelial venules is regulated by the autotaxin/lysophosphatidic acid axis.” *J. Immunol.* **190**, 2036-2048 (2013).
- Tohyama, S.; Hattori, F.; Sano, M.; Hishiki, T.; Nagahata, Y.; Matsuura, T.; Hashimoto, H.; Suzuki, T.; Yamashita, H.; Satoh, Y.; Egashira, T.; Seki, T.; Muraoka, N.; Yamakawa, H.; Ohgino, Y.; Tanaka, T.; Yoichi, M.; Yuasa, S.; Murata, M.; Suematsu, M.; Fukuda, K. “Distinct metabolic flow enables large-scale purification of mouse and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes.” *Cell Stem Cell* **12**, 127-137 (2013).
- Takubo, K.; Nagamatsu, G.; Kobayashi, C. I.; Nakamura-Ishizu, A.; Kobayashi, H.; Ikeda, E.; Goda, N.; Rahimi, Y.; Johnson, R. S.; Soga, T.; Hirao, A.; Suematsu, M.; Suda, T. “Regulation of glycolysis by Pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in hematopoietic stem cells.” *Cell Stem Cell*

12, 49-61 (2013).

- Jeelani, G.; Husain, A.; Sato, D.; Soga, T.; Suematsu, M.; Nozaki, T. "Biochemical and functional characterization of novel NADH kinase in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*." *Biochimie* **95**, 309-319 (2013).
- Tamada, M.; Suematsu, M.; Saya, H. "Pyruvate kinase M2: multiple faces for conferring benefits on cancer cells." *Clin. Cancer Res.* **18**, 5554-5561 (2012).
- Akai, M.; Onai, K.; Morishita, M.; Mino, H.; Shijuku, T.; Maruyama, H.; Arai, F.; Itoh, S.; Hazama, A.; Checchetto, V.; Szabò, I.; Yukutake, Y.; Suematsu, M.; Yasui, M.; Ishiura, M.; Uozumi, N. "Aquaporin AqpZ is involved in cell volume regulation and sensitivity to osmotic stress in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803." *J. Bacteriol.* **194**, 6828-6836 (2012).
- Imaizumi, Y.; Okada, Y.; Akamatsu, W.; Koike, M.; Kuzumaki, N.; Hayakawa, H.; Nihira, T.; Kobayashi, T.; Ohyama, M.; Sato, S.; Takanashi, M.; Funayama, M.; Hirayama, A.; Soga, T.; Hishiki, T.; Suematsu, M.; Yagi, T.; Ito, D.; Kosakai, A.; Hayashi, K.; Shouji, M.; Nakanishi, A.; Suzuki, N.; Mizuno, Y.; Mizushima, N.; Amagai, M.; Uchiyama, Y.; Mochizuki, H.; Hattori, N.; Okano, H. "Mitochondrial dysfunction associated with increased oxidative stress and α -synuclein accumulation in PARK2 iPSC-derived neurons and postmortem brain tissue." *Mol. Brain* **5**, 35 (2012).
- Bateman, R. M.; Ellis, C. G.; Suematsu, M.; Walley, K. R. "S-nitrosoglutathione acts as a small molecule modulator of human fibrin clot architecture." *PLoS One* **7**, e43660 (2012).
- Sasaki, T.; Niizeki, H.; Shimizu, A.; Shiohama, A.; Hirakiyama, A.; Okuyama, T.; Seki, A.; Kabashima, K.; Otsuka, A.; Ishiko, A.; Tanese, K.; Miyakawa, S.; Sakabe, J.; Kuwahara, M.; Amagai, M.; Okano, H.; Suematsu, M.; Kudoh, J. "Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene SLCO2A1 and its phenotype-genotype correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis." *J. Dermatol. Sci.* **68**, 36-44 (2012).
- Tsukada, K.; Suematsu, M. "Visualization and analysis of blood flow and oxygen consumption in hepatic microcirculation: application to an acute hepatitis model." *J. Vis. Exp.* **66**, e3996 (2012).
- Nishida, M.; Sawa, T.; Kitajima, N.; Ono, K.; Inoue, H.; Ihara, H.; Motohashi, H.; Yamamoto, M.; Suematsu, M.; Kurose, H.; van der Vliet, A.; Freeman, B. A.; Shibata, T.; Uchida, K.; Kumagai, Y.; Akaike, T.; "Hydrogen sulfide anion regulates redox signaling via electrophile sulfhydration." *Nat. Chem. Biol.* **8**, 714-724 (2012).
- Nagao, K.; Kobayashi, T.; Moro, K.; Ohyama, M.; Adachi, T.; Kitashima, D. Y.; Ueha, S.; Horiuchi, K.; Tanizaki, H.; Kabashima, K.; Kubo, A.; Cho, Y. H.; Clausen, B. E.; Matsushima, K.; Suematsu, M.; Furtado, G. C.; Lira, S. A.; Farber, J. M.; Udey, M. C.; Amagai, M. "Stress-induced production of chemokines by hair follicles regulates the trafficking of dendritic cells in skin." *Nat. Immunol.* **13**, 744-752 (2012).
- Yae, T.; Tsuchihashi, K.; Ishimoto, T.; Motohara, T.; Yoshikawa, M.; Yoshida, G. J.; Wada, T.; Masuko, T.; Mogushi, K.; Tanaka, H.; Osawa, T.; Kanki, Y.; Minami, T.; Aburatani, H.; Ohmura, M.; Kubo, A.; Suematsu, M.; Takahashi, K.; Saya, H.; Nagano, O. "Alternative splicing of CD44 mRNA by ESRP1 enhances lung colonization of metastatic cancer cell." *Nat. Commun.* **3**, 883 (2012).
- Jeelani, G.; Sato, D.; Husain, A.; Escueta-de Cadiz, A.; Sugimoto, M.; Soga, T.; Suematsu, M.; Nozaki, T. "Metabolic profiling of the protozoan parasite *Entamoeba invadens* revealed activation of unpredicted pathway during encystation." *PLoS One* **7**, e37740 (2012).
- 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.* **91**, 901-909 (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 (2012).
- 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).
- Hishiki, T.; Yamamoto, T.; Morikawa, T.; Kubo, A.; Kajimura, M.; Suematsu, M. "Carbon monoxide: impact on remethylation/transsulfuration metabolism and its pathophysiologic implications." *J. Mol. Med. (Berl)* **90**, 245-254 (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).

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
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）の標的タンパク質候補（UDCAbp2）について解析し、活性化された転写因子NF- κ BがUDCAによって抑制されること、UDCA添加量に応じて細胞質内のUDCAbp2結合因子が増加することを見出した。

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、アフィニティ精製によって同定されたUDCA特異的結合タンパク質（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イオンチャネルUDCAbp2について、免疫担当細胞であるRAW264.3細胞、THP-1細胞とヒト肝臓がん由来細胞のHep3B細胞を用いて解析した。細胞質内のUDCAbp2結合因子をウエスタンブロット法で検出した。UDCA処理による転写因子NF- κ Bの活性化状態の変化をレポータージーンアッセイ法で検出した。

（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

LPS刺激したRAW 264.7細胞をUDCAで処理すると、LPSで活性化されたNF- κ Bが抑制されていた。また、Hep3G細胞において恒常的に活性化されているNF- κ BがUDCA処理によっても抑制された。

Hep3G細胞におけるUDCAbp2結合因子量を調べたところ、UDCAの添加量が増加するにつれ、細胞質内のUDCAbp2結合因子量が上昇した。また、UDCAbp2結合因子の基質を添加することで、UDCAbp2結合因子の細胞質から核への移行が阻害された。

D. 考察

UDCA添加量が増加すると、イオンチャネルであるUDCAbp2の結合因子量が細胞質内で上昇したことから、これら因子はUDCAによって変調を受けると考えられる。その一方で、UDCA添加量に左右されない、LPS刺激で誘導される細胞質内タンパク質があることも分かってきた。UDCAは細胞毒性が低く、高濃度のUDCAを用いた実験が報告されており、UDCAは細胞内タンパク質間の会合を非特異的に阻害するとも考えられてきた。よって、今回の実験結果から、UDCAbp2がUDCA標的因子の1つとして機能し、UDCAの薬理作用を制御していることが示唆される。

E. 結論

LPS刺激によって、あるいは恒常的に活性化された転写因子NF- κ BがUDCA濃度依存的に抑制されることを明らかにした。また、細胞質内のUDCAbp2結合因子量がUDCA処理によって変化したことから、間接的ではあるが、UDCAbp2がUDCA標的因子の1つである可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

- 小田泰子 “ウルソデオキシコール酸およびエストラジオールの THP-1 細胞への影響”、日本薬学会第 133 年会、横浜、2013 年 3 月 27～30 日
- 小田泰子 “LPS 刺激した RAW264.7 細胞におけるウルソデオキシコール酸の影響”、第 85 回日本

生化学大会、福岡、2012年12月14～16日

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
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=

- 川野雅章、半田 宏 “「New Technology」コーナー：ウイルスコンポーネントを用いた新規DDS担体”
メディカル・サイエンス・ダイジェスト、ニューサイエンス社、**38**(10), 418-419 (2012).
- 西尾広介、坂本 聡、宇賀均、倉森見典、半田 宏 “第4章 磁気分離法のバイオ応用技術 1. 創薬
を指向したバイオスクリーニング技術の開発” 磁性ビーズのバイオ・環境技術への応用展開《普及
版》(監修：半田 宏、阿部正紀、野田紘憲)、株式会社シーエムシー出版、pp.144-153 (2012).
- 羽生尚弘、伊藤拓水、安藤秀樹、山口雄輝、半田 宏 “〈オムニブラー〉 1. ナノ磁性微粒子を用い
たサリドマイド標的タンパク質の同定” 谷本学校 毒性質問箱 第14号、株式会社サイエンティスト
社、pp.99-105 (2012).
- 伊藤拓水、半田 宏 “サリドマイド・IMiDsの作用とユビキチンリガーゼ” 医学のあゆみ (ユビキチン
修飾系の分子機構と疾患)、医歯薬出版株式会社、243(6), 503-507 (2012).
- 羽生尚広、伊藤拓水、安藤秀樹、山口雄輝、半田 宏 “ナノ微粒子を用いたサリドマイド標的タンパ
ク質の同定” 多摩川技報、多摩川精機株式会社、29(1), 19-23(2012).
- 半田 宏 “私のメンター” 実験医学、羊土社、30(19), 3126-3131 (2012).
- 坂本 聡、半田 宏 “蛍光体と磁性体によるナノカプセルで病気の診断時間を1/10に短縮” 光アライ
アンス、日本工業出版、24(2), 56-60 (2013).
- 半田 宏 “バイオ医療応用に向けた高機能性磁性ビーズの開発” 化学工業、化学工業社、64(3), 55-60
(2013).

=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＝

- Kang, J.; Shen, Z.; Lim, J.-M.; Handa, H.; Wells, L.; Tantin, D. “Regulation of Oct1 transcription activity by O-GlcNAc modification.” *FASEB J.* in press (2013).
- Hotta, K.; Nashimoto, A.; Yasumura, E.; Suzuki, M.; Azuma, M.; Iizumi, Y.; Shima, D.; Nabeshima, R.; Hiramoto, M.; Okada, A.; Sakata-Sogawa, K.; Tokunaga, M.; Ito, T.; Ando, H.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.; Aizawa, S.; Imai, T.; Yamaguchi, Y.; Watanabe, H.; Handa, H. 2Vesnarinone suppresses TNF α mRNA expression by inhibiting valosin-containing.” *Mol. Pharmacol.* **83**, 930-938 (2013).
- Karasawa, S.; Azuma, M.; Kasama, T.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.; Imai, Y.; Yamaguchi, Y.; Miyazawa, K.; Handa, H. “Vitamin K2 Covalently Binds to Bak and Induces Bak-Mediated Apoptosis” *Mol. Pharmacol.* **83**, 613-620 (2013).
- Kawano, M.; Matsui, M.; Handa, H. “SV40 virus-like particles as an effective delivery system and its application to a vaccine carrier.” *Expert Rev. Vaccines* **12**, 199-210 (2013).
- Kershaw, J.; Leuze, C.; Aoki, I.; Obata, T.; Kanno, I.; Ito, H.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Systematic changes to the apparent diffusion tensor of in vivo rat brain measured with an oscillating-gradient spin-echo sequence.” *Neuroimage* **70**, 10-20 (2013).
- Yamaguchi, Y.; Shibata, H.; Handa, H. “Transcription elongation factors DSIF and NELF: Promoter-proximal pausing and beyond.” *Biochim. Biophys. Acta* **1829**, 98-104 (2013).
- Diamant, G.; Amir-Zilberstein, L.; Yamaguchi, Y.; Handa, H.; Dikstein, R. “DSIF restricts NF-kB signaling by coordinating elongation with mRNA Processing of negative feedback genes.” *Cell Reports* **2**, 1-10 (2012).
- Wada, T.; Hara, M.; Taneda, T.; Qingfu, C.; Takara, R.; Moro, K.; Takeda, K.; Kishimoto, T.; Handa, H. “Antisense morpholino targeting just upstream from a poly(A) tail junction of maternal mRNA removes the tail and inhibits translation.” *Nucleic Acids Res.* **40**, e173 (2012).
- Ito, Y.; Ito, T.; Karasawa, S.; Enomoto, T.; Nashimoto, A.; Hase, Y.; Sakamoto, S.; Mimori, T.; Matsumoto, Y.; Yamaguchi, Y.; Handa, H. “Identification of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (DNA-PKcs) as a novel target of Bisphenol A.” *PLoS ONE* **7**, e50481 (2012).
- Lopez-Girona, A.; Mendy, D.; Ito, T.; Miller, K.; Gandhi, A. K.; Kang, J.; Karasawa, S.; Carmel, G.; Jackson, P.; Abbasian, M.; Mahmoudi, A.; Cathers, B.; Rychak, E.; Gaidarova, S.; Chen, R.; Schafer, P. H.; Handa, H.; Daniel, T. O.; Evans, J. F.; Chopra, R. “Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide.” *Leukemia* **26**, 2326-2335 (2012).
- Ito, T.; Handa, H. “Deciphering the mystery of thalidomide teratogenicity.” *Congenit. Anom.* **52**, 1-7 (2012).
- 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).

＝今井 剛＝

- Imai, T. “Adipogenesis and osteoblastogenesis in aging Adipocyte: signaling pathways, molecular regulation and impact on human disease.” in press (2013).
- Hotta, K.; Nashimoto, A.; Yasumura, E.; Suzuki, M.; Azuma, M.; Iizumi, Y.; Shima, D.; Nabeshima, R.; Hiramoto, M.; Okada, A.; Sakata-Sogawa, K.; Tokunaga, M.; Ito, T.; Ando, H.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.; Aizawa, S.; Imai, T.; Yamaguchi, Y.; Watanabe, H.; Handa, H. 2Vesnarinone suppresses TNF α mRNA expression by inhibiting valosin-containing.” *Mol. Pharmacol.* **83**, 930-938 (2013).
- Karasawa, S.; Azuma, M.; Kasama, T.; Sakamoto, S.; Kabe, Y.; Imai, Y.; Yamaguchi, Y.; Miyazawa, K.; Handa, H. “Vitamin K2 Covalently Binds to Bak and Induces Bak-Mediated Apoptosis” *Mol. Pharmacol.* **83**, 613-620 (2013).

＝末松 誠＝

- Tsukada, K.; Tajima, T.; Hori, S.; Matsuura, T.; Johnson, R. S.; Goda, N.; Suematsu, M. “Hypoxia-inducible factor-1 is a determinant of lobular structure and oxygen consumption in the liver.” *Microcirculation* in press (2013).
- Bai, Z.; Cai, L.; Umemoto, E.; Takeda, A.; Tohya, K.; Komai, Y.; Veeraveedu, P. T.; Hata, E.; Sugiura, Y.; Kubo, A.; Suematsu, M.; Hayasaka, H.; Okudaira, S.; Aoki, J.; Tanaka, T.; Albers, H. M.; Ovaa, H.; Miyasaka, M. “Constitutive lymphocyte transmigration across the basal lamina of high endothelial venules is

- regulated by the autotaxin/lysophosphatidic acid axis." *J. Immunol.* **190**, 2036-2048 (2013).
- Tohyama, S.; Hattori, F.; Sano, M.; Hishiki, T.; Nagahata, Y.; Matsuura, T.; Hashimoto, H.; Suzuki, T.; Yamashita, H.; Satoh, Y.; Egashira, T.; Seki, T.; Muraoka, N.; Yamakawa, H.; Ohgino, Y.; Tanaka, T.; Yoichi, M.; Yuasa, S.; Murata, M.; Suematsu, M.; Fukuda, K. "Distinct metabolic flow enables large-scale purification of mouse and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes." *Cell Stem Cell* **12**, 127-137 (2013).
 - Takubo, K.; Nagamatsu, G.; Kobayashi, C. I.; Nakamura-Ishizu, A.; Kobayashi, H.; Ikeda, E.; Goda, N.; Rahimi, Y.; Johnson, R. S.; Soga, T.; Hirao, A.; Suematsu, M.; Suda, T. "Regulation of glycolysis by Pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in hematopoietic stem cells." *Cell Stem Cell* **12**, 49-61 (2013).
 - Jeelani, G.; Husain, A.; Sato, D.; Soga, T.; Suematsu, M.; Nozaki, T. "Biochemical and functional characterization of novel NADH kinase in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*." *Biochimie* **95**, 309-319 (2013).
 - Tamada, M.; Suematsu, M.; Saya, H. "Pyruvate kinase M2: multiple faces for conferring benefits on cancer cells." *Clin. Cancer Res.* **18**, 5554-5561 (2012).
 - Akai, M.; Onai, K.; Morishita, M.; Mino, H.; Shijuku, T.; Maruyama, H.; Arai, F.; Itoh, S.; Hazama, A.; Checchetto, V.; Szabò, I.; Yukutake, Y.; Suematsu, M.; Yasui, M.; Ishiura, M.; Uozumi, N. "Aquaporin AqpZ is involved in cell volume regulation and sensitivity to osmotic stress in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803." *J. Bacteriol.* **194**, 6828-6836 (2012).
 - Imaizumi, Y.; Okada, Y.; Akamatsu, W.; Koike, M.; Kuzumaki, N.; Hayakawa, H.; Nihira, T.; Kobayashi, T.; Ohyama, M.; Sato, S.; Takanashi, M.; Funayama, M.; Hirayama, A.; Soga, T.; Hishiki, T.; Suematsu, M.; Yagi, T.; Ito, D.; Kosakai, A.; Hayashi, K.; Shouji, M.; Nakanishi, A.; Suzuki, N.; Mizuno, Y.; Mizushima, N.; Amagai, M.; Uchiyama, Y.; Mochizuki, H.; Hattori, N.; Okano, H. "Mitochondrial dysfunction associated with increased oxidative stress and α -synuclein accumulation in PARK2 iPSC-derived neurons and postmortem brain tissue." *Mol. Brain* **5**, 35 (2012).
 - Bateman, R. M.; Ellis, C. G.; Suematsu, M.; Walley, K. R. "S-nitrosoglutathione acts as a small molecule modulator of human fibrin clot architecture." *PLoS One* **7**, e43660 (2012).
 - Sasaki, T.; Niizeki, H.; Shimizu, A.; Shiohama, A.; Hirakiyama, A.; Okuyama, T.; Seki, A.; Kabashima, K.; Otsuka, A.; Ishiko, A.; Tanese, K.; Miyakawa, S.; Sakabe, J.; Kuwahara, M.; Amagai, M.; Okano, H.; Suematsu, M.; Kudoh, J. "Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene *SLCO2A1* and its phenotype-genotype correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis." *J. Dermatol. Sci.* **68**, 36-44 (2012).
 - Tsukada, K.; Suematsu, M. "Visualization and analysis of blood flow and oxygen consumption in hepatic microcirculation: application to an acute hepatitis model." *J. Vis. Exp.* **66**, e3996 (2012).
 - Nishida, M.; Sawa, T.; Kitajima, N.; Ono, K.; Inoue, H.; Ihara, H.; Motohashi, H.; Yamamoto, M.; Suematsu, M.; Kurose, H.; van der Vliet, A.; Freeman, B. A.; Shibata, T.; Uchida, K.; Kumagai, Y.; Akaike, T.; "Hydrogen sulfide anion regulates redox signaling via electrophile sulfhydration." *Nat. Chem. Biol.* **8**, 714-724 (2012).
 - Nagao, K.; Kobayashi, T.; Moro, K.; Ohyama, M.; Adachi, T.; Kitashima, D. Y.; Ueha, S.; Horiuchi, K.; Tanizaki, H.; Kabashima, K.; Kubo, A.; Cho, Y. H.; Clausen, B. E.; Matsushima, K.; Suematsu, M.; Furtado, G. C.; Lira, S. A.; Farber, J. M.; Udey, M. C.; Amagai, M. "Stress-induced production of chemokines by hair follicles regulates the trafficking of dendritic cells in skin." *Nat. Immunol.* **13**, 744-752 (2012).
 - Yae, T.; Tsuchihashi, K.; Ishimoto, T.; Motohara, T.; Yoshikawa, M.; Yoshida, G. J.; Wada, T.; Masuko, T.; Mogushi, K.; Tanaka, H.; Osawa, T.; Kanki, Y.; Minami, T.; Aburatani, H.; Ohmura, M.; Kubo, A.; Suematsu, M.; Takahashi, K.; Saya, H.; Nagano, O. "Alternative splicing of CD44 mRNA by ESRP1 enhances lung colonization of metastatic cancer cell." *Nat. Commun.* **3**, 883 (2012).
 - Jeelani, G.; Sato, D.; Husain, A.; Escueta-de Cadiz, A.; Sugimoto, M.; Soga, T.; Suematsu, M.; Nozaki, T. "Metabolic profiling of the protozoan parasite *Entamoeba invadens* revealed activation of unpredicted pathway during encystation." *PLoS One* **7**, e37740 (2012).
 - 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.* **91**, 901-909 (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 (2012).

- 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).
- Hishiki, T.; Yamamoto, T.; Morikawa, T.; Kubo, A.; Kajimura, M.; Suematsu, M. “Carbon monoxide: impact on remethylation/transsulfuration metabolism and its pathophysiologic implications.” *J. Mol. Med. (Berl)* **90**, 245-254 (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).

=小田泰子=
該当なし

