

# 静岡県立大学グローバルCOEプログラム

## -健康長寿科学教育研究の戦略的新展開-

Global Center of Excellence for Innovation in Human Health Sciences



静岡県立大学グローバルCOEプログラム | 大学院生活健康科学研究科  
健康長寿科学教育研究の戦略的新展開 | 大学院薬学研究科

〒422-8526 静岡県静岡市駿河区谷田52-1  
tel.054-264-5124 fax.054-264-5099  
E-mail gcoe@u-shizuoka-ken.ac.jp  
<http://gcoe.u-shizuoka-ken.ac.jp/index.html>

静岡県立大学グローバルCOEプログラム「健康長寿科学教育研究の戦略的新展開」

成果報告書

平成19年度―平成23年度

静岡県立大学大学院生活健康科学研究科／薬学研究科



成果報告書

The Progress Report

2012年3月

March 2012

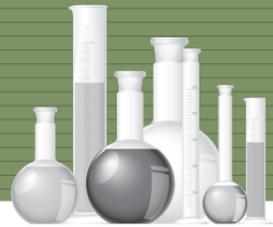
## 食薬融合研究から「健康長寿科学」構築への期待 Expectation from Studies on “Integrated Food and Pharmaceutical Science” to The Establishment of “Health-Longevity Science”



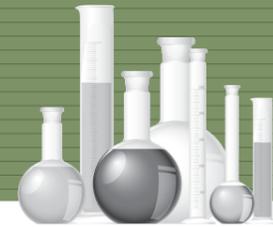
静岡県立大学長 木苗 直秀  
President of the University of Shizuoka  
Naohide KINAE

我が国は男女とも世界で1、2位を争う長寿国となりました。このことは平均寿命や健康寿命から十分に推察できます。しかし、急速に進む高齢化社会の中で、生活習慣病を含む各種疾病患者の生活の質(Quality of life)が問われています。本学では、生活健康科学研究科と薬学研究科が共同で応募し、文部科学省に2002年に「先導的健康長寿学術研究推進拠点」が21世紀COEプログラムに採択され、さらに2007年には「健康長寿科学教育研究の戦略的新展開」がグローバルCOEプログラムに採択されました。両プログラムは食品・栄養を研究課題とする生活健康科学研究科と、創薬・疾病治療を研究課題とする薬学研究科が、「薬食同源」、「食薬融合」を共通認識として連携しており、現在までに医薬品と食品の相互作用の解明、新しい機能性食品の開発、新たな疾病バイオマーカーの検索、個人代謝プロファイルの構築、服薬マニュアルの作成などで多くの成果を挙げてきました。グローバルCOEでは、大学院学生が国際的研究者として成長するために海外での語学研修と共同研究の場を作り、積極的に支援してきました。それらの研究成果は国際シンポジウムの開催数や他大学等との共同研究数を増やしました。また、英文専門誌への掲載数が増えたことも喜ばしいことでもあります。両研究科はより一層連携を強め、本プログラムを通して真の「健康長寿科学」の構築をめざし、得られた成果を積極的に世界に発信してきたと実感しています。両研究科は統合して平成24年4月には薬食生命科学総合学府として開設し、さらに薬食生命科学専攻が新設されることになりました。これらの事業成果はポストグローバルCOEに向けた新たな挑戦の大きな原動力になるものと確信しています。

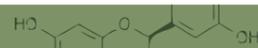
Japan is the longest lifespan country in the world. This is very clear from an average lifespan and healthy longevity. The rapider it becomes an aging society, the more important the quality of life of various illness patients including a lifestyle-related disease is regarded. In our university, the program “Center of Excellence for Evolutionary Human Health Sciences” was chosen by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology in 2002 as 21st Century COE program, and the program “Global Center of Excellence for Innovation in Human Health Sciences” was once again chosen by the Ministry in 2007 as Global COE program. Researchers in the food and nutritional sciences which research themes are food and nutrition, and researchers in the pharmaceutical sciences which research themes are drug discovery and disease treatment have co-operated with a common recognition as *Yaku-shoku Dogen* “Medicine and Food, Sharing a Common Origin” and “Integrated Food and Pharmaceutical Science” in both programs. As a result, the Global COE program of University of Shizuoka has achieved many results by researches of food-drug interaction, development of new functional foods, detection of new biomarkers to diseases, individual metabolic profiling, formulating of manual for the administration of medicine and so on. In addition, it arranged opportunities for graduate students to participate in English language programs and collaborative researches in order to be international researchers and it supported them positively. A large number of international conferences were held and joint researches with other universities and institutions have been developed more. Furthermore, more papers have been published. Our researchers have co-operated strongly and I am sure that the “Health-Longevity Science” has been established perfectly through the program, and acquired results have been sent to the world. The new Graduate School of Integrated Pharmaceutical and Nutritional Sciences will start from April, 2012 and Graduate Program in Pharmaceutical and Nutritional Sciences will be founded newly. I believe these activities invigorate the post Global COE program.



学長あいさつ	1	
I N D E X	2 3	
拠点概要	4 5	
各領域の研究概要(領域1~5)	6 10	
国際連携体制	11	
1 今井 康之 Yasuyuki Imai	高次機能性食品をめざした植物抗体の研究 Studies on 'plantibodies' as refined functional food	12 13
2 大島 寛史 Hirosi Ohshima	食品成分による発がん予防 生活習慣病のバイオマーカー探索 Studies on search for biomarkers of lifestyle-related diseases	14 15
3 奥 直人 Naoto Oku	高度QOLがん撲滅新戦略治療法の開発研究 Development of novel strategies for cancer treatment that preserve high quality of life	16 17
4 合田 敏尚 Toshinao Goda	代謝性疾患リスク予測バイオマーカーの妥当性評価と応用 Validation and application of biomarkers for risks of metabolic diseases	18 19
5 小林 裕和 Hirokazu Kobayashi	食糧と機能性成分生産のための植物の改良 Engineering of plants for production of provisions and nutraceuticals	20 21
6 鈴木 隆 Takashi Suzuki	機能的グリコミクスによる感染症の克服 Control of infectious disease by functional glycomics	22 23
7 野口 博司 Hiroshi Noguchi	植物の遺伝子情報を利用した新機能タンパクの作出 Generating an Array of Novel Compounds by the Engineered Type III Polyketide Synthase	24 25
8 山田 静雄 Shizuo Yamada	機能性食品の有効性と薬・食相互作用 Efficacy and food-drug interaction of functional foods	26 27
9 横越 英彦 Hidehiko Yokogoshi	脳機能の解析と食品成分による修飾(緑茶成分テアニンによる神経細胞の新生・保護作用と認知症予防について) Analysis and modification by food components of brain function (dementia protective effect on the prevention of newborn neurons by theanine, green tea component)	28 29
10 大橋 典男 Norio Ohashi	高次機能食品の開発を視野に入れた炎症性腸疾患を緩和するプロバイオティクスに関する研究 Studies of probiotics for moderately severe inflammatory bowel disease: development of refined functional food	30 31
11 菅 敏幸 Toshiyuki Kan	有機合成を基盤とする食品有効成分のケミカルバイオロジー研究 Chemical biology investigation of functional food by means of organic synthesis	32 33
12 熊谷 裕通 Hiromichi Kumagai	慢性腎臓病患者における栄養障害の評価法に関する研究 Evaluation of nutritional disturbance in patients with chronic renal disease	34 35
13 小林 公子 Kimiko Kobayashi	糖尿病リスク遺伝子が日本人の糖尿病発症に与える影響 The combined effect of Type 2 diabetes mellitus susceptibility genes is an important risk factor for this disease	36 37
14 下位 香代子 Kayoko Shimoi	生活習慣病に対する環境・社会ストレスの影響と食品による予防に関する研究 Effect of environmental factors and social stress on lifestyle-related disease and its prevention by food factors	38 39
15 菅谷 純子 Junko Sugatani	生体リスク軽減に繋がる食生活環境に応じた機能タンパク分子の産生制御活性を有する食品、生体成分の探索と評価法の研究 Identification of dietary compounds and factors regulating production of functional proteins associated with adaptability, and development of analytical methods for evaluation of their effects	40 41



16 武田 厚司 Atsushi Takeda	食品成分の生理作用に基づいた脳機能解析 Analysis of brain function based on the actions of food components	42 43
17 出川 雅邦 Masakuni Degawa	肝P450発現誘導における食品-薬物相互作用の研究 Studies on food-drug interaction in the induction of hepatic P450 enzymes	44 45
18 豊岡 利正 Toshimasu Toyooka	生活習慣病関連バイオマーカー探索研究 Studies on biomarker discovery of lifestyle-related disorders	46 47
19 中山 勉 Tutomu Nakayama	茶ポリフェノールと生体成分の相互作用の解明 Interaction of tea polyphenols with biological substances	48 49
20 渡辺 達夫 Tatsuo Watanabe	温度感受性TRP受容体を用いた体熱産生亢進成分の探索 Searching for body-warming components in food through thermosensitive transient receptor potential ion channels	50 51
21 吉村 紀子 Noriko Yoshimura	大学院生・若手研究者のグローバルコミュニケーション能力向上研究 Development of health sciences English communication programs for graduate students and young researchers	52 53
22 伊勢村 護 Mamoru Isemura	遺伝子発現調節機能からみた緑茶の効能研究 Studies on health-promoting effects of green tea based on its modulation of gene expression	54 55
23 鈴木 康夫 Yasuo Suzuki	糖鎖機能および食素材によるウイルス感染症の克服 Prevention of infectious disease by sugar chains and functional foods and their components	56 57
24 飯田 滋 Shigeru Iida	相同及び非同源組換えによる植物ゲノムの改変法の開発と利用 Homologous and nonhomologous recombination-mediated genome modification in plants	58 59
25 ホーク・フィリップ Philip Hawke	科学英語プログラム Scientific English Program	60 61
26 左 一八 Kazuya I.P.J. Hidari	東南アジア原産薬用・食用植物からの抗デングウイルス活性物質の探索 Investigation of anti-dengue agents derived from traditional medical herbs and food plants in Southeast Asia	62 63
27 河原崎 泰昌 Yasuaki Kawarasaki	高機能食品の開発を目指した難生産性蛋白質の効率的生産 Yeast extracellular expression system for "difficult-to-express" proteins	64 65
活動報告		
本拠点が開催した研究集会・特別講義		66 75
事業推進担当者の研究業績/若手研究者・大学院学生の育成		76 77
事業推進担当者/若手研究者の受賞等		78 79
事業推進担当者による研究成果のメディア報道		80 81
本事業で得られた成果に係わる特許権等の知的財産権		82 85
研究業績(原著論文・図書・総説等)		86 112



拠点概要 Global Center of Excellence for Innovation in Human Health Sciences

# 静岡県立大学グローバルCOEプログラム 健康長寿科学教育研究の戦略的新展開

拠点リーダー 今井 康之  
Yasuyuki IMAI, Program Director

## ■ グローバルCOEプログラムの挑戦

我が国は超高齢化社会に直面し、健康長寿に対する社会的要請は益々強くなっています。栄養学と薬学の有機的な連携は健康長寿の実現に必要不可欠な要素であり、双方の理念と方法論を習得し、新技術を創造し活用できる人材が求められています。また、新たな高次機能性食品の開発や食品からの医薬品シーズの探索においては食品科学と薬学両面からのアプローチが必要です。しかし、医薬品と食品の相互作用やそれらの安全性に関する研究は、個別に行われていますが、学問的に体系化されているわけではおぼろげです。平成14年度から5年間実施した21世紀COEプログラムでは「食と薬」、すなわち「食品栄養科学と薬学」の学問領域を融合し、健康維持に必要な保健機能食品や医薬品の開発、栄養状態の改善や効率的な医薬品の利用を実現する「健康長寿科学」を展開してきました。その結果、特定の食品を摂取した場合の薬効への影響、薬物の長期投与時における栄養状態の変動、薬物と食品成分の相互作用等に関して大きな成果をあげ、高い評価を受けています。

平成19年度からスタートしたグローバルCOEプログラムでは、隣接した領域にありながら知識・技術の同時習得が困難であった「食」と「薬」の学際的研究分野における人材育成のため、生活健康科学研究科と薬学研究科を統合して「薬食生命科学総合学府」とし、博士後期課程に「薬食生命科学専攻」の設置が認められました。また、「健康長寿科学」の学問体系の確立の一環として、海外から研究者を招いて国際会議「International Conference on Health and Longevity Sciences (ICHALS)」を開催してきました。「健康長寿科学」分野の体系化により、「薬」と「食」の両方の視野を持った有為な人材の持続的な輩出が十分に期待できます。医薬品及び保健機能食品の統合的利用を実践する高度専門職業人と指導者の育成に加え、「薬」の構造・物性・機能を認識できる栄養生命学者、生命維持基盤としての「食」の栄養生理を理解する創薬科学者を養成してきました。このような本拠点の研究成果発信が認められ、イタリアやニュージーランドの研究者からの要請を受けて、「薬食相互作用」や「高次機能性食品」の国際共同研究を開始しました。

本事業を通して国際的に活躍できる若手研究者を育成するため、科学英語プレゼンテーション演習の単位化や米国オハイオ州立大学での英語研修、国際学会での発表等を積極的に支援しました。ICHALSや日中健康科学シンポジウムをはじめ、本学の大学院学生自身が英語で口頭発表を行い、海外の研究者から研究内容および発表や討論の仕方についてアドバイスを受ける機会を多く設けました。これらの取り組みが大学院学生の自信につながり、本拠点の大学院博士課程修了者は、米国、欧州、アジアを研究の場として、国際的な科学研究コミュニティにすずんで参加しています。

## ■ The Challenges of the Global Center of Excellence for Innovation in Human Health Sciences

In the face of an aging society, the social pressure for health and longevity has become stronger and stronger. Cooperation between dietetics and pharmaceutical sciences is essential for the attainment of health and longevity sciences, in which scientists will learn ideas and methodology from both sides of the research fields, resulting in the creation and application of new skills to meet public demands. In addition, approaches from the perspectives of both food sciences and pharmaceutical sciences are necessary for the development of new functional foods and discovery of new drug seeds in foods. Furthermore, research about food-drug interactions and safety issues has been carried out separately in the past. Systematic and integrated approaches have not been tried on this subject either.

In our previous 21st Century COE program, which the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology chose in 2002, we established and developed the new academic field of "Health-Longevity Science" to facilitate fruitful collaboration between researchers in the food and nutritional sciences and those in the pharmaceutical sciences, as represented by these two graduate schools at our university. Our efforts in that program made significant contributions to the development and improvement of innovative foods and drugs that maintain and promote human health. We made important discoveries about the influences of specific foods on drug efficacy, changes in nutritional status due to long-term medication, food-drug interactions and so on, and these research findings were well received.

In our current Global COE program, which the Ministry once again chose in 2007, we continued to support global research, education, and services in the field of Health-Longevity Science. To this end, our program fostered future professionals who exhibited expertise and leadership in the innovative interdisciplinary field of "Integrated Food and Pharmaceutical Science." We also trained both food and nutritional experts to be knowledgeable about the structures and properties of medications, and pharmaceutical scientists to understand thoroughly that nutritional physiology is the vital base that sustains human life. We invited researchers from overseas to an international conference "International Conference on Health and Longevity Sciences (ICHALS)" and established international collaborative research with researchers from Italy and New Zealand on food-drug interactions, as well as on functional foods.

We also sought to foster young researchers who are able to communicate and collaborate globally. Through specialized practical programs, our program developed the English abilities that these researchers require in actual scientific settings such as conferences and laboratories. We arranged many opportunities, including ICHALS and the Japan-China International Symposium on Health Sciences, for graduate students to present their findings in English and receive advice from overseas researchers about their research, presentations, and how to discuss their research. They gained confidence from these activities and regularly visit the USA, Europe and Asia to study and to participate in international scientific research.

### 事業推進担当者

#### 生活健康科学研究科

食品栄養科学専攻  
環境物質科学専攻  
教授 大島 寛史  
教授 合田 敏尚  
教授 小林 裕和  
教授 横越 英彦  
教授 大橋 典男  
教授 熊谷 裕通  
准教授 小林 公子  
教授 下位 香代子  
教授 中山 勉  
教授 渡辺 達夫  
客員教授 伊勢村 謙

#### 薬学研究科

薬学専攻 製薬学専攻  
医療薬学専攻  
教授 今井 康之  
教授 奥 直人  
教授 鈴木 隆  
教授 野口 博司  
教授 山田 静雄  
教授 菅 敏幸  
教授 菅谷 純子  
准教授 武田 厚司  
教授 出川 雅邦  
教授 豊岡 利正  
教授 吉村 紀子  
客員教授 鈴木 康夫

### 特任教員

教授 飯田 滋  
准教授 Philip Hawke

### 研究協力者

准教授 左 一八  
准教授 河原崎 泰昌

### ポスドク

清水 正則・藤野 知美・Ahn Mok-Ryeon・小林 葉子・鈴木 健一郎  
Barrichello José Mário・多島 早奈英・Lee Chooi Yeng・源川 博久  
浅川 倫宏・定塚 恵世・Aftab Ahmad・畑中 剣太郎・鈴木 拓史

### 拠点アドバイザー

廣部 雅昭（静岡県学術教育政策顧問）  
西島 正弘（国立医薬品食品衛生研究所 所長）  
家森 幸男（武庫川女子大学国際健康開発研究所 所長）  
大澤 俊彦（愛知学院大学心身科学部健康栄養学科 教授）  
Barbara N. Timmermann（カンザス大学 教授）

## Integrated Food-Pharmaceutical Sciences

「薬食同源」を基盤とする国際的若手研究者の育成

Training globally-minded young researchers in the basis of "the common source of drug and food"

「食薬融合」研究成果の安全で健康な長寿社会への活用

Applying the result of research in "the integrated use of food and drugs" to the development of safe and healthy long-lived society

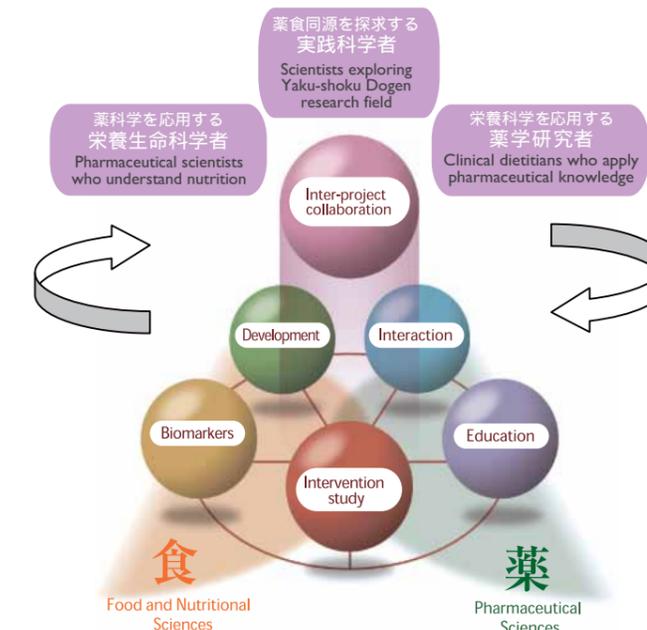
## ■ プログラムの概要

食品の機能特性を広範に研究する生活健康科学研究科と、各種疾患の病因や医薬品の有効性・安全性を研究する薬学研究科が密接に連携し、拠点を形成しました。食品と医薬品の併用による複合効果の発現、副作用の軽減を目指し、また複合的な安全性評価法を確立します。それらを通して疾病の予防から治療に至る一貫性を持った新規学問領域「薬食同源」の創成をめざします。

## ■ 拠点形成の目的・必要性

食品は健康を維持・増進するために日常的に摂取するもの（栄養素等）であるのに対して、医薬品は一般的には疾病を治療するために用いるもの（薬物）であるとされ、それらの生体に対する効果や安全性は個別に検討されてきました。本拠点では、食品と医薬品の併用による複合効果の発現と機構解明およびそれらの知見に基づく副作用の予知および軽減、食品および医薬品の複合的な安全性評価の確立、機能食品の有効成分を用いてより安全性の高い治療薬の創成などをめざして、生活健康科学研究科と薬学研究科が緊密に連携を保ちつつ研究教育拠点を形成することで、疾病の予防から治療にいたる一貫性を持った新学問領域「健康長寿科学」を創成することを目的とします。また、本拠点では「薬食同源」の視点をもつ独創性豊かな科学者を輩出するとともに、医薬品および保険機能食品の正しい利用方法を国民に助言できるアドバイザースタッフおよびその指導者の養成を目指し、全学的なオンリーワン研究教育体制を確立するための橋頭堡とします。

## ■ 領域間の連携と国際舞台で活躍できる人材の輩出 Organizational Structure of Research



## ■ Program Summary

The aim of this program is to identify, collate and make available important means of maintaining human health through food and medication research and educational activities. The combined use of specialized foods and medications may support the effectiveness of both and decrease adverse side effects of medications. We plan to develop safety evaluation methodology for such combinations. Accordingly, we have established a novel academic field of human health sciences based on the above research/education aim and have named this field "borderless food and medication science."

## ■ Program Needs and Objectives

Thus far, researchers have examined the safety and efficacy of food and medication in the living body separately. Research on the tertiary function of foods has recently advanced, and scientific knowledge about the effectiveness of food components that are beneficial to health and reduce lifestyle-related diseases has begun to accumulate. Our program has the following three aims: (1) to elucidate the mechanisms of food-drug interactions, which may enable anticipation and attenuation of the adverse side effects of medications; (2) to establish a safety assessment protocol for combined use of food and medication; and (3) to develop novel, safe and curative medications derived from the active components of functional foods. The formation of our base for academic research and education, with close cooperation of the graduate schools of nutritional and environmental sciences and of pharmaceutical sciences, will facilitate the foundation of the novel academic field of "Evolutionary Human Health Sciences." The program also intends to inspire outstanding scientists with the concept of "borderless food and medicine science" and to enlist the leadership support of advisors to promote this COE program. Once fully developed, ours will be the only research and education program of its kind in the world.

### 領域1: Interaction

薬食相互作用のエビデンスの蓄積  
Elucidation of Mechanisms of Food-Drug Interaction and Database Construction

### 領域2: Development

高次機能性食品の開発と安全性確保  
Development of Functional Foods and Effective Use of Underutilized Food Processing Resources

### 領域3: Biomarkers

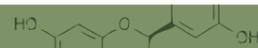
バイオマーカーの探索と安全性評価法の確立  
Search for New Biomarkers and Development of Methods for Evaluating Food and Drug Safety

### 領域4: Intervention study

個別栄養計量化バイオマーカーの検証  
Creation and Development of Practical Programs Related to Health and Longevity

### 領域5: Education

国際コミュニケーション能力の向上  
Development and Delivery of Scientific English Programs



各領域の研究概要

## 研究領域 1

### 医薬品・食品の体内相互作用の解明とデータベース化 Research Project 1: Elucidation of Mechanisms of Food-Drug Interaction and Database Construction

#### 研究活動の概要

食品成分と医薬品との相互作用に関する基礎的研究に加え、遺伝的背景をもとにした個別適正使用量推定のための基盤を作り、これらをデータベース化し、世界に発信する。また、機能性食品成分を用いた国内での臨床試験の実施および海外のデータとの比較により日本人における適正な使用量のエビデンスを蓄積する。

#### 目標

- 食品成分による薬物代謝酵素、薬物輸送担体への影響についての分子機構の解明
- 特定の食品を摂取した場合の薬効の変化、長期的な薬物投与下における栄養状態の変化の解析
- 機能性食品成分の安全性評価法の確立
- 遺伝子多型を活用した、薬物と食品成分の相互作用と食事制限に関するエビデンスの蓄積
- 食品成分や漢方薬成分の体内動態解析法の確立と医薬品との体内相互作用の解析
- 薬食相互作用データベースの構築

#### 計画

薬物代謝酵素の遺伝子多型を解析し、食品成分と医薬品との相互作用に関する基礎的研究に加え、遺伝的背景をもとにした個別適正使用量推定のための基盤を作る。医薬品投与による栄養状態への影響や、食事制限の必要性との関係を解明する。また、ハーブなど機能性食品の有効性・安全性および医薬品との相互作用(併用効果)に関する臨床試験を、21世紀COEによって培われた医療機関との連携ネットワークを活用し実施する。具体的には浜松医科大学トランスレーショナルリサーチセンターがあげられる。動物実験を当拠点で実施する。国内の医療機関との連携において、機能性食品の摂取状況および医薬品との併用状況の調査研究の範囲を拡大して実施する。米国アリゾナ大学との連携により、海外とのデータ比較を進める。機能性食品成分を用いた国内での臨床試験の実施および海外のデータとの比較により日本人における適正な使用量のエビデンスを蓄積し、データベース化する。

#### Outline of Research Activity

In Japan we conduct clinical trials to test the efficacy and safety of functional foods and establish optimum dosage regimens of functional food constituents and their combination with drugs. We construct a database of drug-functional food interactions, based on domestic and other trials. This database contributes to an effective integration of laboratory research results and clinical demands, the clarification of the mechanisms of drug-functional food interactions, a broadening of therapeutic options by utilizing synergistic effects, and the avoidance of adverse effects of drugs and functional foods.

#### Plan for Research Activity

To bring this project to fruition, we a) clarify the underlying molecular mechanisms through which food constituents affect metabolizing enzymes and transporters of clinical drugs, b) establish the analytical methodology for the pharmacokinetics of functional food constituents and for the interaction of clinical drug and food constituents on the basis of human genetic background, c) analyze pharmacological effects and the safety of functional food constituents under long-term drug therapy, d) identify clinical evidence for interactions between drug and food constituents, noting food restrictions in patients and e) construct an integrated database of drug-food interactions combining the evidence from basic research and clinical outcomes.

Our Global COE conduct clinical trials to evaluate the efficacy and safety of functional foods such as medical herbs and to study their interactions with drugs, in collaboration with the Translational Research Center at the Hamamatsu University School of Medicine, and we carry out a large-scale epidemiological study jointly with major domestic hospitals. The clinical outcomes in Japan are further analyzed by comparing these with those in foreign countries – particularly those of the University of Arizona, College of Pharmacy. On the basis of these clinical data we optimize the therapeutic regimens of drugs and functional foods in Japan. We also analyze genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes in Japan for individual optimal dosage of drugs and functional food components. Furthermore, we clarify the long-term effects of drugs on nutritional conditions. Based on these results, we create an integrative database for industrial, clinical, and public use around the world.

各領域の研究概要

## 研究領域 2

### 高次機能性食品の開発と食品成分および食品未利用資源の有効活用 Research Project 2: Development of Functional Foods and Effective Use of Underutilized Food Processing Resources

#### 研究活動の概要

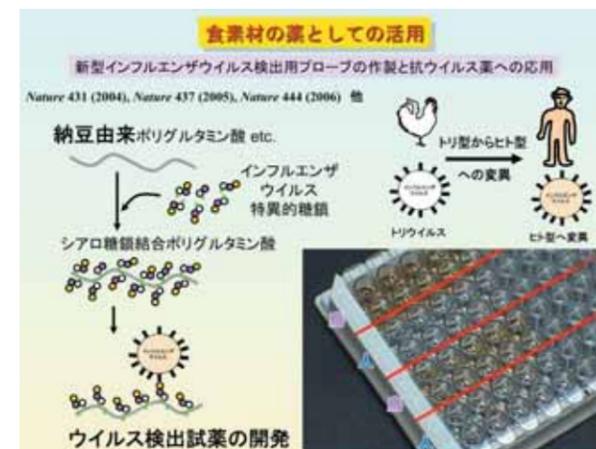
食品素材を利用した治療薬シーズの探索、可食性抗体を含む高次機能性食品の開発、および食品成分による免疫賦活能の改善、アレルギーやがん等の発生予防、心身ストレスに対する薬食融合研究に基づいた「食」の活用の可能性を明らかにする。特に静岡県特産の緑茶の実、みかんの果皮(陳皮)、わさび葉などの未利用資源の活用も視野に入れて天然資源の開発を行う。

#### 目標

- 食品材料を利用したウイルス治療薬シーズの探索、ウイルスサーベイのための診断薬の開発
- 可食性抗体を含む高機能食品や、漢方薬成分の合成遺伝子改変による新規機能食品成分の開発
- 食品成分による免疫・アレルギー、がんの発生、心理状態への影響の解明と改善法の研究

#### 計画

食品未利用資源を活用し、鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染性を探査・監視できるプローブを作製する。プローブを活用し、アジアの拠点におけるウイルスサーベイに貢献し、鳥インフルエンザの世界的拡散を未然に防ぐ。アジアの拠点としては、中国浙江省医学科学院、タイ国コンケン大学などが挙げられる。豪州グリフィス大学との連携により、多糖類を含む食品素材からの抗ウイルス薬の創製を進める。抗体医薬の植物での効率的な生産を目指し、特異的な抗体遺伝子を植物で発現させ、可食性抗体を含む高次機能性食品へと発展させる。これは拠点内の異なる専門領域の協力により実施する。天然の植物遺伝子をもとに改変して作製した植物遺伝子ライブラリーを利用して高次機能性食品を開発する。天然遺伝子資源としては、タイのコンケン大学との連携を推進する。



#### Outline of Research Activity

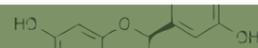
Our integrated research perspectives spanning pharmaceutical, food and nutritional sciences focus on the following issues: a) the search for medicinal seeds from food materials, b) the development of functional food containing edible antibodies aiming at oral passive immunization, and c) the prevention of cancer and allergic diseases through appropriate food choice. Here, some of Shizuoka's local specialties, tea tree seeds, tangerine peels and zest, and Wasabi (*Wasabia japonica*) leaves are utilized as representative undeveloped resources.

#### Specific Aim

In order to meet the goals of this project we a) conduct searches for antiviral seeds from food materials, b) develop diagnostic drugs from food resources in order to carry out viral surveys, c) generate functional foods containing edible antibodies, d) create novel functional food ingredients through the genetic engineering of enzymes involving the biosynthesis of active ingredients of traditional Chinese medicine and e) elucidate the effects of food ingredients on the immune system, allergies, tumorigenesis, and mental state.

#### Example of Research Plans

We a) establish probes from unused resources derived from food materials for search and survey of genetic changes to avian influenza viruses that may lead to human-human transmissibility in continuing collaboration with Zhejiang Academy of Medical Sciences (China), and Khon Kaen University (Thailand), b) develop anti-viral drugs based on polysaccharides from food materials, as an extension of our collaboration with Griffith University (Australia), c) establish a gene expression system for coding pathogen-specific monoclonal antibodies of IgA class in plants aiming at production of functional foods containing edible antibodies, and d) create functional foods, in collaboration with Khon Kaen University, by means of novel plant gene library created from natural plant genes modified by recombinant gene technology.



各領域の研究概要  
研究領域 3

ヒト評価系のためのバイオマーカーの探索と機能性食品成分の安全性評価法の確立  
Research Project 3: Search for New Biomarkers and Development of Methods for Evaluating Food and Drug Safety

研究活動の概要

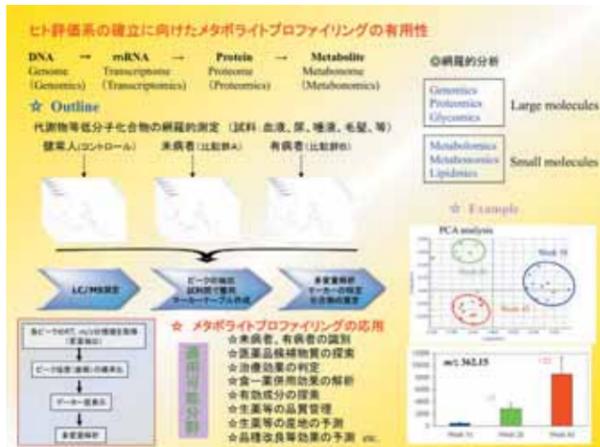
個人代謝プロファイルに有用な新規バイオマーカーを探索する。カテキン類などの食品成分の分子プローブを合成して標的分子を特定し、バイオマーカーとして活用する。さらに機能性の定量評価方法の確立とともに *in vitro*, *in vivo* で安全性評価を行う。

目標

- メタボライトプロファイリングとプローブ分子合成を活用したバイオマーカーの探索
- バイオマーカーの測定や病態解析を目的とした化学合成による標準物質の整備

計画

ヒト評価系に必要なバイオマーカーの確立のため、21世紀COEで培った健康診断拠点を活用し、生活習慣病境界領域の人および健康人の血液・毛髪・唾液をもとにトランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム解析を実施する。各解析は拠点内に導入した最先端機器を用い、技術的に習熟した拠点内分析チームによって協力・実施する。これをもとに個人代謝プロファイルに有効な新規バイオマーカー群を見いだす。それらを標準化するため、拠点内化学合成チームにより当該バイオマーカーを合成する。さらに食品成分の体内動態解明のために、安定同位体を含む分子プローブを化学合成し、質量分析による解析システムを確立する。



Outline of Research Activity

We search for new biomarkers for lifestyle-related and other diseases by employing a high-throughput technology which enables us to perform comprehensive analyses of whole intermediate metabolites in the body, a method referred to as 'metabolic profiling.' Molecular probes such as catechin derivatives are used for screening biomarkers. We also establish standardized methods for the quantitative and qualitative evaluation of both efficacy and safety of functional food factors both *in vitro* and *in vivo*.

Plan for Research Activity

To accomplish the aims of this project we carry out the following: a) the search for possible biomarkers for lifestyle-related and other diseases by 'metabolic profiling' of healthy and pre-clinical subjects, b) the search for biomarker candidates using synthesized molecular probes derived from functional food factors, and c) the production of standard reference materials useful for measuring biomarkers and assessing metabolic states.

To discover biomarkers useful for the evaluation of the outcomes of clinical trials, we collaborate with healthcare professionals in community-based and clinical settings. Human blood, urine and saliva specimens are subjected to analyses of transcriptome, proteome and metabolome. Analyses are carried out by an expert COE team, using the most advanced technology, in collaboration with the Scripps Research Institute (USA). By means of comprehensive analyses of whole intermediate metabolites (metabolic profiling) we find novel biomarker candidates. A reference substance for the biomarkers are produced by the COE chemistry team. To elucidate pharmacokinetics of the functional food components, stable isotope-labeled molecular probes are chemically synthesized, enabling us to sensitively determine the absorption, distribution and metabolism of the functional food components.

各領域の研究概要  
研究領域 4

健康長寿実践科学領域の創成・展開  
Research Project 4: Creation and Development of Practical Programs Related to Health and Longevity

研究活動の概要

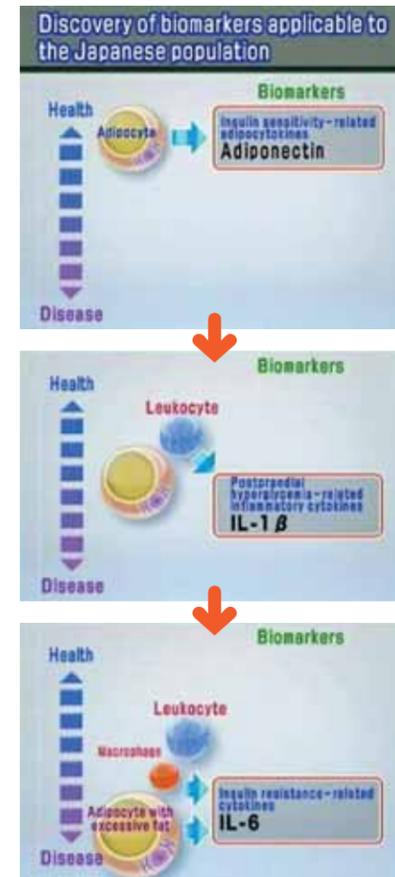
新規バイオマーカーを疾患モデルおよびヒトで検証し、臨床試験に応用する。食品選択、医薬品利用の効果を経時的に評価できる個人代謝プロファイルを確立する。これらにより、個人の代謝・遺伝素因の特性を考慮したテーラーメイド型食品および医薬品選択の根拠を提案する。

目標

- 個人の代謝・遺伝素因の特性を考慮したテーラーメイド型食品選択・医薬品利用の根拠の確立

計画

領域3により確立したバイオマーカーの妥当性を各種疾患モデルにより検証し、食品選択・栄養教育・服薬指導等のヒト介入の有効性を評価するための指標としてアウトカムリサーチに利用する。アウトカムリサーチの専門家であるニュージャージー医科歯科大学のR. デッカ教授との連携を深め、アウトカムリサーチの方法論等について意見交換を行う。機能性食品や医薬品の効果・安全性を経時的に評価する個人代謝プロファイル法を作出する。特に薬食併用時の代謝プロファイル法を開発する。



Outline of Research Activity

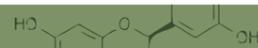
The validity of the selected biomarkers signaling risks of lifestyle-related diseases is investigated in animal models and in human subjects for application to clinical trials. To evaluate and monitor the efficacy of individualized food selection in combination with drug use, 'individual metabolic profiling' data is collected and analyzed. This approach serves as the basis for personalized dietary and drug dosage regimens, taking into account the individual's metabolic state and genetic background.

Plan for Research Activity

To meet the goals of this project we accomplish the establishment of the basis for the practice of personalized health promotion including individualized food selection in combination with appropriate drug use. This will take into full account individual metabolic profiles and genetic background in the promotion of health-longevity science.

After the validity of the biomarkers for lifestyle-related diseases has been established by using pathologic models, these markers are used for the evaluation of the efficacy of various interventions including food selection practice and nutritional and drug counseling. The methodology of the outcome research is corroborated by the University of Medicine and Dentistry of New Jersey. Personalized metabolic profiling is established for on-demand monitoring of the efficacy and safety of functional food factors and drugs.





各領域の研究概要  
研究領域 5

大学院学生・若手研究者のグローバルコミュニケーション能力向上研究  
Research Project 5: Development and Delivery of Scientific English Programs

目標

- 大学院学生の英語による口頭発表や討論力の不足の原因の究明と改善の手段の研究

計画

外国人英語教員と大学院学生の指導教員が連携し、少人数セミナー指導により大学院学生に不足している点を個別に解明し改善のための手法を研究する。オハイオ州立大学に4週間大学院学生を派遣し科学英語のスキルおよび論文作成スキルを学習させるとともに、現地教員を交えた討論の実践的演習指導を通じて、グローバルコミュニケーションの効率的な学習法を研究開発する。



Plan for Research Activity

The exchange of young experts continue and is expanded between our Global COE and all the overseas institutions mentioned above. In order to keep the international scientific community apprised of our research results we continue to host international symposia and to publish in international journals. Additionally, we make our new data bases available for global access. In order to expand international exchanges and encourage the proactive transmission of information abroad, instructors of English, working together with supervising professors, develop methods for improving Ph.D. students' academic presentation and writing skills in communicative English. Some students, after their local linguistic training, go to The Ohio State University to advance their academic and linguistic competence, through language courses, academic exchanges, and course enrollment.



拠点連携体制 Worldwide Collaboration under the Global COE Program

国際連携/International Cooperation



新規協定締結/Inter-university and Inter-departmental agreements (2009-2011) \* Inter-university agreement

- チュラロンコン大学薬学部 / Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University (Feb. 2009)
- 植物食品研究所 / Plant & Food Research (Oct. 2009)
- リデット研究所 / Riddet Institute (Oct. 2009)
- ネブラスカ大学リンカーン校 / University of Nebraska, Lincoln (Oct. 2009) \*
- マヒドン大学理学部 / Faculty of Science, Mahidol University (Mar. 2010)
- マヒドン大学環境資源科学部 / Faculty of Environment and Resource Studies, Mahidol University (Mar. 2010)
- マッセー大学食品・栄養・健康研究所 / Institute of Food, Nutrition and Human Health, Massey University (Jul. 2010)
- 国立長寿医療研究センター / National Center for Geriatrics and Gerontology (Mar. 2011)
- ブリュッセル自由大学 / Université libre de Bruxelles (Oct. 2011) \*
- カリフォルニア大学デービス校 / University of California, Davis (Oct. 2011) \*
- マヒドン大学 / Mahidol University (Dec. 2011) \*

国内機関との連携

研究連携

- 国立遺伝学研究所
- 国立長寿医療センター研究所
- 国立がんセンター研究所
- 国立健康・栄養研究所
- 独立法人野菜・茶業研究所
- 独立法人果樹研究所
- 静岡県がんセンター研究所
- 静岡茶業研究センター
- 東京大学医科学研究所
- 帯広畜産大学

教育連携

- 静岡大学
- 浜松医科大学
- 東海大学
- 名古屋市立大学
- 岐阜薬科大学
- 国立長寿医療センター
- 静岡県立総合病院
- 聖隷福祉事業団聖隷浜松病院
- 静岡県環境衛生科学研究所
- 静岡工業技術研究所
- 静岡県がんセンター研究所

医薬品・食品等の治験

- 静岡県立総合病院 (ヒト臨床試験支援センター)
- 静岡健康管理センター
- 伊豆保健医療センター

産学民官連携

- 静岡新産業集積クラスター
- しずおか産業創造機構
- JST地域結集型研究開発プログラム

企業

- 製薬
- 食品

# 高次機能性食品をめざした植物抗体の研究 Studies on 'plantibodies' as refined functional food

今井 康之 Yasuyuki IMAI

薬学研究科薬学専攻免疫微生物学教室 教授

Professor, Laboratory of Microbiology and Immunology, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



## Profile

2007- 静岡県立大学大学院薬学研究所長  
2011年  
1998年 静岡県立大学薬学部教授  
1997年 東京大学大学院薬学系研究科助教授  
1989年 カリフォルニア大学サンフランシスコ校訪問研究員  
1983年 東京大学薬学部助手  
1982年 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了  
1977年 東京大学薬学部卒業

2007- Dean, Graduate School of Pharmaceutical Sciences,  
2011 University of Shizuoka  
1998 Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University  
of Shizuoka  
1997 Associate Professor, Graduate School of Pharmaceutical  
Sciences, University of Tokyo  
1989 Visiting Scholar, Department of Anatomy and Program in  
Immunology, University of California, San Francisco  
1983 Research Associate, Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
University of Tokyo  
1982 Ph.D., Graduate School of Pharmaceutical Sciences,  
University of Tokyo  
1977 Graduate from Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
University of Tokyo

## Contact

T E L 054 264 5716  
+81 54 264 5716  
e-mail imai@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/bisei/English/index.html

## 序論

高次機能性食品として、「食べられる抗体」の作製を目指している。がん・慢性炎症性疾患・臓器移植・感染症に対する治療に「抗体医薬」が注目されてきたが、生産コストに課題がある。解決策の一つとして、植物に抗体を発現させる「植物抗体」の取り組みがある。そのためには、抗原特異的な抗体の遺伝子を取得し植物で発現させる必要がある。具体的なモデルとして、O157:H7に代表される腸管出血性大腸菌の病原因子であるベロ毒素(Stx)に対するIgAモノクローナル抗体に取り組んだ。食べられる抗体には、病原体や毒素の粘膜表面からの侵入を防ぎ、免疫力の弱い高齢者や小児を中心に、感染症の予防や治療に役立つことが期待される。

## 成果

粘膜表面は分泌型免疫グロブリンA (S-IgA) によって防御されている。これは、粘膜固有層でBリンパ球が産生する2量体IgAおよび粘膜表面への輸送に働くポリIg受容体の細胞外ドメインで構成されている。後者は粘膜上皮細胞の産物である。我々はベロ毒素の糖鎖結合サブユニット (Stx1B) に対するIgAおよびIgGモノクローナル抗体を、マウスにStx1Bを経鼻免疫して作製した。得られた抗体のベロ毒素中和活性を調べるとIgG抗体が勝っていたため、IgGの可変部(抗原結合部位)とIgAの定常部からなるH鎖をもったハイブリッド抗体の作製をめざした(図1)。まずIgA抗体およびIgG抗体のH鎖、L鎖およびJ鎖のcDNAをクローニングした。組換えPCR法を用いて、IgG抗体のV<sub>H</sub>、C<sub>H1</sub>およびヒンジ領域をIgA抗体のC<sub>H2</sub>、C<sub>H3</sub>領域と連結させたハイブリッドH鎖cDNAを得た。ハイブリッドH鎖、IgG由来のL鎖、J鎖のcDNAを同時に動物細胞で発現させ、ベロ毒素特異的2量体のハイブリッドIgAの発現に成功した。実際、ELISAプレートに固相化したStx1BへのハイブリッドIgAの結合は、抗マウスIgAあるいは抗マウスIgGのいずれによっても検出された(図2)。次に抗体の植物化をめざした。すなわち、ハイブリッドH鎖、L鎖、J鎖のcDNAをそれぞれバイナリーベクターに組み込み、アグロバクテリウム法によってモデル植物のシロイヌナズナに遺伝子導入した(図3)。遺伝子の組み込み、mRNAおよびタンパク質の発現を確認した後、各抗体遺伝子を発現する植物を交配して、ハイブリッドH鎖、L鎖、J鎖を同時に発現した植物を得ることに成功し、Stx1Bへの結合を確認した。

## 展望

現在、作製した植物抗体の生物活性を評価し、ベロ毒素に対する中和活性を保持しているかどうかを調べている。植物から抗体を精製する方法、分泌型ハイブリッドIgA抗体の作製と分離、および効率的な植物での発現方法の開発が短期的な目標である。さらに、実際に食べられるという目標のため、リーフレタスを用いた抗体の発現もめざしている。なお、ハイブリッドIgAの利点は、困難なIgAモノクローナル抗体の作製に挑戦せずとも、既存のIgG抗体の抗原結合部位を利用できることである。応用として、インフルエンザウイルスに対するハイブリッドIgAの作製にも成功している。

## Introduction

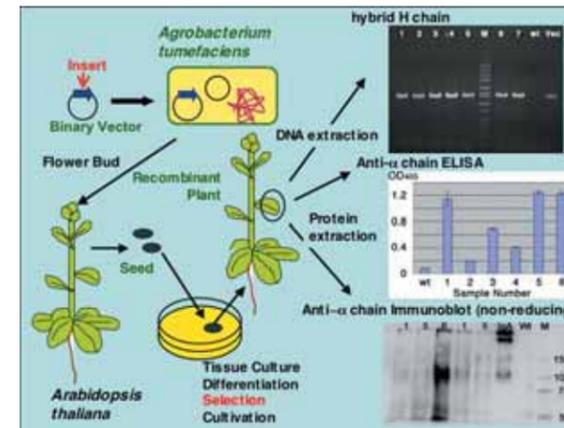
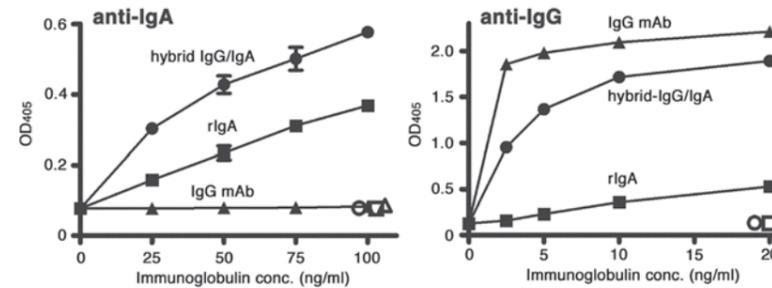
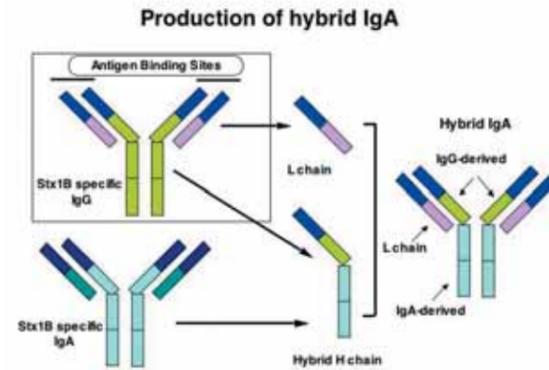
We aimed to produce "edible antibodies" as refined functional foods. Although researchers are working on therapeutic antibodies to treat cancer, chronic inflammatory diseases, transplantation and infectious diseases, there is still a challenge to reduce production costs. One solution is "plantibodies", the expression of genes of antibodies by plants. As a model of plantibodies, we made IgA monoclonal antibodies (mAbs) against Shiga toxin (Stx), which is a virulence factor of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (e.g. serotype O157:H7). Edible therapeutic antibodies have the potential for preventing and/or treating infection by inhibiting entry of infectious agents and toxins through mucosal surfaces. They would be especially useful for elderly people and children with weakened immune systems.

## Results

Secretory immunoglobulin A (S-IgA) protects mucosal surfaces. S-IgA is composed of dimeric IgA, a product of B-lymphocytes in the mucosal lamina propria, and extracellular domains of poly-Ig receptor, which is responsible for transport to the mucosal surface. The latter is a product of mucosal epithelial cells. We intranasally immunized mice with the carbohydrate binding subunit of Shiga toxin (Stx1B) to produce IgA and IgG mAbs against Stx1B. Because the toxin neutralization activity of the IgG mAbs was superior, we made hybrid antibodies in which the variable regions of IgG and the constant region of IgA were utilized (Fig. 1). We cloned complementary DNAs (cDNAs) encoding for heavy (H) chain, light (L) chain and joining (J) chain from hybridomas that produce the IgA or IgG mAbs. We made a cDNA for a hybrid H chain in which V<sub>H</sub>, C<sub>H1</sub> and hinge regions of IgG mAb and C<sub>H2</sub> and C<sub>H3</sub> of IgA mAb were joined by means of a recombinant polymerase chain reaction method. We were able to express the hybrid H chain, IgG-derived L chain and J chain simultaneously in mammalian cells, and show binding of the hybrid IgA to immobilized Stx1B with either anti-IgA or anti-IgG by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Fig. 2). We then moved on to the production of 'plantibodies'. cDNAs encoding hybrid H, L and J chains were subcloned into binary vectors, and then each construct was introduced into *Arabidopsis thaliana* by means of Agrobacterium methods (Fig. 3). After confirming gene integration, mRNA transcription and protein expression, we crossed plants expressing each antibody gene. We confirmed simultaneous expression of hybrid H, L and J chains, and demonstrated the binding of 'plantibodies' to Stx1B by ELISA.

## Perspectives

We are now investigating whether 'plantibodies' retain toxin neutralization activity. Immediate goals include the purification of 'plantibodies' from extracts, establishment of secretory hybrid IgA and its separation, and the development of more efficient systems for expression in plants. We also aim to produce 'plantibodies' in leaf lettuce to provide edible 'plantibodies' for humans. One of the advantages of hybrid IgA is that the antibody binding sites of established IgG can be utilized without challenging the production of IgA mAb, which is a more difficult procedure. As one possible application, we also succeeded in producing a hybrid IgA against influenza virus.



[図1] ハイブリッド抗体の作製 IgG由来の可変部(抗原結合部位)とIgA由来の定常部をもつようにハイブリッドH鎖のcDNAを作製した。これとIgG由来のL鎖のcDNAを共に発現することで、単量体のハイブリッドIgAが構築される。

[Figure 1] Production of hybrid antibodies. We constructed cDNA for a hybrid H chain with a variable region of IgG and constant region of IgA. Simultaneous expression of this cDNA and that for L chain of IgG yielded a monomeric hybrid IgA.

[図2] ハイブリッド抗体の抗原結合活性 固相化したStx1Bへの結合性を抗マウスIgA(左図)と抗マウスIgG(右図)を用いて評価した。ハイブリッド抗体のStx1Bへの結合は、どちらの2次抗体によっても検出された。白抜きのシンボルは、Stx1Bをコートしていないウェルに結合していないことを示す。

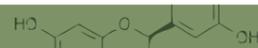
[Figure 2] Antigen binding activity of the hybrid antibodies. We used anti-mouse  $\alpha$ -chain (left panel) or anti-mouse  $\gamma$ -chain (right panel) to detect binding of antibodies to immobilized Stx1B. Open symbols indicate no binding of antibodies to Stx1B-uncoated wells.

[図3] 植物を用いた抗体の発現 抗体遺伝子のシロイヌナズナへの導入によって、ハイブリッド抗体のH鎖を発現する個体が得られた。

[Figure 3] Expression of antibodies by plants. We expressed hybrid H chain in *Arabidopsis thaliana*. Integration of the hybrid H chain gene into the plant genome, and expression of the hybrid H chain are shown.

## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. Y. Tobisawa, T. Maruyama, T. Tanikawa, K. Nakanishi, K. Kurohane, Y. Imai: Establishment of recombinant hybrid-IgG/IgA immunoglobulin specific for Shiga toxin. *Scand. J. Immunol.*, 76, 574-584 (2011)
2. Y. Ohmichi, J. Hirakawa, Y. Imai, M. Fukuda, H. Kawashima: Essential role of peripheral node addressin in lymphocyte homing to nasal-associated lymphoid tissues and allergic immune responses. *J. Exp. Med.*, 208, 1015-1025 (2011)
3. J. Hirakawa, K. Tsuboi, K. Sato, M. Kobayashi, S. Watanabe, A. Takakura, Y. Imai, Y. Ito, M. Fukuda, H. Kawashima: Novel anti-carbohydrate antibodies reveal the cooperative function of sulfated N- and O-glycan in lymphocyte homing. *J. Biol. Chem.*, 285, 40864-40878 (2010)
4. Y. Tobisawa, Y. Imai, M. Fukuda, H. Kawashima: Sulfation of colonic mucins by N-acetylglucosamine-6-O-sulfotransferase-2 and its protective function in experimental colitis in mice. *J. Biol. Chem.*, 285, 6750-6760 (2010)
5. T. Tanikawa, T. Ishikawa, T. Maekawa, K. Kurohane, Y. Imai: Characterization of monoclonal immunoglobulin A and G against Shiga toxin binding subunits produced by intranasal immunization. *Scand. J. Immunol.*, 68, 414-422 (2008)



2

研究領域2 食品成分による発がん予防  
Studies on cancer prevention by food constituents

研究領域3 生活習慣病のバイオマーカー探索  
Studies on search for biomarkers of lifestyle-related diseases

大島 寛史 Hiroshi OHSHIMA 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻生化学研究室 教授  
Professor, Laboratory of Biochemistry, Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



Profile

2006年 静岡県立大学食品栄養科学部教授  
1994年 WHO国際がん研究機関内因性発がん要因部門部長  
1979年 WHO国際がん研究機関環境発がん部門科学官  
1975年 国立予防衛生研究所食品衛生部  
1975年 東京水産大学大学院修士課程修了  
1973年 東京水産大学卒業

2006 Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1994 Chief, Unit of Endogenous Cancer Risk Factors, WHO International Agency for Research on Cancer, France  
1979 Scientist, Division of Environmental and Host Factors, WHO International Agency for Research on Cancer, France  
1975 National Institute of Health, Department of Biomedical Research on Foods, Tokyo, Japan  
1975 Graduated from Graduate School of Tokyo University of Ocean Sciences  
1973 Graduated from Tokyo University of Ocean Sciences

Contact

TEL 054 264 5531  
+81 54 264 5531  
e-mail ohshimah@u-shizuoka-ken.ac.jp  
URL http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/cellbioc/index.html

序論

がんを含む生活習慣病の発症には、食習慣、運動、喫煙、飲酒などの生活習慣が重要な役割を果たしているが、その分子機構については明らかにされていない点が多く、また、予防法についても確立されていない。そこで、本研究室では、「食品・栄養による生活習慣病の予防」を第一目標として、GCOEプログラムにより、次のような研究を行ってきた。

- 1 食品成分による大腸発がん予防の研究
- 2 メタボリック症候群のバイオマーカーとしてのコレステロール炎症酸化物の新規同定
- 3 アルコール発がんのバイオマーカー探索と分子疫学への応用

成果

- 1 食品成分による大腸発がん予防の研究  
マウス大腸発がんモデル(大腸発がん物質アゾキシメタンによるDNA損傷とデキストラン硫酸ナトリウムの投与による炎症)により、短期間で大腸発がんを誘発させるを用いて、ヤマモ、自然薯、ナガイモなどの根菜類及びその成分について、発がん予防因子の探索を行った。その結果、ヤマモ(乾燥品は漢方薬山薬として市販)およびその成分の一つであるジオスゲニンが、大腸発がんを効果的に予防することを見出した(Miyoshi et al., Cancer Prev. Res., 4, 924-934, 2011)。
- 2 メタボリック症候群のバイオマーカーとしてのコレステロール炎症酸化物の新規同定  
炎症細胞の好中球が、ミエロペロキシダーゼ依存的にコレステロールオゾン酸化物を生成することを見出し(Tomono et al., J. Lipid Res., 52, 87-97, 2011)、その高感度分析法を確立した(図2)(Tomono et al., J. Chromatogr. B, 879, 2802-2808, 2011)。
- 3 アルコール発がんのバイオマーカー探索と分子疫学への応用  
飲酒とヒト発がんの関連を研究するバイオマーカーとして、ヒト血漿タンパク質中のN-エチルリジン(タンパク質のリジン残基とアセトアルデヒドの反応により生成する)の高感度・特異的分析法の開発を行った(Mabuchi et al., Alcohol. Clin. Ex. Res., in press, 2012)。

展望

本研究において、ヤマモ中に存在する植物ステロールジオスゲニンは、マウスに経口投与すると、抗炎症作用、抗酸化作用、脂質代謝改善作用を示すことが明らかになった。今後、ヒトでの介入試験により、ジオスゲニンやその他の植物ステロール類の発がん予防効果について検討する必要がある。

炎症部位で生成するコレステロールオゾン酸化物は、強い細胞毒性を示すことから、心血管細胞や神経細胞で生成すると、心血管障害や神経障害の原因となりうる。今後、慢性炎症に関連した生活習慣病患者の生体試料中のコレステロールオゾン酸化物の分析を行い、リスクバイオマーカーとしての有効性を検討して行く。

ヒト血漿タンパク質中のN-エチルリジン量は、飲酒量やアルコール代謝酵素活性などと相関することが明らかになり、飲酒と発がんリスクの関連を研究する分子疫学のバイオマーカーとして分析できる。

Introduction

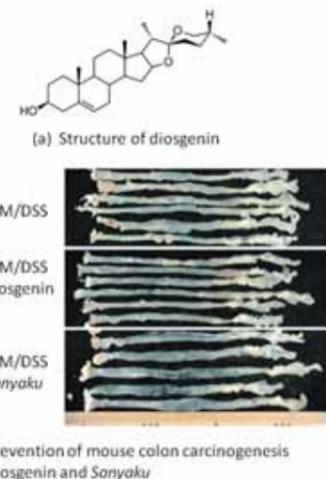
We have performed three major studies with the support of the GCOE program. The first concerned chemoprevention of colon carcinogenesis by foods and their constituents. A second was on identification of novel cholesterol ozonolysis products as biomarkers for metabolic syndrome and the third involved searching for a new biomarker of alcohol-related cancer risk.

Results

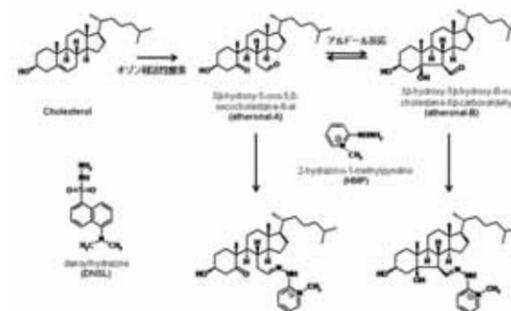
We found that addition of *Sanyaku*, a traditional Chinese medicine (freeze-dried powder of the yam tuber), and its major steroidal saponin constituent, diosgenin, to the diet was effective in preventing induction of mouse colon carcinogenesis by azoxymethane/dextran sodium sulfate (Miyoshi et al., Cancer Prev. Res., 4, 924-934, 2011). Cholesterol ozonolysis products are formed by activated neutrophils through the myeloperoxidase dependent mechanisms and have been implicated in the pathogenesis of cardiovascular and neurodegenerative diseases (Tomono et al., J. Lipid Res., 52, 87-97, 2011). We have developed a highly sensitive method for detecting these ozonolysis products as derivatives of 2-hydrazino-1-methylpyridine by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) (Fig. 2) (Tomono et al., J. Chromatogr. B, 879, 2802-2808, 2011). NE-ethyl lysine is a major stable adduct formed by the reaction of acetaldehyde with lysine residues in proteins. We have developed a sensitive and specific method to quantitate NE-ethyl lysine in human plasma proteins in order to correlate it with human diseases associated with exposure to acetaldehyde and alcohol (Mabuchi et al., Alcohol. Clin. Ex. Res., in press, 2012).

Perspectives

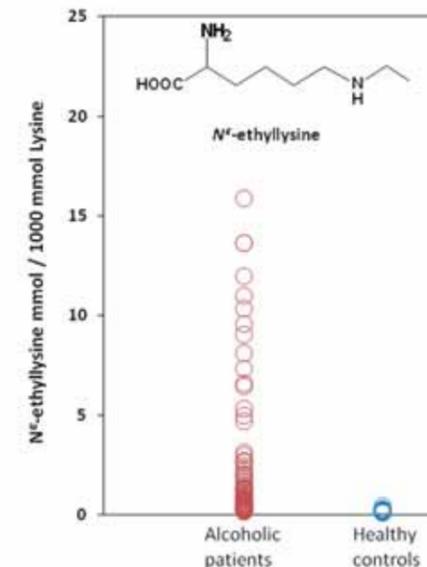
Intervention studies in humans could determine whether *Sanyaku* and diosgenin can prevent the development of colon and other cancers. Cholesterol ozonolysis products could be measured in human biological specimens and serve as biomarkers for human diseases associated with chronic inflammation, such as atherosclerosis and Alzheimer's disease. The method for quantitating NE-ethyl lysine, a biomarker for exposure to acetaldehyde and alcohol, in human tissues and biological specimens could be used in molecular epidemiological studies to investigate the role of alcohol in human carcinogenesis.



【図1】漢方薬山薬(ヤマモ乾燥品)およびその成分ジオスゲニンによるマウス大腸発がんの予防  
[Figure 1] Prevention of mouse colon carcinogenesis by *Sanyaku*, a traditional Chinese medicine (freeze-dried powder of the yam tuber) and its major steroidal saponin constituent, diosgenin.



【図2】オゾン様活性酸素によるコレステロールオゾン酸化物の生成と2-hydrazino-1-methylpyridine誘導体のLC-ESI-MS/MSによる高感度分析  
[Figure 2] Formation of cholesterol ozonolysis products by activated neutrophils and a highly sensitive method for their detection as derivatives of 2-hydrazino-1-methylpyridine by LC-ESI-MS/MS.



【図3】ヒト血漿タンパク質中のN-エチルリジン量(飲酒とヒト発がんの関連を研究するバイオマーカー)  
[Figure 3] NE-ethyl lysine concentrations in human plasma as a biomarker for exposure to acetaldehyde and alcohol.

代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. R. Mabuchi, A. Kurita, N. Miyoshi, A. Yokoyama, T. Furuta, T. Goda, Y. Suwa, Y., T. Kan, T. Amagai, H. Ohshima: Analysis of NE-ethyllysine in human plasma proteins by gas chromatography-negative ion chemical ionization / mass spectrometry as a biomarker for exposure to acetaldehyde and alcohol. Alcohol. Clin. Ex. Res., in press (2012).
2. S. Tomono, N. Miyoshi, M. Ito, T. Higashi, H. Ohshima: A highly sensitive LC-ESI-MS/MS method for the quantification of cholesterol ozonolysis products secosterol-A and secosterol-B after derivatization with 2-hydrazino-1-methylpyridine. J. Chromatogr. B, 879, 2802-2808 (2011).
3. N. Miyoshi, Y. Wakao, S. Tomono, M. Tatemichi, T. Yano, H. Ohshima: The enhancement of the oral bioavailability of  $\gamma$ -tocotrienol in mice by  $\gamma$ -cyclodextrin inclusion. J. Nutr. Biochem., 22, 1121-1126 (2011).
4. S. Tomono, N. Miyoshi, N., H. Shiokawa, T. Iwabuchi, Y. Aratani, T. Higashi, H. Nukaya, H. Ohshima: Formation of cholesterol ozonolysis products in vitro and in vivo through a myeloperoxidase-dependent pathway. J. Lipid Res., 52, 87-97 (2011).
5. N. Miyoshi, T. Nagasawa, R. Mabuchi, Y. Yasui, K. Wakabayashi, T. Tanaka, T., H. Ohshima: Chemoprevention of azoxymethane/dextran sodium sulfate-induced mouse colon carcinogenesis by freeze-dried yam *sanyaku* and its constituent diosgenin. Cancer Prev. Res., 4, 924-934 (2011).

## 高度QOLがん撲滅新戦略治療法の開発研究

Development of novel strategies for cancer treatment that preserve high quality of life

奥 直人 Naoto OKU

薬学研究科製薬学専攻医薬生命化学教室 教授

Professor, Department of Medical Biochemistry, Division of Medicinal Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



## Profile

2007-2011年 静岡県立大学薬学部部長  
 2005-2007年 静岡県立大学大学院薬学研究科長  
 1998年 静岡県立大学薬学部教授  
 1991年 静岡県立大学薬学部助教授  
 1987年 摂南大学薬学部助教授  
 1983年 摂南大学薬学部講師  
 1982年 米国ノースウエスタン大学助手  
 1981年 米国ノースウエスタン大学博士研究員  
 1980年 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了  
 1975年 東京大学薬学部卒業

2007-2011 静岡県立大学薬学部部長  
 2005-2007 静岡県立大学大学院薬学研究科長  
 1998 静岡県立大学薬学部教授  
 1991 静岡県立大学薬学部助教授  
 1987 摂南大学薬学部助教授  
 1983 摂南大学薬学部講師  
 1982 米国ノースウエスタン大学助手  
 1981 米国ノースウエスタン大学博士研究員  
 1980 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了  
 1975 東京大学薬学部卒業

## Contact

T E L 054 264 5701  
 +81 54 264 5701  
 e-mail oku@u-shizuoka-ken.ac.jp  
 U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/radiobio/index2.htm

## 序論

我が国は超高齢社会に突入した。高齢になると種々の生体機能が低下し、いろいろな疾患を抱えることも多い。健康長寿は、疾患にかからないことではなく、薬をうまく使い、適切な食生活を営むことで、普通の生活が維持できることだと考えている。高齢者疾患の中でがんは死因別死亡率のトップを占め、その克服は急務である。抗がん剤は副作用が強く、治療中のQOLが低下する。ナノキャリアを用いた薬物送達システム(DDS)は、副作用を軽減し、QOLの高いがん治療法として注目されてきた。本研究では健康長寿を支援する新たなDDS創薬の開発を目的とした。

## 成果

腫瘍血管新生はがん細胞の増殖に欠かせないイベントである。腫瘍新生血管は形質変換を起こさず、血中に投与されたナノキャリアが最初に会合するため、DDSの標的として理想的である。本研究では新生血管を標的としたDDS製剤を開発した。さらに副作用の無い治療法を目指して、RNA干渉を利用した製剤へと発展させた。

腫瘍新生血管を標的とするDDS製剤の開発のために、まず新生血管標的化のためのペプチドプローブを開発した。このペプチドを、ナノキャリアとして臨床に用いられているリポソームに修飾し、抗がん剤を内封すると、増殖性の腫瘍新生血管内皮細胞が傷害を受け、効率的にがん増殖が抑えられた。近年、特定のタンパク質発現を抑えるRNA干渉を用いた核酸医薬品が注目されている。RNA干渉を起こす短鎖RNA(sRNA)の送達に従来型のナノキャリアをそのまま応用することは困難である。そこで血中滞留性があり、標的組織の細胞質にsiRNAを効率的に導入できるキャリアの開発を行った。まず核酸導入効率が優れたポリカチオン脂質を設計し、ポリカチオンリポソーム(PCL)を開発した。siRNAの体内動態を[F-18]標識体を用いたPET解析により、血中でsiRNAがキャリアから遊離することが示唆された。そこで、siRNAにコレステロールを結合することにより、血中での安定化を図った。PEG修飾PCLにさらに標的化プローブを導入し、血管新生及び細胞増殖に関わるタンパク質発現を特異的に抑えるsiRNAカクテルを搭載したところ、効率的にがん増殖を抑えることに成功した。

## 展望

我々が世界に先駆けて提唱してきた腫瘍新生血管傷害療法は、がんを克服するDDS創薬として有望と考える。さらにsiRNA創薬によるがん治療が可能となれば、高いQOLを保ちつつがんを克服できると考えている。我々は薬食同源研究として茶成分による抗がん作用、陳皮を用いた虚血性疾患の抑制作用についても研究を展開している。がんを克服し、食を中心とした生活習慣と、薬による疾患制御により高齢者のQOLを高く保つ健康長寿が実現できると期待している。

## Introduction

Japan has become a super-aged society. Elderly people often have various diseases. We propose that "health and longevity" does not mean free of disease, but rather maintenance of usual lifestyles with or without appropriate medications. Because cancer is a leading cause of death in aged people, overcoming this disease is important. Severe side effects that reduce the quality of life (QOL) typically accompany treatment with anticancer drugs. Drug delivery systems (DDS) utilizing nanocarriers reduce adverse effects; therefore, therapy that employs DDS should maintain high QOL. Our current research aims at the development of novel DDS medicines to support health and longevity.

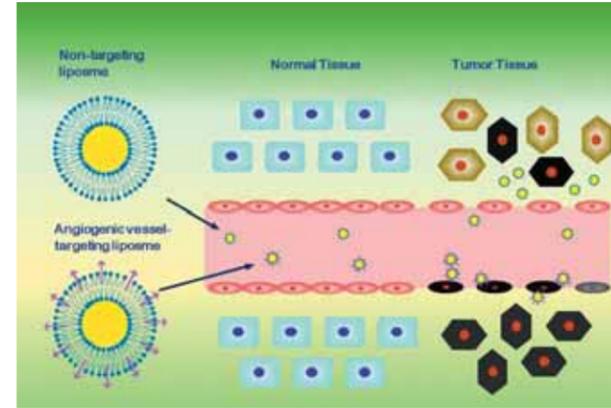
## Results

Angiogenesis is critical to cancer growth. Cancer-associated neovessels are ideal targets for DDS because nanocarriers injected into the bloodstream interact directly with them. We have developed DDS targeted to angiogenic vessels and applied this strategy to nucleic acid medications.

To develop neovessel-targeted DDS, we first isolated a peptide probe with strong affinity for angiogenic vessels. Liposomes encapsulating anticancer drugs and decorated with the peptide inhibited tumor growth in tumor-bearing animals by damaging angiogenic endothelial cells. By the way, nucleic acid medicines by using RNA interference, which suppress expression of a specific protein, is noticed. Because conventional nanocarriers are not suitable for the delivery of small interfering RNA (siRNA), we developed novel nanocarriers that remain in the circulation for prolonged periods, enabling efficient delivery of siRNA to target cells. We designed novel polycation lipids for preparing polycation liposomes (PCLs) and conjugated cholesterol at the end of siRNA (siRNA-C) to render it stable in the bloodstream, confirming that we had achieved this by PET analysis of siRNA biodynamics using [F-18]siRNA. We then showed that neovessel-targeted PCLs complexed with siRNA-C cocktails suppressed angiogenesis and cell growth, efficiently suppressing tumor growth *in vivo*.

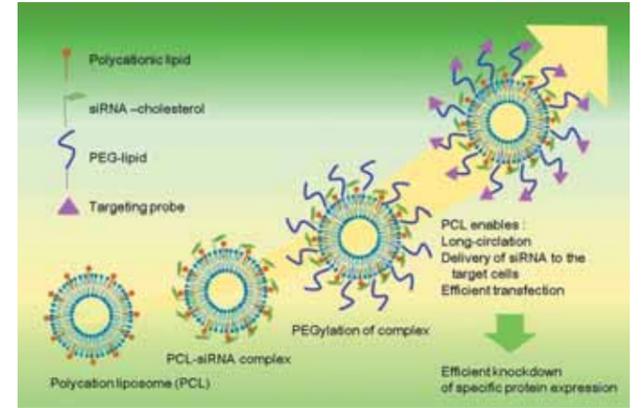
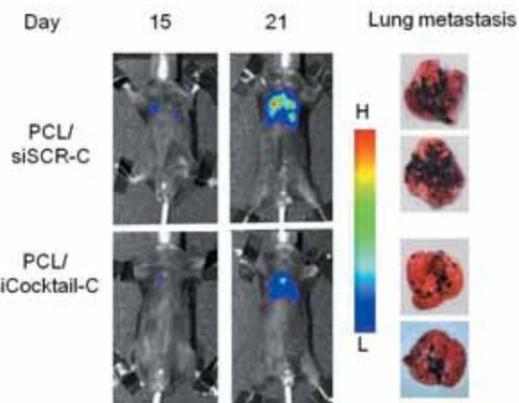
## Perspectives

We consider "antineovascular cancer therapy" to be in the vanguard of modalities that have the potential to overcome cancer. Moreover, once therapy with siRNA is successful, cancer will be conquered while preserving a high QOL. "Health and longevity" will be achieved through overcoming cancer and maintaining healthy lifestyles while controlling disease.



【図1】腫瘍新生血管傷害療法:  
従来のナノキャリア製剤はがん組織内に集積し、製剤から遊離した抗がん剤によりがん細胞が傷害される(上)。一方、抗がん剤を内封した新生血管標的化リポソームは、効率的に新生血管内皮細胞を傷害し、酸素や栄養を断たれたがん細胞が死滅する(下)。

【Figure 1】Antineovascular therapy.  
Conventional nanocarriers accumulate in the interstitial spaces in tumor tissue and release anticancer drugs that cause tumor cell damage (upper panel). In contrast, anticancer agents encapsulated in neovessel-targeted liposomes damage angiogenic endothelial cells, resulting in eradication of cancer cells through depriving them of oxygen and nutrients.



【図2】siRNA送達のための全身投与型標的化ナノキャリアの開発:  
新規ポリカチオン脂質を含むリポソーム(ポリカチオンリポソーム、PCL)にコレステロール結合型siRNAを搭載し、血中滞留性を付与できるポリエチレングリコール(PEG)で修飾する。PEG先端には標的化プローブを結合させる。

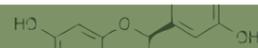
【Figure 2】Development of nanocarriers for systemic and targeting delivery of siRNA.  
Cholesterol-conjugated siRNA is complexed with liposomes containing novel polycation lipids (PCL, polycation liposome). The complex is modified by polyethylene glycol (PEG) to endow it with the ability to remain in the circulation for long periods. In addition, an active-targeting probe is attached to the top of the PEG.

【図3】全身投与型標的化ナノキャリアに搭載したsiRNAによる肺転移がん治療:  
Luciferaseを発現する肺転移性B16F10黒色腫細胞をマウスに投与した。コレステロールを結合したc-myc、MDM2、VEGFに対するsiRNAのカクテル、または対照のsiRNAを図2で示したリポソームに搭載し、がん移植後12,15,18日に投与した。腫瘍増殖はLuciferase活性によりIVISを用いて評価した(左)。また21日目に肺を摘出し、肺転移がんを確認した(右)。

【Figure 3】Treatment of metastatic tumor in the lung by siRNA complexed in novel nanocarriers.  
We injected luciferase-expressing B16F10 lung metastatic melanoma into mice. We complexed cholesterol siRNA cocktails for c-Myc, MDM2 and vascular endothelial growth factor (VEGF), or control siRNA with PCL as shown in Fig. 2, and injected them into mice on days 12, 15 and 18 after tumor implantation. We monitored tumor growth by luciferase activity with an *in vivo* imaging system (IVIS) (left panels). We also observed metastatic tumor in lungs on day 21 (right panels).

## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. Y. Hoshino, H. Koide, K. Furuya, W.W. Haberaecker, S.H. Lee, T. Kodama, H. Kanawaza, N. Oku, K.J. Shea: The rational design of a synthetic polymer nanoparticle that neutralizes a toxic peptide *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (in press).
2. N. Yonenaga, E. Kenjo, T. Asai, A. Tsuruta, K. Shimizu, T. Dewa, M. Nango, N. Oku: RGD-based active targeting of novel polycation liposomes bearing siRNA for cancer treatment. *J. Control. Release* (in press)
3. T. Asai, S. Matsushita, E. Kenjo, T. Tsuzuku, N. Yonenaga, H. Koide, K. Hatanaka, T. Dewa, M. Nango, N. Maeda, H. Kikuchi, N. Oku: Dicyclic phosphate-tetraethylenepentamine-based liposomes for systemic siRNA delivery. *Bioconjug. Chem.*, 22, 429-435 (2011)
4. K. Hatanaka, T. Asai, H. Koide, E. Kenjo, T. Tsuzuku, N. Harada, H. Tsukada, N. Oku: Development of double-stranded siRNA labeling method using positron emitter and its *in vivo* trafficking analyzed by positron emission tomography. *Bioconjug. Chem.*, 21, 756-763 (2010)
5. Y. Katanasaka, T. Ishii, T. Asai, H. Naitou, N. Maeda, F. Koizumi, S. Miyagawa, N. Ohashi, N. Oku: Cancer antineovascular therapy with liposome drug delivery systems targeted to Bip/GRP78. *Int. J. Cancer*, 127, 2685-2698 (2010)
6. Y. Murase, T. Asai, Y. Katanasaka, T. Sugiyama, K. Shimizu, N. Maeda, N. Oku: A novel DDS strategy, "dual-targeting", and its application for antineovascular therapy. *Cancer Lett.*, 287, 165-171 (2010)



#### 4 研究領域 4

### 代謝性疾患リスク予測バイオマーカーの妥当性評価と応用 Validation and application of biomarkers for risks of metabolic diseases

**合田 敏尚 Toshinao GODA** 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻栄養生理学研究室 教授  
Professor, Laboratory of Nutritional Physiology, Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



#### Profile

2007年 静岡県立大学食品栄養科学部教授  
1999年 静岡県立大学食品栄養科学部助教授  
1987年 静岡県立大学食品栄養科学部助手  
1985年 アリゾナ大学医学部小児科研究助教授  
1984年 アリゾナ大学医学部小児科博士研究員  
1984年 東京大学大学院医学系研究科博士課程修了  
1979年 東京大学医学部保健学科卒業

2007 Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1999 Associate Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1987 Instructor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1985 Research Assistant Professor, Department of Pediatrics, University of Arizona  
1984 Research Associate, Department of Pediatrics, University of Arizona  
1984 Ph.D., Graduate School of Health Sciences, University of Tokyo  
1979 Graduate from School of Health Sciences, Faculty of Medicine, University of Tokyo

#### Contact

T E L 054 264 5533  
+81 54 264 5533  
e-mail gouda@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/nutrphys

#### 序論

個人に対応した食事や食品選択法を設計するためには、糖尿病や肥満症などの代謝性疾患の発症・進展リスクと密接に関連することが明確な代謝状態の変化を検出し、その変化を効果的にモニターできる実用的なバイオマーカーを考案することが不可欠である。多くの代謝性疾患の発症・進展には、炎症が重要な役割を果たすことが明らかになってきたので、本研究では、ニュートリゲノミクスアプローチにより、食後高血糖などの代謝状態の攪乱に伴う炎症を評価するためのバイオマーカーを探し、その妥当性を検証した。

#### 成果

糖尿病モデルラットの末梢白血球における遺伝子発現をマイクロアレイで解析すると、IL-1 や炎症性サイトカインをコードする遺伝子の発現増大が観察された。耐糖能低下モデルラットにスクロースを投与すると、これらの遺伝子発現は3時間以内に2倍に増大した。この遺伝子発現増大は、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤ミグリトールの同時投与によって完全に抑制された。また、2型糖尿病患者にミグリトールを3か月間投与して食後高血糖を抑制すると、末梢白血球におけるIL-1 やTNF- $\alpha$ やS100タンパク質などの炎症性サイトカイン/サイトカイン様因子の遺伝子発現が有意に低下した。それゆえ、末梢白血球におけるIL-1 やS100タンパク質のmRNA発現量は、急性および慢性の高血糖の履歴を示す感度の高いバイオマーカーであることが示唆された。一方、40-69歳の日本人男性健診受診者の調査研究から、血漿中のALT値は内臓脂肪蓄積の最も強い説明因子であるのに対し、血漿のIL-1値と $\gamma$ -GTP値は、高血糖や酸化傷害を介して引き起こされる炎症状態を示す指標であることが示唆された。

#### 展望

本研究により提案された実用的なバイオマーカーは、健常者や境界領域者における糖尿病および代謝性疾患のリスクを評価するとともに、そのリスクに及ぼす行動変容や機能性食品成分の摂取の影響をモニターし、その有効性を予測するために開発されたものであり、多くの臨床試験に適用できる十分に感度の高いものであると考えられる。

#### Introduction

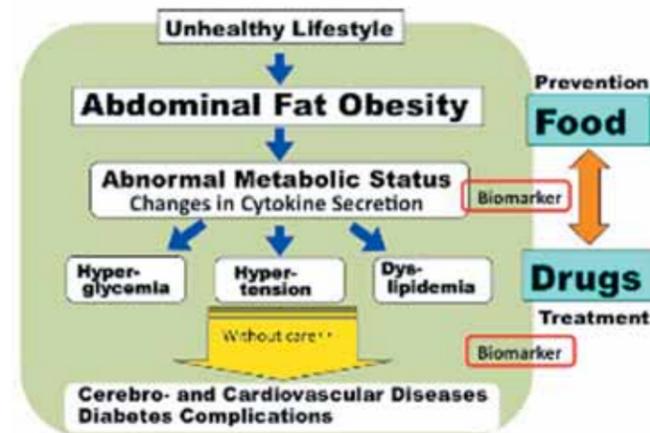
To design a personalized dietary practice and food choice, it is essential to develop practical biomarkers to be effective in detecting and monitoring a change in metabolic state, which should be closely related with the risk of the onset and development of metabolic diseases such as diabetes and obesity. Because inflammation is known to be a key factor for the progression of many metabolic diseases, we have used nutrigenomic approach to seek biomarkers in the peripheral leukocytes for assessment of inflammation related to metabolic disturbance including postprandial hyperglycemia, and we examined the validity of the proposed biomarkers.

#### Results

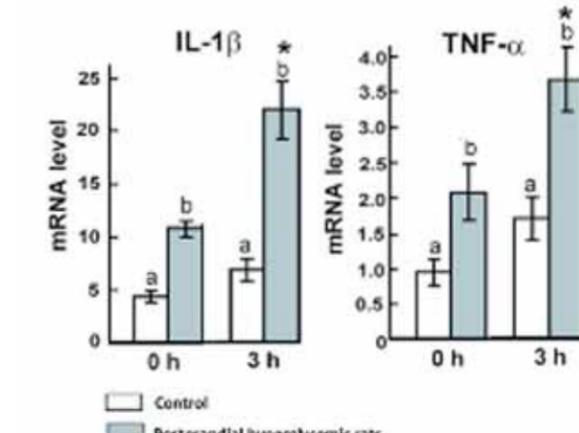
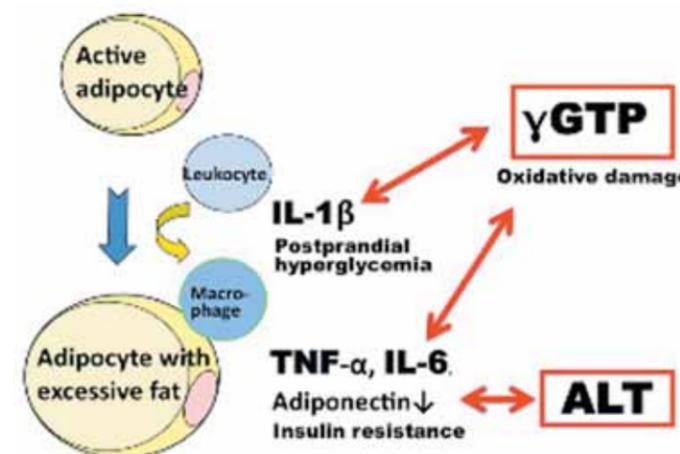
Microarray analysis of the genes in peripheral leukocytes showed a greater expression of genes coding IL-1 $\beta$  and other putative inflammatory cytokines in hyperglycemic diabetic rats. Oral sucrose loading in rats with mild glucose intolerance led to a two-fold increase in IL-1 $\beta$  gene expression in peripheral leukocytes within 3h, which was abolished by addition of an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, miglitol to the solution. A clinical trial in type 2 diabetes patients showed that administration of miglitol for 3 months caused a significant reduction of the gene expression of inflammatory cytokines/cytokine-like factors including IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and S100 proteins in peripheral leukocytes. Thus, the mRNA levels of IL-1 $\beta$  and S100 proteins in peripheral leukocytes are sensitive biomarkers for acute and chronic hyperglycemic history. Cross-sectional studies of Japanese men aged 40-69 years, who participated in health check-up, suggested that plasma level of ALT is the strongest explanatory variable for increased visceral fat, while the plasma levels of IL-1 $\beta$  and  $\gamma$ -GTP are markers for inflammation, presumably caused by hyperglycemia and/or production of reactive oxygen species.

#### Perspectives

The practical biomarkers proposed in this study may be sensitive enough to apply for clinical trials to monitor and predict the effects of behavior changes and/or functional food factors on the risks of diabetes and metabolic diseases in apparently healthy subjects.



【図1】  
バイオマーカーに焦点をあてた代謝性疾患ならびに関連リスク因子  
【Figure 1】  
Metabolic diseases and related risk factors with respect to biomarkers



【図2】  
スクロース投与による食後高血糖は末梢白血球における炎症関連サイトカイン遺伝子の発現を高める。  
平均値±標準誤差(n = 5)  
\* 投与前に比べてP< 0.05で有意差あり。a-b: 対照群に比べてP< 0.05で有意差あり。  
(Tanakaら, Br. J. Nutr., 2009)  
【Figure 2】  
Postprandial hyperglycemia causes increases in inflammatory cytokine gene expression in peripheral leukocytes following oral sucrose load.  
Means±SEM for 5 rats are shown.  
\* P< 0.05 compared with the basal level. a-b: P< 0.05 compared with control.  
(Tanaka et al., Br. J. Nutr., 2009)

【図3】  
代謝性疾患による炎症関連リスクに対する実用的なバイオマーカーの提案  
【Figure 3】  
Proposed practical biomarkers for inflammation-mediated risks of metabolic diseases.

#### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. K. Mochizuki, Y. Misaki, R. Miyauchi, S. Takabe, M. Shimada, N. Miyoshi, Y. Ichikawa, T. Goda: Circulating interleukin-1 $\beta$  and interleukin-6 concentrations are closely associated with  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase activity in middle-aged Japanese men without obvious cardiovascular diseases. *Metabolism*, in press (2011)
2. T. Osonoi, M. Saito, K. Mochizuki, N. Fukaya, T. Muramatsu, S. Inoue, M. Fuchigami, T. Goda: The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol decreases glucose fluctuations and inflammatory cytokine gene expression in peripheral leukocytes of Japanese patients with type 2 diabetes. *Metabolism*, 59, 1816-1822 (2010)
3. Y. Misaki, R. Miyauchi, K. Mochizuki, S. Takabe, M. Shimada, Y. Ichikawa, T. Goda: Plasma interleukin-1 $\beta$  concentrations are closely associated with fasting blood glucose levels in healthy and preclinical middle-aged nonoverweight and overweight Japanese men. *Metabolism*, 59, 1465-1471 (2010)
4. N. Fukaya, K. Mochizuki, Y. Tanaka, T. Kumazawa, Z. Jjuxin, M. Fuchigami, T. Goda: The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol delays the development of diabetes and dysfunctional insulin secretion in pancreatic  $\beta$ -cells in OLETF rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 624, 51-57 (2009)
5. Y. Tanaka, K. Mochizuki, N. Fukaya, M. Shimada, T. Goda: The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol suppresses postprandial hyperglycemia and IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  gene expression induced in rat peripheral leukocytes by intermittent sucrose loading. *Br. J. Nutr.*, 102, 221-225 (2009)

## 食糧と機能性成分生産のための植物の改良

## Engineering of plants for production of provisions and nutraceuticals

小林 裕和 Hirokazu KOBAYASHI

Professor, Laboratory of Plant Molecular Improvement, Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences

生活健康科学研究科食品栄養科学専攻  
植物機能開発研究室 教授

## Profile

2006- 静岡県立大学生生活健康科学研究科長  
2011年  
2003年 静岡県立大学生生活健康科学研究科教授  
1993年 岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研究所客員助教(兼任)  
1991年 静岡県立大学生生活健康科学研究科助教授  
1984年 名古屋大学アイトープ総合センター助手  
1983年 八戸大学生物学教室日本学術振興会海外特別研究員  
1982年 名古屋大学大学院農学研究科博士課程修了  
1977年 鳥取大学農学部卒業

2006- 2011 2003 2003 1993 1991 1984 1983 1982 1977  
Dean, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka  
Professor, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka  
Associate Professor (Adjunct), National Institute for Basic Biology  
Associate Professor, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka  
Research Associate, Radioisotope Research Center, Nagoya University  
JSPS Postdoctoral Fellow for Research Abroad, Biological Laboratories, Harvard University  
Ph.D., Plant Biochemistry, Graduate School of Agriculture, Nagoya University  
Graduate, Faculty of Agriculture, Tottori University

## Contact

T E L 054 264 5582  
+81 54 264 5582  
e-mail hirokoba@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/pctech/

## 序論

18世紀後半以降、世界人口は5倍に増大し、その結果、食糧危機や環境汚染が深刻化している。また、日本は世界の最長寿国であり、老人人口はここ20年間で倍増した、これに伴い生活習慣病が大きな社会的問題となってきた。このような状況において、「植物」に注目が払われるべきであろう。植物は、食物連鎖の頂点に位置する人類にとって、直接的かつ間接的な主たる食糧源であり、生活習慣病を予防する機能性成分あるいはバイオ燃料の生産、また環境保全に欠くことのできない資源である。このような植物の重要性は、植物に特徴的な細胞内小器官である「葉緑体」の光合成機能に依存する。一方、塩析出土壌は、世界規模ではアメリカ合衆国の国土面積に匹敵し、さらにその被害は拡大し続けている。植物の活用を目指し、葉緑体の機能構築および塩適応の制御機能について研究した。

## 成果

遺伝子操作は植物を改良する上で最も強力な方法論である。しかしながら、社会に受け入れられる技術革新が望まれる。動物が同化できない分岐鎖アミノ酸の生合成に必要なアセト乳酸合成酵素(ALS)の遺伝子に注目し、これに変異を導入後、各種除草剤との組み合わせにおいて、核形質転換の選択マーカーあるいは葉緑体に代表されるプラスチドの形質転換における維持マーカー(Fig.1)として使用した。一方、光合成電子伝達における不均衡は、光化学系(PS)とIIのアポタンパク質遺伝子の発現比の光制御により是正される。プラスチドRNAポリメラーゼの主たる因子(SIG1)は、電子伝達系プラストキノン(PQ)のレドックスに反応し、この制御において重要な役割を演じていた(Fig.2)。塩応答に関し、光合成成長塩耐性突然変異系統(pst)等を選抜した。DNAマイクロアレイ解析により、pst2における転写因子bHLH19の高発現を見いだした。さらに、bHLH19遺伝子を強制発現させることにより、シロイヌナズナへの塩耐性付与に成功した(Fig.3)。

## 展望

アメリカ合衆国農務省は、2011年7月に、パーティクルガンによりすべて植物由来の遺伝子を導入した芝を遺伝子組換えの規制外とする判断を下した。この判断は、同一の基準で進めてきた葉緑体機能増強や塩耐性付与、さらに機能性成分強化を指向する本研究を支持し、さらに社会貢献に結び付けるものである。

## Introduction

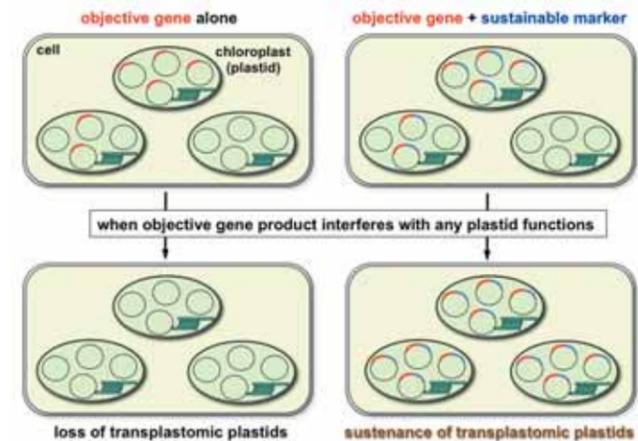
The world's population has increased about 5-fold since the late 18th century, resulting in problems of food scarcity and environmental pollution. Meanwhile, the aged population in Japan having doubled in the past two decades, it is now the most aged country in the world, magnifying the problem of lifestyle-related illnesses. We need to assess plants that are major sources necessary for foods directly or indirectly through food chains, nutraceuticals that can protect against lifestyle-related illnesses, and biofuels. Plants derive these capacities from photosynthetic activity in chloroplasts in their intracellular compartments. On the other hand, salt accumulated on soil surfaces is a serious problem; globally salt-affected areas are presently collectively the size of the entire United States and expanding. We focused on the aspects of applications of regulation of biogenesis of chloroplasts and adaptation to environmental stresses such as salt.

## Results

Genetic engineering is the most powerful methodology for improving plants if it achieves acceptance by consumers. We mutagenized the gene for acetolactate synthase (ALS), a key enzyme in biosynthesis of branched chain amino acids that animals cannot assimilate, and used it in combination with herbicides as a selectable marker for nuclear transformation or a sustainable marker for transformation of plastids including chloroplasts (Fig. 1). Imbalances in photosynthetic electron transfer are corrected by light control of the rate of expression of genes encoding apoproteins of photosystem (PS) I and II. We found that the major sigma factor in plastid RNA polymerase, SIG1, plays a crucial role in regulation of expression of those genes in response to the redox state of plastoquinone (PQ), which is a connecting electron carrier (Fig. 2). We screened *photoautotrophic salt tolerance* (*pst*) mutants and others, and found greater expression of basic helix-loop-helix 19 (bHLH19) by DNA microarray analysis in the *pst2* mutant. Over-expression of the alternatively-spliced mRNA species of *bHLH19* results in transgenic *Arabidopsis* that is more tolerant to salt than the wild type (Fig. 3).

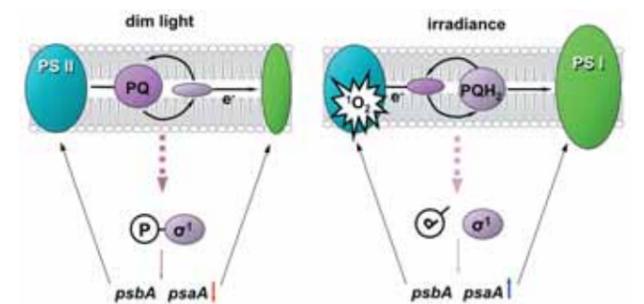
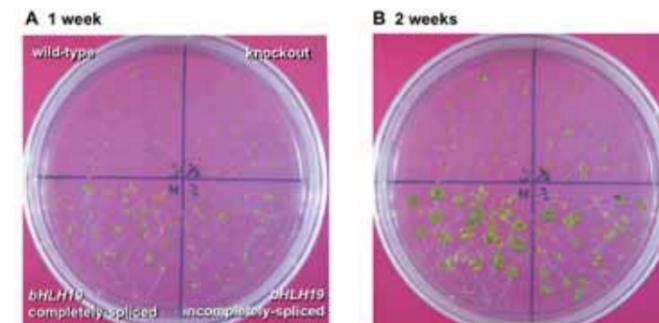
## Perspectives

The US Department of Agriculture has recently announced that it does not regulate a kind of transgenic grass made with all plant-derived genes by particle bombardment. This provides encouragement for all our trials involving such elements, our trials being directed toward improving plants by enhancing chloroplast function and salt tolerance, as well as enrichment with nutraceuticals.



[図1] タバコ形質転換プラスチドの維持マーカーとしての植物由来変異型ALS (mALS) 遺伝子の役割。本法は、レタスにも適用され得る。

[Figure 1] Role of sustainable markers in genetically engineered plastid (transplastomic) lines of tobacco. We employed plant-derived mutated ALS (mALS) genes. This strategy is applicable to vegetables such as lettuce.



[図2] SIG1 (σ1) のリン酸化を介した葉緑体遺伝子発現の光制御。PQのレドックス状態は、光の強度と波長によって変わる。PS反応中心アポタンパク質遺伝子psaAは、PQH<sub>2</sub>により誘導され、酸化型PQにより抑制される。一方、PS反応中心D1タンパク質遺伝子psbAの発現は、PQレドックスへの依存性が低いため、強光下において活性酸素の発生が回避される。

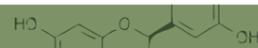
[Figure 2] Light control of chloroplast gene transcription via phosphorylation of SIG1 (σ1). The intensity and wavelength of light changes the redox status of PQ. Expression of *psaA*, encoding the apoprotein of the PS I reaction center, is induced by PQH<sub>2</sub> and repressed when PQ is oxidized. Expression of *psbA*, encoding the D1 protein of the PS II reaction center, is less affected by the redox status, thus no reactive oxygen species were generated under irradiant conditions.

[図3] bHLH19遺伝子導入シロイヌナズナの塩耐性。“wild-type”、野生系統Col-0; “knockout”、bHLH19遺伝子破壊系統; “completely-spliced”および“incompletely-spliced”、bHLH19 cDNA高発現系統。これらの系統は、75 mM NaCl含有Murashige-Skoog培地において、表記の期間培養された。

[Figure 3] Salt-tolerance of *Arabidopsis* lines transgenic with bHLH19 gene. We generated “wild-type”, Col-0; “knockout”, bHLH19 knocked-out; and “bHLH19 completely-spliced” and “bHLH19 incompletely-spliced”, bHLH19 cDNA from alternatively spliced mRNA species. We grew these lines during the indicated periods after sowing on Murashige-Skoog solid medium containing 75 mM NaCl.

## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. M. Shimizu, K. Kawai, K. Kaku, T. Shimizu, and H. Kobayashi: Application of mutated acetolactate synthase genes for herbicide resistance to plant improvement. In "Herbicides, Theory and Applications" (S. Soloneski, and M. L. Larramendy, eds.), *InTech*, pp. 193-212 (2011)
2. M. Shimizu, H. Kato, T. Ogawa, A. Kurachi, Y. Nakagawa, and H. Kobayashi: Sigma factor phosphorylation in the photosynthetic control of photosystem stoichiometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 10760-10764 (2010)
3. A. Ahmad, I. Kaji, Y. Murakami, N. Funato, T. Ogawa, M. Shimizu, Y. Niwa, and H. Kobayashi: Transformation of *Arabidopsis* with plant-derived DNA sequences necessary for selecting transformants and driving an objective gene. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 73, 936-938 (2009)
4. M. Shimizu, M. Goto, M. Hanai, T. Shimizu, N. Izawa, H. Kanamoto, K.-I. Tomizawa, A. Yokota, and H. Kobayashi: Selectable tolerance to herbicides by mutated acetolactate synthase genes integrated into the chloroplast genome of tobacco. *Plant Physiol.*, 147, 1976-1983 (2008)



## 6 研究領域2

# 機能的グリコミクスによる感染症の克服 Control of infectious disease by functional glycomics

鈴木 隆 Takashi SUZUKI

薬学研究科薬学専攻生化学教室 教授

Professor, Department of Biochemistry, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



## Profile

2006年 静岡県立大学薬学部教授  
1996年 静岡県立大学薬学部助教授  
1998年 米国St. Jude Children's Research Hospital客員研究員(文部省在外研究員)  
1994年 静岡県立大学薬学部講師  
1991年 静岡県立大学薬学部助手  
1984年 株式会社研究員  
1984年 静岡薬科大学薬学研究科博士課程修了  
1979年 静岡薬科大学卒業

2006 Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1996 Associate Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1998 Visiting Scholar, Department of Virology and Molecular Biology, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis  
1994 Assistant Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1991 Research Associate, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1984 Researcher, Shino Test Institute  
1984 Ph.D., Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Shizuoka College of Pharmacy  
1979 Graduate from Shizuoka College of Pharmacy

## Contact

T E L 054 264 5725  
+81 54 264 5725  
e-mail suzuki@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/biochem/

## 序論

インフルエンザA型ウイルス(IAV)のシアル糖鎖結合性は、ウイルスの感染性や宿主域を規定する重要な因子の一つと考えられているが、IAVがシアル酸分子種をどのように見分けているのかほとんど明らかになっていない。また、IAVはウイルスの分離に汎用されているMDCK細胞などの上皮細胞に豊富に存在する硫酸化糖脂質の一種であるスルファチドに結合性を示すが、ウイルス感染におけるスルファチドの役割はこれまで不明であった。本研究では、H3型hemagglutinin(HA)についてシアル酸分子種の認識に関わるアミノ酸を同定するとともに、子孫ウイルスの産生にsulfatideが重要な役割をもつことを明らかにした。さらに、食品成分の抗ウイルス作用を評価するため、柑橘類由来成分から調製されたglucosyl hesperidin(GH)と緑茶に含まれるstrictininの抗インフルエンザウイルス作用について検討した。

## 成果

- H3型hemagglutinin(HA)の155番目のThrからTyrへのアミノ酸変異と158番目のGluからGlyへのアミノ酸変異が、5-N-acetylneuraminic acid( Neu5Ac)と5-N-glycolylneuraminic acid( Neu5Gc)の認識に重要であることが判明した(図1)。
- sulfatideを欠損するCOS-7細胞にceramide galactosyltransferaseとcerebroside sulfotransferaseの遺伝子を導入することで、sulfatideを恒常的に発現させた変異細胞を作製し、IAVの感染増殖性を比較した結果、IAVの吸着や侵入に相違は認められなかったにもかかわらず、sulfatide発現細胞から産生された新生ウイルス量は、COS-7細胞と比較して数千倍に増加することが判明した(図2)。さらに、感染細胞内で新たに合成されたウイルスヘマグルチニン(hemagglutinin:HA)は細胞膜表面へ移行後、細胞膜のsulfatideと結合することで、ウイルス核酸タンパク質複合体の核外輸送を誘導し、新生ウイルスの粒子形成を促進していることを見出した。また、sulfatideとHA間の結合を阻害する抗sulfatide単クローナル抗体は、ウイルスの亜型を問わず、強力なウイルス増殖抑制効果とウイルスNPの核外輸送阻害効果を示すことが判明した。
- GHはIAVのシアルダーゼ活性を阻害することで、in vitroにおいてIAV感染を阻害することが判明した。
- strictininはfusion過程を阻害することでIAVに対し強力な抗ウイルス作用を示した(表1)。

## 展望

本研究の成果は、インフルエンザウイルスの伝播機構、宿主域を規定する要因、パンデミックの発生におけるシアル酸分子種の重要性和sulfatideの機能を理解するために寄与するだけでなく、抗インフルエンザ剤の開発や新たなパンデミックの監視のために有益な情報を提供するものと思われる。

## Introduction

The binding specificity of influenza A virus (IAV) for sialyloligosaccharide moieties on the cell surface is a critical factor determining the ability to infect different host species. However, the molecular mechanism of H3 hemagglutinin (HA) specificity for two major molecular species of sialic acid, 5-N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) and 5-N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc) is not clear. Sulfatide, which binds to IAV, is abundantly expressed in various mammalian organs, including the intestine and trachea. However, the function of sulfatide in IAV infection remains unknown.

We determined which amino acid residues contribute to recognition of molecular species of sialic acid and demonstrated that sulfatide is critical in enabling host cells to produce progeny viruses. We also examined the antiviral effects of glucosyl hesperidin and strictinin on the replication of IAVs *in vitro*.

## Results

We found that single amino acid substitutions of H3 HA at position 155 from Thr to Tyr and at position 158 from Glu to Gly play a critical role in recognition of two major molecular species of sialic acids (Fig. 1).

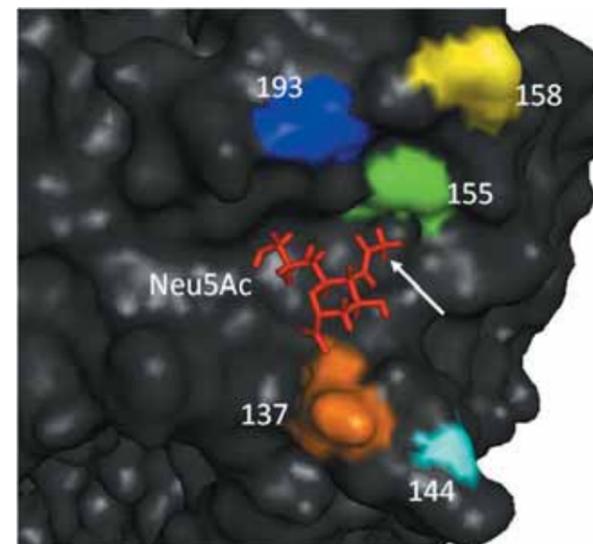
We also found that sulfatide-enriched COS-7 cells remarkably promote multiple replications of IAV in comparison with parent COS-7 cells, in which little replication of IAV occurs (Fig. 2). Delivering HA to the cell surface in association with sulfatide induces translocation of newly synthesized IAV ribonucleoprotein complexes from the nucleus to cytoplasm. Treatment of IAV-infected cells with an anti-sulfatide monoclonal antibody, which blocks the binding of IAV and sulfatide, resulted in significant reduction in IAV replication and accumulation of the viral nucleoprotein in the nucleus.

GH prevented IAV replication by inhibition of viral sialidase activity, which is involved in the entry and release stages of IAV infection.

Strictinin had an antiviral effect on enveloped viruses, including IAV, which was mediated by inhibition of viral fusion (Table 1).

## Perspectives

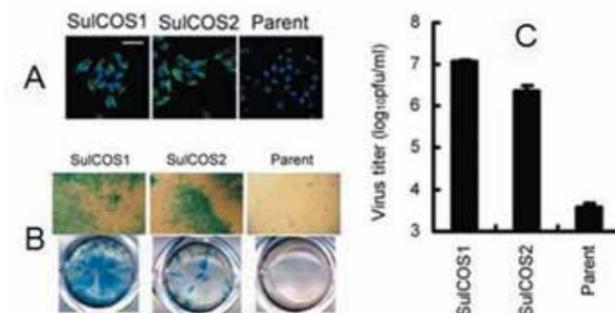
Our findings will be helpful in understanding the significance of molecular species of sialic acid and the role of sulfatide in viral transmission, host range restriction, and pandemics, and provides useful information for the development of anti-influenza virus agents and surveillance of pandemic potential.



【図1】シアル酸のHA受容体結合領域シアル酸分子の種認識に関わるアミノ酸の部位を示している。矢印はNeu5AcのN-アセチル基である。このモデルはPyMol分子画像表示システム1.1r1 (Delano Scientific LLC.)で作成した。

【Figure 1】Receptor-binding pocket with sialic acid. This shows the location of altered residues within and neighboring the receptor-binding pocket with sialic acid. The arrow indicates the N-acetyl group of Neu5Ac. We generated the model by using PyMol Molecular Graphics System 1.1r1 (Delano Scientific LLC.).

Strain	Strictinin		EGCG		Amantadine	
	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μM)	SI <sup>b</sup>	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μM)	SI <sup>b</sup>	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μM)	SI <sup>b</sup>
A/Memphis/1/71 (H3N2)	0.17 ± 0.024	30	0.52 ± 0.039	15	3.18 ± 0.095	N.D. <sup>c</sup>
A/Aichi/2/68 (H3N2)	0.19 ± 0.042	26.8	0.35 ± 0.033	22.3	0.62 ± 0.107	N.D. <sup>c</sup>
A/Duck/HK/313/4/78 (H5N3)	0.22 ± 0.017	23.2	0.55 ± 0.056	14.2	0.59 ± 0.089	N.D. <sup>c</sup>
A/Shizuoka/838/2009 (Pandemic H1N1)	0.09 ± 0.021	56.7	0.12 ± 0.019	65	>50	N.D. <sup>c</sup>
A/PR/8/34 (H1N1)	0.28 ± 0.037	18.2	N.D. <sup>c</sup>	N.D. <sup>c</sup>	N.D. <sup>c</sup>	N.D. <sup>c</sup>
A/swine/Hokkaido/10/85 (H3N2)	0.24 ± 0.022	21.3	N.D. <sup>c</sup>	N.D. <sup>c</sup>	N.D. <sup>c</sup>	N.D. <sup>c</sup>



【図2】スルファチド発現COS-7細胞におけるインフルエンザウイルスの増殖性(A)共焦点レーザー顕微鏡によるスルファチド発現細胞(SulCOS1, SulCOS2)と親株細胞のスルファチド(緑色)と核(青)の蛍光染色像を示す。図中の白線の長さは50 μm。ウイルスの増殖性(下段):ウイルス感染細胞が青緑に染色されている。(B) IAV感染24時間後におけるウエル内のウイルス感染増殖細胞(下段:青色)とその光学顕微鏡像(上段:緑色、倍率40倍)を示す。(C)多段階増殖により産生されたIAV感染細胞培養上清中のウイルス量を示す。ウイルス量はブランクアッセイにより算出した。

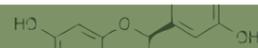
【Figure 2】Multiple replications of IAV in sulfatide-enriched COS-7 cells. (A) Fluorescent observation of sulfatide (green) and nucleus (blue) in sulfatide-enriched cell clones and parent cells. Scale bar is 50 μm. (B) Observation of infected cells (blue) in a well (lower panel) or under an optical microscope at a magnification of x40 (upper panel) at 24 h postinfection. (C) We measured virus multiple replication titers in the supernatant from infected cells of (B) by a plaque assay.

【表1】A型インフルエンザウイルスに対するstrictinin, EGCG及び amantadineの抗ウイルス作用の比較。50%阻害濃度(IC<sub>50</sub>)はウイルス感染細胞のフォーカスフォーミングアッセイにより算出し、平均値±平均値の標準誤差で表した。選択指数(SI)は50%細胞毒性濃度の平均値をIC<sub>50</sub>の平均値で除した値を示している。\*N.D.は測定していないことを示している。

【Table 1】Anti-viral activity of strictinin, epigallocatechin gallate, and amantadine against IAV strains. Virus-infected cells were determined by a focus-forming assay and the concentration causing 50% inhibition of antigen-positive cell number (IC<sub>50</sub>) calculated from the dose-response curve. IC<sub>50</sub> is presented as mean ± S.E.M. (n = 3). Selectivity index (SI) is presented as the ratio of 50% cytotoxic concentration to IC<sub>50</sub>. \*N.D., not determined.

## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

- A. Minami, H. Shimizu, Y. Meguro, N. Shibata, H. Kanazawa, K. Ikeda, T. Suzuki: Imaging of sialidase activity in rat brain sections by a highly sensitive fluorescent histochemical method. *NeuroImage*, 58, 34-40 (2011)
- T. Takahashi, Y. Kurebayashi, K. Ikeya, T. Mizuno, K. Fukushima, H. Kawamoto, Y. Kawaoka, Y. Suzuki, T. Suzuki: The low-pH stability discovered in neuraminidase of 1918 pandemic Influenza A Virus enhances virus replication. *PLoS One* 5 (12), e15556 (2010)
- R. K. Saha, T. Takahashi, Y. Kurebayashi, K. Fukushima, A. Minami, N. Kinbara, M. Ichitani, Y. M. Sagesaka, T. Suzuki: Antiviral effect of strictinin on influenza virus replication. *Antiviral Res.* 88, 10-18 (2010)
- T. Takahashi, A. Hashimoto, M. Maruyama, H. Ishida, M. Kiso, Y. Kawaoka, Y. Suzuki, T. Suzuki: Identification of amino acid residues of influenza A virus H3 HA contributing to the recognition of molecular species of sialic acid. *FEBS Lett.* 583, 3171-3174 (2009)
- R. K. Saha, T. Takahashi, T. Suzuki: Glucosyl hesperidin prevents influenza A virus replication *In vitro* by inhibition of viral sialidase. *Biol. Pharm. Bull.* 32, 1188-1192 (2009)
- T. Takahashi, K. Murakami, M. Nagakura, H. Kishita, S. Watanabe, K. Honke, K. Ogura, T. Tai, K. Kawasaki, D. Miyamoto, K. I. P. J. Hidari, C.-T. Guo, Y. Suzuki, T. Suzuki: Sulfatide is required for efficient replication of influenza A virus. *J. Virol.*, 82, 5940-5950 (2008)



## 7 研究領域2

# 植物の遺伝子情報を利用した新機能タンパクの作出 Generating an Array of Novel Compounds by the Engineered Type III Polyketide Synthase

野口 博司 Hiroshi NOGUCHI

薬学研究科薬学専攻生薬学教室 教授

Professor, Laboratory of Pharmacognosy, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



## Profile

2000-2004年 静岡国立大学薬学研究所長  
2004年 静岡国立大学薬学部教授  
1995年 静岡国立大学薬学部講師  
1994年 東京大学薬学部講師  
1985年 米国ロードアイランド州プロビデンス、ブラウン大学化学科博士研究員  
1984年 カガ国立バーカウエドモント、アルバータ州立大学化学科博士研究員  
1979年 東京大学薬学部助手  
1977年 東京大学薬学部薬学研究所修士課程修了  
1975年 東京大学薬学部薬学科卒業

2000-2004年 Dean of Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1995年 Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1994年 Lecture, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo  
1981年 Ph. D., Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo  
1980年 Research Associate, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo  
1977年 M. Sc., Ph.D., Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo  
1975年 B. Sc., Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo

## Contact

T E L 054 264 5664  
+81 54 264 5664  
e-mail noguchi@mail.u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/shoyaku/

## 序論

医薬品資源を高等植物に負っていることは、全処方中25%以上の医薬品は高等植物成分を含んでいるという事実の示す通りである。在来高等植物成分の多くは既に探索され尽くしたとする説もあったが、微量で精査を免れていたものの少ないことが却って明らかになりつつある。高等植物成分は近未来において医薬品をはじめとする有用物質の探索源・供給源として最も有望視されるケミカルプールであることは疑う余地はないが、未開拓生物資源を探索する従来型のアプローチには、探索労力の割にヒット数が減少するなど様々な問題のあることが顕在化している。

天然物の構造多様性を創出する生合成鍵反応を担う酵素の生物多様性に基づく機能多様性を、組換え酵素の考案あるいは人工基質の適用によって拡大し、新規化合物ライブラリーが構築できると考えた。

## 成果

高等植物の成分の中でも最も特徴的とされてきたフラボノイドの骨格構築酵素として知られ、現在はIII型ポリケチド合成酵素(PCS)の一つに分類されるカルコン合成酵素(CHS)とそのホモログに焦点を絞り検討を開始した。まずカルコンを生合成するCHS(プロトタイプCHS)に、非生理的基質と鎖伸長単位のマロニルCoAを与えると芳香環を形成し新規化合物の生じることを示した。同様に実験を実施すると、スチルベン合成酵素を含めた各種III型PKSは多様な基質を受容し多様な新規化合物を産生することが判明した。次にフラボノイドやスチルベンのみならずナフトレン・アントラセン誘導体を生成するダイオウのIII型PKS遺伝子を探索したところ、生姜などショウガ科の成分やラズベリーの香り成分であるC6-C4型の化合物を与えるIII型PKS遺伝子の単離に成功した。本遺伝子による形質転換シロイヌナズナについて成分研究と環境への影響も検討した。ダイオウやアロエよりアセチルCoAあるいはマロニルCoAを開始基質として6つのマロニルCoAを縮合し、芳香環を与えるPKS(アロエソニン合成酵素ALS)を手始めとして、それらの植物種内の遺伝子ファミリーのコードする酵素の触媒機能を検討し、X線結晶解析データのあるムラサキウマゴヤシの典型的PKS、CHSIIにおいてはアミノ酸残基番号で197番目に相当するアミノ酸残基の種類がポリケチド鎖長の制御に関わり、338番目に相当するアミノ酸残基が開始基質の大きさを決定している可能性を示した。アロエからは2メチルクロモンを生合成するPKS遺伝子(PCS)の単離と、8つのマロニルCoA縮合して形式的にはオクタケチド、即ちセンノシドやパルバロインと基本的には同様の大きさのポリケチドを生合成するPKS遺伝子(OKS)を得、組換え酵素体において、酵素機能の変換とこれまで知られていなかった12個の縮合数を達成できる組換え酵素体の確保ができた。

## 展望

III型PKSについては、このファミリーが果たしてナフトレンの様な縮合環系や、フラノイド類の生合成にも関わっているのかどうか、あるいはアクリジン以外のアルカロイドのポリケチド由来部分の生合成に関わっているのかを明らかにすることが今後の一つの課題である。これまでの検討から、生物多様性に依拠した情報に基づく、則ちバイオインフォマティクスに基づくとも言えるが、合理的なアミノ酸残基の置換により生成物特異性の異なる合成酵素をデザインし、基質の分子設計と組み合わせて新規骨格の作出が可能となった。そしてこのような酵素をコードする遺伝子を植物に導入することにより、高効率かつ環境に優しい新規化合物ライブラリー作成が実現するであろう。

## Introduction

Although approximately half of the drugs currently in clinical use were originally naturally derived, many pharmaceutical companies are now neglecting the development of natural products as potential drug candidates in favor of high-throughput synthesis of large compound libraries. This is probably because the traditional process of natural product drug discovery was slow, inefficient, and labor intensive, and it did not guarantee that a lead from screening would be chemically workable in quantity or even patentable. An alternative approach to drug discovery lies in combinatorial biosynthesis, which is an application of molecular skeleton constructing enzymes involved in secondary metabolism to create an array of novel compounds. This method offers access to a pre-selected range of fairly structurally complicated molecules based around a common core, which is a biosynthetic intermediate, enables compound libraries to be generated in a relatively short time.

## Results

Flavonoids, which are a class of plant specific natural products involved in various health-promoting effects in humans, are biosynthesized through the intermediacy of chalcone skeleton from phenylpropionyl-CoAs and malonyl-CoA via the action of a plant type III PKS or chalcone synthase (CHS). Using the prototype CHS, the enzyme known to be promiscuous with substrates, novel products were synthesized using aromatic, aliphatic and fluorinated starter units to create an array of tri- and diketide by-products as well as the expected fully formed chalcone and stilbene type structures. The engineering of novel compounds has been developed with both non-physiological starter and extender units to result novel products.

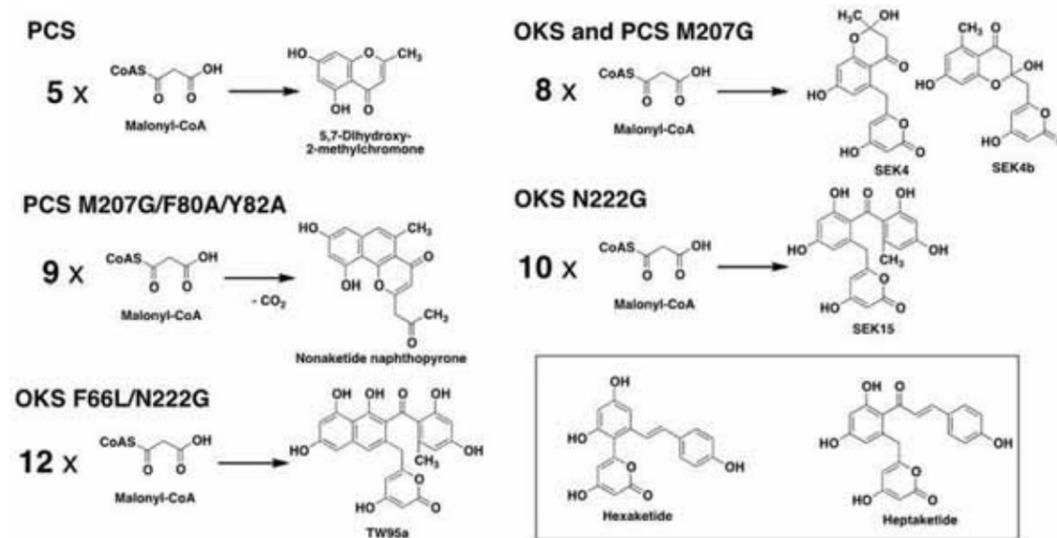
The three unprecedented type III PKSs cloned from medicinal plants (Rhubarb and Aloe) catalyze formation of an aromatic pentaketide (PCS), heptaketide (Aloesonesynthase) and octaketides (OKS). These three type III PKSs had interchanging functionality with one another by steric modulation of the chemically inert single to triple residues lining the active-site cavity accompanied by conservation of the Cys-His-Asn catalytic triad.

On the basis of the crystal structures of wild-type and M207G mutant of PCS, F80A/Y82A/M207G triple mutant has released an unnatural novel nonaketide naphthopyrone through the nine molecules of malonyl-CoA condensation. A homology model predicted that the active-site cavity volume of the triple mutant is increased to four times of that of the wild-type PCS. On the other hand, large-to-small Asn222G substitution at the bottom of the polyketide chain elongation tunnel, let to decaketide-producing enzyme from octaketide-producing OKS, resulting in the formation of unnatural decaketide benzophenone, SEK15 previously reported as a product of genetically engineered type II PKSs, and now the longest polyketide produced by the structurally simple type III PKS.

## Rerspectivess

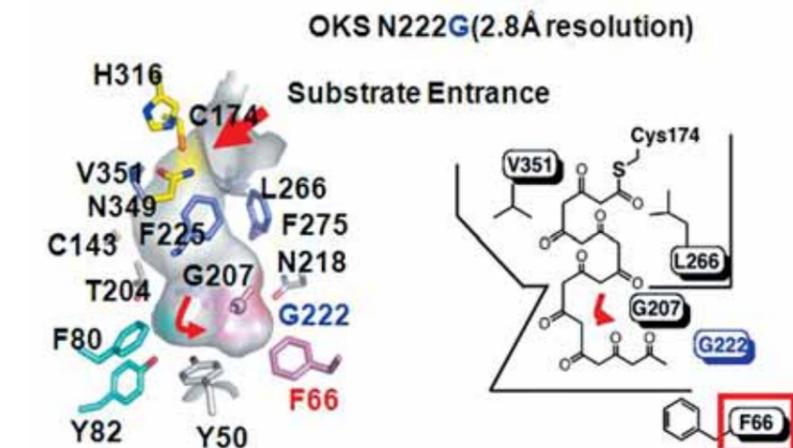
Further, in contrast to wild-type OKS, the OKS N222G mutant efficiently accepts p-coumaroyl-CoA as a starter, and yields the unnatural hexaketide stilbene and heptaketide chalcone as major products. Similar profile was also obtained when n-hexanoyl-CoA was used as a starter, and the heptaketide phloroglucinol was efficiently provided. Structure-based engineering of type III PKSs would thus lead to further production of chemically and structurally disparate unnatural novel polyketides. A homology model based on the N222G mutant predicted that the active-site cavity volume is increased to 748 Å<sup>3</sup> in the F66L/N222G double mutant to afford the dodecaketide naphthopyrone TW95a, which is known to be a product of the minimal type II PKS (*whiE* from *S. coelicolor*) and structurally related to the C20 decaketide benzophenone SEK15, the product of OKS N222G point mutant. This is the first demonstration of the production of the C24 dodecaketide by a structurally simple type III PKS.

With the knowledge of the detailed structures and functions of those enzymes, we can judiciously engineer "artificial" versions of the biosynthetic pathways linking to an artificial gene or a set of genes.



[Figure 1] III型ポリケチド合成酵素組換え酵素体による新規非天然型ポリケチド類

[Figure 1] Construction of novel unnatural polyketides by mutant PKS III

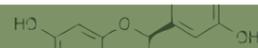


[Figure 2] 組換えオクタケチド合成酵素(OKS)の活性部位

[Figure 2] Active site cavity of OKS N222G mutant

## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. K. Wanibuchi, H. Morita, H. Noguchi, I. Abe; Enzymatic formation of an aromatic dodecaketide by engineered plant polyketide synthase, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 21(7), 2083 - 2086, (2011)
2. H. Morita, Y. Shimokawa, M. Tanio, R. Kato, H. Noguchi, S. Sugio, T., I. Abe; A structure-based mechanism for benzalacetone synthase from *Rheum palmatum*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(2), 669-73 (2010)
3. S. P. Shi, K. Wanibuchi, H. Morita, K. Endo, H. Noguchi and I. Abe; Enzymatic formation of unnatural novel chalcone, stilbene, and benzophenone scaffolds by plant type III polyketide synthase, *Organic. Lett.*, 10, 551-554 (2009)
4. I. Abe, H. Morita, S. Oguro, H. Noma, K. Wanibuchi, N. Kawahara, Y. Goda, H. Noguchi, and T. Kohno; Structure-based engineering of a plant type III polyketide synthase: formation of an unnatural nonaketide naphthopyrone, *J. Am. Chem. Soc.*, 129, 5976-5980 (2007)
5. H. Morita, S. Kondo, S. Oguro, H. Noguchi, S. Sugio, I. Abe, and T. Kohno; Structural insight into chain-length control and product specificity of pentaketide chromone synthase from *Aloe arborescens*, *Chemistry & Biology*, 14, 1-11, (2007)



8 研究領域 1

# 機能性食品の有効性と薬・食相互作用

## Efficacy and food-drug interaction of functional foods

山田 静雄 Shizuo YAMADA 薬学研究科医療薬学専攻薬物動態学教室 教授  
 Professor, Department of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Division of Clinical Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



### Profile

2011年 静岡県立大学理事兼副学長  
 2004年 静岡県立大学薬学部教授  
 1991年 静岡県立大学助教授  
 1978年 米国アリゾナ大学医学部博士研究員  
 1976年 静岡薬科大学 薬理学教室 助手  
 1976年 静岡薬科大学薬学研究科 博士課程修了

2011 Regent Professor and Chairman, Vice-president, University of Shizuoka  
 2004 Professor and Chairman, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
 1991 Associate Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
 1978 Postdoctoral Research Associate, College of Medicine, University of Arizona, U.S.A.  
 1976 Research Associate, Shizuoka College of Pharmacy  
 1976 Ph.D. (Pharmacology), Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Shizuoka College of Pharmacy

### Contact

T E L 054 264 5631  
 +81 54 264 5631  
 e-mail yamada@u-shizuoka-ken.ac.jp  
 U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/yakuzai/

### 序論

近年、補完代替医療の普及、高齢者人口の増加やセルフメディケーション意識の高揚などに伴い、健康増進や疾患の予防・治療を目的として機能性食品の利用者が増加している。高齢者では、医薬品と併用する機会が多く、生体機能を改善する機能性食品の利用は服薬量の減少、副作用の軽減や医療費の削減が期待できる一方、過剰摂取や医薬品との相互作用による有害事象も懸念される。我々は、機能性食品の有効性及び医薬品との併用について検証した。

### 成果

- 緑茶カテキンと医薬品との相互作用  
 緑茶カテキン類は、様々な健康増進作用を有することが報告され世界中で広く飲用されている。Werbaら(ミノウ大学医学部)は、イタリア人の原発性高脂血症患者において緑茶飲用により高脂血症治療薬のシンバスタチンの血中濃度が倍増し、副作用の横紋筋融解症状の発現を報告した。我々は、Werbaら及び浜松医科大学の渡邊裕司教授と共同で、日本人およびラットにおいて高カテキン類含有緑茶飲用がシンバスタチン血漿中濃度を有意に増加させることを確認した(図1)。またカテキン類がヒト肝臓および小腸の薬物代謝酵素のCytochrome P450を阻害することを示し、緑茶飲用が薬物代謝の阻害により薬物作用を増強することを示唆した。
- ノギリヤシ果実エキスの排尿障害改善作用  
 前立腺肥大に伴う排尿障害症状の改善に用いられるノギリヤシ果実エキス(SPE)の新たな薬理作用として、排尿障害モデルラットにおける頻尿の改善(排尿間隔、一回排尿量及び膀胱容量の有意な増加)、薬効成分としてオレイン酸とミリスチン酸の遊離脂肪酸の関与(図2)及びSPEと遊離脂肪酸による前立腺や膀胱の1受容体とムスカリン性受容体の結合活性を明らかにした。また1遮断薬の長期服用の前立腺肥大症患者においてSPEの併用は残尿量を有意に改善した(図3)。加えてSPEの反復投与は臨床薬の体内動態に影響しなかったことから、排尿障害患者において医薬品との併用療法の有用性が示唆された。
- フルファリンと食品の相互作用のデータベースの構築  
 臨床的に重要となるフルファリンとビタミンK含有食品との相互作用についてPubMedを利用して文献的検索を行った結果、本薬による安定した抗血液凝固状態を得るためには、約80 µg/dのVK摂取が理想的であり、その摂取の変動幅は多くても250 µg/dを超えないこと並びに食事からのVK摂取を一定にすることが重要であることを明らかにした。

### 展望

機能性食品の効果および臨床薬との併用・相互作用を機構論的に解析し、その機能性や安全性に関する信頼性の高い基礎的エビデンスとともに、日本人での臨床試験成績の継続的な蓄積と共有が新規機能性食品の開発と適正使用において重要となる。

### Introduction

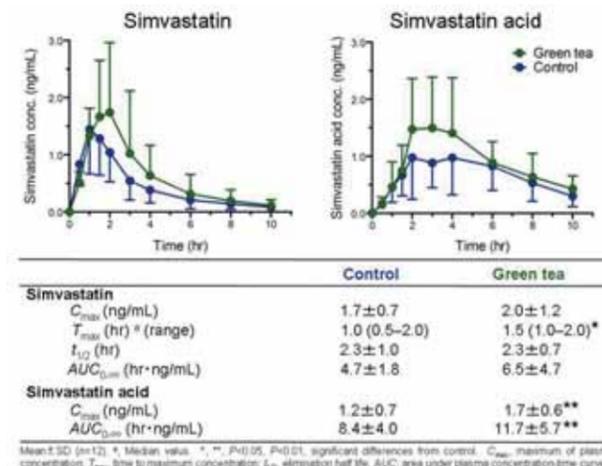
Popularity of dietary supplements containing health foods and botanical products is growing, in terms of promotion of health, prevention and therapy of diseases. Elderly people take frequently supplements with prescription drugs. The major concern is adverse event by a large excess intake or interactions between supplements and drugs. This study aimed to elucidate efficacy and safety of functional foods.

### Results

- Effect of green tea intake on pharmacokinetics of simvastatin (SIM)  
 In collaboration with Werba et al and Watanabe et al, we showed that chronic consumption of catechin-rich green tea in healthy Japanese volunteers (Fig. 1) and rats increased significantly plasma concentration of SIM after oral administration. Furthermore, catechins inhibited activity of cytochrome P-450 in human liver and small intestine. Thus, chronic consumption of green tea may cause clinically relevant interaction with simvastatin.
- Improvement by Saw palmetto extract (SPE) of urinary dysfunction  
 In rats with urinary dysfunction, oral administration of SPE and mixture of SPE-contained free fatty acids attenuated markedly shortening of micturition interval and reduction in mean micturition volume (Fig. 2), suggesting significant increase in bladder capacity. Also, combination of SPE with α1-blockers in BPH patients caused additive beneficial effect (Fig. 3), indicating pharmacologically usefulness of SPE for improvement of symptomatic treatment of overactive bladder.
- Construction of comprehensive database on interaction between warfarin and vitamin K (VK)  
 We constructed database for clinical interaction between warfarin and VK by using Pubmed database. Intake of VK in warfarin-administered patients should be appropriately estimated by considering present VK status in order to avoid serious risks.

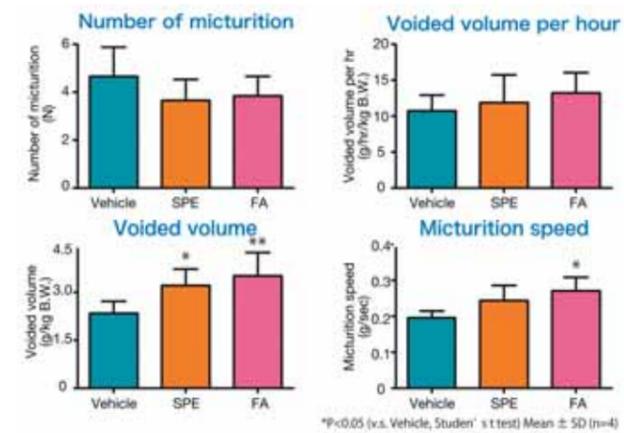
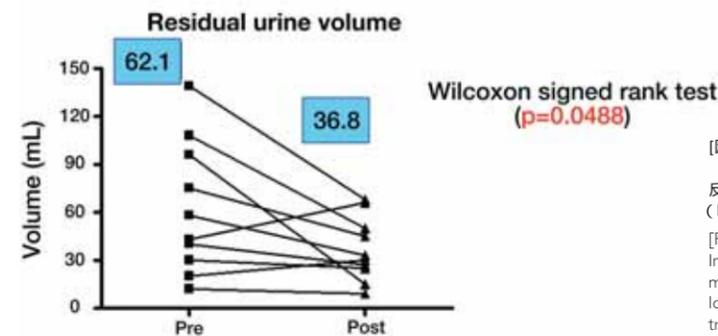
### Perspectives

Rigorous scientific evaluation of efficacy and safety of functional food including interactions with drugs is important for scientific demonstration of their benefits and risks in human and for discovery of innovative functional foods and drugs which contribute to health promotion, wellness and longevity.



【図1】健康人(日本人)におけるシンバスタチン(左:lactone体,右:acid体)の血漿中濃度及び高カテキン類含有緑茶の2週間飲用の影響(12例の平均値とSD)。\*、\*\*対照値(Control)と比べ有意。\*P<0.05, \*\*P<0.01。

【Figure 1】Effect of 2-week intake of catechin-rich green tea on the plasma concentration of simvastatin (left: lactone form, right: acid form) in healthy Japanese volunteers (Mean±SD, N=12). \*, \*\* Significant difference from control value, \*P<0.05, \*\*P<0.01.



【図2】健康人(日本人)におけるシンバスタチン(左:lactone体,右:acid体)の血漿中濃度及び高カテキン類含有緑茶の2週間飲用の影響(12例の平均値とSD)。\*、\*\*対照値(Control)と比べ有意。\*P<0.05, \*\*P<0.01。

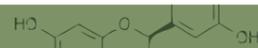
【Figure 2】Effect of 2-month repeated treatment of saw palmetto extract (SPE) and a mixture of free fatty acids (oleic acid and myristic acid) on urodynamic parameters in Goto-Kakizaki (GK) rats (Mean±SD, N=4). \*, \*\* Significant difference from control (vehicle) value, \*P<0.05, \*\*P<0.01.

【図3】1遮断薬長期投与患者の残尿量に対するノギリヤシ果実エキス(320mg)の1ヶ月間反復投与の改善作用(10例、Pre:投与前、Post:投与後)。Post値はPre値に比べ有意(P<0.05)。

【Figure 3】Improvement by 1-month repeated oral administration of saw palmetto extract (160 mg) on residual urine volume in patients with benign prostatic hyperplasia received long-term treatment with α1-blocker. (N=10, Pre: before treatment, Post: after treatment). Post-value is significantly different from Pre-value (P<0.05)

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

- S. Yamada, M. Seki, M. Ogoda, A. Fukata, M. Nakamura, Y. Ito: Selective binding of bladder muscarinic receptors in relation to the pharmacokinetics of a novel antimuscarinic agent, imidafenacin, to treat overactive bladder. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 336: 365-371 (2011)
- 藤野知美、伊藤由彦、瀧 優子、柿澤希実、尾上誠良、今井康之、奥 直人、野口博司、伊藤邦彦、小林裕和、大橋典男、合田敏尚、木苗直秀、梅垣敬三、渡邊裕司、山田静雄: Warfarin とビタミン K の相互作用に関する文献的研究。 *臨床薬理*, 41: 43-52 (2010)
- S. Yamada, Y. Ito, Y. Taki, M. Seki, M. Nanri, F. Yamashita, K. Morishima, I. Komoto, K. Yoshida: The N-oxide metabolite contributes to bladder selectivity resulting from oral propiverine: muscarinic receptor binding and pharmacokinetics. *Drug Metab. Dis.*, 38: 1314-1321 (2010)
- S. Yamada, C. Takeuchi, L. Oyzunul, Y. Ito: Bladder angiotensin-II receptors: Characterization and alteration in bladder outlet obstruction. *Eur. Urol.*, 55, 482-489 (2009)
- M. Suzuki, Y. Ito, T. Fujino, M. Abe, K. Umegaki, S. Onoue, H. Noguchi, S. Yamada: Pharmacological effects of saw palmetto extract in lower urinary tract. (Invited review). *Acta Pharmacol. Sin.*, 30: 271-281 (2009)



9

## 研究領域1 2 脳機能の解析と食品成分による修飾

(緑茶成分テアニンによる神経細胞の新生・保護作用と認知症予防について)  
Analysis and modification by food components of brain function  
(dementia protective effect on the prevention of newborn neurons by theanine, green tea component)

横越 英彦 Hidehiko YOKOGOSHI 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻栄養化学研究室 教授  
Professor, Laboratory of Nutritional Sciences, Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



### Profile

1991年 静岡県立大学生活健康科学研究科教授  
1987年 静岡県立大学食品栄養科学部教授  
1983年 マサチューセッツ工科大学(MIT)、  
文部省在外研究員  
1976年 名古屋大学農学部助手  
1976年 名古屋大学農学研究科農芸化学科  
博士課程満了  
1970年 京都大学農学部卒業

1991 Professor, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka  
1987 Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1983 Monbusyo Fellowship Program for Japanese Scholars and Researchers to Study Abroad, Massachusetts Institute of Technology  
1976 Research Associate, School of Agricultural Sciences, Nagoya University  
1976 Ph.D., Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University  
1970 Graduate from School of Agricultural Sciences, Kyoto University

### Contact

T E L 054 264 5559  
+81 54 264 5559  
e-mail yokogosi@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/nutrbioc/index.html

### 序論

日常の食事により、社会的に問題となっている脳・精神疾患の軽減を目指し、研究を行っている。緑茶に含まれるアミノ酸、そして、食品に含まれる香り成分は、古来より漢方薬の素材として、あるいは、民間療法として利用されてきた。それらのエビデンスを明らかにすると同時に、記憶やストレス解消作用を目指した概念を確立することを目的としている。また、元来、緑茶は薬効を含めた飲料であったが、今回は、神経細胞死に対する影響、テアニンの脳細胞保護作用、情報伝達機構への関与などを解析する。また、アルツハイマー病でのA 沈着・重合度などに対する茶成分、特に、テアニンの影響を解析する。

日常的に摂取できる緑茶、高齢者に好まれる香りを含む食品の摂取により、脳・精神疾患の軽減につながる事が大きく期待され、それを利用した新規機能性食品への応用研究を探る。

### 成果

テアニンはこれまでの研究から生体への機能性が注目され、高血圧自然発症ラットにおける血圧降下作用やラットにおける制癌剤効果増強作用など様々な研究が行われてきた。我々はこれまで、テアニンの脳神経作用に対する影響を、in vitro, in vivo、そして、ヒトを対象とした研究を行ってきた。本プロジェクトでは、お茶という日常摂取する飲料中のテアニンが、脳神経機能に影響するという薬理的な作用機序を解明するものである。テアニンを長期投与すると、Nobel Object Recognition Test (NOR) など多様な記憶学習試験によって、緑茶成分や亜鉛投与が、ストレス負荷による脳機能(記憶・学習能力)障害を改善する事が明らかとなった(図1)。さらに、ヒトにおいてもテアニンやGABAには脳波などを変化させるだけでなく、精神的に抑制効果がみられた。また、テアニン投与によるニューロン新生についてBrdU及びDCX染色で促進される事が明らかにされた(図2)。さらに記憶との関連で解析されるLTPの結果では、尾部懸垂というストレス負荷によるダメージを、テアニンが抑制することが分かった(図3)。現在、テアニンの記憶に関する研究として、様々な条件下で、記憶形成に海馬がどの程度関与しているかなどを解析している。

### 展望

緑茶中に含まれるテアニンやGABAには、ヒトの精神の抑制や作業効率を上昇させる効果があることから、抗ストレスの軽減を目的として食品開発に寄与する事が考えられる。さらに、記憶メカニズムの解明の一端として、テアニンのニューロン新生の保護作用が関係していることや、記憶形成のメカニズムに、海馬を介さない経路があるのか無いのかなどを解析し、最終的には、認知症や統合失調症に対する予防的な手法が提案できれば良いと考えている。

### Introduction

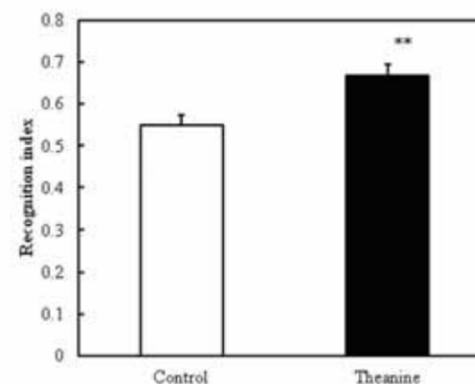
Our aim was to research ways of reducing the brain disorders and mental illness that can become social problems in daily life. Theanine is an amino acid that is the nutritionally active but no scent component of green tea, a beverage that is used as a home remedy in traditional Chinese medicine and believed to have significant medicinal effects. We analyzed the influence of theanine on neuronal death, its protective action on brain cells, and its participation in neural information transmission. We thought that senior citizens would readily consume food containing green tea powder and that consumption of such food could lead to reduction in brain disorders and mental illness.

### Results

Previous research has assessed the effects of theanine in rats, including its blood pressure-lowering effects in rats with high blood pressure and its potentiation of the effects of anticancer agents. We have researched the influence of theanine on the function of cranial nerves *in vitro* and *in vivo*, including in humans. In our recent project, we elucidated the pharmacological mechanism of action on cranial nerve function of theanine consumed daily by drinking tea. We used the Nobel Object Recognition Test and a variety of other learning and memory tests to show that long-term administration of zinc and theanine, the active component of green tea, improves brain function (memory and learning capacity). In addition, in human trials theanine and gamma-aminobutyric acid (GABA) changed brain wave patterns and had inhibitory effects on the mentally ill. We also used a BrdU assay for neurogenesis and showed that administration of theanine promotes doublecortin staining. We analyzed our results in relation to long-term potentiation (LTP) and memory and found that, in rats, theanine suppresses the damage caused by the stress of being suspended by the tail. We are also analyzing how the hippocampus is involved in memory formation under various conditions while studying theanine and memory.

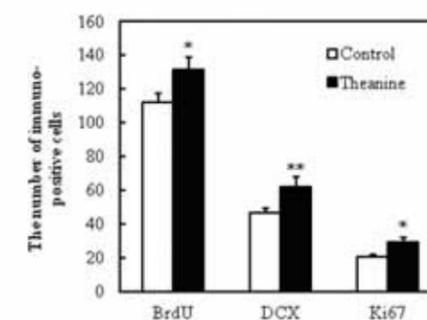
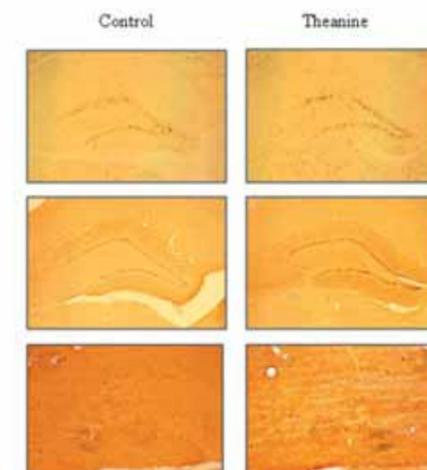
### Perspectives

Because the GABA and theanine contained in green tea are effective in suppressing emotional states and increasing mental functioning, they could be developed as anti-stress foods. Theanine influences the mechanisms of memory formation that utilize a pathway mediated by the hippocampus, and it has a protective effect on neurogenesis. Finally, we believe that theanine may be helpful for preventing dementia and schizophrenia.



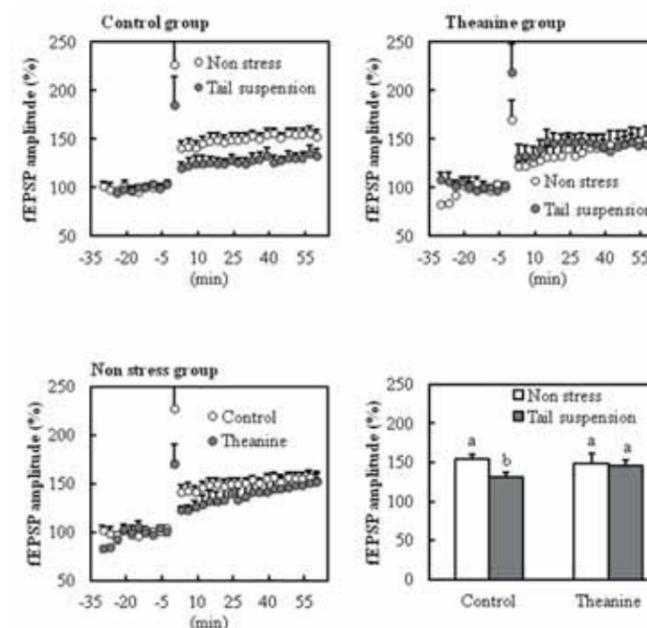
[図1] Nobel object recognition test (NOR) を行った結果、6週齢のラットでテアニン投与によって認知機能を上昇させた。

[Figure 1] Theanine intake improves cognitive function in 6-week-old rats.



[図2] テアニンにより海馬の神経新生を上昇させた。

[Figure 2] Theanine intake facilitates hippocampal neurogenesis.

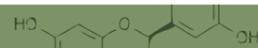


[図3] ストレス下でのLTP上昇が、テアニンによって抑制された。

[Figure 3] Stress changes LTP induction at the perforant path-granule cell synapse. However, theanine induces reversal of these changes in LTP.

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. Tsujioka, K., Ohsumi, M., Sakamoto, K., Thanapreedawat, P., Akao, M., Kim, M., Hayase, K. and Yokogoshi, H.: Effect of dietary  $\gamma$ -aminobutyric acid on the brain protein synthesis rate in hypophysectomized aged rats.
2. Kanehira, T., Nakamura, Y., Nakamura, K., Horie, K., Horie, N., Furugori, K., Sauchi, Y. and Yokogoshi, H.: Relieving occupational fatigue by consumption of a beverage containing  $\gamma$ -amino butyric acid.
3. Tsujioka, K., Ohsumi, M., Hayase, K. and Yokogoshi, H.: Effect of the quality of dietary amino acids composition on the urea synthesis in rats.
4. Kako, H., Kobayashi, Y. and Yokogoshi, H.: Effects of n-hexanal on dopamine release in the striatum of living rats.
5. Takeda, A., Sakamoto, K., Tamano, H., Fukura, K., Inui, N., Suh, S.W., Won, S.-J. and Yokogoshi, H.: Facilitated Neurogenesis in the Developing Hippocampus after Intake of Theanine, an Amino Acid in Tea Leaves, and Object Recognition Memory.



10

研究領域 2

高次機能食品の開発を視野に入れた炎症性腸疾患を緩和するプロバイオティクスに関する研究  
Studies of probiotics for moderately severe inflammatory bowel disease: development of refined functional food

大橋 典男 Norio OHASHI 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻微生物学教室 教授  
Professor, Laboratory of Microbiology, Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



Profile

2008年 静岡県立大学食品栄養科学部教授  
2006年 静岡県立大学環境科学研究科助教授  
2002年 静岡県立大学環境科学研究科助教授  
1997年 オハイオ州立大学獣医学部獣医学研究部  
1992年 博士(薬学)取得、東京大学  
1984年 新潟薬科大学薬学部助手  
1984年 金沢大学薬学研究科修士課程修了  
1981年 新潟薬科大学薬学部卒業

2008 Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
2006 Professor, Institute for Environmental Sciences, University of Shizuoka  
2002 Associate Professor, Institute for Environmental Sciences, University of Shizuoka  
1997 Research Scientist and Adjunct Assistant Professor, The Ohio State University, USA  
1992 Ph.D., University of Tokyo  
1984 Research Associate, Niigata College of Pharmacy  
1984 M.S., Kanazawa University of Tokyo  
1981 B.S., Niigata College of Pharmacy

Contact

T E L 054 264 5553  
+81 54 264 5553  
e-mail ohashi@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/microbiol/

序論

本グローバルCOE事業において、我々は感染症と生活習慣病をキーワードに研究を展開している。炎症性腸疾患は、主として消化管に原因不明の炎症をおこす慢性疾患の総称で、潰瘍性大腸炎やクローン病が知られている。その発症要因には生活習慣も係っていると考えられており、さらに発症後は病原細菌に対して易感染性になることも示唆されている。また、炎症性腸疾患の患者では腸内細菌叢が炎症反応を惹起するような免疫反応を誘導しており、近年、腸内細菌叢を是正するプロバイオティクスが炎症性腸疾患の緩和に有効であると考えられることから注目を集めている。そこで、本研究では、炎症性腸疾患の進行状況について、リアルタイムで観察できる *in vivo* イメージング法を確立し、大腸炎の緩和効果が期待できるプロバイオティクス乳酸菌の探索のため、このイメージング法の利用について検討した。

成果

炎症性腸疾患のひとつである潰瘍性大腸炎において、我々は病原細菌に対して易感染性となることに着目した。生物発光性腸管病原性大腸菌であるXen-14株は通常、マウス腸管内には定着しない。しかしながら、潰瘍性大腸炎のマウスモデルであるデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)処理マウスにXen-14株を感染させ、*in vivo* イメージングにより観察を行ったところ、Xen-14株は排除されずに腸管内に留まることが判った(図1)。つまり、DSS誘発性潰瘍性大腸炎の疾病進行とXen-14株の感染進行に関連性があることが判明し、Xen-14株の感染状況をモニターすることで潰瘍性大腸炎の病態を非侵襲的かつ経時的に追跡できる実験系の確立に成功した。さらに、この系を用いて、炎症性大腸炎の予防あるいは緩和効果が期待できるプロバイオティクス乳酸菌の探索を試みた。我々がこれまでに分離した *Lactobacillus plantarum* No-B6株および *L. paracasei* Tm21-1株をDSS投与期間前と投与期間中に毎日接種し、その後、Xen-14株を感染させ、*in vivo* イメージングにより観察を行った。その結果、*L. paracasei* Tm21-1株がDSSによる潰瘍性大腸炎発症を遅延させる傾向があることが示唆された(図2)。

展望

乳酸菌は菌種株によって宿主に与える効果が異なるため、乳酸菌をプロバイオティクスとして利用する場合、その目的用途に合わせて適切な菌種・菌株を選択する必要がある。今回確立した *in vivo* イメージングを用いた潰瘍性大腸炎の可視化法はプロバイオティクス乳酸菌探索のために極めて有効な方法であると考えられ、今後のプロバイオティクス研究に大きく貢献するものと考えられる。

Introduction

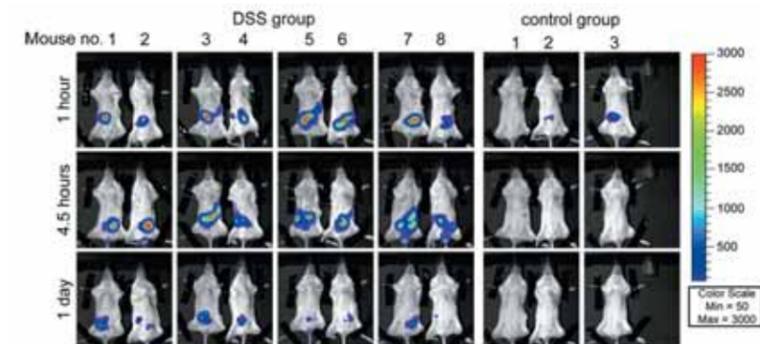
Inflammatory bowel diseases (IBDs), such as ulcerative colitis and Crohn's disease, are characterized by chronic intestinal inflammation of unknown cause. Lifestyle is reportedly a risk factor for IBD. Because bowel flora may induce intestinal inflammation, probiotics have recently been studied to determine whether they improve the intestinal milieu in patients with IBD. The aim of this study was to establish an *in vivo* imaging method for visualizing IBD progression in real time. We used this method to explore the effects of lactic acid bacteria (LAB) in moderately severe IBD.

Results

Patients with ulcerative colitis are known to be compromised in their intestines. Bioluminescent enteropathogenic *Escherichia coli* Xen-14 do not usually colonize the mouse intestinal tract. Treating mice with dextran sulfate sodium (DSS) is a way of creating an animal model of ulcerative colitis. When we administered Xen-14 orally to DSS-treated mice, we were able to visualize colonization of Xen-14 in their intestines by an *in vivo* imaging method that detects bacterial emission, suggesting that progression of DSS-induced ulcerative colitis involves intestinal infection with Xen-14 (Figure 1). We next used this imaging system to explore the role of probiotic LAB in preventing or moderating IBD. We administered *Lactobacillus plantarum* No-B6 or *L. paracasei* Tm21-1 orally to mice that we kept in isolation in our laboratory for 2 weeks before and during DSS treatment, and then challenged them with Xen-14. *In vivo* imaging analysis revealed that administration of *L. paracasei* tends to delay the onset of ulcerative colitis (Figure 2).

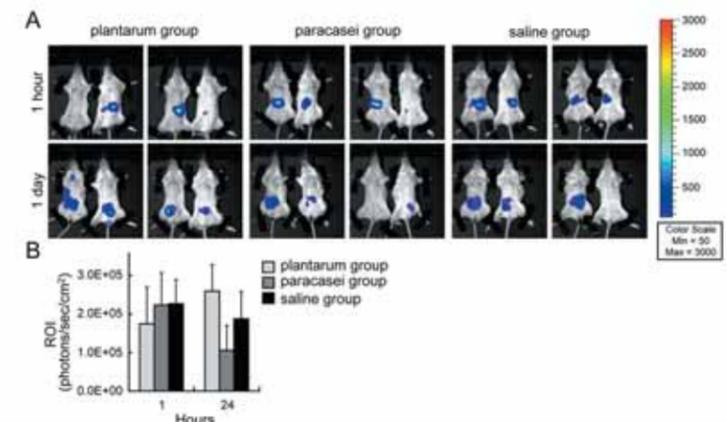
Perspectives

LAB are commonly used as probiotics. However, it is necessary to select a bacterial strain that is appropriate for the intended application, because the effects on the host of different strains are different. We successfully established an *in vivo* imaging method for visualization of probiotic LAB in ulcerative colitis. This method will contribute to future probiotic research.



[図1] 生物発光性腸管病原性大腸菌Xen-14株を用いた潰瘍性大腸炎マウスの *in vivo* イメージング潰瘍性大腸炎マウスモデルであるDSS投与群(DSS group)では生食投与群(control group)と比較して生物発光性腸管病原性大腸菌Xen-14株の腸管内定着が観察された。

[Figure 1] *In vivo* imaging of mice with DSS-induced ulcerative colitis using bioluminescent pathogenic *E. coli* Xen-14. We analyzed mice treated with DSS (DSS group) or given saline (control group) using the infection with bioluminescent pathogenic *E. coli* Xen-14 and quantified the emissions by time-lapse images.

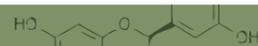


[図2] *in vivo* イメージングを用いた潰瘍性大腸炎に対する乳酸菌の緩和効果の評価 A) DSS投与前およびDSS投与中の計2週間にL. plantarum No-B6株(plantarum group)あるいはL. paracasei Tm21-1株(paracasei group)の投与を行い、Xen-14株を接種した後の *in vivo* イメージング。B) *in vivo* イメージングにより検出された生物発光を定量化したグラフ。

[Figure 2] Evaluation of probiotic effect of lactic acid bacteria on ulcerative colitis by *in vivo* imaging. A) *In vivo* bioluminescent images at indicated times after challenge with *E. coli* Xen-14. We administered *L. plantarum* No-B6 (plantarum group) or *L. paracasei* Tm21-1 (paracasei group) to mice for 2 weeks before and during DSS treatment, and then challenged them with Xen-14. B) Quantitative bioluminescence analysis of the research described in A.

代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. M. Shinohara, K. Uchida, S. Shimada, K. Tomioka, N. Suzuki, T. Minegishi, S. Kawahashi, Y. Yoshikawa, N. Ohashi: Novel concentration method for detection of norovirus and sapovirus from water using minute particles of amorphous calcium phosphate. *J. Med. Microbiol.*, 60, 780-786 (2011)
2. Y. Katanasaka, T. Ishii, T. Asai, H. Naitou, N. Maeda, F. Koizumi, S. Miyagawa, N. Ohashi, N. Oku: Cancer antineovascular therapy with liposome drug delivery systems targeted to BiP/GRP78. *Int. J. Cancer*, 127, 2685-2698 (2010)
3. T. Hayashi, M. Nakamichi, H. Naitou, N. Ohashi, Y. Imai, M. Miyake: Proteomic analysis of growth phase-dependent expression of *Legionella pneumophila* proteins for identifying novel virulence-associated factors. *PLoS One*, 22, e11718 (2010)
4. W. W. Y. Ozawa, Gaowa, F. Kawamori, T. Masuda, T. Masuzawa, H. Fujita, N. Ohashi: Structural analysis of a *p44/msp2* expression site of *Anaplasma phagocytophilum* in naturally infected ticks inhabiting Japan. *J. Med. Microbiol.*, 58, 1638-1644 (2009)
5. T. Oya-Ito, N. Naitou, S. Masuda, N. Kinae, N. Ohashi: Functional analyses of neutrophil-like differentiated cell lines under a hyperglycemic condition. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52, 360-369 (2008)
6. K. Inoue, S. Maruyama, H. Kabeya, N. Yamada, N. Ohashi, Y. Sato, M. Yukawa, T. Masuzawa, F. Kawamori, T. Kadosaka, N. Takada, H. Fujita, H. Kawabata. Prevalence and genetic diversity of *Bartonella* species isolated from wild rodents in Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 5086-5092 (2008)



## 研究領域2

# 有機合成を基盤とする食品有効成分のケミカルバイオロジー研究 Chemical biology investigation of functional food by means of organic synthesis

菅 敏幸 Toshiyuki KAN

薬学研究科薬学専攻医薬品製造化学教室 教授

Professor, Laboratory of Synthetic Organic and Medicinal Chemistry, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



## Profile

2005年 静岡県立大学薬学部教授  
2004年 東京大学大学院薬学系研究科助教授  
1996年 東京大学薬学部助手  
1993年 財団法人サントリー生物有機科学研究所研究員  
1993年 北海道大学大学院理学研究科博士課程修了  
1986年 北海道大学理学部化学科卒業

2005 Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
2004 Associate Professor, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo  
1996 Assistant Professor, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo  
1993 Researcher, Suntory Institute for Bioorganic Research  
1993 Ph.D., Graduate School of Department of Chemistry, Faculty of Sciences Hokkaido University  
1986 Graduate from Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Hokkaido University

## Contact

T E L 054 264 5746  
+81 54 264 5746  
e-mail kant@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/yakuzo/english/english.html

## 序論

食品は古くから食に供されてきたことから安全性に対する信頼は大きく、その有効成分は医薬品のリードとしても期待されている。しかし、医薬品開発に必須となる詳細な構造活性相関や、活性発現の標的タンパク質解明などの研究例は僅かである。我々は、有効成分の柔軟かつ効率的な合成供給が、ケミカルバイオロジー研究を可能にすると考え、合成研究を行っている。これまでに、緑茶のカテキンやミカンフラボノイドの新規合成法の開発に成功してきた。特に、エピガロカテキンガレート(1: EGCG)の特徴的な構造のC環 2, 3位の cis の相対配置を完全に制御する合成法を開発し、A環部に水酸基を持たない誘導体DOEGCGの合成に成功した。さらに、DOEGCG(2)がEGCG(1)を上回る抗インフルエンザウイルス感染阻害活性を有することも見出した。この結果を基に、A環部の水酸基は活性発現に関与しないと作業仮説を立て、A環部にプローブユニットを導入可能なアミノペンチル基を有するAPDOEGCG(3)の合成を行った。

## 成果

APDOEGCG(3)のA環部分に、鈴木-宮浦反応による側鎖の導入後、我々の開発したNs-NH<sub>2</sub>との光延反応を利用して末端に窒素原子を導入した。さらにAD-mix-にて合成した光学活性なジオールヘガロイル基を位置選択的に導入後、エステル基の隣接基関与効果を利用したヒドリドの攻撃によりヒドロピラン環をcis体選択的に構築した。また、ベンジルアルコールへの酸性条件の直接環化によりtrans体も選択的に合成可能となった。保護基の除去により得られる3は、フェノール性水酸基を保護することなく、様々なプローブユニットの導入が可能であった。すなわち、蛍光発色団(Tokyo Green)やビオチンを有する4と5の合成に成功し、さらにキャリアータンパク質(HSA)と結合させた6を抗原として用いEGCGを特異的に認識するモノクローナル抗体の獲得にも成功した。

また、みかんの陳皮より単離されたノビレチン(7)は、アルツハイマー病の予防効果が認められ注目を集めている。我々は、当研究室で開発したフラボン骨格構築法により、11段階、総収率53%にて全合成を達成した。さらに、本合成を基盤とする大量供給により、PETプローブの迅速合成の条件の最適化が可能となった。浜松ホトニクスにて十分な放射活性を有するプローブを合成し、ラットの尾静脈内投与5分後の脳移行を確認した。(Scheme 2)

## 展望

Scheme 3に、蛍光プローブ4とHUVECsの蛍光顕微鏡写真と、6を抗原として獲得した抗体のEGCGとの親和性のグラフを示した。このように、蛍光プローブ4は生細胞でのEGCGの動態を明らかにした。また、モノクローナル抗体はELISA法による超高感度な分析を可能にするため、微量成分の検出への展開も期待できる。

## Introduction

The effective components of functional foods are expected to constitute lead compounds for drug development. Furthermore, these natural products are considered safety as they have long been consumed as dietary food products. Additionally, the imaging and/or analysis of the dynamics of these compounds by probe molecules will be essential for future drug development. Since efficient and flexible synthesis could provide probe molecules, we carried out synthetic investigations of (-)-epigallocatechin gallate (1: EGCG) and nobiletin (7).

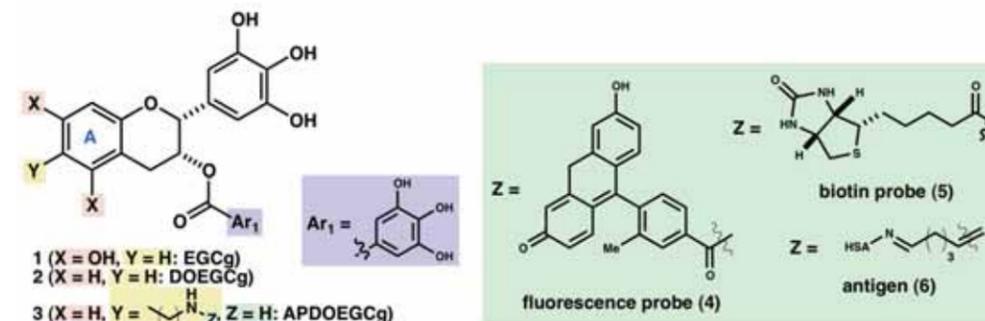
## Results

(-)-Epigallocatechin gallate (EGCG) (1) is a major constituent of green tea extract, which has various bioactivities. During the course of our synthetic investigation of EGCG, we found that synthetic 5,7-dideoxy-epigallocatechin gallate (DO-EGCG) (2) possesses more potent anti-influenza activities than natural EGCG (1). Inspired by this finding, we launched an investigation into the synthesis of EGCG probe precursor 3. Reactive amine possessed an advantage for the incorporation of a probe unit furnished without protection of the phenolic hydroxy groups. Thus, synthetic 3 could be easily and efficiently converted to fluorescein probe 4 and immunogen probe 6.

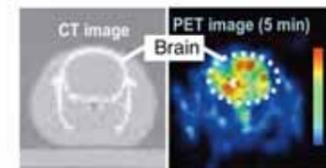
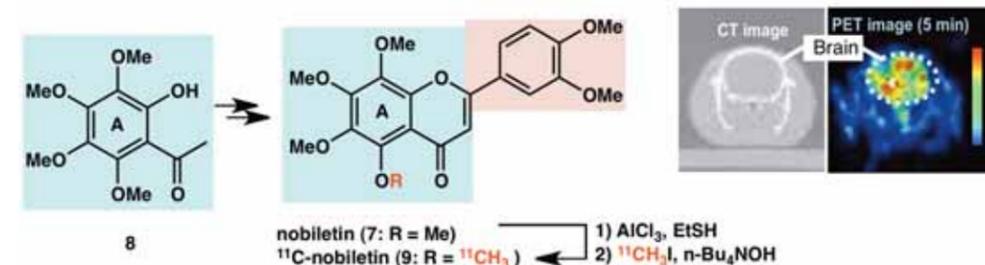
A practical synthesis of nobiletin (7), a polymethoxylated citrus flavone, was accomplished by utilizing our novel flavone synthesis. Synthetic nobiletin was labelled by selective demethylation and rapid incorporation of a <sup>11</sup>C atom to give 9. Positron emission tomography images of 9 successfully visualized the distribution of nobiletin in the brain. These results may provide therapeutic benefits in the treatment of Alzheimer's disease.

## Perspectives

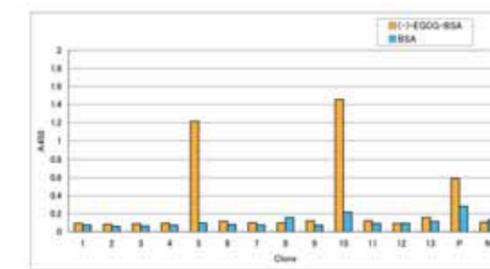
After incubation of 4 with HUVECs for 3 h, strong fluorescence was observed in the cells (Scheme 3 left). Utilizing immunogen 6, two high-affinity antibodies with EGCG were obtained (Scheme 3 right). These highly specific antibodies will be useful for immunological detection. Furthermore, application for enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) will be useful for quantitating trace amounts of EGCG in serum.



[図1] APDOEGCG(3)の構造とEGCGプローブ分子(4-6)  
[Figure 1] Structure of APDOEGCG (3) and EGCG probe molecules (4-6)



[図2] 効率的な合成を基盤とするノビレチンのPETイメージング  
[Figure 2] PET imaging of nobiletin based on practical synthesis



[図3] 蛍光顕微鏡分析とEGCGと高い親和性を有する抗体  
[Figure 3] Fluorescence microscopy image and high affinity antibodies with EGCG

## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. T. Wakimoto, H. Kondo, H. Nii, K. Kimura, Y. Egami, Y. Oka, M. Yoshida, E. Kida, Y. Ye, S. Akahoshi, T. Asakawa, K. Matsumura, H. Ishida, H. Nukaya, K. Tsuji, T. Kan, I. Abe: Furan fatty acid as an anti-inflammatory component from green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 17533-17537 (2011).
2. T. Asakawa, A. Hiza, M. Nakayama, M. Inai, D. Oyama, H. Koide, K. Shimizu, T. Wakimoto, N. Harada, H. Tsukada, N. Oku, T. Kan: PET Imaging of Nobiletin Based on a Practical Total Synthesis. *Chem. Commun.*, 47, 2868 – 2870 (2011).
3. A. Yoshida, Y. Hirooka, Y. Sugata, M. Nitta, T. Manabe, S. Ido, K. Murakami, R. K. Saha, T. Suzuki, M. Ohshima, A. Yoshida, K. Itoh, K. Shimizu, N. Oku, T. Furuta, T. Asakawa, T. Wakimoto, T. Kan: Concise synthesis of catechin probes enabling analysis and imaging of EGCG. *Chem. Commun.*, 47, 1794-1796 (2011).
4. T. Wakimoto, T. Asakawa, S. Akahoshi, T. Suzuki, K. Nagai, H. Kawagishi, T. Kan: Proof the existence of an unstable amino acid, pleurocybellaziridine, in *Pleurocybella porrigens* (angel's wing mushroom). *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50, 1168-1170 (2011).
5. Y. Koizumi, H. Kobayashi, T. Wakimoto, T. Furuta, T. Fukuyama, T. Kan: Total Synthesis of (-)-Serotobenine. *J. Am. Chem. Soc.*, 130, 16854-16855 (2008).

## 慢性腎臓病患者における栄養障害の評価法に関する研究 Evaluation of nutritional disturbance in patients with chronic renal disease

熊谷 裕通 Hiromichi KUMAGAI 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻臨床栄養学研究室 教授  
Professor, Department of Clinical Nutrition, Division of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



### Profile

2005年 静岡県立大学食品栄養科学部教授  
1993年 静岡県立大学食品栄養科学部助教授  
1992年 浜松医科大学第一内科講師  
1987年 米国NIH老人病研究所訪問研究員  
1982年 浜松医科大学第一内科医員・助手  
1981年 国立療養所天竜病院内科医師  
1979年 浜松医科大学第一内科研修医  
1979年 日本医科大学医学部卒業

2005 Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1993 Associate Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1992 Assistant Professor, First Department of Medicine, Hamamatsu University School of Medicine  
1987 Visiting Fellow, NIA, NIH, USA  
1979 First Department of Medicine, Hamamatsu University School of Medicine  
1979 Graduate from Nihon Medical University

### Contact

T E L 054 264 5567  
+81 54 264 5567  
e-mail kumagai@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/clncnutr/index.html

### 序論

慢性腎臓病患者には、たんぱく質エネルギー栄養障害が高頻度に合併し、患者のQOLや予後に悪影響を及ぼすことが知られている。慢性腎臓病患者におけるたんぱく質エネルギー栄養障害への対策を立てるためには、できるだけ早期に栄養障害を見つけて出すことが重要である。そこで、我々は、まず慢性腎臓病ステージ5D(血液透析)の患者を対象として、たんぱく質エネルギー栄養障害を早期に発見する栄養スクリーニング法を確立することを試みた。また、慢性腎臓病患者のたんぱく質エネルギー栄養障害の成因には体内における低レベルの持続的な炎症が関与していることが知られており、たんぱく質エネルギー栄養障害の評価に炎症の関与も加味することが重要と考えられる。しかし、これまでに炎症の関与を考慮に入れた栄養指標は確立されていないので、今回我々は、栄養指標と炎症指標を組み合わせた新しい指標を開発することを試みた。

### 成果

過去20年間に発表された栄養スクリーニング指標から信頼性の高いと思われた5種類(Mini nutritional assessment short form (MNA-SF)、Nutrition risk score (NRS)、Malnutrition universal screening tool (MUST)、Malnutrition screening tool (MST)、Geriatric nutritional risk index (GNRI、図1)を選び出し、血液透析患者の栄養スクリーニングにどれが最も適切かについて検討を行った。その結果、受信者動作特性(ROC)曲線等による検討から、血液透析患者の栄養障害リスクを評価するのにGNRIが最も感度(0.730)と特異性(0.819)の高い指標であることが明らかとなった。さらに、GNRIと予後との関連を検討し、GNRI 91以下の患者では、91以上の患者に比べて明らかに5年予後が不良であることが明らかとなった。

次に、栄養指標に炎症指標を組み合わせた新たな指標を開発することを試みた。外科領域では既にGlasgow prognostic score (GPS)という血清アルブミン値と炎症指標であるCRPから予後を判定する指標が用いられているので、それを改良してGNRIとCRPから予後を予測する指標(Modified GPS)を考案した。その結果、M-GPS 2点(GNRI 90以下かつCRP 0.1mg/dl以上)の血液透析患者ではM-GPS 0点(GNRI 90以上かつCRP 0.1mg/dl以下)の患者に比べ5年生存率が明らかに悪く(図2)、Cox比例ハザードモデルで他の因子を補正した時の相対危険率は1.86となることが明らかとなった。

### 展望

GNRIは、体重と血清アルブミン値という2つの客観的指標のみから算出でき、主観的判断を必要としないという特徴がある。そのため、栄養状態の一次スクリーニングとして優れており、特に患者数の多い大規模透析センターでの有用性が高いと評価され、現在までに全国各地の透析施設で導入が進んでいる。Modified GPSは、GNRIにさらに炎症指標を組み入れた指標であり、炎症が栄養障害の一因になっている透析患者では特に有用性が高いと考えられる。今後、Modified GPS高値の患者から優先的に栄養ケアマネジメントを進めるといった利用が考えられる。しかし、透析患者の栄養障害の病態は図3に示すように複雑であり、これらのスクリーニングによって見出された栄養障害を有する透析患者において、詳細な栄養評価を改めて行う必要があることは言うまでもない。今後は、栄養スクリーニング法から栄養アセスメント法の開発・発展に重点を移して検討を行なっていく予定である。

### Introduction

Protein-energy malnutrition is a prevalent complication in patients on maintenance hemodialysis. Nutritional screening tools may be useful for identifying the patients at nutritional risk among the hundreds of hemodialysis patients in a large facility. First, we tested several simplified nutritional screening tools on hemodialysis patients to validate their potential application. Second, because inflammation is closely associated with protein-energy malnutrition in hemodialysis patients, we developed a new nutritional screening tool in which a marker of inflammation is incorporated.

### Results

We chose five reliable simplified nutritional screening tools from references published between 1985 and 2005. Among them, we considered the geriatric nutritional risk index (GNRI) the most accurate in identifying hemodialysis patients at nutritional risk, because the area under the receiver operating characteristic curve was the largest. The GNRI's sensitivity and specificity in predicting malnutrition were 0.730 and 0.819, respectively. Furthermore, the 5-year survival of patients with GNRI  $\geq$  91 was significantly better of those with GNRI < 91.

We developed a new index for nutritional screening in which an inflammatory factor is incorporated. We modified the Glasgow prognostic score (GPS), which is composed of serum albumin and C-reactive protein (CRP). Our modified GPS is composed of GNRI and CRP and scores from 0 to 2 points. We found that patients with a low modified GPS (M-GPS; GNRI  $\geq$  90 and CRP < 0.1 mg/dL) had significantly better outcomes than those with a high M-GPS (GNRI < 90 and CRP  $\geq$  0.1 mg/dL). The Cox proportional hazard model showed that the relative risk of death within 5 years was 1.86 in patients with a high M-GPS.

### Perspectives

Because the GNRI can be calculated from body weight and serum albumin concentration, it is easily obtainable in patients undergoing hemodialysis in a large facility. The modified GPS is an index that covers both nutritional and inflammation-related factors. This index might be more useful in patients on hemodialysis because inflammation is one of the important factors that leads to development of protein-energy malnutrition in these patients. Furthermore, we plan to establish a new nutritional assessment method for malnourished patients on hemodialysis who have been identified by these nutritional screening tools.

$$\text{GNRI} = 14.89 \times \text{serum albumin (g/dl)} + 41.7 \times (\text{dry weight (kg)/ideal body weight (kg)})$$

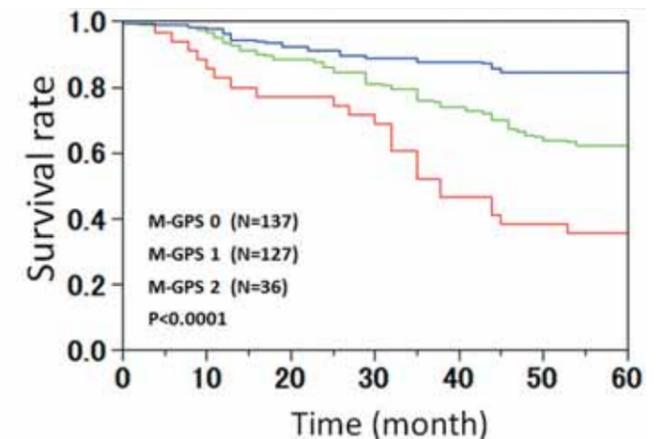
• When the dry weight is heavier than the ideal body weight, the dry weight (kg)/ideal body weight (kg) ratio should be fixed to 1.

• Criteria for hemodialysis patients;  
<91, risk of protein-energy malnutrition  
 $\geq$ 91, no risk of malnutrition

Bouillanne et al. *Am J Clin Nutr* 82:777-83 (2005)  
Yamada et al. *Am J Clin Nutr* 87:106-13 (2008)

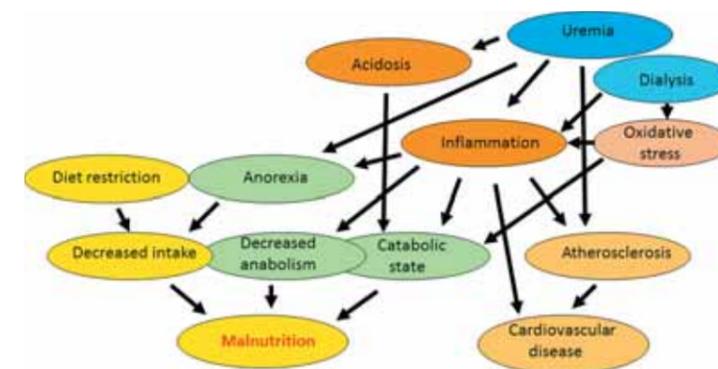
[図1]  
GNRIの算出式とたんぱく質エネルギー栄養障害の診断基準

[Figure 1]  
Formula for calculation of GNRI and the diagnostic criteria for malnutrition.



[図2]  
血液透析患者におけるModified GPSによるカプランマイヤーの生存曲線(5年間)

[Figure 2]  
Kaplan-Meier's 5-year survival curve by modified GPS in hemodialysis patients.

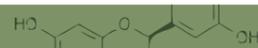


[図3]  
透析患者におけるたんぱく質エネルギー栄養障害のメカニズム

[Figure 3]  
Mechanisms of protein-energy malnutrition in hemodialysis patients.

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

- Koyama K, Ito A, Yamamoto J, Nishio T, Kajikuri J, Dohi Y, Ohte N, Sano A, Nakamura H, Kumagai H, Itoh T: Randomized controlled trial of the effect of short-term coadministration of methylcobalamin and folate on serum ADMA concentration in patients receiving long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis*. 55:1069-78 (2010)
- Saito R, Ohkawa S, Ichinose S, Nishikino M, Ikegaya N, Kumagai H: Validity of mid-arm muscular area measured by anthropometry in nonobese patients with increased muscle atrophy and variation of subcutaneous fat thickness. *Eur J Clin Nutr*. 64: 899-904 (2010)
- Ikegaya N, Yoshida T, Kohsaka T, Suzuki A, Kobayashi N, Yamamoto T, Fujigaki Y, Hishida A, Kumagai H: Effects of relaxin on development of mesangial proliferative nephritis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1160: 300-303(2009)
- Kumagai H, Yamaguchi Y, Ohkawa S, Yamada K, Furuya R, Takita T. Reply to E Cereda and C Pedrolli: The use of the Geriatric Nutritional Risk Index (GNRI) as simplified nutritional screening tool. *Am. J. Clin. Nutr.* 87: 1967 (2008)
- Yamada K, Furuya R, Takita T, Maruyama Y, Yamaguchi Y, Ohkawa S and Kumagai H: Simplified nutritional screening tools for maintenance hemodialysis patients. *Am. J. Clin. Nutr.* 87: 106-113 (2008)



13

研究領域 3

# 糖尿病リスク遺伝子が日本人の糖尿病発症に与える影響

The combined effect of Type 2 diabetes mellitus susceptibility genes is an important risk factor for this disease

**小林 公子** Kimiko KOBAYASHI 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻人類遺伝学研究室 准教授

Associate Professor, Laboratory of Human Genetics, Division of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



## Profile

2007年 静岡県立大学食品栄養科学部 准教授  
 2003年 静岡県立大学食品栄養科学部 助教授  
 2002年 筑波大学基礎医学系 助教授  
 1989年 筑波大学基礎医学系 講師  
 1989年 筑波大学大学院医学研究科修了  
 1985年 筑波大学大学院医科学研究科修了

2003 Associate Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
 2002 Assistant Professor, Institute of Basic Medical Sciences, University of Tsukuba  
 1989 Research Associate, Institute of Basic Medical Sciences, University of Tsukuba  
 1989 Graduate from Graduate School of Medical Sciences, University of Tsukuba, PhD., University of Tsukuba

## Contact

T E L 054 264 5220  
 +81 54 264 5220  
 e-mail kobayasi@u-shizuoka-ken.ac.jp  
 U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/cellphys/index.html

## 序論

糖尿病の発症には食生活や運動習慣などの生活習慣とともに遺伝要因も関与している。最近のゲノム科学と遺伝子分析技術の進歩により、全ゲノムを対象に糖尿病のリスク遺伝子を網羅的に探索することが可能となった。その結果、TCF7L2、KCNJ11、IGF2BP2など約40種類の遺伝子が糖尿病のリスク遺伝子として同定された。一方、肥満が糖尿病発症の重要なリスク因子であることはよく知られているが、日本人には、肥満の認められない糖尿病患者も多い。そこで、本研究では糖尿病リスク遺伝子と肥満の組み合わせが日本人の糖尿病発症に与える影響を分析した。

## 成果

医師により糖尿病と診断された男性333名と糖代謝能正常の男性417名を被験者として、欧米人を対象とした複数の全ゲノム関連解析により、糖尿病リスク遺伝子であることが確認された14種類の遺伝子と日本人を対象とした全ゲノム関連解析により検出された3種類の遺伝子、合計17種類の糖尿病リスク遺伝子を分析した。その結果、SLC30A8、CDKN2A/B、CDC123、KCNQ1の4種類の遺伝子が、効果はそれほど大きくはないが、本研究の被験者集団においても糖尿病の独立したリスク因子となっていることがわかった (P<0.05)。次に、分析した17種類の遺伝子の複合効果を調べるために、被験者が保有するリスクアレル数を数えたところ、糖尿病患者では、多くのリスクアレルを保有する人がコントロール群に比べて多いことがわかった (図1)。また、被験者をリスクアレル保有数別に4つのグループに分けて分析すると、リスクアレルの保有数が増えるにしたがって糖尿病発症のOdd比が上昇することがわかった (P<0.0001 for trend)。さらに被験者を肥満の有無で2群に分けて、同様の解析をおこなったところ、リスクアレル保有数の増加とOdd比上昇の関係は肥満のない群でのみみられ (P<0.0001 for trend)、肥満群においてはリスクアレル保有数の増加は糖尿病発症のリスク因子とはなっていないことがわかった (P=0.88 for trend) (図2)。

次に、肥満が糖尿病の発症に与える影響を調べたところ、多くのリスクアレルを保有する群 (Q3, Q4) においては、肥満は糖尿病発症のリスク因子とはなっていないことがわかった (図3)。すなわち肥満のある人とならない人には、糖尿病の発症に対して異なる遺伝的基盤があることが示唆された。

## 展望

全ゲノム関連解析により同定された糖尿病リスク遺伝子は、単独での影響はそれほど大きくはないが、それらが積み重なることで糖尿病発症のリスク因子となることがわかった。肥満は糖尿病の重要なリスク因子であるが、日本人の糖尿病患者には肥満でない人も多い。肥満がなくても、糖尿病リスク遺伝子を多く保有する個体においては、糖尿病発症の危険率が高くなる。今後はこのような遺伝子型の違いが、糖尿病の予防や治療効果にどのような影響を与えるのかについて分析し、個人に対応したテーラーメイドの糖尿病の予防ならびに治療法を開発していく必要がある。

## Introduction

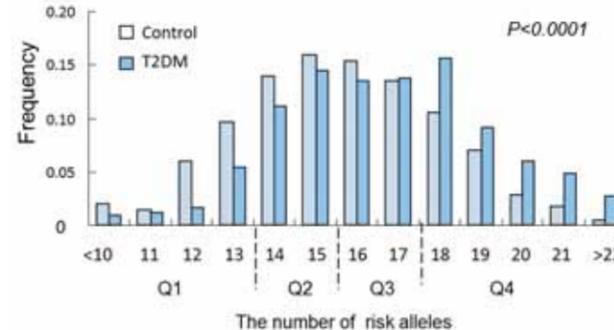
Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a complex endocrine and metabolic disorder. Recently, several genome-wide association studies (GWAS) have identified many novel susceptibility genes for T2DM. In addition, clinical and epidemiological studies have indicated that obesity is a major risk factor for T2DM; however, many obese people do not develop T2DM, while many non-obese people do. We aimed to assess the combined effects of these susceptibility genes and obesity/overweight for development of T2DM in the Japanese.

## Results

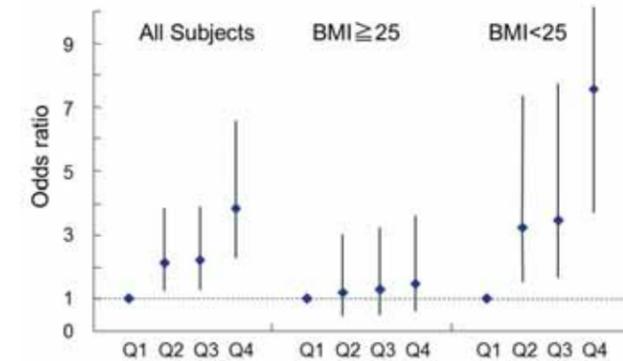
We analyzed the relationships between the genotypes of 17 susceptibility loci identified by GWAS and T2DM in a Japanese population-based case-control study. Our findings indicate that the effect of each risk allele is relatively small, but that the cumulative number of risk alleles is important in the development of T2DM (P < 0.0001) (Fig. 1). We also examined the combined effect of the cumulative number of risk alleles of T2DM and obesity/overweight on the development of T2DM. We observed a significant association between increased number of risk alleles and increased risk of T2DM only in the non-obese group (P < 0.0001 for trend), and not in the obese/overweight group (P = 0.88 for trend) (Fig. 2). In addition, we analyzed the association between obesity/overweight and T2DM according to quartiles of the risk allele numbers. Obesity/overweight was the most important risk factor for T2DM in our Japanese subjects (P < 0.0001); however, for the subjects in Q3 and Q4 (≥17 risk allele), obesity/overweight was not a significant risk factor for T2DM (P > 0.05) (Fig. 3).

## Perspectives

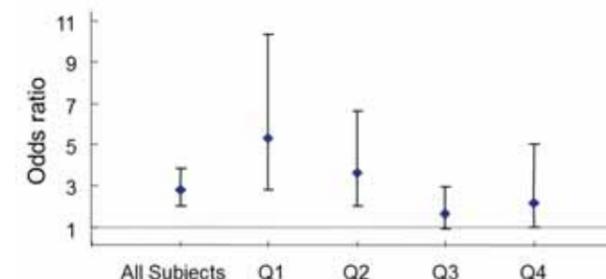
Most T2DM patients in Japan are characterized by a low BMI. Counting the number of risk alleles might improve identification of high-risk subjects in Japanese people. Further prospective studies are required to translate such knowledge about genetic risk factors into clinical practice and prediction and prevention of T2DM in the general population.



[図1] リスクアレル保有数の頻度分布  
 糖尿病患者群のリスクアレル保有数の分布はコントロール群に比べて、保有数の多い方にシフトしていた。  
 [Figure 1] Distribution of the cumulative number of risk alleles of the 17 T2DM susceptibility genes.



[図2] リスクアレル保有数が糖尿病発症に与える影響  
 リスクアレル保有数の増加と糖尿病発症Odd比上昇の関係は、肥満のない群でのみ見られた。  
 [Figure 2] Interaction between the number of risk alleles and obesity in T2DM.



[図3] リスクアレル保有数別にみた肥満が糖尿病発症に与える影響  
 多くのリスクアレルを保有する群 (Q3, Q4) では、肥満は糖尿病発症のリスク因子ではなかった。  
 [Figure 3] Effect of obesity on T2DM according to quartiles of risk allele numbers.

## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. Yamakawa-Kobayashi K, Natsume M, Aoki S, Nakano S, Inamori T, Kasezawa N, Goda T : The combined effect of the T2DM susceptibility genes is an important risk factor for T2DM in non-obese Japanese: a population based case-control study. *BMC Medical Genetics* (in press)
2. Ohhara Y, Kayashima Y, Hayashi Y, Kobayashi S, Yamakawa-Kobayashi K: Expression of  $\beta$ -adrenergic-like octopamine receptors during *Drosophila* development. *Zoological Science*, 29,83-89 (2012)
3. Tsuboi H, Sakakibara H, Yamakawa-Kobayashi K, Tatsumi A, Inamori T, Hamamoto R, Suzuki A, Shimoi K : Val1483Ile polymorphism in the fatty acid synthase gene was associated with depressive symptoms under the influence of psychological stress. *J. Affect Disord*, 134, 448-452 (2011)
4. Hiroi M, Nagahara Y, Miyauchi R, Misaki Y, Goda T, Kasezawa N, Sasaki S, Yamakawa-Kobayashi K: The combination of genetic variations in the PRDX3 gene and dietary fat intake contribute to obesity risk. *Obesity*, 19:882-877 (2011)
5. Osada K, Miyauchi R, Goda T, Kasezawa N, Horiike H, Iida M, Sasaki S, Yamakawa-Kobayashi K: Variations in the WNK 1 gene modulates the effect of dietary intake of sodium and potassium on blood pressure determination. *J. Hum Genet*, 54,474-478 (2009)

生活習慣病に対する環境・社会ストレスの影響と食品による予防に関する研究  
Effect of environmental factors and social stress on lifestyle-related disease and its prevention by food factors

下位 香代子 Kayoko SHIMOI 生活健康科学研究科環境物質科学専攻生体機能学研究室 教授  
Professor, Laboratory of Biochemistry and toxicology, Department of Environmental Health Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



Profile

2005年 静岡県立大学環境科学研究科・大学院生活健康科学研究科教授  
2003年 サウスカロライナ大学薬学部訪問研究員  
2001年 静岡県立大学環境科学研究科・大学院生活健康科学研究科助教授  
1995年 サセックス大学 MRC Cell Mutation Unit訪問研究員  
1991年 静岡県立大学食品栄養科学部助手  
1990年 奈良女子大学大学院人間文化研究科 学位取得  
1983年 静岡薬科大学助手  
1976年 奈良女子大学理学部卒業

2005 Professor, Institute of Environmental Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka  
2003 Visiting Scholar, University of South Carolina, College of Pharmacy  
2001 Associate Professor, Institute of Environmental Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka  
1995 Visiting Scholar, University of Sussex, MRC Cell Mutation Unit  
1991 Research Associate, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1990 Ph.D., Graduate School of Humanities and Sciences, Nara Women's University  
1983 Research Associate, Shizuoka College of Pharmacy  
1976 Graduate from Faculty of Science, Nara Women's University

Contact

T E L 054 264 5787  
+81 54 264 5787  
e-mail shimoi@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://seitai.u-shizuoka-ken.ac.jp/

序論

社会的・心理的ストレスの日常的な曝露が精神疾患と同様に、高血糖症、循環器系障害やがんなどの生活習慣病に関与していることが報告されている。慢性的な社会的ストレスに対する応答機序を理解し、ストレスによって誘発される疾患の予防因子を見出すことは重要である。

成果

まず、社会的ストレス(単独隔離)を30日間負荷したマウスの肝臓における遺伝子発現プロファイルについてDNAマイクロアレイを用いて検討し、次に、13週間の長期間、社会的ストレスをマウスに負荷し、その影響を調べた。その結果、本ストレス(30日間)は、PPARを介する脂質代謝経路を顕著にダウンレギュレーションし、Srebf1により制御されている脂質合成経路を顕著にアップレギュレーションすることがわかった(図1)。本結果から示唆されたように、13週間の社会的ストレスを負荷したマウスの体重、内臓脂肪重量、血漿コレステロールおよび血糖値は顕著に増加した。血漿コレステロールの増加機序を明らかにするために、肝臓組織における遺伝子発現解析を行ったところ、コレステロール合成に関わるHmgcrの遺伝子発現レベルはコントロール群と比べ差異はなかったが、コレステロール代謝、排泄、肝臓における再取り込みに関与する遺伝子発現に変化が見られた。慢性的な社会的ストレス負荷は、コレステロールの代謝・排泄系に異常をもたらすことが示唆された。抗脂血症剤であるフェノフィレートやウコン抽出物がストレスによる内臓脂肪重量や血漿コレステロール値の上昇を低下させることがわかった。

一方、日常的なストレスは17-estradiol (E<sub>2</sub>)が関与する乳がんの進展を促進すると考えられている。CYP1B1はE<sub>2</sub>を優先的に発がん性のある4-OHE<sub>2</sub>に代謝し、CYP1A1と1A2は、2-OHE<sub>2</sub>に代謝する。E<sub>2</sub>標的組織では、CYP1B1が高発現しており、がん組織では、4-OHE<sub>2</sub>が優先的に生成している。本研究において、グリソエリオールのようなメキシフラボノイドがCYP1B1を強く選択的に阻害することを見出した。ドッキングスタディにより、グリソエリオールはCYP1B1の活性中心にぴったりとおさまるが、CYP1A1と1A2に対しては、グリソエリオールのメキシ基とCYP1A1のSer-122が、また、CYP1A2のThr-124が衝突するため、ぴったりとおさまらないことがわかった(図2)。ヒト乳がん細胞であるMCF-7細胞において、グリソエリオールはCYP1A1と1B1の遺伝子発現に影響することなく、また、2-methoxy-E<sub>2</sub>の生成にも影響することなく、顕著に4-methoxy-E<sub>2</sub>の生成を抑制することが明らかになった。

展望

これらの結果は、長期間の社会的ストレス負荷が内臓脂肪や血中コレステロールを増加させ、その結果、特に内臓脂肪蓄積型の肥満や脂肪肝などの生活習慣病を誘発することを示している。フェノフィレートのようなPPARのリガンドは、ストレスによっておこる脂肪蓄積の予防に有用であろう。一方、グリソエリオールはCYP1B1の活性を選択的に阻害するため、乳がんの化学予防因子となり、このようなCYP1B1選択的阻害因子は、乳がん以外のエストロゲン依存性のがんに対しても有用であると思われる。

Introduction

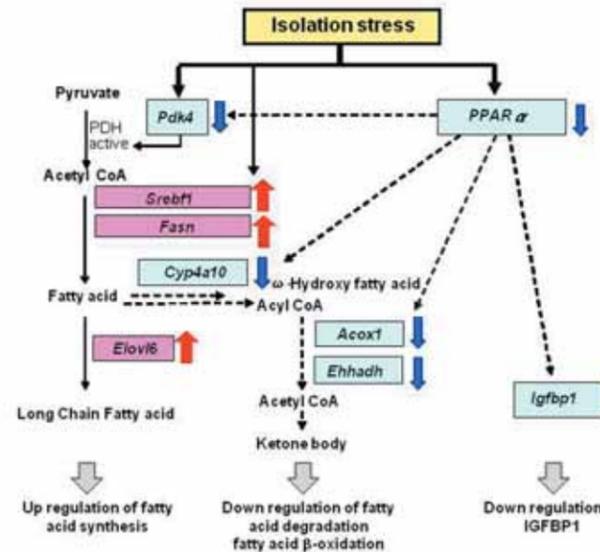
Daily exposure to social and psychological stress is reportedly associated with lifestyle-related diseases such as hyperglycemia, cardiovascular diseases and cancer, as well as mental disorders. It is very important to understand the mechanisms underlying responses to consecutive social stressors and to find chemopreventive factors for stress induced diseases.

Results

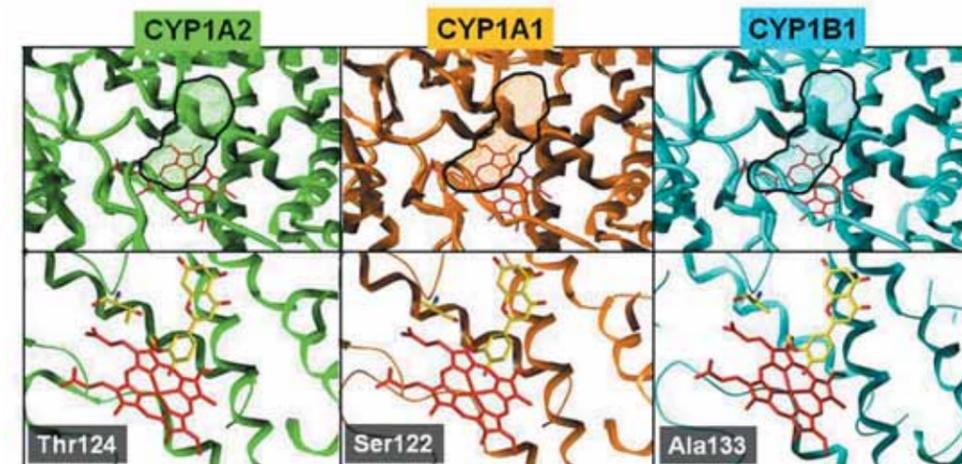
First, we used a DNA microarray to evaluate changes in the hepatic gene expression profile in mice exposed to a stressful environment (isolation stress) for 30 days and then we further studied the effects of prolonging the stressful environment to 13 weeks. The stressful environment remarkably down-regulated the lipid metabolism-related pathway through the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (Ppara) subtype, whereas the lipid biosynthesis pathway controlled by sterol regulatory element binding factor 1 (Srebf1) was significantly up-regulated (Fig.1). As suggested by these results, being in a stressful environment for 13 weeks resulted in significant increases in the body weights, visceral fat weights, plasma total cholesterol and glucose concentrations of the stressed mice. We performed hepatic gene expression analysis to clarify the mechanisms by which the blood cholesterol concentrations increased. There was no difference between control and stressed groups in the degree of expression of Hmgcr, which is associated with cholesterol synthesis. However, a chronic stressful environment does cause abnormalities in the systems for cholesterol metabolism, excretion, and hepatocellular reuptake. We found that fenofibrate, which is a hypolipidemic agent, and an extract of turmeric (*Curcuma Long L.*) reduced visceral fat weights and total plasma cholesterol concentration. On the other hand, daily stress reportedly promotes development of 17β-estradiol (E<sub>2</sub>) related breast cancer. Cytochrome P450 (CYP) 1B1 catalyzes E<sub>2</sub> to predominantly carcinogenic 4-hydroxy-E<sub>2</sub> (4-OHE<sub>2</sub>), whereas CYP1A1 and 1A2 convert E<sub>2</sub> to non-carcinogenic 2-hydroxy-E<sub>2</sub>. In E<sub>2</sub> target tissues, CYP1B1 is highly expressed and 4-OHE<sub>2</sub> is predominantly formed in cancerous tissues. In this study, we found that methoxyflavonoids such as chrysoeriol strongly and selectively inhibit CYP1B1. A molecular docking study suggested that chrysoeriol fits well into an active site of CYP1B1, but do not fit into the active site of CYP1A1 and 1A2 owing to collisions between both a methoxy substituent of chrysoeriol and Ser-122 of CYP1A1 and Thr-124 of CYP1A2 (Fig.2). In human breast cancer MCF-7 cells, chrysoeriol did not affect the gene expression of CYP1A1 and 1B1, but significantly inhibited formation of 4-methoxy-E<sub>2</sub> without any effects on formation of 2-methoxy-E<sub>2</sub>.

Perspectives

We found that prolonged exposure to a stressful environment induces visceral fat accumulation and increase in the blood cholesterol concentrations, and consequently may result in lifestyle-related illnesses, particularly obesity and fatty liver. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha ligands such as fenofibrate may be useful for chemoprevention of stress-induced lipid deposition. On the other hand, chrysoeriol may be a potent chemoprotectant against human mammary carcinogenesis by selective inhibition of the enzymatic activity of CYP1B1. Such selective inhibitor may be useful for chemoprevention of estrogen dependent cancers.



【図1】マウス肝臓における脂質代謝経路への30日間の社会的ストレス負荷の影響  
[Figure 1] Scheme for lipid metabolism pathway in livers of mice affected by mild consecutive isolation stress for 30 days.

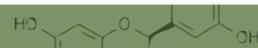


【図2】ヒトCYP1の活性中心およびグリソエリオールとのドッキング

[Figure 2] Comparison between the active site cavity volumes for human CYP1 and the corresponding docked conformation of chrysoeriol in the human CYP1 active site.

代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. H. Tsuboi, H. Sakakibara, K. Yamakawa-Kobayashi, A. Tatsumi, T. Inamori, R. Hamamoto, A. Suzuki, K. Shimoi : Val1483Ile polymorphism in the fatty acid synthase gene was associated with depressive symptoms under the influence of psychological stress. *J. Affect. Disord.*, 134(1-3), 448-485 (2011)
2. H. Takemura, T. Itoh, K. Yamamoto, H. Sakakibara, K. Shimoi : Selective inhibition of methoxyflavonoids on human CYP1B1 activity. *Bioorg. Med. Chem.*, 18(17), 6310-6315 (2010)
3. H. Takemura, H. Uchiyama, T. Ohura, H. Sakakibara, R. Kuruto, T. Amagai, K. Shimoi : A methoxyflavonoid, chrysoeriol, selectively inhibits the formation of a carcinogenic estrogen metabolite in MCF-7 breast cancer cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 118(1-2), 70-76 (2010)
4. H. Sakakibara, T. Miyashita, A. Matsui, A. Ozaki, A. Suzuki, T. Ikeda, K. Morishita, K. Shimoi : Effects of St John's Wort extracts on corticosterone levels dysregulated by social isolation stress. *J. Trad. Med.*, 26(2), 86-92 (2009)
5. K. Motoyama, Y. Nakai, T. Miyashita, Y. Fukui, M. Morita, K. Sanmiya, H. Sakakibara, I. Matsumoto, K. Abe, T. Yagabe, N. Yajima, K. Shimoi : A 30-day-isolation stress laid on mice alters their hepatic gene expression profiles in special reference to lipid metabolism. *Physiol. Genomics*, 37(2), 79-87 (2009)



15

研究領域 1 生体リスク軽減に繋がる食生活環境に応じた機能タンパク分子の

産生制御活性を有する食品、生体成分の探索と評価法の研究

Identification of dietary compounds and factors regulating production of functional proteins associated with adaptability, and development of analytical methods for evaluation of the effects

菅谷 純子 Junko SUGATANI 薬学研究科医療薬学専攻生体情報分子解析学教室 教授

Professor, Laboratory of Clinical Molecular Cell Ciology, Division of Clinical Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



Profile

2008年 静岡県立大学薬学部教授  
 2007年 静岡県立大学薬学部准教授  
 2002年 静岡県立大学薬学部助教授  
 2000年 米国国立環境衛生研究所客員研究員  
 1996年 静岡県立大学薬学部講師  
 1984-1986年 米国テキサス州立大学医学部客員研究員  
 1982-1996年 関西医科大学医学部講師  
 1975年 関西医科大学医学部助手  
 1973年 大阪大学薬学部卒業

2008 Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
 2002 Associate Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
 2000 Guest Researcher, Pharmacogenetics section, Laboratory of Reproductive and Developmental Toxicology, National Institute of Environmental Health Sciences, NC, USA  
 1996 Assistant Professor, Graduate School of Pharmaceutical Science, University of Shizuoka  
 1984-1986 Guest Scientist, Department of Biochemistry, University of Texas, Health Science Center at San Antonio, USA  
 1982-1996 Assistant Professor, Kansai Medical University  
 1975 Research Associate, Kansai Medical University  
 1973 Bachelor of Pharmaceutical Sciences, University of Osaka

Contact

T E L 054 264 5779  
 +81 54 264 5779  
 e-mail sugatani@u-shizuoka-ken.ac.jp  
 U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/rinsho/

序論

近年、生活習慣病発症の危険因子である肥満症の増加が社会的問題となっていることから、本研究では栄養過多モデル動物の薬物代謝酵素 / 薬物トランスポーター発現レベルならびに薬物動態の変動、高脂肪食摂取が核内受容体を介した誘導機構に及ぼす影響を解析することにより、栄養過多に起因した生活習慣病患者が薬物を適正に使用するための基礎的成果を提供し、医薬品有害事象回避手法の開発とその臨床応用の基盤形成を目標とした。

成果

生活習慣病の原因ともなる肥満時における薬物の生体への影響を、脂肪肝を形成したラットを用いて検討した。高脂肪・高糖質食 (HF) を3週間摂取させ脂肪肝を形成させたHF群では、フルバスタチン (8 mg / kg / 日) 投与4日後より血清ASTレベルが上昇し、8日後には血清ALT、ASTレベルが顕著に上昇し、肝実質細胞の障害が増悪するとともに、横紋筋融解症で特徴的な血中CKレベルの上昇、後肢骨格筋繊維の損傷が認められ死亡することを初めて見いだした。処理4日目に、フルバスタチンの血中濃度が上昇し、その原因がフルバスタチンの肝取り込み、代謝、排出の変動に起因しているのか明らかにするために、普通食 (SD) 群、HF群における、薬物代謝酵素と薬物トランスポーターの発現におよぼすフルバスタチンの影響を解析した。フルバスタチンの代謝に関わる薬物代謝酵素 (CYP2C, UGT1A3) の発現変動はあまり認められなかったが、フルバスタチンを肝実質細胞に取り込むトランスポーターOatp2の発現レベルが、HF群においてフルバスタチン投与後早期に顕著に低下しており、このことがフルバスタチンの血中濃度の増大を惹起し、肝実質細胞の障害を誘発し、重篤な副作用 (横紋筋融解症) の発現に繋がることを明らかにした。

また、ショ糖を原料に微生物由来イヌリン合成酵素により合成したイヌリン (以下合成イヌリン) によるHF食摂取動物における脂肪組織、肝臓、血中脂質レベルの低下作用、脂肪肝の進展抑制効果を分子レベルで解析した。5%合成イヌリン含有HF食を3~12週間摂取させたラットでは、HF食摂取による体重、血清、肝TGおよび総コレステロール含量の増大の抑制、門脈血グルコースレベルの増大の抑制、血清インスリンレベルの増大の抑制、アディポネクチンレベルの低下の抑制、門脈血鎖状脂肪酸 (プロピオン酸) レベルの低下の抑制がフルクトース重合度DP=16~17の合成イヌリン摂取時に最も効果的に見られた。合成イヌリン摂取により認められた抗肥満作用の生体内分子機構として、HF食摂取下に発現亢進する脂肪酸合成酵素fatty acid synthase mRNAレベルの抑制に起因していることを明らかにした。

展望

本研究の成果から、スタチンを用いた薬物療法において血中ASTレベルの測定が、脂肪肝患者におけるスタチンによる重篤な副作用である横紋筋融解症発症の防止に役立つことが示唆された。

酵素合成によるイヌリンの、従来評価されている血糖上昇抑制作用などに加えて、肝障害発症防止効果等の新たな機能効果について検討することにより、新視点からのイヌリン摂取効果を評価でき、本研究の成果は生活習慣に伴う各種疾患の防止に寄与するサプリメント製品の開発にも繋がり、新たな効果を持つ機能性食品の開発を可能とするものである。

Introduction

The liver is the major site of clearance for most statins. Hepatic elimination involves metabolic enzymes and drug transporters. Impaired nutritional status, such as in starvation, fasting, and high-lipid diets, and pathophysiological factors such as diabetes reportedly affect liver drug-metabolizing phase I and II enzymes and transporters, leading to the altered hepatic metabolism of drugs, carcinogens, steroid hormones, and fatty acids. However, little is known about the role of nutrition in the adverse effects of statins. In the present study, we used rats fed a high-lipid and high-sucrose (HF) diet to investigate whether nutritional status affects statin-induced adverse effects such as severe hepatotoxicity and myopathy.

In addition, to elucidate whether dietary inulin prevents the development of metabolic disease, we examined the effects of inulin, enzymatically synthesized from sucrose, on serum and liver lipid profiles, blood biochemical variables and hepatic expression of lipid metabolism-related enzyme and transcription factor genes in rats fed the HF diet. Our ultimate aim was to elucidate whether dietary factors can prevent severe adverse effects of statin therapy and to develop convenient analytical methods for evaluation of the effects of functional factors and dietary compounds.

Results

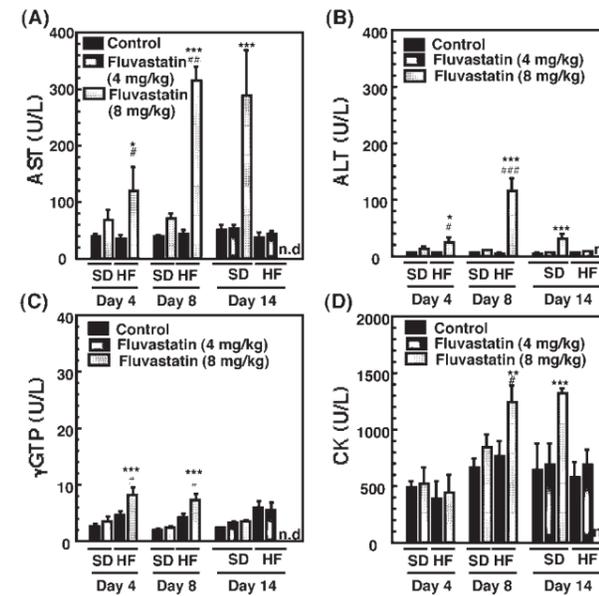
Rats that consume an HF diet develop hepatic steatosis. Treatment with fluvastatin (8 mg/kg) ameliorates hypertriglyceridemia and hepatic steatosis in rats on standard (SD) diets, but causes increases in concentrations of plasma aspartate aminotransferase (AST) and creatine kinase, leg muscle weakness and myositis in those on HF diets. Fluvastatin at the concentrations that we found in the plasma of HF diet-fed rats causes release of AST from Chang liver cells and suppression of cell growth. Thus, we performed this study to determine whether the increase in systemic exposure resulted from suppression of uptake or metabolism of fluvastatin in the liver. We found no significant differences between SD and HF diet-fed groups in baseline concentrations of Oatp1, Oatp2, Mrp2, Mrp3, Mdr1b, CYP1A, CYP2C, CYP3A, UGT1A5, or UGT2B1 proteins. In contrast, Oatp1, Mrp3, CYP1A, CYP2C, and UGT2B1 protein concentrations were moderately decreased and those of CYP3A and Oatp2 mRNA markedly suppressed by fluvastatin, whereas Mrp2, Mdr1b, UGT1A1, and UGT1A5 protein concentrations did not change significantly. The amounts of constitutive androstane receptor, pregnane X receptor, and hepatocyte nuclear factor 4a proteins were decreased in the liver cell nuclei of fluvastatin-treated HF diet-fed rats, which correlated with decreases in Oatp2, CYP2C, and CYP3A. Taken together, these results indicate that nutritional status may influence the adverse effects of fluvastatin, and inhibition of transporter-mediated hepatic uptake in HF diet-fed animals may suppress elimination of fluvastatin.

Treatment with inulin for 3 weeks reduced the increase in liver concentrations of triacylglycerol and total cholesterol in rats fed the HF diet, but not in those fed the SD diet. Moreover, the concentrations of portal plasma propionate and circulating serum adiponectin, which are decreased in HF rats, recovered to nearly normal levels after administration of inulin. In addition, dietary inulin suppressed increases in concentrations of portal plasma insulin and circulating serum leptin and induction of acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthase mRNAs in the liver of HF rats, consistent with the reduction of liver lipids. These observations indicate that dietary inulin may prevent the development of metabolic disease.

Perspectives

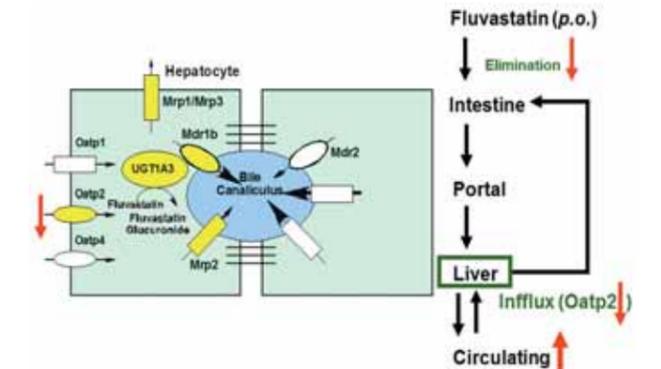
This study provides clues to treating statin-induced liver failure associated with lipid accumulation, since fluvastatin increases serum AST concentrations in HF diet-fed rats and this precedes increases in serum CK concentrations and muscle damage. In order to prevent severe adverse effects in patients with hepatic steatosis, we should be alert to the warning sign of an increase in serum AST concentrations.

In addition, dietary inulin is useful for preventing the development of metabolic diseases, such as hyperlipidemia and hyperinsulinemia caused by consuming an HF diet, by suppression of hepatic lipogenesis.



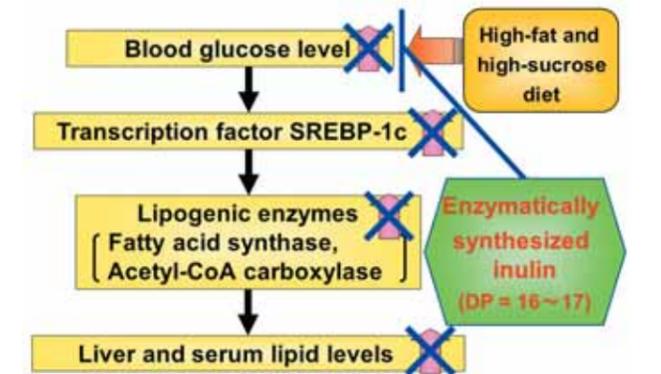
【図1】フルバスタチン副作用のバイオマーカーとなる血清因子の経時変化。高脂肪高糖質 (HF) 食を1週間摂取し脂肪肝を形成させたラットにフルバスタチン (8 mg / kg / 日) を投与すると4日後より血清ASTレベルが上昇し、8日後には血清ALT、ASTレベルが顕著に上昇し、肝実質細胞の障害が増悪するとともに、横紋筋融解症で特徴的な血中CKレベルが上昇する。普通食摂取群と比べて \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001。高脂肪高糖質摂取群と比べて #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 versus HF diet-fed control rats. n.d.: 未測定

【Figure 1】Effects of fluvastatin treatment on serum concentrations of AST, ALT,  $\alpha$ -glucosidase-5'-triphosphate ( $\alpha$ -GTP), and creatine kinase (CK) in rats fed an SD or HF diet and administered fluvastatin. Rats (7 weeks of age) were fed an SD or HF diet for 1 week and then given fluvastatin (0, 4, or 8 mg/kg) with the diet daily. We killed the rats 4, 8, or 14 days after starting fluvastatin. Values are the mean  $\pm$  S.E. (n = 4). \*, P < 0.05; \*\*, P < 0.01; \*\*\*, P < 0.001 versus SD diet-fed control rats. #, P < 0.05; ##, P < 0.01; ###, P < 0.001 versus HF diet-fed control rats. n.d., not determined.



【図2】フルバスタチンの肝実質細胞内への取り込みに関わる薬物トランスポーターOatp2の発現抑制がフルバスタチンの血中濃度を上昇させ、肝実質細胞の障害を誘発し、重篤な副作用 (横紋筋融解症) を惹起する

【Figure 2】Fluvastatin causes severe hepatotoxicity and myopathy in rats fed the HF diet and this is associated with suppression of hepatic organic anion transporting polypeptide 2.



【図3】高脂肪・高糖質食摂取動物における酵素合成イヌリンによる脂肪合成酵素 (脂肪酸合成酵素、アセチルCoAカルボキシラーゼ) の発現抑制を介した肝臓、血中脂質レベルの低下作用と脂肪肝進展抑制効果

【Figure 3】Enzymatically synthesized inulin modulates hepatic and serum lipid accumulation through suppressing hepatic expression of lipogenic enzymes such as fatty acid synthase and acetyl-CoA carboxylase in rats fed an HF diet.

代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

- Y. Yamazaki, T. Hashizume, H. Morioka, S. Sadamitsu, A. Ikari, M. Miwa, J. Sugatani: Diet-induced lipid accumulation in liver enhances ATP-binding cassette transporter g5/g8 expression in bile canaliculi. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 26, 442-50 (2011)
- J. Sugatani, S. Sadamitsu, M. Kurosawa, S. Ikushiro, T. Sakaki, A. Ikari, M. Miwa: Nutritional status affects fluvastatin-induced hepatotoxicity and myopathy in rats. *Drug Metab. Dispos.*, 38, 1655-1664 (2010)
- J. Sugatani, M. Osabe, M. Kurosawa, N. Kitamura, A. Ikari, M. Miwa: Induction of UGT1A1 and CYP2B6 by an antimetastatic factor in HepG2 cells is mediated through suppression of cyclin-dependent kinase 2 activity: Cell-cycle dependent expression. *Drug Metab. Dispos.*, 38, 177-186 (2010)
- M. Osabe, J. Sugatani, T. Fukuyama, S. Ikushiro, A. Ikari, M. Miwa: Expression of hepatic UDP-glucuronosyltransferase IA1 and IA6 correlated with increased expression of the nuclear constitutive androstane receptor and peroxisome proliferators-activated receptor  $\alpha$  in male rats fed a high-fat and high-sucrose diet. *Drug Metab. Dispos.*, 36, 294-302 (2008)
- J. Sugatani, M. Osabe, T. Wada, K. Yamakawa, Y. Yamazaki, T. Takahashi, A. Ikari, M. Miwa: Comparison of enzymatically synthesized inulin, resistant maltodextrin and clofibrate effects on biomarkers of metabolic disease in rats fed a high-fat and high sucrose (cafeteria) diet. *Eur. J. Nutr.*, 47, 192-200 (2008)

# 食品成分の生理作用に基づいた脳機能解析 Analysis of brain function based on the actions of food components

武田 厚司 Atsushi TAKEDA 薬学研究科薬学専攻医薬生命化学教室 准教授  
Associate Professor, Laboratory of Medical Biochemistry, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



## Profile

2000年 静岡県立大学薬学部准教授  
1995年 米国ペンシルバニア大学医学部客員研究員(1年間)  
1992年 米国ネブラスカ大学医学部客員研究員(3ヶ月間)  
1991年 静岡県立大学薬学部講師  
1981年 静岡薬科大学助手  
1981年 静岡薬科大学大学院薬学研究科修士課程修了

2000 Associate Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1995 Research Scholar, Department of Neuroscience & Anatomy, M.S. Hershey Medical Center  
1992 Research Scholar, Department of Pharmacology, University of Nebraska Medical Center  
1991 Assistant Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1981 Instructor, Division of Radiobiochemistry and Radiopharmacology, Shizuoka College of Pharmacy,  
1981 Graduate from Shizuoka College of Pharmacy

## Contact

T E L 054 264 5700  
+81 54 264 5700  
e-mail takedaa@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/radiobiol/

## 序論

亜鉛は蛋白質の機能を通して遺伝子の複製や発現など細胞機能に関与し、個体の発生ならびに生命活動に重要な役割を担っている。一方、遊離の亜鉛(亜鉛イオン)は細胞内外においてきわめて低濃度であり、細胞内ではカルシウムイオンのようにセカンドメッセンジャーとして機能することが認識されつつある。脳では神経細胞のシナプス小胞内に亜鉛は存在し、神経活動に伴いシナプス間隙に放出され、ダイナミックに脳機能を調節する。シナプス小胞に亜鉛を含む神経はグルタミン酸作動性神経のサブタイプであり、亜鉛作動性神経とも呼ばれている。亜鉛作動性神経は大脳皮質、海馬、扁桃体に豊富に存在し、学習・記憶ならびに精神活動に重要な役割を担うと考えられるが、その役割は十分には明らかにされていない。高齢化、高度情報化社会のなかで脳の健康に対する関心が高まるなか、本研究では、亜鉛作動性神経機能を解析し、脳機能における亜鉛の役割を検討した。

## 成果

神経 内分泌機能の連携は脳機能の制御に不可欠である。亜鉛摂取不足は内分泌機能(副腎皮質からのグルココルチコイド分泌)を速やかに変化させ、脳機能を障害することを示した。すなわち、亜鉛不足により、ラット海馬では神経新生が抑制され、うつ様行動が増加することを明らかにし、亜鉛不足はうつ発症のリスクファクターであることを提唱した。また、亜鉛不足はてんかん発作などの脳病態を悪化させることを示した。

一方、脳神経細胞のシナプス小胞内に存在する亜鉛イオンは、グルタミン酸とともに放出され、すみやかにシナプス前ニューロンとシナプス後ニューロンに取込まれ、細胞内外でシナプス伝達機能を調節することを示した(図1, 2)。さらに、記憶の細胞レベルでのメカニズムの一つと考えられている長期増強(LTP)は海馬シナプス機能の成熟化ならびに老化に応じてシナプス亜鉛イオンにより時空間的に多様に調節されることを示した。そして、海馬依存性記憶、ならびに扁桃体が関与する不安・恐怖記憶にシナプス亜鉛が関与することを明らかにした。

## 展望

亜鉛恒常性を制御する内分泌ホルモンは知られていないが、生体の恒常性維持ならびに環境への適応にはグルココルチコイドと亜鉛シグナルの連携が不可欠である。

通常時細胞質カルシウムイオン濃度は細胞外と比べて104倍低い。亜鉛イオンの場合にはそれほどの違いはないが、通常時の細胞質亜鉛イオン濃度はカルシウムイオンと比べると100倍以上低い。亜鉛イオンはカルシウムイオンより細胞毒性が高いために、神経細胞は通常レベルをきわめて低く保ち、脱分極刺激に伴う活動時のシナプス亜鉛シグナルをうまく利用していると考えられる。近年、亜鉛輸送タンパク質が相次いで同定されてきたが、その数は亜鉛イオン恒常性がいかに重要であるかを物語っている。一方で神経活動時には亜鉛イオンをミリ秒のオーダーでダイナミックに使うためにカルシウムチャンネルが利用される。亜鉛作動性神経シナプスでの亜鉛イオン流入は新規環境下での探索活動と関係する。しかし、適量を超えた流入はその活動を変化させる。亜鉛イオンの動態制御機構、そして、海馬、扁桃体での亜鉛シグナルが個体の行動とどのように関係するかを解析する必要がある。亜鉛作動性神経の役割は断片的な知見があるのみであり、亜鉛作動性神経活動と認知・精神活動との関係のリアルタイム解析がその役割解明に向けたブレイクスルーとなることを期待する。

## Introduction

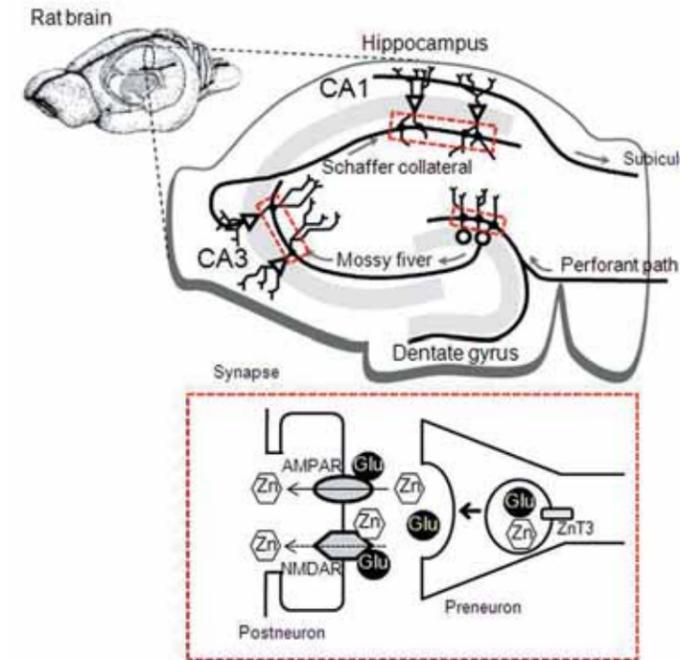
Zinc is essential for cell division and differentiation. Over 300 proteins require zinc for their functions in microorganisms, plants and animals. The importance of zinc is true of the brain. Approximately 80 % of the total brain zinc exists as zinc metalloproteins. The rest mainly exists in the presynaptic vesicles and is histochemically reactive as revealed by Timm's sulfide-silver staining method. Histochemically reactive (chelatable) zinc is released along with neuronal activity and serves as a signal factor in the form of  $Zn^{2+}$ ; there is a large number of evidence on zincergic neurons that sequester zinc in the presynaptic vesicles and release it in a calcium- and impulse-dependent manner. In the present study, the function of zincergic neurons was analyzed to understand the role of zinc in brain function.

## Results

Zinc deficiency caused abnormal glucocorticoid secretion and increased depression-like behavior in young rats. Zinc deficiency suppressed hippocampal neurogenesis in young rats. Neuropsychological symptoms such as depressive behavior were observed prior to the decrease in  $Zn^{2+}$  signal in the hippocampus under zinc deficiency. Zinc deficiency may be a risk factor to suffer from depression. On the other hand,  $Zn^{2+}$  was released from zincergic neuron terminals in the brain, immediately taken up into presynaptic and postsynaptic neurons through calcium channels such as calcium-permeable AMPA/kainate receptors, and served as a signal factor in both the intracellular (cytosol) and extracellular compartments (Fig. 1 and 2). Hippocampal  $Zn^{2+}$  signaling multi-functionally participated in synaptic plasticity such as long-term potentiation (LTP) in the hippocampus, which is believed to be the cellular mechanism of memory. Furthermore,  $Zn^{2+}$  signaling participated in hippocampus-dependent memory and fear memory associated with amygdala function. These results indicate that  $Zn^{2+}$  signaling is required for memory formation.

## Perspectives

Humans and animals are constantly exposed to environmental stress. Stressful life events are one of the causes of psychiatric disorders and are associated with suicidal behavior. The significance of  $Zn^{2+}$  signaling in the brain is poorly understood in comparison with  $Ca^{2+}$  signaling.  $Zn^{2+}$  signaling is important to maintain healthy brain and its importance is becoming recognized. The responsiveness of the HPA system to zinc deficiency as a stressor indicates the importance of zinc as a nutrient and functional factor. Abnormal glucocorticoid secretion might be induced by the lack of  $Zn^{2+}$  signaling in peripheral tissues, which is estimated to be responsive to zinc deficiency. The spatiotemporal analysis on  $Zn^{2+}$  signaling is necessary for better understanding brain functions.

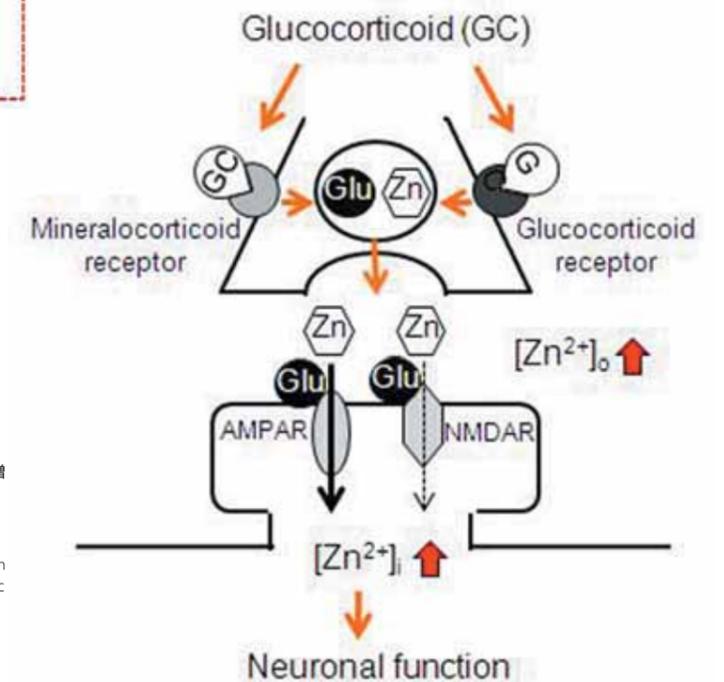


[図1] 海馬でのシナプス神経伝達  
亜鉛作動性神経は海馬三シナプス(点線で表示)に存在する。亜鉛イオンはカルシウム透過型AMPA受容体などを介して取込まれ(プレニューロンにも取込まれる)、グルタミン酸を介した神経伝達を細胞内外で調節する。

[Figure 1] Synaptic neurotransmission in the hippocampus  
There are zincergic neuron terminals at three synapses in the hippocampus.  $Zn^{2+}$  is taken up into presynaptic and postsynaptic neurons through calcium channels such as calcium-permeable AMPA/kainate receptors and serves as a signal factor in both the intracellular (cytosol) and extracellular compartments.

[図2] 海馬亜鉛作動性シナプスでのグルココルチコイド-亜鉛シグナル仮説  
グルココルチコイドはプレニューロンからの開口放出を促進し、細胞内亜鉛シグナルを増加させ、神経細胞機能に関与する。

[Figure 2] Proposed glucocorticoid-zinc interactions in the hippocampus  
Glucocorticoids increase presynaptic release probability of glutamate and zinc from zincergic neuron terminals and postsynaptic  $Zn^{2+}$  levels in the cytosolic compartment, followed by the modulation of postsynaptic neuronal function.



## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. A. Takeda, S. Takada, M. Nakamura, M. Suzuki, H. Tamano, M. Ando, N. Oku: Transient increase in  $Zn^{2+}$  in hippocampal CA1 pyramidal neurons causes reversible memory deficit. *PLoS ONE*, 6, e28615 (2011)
2. A. Takeda: Zinc signaling in the hippocampus and its relation to pathogenesis of depression. *Mol. Neurobiol.*, 44, 166-174 (2011)
3. A. Takeda, S. Takada, M. Ando, K. Itagaki, H. Tamano, M. Suzuki, H. Iwaki, N. Oku: Impairment of recognition memory and hippocampal long-term potentiation after acute exposure to cloquinol. *Neuroscience*, 171, 443-450 (2010)
4. S. W. Suh, S. J. Won, A. M. Hamby, Y. Fan, C. T. Sheline, H. Tamano, A. Takeda, J. Liu: Decreased brain zinc availability reduces hippocampal neurogenesis in mice and rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 29, 1579-1588 (2009)
5. A. Takeda and Haruna Tamano: Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. *Brain Res. Rev.*, 62, 33-44 (2009)

# 肝P450発現誘導における食品-薬物相互作用の研究 Studies on food-drug interaction in the induction of hepatic P450 enzymes

**出川 雅邦 Masakuni DEGAWA** 薬学研究科薬学専攻衛生分子毒性学教室 教授  
Professor, Department of Molecular Toxicology, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



## Profile

1998年 静岡県立大学薬学部教授  
1998年 東北大学薬学部助教授  
1992年 米国立毒理学研究センター (FDA/NCTR:文部省在外研究員)  
1982年 薬学博士(東北大学)  
1979年 東北大学薬学部助手  
1975年 東北大学薬学部教務職員  
1974年 財団法人東京生化学研究所助手  
1974年 東京理科大学薬学研究科修士課程修了  
1972年 東京理科大学薬学部製薬学科卒業

1998 Professor, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1998 Associate Professor, Pharmaceutical Institute, Tohoku University  
1992 Visiting Scientist, FDA/NCTR, USA  
1982 Ph.D. (Tohoku University)  
1979 Assistant Professor, Pharmaceutical Institute, Tohoku University  
1975 Research Associate, Pharmaceutical Institute, Tohoku University  
1974 Research Associate, Tokyo Biochemical Research Institute  
1974 Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science (Master Course)  
1972 Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

## Contact

T E L 054 264 5685  
+81 54 264 5685  
e-mail degawa@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/eisei/

## 序論

肝シクロクロムP450 (CYP) に多くの分子種が存在し、それらは医薬品の解毒や、プロドラッグや前駆型がん原性物質の代謝活性化に関わる主要酵素になっている。CYPの各分子種は、それぞれ異なる基質特異性を有し、また対応する各基質 (医薬品を含む異物) の摂取・暴露でしばしば誘導される。このようなCYPの誘導が医薬品の薬効減弱や有害化合物の毒性増強に繋がる場合もある。さらに、CYPの発現や活性の変動は、医薬品服用時だけでなく、特定の食品中成分の摂取によってもしばしば起こることが知られている。従って、医薬品の適正使用や化学物質による毒性発現の観点から、医薬品・有害化合物・食品中成分の複合摂取時における肝CYPの分子種レベルでの発現変動の解析は重要な課題となる。

本研究では、多くの癌原性化合物の代謝活性化や医薬品であるテオフィリンなどの代謝に関わるCYP1Aサブファミリー酵素に焦点を合わせ、それら酵素誘導剤の検索に肝細胞株を樹立した。またさらに、それら樹立細胞株を用いて医薬品と有害化合物の複合影響を検討し、有用な知見を得た。

## 成果

ヒト肝がん細胞株HepG2に、CYP1Aサブファミリー酵素遺伝子の転写活性化因子 (AhR) が結合する応答配列 (XRE) を組み込んだレポータープラスミド XRE-Luc を安定導入し、ヒトAhR-basedレポーター細胞株HepG2-A10を樹立した (図1)。本細胞株に、ヒトAhRリガンドを処理すると、レポーター (ルシフェラーゼ) 遺伝子の発現が上昇するだけでなく、宿主細胞内の標的遺伝子であるCYP1As遺伝子やそれら酵素蛋白質の発現が上昇し、さらにそれら酵素活性も増加した。これらの結果から、HepG2-A10細胞株がヒトCYP1A酵素誘導剤の検索に有効であることが確認された。

次いで、ラットやマウスの肝臓にCYP1Aサブファミリー酵素を誘導するジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬のニカルジピン (NIC) と、代表的なAhRリガンドである癌原性多環芳香族炭化水素 (PAH) の3-メチルコラントレン (MC) を試料として、各化合物単独処理およびこれら化合物複合処理によるCYP1A酵素誘導への影響をHepG2-A10細胞を用いて追究した。その結果、NICには、MCによるヒトAhRの活性化やヒトCYP1A誘導を増強する作用があることが明らかになった。また、NICの共存により、MCの細胞内蓄積やMC-DNA付加体形成がいずれも顕著に増加することも示された (図2)。

このような増強作用はNICだけでなく、ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬に共通した特徴であることや、この現象は細胞レベルだけでなく、ラットの種々臓器 (肝・腎・肺) においても起こることを見出した。

## 展望

HepG2-A10細胞株の樹立に成功し、医薬品や食品成分のヒトAhR活性化能およびCYP1ファミリー酵素誘導能を簡便に評価することが可能となった。また、各化合物自身のみならず種々化合物との複合影響も容易に把握できるため、HepG2-A10細胞株を用いたCYP1ファミリー酵素誘導・阻害の更なる研究は、医薬品の適正使用および食の安全確保に資するものと期待される。

## Introduction

Hepatic cytochrome P450 (CYP) enzymes play an important role in metabolism (detoxification and/or activation) of xenobiotics, including drugs and carcinogens. The CYPs consist of super-families and have different substrate specificities. The extent to which they are expressed is influenced not only by physiological factors but also by exposure to xenobiotics including food additives. Xenobiotic-mediated changes in expression of CYPs sometimes lead to reduction in the therapeutic effects of drugs and increases in carcinogenic effects of carcinogens. Therefore, to ensure food safety and effective drug therapy, it is necessary to understand the effects of xenobiotics, including foods and drugs, and their interactions on expression of CYPs at the level of CYP molecular form.

In this study, we focused on CYP1A subfamily enzymes, which can catalyze the metabolic activation of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons and aromatic amines and the metabolism of theophylline, an anti-asthmatic drug. We also established the human hepatocarcinoma-derived reporter cell line, HepG2-A10, for the screening of human CYP1A inducers. Furthermore, we verified the usefulness of the established HepG2-A10 cell line.

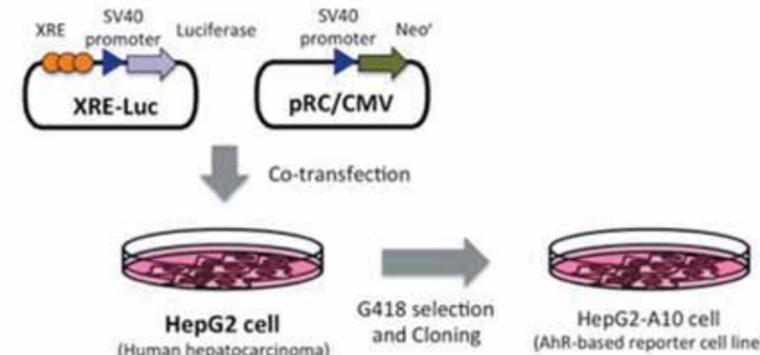
## Results

We established a human AhR-based luciferase reporter cell line, HepG2-A10, by transfecting a luciferase reporter plasmid XRE-Luc including the xenobiotic (AhR ligand) responsive element, which is an important sequence in induction of CYP1A subfamily enzymes, into the human hepatocarcinoma-derived cell line, HepG2 (Fig.1). In HepG2-A10 cells, we observed significant induction of luciferase and CYP1 family enzymes by exposure to 3-methylcholanthrene (MC), a representative AhR ligand, indicating that this cell line is useful for screening human AhR activators and CYP1 enzyme inducers.

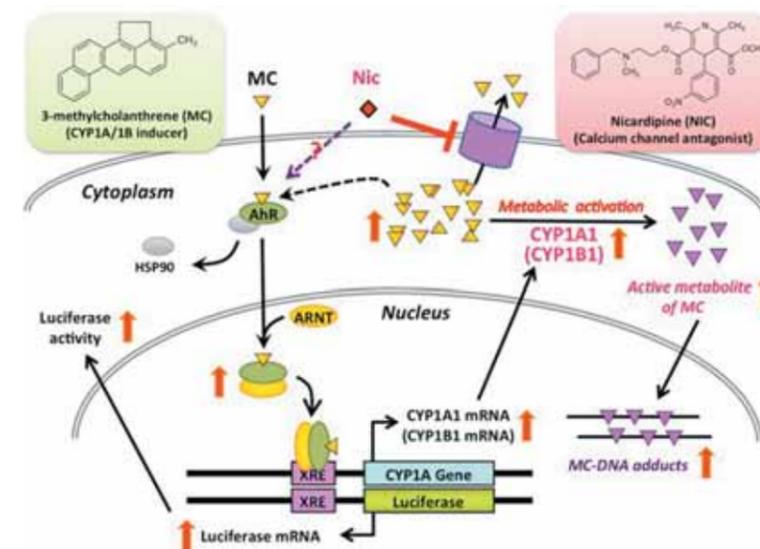
Using HepG2-A10, we further examined the effects of dihydropyridine calcium channel antagonists, including nicardipine (NIC), and the effects of a combination of NIC and MC on induction of luciferase and CYP1A subfamily enzymes. Although NIC can, to some extent, induce CYP1A subfamily enzymes but not luciferase, treatment with a combination of NIC and MC led to synergistic inductions of the CYP1A subfamily enzymes and luciferase (Fig. 2). We believe that this synergistic effect occurs through NIC-mediated inhibition of defluxion transporter of MC, because the intracellular concentration of MC in HepG2 cells was increased in the presence of NIC. In addition, the amount of MC-DNA adduct in the cells was significantly increased in the presence of NIC. Other dihydropyridine calcium channel antagonists besides NIC showed similar combination effects. Incidentally, we even observed such effects of a combination of NIC and MC on induction of CYP1 family enzymes, including CYP1A1, CYP1A2, and CYP1B1 *in vivo*. Thus, such combination treatment of rats leads to synergistic induction of CYP1s in the liver, kidney, and lung.

## Perspectives

In this study, we established an AhR-based reporter cell line, HepG2-A10, which is useful for *in vitro* screening of human CYP1 family enzyme inducers in our environment. This HepG2-A10 cell line bioassay could help to predict drug/food-mediated changes in expression of CYP1 enzymes and thus could provide effective drug therapy.



[図1] ヒトAhR活性化を介したレポーター遺伝子発現細胞株HepG2-A10の樹立  
[Figure 1] Establishment of a human AhR-based reporter cell line, HepG2-A10.



[図2] MCによるAhR活性化、CYP1A酵素誘導およびDNA付加体形成に対するNICの増強効果: NICによるMCの細胞内蓄積量の増加  
[Figure 2] Augmented effects of NIC on MC-mediated activation of AhR, induction of CYP1A subfamily enzymes, and formation of DNA adduct in HepG2-A10 cells. NIC mediates increase in intracellular accumulation of MC.

## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. H. Sanada, M. Sekimoto, A. Kamoshita, M. Degawa: Changes in expression of hepatic cytochrome P450 subfamily enzymes during development of adjuvant-induced arthritis in rats. *J. Toxicol. Sci.*, 36, 181-190 (2011)
2. M. Kojima, M. Sekimoto, M. Degawa: Androgen-mediated down-regulation of CYP1A subfamily genes in the pig liver. *J. Endocrinol.*, 207, 203-211 (2010)
3. T. Hosaka, M. Sekimoto, K. Nemoto, M. Degawa: Augmentation of 3-methylcholanthrene-induced bioactivation in the human hepatoma cell line HepG2 by the calcium channel blocker nicardipine. *Cancer Sci.*, 101, 652-657 (2010)
4. M. Kojima, T. Ashino, T. Yoshida, Y. Iwakura, M. Sekimoto, M. Degawa: IL-1 regulates the Cyp7a1 gene and serum total cholesterol level at steady state in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 379, 239-242 (2009)
5. M. Kojima, M. Sekimoto, M. Degawa: A novel gender-related difference in the constitutive expression of hepatic cytochrome P4501A subfamily enzymes in Meishan pigs. *Biochem. Pharmacol.*, 75, 1076-1082 (2008)
6. M. Sekimoto, H. Kawamagari, S. Nakatani, K. Nemoto, M. Degawa: Establishment of a human hepatic cell line HepG2-A10 for a reporter gene assay of arylhydrocarbon receptor activators. *Genes Environ.*, 29, 11-16 (2007)
7. S. Miyajima, K. Nemoto, M. Sekimoto, T. Kasahara, S. Souma, M. Degawa: Induction of hepatic cytochrome P450 isoforms by nicardipine at therapeutic doses in spontaneously hypertensive rats. *J. Toxicol. Sci.*, 32, 79-90 (2007)

## 生活習慣病関連バイオマーカー探索研究 Studies on biomarker discovery of lifestyle-related disorders

豊岡 利正 Toshimasa TOYO'OKA 薬学研究科薬学専攻生体機能分子分析学教室 教授  
Professor, Laboratory of Analytical and Bio-analytical Chemistry, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



### Profile

2011年- 静岡県立大学大学院薬学研究科長  
1994年- 静岡県立大学薬学部教授  
1990- 1991年- カンザス大学CBAR博士研究員  
1986- 1994年- 厚生省国立衛生研究所室長  
1985年- 東京大学薬学部助手  
1985年- 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了

2011- Deen, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1994 Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1990- Post-doctoral Fellow, Center for Bio-analytical Research, University of Kansas, U.S.A.  
1986- Section Chief, National Institute of Health Sciences  
1994 Research Associate, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo  
1985 Ph.D., Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo

### Contact

T E L 054 264 5656  
+81 54 264 5656  
e-mail toyooka@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/analchem/

### 序論

生活習慣の変化や食生活の欧米化に伴い、糖尿病、高血圧症、心疾患等の成人病患者が年々増加している。中でも、型糖尿病は初期症状がほとんどなく、時間をかけて徐々に形成されてくる疾患である。そのため、早期に兆候を把握し食生活を中心とする生活習慣を改善することで発症を予防し健康状態を維持することが可能となる疾患である。しかし現在、型糖尿病の診断に利用されている血糖値やヘモグロビンA1c値などは食事や運動、ヘモグロビン異常などの影響を受けやすく数値が変動するためバイオマーカーとして必ずしも十分な役割を果たせていない。また、これらの数値の異常は糖尿病がある程度進行してから顕在化することが多く、疾患予防への応用は困難であると考えられる。それ故に、型糖尿病は新規バイオマーカーの発見が期待されている疾患の一つである。このような背景から、本研究では、近年バイオマーカー探索法として注目されているメタボローム解析技術を用い、早期発見・予防に直接つながるような未病状態で変化が起きる糖尿病新規バイオマーカーの探索研究を進めている。

### 成果

糖尿病予備群のバイオマーカー探索を最終目的としているが、ヒトでは生活習慣等の個人差が大きく、条件を揃えることが困難であったため、研究の前段階として疾患モデルマウスを用いたバイオマーカー候補化合物のスクリーニングを実施した。20週齢以降に糖尿病を自然発症するマウス (ddY-H) と健常マウス (ddY-L) 10検体ずつ用い、5, 9, 13, 20週齢における血漿、体毛、肝臓、腎臓を採取し、それぞれ除タンパク等の前処理を行ったものをサンプルとした。サンプルをUPLC-ESI-TOF-MSにより質量分析し、解析ソフトを用いてPCA (主成分分析) (Fig.1) やOPLS-DA (判別分析) などの多変量解析を行った。なお、Fig.2に示すS-plotでは各プロットがそれぞれ1化合物を示し、縦軸が信頼性 (検体毎のパラッキの無さ)、横軸がマーカー候補性 (糖尿病群と健常群のピーク強度の差) を示している。従ってグラフの右上、左下に位置する化合物が糖尿病により増加あるいは減少傾向を表すマーカー候補化合物となる。この結果よりバイオマーカー候補リストを作成し、ChemSpider KEGGなどのデータベースと照合することでさらに候補化合物を絞り込んだ。

糖尿病群バイオマーカー候補化合物として、増加傾向を示す化合物16種、減少傾向を示す化合物35種が抽出された。それらの中でも特に有力な候補化合物については、標品を用いて同定を行った結果、m/z174.11の化合物がN-Acetyl-leucine (NAL) の溶出時間と一致し、さらにLC-MS/MS分析により構造確認を行った結果、MS/MSスペクトルも一致しm/z174.11の化合物はNALであると同定できた (Fig.3)。他の候補化合物の構造については、現在検討中である。

### 展望

現在メタボライトプロファイリング法を用いた疾患バイオマーカー探索研究の多くは疾患を発症後の生体変化を解析したものであり、本研究のように疾患による代謝物変化を経時的に解析し、発症前つまり未病状態におけるバイオマーカーを標的とした研究は極めて少ない。特に今回の対象疾患である型糖尿病には予備群といわれる早期治療により発症が抑えられる患者が数多く存在する。このため、糖尿病発症前に変動する糖尿病予備群バイオマーカーが発見され、臨床に応用された場合には、未病状態を明確に把握することができ、早期に治療を施すことが可能となる。これにより、予備群患者の発症が予防され、糖尿病患者の大幅な減少につながるものと期待される。また、本法は、他の疾病における未病状態のバイオマーカー探索にも応用できるため、様々な成人病疾患の早期診断が期待できる。

### Introduction

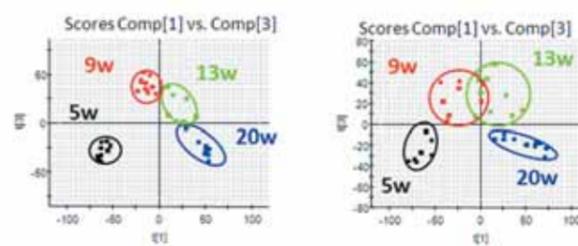
Because of changes in lifestyle, the number of patients with geriatric disorders has recently been increasing in Japan. The causes of diabetes are multifactorial and include environmental factors and genetic background. In many cases, because diabetes is asymptomatic for a long time, the patient is not aware of the disease. Therefore, biomarkers that would lead to early detection and/or prevention of diabetes mellitus are very much required. However, the diagnosis of the pre-diabetic state in humans is very difficult, because lifestyles vary from person to person. Although the development of a diagnostic method in humans is the eventual goal of our research, we performed a metabolite profiling study that involved extraction and structural identification of biomarker candidates from several biological specimens (i.e., plasma, hair, liver and kidney) from ddY strain mice, in which diabetes naturally develops with aging.

### Results

We globally separated low-molecular-mass compounds, including metabolites, from biological specimens of diabetic (ddY-H) and normal mice (ddY-L) by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) using different reversed-phase columns and detected by electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry (ESI-TOF-MS). We extracted candidates for biomarkers for diabetes mellitus by multivariate statistical analysis (orthogonal partial least-squares-discriminant analysis) (Figs. 1 and 2), followed by database searches using ChemSpider, the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes and the Human Metabolome Database. We detected many metabolites and unknown compounds in each biological specimen as candidates for biomarkers for diabetic mellitus. Among them, we elucidated the chemical structures of several possible metabolites, including more than two biological specimens, along with comparison by tandem mass spectrometry (MS/MS) analyses using authentic compounds. We clearly identified one metabolite as N-acetyl-L-leucine based upon the MS/MS spectra and retention time on chromatograms (Fig. 3).

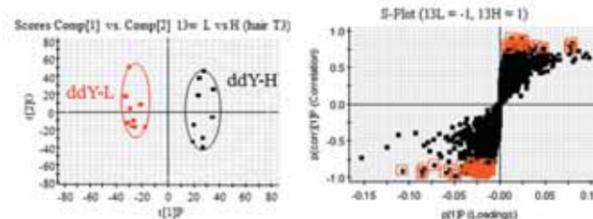
### Perspectives

N-acetyl-L-leucine is an endogenous compound that is present in all biological specimens (plasma, hair, liver and kidney). Therefore, this metabolite appears to be a potential biomarker candidate for diabetes. Although the structures of other biomarker candidates are yet to be determined, the present approach based upon a metabolite profiling study using UPLC-ESI-TOF-MS could be helpful for understanding abnormal metabolism in various diseases.



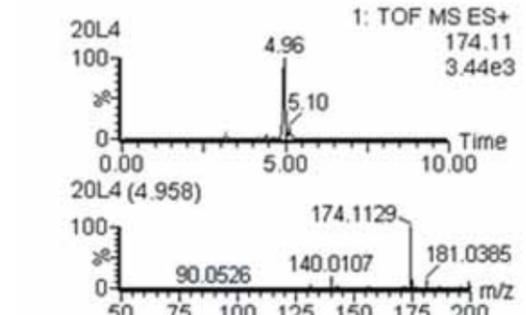
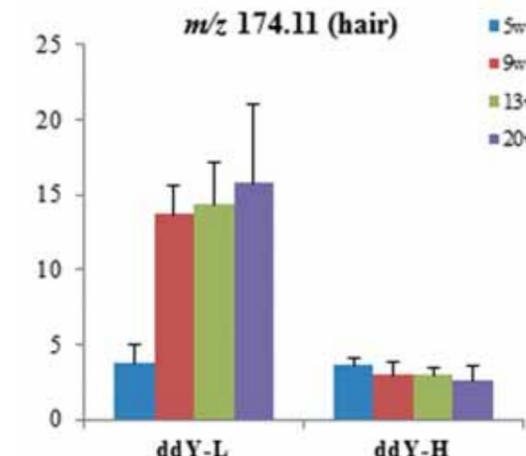
[Figure 1] 糖尿病 (ddY-H) および非糖尿病 (ddY-L) の5-20週齢マウス群におけるPCAスコアプロット (左図) ddY-L 体毛; (右図) ddY-H 体毛。週齢、5 ( ), 9 ( ), 13 ( ), and 20 ( ) 。

[Figure 1] Principal component analysis score plots of ddY-H and ddY-L groups at 5-20 weeks. (Left) ddY-L hair; (Right) ddY-H hair. Weeks, 5 ( ), 9 ( ), 13 ( ), and 20 ( ) 。



[Figure 2] 糖尿病 (ddY-H) および非糖尿病 (ddY-L) の13週齢体毛のOPLS-DAスコアプロットおよびSプロット (左図) スコアプロット; (右図) Sプロット。 ( ) で示す代謝物がバイオマーカー候補化合物として抽出された。

[Figure 2] Orthogonal projections to latent structures discriminant analysis score plot and S-plot of ddY-H ( ) and ddY-L ( ) in hair at 13 weeks. (Left), Score plot; (Right), S-plot. Metabolites in the ( ) were selected as biomarker candidates.



[Figure 3] 糖尿病における一つのバイオマーカー候補化合物 m/z 174.11 (N-アセチルロイシン)。

[Figure 3] A biomarker candidate for diabetes mellitus. m/z 174.11 (N-acetyl-leucine).

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

- H. Tsutsui, T. Maeda, J. Z. Min, S. Inagaki, T. Higashi, Y. Kagawa, T. Toyo'oka: Biomarker discovery in biological specimens (plasma, hair, liver and kidney) of diabetic mice based upon metabolite profiling using ultra-performance liquid chromatography with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin. Chim. Acta*, 412, 861-872 (2011).
- J.Z. Min, S. Hatanaka, H. Yu, T. Higashi, S. Inagaki, T. Toyo'oka: Determination of DL-amino acids, derivatized with R(-)-4-(3-isothiocyanatopyrrolidin-1-yl)-7-(N,N-dimethylaminosulfonyl)-2,1,3-benzoxadiazole, in nail of diabetic patients by UPLC-ESI-TOF-MS. *J. Chromatogr. B*, 879, 3220-3228 (2011).
- H. Tsutsui, T. Maeda, T. Toyo'oka, J.Z. Min, S. Inagaki, T. Higashi, Y. Kagawa: Practical analytical approach for the identification of biomarker candidates in prediabetic state based upon metabolomic study by ultra-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Proteome Res.*, 9, 3912-3922 (2010).
- M. Kato, Y. Onda, M. Sekimoto, M. Degawa, T. Toyo'oka: A capillary chromatography-electron spray ionization-mass spectrometry method for simultaneous analysis of charged and neutral constituents of a hepatocarcinoma cell metabolome. *J. Chromatogr. A*, 1216, 8277-8282 (2009).
- S. Inagaki, T. Noda, J.Z. Min, T. Toyo'oka: Metabolic profiling of rat hair and screening biomarkers using ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1176, 94-99 (2007).

## 茶ポリフェノールと生体成分の相互作用の解明 Interaction of tea polyphenols with biological substances

中山 勉 Tsutomu NAKAYAMA 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻食品分子工学研究室 教授  
Professor, Laboratory of Molecular Food Engineering, Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



### Profile

1999年 静岡県立大学食品栄養科学部教授  
1993年 静岡県立大学食品栄養科学部助教  
1988年 名古屋大学農学部助手  
1986年 ルイジアナ州立大学客員教授  
1985年 農学博士(東京大学)  
1981-1988年 国立がんセンター研究所生物物理部研究員  
1980年 東京大学大学院農学系研究科修士課程修了  
1978年 東京大学農学部卒業

1999 Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1993 Associate Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
1988 Assistant Professor, School of Agricultural Sciences, Nagoya University  
1986 Visiting Professor, Louisiana State University, USA  
1985 Ph.D., Graduate School of Agricultural Sciences, University of Tokyo  
1981-1988 Research Associate, National Cancer Center Research Institute, Biophysics Division  
1980 MS, Graduate School of Agricultural Sciences, University of Tokyo  
1978 Graduate from Faculty of Agriculture, University of Tokyo

### Contact

T E L 054 264 5522  
+81 54 264 5522  
e-mail nkymttm@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/foodbioc/lab/English/index-2.html

### 序論

緑茶は様々な生理機能を有することがよく知られている。その主要な成分である茶カテキン類のうち epicatechin gallate (ECg) や epigallocatechin gallate (EGCg) などのガレート型カテキン類は抗菌効果や抗酸化性などの作用を持つことが報告されている。我々は茶カテキン類の多くの生理活性強度はリン脂質やタンパク質などの生体成分に対する親和性を反映しているとの仮説に基づき、様々な化学的研究を行ってきた。例えば、カテキン類のリポソームへの取り込み量に基づき、ガレート型カテキン類が生体膜に対して高い親和性を持つことを明らかにした。本プログラムでは茶カテキン類のリン脂質とタンパク質に対する相互作用を詳細に明らかにすることを目的とした。

### 成果

水晶共振子マイクロバランス(QCM)を用いた結合定数の測定や、人工リン脂質膜を結合相に固定化したカラムを備えたHPLCによる分配係数の測定により、茶カテキン類のリン脂質に対する親和性が次の順番であることを確認した(ECg>EGCg>epicatechin(EC)>epigallocatechin(EGC)) (図1)。これは茶カテキン類のリン脂質に対する親和性が疎水性と密接な関係があることを示している。

バイセルを用いた溶液NMRにより、カテキン類がリン脂質膜の表面と相互作用することや、ECgとEGCgのB環とガロイル基がホスファチジルコリンのトリメチルアンモニウム基の近傍に存在することを示唆する結果が得られた。さらに固体<sup>2</sup>H NMRにより、カテキン類とリポソームのリン脂質二重層との分子間相互作用を直接的に観測することができた。また、カルボニル炭素を<sup>13</sup>CでラベルしたECgを合成し、リポソーム存在下、固体<sup>13</sup>C NMRの測定を行った。この実験条件において、<sup>13</sup>C-<sup>31</sup>P rotational echo double resonance (REDOR) の測定が可能であることが判明し、<sup>13</sup>Cでラベルしたカルボニル炭素とホスファチジルコリンのリンの間の原子間距離が5.3 ± 0.1 Åであることを初めて明らかにした(図2)。以上の研究結果に基づき、ECgとEGCgが脂質膜表面、特にホスファチジルコリンのコリン残基と相互作用するモデルを提唱するに至った(図3)。

一方、ヒト血清アルブミン(HSA)を結合相に持つカラムを備えたHPLCを用いて、ガレート型カテキン類がECgやEGCgなどの非ガレート型カテキン類に比べて、HSAに対する結合親和性が高いことを明らかにした。

### 展望

ガレート型カテキン類は非ガレート型カテキン類より先苦く渋いことが明らかになっている。これは味の強度と生理活性強度がカテキン類と生体成分間の相互作用を通じて密接に関係していることを示唆しており、茶の渋味機構の解明、渋味評価法の開発、渋味抑制物質の探索等につなげる予定である。

### Introduction

Green tea is well known for its various physiological effects. Among tea catechins, the galloylated catechins, epicatechin gallate (ECg) and (-)-epigallocatechin gallate (EGCg), reportedly have beneficial properties including chemopreventive, anticarcinogenic and antioxidant actions. We have focused on chemical studies relating the affinities of tea catechins for biological substances to the mechanisms of their biological activities. Based on the amounts of catechins incorporated into liposomes, we have reported that galloylated catechins have high affinity for model biological membranes. In this program, we tried to clarify in detail the interactions of tea catechins with phospholipids and proteins.

### Results

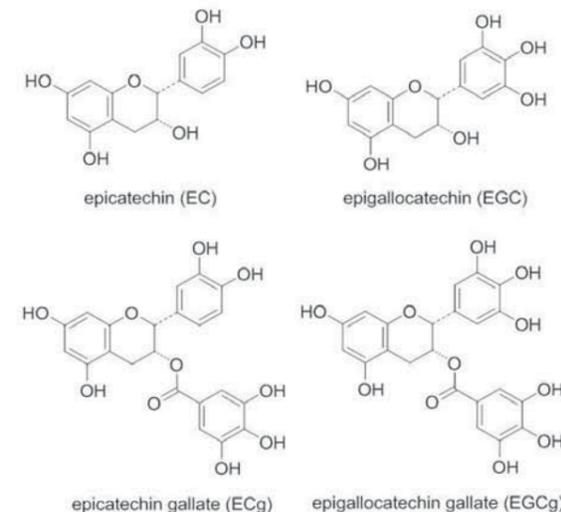
The association constants obtained by quartz-crystal microbalance, and partition coefficients for phospholipids using high-performance liquid chromatography (HPLC) with an immobilized artificial membrane column show the following order of affinity: ECg > EGCg > epicatechin (EC) > epigallocatechin (EGC) (Fig. 1). Thus, their affinity for phospholipids is linked to their hydrophobicity.

In our solution nuclear magnetic resonance study using bicelles, we found that catechins interact with the surface of phospholipid membranes, and the B ring and galloyl moiety of ECg and EGCg are closely located near the trimethylammonium group of phosphatidylcholine. Furthermore, we used liposomes and solid-state <sup>2</sup>H NMR analysis to obtain direct evidence of the molecular interaction between catechins and phospholipid bilayers. By solid-state <sup>13</sup>C NMR analysis and <sup>13</sup>C-<sup>31</sup>P rotational echo double resonance (REDOR) measurements, we accurately determined the intermolecular-interatomic distance between the labeled carbonyl carbon of [<sup>13</sup>C]-ECg and the phosphorus of the phospholipid to be 5.3 ± 0.1 Å (Fig.2). Based on these studies, we propose that ECg and EGCg interact with the surface of lipid membranes via the choline moiety of phosphatidylcholine (Fig. 3).

By HPLC analysis with a human serum albumin (HSA) column, we showed that galloylated catechins have higher binding affinities for HSA than do non-galloylated catechins such as EC and EGC.

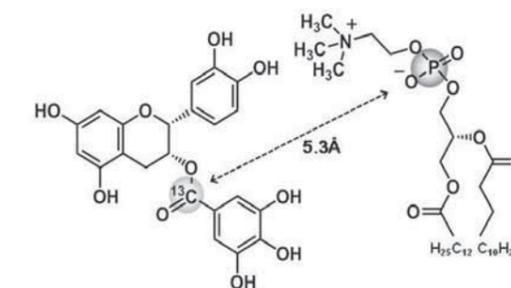
### Perspectives

Because galloylated catechins are reportedly more bitter and astringent than non-galloylated catechins, it is possible that tastes and biological activities of tea catechins are closely linked. We are investigating the mechanisms of astringency of tea catechins by the new methods that we have developed and are searching for food substances that inhibit astringency.



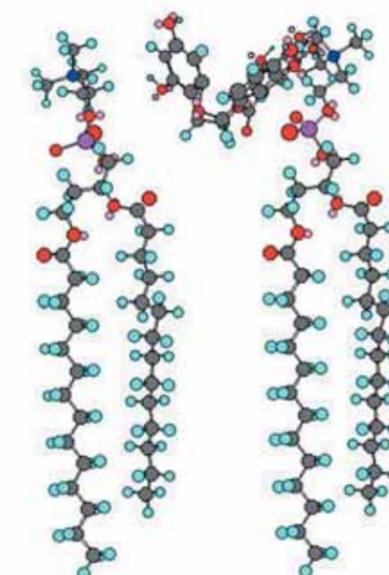
[図1] 茶カテキン類の化学構造式

[Figure 1] Chemical structures of tea catechins.



[図2] <sup>13</sup>C-<sup>31</sup>P REDOR測定により明らかになったECgのカルボニル炭素とリン脂質のリン原子間の距離

[Figure 2] Intermolecular-interatomic distance between the labeled carbonyl carbon of [<sup>13</sup>C]-ECg and the phosphorus of the phospholipid measured by <sup>13</sup>C-<sup>31</sup>P REDOR.

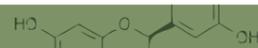


[図3] ECgとDMPCから構成されるリン脂質膜との相互作用を反映したball-and-stickモデル

[Figure 3] Ball-and-stick model of the interaction of ECg with phospholipid-bilayer consisting of dimyristoyl phosphatidylcholine

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. Y. Uekusa, M. Kamihira-Ishijima, O. Sugimoto, T. Ishii, S. Kumazawa, K. Nakamura, K. Tanji, A. Naito, and T. Nakayama: Interaction of epicatechin gallate with phospholipid membranes as revealed by solid-state NMR spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta*, 1808, 1654-1660 (2011)
2. T. Ishii, K. Minoda, M.-J. Bae, T. Mori, Y. Uekusa, T. Ichikawa, Y. Aihara, T. Furuta, T. Wakimoto, T. Kan, and T. Nakayama: Binding affinity of tea catechins for HSA: Characterization by high-performance affinity chromatography with immobilized albumin column. *Mol. Nutr. Food Res.*, 54, 816-822 (2010)
3. Y. Uekusa, Y. Takeshita, T. Ishii, and T. Nakayama: Partition coefficients of polyphenols for phosphatidylcholine investigated by HPLC with an immobilized artificial membrane column. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72, 3289-3292 (2008)
4. M. Kamihira, H. Nakazawa, A. Kira, Y. Mizutani, M. Nakamura, and T. Nakayama: Interaction of tea catechins and lipid bilayer models investigated by quartz-crystal microbalance analysis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72, 1372-1375 (2008)
5. Y. Uekusa, M. Kamihira, and T. Nakayama: Dynamic behavior of tea catechins interacting with lipid membranes as determined by NMR spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 9986-9992 (2007)



20

研究領域2

# 温度感受性TRP受容体を用いた体熱産生亢進成分の探索

Searching for body-warming components in food through thermosensitive transient receptor potential ion channels

渡辺 達夫 Tatsuo WATANABE 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻食品化学研究室 教授

Professor, Laboratory of Food Chemistry, Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



Profile

2006年 静岡県立大学食品栄養科学部教授  
 1995年 静岡県立大学食品栄養科学部助教授  
 1988年 静岡県立大学食品栄養科学部助手  
 1988年 京都大学大学院農学研究科博士課程修了  
 1980年 東北大学理学部卒業

2006 Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
 1995 Associate Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
 1988 Research Associate, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
 1988 Ph.D., Graduate School of Agriculture, Kyoto University  
 1977 Graduate from Faculty of Sciences, University of Tokyo

Contact

T E L 054 264 5543  
 +81 54 264 5543  
 e-mail watanbt@u-shizuoka-ken.ac.jp  
 U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/foodchem/

序論

カプサイシン受容体TRPV1をはじめとする温度感受性TRP受容体は現在9種が知られている。TRPV1を活性化する食品成分は交感神経の活性化などを介して、体脂肪蓄積の抑制作用を有する。TRPA1は、感覚神経においてTRPV1と共発現していることが多く、TRPA1の活性化成分も抗肥満作用を有することが予想される。また、低温で活性化されるTRPM8を活性化する食品成分も体温や脂肪蓄積に影響するものと考えられる。これらの温度感受性TRP受容体を活性化する食品成分のin vitroでの探索と、マウスへの給餌試験によるin vivoでの有効性の検証を目的とした。

成果

In vitroの試験としては、TRPV1発現細胞を用いて、小麦・ミヨガ・タマネギから1-モノアシルグリセロールを活性成分として同定した。また、コショウ中のTRPV1活性化成分として成分数種を同定した。TRPA1発現細胞にて検索した結果、黒コショウから数種の活性化成分を見出した。また、ミヨガの辛味成分とニンニク含流化合物、ガランガル辛味成分、ローヤルゼリー中の脂肪酸がTRPA1を活性化する事、ならびにこれらの中にはワサビ辛味成分アリルイソチオシアネートより高活性な化合物があることを明らかにした。さらに、TRPM8を一過的に発現した培養細胞にて活性化化合物のスクリーニングができるようになった。

In vivo試験として、高脂肪・高ショ糖食給餌マウスにてTRPV1・TRPA1・TRPM8活性化成分の効果を検討した。TRPV1活性化成分1-オレオイルグリセロール(1-MG)の添加によりUCP1含量が増大した。また、コショウの辛味成分ピペリンを添加すると、マウスの内蔵脂肪の蓄積と、褐色脂肪中の産熱タンパク質UCP1量の増大が認められること、ピペリンより黒コショウ抽出物の方が効果が強いことを明らかにした。TRPA1アゴニストであるシナナムアルデヒドは、体脂肪の蓄積の抑制とUCP1の増大をもたらした。TRPM8活性化成分であるメントールを高脂肪高ショ糖食に添加するとマウスの内蔵脂肪蓄積を抑制する事を明らかにした。さらに、サーモグラフィーにてマウスの体表温度を測定する実験系を確立し、各種温度感受性TRP受容体活性化物質投与による表皮温の変化を測定した。

展望

TRPV1とTRPA1の活性化成分を見出し、これらとTRPM8活性化成分は、高エネルギー食摂取マウスで体脂肪蓄積の抑制や体温の上昇が認められることを明らかにした。今後、ヒトにおける有用性が検証されねばならないが、これらの化合物が肥満の抑制の一助となることを期待する。

Introduction

There are nine thermosensitive transient receptor potential (TRP) ion channels including capsaicin receptor, TRPV1. Food components activating TRPV1 inhibit body fat deposition through sympathetic nerve stimulation. Because TRPA1 is mainly coexpressed with TRPV1 in sensory nerve endings, TRPA1 activation is expected to have an anti-obesity effect. Further, TRPM8, which is activated by cool temperatures, is also thought to affect body temperature or body fat deposition. We have searched for agonists to TRPV1, TRPA1 and TRPM8 *in vitro* and performed food component addition tests to high-fat and high-sucrose diets in mice.

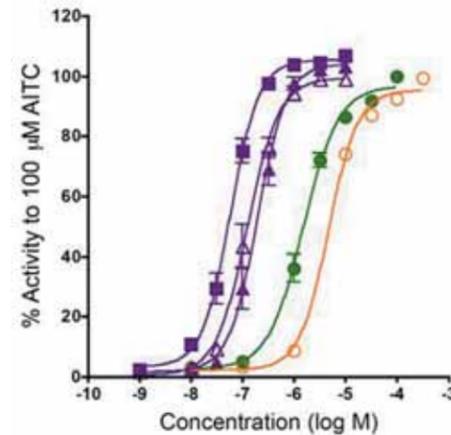
Results

Using TRPV1-expressing cells, we found 1-monoacylglycerols from wheat, myoga and onion to be agonists. We also identified several black pepper components as weak agonists. Further, we clarified that pungent compounds in myoga and galangal and sulfur compounds in garlic activate TRPA1 and that some of them are stronger than the most well-known TRPA1 agonist, allyl isothiocyanate. Moreover, we established an experimental system of cells that transiently expresses TRPM8.

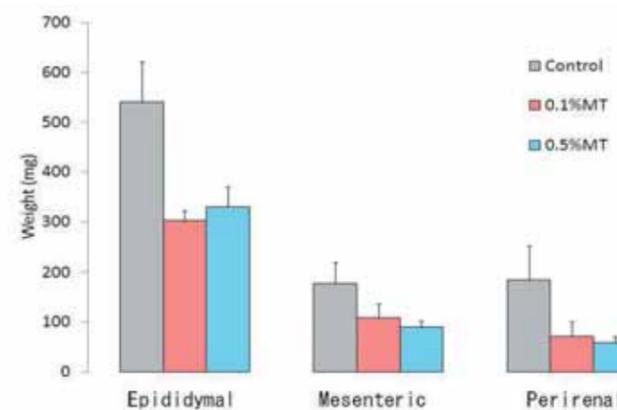
We also performed *in vivo* experiments in which we fed mice high-fat and high-sucrose diets to induce obesity. TRPV1: Addition of 1-oleoylglycerol increases the uncoupling protein 1 (UCP1) content of interscapular brown adipose tissue (IBAT). Piperine, a pungent compound in black pepper, diminished visceral fats and increased UCP1 in IBAT, black pepper extract showing stronger effects than piperine. TRPA1: Cinnamaldehyde, a pungent component of cinnamon, inhibited fat deposition and increased UCP1. TRPM8: We found that menthol decreases visceral fat. Further, we established a measuring system for the surface temperature of mice that utilized thermography equipment.

Perspectives

We found that several agonists of TRPV1 and TRPA1 and some agonists of TRPV1, TRPA1 and TRPM8 inhibit visceral fat deposition. The effects of such compounds on humans remain to be clarified, but we expect that they will be helpful in the prevention of obesity.



【図1】  
 ミヨガ辛味成分とシナナムアルデヒドによるTRPA1の活性化  
 [Figure 1]  
 Activation of TRPA1 by pungent components in myoga and cinnamaldehyde.



【図2】  
 シナナムアルデヒド(CNA)の投与が高脂肪・高ショ糖食給餌マウスの内臓脂肪量に及ぼす影響  
 [Figure 2]  
 Effect on visceral fat deposition of cinnamaldehyde (CNA) addition to the diets of high-fat and high-sucrose diet-fed mice.

【図3】  
 メントール(MT)の投与が高脂肪・高ショ糖食給餌マウスの内臓脂肪量に及ぼす影響  
 [Figure 3]  
 Effects on visceral fat deposition of menthol (MT) addition to the diets of high-fat and high-sucrose diet-fed mice.

代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. T. Watanabe, K. Ohnuki, K. Kobata: Studies on the metabolism and toxicology of emerging capsinoids. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 7(5), 533-542 (2011)
2. Y. Terada, M. Narukawa, T. Watanabe: Specific hydroxyl fatty acids in royal jelly activate TRPA1. *J. Agric. Food Chem.*, 59, 2627-35 (2011)
3. Y. Iwasaki, M. Tanabe, Y. Kayama, M. Abe, M. Kashio, K. Koizumi, Y. Okumura, Y. Morimitsu, M. Tominaga, Y. Ozawa, T. Watanabe: Miogadial and miogatrial with alpha,beta-unsaturated 1,4-dialdehyde moieties--novel and potent TRPA1 agonists. *Life Sci.*, 85(1-2), 60-9 (2009)
4. K. Koizumi, Y. Iwasaki, M. Narukawa, Y. Iitsuka, T. Fukao, T. Seki, T. Ariga, T. Watanabe: Diallyl sulfides in garlic activate both TRPA1 and TRPV1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 382, 545-548 (2009)
5. Y. Iwasaki, O. Saito, M. Tanabe, K. Inayoshi, K. Kobata, S. Uno, A. Morita, T. Watanabe: Monoacylglycerols activate capsaicin receptor, TRPV1. *Lipids*, 43(6), 471-83 (2008)

## 大学院学生・若手研究者のグローバルコミュニケーション能力向上研究

Development of health sciences English communication programs for graduate students and young researchers

吉村 紀子 Noriko YOSHIMURA

国際関係学部国際言語文化学科 教授

Professor, Department of International Language and Culture, Faculty of International Relations, University of Shizuoka



### Profile

1999年 静岡県立大学国際関係学部教授  
1998年 南カリフォルニア大学言語学研究科客員研究員  
1992年 静岡県立大学国際関係学部助教授  
1992年 南カリフォルニア大学大学院言語学博士課程 言語学 修了  
1984年 南カリフォルニア大学大学院言語学修士課程 言語学 修了  
1977年 プリティッシュコロビア大学大学院教育学研究科修士課程 英語教育専攻 修了  
1971年 明治学院大学文学部英文学卒業

1999 Professor, Faculty of International Relations, University of Shizuoka  
1998 Visiting Scholar, Department of Linguistics, University of Southern California  
1992 Associate Professor, Faculty of International Relations, University of Shizuoka  
1992 Ph.D., Department of Linguistics, University of Southern California (USC)  
1984 M.A., Department of Linguistics, University of Southern California  
1977 Ed.M., Faculty of Education, University of British Columbia  
1971 B.A., Department of English, Meiji Gakuin University

### Contact

T E L 054 264 5371  
+81 54 264 5371  
e-mail yoshimun@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://langcom.u-shizuoka-ken.ac.jp

### 序論

領域5の目的は、大学院学生・若手研究者が海外の学会や研究機関等において効果的なプレゼンテーションや意見交換を積極的に実践し、グローバルに活躍できるように英語コミュニケーション能力(理解・発信力)の向上のための教育プログラムを構築することにある。基軸として、オハイオ州立大学アメリカンランゲージプログラムとの連携によって、6週間の海外英語研修の「静岡健康科学英語研修プログラム」(Shizuoka Health Sciences English Program, SHEP)を開発する。目的達成に向けて、SHEPは教室での授業(リスニング・スピーキング・読解・ディスカッション・プレゼンテーション)、カンパニオンパートナー、研究室訪問を中心に学習活動を積極的に展開する。

### 成果

平成19年～23年の5年間に36人の博士課程の大学院学生がSHEPに参加した。研修前後に33人が受けたTOEFL-ITP(静岡県立大学)及び団体ミシガンテストとSPEAKテスト(オハイオ州立大学)のスコアに基づき成果を分析すると、第一に、参加者はリスニング力と読解力が向上したことがTOEFL-ITPの結果(表1)からわかる。一方、SHEPの授業は文法やイデオロムに力点を置いていなかったため、文構造や表現では伸びが見られなかった。次に、TOEFL-ITPのスコアを習熟度別に比較してみると、450～499の得点グループがSHEPの研修によって最も英語力が向上したことが理解できる(表2)。換言すると、このような海外語学研修を活用するためには参加者は研修時にこのレベル程度の英語力を持つことが望ましいことになる。続いて、団体ミシガンテストのスコアを領域別にまとめてみると、平均点で、文法や語彙力が約64点・67点、リスニング力が67点・71点へと小幅に上昇したのに対して、作文力は6段階でレベル3(少々困難)からレベル4(基礎作文力)へと顕著な伸びが見られた(表3)。なお、スピーキング力を測定するSPEAKテストは100点以上を対象とするため、参加者のスコアは依然としてそのレベルに到達していない。

結論として、SHEPが大学院学生や若手研究者にとって科学英語コミュニケーション力の養成に役立つ短期海外英語研修プログラムであることが統計的に示された。特に、ディスカッションとプレゼンテーションに重点をおいた研修は短期間であっても「論理的に整理して表現する英語力の養成」に効果的であることが明らかとなった。この研究成果は今後の大学院学生・大学院学生のための短期海外語学研修の企画運営にとって貴重な指針に繋がるものである。

### 展望

今後の課題として、以下の2点が指摘される。すなわち、(1)研究成果のプレゼンテーションで、予期できなかった質問やコメントに対し英語でどのように対応すべきか、すなわち質疑応答がうまくできるようにその方略・方策の実践練習の強化。(2)ディスカッションでいつも「聞き役に回るのではなく、時には議論の中に割って入る「自己発信力」の習得。対応策として、「英語研修」と「リサーチ」を適切に組み合わせる中期海外研修案を提案したい。

### Introduction

The goal of our research project is to build a comprehensive educational program for University of Shizuoka doctoral students in the health sciences who need training and practice in order to participate meaningfully in global conferences conducted in English and to make effective conference presentations in English. The Shizuoka Health Sciences English Program (SHEP) is a six week study abroad program provided by the American Language Program and the Institute for Japanese Studies at The Ohio State University for the Global COE students. This program includes classroom activities (listening, speaking, reading, and discussion), poster and oral presentations, and tutorials, as well as the opportunity of visiting research labs and interacting with academic counterparts.

### Results

All language skills were taught and practiced within the six-week SHEP program, but with primary emphasis on listening, speaking, presentation, and discussion skills. To the extent possible, instruction took place within a broad health sciences context. The students' own research was used as the source of presentation topics.

The following is a summary report of the SHEP from 2007 to 2011 based on 33 participants' TOEFL-ITP, Institutional Michigan Test, and Speaking Proficiency Assessment Kit (SPEAK) scores. (Note that 36 participated in the program during the period.) The participants took the TOEFL-ITP in Shizuoka as a pre- and post-program requirement. In addition, they took the Michigan Test of English Language Proficiency (MTELP), the Listening Comprehension Test (LCT), the Test of Written English (TWE), and the SPEAK Test in the pre- and post-program sessions at The Ohio State University.

Table 1 is an overall summary of the 33 participants' mean scores in the three components of TOEFL-ITP Test. As can be seen, the participants improved in the listening and reading components, not in the structure and expression component. Table 2 further illustrates that the group of TOEFL-ITP 450-499 score range benefited most from the SHEP in terms of the improvement in English proficiency. The average Michigan test scores summarized in Table 3 reveal the participants' improvements in grammar, listening, and writing, and more importantly for our discussion, their essay writing skill rose from level 3 (some difficulty in writing) to level 4 (basic writing) on average. These results led us to the conclusion that the SHEP could provide very effective instruction for Shizuoka graduate students seeking to acquire scientific English proficiency for improving their research presentation skills in the target language.

### Perspectives

Two issues remain concerning how to help Shizuoka doctoral students become meaningful participants in global conferences and competitive presenters in English: First, they need to achieve competence in oral Q & A skills in English, and second, they must learn how to take the floor in discussion, not simply waiting for their turn to come.

[表1] SHEP TOEFL-ITP 平均点

	コンポーネント	研修前	研修後
参加者 (33名)	合計点	454.58	462.09
	リスニング	44.24	45.73
	文法・語彙	46.12	45.52
	リーディング	46	47.27

[表2] 習熟度別SHEP TOEFL-ITPグループスコア

	コンポーネント	研修前	研修後
350 - 399 (4名)	合計	387.75	395.75
	リスニング	37.25	39.25
	文法・語彙	41.75	39.75
	リーディング	37.25	39.25
400 - 449 (10名)	合計	424.2	432.7
	リスニング	42.5	43.2
	文法・語彙	42.1	41.9
	リーディング	42.7	44.3
450 - 499 (13名)	合計	469.54	480.46
	リスニング	45.08	43.2
	文法・語彙	46.9	48.15
	リーディング	48	49.38
500 - 550 (6名)	合計	517.33	515.5
	リスニング	49.83	52.33
	文法・語彙	52.33	49.67
	リーディング	53	52.67

[表3] 年別SHEP団体ミシガンテスト平均点

年	文法・語彙(100点)		リスニング(100点)		英作文(6レベル)		スピーキング(300点)	
	研修開始時	研修終了時	開始時	終了時	開始時	終了時	開始時	終了時
2011(6人)	68	74	70	73.8	3	3.7	108.3	110
2010(7人)	61.1	63.3	62.6	73.3	3.2	4.5	81.4	100
2009(6人)	61.8	64.5	62.3	62.3	3.4	3.8	80	98.3
2008(8人)	64.1	65.5	72.9	72.9	2.9	4.1	82.5	111.3
平均点	63.75	66.825	66.95	70.575	3.12	4.025	88.05	104.9

[Table 1] SHEP TOEFL-ITP Mean Scores

	component	pre-program	post-program
Participants (n=33)	Total	454.58	462.09
	Listening	44.24	45.73
	Str. & Exp	46.12	45.52
	Reading	46	47.27

[Table 2] SHEP TOEFL-ITP Mean Scores by Proficiency Group

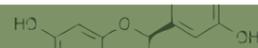
	Component	Pre-program	Post-program
350 - 399 (n=4)	Total	387.75	395.75
	Listening	37.25	39.25
	Str. & Exp	41.75	39.75
	Reading	37.25	39.25
400 - 449 (n=10)	Total	424.2	432.7
	Listening	42.5	43.2
	Str. & Exp	42.1	41.9
	Reading	42.7	44.3
450 - 499 (n=13)	Total	469.54	480.46
	Listening	45.08	43.2
	Str. & Exp	47.69	48.15
	Reading	48	49.38
500 - 550 (n=6)	Total	517.33	515.5
	Listening	49.83	52.33
	Str. & Exp	52.33	49.67
	Reading	53	52.67

[Table 3] SHEP Michigan Test Scores by Component and Year

Year	MTELP(100 max)		LCT(100 max)		TWE (Essay 6 max)		SPEAK (300 max)	
	Beginning	End	Beginning	End	Beginning	End	Beginning	End
2011 (6)	68	74	70	73.8	3	3.7	108.3	110
2010 (7)	61.1	63.3	62.6	73.3	3.2	4.5	81.4	100
2009 (6)	61.8	64.5	62.3	62.3	3.4	3.8	80	98.3
2008 (8)	64.1	65.5	72.9	72.9	2.9	4.1	82.5	111.3
Mean	63.75	66.825	66.95	70.575	3.125	4.025	88.05	104.9

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

- N. Yoshimura and M. Nakayama: Expletives in L2 English and narrow syntax. *Ars Linguistica*, 17. 161-175. (2010)
- 吉村紀子・中山峰治. 『海外短期英語研修と第2言語習得』138頁, ひつじ書房. (2010)
- N. Yoshimura and M. Nakayama: Nominative case marking and verb inflection in L2 grammar: Evidence from Japanese college students' composition. In Y. Otsu (ed.) *The Proceedings of the Tenth Tokyo Conference on Psycholinguistics*, 359-383. Tokyo: Hituzi Syobo. (2009)
- N. Yoshimura and Mineharu Nakayama: Acquisition of two types of -s by Japanese EFL Learners: The role of L1 transfer. In Y.-S. Yang, S.-W. Tang, C. Kim, J.-Y. Yoon, Y.-S. Kang, K.-A. Kim, H. Yoo, Y. Jang, and H.-K. Kang (Eds.), *Current Issues in Linguistic Interfaces 2*. 253-263. Seoul, Korea: Hankook Munhwasa. (2009)
- M. Nakayama and N. Yoshimura: Japanese EFL Learners' Skills Improvement and the Length of Study Abroad Programs, *Ars Linguistica*, Vol.15. 54-64. (2008)
- M. Nakayama and N. Yoshimura: Skill development in a short-term English study abroad program. C. Wong (ed.), *Selected papers from the 2006 Annual Research Forum of the Linguistic Society of Hong Kong*. Hong Kong: pp. 55-66. Linguistic Society of Hong Kong. (2008)



22

研究領域2

## 遺伝子発現調節機能からみた緑茶の効能研究

Studies on health-promoting effects of green tea based on its modulation of gene expression

伊勢村 護 Mamoru ISEMURA 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻 客員教授

Visiting Professor, Division of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



### Profile

2006年 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科客員教授  
 2006年 静岡県立大学退職、名誉教授  
 1987年 静岡県立大学食品栄養科学部教授  
 1980年 東北大学医学部助教授  
 1968年 大阪大学理学部助手  
 1968年 大阪大学大学院理学研究科博士課程修了(理学博士)  
 1963年 大阪大学理学部高分子学科卒業

2006 Visiting Professor, University of Shizuoka  
 2006 Professor Emeritus, University of Shizuoka  
 1987 Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
 1980 Associate Professor, School of Medicine, Tohoku University  
 1968 Research Associate, Faculty of Science, Osaka University  
 1968 Ph. D., Osaka University  
 1963 Graduated from Faculty of Science, Osaka University

### Contact

T E L 054 264 5824  
 +81 54 264 5824  
 e-mail isemura@u-shizuoka-ken.ac.jp  
 U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/nissin/index.html

### 序論

緑茶が癌や糖尿病といった生活習慣病の予防に役立つことを示す結果が多く得られているが、作用メカニズムについてはさらに詳しい研究が必要である。本研究では緑茶効能の発現メカニズムを、細胞レベル、動物実験レベル、遺伝子レベルでの解析を通して追究することを目的とした。糖尿病では空腹時の血糖上昇が病状進展に関与するので、糖新生の抑制がこの進展予防に有効であると考えられる。すでに緑茶や緑茶カテキンの主要成分であるエピガロカテキンガレート(EGCG)の経口摂取がマウス肝における糖新生系酵素であるグルコース-6-ホスファターゼ(G6Pase)やホスホエノールピルベートカルボキシキナーゼ(PEPCK)の遺伝子発現を抑制することを明らかにした。今回さらに詳しい解析を行ない、脂質代謝系に対する緑茶成分の効果についても検討した。

### 成果

緑茶やEGCGをラット肝癌H4IIE細胞培養系に加えると、G6PaseおよびPEPCKの遺伝子発現が低下した(図1)。このとき、転写因子HNF4の遺伝子発現も低下していた(図1)。インスリンも同様の効果を示したことから、緑茶やEGCGはHNF4の発現を抑制することによって、プロモーター領域にHNF4結合部位をもつG6PaseおよびPEPCKの遺伝子の発現を抑制することが初めて明らかになった。EGCGなどのカテキンを含まない緑茶のEGCG-不含画分のH4IIE細胞に対する作用を調べた結果、EGCGやインスリンと同様にHNF4発現を抑制して2つの糖新生系酵素の遺伝子の発現を抑制することがわかった。EGCGの作用は還元剤N-アセチルシステイン(NAC)により阻害されたのに対し、この画分の作用はNACにより阻害されなかった。緑茶にはEGCGとは作用メカニズムが異なる抗糖尿病作用をもつ成分が含まれていると考えられる。このEGCG-不含画分をマウスに4週間経口投与した結果、血糖値は有意差はないものの低下傾向を示し、血漿トリグリセリド値およびコレステロール値は有意に低下していた(表1)。EGCG-不含画分投与マウスの肝では、脂肪酸合成酵素、4-ヒドロキシメチルグルタリルCoA還元酵素、アセチルCoAカルボキシラーゼなどの脂質代謝関連酵素の遺伝子発現の有意な低下が認められ、これらの遺伝子発現を調節する転写因子SREBF-1およびSREBF-2の発現も低下していた(図2)。

### 展望

今回得られた結果より、緑茶やその成分は、糖質、脂質代謝に関係する転写因子に作用して、糖尿病、肥満、動脈硬化などに関係する酵素遺伝子の発現を抑制し、こうした疾病の予防に役立つものと考えられる。EGCG以外の緑茶成分にも有用な活性があることが明らかになったので、今後こうした成分を特定することにより、疾病予防に有効な薬剤やサプリメントの開発が進むものと思われる。

### Introduction

Green tea has been regarded to possess biological activities including anti-cancer and anti-obesity effects, but many of its action mechanism remain to be determined. We have demonstrated that green tea and (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea catechins, repress the gene expression of gluconeogenic enzymes, glucose-6-phosphatase (G6Pase) and phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), suggesting a beneficial effect of green tea on type 2 diabetes, since the disease is associated with enhanced glucose production in the post-absorptive state.

### Results

In the present study, we found that inclusion of green tea, EGCG or an EGCG-free fraction of green tea in the culture medium of rat hepatoma H4IIE cells resulted in inhibition of the gene expression of G6Pase and PEPCK together with the decreased gene expression of HNF4 $\alpha$ , a key transcription factor for the gene expression of gluconeogenic enzymes (Fig. 1). The mice given oral administration of the EGCG-free fraction showed the significant decrease in the hepatic gene expression of G6Pase and PEPCK, insignificant decrease in the plasma glucose level and significant decrease in the plasma triglyceride and cholesterol levels (Table 1). The hepatic gene expression of lipogenic enzymes such as fatty acid synthase and 4-hydroxymethylglutaryl CoA reductase was found to be decreased together with the decreased mRNA levels of SREBFs, key transcription factors for the gene expression of lipogenic enzymes (Fig. 2).

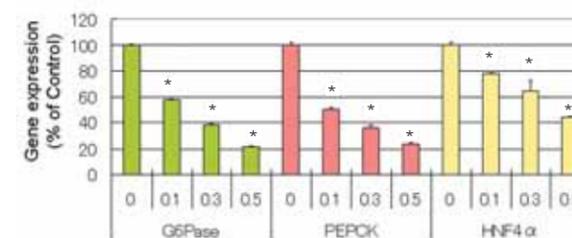
### Perspectives

The present findings suggest that green tea is beneficial for the prevention of diabetes, obesity and hypercholesterolemia by inhibiting the hepatic expression of gluconeogenic and lipogenic enzymes through repressing the gene expression of respective transcription factors playing central roles in their gene expression. The identification of an active compound in the EGCG-free fraction may open the way to developing a new drug for these diseases.

	0%	0.2%	0.5%
Glucose (mg/dl)	165.2 $\pm$ 9.1	152.5 $\pm$ 1.3	144.6 $\pm$ 6.9
Triglycerides (mg/dl)	164.7 $\pm$ 20.1	128.94 $\pm$ 10.4	101.13 $\pm$ 10.2*
Cholesterol (mg/dl)	107.8 $\pm$ 3.7	94.24 $\pm$ 2.4*	92.18 $\pm$ 2.7*

\*Significantly different from the 0% group at p<0.05

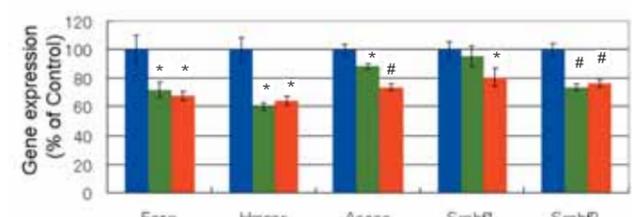
[表1] 緑茶EGCG-不含画分(0.2%または0.5%)4週間投与マウスの血漿グルコース、トリグリセリド、コレステロール値。



[図1] H4IIE細胞におけるG6Pase, PEPCK および HNF4 $\alpha$ の遺伝子発現に対する緑茶の影響。細胞培養液20 mlあたり0.1, 0.3, 0.5 mlの緑茶を加え、4時間培養した。各mRNAレベルを $\beta$ -アクチンで補正し、緑茶(コントロール)の時の値を100%として平均値 $\pm$ 標準誤差で表した。\*p<0.05(対コントロール)

[Figure 1] Effects of green tea on the gene expression of G6Pase, PEPCK and HNF4 $\alpha$ . H4IIE cells were incubated for 4 h in the presence of green tea (0.1, 0.3 and 0.5ml/20ml culture medium). The results were normalized using the level of  $\beta$ -actin, and are expressed as the mean  $\pm$  SE relative to that for control (0, 100%).

[Table 1] Plasma glucose, triglycerides and cholesterol levels in mice given a diet containing an EGCG-free green tea fraction (0.2% or 0.5%) for 4 weeks



[図2] 緑茶EGCG-不含画分投与マウスの肝における脂質代謝系酵素の遺伝子発現。マウス(n=5)に0.2%(緑)および0.5%(赤)のEGCG-不含画分を含む餌を4週間与えた。各mRNAレベルを $\beta$ -アクチンで補正し、通常食(コントロール、青)の時の値を100%として平均値 $\pm$ 標準誤差で表した。Fasn, 脂肪酸合成酵素; Hmgcr, 4-ヒドロキシメチルグルタリルCoA還元酵素; Acaca, アセチルCoAカルボキシラーゼa; Srebf1, ステロール応答要素結合因子。\*p<0.05, #p<0.01(対コントロール)

[Figure 2] Effects of the EGCG-free fraction (GT-W) on the hepatic gene expression of lipogenic enzymes and related transcription factors. The mice (n=5) were given a diet containing 0.2% (green bar) or 0.5% (red bar) GT-W and hepatic gene expression was determined by Q-PCR. The results were normalized using the level of  $\beta$ -actin, and are expressed as the mean  $\pm$  SE relative to that for control mice given a normal diet (100%, blue bar). Fasn, fatty acid synthase; Hmgcr, 4-hydroxymethylglutaryl CoA reductase; Acaca, acetyl CoA carboxylase a; Srebf1, sterol response-element binding factor. \*Significantly different from the control at p<0.05. #Significantly different from the control at p<0.01.

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

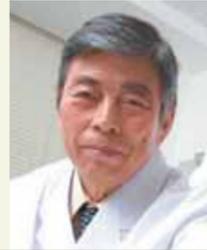
1. Y. Suzuki, N. Miyoshi, M. Isemura: Health-promoting effects of green tea. *Proc. Japan Acad., Ser. B.* in press (2012)
2. K. Yasui, N. Paeng, N. Miyoshi, T. Suzuki, K. Taguchi, Y. Ishigami, R. Fukutomi, S. Imai, M. Isemura, T. Nakayama: Effects of a catechin-free fraction derived from green tea on gene expression of enzymes related to lipid metabolism in the mouse liver. *Biomed. Res.*, in press (2012)
3. K. Yasui, H. Tanabe, N. Miyoshi, T. Suzuki, S. Goto, K. Taguchi, Y. Ishigami, N. Paeng, R. Fukutomi, S. Imai, M. Isemura: Effects of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate on expression of gluconeogenesis-related genes in the mouse duodenum. *Biomed. Res.*, 32, 313-320 (2011)
4. K. Yasui, N. Miyoshi, H. Tababe, Y. Ishigami, R. Fukutomi, S. Imai, M. Isemura: Effects of Oolong tea on gene expression of gluconeogenic enzymes in the mouse liver and in rat hepatoma H4IIE cells. *J. Med. Food*, 14, 930-938 (2011)
5. K. Yasui, N. Miyoshi, H. Tanabe, Y. Ishigami, R. Fukutomi, S. Imai, M. Isemura: Effects of a catechin-free fraction derived from green tea on gene expression of gluconeogenic enzymes in rat hepatoma H4IIE cells and in the mouse liver. *Biomed. Res.*, 32, 119-125 (2011)
6. K. Yasui, H. Tanabe, N. Okada, R. Fukutomi, Y. Ishigami, M. Isemura: Effects of catechin-rich green tea on gene expression of gluconeogenic enzymes in rat hepatoma H4IIE cells. *Biomed. Res.*, 31, 183-189 (2010)

## 糖鎖機能および食素材によるウイルス感染症の克服 Prevention of infectious disease by sugar chains and functional foods and their components

鈴木 康夫 Yasuo SUZUKI

薬学研究科薬学専攻 客員教授

Visiting Professor, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



### Profile

2006年 静岡県立大学客員教授、中部大学生命健康科学部教授  
1989年 静岡県立大学薬学部教授  
1983年 静岡県薬科大学薬学部助教授  
1974年 静岡県薬科大学薬学部講師  
1967年 静岡県薬科大学薬学部助手  
1967年 静岡県薬科大学大学院薬学研究科博士課程中退  
1966年 静岡県薬科大学大学院薬学研究科修士課程修了  
1964年 静岡県薬科大学薬学部卒業

2006 Visiting Professor, University of Shizuoka and Professor, College of Life Sciences, Chubu University,  
1989 Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1983 Associate Professor, Shizuoka College of Pharmacy  
1974 Research Associate, Shizuoka College of Pharmacy  
1967 Research Associate, Shizuoka College of Pharmacy  
1964 Graduate from Shizuoka College of Pharmacy

### Contact

T E L 0568 51 6391  
+81 568 51 6391  
e-mail suzukiy@isc.chubu.ac.jp  
U R L http://www.isc.chubu.ac.jp/hsh/index.html

### 序論

21世紀における主要な病気として新興・再興感染症が挙げられる。ウイルスや微生物とそれらの宿主動物の進化には、糖鎖を介した感染という相互認識が深く関わっていることは否定できない。本研究では、糖鎖機能とインフルエンザウイルス感染との関わりを明らかにすることを第一の目的としている。本研究における第二の目的は、薬食同源の立場から、機能性食品やその素材により病気の制御、予防を成し遂げる新しい科学分野を創製することである。

### 成果

高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) はアジア、ヨーロッパ、アフリカそして中近東にまで拡大し、世界流行の脅威を保っている。本研究では、H5N1ウイルスが鳥型レセプター (Sia・2-3Gal) からヒト型レセプター (Sia・2-6Gal) 結合性を獲得するヒト適応性変異機構を分子レベルで明らかにした。まず、宿主である家禽 (ニワトリ、ウズラ) のウイルス標的組織・細胞 (腸管) の糖タンパク質N-型糖鎖の解析により、両者の腸管には鳥型レセプターの他に、ヒト型レセプターも存在することを見出した。さらに、ブタの呼吸器 (気道、肺) には、ヒト型レセプターシアロ糖鎖が主要に存在することも初めて明らかにした。この結果から、鳥H5N1ウイルスがニワトリ、ウズラ、さらにブタ間で流行する間にヒト型レセプターへの適合性を獲得したウイルスに変異する可能性を明らかにした。事実、我々は、エジプトのニワトリおよびインドネシアのブタから分離されたH5N1ウイルス株の中に、ヒト型レセプターへの結合性を獲得した変異株を見出した (図1, 2)。

我々は、本研究において、いくつかと食品成分からインフルエンザウイルスに有効な新しい分子を見出した。日本古来の製法で造られた梅肉エキスに含まれるムメフルール (図3) に2009年パンデミックインフルエンザウイルスの様々な生物機能を阻害する活性を見出した。さらに牛乳からチーズを造る過程で生成されるホエイにウイルスヘマグルチニンと結合し、ウイルス感染を阻害する少なくとも39種類のN-型シアロ糖鎖を見出し、その糖鎖構造を明らかにした (Open Glycoscience, in press)。

### 展望

高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) のヒトへの適応性獲得は、自然界で2つ道がある。その1は、今回の研究で明らかにした、HAスパイクのアミノ酸置換によるもので、第2は、季節性あるいは2009年パンデミックウイルスとの遺伝子再集合体の形成である。今後はさらに後者の可能性につき検討を重ねる。これにより、H5N1の次期世界流行発生を事前に制御する体制を確立する。本研究で開発された技術は、H5N1のヒト型レセプター結合性獲得の高感度・簡易検査キットの開発を可能し、現在、その開発が進みつつある。

さらに、新しい次世代のインフルエンザ創薬を可能とする技術的基盤が達成され、新たな食品素材への応用研究が進行中である。

### Introduction

Emerging and re-emerging infectious diseases are important in the 21st century. Biological recognition systems involving carbohydrate interactions may have contributed significantly to the evolution of interaction processes between viruses/microbes and host animals. Our first aim in this project was to elucidate the mechanism of interaction between sugar chains and influenza virus infection. The second aim of our study was to contribute to a new field of science, "Disease control and prevention by functional foods and their components".

### Results

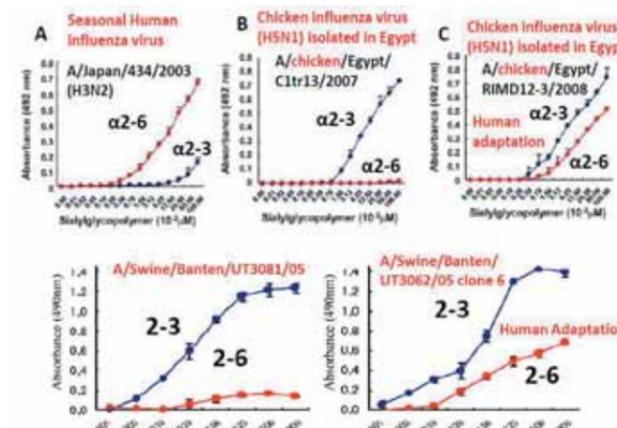
Highly pathogenic avian influenza viruses (H5N1), having become entrenched in poultry in Asia, Europe and Africa, continue to pose a pandemic threat. In this project, we determined the molecular mechanism for the switching from avian type receptor (Sia $\alpha$ 2-3Gal) to human type receptor (Sia $\alpha$ 2-6Gal), specificity being a critical step in the adaptation of avian viruses to human hosts. First, we analyzed N-glycan structure in the intestines of chickens and quails, and identified both avian and human type receptors. We also found that the major influenza virus receptor sugar chains in swine respiratory organs (trachea and lung) were human type receptors. These facts strongly indicate the possibility that a novel H5N1 virus with human-type receptor-binding specificity will emerge from chicken, quail and swine in the future. In fact, we found that highly pathogenic H5N1, which has human type receptor binding specificity, has already emerged from chickens (Fig. 1) in Egypt and swine (Fig. 2) in Indonesia (Fig. 3).

We also isolated several new molecules from food materials that inhibit infection by influenza viruses. The mumeifural (Fig. 4) from Japanese apricot fruit juice concentrate has multiple inhibitory effects on 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus. We found and determined at least 39 structures of N-linked sialo-sugar chains that bind to influenza virus hemagglutinin (open Glycoscience, in press).

### Perspectives

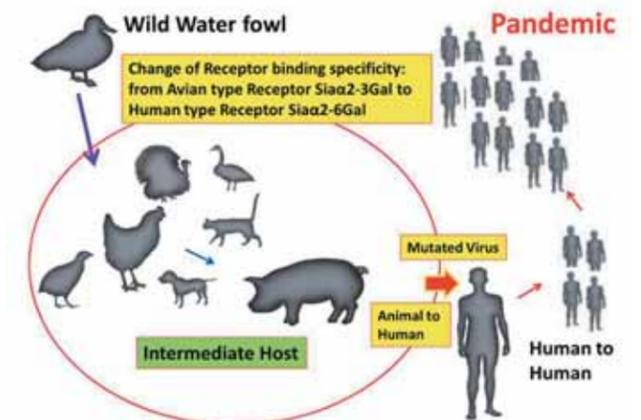
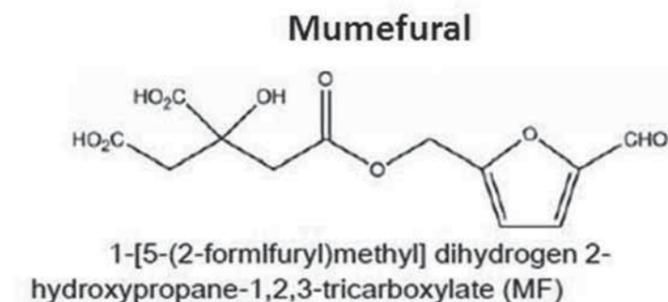
H5N1 naturally mutates in two ways. First, this project has confirmed that H5N1 can undergo a genetic point mutation involving an amino acid substitution in the hemagglutinin molecules, through which it acquires transmissibility to humans. Second, H5N1 can mutate to form a genetic reassortant with the seasonal influenza virus or pandemic H1N1 virus of 2009. We will continue to explore the second possibility in order to establish a system for controlling the next pandemic. This project enabled us to develop a sensitive and easily used kit to assess for acquisition of human-type receptor binding specificity of H5N1.

We also developed new techniques for discovering anti-influenza drugs and are now investigating their relationship to various new food materials.



[図1] エジプトのニワトリ B, C およびインドネシアのブタ D, E から分離されたH5N1のヒト型レセプター結合性変異獲得ウイルスの発見。ニワトリおよびブタから分離されたH5N1 (B, D) は鳥型レセプター (2-3) へ結合するが、ヒト分離ウイルス(A)と同様にヒト型レセプター (2-6) へ結合する株(C, E)を見出した (PLoS Pathogens, 2011; Emerging Infect Dis., 2010)。

[Figure 1] Identification of new H5N1 strains that bind human-type receptor and were isolated from chickens (B, C) in Egypt and pigs (D, E) in Indonesia. Seasonal human influenza virus preferentially binds to human type receptors (A). Normal H5N1 isolated from chicken and pig binds avian type receptors ( $\alpha$ 2-3) (B, D), but new strains (C, E) also bind to human-type receptors ( $\alpha$ 2-6) (PLoS Pathogens, 2011; Emerging Infect. Dis., 2010).



[図2] 鳥インフルエンザウイルスがヒト-ヒト間伝播変異をするプロセス (J. Disaster Res., 2011)。

[Figure 2] Process of mutation that enables avian influenza virus transmission between humans (J. Disaster Res., 2011).

[図3] 日本梅肉エキスから伝統手法で得られるムメフルールの構造。これは2009年パンデミックインフルエンザウイルス(H1N1)の感染、HAおよびNAの機能を阻害する (Food Chem., 2011)。

[Figure 3] Structure of mumeifural isolated from traditional Japanese apricot fruit juice concentrate. It inhibits infectivity and the function of hemagglutinin and neuraminidase in the 2009 pandemic influenza virus (H1N1) (Food Chem., 2011).

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. Y. Watanabe, M.S. Ibrahim, H.F. Ellakany, N. Kawashita, R. Mizuiki, H. Hiramatsu, N. Sriwilaijaroen, T. Takagi, Y. Suzuki and K. Ikuta: Acquisition of Human-Type Receptor Binding Specificity by New H5N1 Influenza Virus Sublineages during Their Emergence in Birds in Egypt. *PLoS Pathogens*, 7, issue 5, e-1002068 (2011)
2. N. Sriwilaijaroen, A. Kadowaki, Y. Onishi, N. Gato, M. Ujike, T. Odagiri, M. Tashiro, Y. Suzuki: Mumefural and related HMF derivatives from Japanese apricot fruit juice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic influenza A (H1N1) virus. *Food Chem.*, 127, 1-9 (2011)
3. N. Sriwilaijaroen, S. Kondo, H. Yagi, N. Takemae, T. Saito, H. Hiramatsu, K. Kato, Y. Suzuki: N-glycans from porcine trachea and lung: Predominant NeuAc $\alpha$ 2-6Gal could be a selective pressure for influenza variants in favor of human-type receptor. *PLoS ONE*, 6, issue 2, e-16302 (2011)
4. N. Sriwilaijaroen, S. Kondo, H. Yagi, P. Wilairat, H. Hiramatsu, M. Ito, Y. Ito, K. Kato, Y. Suzuki: Analysis of N-glycans in embryonated chicken egg chorioallantoic and amniotic cells responsible for binding and adaptation of influenza viruses. *Glycoconjugate J.*, 26, 433-443 (2009)
5. S. Yingsakmongkon, D. Miyamoto, N. Sriwilaijaroen, K. Fujita, K. Matsumoto, W. Jampangem, H. Hiramatsu, C.-T. Guo, T. Sawada, T. Tskahashi, K. Hidari, T. Suzuki, M. Ito, Y. Ito, Y. Suzuki: In Vitro Inhibition of Human Influenza A Virus Infection by Fruit-Juice Concentrate of Japanese Plum (*Prunus mume* Sieb. et Zucc). *Biol. Pharm. Bull.* 31 (3), 511-515 (2008)
6. C.-T. Guo, N. Takahashi, H. Yagi, K. Kato, T. Takahashi, S.-Q. Yi, Y. Chen, T. Ito, K. Otsuki, Hi. Kida, Y. Kawaoka, K.I.-P. J. Hidari, D. Miyamoto, T. Suzuki, and Y. Suzuki: The quail and chicken have sialyl-Gal sugar chains responsible for the binding of influenza A viruses to human type receptors. *Glycobiology*, 17, 713-724 (2007)

## 相同及び非相同組換えによる植物ゲノムの改変法の開発と利用 Homologous and nonhomologous recombination-mediated genome modification in plants

飯田 滋 Shigeru IIDA 生活健康科学研究科・薬学研究科分子遺伝学研究室 特任教授  
Appointed Professor, Laboratory of Molecular Genetics, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences / Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



### Profile

2009年 静岡県立大学生活健康科学・薬学研究科特任教授  
1996年 基礎生物学研究所/総合研究大学院大学生命科学研究科教授  
1988年 東京理科大学基礎工学部生物工学科教授  
1987年 スイス連邦理工科大学(ETH)植物科学研究所上級研究員  
1982年 バーゼル大学バイオセンター上級研究員  
1974年 バーゼル大学バイオセンター研究員  
1973年 東京大学医学研究所助手  
1973年 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了  
1967年 東京大学薬学部卒業

2009 Appointed Professor, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences / Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1996 Professor, National Institute for Basic Biology / School of Life Science, The Graduate University for Advanced Studies  
1988 Professor, Department of Biological Science and Technology, Science University of Tokyo  
1987 Senior Research Associate, Institute for Plant Science, Swiss Federal Institutes of Technology (ETH-Zurich)  
1982 Senior Research Associate, Biozentrum der Universitaet Basel  
1974 Research Associate, Biozentrum der Universitaet Basel, Switzerland  
1973 Research Associate, Institute of Medical Science, University of Tokyo  
1973 Ph.D. Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo  
1967 Graduate from Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo

### Contact

T E L 054 264 5569  
+81 54 264 5569  
e-mail shigiid@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/molgen/

### 序論

人類の主食であるイネの相同組換えによるゲノムの改変は、我々の2002年のWaxy遺伝子のノックアウト改変を嚆矢とし、2009年にはGUSレポーター遺伝子を内在性のMET1a遺伝子プロモーターにつなげたノックイン改変にも成功し、改変遺伝子のコピー数や標的遺伝子の時間的・空間的発現を反映した再現性のあるGUS発現を観察できた。今回、DNAの5-methylcytosineの脱メチル化に係るROS1a遺伝子のノックイン改変を行い、null変異は次世代へ伝達できないことを明らかにした。

内在性DNA型トランスポゾンを経た非相同組換えによるゲノム改変として、我々が見出したイネnDart1の遺伝子タギングに係るnDart1の標的選択特異性やマルバアサガオのTip100挿入によるnull変異で判明したメンデルの法則の特例と考えられる不完全優性に関する新たな知見も述べる。

### 成果

図1はポジティブ・ネガティブ選抜によるROS1a遺伝子のノックイン改変法の概念図である。独立に得られた6系統は、何れも一方の染色体だけが期待通りの改変ゲノム構造をもつヘテロ改変体であり、GUS発現にも差異はなかった。ノックイン改変はGUS等が挿入したnull変異であり、ROS1aの場合は通常の生育条件下では次世代へは伝達せず、自殖後代は全て野生型ホモであった。父性由来の変異は次世代に伝わらず、図2に示すように母性由来の変異をもつ種子は胚乳の発達異常により致死となる。それ故、このような変異は従来の次世代集団中から変異体を分離する変異導入法では分離できないタイプの変異と思われる。

イネのnDart1はゲノム上の遺伝子領域、特にプロモーター近傍に挿入し易いことが判明した。

マルバアサガオのTip100がイントロンに挿入した花色に係わるCHS遺伝子のnull変異体とTip100の転移脱離による復帰変異体を用いて(図3)、分子遺伝学的に未解明であった不完全優性は、活性なCHS遺伝子のコピー数に応じた遺伝子量効果によりCHS mRNAやCHSタンパク、アントシアニンの蓄積がヘテロでは野生型ホモの約半分になっていた。

### 展望

我々のノックイン改変法は標的遺伝子の発現や変異をレポーター遺伝子の発現を指標に解析できるので、従来の手法では分離できない新たな変異の分離と解析が可能となり種々の応用が期待できる。

nDart1では、機能欠失型の劣性変異ばかりでなく、機能獲得型の優性変異も得られるのは、nDart1がプロモーター近傍に挿入したためと考えられ、組換えDNA技術によらない有益は変異導入法となる。

イネのノックイン改変の結果マルバアサガオの不完全優性も、活性な遺伝子の量的効果を示すので、メンデルの法則が成立する多くの遺伝子は1コピーで野生型の形質を賦与するに十分量を発現していることを強く示唆している。

### Introduction

Primary (T0) plants, obtained by our homologous recombination-promoted modification of the rice genome, usually carry only one anticipated knock-out or knock-in allele in the heterozygous condition. We showed that the reproducible, dosage-dependent, and spatiotemporal expression of the GUS reporter gene fuses with the endogenous *MET1a* promoter in the selfed progenies of independently isolated knock-in-modified T0 plants. We also reproducibly obtained and characterized T0 plants bearing a knock-in modified null allele of *ROS1a* for DNA demethylation of 5-methylcytosine. For nonhomologous recombination, we characterized endogenous DNA transposons *nDart1* in rice and *Tip100* in the common morning glory (*Ipomoea purpurea*).

### Results

Figure 1 shows our strategy for the knock-in modification of *ROS1a* with positive-negative selection; all the knock-in lines obtained displayed the same GUS staining patterns. The knock-in null allele, *ros1a*, is non-transmittable; the maternal allele causes failure of early endosperm development resulting in incomplete embryo development (Figure 2), whereas the paternal allele cannot be transmitted to progeny.

The *nDart1* elements are predominantly integrated into single-copy genic regions, particularly the promoter proximal regions.

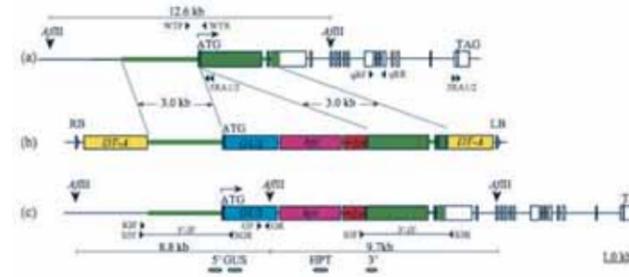
The mutable allele, caused by *Tip100* insertion into *CHS-D* for flower pigmentation, confers incomplete dominance (Figure 3). Amounts of *CHS-D* transcripts, CHS-D protein, and anthocyanin pigment in heterozygous flowers were about half those in homozygous flowers, indicating that dosage-dependent expression of *CHS-D* is the primary cause of the observed incomplete dominance.

### Perspectives

Without our knock-in modification procedure, the non-transmittable *ros1a* allele would be difficult to isolate by conventional mutagenesis techniques that isolate mutants as segregants in the progeny population. It would also be difficult to characterize its transmission by tracking of spatiotemporal *ROS1a* expression.

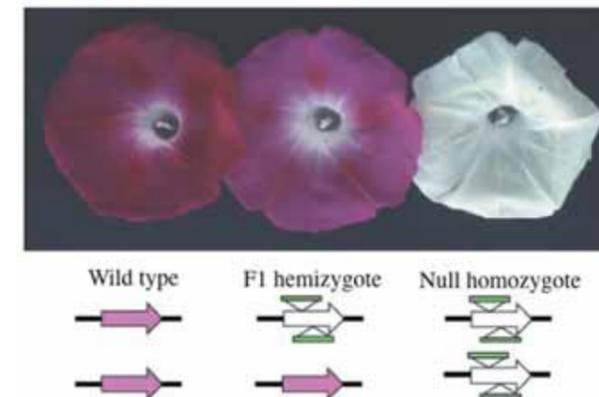
Our findings provide an explanation for the observation that *nDart1*-insertion mutants often confer gain-of-function phenotypes.

Our findings on gene-dosage effects imply that expression of a single copy of many genes following Mendelian Laws appears to be sufficient to confer wild-type phenotypes.



[Figure 1]  
イネROS1a遺伝子のノックイン改変法の概念図  
(a)ゲノム上のROS1a遺伝子の構造 (b)用いたベクターのT-DNA領域 (c)ノックイン改変されたゲノム上のROS1a遺伝子の構造。

[Figure 1]  
Strategy for knock-in modification of *ROS1a* in rice.  
(a) Genomic structure of *ROS1a*. (b) T-DNA region of the targeting vector. (c) Genomic structure of the *ROS1a* locus targeted for knock-in.



[Figure 3]  
マルバアサガオの不完全優性とCHS遺伝子の変異。大きな矢印はCHS遺伝子を、三角形はTip100の挿入を示す。

[Figure 3]  
Incomplete dominance in flower pigmentation of *I. purpurea* and the structures of the wild-type and mutant *CHS* genes.  
The large horizontal arrows and the triangles indicate *CHS* and *Tip100*, respectively.

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. M. Hayashi-Tsugane, M. Maekawa, H. Kobayashi, S. Iida, K. Tsugane: Examination of transpositional activity of *nDart1* at different stages of rice development. *Genes Genet. Syst.*, 86, 215-219 (2011)
2. M. Hayashi-Tsugane, M. Maekawa, Q. Qian, H. Kobayashi, S. Iida, K. Tsugane: A rice mutant displaying a heterochronically elongated internode carries a 100 kb deletion. *J. Genet. Genomics* 38, 123-128 (2011)
3. Y. Johzuka-Hisatomi, H. Noguchi, S. Iida: The molecular basis of incomplete dominance at the A locus of *CHS-D* in the common morning glory, *Ipomoea purpurea*. *J. Plant Res.*, 124, 299-304 (2011)
4. K. Takagi, M. Maekawa, K. Tsugane, S. Iida: Transposition and target preferences of an active nonautonomous DNA transposon *nDart1* and its relatives belonging to the hAT superfamily in rice. *Mol. Genet. Genomics*, 284, 343-355 (2010)
5. T. Yamauchi, Y. Johzuka-Hisatomi, S. Fukada-Tanaka, R. Terada, I. Nakamura, S. Iida: Homologous recombination-mediated knock-in targeting of the *MET1a* gene for a maintenance DNA methyltransferase reproducibly reveals dosage-dependent spatiotemporal gene expression in rice. *Plant J.*, 60, 386-396 (2009)

## 科学英語プログラム Scientific English Program

ホーク・フィリップ Philip HAWKE 生活健康科学研究科・薬学研究科 特任准教授

Specially Appointed Associate Professor, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences and Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



### Profile

2008年 静岡県立大学生活健康科学研究科・薬学研究科 特任准教授  
2006年 サリー大学(英国)大学院言語学研究所修士課程修了  
1998-2008年 静岡県立大学国際関係学部 外国語指導助手  
1996年 静岡県教育委員会中部教育事務所 外国語指導講師  
1996年 トロント大学(カナダ)社会学部卒業  
1995年 トロント大学(カナダ)英語教育教員養成課程修了

2008 Specially Appointed Associate Professor, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences and Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
2006 M.A. in Linguistics (TESOL), University of Surrey (U.K.)  
1998-2008 Lecturer, Faculty of International Relations, University of Shizuoka  
1996 Assistant Language Teacher, Shizuoka Prefectural Board of Education  
1996 B.A. in Sociology, University of Toronto (Canada)  
1995 Certificate in Teaching English as a Second Language, University of Toronto (Canada)

### Contact

T E L 054 264 5504  
+81 54 264 5504  
e-mail hawke@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://gcoeenglish.u-shizuoka-ken.ac.jp/

### 序論

静岡県立大学で開発された「グローバルCOE科学英語プログラム」は、通年に渡り、英語講座を科学系大学院学生に提供した。本プログラムでは、学生に対して、科学コミュニケーションの実践的スキルを向上するための訓練を行った。講座とワークショップの開講数は、2007年の3から2010年には7へと増えた。講座の教材は全て本プログラムのために特別に作成された。それらの教材は、国際会議でのプレゼンテーションと英語発表論文における科学コミュニケーションに関する独自の研究に基づいたものを含んでいる。

### 成果

2007年10月から2011年9月まで、のべ247名の学生が単位を取得し、のべ123名の学生が単位対象外のワークショップやチュートリアルに参加した。2010年の講座評価においては、87%の学生が「とても価値があった」と評価した(図1)。「オーラルコミュニケーション1&2」では、海外の学会に出席したり研究室を訪問する際に必要なコミュニケーションについて学習した。「学生主導型ディスカッション1&2」では、学生自身がトピックを選び、ディスカッションを主導した。「インディペンデントリスニング」では、インターネット上で利用できるサイエンスポッドキャストをダウンロードしてリスニングの練習をする、という新しい講義形式を開発した。詳細はHawke(2010年)で発表された。「アカデミックライティング」では、科学論文作成の基本、Eメールや履歴書の文章構成について学習した。この後に続く、単位対象外となる「論文作成チュートリアル」では、個々の学生に対する論文編集の個別講習を行った。本チュートリアルを受講した5名の学生による論文が実際に学術雑誌に掲載され、また、他の学生によるいくつかの論文が査読中となっている。「アカデミック・プレゼンテーション」では、プレゼンテーションに必要なスキルについて詳しく学習した。この講座の資料は『日本人研究者のための絶対できる英語プレゼンテーション』として出版された(図2)。加えて、単位対象外の「国際会議プレゼンテーションのための準備ワークショップ」を39回実施し、受講したのべ111名の学生が実際に国際会議で英語でプレゼンテーションを行った(図3)。

### 展望

科学英語プログラムは総じて、学生や教員から高い評価を得た。今後は、本プログラムを基礎とした講座やワークショップを薬食生命科学総合学府でも継続して開講する予定である。

### Introduction

The Global COE Scientific English Program based at the University of Shizuoka has offered English courses to graduate science students throughout the academic year, training students in practical scientific communication skills. The number of courses and workshops has expanded from 3 in 2007 to 7 in 2010. Almost all course materials have been created specifically for the program, including those based on original research in scientific communication carried out at international conferences and in journal collections.

### Results

From October 2007 to September 2011, 247 course credits were given, and 123 students attended non-credit workshops and tutorials. In 2010 course evaluations, the courses were rated "very worthwhile" by 87% of students (Fig. 1). *Oral Communication 1 & 2* cover basic conference and laboratory communication, and in *Student-led Scientific Discussion 1 & 2* students choose the topics and lead the discussion. *Independent Listening for Scientists* pioneered new types of listening materials and course delivery methods based on science podcasts available on the internet; details were published in Hawke (2010). *Academic Writing* covers fundamentals of scientific articles, e-mails, and CVs, followed by the non-credit *Manuscript Editing Tutorial*, which has individual editing sessions with the instructor; 5 student papers edited in the tutorial have been published in academic journals, with several more still under review. *Academic Presentations* covers conference presentation skills in detail; its course materials were published as Hawke & Whittier (2011) (Fig. 2). In addition, 39 non-credit *Preparation Workshops for Presentations at International Conferences* were held for 111 students presenting in English at international meetings (Fig. 3).

### Perspectives

Scientific English Program courses and workshops were well received by students and faculty, and will continue to be offered by the new Graduate School of Integrated Pharmaceutical and Nutritional Sciences.

Course / Tutorial	Start date	Total credits given	Students rating course "very worthwhile" (2010)
Oral Communication 1&2	2007.10	140	90 %
Academic Writing	2007.10	36	89
Academic Presentations	2008.04	35	89
Independent Listening for Scientists	2009.04	17	75
Student-led Scientific Discussion 1&2	2009.04	19	91
<b>Total / Average</b>	-	<b>247</b>	<b>87 %</b>
Manuscript Editing Tutorial	2009.10	(12)	100 %

[図1] 科学英語プログラムの講座とチュートリアルの詳細(2007年10月~2011年9月)

[Figure 1] Details of Scientific English Program courses and tutorials (October 2007 to September 2011).



[図2] 『日本人研究者のための絶対できる英語プレゼンテーション』(2011年、羊土社)

[Figure 2] Cover of Hawke & Whittier (2011) "日本人研究者のための絶対できる英語プレゼンテーション [Presentation Skills for Japanese Scientists]", published by Japanese science publisher Yodoshia.

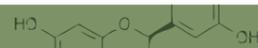
Conference location	Number of workshops	Oral presentations	Poster presentations
Overseas	17	9	16
In Japan	9	17	9
University GCOE	13	59	1
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>85</b>	<b>26</b>
		<b>111</b>	

[図3] 「国際会議プレゼンテーションのための準備ワークショップ」で、学生が訓練したプレゼンテーションの種類と出席した会議の場所の詳細。

[Figure 3] Details of *Preparation Workshops for Presentations at International Conferences* by conference location and type of presentation.

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. P. Hawke, R. Whittier: 『日本人研究者のための絶対できる英語プレゼンテーション [Presentation Skills for Japanese Scientists]』, Yodoshia (2011)
2. P. Hawke: Using podcasts in independent listening courses: Legal and pedagogical implications. *JALT CALL Journal*, 6, 219-234 (2010)



26

## 研究領域 2

# 東南アジア原産薬用・食用植物からの抗 Dengue ウイルス 活性物質の探索

Investigation of anti-dengue agents derived from traditional medical herbs and food plants in Southeast Asia

左 一八 Kazuya I.P.J. HIDARI

薬学研究科薬学専攻生化学教室 准教授

Associate Professor, Department of Biochemistry, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



## Profile

2007年 静岡県立大学大学院薬学研究科准教授  
1998年 静岡県立大学大学院薬学研究科助手  
1995年 オクラホマ大学医学部博士研究員  
1992年 理化学研究所博士研究員  
1992年 東京大学大学院医学系研究科博士課程修了  
1986年 静岡薬科大学薬学科卒業

2007 Associate Professor, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1998 Research Associate, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka  
1995 Postdoctoral fellow, Department of Cardiovascular Biology, Oklahoma University, Oklahoma  
1992 Postdoctoral fellow, Laboratory for Glycobiology, Frontier Research Program, RIKEN  
1992 Ph.D., Graduate School of Medicine, University of Tokyo  
1986 Graduate from Shizuoka College of Pharmacy

## Contact

T E L 054 264 5720  
+81 54 264 5720  
e-mail hidari@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/biochem/intro\_e.html

## 序論

感染初期におけるウイルスと受容体などの宿主側因子との相互作用の解明は、ウイルス感染による病態形成を理解するうえで必須である。Dengue ウイルス感染症は、蚊などの節足動物をはじめとする自然宿主動物からヒトへとウイルスが異種間感染することで引き起こされる。これまでウイルス感染に関わる宿主側因子の実体、そのウイルス感染における機能、ウイルス異種間感染機構、さらには病態形成の分子機構は十分に解明されていない。ウイルス感染時、宿主側因子に作用する抗ウイルス剤は臨床応用されていない。このように宿主側因子に作用して感染細胞内においてウイルス増殖を制御できる抗ウイルス剤のリードとなる有用物質を、安全性の確立している既存の生薬および食用キノコから探索・同定することで、宿主側因子を標的とする新規抗ウイルス化合物の創出が可能になる。

## 成果

本研究は、タイ国・Chulalongkorn 大学薬学部ならびにマレーシア・Malaya 大学食用キノコ研究所の協力研究者と連携を構築し、協力研究者らが有する東南アジア原産生薬・キノコ資源を活用することにより、グローバル再興感染症の原因病原体である Dengue ウイルスに対する阻害物質を探索することで、以下の2つの研究成果を得た。

- (1) タイ原産薬用植物からの抗 Dengue ウイルス剤の探索: タイ国内において生薬として用いられているタイ原産薬用植物の抽出物、および単離物質について、研究代表者が有するウイルス増殖アッセイを用いて Dengue ウイルス感染抑制効果を評価した。36種類の薬用植物からの抽出液について、10 µg/ml の濃度で抗 Dengue ウイルス活性を探索した結果、7種類の植物抽出液に非常に高い阻害活性を見出した(図1)。
- (2) マレーシア原産キノコからの抗 Dengue ウイルス剤の探索: マレーシアアマラヤ大学キノコ研究所が所有するマレーシア原産キノコからの抽出物について、ウイルス増殖アッセイを用いて Dengue ウイルス感染抑制効果を評価した。16種類の食用キノコについて、水を用いた4通りの抽出液を調製し、1 mg/ml の濃度で抗 Dengue ウイルス活性および細胞毒性を探索した結果、3種類のキノコの抽出液に高い阻害活性を見出した(図2)。

## 展望

タイ原産薬用植物およびマレーシア原産キノコからの抗 Dengue ウイルス活性物質中には、熱に対する安定性の異なる高分子多糖類や低分子化合物が含まれていることが明らかとなりつつある。さらなる単離、性状解析を進めることにより、世界的流行・拡大を続けるウイルス感染症の制御に有用な物質的な基盤が確立できる。

## Introduction

Dengue virus infection is caused by cross-species infection between natural hosts, such as mosquitoes and other arthropods, and animals, including humans. Host factors involved in infection by this virus, their function in viral infection, mechanisms of infection, and even the molecular mechanisms of pathogenesis are not fully understood. So far, no antiviral agents that act on host factors are clinically available. Identification of substances in established medicinal herbs and edible mushrooms that could be developed into antiviral drugs that can control viral replication by acting on host factors would create new types of antiviral compounds.

## Results

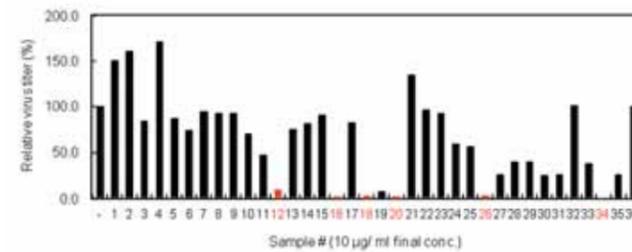
This study on utilizing resources derived from medicinal herbs and mushrooms in Southeast Asia involved partnership and cooperative research by the Faculty of Pharmacy, University of Chulalongkorn, and the Mushroom Research Institute, University of Malaya.

One project investigated anti-dengue agents derived from medicinal plants in Thailand: Using a proliferation assay, we evaluated inhibitory effects on dengue virus infection of substances isolated from indigenous Thai medicinal plant extracts that are used as herbal medicine in Thailand. By assessing extracts (10 µg/mL) from 36 different medicinal plants for anti-dengue virus activity, we identified seven extracts with very high inhibitory activity (Figure 1).

In the second study, we used a proliferation assay to evaluate the ability of potential anti-dengue agents derived from edible mushrooms in Malaysia to inhibit viral replication. The mushrooms are owned by the Mushroom Research Institute of Malaysia, University of Malaya. We identified three mushroom extracts that strongly inhibit anti-dengue virus at a concentration of 1 mg/mL (Figure 2).

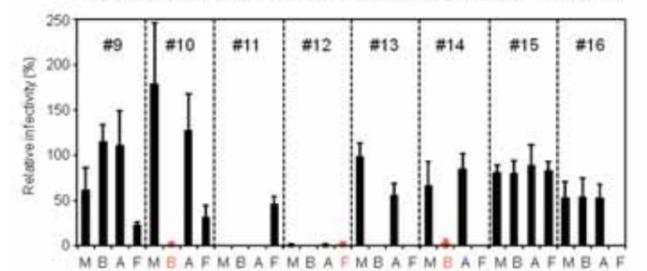
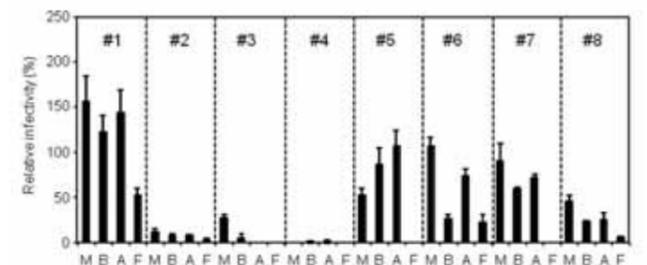
## Perspectives

It is becoming clear that the anti-dengue agents derived from medicinal plants in Thailand and edible mushrooms in Malaysia contain a polysaccharide polymer and low-molecular compounds with differing biochemical and physicochemical properties. Further characterization will be required before they can be used for the control of dengue virus infection.



[Figure 1] タイ薬用植物抽出物による Dengue ウイルス増殖抑制効果  
Vero 細胞に Dengue ウイルスを感染させた後、細胞を 48 時間培養した。この時、試験化合物を最終濃度 10 µg/ml となるように培養液に加えた。培養終了後に培養上清中のウイルス量をフォーカスアッセイで調べた。赤い番号の試料、高い阻害活性を示した試料。

[Figure 1] Inhibitory activity of Thai medicinal herbs on dengue virus propagation. We infected Vero cells with dengue virus, and then cultured them for 48 hours in the presence of a final concentration of 10 µg/mL of the substances under investigation. We used a focus-forming assay to determine virus titers. Samples with red numbers are active substances.



[Figure 2] マレーシア食用キノコ抽出物による Dengue ウイルス増殖抑制効果  
Vero 細胞に Dengue ウイルスを感染させた後、細胞を 48 時間培養した。この時、抽出物を最終濃度 1 mg/ml となるように培養液に加えた。培養終了後に培養上清中のウイルス量をフォーカスアッセイで調べた。赤い番号の試料、細胞毒性を示さずに、高い阻害活性を示した試料。  
M, microwave; B, boiled water; A, autoclave; F, fresh water.

[Figure 2] Inhibitory activity of Malaysian mushroom extracts on dengue virus propagation. We infected Vero cells with dengue virus, and then cultured them for 48 hours in the presence of a final concentration of 1 mg/mL of the substances under investigation. We used a focus-forming assay to determine virus titers. Samples with red numbers are active substances without cytotoxicity. A, autoclave; B, boiled water; F, fresh water; M, microwave.

## 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. D. Kato, S. Era, I. Watanabe, M. Arihara, N. Sugiura, K. Kimata, Y. Suzuki, K. Morita, K.I.P.J. Hidari (correspondence), T. Suzuki: Antiviral activity of chondroitin sulphate E targeting dengue virus envelope protein. *Antiviral Res.* 88, 236-243 (2010)
2. M. Ogata, K.I.P.J. Hidari, W. Kozaki, T. Murata, J. Hiratake, E.Y. Park, T. Suzuki, T. Usui: Molecular design of spacer-N-linked sialoglycopolyptide as polymeric inhibitors against influenza virus infection. *Biomacromolecules* 10, 1894-1903 (2009)
3. K.I.P.J. Hidari, K. Oyama, G. Ito, M. Nakayama, M. Inai, S. Goto, Y. Kanai, K. Watanabe, K. Yoshida, T. Furuta, T. Kan, T. Suzuki: Identification and characterization of flavonoids as sialyltransferase inhibitors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 382, 609-613 (2009)
4. K.I.P.J. Hidari, M. Ogata, T. Murata, S. Shimada, W. Kozaki, E.Y. Park, T. Suzuki, T. Usui: Chemoenzymatic synthesis of sialoglycopolyptides as glycomimetics to block infection by avian and human influenza viruses. *Bioconjugate Chem.* 20, 538-549 (2009)
5. K.I.P.J. Hidari, T. Murata, K. Yoshida, Y. Takahashi, Y. Minamijima, Y. Miwa, S. Adachi, M. Ogata, T. Usui, Y. Suzuki, T. Suzuki: Chemoenzymatic synthesis, characterization, and application of glycopolymers carrying lactosamine repeats as entry inhibitors against influenza virus infection. *Glycobiology* 18, 779-788 (2008)
6. K.I.P.J. Hidari, N. Takahashi, M. Arihara, M. Nagaoka, K. Morita, T. Suzuki: Structure and anti-dengue virus activity of sulfated polysaccharide from a marine alga. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 376, 91-95 (2008)

## 高機能食品の開発を目指した難生産性蛋白質の効率的生産 Yeast extracellular expression system for "difficult-to-express" proteins

河原崎 泰昌 Yasuaki KAWARASAKI 生活健康科学研究科食品栄養科学専攻生物分子工学研究室 准教授  
Associate Professor, Laboratory of Biomolecular Engineering, Division of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka



### Profile

2006年 静岡県立大学食品栄養科学部准教授  
2002-2004年 テキサス大学オースティン校 化学工学科 博士研究員  
1998-2006年 名古屋大学生命農学研究科助手  
1997年 理化学研究所基礎科学特別研究員  
1997年 名古屋大学大学院農学研究科博士課程修了  
1992年 名古屋大学農学部卒業

2006 Associate Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka  
2002-2004 Faculty Sta (Postdoctoral research fellow), Department of Chemical Engineering, University of Texas at Austin  
1998-2006 Assistant Professor, Graduate School of Bio and Agricultural Sciences, Nagoya University  
1997 Special Post-doctoral Research fellow, Institute for Physical and Chemical Research (RIKEN)  
1997 Ph.D.: Graduate School of Agricultural Sciences, Nagoya University  
1992 Graduate from School of Agricultural Sciences, Nagoya University

### Contact

T E L 054 264 5540  
+81 54 264 5540  
e-mail kawarasky@u-shizuoka-ken.ac.jp  
U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/geneng

### 序論

組換え蛋白質の出芽酵母菌体外分泌発現系は、目的蛋白質の生産後の安定性が高く、しかも培地に含まれる挟雑蛋白質が少ないことと相まって、一般的な細胞内発現系に対し圧倒的に高い精製コストパフォーマンスを発揮する。宿主である出芽酵母は一般に安全 (GRAS と見なされており、安価な天然培地で容易に大量培養することができる。従って、酵母菌体外分泌発現系は、特にモノクローナル抗体などジスルフィド結合を含有する各種有用蛋白質の商業的大量生産には最適の発現系といえる。しかしながら、分泌発現に用いられている接合因子やインペルターゼ由来の分泌シグナル配列はしばしば有効に機能せず、さらに時として宿主の生育が著しく阻害され、極端な低収量化をもたらす。この生育阻害は、passengerの小胞体内腔でのミスフォールディングによる小胞体ストレスを介したものであることが最近の研究で明らかになり、その分子メカニズムについて商業生産の観点からも関心が持たれている。

### 成果

抗志賀毒素モノクローナル抗体 (IgA) や同キメラ抗体 (IgG化抗体) の生産性向上を最終目標として、難生産性である一本鎖抗体ならびに難生産性酵素をモデル分子として用い、組換え蛋白質の発現誘導にともなう宿主菌体の増殖遅延について解析した。その結果、目的蛋白質の分泌誘導に依存したプラスミド脱落が増殖遅延および目的蛋白質低収量化の原因であることを明らかにした。種々の検討の結果、分泌誘導時の菌体密度を高密度化することで、ある種の難生産性蛋白質の発現量を培地体積当たり数千倍に向上させることに成功した。この高密度菌体懸濁液を用いた外来蛋白質の分泌生産系は前例がなく、本研究が初めてとなる。この高密度系の発現特性を解析したところ、ラッカーゼやミラクリンなどの特定の外来蛋白質には有効であるが、大腸菌および糸状菌由来の -ガラクトシダーゼや、組換え一本鎖抗体の発現量を向上させるには至らなかった。静止期に特異的な、恐らく小胞体に局在する分子シャペロンがある種の難生産性蛋白質の発現量向上に寄与している可能性が示唆された。

### 展望

分泌発現に依存した宿主細胞の増殖阻害の原因の一つが、小胞体ストレスを介したプラスミド脱落にあることを見出し、その簡便な回避法 (高密度系の利用) を確立した。これは、これまでに発現が困難であった多くの有用蛋白質の発現系への応用が非常に容易であり、組換え蛋白質の効率的生産において基盤技術となる可能性がある。活性型組換え抗体分子の発現を促進するシャペロンの同定と、それを利用した発現宿主株の構築が今後の課題である。

### Introduction

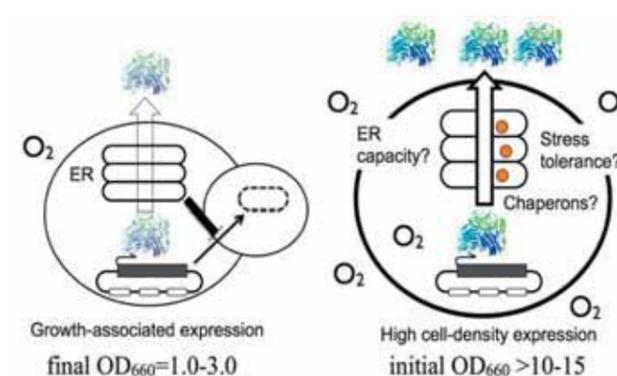
Using recombinant yeast in extracellular production of industrially useful proteins, including diagnostic antibodies or enzymes, simplifies the downstream purification process, because certain steps, including cell lysis and subsequent clarification of the extract, are not necessary. Moreover, purification of secreted protein from yeast culture medium is much simpler than that from clarified cell lysate, because the former contains fewer endogenous proteins. However, depending on the protein to be expressed, the host cells show impaired growth upon induction, resulting in poor production of the target protein.

### Results

We established a novel yeast extracellular expression system that is capable of synthesizing a certain range of so-called "difficult-to-express" proteins. In this expression system, recombinant yeast cells resting in stationary phase ( $OD_{660} = 3-4$ ) are suspended in a small aliquot of inducing medium to form a high cell-density culture (e.g.,  $OD_{660} = 15$ ). When applied to yeast strains harboring *Lentinula edodes* laccase (Lcc1 or Lcc4)-expressing plasmids, this high cell-density system allowed the host cells to synthesize increased amounts of laccase, which resulted in a > 1000- to 6000-fold higher yield than those obtained in a classical growth-associated manner. The resting cells required vigorous aerobic agitation for the maximum production.

### Perspectives

The performance of the novel expression system varies depending on the proteins to be expressed. The production system works for laccases and other foreign enzymes, but not for beta-galactosidase from *Aspergillus oryzae* or *Escherichia coli*, or antibodies including a single chain Fv fragment. This and some other data suggest involvement of stationary phase-specific endoplasmic reticulum (ER) chaperons that act on a certain range of secretory proteins. The identification of the ER chaperons that facilitate efficient expression of antibodies and elucidation of the molecular mechanisms behind induction-dependent plasmid loss and cellular toxicity will be our future works.



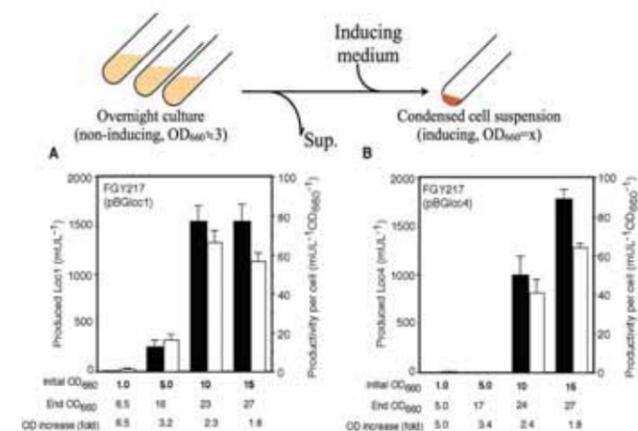
[図1]

本研究のまとめ:ある種の組換え蛋白質の分泌生産 (一般的な増殖連動型生産) は、小胞体ストレスを介した何らかの分子機構によりプラスミド分配が阻害され、極端に低収量化する (左)。高密度菌体懸濁液を用いた系 (右) ではプラスミドの脱落は起こらず、恐らく静止期特異的な小胞体シャペロンにより組換え蛋白質の折りたたみが促進され、活性型蛋白質の発現量が飛躍的に向上する。図中の $O_2$ は酸素要求量の増大を示す。

[Figure 1]

Summary of this study

Extracellular production of certain kinds of proteins causes serious growth retardation of host cells, which is occasionally accompanied with significant loss of the expression plasmid, probably due to ER stress upon induction (left panel). The right panel shows the high cell-density expression system that we established in this study. The recombinant yeast cells no longer proliferate in the dense suspension. Instead, the expression plasmids in the cells are stabilized, which results in increased production of the target protein. Some stationary phase-specific chaperons, and hence ER capacity, are also involved in efficient production.



[図2]

発現誘導時の菌体を高密度化する (上) ことにより、ある種の組換え蛋白質 (下A, Lcc1; 下B, Lcc4) の分泌発現量は、通常の誘導条件で行った場合の数倍になる。AおよびBのグラフは、初期菌体密度 (initial OD) と生産された組換え蛋白質量 (黒、培地体積あたり生産量; 白、菌体当たり生産量) を示す。

[Figure 2]

Upper panel: Experimental outline of the high cell-density expression system. Lower panels: Lcc1-expressing strain (FGY217(pBGlc1), panel A) and Lcc4-expressing strain (FGY217(pBGlc4), panel B) were suspended in the inducing medium to give the depicted cell concentrations. The turbidity increase (represented as End  $OD_{660}$ ) of the culture and liberated laccase activity (bars in black) were measured. The bars in white represent laccase production per cell, which is obtained by dividing laccase activity ( $mU \cdot L^{-1}$ ) by the end  $OD_{660}$  value.

### 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. K. Ito, S. Ito, T. Shimamura, S. Weyand, Y. Kawarasaki, T. Misaka, K. Abe, T. Kobayashi, A. Cameron, and S. Iwata: Crystal structure of glucanucrase from dental caries pathogen *Streptococcus mutans*. *J. Mol. Biol.*, 408, 177-186 (2011)
2. T. Kojima, N. Nagao, D. Ando, T. Ojima, Y. Kawarasaki, I. Kobayashi, M. Nakajima, H. Nakano: Emulsion culture: A miniaturized library screening system based on micro-droplets in an emulsified medium. *J. Biosci. Bioeng.*, 112, 299-303 (2011)
3. K. Kimata, M. Yamaguchi, Y. Saito, H. Hata, K. Miyake, T. Yamane, Y. Nakagawa, A. Yano, K. Ito, and Y. Kawarasaki: High cell-density expression system: A novel method for extracellular production of "difficult-to-express" proteins. *J. Biosci. Bioeng.* in press. (2011)
4. T. Kamiya, T. Ojima, K. Sugimoto, H. Nakano, Y. Kawarasaki: Quantitative Y2H screening: Cloning and signal peptide engineering of a fungal secretory LacA gene and its application to yeast two-hybrid system as a quantitative reporter. *J. Biotechnol.*, 146, 151-159, (2010)
5. A. Ikeuchi, T. Kamiya, T. Yamane, H. Nakano, Y. Kawarasaki: A method for reverse interactome analysis: High-resolution mapping of interdomain interaction network in Dam1 complex and its specific disorganization based on interaction domain expression. *Biotechnol. Progr.* 26, 945-53 (2010)

## 活動報告

### 本拠点が開催した研究集会・特別講義

#### 平成19年度(2007-2008年)

本拠点の特別セミナーや本拠点が主催、共催、後援して行われた国際/国内会議等が23回開催された(参加者延べ5,200人)。

第16回静岡DDSカンファレンス(静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2007年7月14日)

講演者: T. Mizutan(カンザス大学)他

第4回日本カテキン学会総会(本拠点共催)(しずぎんホール ユーフォニア, 2007年8月23日-24日)

講演者: 佐野満昭(名古屋女子大学) 藤木博太(徳島文理大学)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Molecular Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma in the Gambia West Africa」: Relevance to etiology, pathogenesis and prevention(静岡県立大学, 2007年10月11日)

講演者: R. Montesano(国際がん研究機関(IRAC)発癌機構部門 前部長)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「人はなぜ病気になるのか?」(静岡県立大学, 2007年10月12日)

講演者: 黒木登志夫(岐阜大学学長)

第2回食品薬学シンポジウム「健康長寿に向かう個の医療と薬食同源」(本拠点共催)静岡県立大学, 2007年10月18日-19日)

講演者: 上野川修一(日本大学) 山田陽城(北里大学)他

第12回静岡健康・長寿学術フォーラム「光を当てて、こころからだの危機をさぐる」(本拠点後援)静岡県コンベンションセンター グランシップ, 2007年10月19日-20日)

講演者: X. Gao(米国) J.V. Frangion(米国) P. McGuire(英国)他

第94回日本食品衛生学会学術講演会(本拠点共催)静岡県立大学, 2007年10月26日-27日)

講演者: 長尾 拓(内閣府食品安全委員会)他

O-CHA学術会議サテライトシンポジウム(静岡県立大学, 2007年11月1日)

講演者: P. W. Taylor(英国) S. Nagin(インド) Z. Apostolides(南アフリカ) D. Tasdemir(英国)および本拠点大学院学生4名

第3回国際O-CHA学術会議(本拠点共催)静岡県立大学他, 2007年11月2日-4日)

講演者・発表者: 世界19カ国地域より139名

グローバルCOEプログラム特別セミナー「第1回外国人研究者と語る会 -Appetite regulation」(静岡県立大学, 2007年11月14日)

講演者: W. Karczynski(ポーランド科学アカデミー)

日本農芸化学会中部支部第151回例会「酸化ストレスに挑む: 抗酸化性物質研究の現在」(本拠点協賛)静岡県立大学, 2007年11月17日)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「健康長寿科学教育研究の戦略的新展開」(静岡県立大学, 2007年11月19日)

講演者: 柴本崇之(カリフォルニア大学デービス校)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「柑橘類果皮とその成分のノビレチレンを利用した抗認知症機能性食品の開発」(静岡県立大学, 2007年12月11日)

講演者: 大泉康(横浜薬科大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「ドコサヘキサエン酸の脳機能向上効果と医療への応用」(静岡県立大学, 2007年12月14日)

講演者: 橋本道男(島根大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Clinical Pharmacogenetics and its Application to Drug Therapy」(静岡県立大学, 2007年12月21日)

講演者: 石崎高志(熊本大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「健康長寿を目指した「食・薬」研究の新たな展開」(静岡県立大学, 2008年1月21日)

講演者: P. Ramasoota(マヒン大学) E. Rodriguez(フィリピン大学ロスバニョス校)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「機能性食品の安全性と有効性の評価」(静岡県立大学, 2008年1月22日)

講演者: 梅垣敬三(独立財団法人国立健康・栄養研究所)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「フラボノイドの構造と機能研究」(静岡県立大学, 2008年1月24日)

講演者: 吉田久美(名古屋大学)

オハイオ州立大学英語研修参加者報告会(英語での研究成果発表およびディスカッション)(静岡県立大学, 2008年1月25日)

発表者: 研修に参加した9名の大学院学生

平成19年度グローバルCEOプログラム研究成果報告会(静岡県立大学, 2008年3月3日)

発表者: 事業推進担当者, ポスドク, 大学院学生

グローバルCOEプログラム特別セミナー「大学とベンチャー - 光産業の観点から -」(静岡県立大学, 2008年3月17日)

講演者: 藤田和久(光産業創成大学院大学)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「浙江大学 - 静岡県立大学 協議書締結記念 学術交流特別講演」(静岡県立大学, 2008年3月17日)

講演者: Z. Su(浙江大学薬学院)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「浙江大学 - 静岡県立大学 協議書締結記念 学院学生交流研究発表会」(静岡県立大学, 2008年3月17日-18日)

発表者: 浙江大学薬学院生および本学大学院学生(英語発表)



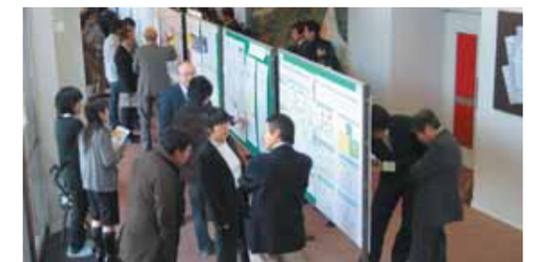
海外連携拠点とのジョイントシンポジウム



シンポジウム終了後の意見交換会



平成19年度研究成果報告会にて



研究成果を発表する事業推進担当者



浙江大学薬学院学生と本拠点大学院学生との学術交流会

## 活動報告

### 本拠点が開催した研究集会・特別講義

#### 平成20年度(2008-2009年)

本拠点の特別セミナーや本拠点が主催、共催、後援して行われた国際/国内会議等が23回開催された(参加者延べ3,948人)。

大学院学生科学英語教育ワークショップ「Teaching and Learning Scientific English」(静岡県立大学, 2008年5月8日)

講演者: G. Whitby, M. Nakayama(オハイオ州立大学)他

国際ジョイントカンファレンス「University of Shizuoka Global COE University of California, Berkeley」(静岡県立大学, 2008年6月13日-14日)

講演者: R. S. Zucker, G. Garriga, Q. Zhou(カリフォルニア大学バークレー校)および本拠点大学院学生

ニュージーランド研究者と本拠点との研究交流会(静岡県立大学, 2008年7月2日)

講演者: P. Moughan, J. Heyes, M. Skinner(ニュージーランド)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「LC-MS/MSによるDNA付加体の網羅的解析」(静岡県立大学, 2008年7月18日)

講演者: 周佩欣(京都大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Nanomedicines: A Revolution in Drug Delivery」(静岡県立大学, 2008年7月18日)

講演者: T. Allen(アルバータ大学)

第5回日本カテキン学会(本拠点共催)東京国際フォーラム, 2008年8月22日)

講演者: 島村忠勝(昭和大学)他

第1回排尿障害モデル動物研究会(本拠点共催)ホテルセンチュリー静岡, 2008年8月29日)

講演者: 山田静雄(静岡県立大学)他

国際ジョイントカンファレンス「University of Shizuoka Global COE University of Medicine and Dentistry of New Jersey」(静岡県立大学, 2008年9月1日)

講演者: R. Touger-Decker, J. O. Maillat, E. Myers(ニュージャージー医科歯科大学)

臨床栄養士特別研修会「栄養ケア・マネジメント、病院栄養管理に米国の栄養ケアプロセスを活用するための研修会」(本拠点共催)静岡県立大学, 2008年9月2日)

講演者: E. Myers(ニュージャージー医科歯科大学)他

オハイオ州立大学英語研修参加者報告会(英語での研究成果発表およびディスカッション)静岡県立大学, 2008年9月9日)

発表者: 研修に参加した8名の大学院学生

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Lessons Learned from Cationic Phospholipid Transfection Agents」(静岡県立大学, 2008年9月22日)

講演者: R. C. MacDonald(ノースウェスタン大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Searching for the True Etiological Agents of Human Lung and Liver Cancer」(静岡県立大学, 2008年10月21日)

講演者: Moon-shong Tang(ニューヨーク大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Autonomic Nervous System」(静岡県立大学, 2008年10月24日)

講演者: G. Gabella(ロンドン大学)

第2回茶サロン「カテキン勉強会」(静岡県立大学, 2008年10月25日)

話題提供者: 菅敏幸 他10名

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Research and Development of Chemotherapeutic Agents for Control of Emerging and Reemerging Infectious Diseases」(静岡県立大学, 2008年10月31日)

講演者: V. Frece(UNIDO) N. A. Rahman(マラヤ大学)

静岡健康・長寿プレフォーラム2008(静岡県立大学, 2008年11月6日)

講演者: J. Auwerx(フランス) 鄭瑞棠(台湾)および本拠点大学院学生2名

第13回静岡健康・長寿学術フォーラム「元気な血管で健康な長寿を - 老いは血管に始まる -」(本拠点共催)静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2008年11月7日-9日)

講演者: J. Auwerx(フランス) 鄭瑞棠(台湾)他

第8回日中健康科学シンポジウム(本拠点共催) Zhejiang Acad. Med. Sci(中国), 2008年11月17日-18日)

講師: Z. Xing(中国) S. Bungorr(タイ国) Y. H. Ser(マレーシア)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「An Overview of Herbal Medicine Research at the University of Sydney」(静岡県立大学, 2008年12月12日)

講演者: N. Virgon(シドニー大学)

1st International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS) Workshop: Comprehensive Lectures for Students, 「Symposium: Yaku-shoku Dogen, "Medicine and food, Sharing a Common Origin"」(本拠点主催)静岡県立大学, 2008年12月18日-19日)

講演者: R. Ferrari(ニュージャージー医科歯科大学) R. T. Sayre(オハイオ州立大学) B. Timmerman(カンザス大学) 事業推進担当者, ポストドク, 大学院学生他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「A Lesson from Nature」(静岡県立大学, 2009年1月16日)

講演者: 中西香爾(コロンビア大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「エネルギーバランスと老化の制御」(静岡県立大学, 2009年1月29日)

講演者: 宮坂京子(東京家政大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Presentation Seminar」(静岡県立大学, 2009年3月23日)

講演者: David Hart(オハイオ州立大学)



NZ研究機関との共同研究・交流の開始



ニュージャージー医科歯科大学教員による臨床栄養指導実習



オハイオ州立大学での研修者による成果発表会



第13回 静岡健康・長寿学術フォーラム(本拠点共催)での発表



第8回 日中健康科学シンポジウムでの大学院学生による発表



第1回 国際健康長寿科学会議(ICHALS)の開催

## 活動報告

### 本拠点が開催した研究集会・特別講義

#### 平成21年度(2009-2010年)

本拠点の特別セミナーや本拠点が主催、共催、後援して行われた国際/国内会議等が25回開催された(参加者延べ4,823人)。

イタリア・ミラノ大学との共同研究「キックオフミーティング」兼グローバルCOEプログラム特別セミナー「Statins tolerability and potential nutrient-drug interaction」(静岡県立大学, 2009年4月3日)

講演者: Palbo Werba(ミラノ大学)他

第2回21世紀の食を考える勉強会「食産業と健康長寿社会の正しい発展を目指して」(本拠点共催)(南青山会館, 2009年4月28日)

講演者: 細谷憲政(東京大学), 宮田謙(日経BP社)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「生命科学におけるNO研究の新展開」(静岡県立大学, 2009年5月7日)

講演者: Csaba Szabo(米国), James M. Leiper(英国)他

第9回日本NO学会学術集会「NO-最先端研究と治療応用」(本拠点共催)(静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2009年5月8日-9日)

講演者: David A. Wink(米国)他

日本薬学会第24年会「感染症から身を守ろう、感染症を広げないようにしよう」(本拠点協賛・公開市民講座)(静岡音楽館AOI, 2009年5月20日)

講演者: 岡部信彦(国立感染症研究所), 渡部一夫(株式会社資生堂)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「米国での留学生活」Advancing cancer research through the center for cancer experimental therapeutics(CCET)(静岡県立大学, 2009年7月6日)

講演者: Akihiko Urayama(テキサス大学), Barbara N. Timmerman(カンザス大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Structural similarities and functional convergence of arachnid toxins towards voltage-gated ion channel」(静岡県立大学, 2009年7月13日)

講演者: Gerardo Corzo(メキシコ国立自治大学)

有機合成化学協会東海支部「若手研究者育成のためのセミナー」(本拠点共催)(静岡県立大学, 2009年7月18日)

講演者: 横島聡(東京大学), 市川聡(北海道大学)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Evidence-based practice: methodologies and applications for human health sciences」(静岡県立大学, 2009年8月6日)

講演者: Riva Touger-Decker, Diane Radler(ニュージャージー医科歯科大学)

第5回日韓天然物化学談話会(本拠点共催)(和光純薬工業株式会社湯河原研修所, 2009年8月27日-29日)

発表者: Sung Ho Kang(KAIST), 工藤文隆(東京工業大学)他

第6回日本カテキン学会「茶の保健機能を多角的に解析する」(本拠点共催)(名古屋国際会議場, 2009年9月9日)

講演者: 島村忠勝(昭和大学), 立花宏文(九州大学)他

UGT研究会「薬物代謝酵素の生物学的戦略」(本拠点後援)(静岡県立大学, 2009年9月10日-11日)

講演者: 井柳義(兵庫県立大学)他

有機合成化学協会東海支部「有機合成セミナー」(本拠点共催)(静岡県立大学, 2009年9月12日)

講演者: 好光健彦(大阪大学), 西川俊夫(名古屋大学)他

第11回応用薬理シンポジウム「健康長寿への応用薬理学的挑戦」(本拠点後援)(静岡県立大学, 2009年9月18日-19日)

講演者: 中井清人(厚生労働省), 馬場明道(大阪大学)他

2nd International Conference of Health and Longevity Sciences(ICHALS) Integrated food-pharmaceutical science(本拠点主催)(静岡県立大学, 2009年10月1日)

講演者: Ronald A. Flores(ネブラスカ大学リンカーン校), Krongtong Yoovathaworn(マヒドン大学) 事業推進担当者, ポスドク, 大学院学生他

第14回静岡健康・長寿学術フォーラム「健康長寿科学におけるレギュラトリーサイエンスの意義」(本拠点企画協力)(静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2009年10月2日-4日)

講演者: 長尾拓(内閣府), 堂園俊彦(静岡大学)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「New Zealandとの連携紹介」(静岡県立大学, 2009年10月7日)

講演者: Margot Skinner(NZ植物食品研究所)

イノベーション・ベンチャーサミット in 清水「大学シーズを地域へ」(本拠点共催)(静岡県立大学, 2009年10月15日)

講演者: 川上哲太郎(東海大学), 木村雅和(静岡大学)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Tailoring New Zealand foods to match people's genes」(静岡県立大学, 2009年11月25日)

講演者: Lynnette R. Ferguson(オークランド大学)

日本環境変異原学会第38回大会「環境変異原研究の温故知新」(本拠点共催)(清水テルサ, 2009年11月26日-27日)

講演者: 中村好志(椋山女子学園大学)他

第2回排尿障害モデル動物研究会(本拠点後援)(ホテルセンチュリー静岡, 2009年11月27日)

講演者: 横山修(福井大学), 塚本泰司(札幌医科大学)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「若手研究者のための有機化学セミナー」(静岡県立大学, 2010年1月29日)

講演者: 早川一朗(筑波大学), 下川淳(東京大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「医薬品の安全性に関する特別セミナー」(静岡県立大学, 2010年2月19日)

講演者: 長谷川隆一(国立医薬品食品衛生研究所)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Nanoparticle delivery of siRNA and peptide for cancer therapy」(静岡県立大学, 2010年3月18日)

講演者: Leaf Huang(ノースカロライナ大学)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Impact of macrophage and tick cell environment on Ehrlichia chaffeensis molecular structure」(静岡県立大学, 2010年3月19日)

講演者: Roman Reddy Ganta(カンザス州立大学)



イタリア・ミラノ大学との共同研究のキック・オフ・ミーティング



NZでの研究成果発表



NZ研究者との意見交換



本学21COE拠点の卒業生による米国での研究生活に関する講義



第2回 国際健康長寿科学会議(ICHALS)の開催



ICHALSでの若手研究者によるポスター発表開催

## 活動報告

### 本拠点が開催した研究集会・特別講義

#### 平成22年度(2010-2011年)

本拠点の特別セミナーや本拠点が主催、共催、後援して行われた国際/国内会議等が26回開催された(参加者延べ5,081人)。

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Tips for Giving Scientific Talks」(静岡県立大学, 2010年6月1日)

講演者: Robert Whittier(東京大学)

第14回神経科学領域における分子モニタリングシンポジウム(本拠点共催)(静岡県立大学, 2010年6月4日)

講演者: 池田正明(埼玉医科大学)他

第122回日本薬理学会関東部会(本拠点共催)(静岡県立大学, 2010年6月5日)

講演者: 中里雅光(宮崎大学)他

市民公開講座「女性のための健康薬理学」(本拠点共催)(静岡県立大学, 2010年6月6日)

講演者: 市川義一(静岡赤十字病院)他

ニュージーランド産果実抽出物を用いた共同研究報告会(静岡県立大学, 2010年6月14日)

講演者: Margot Skinner(NZ植物食品研究所)

Massey大学との部局間交流協定締結記念講演会(静岡県立大学, 2010年7月9日)

講演者: Richard Archer(マッセー大学)他

若手研究者プレゼン・スタディー(静岡県立大学, 2010年7月15日)

講演者: ニュージーランド若手研究者9名

若手研究者プレゼン・スタディー(静岡県立大学, 2010年7月16日)

講演者: 本拠点若手研究者6名

第19回DDSカンファランス(本拠点共催)(静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2010年9月4日)

講演者: Kinam Park(アメリカ)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「食品栄養科学特別講義」(静岡県立大学, 2010年9月8日)

講演者: Jaen Cade(フランス)

グローバルCOEプログラム特別セミナー「海外での研究活動の勧め」(静岡県立大学, 2010年9月10日)

講演者: Takayuki Shibamoto(カリフォルニア大学デービス校)

第14回生体触媒化学シンポジウム(本拠点共催)(静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2010年9月23日-24日)

講演者: Jan-E. Backval(スウェーデン)他

第9回日中健康科学シンポジウム(本拠点合同開催)(静岡県立大学, 2010年10月14日)

講演者: 沈正栄(中国)他

第15回静岡健康・長寿学術フォーラム(本拠点企画協力)(静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2010年10月15日-16日)

講演者: 杉本八郎(京都大学)他

3rd International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)(本拠点主催)(静岡県立大学, 2010年10月16日)

講演者: Christopher P. Wild(フランス), Wang Yir(中国) 事業推進者, ポスドク, 大学院学生他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「板垣博士来日記念セミナー」(静岡県立大学, 2010年10月22日)

講演者: Yasuhiro Itagaki(コロンビア大学)

第4回国際O-CHA学術会議 ICOS2010(本拠点協賛)(静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2010年10月26日-28日)

講演者: Chung Yang(アメリカ)他

第7回日本カテキン学会(本拠点協賛)(静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2010年10月27日)

International Conference on the Environment and Natural Resources 2010(ICENR 2010)「The Changing Environment: Challenges for Society」(本拠点共催)(タイ国バンコク, 2010年11月10日-12日)

第25回日本香辛料研究会(本拠点協賛)(静岡県立大学, 2010年11月12日)

講演者: Krishnapura Srinivasar(インド)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「日本香辛料研究会特別講演」(静岡県立大学, 2010年11月12日)

講演者: Krishnapura Srinivasar(インド)

第47回植物化学シンポジウム(本拠点共催)(静岡県立大学, 2010年11月18日)

講演者: 山本万理(独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「免疫力をつける生活」(静岡県立大学, 2010年12月2日)

講演者: 藤田紘一郎(東京医科歯科大学)

第2回健康長寿科学研究会(本拠点主催)(静岡県立大学, 2011年1月7日)

講演者: 柳澤勝彦(国立長寿医療センター)他

The 1st EnvironmentAsia International Conference on「Environmental Supporting in Food and Energy Security: Crisis and Opportunity」(本拠点共催)(タイ国バンコク, 2011年3月22日-25日)

薬学市民講演会「健康な高齢化社会の実現に向けて」(本拠点共催)(静岡市商工会議所, 2011年3月27日)

講演者: 澤田康文(東京大学)他



若手研究者向けの英語での学術発表に関する講義



合同開催された第3回 国際健康長寿科学会議(ICHALS)/第15回 静岡健康・長寿学術フォーラム/第9回 日中健康科学シンポジウム



本拠点が主催する「健康長寿科学研究会」



市民講演会「健康な高齢社会の実現に向けて」

## 活動報告

### 本拠点が開催した研究集会・特別講義

#### 平成23年度(2011-2012年)

本拠点の特別セミナーや本拠点が主催、共催、後援して行われた国際/国内会議等が16回開催された(参加者延べ3,507人)。平成24年2月現在

第75回日本生化学会中部支部シンポジウム(本拠点共催)(静岡県立大学, 2011年5月28日)

講演者: 相賀裕美子(国立遺伝学研究所)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「Symposium on Design, Synthesis and Evaluation of Bioactive Molecules」(静岡県立大学, 2011年6月8日)

講演者: Duy H. Hua(カンザス州立大学)および本学大学院学生7名

若手研究者のための学術論文の「投稿ノウハウ」講座: How to Write a World Class Paper: From title to references, from submission to revision(本拠点主催)(静岡県立大学, 2011年6月9日)

講演者: Jaap van Harter(Executive Publisher, Elsevier)

静岡県立大学創立25周年記念特別公開セミナー「静岡で日本の地域医療体制を考える」(本拠点協力)(参加者400名)(静岡県立大学, 2011年8月30日)

講演者: Michael Reich(ハーバード大学)他

「静岡県立大学薬食総合研究センター」の創設に向けて(静岡県立大学, 2011年9月13日)

講演者: 速水慎介(静岡厚生病院)他

第20回DDSカンファランス(本拠点共催)(静岡県立大学, 2011年9月16日)

講演者: 岡田弘晃(東京薬科大学)他

4th International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)(本拠点主催)(静岡県コンベンションアーツセンターグランシップ, 2011年10月21日)

講演者: Barbara N. Timmerman(カンザス大学) 事業推進担当者, ポスドク, 大学院学生他

第16回静岡健康・長寿学術フォーラム(本拠点共催)(静岡県コンベンションアーツセンターグランシップ, 2011年10月21日-22日)

講演者: 大島伸一(国立長寿医療研究センター)他

平成23年度-NZ産果実抽出物を用いた共同研究報告会(静岡県立大学, 2011年10月27日)

講演者: Margot Skinner(NZ植物食品研究所)および本学若手研究者4名

GCOE国際拠点形成シンポジウム(静岡県立大学, 2011年10月28日)

講演者: Jean-Michel Kamran(ブリュッセル自由大学)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「産・学・民・官を考える集い」と研究成果報告会(静岡県立大学, 2011年11月18日)

講演者: Fabrizio Arigon(ネスレ日本株式会社)他

第4回排尿障害モデル動物研究会(本拠点協賛)(グランディエールブケ東海, 2011年11月25日)

講演者: Martin C. Miche(アムステルダム大学)他

GCOE国際拠点形成シンポジウム(静岡県立大学, 2011年12月7日)

講演者: Skorn Mongkolsak(マヒドン大学)他

有機合成総合講演会「天然物合成で活躍中の若手研究者」(本拠点共催)(静岡県立大学, 2011年12月17日)

講演者: 庄司満(慶応義塾大学)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「ニュージャージー医科歯科大学との双方向遠隔セミナー / Working with a multidisciplinary team: Outcomes of Collaboration between University of Shizuoka and University of Medicine and Dentistry of New Jersey」(静岡県立大学(UMDNJとの双方向遠隔開催), 2012年1月18日)

講演者: Riva Touger-Decker(ニュージャージー医科歯科大学)他

グローバルCOEプログラム特別セミナー「薬・食相互作用」(静岡県立大学, 2012年2月10日)

講演者: 荻原琢男(高崎健康福祉大学)



若手研究者向けの学術論文の投稿に関する講義



ElsevierのExecutive Publisher とのディスカッション



第4回 国際健康長寿科学会議(ICHALS)を第16回 静岡健康・長寿学術フォーラムと合同開催



ICHALSでの若手研究者によるポスター発表



国際拠点形成シンポジウムで発表するコンケン大学(タイ)の学長とブリュッセル自由大学(ベルギー)の代表者



ニュージャージー医科歯科大学との双方向遠隔講義

## 活動報告

### 事業推進担当者の研究業績

#### 国際学会での発表数

(単位: 回)

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度
発表件数 (基調講演・招待講演含む)	102	91	41	90

#### 教員の論文発表数

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度
論文投稿数(5専攻計)	236 (149)	258 (194)	298 (154)	326 (168)
上記 IF数(5専攻計)	658.247	667.233	795.832	888.555

(カッコ内は事業推進担当者がファーストオーサーまたは代表者となっているもの)

#### 他大学・企業等との共同研究実績

(単位: 件)

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度
共同研究件数	89	218	241	255

#### 本事業で得られた成果に係わる知的財産権の出願状況

(単位: 件)

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度
特許出願数	7	16	18	7(2)

(カッコ内は特許権の取得件数)

#### 本拠点が主催・共催・協賛した研究集会の開催状況

(単位: 回、人)

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度
開催回数	23	23	25	26
参加者数	5,200	3,948	4,823	5,081

## 活動報告

### 若手研究者・大学院学生の育成

#### リサーチ・アシスタント(RA)およびティーチング・アシスタント(TA)の採択者数

(単位: 人)

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度	H23年度
RA採択者数	25	22	22	22	19
TA採択者数	25	25	25	17	21

#### 若手研究者への支援

(単位: 人)

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度	H23年度
研究費支援者数	16	16	13	13	11
海外発表旅費支援者数	15	16	17	22	14

#### 海外研修プログラム参加者数

(単位: 人)

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度	H23年度
オハイオ州立大学	10	8	6	7	6
ニュージャージー医科歯科大学	0	4	4	2	2

#### 大学院学生の学会および論文発表数

(単位: 回)

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度
学会発表件数	133 (39)	130 (42)	135 (44)	155 (51)
論文発表件数	71	95	90	138

(カッコ内は外国で開催された国際学会での発表件数)

#### 日本学術振興会特別研究員奨励費の獲得状況

(単位: 人、千円)

	H19年度	H20年度	H21年度	H22年度	H23年度
採択者数	2	5	7	8	6
科学研究費補助金 (特別研究員奨励費)	1,800	3,300	5,500	5,600	4,200



## 活動報告

### 事業推進担当者・若手研究者の受賞等

#### 事業推進担当者の受賞

平成19年度(2007-2008年)

- 今井康之: 日本薬学会(第128年会)講演ハイライト  
「経鼻投与リポソームを用いたペロ毒素に対する腸管内分泌型IgA産生の誘導」
- 横越英彦: 茶学術研究会「茶学術研究顕彰受賞」

平成20年度(2008-2009年)

- 熊谷裕通: 第9回味の素ファルマAward
- 横越英彦: 世界緑茶協会O-CHAバイオニア賞顕彰

平成21年度(2009-2010年)

- 山田静雄: 第16回日本排尿機能学会「平成21年度日本排尿機能学会賞(基礎部門・論文部門)」
- 源川博久(GCOEポスドク) 武田厚司, 横越英彦: 第156回日本農芸化学会中部支部例会「中部支部維持会員賞」  
「緑茶成分テアニンによるラットの記憶・学習能に及ぼす影響」
- 菅谷純子: 第82回日本生化学会大会「優秀プレゼンテーション賞」  
「CDK2シグナル伝達系を介した薬物代謝酵素CYP2B6、UGT1A1発現調節機序の解明」
- 奥直人: American Oil Chemists Society「Best Paper Award」
- 熊谷裕通: 静岡県知事功労表彰

平成22年度(2010-2011年)

- 下位香代子, 中山勉, 大橋典男: 日本農芸化学会「BBB論文賞」  
「Proteomic identification of serum proteins associated with stress-induced gastric ulcers in fasted rats」

平成23年度(2011-2012年)

- 豊岡利正: クロマトグラフィー科学会「2011年度学会賞」
- 伊勢村護: American Chemical Society (ACS Publications)「Certificate of Appreciation」

#### 若手研究者の受賞

平成19年度(2007-2008年)

- 丸山修治(薬学研究科博士後期課程3年)  
第14回日本排尿機能学会「河邊賞」

平成20年度(2008-2009年)

- 小泉靖明(薬学研究科博士後期課程3年)  
モレキュラーキラリティー2008「最優秀ポスター賞」
- 伴野勤(生活健康科学研究科博士後期課程3年)  
Lipid Peroxidation 2008「Young Investigator Award」
- 森大気(生活健康科学研究科博士後期課程2年)  
第153回日本農芸化学会中部支部例会「維持会員賞」

平成21年度(2009-2010年)

- 小山直己(生活健康科学研究科博士後期課程3年)  
第38回日本環境変異原学会「ポスター賞」
- 頼盈伶(生活健康科学研究科博士後期課程3年)  
第62回日本酸化ストレス学会「優秀演題賞」
- 山田建太(生活健康科学研究科博士後期課程3年)  
第18回環境化学討論会「ナイスプレゼンテーション賞」
- 植草義徳(生活健康科学研究科博士後期課程3年)  
第14回日本フードファクター学会「Young Investigator Award」
- 鰐淵清史(薬学研究科博士後期課程2年)  
第2回HOPEミーティング参加

平成22年度(2010-2011年)

- 定塚和彦(生活健康科学研究科博士後期課程2年)  
第16回バイオアッセイ「日本環境毒性学会研究発表会奨励賞」
- 石井貴之(薬学研究科博士後期課程1年)  
日本薬剤学会第25年会・永井財団大学院学生スカラシップ
- Suratsawadee Piyaviriyakul(薬学研究科博士後期課程3年)  
4<sup>th</sup> International Conference on OCHA Culture and Sciences(ICOS)「Outstanding Poster Award」
- 吉田篤史(薬学研究科博士後期課程1年)  
4<sup>th</sup> International Conference on OCHA Culture and Sciences(ICOS)「Outstanding Poster Award」
- 畑中剣太郎(GCOEポスドク)  
3<sup>rd</sup> International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)「Poster Award」
- Monira Pervin(生活健康科学研究科博士後期課程3年)  
3<sup>rd</sup> International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)「Poster Award」
- 加藤竜也(生活健康科学研究科博士後期課程2年)  
3<sup>rd</sup> International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)「Poster Award」
- Ahmad Aftab(GCOEポスドク)  
3<sup>rd</sup> International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)「Poster Award」
- 池内和忠(薬学研究科博士後期課程1年)  
有機合成協会「ポスター賞」
- 松本圭司(薬学研究科博士後期課程1年)  
第26回茶学術研究会「奨励賞(講演・発表の部)」

平成23年度(2011-2012年)

- 石井貴之(薬学研究科博士後期課程2年)  
第27回日本DDS学会「優秀発表者賞」
- 井上聖哉(生活健康科学研究科博士後期課程1年)  
4<sup>th</sup> International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)「Poster Award」
- 川邊圭佑(薬学研究科博士後期課程1年)  
4<sup>th</sup> International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)「Poster Award」
- 猿渡隆佳(薬学研究科博士後期課程1年)  
4<sup>th</sup> International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)「Poster Award」
- 藤木定弘(薬学研究科博士後期課程3年)  
4<sup>th</sup> International Conference on Health and Longevity Sciences(ICHALS)「Poster Award」
- 吉田篤史(薬学研究科博士後期課程2年)  
第9回次世代を担う有機合成シンポジウム「優秀発表賞」
- 福島圭穂(薬学研究科博士後期課程1年)  
第10回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム2011「優秀発表賞」



## 活動報告

### 事業推進担当者による研究成果のメディア報道

#### 平成19年度(2007-2008年)

- 鈴木康夫：Sia2-6Galへの結合が優勢な新型ウイルス出現が危険(メディカルリビューン, 2007年4月10日掲載)
- 鈴木康夫：鳥インフル国際会議・情報公開や連携、研究者らが訴え(Nikkei NET, 2008年1月23日掲載)
- 鈴木康夫：ヒト・ヒト感染を警戒(日本経済新聞, 2008年1月24日掲載)

#### 平成20年度(2008-2009年)

- 鈴木 隆：インフルエンザ、ウイルス増殖防止へ道、静岡県大が新手法解明(日経産業新聞, 2008年4月23日掲載)
- 鈴木 隆：インフルエンザ研究で県立大が成果(静岡朝日テレビとびっきり!しずおか, 2008年4月23日放送)
- 鈴木 隆：インフルエンザ「ウイルス増殖」解明(読売新聞, 2008年4月24日掲載)
- 鈴木 隆：ウイルス増殖物質特定(中日新聞, 2008年5月3日掲載)
- 鈴木 隆：ウイルス増殖 仕組み解明(静岡新聞, 2008年5月6日掲載)
- 下位香代子：環境・社会的ストレスとその生体応答「肝臓の遺伝子タンパクが血中ストレスマーカーに変化」示唆(日本食糧新聞, 2008年5月16日掲載)
- 木苗直秀：「山葵 静岡・有東木から広がった」(読売新聞, 2008年5月20日掲載)
- 木苗直秀：未来をつくる大学の研究室「食品衛生学と薬学の融合」(ベネッセコーポレーション「VIEW21」, 2008年9月号掲載)
- 鈴木 隆：新型インフルで予防策 県立大で公開講演会(静岡新聞, 2008年12月1日掲載)
- 鈴木 隆：新型インフルエンザについて(テレビ静岡「特報!しずおか」, 2009年1月17日放送)
- 鈴木 隆：新型インフルエンザ特集(静岡第一テレビ「リアルタイムしずおか」, 2009年2月4日放送)
- 山田静雄：ノコギリヤシ果実エキス研究成果(静岡新聞, 中部経済新聞, 健康食品新聞に掲載, 2009年2月-3月掲載)

#### 平成21年度(2009-2010年)

- 鈴木康夫：新型インフルエンザの謎に挑む「予防と監視の請負人」(読売新聞, 2009年4月3日掲載)
- 鈴木 隆：ウイルス増殖防ぐ物質発見 ソ連・香港、鳥インフルで効果(中日新聞, 2009年5月20日掲載)
- 鈴木康夫：やさい通信「糸井重里の明日のやさい」筋は曲げずに不滅です ~ 梅 ~ 梅肉エキスの抗インフルエンザ作用について(NHK総合, 2009年6月28日放送)
- 「健康長寿科学の最前線(静岡県立大学リポート)」「事業推進担当者、特任教員、大学院学生が出演し、本拠点の取り組みを紹介」(SBS TV, 2009年7月20日放送)
- 鈴木 隆：交雑で病原性変化も 過度の心配は不要(静岡新聞, 2009年9月7日掲載)
- 山田静雄, 伊藤由彦, 瀧 優子, 尾上誠良：ノコギリヤシ-排尿障害改善の成分特定(日刊工業新聞, 2009年9月14日掲載)
- 鈴木 隆, 菅 敏幸：インフルにカテキンの力 感染抑制新化合物合成(静岡新聞, 2009年10月15日掲載)
- 鈴木 隆：緑茶うがいでインフル予防(産経新聞, 2009年12月25日掲載)

#### 平成22年度(2010-2011年)

- 横越英彦：朝ごはん食べていますか?(SBS静岡放送「朝だす!」, 2010年4月5日放送)
- 横越英彦：新茶のパワー(静岡朝日テレビ「とびっきり!静岡」, 2010年4月22日放送)
- 横越英彦：ソーセージ開発 竹粉+地元産鶏肉(静岡新聞, 2010年4月23日掲載)
- 横越英彦：「カルピス酸乳」の摂取による記憶障害予防・記憶力向上効果を確認(日経プレスリリース, 2010年5月24日掲載)
- 小林裕和：植物の生産効率アップへ...光受ける仕組み解明(静岡新聞, 2010年5月25日掲載)
- 横越英彦：カルピス、LH発酵乳摂取で記憶力の向上効果確認(日本食糧新聞, 2010年5月31日掲載)
- 横越英彦：マウス記憶障害 発酵乳で改善(日経産業新聞, 2010年6月3日掲載)
- 横越英彦：濃い味の菓子、次々登場...お得感、刺激で気分転換(読売新聞, 2010年7月10日掲載)
- 鈴木 隆：インフルエンザウイルス増殖阻害作用 緑茶成分に確認(静岡新聞, 2010年7月28日掲載)
- 横越英彦：食品業界大注目、売れるキーワード“濃厚”(TBSテレビ「NTK」, 2010年7月30日放送)
- 横越英彦：脂肪の旨味(日本テレビ「所さんの目がテン」, 2010年9月29日放送)
- 横越英彦：ハンバーガーの科学 -なぜおいしい?安い市販のハンバーガー(日本テレビ「所さんの目がテン」, 2010年10月23日放送)
- 横越英彦：教えて!静岡の日本一(NHK静岡放送「たっぷり静岡」, 2010年10月27日放送)
- 鈴木 隆：スペイン風邪ウイルス 増殖を高めるタンパク質確認(中日新聞, 2010年12月8日掲載)
- 鈴木 隆：スペイン風邪ウイルス カモインフルとタンパク質類似(静岡新聞, 2010年12月9日掲載)
- 菅 敏幸：体内で光るカテキン合成成功(静岡新聞, 2011年1月10日掲載)
- 鈴木 隆：研究室ナビ「新型インフルエンザ 流行の指標探り、新薬開発めざす」(朝日新聞, 2011年1月19日掲載)
- 鈴木 隆：鳥インフルエンザ発生について(SBS静岡放送「イブニングeye」, 2011年1月27日放送)
- 鈴木康夫：高病原性鳥インフルエンザについて(NHK総合「ほっとイブニング」, 2011年2月2日放送)
- 鈴木康夫：日本古来製法による梅肉エキスに含まれるムメフラールの多様な抗パンデミックインフルエンザウイルス効果の確認 ウメエキスでインフル予防+菌抑制(産経新聞, 2011年2月16日掲載)
- 鈴木康夫：梅エキスでインフル予防(中日新聞, 2011年2月22日掲載)

#### 平成23年度(2011-2012年)

- 鈴木康夫：梅エキス、インフル予防、ウイルス増殖抑制の成分(読売新聞, 2011年4月5日掲載)
- 渡辺達夫：『研究室ナビ』肥満を防ぐ新たな成分探求(朝日新聞, 2011年5月18日掲載)
- 県立大大学院に「学府」薬食融合教育強化 - 2012年度新設(静岡新聞, 中日新聞, 日経新聞, 2011年6月2日掲載)
- 渡辺達夫：トウガラシ 世界がしびれた辛さ戦略(NHK BSプレミアム「いのちドラマチック」, 2011年8月31日放送)
- 横越英彦：発酵乳がドーパミンの量を増やすことを確認(日経産業新聞, 2011年12月2日掲載)
- 横越英彦：飲んでも香りだけでも血流アップ(日経ヘルス, 12月号掲載)
- 村尾咲音, 陽東藍, 横越英彦：特集 香りで慢性疲労の予防と回復を図る「緑茶成分の抗疲労効果」(aromatopia, 110号掲載)
- 横越英彦：発酵乳で記憶力向上か 県立大との研究で確認(静岡新聞, 2011年12月13日掲載)
- 中山 勉：茶研究 最前線~県立大から~ 渋味は調節できるか - ”くつつく”作用が深く関係 - (静岡新聞, 2012年1月12日掲載)
- 鈴木 隆：『研究室ナビ』流行の指標探り新薬開発めざす(朝日新聞, 2011年1月19日掲載)
- 渡辺達夫：茶研究 最前線~県立大から~ カテキンの受容体特定(静岡新聞, 2012年1月23日掲載)
- 鈴木 隆：人への感染、恐れ不要(静岡新聞, 2011年1月27日掲載)
- 鈴木 隆：インフルエンザについて解説するとともに、お茶の抗インフルエンザ作用とカテキンおよびストリクチニンの作用メカニズムについて解説(テレビ岩手「5ごきげんテレビ(生夕方ワイド)」, 2012年2月13日放送)
- 合田敏尚：茶研究 最前線~県立大から~ 糖尿病制御の新視点(静岡新聞, 2012年2月27日掲載)
- 伊勢村護：茶研究 最前線~県立大から~ がん抑制へのアプローチ(静岡新聞, 2012年3月5日掲載)

## 本事業で得られた成果に係わる特許権等の知的財産権

平成19年度(2007年)

[ 特許出願 ]

[ 発明の名称 ] クロマトグラフィー用キラル固定相の光学異性体分離能の評価方法および評価装置  
 [ 発明者 ] 豊岡利正、稲垣真輔、鈴木友紀子  
 [ 出願人 ] 株式会社アルバック  
 [ 出願番号 ] 特願2007-193462  
 [ 出願日 ] 平成19年7月25日

[ 発明の名称 ] メイラード反応を抑制するオリーブ葉エキス含有食品  
 [ 発明者 ] 山下武司、木苗直秀、増田修一、佐々木裕、セラノ・グスターボ  
 [ 出願人 ] 日本予防医学研究所、半田久夫、山下武司  
 [ 出願番号 ] 特願2007-330191  
 [ 出願日 ] 平成19年12月27日

[ 発明の名称 ] メチル化カテキンの効率的製法  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、古田巧  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2008-76383  
 [ 出願日 ] 平成20年3月24日

[ 発明の名称 ] 光照射によるフラボノイド類合成系遺伝子の発現増強  
 [ 発明者 ] 小林裕和、清水正則、小川剛史、中西幹育  
 [ 出願人 ] 清水商工会議所  
 [ 出願番号 ] 特願2008-089111  
 [ 出願日 ] 平成20年3月31日

[ 発明の名称 ] ヒトへの感染力の強いA型インフルエンザウイルス株の同定方法  
 [ 発明者 ] 鈴木康夫、郭 潮潭  
 [ 出願人 ] 独立財団法人科学技術振興機構、鈴木康夫  
 [ 出願番号 ] 特願2007-2023919  
 [ 出願日 ] 平成19年8月2日

[ 発明の名称 ] 新規ストレスバイオマーカー及びその用途  
 [ 発明者 ] 秋元政信、浪岡真、加藤綾子、中山勉、大橋典男、内藤博敬  
 [ 出願人 ] プリマハム株式会社、静岡県  
 [ 出願番号 ] 特願2008-046642  
 [ 出願日 ] 平成20年2月27日

[ 発明の名称 ] 光照射によるリグナン類・リグニン類合成系遺伝子の発現増強  
 [ 発明者 ] 小林裕和、清水正則、小川剛史、野口博司、中西幹育  
 [ 出願人 ] 清水商工会議所  
 [ 出願番号 ] 特願2008-089093  
 [ 出願日 ] 平成20年3月31日

[ 発明の名称 ] 改変CBBを用いた新規Clear Native電気泳動法  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、京都大学2名、JST1名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人京都大学、JST  
 [ 出願番号 ] 特願2008-307507  
 [ 出願日 ] 平成20年12月2日

[ 発明の名称 ] アルキル化カテキンの効率的製造方法  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、古田巧、脇本敏幸  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2008-312819  
 [ 出願日 ] 平成20年12月9日

[ 発明の名称 ] 抗アレルギー組成物  
 [ 発明者 ] 伊勢村護、田邊宏基、日清ファルマ株式会社1名、日清製粉グループ本社1名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、日清ファルマ株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2009-022824  
 [ 出願日 ] 平成21年2月3日

[ 発明の名称 ] 新規N結合型人工シアロ糖鎖含有ポリマーおよびその製造法  
 [ 発明者 ] 鈴木隆、左一八、静岡大学2名、ヤマサ醤油株式会社3名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人静岡大学、ヤマサ醤油株式会社  
 [ 出願先 ] PCT  
 [ 出願番号 ] PCT/JP2008/61429  
 [ 出願日 ] 2008年6月24日

[ 発明の名称 ] 活性成分の溶解性が高められた医薬組成物  
 [ 発明者 ] 尾上誠良、山田静雄、伊藤ライフサイエンス株式会社1名、摂南大学1名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、伊藤ライフサイエンス株式会社、摂南大学  
 [ 出願番号 ] 特願2008-310168  
 [ 出願日 ] 平成20年12月4日

[ 発明の名称 ] Tailグループにチオール基を持つリン脂質、その製法およびそのセンサーチップ  
 [ 発明者 ] 古田巧、菅敏幸、中山勉、石井剛志  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2008-315988  
 [ 出願日 ] 平成20年12月12日

[ 発明の名称 ] 光合成抑制遺伝子およびその用途  
 [ 発明者 ] 小林裕和、清水正則  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2009-61335  
 [ 出願日 ] 平成21年3月13日

[ 発明の名称 ] ポリカチオン化リン脂質誘導体  
 [ 発明者 ] 奥直人、浅井知浩、名古屋工業大学2名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人名古屋工業大学、エーザイR&Dマネジメント株式会社  
 [ 出願先 ] PCT  
 [ 出願番号 ] PCT/JP2008/65744  
 [ 出願日 ] 2008年9月2日

平成20年度(2008年)

[ 特許出願 ]

[ 発明の名称 ] D-インドリン誘導体を含有するリポソーム製剤  
 [ 発明者 ] 奥直人、大鵬薬品工業株式会社1名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、大鵬薬品工業株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2008-099662  
 [ 出願日 ] 平成20年4月7日

[ 発明の名称 ] 新規イミダゾール誘導体及びその製造方法並びに該イミダゾール誘導体を利用したヒスチジンアミド誘導体の製造方法  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、脇本敏幸、焼津水産化学工業株式会社3名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、焼津水産化学工業株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2008-176158  
 [ 出願日 ] 平成20年7月4日

[ 発明の名称 ] 抗アレルギー剤  
 [ 発明者 ] 伊勢村護、日清ファルマ株式会社2名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、日清ファルマ株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2008-193789  
 [ 出願日 ] 平成20年7月28日

[ 発明の名称 ] 新規カテキン誘導体、その製造方法および抗インフルエンザウイルス剤  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、鈴木隆、古田巧  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2008-219285  
 [ 出願日 ] 平成20年8月28日

[ 発明の名称 ] D-アラビン類の製造方法  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、古田巧  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2008-166085  
 [ 出願日 ] 平成20年6月25日

[ 発明の名称 ] 1つ病予備群の判定方法  
 [ 発明者 ] 中山勉、大橋典男、下位香代子、榊原啓之、プリマハム株式会社3名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、プリマハム株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2008-177241  
 [ 出願日 ] 平成20年7月7日

[ 発明の名称 ] 内臓脂肪蓄積抑制剤  
 [ 発明者 ] 下位香代子、榊原啓之、静岡大学1名、東洋製糖株式会社2名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人静岡大学、東洋製糖株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2008-205548  
 [ 出願日 ] 平成20年8月8日

[ 発明の名称 ] フラボン誘導体の製造方法およびシアル酸転移酵素阻害剤  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、鈴木隆、左一八、古田巧  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2008-219288  
 [ 出願日 ] 平成20年8月28日

平成21年度(2009年)

[ 特許出願 ]

[ 発明の名称 ] ヒドロキシビリアルカルボン酸誘導体、その製造方法および抗インフルエンザウイルス活性  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、鈴木隆、脇本敏幸  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2009-098340  
 [ 出願日 ] 平成21年4月14日

[ 発明の名称 ] ノコギリヤシを含む排尿障害改善剤  
 [ 発明者 ] 山田静雄、キューサイ株式会社3名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、キューサイ株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2009-168982  
 [ 出願日 ] 平成21年7月17日

[ 発明の名称 ] トラニラストの易溶性粉末吸入製剤  
 [ 発明者 ] 山田静雄、尾上誠良  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、キッセイ薬品工業株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2009-249949  
 [ 出願日 ] 平成21年10月30日

[ 発明の名称 ] 抗ウイルス剤  
 [ 発明者 ] 鈴木隆、高橋忠伸、株式会社伊藤園3名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、株式会社伊藤園  
 [ 出願番号 ] 特願2009-288431  
 [ 出願日 ] 平成21年12月18日

[ 発明の名称 ] 新規イミダゾール誘導体及びその製造方法並びに該イミダゾール誘導体を利用したヒスチジンアミド誘導体の製造方法  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、脇本敏幸、焼津水産化学工業株式会社3名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、焼津水産化学工業株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2009-159787  
 [ 出願日 ] 平成21年7月6日

[ 発明の名称 ] 抗アレルギー剤  
 [ 発明者 ] 伊勢村護、日清ファルマ株式会社2名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、日清ファルマ株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2009-174905  
 [ 出願日 ] 平成21年7月28日

[ 発明の名称 ] ノビレチンの製造方法  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、脇本敏幸、浅川倫宏  
 [ 出願人 ] 菅敏幸  
 [ 出願番号 ] 特願2009-275181  
 [ 出願日 ] 平成21年12月2日

[ 発明の名称 ] 柑橘類の果皮からのポリメトキシフラボノイドの回収方法  
 [ 発明者 ] 中山勉、石井剛志、清水商工会議所1名  
 [ 出願人 ] 清水商工会議所  
 [ 出願番号 ] 特願2009-014213  
 [ 出願日 ] 平成22年1月26日

[ 発明の名称 ] 光合成制御遺伝子およびその用途  
 [ 発明者 ] 小林裕和、清水正則  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2010-056447  
 [ 出願日 ] 平成22年3月12日

[ 発明の名称 ] METHOD FOR DETERMINATION OF RECOGNITION SPECIFICITY OF VIRUS FOR RECEPTOR SUGAR CHAIN  
 [ 発明者 ] Yasuo Suzuki, Akira Asai, Takashi Suzuki, Iipal Jwa, Takeomi Murata, Taiichi Usui, Sou Takeda, Kohei Yamada, Toshitada Noguchi  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人静岡大学、株式会社ヤマサ醤油  
 [ 出願先 ] 米国  
 [ 出願番号 ] 12/427, 636  
 [ 出願日 ] 2009年4月21日

[ 発明の名称 ] POLYCATIONIZED PHOSPHOLIPID DERIVATIVES  
 [ 発明者 ] Naoto Oku, Tomohiro Asai, Takehisa Dewa, Nango Mamoru  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人名古屋工業大学、エーザイR&Dマネジメント株式会社  
 [ 出願先 ] 米国  
 [ 出願番号 ] 12/550,196  
 [ 出願日 ] 2009年8月28日

[ 発明の名称 ] アルキル化カテキンの効率的製造方法  
 [ 発明者 ] Toshiyuki Kan, Takumi Furuta, Toshiyuki Wakimoto  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願先 ] PCT  
 [ 出願番号 ] PCT/JP 2009/006733  
 [ 出願日 ] 2009年12月9日

[ 発明の名称 ] 抗アレルギー剤  
 [ 発明者 ] Mamoru Isemura, Akihiro Kaneko, Kensuke Yasui  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、日清ファルマ株式会社  
 [ 出願先 ] PCT  
 [ 出願番号 ] PCT/JP 2009/071769  
 [ 出願日 ] 2009年12月28日

[ 発明の名称 ] HB-EGF結合性タンパク質複合体  
 [ 発明者 ] Naoto Oku, Tomohiro Asai, Tetsuo Minamino, Eisuke Kameda, Seiji Takashima, Yoshihiro Asano  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人大阪大学  
 [ 出願先 ] PCT  
 [ 出願番号 ] PCT/JP 2010/051515  
 [ 出願日 ] 2010年2月3日

平成22年度(2010年)

[ 特許権の取得 ]

[ 発明の名称 ] 成長ホルモン分泌促進組成物  
 [ 発明者 ] 堀江健二、横越英彦、東口伸二、金武祚  
 [ 特許番号 ] 特許第4596304号  
 [ 特許査定日 ] 平成22年10月1日

[ 発明の名称 ] LIPID-DISPERSED PREPARATION CONTAINING 2-INDOLINONE DERIVATIVE  
 [ 発明者 ] Naoto Oku, Kazuhiko Baba  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、大鵬薬品工業株式会社  
 [ 出願先 ] PCT、タイ、台湾  
 [ 出願番号 ] PCT/PJ 2009/057409  
 (タイ) 901001551  
 (台湾) 98111447  
 [ 出願日 ] PCT 2009年4月6日  
 (タイ) 2009年4月3日  
 (台湾) 2009年4月7日

[ 発明の名称 ] METHOD FOR DETERMINATION OF POTENTIAL DEPRESSION PATIENT  
 [ 発明者 ] Tsutomu Nakayama, Norio Ohashi, Kayoko Shimoi, Masanobu Akimoto, Ayako Kato  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、プリマハム株式会社  
 [ 出願先 ] PCT  
 [ 出願番号 ] PCT/JP 2009/003169  
 [ 出願日 ] 2009年7月7日

[ 発明の名称 ] 芳香族スルホン酸化合物を用いた新規 Clear Native 電気泳動法  
 [ 発明者 ] Toshiyuki Kan, Tomoya Hino, Takeshi Murata, So Iwata  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人京都大学、(独)科学技術振興機構  
 [ 出願先 ] PCT  
 [ 出願番号 ] PCT/JP 2009/070199  
 [ 出願日 ] 2009年12月1日

[ 発明の名称 ] NOVEL SYNTHETIC N-NINKED SIALO-GLYCAN-CONTAINING POLYMER AND METHOD FOR PROUDUING THE SAME  
 [ 発明者 ] Takashi Suzuki, Iipal Jwa, Taiichi Usui, Takeomi Murata, Yusuke Ohba, Tomoki Hamamoto, Toshitada Noguchi  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人静岡大学、ヤマサ醤油株式会社  
 [ 出願先 ] 米国  
 [ 出願番号 ] 12/666,482  
 [ 出願日 ] 2009年12月23日

[ 発明の名称 ] 新規ストレスバイオマーカー及びその用途  
 [ 発明者 ] 中山勉、大橋典男、内藤博敬  
 [ 特許番号 ] 特許第4734619号  
 [ 特許査定日 ] 平成23年3月14日

[ 特許出願 ]

[ 発明の名称 ] 抗アレルギー剤  
 [ 発明者 ] 伊勢村護、田邊宏基、日清ファルマ株式会社3名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、日清ファルマ株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2010-170537  
 [ 出願日 ] 平成22年7月29日

[ 発明の名称 ] 亜臨界処理ローヤルゼリーを含有する抗酸化剤及びその製造方法  
 [ 発明者 ] 中山勉、石井剛志、アビ株式会社1名、清水新産業開発振興機構1名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、アビ株式会社、静岡商工会議所  
 [ 出願番号 ] 特願2010-177889  
 [ 出願日 ] 平成22年8月6日

[ 発明の名称 ] 抗 Dengue ウイルス剤  
 [ 発明者 ] 鈴木隆、左一八、広島国際大学1名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、学校法人常翔学園  
 [ 出願番号 ] 特願2010-248271  
 [ 出願日 ] 平成22年11月5日

[ 発明の名称 ] 植物に耐塩性を付与するABCトランスポーター遺伝子  
 [ 発明者 ] 小林裕和、Aftab Ahmad、丹羽康夫  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2011-053073  
 [ 出願日 ] 平成23年3月10日

平成23年度(2011年)

[ 特許出願 ] 平成23年12月末現在

[ 発明の名称 ] がんへの標的指向性をもつレクチンナノキャリアおよびその調製法  
 [ 発明者 ] 奥直人、清水広介、財団法人杉山産業化学研究所1名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、財団法人杉山産業化学研究所  
 [ 出願番号 ] 特願2011-107184  
 [ 出願日 ] 平成23年5月12日

[ 発明の名称 ] ビルフェノン含有吸入用医薬組成物  
 [ 発明者 ] 尾上誠良、山田静雄  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、塩野義製薬株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2011-200150  
 [ 出願日 ] 平成23年9月14日

[ 発明の名称 ] NOBEL CLEAR NATIVE ELECTROPHORESIS METHOD UTILIZING AROMATIC SULFONIC ACID COMPOUND  
 [ 発明者 ] Toshiyuki Kan, Tomoya Hino, Takeshi Murata, So Iwata  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人京都大学、JST  
 [ 出願先 ] 米国、中国、欧州、韓国  
 [ 出願番号 ] 米国 13/130,995  
 (中国) 200980148336.X  
 (欧州) 09830404.1  
 (韓国) 10-2011-7015214  
 [ 出願日 ] 米国 2011年5月24日  
 (中国) 2011年6月1日  
 (欧州) 2011年6月9日  
 (韓国) 2011年7月1日

[ 発明の名称 ] 糖尿病用組成物  
 [ 発明者 ] 伊勢村護、日清ファルマ株式会社1名  
 [ 出願人 ] 日清ファルマ株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2010-170432  
 [ 出願日 ] 平成22年7月29日

[ 発明の名称 ] 農作物の機能性成分の増収方法  
 [ 発明者 ] 小林裕和、渡辺祥子、株式会社ケーイーコーポレーション2名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、株式会社ケーイーコーポレーション  
 [ 出願番号 ] 特願2010-238332  
 [ 出願日 ] 平成22年10月25日

[ 発明の名称 ] アルキル化カテキンの効率的製造方法  
 [ 発明者 ] 菅敏幸、古田巧、脇本敏幸  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人  
 [ 出願番号 ] 特願2010-542022  
 [ 出願日 ] 平成23年1月20日

[ 発明の名称 ] トラニラトスの易溶性粉末吸入製剤  
 [ 発明者 ] 山田静雄、尾上誠良  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、キッセイ薬品工業株式会社  
 [ 出願先 ] PCT  
 [ 出願番号 ] PCT/JP2010/69250  
 [ 出願日 ] 2010年10月29日

[ 発明の名称 ] コエンザイムQ10含有組成物  
 [ 発明者 ] 尾上誠良、山田静雄、横浜油脂株式会社1名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、横浜油脂株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2011-168521  
 [ 出願日 ] 平成23年8月1日

[ 発明の名称 ] ポリフェノール類化合物の苦渋味の評価法  
 [ 発明者 ] 中山勉、石井剛志、日油株式会社1名  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、日油株式会社  
 [ 出願番号 ] 特願2011-253607  
 [ 出願日 ] 平成23年11月21日

[ 発明の名称 ] HB-EGF BOUND PROTEIN COMPLEX  
 [ 発明者 ] Naoto Oku, Tomohiro Asai, Tetsuo Minamino, Eisuke Mekada, Seiji Takashima, Yoshihiro Asano  
 [ 出願人 ] 静岡県立大学法人、国立大学法人大阪大学  
 [ 出願先 ] 米国  
 [ 出願番号 ] 米国 13/147,903  
 [ 出願日 ] 米国 2011年10月18日

平成19年度(2007 - 2008年)

平成19年度には拠点を形成する5専攻全体で236報の英文学術論文(IFの合計:658.247)を発表した。

(以下は事業推進担当者および若手研究者が発表した主な原著論文)

1. I. Abe, H. Morita, S. Oguro, H. Noma, K. Wanibuchi, N. Kawahara, Y. Goda, H. Noguchi, and T. Kohno: Structure-based engineering of a plant type III polyketide synthase: formation of an unnatural nonaketide naphthopyrone. *J. Am. Chem. Soc.* 129, 5976-5980, 2007.
2. I. Abe, H. Tanaka, T. Abe, and H. Noguchi: Enzymatic formation of unnatural cytokinin analogs by adenylate-isopentenyl-transferase from mulberry. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 355, 795-800, 2007.
3. K. Abe, T. Suzuki, M. Ijiri, Y. Koyama, M. Isemura, and N. Kinai: The anti-fibrotic effect of green tea with a highcatechin content in the galactosamine-injured rat liver. *Biomed. Res.* 28, 43-48, 2007.
4. M.-R. Ahn, K. Kunimasa, T. Ohta, S. Kumazawa, K. Kaji, Y. Uto, H. Hori, H. Nagasawa, and T. Nakayama: Suppression of tumor-induced angiogenesis by Brazilian propolis: major component artepillin C inhibits in vitro tube formation and endothelial cell proliferation. *Cancer Lett.* 252, 235-243, 2007.
5. P. Auewarakul, O. Suptawiwat, A. Kongchanagul, C. Sangma, Y. Suzuki, K. Ungchusak, S. Louisirirotchanakul, H. Lerdsamran, P. Pooruk, A. Thitithanyanont, C. Pittayawonganon, C.-T. Guo, H. Hiramatsu, W. Jampangern, S. Chunsutthiwat, and P. Puthavathana: An avian influenza H5N1 virus that binds to a human-type receptor. *J. Virol.* 81, 9950-9955, 2007.
6. Y. Deguchi, T. Toyozumi, S. Masuda, A. Yasuhara, S. Mohri, M. Yamada, Y. Inoue, and N. Kinai: Evaluation of mutagenic activities of leachates in landfill sites by micronucleus test and comet assay using goldfish. *Mutat. Res.* 627, 178-185, 2007.
7. R. Eguchi, H. Naitou, K. Kunimasa, R. Ayuzawa, Y. Fujimori, N. Ohashi, K. Kaji, and T. Ohta: Proteomic analysis of hypoxia-induced tube breakdown of an in vitro capillary model composed of HUVECs: Potential role of p38-regulated reduction of HSP27. *Proteomics*, 8, 2897-2906, 2008.
8. T. Fukushima, S. Mitsuhashi, M. Tomiya, M. Iyo, K. Hashimoto, and T. Toyo'oka: Determination of kynurenic acid in human serum and its correlation with the concentration of certain amino acids. *Clin. Chim. Acta.* 377, 174-178, 2007.
9. T. Furuta, Y. Kitamura, A. Hashimoto, S. Fujii, K. Tanaka, and T. Kan: Efficient synthesis of phenanthridinone derivatives via a domino coupling process. *Org. Lett.* 9, 183-186, 2007.
10. T. Furuta, Y. Hirooka, A. Abe, Y. Sugata, M. Ueda, K. Murakami, T. Suzuki, K. Tanaka, and T. Kan: Concise synthesis of dideoxy-epigallocatechin gallate (DO-EGCG) and evaluation of its anti-influenza virus activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 3095-3098, 2007.
11. C. Fuse, Y. Ishida, T. Hikita, T. Asai, and N. Oku: Junctional adhesion molecule-C promotes metastatic potential of HT1080 human fibrosarcoma. *J. Biol. Chem.* 282, 8276-8283, 2007.
12. T. Goda, K. Suruga, A. Komori, S. Kuranuki, K. Mochizuki, Y. Makita, and T. Kumazawa: Effects of miglitol, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, on glycaemic status and histopathological changes in islets in non-obese, non-insulin-dependent diabetic Goto-Kakizaki rats. *Br. J. Nutr.* 98, 702-710, 2007.
13. C.-T. Guo, N. Takahashi, H. Yagi, K. Kato, T. Takahashi, S.-Q. Yi, Y. Chen, T. Ito, K. Otsuki, H. Kida, Y. Kawaoka, K.I.P.J. Hidari, D. Miyamoto, T. Suzuki, and Y. Suzuki: The quail and chicken intestine have sialyl-Gal sugar chains responsible for the binding of influenza A viruses to human type receptors. *Glycobiology*, 17, 713-724, 2007.
14. K.I.P.J. Hidari, S. Shimada, Y. Suzuki, and T. Suzuki: Binding kinetics of influenza viruses to sialic acid-containing carbohydrates. *Glycoconj. J.* 24, 583-590, 2007.
15. K. Honma, K. Mochizuki, and T. Goda: Carbohydrate/fat ratio in the diet alters histone acetylation on the sucrase-isomaltase gene and its expression in mouse small intestine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 357, 1124-1129, 2007.
16. K. Honma, K. Mochizuki, and T. Goda: Acute induction of histone acetylation on the jejunal sucrase-isomaltase gene by dietary fructose. *Br. J. Nutr.* 100, 698-702, 2008.
17. K. Ichikawa, T. Urakami, S. Yonezawa, H. Miyauchi, K. Shimizu, T. Asai and N. Oku: Enhanced desensitization efficacy by liposomal conjugation of a specific antigen. *Int. J. Pharm.*, 336, 391-395, 2007.
18. A. Ikari, M. Ito, C. Okude, H. Sawada, H. Harada, M. Degawa, H. Sakai, T. Takahashi, J. Sugatani, and M. Miwa: Claudin-16 is directly phosphorylated by protein kinase A independently of a vasodilator-stimulated phosphoprotein-mediated pathway. *J. Cell Physiol.* 214, 221-229, 2008.
19. A. Ikari, C. Okude, H. Sawada, Y. Sasaki, Y. Yamazaki, J. Sugatani, M. Degawa, and M. Miwa: Activation of a polyvalent cation-sensing receptor decreases magnesium transport via claudin-16. *Biochim. Biophys. Acta.* 1778, 283-290, 2008.
20. A. Ikari, C. Okude, H. Sawada, Y. Yamazaki, J. Sugatani, and M. Miwa: TRPM6 expression and cell proliferation are up-regulated by phosphorylation of ERK1/2 in renal epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 369, 1129-1133, 2008.
21. A. Ikari, C. Okude, H. Sawada, T. Takahashi, J. Sugatani, and M. Miwa: Down-regulation of TRPM6-mediated magnesium influx by cyclosporine A. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 377, 333-343, 2008.
22. S. Inagaki, J. Z. Min, and T. Toyo'oka: Prediction for the separation efficiency of a pair of enantiomers during chiral high-performance liquid chromatography using a quartz crystal microbalance. *Anal. Chem.* 80, 1824-1828, 2008.
23. S. Inagaki, T. Noda, J. Z. Min, and T. Toyo'oka: Metabolic profiling of rat hair and screening biomarkers using ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1176, 94-99, 2007.
24. S. Inagaki, Y. Esaka, Y. Deyashiki, B. Uno, A. Hara, and T. Toyo'oka: Human liver dihydrodiol dehydrogenase I-catalyzed reaction generating 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -prostaglandin F2 from prostaglandin D2 followed by micellar electrokinetic chromatography. *J. Sep. Sci.* 31, 735-740, 2008.

25. T. Ishii, S. Ito, S. Kumazawa, T. Sakurai, S. Yamaguchi, T. Mori, T. Nakayama, and K. Uchida: Site-specific modification of positively-charged surfaces on human serum albumin by malondialdehyde. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 371, 28-32, 2008.
26. T. Ishii, T. Yamada, T. Mori, S. Kumazawa, K. Uchida, and T. Nakayama: Characterization of acrolein induced protein cross-links. *Free Radic. Res.* 41, 1253-1260, 2007.
27. Y. Iwasaki, O. Saito, M. Tanabe, K. Inayoshi, K. Kobata, S. Uno, A. Morita, and T. Watanabe: Monoacylglycerols activate capsaicin receptor, TRPV1. *Lipids*, 43, 471-83, 2008.
28. T. Kan, Y. Kita, Y. Morohashi, Y. Tominari, S. Hosoda, H. Natsugari, T. Tomita, T. Iwatsubo, and T. Fukuyama: Convenient synthesis of photoaffinity probes and evaluation of their cross-linking abilities. *Org. Lett.* 9, 2055-2058, 2007.
29. T. Kan, Y. Kawamoto, T. Asakawa, T. Furuta, and T. Fukuyama: Synthetic studies on altemicidin: Stereocontrolled construction of the core framework. *Org. Lett.* 10, 169-171, 2008.
30. Y. Katanasaka, T. Asai, H. Naitou, N. Ohashi, and N. Oku: Proteomic characterization of angiogenic endothelial cells stimulated with cancer cell-conditioned medium. *Biol. Pharm. Bull.* 30, 2300-2307, 2007.
31. M. Kato, H. Kinoshita, M. Inokita, Y. Hori, T. Hashimoto, T. Iwatsubo, and T. Toyo'oka: Analytical method for b-amyloid fibrils using CE-laser induced fluorescence and its application to screening for inhibitors of b-amyloid protein aggregation. *Anal. Chem.* 79, 4887-4891, 2007.
32. Y. Kato, S. Ikushiro, R. Takiguchi, K. Haraguchi, N. Koga, S. Uchida, T. Sakaki, S. Yamada, J. Kanno, and M. Degawa: A novel mechanism for polychlorinated biphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in rats. *Drug Metab. Dispos.* 35, 1949-1955, 2007.
33. Y. Kato, S. Ikushiro, Y. Emi, S. Tamaki, H. Suzuki, T. Aoki, S. Yamada, and M. Degawa: Hepatic UDP-glucuronosyltransferases responsible for glucuronidation of thyroxine T4 in humans. *Drug Metab. Dispos.* 36, 51-55, 2008.
34. F. Kawamori, M. Hiroi, T. Harada, K. Ohata, K. Sugiyama, T. Masuda, and N. Ohashi: Molecular typing of Japanese Escherichia coli O157:H7 isolates from clinical specimens by multilocus variable-number tandem repeat analysis and PFGE. *J. Med. Microbiol.* 57, 58-63, 2008.
35. H. Kawanishi, T. Toyo'oka, K. Ito, M. Maeda, T. Hamada, T. Fukushima, M. Kato, and S. Inagaki: Hair analysis of histamine and several metabolites in C3H/HeNcrj mice by ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry (UPLC-ESI-TOF-MS): Influence of hair cycle and age. *Clin. Chim. Acta.* 378, 122-127, 2007.
36. Y. Kitamura, S. Yoshikawa, T. Furuta, and T. Kan: One-pot synthesis of carbazole via tandem Suzuki-Miyaura and amination reaction. *Synlett*, 377-380, 2008.
37. M. Kojima, M. Sekimoto, and M. Degawa: A novel gender-related difference in the constitutive expression of hepatic cytochrome P4501A subfamily enzymes in Meishan pigs. *Biochem. Pharmacol.* 75, 1076-1082, 2008.
38. H. Kumagai, Y. Yamaguchi, S. Ohkawa, K. Yamada, R. Furuya, and T. Takita: Reply to E. Cereda and C. Pedrolli: The use of the Geriatric Nutritional Risk Index (GNRI) as simplified nutritional screening tool. *Am. J. Clin. Nutr.* 87, 1967, 2008.
39. S. Kumazawa, R. Ueda, T. Hamasaka, S. Fukumoto, T. Fujimoto, and T. Nakayama: Antioxidant prenylated flavonoids from propolis collected in Okinawa, Japan. *J. Agric. Food Chem.* 55, 7722-7725, 2007.
40. S. Kuranuki, K. Mochizuki, T. Tanaka, and T. Goda: The possible roles of homeobox protein, Cdx-2 for the expression of LPH gene during postnatal development. *Life Sci.* 80, 795-799, 2007.
41. T. Kurihara, J. Z. Min, T. Toyo'oka, T. Fukushima, and S. Inagaki: Determination of fluorescence-labeled asparaginyln-oligosaccharide in glycoprotein by reversed-phase ultraperformance liquid chromatography with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Chem.* 79, 8694-8698, 2007.
42. S. Maruyama, H. Tsukada, S. Nishiyama, T. Kakiuchi, D. Fukumoto, N. Oku, and S. Yamada: In vivo quantitative autoradiographic analysis of brain muscarinic receptor occupancy by antimuscarinic agents for overactive bladder treatment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 325, 774-781, 2008.
43. T. Maruyama, H. Iizuka, Y. Tobisawa, T. Shiba, T. Matusda, K. Kurohane, and Y. Imai: Influence of local treatments with capsaicin or allyl isotiocyanate in the sensitization phase of an FITC-induced contact sensitivity model. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 143, 144-154, 2007.
44. K. Matsuoka, C. Takita, T. Koyama, D. Miyamoto, S. Yingsakmongkon, K.I.P.J. Hidari, W. Jampangern, T. Suzuki, Y. Suzuki, K. Hatano, and D. Terunuma: Novel linear polymers bearing thiosialosides as pendant-type epitopes for influenza neuraminidase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 3826-3830, 2007.
45. J. Z. Min, T. Toyo'oka, T. Kurihara, T. Fukushima, and S. Inagaki: Fully automated two-dimensional high-performance liquid chromatography with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry for the determination of oligosaccharides in glycopeptides after enzymic fluorescence labeling. *J. Chromatogr. A* 1160, 120-127, 2007.
46. E.J. Mitacek, K.D. Brunnemann, M. Suttajit, L.S. Caplan, C.E. Gagna, K. Bhothisuwan, S. Siriamornpun, C.F. Hummel, H. Ohshima, R. Roy, and N. Martin: Geographic distribution of liver and stomach cancers in Thailand in relation to estimated dietary intake of nitrate, nitrite, and nitrosodimethylamine. *Nutri. Cancer*, 60, 196-203, 2008.
47. S. Mitsuhashi, T. Fukushima, M. Tomiya, T. Santa, K. Imai, and T. Toyo'oka: Determination of kynurenine levels in rat plasma by high-performance liquid chromatography with pre-column fluorescence derivatization. *Anal. Chim. Acta.* 584, 315-321, 2007.
48. S. Mitsuhashi, T. Fukushima, K. Arai, M. Tomiya, T. Santa, K. Imai, and T. Toyo'oka: Development of a column-switching high-performance liquid chromatography for kynurenine enantiomers and its application to a pharmacokinetic study in rat plasma. *Anal. Chim. Acta.* 587, 60-66, 2007.
49. D. Miyamoto, S. Hasegawa, N. Sriwilajaroen, S. Yingsakmongkon, T. Suzuki, K.I.P.J. Hidari, T. Takahashi, C.-T. Guo, Y. Sakano, and Y. Suzuki: Clarithromycin inhibits progeny virus production from influenza virus – Infected host cells. *Biol. Pharm. Bull.* 31, 217-222, 2008.
50. K. Mochizuki, N. Sakaguchi, S. Takabe, and T. Goda: De-phosphorylation of TR $\alpha$ -1 by p44/42 MAPK inhibition enhances T3-mediated GLUT5 gene expression in the intestinal cell line Caco-2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 359, 979-984, 2007.

51. K. Mochizuki, H. Kawai, H. Mochizuki, M. Shimada, S. Takase, and T. Goda: Fatty acids in component of milk enhance the expression of the cAMP-response-element-binding-protein-binding-protein (CBP)/p300 gene in developing rats. *Br. J. Nutr.* 99, 481-486, 2008.
52. K. Mochizuki, S. Takabe, and T. Goda: Changes of histone H3 modifications on the GLUT5 gene and its expression in Caco-2 cells co-treated with a p44/42 MAPK inhibitor and glucocorticoid hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 371, 324-327, 2008.
53. T. Morimoto, N. Obara, I. Yoshida, K. Tanaka, and T. Kan: Copper-catalyzed enantioselective conjugate addition of diethylzinc using axially chiral aminoethoxy-phosphine ligands. *Tetrahedron Lett.* 48, 3093-3095, 2007.
54. A. Morita, Y. Iwasaki, K. Kobata, H. Yokogoshi, and T. Watanabe: Newly synthesized oleylgingerol and oleylshogaol activate TRPV1 ion channels. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71, 2304-2307, 2007.
55. H. Morita, S. Kondo, S. Oguro, H. Noguchi, S. Sugio, I. Abe, and T. Kohno: Structural insight into chain-length control and product specificity of pentaketide chromone synthase from *Aloe arborescens*. *Chem. Biol.* 14, 1-11, 2007.
56. K. Murakami, S. Sasaki, Y. Takahashi, K. Uenishi, M. Yamasaki, H. Hayabuchi, T. Goda, J. Oka, K. Baba, K. Ohki, T. Kohri, K. Muramatsu, and M. Furuki: Hardness of the habitual diet in relation to body mass index and waist circumference in free-living Japanese women aged 18-22 years. *Am. J. Clin. Nutr.* 86, 206-213, 2007.
57. M. Ogata, T. Murata, K. Murakami, T. Suzuki, K. I.P.J. Hidari, Y. Suzuki, and T. Usui: Chemoenzymatic synthesis of artificial glycopolypeptides containing multivalent sialyloligosaccharides with a  $\gamma$ -polyglutamic acid backbone and their effect on inhibition of infection by influenza viruses. *Bioorg. Med. Chem.* 15, 1383-1393, 2007.
58. K. Ogawa, H. Sakakibara, R. Iwata, T. Ishii, T. Sato, T. Goda, K. Shimoi, and S. Kumazawa: Anthocyanin composition and antioxidant activity of the crowberry (*Empetrum nigrum*) and other berries. *J. Agric. Food Chem.* 56, 4457-4462, 2008.
59. M. Ohsumi, X. Shi, T. Tuchiya, H. Tujioka, S. Lyou, K. Hayase, and H. Yokogoshi: The role of growth hormone and amino acids on brain protein synthesis in aged rats given proteins of different quantity and quality. *Amino Acids*, 32, 247-253, 2007.
60. T. Oki, A. Kageyama, Y. Takagi, S. Uchida, and S. Yamada: Comparative evaluation of central muscarinic receptor binding activity by oxybutynin, tolterodine and darifenacin used to treat overactive bladder. *J. Urol.* 177, 766-770, 2007.
61. T. Okura, N. Komiyama, Y. Morita, M. Kimura, Y. Deguchi, and S. Yamada: Comparative measurement of spinal CSF microdialysate concentrations and concomitant antinociception of morphine and morphine-6 $\beta$ -glucuronide in rats. *Life Sci.* 80, 1319-1326, 2007.
62. M. Osabe, J. Sugatani, T. Fukuyama, S. Ikushiro, A. Ikari, and M. Miwa: Constitutive androstane receptor and peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  are activated in liver of male rats fed a high-fat and high-sucrose diet and the hepatic expression of UGT1A1 and UGT1A6 is enhanced. *Drug Metab. Dispos.* 36, 294-302, 2008.
63. M. Osabe, J. Sugatani, A. Takemura, Y. Yamazaki, A. Ikari, N. Kitamura, M. Negishi, and M. Miwa: Expression of CAR in SW480 and HepG2 cells during G1 is associated with cell proliferation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 369, 1027-1033, 2008.
64. T. Oya-Ito, H. Naitou, S. Masuda, N. Kinase, and N. Ohashi: Functional analyses of neutrophil-like differentiated cell lines under a hyperglycemic condition. *Mol. Nutr. Food Res.* 52, 360-369, 2008.
65. J. Sakamoto, T. Koyama, D. Miyamoto, S. Yingsakmongkon, K. I.P.J. Hidari, W. Jampangern, T. Suzuki, Y. Suzuki, Y. Esumi, K. Hatano, D. Terunuma, and K. Matsuoka: Thiosialoside clusters using carbosilane dendrimer core scaffolds as a new class of influenza neuraminidase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 717-721, 2007.
66. T. Sakata, R. Furuya, T. Shimazu, M. Odamaki, S. Ohkawa, and H. Kumagai: Coenzyme Q10 administration suppresses both oxidative and antioxidative markers in hemodialysis patients. *Blood Purificat.* 26, 371-378, 2008.
67. T. Sawa, M. Mounawar, M. Tatemichi, I. Gilbert, T. Katoh, and H. Ohshima: Increased risk of gastric cancer in Japanese subjects is associated with microsatellite polymorphisms in the heme oxygenase-1 and the inducible nitric oxide synthase gene promoters. *Cancer Lett.* 269, 78-84, 2008.
68. S. Satoh, T. Toyo'oka, T. Fukushima, and S. Inagaki: Simultaneous determination of  $\alpha$ -lipoic acid and its reduced form by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. B* 854, 109-115, 2007.
69. K. Sato, K. Ikeda, T. Suzuki, S. Aoyama, N. Maki, Y. Suzuki, and M. Sato: Synthesis of 4-O-[3-(aryl)prop-2-ynyl]-Neu5Ac2en and its 4-epi-analogs modified at C-4 by Sonogashira coupling reaction. *Tetrahedron*, 63, 7571-7581, 2007.
70. T. Sawada, T. Hashimoto, H. Nakano, T. Suzuki, Y. Suzuki, Y. Kawaoka, H. Ishida, and M. Kiso: Influenza viral hemagglutinin complicated shape is advantageous to its binding affinity for sialosaccharide receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 355, 6-9, 2007.
71. M. Shimizu, M. Goto, M. Hanai, T. Shimizu, N. Izawa, H. Kanamoto, K.-I. Tomizawa, A. Yokota, and H. Kobayashi: Selectable tolerance to herbicides by mutated acetolactate synthase genes integrated into the chloroplast genome of tobacco. *Plant Physiol.* 147, 1976-1983, 2008.
72. T. Sueyoshi, R. Moore, J. Sugatani, Y. Matsumura, and M. Negishi: PPP1R16A, the membrane subunit of protein phosphatase 1b, signals nuclear translocation of the nuclear receptor CAR. *Mol. Pharmacol.* 73, 1113-1121, 2008.
73. J. Sugatani, K. Mizushima, M. Osabe, K. Yamakawa, S. Kakizaki, H. Takagi, M. Mori, A. Ikari, and M. Miwa: Transcriptional regulation of human UGT1A1 gene expression through distal and proximal promoter motifs: implication of defects in the UGT1A1 gene promoter. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 377, 597-605, 2008.
74. M. Suzuki, T. Oki, T. Sugiyama, K. Umegaki, S. Uchida, and S. Yamada: Muscarinic and  $\alpha$ 1-adrenergic receptor binding characteristics of saw palmetto extract in rat lower urinary tract. *Urology*, 69, 1216-1220, 2007.
75. T. Suzuki, K. Mochizuki, and T. Goda: Histone H3 modifications and Cdx-2 binding to the sucrase-isomaltase (SI) gene is involved in induction of the gene in the transition from the crypt to villus in the small intestine of rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 369, 788-793, 2008.
76. T. Suzuki, Y. Ishigami, N. Okada, A. Kaneko, R. Fukutomi, and M. Isemura: Differentiation-associated alteration in gene expression of importins and exportins in human leukemia HL-60 cells. *Biomed. Res.* 29, 141-145, 2008.
77. S. Takabe, K. Mochizuki, and T. Goda: De-phosphorylation of GR at Ser203 in nuclei associates with GR nuclear translocation and GLUT5 gene expression in Caco-2 cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 475, 1-6, 2008.
78. T. Takahashi, K. Murakami, M. Nagakura, H. Kishita, S. Watanabe, K. Honke, K. Ogura, T. Tai, K. Kawasaki, D. Miyamoto, K.I.P.J. Hidari, C.-T. Guo, Y. Suzuki, and T. Suzuki: Sulfatide is required for efficient replication of influenza A virus. *J. Virol.* 82, 5940-5950, 2008.
79. T. Takahashi, Y. Moriyama, A. Ikari, J. Sugatani, T. Suzuki, and M. Miwa: Surface localization of the nuclear receptor CAR in influenza A virus-infected cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 368, 550-555, 2008.
80. A. Takeda, S. Kanno, N. Sakurada, M. Ando and N. Oku: Attenuation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation by low micromolar concentrations of zinc. *J. Neurosci. Res.* 86, 2906-2911, 2008.
81. A. Takeda, S. Fuke, A. Minami, and N. Oku: Role of zinc influx via AMPA/kainate receptor activation in metabotropic glutamate receptor-mediated calcium release. *J. Neurosci. Res.* 85, 1310-1317, 2007.
82. A. Takeda, S. Fuke, W. Tsutsumi, and N. Oku: Negative modulation of presynaptic activity by zinc released from Schaffer collaterals. *J. Neurosci. Res.* 85, 3666-3672, 2007.
83. A. Takeda, K. Yamada, H. Tamano, S. Fuke, M. Kawamura, and N. Oku: Hippocampal calcium dyshomeostasis and long-term potentiation in 2-week zinc deficiency. *Neurochem. Int.* 52, 241-246, 2008.
84. A. Takeda, A. Minami, N. Sakurada, S. Nakajima, and N. Oku: Response of hippocampal mossy fiber zinc to excessive glutamate release. *Neurochem. Int.* 50, 322-327, 2007.
85. A. Takeda, H. Tamano, F. Kan, T. Hanajima, K. Yamada, and N. Oku: Enhancement of social isolation-induced aggressive behavior of young mice by zinc deficiency. *Life Sci.* 82, 909-914, 2008.
86. T. Tanikawa, K. Kurohane, and Y. Imai: Production and characterization of IgA monoclonal antibody against ovalbumin. *Hybridoma*, 26, 328-332, 2007.
87. H. Tazawa, M. Tatemichi, T. Sawa, I. Gilbert, N. Ma, Y. Hiraku, L.A. Donehower, H. Ohgaki, S. Kawanishi, and H. Ohshima: Oxidative and nitrate stress caused by subcutaneous implantation of a foreign body accelerate sarcoma development in Trp53 $^{-/-}$  mice. *Carcinogenesis*, 28, 191-198, 2007.
88. D. J. Tindal, J. C. Dyason, R. J. Thomson, T. Suzuki, H. Ueyama, Y. Kuwahara, N. Maki, Y. Suzuki, and M.V. Itzstein: Synthesis and evaluation of 4-O-alkylated 2-deoxy-2,3-didehydro-N-acetylneuraminic acid derivatives as inhibitors of human parainfluenza virus type-3 sialidase activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 1655-1658, 2007.
89. K. Tujioka, X. Shi, M. Ohsumi, T. Tuchiya, K. Hayase, T. Uchida, S. Ikeda, A. Morishita, and H. Yokogoshi: Effect of quantity and quality of dietary protein on choline acetyltransferase and nerve growth factor, and their mRNAs in the cerebral cortex and hippocampus of rats. *Amino Acids* 36(1), 13-19, 2009.
90. S. Uchida, Y. Kato, K. Hirano, Y. Kagawa, and S. Yamada: Brain neurotransmitter receptor-binding characteristics in rats after oral administration of haloperidol, risperidone and olanzapine. *Life Sci.* 80, 1635-1640, 2007.
91. S. Uchida, S. Kurosawa, T. Fujino (Oki), Y. Kato, M. Nanri, K. Yoshida, and S. Yamada: Binding activities by propiverine and its N-oxide metabolites of voltage-dependent L-type calcium channel antagonist receptors in the rat bladder and brain. *Life Sci.* 80, 2454-2460, 2007.
92. Y. Uekusa, M. Kamihira, and T. Nakayama: Dynamic behavior of tea catechins interacting with lipid membranes as determined by NMR spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 55, 9986-9992, 2007.
93. T. Urakami, S. Akai, Y. Katayama, N. Harada, H. Tsukada, and N. Oku: Novel amphiphilic probes for [ $^{18}$ F]-radiolabeling preformed liposomes and determination of liposomal trafficking by positron emission tomography. *J. Med. Chem.* 50, 6454-6457, 2007.
94. K. Wanibuchi, P. Zhang, T. Abe, H. Morita, T. Kohno, G. Chen, H. Noguchi, and I. Abe: An acridone-producing novel multifunctional type III polyketide synthase from *Huperzia serrata*. *FEBS J.* 274, 1073-1082, 2007.
95. A. Yamada, K. Hatano, T. Koyama, K. Matsuoka, N. Takahashi, K. I.P.J. Hidari, T. Suzuki, Y. Suzuki, and D. Terunuma: Lactotriose-containing carbosilane dendrimers: Syntheses and lectin-binding activities. *Bioorg. Med. Chem.* 15, 1606-1614, 2007.
96. K. Yamada, R. Furuya, T. Takita, Y. Maruyama, Y. Yamaguchi, S. Ohkawa, and H. Kumagai: Simplified nutritional screening tools for maintenance hemodialysis patients. *Am. J. Clin. Nutr.* 87, 106-113, 2008.
97. S. Yamada, C. Takeuchi, L. Oyunzul, and Y. Ito: Bladder angiotensin-II receptors: Characterization and alteration in bladder outlet obstruction. *Eur. Urol.* 55, 482-489, 2009.
98. T. Yamada, T. Terashima, R. Kawano, R. Furuno, T. Okubo, L.R. Juneja, and H. Yokogoshi: Theanine,  $\gamma$ -glutamylethylamide, a unique amino acid in tea leaves, modulates neurotransmitter concentrations in the brain striatum interstitium in conscious rats. *Amino Acids*, 36(1), 21-27, 2009.
99. S. Yingsakmongkon, D. Miyamoto, N. Sriwilaijaroen, K. Fujita, K. Matsumoto, W. Jampangern, H. Hiramatsu, C.-T. Guo, T. Sawada, T. Takahashi, K. I.P.J. Hidari, T. Suzuki, M. Ito, Y. Ito, and Y. Suzuki: *In vitro* inhibition of human influenza A virus infection by fruit-juice concentrate of Japanese plum. *Biol. Pharm. Bull.* 31, 511-515, 2008.
100. S. Yonezawa, T. Asai, and N. Oku: Effective tumor regression by antineovascular therapy in hypovascular orthotopic pancreatic tumor model. *J. Control. Release*, 118, 303-309, 2007.

平成20年度(2008 - 2009年)

平成20年度には拠点を形成する5専攻全体で258報の英文学術論文(IFの合計:667.233)を発表した。

(以下は事業推進担当者および若手研究者が発表した主な原著論文)

1. K. Abe, N. Okada, H. Tanabe, R. Fukutomi, K. Yasui, M. Isemura, N. Kinai: Effects of chronic ingestion of catechin-rich green tea on hepatic gene expression of gluconeogenic enzymes in rats. *Biomed. Res.* 30, 25-29, 2009.
2. A. Ahmad, I. Kaji, Y. Murakami, N. Funato, T. Ogawa, M. Shimizu, Y. Niwa, H. Kobayashi: Transformation of Arabidopsis with plant-derived DNA sequences necessary for selecting transformants and driving an objective gene. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73, 936-938, 2009.
3. M.-R. Ahn, K. Kunimasa, S. Kumazawa, T. Nakayama, K. Kaji, Y. Uto, H. Hori, H. Nagasawa, T. Ohta: Correlation between antiangiogenic activity and antioxidant activity of various components from propolis. *Mol. Nutr. Food Res.* 53, 643-651, 2009.
4. T. Asai, S. Miyazawa, N. Maeda, K. Hatanaka, Y. Katanasaka, K. Shimizu, S. Shuto, N. Oku: Antineovascular therapy with angiogenic vessel-targeted polyethyleneglycol-shielded liposomal DPP-CNDAC. *Cancer Sci.* 99, 1029-1033, 2008.
5. T. Asai, Y. Suzuki, S. Matsushita, S. Yonezawa, J. Yokota, Y. Katanasaka, T. Ishida, T. Dewa, H. Kiwada, M. Nango, N. Oku: Disappearance of the angiogenic potential of endothelial cells caused by Argonaute2 knockdown. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 368, 243-248, 2008.
6. M.-J. Bae, T. Ishii, K. Minoda, Y. Kawada, T. Ichikawa, T. Mori, M. Kamihira, T. Nakayama: Albumin stabilizes (-)-epigallocatechin gallate in human serum: binding capacity and antioxidant property. *Mol. Nutr. Food Res.* 53, 709-715, 2009.
7. R. Eguchi, H. Naitou, K. Kunimasa, R. Ayuzawa, Y. Fujimori, N. Ohashi, K. Kaji, T. Ohta: Proteomic analysis of hypoxia-induced tube breakdown of an in vitro capillary model composed of HUVECs: potential role of p38-regulated reduction of HSP27. *Proteomics*, 8, 2897-2906, 2008.
8. S. Fujimoto, K. Mochizuki, M. Shimada, Y. Murayama, T. Goda: Variations in gene expression of inflammatory cytokines in leukocyte-derived cells of high-fat-diet-induced insulin-resistant rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 72, 2572-2579, 2008.
9. N. Fukaya, K. Mochizuki, M. Shimada, T. Goda: The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol decreases glucose fluctuations and gene expression of inflammatory cytokines induced by hyperglycemia in peripheral leukocytes. *Nutr.* 21, 1054, 2008.
10. T. Furuta, M. Mochizuki, M. Ito, T. Takahashi, T. Suzuki, T. Kan: Versatile synthesis of head group functionalized phospholipids via oxime bond formation. *Org. Lett.* 10, 4847-4850, 2008.
11. S. Goto, N. Okada, A. Kaneko, M. Isemura: Different effects of all-trans-retinoic acid on phorbol ester-stimulated and phytohemagglutinin-stimulated interleukin-2 expression in human T-cell lymphoma HUT-78 cells. *Cell Struct. Funct.* 33, 13-19, 2008.
12. K. Hata, K. Koseki, K. Yamaguchi, S. Moriya, Y. Suzuki, S. Yingsakmongkon, G. Hirai, M. Sodeoka, M. von Itzstein, T. Miyagi: Limited inhibitory effects of oseltamivir and zanamivir on human sialidases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 52, 3484-3491, 2008.
13. T. Hayashi, M. Miyake, T. Fukui, N. Sugaya, T. Daimon, S. Itoh, T. Oku, T. Tsuji, S. Toyoshima, Y. Imai: Exclusion of actin-binding protein p57/coronin-1 from bacteria-containing phagosomes in macrophages infected with Legionella. *Biol. Pharm. Bull.* 31, 861-865, 2008.
14. T. Hibino, M. Yuzurihara, K. Terawaki, H. Kanno, Y. Kasa, A. Takeda: Goshuyuto, a traditional Japanese medicine for migraine, inhibits platelet aggregation in guinea-pig whole blood. *J. Pharmacol. Sci.* 108, 89-94, 2008.
15. T. Hibino, M. Yuzurihara, H. Kanno, Y. Kasa, A. Takeda: Goshuyuto, a Japanese traditional medicine, and aqueous extracts of Evodiae Fructus constrict isolated rat aorta via adrenergic and/or serotonergic receptors. *Biol. Pharm. Bull.* 32, 237-241, 2009.
16. K. I.P.J. Hidari, N. Takahashi, M. Arihara, M. Nagaoka, K. Morita, T. Suzuki: Structure and anti-dengue virus activity of sulfated polysaccharide from a marine alga. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 376, 91-95, 2008.
17. K. I.P.J. Hidari, T. Murata, K. Yoshida, Y. Takahashi, Y. Minamijima, Y. Miwa, S. Adachi, M. Ogata, T. Usui, Y. Suzuki, T. Suzuki: Chemoenzymatic synthesis, characterization, and application of glycopolymers carrying lactosamine repeats as entry inhibitors against influenza virus infection. *Glycobiology*, 18, 779-788, 2008.
18. Y. Hirooka, M. Nitta, T. Furuta, T. Kan: Efficient synthesis of optically active galocatechin-3-gallate derivatives via 6-endo cyclization. *Synlett*, 20, 3234-3238, 2008.
19. K. Honma, K. Mochizuki, T. Goda: Inductions of histone H3 acetylation at lysine 9 on SGLT1 gene and its expression by feeding mice a high carbohydrate/fat ratio diet. *Nutr.* 25, 40-44, 2009.
20. Y. Hoshino, T. Urakami, T. Kodama, H. Koide, N. Oku, Y. Okahata, K. J. Shea: Design of synthetic polymer nanoparticles that capture and neutralize toxic peptide. *Small*, 5, 1562-1568, 2009.
21. A. Ikari, C. Okude, H. Sawada, Y. Sasaki, Y. Yamazaki, J. Sugatani, M. Degawa, M. Miwa: Activation of a polyvalent cation-sensing receptor decreases magnesium transport via claudin-16. *Biochim. Biophys. Acta.* 1778, 283-290, 2008.
22. A. Ikari, C. Okude, H. Sawada, T. Takahashi, J. Sugatani, M. Miwa: Down-regulation of TRPM6-mediated magnesium influx by cyclosporin A. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 377, 333-343, 2008.
23. A. Ikari, C. Okude, H. Sawada, Y. Yamazaki, J. Sugatani, M. Miwa: TRPM6 expression and cell proliferation are up-regulated by phosphorylation of ERK1/2 in renal epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 369, 1129-1133, 2008.
24. A. Ikari, M. Ito, C. Okude, H. Sawada, H. Harada, M. Degawa, H. Sakai, T. Takahashi, J. Sugatani, M. Miwa: Claudin-16 is directly phosphorylated by protein kinase A independently of a vasodilator-stimulated phosphoprotein-mediated pathway. *J. Cell Physiol.* 214, 221-229, 2008.
25. H. Imanaka, H. Koide, K. Shimizu, T. Asai, K. Shimizu, A. Ishikado, T. Makino, N. Oku: Chemoprevention of tumor metastasis by liposomal beta-sitosterol intake. *Biol. Pharm. Bull.* 31, 400-404, 2008.
26. S. Inagaki, T. Noda, J.Z. Min, T. Toyooka: Ultraperformance liquid chromatography analysis of rat hairs for metabolomic research. *Am. Lab. On-Line Edition*, June-July, 12-15, 2008.
27. M. Inai, T. Goto, T. Furuta, T. Wakimoto, T. Kan: Stereocontrolled total synthesis of (-)-myriocin. *Tetrahedron-Asymmetry*, 19, 2771-2773, 2008.

28. K. Inoue, S. Maruyama, H. Kabeya, N. Yamada, N. Ohashi, Y. Sato, M. Yukawa, T. Masuzawa, F. Kawamori, T. Kadosaka, N. Takada, H. Fujita, H. Kawabata: Prevalence and genetic diversity of Bartonella species isolated from wild rodents in Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 5086-5092, 2008.
29. T. Ishii, S. Ito, S. Kumazawa, T. Sakurai, S. Yamaguchi, T. Mori, T. Nakayama, K. Uchida: Site-specific modification of positively-charged surfaces on human serum albumin by malondialdehyde. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 371, 28-32, 2008.
30. Y. Iwasaki, O. Saito, M. Tanabe, K. Inayoshi, K. Kobata, S. Uno, A. Morita, T. Watanabe: Monoacylglycerols activate capsaicin receptor, TRPV1. *Lipids*, 43, 471-483, 2008.
31. K. Kajiya, S. Kumazawa, A. Naitou, T. Nakayama: Solid-state NMR analysis of the orientation and dynamics of epigallocatechin gallate, a green tea polyphenol, incorporated into lipid bilayers. *Magn. Reson. Chem.* 46, 174-177, 2008.
32. H. Kako, S. Fukumoto, Y. Kobayashi, H. Yokogoshi: Effects of direct exposure of green odour components on dopamine release from rat brain striatal slices and PC12 cells. *Brain. Res. Bull.* 75, 706-712, 2008.
33. M. Kamihira, H. Nakazawa, A. Kira, Y. Mizutani, M. Nakamura, T. Nakayama: Interaction of tea catechins with lipid bilayers investigated by quartz-crystal microbalance analysis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72, 1372-1375, 2008.
34. T. Kan, Y. Kawamoto, T. Asakawa, T. Furuta, T. Fukuyama: Synthetic studies on altemicidin: stereocontrolled construction of the core framework. *Org. Lett.* 10, 169-171, 2008.
35. J. Kashimura, Y. Nagai, T. Goda: Inhibitory action of palatinose and its hydrogenated derivatives on the hydrolysis of  $\alpha$ -glucosylsaccharides in the small intestine. *J. Agr. Food Chem.* 56, 5892-5895, 2008.
36. Y. Katanasaka, T. Ida, T. Asai, K. Shimizu, F. Koizumi, N. Maeda, K. Baba, N. Oku: Antiangiogenic cancer therapy using tumor vasculature-targeted liposomes encapsulating 3-(3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-ylmethylene)-1,3-dihydro-indol-2-one, SU5416. *Cancer Lett.* 270, 260-268, 2008.
37. Y. Katanasaka, T. Ida, T. Asai, N. Maeda, N. Oku: Effective delivery of an angiogenesis inhibitor by neovessel-targeted liposomes. *Int. J. Pharm.* 360, 219-224, 2008.
38. Y. Kato, S. Ikushiro, Y. Emi, S. Tamaki, H. Suzuki, T. Sakaki, S. Yamada, M. Degawa: Hepatic UDP-glucuronosyltransferases responsible for glucuronidation of thyroxine in humans. *Drug Metab. Dispos.* 36, 51-55, 2008.
39. A. Kato, T. Takita, M. Furuhashi, Y. Maruyama, H. Kumagai, A. Hishida: Blood monocyte count is a predictor of total and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Nephron Clin. Pract.* 110, 235-243, 2008.
40. F. Kawamori, M. Hiroi, T. Harada, K. Ohata, K. Sugiyama, T. Masuda, N. Ohashi: Molecular typing of Japanese Escherichia coli O157:H7 isolates from clinical specimens by multilocus variable-number tandem repeat analysis and PFGE. *J. Med. Microbiol.* 57, 58-63, 2008.
41. Y. Kita, T. Toma, T. Kan, T. Fukuyama: Synthetic studies on (+)-manzamine A: Stereo-selective synthesis of the tetracyclic core framework. *Org. Lett.* 10, 3251-3253, 2008.
42. Y. Kitamura, S. Yoshikawa, T. Furuta, T. Kan: One-pot synthesis of carbazole via tandem Suzuki-Miyaura and amination reaction. *Synlett*, 3, 377-380, 2008.
43. K. Kobata, H. Tate, Y. Iwasaki, Y. Tanaka, K. Ohtsu, S. Yazawa, T. Watanabe: Isolation of coniferyl esters from Capsicum baccatum L., and their enzymatic preparation and agonist activity for TRPV1. *Phytochemistry*, 69, 1179-1184, 2008.
44. H. Koide, T. Asai, K. Hatanaka, T. Urakami, T. Ishii, E. Kenjo, M. Nishihara, M. Yokoyama, T. Ishida, H. Kiwada, N. Oku: Particle size-dependent triggering of accelerated blood clearance phenomenon. *Int. J. Pharm.* 362, 197-200, 2008.
45. Y. Koizumi, H. Kobayashi, T. Wakimoto, T. Furuta, T. Fukuyama, T. Kan: Total synthesis of (-)-serotobenine. *J. Am. Chem. Soc.* 130, 16854-16855, 2008.
46. Y. Koizumi, S. Suzuki, K. Takeda, K. Murahashi, M. Horikawa, K. Katagiri, H. Masu, I. Azumaya, S. Fujii, T. Furuta, K. Tanaka, T. Kan: Synthesis and characteristic stereostructure of a biphenanthryl ether. *Tetrahedron-Asymmetry*, 19, 1407-1410, 2008.
47. M. Kojima, M. Sekimoto, M. Degawa: A novel gender-related difference in the constitutive expression of hepatic cytochrome P4501A subfamily enzymes in Meishan pigs. *Biochem. Pharmacol.* 75, 1076-1082, 2008.
48. S. Lyou, S. Kawano, T. Yamada, S. Okuyama, T. Terashima, K. Hayase, H. Yokogoshi: Role of estrogen receptors and aromatase on brain protein synthesis rates in ovariectomized female rats fed genistein. *Nutr. Neurosci.* 11(4), 155-160, 2008.
49. S. Maruyama, H. Tsukada, S. Nishiyama, T. Kakiuchi, D. Fukumoto, N. Oku, S. Yamada: In vivo quantitative autoradiographic analysis of brain muscarinic receptor occupancy by antimuscarinic agents for overactive bladder treatment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 325, 774-781, 2008.
50. T. Masuzawa, I. G. Kharitonov, Y. Okamoto, T. Fukui, N. Ohashi: Prevalence of anaplasma phagocytophilum and its coinfection with Borrelia afzelii in Ixodes ricinus and Ixodes persulcatus ticks inhabiting Tver Province (Russia) - a sympatric region for both tick species. *J. Med. Microbiol.* 57, 986-991, 2008.
51. E. J. Mitacek, K. D. Brunnemann, M. Suttajit, L. S. Caplan, C. E. Gagna, K. Bhothisuwan, S. Siriamornpun, C. F. Hummel, H. Ohshima, R. Roy, N. Martin: Geographic distribution of liver and stomach cancers in Thailand in relation to estimated dietary intake of nitrate, nitrite, and nitrosodimethylamine. *Nutr. Cancer*, 60, 196-203, 2008.
52. D. Miyamoto, S. Hasegawa, N. Sriwilaijaroen, S. Yingsakmongkon, T. Suzuki, K. I.P.J. Hidari, T. Takahashi, C.-T. Guo, Y. Sakano, Y. Suzuki: Clarithromycin inhibits progeny virus production from human influenza virus - Infected host cells. *Biol. Pharm. Bull.* 31, 217-222, 2008.
53. N. Miyoshi, E. Watanabe, T. Osawa, M. Okuhira, Y. Murata, H. Ohshima, Y. Nakamura: ATP depletion alters the mode of cell death induced by benzyl isothiocyanate. *Biochim. Biophys. Acta.* 1782, 566-573, 2008.
54. K. Mochizuki, S. Takabe, T. Goda: Changes of histone H3 modifications on the GLUT5 gene and its expression in Caco-2 cells co-treated with a p44/42 MAPK inhibitor and glucocorticoid hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 371, 324-327, 2008.

55. K. Mochizuki, H. Kawai, H. Mochizuki, M. Shimada, S. Takase, T. Goda: Fatty acids in component of milk enhance the expression of the cAMP-response-element-binding-protein-binding-protein (CBP)/p300 gene in developing rats. *Br. J. Nutr.* 99, 481-486, 2008.
56. T. Mori, T. Ishii, T. Tanaka, D. Mizuno, R. Yamaji, S. Kumazawa, T. Nakayama, M. Akagawa: Covalent modification of proteins by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate through autoxidation. *Free Radic. Biol. Med.* 45, 1384-1394, 2008.
57. K. Motoyama, Y. Nakai, T. Miyashita, Y. Fukui, M. Morita, K. Sanmiya, H. Sakakibara, I. Matsumoto, K. Abe, T. Yakabe, N. Yajima, K. Shimoi: Isolation stress for 30 days alters hepatic gene expression profiles, especially with reference to lipid metabolism in mice. *Physiol. Genomics*, 37, 79-87, 2009.
58. K. Murakami, S. Sasaki, Y. Takahashi, K. Uenishi, M. Yamasaki, H. Hayabuchi, T. Goda, J. Oka, K. Baba, K. Ohki, T. Kohri, R. Watanabe, Y. Sugiyama: Misreporting of dietary energy, protein, potassium, and sodium in relation to body mass index in young Japanese women. *Eur. J. Clin. Nutr.* 62, 111-118, 2008.
59. Y. Murayama, K. Mochizuki, M. Shimada, Y. Matsuoka, K. Shibata, T. Goda: Effects of wheat albumin consumption on expression of genes related to lipogenesis and insulin sensitivity in adipose tissues of rats. *J. Agr. Food Chem.* 57, 1606-1611, 2008.
60. M. Nakayama, N. Yoshimura: Japanese EFL Learners' Skills improvement and the length of study abroad programs. *Ars Linguistica*, 15, 54-64, 2008.
61. K. Ogawa, H. Sakakibara, R. Iwata, T. Ishii, T. Sato, T. Goda, K. Shimoi, S. Kumazawa: Anthocyanin composition and antioxidant activity of the Crowberry (*Empetrum nigrum*) and other berries. *J. Agric Food Chem.* 56, 4457-4462, 2008.
62. H. Oka, T. Onaga, T. Koyama, C.T. Guo, Y. Suzuki, Y. Esumi, K. Hatano, D. Terunuma, K. Matsuoka: Sialyl $\alpha$ (2-3) lactose clusters using carbosilane dendrimer core scaffolds as influenza hemagglutinin blockers. *Bioor. Med. Chem. Lett.* 18, 4405-4408, 2008.
63. N. Okada, Y. Ishigami, T. Suzuki, A. Kaneko, K. Yasui, R. Fukutomi, M. Isemura: Importins and exportins in cellular differentiation. *J. Cell. Mol. Med.* 12, 1863-1871, 2008.
64. T. Okura, T. Ozawa, Y. Ito, M. Kimura, Y. Kagawa, S. Yamada: Enhancement by grapefruit juice of morphine antinociception. *Biol. Pharm. Bull.* 31, 2338-2341, 2008.
65. M. Osabe, J. Sugatani, T. Fukuyama, S. Ikushiro, A. Ikari, M. Miwa: Constitutive androstane receptor and peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  are activated in liver of male rats fed a high-fat and high-sucrose diet and the hepatic expression of UGT1A1 and UGT1A6 is enhanced. *Drug Metab. Dispos.* 36, 294-302, 2008.
66. M. Osabe, J. Sugatani, A. Takemura, M. Kurosawa, Y. Yamazaki, A. Ikari, M. Miwa: Up-regulation of CAR expression through Elk-1 in HepG2 and SW480 cells by serum starvation stress. *FEBS Lett.* 583, 885-889, 2009.
67. M. Osabe, J. Sugatani, A. Takemura, Y. Yamazaki, A. Ikari, N. Kitamura, M. Negishi, M. Miwa: Expression of CAR in SW480 and HepG2 cells during G1 is associated with cell proliferation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 369, 1027-1033, 2008.
68. T. Oya-Ito, H. Naitou, S. Masuda, N. Kinase, N. Ohashi: Functional analyses of neutrophil-like differentiated cell lines under a hyperglycemic condition. *Mol. Nutr. Food Res.* 52, 360-369, 2008.
69. T. Sakata, R. Furuya, T. Shimazu, M. Odamaki, S. Ohkawa, H. Kumagai: Coenzyme Q10 administration suppresses both oxidative and antioxidative markers in hemodialysis patients. *Blood Purif.* 26, 371-378, 2008.
70. T. Sawa, M. Mounawar, M. Tatemichi, I. Gilibert, T. Katoh, H. Ohshima: Increased risk of gastric cancer in Japanese subjects is associated with microsatellite polymorphisms in the heme oxygenase-1 and the inducible nitric oxide synthase gene promoters. *Cancer Lett.* 269, 78-84, 2008.
71. T. Sawada, T. Hashimoto, H. Nakano, T. Suzuki, Y. Suzuki, Y. Kawaoka, H. Ishida, M. Kiso: Ab initio fragment molecular orbital studies of influenza virus hemagglutinin-sialosaccharide complexes toward chemical clarification about the virus host range determination. *Glycoconjugate J.* 25, 805-815, 2008.
72. T. Shiba, T. Maruyama, K. Kurohane, Y. Iwasaki, T. Watanabe, Y. Imai: TRPA1 and TRPV1 activation is a novel adjuvant effect mechanism in contact hypersensitivity. *J. Neuroimmunol.* 207, 66-74, 2009.
73. M. Shimada, K. Mochizuki, T. Goda: Dietary resistant starch reduces levels of GIP mRNA along the jejunum-ileum in both normal and type 2 diabetic rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 72, 2206-2209, 2008.
74. M. Shimizu, M. Goto, M. Hanai, T. Shimizu, N. Izawa, H. Kanamoto, K. Tomizawa, A. Yokota, H. Kobayashi: Selectable tolerance to herbicides by mutated acetolactate synthase genes integrated into the chloroplast genome of tobacco. *Plant Physiol.* 147, 1976-1983, 2008.
75. T. Sueyoshi, R. Moore, J. Sugatani, Y. Matsumura, M. Negishi: PPP1R16A, the membrane subunit of protein phosphatase 1b, signals nuclear translocation of the nuclear receptor CAR. *Mol. Pharmacol.* 73, 1113-1121, 2008.
76. J. Sugatani, K. Mizushima, M. Osabe, K. Yamakawa, S. Kakizaki, H. Takagi, M. Mori, A. Ikari, M. Miwa: Transcriptional regulation of human UGT1A1 gene expression through distal and proximal promoter motifs: implication of defects in the UGT1A1 gene promoter. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 377, 597-605, 2008.
77. J. Sugatani, M. Osabe, T. Wada, K. Yamakawa, Y. Yamazaki, T. Takahashi, A. Ikari, M. Miwa: Comparison of enzymatically synthesized inulin, resistant maltodextrin and clofibrate effects on biomarkers of metabolic disease in rats fed a high-fat and high sucrose (cafeteria) diet. *Eur. J. Nutr.* 47, 192-200, 2008.
78. C. Sugimoto, E. E. Nakayama, T. Shioda, F. Villinger, A. A. Ansari, N. Yamamoto, Y. Suzuki, Y. Nagai, K. Mori: Impact of glycosylation on antigenicity of Simian immunodeficiency virus SIV239: Induction of rapid V1V2 specific non-neutralizing antibody and delayed neutralizing antibody following infection with an attenuated deglycosylated mutant. *J. Gen. Virol.* 89, 554-566, 2008.
79. O. Suptawiwat, A. Kongchanagul, W. Chan-It, A. Thitithanyanont, W. Wiriyarat, K. Chaichuen, T. Songserm, Y. Suzuki, P. Puthavathana, P. Auewarakul: A simple screening assay for receptor switching of avian influenza viruses. *J. Clinical Virol.* 42, 186-189, 2008.
80. T. Suzuki, K. Mochizuki, T. Goda: Histone H3 modifications and Cdx-2 binding to the sucrase-isomaltase (SI) gene is involved in induction of the gene in the transition from the crypt to villus in the small intestine of rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 369, 788-793, 2008.
81. S. Takabe, K. Mochizuki, T. Goda: De-phosphorylation of GR at Ser203 in nuclei associates with GR nuclear translocation and GLUT5 gene expression in Caco-2 cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 475, 1-6, 2008.
82. T. Takahashi, K. Murakami, M. Nagakura, H. Kishita, S. Watanabe, K. Honke, K. Ogura, T. Tai, K. Kawasaki, D. Miyamoto, K. I.P.J. Hidari, C.T. Guo, Y. Suzuki, T. Suzuki: Sulfatide is required for efficient replication of influenza A virus. *J. Virol.* 82, 5940-5950, 2008.
83. T. Takahashi, Y. Moriyama, A. Ikari, J. Sugatani, T. Suzuki, M. Miwa: Surface localization of the nuclear receptor CAR in influenza A virus-infected cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 368, 550-555, 2008.
84. A. Takeda, H. Tamano, H. Itoh, N. Oku: Attenuation of abnormal glutamate release in zinc deficiency by zinc and Yokukansan. *Neurochem. Int.* 53, 230-235, 2008.
85. A. Takeda, H. Itoh, A. Nagayoshi, N. Oku: Abnormal calcium mobilization in hippocampal slices of epileptic animals fed a zinc-deficient diet. *Epilepsy Res.* 83, 73-80, 2009.
86. A. Takeda, H. Tamano, F. Kan, T. Hanajima, K. Yamada, N. Oku: Enhancement of social isolation-induced aggressive behavior of young mice by zinc deficiency. *Life Sci.* 82, 909-914, 2008.
87. A. Takeda, H. Itoh, K. Yamada, H. Tamano, N. Oku: Enhancement of hippocampal mossy fiber activity in zinc deficiency and its influence on behavior. *BioMetals*, 21, 545-552, 2008.
88. A. Takeda, K. Yamada, H. Tamano, S. Fuke, M. Kawamura, N. Oku: Hippocampal calcium dyshomeostasis and long-term potentiation in 2-week zinc deficiency. *Neurochem. Int.* 52, 241-246, 2008.
89. A. Takeda, S. Fuke, M. Ando, N. Oku: Positive modulation of long-term potentiation at hippocampal CA1 synapses by low micromolar concentrations of zinc. *Neurosci.* 158, 585-591, 2009.
90. A. Takeda, S. Kanno, N. Sakurada, M. Ando, N. Oku: Attenuation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation by low micromolar concentrations of zinc. *J. Neurosci. Res.* 86, 2906-2911, 2008.
91. T. Tanaka, A. Suzuki, S. Kuranuki, K. Mochizuki, K. Suruga, S. Takase, T. Goda: Higher expression of jejunal LPH gene in rats fed the high-carbohydrate/low-fat diet compared with those fed the low-carbohydrate/high-fat diet is associated with in vitro binding of Cdx-2 in nuclear proteins to its promoter regions. *Life Sci.* 83, 122-127, 2008.
92. Y. Tanaka, K. Mochizuki, N. Fukaya, M. Shimada, T. Goda: The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol suppresses postprandial hyperglycemia and IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  gene expression induced in rat peripheral leukocytes by intermittent sucrose loading. *Br. J. Nutr.* 21, 1054, 2008.
93. T. Taniguchi, T. Harada, T. Hayashi, T. Tanikawa, K. Kurohane, M. Miyake, Y. Imai: Elevated production of Legionella-specific immunoglobulin A in A/J mice is accompanied by T-helper 1-type polarization. *Immunol. Lett.* 121, 123-126, 2008.
94. T. Tanikawa, T. Ishikawa, T. Maekawa, K. Kurohane, Y. Imai: Characterization of monoclonal immunoglobulin A and G against Shiga toxin binding subunits produced by intranasal immunization. *Scand. J. Immunol.* 68, 414-422, 2008.
95. S. Uchida, K. Hirai, J. Hatanaka, J. Hanato, S. Yamada: Antinociceptive Effects of St. John's Wort, Harpagophytum Procumbens extract and grape seed proanthocyanidins extract in mice. *Biol. Pharm. Bull.* 31, 240-245, 2008.
96. K. Umehara, K. Nemoto, K. Kimijima, A. Matsushita, E. Terada, O. Monthakantirat, W. De-Eknamkul, T. Miyase, T. Warashina, M. Degawa, H. Noguchi: Estrogenic constituents of the heartwood of *Dalbergia parviflora*. *Phytochemistry*, 69, 546-552, 2008.
97. H. Yagi, N. Yasukawa, S.-Y. Yu, C.-T. Guo, N. Takahashi, T. Takahashi, W. Bukawa, T. Suzuki, K.-H. Khoo, Y. Suzuki, K. Kato: The expression of sialylated high-antennary N-glycans in edible bird's nest. *Carbohydr. Res.* 343, 1373-1377, 2008.
98. K. Yamada, R. Furuya, T. Takita, Y. Maruyama, Y. Yamaguchi, S. Ohkawa, H. Kumagai: Simplified nutritional screening tools for patients on maintenance hemodialysis. *Am. J. Clin. Nutr.* 87, 106-113, 2008.
99. T. Yamada, T. Terashima, T. Okubo, L. R. Juneja, H. Yokogoshi: Effects of theanine, a unique amino acid in tea leaves, on memory in a rat behavioral test. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72, 1356-1359, 2008.
100. S. Yingsakmongkon, D. Miyamoto, N. Sriwilajaroen, K. Fujita, K. Matsumoto, W. Jampangem, H. Hiramatsu, C.-T. Guo, T. Sawada, T. Tskahashi, K. I.P.J. Hidari, T. Suzuki, M. Ito, Y. Ito, Y. Suzuki: In vitro inhibition of human influenza A virus infection by fruit-juice concentrate of Japanese plum (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.). *Biol. Pharm. Bull.* 31, 511-515, 2008.

平成21年度(2009 - 2010年)

平成21年度には拠点を形成する5専攻全体で298報の英文学術論文(IFの合計:795.832)を発表した。

(以下は事業推進担当者および若手研究者が発表した主な原著論文)

1. M.-R. Ahn, K. Kunimasa, S. Kumazawa, T. Nakayama, K. Kaji, Y. Uto, H. Hori, H. Nagasawa, T. Ohta: Correlation between antiangiogenic activity and antioxidant activity of various components from propolis. *Mol. Nutr. Food Res.* 53, 643-651, 2009.
2. Y. Aihara, A. Yoshida, T. Furuta, T. Wakimoto, T. Akizawa, M. Konishi, T. Kan: Regioselective Synthesis of Methylated Epigallocatechin Gallate via Nitrobenzenesulfonyl (Ns) Protecting Group. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 4171-4174, 2009.
3. M.-J. Bae, T. Ishii, K. Minoda, Y. Kawada, T. Ichikawa, T. Mori, M. Kamihira, T. Nakayama: Albumin stabilizes (-)-epigallocatechin gallate in human serum: binding capacity and antioxidant property. *Mol. Nutr. Food Res.* 53 709-715, 2009.
4. N. Fukaya, K. Mochizuki, Y. Tanaka, T. Kumazawa, Z. Jiuxin, M. Fuchigami, T. Goda: The alpha-glucosidase inhibitor miglitol delays the development of diabetes and dysfunctional insulin secretion in pancreatic beta-cells in OLETF rats. *Eur. J. Pharmacol.* 624, 51-57, 2009.
5. N. Fukaya, K. Mochizuki, M. Shimada, T. Goda: The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol decreases glucose fluctuations and gene expression of inflammatory cytokines induced by hyperglycemia in peripheral leukocytes. *Nutr.* 25, 657-667, 2009.
6. T. Furuta, H. Onuki, M. Mochizuki, M. Ito, M. Inai, T. Wakimoto, T. Kan: Solid Support Synthesis of Artificial Phospholipids. *Synlett*, 3373-3377, 2009.
7. T. Furuta, M. Nakayama, H. Suzuki, H. Tajimi, M. Inai, H. Nukaya, T. Wakimoto, T. Kan: Concise Synthesis of Chafuroside A and B. *Org. Lett.* 11, 2233-2236, 2009.
8. J. Hanato, K. Kuriyama, T. Mizumoto, K. Debari, J. Hatanaka, S. Onoue, S. Yamada: Liposomal formulations of glucagon-like peptide-1: Improved bioavailability and anti-diabetic effect. *Int. J. Pharm.* 382, 111-116, 2009.
9. K. Hatanaka, T. Asai, H. Koide, E. Kenjo, T. Tsuzuku, N. Harada, H. Tsukada, N. Oku: Development of Double-Stranded siRNA Labeling Method Using Positron Emitter and Its In Vivo Trafficking Analyzed by Positron Emission Tomography. *Bioconjugate Chem.* 21, 756-763, 2010.
10. T. Hibino, M. Yuzurihara, Y. Kasa, A. Takeda: Synephrine, a Component of Evodiae Fructus, Constricts Isolated Rat Aorta via Adrenergic and Serotonergic Receptors. *J. Pharmacol. Sci.* 111, 73-81, 2009.
11. K. I.P.J. Hidari, M. Ogata, T. Murata, S. Shimada, W. Kozaki, E. Y. Park, T. Suzuki, T. Usui: Chemoenzymatic synthesis of sialoglycopolypeptides as glycomimetics to block infection by avian and human influenza viruses. *Bioconjugate Chem.* 20, 538-549, 2009.
12. K. I.P.J. Hidari, K. Oyama, G. Ito, M. Nakayama, M. Inai, S. Goto, Y. Kanai, K. Watanabe, K. Yoshida, T. Furuta, T. Kan, T. Suzuki: Identification and characterization of flavonoids as sialyltransferase inhibitors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 382, 609-613, 2009.
13. T. Hosaka, M. Sekimoto, K. Nemoto, M. Degawa: Augmentation of 3-methylcholanthrene-induced bioactivation in the human hepatoma cell line HepG2 by the calcium channel blocker nifedipine. *Cancer Sci.* 101, 652-657, 2010.
14. Y. Hoshino, T. Urakami, T. Kodama, H. Koide, N. Oku, Y. Okahata, K.-J. Shea: Design of synthetic polymer nanoparticles that capture and neutralize a toxic peptide. *Small*, 5, 1562-1568, 2009.
15. A. Ikari, A. Sanada, C. Okude, H. Sawada, Y. Yamazaki, J. Sugatani, M. Miwa: Up-regulation of TRPM6 transcriptional activity by AP-1 in renal epithelial cells. *J. Cell. Physiol.* 222(3), 481-487, 2010.
16. A. Ikari, K. Kinjo, K. Atomi, Y. Sasaki, Y. Yamazaki, J. Sugatani: Extracellular Mg<sup>2+</sup> regulates the tight junctional localization of claudin-16 mediated by ERK-dependent phosphorylation. *Biochim. Biophys. Acta* 1798 (3), 415-421, 2010.
17. A. Ikari, K. Atomi, A. Takiguchi, Y. Yamazaki, M. Miwa, J. Sugatani: Epidermal growth factor increases claudin-4 expression mediated by Sp1 elevation in MDCK cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 384(3), 306-310, 2009.
18. N. Ikegaya, T. Yoshida, T. Kohsaka, A. Suzuki, N. Kobayashi, T. Yamamoto, Y. Fujigaki, A. Hishida, H. Kumagai: Effects of relaxin on development of mesangial proliferative nephritis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1160, 300-303, 2009.
19. Y. Inamochi, K. Mochizuki, A. Osaki, T. Ishii, T. Nakayama, T. Goda: Histone H3 methylation at lysine 4 on the SLC2A5 gene in intestinal Caco-2 cells is involved in SLC2A5 expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 392, 16-21, 2010.
20. T. Ishii, K. Minoda, M.-J. Bae, T. Mori, Y. Uekusa, T. Ichikawa, Y. Aihara, T. Furuta, T. Wakimoto, T. Kan, T. Nakayama: Binding affinity of tea catechins for human serum albumin: Characterization by high-performance affinity chromatography with immobilized albumin column. *Mol. Nutr. Food Res.* 54, 816-822, 2010.
21. T. Ishii, M. Wakabayashi, T. Mori, T. Nakayama: A new method for the detection and characterization of  $\alpha$ -lipoic acid mixed disulphides. *Free Radical Res.* 44, 403-409, 2010.
22. T. Ishii, T. Asai, T. Urakami, N. Oku: Accumulation of macromolecules in brain parenchyma in acute phase of cerebral infarction/reperfusion. *Brain Res.* 1321, 164-168, 2010.
23. Y. Ito, L. Oyunzul, M. Seki, T. Oki-Fujino, M. Matsui, S. Yamada: Quantitative analysis of the loss of muscarinic receptors in various peripheral tissues in M1-M5 single subtype knockout mice. *Br. J. Pharmacol.* 156, 1147-1153, 2009.
24. Y. Iwasaki, M. Tanabe, Y. Kayama, M. Abe, M. Kashio, K. Koizumi, Y. Okumura, Y. Morimitsu, M. Tominaga, Y. Ozawa, T. Watanabe: Miogadial and miogadial with  $\alpha$ , $\beta$ -unsaturated 1,4-dialdehyde moieties—Novel and potent TRPA1 agonists. *Life Sci.* 85, 60-69, 2009.
25. I. Iwashina, K. Mochizuki, Y. Inamochi, T. Goda: Clock genes regulate the feeding schedule-dependent diurnal rhythm changes in hexose transporter gene expressions through the binding of BMAL1 to the promoter/enhancer and transcribed regions. *J. Nutr. Biochem.* 22, 334-343, 2011.
26. H. Kameji, K. Mochizuki, N. Miyoshi, T. Goda: Beta-Carotene accumulation in 3T3-L1 adipocytes inhibits the elevation of ROS generation and the suppression of genes related to insulin sensitivity induced by TNF- $\alpha$ . *Nutr.* 26, 1151-1156, 2010.

27. M. Kashiwamura, K. Kurohane, T. Tanikawa, A. Deguchi, D. Miyamoto, Y. Imai: Shiga toxin kills epithelial cells isolated from distal but not proximal part of mouse colon. *Biol. Pharm. Bull.* 32, 1614-1617, 2009.
28. Y. Katanasaka, T. Ishii, T. Asai, H. Naitou, N. Maeda, F. Koizumi, S. Miyagawa, N. Ohashi, N. Oku: Cancer antineoplastic therapy with liposome drug delivery systems targeted to BiP/GRP78. *Int. J. Cancer* 127, 2685-2698, 2010.
29. Y. Kato, K. Haraguchi, M. Kubota, M. Seto, T. Okura, S. Ikushiro, N. Koga, S. Yamada, M. Degawa: A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by a TCDD-like PCB congener, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl, in mice. *Drug Metab. Dispos.* 38(1), 150-156, 2010.
30. M. Kato, N. Shoda, T. Yamamoto, R. Shiratori, T. Toyo'oka: Development of a silica-based double-network hydrogel for high-throughput screening of encapsulated enzymes. *Analyst*, 134, 577-581, 2009.
31. M. Kato, T. Yamamoto, M. Sekimoto, M. Degawa, T. Toyo'oka: An easy cell-based microchip assay method for a CYP1A1-mediated drug metabolism using adhesive HepG2 cells. *J. Appl. Phys.* 105, 1-4, 2009.
32. M. Kato, Y. Onda, M. Sekimoto, M. Degawa, T. Toyo'oka: A capillary electrochromatography-electron spray ionization-mass spectrometry method for simultaneous analysis of charged and neutral constituents of a hepatocarcinoma cell metabolome. *J. Chromatogr. A* 1216, 8277-8282, 2009.
33. Y. Kobayashi, H. Kako, H. Yokogoshi: Contribution of intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration and protein dephosphorylation to the induction of dopamine release from PC12 cells by the green odor compound hexanal. *Cell. Mol. Neurobiol.* accepted for publication, 2010.
34. H. Koide, T. Asai, K. Hatanaka, S. Akai, T. Ishii, E. Kenjo, T. Ishida, H. Kiwada, H. Tsukada, N. Oku: T cell-independent B cell response is responsible for ABC phenomenon induced by repeated injection of PEGylated liposomes. *Int. J. Pharm.* 392, 218-223, 2010.
35. K. Kunimasa, M.-R. Ahn, T. Kobayashi, R. Eguchi, S. Kumazawa, Y. Fujimori, T. Nakano, T. Nakayama, K. Kaji, T. Ohta: Brazilian propolis suppresses angiogenesis by inducing apoptosis in tube-forming endothelial cells through inactivation of survival signal ERK1/2. *Evid.-based Complement Altern. Med.* in press.
36. S. Kurosawa, S. Uchida, Y. Ito, S. Yamada: Effect of ursodeoxycholic acid on the pharmacokinetics and midazolam and CYP3A activity in the liver and small intestine of rats. *Xenobiotica*, 39, 162-170, 2009.
37. P. Luecha, K. Umehara, T. Miyase, H. Noguchi: Antiestrogenic Constituents of the Thai Medicinal Plants *Capparis flavicans* and *Vitex glabrata*. *J. Nat. Prod.* 72 (11), 1954-1959, 2009.
38. T. Matsuda, K. Kurohane, Y. Imai: Di-(2-ethylhexyl) phthalate enhances skin sensitization to isocyanate haptens in mice. *Toxicol. Lett.* 192, 97-100, 2010.
39. S. Misaka, H. Sato, Y. Yamauchi, S. Onoue, S. Yamada: Novel dry powder formulation of Ovalbumin for development of COPD-like animal model: physicochemical characterization and biomarker profiling in rats. *Eur. J. Pharm. Sci.* 37, 469-476, 2009.
40. Y. Masaki, R. Miyauchi, K. Mochizuki, S. Takabe, M. Shimada, Y. Ichikawa, T. Goda: Plasma IL-1 $\beta$  concentrations are closely associated with fasting blood glucose levels in healthy and preclinical middle-aged, non-overweight and overweight Japanese men. *Metab.* 59, 1465-1471, 2010.
41. Y. Mizuuchi, S.-P. Shi, K. Wanibuchi, A. Kojima, H. Morita, H. Noguchi, I. Abe: Novel type III polyketide synthases from *Aloe arborescens*. *FEBS J.* 276, 2391-2401, 2009.
42. K. Mochizuki, K. Honma, M. Shimada, T. Goda: The regulation of jejunal induction of the maltase-glucoamylase gene by a high-starch/ low-fat diet in mice. *Mol. Nutr. Food Res.* 54, 1-7, 2010.
43. K. Mochizuki, E. Hanai, K. Suruga, S. Kuranuki, T. Goda: Changes in  $\alpha$ -glucosidase activities along the jejunal-ileal axis of normal rats by the  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol. *Metab.* 59, 1442-1447, 2010.
44. K. Mochizuki, M. Igawa-Tada, S. Takase, T. Goda: Feeding rats a high fat/carbohydrate ratio diet reduces jejunal S/I activity ratio and unsialylated galactose on glycosylated chain of S-I complex. *Life Sci.* 86, 524-531, 2010.
45. H. Morita, Y. Shimokawa, M. Tanio, R. Kato, H. Noguchi, S. Sugio, I. Abe: A structure-based mechanism for benzalacetone synthase from *Rheum palmatum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107(2), 669-73, 2010.
46. K. Motoyama, Y. Nakai, T. Miyashita, Y. Fukui, M. Morita, K. Sanmiya, H. Sakakibara, I. Matsumoto, K. Abe, T. Yagabe, N. Yajima, K. Shimoi: Isolation stress for 30 days alters hepatic gene expression profiles, especially with reference to lipid metabolism in mice. *Physiol. Genomics*, 37 (2), 79-87, 2009.
47. Y. Murase, T. Asai, Y. Katanasaka, T. Sugiyama, K. Shimizu, N. Maeda, N. Oku: A novel DDS strategy, "dual-targeting", and its application for antineoplastic therapy. *Cancer Lett.* 287, 165-171, 2010.
48. Y. Murayama, K. Mochizuki, M. Shimada, Y. Matsuoka, K. Shibata, T. Goda: Effects of wheat albumin consumption on expression of genes related to lipogenesis and insulin sensitivity in adipose tissues of rats. *J. Agric. Food Chem.* 57, 1606-1611, 2009.
49. Y. Murayama, K. Mochizuki, M. Shimada, S. Fujimoto, K. Nukui, K. Shibata, T. Goda: Dietary supplementation with  $\alpha$ -amylase inhibitor wheat albumin to high-fat diet-induced insulin-resistant rats is associated with increased expression of genes related to fatty acid synthesis in adipose tissue. *J. Agric. Food Chem.* 57, 9332-9338, 2009.
50. M. Ogata, K. I. P. J. Hidari, W. Kozaki, T. Murata, J. Hiratake, E. Y. Park, T. Suzuki, T. Usui: Molecular Design of Spacer-N-Linked Sialoglycopolypeptide as Polymeric Inhibitors Against Influenza Virus Infection. *Biomacromolecules*, 10, 1894-1903, 2009.
51. H. Oka, T. Onaga, T. Koyama, C.-T. Guo, Y. Suzuki, Y. Esumi, K. Hatano, D. Terunuma, K. Matsuoka: Syntheses and biological evaluations of carbosilane dendrimers uniformly functionalized with sialyl  $\alpha$ 2-3 lactose moieties as inhibitors for human influenza viruses. *Bioorg. Med. Chem.* 17, 5465-5475, 2009.
52. S. Onoue, H. Sato, Y. Kawabata, T. Mizumoto, N. Hashimoto, S. Yamada: In vitro and in vivo characterization on amorphous solid dispersion of cyclosporine A for inhalation therapy. *J. Controlled Release*, 138, 16-23, 2009.

53. M. Osabe, J. Sugatani, A. Takemura, M. Kurosawa, Y. Yamazaki, A. Ikari, M. Miwa: Up-regulation of CAR expression through Elk-1 in HepG2 and SW480 cells by serum starvation stress. *FEBS Lett.* 583(5), 885-889, 2009.
54. Y. Osada, R. Miyauchi, T. Goda, N. Kasezawa, H. Horiike, M. Iida, S. Sasaki, K. Yamakawa-Kobayashi: Variations in the WNK1 gene modulates the effect of dietary intake of sodium and potassium on blood pressure determination. *J. Hum. Genet.* 54, 474-478, 2009.
55. Y. Sakai, K. Ikeuchi, Y. Yamada, T. Wakimoto, T. Kan: Modified Julia-Kocienski Reaction Promoted by Means of *m*-NPT (Nitrophenyltetrazole) sulfone. *Synlett*, 827-829, 2010.
56. H. Sakakibara, T. Ogawa, A. Koyabagi, S. Kobayashi, T. Goda, S. Kumazawa, H. Kobayashi, K. Shimoi: Distribution and excretion of bilberry anthocyanines. *J. Agric. Food Chem.* 57(17), 7681-7686, 2009.
57. J. Sakamoto, T. Koyama, D. Miyamoto, S. Yingsakmongkon, K. I.P.J. Hidari, W. Jampangern, T. Suzuki, Y. Suzuki, Y. Esumi, T. Nakamura, K. Hatano, D. Terunuma, K. Matsuoka: Systematic syntheses of influenza neuraminidase inhibitors: A series of carbosilane dendrimers uniformly functionalized with thioglycoside-type sialic acid moieties. *Bioorg. Med. Chem.* 17, 5451-5464, 2009.
58. N. Sakurai, K. Mochizuki, H. Kameji, M. Shimada, T. Goda: (-)-Epigallocatechin gallate enhances the expression of gene related to insulin sensitivity and adipocyte differentiation in 3T3-L1 adipocytes at an early stage of differentiation. *Nutr.* 25, 1047-1056, 2009.
59. Y. Seto, S. Onoue, S. Yamada: *In vitro*/*In vivo* phototoxic risk assessments of griseofulvin Based on photobiochemical and disposition behaviors. *Eur. J. Pharm. Sci.* 38, 104-111, 2009.
60. S.-P. Shi, K. Wanibuchi, H. Morita, K. Endo, H. Noguchi, I. Abe: Enzymatic formation of unnatural novel chalcone, stilbene, and benzophenone scaffolds by plant type III polyketide synthase. *Org. Lett.* 10, 551-554, 2009.
61. S.-P. Shi, H. Morita, K. Wanibuchi, H. Noguchi, I. Abe: Enzymatic formation of unnatural novel polyketide scaffolds by plant-specific type III polyketide synthase. *Tetrahedron Lett.* 50, 2150-2153, 2009.
62. M. Shimada, K. Mochizuki, T. Goda: Feeding rats dietary resistant starch shifts the peak of SGLT1 gene expression and histone H3 acetylation on the gene from the upper jejunum towards the ileum. *J. Agric. Food Chem.* 57, 8049-8055, 2009.
63. M. Shimizu, H. Kato, T. Ogawa, A. Kurachi, Y. Nakagawa, H. Kobayashi: Sigma factor phosphorylation in the photosynthetic control of photosystem stoichiometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 10760-10764, 2010. "Research Highlights" *Nature Chem. Biol.* 6, 480, 2010.
64. K. Shimizu, M. Osada, K. Takemoto, Y. Yamamoto, T. Asai, N. Oku: Temperature-dependent transfer of amphotericin B from liposomal membrane of AmBisome to fungal cell membrane. *J. Controlled Release*, 141, 208-215, 2010.
65. K. Shimizu, N.K. Shimizu, W. Hakamata, K. Unno, T. Asai, N. Oku: Preventive effect of green tea catechins on experimental tumor metastasis in senescence-accelerated mice. *Biol. Pharm. Bull.* 33, 117-121, 2010.
66. N. Sriwilaijaroen, P. Wilairat, H. Hiramatsu, T. Takahashi, T. Suzuki, M. Ito, Y. Ito, M. Tashiro, Y. Suzuki: Mechanisms of the action of povidone-iodine against human and avian influenza A viruses: its effects on hemagglutination and sialidase activities. *Viol. J.* 06, 124, 2009.
67. J. Sugatani, M. Osabe, M. Kurosawa, N. Kitamura, A. Ikari, M. Miwa: Induction of UGT1A1 and CYP2B6 by an antimetogenic factor in HepG2 cells is mediated through suppression of cyclin-dependent kinase 2 activity: Cell-cycle dependent expression. *Drug Metab. Dispos.* 38(1), 177-186, 2010.
68. S. W. Suh, S. J. Won, A. M. Hamby, Y. Fan, C. T. Sheline, H. Tamano, A. Takeda, J. Liu: Decreased brain zinc availability reduces hippocampal neurogenesis in mice and rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 29, 1579-1588, 2009.
69. K. Suzuki, J. Sakamoto, T. Koyama, S. Yingsakmongkon, Y. Suzuki, K. Hatano, D. Terunuma, K. Matsuoka: Synthesis of sialic acid derivatives having a C=C double bond substituted at the C-5 position and their glycopolymers. *Bioorg. Biomed. Chem. Lett.* 19, 5105-5108, 2009.
70. T. Suzuki, K. Mochizuki, T. Goda: Localized expression of genes related to carbohydrate and lipid absorption along the crypt-villus axis of rat jejunum. *Biochim. Biophys. Acta*, 1790, 1624-1635, 2009.
71. H. Takahama, T. Minamino, H. Asanuma, M. Fujita, T. Asai, M. Wakeno, H. Sasaki, H. Kikuchi, K. Hashimoto, N. Oku, M. Asakura, J. Kim, S. Takashima, K. Komamura, M. Sugimachi, N. Mochizuki, M. Kitakaze: Prolonged targeting of ischemic/reperfused myocardium by liposomal adenosine augments cardioprotection in rats. *J. Am. Coll. Cardiol.* 53, 709-717, 2009.
72. T. Takahashi, A. Hashimoto, M. Maruyama, H. Ishida, M. Kiso, Y. Kawaoka, Y. Suzuki, T. Suzuki: Identification of amino acid residues of influenza A virus H3 HA contributing to the recognition of molecular species of sialic acid. *FEBS Lett.* 583, 3171-3174, 2009.
73. A. Takeda, H. Iwaki, M. Ando, K. Itagaki, M. Suzuki, N. Oku: Zinc Differentially Acts on Components of Long-term Potentiation at Hippocampal CA1 Synapse. *Brain Res.* 1323, 59-64, 2010.
74. A. Takeda, H. Itoh, A. Nagayoshi, N. Oku: Abnormal calcium mobilization in hippocampal slices of epileptic animals fed a zinc-deficient diet. *Epilepsy Res.* 83, 73-80, 2009.
75. A. Takeda, M. Ando, S. Kanno, N. Oku: Unique response of zinc in the hippocampus to behavioral stress and attenuation of subsequent mossy fiber long-term potentiation. *Neurotoxicol.* 30, 712-717, 2009.
76. A. Takeda, N. Sakurada, M. Ando, S. Kanno, N. Oku: Facilitation of zinc influx via AMPA/kainate receptor activation in the hippocampus. *Neurochem. Int.* 55, 376-382, 2009.
77. A. Takeda, S. Fuke, M. Ando, N. Oku: Positive Modulation of Long-term Potentiation at Hippocampal CA1 Synapses by Low Micromolar Concentrations of Zinc. *Neurosci.* 158, 585-591, 2009.
78. Y. Taki, Y. Yamazaki, F. Shimura, S. Yamada, K. Umegaki: Time-dependent induction of hepatic cytochrome P450 enzyme activity and mRNA expression by bilobalide in rats. *J. Pharmacol. Sci.* 109, 459-462, 2009.
79. H. Tamano, F. Kan, M. Kawamura, N. Oku, A. Takeda: Behavior in the forced swim test and neurochemical changes in the hippocampus in young rats after 2-week zinc deprivation. *Neurochem. Int.* 55, 536-541, 2009.
80. Y. Tanaka, K. Mochizuki, N. Fukaya, M. Shimada, T. Goda: The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol suppresses postprandial hyperglycemia and IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  gene expression induced in rat peripheral leukocytes by intermittent sucrose loading. *Br. J. Nutr.* 102, 221-225, 2009.
81. Y. Tanaka, M. Hosokawa, K. Otsu, T. Watanabe, S. Yazawa: Assessment of capsiconinoid composition, nonpungent capsaicinoid analogues, in Capsicum cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 57, 5407-5412, 2009.
82. Y. Tobisawa, Y. Imai, M. Fukuda, H. Kawashima: Sulfation of colonic mucins by *N*-acetylglucosamine-6-*O*-sulfotransferase-2 and its protective function in experimental colitis in mice. *J. Biol. Chem.* 285(9), 6750-6760, 2010.
83. S. Tomono, N. Miyoshi, K. Sato, Y. Ohba, H. Ohshima: Formation of cholesterol ozonolysis products through an ozone-free mechanism mediated by the myeloperoxidase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-chloride system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 383(2), 222-227, 2009.
84. K. Umehara, K. Nemoto, A. Matsushita, E. Terada, O. Monthakantirat, W. De-Eknamkul, T. Miyase, T. Warashina, M. Degawa, H. Noguchi: Flavonoids from the heartwood of the Thai medicinal plant Dalbergia parviflora and their effects on estrogenic-responsive human breast cancer cells. *J. Nat. Prod.* 72, 2163-2168, 2009.
85. T. Urakami, K. Sakai, T. Asai, D. Fukumoto, H. Tsukada, N. Oku: Evaluation of O-[(18)F]fluoromethyl-D-tyrosine as a radiotracer for tumor imaging with positron emission tomography. *Nucl. Med. Biol.* 36, 295-303, 2009.
86. T. Urakami, T. Kawaguchi, S. Akai, K. Hatanaka, H. Koide, K. Shimizu, T. Asai, D. Fukumoto, N. Harada, H. Tsukada, N. Oku: *In vivo* distribution of liposome-encapsulated hemoglobin determined by positron emission tomography. *Artif. Organs.* 33, 164-168, 2009.
87. T. Wakimoto, M. Nitta, K. Kasahara, T. Chiba, Y. Ye, K. Tsuji, T. Kan, H. Nukaya, M. Ishiguro, M. Koike, Y. Yokoo, Y. Suwa: Structure-activity relationship study on  $\alpha$ 1 adrenergic receptor antagonists from beer. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 5905-5908, 2009.
88. M. Watanabe, H. Tamano, T. Kikuchi, A. Takeda: Susceptibility to Stress in Young Rats after 2-week Zinc Deprivation. *Neurochem. Int.* 56, 410-416, 2010.
89. W. W. W. Y. Ozawa, Gaowa, F. Kawamori, T. Masuda, T. Masuzawa, H. Fujita, N. Ohashi: Structural analysis of a *p44/msp2* expression site of *Anaplasma phagocytophilum* in naturally infected ticks in Japan. *J. Med. Microbiol.* 58, 1638-1644, 2009.
90. S. Yamada, C. Takeuchi, L. Oyunzul, Y. Ito: Bladder angiotensin-II receptors: Characterization and alteration in bladder outlet obstruction. *Eur. Urol.* 55, 482-489, 2009.
91. T. Yamada, T. Terashima, R. Kawano, R. Furuno, T. Okubo, L. R. Juneja, H. Yokogoshi: Theanine,  $\gamma$ -glutamylethylamide, a unique amino acid in tea leaves, modulates neurotransmitter concentrations in the brain striatum interstitium in conscious rats. *Amino Acids*, 36(1), 21-27, 2009.
92. T. Yamada, Y. Yamada, Y. Okano, T. Terashima, H. Yokogoshi: Anxiolytic effects of short- and long-term administration of cacao mass on rat elevated T-maze test. *J. Nutr. Biochem.* 20, 948-955, 2009.
93. N. Yamaguchi, S. Miyamoto, Y. Ogura, T. Goda, K. Suruga: Hepatocyte nuclear factor-4 $\alpha$  regulates human cellular retinol-binding protein type II gene expression in intestinal cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 296, 524-533, 2009.
94. T. Yamauchi, Y. Johzuka-Hisatomi, S. Fukuda-Tanaka, R. Terada, I. Nakamura, S. Iida: Homologous recombination-mediated knock-in targeting of the *MET1a* gene for maintenance DNA methyltransferase reproducibly reveals dosage-dependent spatiotemporal gene expression in rice. *Plant J.* 60, 386-396, 2009.
95. K. Yasui, H. Tanabe, N. Okada, R. Fukutomi, Y. Ishigami, M. Isemura: Effects of chronic ingestion of catechin-rich green tea on hepatic gene expression of gluconeogenic enzymes in rats. *Biomed. Res.* 30, 25-29, 2009.
96. S. Yokoshima, Y. Abe, N. Watanabe, Y. Kita, T. Kan, T. Iwatsubo, T. Tomita, T. Fukuyama: Development of Photoaffinity Probes for  $\gamma$ -Secretase Equipped with a Nitrobenzenesulfonamide-type Cleavable Linker. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20, 1798-1799, 2010.
97. A. Yokoyama, H. Sakakibara, A. Crozier, Y. Kawai, A. Matsui, J. Terao, S. Kumazawa, K. Shimoi: Quercetin metabolites and protection against peroxynitrite-induced oxidative hepatic injury in rats. *Free Radical Res.* 43(10), 913-921, 2009.
98. N. Yoshimura, M. Nakayama: Nominative case marking and verb inflection in L2 grammar: Evidence from Japanese college students' composition. In Otsu, Yukio (ed.) *The Proceedings of the 2009 Tokyo Conference on Psycholinguistics* 359-383. Tokyo: Hituzi Syobo, 2009.
99. N. Yoshimura, M. Nakayama: Acquisition of two types of -s by Japanese EFL Learners: The role of L1 transfer. In Y-S. Yang, S-W. Tang, C. Kim, J-Y. Yoon, Y-S. Kang, K-A. Kim, H. Yoo, Y. Jang, and H-K. Kang (eds.), *Current Issues in Linguistic Interfaces*, 2. 253-263. Seoul, Korea: Hankook Munhwasa, 2009.
100. 藤野知美, 伊藤由彦, 瀧優子, 柿澤希実, 尾上誠良, 今井康之, 奥直人, 野口博司, 伊藤邦彦, 小林裕和, 大橋典男, 合田敏尚, 木苗直秀, 梅垣敬三, 渡邊裕司, 山田静雄: Warfarin とビタミン K の相互作用に関する文献的研究. *臨床薬理*, 41, 43-52, 2010.

平成22年度(2010 - 2011年)

平成22年度には拠点を形成する5専攻全体で326報の英文学術論文(IFの合計:888.555)を発表した。

(以下は事業推進担当者および若手研究者が発表した主な原著論文)

1. M. Ando, N. Oku, A. Takeda: Zinc-mediated attenuation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation induced by forskolin. *Neurochem. Int.* 57, 608-614, 2010.
2. T. Asakawa, A. Hiza, M. Nakayama, M. Inai, D. Oyama, H. Koide, K. Shimizu, T. Wakimoto, N. Harada, H. Tsukada, N. Oku, T. Kan: PET Imaging of Nobletin Based on a Practical Total Synthesis. *Chem Commun.* 47, 2868-2870, 2011.
3. D. A. Boltz, B. Douangneun, P. Phommachanh, S. Sinthasak, R. Mondry, C. Obert, P. Seiler, R. Keating, Y. Suzuki, H. Hiramoto, E. A. Govorkova, R. G. Webster: Emergence of H5N1 Avian Influenza Viruses with Reduced Sensitivity to Neuraminidase Inhibitors and Novel Reassortants in LAO PDR. *J. Gen. Virol.* 91, 949-959, 2010.
4. T. Dewa, T. Asai, Y. Tsunoda, K. Kato, D. Baba, M. Uchida, A. Sumino, K. Niwata, T. Umemoto, K. Iida, N. Oku, Mamoru Nango: Liposomal polyamine-dialkyl phosphate conjugates as effective gene carriers: Chemical structure, morphology, and gene transfer activity. *Bioconjugate Chem.* 21, 844-852, 2010.
5. S. Fujimoto, K. Mochizuki, M. Shimada, T. Hori, Y. Murayama, N. Ohashi, T. Goda: Insulin resistance induced by a high-fat diet is associated with the induction of genes related to leukocyte activation in rat peripheral leukocytes. *Life Sci.* 87, 679-685, 2010.
6. S. Fujimoto, T. Goda, K. Mochizuki: In vivo evidence of enhanced di-methylation of histone H3 K4 on upregulated genes in adipose tissue of diabetic db/db mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 404, 223-227, 2011.
7. T. Furuta, J. Yamamoto, Y. Kitamura, A. Hashimoto, H. Masu, I. Azumaya, T. Kan, T. Kawabata: Synthesis of Axially Chiral Amino Acid and Amino Alcohols via Additive-Ligand-Free Pd-Catalyzed Domino Coupling Reaction and Subsequent Transformations of the Product Amidoaza[5]helicene. *J. Org. Chem.* 75, 7010-7013, 2010.
8. J. Hatanaka, H. Chikamori, H. Sato, S. Uchida, K. Debari, S. Onoue, S. Yamada: Physicochemical and pharmacological characterization of  $\alpha$ -tocopherol loaded nano-emulsion system. *Int. J. Pharm.* 396: 188-193, 2010.
9. T. Hayashi, M. Nakamichi, H. Naitou, N. Ohashi, Y. Imai, M. Miyake: Proteomic analysis of growth phase-dependent expression of *Legionella pneumophila* proteins for identifying novel virulence-associated factors. *PLoS One*, 22, e11718, 2010.
10. T. Higashi, T. Ichikawa, S. Inagaki, J.Z. Min, T. Fukushima, T. Toyo'oka: Simple and practical derivatization procedure for enhanced detection of carboxylic acids in liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 52, 809-818, 2010.
11. T. Higashi, Y. Isobe, H. Ouchi, H. Suzuki, Y. Okazaki, T. Asakawa, T. Furuta, T. Wakimoto, T. Kan: Stereoccontrolled Synthesis of (+)-Methoxyphenylkainic acid and (+)-Phenylkainic acid. *Org. Lett.* 13, 1089-1091, 2011.
12. J. Hirakawa, K. Tsuboi, K. Sato, M. Kobayashi, S. Watanabe, A. Takakura, Y. Imai, Y. Ito, M. Fukuda, H. Kawashima: Novel anti-carbohydrate antibodies reveal the cooperative function of sulfated N- and O-glycan in lymphocyte homing. *J. Biol. Chem.* 285, 40864-40878, 2010.
13. M. Hiroi, Y. Nagahara, R. Miyauchi, Y. Misaki, T. Goda, N. Kasezawa, S. Sasaki, K. Yamakawa-Kobayashi: The Combination of Genetic Variations in the PRDX3 Gene and Dietary Fat Intake Contribute to Obesity Risk. *Obesity*, 19, 882-887, 2011.
14. T. Hosaka, M. Sekimoto, K. Nemoto, M. Degawa: Augmentation of 3-methylcholanthrene-induced bioactivation in the human hepatoma cell line HepG2 by the calcium channel blocker nifedipine. *Cancer Sci.* 101, 652-657, 2010.
15. Y. Hoshino, H. Koide, T. Urakami, H. Kanazawa, T. Kodama, N. Oku, K.J. Shea: Recognition, neutralization, and clearance of target peptides in the bloodstream of living mice by molecularly imprinted polymer nanoparticles: a plastic antibody. *J. Am. Chem. Soc.* 132, 6644-6645, 2010.
16. S. Ieda, T. Kan, T. Fukuyama: Synthesis of the Optically Active Key Intermediate of FR901483. *Tetrahedron Letters*, 51, 4027-4029, 2010.
17. A. Ikari, K. Kinjo, K. Atomi, Y. Sasaki, Y. Yamazaki, J. Sugatani: Extracellular Mg (2+) regulates the tight junctional localization of claudin-16 mediated by ERK-dependent phosphorylation. *Biochim Biophys Acta.* 1798 (3), 415-421, 2010.
18. A. Ikari, A. Sanada, C. Okude, H. Sawada, Y. Yamazaki, J. Sugatani, M. Miwa: Up-regulation of TRPM6 transcriptional activity by AP-1 in renal epithelial cells. *J. Cell Physiol.* 222, 481-487, 2010.
19. A. Ikari, A. Takiguchi, K. Atomi, T. Sato, J. Sugatani: Decrease in claudin-2 expression enhances cell migration in renal epithelial Madin-Darby canine kidney cells. *J. Cell Physiol.* 226, 1471-1478, 2011.
20. A. Ikari, K. Atomi, K. Kinjo, Y. Sasaki, J. Sugatani: Magnesium deprivation inhibits a MEK-ERK cascade and cell proliferation in renal epithelial Madin-Darby canine kidney cells. *Life Sci.* 86, 766-773, 2010.
21. Y. Inamochi, K. Mochizuki, A. Osaki, T. Ishii, T. Nakayama, T. Goda: Histone H3 methylation at lysine 4 on the SLC2A5 gene in intestinal Caco-2 cells is involved in SLC2A5 expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 392, 16-21, 2010.
22. T. Ishii, K. Minoda, M.-J. Bae, T. Mori, Y. Uekusa, T. Ichikawa, Y. Aihara, T. Furuta, T. Wakimoto, T. Kan, T. Nakayama: Binding affinity of tea catechins for HSA: Characterization by high-performance affinity chromatography with immobilized albumin column. *Mol. Nutr. Food Res.* 54, 816-822, 2010.
23. T. Ishii, M. Wakabayashi, T. Mori, T. Nakayama: A new method for the detection and characterization of  $\alpha$ -lipoic acid mixed disulphides. *Free Radic. Res.* 44, 403-409, 2010.
24. T. Ishii, T. Mori, T. Ichikawa, M. Kaku, K. Kusaka, Y. Uekusa, M. Akagawa, Y. Aihara, T. Furuta, T. Wakimoto, T. Kan, T. Nakayama: Structural characteristics of green tea catechins for formation of protein carbonyl in human serum albumin. *Bioorg. Med. Chem.* 18, 4892-4896, 2010.
25. T. Itoh, H. Takemura, K. Shimoi, K. Yamamoto K: A 3D model of CYPIB1 explains the Dominant 4-hydroxylation of estradiol. *J. Chem. Inf. Model.* 50(6), 1173-1178, 2010.
26. I. Iwashina, K. Mochizuki, Y. Inamochi, T. Goda: Clock genes regulate the feeding schedule-dependent diurnal rhythm changes in hexose transporter gene expressions through the binding of BMAL1 to the promoter/enhancer and transcribed regions. *J. Nutr. Biochem.* 22, 334-343, 2011.

27. R. K. Saha, T. Takahashi, Y. Kurebayashi, K. Fukushima, A. Minami, N. Kinbara, M. Ichitani, Y. M. Sagesaka, T. Suzuki: Antiviral effect of strictinin on influenza virus replication. *Antiviral Res.* 88, 10-18, 2010.
28. H. Kako, Y. Kobayashi, H. Yokogoshi: Effects of n-hexanal on dopamine release in the striatum of living rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2010 Nov 30. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21114973.
29. H. Kameji, K. Mochizuki, N. Miyoshi, T. Goda:  $\beta$ -Carotene accumulation in 3T3-L1 adipocytes inhibits the elevation of ROS generation and the suppression of genes related to insulin sensitivity induced by TNF- $\alpha$ . *Nutrition* 26, 1151-1156, 2010.
30. Y. Katanasaka, T. Ishii, T. Asai, H. Naitou, N. Maeda, F. Koizumi, S. Miyagawa, N. Ohashi, N. Oku: Cancer antineovascular therapy with liposome drug delivery systems targeted to BiP/GRP78. *Int. J. Cancer*, 127, 2685-2698, 2010.
31. A. Kato, H. Naitou, M. Namioka, M. Akimoto, T. Ishii, H. Sakakibara, K. Shimoi, T. Nakayama, N. Ohashi: Proteomic identification of serum proteins associated with stress-induced gastric ulcers in fasted rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 74, 812-818, 2010.
32. Y. Kato, H. Suzuki, K. Haraguchi, S. Ikushiro, Y. Ito, S. Uchida, S. Yamada, M. Degawa: A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by phenobarbital in rodents. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 249, 238-246, 2010.
33. Y. Kato, K. Haraguchi, M. Kubota, Y. Seto, T. Okura, S. Ikushiro, N. Koga, S. Yamada, M. Degawa: A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by a 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-like polychlorinated biphenyl congener, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in mice. *Drug Metab. Dispos.* 38, 150-156, 2010.
34. Y. Kato, K. Haraguchi, Y. Ito, A. Fujii, T. Yamazaki, T. Endo, N. Koga, S. Yamada, M. Degawa: Polychlorinated biphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in rodents. *Drug Metab. Dispos.* 38, 697-704, 2010.
35. D. Kato, S. Era, I. Watanabe, M. Arihara, N. Sugiura, K. Kimata, Y. Suzuki, K. Morita, K. I.P.J. Hidari, T. Suzuki: Antiviral activity of chondroitin sulphate E targeting dengue virus envelope protein. *Antiviral Res.* 88, 236-243, 2010.
36. K. Kawai, K. Kaku, N. Izawa, M. Shimizu, H. Kobayashi, T. Shimizu: Transformation of Arabidopsis by mutated acetolactate synthase genes from rice and Arabidopsis that confer specific resistance to pyrimidinylcarboxylate-type ALS inhibitors. *Plant Biotech.* 27, 75-84, 2010.
37. K. Kobata, K. Saito, H. Tate, A. Nashimoto, H. Okuda, I. Takemura, K. Miaykawa, M. Takahashi, K. Iwai, T. Watanabe: Long chain N-vanillyl-acylamides from Capsicum oleoresin. *J. Agric. Food Chem.* 58, 3627-3631, 2010.
38. Y. Kobayashi, H. Kako, H. Yokogoshi: Contribution of intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration and protein dephosphorylation to the induction of dopamine release from PC12 cells by the green odor compound hexanal. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 30, 173-184, 2010.
39. M. Kojima, M. Sekimoto, M. Degawa: Androgen-mediated down-regulation of CYPIA subfamily genes in the pig liver. *J. Endocrinol.* 207, 203-211, 2010.
40. K. Koyama, A. Ito, J. Yamamoto, T. Nishio, J. Kajikuri, Y. Dohi, N. Ohte, A. Sano, H. Nakamura, H. Kumagai, T. Itoh: Randomized controlled trial of the effect of short-term coadministration of methylcobalamin and folate on serum ADMA concentration in patients receiving long-term hemodialysis. *Am. J. Kidney Dis.* 55, 1069-1078, 2010.
41. Y.-L. Lai, S. Aoyama, R. Nagai, N. Miyoshi, H. Ohshima: Inhibition of L-Arginine Metabolizing Enzymes by L-Arginine-derived Advanced Glycation End Products. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 46:177-85, 2010.
42. T. Matsuda, K. Kurohane, Y. Imai: Di-(2-ethylhexyl) phthalate enhances skin sensitization to isocyanate haptens in mice. *Toxicol. Lett.* 192, 97-100, 2010.
43. T. Matsuda, T. Maruyama, H. Iizuka, A. Kondo, T. Tamai, K. Kurohane, Y. Imai: Phthalate esters reveal skin-sensitizing activity of phenethyl isothiocyanate in mice. *Food Chem. Toxicol.* 48, 1704-1708, 2010.
44. S. Misaka, S. Uchida, H. Imai, N. Inui, S. Nishio, K. Ohashi, H. Watanabe, S. Yamada: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of low doses of midazolam administered intravenously and orally to healthy volunteers. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 37: 290-295, 2010.
45. Y. Misaki, R. Miyauchi, K. Mochizuki, S. Takabe, M. Shimada, Y. Ichikawa, T. Goda: Plasma interleukin-1 $\beta$  concentrations are closely associated with fasting blood glucose levels in healthy and preclinical middle-aged non-overweight and overweight Japanese men. *Metabolism*, 59, 1465-1471, 2010.
46. N. Miyoshi, T. Nagasawa, R. Mabuchi, Y. Yasui, K. Wakabayashi, T. Tanaka, H. Ohshima: Chemoprevention of azoxymethane/dextran sodium sulfate-induced mouse colon carcinogenesis by freeze-dried yam sanyaku and its constituent diosgenin. *Cancer Prev. Res.* 4, 924-934, 2011.
47. N. Miyoshi, Y. Wakao, S. Tomono, M. Tatemichi, T. Yan, H. Ohshima: The enhancement of the oral bioavailability of  $\gamma$ -tocotrienol in mice by  $\gamma$ -cyclodextrin inclusion. *J. Nutr. Biochem.* 22, 1121-1126, 2011.
48. K. Mochizuki, K. Honma, M. Shimada, T. Goda: The regulation of jejunal induction of the maltase-glucoamylase gene by a high-starch/ low-fat diet in mice. *Mol. Nutr. Food Res.* 54, 1445-1451, 2010.
49. K. Mochizuki, E. Hanai, K. Suruga, S. Kuranuki, T. Goda: Changes in  $\alpha$ -glucosidase activities along the jejunal-ileal axis of normal rats by the  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol. *Metabolism*, 59, 1442-1447, 2010.
50. K. Mochizuki, N. Fukaya, Y. Tanaka, M. Fuchigami, T. Goda: Treatment with the  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol from the pre-onset stage in OLETF rats improves glycemic control and reduces the expression of inflammatory cytokine genes in peripheral leukocytes. *Metabolism*, 60, 1560-1565, 2011.
51. K. Mochizuki, Y. Misaki, R. Miyauchi, S. Takabe, M. Shimada, N. Miyoshi, Y. Ichikawa, T. Goda: Circulating interleukin-1 $\beta$  and interleukin-6 concentrations are closely associated with  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase activity in middle-aged Japanese men without obvious cardiovascular diseases. *Metabolism*, 60, 914-922, 2011.
52. K. Mochizuki, M. Igawa-Tada, S. Takase, T. Goda: Feeding rats a high fat/carbohydrate ratio diet reduces jejunal S/I activity ratio and unsialylated galactose on glycosylated chain of S-I complex. *Life Sci.* 86, 524-531, 2010.
53. K. Mochizuki, Y. Sato, S. Takase, T. Goda: Changes in mucosal  $\alpha$ -glucosidase activities along the jejunal-ileal axis by an hm-HACS diet intake are associated with decreased lipogenic enzyme activity in epididymal adipose tissue. *J. Agr. Food Chem.* 58, 6923-6927, 2010.

54. Y. Murase, T. Asai, Y. Katanasaka, T. Sugiyama, K. Shimizu, N. Maeda, N. Oku: A novel DDS strategy, “dual-targeting” , and its application for antineovascular therapy. *Cancer Lett.* 287, 165-171, 2010.
55. C. A. Nidom, R. Takano, S. Yamada, Y. Sakai-Tagawa, S. Daulay, D. Aswadi, T. Suzuki, Y. Suzuki, K. Shinya, K. Iwatsuki-Horimoto, Y. Muramoto, Y. Kawaoka: Influenza A (H5N1) viruses from pigs, Indonesia. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 1515-1523, 2010.
56. Y. Ohmichi, J. Hirakawa, Y. Imai, M. Fukuda, H. Kawashima: Essential role of peripheral node addressin in lymphocyte homing to nasal-associated lymphoid tissues and allergic immune responses. *J. Exp. Med.* 208, 1015-1025, 2011.
57. S. Onoue, H. Takahashi, Y. Kawabata, Y. Seto, J. Hatanaka, B.N. Timmermann, S. Yamada: Formulation design and photochemical studies on nanocrystal solid dispersion of curcumin with improved oral bioavailability. *J. Pharm. Sci.* 99: 1871-1881, 2010.
58. T. Osonoi, M. Saito, K. Mochizuki, N. Fukaya, T. Muramatsu, S. Inoue, M. Fuchigami, T. Goda: The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol decreases glucose fluctuations and inflammatory cytokine gene expression in peripheral leukocytes of Japanese patients with type 2 diabetes. *Metabolism*, 59, 1816-1822, 2010.
59. S. Piyaviriyakul, K. Shimizu, T. Asakawa, T. Kan, P. Siripong, N. Oku: Anti-angiogenic activity and intracellular distribution of epigallocatechin-3-gallate analogs. *Biol. Pharm. Bull.* 34, 396-400, 2011.
60. M. Saito, E. Kazuyama, S. Shimizu, F. Dimitriadis, Y. Kinoshita, E. Masuda, S. Yamada, K. Satoh: Muscarinic receptors and their mRNAs in type 2 Goto-Kakizaki diabetic rat prostate. *Prostate*, 70: 1533-1539, 2010.
61. R. Saito, S. Ohkawa, S. Ichinose, M. Nishikino, N. Ikegaya, H. Kumagai: Validity of mid-arm muscular area measured by anthropometry in nonobese patients with increased muscle atrophy and variation of subcutaneous fat thickness. *Eur J Clin Nutr.* 64, 899-904, 2010.
62. M. Sakaguchi, T. Ohura, T. Iwata, S. Takahashi, S. Akai, T. Kan, H. Murai, M. Fujiwara, O. Watanabe, M. Narita: Diblock Copolymer of Bacterial Cellulose and Poly(methyl methacrylate) Initiated by Chain-End-Type Radicals Produced by Mechanical Scission of Glycosidic Linkages of Bacterial Cellulose. *Biomacromolecules ACS* 11, 3059-3066, 2010.
63. Y. Sakai, K. Ikeuchi, Y. Yamada, T. Wakimoto, T. Kan: Modified Julia-Kocienski Reaction Promoted by Means of m-NPT (Nitrophenyltetrazole) sulfone. *SYNLETT*, 827-827, 2010.
64. H. Sakakibara, CPN. Romanowski, V. Jakubcakova, C. Flachskamm, K. Shimoi, M. Kimura: Feeble awake effects of plasminogen activator inhibitor type-I in mice. *Behav. Brain Res.* 220, 354-357, 2011.
65. M. Shimada, K. Mochizuki, T. Goda: Feeding rats dietary resistant starch reduces both the binding of ChREBP and the acetylation of histones on the Thrsp gene in the jejunum. *J. Agr. Food Chem.* 59, 1464-1469, 2011.
66. K. Shimizu, M. Osada, K. Takemoto, Y. Yamamoto, T. Asai, N. Oku: Temperature-dependent transfer of amphotericin B from liposomal membrane of AmBisome to fungal cell membrane. *J. Control. Release*, 141, 208-215, 2010.
67. M. Shimizu, H. Kato, T. Ogawa, A. Kurachi, Y. Nakagawa, and H. Kobayashi: Sigma factor phosphorylation in the photosynthetic control of photosystem stoichiometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 10760-10764, 2010.
68. M. Shinohara, K. Uchida, S. Shimada, K. Tomioka, N. Suzuki, T. Minegishi, S. Kawahashi, Y. Yoshikawa, N. Ohashi: Novel concentration method for detection of norovirus and sapovirus from water using minute particles of amorphous calcium phosphate. *J. Med. Microbiol.* 60, 780-786, 2011.
69. N. Sriwilaijaroen, S. Kondo, H. Yagi, N. Takemae, T. Saito, H. Hiramatsu, K. Kato, Y. Suzuki: N-glycans from porcine trachea and lung: Predominant NeuAc $\alpha$ 2-6Gal could be a selective pressure for influenza variants in favor of human-type receptor. *PLoS ONE*, 6(2), e-16302, 2011.
70. N. Sriwilaijaroen, A. Kadowaki, Y. Onishi, N. Gato, M. Ujiie, T. Odagiri, M. Tashiro, Y. Suzuki: Mumefural and related HMF derivatives from Japanese apricot fruit juice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic influenza A (H1N1) virus. *Food Chem.* 127, 1-9, 2011.
71. J. Sugatani, M. Osabe, M. Kurosawa, N. Kitamura, A. Ikari, M. Miwa: Induction of UGT1A1 and CYP2B6 by an antimetogenic factor in HepG2 cells is mediated through suppression of cyclin-dependent kinase 2. *Drug Metab. Dispos.* 38, 177-186, 2010.
72. J. Sugatani, S. Sadamitsu, M. Kurosawa, S. Ikushiro, T. Sakaki, A. Ikari, M. Miwa: Nutritional status affects fluvastatin-induced hepatotoxicity and myopathy in rats. *Drug Metab. Dispos.* 38, 1655-1664, 2010.
73. T. Suzuki, V. Douard, K. Mochizuki, T. Goda, R. Ferraris: Diet-induced epigenetic regulation in vivo of the intestinal fructose transporter GLUT5 during development of rat small intestine. *Biochem. J.* 435, 43-53, 2011.
74. M. Takaguchi, T. Takahashi, C. Hosokawa, H. Ueyama, K. Fukushima, T. Hayakawa, K. Itoh, K. Ikeda, T. Suzuki: A single amino acid mutation at position 170 of human parainfluenza virus type 1 fusion glycoprotein induces obvious syncytium formation and caspase-3-dependent cell death. *J. Biochem.* 149, 191-202, 2011.
75. T. Takahashi, Y. Kurebayashi, K. Ikeya, T. Mizuno, K. Fukushima, H. Kawamoto, Y. Kawaoka, Y. Suzuki, T. Suzuki: The Low-pH Stability Discovered in Neuraminidase of 1918 Pandemic Influenza A Virus Enhances Virus Replication. *PLoS One*, 5(12), e-15556, 2010.
76. T. Takahashi, H. Satoh, M. Takaguchi, S. Takafuji, H. Yokoyama, S. Fujii, T. Suzuki: Binding of sulfatide to recombinant hemagglutinin of influenza A virus produced by a baculovirus protein expression system. *J. Biochem.* 147, 459-462, 2010.
77. A. Takeda, H. Tamano, S. Imano, N. Oku: Increases in extracellular zinc in the amygdala in acquisition and recall of fear experience and their roles in response to fear. *Neuroscience*, 168, 715-722, 2010.

78. A. Takeda, H. Iwaki, M. Ando, K. Itagaki, M. Suzuki, N. Oku: Zinc differentially acts on components of long-term potentiation at hippocampal CA1 synapse. *Brain Res.* 1323, 59-64, 2010.
79. A. Takeda, M. Suzuki, H. Tamano, M. Ando, N. Oku: Differential effects of zinc influx via AMPA/kainate receptor activation on subsequent induction of hippocampal CA1 LTP components. *Brain Res.* 1354: 188-195, 2010.
80. A. Takeda, S. Takada, M. Ando, K. Itagaki, H. Tamano, M. Suzuki, H. Iwaki, N. Oku: Impairment of recognition memory and hippocampal long-term potentiation after acute exposure to clioquinol. *Neuroscience*, 171, 443-450, 2010.
81. N. Takemae, R. Ruttanapumma, S. Parchariyanon, S. Yoneyama, T. Hayashi, H. Hiramatsu, N. Sriwilaijaroen, Y. Uchida, S. Kondo, H. Yagi, K. Kato, Y. Suzuki, T. Saito: Alterations in receptor binding properties of swine influenza viruses of H1 subtype after isolation in embryonated chicken eggs. *J. Gen. Virol.* 91, 938-948, 2010.
82. H. Takemura, H. Nagayoshi, T. Matsuda, H. Sakakibara, M. Morita, A. Matsui, T. Ohura, K. Shimoi: Inhibitory effects of chrysoeriol on DNA adduct formation with benzo[a]pyrene in MCF-7 breast cancer cells. *Toxicol.* 274(1-3), 42-48, 2010.
83. H. Takemura, T. Itoh, K. Yamamoto, H. Sakakibara, K. Shimoi: Selective inhibition of methoxyflavonoids on human CYP1B1 activity. *Bioorg. Med. Chem.* 18(17), 6310-6315, 2010.
84. H. Takemura, H. Uchiyama, T. Ohura, H. Sakakibara, R. Kuruto, T. Amagai, K. Shimoi: A methoxyflavonoid, chrysoeriol, selectively inhibits the formation of a carcinogenic estrogen metabolite in MCF-7 breast cancer cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 118(1-2), 70-76, 2010.
85. H. Tamano, F. Kan, N. Oku, A. Takeda: Ameliorative effect of Yokukansan on social isolation-induced aggressive behavior of zinc-deficient young mice. *Brain Res. Bull.* 83, 351-355, 2010.
86. T. Tanikawa, K. Kurohane, Y. Imai: Regulatory effect of lysophosphatidic acid on lymphocyte migration. *Biol. Pharm. Bull.* 33, 204-208, 2010.
87. Y. Terada, M. Narukawa, T. Watanabe: Specific hydroxyl fatty acids in royal jelly activate TRPA1. *J. Agric. Food Chem.* 59, 2627-2635, 2011.
88. Y. Tobisawa, Y. Imai, M. Fukuda, H. Kawashima: Sulfation of colonic mucins by N-acetylglucosamine-6-O-sulfotransferase-2 and its protective function in experimental colitis in mice. *J. Biol. Chem.* 285, 6750-6760, 2010.
89. K. Tomiyama, H. Nakashima, Y. Arakawa, H. Kumagai: Mechanism underlying the olfactory disturbance induced by an intraperitoneal injection of tributyltin chloride in rats. *Toxicology*, 276, 110-114, 2010.
90. S. Tomono, N. Miyoshi, H. Shiokawa, T. Iwabuchi, Y. Aratani, T. Higashi, H. Nukaya, H. Ohshima: Formation of cholesterol ozonolysis products in vitro and in vivo through a myeloperoxidase-dependent pathway. *J. Lipid. Res.* 52(1): 87-97, 2011.
91. H. Tsutsui, T. Maeda, T. Toyo'oka, J.Z. Min, S. Inagaki, T. Higashi, Y. Kagawa: Practical analytical approach for the identification of biomarker candidates in prediabetic state based upon metabolomic study by ultra-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Proteome Res.* 9, 3912-3922, 2010.
92. H. Tsutsui, T. Maeda, J.Z. Min, S. Inagaki, T. Higashi, Y. Kagawa, T. Toyo'oka: Biomarker discovery in biological specimens (plasma, hair, liver and kidney) of diabetic mice based upon metabolite profiling using ultra-performance liquid chromatography with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin. Chim. Acta.* 412, 861-872, 2011.
93. T. Wakimoto, T. Asakawa, S. Akahoshi, T. Suzuki, K. Nagai, H. Kawagishi, T. Kan: Proof the existence of an unstable amino acid, pleurocybellaziridine, in Pleurocybella porrigens (angel's wing mushroom). *Angew. Chem. Int. Ed.* 50, 1168-1170, 2011.
94. M. Watanabe, T. Hirokawa, T. Kobayashi, A. Yoshida, Y. Ito, S. Yamada, N. Orimoto, Y. Yamasaki, M. Arisawa, S. Shuto: Investigation of the bioactive conformation of histamine H3 receptor antagonists by the cyclopropyllic strain-based conformational restriction strategy. *J. Med. Chem.* 53, 3585-3593, 2010.
95. M. Watanabe, H. Tamano, T. Kikuchi, A. Takeda: Susceptibility to stress in young rats after 2-week zinc deprivation. *Neurochem. Int.* 56, 410-416, 2010.
96. T. Watanabe, K. Ohnuki, K. Kobata: Studies on the metabolism and toxicology of emerging capsinoids. *Expert Opinion Drug Metab. Toxicol.* 7, 533-542, 2011.
97. S. Yamada, Y. Ito, Y. Taki, M. Seki, M. Nanri, F. Yamashita, K. Morishima, I. Komoto, K. Yoshida: The N-oxide metabolite contributes to bladder selectivity resulting from oral propiverine: muscarinic receptor binding and pharmacokinetics. *Drug Metab. Dis.* 38, 1314-1321, 2010.
98. T. Yamanaka, K. Tsujimura, T. Kondo, T. Matsumura, H. Ishida, M. Kiso, K. IP J. Hidari, T. Suzuki: Infectivity and pathogenicity of canine H3N8 influenza a virus in horses. *Influenza Other Respi. Viruses*, 4, 345-351, 2010.
99. A. Yoshida, S. Maruyama, D. Fukumoto, H. Tsukada, Y. Ito, S. Yamada: Noninvasive evaluation of brain muscarinic receptor occupancy of oxybutynin, darifenacin and imidafenacin in rats by positron emission tomography. *Life Sci.* 25, 175-180, 2010.
100. A. Yoshida, Y. Hirooka, Y. Sugata, M. Nitta, T. Manabe, S. Ido, K. Murakami, R. K. Saha, T. Suzuki, M. Ohshima, A. Yoshida, K. Itoh, K. Shimizu, N. Oku, T. Furuta, T. Asakawa, T. Wakimoto, T. Kan: Concise synthesis of catechin probes enabling analysis and imaging of EGCG. *Chem. Commun.* 47, 1794-1796, 2011.

平成23年度(2011 - 2012年)

以下は事業推進担当者および若手研究者が発表した主な原著論文(平成24年1月現在)

1. S. Akai, S. Ishida, K. Hatanaka, T. Ishii, N. Harada, H. Tsukada, N. Oku: Synthesis of long-chain [18F]deoxyfluoropoly(ethylene glycol) methyl ethers and their non-invasive pharmacokinetic analysis by positron emission tomography. *Mol. Pharm.* 8, 302-308, 2011.
2. T. Asai, S. Matsushita, E. Kenjo, T. Tsuzuku, N. Yonenaga, H. Koide, K. Hatanaka, T. Dewa, M. Nango, N. Maeda, H. Kikuchi, N. Oku: Dicyetyl phosphate-tetraetylenepentamine- based liposomes for systemic siRNA delivery. *Bioconjug. Chem.* 22, 429-435, 2011.
3. J. M. Barichello, S. Kizuki, T. Tagami, T. Asai, T. Ishida, H. Kikuchi, N. Oku, H. Kiwada: Agitation during lipoplex formation improves the gene knockdown effect of siRNA. *Int. J. Pharm.* 410, 153-160, 2011.
4. J. Chen, S. Yamada, Y. Hama, A. K. Shetty, T. Kobayashi, H. Oda, K. Seiki, E. Kim, T. Kimura, N. Takahashi, K. I.P.J. Hidari, T. Suzuki, Y. Suzuki, K. Sugahara: Unique heparan sulfate from shrimp heads exhibits a strong inhibitory effect on infections by dengue virus and Japanese encephalitis virus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 412(1) 136-142, 2011.
5. K. Fukushima, T. Takahashi, T. Masahiro, H. Ueyama, S. Ito, Y. Kurebayashi, T. Kawanishi, J.L. Mckimm-Breschkin, T. Takimoto, A. Minami, T. Suzuki: Plaque formation assay for human parainfluenza virus type 1. *Biol. Pharm. Bull.* 34, 996-1000, 2011.
6. R. Furuya, H. Kumagai, T. Miyata, H. Fukasawa, S. Isobe, N. Kinoshita, A. Hishida: High plasma pentosidine level is accompanied with cardiovascular events in hemodialysis patients. *Clin. Exp. Nephrol.* 16, Dec 9 2011.
7. Gaowa, W. W. W. Wu, Y. Yoshikawa, N. Ohashi, F. Kawamori, K. Sugiyama, M. Ohtake, M. Ohashi, S. Yamamoto, T. Kitano, N. Takada, H. Kawabata: Detection and characterization of *p44/msp2* transcript variants of *Anaplasma phagocytophilum* from naturally infected ticks and wild deer in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* in press.
8. S. Haramizu, F. Kawabata, K. Ohnuki, N. Inoue, T. Watanabe, S. Yazawa, T. Fushiki: Capsiate, a non-pungent capsaicin analog, reduces body fat without weight rebound like swimming exercise in mice. *Biomed. Res.* 32(4), 279-284, 2011.
9. M. Hayashi-Tsugane, M. Maekawa, Q. Qian, H. Kobayashi, S. Iida, K. Tsugane: A rice mutant displaying a heterochronically elongated internode carries a 100 kb deletion. *J. Genet. Genomics* 38, 123-128, 2011.
10. M. Hayashi-Tsugane, M. Maekawa, H. Kobayashi, S. Iida, K. Tsugane: Examination of transpositional activity of *nDart1* at different stages of rice development. *Genes Genet. Syst.* 86, 215-219, 2011.
11. T. Higashi, M. Suzuki, J. Hanai, S. Inagaki, J. Z. Min, K. Shimada, T. Toyo'oka: A specific LC/ESI-MS/MS method for determination of 25-hydroxyvitamin D3 in neonatal dried blood spots containing a potential interfering metabolite, 3-epi-25-hydroxyvitamin D3. *J. Sep. Sci.* 34, 725-732, 2011.
12. T. Higashi, T. Ichikawa, C. Shimizu, S. Nagai, S. Inagaki, J. Z. Min, H. Chiba, S. Ikegawa, T. Toyo'oka: Stable isotope-dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for determination of thyroxine in saliva. *J. Chromatogr. B.* 879, 1013-1017, 2011.
13. Y. Higuchi, K. Sage-Ono, R. Sasaki, N. Ohtsuki, A. Hoshino, S. Iida, H. Kamada, M. Ono: Constitutive expression of the *GIGANTEA* ortholog affects circadian rhythms and suppresses one-shot induction of flowering in *Pharbitis nil*, a typical short-day plant. *Plant Cell Physiol.* 52, 638-650, 2011.
14. M. Hiroi, T. Harada, F. Kawamori, N. Takahashi, T. Kanda, K. Sugiyama, T. Masuda, Y. Yoshikawa, N. Ohashi: A survey of  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in farm animals and raw retail meat in Shizuoka prefecture, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 64, 153-155, 2011.
15. Y. Hoshino, H. Koide, K. Furuya, W.W. Haberaecker, S.H. Lee, T. Kodama, H. Kanawaza, N. Oku, K.J. Shea: The rational design of a synthetic polymer nanoparticle that neutralizes a toxic peptide *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 33-38, 2012.
16. A. Ikari, A. Sanada, H. Sawada, C. Okude, C. Tonegawa, J. Sugatani: Decrease in transient receptor potential melastatin 6 mRNA stability caused by rapamycin in renal tubular epithelial cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 1808, 1502-1508, 2011.
17. A. Ikari, A. Takiguchi, K. Atomi, J. Sugatani: Epidermal growth factor increases clathrin-dependent endocytosis and degradation of claudin-2 protein in MDCK II cells. *J. Cell. Physiol.* 226, 2448-2456, 2011.
18. A. Ikari, A. Takiguchi, K. Atomi, T. Sato, J. Sugatani: Decrease in claudin-2 expression enhances cell migration in renal epithelial Madin-Darby canine kidney cells. *J. Cell. Physiol.* 226, 1471-1478, 2011.
19. A. Ikari, H. Sawada, A. Sanada, C. Tonegawa, Y. Yamazaki, J. Sugatani: Magnesium deficiency suppresses cell cycle progression mediated by increase in transcriptional activity of p21<sup>Cip1</sup> and p27<sup>Kip1</sup> in renal epithelial NRK-52E cells. *J. Cell. Biochem.* 112, 3563-3572, 2011.
20. A. Ikari, T. Sato, A. Takiguchi, K. Atomi, Y. Yamazaki, J. Sugatani: Claudin-2 knockdown decreases matrix metalloproteinase-9 activity and cell migration via suppression of nuclear Sp1 in A549 cells. *Life Sci.* 88, 628-633, 2011.
21. M. Imai, T. Watanabe, M. Hatta, S-C Das, M. Ozawa, K. Shinya, G. Zhong, A. Hanson, H. Katsura, S. Watanabe, C. Li, E. Kawakami, S. Yamada, M. Kiso, Y. Suzuki, E-A Maher, G. Neumann, Y. Kawaoka: Experimental adaptation of an influenza H5 haemagglutinin confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature*, in press.
22. S. Inagaki, H. Hirashima, S. Taniguchi, T. Higashi, J. Z. Min, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda, T. Toyo'oka: Rapid enantiomeric separation and simultaneous determination of phenethylamines by ultra high-performance liquid chromatography with fluorescence and mass spectrometric detection: application to the analysis of illicit drugs distributed in the Japanese market and biological samples. *Drug Test. Anal.* in press.
23. S. Inoue, K. Mochizuki, T. Goda: Jejunal induction of SI and SGLT1 genes in rats by high-starch/low-fat diet is associated with histone acetylation and binding of GCN5 on the genes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 57, 162-169, 2011.
24. T. Ishii, Y. Ichikawa, K. Minoda, K. Kusaka, S. Ito, Y. Suzuki, M. Akagawa, K. Mochizuki, T. Goda, T. Nakayama: Human serum albumin as an antioxidant in the oxidation of (-)-epigallocatechin gallate: participation of reversible covalent binding for interaction and stabilization. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75, 100-106, 2011.
25. K. Ito, S. Ito, T. Shimamura, S. Weyand, Y. Kawarasaki, T. Misaka, K. Abe, T. Kobayashi, A.D. Cameron, S. Iwata: Crystal structure of glucansucrase from dental caries pathogen *Streptococcus mutans*. *J. Mol. Biol.* 408, 177-186, 2011.

26. Y. Iwasaki, Y. Tamura, K. Inayoshi, M. Narukawa, K. Kobata, H. Chiba, E. Muraki, N. Tsunoda, T. Watanabe: Effect of monoacylglycerol on diet-induced obesity in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75(5), 904-909, 2011.
27. Y. Johzuka-Hisatomi, H. Noguchi, S. Iida: The molecular basis of incomplete dominance at the A locus of *CHS-D* in the common morning glory, *Ipomoea purpurea*. *J. Plant Res.* 124, 299-304, 2011.
28. T. Kanehira, Y. Nakamura, K. Nakamura, K. Horie, N. Horie, K. Furugori, Y. Sauchi, H. Yokogoshi: Relieving occupational fatigue by consumption of a beverage containing  $\gamma$ -amino butyric acid. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 57, 9-15, 2011.
29. Y. Kato, M. Onishi, K. Haraguchi, S. Ikushiro, C. Ota, N. Koga, T. Endo, S. Yamada, M. Degawa: A possible mechanism for 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 254, 48-55, 2011.
30. K. Kimata, M. Yamaguchi, Y. Saito, H. Hata, K. Miyake, T. Yamane, Y. Nakagawa, A. Yano, K. Ito, Y. Kawarasaki: High cell-density expression system: A novel method for extracellular production of "difficult-to-express" proteins. *J. Biosci. Bioeng.* 113, 154-159, 2012.
31. K. Kobata, M. Mimura, M. Sugawara, T. Watanabe: Synthesis of stable isotope-labeled precursors for the biosyntheses of capsaicinoids, capsinoids, and capsinonoids. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75(8), 1611-1614, 2011.
32. A. Kobayashi, H. Yokoyama, J. Kataoka, T. Ishida, H. Kuno, S. Sugai, H. Sakakibara, K. Shimoi: Effects of spaced feeding on gene expression of hepatic transaminase and gluconeogenic enzymes in rats. *J. Toxicol. Sci.* 36(3), 325-37, 2011.
33. C. Kobayashi, K. Kurohane, Y. Imai: High dose dietary pyridoxine induces T-helper type 1 polarization and decreases contact hypersensitivity response to fluorescein isothiocyanate in mice. *Biol. Pharm. Bull.* in press.
34. H. Koide, T. Asai, K. Furuya, T. Tsuzuku, H. Kato, T. Dewa, M. Nango, N. Maeda, N. Oku: Inhibition of Akt(ser473) Phosphorylation and Rapamycin-Resistant Cell Growth by Knockdown of Mammalian Target of Rapamycin with Small Interfering RNA in Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1-Targeting Vector. *Biol. Pharm. Bull.* 34, 602-608, 2011.
35. T. Kojima, N. Nagao, D. Ando, T. Ojima, Y. Kawarasaki, I. Kobayashi, M. Nakajima, H. Nakano: Emulsion culture: A miniaturized library screening system based on micro-droplets in an emulsified medium. *J. Biosci. Bioeng.* 112, 299-303, 2011.
36. M. Kojima, T. Ashino, T. Yoshida, Y. Iwakura, M. Degawa: Interleukin-1 controls the constitutive expression of the *Cyp7a1* gene by regulating the expression of *Cyp7a1* transcriptional regulators in the mouse liver. *Biol. Pharm. Bull.* 34, 1644-1647, 2011.
37. Y.L. Lai, S. Aoyama, M. Ohata, N. Otsuka, H. Shiokawa, S. Tomono, Y. Fujiwara, H. Kanazawa, N. Miyoshi, H. Ohshima: Dysregulation of dimethylargininedimethylaminohydrolase/asymmetricdimethylarginine pathway in rat type II diabetic nephropathy. *J.Clin.Biochem.Nutr.* in press.
38. Y.L. Lai, S. Tomono, N. Miyoshi, H. Ohshima: Inhibition of endothelial- and neuronal-type, but not inducible-type, nitric oxide synthase by the oxidized cholesterol metabolite secosterol aldehyde: Implications for vascular and neurodegenerative diseases. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 50, 84-89, 2012.
39. R. Mabuchi, A. Kurita, N. Miyoshi, A. Yokoyama, T. Furuta, T. Goda, Y. Suwa, T. Kan, T. Amagai, H. Ohshima: Analysis of N<sup>ε</sup>-ethyllysine in human plasma proteins by gas chromatography- negative ion chemical ionization/mass spectrometry as a biomarker for exposure to acetaldehyde and alcohol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* in press.
40. S. Matsumoto, T. Asakawa, Y. Hamashima, T. Kan: A Short-step Asymmetric Synthesis of Dehydrodiconiferyl Alcohol by Means of C-H Insertion Reaction. *Synlett*, in press.
41. K. Matsumoto, T. Takeuchi, N. Yokoyama, Y. Katagiri, M. Ooshiro, S. Zakimi, Gaowa, F. Kawamori, N. Ohashi, H. Inokuma: Detection of the new *Ehrlichia* species closely related to *Ehrlichia ewingii* from *Haemaphysalis longicornis* in Yonaguni Island, Okinawa, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 73, 1485-1488, 2011.
42. J. Z. Min, H. Yano, A. Matsumoto, H-f Yu, Q. Shi, T. Higashi, S. Inagaki, T. Toyo'oka: Simultaneous determination of polyamines in human nail as 4-(N,N-dimethylaminosulfonyl)-7-fluoro- 2,1,3-benzoxadiazole derivatives by nano-flow chip LC coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *Clin. Chim. Acta.* 412, 98-106, 2011.
43. J. Z. Min, S. Hatanaka, H-f Yu, T. Higashi, S. Inagaki, T. Toyo'oka: Determination of DL-amino acids, derivatized with R(-)-4-(3-isothiocyanatopyrrolidin-1-yl)-7-(N,N-dimethylaminosulfonyl)-2,1,3-benzoxadiazole, in nail of diabetic patients by UPLC-ESI-TOF-MS. *J. Chromatogr. B* 879, 3220-3228, 2011.
44. J. Z. Min, Y. Suzuki, Y. Tomiyasu, D. Jin, T. Higashi, Y-I Lee, T. Toyo'oka: Development of novel active acceptors possessing a positively charged structure for the transglycosylation reaction with Endo-M and their application to oligosaccharide analysis. *Rapid. Commun. Mass Spectrom.* 25, 2911-2922, 2011.
45. A. Minami, H. Shimizu, Y. Meguro, N. Shibata, H. Kanazawa, K. Ikeda, T. Suzuki: Imaging of sialidase activity in rat brain sections by a highly sensitive fluorescent histochemical method. *NeuroImage*, 58, 34-40, 2011.
46. S. Misaka, R. Nakamura, S. Uchida, K. Takeuchi, N. Takahashi, N. Inui, K. Kosuge, S. Yamada, H. Watanabe: Effect of two weeks consumption of pomegranate juice on the pharmacokinetics of single dose of midazolam: an open-labeled, randomized, single-center, two-period crossover study in healthy Japanese volunteers. *Clin. Therap.* 33, 246-252, 2011.
47. K. Miyamoto, S. Higashino, K. Mochizuki, T. Goda, K. Koyama: Evaluation of weight loss in the community-dwelling elderly with dementia as assessed by eating behavior and mental status. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 20, 9-13, 2011.
48. K. Mochizuki, A. Ishihara, T. Goda, K. Yamauchi: RNA polymerase II phosphorylation at serine 2 and histone H3 tri-methylation at lysine 36 are key steps for thyroid hormone receptor b gene activation by thyroid hormone in *Rana catesbeiana* tadpole liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* in press.
49. K. Mochizuki, R. Miyauchi, Y. Misaki, Y. Ichikawa, T. Goda: Principal component 1 score calculated from metabolic syndrome diagnostic parameters is a possible marker for the development of metabolic syndrome in middle-aged Japanese men without treatment for metabolic diseases. *Eur. J. Nutr.*, in press.
50. K. Mochizuki, Y. Misaki, R. Miyauchi, S. Takabe, M. Shimada, K. Kuriki, Y. Ichikawa, T. Goda: A higher rate of eating is associated with higher circulating IL-1b concentrations in Japanese men without treatment for metabolic diseases. *Nutrition*, in press.

51. K. Nemoto, S. Ito, C. Yoshida, M. Miyata, M. Kojima, M. Degawa: Hepatic expression of spermatogenic genes and their transiently remarkable downregulations in Wistar-Kyoto rats in response to lead nitrate-administration: strain-difference in the gene expression patterns. *J. Toxicol. Sci.* 36, 357-364, 2011.
52. K. Nishikawa, T. Asai, H. Shigematsu, K. Shimizu, H. Kato, Y. Asano, S. Takashima, E. Mekada, N. Oku, T. Minamino :Development of anti-HB-EGF immunoliposomes for the treatment of breast cancer. *J. Control. Release*, 2011.
53. R. Nishino, K. Ikeda, T. Hayakawa, T. Takahashi, T. Suzuki, M. Sato: Syntheses of 2-deoxy-2, 3-didehydro-N-acetylneuraminic acid analogues modified by N-sulfonylamidino groups at the C-4 position and biological evaluation as inhibitors of human parainfluenza virus type 1. *Bioorg. Med. Chem.* 19, 2418-2427, 2011.
54. M. Ogata, M. Yano, M. Umemura, S. Murata, T., Park EY, Y. Kobayashi, T. Asai, N. Oku, N. Nakamura, I. Matsuo, T. Usui: Design and Synthesis of High-Avidity Tetravalent Glycoclusters as Probes for Sambucus sieboldiana Agglutinin and Characterization of their Binding Properties. *Bioconjug Chem.* 23, 97-105, 2012.
55. Y. Ohhara, Y. Kayashima, Y. Hayashi, S. Kobayashi, K. Yamakawa-Kobayashi: Expression of  $\beta$ -adrenergic-like octopamine receptors during Drosophila development. *Zoolog.Sci.* 29, 83-89, 2011.
56. S. Ohno, M. Hosokawa, A. Hoshino, Y. Kitamura, Y. Morita, K. I. Park, A. Nakashima, A. Deguchi, F. Tatsuzawa, M. Doi, S. Iida, S. Yazawa: A bHLH transcription factor, *Dvl5*, is involved in regulation of anthocyanin synthesis in dahlia (*Dahlia variabilis*). *J. Exp. Bot.* 62, 5105-5116, 2011.
57. N. Oku, M. Yamashita, Y. Katayama, T. Urakami, K. Hatanaka, K. Shimizu, T. Asai, H. Tsukada, S. Akai, H. Kanazawa: PET imaging of brain cancer with positron emitter-labeled liposomes. *Int. J. Pharm.* 403, 170-177, 2011.
58. S. Okuyama, K. Tashiro, N-V Lam, T. Hatakeyama, T. Terashima, H. Yokogoshi: Effect of the edible mushroom *Mycoleptodonoides aitchisonii* on transient global ischemia-induced monoamine metabolism changes in rat cerebral cortex. *J. Med. Food.* 15(1), 96-99, 2012.
59. S. Onoue, A. Uchida, H. Takahashi, Y. Seto, Y. Kawabata, K. Ogawa, K. Yuminoki, N. Hashimoto, S. Yamada: Development of high-energy amorphous solid dispersion of nanosized nobiletin, a citrus polymethoxylated flavone, with improved oral bioavailability. *J Pharm Sci.* 100, 3793-3801, 2011.
60. S. Onoue, Y. Seto, M. Ochi, R. Inoue, H. Ito, T. Hatano, S. Yamada: *In vitro* photochemical and phototoxicological characterization of major constituents in St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) extracts. *Phytochemistry.* 72, 1814-1820, 2011.
61. M. Pervin, N. Paeng, K. Yasui, S. Imai, M. Isemura, H. Yokogoshi, T. Nakayama: Effects of Lens culinaris agglutinin on gene expression of gluconeogenic enzymes in the mouse intestine. *J. Sci. Food Agric.* in press.
62. K. Sakai-Kato, T. Hasegawa, A. Takaoka, M. Kato, T. Toyo'oka, N. Utsunomiya-Tate, T. Kawanishi: Controlled structure and properties of silicate nanoparticle networks for incorporation of biosystem components. *Nanotechnology*, 22, 205702 (pp1-8), 2011.
63. K. Shintaku, K. Uchida, Y. Suzuki, M. Kashio, Z. Yiming, Y. Takayama, T. Fushiki, T. Watanabe, S. Yazawa, M. Tominga: Activation of TRPA1 by a non-pungent capsaicin-like compound, capsiate. *Br. J. Pharmacol.* in press.
64. Y. Suzuki, N. Miyoshi, M. Isemura: Health-promoting effects of green tea. *Proc. Japan Acad. Ser B.* in press.
65. K. Suzuki, T. Koyama, S. Yingsakmongkon, Y. Suzuki, K. Hatano, K. Matsuoka: Synthesis and biological evaluation of sialic acid derivatives containing a long hydrophobic chain at the anomeric position and their C-5 linked polymers as potent influenza virus inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20, 446-454, 2012.
66. Y. Takanami, T. Nakayama: Evaluation of superoxide anion radicals generated from aqueous extract of particulate phase cigarette smoke by electron spin resonance using 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75, 34-39, 2011.
67. A. Takeda, H. Tamano, T. Ogawa, S. Takada, M. Ando, N. Oku, M. Watanabe: Significance of serum glucocorticoid and chelatable zinc in depression and cognition in zinc deficiency. *Behav. Brain Res.* 226, 259-264, 2012.
68. A. Takeda, H. Tamano, M. Suzuki, K. Sakamoto, N. Oku, H. Yokogoshi: Unique induction of CA1 LTP components after intake of theanine, an amino acid in tea leaves and its effect on stress response. *Cell. Mol. Neurobiol.* 32, 41-48, 2012.
69. A. Takeda, K. Itagaki, M. Ando, N. Oku: Involvement of NMDA receptor subunits in zinc-mediated modification of CA1 LTP in the developing hippocampus. *J. Neurosci. Res.* 90, 551-558, 2012.
70. A. Takeda, K. Sakamoto, H. Tamano, K. Fukura, N. Inui, S. W. Suh, S-J Won, H. Yokogoshi: Facilitated neurogenesis in the developing hippocampus after intake of theanine, an amino acid in tea leaves, and object recognition memory. *Cell. Mol. Neurobiol.* 31, 1079-1088, 2011.
71. A. Takeda, M. Suzuki, H. Tamano, S. Takada, K. Ide, N. Oku: Involvement of glucocorticoid-mediated Zn<sup>2+</sup> signaling in attenuation of hippocampal CA1 LTP by acute stress. *Neurochem. Int.* in press.
72. A. Takeda, S. Takada, M. Nakamura, M. Suzuki, H. Tamano, M. Ando, N. Oku: Transient increase in Zn<sup>2+</sup> in hippocampal CA1 pyramidal neurons causes reversible memory deficit. *PLoS One*, 6, e28615, 2011.
73. Y. Taki, E. Hagiwara, C. Hirose, K. Shinozuka, K. Umegaki, S. Yamada: Effects of *Ginkgo biloba* extract on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tolbutamide in protein-restricted rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 63, 1238-1243, 2011.
74. T. Tanaka, T. Ishii, D. Mizuno, T. Mori, R. Yamaji, Y. Nakamura, S. Kumazawa, T. Nakayama, M. Akagawa: (-)-Epigallocatechin-3-gallate suppresses growth of AZ521 human gastric cancer cells by targeting the DEAD-box RNA helicase p68. *Free Radic. Biol. Med.* 50, 1324-1335, 2011.
75. T. Tanikawa, K. Kurohane, Y. Imai: Regulatory Effect of Cannabinoid receptor agonist on chemokine-induced lymphocyte chemotaxis. *Biol. Pharm. Bull.* 34, 1090-1093, 2011.
76. Y. Tobisawa, T. Maruyama, T. Tanikawa, K. Nakanishi, K. Kurohane, Y. Imai: Establishment of recombinant hybrid-IgG/IgA immunoglobulin specific for Shiga toxin. *Scand. J. Immunol.* 76, 574-584, 2011.
77. K. Tokutomi, T. Tagawa, M. Korenaga, M. Chiba, T. Asai, N. Watanabe, S. Takeoka, M. Handa, Y. Ikeda, N. Oku: Decoration of fibrinogen  $\gamma$ -chain peptide on adenosine diphosphate-encapsulated liposomes enhances binding of the liposomes to activated platelets. *Int. J. Pharm.* 407, 151-157, 2011.
78. S. Tomono, N. Miyoshi, M. Ito, T. Higashi, H. Ohshima: A highly sensitive LC-ESI-MS/MS method for the quantification of cholesterol ozonolysis products secosterol-A and secosterol-B after derivatization with 2-hydrazino-1-methylpyridine. *J. Chromatogr. B.* 879, 2802-2808, 2011.
79. H. Tsuboi, H. Sakakibara, K. Yamakawa-Kobayashi, A. Tatsumi, T. Inamori, R. Hamamoto, A. Suzuki, K. Shimoi: Val1483Ile polymorphism in the fatty acid synthase gene was associated with depressive symptoms under the influence of psychological stress. *J. Affect. Disorders.* 134(1-3), 448-485, 2011.
80. K. Tsujioka, M. Ohsumi, K. Sakamoto, P. Thanapreedawat, M. Akao, M. Kim, K. Hayase, H. Yokogoshi: Effect of dietary  $\gamma$ -aminobutyric acid on the brain protein synthesis rate in hypophysectomized aged rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 57(4), 285-291, 2011.
81. Y. Uekusa, M. Kamihira-Ishijima, O. Sugimoto, T. Ishii, S. Kumazawa, K. Nakamura, K. Tanji, A. Naito, T. Nakayama: Interaction of epicatechin gallate with phospholipid membranes as revealed by solid-state NMR spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta.* 1808, 1654-1660, 2011.
82. K. Unno, K. Fujitani, N. Takamori, F. Takabayashi, K.I. Maeda, H. Miyazaki, K. Iguchi, K. Shimoi, M. Hoshino: Theanine intake improves the shortened lifespan, cognitive dysfunction and behavioural depression that are induced by chronic psychosocial stress in mice. *Free Radic. Res.* 45(8), 966-974, 2011.
83. T. Wakimoto, H. Kondo, H. Nii, K. Kimura, Y. Egami, Y. Oka, M. Yoshida, E. Kida, Y. Ye, S. Akahoshi, T. Asakawa, K. Matsumura, H. Ishida, H. Nukaya, K. Tsuji, T. Kan, I. Abe: Furan fatty acid as an anti-inflammatory component from green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 17533-17537, 2011.
84. T. Wakimoto, K. Miyata, H. Ouchi, T. Asakawa, H. Nukaya, Y. Suwa, T. Kan: Enantioselective Total Synthesis of Aiperidine. *Org. Lett.* 13, 2789-2791, 2011.
85. Y. Watanabe, M. S. Ibrahim, H. F. Ellakany, N. Kawashita, R. Mizuike, H. Hiramatsu, N. Sriwilajaroen, T. Takagi, Y. Suzuki, K. Ikuta: Acquisition of Human-Type Receptor Binding Specificity by New H5N1 Influenza Virus Sublineages during Their Emergence in Birds in Egypt. *PLoS Pathogens*, 7(5), e-1002068, 2011.
86. S. Wichit, A. Jittmitrathap, K. I.P.J. Hidarj, B. Thaisomboonsuk, S. Petmitr, S. Ubol, C. Aoki, S. Itonori, K. Morita, T. Suzuki, Y. Suzuki, W. Janpangem: Dengue virus type 2 recognizes the carbohydrate moiety of neutral glycosphingolipids in mammalian and mosquito cells. *Microbiol. and Immunol.* 55, 135-140, 2011.
87. S. Yamada, K. Shinya, A. Takada, T. Ito, T. Suzuki, Y. Suzuki, Q. Le, M. Ebina, N. Kasai, H. Kida, T. Horimoto, P. Rivallier, L. Chen, R. Donis, Y. Kawaoka: Adaptation of a duck influenza A virus in quail. *J. Virol.* 86, 1411-1420, 2012.
88. S. Yamada, M. Seki, M. Ogoda, A. Fukata, M. Nakamura, Y. Ito: Selective binding of bladder muscarinic receptors in relation to the pharmacokinetics of a novel antimuscarinic agent, imidafenacin, to treat overactive bladder. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 336, 365-371, 2011.
89. H. Yamaguchi, Y. Hirakura, H. Shirai, H. Mimura, T. Toyo'oka: Quantitative evaluation of protein conformation in pharmaceuticals using cross-linking reactions coupled with LC-MS/MS analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 55, 574-582, 2011.
90. K. Yamakawa-Kobayashi, M. Natsume, S. Aoki, S. Nakano, T. Inamori, N. Kasezawa, T. Goda: The combined effect of the T2DM susceptibility genes is an important risk factor for T2DM in non-obese Japanese: a population based case-control study. *BMC Med. Genet.* in press.
91. S. Yamamoto, S. Maruyama, Y. Ito, M. Kawamata, S. Nishiyama, H. Ohba, H. Tsukada, S. Yamada: Effect of oxybutynin and imidafenacin on central muscarinic receptor occupancy and cognitive function: A monkey PET study with [<sup>11</sup>C](+)-3-MPB. *NeuroImage*. 58, 1-9, 2011.
92. Y. Yamazaki, T. Hashizume, H. Morioka, S. Sadamitsu, A. Ikari, M. Miwa, J. Sugatani: Diet-induced lipid accumulation in liver enhances ATP-binding cassette transporter g5/g8 expression in bile canaliculi. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 26, 442-450, 2011.
93. K. Yasui, H. Tanabe, N. Miyoshi, T. Suzuki, S. Goto, K. Taguchi, Y. Ishigami, N. Paeng, R. Fukutomi, S. Imai, M. Isemura: Effects of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate on expression of gluconeogenesis-related genes in the mouse duodenum. *Biomed. Res.* 32, 313-320, 2011.
94. K. Yasui, N. Miyoshi, H. Tababe, Y. Ishigami, R. Fukutomi, S. Imai, M. Isemura: Effects of Oolong tea on gene expression of gluconeogenic enzymes in the mouse liver and in rat hepatoma H4IIE cells. *J. Med. Food.* 14, 930-938, 2011. Epub 2011 Aug 3.
95. K. Yasui, N. Miyoshi, H. Tanabe, Y. Ishigami, R. Fukutomi, S. Imai, M. Isemura: Effects of a catechin-free fraction derived from green tea on gene expression of gluconeogenic enzymes in rat hepatoma H4IIE cells and in the mouse liver. *Biomed. Res.* 32, 119-125, 2011.
96. K. Yasui, N. Paeng, N. Miyoshi, T. Suzuki, K. Taguchi, Y. Ishigami, R. Fukutomi, S. Imai, M. Isemura, T. Nakayama: Effects of a catechin-free fraction derived from green tea on gene expression of enzymes related to lipid metabolism in the mouse liver. *Biomed. Res.* in press.
97. N. Yonenaga, E. Kenjo, T. Asai, A. Tsuruta, K. Shimizu, T. Dewa, M. Nango, N. Oku: RGD-based active targeting of novel polycation liposomes bearing siRNA for cancer treatment. *J. Control. Release*, in press.
98. T. Yoshida, H. Kumagai, A. Suzuki, N. Kobayashi, S. Ohkawa, M. Odamaki, T. Kohsaka, T. Yamamoto, N. Ikegaya: Relaxin ameliorates salt-sensitive hypertension and renal fibrosis. *Nephrol Dial. Transplant.* 27, Nov.15, 2011.
99. Y. Yoshinaga, K. Mochizuki, T. Goda: Trimethylation of histone H3K4 is associated with the induction of fructose-inducible genes in rat jejunum. *Biochem. Biophys. Res. Commu.* in press.
100. A. Yoto, S. Murao, M. Motoki, H. Yokogoshi: Oral intake of gamma-aminobutyric acid affects mood and activities of central nervous system during stressed condition induced by mental tasks. *Amino Acids*, in press.

## 平成19年度(2007 - 2008年)

1. Y. Imai, T. Tanikawa, Y. Tobisawa, S. Narimatu, K. Kurohane, Y. Niwa, M. Shimizu, H. Kobayashi: Antibody and plantibody induced by mucosal immunization for high profile food. *Proceeding of The 2dn Symposium on Pharmaceutical Food Science*, p. 83, 2007.
2. H. Kumagai: Nutritional therapy for patients undergoing hemodialysis. In "Nutrition and Kidney Disease" (H. Suzuki, and P.L. Kimmel, eds.), Karger, Basel. pp. 59-71, 2007.
3. M. Morita, T. Ohura, R. Kuruto-Niwa, H. Sakakibara, T. Amagai, K. Shimoi: Chlorinated phenanthrenes Induce CYPIA1 through aryl hydrocarbon receptor activation. In "POPs in Asia", 2008.
4. M. Nakayama, and N. Yoshimura: Skill development in a short-term English study abroad program. *Selected Papers from the 2006 Annual Research Forum of the Linguistic Society of Hong Kong*, pp. 55-66, 2008.
5. M. Nakayama, and N. Yoshimura: Oral presentation skills in short-term English study abroad programs. *CD-ROM of the 25th Conference of English Teaching and Learning in R.O.C. and 2008 International Conference on English Instruction and Assessment*. pp. 1-18, 2008.
6. H. Ohshima, S. Tomono, Y.-L. Lai, N. Miyoshi: Inflammation induced carcinogenesis and chemoprevention. In "Chemoprevention of cancer and DNA damage by dietary factors" (S. Knasmüller, D.M. DeMarini, I.T. Johnson, and C. Gerhäuser eds.), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 28, 191-198, 2008.
7. S. Onoue, S. Yamada, T. Yajima: Bioactive analogues and drug delivery systems of vasoactive intestinal peptide (VIP) for the treatment of asthma/COPD. *Peptides*, 28, pp. 1640-1650, 2007.
8. Y. Suzuki: The highly pathogenic avian flu viruses and the molecular mechanism of the transmission of the viruses into humans. *Comprehensive Glycoscience from Chemistry to Systems Biology, Glycoconjugates and viral infections*. Elsevier Publishing Book, Nov. Issue, pp. 465-471, 2007.
9. T. Toyo'oka: Determination methods for biologically active compounds by ultra-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry: Application to the analyses of pharmaceuticals, foods, plants, environments, metabonomics and metabolomics. *J. Chromatogr. Sci.* 46, pp. 233-247, 2008.
10. A. Takeda: Involvement of zinc in neuronal death in the hippocampus. *Biomed. Res. Trace Elements*, 18, pp. 204-210, 2007.
11. T. Urakami, and N. Oku: Current status of siRNA drug delivery technology and siRNA drug development. *Open Drug Delivery Rev.* 1, pp. 1-7, 2007.
12. 内田信也, 山田静雄: 食品・サプリメントと医薬品との相互作用. *ぶんせき* 9, pp. 454-460, 2007.
13. 大島寛史, 三好規之: 『がん予防 酸化ストレスの医学』 診断と治療社 2008.
14. 浅井知浩, 米澤 正, 奥 直人: 腫瘍新生血管標的化リボソーム *Mebio Oncology*, 4, pp. 48-57, 2007.
15. 木苗直秀: 食品と健康長寿 Food and Health Longevity, 薬学雑誌, 127, pp. 399-406, 2007.
16. 木苗直秀, 増田修一: Functional Food(共著)『糖尿病と機能性食品』フジメディカル出版(2008)
17. 木苗直秀, 増田修一: 機能性食品の安全性ガイドブック(イソチオシアネート) 糖サイエンスフォーラム, pp. 223-227, 2007.
18. 木苗直秀, 増田修一: 機能性食品の科学(共著)『アブラナ科野菜の生理活性』(株)フジ・テクノシステム(2007)
19. 熊谷裕通: これからの管理栄養士のためのカルテの読み方～検査値と数式の理解を中心に～ カザン, 東京. pp. 1-117, 2007.
20. 下位香代子:(ポリ)メトキシフラボノイドの多彩で有用な生理作用 FOOD Style 21, pp. 1150-51, 2007.
21. 下位香代子: 10 有機酸 - 10.1 アミノ酸, "機能性食品の辞典", 朝倉書店, pp. 182-187, 2007.
22. 鈴木 隆, 高橋忠伸, 左 一八: インフルエンザウイルス感染におけるスパイク糖タンパク質とシアロ複合糖質の役割. 実験医学 波及・深化する糖鎖研究 25(7) pp. 30-36, 2007.
23. 鈴木 隆, 高橋忠伸, 鈴木康夫: インフルエンザウイルス感染におけるスルファチドの機能. 蛋白質核酸酵素(増刊号)糖鎖情報の独自性と普遍性(2007)
24. 鈴木康夫: 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスのヒトレセプター認識特異性変異 サーベイランスの必要性 BMSA 会誌, 19 pp. 18-19, 2007.
25. 武田厚司: 脳機能と微量元素. *Clinical Neuroscience*, 25, pp. 868-869, 2007.
26. 山田康輔, 熊谷裕通: 栄養スクリーニング法 臨床透析, 23, pp. 105-112, 2007.
27. 山田静雄, 伊藤由彦: 特集 --- 前立腺肥大症診療 Update--- 前立腺肥大症に対する補完代替療法の現状と将来, *Urology View*, 5, pp. 44-50, 2007.
28. 山田静雄: 高齢者の排尿障害とサプリメントの効果的な利用法, 日本抗加齢医学会雑誌, アンチ・エイジング医学(特集 エビデンスサプリ)3, pp. 409-415, 2007.
29. 横越英彦, 寺島健彦: 第8章 8.3.2 その他の食品, 『メタボリック症候群と栄養』(編者) 幸書房, pp. 160-175, 2007.
30. 横越英彦: 『ストレスとGABA』(著者) 新静新書(静岡新聞社) pp. 1-137, 2007.
31. 横越英彦: 4.5 栄養, 『ストレスの科学と健康』(分担) 共立出版, pp. 175-179, 2000.
32. 横越英彦: プロローグ メタボリック症候群の敬意と栄養学的アプローチ, 『メタボリック症候群と栄養』(編者) 幸書房, pp. 1-4, 2007.
33. 横越英彦: 第5章 食品成分と脳機能の行動評価法, 『食品の生理機能評価法～実験系とツールの新展開を目指して～』(責任編集) 建帛社, pp. 99-114, 2007.
34. 横越英彦: 第8章 8.1.1 メタボリック症候群と食品機能, 『メタボリック症候群と栄養』(編者) 幸書房, pp. 137-140, 2007.
35. 藤野(隠岐)知美, 山田静雄: 機能性素材の安全性データ解析. 複合成分・植物素材: ノコギリヤシの機能性および概要. 機能性食品の安全性ガイドブック 津志田藤二郎, 梅垣敏三, 井上浩一, 村上 明 編, (株)サイエンスフォーラム) pp. 308-313, 2007.
36. 渡辺達夫: カプサイシン "抗肥満食品・素材の開発と応用展開-メタボリックシンドロームにおけるバイオマーカーの確立と応用"(大澤俊彦 監修) シーエムシー出版, pp. 108-117, 2007.

## 平成20年度(2008 - 2009年)

1. T. Goda, Y. Kajiya, K. Suruga, H. Tagami: Estimation of metabolizable energy of resistant maltodextrin by indirect calorimetry in healthy human subjects and experimental animals. In "Dietary Fiber – An International Perspective for Harmonization of Health Benefits and Energy Values," (D.T.Gordon, T. Goda, eds.) AACC International, Inc., Minnesota, pp.123-134, 2008.
2. M. Isemura: Apoptosis-inducing activity of catechins. In "Beneficial Health Effects of Green Tea", (M. Isemura, ed.), Recent Research Developments in Phytochemistry Series, Research Signpost, Kerala, 2009.
3. M. Nakayama, N. Yoshimura: Skill development in a short-term English study abroad program. Selected papers from the 2006 Annual Research Forum of the Linguistic Society of Hong Kong. (C. Wong, ed.), Linguistic Society of Hong Kong, pp.55-66, 2008.
4. H. Ohshima, S. Tomono, Y.-L. Lai, N. Miyoshi: Inflammation Induced Carcinogenesis and Chemoprevention. In "Chemoprevention of Cancer and DNA Damage by Dietary Factors", (S. Knasmüller, D. M. DeMarini, I. T. Johnson, C. Gerhäuser, eds.), WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2009.
5. Y. Suzuki (Review): Developing an assay system for the hemagglutinin mutations responsible for the binding of highly pathogenic avian influenza A viruses to human-type receptors. In "Experimental Glycoscience (Glycobiology)", Springer, New York, pp.225-226, 2008.
6. Y. Suzuki, M. Sazuka, S. Isemura, M. Isemura: Interaction of green tea catechins with proteins. In "Beneficial Health Effects of Green Tea" (M. Isemura, ed.), Recent Research Developments in Phytochemistry Series, Research Signpost, Kerala, 2009.
7. 大島寛史, 三好規之: 『がん予防 酸化ストレスの医学, 診断と治療社』, pp.329-337, 2008.
8. 菅 敏幸: エクチナサイジン 743 の合成. 天然物化学 - 海洋生物編 -, pp.264, 2008.
9. 木苗直秀: 茶葉成分とメイラード反応縮合物の生成抑制効果. Functional Food - 機能性食品の基礎から臨床へ -, フジメディカル出版, pp.73-78, 2008.
10. 木苗直秀, 増田修一: 糖尿病と機能性. Functional Food - 機能性食品の基礎から臨床へ -, フジメディカル出版, pp.12-16, 2008.
11. 木苗直秀, 増田修一: 『アブラナ科野菜(イソチオシアネートの生理活性)』, 『ワサビの生理的効果』, 『アブラナ科野菜の安全性』, 『栄養への影響』 食品機能性の科学. 株式会社産業技術サービスセンター, pp.252-266, 2008.
12. 合田敏尚: 栄養学 健康から疾病まで. サプリメントアドバイザー必携 第3版(日本サプリメントアドバイザー認定機構編集), 薬事日報社, pp.34-56, 2008.
13. 菅谷純子, 三輪匡男: 加水分解酵素. 酵素ハンドブック(第3版) 朝倉書店, pp.557-559, 2008.
14. 菅谷純子, 三輪匡男: 加水分解酵素. 酵素ハンドブック(第3版) 朝倉書店, pp.832, 2008.
15. 鈴木 隆, 高橋忠伸, 鈴木康夫: 蛋白質, 核酸, 酵素. インフルエンザウイルス感染におけるスルファチドの機能, 共立出版, pp.1676-1682, 2008.
16. 武田厚司: 亜鉛と脳機能. 臨床検査, Medical Finder, pp.197-201, 2009.
17. 横越英彦: 栄養. ストレスの科学と健康, 共立出版, pp.175-179, 2008.
18. 横越英彦: ストレス軽減効果(テアニン) 紅茶の保健機能と文化, 株式会社アイ・ケイコーポレーション, pp.131-137, 2008.
19. 横越英彦: 機能性素材としてのアミノ酸, 3. - アミノ酪酸(GABA)・テアニン. アミノ酸の科学と最新応用技術, 株式会社シーエムシー出版, pp.246-254, 2008.
20. 横越英彦: ストレスとアミノ酸の効果. 脳と栄養ハンドブック, 株式会社サイエンスフォーラム, pp.269-275, 2008.
21. 横越英彦: 代謝栄養学とは なぜ、食べなければならないの? ネオエスカ「代謝栄養学」. 同文書院, pp.1-4, 2008.
22. 横越英彦: その他の体内代謝調節因子 食事でガンや生活習慣病が防げるの? ネオエスカ「代謝栄養学」. 同文書院, pp.159-176, 2008.
23. 横越英彦: 栄養と脳機能 食べ物で頭がよくなるか? ネオエスカ「代謝栄養学」. 同文書院, pp.193-202, 2008.

## 平成21年度(2009 - 2010年)

1. T. Asai, N. Oku: Angiogenic vessel-targeting DDS by liposomalized oligopeptides. In "Liposomes: Methods and protocols" (V. Weissig ed.), Humana Press Springer, N.Y., Vol.1, pp335-347, 2010.
2. H. Ohshima, S. Tomono, Y.-L. Lai, N. Miyoshi: Inflammation Induced Carcinogenesis and Chemoprevention. In "Chemoprevention of Cancer and DNA Damage by Dietary Factors", (S. Knasmüller, D. M. DeMarini, I. T. Johnson, C. Gerhäuser, eds.), WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA (WILEY-VCH), Weinheim, pp145-152, 2009.
3. N. Oku, T. Ishii: Antiangiogenic Photodynamic Therapy with Targeted Liposomes. In "Methods in Enzymology" (N. Duzgunes ed.), Vol. 465, pp313-330, 2009.
4. T. Sawada, T. Hashimoto, H. Tokiwa, T. Suzuki, H. Nakano, H. Ishida, M. Kiso, Y. Suzuki: How does the FMO method help in studying viruses and their binding to receptors?, (D. G. Fedorov, K. Kitaura, eds.) The Fragment Molecular Orbital Method, CRC press, Boca Raton, chapter 9 pp193-215, 2009.
5. M. Suzuki, Y. Ito, T. Fujino, M. Abe, K. Umegaki, S. Onoue, H. Noguchi, S. Yamada: Pharmacological effects of saw palmetto extract in lower urinary tract. (Invited review). *Acta Pharmacol Sin*, 30, pp271-281, 2009.
6. Y. Suzuki: The Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 - Initial Molecular Signals for Next influenza Pandemic-. *Chang Gung Med. J.*, 32, pp258-263, 2009.
7. T. Takahashi, T. Suzuki: Role of sulfatide in virus infection and replication. In "TRENDS IN GLYCOSCIENCE AND GLYCOTECHNOLOGY (TIGG)", Official Journal of the Japanese Society of Carbohydrate Research, Tokyo, Vol. 21, No. 121, 2010.
8. T. Takahashi, T. Suzuki: Role of membrane rafts in viral infection. In "BENTAM OPEN", The Open Dermatology Journal, Illinois, Vol. 3, pp178-194, 2009.
9. A. Takeda, H. Tamano: Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. *Brain Res. Rev.*, San Diego, 62, pp33-44, 2009.
10. T. Watanabe, Y. Iwasaki, A. Morita, K. Kobata: Food components activating capsaicin receptor TRPV1. In "Nutrigenomics and Proteomics in Health and Disease: Food Factors and Gene Interactions" (Y. Mine, K. Miyashita, F. Shahidi, eds.), Wiley-Blackwell, New Jersey, pp263-272, 2009.
11. 大川栄重, 熊谷裕通: CKD 患者の輸液と経腸栄養の指針(腎不全患者向けの経口および経静脈アミノ酸輸液の現状と課題). 臨床透析, 日本メディカルセンター 東京, Vol.25, pp77-83, 2009.
12. 熊谷裕通: CKD と栄養・食事管理(腎不全・透析患者の栄養障害とアセスメント). 臨床栄養, 医歯薬出版, 東京, Vol.115, pp429-432, 2009.
13. 合田敏尚, 豊岡利正, 小林公子, 内藤祐二, 大澤俊彦, 福岡秀興, 平岡真実, 武田英二:(合田敏尚)個人対応栄養学の潮流, ニュートリゲノミクスのヒトへの応用戦略, 個人対応栄養学の展望(豊岡利正)個人対応栄養指標確立に向けたメタボリックプロファイリング法の重要性と可能性(小林公子)人類遺伝学からみた個人対応栄養学の基盤[テーラーメイド個人対応栄養学]合田敏尚, 岡崎光子編)日本栄養・食糧学会監修 建帛社 東京, 2009.
14. 鈴木 隆: インフルエンザの治療薬と糖鎖. 糖鎖を知る(共著(独)科学技術振興機構) pp142-148, 2010.
15. 鈴木康夫: パンデミック(H1N1)2009 ウイルスとマクロライド系薬の有効性. 新薬と臨床, 医薬情報研究所, 東京, 59(1), pp13-21, 2010.
16. 高橋忠伸, 鈴木 隆: パンデミックインフルエンザウイルスの出現とノイラミニダーゼの酸性安定性 -Emergence of pandemic influenza viruses and low-pH stability of neuraminidase- THE LUNG perspectives, 株式会社メディカルレビュー社, 東京, Vol. 17 No. 4, pp83-88, 2009.
17. 武田厚司: 海馬グルタミン酸作動性神経に対する抑肝散の作用. 脳 21, 金芳堂 京都, 12, pp20-23, 2009.
18. 武田厚司: 亜鉛と脳機能. 臨床検査, 医学書院, 東京, 53, pp197-201, 2009.
19. 中山峰治, 吉村紀子: 英語力の向上に役立つ海外研修とは. [英語教育], 大修館書店 東京, 57(13), pp50-53, 2009.
20. 藤野知美, 木苗直秀, 山田静雄: 健康食品・サプリメントと医薬品との相互作用 ミネラルとの相互作用. Functional Food, フジメディカル出版 大阪, 4(4), pp431-440, 2009.
21. 横越英彦, 源川博久: 食事による高齢者の脳機能の健全性維持(特集 高齢者時代に向けた食の対応)(社)農林水産技術情報協会, 農林水産技術研究ジャーナル, 東京, Vol.32, No.5, pp29-33, 2009.
22. 吉村紀子, 中山峰治: 海外短期英語研修と第2言語習得. ひつじ書房, 東京, 2010.
23. 渡辺達夫: エネルギー消費を高める食品成分. *Food Research*, 8, pp42-46, 2009.
24. 渡辺達夫: 辛味関連化合物とエネルギー消費. 食品加工技術, 29(4), pp27-33, 2009.

## 平成22年度(2010 - 2011年)

1. K. IP J, Hidari, T. Suzuki: Glycan receptor for influenza virus. *Open Antimicrobial Agents J.* 2, 26-33, 2010.
2. K. I.P.J. Hidari, T. Suzuki: Structure and function of glycoconjugates involved in dengue virus infection. *Seikagaku*, 82, 751-755, 2010.
3. T. Higashi, K. Shimada, T. Toyo oka: Advances in determination of vitamin D related compounds in biological samples using liquid chromatography-mass spectrometry: A review. *J. Chromatogr. B*, 878, 1654-1661, 2010.
4. H. Ohshima, S. Tomono, Y-L Lai, N. Miyoshi: Inflammation Induced Carcinogenesis and Chemoprevention. In: Knasmüller, S. DeMarini, D.M., Johnson, I.T. & Gerhäuser, C. eds.: Chemoprevention of Cancer and DNA Damage by Dietary Factors, 2009.WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
5. M. Shimizu, K. Kawai, K. Kaku, T. Shimizu, H. Kobayashi: Application of mutated acetolactate synthase genes for herbicide resistance to plant improvement. In "Herbicides, Theory and Applications" (S. Soloneski, and M. L. Larramendy, eds.), InTech, pp. 193-212 (2011)
6. A. Takeda: Zinc signaling in the hippocampus and its relation to pathogenesis of depression. *Mol. Neurobiol.*, DOI: 10.1007/s12035-010-8158-9, 2011.
7. A. Takeda: Insight into glutamate excitotoxicity from synaptic zinc homeostasis. *Int. J. Alzheimers Dis.* 2011, 491597, 2011.
8. A. Takeda and H. Tamano: Insight into neurozinc in the hippocampus. *Biomed. Res. Trace Elements*, 2011.
9. A. Takeda and H. Tamano: Zinc signaling through glucocorticoid and glutamate signaling in stressful circumstances. *J. Neurosci. Res.* 88, 3002-3010, 2010.
10. H. Tamano and A. Takeda: Dynamic action of neurometals at the synapse. *Metallomics*, DOI: 10.1039/c1mt00008j, 2011.
11. T. Watanabe, Y. Iwasaki, A. Morita, K. Kobata: Food components activating capsaicin receptor TRPV1, in "Nutrigenomics and Proteomics in Health and Disease" : Food Factors and Gene Interactions." ed. by Mine Y, Miyashita K, and Shahidi F, Wiley-Blackwell, pp. 263-272, 2010.
12. H. Yokogoshi: Sense of taste and brain: nutritional neurosciences viewed from five senses ~ Research of dietary constituent and functional evaluation as food ~ Human volunteer examination from test on animals. *Journal for the Integrated Study of Dietary Habits*, Vol.20, No.4, pp.270-274 (2010)
13. A. Yoshida, T. Fujino, S. Maruyama, Y. Ito, Y. Taki, S. Yamada: The forefront for novel therapeutic agents based on the pathophysiology of lower urinary tract dysfunction: Bladder selectivity based on in vivo drug-receptor binding characteristics of antimuscarinic agents for treatment of overactive bladder. *J. Pharmacol. Sci.*, 112: 142-150, 2010.
14. 石井 剛志, 菅 敏幸: お茶の効能を分子レベルで解明する, ファルマシア 46, 1143-1148, 2001.
15. 下位香代子, 榊原啓之: 各種変異原性からみた食品関連の有機化学物質(第8章 有害化学物質による汚染 - 8.1)食品に関して知っておくべき衛生安全知識のすべて『食品安全ハンドブック』食品安全ハンドブック編集委員会編, 丸善(東京)2010.
16. 鈴木 隆: 抗インフルエンザ薬について. 実験治療, 699, 48-54, 2010.
17. 鈴木 隆, 鈴木康夫: インフルエンザウイルス感染の化学的理解に向けて - 宿主細胞からの放出 - 現代化学, 476, 45-50, 東京化学同人, 2010.
18. 高橋忠伸, 鈴木 隆: スルファチドによるインフルエンザ A 型ウイルス増殖の促進. *Glycoforum*, SEIKAGAKU CORPORATION, 2010.
19. 武田厚司: 亜鉛と健康. 健康食品管理士認定協会会報, 5, 9-13, 2010.
20. 藤野知美, 伊藤由彦, 瀧 優子, 柿澤希実, 尾上誠良, 今井康之, 奥 直人, 野口博司, 伊藤邦彦, 小林裕和, 大橋典男, 合田敏尚, 木苗直秀, 梅垣敏三, 渡邊裕司, 山田静雄: Warfarin とビタミン K の相互作用に関する文献的研究. *臨床薬理*, 41, 43-52, 2010.
21. 陽東藍, 横越英彦: GABA 茶の抗ストレス効果機能「ニューフードインダストリー」, 食品資材研究会, *New Food Industry*, Vol.52, No.3, pp7-12, 2010.
22. 横越英彦: 脳機能に影響を与える食品成分 今後の「食」を探る, 「乳酸菌ニュース」社団法人全国はっ酵乳酸菌飲料協会, pp21-24, 2010.
23. 横越英彦: GABA - 脳神経系への影響「Functional Food」9号 - 機能性食品の基礎から臨床へ -, 特集: 認知症と機能性食品, フジメディカル出版(大阪) Vol.3, No.3, pp.226-231 2010.
24. 横越英彦: テアニン - 緑茶に含まれるテアニンの脳神経系への影響「Functional Food」9号 - 機能性食品の基礎から臨床へ -, 特集: 認知症と機能性食品, フジメディカル出版(大阪) Vol.3, No.3, pp.238-243 2010.
25. 横越英彦: 食品成分の研究と食品としての機能評価 - 動物実験からヒトボランティア試験まで ~ 特集: 機能性食品の開発と展望, ケミカルエンジニアリング, 化学工業社, vol.55, No.4, pp.13-17, 2010.
26. 横越英彦: チョコを食べて勉強しよう 超はかどり技 3 食べ物ではかどる!, ベネッセコーポレーション(東京) p.10-11 2010.
27. 横越英彦: 朝ティー習慣をはじめよう!, 株式会社角川 SS コミュニケーションズ(東京) Vol.709, p.55-56, 2010.
28. 横越英彦: 朝ティー習慣をはじめよう!, ORANGE PAGE(東京) p.120-121, 2010.
29. 横越英彦: タンパク質・アミノ酸・炭水化物類 - 5: GABA. 食品シリーズ「食品機能素材 IV」, シーエムシー出版(東京) pp.165-168, 2010.
30. 横越英彦: 味と脳の感覚「五感からみた栄養神経科学 食品成分の研究と食品としての機能評価 - 動物実験からヒトボランティア試験 -」, 日本食生活学会誌, vol.20, No.4, pp.270-274, 2010.
31. 横越英彦: 脳の機能と栄養心と栄養を包括する科学. *Journal of Health Sciences of Mind and Body*, 6(1) pp.6-12, 2010.
32. 横越英彦: お砂糖豆知識 - 甘いおやつは効用「砂糖類情報」, 独立行政法人農畜産業振興機構, 砂糖類情報 7(No.166) pp.38-40, 2010.

平成23年度(2011 - 2012年)

1. T. Dewa, T. Asai, N. Oku, M. Nango: Polyamine-Lipid Conjugates as Effective Gene Carriers: Chemical Structure, Morphology, and Gene Transfer Activity. In "Non-Viral Gene Therapy" (X-B Yuan ed.), In Tech, pp.243-266, 2011.
2. K.I.P.J. Hidari and T. Suzuki: Dengue virus receptor. In "Trop. Med. Health", in press.
3. K.I.P.J. Hidari and T. Suzuki: Antiviral agents targeting glycans on dengue virus E-glycoprotein. In "Expert. Rev. Anti. Infect. Ther." 9, 983-985, 2011.
4. S. Inagaki and T. Toyo oka: Amino acid analysis via LC-MS method after derivatization with quaternary phosphonium. In "Amino Acid Analysis: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology", (M.A. Alterman and P. Hunziker eds.), Humana Press, 828, 47-54, 2012.
5. K. Shimizu and N. Oku: Brain Tumor Diagnosis Using PET with Angiogenic Vessel-Targeting Liposomes. In "Tumors of the Central Nervous System", (M.A. Hayat ed.), Springer, 3, pp.169-176, 2011.
6. K. Shimoi and T. Shibuya: Introduction to the special issue on epigenetics. In "Genes and Environ.", Science for Genome Safety, 33(2), pp.33, 2011.
7. J. Sugatani and M. Miwa: Transcriptional regulation of human bilirubin: UDP-glucuronosyltransferase UGT1A1 gene and implication of defects in the UGT1A1 gene promoter. In "Bilirubin: Chemistry, Regulation and Disorder". (J. F. Novotny and F. Sedlacek eds.) NOVA Science Publishers (2011) in press.
8. Y. Suzuki (Review): Avian and human influenza virus receptors and their distribution. In "The molecular immunology and complex carbohydrates-3 Advances in Experimental Medicine and Biology", (A.M. Wu ed.), Springer, 705, pp443-452, 2011.
9. Y. Suzuki (Review): Highly pathogenic avian influenza. In "Journal of Disaster Research", (S. Murakami and K. Takaguchi eds.), FUJI TECHNOLOGY PRESS, 6(4), 398-403, 2011.
10. T. Takahashi, T. Suzuki.: Function of membrane rafts in viral lifecycles and host cellular response. In "Biochemistry Research International", (B.P. Head ed.), Hindawi Publishing, Article ID: 245090, 2011.
11. A. Takeda: Zinc signaling in the hippocampus and its relation to pathogenesis of depression. In "Mol. Neurobiol.", (N.G. Bazan ed.), Springer, 44, 166-174, 2011.
12. A. Takeda: Insight into glutamate excitotoxicity from synaptic zinc homeostasis. In "Int. J. Alzheimer s Dis.", (A.R. White ed.), Hindawi Publishing, Article ID: 491597, 2011.
13. H. Tamano and A. Takeda: Dynamic action of neurometals at the synapse. In "Metalomics", RSC Pub., 3, 656-661, 2011.
14. T. Wakimoto, T. Asakawa, S. Akahoshi, T. Suzuki, K. Nagai, H. Kawagishi, T. Kan: Proof the existence of an unstable amino acid, pleurocybellaziridine, in "Pleurocybella porrigens (angel s wing mushroom)". In "Angew. Chem. Int. Ed.", Wiley-VCH, 50, 1168-1170, 2011.
15. Y. Watanabe, M.S. Ibrahim, Y. Suzuki, K. Ikuta (Review): Avian Influenza A virus (H5N1): the changing nature. In "Trends in Microbiology", Cell Press, 20, 11-20, 2012.
16. S. Yamada, Y. Ito, H. Tsukada:  $\alpha$ -Adrenoceptors and muscarinic receptors in voiding function - Binding characteristics of therapeutic agents in relation to the pharmacokinetics. In "Br J Clin Pharmacol.", Wiley-VCH, 72, 205-217, 2011.
17. S. Yamada and Y. Ito:  $\alpha$ -Adrenoceptors in the urinary tract. In "Urinary tract (Handbook of Experimental Pharmacology)", (K.E. Andersson, M.C. Michel eds.), Springer, 202, pp.283-306, 2011.
18. P. Hawke and R. Whittier: 日本人研究者のための絶対できる英語プレゼンテーション [Presentation Skills for Japanese Scientists]. 羊土社, 2011.
19. 伊勢村護: 抹茶の効用 / 活用法. サライの「茶の湯」大全, 小学館, pp.112, 2011.
20. 菅敏幸, 林雄二郎: 天然物の全合成で活躍した反応 - 実験のコツとポイント - . 有機合成協会, 化学同人, 2011.
21. 菅敏幸: 効率的ヘテロ環構築を基盤とする生理活性天然物の合成. 化学工業, 62, pp.615-620, 2011.
22. 熊谷裕通: 慢性腎臓病における骨格筋減少のメカニズム. 臨床透析, 27, pp.1299-1304, 2011.
23. 熊谷裕通: 透析治療についてこれだけは知っておこう - 輸液はどうする? -. "若手医師のための透析診療のコツ" (加藤明彦編), 文光堂, pp69-73, 2011.
24. 熊谷裕通: 浮腫がある患者の栄養アセスメント - 浮腫の栄養ケアアセスメント: 水・電解質管理、栄養管理はどうすればよいか -, 臨床栄養, 118, pp.258-262, 2011.
25. 榎原啓之, 小柳顯陽, 青島良輝, 鈴木敬明, 木村昌由美, 下位香代子: 外部刺激に対する生体応答を評価するために - 夜行性のマウスを用いた時間生物学的アプローチ -. 谷本学校毒性質問箱, 株式会社サイエンティスト社, 13, pp.116-123, 2011.
26. 鈴木康夫: シアル酸で決まるインフルエンザの流行. グライコフォーラム, 2011.
27. 鈴木康夫: 注目されるウイルス感染症と制御対策 - 薬剤による制御対策 -. 日本防菌防黴学会誌, 防菌防黴, 39 pp.641-652, 2011.
28. 武田厚司: ニューロジックから見た脳機能. ファルマシア, in press.
29. 山田康輔, 熊谷裕通: 栄養スクリーニング法. 腎不全医療における栄養管理の基礎知識, (加藤明彦, 市川和子編), 日本メディカルセンター, pp.63-70, 2011.
30. 山田静雄: ミニレビュー「ノコギリヤシ」. New Diet Therapy, 日本臨床栄養協会, 27, pp.35-39, 2011.
31. 吉田卓矢, 熊谷裕通: 食事制限で低栄養になる: そうか、そういうことだったのか! 透析患者のからだのヒミツ 20. 透析ケア, 17, pp.676-677, 2011.
32. 渡辺達夫: 辛味にตอบสนองする受容体に着目した機能性食品成分の評価. バイオサイエンスとインダストリー, 財団法人バイオインダストリー協会, 69, pp.208-212, 2011.
33. 渡辺達夫, 佐藤努: ナス科植物 (トウガラシ属) と機能. スパイス・ハーブの機能と最新応用技術, (中谷延二監修), シーエムシー出版, pp.167-170, 2011.

産経新聞 2007年6月27日 (水曜日)

健康長寿研究の拠点  
文科省COE 県立大を5年間支援

県立大(静岡市駿河区)西沼孝義(西)が中心で「食と「腸」を軸とした健康長寿研究」が、文科省が今年度から実施している教育研究推進プログラム(COE)に採択された。世界は研究費の増大、教育研究の形成のため、国が今年度から5年間、研究費を助成する。今回はCOEの応募の中から、東大の研「食と腸」のプログラムが採択された。県立大は、この分野で世界的な研究拠点となるため、研究人材育成に取り組みたいと期待されている。

今回採択された研究は「新展開」。

プログラムは、木田直秀副学長(生活健康科学)をリーダーとする。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。

# 健康長寿研究の拠点

## 文科省COE 県立大を5年間支援

採択された研究プログラムは、食と腸を軸とした健康長寿研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。

文科省が今年度から実施している教育研究推進プログラム(COE)に採択された。世界は研究費の増大、教育研究の形成のため、国が今年度から5年間、研究費を助成する。今回はCOEの応募の中から、東大の研「食と腸」のプログラムが採択された。県立大は、この分野で世界的な研究拠点となるため、研究人材育成に取り組みたいと期待されている。

日本経済新聞 2007年6月16日 (土曜日)

### 優れた研究活動に資金

大学	採択件数
阪大	7
東大	6
京大	6
東北大	5
東工大	5
北名大	3
北九大	3
名大	2
筑波大	1
群馬大	1
東京外大	1
お茶の水女子大	1
横浜国立大	1
信州大	1
豊橋技術科学大	1
神戸大	1
奈良先端科学技術大学院大	1
鳥取大	1
愛媛大	1
長崎大	1
熊本大	1
静岡国立大	1
大阪市立大	1
兵庫県立大	1
早大	4
京大	1
立命館大	2
関西大	1

文科省は今年度の採択件数を前年度より1割増しの63件とした。採択された研究は、食と腸を軸とした健康長寿研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。

静岡新聞 2011年6月2日 (木曜日)

# 県立大大学院に「学府」

## 12年度 薬食融合教育強化

県立大は、教育研究の機能を高め、大学院の薬食融合研究を推進する。薬食融合研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。

2012年度からの県立大大学院(下段)と現行の大学院(上段)の統合を図る。薬食融合研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。

文科省が今年度から実施している教育研究推進プログラム(COE)に採択された。世界は研究費の増大、教育研究の形成のため、国が今年度から5年間、研究費を助成する。今回はCOEの応募の中から、東大の研「食と腸」のプログラムが採択された。県立大は、この分野で世界的な研究拠点となるため、研究人材育成に取り組みたいと期待されている。

採択された研究プログラムは、食と腸を軸とした健康長寿研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。

中日新聞 2011年6月2日 (木曜日)

# 県立大大学院を改編

来年度から統合  
薬学・生活健康  
科学両研究科

静岡県立大は、来年度から統合された「学府」の薬学・生活健康科学両研究科を改編する。薬食融合研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。

2012年度からの県立大大学院(下段)と現行の大学院(上段)の統合を図る。薬食融合研究の推進を図る。木田副学長は「食と腸」を軸とした健康長寿研究の推進を図る。



発行日：2012年3月  
編集：静岡県立大学  
グローバルCOEプログラム拠点  
発行：静岡県公立大学法人  
静岡県静岡市駿河区小鹿2丁目2-1