

革新的創薬プロジェクト報告書 2022

挨拶

革新的創薬プロジェクトは、前薬学部長の高野幹久先生が提唱され、2016年度から始まっております。その提唱者の高野先生が3月末でご退職されたというタイミングになりましたが、ここに7年間の成果を報告書としてまとめることといたしました。

現在、新薬の開発、創薬・創剤は、容易なものではなくなっております。一方で、新たな科学・技術の発展により、新規モダリティーの出現、*in silico* や人工知能を用いた医薬品開発・ドラッグリポジショニングなどに代表される新たな動きもあります。

今後も広島大学薬学部構成員が創薬を目指し、地道に研究活動を続けていくことが肝要であると思っております。

最後になりましたが、本プロジェクトの実施に関わってくださった方々、実施にご協力いただきました方々に厚く御礼申し上げます。

2023年5月

広島大学薬学部 薬学部長
紙谷 浩之

目次

創藥標的分子科学研究室	1
生理化学研究室	4
生体機能分子動態学研究室	7
核酸分析化学研究室	12
臨床藥物治療学研究室	16
漢方診療学研究室, 藥物療法開發学研究室	20
治療藥効学研究室	25
微生物医薬品開發学研究室	30
生薬学研究室	35
医薬分子機能科学研究室	41
創藥合成化学研究室	46
藥効解析科学研究室	50
医療薬剤学研究室	55
細胞分子生物学研究室	60

創薬標的分子科学研究室(2019 年度より)

<2019 年度-2021 年度の業績の概要（創薬標的分子科学研究室）>

NanoBRET を利用したケモカインレセプターリガンドのスクリーニング手法に関する成果:ケモカインレセプターである CXCR4 は HIV 感染時の第二受容体として働く機能の他、がん転移やリウマチなどに関連することが知られている。CXCR4 に対して高い親和性を有する低分子化合物の開発が進められてきたが、より簡便に測定する手法として蛍光ラベルしたリガンドペプチドとの競合を測定する手法が試みられてきたが、精度の面で課題が残っていた。より高い精度で測定可能で、かつハイスループットスクリーニングにも対応可能な手法として NanoBRET を利用した手法の構築を行った[1]。CXCR4 に対する新たな低分子リガンド候補の探索や新規の CXCR4 を標的とするペプチドの結合親和性解析[5]においても十分な精度での解析が可能であることが示された。

正確性の高いゲノム編集技術に関する成果:ゲノム上の標的遺伝子を配列特異的に切断し変異を導入するゲノム編集では標的配列との類似配列で起こるオフターゲット作用が安全性の面で問題となっている。その課題解決の手段として化合物を利用した活性制御を試みた。Transcription activator-like effector nuclease (TALEN)の DNA 結合ドメイン (TALE) とヌクレアーゼ活性ドメイン (FokI) のそれぞれに FKBP, FRB ドメインを融合し、細胞中でラパマイシン存在下でのみヌクレアーゼ活性が誘起される仕組みを構築した。この結果、ラパマイシンの添加によるゲノム編集が確認され、1 分程度のラパマイシン処理によっても活性を誘導することが可能であることが示された[2]。化合物を利用するゲノム編集法は培養細胞での利用には有効であるが、生体内 (in vivo) での利用は困難であることが問題である。その課題を解決するために細胞周期に応じてゲノム編集活性を ON/OFF する手法を着想した。相同組換え (Homology-directed repair : HDR) による修復を利用するゲノム編集はドナー配列に倣った形で変異が導入されるため、高い正確性が期待される。HDR は S/G2 期で活性が高くなるため、G1 期では発現して S/G2 期では分解を受ける Cdt1 と CRISPR-Cas9 の阻害分子である anti-CRISPR の融合体を構築した。これによって HDR 効率が向上することが示された[4]。さらにオフターゲット作用の抑制効果も確認され、高い正確性を有するゲノム編集が実現可能であることが示された。

<2022 年度の業績の概要（創薬標的分子科学研究室）>

S/G2 期に発現し、G1 期には分解を受けるドメインである Geminin を Cas9 ヌクレアーゼに融合し、anti-CRISPR+Cdt1 による G1 期での阻害作用と G1 期での Cas9 被分解効果の相乗効果によって更に HDR 効率が向上することを示した。また、anti-CRISPR として AcrIIA4 だけでなく AcrIIA5 も特にオフターゲット作用の抑制に効果があることを示した[7]。

<原著論文(査読有のみ)(創薬標的分子科学研究室)>

1. Sakyiamah MM, Nomura W, Kobayakawa T, Tamamura H*. Development of a NanoBRET-based Sensitive Screening Method for CXCR4 Ligands. *Bioconjugate Chem.* 30, 1442-1450, 2019.
DOI:10.1021/acs.bioconjchem.9b00182
2. Matsumoto D, Tamamura H, Nomura W*. TALEN-Based Chemically Inducible, Dimerization-Dependent, Sequence-Specific Nucleases. *Biochemistry* 59, 197-204, 2020.
DOI:10.1021/acs.biochem.9b00798
3. Kobayakawa T, Takano H, Ishii T, Tsuji K, Ohashi N, Nomura W, Furuta T, Tamamura H*. Synthesis of Hydrophilic Caged DAG-lactone for Chemical Biology Applications. *Org. Biomol. Chem.* 18, 4217-4223, 2020.
DOI: 10.1039/D0OB00807A
4. Matsumoto D, Tamamura H, Nomura W*. A Cell Cycle-dependent CRISPR-Cas9 Activation System Based on an Anti-CRISPR Protein Shows Improved Genome Editing Accuracy. *Commun. Biol.* 3, 601, 2020.
DOI:10.1038/s42003-020-01340-2
5. Arafiles JVV, Hirose H, Hirai Y, Kuriyama M, Sakyiamah MM, Nomura W, Sonomura K, Imanishi M, Otaka A, Tamamura H, Futaki S. Discovery of a Macropinocytosis-Inducing Peptide Potentiated by Medium-Mediated Intramolecular Disulfide Formation. *Angew. Chem., Int. Ed.* 60, 11928-11936, 2021.
DOI:10.1002/anie.202016754
6. Tsuji K, Ishii T, Kobayakawa T, Ohashi N, Nomura W, Tamamura H*. Fluorescence Resonance Energy Transfer-based Screening for Protein Kinase C Ligands Using 6-methoxynaphthalene-labeled 1,2-diacylglycerol-lactones. *Org. Biomol. Chem.* 19, 8264-8271, 2021.
DOI:10.1039/D1OB00814E
7. Matsumoto D, Kishi K, Matsugi E, Inoue Y, Nigorikawa K, Nomura W*. Cas9-Geminin and Cdt1-fused anti-CRISPR protein synergistically increase editing accuracy. *FEBS Lett.* 597, 985-994, 2023.
DOI:10.1002/1873-3468.14608

<総説(査読有のみ)(創薬標的分子科学研究室)>

8. Matsumoto D & Nomura W*. Molecular Switch Engineering for Precise Genome Editing. *Bioconjugate Chem.* 32, 639-648, 2021.
DOI:10.1021/acs.bioconjchem.1c00088
9. Negi S*, Imanishi M, Hamori M, Kawahara-Nakagawa Y, Nomura W, Kishi K, Shibata N,

Sugiura Y. The past, present, and future of artificial zinc finger proteins: design strategies and chemical and biological applications. *J. Bioinorg. Chem.* 28, 249-261, 2023.

DOI: 10.1007/s00775-023-01991-6

<著書(創薬標的分子科学研究室)>

10. 野村 渉*, 玉村 啓和 : 「HIV-1 阻害剤・腫瘍認識プローブとしてのケモカイン受容体リガンド」 *BIOINDUSTRY* 【特集】 ペプチド医薬の最新動向 ～広い観点からのペプチド創薬科学～ 39 (5), 15-25, 2022.

生理化学研究室(2018 年度まで)

<2016 年度-2019 年度の業績の概要(生理化学研究室)>

GoMADScan により RAS superfamily の core GTPase の Lys がメチル化されること、さらにそのメチル化がエフェクターとの相互作用に関わる可能性があることを示した[1]。神経膠芽腫にて、de novo 経路での GTP 合成に関わる IMPDH2 が増加していること、異常に増えた GTP が核小体での tRNA 合成に供給されることにより、がん細胞の増殖を促進することを明らかにした[2]。腎細胞癌細胞の leading edge に IMPDH などの GTP 合成経路酵素が局在し転移に関与することを示した[4]。イノシトールリン脂質代謝酵素 TMEM55 のアイソフォーム A がマクロファージの食作用を抑制することと、アイソフォーム B がリソソームの局在性を制御することを発見した[3,8]。イノシトールリン脂質代謝酵素の SAC1 及び SAC3 がマクロファージの泡沫化を促進することを示した[5,9]。アラキドン酸含有 Phosphatidylinositol レベルを制御する LPIAT1 が細胞内カルシウムの oscillation に関わることを見出した[6]。マクロファージでの食胞の成熟（酸性化及び消化）に、抑制性受容体 FcγRIIb 及びイノシトールリン脂質代謝酵素 (PYKfyve, INPP4A, SHIP) が関わることを示した[7,10,11]。

<原著論文(査読有のみ)(生理化学研究室)>

1. Yoshino H, Yin G, Kawaguchi R, Popov KI, Temple B, Sasaki M, Kofuji S, Wolfe K, Kofuji K, Okumura K, Randhawa J, Malhotra A, Majd N, Ikeda Y, Shimada H, Kahoud ER, Haviv S, Iwase S, Asara JM, Campbell SL, Sasaki AT. Identification of lysine methylation in the core GTPase domain by GoMADScan. PLoS One 14, e0219436, 2019.
DOI:10.1371/journal.pone.0219436.
2. Kofuji S, Hirayama A, Eberhardt AO, Kawaguchi R, Sugiura Y, Sampetean O, Ikeda Y, Warren M, Sakamoto N, Kitahara S, Yoshino H, Yamashita D, Sumita K, Wolfe K, Lange L, Ikeda S, Shimada H, Minami N, Malhotra A, Morioka S, Ban Y, Asano M, Flanary VL, Ramkissoon A, Chow LML, Kiyokawa J, Mashimo T, Lucey G, Mareninov S, Ozawa T, Onishi N, Okumura K, Terakawa J, Daikoku T, Wise-Draper T, Majd N, Kofuji K, Sasaki M, Mori M, Kanemura Y, Smith EP, Anastasiou D, Wakimoto H, Holland EC, Yong WH, Horbinski C, Nakano I, DeBerardinis RJ, Bachoo RM, Mischel PS, Yasui W, Suematsu M, Saya H, Soga T, Grummt I, Bierhoff H, Sasaki AT. IMP dehydrogenase-2 drives aberrant nucleolar activity and promotes tumorigenesis in glioblastoma. Nat. Cell Biol. 21, 1003-1014, 2019.
DOI:10.1038/s41556-019-0363-9. (広島大学医系科学研究科分子病理学との共著)
3. Takemasu S, Nigorikawa K, Yamada M, Tsurumi G, Kofuji S, Takasuga S, Hazeki K. Phosphorylation of TMEM55B by Erk/MAPK regulates lysosomal positioning. J. Biochem. 166,

175-185, 2019.

DOI:10.1093/jb/mvz026.

4. Wolfe K, Kofuji S, Yoshino H, Sasaki M, Okumura K, Sasaki AT. Dynamic compartmentalization of purine nucleotide metabolic enzymes at leading edge in highly motile renal cell carcinoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 516, 50-56, 2019.
DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.05.190.
5. Nigorikawa K, Matsumura T, Sakamoto H, Morioka S, Kofuji S, Takasuga S, Hazeki K. Sac1 Phosphoinositide Phosphatase Regulates Foam Cell Formation by Modulating SR-A Expression in Macrophages. *Biol. Pharm. Bull.* 42, 923-928, 2019.
DOI:10.1248/bpb.b18-00907.
6. Takemasu S, Ito M, Morioka S, Nigorikawa K, Kofuji S, Takasuga S, Eguchi S, Nakanishi H, Matsuoka I, Sasaki J, Sasaki T, Hazeki K. Lysophosphatidylinositol-acyltransferase-1 is involved in cytosolic Ca²⁺ oscillations in macrophages. *Genes Cells* 24, 366-376, 2019.
DOI:10.1111/gtc.12681.
7. Isobe Y, Nigorikawa K, Tsurumi G, Takemasu S, Takasuga S, Kofuji S, Hazeki K. PIKfyve accelerates phagosome acidification through activation of TRPML1 while arrests aberrant vacuolation independent of the Ca²⁺ channel. *J. Biochem.* 165, 75-84, 2019.
DOI:10.1093/jb/mvy084.
8. Morioka S, Nigorikawa K, Okada E, Tanaka Y, Kasuu Y, Yamada M, Kofuji S, Takasuga S, Nakanishi H, Sasaki T, Hazeki K. TMEM55a localizes to macrophage phagosomes to downregulate phagocytosis. *J. Cell Sci.* 131, jcs213272, 2018.
DOI:10.1242/jcs.213272.
9. Morioka S, Nigorikawa K, Hazeki K, Ohmura M, Sakamoto H, Matsumura T, Takasuga S, Hazeki O. Phosphoinositide phosphatase Sac3 regulates the cell surface expression of scavenger receptor A and formation of lipid droplets in macrophages. *Exp. Cell Res.* 357, 252-259, 2017.
DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.05.022.
10. Segawa T, Hazeki K, Nigorikawa K, Nukuda A, Tanizawa T, Miyamoto K, Morioka S, Hazeki O. Inhibitory receptor FcγRIIb mediates the effects of IgG on a phagosome acidification and a sequential dephosphorylation system comprising SHIPs and Inpp4a. *Innate Immun.* 23, 401-409, 2017.
DOI: 10.1177/1753425917701553.
11. Morioka S, Nigorikawa K, Sasaki J, Hazeki K, Kasuu Y, Sasaki T, Hazeki O. Myeloid cell-specific inositol polyphosphate-4-phosphatase type I knockout mice impair bacteria clearance in a murine peritonitis model. *Innate Immun.* 22, 444-451, 2016.
DOI:10.1177/1753425916652714.

<総説(査読有のみ)(生理化学研究室)>

12. Naffouje R, Grover P, Yu H, Sendilnathan A, Wolfe K, Majd N, Smith EP, Takeuchi K, Senda T, Kofuji S, Sasaki AT. Anti-Tumor Potential of IMP Dehydrogenase Inhibitors: A Century-Long Story. *Cancers (Basel)* 11, 1346, 2019.
DOI:10.3390/cancers11091346.
13. 小藤智史, 佐々木敦朗「GTP代謝リプログラミングによる核小体活性化とがん化メカニズム がん 100年の謎：核小体異形成と GTP代謝のクロスロード」*実験医学* 37(16): 2743-2747. (2019)
14. 小藤智史, 池田幸樹, Kara Wolfe, Jaskirat Randhawa, 河口理紗, 島田裕子, 小藤香織, 佐々木美加, 奥村晃市, 竹内恒, 千田俊哉, 佐々木敦朗「GTP代謝」*実験医学増刊号* 35(10): 1633-1641. (2017)

生体機能分子動態学研究室

<2016 年度-2021 年度の業績の概要>

当研究室では化学物質の神経毒性メカニズムの解明し、その結果を基に化学物質や医薬品候補化合物の毒性を見極める評価指標の探索を行っている。代表的な環境化学物質であるトリブチルスズ (TBT) が転写因子である核呼吸因子-1 (NRF-1) を抑制することを解明し、NRF-1 発現低下の原因が NRF-1 遺伝子転写調節領域の高メチル化と関係することなどを示した [3,4,7,8,11,12,15,16,23,27]。また、パーキンソン病に関連する神経毒性物質 MPP⁺ の低濃度神経細胞モデルを作製し、MPP⁺による細胞死にオートファジー阻害が関与することなどを明らかにした [5,6,10,25]。一方薬物代謝研究では、部分肝切除肝再生モデルマウスを作製し、肝切除後の肝再生過程で小腸における薬物代謝酵素の発現量増加が認められることなどを明らかにした [1,2,9,13,14,17-22,24,26]。

<2022 年度の業績の概要>

2022 年度も引き続き TBT やその他の化学物質の毒性あるいは生理作用についてさまざまなことを明らかにした [28,29,31,33,34]。TBT がリソソーム活性を低下させることによりオートファジーを阻害することなどを明らかにした [30]。また、トレハロースが引き起こす疾患症状の改善メカニズムを明らかにする目的で、トレハロース曝露初期に起こる現象を調べたところ、c-Jun および JunB の発現を低下させることを明らかにした [32]。これらに加えて、食品成分や環境化学物質が生体へ与える影響や、生体の応答機構についても明らかにした [35-38]。

<原著論文(査読有のみ)>

1. Takagi M, Sanoh S, Santoh M, Ejiri Y, Kotake Y, Ohta S. Detection of metabolic activation leading to drug-induced phospholipidosis in rat hepatocyte spheroids. *Journal of Toxicological Sciences* **41**, 155-164 (2016). DOI: 10.2131/jts.41.155
2. Santoh M, Sanoh S, Takagi M, Ejiri Y, Kotake Y, Ohta S. Acetaminophen induces accumulation of functional rat CYP3A via polyubiquitination dysfunction. *Scientific Reports* **6**, 21373 (2016). DOI: 10.1038/srep21373
3. Asanagi M, Yamada S, Hirata N, Itagaki H, Kotake Y, Sekino Y, Kanda Y. Tributyltin induces G2/M cell cycle arrest via NAD⁺-dependent isocitrate dehydrogenase in human embryonic carcinoma cells. *Journal of Toxicological Sciences* **41**, 207-215 (2016). DOI: 10.2131/jts.41.207

4. Umeda K, Kotake Y, Miyara M, Ishida K, Sanoh S, Ohta S. Methoxychlor and fenvalerate induce neuronal death by reducing GluR2 expression. *Journal of Toxicological Sciences* **41**, 255-264 (2016). DOI: 10.2131/jts.41.255
5. Miyara M, Umeda K, Ishida K, Sanoh S, Kotake Y, Ohta S. Protein extracts from cultured cells contain nonspecific serum albumin. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **80**, 1164-1167 (2016). DOI: 10.1080/09168451.2016.1151338.
6. Miyara M, Kotake Y, Tokunaga W, Sanoh S, Ohta S. Mild MPP⁺ exposure impairs autophagic degradation through a novel lysosomal acidity-independent mechanism. *Journal of Neurochemistry* **139**, 294-308 (2016). DOI: 10.1111/jnc.13700 (表紙採用)
7. Ishida K, Tsuyama Y, Sanoh S, Ohta S, Kotake Y. Perfluorooctane sulfonate induces neuronal vulnerability by decreasing GluR2 expression. *Archives of Toxicology* **91**, 885-895 (2017). DOI: 10.1007/s00204-016-1731-x
8. Ishida K, Kotake Y, Sanoh S, Ohta S. Lead-Induced ERK activation is mediated by GluR2 non-containing AMPA receptor in cortical neurons. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **40**, 303-309 (2017). DOI: 10.1248/bpb.b16-00784
9. Santoh M, Sanoh S, Ohtsuki Y, Ejiri Y, Kotake Y, Ohta S. Acetaminophen analog *N*-acetyl-*m*-aminophenol, but not its reactive metabolite, *N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine induces CYP3A activity via inhibition of protein degradation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **486**, 639-644 (2017). DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.03.073.
10. Sakamoto S, Miyara M, Sanoh S, Ohta S, Kotake Y. Mild MPP⁺ exposure-induced glucose starvation enhances autophagosome synthesis and impairs its degradation. *Scientific Reports* **7**, 46668 (2017). DOI: 10.1038/srep46668
11. Ishida K, Saiki T, Umeda K, Miyara M, Sanoh S, Ohta S, Kotake Y. Prenatal exposure to tributyltin decreases GluR2 expression in the mouse brain. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **40**, 1121-1124 (2017). DOI: 10.1248/bpb.b17-00209
12. Ishida K, Aoki K, Takishita T, Miyara M, Sakamoto S, Sanoh S, Kimura T, Kanda Y, Ohta S, Kotake Y. Low-concentration tributyltin decreases GluR2 expression via Nuclear Respiratory Factor-1 inhibition. *International Journal of Molecular Science* **18**, E1754 (2017). DOI: 10.3390/ijms18081754
13. Sanoh S, Yamachika Y, Tamura Y, Kotake Y, Yoshizane Y, Ishida Y, Tateno C, Ohta S. Assessment of amiodarone-induced phospholipidosis in chimeric mice with a humanized liver. *Journal of Toxicological Sciences* **42**, 589-596 (2017). DOI: 10.2131/jts.42.589
14. Mori J, Sanoh S, Kashiwagi K, Hanada H, Shigeta M, Suzuki KT, Yamamoto T, Kotake Y, Sugihara K, Kitamura S, Kashiwagi A, Ohta S. Developmental changes in drug-metabolizing enzyme expression during metamorphosis of *Xenopus tropicalis*. *Journal of Toxicological*

- Sciences* **42** 605-613 (2017). DOI: 10.2131/jts.42.605
15. Umeda K, Miyara M, Ishida K, Sanoh S, Ohta S, Kotake Y. Carbofuran causes neuronal vulnerability to glutamate by decreasing GluR2 protein levels in rat primary cortical neurons. *Archives of Toxicology* **92**, 401-409 (2018). DOI: 10.1007/s00204-017-2018-6
 16. Hanaoka S, Ishida K, Tanaka S, Sakamoto S, Okuda K, Sanoh S, Ohta S, Kotake Y. Tributyltin induces epigenetic changes and decreases the expression of nuclear respiratory factor-1. *Metallomics* **10**, 337-345 (2018). DOI: 10.1039/c7mt00290d
 17. Takaoka N, Sanoh S, Okuda K, Kotake Y, Sugahara G, Yanagi A, Ishida Y, Tateno C, Tayama Y, Sugihara K, Kitamura S, Kurosaki M, Terao M, Garattini E, Ohta S. Inhibitory effects of drugs on the metabolic activity of mouse and human aldehyde oxidases and influence on drug-drug interactions. *Biochemical Pharmacology* **154**, 28-38 (2018). DOI: 10.1016/j.bcp.2018.04.017
 18. Ohtsuki Y, Sanoh S, Santoh M, Ejiri Y, Ohta S, Kotake Y. Inhibition of cytochrome P450 3A protein degradation and subsequent increase in enzymatic activity through p38 MAPK activation by acetaminophen and salicylate derivatives. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **509**, 287-293 (2019). DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.12.124
 19. Fujino C, Sanoh S, Tateno C, Ohta S, Kotake Y. Coordinated cytochrome P450 expression in mouse liver and intestine under different dietary conditions during liver regeneration after partial hepatectomy. *Toxicology and Applied Pharmacology* **370**, 133-144 (2019). DOI: 10.1016/j.taap.2019.03.010
 20. Fujino C, Sanoh S, Tamura Y, Ishida Y, Tateno C, Ohta S, Kotake Y. Changes in bile acid concentrations in chimeric mice transplanted with different replacement indexes of human hepatocytes. *BPB Reports* **2**, 29-34 (2019). DOI: https://DOI.org/10.1248/bpbreports.2.2_29
 21. Sanoh S, Tamura Y, Fujino C, Sugahara G, Yoshizane Y, Yanagi A, Kisoh K, Ishida Y, Tateno C, Ohta S, Kotake Y. Changes in bile acid concentrations after administration of ketoconazole or rifampicin to chimeric mice with humanized liver (2019). *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **42**, 1366-1375 (2019). DOI: 10.1248/bpb.b19-00249.
 22. Ishida C, Sanoh S, Kotake Y. CYP1A2 down-regulation by obeticholic acid: usefulness as a positive control for the in vitro evaluation of drug-drug interactions. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **108**, 3903-3910 (2019). DOI: 10.1016/j.xphs.2019.08.021
 23. Kidoguchi N, Ishida K, Sanoh S, Miyara M, Kotake Y. Triphenyltin inhibits GA-binding protein α nuclear translocation. *Fundamental Toxicological Sciences* **7**, 33-40 (2020). DOI: <https://DOI.org/10.2131/fts.7.33>
 24. Sanoh S, Hanada H, Kashiwagi K, Mori T, Goto-Inoue N, Suzuki KT, Mori J, Nakamura N, Yamamoto T, Kitamura S, Kotake Y, Sugihara K, Ohta S, Kashiwagi A. Amiodarone bioconcentration and suppression of metamorphosis in *Xenopus*. *Aquatic Toxicology* **228**,

- 105623 (2020). DOI: 10.1016/j.aquatox.2020.105623
25. Yabuki A, Miyara M, Umeda-Miyara K, Takao S, Sanoh S, Kotake Y. MiT/TFE family members suppress L-leucyl-L-leucine methyl ester-induced cell death. *Journal of Toxicological Sciences* **46**, 143-156 (2021). DOI: 10.2131/jts.46.143
 26. Takeda N, Nakamura Y, Ikeda K, Takaoka N, Hisaoka-Nakashima K, Sanoh S, Kotake Y, Nakata Y, Morioka N. Treatment with histone deacetylase inhibitor attenuates peripheral inflammation-induced cognitive dysfunction and microglial activation: The effect of SAHA as a peripheral HDAC Inhibitor. *Neurochemical Research* **46**, 2285-2296 (2021) DOI: 10.1007/s11064-021-03367-1
 27. Motonaga M, Watanabe H, Tayama Y, Shimizu R, Sanoh S, Kotake Y, Kitamura S, Ohta S, Sugihara K. Comparison of the components of three types of miso (fermented soybean paste) by ¹H NMR metabolomic analysis. *BPB Reports* **4**, 148-154 (2021). DOI:10.1248/bpbreports.4.5_148
 28. Yoshida K, DOI Y, Iwazaki N, Yasuhara H, Ikenaga Y, Shimizu H, Nakada T, Watanabe T, Tateno C, Sanoh S, Kotake Y. Prediction of human pharmacokinetics for low-clearance compounds using pharmacokinetic data from chimeric mice with humanized livers. *Clinical and Translational Science* **15**, 79-91 (2022). DOI: 10.1111/cts.13070
 29. Takaoka N, Sanoh S, Ohta S, Esmaeeli M, Leimkühler S, Kurosaki M, Terao M, Garattini E, Kotake Y. Involvement of aldehyde oxidase in the metabolism of aromatic and aliphatic aldehyde-odorants in the mouse olfactory epithelium. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **715**, 109099 (2022). DOI: 10.1016/j.abb.2021.109099
 30. Hatamiya S, Miyara M, Kotake Y. Tributyltin inhibits autophagy by decreasing lysosomal acidity in SH-SY5Y cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **592**, 31-37 (2022). DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.12.118
 31. Sato K, Sanoh S, Ishida Y, Tateno C, Ohta S, Kotake Y. Assessment of metabolic activation of felbamate in chimeric mice with humanized liver in combination with *in vitro* metabolic assays. *Journal of Toxicological Sciences* **47**, 277-288 (2022). DOI: 10.2131/jts.47.277
 32. Umeda-Miyara K, Miyara M, Sanoh S, Kotake Y. Trehalose decreases mRNA and protein expressions of c-Jun and JunB in human cervical cancer HeLa cells. *Journal of Biochemistry* **172**, 177-187 (2022). DOI: 10.1093/jb/mvac051.
 33. Mizutare T, Sanoh S, Kanazu T, Ohta S, Kotake Y. Improved Predictability of Hepatic Clearance with Optimal pH for Acyl-Glucuronidation in Liver Microsomes. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **111**, 3165-3173 (2022). DOI: 10.1016/j.xphs.2022.08.015.
 34. Imado E, Sun S, Abawa AR, Tahara T, Kochi T, Huynh TNB, Asano S, Hasebe S, Nakamura Y, Hisaoka-Nakashima K, Kotake Y, Irifune M, Tsuga K, Takuma K, Morioka N, Kiguchi N, Ago

- Y. Prenatal exposure to valproic acid causes allodynia associated with spinal microglial activation. *Neurochemistry International* **160**, 105415 (2022). DOI: 10.1016/j.neuint.2022.105415.
35. Siswanto FM, Sakuma R, Oguro A, Imaoka S. Chlorogenic acid activates Nrf2/SKN-1 and prolongs the lifespan of *Caenorhabditis elegans* via the Akt-FOXO3/DAF16a-DDB1 pathway and activation of DAF16f. *Journal of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* **77**, 1503-1516 (2022). DOI: 10.1093/gerona/glac062
36. Ihara K, Oguro A, Imaishi H. Diagnosis of Parkinson's disease by investigating the inhibitory effect of serum components on P450 inhibition assay. *Scientific Reports* **12**, 6622 (2022). DOI: 10.1038/s41598-022-10528-x
37. Ishihara N, Okuda T, Hagino H, Oguro A, Tani Y, Okochi H, Tokoro C, Fujii-Kuriyama Y, Itoh K, Vogel CFA, Ishihara Y. Involvement of polycyclic aromatic hydrocarbons and endotoxin in macrophage expression of interleukin-33 induced by exposure to particulate matter. *Journal of Toxicological Sciences* **47**, 201-210 (2022). DOI: 10.2131/jts.47.201
38. Siswanto FM, Mitsuoka Y, Nakamura M, Oguro A, Imaoka S. Nrf2 and Parkin-Hsc70 regulate the expression and protein stability of p62/SQSTM1 under hypoxia. *Scientific Reports* **12**, 21265 (2022). DOI: 10.1038/s41598-022-25784-0

<総説(査読有のみ)>

1. 古武 弥一郎「環境化学物質の神経毒性メカニズム解明およびその評価系構築に関する研究」*薬学雑誌* **138**,1227-1233 (2018). DOI: 10.1248/yakushi.18-00014
2. Klionsky DJ, . . . , Kotake Y, . . . , Tong CK. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy* **17**, 1-382 (2021). DOI: 10.1080/15548627.2020.1797280

<企業との共同研究>

1 件

核酸分析化学研究室

<2016 年度–2021 年度の業績の概要>

私たちは、主要な酸化 DNA 損傷である 8-hydroxyguanine (8-oxo-7,8-dihydroguanine、以下 G^o) が損傷部位から離れた位置に変異を誘発することを見出している。本プロジェクト遂行過程において、G^o の主要な修復酵素である OGG1 のノックダウンによりこの遠隔作用変異（主に 5'-GpA-3' 配列の G での塩基置換変異）が減少することから、OGG1 が遠隔作用変異の誘発に関与していることを明らかにした (OOG1 パラドックス) [9,18,20]。

人工ヌクレアーゼを用いないゲノム編集用核酸である 5'-tailed duplex (以下 TD) の目的とする配列を有する鎖 (editor 鎖) の鎖長を変えて編集能を調べた結果、短鎖 (200 塩基以下) の editor 鎖を有する TD が有効であること、さらに鎖長が 80 塩基程度のアンチセンス配列を有する E 鎖が高い編集能を有することを明らかにした [19]。

非ウイルスベクターによるプラスミド DNA 上の外来遺伝子発現に関して様々な観点から研究を進めてきたが、適切な転写制御領域 (プロモーターなど) を用いれば、他には特別な工夫をしなくても発現が長期間持続することを *in vivo* (マウス) で明らかにした [13]。

<2022 年度の業績の概要>

ヒト細胞における遠隔作用変異に関して、以下のことを明らかにした。(i) 変異のマーカ一遺伝子である *supF* 遺伝子の上流と下流 (両者共にプロモーター・遺伝子領域外) に G^o を導入し、遠隔作用変異は G^o の上流側に生じやすいことを明らかにした [21]。(ii) 5'-GpA-3' 配列の G は APOBEC3 シトシン脱アミノ化酵素が好む 5'-TpC-3' 配列の C の相補部位であるので、APOBEC3 をノックダウンしたところ、遠隔作用変異が大幅に減少した。したがって、遠隔作用変異が生じる過程に APOBEC3 によるシトシンの脱アミノ化反応が含まれていることを明らかにした (投稿中)。

さらに、次世代 sequencer (NGS) を用いることにより、変異のマーカ一遺伝子の配列に起因する変異検出の偏りを排除できる手法を考案し、改良を進めている [23]。

DNA 前駆体の損傷も変異や発癌に大きな寄与があることが知られている。dGTP の酸化体である 8-hydroxy-dGTP (8-oxo-7,8-dihydro-dGTP) を可視化するシステムを開発し、出願準備を進めている (本学からの出願)。酸化ストレスのバイオマーカーとしての利用のみならず、本化合物を分解する酵素ヒト MTH1 を阻害する化合物は抗癌剤の候補であるため、そのハイスループットスクリーニングに利用可能であると考えている。

知的財産権保護のため詳細は明らかにできないが、TD に対して様々な改良を施すことにより、編集能を著しく向上させた (製薬企業との共同研究)。現在、出願準備を進めている (本学と製薬企業の共同出願の予定)。

<原著論文(査読有のみ)>

1. H. Kamiya, M. Ito, K. Nishi and H. Harashima: *In vivo* selection of active deoxyribonucleoside kinase by a mutagenic nucleoside analog. *J. Biotechnol.* **228**, 52-57 (2016 年 6 月) doi: 10.1016/j.jbiotec.2016.04.046
2. H. Kamiya, N. Nishigaki, A. Ikeda, S. Yukawa, Y. Morita, Y. Nakatsu, T. Tsuzuki and H. Harashima: Insertion and deletion mismatches distant from the target position improve gene correction with a tailed duplex. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **35**, 379-388 (2016 年 7 月) doi: 10.1080/15257770.2016.1163384
3. T. Suzuki, T. Imada, N. Nishigaki, M. Kobayashi, I. Matsuoka, and H. Kamiya: Cleavage of target DNA promotes sequence conversion with a tailed duplex. *Biol. Pharm. Bull.* **39**, 1392-1395 (2016 年 8 月) doi: 10.1248/bpb.b16-00325 (他大学との共著)
4. M. Nishihara, G. N. Kanda, T. Suzuki, S. Yamakado, H. Harashima and H. Kamiya: Enhanced transgene expression by plasmid-specific recruitment of histone acetyltransferase. *J. Biosci. Bioengng.* **123**, 277-280 (2017 年 3 月) doi: 10.1016/j.jbiosc.2016.09.008
5. T. Suzuki, T. Imada, Y. Komatsu and H. Kamiya: Comparison of DNA fragments as donor DNAs upon sequence conversion of cleaved target DNA. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **36**, 428-434 (2017 年 6 月) doi: 10.1080/15257770.2017.1310385 (他研究機関との共著)
6. T. Suzuki Y. Yanai, N. Nishigaki, Y. Nakatsu, T. Tsuzuki and H. Kamiya: Effects of mismatches distant from the target position on gene correction with a 5'-tailed duplex. *J. Biosci. Bioengng.* **125**, 619-623 (2018 年 5 月) doi: 10.1016/j.jbiosc.2017.12.017 (他大学との共著)
7. T. Suzuki, Y. Kuramoto and H. Kamiya: Reduction of Werner syndrome protein enhances G:C→A:T transition by O⁶-methylguanine in human cells. *Chem. Res. Toxicol.* **31**, 319-324 (2018 年 5 月) doi: 10.1021/acs.chemrestox.8b00009
8. T. Suzuki, T. Goda and H. Kamiya: Durable transgene expression driven by CpG-free and -containing promoters in plasmid DNA with CpG-free backbone. *Biol. Pharm. Bull.* **41**, 1489-1493 (2018 年 9 月) doi: 10.1248/bpb.b18-00342
9. H. Kamiya, T. Makino, T. Suzuki, M. Kobayashi, I. Matsuoka: Mutations induced by 8-oxo-7,8-dihydroguanine in WRN- and DNA polymerase λ -double knockdown cells. *Mutagenesis* **33**, 301-310 (2018 年 10 月) doi: 10.1093/mutage/gey024 (他大学との共著)
10. T. Suzuki, Y. Katayama, Y. Komatsu, H. Kamiya: Analysis of large deletion mutations induced by abasic site analog in human cells. *Genes Environment* **40**, 24 (2018 年 10 月) doi: 10.1186/s41021-018-0110-7 (他研究機関との共著)
11. T. Suzuki, Y. Katayama, Y. Komatsu, H. Kamiya: Large deletions and untargeted substitutions induced by abasic site analog on leading versus lagging strand templates in human cells. *Mutagenesis* **34**, 421-429 (2019 年 9/11 月) doi: 10.1093/mutage/gez034 (他研究機関との共著)

著)

12. T. Suzuki, Y. Wakao, T. Watanabe, M. Hori, Y. Ikeda, H. Tsuchiya, K. Kogure, M. Harada-Shiba, M. Fujimuro, H. Kamiya: No enhancing effects of plasmid-specific histone acetyltransferase recruitment system on transgene expression *in vivo*. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **38**, 942-949 (2019 年 12 月) doi: 10.1080/15257770.2019.1638514 (他大学・他研究機関との共著)
13. T. Suzuki, Y. Wakao, T. Goda, H. Kamiya: Conventional plasmid DNAs with a CpG-containing backbone achieve durable transgene expression in mouse liver. *J. Gene Med.* **22**, e3138 (2020 年 1 月) doi: 10.1002/jgm.3138
14. H. Kawai, K. Sato, W. Shirahama, T. Suzuki, H. Kamiya: Single-stranded DNA versus tailed duplex in sequence conversion of *lacZ α* DNA. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **39**, 1245-1250 (2020 年 9 月) doi: 10.1080/15257770.2020.1790596
15. R. Fukushima, T. Suzuki, H. Kamiya: New indicator *Escherichia coli* strain for rapid and accurate detection of *supF* mutations. *Genes Environment* **42**, 28 (2020 年 9 月) doi: 10.1186/s41021-020-00167-x
16. A. Takeishi, H. Kogashi, M. Odagiri, H. Sasanuma, S. Takeda, M. Yasui, M. Honma, T. Suzuki, H. Kamiya, K. Sugasawa, K. Ura, and A. Sassa: Tyrosyl-DNA phosphodiesterases are involved in mutagenic events at a ribonucleotide embedded into DNA in human cells. *PLoS ONE* **15**, e0244790 (2020 年 12 月) doi: 10.1371/journal.pone.0244790 (他大学との共著)
17. T. Suzuki, Y. Katayama, Y. Komatsu, H. Kamiya: Similar frequency and signature of untargeted substitutions induced by abasic site analog under reduced human APE1 conditions. *J. Toxicol. Sci.* **46**, 283-288 (2021 年 6 月) doi: 10.2131/jts.46.283 (他研究機関との共著)
18. T. Suzuki, H. Masuda, M. Mori, R. Ito, H. Kamiya: Action-at-a-distance mutations at 5'-GpA-3' sites induced by oxidised guanine in WRN-knockdown cells. *Mutagenesis* **36**, 349-357 (2021 年 9 月) doi: 10.1093/mutage/geab027 (EDITOR'S CHOICE に選択)
19. H. Kawai, K. Yazama, Y. Yanai, R. Kamitsubo, H. Kamiya: Gene correction by 5'-tailed duplexes with short editor oligodeoxyribonucleotides. *J. Biosci. Bioengng.* **132**, 552-559, (2021 年 12 月) doi: 10.1016/j.jbiosc.2021.08.012
20. T. Suzuki, Y. Zaima, Y. Fujikawa, R. Fukushima, H. Kamiya: Paradoxical role of the major DNA repair protein, OGG1, in action-at-a-distance mutation induction by 8-oxo-7,8-dihydroguanine. *DNA Repair* **111**, 103276 (2022 年 3 月) doi: 10.1016/j.dnarep.2022.103276
21. R. Fukushima, T. Suzuki, Y. Komatsu, H. Kamiya: Biased distribution of action-at-a-distance mutations by 8-oxo-7,8-dihydroguanine. *Mutation Res. (Fundam. Mol. Mech. Mutagen.)* **825**, 111794 (2022 年 7 月-12 月) doi: 10.1016/j.mrfmmm.2022.111794 (他研究機関との共著)
22. H. Kawai, R. Kamitsubo, H. Kamiya: Correction of monomeric enhanced green fluorescent

protein (*mEGFP*) gene by short 5'-tailed duplexes. *J. Biosci. Bioengng.* **134**, 175-181 (2022 年 9 月) doi: 10.1016/j.jbiosc.2022.06.014

23. H. Kawai, R. Iwata, S. Ebi, R. Sugihara, S. Masuda, C. Fujiwara, S. Kimura, H. Kamiya: Development of a versatile high-throughput mutagenesis assay with multiplexed short read NGS using DNA-barcoded *supF* shuttle vector library amplified in *E. coli*. *eLife* **11**, e83780 (2022 年 10 月) doi: 10.7554/eLife.83780 (本学他部局との共著)
24. T. Suzuki and H. Kamiya: Easily-controllable, helper phage-free single-stranded phagemid production system. *Genes Environment* **44**, 25 (2022 年 11 月) doi: 10.1186/s41021-022-00254-1

<総説(査読有のみ)>

1. T. Suzuki and H. Kamiya: Mutations induced by 8-hydroxyguanine (8-oxo-7,8-dihydroguanine), a representative oxidized base, in mammalian cells. *Genes Environment* **39**, 2 (2017 年 1 月) doi: 10.1186/s41021-016-0051-y

<企業との共同研究>

1 件

臨床薬物治療学研究室

<2016 年度-2021 年度の業績の概要>

人類は微生物と共存共栄してきたが、そのバランスが崩れつつある。製薬会社による抗菌薬開発の終息と抗菌薬の乱用が、耐性菌の拡大・蔓延という世界的脅威を生み、大量の感染症関連の死亡が予想されている。残された抗菌薬でこの自然界の脅威に打ち克つためには抗菌薬の pharmacokinetics (PK)/pharmacodynamics (PD) に基づいた適正使用が求められている。そこで我々は、抗菌薬療法の適正化を目指し臨床研究を継続してきた。特に臨床現場で遭遇する重篤な問題を抱える患者群（小児患者、超高齢者、人工透析患者、MRSA 重症感染症、心臓関連疾患、泌尿器関連疾患、下部消化管手術後感染症）に対して投薬される抗菌薬の血液、腹水および組織（前立腺、精巣上体、腹膜、皮下脂肪）中薬物濃度測定に基づき、日本人患者における薬物動態を解析・評価し、さらにモンテカルロ・シミュレーションを駆使し、治療効果の最適化を評価できる「抗菌薬の標的臓器 PK/PD 解析」という概念を確立し、現状の治療効果の正当性を明らかにしてきた。ただし我々は、臨床現場を持たないため、病院・診療科（鹿児島大学病院[1, 2, 3, 14]、兵庫医科大学病院[4, 8, 12]、岡山大学病院[5, 9]、広島大学病院[6]、愛知医科大学病院[7, 10, 13]、島根大学病院[11, 15, 16]）からの測定・解析依頼に対応した臨床研究を行い、研究論文を共同作成してきた。

<2022 年度の業績の概要>

島根大学病院[17, 19, 23]、鹿児島大学病院[18]、広島大学病院[20, 21, 22]との共同研究を継続して実施した。特に、アンピシリン・スルバクタムに代表されるような、2 種類の抗菌薬を配合した製剤を投与した場合に生じる、相加・相乗作用を薬物動態学的に評価した。その結果、抗菌薬の組織移行性の違いから組織内薬物濃度比率が変動し、最適ではない場合も生じ、治療効果に影響を与えていることを明らかにした。

<原著論文(査読有のみ)>

1. Matsumoto K, Watanabe E, Kanazawa N, Shigemi A, Yokoyama Y, Ikawa K, Morikawa N, Takeda Y. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of teicoplanin in patients with MRSA infections. Clin. Pharmacol. 8: 15-18, 2016. doi: 10.2147/CPAA.S96143.
2. Yokoyama Y, Matsumoto K, Ikawa K, Watanabe E, Yamamoto H, Imoto Y, Morikawa N, Takeda Y. The pharmacokinetics of ampicillin-sulbactam in anuric patients: dosing optimization for prophylaxis during cardiovascular surgery. Int. J. Clin. Pharm. 38: 771-775, 2016.
3. Matsumoto K, Abematsu K, Shigemi A, Kanazawa N, Watanabe E, Yokoyama Y, Ikawa K, Morikawa N, Takeda Y. Therapeutic drug monitoring of voriconazole in Japanese patients: analysis based on clinical practice data. J. Chemother. 28: 198-202, 2016. doi: 10.1007/s11096-

016-0286-5.

4. Kohama H, Ide T, Ikawa K, Morikawa N, Nishi S. Pharmacokinetics and outcome of tazobactam/piperacillin in Japanese patients undergoing low-flow continuous renal replacement therapy: dosage considerations. *Clin. Pharmacol.* 9: 39-44, 2017. doi: 10.2147/CPAA.S127502.
5. Sadahira T, Wada K, Ikawa K, Morikawa N, Kurahashi H, Yoshioka T, Ariyoshi Y, Kobayashi Y, Araki M, Ishii A, Watanabe M, Uehara S, Watanabe T, Nasu Y. Clinical pharmacokinetics of oral levofloxacin and sitafloxacin in epididymal tissue. *J. Infect. Chemother.* 23: 214-217, 2017. doi: 10.1016/j.jiac.2016.12.010.
6. Muraio N, Ohge H, Ikawa K, Watadani Y, Uegami S, Shigemoto N, Shimada N, Yano R, Kajihara T, Uemura K, Murakami Y, Morikawa N, Sueda T. Piperacillin-tazobactam pharmacokinetics in plasma, peritoneal fluid and peritoneum of surgery patients, and dosing considerations based on site-specific pharmacodynamic target attainment. *Int. J. Antimicrob. Agents* 50: 393-398, 2017. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.03.025.
7. Nakamura K, Ikawa K, Nishikawa G, Kobayashi I, Narushima M, Muramatsu H, Morinaga S, Kajikawa K, Kato Y, Watanabe M, Kanao K, Morikawa N, Sumitomo M. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamic target attainment of pazufloxacin in prostate tissue: dosing considerations for prostatitis. *J. Infect. Chemother.* 23: 809-813, 2017. doi: 10.1016/j.jiac.2017.08.005.
8. Ide T, Takesue Y, Ikawa K, Morikawa N, Ueda T, Takahashi Y, Nakajima K, Takeda K, Nishi S. Population pharmacokinetics/pharmacodynamics of linezolid in sepsis patients with and without continuous renal replacement therapy. *Int. J. Antimicrob. Agents* 51: 745-751, 2018. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.01.021.
9. Sadahira T, Wada K, Ikawa K, Morikawa N, Mitsui M, Araki M, Fujiyoshi M, Ishii A, Watanabe M, Watanabe T, Nasu Y. Clinical pharmacokinetics of oral azithromycin in epididymal tissue. *J. Infect. Chemother.* 25: 832-834, 2019. doi: 10.1016/j.jiac.2019.05.011.
10. Nakamura K, Ikawa K, Nishikawa G, Kobayashi I, Tobiume M, Sugie M, Muramatsu H, Morinaga S, Kajikawa K, Watanabe M, Kanao K, Onita T, Morikawa N. Clinical pharmacokinetics of flomoxef in prostate tissue and dosing considerations for prostatitis based on site-specific pharmacodynamic target attainment. *J. Infect. Chemother.* 26: 236-241, 2020. doi: 10.1016/j.jiac.2019.08.019.
11. Ishihara N, Nishimura N, Ikawa K, Karino F, Miura K, Tamaki H, Yano T, Isobe T, Morikawa N, Naora K. Population pharmacokinetic modeling and pharmacodynamic target attainment simulation of piperacillin/tazobactam for dosing optimization in late elderly patients with pneumonia. *Antibiotics (Basel)* 9(3): 113, 2020. doi: 10.3390/antibiotics9030113.
12. Mimura Y, Yahiro M, Masumoto M, Fukui R, Okamoto R, Aichi M, Mihara Y, Ueda T, Takesue

- Y, Ikawa K, Morikawa N, Kuragano T. The pharmacokinetics of oral metronidazole in patients with metronidazole-induced encephalopathy undergoing maintenance hemodialysis. *Hemodial. Int.* 24: 528-533, 2020. doi: 10.1111/hdi.12857.
13. Watanabe E, Matsumoto K, Ikawa K, Yokoyama Y, Shigemi A, Enoki Y, Umezaki Y, Nakamura K, Ueno K, Terazono H, Morikawa N, Takeda Y. Pharmacokinetic/pharmacodynamic evaluation of teicoplanin against *Staphylococcus aureus* in murine thigh infection model. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 24: 83-87, 2021. doi: 10.1016/j.jgar.2020.11.014.
 14. Onita T, Ishihara N, Yano T, Nishimura N, Tamaki H, Ikawa K, Morikawa N, Naora K. Assessment of renal function and simulation using serum cystatin-C in an elderly patient with uncontrollable plasma vancomycin levels due to muscular dystrophy: a case report. *YAKUGAKU ZASSHI* 141: 441-445, 2021.
 15. Matsubara K, Matsumoto K, Yokoyama Y, Watanabe E, Enoki Y, Shigemi A, Ikawa K, Terazono H, Morikawa N, Ohshige T, Takeda Y. Dosing optimization of ampicillin-sulbactam based on cystatin C in elderly patients with pneumonia. *Biol. Pharm. Bull.* 44: 732-736, 2021. doi: 10.1248/bpb.b20-00781.
 16. Onita T, Ikawa K, Nakamura K, Nishikawa G, Kobayashi I, Ishihara N, Tamaki H, Yano T, Naora K, Morikawa N. Prostatic pharmacokinetic/pharmacodynamic evaluation of ampicillin-sulbactam for bacterial prostatitis and preoperative prophylaxis. *J. Clin. Pharmacol.* 61: 820-831, 2021. doi: 10.1002/jcph.1800.
 17. Onita T, Ikawa K, Ishihara N, Tamaki H, Yano T, Naora K, Morikawa N. Population pharmacokinetic analysis and pharmacodynamic evaluation of ampicillin-sulbactam in pediatric patients using plasma and urine data. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 41: 411-416, 2022. doi: 10.1097/INF.0000000000003496.
 18. Umezaki Y, Matsumoto K, Ikawa K, Yokoyama Y, Enoki Y, Shigemi A, Watanabe E, Nakamura K, Ueno K, Terazono H, Morikawa N, Takeda Y. Concentration-dependent activity of pazufloxacin against *Pseudomonas aeruginosa*: an in vivo pharmacokinetic/pharmacodynamic study. *Antibiotics (Basel)* 11(7): 982, 2022. doi: 10.3390/antibiotics11070982.
 19. Onita T, Ishihara N, Ikebuchi A, Yano T, Nishimura N, Tamaki H, Ikawa K, Morikawa N, Naora K. Pharmacokinetic and pharmacodynamic simulation for the quantitative risk assessment of linezolid-associated thrombocytopenia. *J. Clin. Pharm. Ther.* 47: 2041-2048, 2022. doi: 10.1111/jcpt.13747.
 20. Yoshimura K, Ohge H, Ikawa K, Uegami S, Watadani Y, Shigemoto N, Hirano T, Kitagawa H, Kaiki Y, Morikawa N, Takahashi S. Ceftolozane-tazobactam pharmacokinetics in the abdominal tissue of patients undergoing lower gastrointestinal surgery: dosing considerations based on site-specific pharmacodynamic target attainment. *Infect. Dis. Ther.* 12: 193-207, 2023. doi:

10.1007/s40121-022-00720-x.

21. Hirano T, Ohge H, Ikawa K, Uegami S, Watadani Y, Shigemoto N, Yoshimura K, Kitagawa H, Kaiki Y, Morikawa N, Takahashi S. Pharmacokinetics of flomoxef in plasma, peritoneal fluid, peritoneum, and subcutaneous adipose tissue of patients undergoing lower gastrointestinal surgery: dosing considerations based on site-specific pharmacodynamic target attainment. *J. Infect. Chemother.* 29: 186-192, 2023. doi: 10.1016/j.jiac.2022.10.017.
22. Kaiki Y, Ohge H, Ikawa K, Uegami S, Watadani Y, Shigemoto N, Hirano T, Yoshimura K, Kitagawa H, Morikawa N, Takahashi S. Pharmacokinetics of cefmetazole in plasma, peritoneal fluid, peritoneum, and subcutaneous adipose tissue of patients scheduled for lower gastrointestinal surgery: dosing considerations based on site-specific pharmacodynamic target attainment. *J. Infect. Chemother.* 29: 309-315, 2023. doi: 10.1016/j.jiac.2022.12.005.
23. Onita T, Ikawa K, Ishihara N, Tamaki H, Yano T, Naora K, Morikawa N. Pulmonary pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of ampicillin/sulbactam regimens for pneumonia caused by various bacteria, including *Acinetobacter baumannii*. *Antibiotics (Basel)* 12(2): 303, 2023. doi: 10.3390/antibiotics12020303.

漢方診療学研究室(2018年度まで), 薬物療法開発学研究室(2019年度より)

<2016年度-2021年度の業績の概要>

食物アレルギーの病態解析に関する研究では、国内医療機関や他大学、本学薬剤部との共同研究により、魚コラーゲンペプチド含有食品に対するアレルギー患者の原因抗原として collagen type I $\alpha 2$ chain [1]、エビによる食物依存性運動誘発アナフィラキシー (FDEIA) 患者の原因抗原として P75 homologue 及び fructose 1,6-bisaldolase [2,3]、キノコアレルギー患者の原因抗原として ribosomal proteins [4]、花粉症に関連した小麦アレルギー患者の原因抗原として peroxidase-1 及び beta-glucosidase をそれぞれ同定した [5]。また、食物負荷時の血清中抗原濃度を簡便かつ高精度に測定する系を確立することを目的に、ELISA 法による小麦抗原 $\omega 5$ -グリアジンの定量法 [6] や免疫沈降法と質量分析法を組み合わせた卵白抗原アルブミンの定量法を確立した [7]。これらの測定系を利用し、動物モデルを用いた解析で小麦グリアジンの消化管吸収機序を解明し、アスピリンなどの非ステロイド性抗炎症薬の服用で誘発される小麦アレルギー症状が細胞間隙を介した抗原の輸送亢進に起因することや [8]、アスピリンの服用が卵白アルブミンの消化管吸収と感作を増強させることを解明した [9]。さらに、島根大学医学部皮膚科との共同研究により $\omega 5$ -グリアジンを欠失した食用低アレルゲン化小麦 1BS-18 系統を作出し、小麦アレルギーモデル動物を用いた解析により、1BS-18 小麦系統は一般的な食用小麦であるホクシン小麦よりもアレルギー症状惹起能や $\omega 5$ -グリアジンに対する感作能が低いことを明らかにした [10]。臨床薬学に関する研究では、本学薬剤部との共同研究により、thiopental や propofol [11]、高浸透圧性薬物、血管収縮薬などの薬剤による血管外漏出リスクを実験動物で評価する研究 [12] や、培養細胞を用いたインスリン分泌に対するモノアミン受容体の寄与を解析した [13]。さらに、未病・予防医学共同研究講座との共同研究で、植物乳酸菌による生薬成分の発酵処理によりインターロイキン-8 の産生阻害活性を有する化合物を生成することに成功した [14]。

<2022年度の業績の概要>

本学薬剤部及び医学部皮膚科、島根大学医学部皮膚科との共同研究により、自己免疫性蕁麻疹患者の血清中に含まれる抗原架橋能を有する抗 IgE 自己抗体や抗 IgE 受容体自己抗体を amplified luminescence proximity homogeneous assay 法を利用して検出する新規検査法の開発に成功した [15]。また、21年度までの研究で安全性が確認できた 1BS-18 小麦系統由来のグルテンを市販の小麦由来グルテンや $\omega 5$ -グリアジンで感作される前に複数回経口摂取させる方法により、両タンパク質に対する経口免疫寛容を誘導し、将来の小麦アレルギーの発症を予防できる可能性を動物実験で示すことができた [16]。臨床薬学に関する研究では、電解質溶液や輸液の血管外漏出リスクを評価し、電解質の濃度や輸液の組成により血管漏出時に出現する症状や重篤度が異なることを動物実験で明らかにした [17]。

<原著論文(査読有のみ)>

1. Fujimoto W, Fukuda M, Yokooji T, Yamamoto T, Tanaka A, Matsuo H. Anaphylaxis provoked by ingestion of hydrolyzed fish collagen probably induced by epicutaneous sensitization. *Allergol Int.* 2016 Oct;65(4):474-476. doi: 10.1016/j.alit.2016.03.012. (国内他大学との共著)
2. Kimura H, Inami M, Hamaguchi Y, Takehara K, Akimoto S, Yokooji T, Matsuo H, Matsushita T. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis due to shrimp associated with 43 kDa, a new antigen. *J Dermatol.* 2018 Mar;45(3):366-367. doi: 10.1111/1346-8138.13890. (国内他大学, 国内医療機関との共著)
3. Akimoto S, Yokooji T, Ogino R, Chinuki Y, Taogoshi T, Adachi A, Morita E, Matsuo H. Identification of allergens for food-dependent exercise-induced anaphylaxis to shrimp. *Sci Rep.* 2021 Mar 8;11(1):5400. doi: 10.1038/s41598-021-84752-2. (国内他大学, 国内医療機関との共著)
4. Ogino R, Chinuki Y, Tobita R, Morita E. Identification of Ribosomal Proteins as Cross-Reactive Allergens in a Case of Mushroom Allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2021 Feb 21;32(1):58-60. doi: 10.18176/jiaci.0700. (国内他大学との共著)
5. Ogino R, Chinuki Y, Yokooji T, Takizawa D, Matsuo H, Morita E. Identification of peroxidase-1 and beta-glucosidase as cross-reactive wheat allergens in grass pollen-related wheat allergy. *Allergol Int.* 2021 Apr;70(2):215-222. doi: 10.1016/j.alit.2020.09.005. (国内他大学との共著)
6. Yokooji T, Nouma H, Ogino R, Taogoshi T, Morita E, Matsuo H. Quantification of the ω 5- and γ -gliadin content in wheat flour and rat plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay using antibodies specific to their IgE-binding epitopes. *Allergol Int.* 2019 Jan;68(1):112-113. doi: 10.1016/j.alit.2018.04.012. (国内他大学との共著)
7. Ogino R, Yokooji T, Omoto A, Taogoshi T, Morita E, Matsuo H. Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantification of the egg allergen ovalbumin in rat plasma. *Allergol Int.* 2019 Jul;68(3):372-374. doi: 10.1016/j.alit.2018.12.005. (国内他大学との共著)
8. Yokooji T, Fukushima T, Hamura K, Ninomiya N, Ohashi R, Taogoshi T, Matsuo H. Intestinal absorption of the wheat allergen gliadin in rats. *Allergol Int.* 2019 Apr;68(2):247-253. doi: 10.1016/j.alit.2018.11.005.
9. Fukushima T, Yokooji T, Hirano T, Kataoka Y, Taogoshi T, Matsuo H. Aspirin enhances sensitization to the egg-white allergen ovalbumin in rats. *PLoS One.* 2019 Dec 5;14(12):e0226165. doi: 10.1371/journal.pone.0226165.
10. Yamada Y, Yokooji T, Ninomiya N, Taogoshi T, Morita E, Matsuo H. Evaluation of the allergenicity of ω 5-gliadin-deficient Hokushin wheat (1BS-18) in a wheat allergy rat model. *Biochem Biophys Rep.* 2019 Nov 1;20:100702. doi: 10.1016/j.bbrep.2019.100702. (国内他大

学との共著)

11. Shibata Y, Yokooji T, Itamura R, Sagara Y, Taogoshi T, Ogawa K, Tanaka M, Hide M, Kihira K, Matsuo H. Injury due to extravasation of thiopental and propofol: Risks/effects of local cooling/warming in rats. *Biochem Biophys Rep.* 2016 Sep 19;8:207-211. doi: 10.1016/j.bbrep.2016.09.005. (本学の他部局との共著)
12. Shibata Y, Sagara Y, Yokooji T, Taogoshi T, Tanaka M, Hide M, Matsuo H. Evaluation of Risk of Injury by Extravasation of Hyperosmolar and Vasopressor Agents in a Rat Model. *Biol Pharm Bull.* 2018;41(6):951-956. doi: 10.1248/bpb.b18-00105. (本学の他部局との共著)
13. Nagata M, Yokooji T, Nakai T, Miura Y, Tomita T, Taogoshi T, Sugimoto Y, Matsuo H. Blockade of multiple monoamines receptors reduce insulin secretion from pancreatic β -cells. *Sci Rep.* 2019 Nov 11;9(1):16438. doi: 10.1038/s41598-019-52590-y. (国内他大学との共著)
14. Okamoto T, Sugimoto S, Noda M, Yokooji T, Danshiitsoodol N, Higashikawa F, Sugiyama M. Interleukin-8 Release Inhibitors Generated by Fermentation of *Artemisia princeps* Pampanini Herb Extract With *Lactobacillus plantarum* SN13T. *Front Microbiol.* 2020 Jun 3;11:1159. doi: 10.3389/fmicb.2020.01159.
15. Koga Y, Yokooji T, Ogino R, Taogoshi T, Takahagi S, Ishii K, Chinuki Y, Morita E, Hide M, Matsuo H. A novel detection method for cross-linking of IgE-receptors by autoantibodies in chronic spontaneous urticaria. *Allergol Int.* 2022 Jan;71(1):94-102. doi: 10.1016/j.alit.2021.08.007. (本学の他部局, 国内他大学との共著)
16. Yamada Y, Yokooji T, Kunimoto K, Inoguchi K, Ogino R, Taogoshi T, Morita E, Matsuo H. Hypoallergenic Wheat Line (1BS-18H) Lacking ω 5-Gliadin Induces Oral Tolerance to Wheat Gluten Proteins in a Rat Model of Wheat Allergy. *Foods.* 2022 Jul 22;11(15):2181. doi: 10.3390/foods11152181. (国内他大学との共著)
17. Taogoshi T, Shibata Y, Uno H, Yokooji T, Tanaka M, Hide M, Matsuo H. Classification of Skin Injury Risk Caused by Extravasation of Electrolyte Solutions or Infusions in a Rat Model. *Biol Pharm Bull.* 2022;45(9):1254-1258. doi: 10.1248/bpb.b22-00170. (本学の他部局との共著)
18. Tanaka K, Kanie Y, Naitou M, Suzuki M, Umemura H, Tagami K, Sakai K, Furuta T, Yamada C, Izumi H, Yokooji T, Matsuo H, Ito K. [INSOLUBILITY AND ALTERATION OF ALLERGENIC ACTIVITY OF WHEAT PROTEINS IN PROCESSED FOODS]. *Arerugi.* 2017;66(3):222-230. doi: 10.15036/arerugi.66.222. (国内他大学, 国内医療機関との共著)
19. 飯島 茂子, 津田 毅彦, 森山 達哉, 荻野 龍平, 横大路 智治, 松尾 裕彰. 水溶性アルブミン画分に原因抗原の存在が疑われたスパゲッティ依存性運動誘発アナフィラキシーの1例. *日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌.* 2017;11(3):259-265. doi: 10.18934/jedca.11.3_259. (国内医療機関との共著)
20. Furuta T, Tanaka K, Tagami K, Matsui T, Sugiura S, Kando N, Kanie Y, Naito M, Izumi H,

Tanaka A, Sjölander S, Yokooji T, Matsuo H, Ito K. Exercise-induced allergic reactions on desensitization to wheat after rush oral immunotherapy. *Allergy*. 2020 Jun;75(6):1414-1422. doi: 10.1111/all.14182. (国内医療機関, 国外企業との共著)

21. Nakagawa Y, Chinuki Y, Ogino R, Yamasaki K, Aiba S, Ugajin T, Yokozeki H, Kitamura K, Morita E. Cohort study of subclinical sensitization against galactose- α -1,3-galactose in Japan: Prevalence and regional variations. *J Dermatol*. 2022 Dec;49(12):1268-1277. doi: 10.1111/1346-8138.16570. (国内他大学との共著)

<総説(査読有のみ)>

1. Tanaka K, Ogino R, Yamakawa S, Suda S, Hayashida K. Role and Function of Mesenchymal Stem Cells on Fibroblast in Cutaneous Wound Healing. *Biomedicines*. 2022 Jun 12;10(6):1391. doi: 10.3390/biomedicines10061391. (国内他大学との共著)
2. Ogino R, Yokooji T, Hayashida M, Suda S, Yamakawa S, Hayashida K. Emerging Anti-Inflammatory Pharmacotherapy and Cell-Based Therapy for Lymphedema. *Int J Mol Sci*. 2022 Jul 9;23(14):7614. doi: 10.3390/ijms23147614. (国内他大学との共著)
3. Morita E, Matsuo H, Kohno K, Yokooji T, Yano H, Endo T. A Narrative Mini Review on Current Status of Hypoallergenic Wheat Development for IgE-Mediated Wheat Allergy, Wheat-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis. *Foods*. 2023 Feb 23;12(5):954. doi: 10.3390/foods12050954. (国内他大学との共著)

<著書>

1. 横大路 智治, 松尾 裕彰. 食物アレルギーのすべて 基礎から臨床・社会的対応まで, 食物アレルギー—小麦・ソバ・穀物, 診断と治療社. 2016年10月: 100-109. ISBN: 978-4-7878-2278-9.
2. 森 雄司, 近藤 康人, 横大路 智治. 臨床薬学テキストシリーズ 呼吸器/免疫・炎症・アレルギー/骨・関節, 食物(消化管)アレルギー, 中山書店. 2020年9月: 226-230. ISBN: 978-4-521-74453-7. (国内他大学との共著)
3. 横大路 智治, 松尾 裕彰. 食物アレルギーのすべて 改訂第2版 基礎から臨床・社会的対応まで, 食物アレルギー—小麦・ソバ・穀物, 診断と治療社. 2022年6月: 98-106. ISBN: 978-4-7878-2522-3.
4. 荻野 龍平. アレルギーの臨床, PFAS としての小麦アレルギー, 北隆館. 2022年10月: 837-840. ISBN: 01417-10.
5. 荻野 龍平. 住まいとでんき, ハウスダストとアレルギーの関係 環境を整えて、アレルギー対策を, 日本工業出版, 2021年12月: 33(12):5-9. ISSN 2187-8412.

<特許>

1. 森田 栄伸, 河野 邦江, 遠藤隆, 松尾裕彰, 横大路智治. 特願 2019-004081, 低アレルギー化小麦.

治療薬効学研究室

<2016 年度–2021 年度の業績の概要>

当研究室では、アルツハイマー病、糖尿病、肥満やアレルギー疾患を対象とし、それらの疾患の病態解明と創薬標的の探索を行ってきた。基礎的な研究の知見として、様々な病態発症要因と密接に関わる小胞体ストレスの新しい機構として、ストレスの脳で XBP1 のスプライシングが惹起されること[論文 10]、さらにエクソソームに sXBP1mRNA が選択的に取り込まれて細胞間コミュニケーションに関わる可能性を示した[論文 9]。また、アルツハイマー病の発症要因としてオートファジーに関わることを明らかにした。さらに肥満の原因としてレプチン抵抗性のメカニズムを検討し、一定の成果が得られた[論文 1,3,4,6]。また、アレルギー分野の研究として、慢性蕁麻疹の発症に血液凝固系と補体系が関与している可能性を示した [論文 15]。

<2022 年度の業績の概要>

2020 年度には、アルツハイマー病の発症原因に P62 を介したオートファジーに関わることを明らかにし[論文 20]、さらには、アルツハイマー病に有用な化合物の探索研究を行い、アルツハイマー病の原因ペプチドである A β の凝集を抑制できる化合物アルカニンを同定した[論文 27]。また、これまでに、肥満の発症機構について検討を行い 4-HNE やホモシステインがレプチン抵抗性を惹起し、肥満発症要因の一つとなることを見出した[論文 12, 26]。

<原著論文(査読有のみ)>

1. Hosoi T., Kohda T., Matsuzaki S., Ishiguchi M., Kuwamura A., Akita T., Tanaka J. and Ozawa K. (2016) Key role of HSP90 in leptin-induced STAT3 activation and feeding regulation. *British Journal of Pharmacology* 173: 2434-2445.
2. Hosoi T., Nakatsu K., Shimamoto A., Tahara H., and Ozawa K. (2016) Inhibition of telomerase causes vulnerability to endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death. *Neuroscience Letters* 629: 241-244.
3. Thon M., Hosoi T., and Ozawa K. (2016) Dehydroascorbic acid-induced endoplasmic reticulum stress and leptin resistance in neuronal cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 478: 716-720.
4. Hosoi T., Suyama Y., Kayano T., and Ozawa K. (2016) Flurbiprofen ameliorates glucose deprivation-induced leptin resistance. *Frontiers in Pharmacology* 7: 354.
5. Hosoi T., Kakimoto M., Tanaka K., Nomura J., and Ozawa K. (2016) Unique pharmacological property of ISRIB in inhibition of A β -induced neuronal cell death. *Journal of Pharmacological Science* 131: 292-295.

6. Thon M., Hosoi T., and Ozawa K. (2016) Insulin enhanced leptin-induced STAT3 signaling by inducing GRP78. *Scientific Reports* 6: 34312.
7. Vauthier¹ V., Roujeau¹ C., Chen¹ P., Sarkis C., Migrenne S., Hosoi T., Ozawa K., Rouillé Y., Foretz¹ M., Mallet J., Launay J., Magnan C., Jockers¹ R. and Dam J. (2017) Endospanin 1 affects oppositely body weight regulation and glucose homeostasis by differentially regulating central leptin signaling. *Molecular Metabolism* 6: 159-172.
8. Mechanisms of the action of adenine on anti-allergic effects in mast cells. *Immunity, Inflammation and Disease* 6: 97-105.
9. Hosoi T., Nakashima M., and Ozawa K. (2018) Incorporation of the Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Spliced Form of XBP1 mRNA in the Exosomes. *Frontiers in Physiology* 9:1357.
10. Hosoi T., Kimura H., Yamawaki Y., Mori K., and Ozawa K. (2019) Immobilization stress induces XBP1 splicing in the mouse brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 508: 516-520
11. Abd El-Hafeez A.A., Khalifa H.O., Mahdy E.A.M., Sharma V., Hosoi T., Ghosh P., Ozawa K., Montano M.M., Fujimura T., Ibrahim A.R.N., Abdelhamid M.A.A., Pack S.P., Shouman S.A., and Kawamoto S. (2019) Anticancer effect of nor-wogonin (5, 7, 8-trihydroxyflavone) on human triple-negative breast cancer cells via downregulation of TAK1, NF- κ B, and STAT3. *Pharmacological Reports* 71: 289-298.
12. Hosoi T., Kuwamura A., Thon M., Tsuchio K., Abd El-Hafeez A.A., and Ozawa K. (2019) Possible involvement of 4-hydroxy-2-nonenal in the pathogenesis of leptin resistance in obesity. *American Journal of Physiology- Cell Physiology* 316: C641-C648
13. Kamegashira A, Yanase Y*, Takahagi S, Saito R, Uchida K, Kawaguchi T, Ishii K, Tanaka A, Ozawa K, Hide M*. (2020) Histamine- or VEGF-induced tissue factor expression and gap formation between vascular endothelial cells are synergistically enhanced by LPS, TNF- α , IL-33 or IL-1 β . *J Dermatol.* 2020; 47: 1293-1300. (皮膚科学との共同研究)
14. Urabe T, Yanase Y, Motoike S, Harada K, Hide I, Tanaka S, Tsutsumi Y, Kawamoto M, Sakai N*. (2020) Propofol induces the elevation of intracellular calcium via morphological changes in intracellular organelles, including the endoplasmic reticulum and mitochondria. *European Journal of Pharmacology.* 2020. 2020 Oct 5;884:173303. (神経薬理学との共同研究)
15. Yanase Y, Matsuo Y, Takahagi S, Kawaguchi T, Uchida K, Ishii K, Tanaka A, Matsubara D, Ozawa K, (2021) Hide M. Coagulation factors induce human skin mast cell- and basophil-degranulation via activation of complement 5 and the C5a receptor. *J Allergy Clin Immunol.* 2021 Mar;147(3):1101-1104. (皮膚科学との共同研究)
16. Wardelmann K, Rath M, Castro JP, Blümel S, Schell M, Hauffe R, Schumacher F, Flore T, Ritter K, Wernitz A, Hosoi T, Ozawa K, Kleuser B, Weiß J, Schürmann A, Kleinridders A. (2021)

Central Acting Hsp10 Regulates Mitochondrial Function, Fatty Acid Metabolism, and Insulin Sensitivity in the Hypothalamus. *Antioxidants (Basel)*. 10: 711.

17. Horiuchi K, Tsuchio K, Matsushima G, Thon M, Hosoi T, Ozawa K. (2021) The possible role of biochanin A in ameliorating endoplasmic reticulum stress-induced leptin resistance. *Neuroreport*, 32 :983-987.
18. Kakegawa J, Ohtsuka S, Yokoyama M, Hosoi T, Ozawa K, Hatanaka T. (2021) Thermal proteome profiling reveals GPX4 as the target of the autophagy inducer conophylline. *Molecular Pharmacology*, 100: 181-192.
19. Tanaka K, Kuramoto K, Nakagawa T, Nomura Y, Ozawa K, Hosoi T. (2022) COOH-terminal fragment of APP interacts with p62, forms an aggregate, and induces autophagic degradation in Alzheimer's cell model. *American Journal of Physiology Cell Physiology* 323: C1633-C1641.
20. Tanaka K, Kuramoto K, Nakagawa T, Nomura Y, Ozawa K, Hosoi T. (2022) COOH-terminal fragment of APP interacts with p62, forms an aggregate, and induces autophagic degradation in Alzheimer's cell model. *American Journal of Physiology Cell Physiology* 323: C1633-C1641.
21. Preninka AI, Kuriya K, Yazawa K, Yoshii M, Yanase Y, Jockers R, Dam J, Hosoi T, Ozawa K. (2022) Homocysteine causes neuronal leptin resistance and endoplasmic reticulum stress. *PLOS One* 17: e0278965.
22. Urabe T, Miyoshi H, Narasaki S, Yanase Y, Uchida K, Noguchi S, Hide M, Tsutsumi YM, Sakai N. (2022) Characterization of intracellular calcium mobilization induced by remimazolam, a newly approved intravenous anesthetic. *PLOS One*. 2022 Feb 1;17(2):e0263395. doi: 10.1371/journal.pone.0263395. eCollection 2022. (神経薬理学との共同研究)
23. Numata T, Takahagi S, Ishii K, Morioka S, Kan T, Mizuno H, Yanase Y, Kawaguchi T, Tanaka A, Hide M. (2022) Immunological Changes of Basophil Hyperreactivity to Sweat. *Frontiers in Immunol*. 2022 Jun 29. Vao.13, Article 883605. (皮膚科学との共同研究)
24. Matsubara D, Yanase Y, Ishii K, Takahagi S, Tanaka A, Ozawa K, Hide M*. (2022) Basophils activation of patients with chronic spontaneous urticaria in response to C5a despite failure to respond to IgE-mediated stimuli. *Frontiers in Immunol*. 28 September 2022. Doi:10.3389/fimmu.2022.994823. (皮膚科学との共同研究)
25. Yamawaki Y, Kimura H, Nagata S, Ozawa K, Hosoi T. (2022) Peripheral Immune Activation in Mice Elicits Unfolded Protein Responses Independent on MyD88 Pathway in the Liver but not the Hypothalamus and Hippocampus. *Frontiers in Physiology* 13:854538.
26. Preninka AI, Kuriya K, Yazawa K, Yoshii M, Yanase Y, Jockers R, Dam J, Hosoi T, Ozawa K. (2022) Homocysteine causes neuronal leptin resistance and endoplasmic reticulum stress. *PLOS One* 17: e0278965.
27. Hosoi T, Yazawa K, Imada M, Tawara A, Tohda C, Nomura Y, Ozawa K. (2023) Alkannin

attenuates amyloid β aggregation and Alzheimer's disease pathology. *Molecular Pharmacology* in press

<総説(査読有のみ)>

1. Giménez-Arnau AM, DeMontojoye L, Asero R, Cugno M, Kulthanan K, Yanase Y, Hide M, Kaplan AP. The Pathogenesis of Chronic Spontaneous Urticaria: The Role of Infiltrating Cells. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021 Apr 3:S2213-2198(21)00374-3. doi: 10.1016/j.jaip.2021.03.033. (国際共著)
2. Yanase Y, Takahagi S, Ozawa K, Hide M*. The Role of Coagulation and Complement Factors for Mast Cell Activation in the Pathogenesis of Chronic Spontaneous Urticaria. *Cells.* 2021; 10(7):1759. (皮膚科学との共同研究)
3. Link between endoplasmic reticulum stress and autophagy in neurodegenerative diseases. Toru Hosoi, Jun Nomura, Keigo Tanaka, Koichiro Ozawa, Akinori Nishi, and Yasuyuki Nimura. *Endoplasmic Reticulum Stress in Diseases* 4, 37-45, doi.org/10.1515/ersc-2017-0004 (2017)
4. Neuroprotective Effects of 4-phenylbutyric Acid and Its Derivatives: Possible Therapeutics for Neurodegenerative Diseases. Seisuke Mimori, Toru Hosoi, Masayuki Kaneko, Koichiro Ozawa, Tetsuto Kanzaki, Akinori Nishi and Yasuyuki Nomura. *Journal of Health Science* 5 (2017) 9-17, doi: 10.17265/2328-7136/2017.01.0025
5. Insulin enhanced leptin-induced STAT3 signaling by inducing GRP78. Mina Thon, Toru Hosoi, and Koichiro Ozawa. *Scientific Reports* 6, 34312, doi:10.1038/srep34312 (2016)

<著書>

1. Yanase Y, Hide M. (2021) Living-cell analysis by surface plasmon resonance and its medical application. Biomedical Engineering. Chapter7. Jenny Stanford Publishing. ISBN 9789814877633. November 30, 2021. (皮膚科学との共同)

<特許>

1. 特願 2020-1297 (柳瀬 雄輝) 凝固・線溶系と補体を介したマスト細胞および好塩基球の活性化の制御並びにその医薬用途 (皮膚科との共同研究)
2. 工業所有権 (2015) (細井 徹, 小澤孝一郎) レプチン抵抗性を改善および/または予防するための薬学的組成物、並びにその使用 (特願 2009-100894 2009年4月17日, 特願 2009-251958 2009年11月2日, PCT/JP2010/002691 2010年4月14日, 特許番号 第 5780549号 特許登録日 2015年7月24日)

<企業との共同研究>

1 件

微生物医薬品開発学研究室

<2016 年度-2021 年度の業績の概要>

抗菌薬耐性機構に関する研究：耐性機構の一つである多剤排出ポンプについて様々な細菌において解析を進めた。*Serratia marcescens* では本菌のゲノム上で見出されたすべての RND 型多剤排出ポンプの機能解析を行い、一部が消毒薬耐性にも重要であることを明らかにし[1]、肺炎桿菌においては多剤耐性変異株で重要な働きをする排出ポンプを同定した[2]。さらに *Vibrio cholerae* の MATE 型多剤排出ポンプ VcmN の立体構造も明らかにした[3,4]。

抗菌薬シーズの発掘：天然物化学あるいは有機化学を専門とする研究者と共同で、多くの抽出物あるいは化合物について薬剤耐性菌への効果を調べ、化学構造と抗菌活性との関係について解析を行った[5-8]。また S-ニトロソ化 α 1-酸性タンパク質が多剤耐性菌に活性を示すことを明らかにした[9]。

病原細菌のゲノム解析：インドにおける *Vibrio cholerae* O1 及び NAG ビブリオの全ゲノム解析を行い、流行変化と薬剤耐性因子の獲得機構を明らかにした[10-13]。

タンパク質構造解析：*Streptomyces* 属のチロシナーゼについて、好氣的条件下で還元剤を添加することにより、チロシナーゼへの銅の取り込みとその後のチロシナーゼの放出がより速く進行することを実証し[14]、D-サイクロセリンの生合成過程における N ω -hydroxy-l-arginine hydrolase の立体構造を明らかにした[15]。

乳酸菌に関する研究：LP28 株, LY45 株, PY45 株, SN35N 株が産生する菌体外多糖の特徴を明らかにした [16-18]。174A 株における新規のバクテリオシン生産制御機構を明らかにするとともに、SN35N 株のシスタチオニン γ -リアーゼの三次元構造を解明した [19, 20]。

放線菌に関する研究：NBRC14001 株のゲノムマイニングを実施し、本株がポリエンマクロライドである lucensomycin を生産することを明らかにした [21]。

<2022 年度の業績の概要>

下痢症原因細菌の耐性遺伝子伝播に関する研究：AMED の新興・再興感染症研究基盤創生事業（海外拠点活用研究領域）の支援を受けた研究の一環として、富山県の病院で下痢患者から分離された *Campylobacter jejuni* の全ゲノム解析を実施し、日本での流行が報告されている *C. jejuni* ST4526 の継続的な流行と、pTet ファミリープラスミドによる抗菌薬耐性および病原性因子の獲得を明らかにした[22]。また学部内の共同研究により、土壌から見出された *Herbiconiux* 属細菌及び *Paenibacillus* 属細菌の全ゲノム配列を決定した[23, 24]。

乳酸菌に関する研究：温度感受性の大腸菌-乳酸菌シャトルベクターを構築するとともに、Tn10 および温度感受性複製起点を利用して乳酸菌におけるトランスポゾン変異導入系を確立した [25]。

放線菌に関する研究：希少放線菌である NBRC14063 株および NBRC14836 株のゲノム配列を決定し、二次代謝産物生合成遺伝子クラスターの特徴を明らかにした。

<原著論文（査読有のみ）>

1. Shinsuke Toba, Yusuke Minato, Yuma Kondo, Kanami Hoshikawa, Shu Minagawa, Shiho Komaki, Takanori Kumagai, Yasuyuki Matoba, Daichi Morita, Wakano Ogawa, Naomasa Gotoh, Tomofusa Tsuchiya, Teruo Kuroda (2019) Comprehensive analysis of resistance-nodulation-cell division superfamily (RND) efflux pumps from *Serratia marcescens*, Db10, *Scientific reports*, 9(1), pp. 4854, 20190319, DOI: 10.1038/s41598-019-41237-7 (他大学との共著)
2. Rui Ting Ni, Motoyasu Onishi, Minako Mizusawa, Ryoko Kitagawa, Takanori Kishino, Futoshi Matsubara, Tomofusa Tsuchiya, Teruo Kuroda & Wakano Ogawa (2020) The role of RND-type efflux pumps in multidrug-resistant mutants of *Klebsiella pneumoniae*, *Scientific Reports*, 10(1), 20200702, DOI: 10.1038/s41598-020-67820-x (他大学との共著)
3. Tsukasa Kusakizako, Yoshiki Tanaka, Christopher J Hipolito, Teruo Kuroda, Ryuichiro Ishitani, Hiroaki Suga, Osamu Nureki (2016) LCP crystallization and X-ray diffraction analysis of VcmN, a MATE transporter from *Vibrio cholerae*, *ACTA CRYSTALLOGRAPHICA SECTION F-STRUCTURAL BIOLOGY COMMUNICATIONS*, 72, pp. 552-557, 20160622, DOI: 10.1107/S2053230X16008931 (他大学との共著)
4. Tsukasa Kusakizako, Derek P. Claxton, Yoshiki Tanaka, Andrés D. Maturana, Teruo Kuroda, Ryuichiro Ishitani, Hassane S. Mchaourab, Osamu Nureki (2019) Structural Basis of H⁺-Dependent Conformational Change in a Bacterial MATE Transporter, *STRUCTURE*, 27(2), pp. 293-301, 20190205, DOI: 10.1016/j.str.2018.10.004 (他大学との共著)
5. Kana Fujii, Daichi Morita, Kenji Onoda, Teruo Kuroda, Hiroyuki Miyachi (2016) Minimum structural requirements for cell membrane leakage-mediated anti-MRSA activity of macrocyclic bis(bibenzyl)s., *Bioorg Med Chem Lett.*, 26(9), pp. 2324-2327, 20160501, DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.03.033 (他大学との共著)
6. Yuuki Shimozu, Yuriko Kimura, Akari Esumi, Hiroe Aoyama, Teruo Kuroda, Hiroshi Sakagami and Tsutomu Hatano (2017) Ellagitannins of *Davidia involucrata*. I. Structure of Davicratinic Acid A and Effects of Davidia Tannins on Drug-Resistant Bacteria and Human Oral Squamous Cell Carcinomas, *MOLECULES*, 22(3), 20170315, DOI: 10.3390/molecules22030470 (他大学との共著)
7. Yuuki Shimozu, Teruo Kuroda, Tomofusa Tsuchiya, and Tsutomu Hatano (2017) Structures and Antibacterial Properties of Isorugosins H-J, Oligomeric Ellagitannins from Liquidambar formosana with Characteristic Bridging Groups between Sugar Moieties, *JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS*, 80(10), pp. 2723-2733, 20171027, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00496 (他大学との共著)
8. Yohei Morishita, Yu Aoki, Mei Ito, Daisuke Hagiwara, Kensho Torimaru, Daichi Morita, Teruo

Kuroda, Hanako Fukano, Yoshihiko Hoshino, Masato Suzuki, Tohru Taniguchi, Keiji Mori, and Teigo Asai (2020) Genome Mining-Based Discovery of Fungal Macrolides Modified by glycosylphosphatidylinositol (GPI)-Ethanolamine Phosphate Transferase Homologues, *ORGANIC LETTERS*, 22(15), pp. 5876-5879, 20200807 DOI: 10.1021/acs.orglett.0c01975 (他大学との共著)

9. Yu Ishima, Kaori Watanabe, Victor T. G. Chuang, Iyo Takeda, Teruo Kuroda, Wakano Ogawa, Hiroshi Watanabe, Yasunori Iwao, Tatsuhiro Ishida, Masaki Otagiri, Toru Maruyama (2018) *S*-Nitrosated α -1-acid glycoprotein exhibits antibacterial activity against multidrug-resistant bacteria strains and synergistically enhances the effect of antibiotics, *FASEB BIOADVANCES*, 1(3), pp. 137-150, 20190204, DOI: 10.1096/fba.1018 (他大学との共著)
10. Anirban Sarkar, Daichi Morita, Amit Ghosh, Goutam Chowdhury, Asish K. Mukhopadhyay, Keinosuke Okamoto and Thandavarayan Ramamurthy (2019) Altered Integrative and Conjugative Elements (ICEs) in Recent *Vibrio cholerae* O1 Isolated From Cholera Cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol*, 6(10), pp. 2072, 20190906, DOI: 10.3389/fmicb.2019.02072 (国際共同研究)
11. Daichi Morita, Masatomo Morita, Munirul Alam, Asish K. Mukhopadhyay, Fatema-tuz Johura, Marzia Sultana, Shirajum Monira, Niyaz Ahmed, Goutam Chowdhury, Shanta Dutta, Thandavarayan Ramamurthy, Prosenjit Samanta, Eizo Takahashi, Keinosuke Okamoto, Hidemasa Izumiya, and Makoto Ohnishi (2020) Whole-Genome Analysis of Clinical *Vibrio cholerae* O1 in Kolkata, India, and Dhaka, Bangladesh, Reveals Two Lineages of Circulating Strains, Indicating Variation in Genomic Attributes, *mBio*, 11(6), e01227-20. 20201106 DOI: 10.1128/mBio.01227-20 (国際共同研究)
12. Daichi Morita, Eizo Takahashi, Masatomo Morita, Makoto Ohnishi, Tamaki Mizuno, Shin-ichi Miyoshi, Devarati Dutta, Thandavarayan Ramamurthy, Goutam Chowdhury, Asish K. Mukhopadhyay, Keinosuke Okamoto (2020) Genomic characterization of antibiotic resistance-encoding genes in clinical isolates of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 strains from Kolkata, India: generation of novel types of genomic islands containing plural antibiotic resistance genes, *Microbiology and Immunology*, 64(6), pp. 435-444, 202006 DOI: 10.1111/1348-0421.12790 (国際共同研究)
13. Eizo Takahashi, Sadayuki Ochi, Tamaki Mizuno, Daichi Morita, Masatomo Morita, Makoto Ohnishi, Hemanta Koley, Moumita Dutta, Goutam Chowdhury, Asish K Mukhopadhyay, Shanta Dutta, Shin-Ichi Miyoshi, Keinosuke Okamoto (2021) Virulence of Cholera Toxin Gene-Positive *Vibrio cholerae* Non-O1/non-O139 Strains Isolated From Environmental Water in Kolkata, India, *Front Microbiol*, 20(12), pp. 726273, 20210820 DOI: 10.3389/fmicb.2021.726273 (国際共同研究)

14. Yasuyuki Matoba, Shogo Kihara, Yoshimi Muraki, Naohiko Bando, Hironari Yoshitsu, Teruo Kuroda, Miyuki Sakaguchi, Kure'e Kayama, Hulin Tai, Shun Hirota, Takashi Ogura, and Masanori Sugiyama (2017) Activation Mechanism of the Streptomyces Tyrosinase Assisted by the Caddie Protein, *Biochemistry*, 56(41), pp. 5593-5601, 20170913, DOI :10.1021/acs.biochem.7b00635
15. Kosuke Oda, Natsuki Shimotani, Teruo Kuroda, Yasuyuki Matoba (2020) Crystal structure of an N ω -hydroxy-L-arginine hydrolase found in the D-cycloserine biosynthetic pathway, *ACTA CRYSTALLOGRAPHICA SECTION D-STRUCTURAL BIOLOGY*, 76, pp. 506-514, 20200601, DOI: 10.1107/S2059798320004908
16. Higashikawa, F., Noda, M., Awaya, T., Danshiitsoodol, N., Matoba, Y., Kumagai, T., Sugiyama M. Anti-obesity effect of *Pediococcus pentosaceus* LP28 on overweight subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* 70, 582-587, May 2016. doi: 10.1038/ejcn.2016.17.
17. Panthavee, W., Noda, M., Danshiitsoodol, N., Kumagai, T., Sugiyama, M. Characterization of exopolysaccharides produced by thermophilic lactic acid bacteria isolated from tropical fruits of Thailand. *Biol. Pharm. Bull.* 40, 621-629, May 2017. doi: 10.1248/bpb.b16-00856.
18. Noda, M., Shiraga, M., Kumagai, T., Danshiitsoodol, N., Sugiyama, M. Characterization of the SN35N strain-specific exopolysaccharide encoded in the whole circular genome of a plant-derived *Lactobacillus plantarum*. *Biol. Pharm. Bull.* 41, 536-545, April 2018. doi: 10.1248/bpb.b17-00840.
19. Noda, M., Miyauchi, R., Danshiitsoodol, N., Matoba, Y., Kumagai, T., Sugiyama, M. The expression of bacteriocin production and self-resistance in *Lactobacillus brevis* 174A is mediated by two regulatory proteins. *Appl. Environ. Microbiol.* 84, e02707-02717, March 2018. DOI: 10.1128/AEM.02707-17.
20. Matoba, Y., Noda, M., Yoshida, T., Oda, K., Ezumi, Y., Yasutake, C., Izuhara-Kihara, H., Danshiitsoodol, N., Kumagai, T., Sugiyama, M. Catalytic specificity of the *Lactobacillus plantarum* cystathionine γ -lyase presumed by the crystallographic analysis. *Sci. Rep.* 10, 14886, September 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-71756-7.
21. Sho Nishimura, Kazune Nakamura, Miyako Yamamoto, Daichi Morita, Teruo Kuroda, and Takanori Kumagai (2021) Genome Sequence-Guided Finding of Lucensomycin Production by *Streptomyces achromogenes* Subsp. *streptozoticus* NBRC14001, *MICROORGANISMS*, 10(1), 20211226, DOI: 10.3390/microorganisms10010037
22. Daichi Morita, Hiroki Arai, Junko Isobe, Emi Maenishi, Takanori Kumagai, Fumito Maruyama, Teruo Kuroda (2023) Whole-Genome and Plasmid Comparative Analysis of *Campylobacter jejuni* from Human Patients in Toyama, Japan, from 2015 to 2019, *Microbiology Spectrum*, 11(1),

pp. e02659-22, 20230109, DOI: 10.1128/spectrum.02659-22, (本学他部局との共著)

23. Miona Yajima, Yoshi Yamano, Daichi Morita, Sachiko Sugimoto, Teruo Kuroda, Katsuyoshi Matsunami (2022) Complete Genome Sequence of *Herbiconiux* sp. Strain L3-i23 Isolated from Soil in Japan, *Microbiol Resour Announc*, 11(11), pp. e00815-22, 20221117, DOI: 10.1128/mra.00815-22
24. Daichi Morita, Yoshi Yamano, Sachiko Sugimoto, Katsuyoshi Matsunami, Teruo Kuroda (2022) Draft Genome Sequence of *Paenibacillus* sp. Strain L3-i20, Isolated from Soil in Japan, *Microbiol Resour Announc*, pp. e0007722, 20220516, DOI: 10.1128/mra.00077-22
25. Noda, M., Kumagai, T., Yamaoka, M., Danshiitsoodol, N., Sugiyama, M. (2023) Construction of a temperature-sensitive shuttle vector between lactic acid bacteria and *Escherichia coli* and its application to a Tn10-based random mutagenesis tool in lactic acid bacteria. *Biol. Pharm. Bull.*, in press, March 2023.

<著書>

1. 供田洋, 黒田照夫 (編) 化学療法学 (改訂第2版) -病原微生物・がんと戦う-, 南江堂, 2018年
2. 塩田澄子, 黒田照夫 (編) ベーシック薬学教科書シリーズ 15 微生物学・感染症学 (第2版), 化学同人, 2016年

<特許>

1. 黒田照夫, 波多野力 抗菌活性増強剤 特許第 6441065 号, 2018年11月30日
2. 黒田照夫, 波多野力, 土屋友房 抗菌剤, 及び抗菌活性増強剤 特許第 6084084 号, 2017年02月03日,
3. 杉山政則, 熊谷孝則, 安武哲也, 井上敦, 村島弘一郎. ペディオオコッカス・ペントサセウスの新規な遺伝子. 特開 2017-108739. 2017年6月.

生薬学研究室

<2016 年度-2021 年度の業績の概要>

当研究室では主に、生物活性スクリーニングのライブラリー化合物を得るため、未解析亜熱帯植物を対象に、含有新規化学成分の単離・精製を行った。得られた化合物については、NMR（核磁気共鳴スペクトル）や HR-MS（高分解能質量分析法）といったスペクトルデータ解析によりその化学構造を明らかにした。生物活性評価は、ヒトの肺がん細胞株 A549 を用いたがん細胞増殖抑制活性、熱帯域で問題になっているリーシュマニア症の原因微生物である

Leishmania 原虫に対する活性、心血管疾患ならびに生活習慣病など種々の疾患と関係があるとされる酸化ストレスに対する活性を中心に評価を行った[1-50]。また、海外からの研究者や留学生との国際交流および共同研究も積極的に行った。例えば、ベトナムからの留学生は新規抗酸化物質(図 1)を発見しその化学構造を解明したほか、エジプト人留学生は抗リーシュマニア活性を示す新規ラクトン化合物 (図 2)、サウジアラビアからの留学生は複雑で構造解析が困難であったが、多数の

新規イリドイド二量体の構造解析を達成し (図 3)、それぞれ国際学術論文として発表した。

<2022 年度の業績の概要>

上記の未利用植物資源に対する研究を引き続き行うとともに、未だ十分に成分が解明されていない中国生薬に関する研究も行った。中国の東北部で、止血、利尿や痛み止めに用いられる林間荊と呼ばれる生薬について化学成分の解明を行った。その結果、図 4 に示す未報告成分を発見しその化学構造を解明した。生物活性について引き続き検討を行っている。

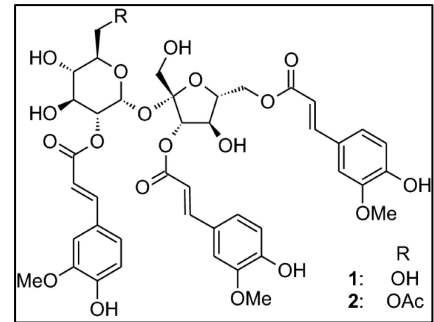


図 1 Firmosides A and B

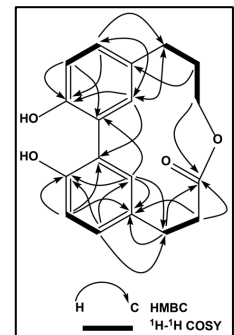


図 2 Racemolide

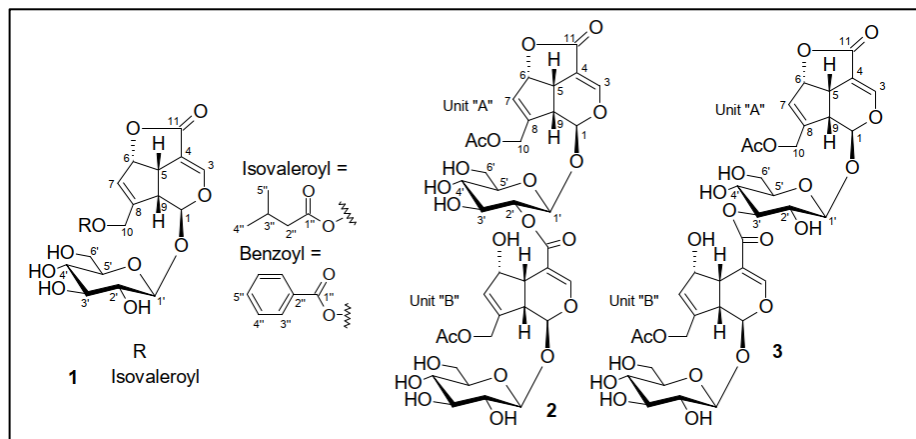


図 3 Lasianoside 類

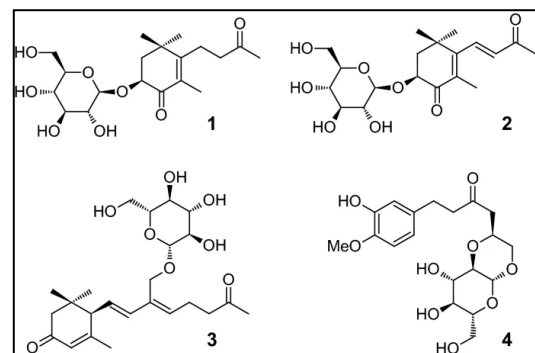


図 4 Equisoside A, B, 他

<原著論文(査読有のみ)>

1. Four new glucosides from the aerial parts of *Equisetum sylvaticum*
 By: Wang, Zhichao; Tian, Yusen; Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Kawakami, Susumu; Otsuka, Hideaki; Matsunami, Katsuyoshi
 Journal of Natural Medicines (2022), 76(4), 832-841 DOI: 10.1007/s11418-022-01643-0
2. Crotofolane-type diterpenoids: crotoascarins R-V, rearranged trinorcrotofolane: crotoascarin δ and a phorbol derivative from the leaves of *Croton cascarilloides*
 Kawakami, Susumu; Inagaki, Masanori; Nishimura, Motohiro; Otsuka, Hideaki; Matsunami, Katsuyoshi; Nehira, Tatsuo; Shinzato, Takakazu
 Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2022), 70(4), 286-292 DOI: 10.1248/cpb.c21-01034
3. Omphalines A-E: ent-rosane-type diterpenoids from the madagascar endemic plant, *Omphalea oppositifolia*
 Kawakami, Susumu; Kanagawa, Chieko; Rakotondraibe, Liva Harinantenaina; Inagaki, Masanori; Nishimura, Motohiro; Otsuka, Hideaki; Seyama, Toshio; Matsunami, Katsuyoshi; Rakotoarisoa, Falitiana Marrino; Rakotonandrasana, Stephan Richard; et al
 Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2022), 70(12), 901-906 DOI: 10.1248/cpb.c22-00648
4. Cytotoxic and antileishmanial triterpenes of *Tabebuia aurea* (Silva Manso) leaves
 Mahmoud, Amany Hamouda; Mahmoud, Basma Khalaf; Samy, Mamdouh Nabil; Fouad, Mostafa Ahmad; Kamel, Mohamed Salah; Matsunami, Katsuyoshi
 Natural Product Research (2022), 36(23), 6181-6185 DOI: 10.1080/14786419.2022.2062350
5. Cytotoxicity and chemical profiling of the Red Sea soft corals *Litophyton arboreum*
 Mahmoud, Amany Hamouda; Zidan, Sabry A. H.; Samy, Mamdouh Nabil; Alian, Abdallah; Abdelmohsen, Usama Ramadan; Fouad, Mostafa Ahmed; Kamel, Mohamed Salah; Matsunami, Katsuyoshi
 Natural Product Research (2022), 36(16), 4261-4265 DOI: 10.1080/14786419.2021.1974437
6. Diterpenes and sterols from the Red Sea soft coral *Sarcophyton trocheliophorum* and their cytotoxicity and anti-leishmanial activities
 Zidan, Sabry A. H.; Abdelhamid, Reda A.; Alian, Abdallah; Fouad, Mostafa A.; Matsunami, Katsuyoshi; Orabi, Mohamed A. A.
 Journal of Asian Natural Products Research (2022), 24(8), 794-802 DOI: 10.1080/10286020.2021.1979522
7. Isolation of three new diterpenes from *Dodonaea viscosa*
 Sagara, Toshinori; Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Nehira, Tatsuo; Masuda, Kazuma; Otsuka, Hideaki; Matsunami, Katsuyoshi
 Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2021), 69(1), 40-47 <https://doi.org/10.1248/cpb.c20-00327>

8. Six new phenylpropanoid derivatives from chemically converted extract of *Alpinia galanga* (L.) and their antiparasitic activities
Sulistyowaty, Melanny Ika ; Uyen, Nguyen Hoang; Suganuma, Keisuke; Chitama, Ben-Yeddy Abel; Yahata, Kazuhide; Kaneko, Osamu ; Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Kawakami, Susumu ; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi
Molecules (2021), 26(6), 1756 <https://doi.org/10.3390/molecules26061756>
9. Symplocosins C-P: Fourteen Triterpene Saponins from the Leaves of *Symplocos cochinchinensis* var. *philippinensis*
Ohyama, Nobuhiro; Cai, Wen-Hu; Kawakami, Susumu; Sugimoto, Sachiko; Matsunami; Katsuyoshi ; Otsuka, Hideaki
Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2020), 68(11), 1090-1099 DOI: 10.1248/cpb.c20-00592
10. Firmosides A and B: two new sucrose ferulates from the aerial parts of *Silene firma* and evaluation of radical scavenging activities
Uyen, Nguyen Hoang; Widyowati, Retno; Sulistyowaty, Melanny Ika; Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Kawakami, Susumu; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi
Journal of Natural Medicines (2020), 74(4), 796-803 DOI: 10.1007/s11418-020-01426-5
11. Zanthosides A-D: four aromatic glucosides from the leaves of *Zanthoxylum ailanthoides*
Teshima, Serika; Yamashita-Higuchi, Yukiko; Sugimoto, Sachiko; Matsunami; Katsuyoshi ; Otsuka, Hideaki; Shinzato, Takakazu
Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2020), 68(8), 814-817 DOI: 10.1248/cpb.c20-00233
12. Eudesmane-type sesquiterpene glycosides: sonneratiosides A-E and eudesmol β -D-glucopyranoside from the leaves of *Sonneratia alba*
Katsutani, Kazuma; Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi; Mizuta, Tsutomu
Journal of Natural Medicines (2020), 74(1), 119-126 DOI: 10.1007/s11418-019-01353-0
13. Lasianosides F-I: a new iridoid and three new bis-iridoid glycosides from the leaves of *Lasianthus verticillatus* (Lour.) Merr
Al-Hamoud, Gadah Abdulaziz; Orfali, Raha Saud; Takeda, Yoshio; Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Al Musayeib, Nawal M.; Fantoukh, Omer Ibrahim ; Amina, Musarat; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi
Molecules (2020), 25(12), 2798 <https://doi.org/10.3390/molecules25122798>
14. New methyl threonolactones and pyroglutamates of *Spilanthes acmella* (L.) L. and their bone formation activities
Widyowati, Retno ; Sulistyowaty, Melanny Ika; Uyen, Nguyen Hoang; Sugimoto, Sachiko;

Yamano, Yoshi; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi

Molecules (2020), 25(11), 2500 DOI: 10.3390/molecules25112500

15. Ebenamariosides A-D: triterpene glucosides and megastigmanes from the leaves of *Diospyros maritima*

Kawakami, Susumu; Miura, Erika; Nobe, Ayaka; Inagaki, Masanori; Nishimura, Motohiro; Matsunami; Katsuyoshi ; Otsuka, Hideaki; Aramoto, Mitsunori

Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2019), 67(12), 1337-1346 DOI: 10.1248/cpb.c19-00803

16. A New Macrolactone, Racemolide Along With Seven Known Compounds With Biological Activities From Mangrove Plant, *Lumnitzera racemosa*

Gomaa Darwish, Ahmed Gomaa; Samy, Mamdouh Nabil; Sugimoto, Sachiko; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi

Natural Product Communications (2019), 14(6), 1934578X19861255

<https://doi.org/10.1177/1934578X19861255>

17. Isolation of sesquiterpene-amino acid conjugates, Onopornoids A-D, and a flavonoid glucoside from *Onopordum alexandrinum*

Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Desoukey, Samar Y.; Katakawa, Kazuaki; Wanas, Amira S.; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi

Journal of Natural Products (2019), 82(6), 1471-1477 DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b00948

18. Lasianosides A-E: new iridoid glucosides from the leaves of *Lasianthus verticillatus* (Lour.) Merr. And their antioxidant activity

Al-Hamoud, Gadah Abdulaziz; Orfali, Raha Saud; Perveen, Shagufta; Mizuno, Kenta; Takeda, Yoshio; Nehira, Tatsuo; Masuda, Kazuma; Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi

Molecules (2019), 24(21), 3995 DOI: 10.3390/molecules24213995

19. Four new flavonoids isolated from the aerial parts of *Cadaba rotundifolia* Forssk. (Qadab)

Al-Hamoud, Gadah Abdulaziz; Orfali, Raha Saud; Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Alothyqi, Nafee; Alzahrani, Ali Mohammed; Matsunami; Katsuyoshi

Molecules (2019), 24(11), 2167 DOI: 10.3390/molecules24112167

20. Eight ent-kaurane diterpenoid glycosides named diosmariosides A-H from the leaves of *Diospyros maritima* and their cytotoxic activity

Kawakami, Susumu; Nishida, Shoko; Nobe, Ayaka; Inagaki, Masanori; Nishimura, Motohiro; Matsunami; Katsuyoshi; Otsuka, Hideaki; Aramoto, Mitsunori; Hyodo, Tadashi; Yamaguchi, Kentaro

Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2018), 66(11), 1057-1064 DOI: 10.1248/cpb.c18-00529

21. Nematicidal compounds of *Peperomia japonica*
Nagashima, Kazumi; Yamano, Yoshi; Sugimoto, Sachiko; Ishiwata, Kenji; Kanuka, Hirotaka; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi
Phytochemistry Letters (2018), 27, 30-35 <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.06.015>
22. Ardisiatetrans A and B: tetrionic acid derivatives and triterpenes from the leaves of *Ardisia quinquegona* and their biological activity leishmania activity
Asaumi, Shintaro; Kawakami, Susumu; Sugimoto, Sachiko; Matsunami; Katsuyoshi; Otsuka, Hideaki; Shinzato, Takakazu
Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2018), 66(7), 757-763 DOI: 10.1007/s11418-021-01513-1
23. Phenolic compounds from the leaves of *Breynia officinalis* and their tyrosinase and melanogenesis inhibitory activities
Sasaki, Ayano; Yamano, Yoshi; Sugimoto, Sachiko; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi; Shinzato, Takakazu
Journal of Natural Medicines (2018), 72(2), 381-389 DOI: 10.1007/s11418-017-1148-8
24. Biological activity of *Entada phaseoloides* and *Entada rheedei*
Sugimoto, Sachiko; Matsunami; Katsuyoshi; Otsuka, Hideaki
Journal of Natural Medicines (2018), 72(1), 12-19 DOI: 10.1007/s11418-017-1146-x
25. Microtropins Q-W, ent-labdane glucosides: microtropiosides G-I, ursane-type triterpene diglucoside and flavonol glycoside from the leaves of *Microtropis japonica*
Terazawa, Saori; Uemura, Yuka; Koyama, Yuka; Kawakami, Susumu; Sugimoto, Sachiko; Matsunami; Katsuyoshi; Otsuka, Hideaki; Shinzato, Takakazu; Kawahata, Masatoshi; Yamaguchi, Kentaro
Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2017), 65(10), 930-939 DOI: 10.1248/cpb.c17-00459
26. Aliphatic glucoside, zanthoionic acid and megastigmane glucosides: zanthoionosides A-E from the leaves of *Zanthoxylum ailanthoides*
Teshima, Serika; Kawakami, Susumu; Sugimoto, Sachiko; Matsunami; Katsuyoshi; Otsuka, Hideaki; Shinzato, Takakazu
Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2017), 65(8), 754-761 DOI: 10.1248/cpb.c17-00211
27. Chemical structures of constituents from the leaves of *Polyscias balfouriana*
Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Khalil, Hany Ezzat; Otsuka, Hideaki; Kamel, Mohamed Salah; Matsunami; Katsuyoshi
Journal of Natural Medicines (2017), 71(3), 558-563 DOI: 10.1007/s11418-017-1081-x
28. Crotofolane-type diterpenoids, crotocascarins L-Q, and a rearranged crotofolane-type diterpenoid, neocrotocascarin, from the stems of *Croton cascarilloides*
Kawakami, Susumu; Inagaki, Masanori; Matsunami; Katsuyoshi; Otsuka, Hideaki; Kawahata,

Masatoshi; Yamaguchi, Kentaro

Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2016), 64(10), 1492-1498 DOI: 10.1248/cpb.c16-00500

29. Dianthosaponins G-I, triterpene saponins, an anthranilic acid amide glucoside and a flavonoid glycoside from the aerial parts of *Dianthus japonicus* and their cytotoxicity

Kanehira, Yuka; Kawakami, Susumu; Sugimoto, Sachiko; Matsunami; Katsuyoshi; Otsuka, Hideaki

Journal of Natural Medicines (2016), 70(4), 816-824 DOI: 10.1007/s11418-016-1019-8

30. Sulfated glucosides of an aliphatic alcohol and monoterpenes, and megastigmanes from the leaves of *Meliosma pinnata* spp. *arnottiana*

Uemura, Yuka; Kawakami, Susumu; Sugimoto, Sachiko; Matsunami; Katsuyoshi; Otsuka, Hideaki; Shinzato, Takakazu

Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2016), 64(6), 638-643 <https://doi.org/10.1248/cpb.c16-00148>

31. New isolinariins C, D and E, flavonoid glycosides from *Linaria japonica*

Widyowati, Retno; Sugimoto, Sachiko; Yamano, Yoshi; Sukardiman; Otsuka, Hideaki; Matsunami; Katsuyoshi

Chemical & Pharmaceutical Bulletin (2016), 64(5), 517-521 DOI: 10.1248/cpb.c16-00073

32. Officinalioside, a new lignan glucoside from *Borago officinalis* L.

Samy, Mamdouh Nabil; Hamed, Ashraf Nageeb El-Sayed; Sugimoto, Sachiko; Otsuka, Hideaki; Kamel, Mohamed Salah; Matsunami; Katsuyoshi

Natural Product Research (2016), 30(8), 967-972 DOI: 10.1080/14786419.2015.1088540

医薬分子機能科学研究室

<2016 年度–2021 年度の業績の概要>

本研究では、ピロリン酸を基質とする ALP 活性の新規蛍光分析法を開発した。リアルタイム分析では、蛍光強度変化より ALP 濃度に依存した加水分解速度の増加を確認できた。また、ALP アイソザイム分析では、活性阻害評価による特異性分析にも有用であることを明らかにした。生理 pH 条件下数時間程度でリン酸化タンパク質の蛍光染色を可能にする分析手順を公開した。その手法は、蛍光性フォスタグを使用し 1 時間で分析を行うことが可能であり、10 μ g 以上のリン酸化タンパク質を選択的に定量分析できる。

リン酸化アスパラギン酸やリン酸化ヒスチジンを有する不安定リン酸化タンパク質の電気泳動では、泳動後の染色処理によりリン酸基が加水分解除去される問題がある。本研究により、ゲル内に固定化した不安定なリン酸化種も生理 pH かつ 2 時間以内で選択的に検出できる実用的なプロトコルを作成した。その手法は、1 μ g 以上のリン酸化タンパク質を検出できる。それらの分析法は、蛍光イメージアナライザーが利用可能であり、可視領域に吸収や蛍光を有する阻害剤の開発にも十分対応可能である。

これまでの蛍光性フォスタグより格段に水溶性が高い蛍光性フォスタグを用いると、疎水性メンブレンに固定化したリン酸化タンパク質の染色も適用可能であった。病原性微生物の環境応答に関連したヒスチジンやアスパラギン酸リン酸化反応の迅速な検出も可能である。その手法は、マイクロプレート法やマイクロビーズ法への応用も可能であり、固相に蛍光性リン酸化ペプチド基質を固定化した分析試料を調製することにより、ハイスループットな阻害剤のスクリーニングシステムへ展開できることを明らかにした。

<2022 年度の業績の概要>

アシル化やリン酸化された反応生成物の解析には、電気泳動法や免疫学的手法など専門的な分析技能と時間と手間がかかる分析法が用いられている。そのような翻訳後修飾をターゲットとした調節分子の化合物評価は重要な研究課題の一つである。本研究では、これまでに開発した蛍光発色基を有するフォスタグおよびチオタグを使用した。それらを用いて翻訳後修飾調節分子の迅速スクリーニング法を開発することを目的としている。当該年度では、フォスタグ分子のリン酸化ペプチドに対する配列特異性についてや、従来のリン酸基捕捉剤との相違点について新しい知見を得た。AMP を捕捉したフォスタグの溶液内平衡と結晶構造解析に成功した。チオタグの結晶構造解析を行い、チオール結合部位の構造学的特性を解明した。人由来の培養細胞内でリン酸化酵素とその基質タンパク質の同時発現系を複数構築し、それら細胞内の翻訳後修飾過程をフォスタグを用いて分析する手法を開発した。また、キナーゼと基質タンパク質の遺伝子を合わせ持つプラスミドを複数作成し、それらを使ったキナーゼ阻害剤の新しいスクリーニング法を開発した。

<原著論文(査読有のみ)>

1. Validation of *Cis* and *Trans* Modes in Multistep Phosphotransfer Signaling of Bacterial Tripartite Sensor Kinases by Using Phos-tag SDS-PAGE, *PLOS ONE*, e0148294, 16 pages (2016), E. Kinoshita-Kikuta, E. Kinoshita, Y. Eguchi, and T. Koike. doi:10.1371/journal.pone.0148294
2. A Phos-tag SDS-PAGE method that effectively uses phosphoproteomic data for profiling the phosphorylation dynamics of MEK1, *Proteomics*, 16, 1825-1836 (2016), E. Kinoshita, E. Kinoshita-Kikuta, Y. Kubota, M. Takekawa, and T. Koike. doi:10.1002/pmic.201500494
3. A novel thiol-affinity micropipette tip method using zinc(II)-cyclen-attached agarose beads for enrichment of cysteine-containing molecules, *Journal of Chromatography B*, 1031, 195-201 (2016), H. Kusamoto, A. Shiba, N. Koretake, H. Fujioka, Y. Hieda, E. Kinoshita-Kikuta, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.1016/j.jchromb.2016.07.049
4. Specific glutamic acid residues in targeted proteins induce exaggerated retardations in Phos-tag SDS-PAGE migration, *Electrophoresis*, 38, 1139-1146 (2017), E. Kinoshita, E. Kinoshita-Kikuta, K. Karata, T. Kawano, A. Nishiyama, M. Yamato, and T. Koike. doi:10.1002/elps.201600520
5. Phos-tag SDS-PAGE methodology that effectively uses phosphoproteomic data for profiling the phosphorylation dynamics of MEK1, *Journal of Electrophoresis*, 61 9-15 (2017), E. Kinoshita, E. Kinoshita-Kikuta, and T. Koike. doi:10.2198/electroph.61.9
6. A Phos-tag-based micropipette-tip method for rapid and selective enrichment of phosphopeptides, *Electrophoresis*, 38, 2447-2455 (2017), E. Tianfei Yuan, Y. Ino, M. Kawaguchi, Y. Kimura, H. Hirano, E. Kinoshita-Kikuta, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.1002/elps.201700175
7. TAMRA/TAMRA fluorescence quenching systems for the activity assay of alkaline phosphatase, *Sensors*, 17, 1877-1888 (2017), A. Shiba, E. Kinoshita-Kikuta, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.3390/s17081877
8. A simple method for determining the ligand affinity toward a zinc-enzyme model by using a TAMRA/TAMRA interaction, *Dalton Transactions*, 47, 1841-1847 (2018), H. Kusamoto, A. Shiba, M. Tsunehiro, H. Fujioka, E. Kinoshita-Kikuta, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.1039/C7DT04364C
9. Increase in constitutively active MEK1 species by introduction of MEK1 mutations identified in cancers, *BBA Proteins and Proteomics*, 1867, 62-70 (2019), E. K.-Kikuta, E. Kinoshita, S. Ueda, Y. Ino, Y. Kimura, H. Hirano, and T. Koike. doi:10.1016/j.bbapap.2018.05.004
10. A method for profiling the phosphorylation state of tyrosine protein kinases, *BBA Proteins and Proteomics*, 1867, 71-75 (2019), Y. Uezato, I. Kameshita, K. Morisawa, S. Sakamoto, E. Kinoshita, E. K.-Kikuta, T. Koike, and Y. Sugiyama. doi:10.1016/j.bbapap.2018.05.003
11. Gel-based analysis of protein phosphorylation status by rapid fluorometric staining using TAMRA-labeled Phos-tag, *Journal of Electrophoresis*, 63, 255-32 (2019), H. Kusamoto, E. K.-

- Kikuta, T. Nishimura, T. Nagai, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.2198/jelectroph.63.25
12. Quantitative monitoring of His and Asp phosphorylation in a bacterial signaling system by using Phos-tag Magenta/Cyan fluorescent dyes, *Electrophoresis*, 45, 3005-3013 (2019), E. K.-Kikuta, H. Kusamoto, S. Ono, K. Akayama, Y. Eguchi, M. Igarashi, T. Okajima, R. Utsumi, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.1002/elps.201900261
 13. A strategy to identify protein-N-myristoylation-dependent phosphorylation reactions of cellular proteins by using Phos-tag SDS-PAGE, *PLoS ONE*, 14, 225510-225527, (2019), E. K.-Kikuta, A. Tanikawa, A. Kiwado, K. Moriya, E. Kinoshita, T. Koike, T. Utsumi. doi:10.1371/journal.pone.0225510
 14. An immuno-dot blot assay for screening histidine kinase inhibitors, *Analytical Biochemistry*, 600, 113765-113768 (2020), E. K.-Kikuta, S. Maruta, Y. Eguchi, M. Igarashi, T. Okajima, R. Utsumi, E. Kinoshita, and T. Koike. doi.org/10.1016/j.ab.2020.113765
 15. Phos-tag-based micropipette-tip method for analysis of phosphomonoester-type impurities in synthetic oligonucleotides, *Journal of Chromatography B*, 1151, 122198-122206 (2020), M. Tsunehiro, K. Sasaki, E. K.-Kikuta, E. Kinoshita, and T. Koike. doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122198
 16. Crystal Structure of [3-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)propan-1-amine]zinc(II) Bis(perchlorate), *X-ray Structure Analysis Online*, 36, 46-47 (2020), Y. Ichimaru, M. Imai, H. Fujioka, T. Koike, H. Kurosaki, and K. Kato. doi.org/10.2116/xraystruct.36.43
 17. Protein-N-myristoylation-dependent phosphorylation of serine-13 of tyrosine kinase Lyn by casein kinase 1 γ at the Golgi during intracellular protein traffic, *Scientific Reports*, 10, 16273-16285 (2020), E. K.-Kikuta, T. Utsumi, A. Miyazaki, C. Tokumoto, K. Doi, H. Harada, E. Kinoshita, and T. Koike. doi.org/10.1038/s41598-020-73248-0
 18. A dot-blot-staining method for detecting phosphoproteins with a Phos-tag Aqua fluorescent dye, *Journal of Electrophoresis*, 64, 7-11 (2020), E. K.-Kikuta, K. Akayama, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.2198/jelectroph.64.7
 19. An assay of human tyrosine protein kinase activities by using an Escherichia coli protein-expression system, *BioTechniques*, 70, 209-217 (2021), E. K.-Kikuta, M. Yoshimoto, M. Yano, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.2144/btn-2020-0154
 20. Crystal Structure of [¹(1),¹(4),¹(10),⁵(1),⁵(4),⁵(7),⁵(10)-octaaza-1,5(1,4)-dicyclododecana-3,7(1,3)-dibenzenacyclo-octaphane]zinc(II) tetrakis(nitrate), [*m,m*-bis(Zn^{II}-cyclen)](NO₃)₄, *X-ray Structure Analysis Online*, 37, 15-16 (2021), Y. Ichimaru, J. Wanchun, Y. Yamaguchi, K. Sugiura, M. Imai H. Kurosaki, H. Fujioka, T. Koike, Y. Hieda, and K. Kato. doi.org/10.2116/xraystruct.37.15
 21. Aqua(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-cyclen)zinc(II) diperchlorate, *IUCrData*, 6, x210397, 19p

- (2021), Y. Ichimaru, K. Kato, H. Kurosaki, H. Fujioka, M. Sakai, Y. Yamaguchi, J. Wanchun, K. Sugiura, M. Imai, and T. Koike. doi.org/10.1107/S2414314621003977
22. Crystal Structure of bis{1,3-bis[bis(pyridin-2-ylmethyl)amino]propan-2-olato-dizinc(II)}-orthophosphate tris(perchlorate) octahydrate, [(Phos-tag)₂-PO₄³⁻](ClO₄⁻)₃·8H₂O, *X-ray Structure Analysis Online*, 37, 87-88 (2021), Y. Ichimaru, K. Kato, W. Jin, K. Sugiura, E. K.-Kikuta, E. Kinoshita, H. Kurosaki, and T. Koike. doi.org/10.2116/xraystruct.37.87
23. Characterization of the Binding of Adenosine-5'-monophosphate to a μ-Type Alkoxide-linked Dinuclear Zinc(II) Complex in Crystal and Solution State, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 94, 2670-2677 (2021), E. K.-Kikuta, Y. Ichimaru, Y. Yamano, K. Kato, H. Kurosaki, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.1246/bcsj.20210280
24. Characterization of phosphorylation status and kinase activity of Src family kinases expressed in cell-based and cell-free protein expression systems, *Biomolecules*, 11, 1448-1462 (2021), E. K.-Kikuta, E. Kinoshita, M. Suga, M. Higashida, Y. Yamane, T. Nakamura, and T. Koike. doi.org/10.3390/biom11101448
25. Evaluation of four phosphopeptide enrichment strategies for mass spectrometry-based proteomic analysis, *Proteomics*, 2100216, 1-8 (2021), Y. Ino, E. Kinoshita, E. K.-Kikuta, T. Akiyama, Y. Nakai, M. Osada, A. Ryo, H. Hirano, T. Koike, and Y. Kimura. doi.org/10.1002/pmhc.202100216
26. Crystal Structure of [*m,m*-bis(Zn^{II}-cyclen)]₃(μ₂-CO₃)₂(H₂O)₂](ClO₄)₈·H₂O, *X-ray Structure Analysis Online*, 38, 53-55 (2022), Y. Ichimaru, K. Kato, K. Sugiura, C. Hirata, W. Jin, H. Fujioka, H. Kurosaki, and T. Koike. doi.org/10.2116/xraystruct.38.53
27. [1,4,8,11-Tetraazacyclotetradecane-κ⁴N bis-nitrato-κ²O,O' zinc(II)] methanol solvate, IUCrData, 7, x220854, 9p (2022), Y. Ichimaru, K. Kato, M. Kurihara, W. Jin, T. Koike, and H. Kurosaki. doi.org/10.1107/S2414314622008549
28. Use of Escherichia coli expression system for analyzing kinase motifs, *Journal of Electrophoresis*, 66, 13-20 (2022), E. Kinoshita-Kikuta, Y. Ino, Y. Kimura, T. Akiyama, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.2198/jelectroph. 66.13
29. Characterization of Zinc(II) Complex of 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane and Deprotonated 5-Fluorouracil (FU) in Crystalline/Solution States and Evaluation of Anticancer Activity: Approach for Improving the Anticancer Activity of FU, *Inorganic Chemistry Communications*, 147, 110221-110226 (2023), Y. Ichimaru, K. Katoa, R. Nakatani, K. Sugiura, Hi. Mizutani, E. K.-Kikuta, T. Koike, W. Jin, M. Imai, and H. Kurosaki. doi.org/10.1016/j.inoche.2022.110221

<総説(査読有のみ)>

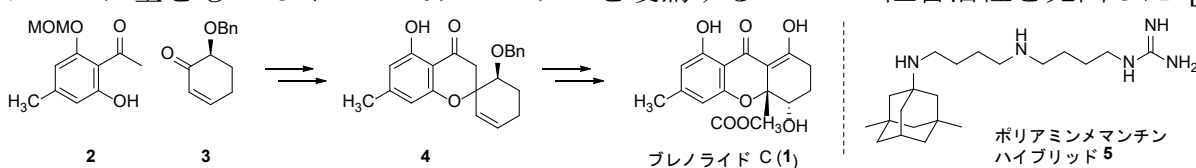
- 「Phos-tag を用いたバクテリア 2 成分伝達系リン酸化タンパク質の定量解析法」, *電気泳動*, 64, 35-39 (2020), 木下恵美子, 木下英司, 小池 透. doi:10.2198/electroph.64.35
- 「Phos-tag を用いた不安定なヒスチジンや アスパラギン酸のリン酸化タンパク質の

- 解析」, *生化学*, 93, 877-882 (2021), 木下恵美子, 木下英司, 小池 透. doi:10.14952/SEIKAGAKU.2021.930877
3. "Recent advances in the Phos-tag technique focused on the analysis of phosphoproteins in a bacterial two-component system", *Journal of Proteomics*, 252, 104429, 5p (2022), E. Kinoshita-Kikuta, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.1016/j.jprot.2021.104429.
 4. "History of Phos-tag technology for phosphoproteomics", *Journal of Proteomics*, 252, 104432, 7p (2022), E. Kinoshita, E. Kinoshita-Kikuta, and T. Koike. doi:10.1016/j.jprot.2021.104432
 5. "Phos-tag-based phosphate affinity chromatographic techniques", *Journal of Chromatography Open*, 2, 10051, 11p (2022), E. Kinoshita-Kikuta, E. Kinoshita, and T. Koike. doi:10.1016/j.jcoa.2022.100051
 6. 「さまざまなタンパク質合成系で作成した Src ファミリーチロシンキナーゼのリン酸化状態と活性」, *電気泳動*, 66, 71-97 (2022), 木下恵美子, 木下英司, 小池 透. doi:10.2198/electroph.66.71

創薬合成化学研究室(2017年度より)

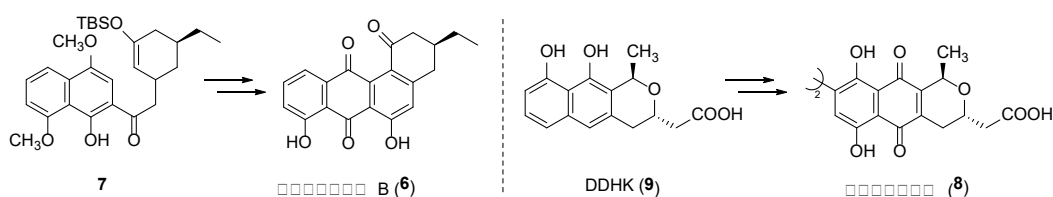
＜2017年度–2021年度の業績の概要＞

2017年以来、有用な生物活性を有する天然有機化合物の全合成研究、および生物活性をもつ機能物質の開拓を行ってきた。例えば植物内生菌由来抗菌活性キサントン類であるブレノライド類 **(1)** の全合成研究において、酸素化アセトフェノン **2** と光学活性シクロヘキセン **3** から得られるスピロクロマノン **3** を中間体とする全合成を報告した [1,2]。生物活性をもつ機能物質の開拓においては、アルツハイマー病に有望とされる NMDA チャネル保護機能をもつポリアミンとメマンチンを併せ持つ誘導体 6 種を合成し、このうちグアニジノ基をもつ **5** についてメマンチンを凌駕する NMDA 阻害活性を見出した [3]。



＜2022年度の業績の概要＞

天然有機化合物の全合成研究のうち、*Nocardia* 属の産出する抗菌抗腫瘍活性アングサイクリン ブラジリキノン類 **(6)** の全合成研究において、ヒドロキノンとシリルエノールエーテルを併せ持つ **7** の酸化的環化反応を鍵工程とする全合成研究により、初の不斉全合成を達成した [4]。また、*Streptomyces* 属の産出する抗菌活性化合物 アクチノロジン **(8)** の生合成経路の解明において、その機能が不明であった生合成中間体 DDHK **(9)** を化学合成とその機能の解明 [5,6] を足掛かりとすることで、アクチノロジン **(8)** の生合成経路の最終段階を明らかにすることができた [7]。



＜原著論文(査読有のみ)＞

1. Adachi, K.; Hasegawa, S.; Katakawa, K.; Kumamoto, T. Total Synthesis of (+)-Blennolide C and (+)-Gonytolide C via Spirochromanone. *Tetrahedron Lett.* **2017**, 58 (47), 4479-4482. 2017年11月, DOI: 10.1016/j.tetlet.2017.10.038. (武蔵野大学との共著)
2. Kumamoto, T.; Hasegawa, S.; Adachi, K.; Katakawa, K. Total Synthesis of (±)-4-Deoxyblennolide C via Spirochromanone. *Heterocycles* **2021**, 103 (2), 1064-1077. 2021年2月, DOI: 10.3987/COM-20-S(K)60. (武蔵野大学との共著)
3. Kumamoto, T.; Nakajima, M.; Uga, R.; Ihayazaka, N.; Kashihara, H.; Katakawa, K.; Ishikawa,

- T.; Saiki, R.; Nishimura, K.; Igarashi, K. Design, Synthesis, and Evaluation of Polyamine-Memantine Hybrids as NMDA Channel Blockers. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26* (3), 603-608. 2018年2月, DOI: 10.1016/j.bmc.2017.12.021. (武蔵野大学, 千葉大学との共著)
4. Miyake, H.; Nakajima, R.; Kumamoto, T. Asymmetric Total Synthesis of Brasiliquinones B and C via Oxidative Cyclization of a Hydroquinone-Silyl Enol Ether Hybrid. *J. Org. Chem.* **2022**, *87* (18), 12491-12497. 2022年8月, DOI: 10.1021/acs.joc.2c01653.
 5. Hashimoto, M.; Taguchi, T.; Ishikawa, K.; Mori, R.; Hotta, A.; Watari, S.; Katakawa, K.; Kumamoto, T.; Okamoto, S.; Ichinose, K. Unveiling Two Consecutive Hydroxylations: Mechanisms of Aromatic Hydroxylations Catalyzed by Flavin - Dependent Monooxygenases for the Biosynthesis of Actinorhodin and Related Antibiotics. *ChemBioChem* **2020**, *21* (5), 623-627. 2019年9月, DOI: 10.1002/cbic.201900490. (武蔵野大学, 国立医薬品食品衛生研究所, 農業・食品産業技術総合研究機構との共著)
 6. Kumamoto, T.; Kainuma, M.; Takahashi, A.; Matsuo, Y.; Katakawa, K.; Taguchi, T.; Ichinose, K. Total Synthesis of 6-Deoxydihydrokalafungin, a Key Biosynthetic Precursor of Actinorhodin, and Its Epimer. *Molecules* **2021**, *26* (21), 6397. 2021年10月, DOI: 10.3390/molecules26216397. (武蔵野大学, 国立医薬品食品衛生研究所との共著)
 7. Hashimoto, M.; Watari, S.; Taguchi, T.; Ishikawa, K.; Kumamoto, T.; Okamoto, S.; Ichinose, K. Actinorhodin Biosynthesis Terminates with an Unprecedented Biaryl Coupling Reaction. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62* (5), e202214400. 2022年12月, DOI: 10.1002/anie.202214400. (武蔵野大学, 国立医薬品食品衛生研究所, 農業・食品産業技術総合研究機構との共著)
 8. Katakawa, A.; Kainuma, M.; Suzuki, K.; Tanaka, S.; Kumamoto, T. Asymmetric total syntheses of teretifolione B and methylteretifolione B via Diels-Alder reaction of optically active pyranobenzene and substituted furans. *Tetrahedron*, **2017**, *73* (34), 5063-5071. 2017年8月, DOI: 10.1016/j.tet.2017.06.050. (武蔵野大学との共著)
 9. Kainuma, M.; Yamada, A.; Katakawa, A.; Kumamoto, T. Preparation of Optically Active 2,2-Disubstituted 5-Hydroxychromenes by the Enzymatic Resolution of Racemic Esters. *Heterocycles*, **2018**, *97* (1), 604-611. 2018年5月, DOI: 10.3987/COM-18-S(T)45. (武蔵野大学との共著)
 10. Kutsumura, N.; Koyama, Y.; Nagumo, Y.; Nakajima, R.; Miyata, Y.; Yamamoto, N.; Saitoh, T.; Yoshida, N.; Iwata, S.; Nagase, H. Antitrichomonal activity of delta opioid receptor antagonists, 7-benzylidenenaltrexone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, **2017**, *25* (16), 4375-4383. 2017年8月, DOI: 10.1016/j.bmc.2017.06.026 (筑波大学との共著)
 11. Nakajima, R.; Novakova, Z.; Tueckmantel, W.; Motlova, L.; Barinka, C.; Kozikowski, A. P. 2-Aminoadipic acid-C(O)-glutamate based prostate-specific membrane antigen ligands for potential use as theranostics. *ACS Med. Chem. Lett.*, **2018**, *9* (11), 1099-1104. 2018年10月,

DOI: 10.1021/acsmchemlett.8b00318. (イリノイ大学シカゴ校との共著)

12. Saitoh, T.; Seki, K.; Nakajima, R.; Yamamoto, N.; Kutsumura, N.; Nagumo, Y.; Irukayama-Tomobe, Y.; Ogawa, Y.; Ishikawa, Y.; Tanimura, R.; Yanagisawa, M.; Nagase, H. Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707, Part IV: The role of D-ring in 4, 5-epoxymorphinan on the orexin 1 receptor antagonistic activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2019**, *29* (18), 2655-2658. 2019 年 9 月, DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.07.039 (筑波大学との共著)
13. Saitoh, T.; Seki, K.; Nakajima, R.; Yamamoto, N.; Kutsumura, N.; Nagumo, Y.; Irukayama-Tomobe, Y.; Ogawa, Y.; Ishikawa, Y.; Yanagisawa, M.; Nagase, H. Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707, part V: Structure-activity relationship study of the substituents on the 17-amino group. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2020**, *30* (3): 126893. 2020 年 2, DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.126893 (筑波大学との共著)
14. Tsuchiya, H.; Iwamoto, M.; Miyamoto, H.; Sakumoto, C.; Tamamizu, T.; Inoshita, Y.; Koyama, Y.; Sato, Y.; Kumamoto, T. Practical and Scalable Synthesis of a Glucokinase Activator via One-pot Difluorination and Julia Olefination. *Org. Process Res. Dev.*, **2020**, *24* (7), 1294–1303. 2020 年 6 月, DOI: 10.1021/acs.oprd.0c00180. (帝人ファーマとの共著)
15. Arakawa, H.; Yamada, H.; Arai, K.; Kawanishi, T.; Nitta, N.; Shibata, S.; Matsumoto, E.; Yano, K.; Kato, Y.; Kumamoto, T.; Aoki, I.; Ogihara, T. Possible utility of peptide-transporter-targeting [¹⁹F]dipeptides for visualization of the biodistribution of cancers by nuclear magnetic resonance imaging. *Int. J. Pharmaceut.*, **2020**, *586*, 119575. 2020 年 8 月, DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119575. (金沢大学, 高崎健康福祉大学, 量子科学技術研究開発機構との共著)
16. Shintani, Y.; Kato, K.; Kawami, M.; Takano, M.; Kumamoto, T. Direct *N*¹-Selective Alkylation of Hydantoins Using Potassium Bases. *Chem. Pharm. Bull.*, **2021**, *69* (4), 407-411. 2021 年 4 月, DOI: 10.1248/cpb.c20-00857. (国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センターとの共著)

<総説(査読有のみ)>

17. Katakawa, K.; Kumamoto, T. 抗 HIV 活性三量体ベンゾクロメン Conocurvone とその単量体の化学: 単量体 Teretifolione B とその関連化合物の合成研究 *有機合成化学協会誌* **2018**, *76* (7), 722-729. 2018 年 7 月, DOI: 10.5059/yukigoseikyokaishi.76.722. (武蔵野大学との共著)
18. Kumamoto, T.; Katakawa, K. Chemistry of Anti-HIV Active Trimeric Pyranonaphthoquinone Conocurvone: Synthetic Studies towards Monomeric Teretifolione B and Related Compounds. *Heterocycles* **2020**, *100* (2), 177-193. 2019 年 12 月, DOI: 10.3987/REV-19-915. (武蔵野大学との共著)

19. Shirai, T. Frontier Researches in Medicinal Chemistry Contribute to the Field of Pharmacy, *YAKUGAKU ZASSHI*, **2022**, *142* (4), 345. 2022 年 4 月, DOI: 10.1248/yakushi.21-00185-F

<著書>

20. Kumamoto, T.; Katakawa,T. Recent Progress in Aryne Cycloaddition Reactions, in *Cycloaddition Reactions: Advances in Research and Applications*, Margetic, D. Ed, Nova Scientific Pub Inc, NY, **2019** pp. 1-45.

<企業との共同研究>

1件

薬効解析科学研究室

<2016 年度-2021 年度の業績の概要>

神経障害性疼痛や炎症性疼痛、抗がん薬誘発性疼痛などの慢性疼痛の発症機序ならびに鎮痛薬の新規作用標的の探索を目的として研究を推進する上で、疼痛伝達経路の重要領域である脊髄後角におけるグリア細胞（アストロサイト、ミクログリア）に着目をした。神経障害性疼痛モデルマウスおよび培養細胞系を用いた検討により、脊髄後角グリア細胞の活性を制御する複数の候補因子を同定し、それらに対する作用薬が新たな鎮痛薬となる可能性を見出した [1, 2, 4, 7-9, 13, 14, 16]。また同時に、神経障害性疼痛モデルマウスで認められる情動異常に関して、前帯状皮質におけるミクログリアが重要な役割を果たしていることを明らかとした [3]。以上の研究の一部は岡山大学薬理学研究室及び本学歯科麻酔学研究室との共同で行ったものである [3, 4, 8, 13, 14]。

気分障害に関する研究において、抗うつ薬の新たな作用機序としてアストロサイトに着目をして研究を進めた。その結果、抗うつ薬はリゾフォスファチジン酸受容体の刺激を介して脳由来神経栄養因子などの成長因子やトロンボスポンジン-1 の産生を亢進することで、治療効果を発揮している可能性を明らかにした [5, 6, 10]。またうつ病患者で認められる膜タンパク質 connexin43 (Cx43)の発現低下が抗うつ薬の作用に影響を及ぼしていることを示した [12, 15]。以上の研究の一部は岡山大学医学部薬理学研究室及び熊本大学神経精神医学研究室との共同研究によるものである [6, 10]。

本学理学部の安倍学教授との共同研究により、Toll-like receptor 7 (TLR7) 作動薬である resiquimod に光解離性保護基を導入したケージド化合物を合成し、その光解離性、細胞毒性及び TLR7 刺激活性を解析することで候補化合物を取得した [11]。本研究は製薬企業のシーズ公募プロジェクトの支援により行った。

<2022 年度の業績の概要>

慢性疼痛として知られるパーキンソン病誘発性疼痛及び三叉神経ニューロパチーのモデルを用いて、それぞれに対する新規作用標的を見出した [17, 19]。これらの研究は岡山大学薬理学研究室と共同で行った。さらに本学細胞分子薬理学研究室及び歯科麻酔学研究室と慢性疼痛の発症機序及び新規作用標的に関する共同研究を行った [18, 19, 22]。

神経障害性疼痛モデルマウスで認められる認知機能異常に関して、海馬における神経炎症に伴う神経細胞の可塑的な変化が重要な役割を果たしていることを明らかとし、さらに新規作用標的となるタンパク質を同定した [21, 23]。これらの研究は、本学神経生理学研究室及び細胞分子薬理学研究室と共同で行った。

気分障害に関する研究において、Cx43 発現が低下したアストロサイトにおける抗うつ薬の作用増強に関わる細胞内シグナルを同定した [20]。

<原著論文(査読有のみ)>

1. Morioka N., Fujii S., Kondo S., Zhang F.F., Miyauchi K., Nakamura Y., Hisaoka-Nakashima K., Nakata Y.: Downregulation of spinal astrocytic connexin43 leads to upregulation of interleukin-6 and cyclooxygenase-2 and mechanical hypersensitivity in mice. *GLIA*, 66:428-444, 2018. doi: 10.1002/glia.23255.
2. Morioka N., Kodama K., Tomori M., Yoshikawa K., Saeki M., Nakamura Y., Zhang F.F., Hisaoka-Nakashima K., Nakata Y.: Stimulation of nuclear receptor REV-ERBs suppresses production of pronociceptive molecules in cultured spinal astrocytes and ameliorates mechanical hypersensitivity of inflammatory and neuropathic pain of mice. *Brain Behav. Immun.*, 78, 116-130, 2019. doi: 10.1016/j.bbi.2019.01.014.
3. Hisaoka-Nakashima K., Tomimura Y., Yoshii T., Ohata K., Takada N., Zhang F.F., Nakamura Y., Liu K., Wake H., Nishibori M., Nakata Y., Morioka N.: High-mobility group box 1-mediated microglial activation induces anxiodepressive-like behaviors in mice with neuropathic pain. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 92, 347-362, 2019. doi: 10.1016/j.pnpbp.2019.02.005. (岡山大学薬理学との共著)
4. Morioka N., Miyauchi K., Miyashita K., Kochi T., Zhang F.F., Nakamura Y., Liu K., Wake H., Hisaoka-Nakashima K., Nishibori M., Nakata Y.: Spinal high-mobility group box-1 induces long-lasting mechanical hypersensitivity through the toll-like receptor 4 and upregulation of interleukin-1 β in activated astrocytes. *J. Neurochem.*, 150, 728-758, 2019. doi: 10.1111/jnc.14812. (岡山大学薬理学との共著)
5. Hisaoka-Nakashima K., Taki S., Watanabe S., Nakamura Y., Nakata Y., Morioka N.: Mirtazapine increases glial cell line-derived neurotrophic factor production through lysophosphatidic acid 1 receptor-mediated extracellular signal-regulated kinase signaling in astrocytes. *Eur. J. Pharmacol.*, 860, 172539, 2019. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172539.
6. Hisaoka-Nakashima K., Azuma H., Ishikawa F., Nakamura Y., Wang D., Liu K., Wake H., Nishibori M., Nakata Y., Morioka N.: Corticosterone induces HMGB1 release in primary cultured rat cortical astrocytes: involvement of pannexin-1 and P2X7 receptor-dependent mechanisms. *Cells*, 2020;9(5). pii: E1068. doi: 10.3390/cells9051068. (岡山大学薬理学との共著)
7. Nakamura Y., Fukushige R., Watanabe K., Kishida Y., Hisaoka-Nakashima K., Nakata Y., Morioka N.: Continuous infusion of substance P into rat striatum relieves mechanical hypersensitivity caused by a partial sciatic nerve ligation via activation of striatal muscarinic receptors. *Behav. Brain Res.*, 391, 112714, 2020. doi: 10.1016/j.bbr.2020.112714.
8. Ogawa Y., Irifune M., Mukai A., Shimizu Y., Doi M., Oue K., Yoshida M., Kanematsu T., Morioka N., Nakata Y., Sakai N.: The indirect γ -aminobutyric acid (GABA) receptor agonist

gabaculine-induced loss of the righting reflex may inhibit the descending analgesic pathway. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 198, 173034, 2020. doi: 10.1016/j.pbb.2020.173034. (本学歯科麻酔学との共著)

9. Nakamura Y., Fukushige R., Watanabe K., Kishida Y., Hisaoka-Nakashima K., Nakata Y., Morioka N.: Continuous infusion of substance P inhibits acute, but not subacute, inflammatory pain induced by complete Freund's adjuvant., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 533, 971-975, 2020. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.09.113.
10. Hisaoka-Nakashima K., Yokoe T., Watanabe S., Nakamura Y., Kajitani N., Okada-Tsuchioka M., Takebayashi M., Nakata Y., Morioka N.: Lysophosphatidic acid induces thrombospondin-1 production in primary cultured rat cortical astrocytes. *J. Neurochem.*, 158, 849-864, 2021. doi: 10.1111/jnc.15227. (熊本大学神経精神医学との共著)
11. Phama T., Jakkampudia S., Furukawab K., Cheng F.Y., Linc T.C., Nakamura Y., Morioka N., Abe M.: p-Nitroterphenyl Units for Near-Infrared Two-Photon Uncaging of Calcium Ions. *J. Photochem. Photobiol.*, 409, 113154, 2021. (本学理学研究科反応有機化学との共著)
12. Morioka N., Kondo S., Harada N., Takimoto T., Tokunaga N., Nakamura Y., Hisaoka-Nakashima K., Nakata Y.: Downregulation of connexin43 potentiates noradrenaline-induced expression of brain-derived neurotrophic factor in primary cultured cortical astrocytes. *J. Cell. Physiol.*, 236, 6777-6792, 2021. doi: 10.1002/jcp.30353.
13. Nakamura Y., Fukuta A., Miyashita K., Zhang F.F., Wang D., Liu K., Wake H., Hisaoka-Nakashima K., Nishibori M., Morioka N.: Perineural high-mobility group box 1 induces mechanical hypersensitivity through activation of spinal microglia: involvement of glutamate-NMDA receptor dependent mechanism in spinal dorsal horn. *Biochem. Pharmacol.*, 186, 114496, 2021. doi: 10.1016/j.bcp.2021.114496. (岡山大学薬理学との共著)
14. Kochi T., Nakamura Y., Ma S., Hisaoka-Nakashima K., Wang D., Liu K., Wake H., Nishibori M., Irifune M., Morioka N.: Pretreatment with high mobility group box-1 monoclonal antibody prevents the onset of trigeminal neuropathy in mice with a distal infraorbital nerve chronic constriction injury. *Molecules*, 26, 2035, 2021. doi: 10.3390/molecules26072035. (本学歯科麻酔学、岡山大学薬理学との共著)
15. Morioka N., Kondo S., Takimoto T., Tokunaga N., Nakamura Y., Hisaoka-Nakashima K.: Decreased connexin43 expression in the hippocampus is related to the antidepressant effect of amitriptyline in neuropathic pain mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 566, 141-147, 2021. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.06.020.
16. Morioka N., Kodama K., Tsuruta M., Hashizume H., Kochi T., Nakamura Y., Zhang F.F., Hisaoka-Nakashima K.: Stimulation of nuclear receptor REV-ERBs suppresses inflammatory responses in spinal microglia. *Neurochem. Int.*, 151:105216, 2021. doi:

10.1016/j.neuint.2021.105216.

17. Sato F., Nakamura Y., Ma S., Kochi T., Hisaoka-Nakashima K., Wang D., Liu K., Wake H., Nishibori M., Morioka N.: Central high mobility group box-1 induces mechanical hypersensitivity with spinal microglial activation in a mouse model of hemi-Parkinson's disease. *Biomed. Pharmacother.*, 145, 112479, 2022. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112479. (岡山大学薬理学との共著)
18. Onizuka C., Irifune M., Mukai A., Shimizu Y., Doi M., Oue K., Yoshida M., Kochi T., Imado E., Kanematsu T., Nakamura Y., Morioka N., Nakata Y., Sakai N.: Pentobarbital may protect against neurogenic inflammation after surgery via inhibition of substance P release from peripheral nerves of rats. *Neurosci. Lett.*, 771, 136467, 2022. doi: 10.1016/j.neulet.2022.136467. (本学歯科麻酔学との共著)
19. Kochi T., Nakamura Y., Ma S., Uemoto S., Hisaoka-Nakashima K., Irifune M., Morioka N.: Mirogabalin alleviates nociceptive hypersensitivity without causing sedation in a mouse model of post-traumatic trigeminal neuropathy. *Behav. Brain Res.*, 425, 113829, 2022. doi: 10.1016/j.bbr.2022.113829. (本学歯科麻酔学との共著)
20. Tokunaga N., Takimoto T., Nakamura Y., Hisaoka-Nakashima K., Morioka N.: Downregulation of connexin 43 potentiates amitriptyline-induced brain-derived neurotrophic factor expression in primary astrocytes through lysophosphatidic acid receptor1/3, Src, and extracellular signal-regulated kinase. *Eur. J. Pharmacol.*, 925, 174986, 2022. doi: 10.1016/j.ejphar.2022.174986.
21. Hisaoka-Nakashima K., Ohata K., Yoshimoto N., Tokuda S., Yoshii N., Nakamura Y., Wang D., Liu K., Wake H., Yoshida T., Ago Y., Hashimoto K., Nishibori M., Morioka N.: High-mobility group box 1-mediated hippocampal microglial activation induces cognitive impairment in mice with neuropathic pain. *Exp. Neurol.*, 355, 114146, 2022. doi: 10.1016/j.expneurol.2022.114146. (本学神経生理学、細胞分子薬理学、岡山大学薬理学との共著)
22. Imado E., Sun S., Abawa A.R., Tahara T., Kochi T., Huynh T.N.B., Asano S., Hasebe S., Nakamura Y., Hisaoka-Nakashima K., Kotake Y., Irifune M., Tsuga K., Takuma K., Morioka N., Kiguchi N., Ago Y.: Prenatal exposure to valproic acid causes allodynia associated with spinal microglial activation. *Neurochem. Int.*, 160, 105145, 2022. doi: 10.1016/j.neuint.2022.105415. (本学細胞分子薬理学との共著)
23. Hisaoka-Nakashima K., Moriwaki K., Yoshimoto N., Yoshii N., Nakamura Y., Ago Y., Morioka N.: Anti-interleukin-6 receptor antibody improves allodynia and cognitive impairment in mice with neuropathic pain following partial sciatic nerve ligation. *Int. Immunopharmacol.*, 112, 109219, 2022. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109219. (本学細胞分子薬理学との共著)

<総説(査読有のみ)>

1. Morioka N., Nakamura Y., Zhang F.F., Hisaoka-Nakashima K., Nakata Y.: Role of Connexins in Chronic Pain and Their Potential as Therapeutic Targets for Next-Generation Analgesics. *Biol. Pharm. Bull.* 42, 857-866, 2019. doi: 10.1248/bpb.b19-00195.

<著書>

1. Morioka N., Hisaoka-Nakashima K., Nakata Y.: Regulation by Nicotinic Acetylcholine Receptors of Microglial Glutamate Transporters: Role of Microglia in Neuroprotection. In: Akaike A., Shimohama S., Misu Y., editors. Nicotinic Acetylcholine Receptor Signaling in Neuroprotection., Springer; 2018. Chapter 5., 2018 Apr 4

<特許>

1. 慢性疼痛の治療標的、森岡徳光、中島一恵、特願 2020-131885
2. 末梢神経障害を予防または治療するための医薬組成物、森岡徳光、中村庸輝、特願 2021-067829

<企業との共同研究>

4件

<2016 年度-2021 年度の業績の概要>

① 薬物の生体膜輸送に関する研究 [原著 1,2,5,7,9,11,13-16,20,21,23,29]

P-糖タンパク質 (P-gp) は抗がん剤に耐性を示すがん細胞から発見された異物排出ポンプであるが、正常な小腸、肝臓、腎臓、脳毛細血管、肺など様々な組織・細胞にも発現している。我々は肺胞上皮において P-gp は II 型細胞には存在せず I 型細胞にのみ発現していることを明らかにするとともに、肺胞上皮における P-gp 研究を進めるため P-gp を発現している A549 細胞をセルクローニングにより樹立した。この細胞を用いることで、P-gp の発現・機能が喫煙を模したタバコ煙抽出物処理で低下すること、その低下には活性酸素種や ERK 経路が関与することなどを明らかにした。さらに P-gp 以外にも、ペプチドトランスポーター PEPT、ニコチン輸送、reduced folate carrier を介したメトトレキサート輸送など、様々なトランスポーターや輸送システムの解明を図ってきた。またこれら輸送研究を通じて、国際的なネットワークを構築することができた。

② 肺障害性薬物による肺の線維化（副作用）の原因としての肺胞上皮細胞の上皮間葉転換（EMT）に関する研究 [原著 3,6,8,12,17-19,22,24-26,28,30]

肺障害性抗がん剤であるメトトレキサートやブレオマイシンが肺胞上皮細胞の EMT を誘発すること、抗がん剤による肺胞上皮細胞の EMT 誘発には、マイクロ RNA である miR-34a、p53、細胞周期の停止、PAI-1 の発現・分泌亢進など、様々な因子が関与することを明らかにした。また葉酸がメトトレキサートによる EMT 誘発を抑制することを見出すなど、薬物による肺障害の防御方法、肺障害のバイオマーカーなど、将来的に実用化しうる可能性も踏まえた様々な視点で研究を展開することができた。

<2022 年度の業績の概要> [原著 33-35]

我々は肺に侵入してきた細菌が放出する iE-DAP などのペプチドグリカンペプチドが PEPT2 を介して肺胞上皮細胞に取り込まれること、取り込まれた iE-DAP は細胞内の NOD1 によって認識され自然免疫応答が誘発されることを明らかにしていたが、2022 年度はさらにこの経路がデキサメタゾンなどのコルチコステロイドによって抑制されること、その抑制には PEPT2 機能の低下が関与することを明らかにした。この知見は、吸入コルチコステロイドによる肺の易感染性を一部説明しうるものである。またメトトレキサートによる肺胞上皮細胞の EMT 誘発に関して、細胞表面におけるインテグリン $\alpha 2$ の発現上昇や抗酸化能を持つタンパク質の発現調節に関わる Nrf2 の発現低下が関与することなどを新たに見出し、EMT 関連研究をさらに進めることができた。

<原著論文>

1. Takano, M., Nagahiro, M. and Yumoto, R.: Transport mechanism of nicotine in primary cultured alveolar epithelial cells. *J. Pharm. Sci.*, 105, 982-988 (2016) (doi: 10.1002/jps.24627) (Selected for inclusion in the Ronald T. Borchardt Dedicated Issue)
2. Takano, M., Naka, R., Sasaki Y., Nishimoto S. and Yumoto, R.: Effect of cigarette smoke extract on P-glycoprotein function in primary cultured and newly developed alveolar epithelial cells. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 31, 417-424 (2016) (doi: 10.1016/j.dmpk.2016.08.006)
3. Kawami, M., Harabayashi, R., Miyamoto, M., Harada, R., Yumoto, R. and Takano, M.: Methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in the alveolar epithelial cell line A549. *Lung*, 194, 923-930 (2016)
4. Nishihashi, K., Kawashima, K., Nomura, T., Urakami-Takebayashi, Y., Miyazaki, M., Takano, M. and Nagai, J.: Cobalt chloride induces expression and function of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in human renal proximal tubular epithelial cell line HK-2. *Biol. Pharm. Bull.*, 40 (1), 82-87 (2017) (国内他大学との共著)
5. Kawami, M., Yamada, Y., Toshimori, F., Yumoto, R., Issarachot, O., Junyaprasert, V.B. and Takano, M.: Effect of Curcuma comosa extracts on the functions of peptide transporter and P-glycoprotein in intestinal epithelial cells. *Pharmazie*, 72, 123-127 (2017) (doi: 10.1691/ph.2017.6147.) (国際共著)
6. Kawami, M., Deguchi, J., Yumoto, R., Sakakibara, N., Tsukamoto, I., Konishi, R. and Takano, M.: Effect of COA-Cl on transforming growth factor- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in RLE/Abca3 cells. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 32, 224-227 (2017) (国内他大学との共著)
7. Ehrhardt, C., Bäckman, P., Couet, W., Edwards, C., Forbes, B., Fridén, M., Gumbleton, M., Hosoya, K., Kato, Y., Nakanishi, T., Takano, M., Terasaki, T. and Yumoto, R. Current progress toward a better understanding of drug disposition within the lungs: summary proceedings of the 1st Workshop on Drug Transporters in the Lungs. *J. Pharm. Sci.*, 106, 2234-2244 (2017) (doi: 10.1016/j.xphs.2017.04.011.) (Selected for inclusion in the Yuichi Sugiyama Dedicated Issue) (国際共著)
8. Takano, M., Nekomoto, C., Kawami, M. and Yumoto, R.: Role of miR-34a in TGF- β 1- and drug-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar type II epithelial cells. *J. Pharm. Sci.*, 106, 2868-2872 (2017) (doi: 10.1016/j.xphs.2017.04.002.) (Selected for inclusion in the Yuichi Sugiyama Dedicated Issue)
9. Takano, M., Kamei, H., Nagahiro, M., Kawami, M. and Yumoto, R.: Nicotine transport in lung and non-lung epithelial cells. *Life Sci.*, 188, 76-82 (2017) (doi: 10.1016/j.lfs.2017.08.030)
10. Issarachot, O., Suksiriworapong, J., Sripha, K., Takano, M., Yumoto, R. and Junyaprasert, V.: Efficiency of folate-decorated methotrexate nanoparticles in MCF-7. *International Journal of Advances in Science, Engineering and Technology*, 5, 77-79 (2017) (国際共著)
11. Kawami, M., Yamada, Y., Issarachot, O., Junyaprasert, V.B., Yumoto, R. and Takano, M.: P-gp modulating effect of Azadirachta indica extract in multidrug-resistant cancer cell lines.

- Pharmazie, 73 (2), 104-109 (2018) (doi: 10.1691/ph.2018.7116) (International joint authorship)
(国際共著)
12. Kawami, M., Harabayashi, R., Harada, R., Yamagami, Y., Yumoto, R. and Takano, M.: Folic acid prevents methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition via suppression of secreted factors from the human alveolar epithelial cell line A549. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 497, 457-463 (2018) (doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.111)
 13. Kawami, M., Shimonakamura, T., Yumoto, R. and Takano, M.: Transport of AOPP-albumin into human alveolar epithelial A549 cells. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 21, 247-255 (2018) (doi: 10.18433/jpps29905)
 14. Takano, M., Higashi, M., Ito, H., Toyota, S., Hirabayashi, Y. and Yumoto, R.: Functional expression of breast cancer resistance protein and cholesterol effect in human erythrocyte membranes. *Pharmazie*, 73, 700-705 (2018) (doi: 10.1691/ph.2018.8724)
 15. Kawami, M., Honda, N., Miyamoto, M., Yumoto, R. and Takano, M.: Reduced folate carrier-mediated methotrexate transport in the human distal lung epithelial NCI-H441 cells. *J. Pharm. Pharmacol.*, 71, 167-175 (2019) (Oct 15. doi: 10.1111/jphp.13022)
 16. Takano, M., Takeuchi, T., Kuriyama, S. and Yumoto, R.: Role of peptide transporter 2 and MAPK signaling pathways in the innate immune response induced by bacterial peptides in alveolar epithelial cells. *Life Sci.*, 229, 173-179 (2019) (doi: 10.1016/j.lfs.2019.05.042.)
 17. Kawami, M., Harada, R., Ojima, T., Yamagami, Y., Yumoto, R. and Takano, M.: Association of cell cycle arrest with anticancer drug-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells. *Toxicology*, 424, 152231 (2019) (doi: 10.1016/j.tox.2019.06.002.)
 18. Kawami, M., Honda, N., Hara, T., Yumoto, R. and Takano, M.: Investigation on inhibitory effect of folic acid on methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition focusing on dihydrofolate reductase. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 34, 387-395 (2019) (doi.org/10.1016/j.dmpk.2019.08.003)
 19. Yamamoto, A., Kawami, M., Konaka, T., Takenaka, S., Yumoto, R. and Takano, M.: Anticancer drug-induced epithelial-mesenchymal transition via p53/miR-34a axis in A549/ABCA3 cells. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 22, 516-524 (2019) (doi: 10.18433/jpps30660.)
 20. Takano, M., Higa, S., Furuichi, Y., Naka, R. and Yumoto, R.: Suppression of P-glycoprotein by cigarette smoke extract in human lung-derived A549/P-gp cells. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 35, 214-219 (2020) (doi.org/10.1016/j.dmpk.2019.12.001)
 21. Uddin, M., Kawami, M., Yumoto, R. and Takano, M.: Effect of transforming growth factor- β 1 on functional expression of monocarboxylate transporter 1 in alveolar epithelial A549 cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393, 889-896 (2020) (doi.org/10.1007/s00210-019-01802-3)
 22. Yamagami, Y., Kawami, M., Ojima, T., Futatsugi, S., Yumoto, R. and Takano, M.: Role of plasminogen activator inhibitor-1 in methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial A549 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 525, 543-548 (2020) (doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.02.131)

23. Takano, M., Higashi, M., Baba, S., Kawami, M. and Yumoto, R.: Transport of ribavirin in human myelogenous leukemia cell line K562. *Pharmazie*, 75, 329-334 (2020) (doi: 10.1691/ph.2020.0440)
24. Takano, M., Deguchi, J., Senoo, S., Izumi, M., Kawami, M. and Yumoto, R.: Suppressive effect of quercetin against bleomycin-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 35, 522-526 (2020) (doi: 10.1016/j.dmpk.2020.08.001)
25. Konaka, T., Kawami, M., Yamamoto, A., Yumoto, R. and Takano, M.: miR-484: A possible indicator of drug-induced pulmonary fibrosis. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 23, 486-495 (2020) (doi: 10.18433/jpps31448)
26. Ojima, T., Kawami, M., Yumoto, R. and Takano, M.: Differential mechanisms underlying methotrexate-induced cell death and epithelial-mesenchymal transition in A549 cells. *Toxicological Research*, 37, 293-300 (2021) (doi.org/10.1007/s43188-020-00067-w)
27. Shintani, Y., Kato, K., Kawami, M., Takano, M. and Kumamoto, T.: Direct N1-selective alkylation of hydantoins using potassium bases. *Chem. Pharm. Bull.*, 69, 407-410 (2021) (同一部局他研究室との共著)
28. Kawami, M., Takenaka, S., Kadekaru, Y., Akai, M., Konaka, T., Yumoto, R. and Takano, M.: Evaluation on epithelial-mesenchymal state and microRNAs focusing on isolated alveolar epithelial cells from bleomycin injured rat lung. *Toxicology*, 461 (2021) 152903
29. Baba, S., Yumoto, R., Kawami, M. and Takano, M.: Functional expression of equilibrative and concentrative nucleoside transporters in alveolar epithelial cells. *Pharmazie*, 76, 416-421 (2021)
30. Kawami, M., Takenaka, S., Akai, M., Yumoto, R. and Takano, M.: Characterization of mir-34a-induced epithelial-mesenchymal transition in non-small lung cancer cells focusing on p53. *Biomolecules*, 11, 1853 (2021) (doi: 10.3390/biom11121853)
31. Katagiri, Y., Kawaguchi, H., Umemura, K., Tadano J., Miyawaki, I. and Takano, M.: Investigation of the role and quantitative impact of breast cancer resistance protein on drug distribution into brain and CSF in rats. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 42, 100430 (2022) (国内他機関との共著)
32. Ogiso, H., Suno, R., Kobayashi, T., Kawami, M., Takano, M. and Ogasawara, M.: A liquid chromatography-mass spectrometry method to study the interaction between membrane proteins and low-molecular-weight compound mixtures. *Molecules*, 27, 4889 (2022) (doi: 10.3390/molecules27154889) (国内他機関との共著)
33. Takano, M., Kuriyama, S., Kameda, N., Kawami, M. and Yumoto, R.: Effect of corticosteroids on peptide transporter 2 function and induction of innate immune response by bacterial peptides in alveolar epithelial cells. *Biol. Pharm. Bull.*, 45, 213-219 (2022)
34. Kawami, M., Ojima, T., Yumoto, R. and Takano, M.: Role of integrin $\alpha 2$ in methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial A549 cells. *Toxicological Research*, 38, 449-458 (2022) (doi: 10.1007/s43188-022-00127-3)
35. Kawami, M., Honda, M., Hara, T., Yumoto, R. and Takano, M.: Role of Nrf2 in methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar A549 cells. *Biol. Pharm. Bull.*, 45 (8),

1069-1076 (2022)

<総説>

1. 高野幹久：新たな肺胞上皮細胞モデルの開発と薬物毒性研究への応用. HAB Newsletter, 26 (1), 8-9 (2019)
2. Kawami, M., Yumoto, R. and Takano, M.: Preventive approach against drug-induced pulmonary fibrosis through the suppression of epithelial-mesenchymal transition. BIOCELL, 46 (8), 1861-1865 (2022) (doi: 10.32604/biocell.2022.019667)
3. 高野幹久, 川見昌史：薬剤による間質性肺炎・肺線維症とマイクロ RNA. 医学のあゆみ, 283 (1), 47-52 (2022)

<著書>

1. 高野幹久：「スタンダード薬学シリーズ II 6 医療薬学 VI. 薬の生体内運命」領域担当編集委員&執筆 (SBO19-20; pp.105-113), 日本薬学会編, 東京化学同人 (2016) 12 月
2. 高野幹久：腎臓の構造, 腎排泄. 「製剤学 改訂第 7 版」, 山本 昌, 岡本浩一, 小関哲也編, pp.325-333, 南江堂 (2017) 4 月
3. 高野幹久：「スタンダード薬学シリーズ II 6 医療薬学 V. 薬物治療に役立つ情報」(SBO 51; pp.237-241), 日本薬学会編, 東京化学同人 (2017) 10 月
4. 高野幹久：薬剤の経肺吸収機序・体内動態. 「次世代吸入製剤とデバイスの開発」監修：岡本浩一, pp.22-28, シーエムシー出版 (2018 年 11 月)
5. 高野幹久：「スタンダード薬学シリーズ II 6 医療薬学 V. 薬物治療に役立つ情報」補訂版 (SBO 51: pp. 241-245), 日本薬学会編, 東京化学同人 (2021) 5 月

細胞分子生物学研究室

<2016 年度-2022 年度の業績の概要>

【概要】

細胞分子生物学研究室では、【核酸医薬創薬プロジェクト】、【バイオマーカー開発プロジェクト】を進めている。【核酸医薬創薬プロジェクト】では、創薬シーズとなるマイクロ RNA として miR-22、miR-140-3p などのシーズの発見と臨床応用を進めて、日本で初めてのマイクロ RNA 核酸医薬のファーストインヒューマン医師主導治験を実施する広島大学で初めての成果をあげた。これに必要なベンチャーとして株式会社 PURMX Therapeutics の起業も実施した。【バイオマーカー開発プロジェクト】に関してもベンチャーでの実用化を行ったシーズを複数出すことに成功した。具体的には以下の通りである。

【核酸医薬創薬プロジェクト】 <http://www.telomere.jp/drugdiscovery>

「Aging switch」の新規コンセプトの核酸医薬シーズを創出するための機能性 RNA スクリーニングプラットフォームを開発した。これを元に、がん幹細胞にも効果を示すシーズとして4つのマイクロ RNA を同定して、核酸医薬シーズとして特許申請を行った。そのうちの一つである miR-3140-3p について更に悪性胸膜中皮腫を対象とした核酸医薬の開発を進めた。

2022 年度は MIRX002-01 試験からの移行症例としてレベル 1 に 1 例、レベル 2 に 1 例の計 2 例が登録され、いずれも投与を完了した。また、治験実施施設として新たに近畿大学病院を追加し開発加速化を図った。現在、登録・投与された症例は、北海道大学の支援によるデータレビューを順次対応中である。また、治験総括報告書に添付する帳票類の確定及び統計解析計画書の固定を完了した。

【バイオマーカー開発プロジェクト】 <http://www.telomere.jp/biomarker>

【未病検査プロジェクト】 <http://www.telomere.jp/hpa>

テロメア G テール長の測定技術を用いた実用化を株式会社ミルテルで実施した。

さらに、高度な自動化を考えた開発を京セラ株式会社と「体液から特定細胞を分離して濃度計測が可能なバイオチップを開発」の共同研究を行った。

【がん・認知症などのバイオマーカー開発プロジェクト】

① 革新的バイオマーカーの開発

A) 早期発見バイオマーカーの基礎研究開発→乳がん、食道がんについてマイクロ RNA を用いたバイオマーカーの開発で論文および知財化を行った。

B) 臨床ニーズのバイオマーカー開発研究

C) バイオマーカーシーズの多施設検証研究

D) 診断薬申請をめざした臨床研究→乳がんバイオマーカーについて、バイオベンチャーミルテルでの実用化に成功した。

<原著論文(査読有のみ)> <http://www.telomere.jp/achievements-1>

1. Basak M, Chaudhary DK, Takahashi RU, Yamamoto Y, Tiwari S, Tahara H, Mittal A. Immunocyte Derived Exosomes: Insight into the Potential Chemo-immunotherapeutic Nanocarrier Targeting the Tumor Microenvironment. ACS Biomaterials Science and Engineering. 2023;9(1):20-39.10.1021/acsbiomaterials.2c00893
2. Lin CY, Nhat Nguyen UT, Hsieh HY, Tahara H, Chang YS, Wang BY, Gu BC, Dai YH, Wu CC, Tsai IJ, Fan YJ. Peptide-based electrochemical sensor with nanogold enhancement for detecting rheumatoid arthritis. Talanta. 2022;236.10.1016/j.talanta.2021.122886
3. Ko K, Takahashi K, Nagashima S, Bunthen E, Ouoba S, Hussain MRA, Akita T, Sugiyama A, Sakaguchi T, Tahara H, Ohge H, Ohdan H, Kubo T, Ishikawa N, Takafuta T, Fujii Y, Mimori M, Okada F, Kishita E, Ariyoshi K, Kuwabara M, Tanaka J. Mass Screening of SARS-CoV-2 Variants using Sanger Sequencing Strategy in Hiroshima, Japan. Scientific Reports. 2022;12(1).10.1038/s41598-022-04952-2
4. Kato M, Ogata H, Tahara H, Shimamoto A, Takekita Y, Koshikawa Y, Nishida K, Nonen S, Higasa K, Kinoshita T. Multiple Pre-Treatment miRNAs Levels in Untreated Major Depressive Disorder Patients Predict Early Response to Antidepressants and Interact with Key Pathways. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(7).10.3390/ijms23073873

他 33 件

<特許>

1	m i R N A を含むがん治療用医薬組成物	田原 栄俊 木根原 匡希	国立大学法人 広島大学	世界的所有権機関
2	老化状態の評価方法、情報の提示方法、及び老化状態を改善又は予防する物質のスクリーニング方法	田原 栄俊	国立大学法人 広島大学	日本国
3	アルツハイマー病又は軽度認知症の検出を補助する方法	田原 栄俊 松本 昌泰 二瀬 由宇	国立大学法人 広島大学	アメリカ合衆国

他 65 件

<企業との共同研究>

8 件

株式会社 PURMX Therapeutics 起業 2021 年 1 月 27 日 資金調達 8.5 億円