

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：32659

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790051

研究課題名(和文) 蛍光タンパク質プローブを用いた尿酸輸送評価法の開発

研究課題名(英文) Construction of a fluorescent uricase fusion protein for characterization of urate transport

研究代表者

中村 真希子 (NAKAMURA, Makiko)

東京薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：80447557

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：腎臓に存在する尿酸トランスポーターは、血漿尿酸値を規定し、高尿酸血症の治療標的となる。本研究では、簡便な尿酸トランスポーター評価法開発を目的として、尿酸代謝酵素uricaseと、尿酸代謝の際の副産物である過酸化水素に応じて蛍光を変化させるHyPerとの融合タンパク質を開発した。腎由来細胞に尿酸トランスポーターおよび融合タンパク質を発現させ、尿酸を添加すると、添加量に応じて蛍光強度比が上昇した。さらに尿酸と共に尿酸トランスポーター阻害薬ベンズブロマロンを添加すると、蛍光強度比は有意に低下した。よって、本手法によって尿酸トランスポーターを介した尿酸輸送の蛍光検出が可能であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Serum urate level is strictly regulated by renal urate reabsorption and secretion through the urate transporters. In this study, it was aimed to develop a high-throughput biosensing method for analysis of urate transporter. A fusion protein consisted of uricase and hydrogen peroxide-dependent fluorescent protein (HyPer) was constructed. Since uricase produces hydrogen peroxide when oxidizes urate, the fusion protein could detect real-time urate uptake with fluorescence. Monkey renal epithelial-like Cos7 cells were co-transfected with fusion protein and urate transporter 1 (URAT1), and incubated 48 hours. The fusion protein/URAT1 co-transfected cells showed the significant increase of fluorescence when 15-200 micro M of urate was applied. The fluorescence was suppressed with 25 micro M of benzbromarone, that was a URAT1 inhibitor. In conclusion, the constructed uricase-HyPer fusion protein could detect urate uptake specifically.

研究分野：タンパク質工学

キーワード：尿酸 尿酸トランスポーター 蛍光タンパク質 腎臓

1. 研究開始当初の背景

高尿酸血症は痛風や尿路結石と関連するばかりでなく、最近の研究により慢性腎臓病や心血管疾患の危険因子であることが証明され、特に高血圧症との関連が深いことが示唆されている。これらから、高尿酸血症の機序を明らかにすることが重要となっている。高尿酸血症の主要原因は、腎臓における尿酸の排泄低下である。したがって、高尿酸血症をはじめとする血清尿酸値異常が関与する疾病の発症機序解明のためには、まず腎臓における尿酸動態を把握することが重要である。

腎臓において尿酸は糸球体濾過され、尿細管において再吸収と分泌の両方向性輸送が行われる。最終的には糸球体濾過を受けた尿酸の約 10 % が尿中に排泄され、残りの約 90 % が尿細管で血中へ再吸収される。こうした血清尿酸値の調節は、尿酸を特異的に認識する尿酸トランスポーターによって行われている。研究代表者の所属する研究室では、近位尿細管の管腔側膜に発現し、尿酸の再吸収に働くトランスポーターである human urate transporter 1 (URAT1) を同定した (Nature 417, 447, 2002)。さらに腎臓での尿酸再吸収のうち約 6 割は URAT1 を介して行われていることを示した (J. Am. Soc. Nephrol. 15, 164, 2004)。2008 年にはグルコーストランスポーター GLUT9 が基底側膜における尿酸再吸収に関与することも明らかとした (J. Biol. Chem. 283, 26834, 2008)。今後さらなる尿酸輸送機構の解明のためには、複数の尿酸トランスポーターがそれぞれどのように連携しているのか、その尿酸輸送への寄与の度合いを解明することが急務である。さらに尿酸輸送に大きく貢献するトランスポーターの阻害薬を開発できれば、高尿酸血症等の治療薬として有用なものとなる。

現在の主な尿酸輸送評価法としては、放射性標識尿酸をトランスポーター発現細胞に添加し、その取り込み量を定量する方法がある。しかしこの手法は所要時間及びコストの両面から、低分子ライブラリからの薬剤スクリーニングなどの、多検体処理を要する解析には適さない。

2. 研究の目的

本研究では、生細胞内の尿酸を蛍光検出することにより、尿酸輸送機構の詳細を明らかとする手法の確立を目的とした。ここでは尿酸を酸化し副産物として過酸化水素を産生する酵素 uricase 及び過酸化水素量に応じて蛍光を変化させる蛍光タンパク質 HyPer (Nature Methods, 3, 281, 2006) に着目した。Uricase と HyPer を遺伝子工学的に融合させたタンパク質を新規に作製し、細胞内に発現させることにより、細胞内に取り込まれた尿酸に特異的に反応して蛍光を発するプローブを構築することとした。本手法では、蛍光検出を用いることで 96-384 ウェルフォーマットでの蛍光定量により多検体評価が可能

となる。さらに将来的には細胞内尿酸動態の可視化というアプリケーションも可能となると考える。

3. 研究の方法

(1) Uricase 遺伝子のクローニングと活性評価
細胞バンク NBRC より *Aspergillus flavus* の譲渡を受け、培養を行った後に RNA を抽出し、逆転写 PCR 法にて目的遺伝子を増幅した。大腸菌発現用ベクター pET28 にサブクローニングし、大腸菌 BL21 (DE3) 株を形質転換した。この大腸菌株を isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside 添加条件下で培養することにより uricase を発現させた。Lysozyme 添加することにより大腸菌を破碎し、SDS-PAGE に展開して目的タンパク質の発現を確認した。その菌破碎液を用い、3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid (DHBS) 及び 4-aminophenazone を利用した発色アッセイ法により uricase の尿酸代謝能を評価した (Clin. Chem., 26, 227, 1980)。

(2) 融合タンパク質の活性確認

蛍光タンパク質 HyPer と uricase の融合タンパク質を設計し、pET28 ベクターにサブクローニングを行い、(1)と同様に大腸菌宿主において大量発現させた。設計の際、uricase を N 末端側に配したものと C 末端側に配したものの双方を検討することとした。Uricase-HyPer 間には柔軟性を持つグリシンとセリンの繰り返し配列を挿入し、繰り返し回数が 4 または 12 回と異なるバリエーションをさらに作製した。構築した融合タンパク質それぞれに対し、(1)同様に uricase の尿酸代謝能評価を行った。HyPer の蛍光活性については、融合タンパク質を発現した大腸菌懸濁液に過酸化水素を添加した際の蛍光を蛍光プレートリーダーにて定量することにより評価した。蛍光タンパク質 HyPer は過酸化水素添加により励起波長が 420 nm から 500 nm へとシフトする性質を持つため、蛍光活性は 420 nm 励起による蛍光強度と 500 nm 励起による蛍光強度の比により評価した。

(3) Uricase-HyPer 融合タンパク質による尿酸の蛍光検出

(2)において活性を確認した融合タンパク質を強制発現させた大腸菌の懸濁液に尿酸を添加し、添加後 0-30 分間の蛍光強度比の変化を蛍光プレートリーダーにてモニタリングした。

(4) 尿酸トランスポーター発現細胞への Uricase-HyPer 融合タンパク質遺伝子導入

融合タンパク質の遺伝子配列を哺乳類細胞発現用ベクター pcDNA3.1 にサブクローニングした。Human URAT1 遺伝子の発現ベクターは帝京大学薬学部 細山田教授より譲渡を受けた。URAT1 ベクター及び融合タンパク質発現ベクターを混合し、サル腎上皮由来細胞 COS7 にエレクトロポレーションすることにより遺伝子導入を行った。導入後の細胞を 2 日間培養した後に蛍光顕微鏡観察を

行い、融合タンパク質の発現を確認した。この導入後の細胞から RNA を抽出し、逆転写 PCR を行って URAT1 mRNA の発現を確認した。コントロールとして、HyPer の配列のみコードする発現ベクター pHyPer-cyto を同様に COS7 細胞に遺伝子導入した細胞も用意した。

(5)Uricase-HyPer 融合タンパク質発現細胞における尿酸の蛍光検出

(4)で遺伝子導入を行った細胞に尿酸またはアデニンを添加し、添加後 0-30 分間の蛍光強度比の変化を蛍光プレートリーダーにてモニタリングした。さらに URAT1 阻害薬であるベンズプロマロンを尿酸と共に添加し同様の実験を行った。

4. 研究成果

(1)Uricase 遺伝子のクローニングと活性評価

Aspergillus flavus よりクローニングした uricase を発現誘導した大腸菌の破碎液を SDS-PAGE に展開した結果、目的タンパク質 uricase の発現を認めた。その破碎液に尿酸を添加し DHBS を用いた発色評価を行ったところ、尿酸添加量 10-100 nmol において有意な吸光度の上昇がみられ、クローニングした uricase の尿酸代謝能を確認することができた。

(2)融合タンパク質の活性確認

Uricase を C 末端側に配し、HyPer との連結に用いるリンカー配列が 4 回または 12 回繰り返しとなっているバリエーションを、それぞれ HL4aU, HL12aU と命名した。同様に uricase が N 末端側のものをそれぞれ aUL4H, aUL12H と命名した。それらを発現誘導した大腸菌の破碎液を SDS-PAGE に展開した結果、目的タンパク質の発現を認めた。Uricase 活性を(1)と同様に評価した結果、全てのバリエーションにおいて 50-100 nmol 尿酸添加における有意な吸光度の上昇を認めた。さらに、融合タンパク質発現大腸菌の懸濁液に過酸化水素 0.5-10 nmol を添加し 5 分後の蛍光強度比を評価した結果、過酸化水素無添加と比較し有意な蛍光強度比の上昇を認めた。よって、構築した 4 種の融合タンパク質が、尿酸代謝能と過酸化水素依存的な蛍光活性を共に保持していることが確認できた。

さらに、4 種のバリエーション間で活性比較を行ったところ、尿酸代謝能・蛍光活性ともに、aUL12H が他のバリエーションを有意に上回ることが示された。

(3)Uricase-HyPer 融合タンパク質による尿酸の蛍光検出

融合タンパク質発現大腸菌の懸濁液に尿酸 0.5-10 nmol を添加し 5 分後の蛍光強度比を評価した結果、尿酸無添加と比較し有意な蛍光強度比の上昇を認めた。よって、構築した 4 種の融合タンパク質を用いて細胞内尿酸の蛍光検出が可能であることが確認できた。

さらに、4 種のバリエーション間で活性比較を行ったところ、aUL12H が他のバリエーションを

有意に上回ることが示された。これまでの結果を鑑み、今後 aUL12H を uricase-HyPer 融合タンパク質として用いることとした。

(4)尿酸トランスポーター発現細胞への Uricase-HyPer 融合タンパク質遺伝子導入

真核細胞における尿酸輸送の検出を目的として、融合タンパク質及び尿酸トランスポーターを発現する哺乳類細胞株の樹立を試みた。細胞株としては、サル腎上皮由来 COS7 細胞を選択し、尿酸トランスポーター URAT1 及び融合タンパク質をコードするプラスミドを用いて、研究の方法(4)の通りに遺伝子導入した。導入後 48 時間の細胞を蛍光顕微鏡観察した結果、70 %前後の効率で融合タンパク質を導入可能であることが示された。この発現効率は HyPer のみ導入した場合の HyPer 発現効率と同等であった。同様に導入 48 時間後の細胞における URAT1 の発現を逆転写 PCR 法により確認した結果、URAT1 mRNA が発現していることを確認できた。よって、本手法により、URAT1 及び uricase-HyPer 融合タンパク質を COS7 細胞に共発現させることができた。

(5)Uricase-HyPer 融合タンパク質発現細胞における尿酸の蛍光検出

(4)において構築した uricase-HyPer 融合タンパク質発現細胞に尿酸を 15-200 μ M とするよう添加すると、添加量に応じて蛍光強度比が上昇した。HyPer のみ導入したコントロール細胞では、このような蛍光強度比変化は認められなかった。この蛍光強度比上昇はアデニン添加のサンプルと比較し有意に高いことが示された。さらに尿酸と共に URAT1 阻害薬ベンズプロマロンを 25 μ M とするよう添加すると、ベンズプロマロン無添加と比較して蛍光強度比は有意に低下した。これらのことから、uricase-HyPer 融合タンパク質によって尿酸トランスポーター URAT1 を介した尿酸輸送の蛍光検出が可能であることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 11 件)

- (1) 中村 真希子, 市田 公美, 尿酸トランスポーター機能評価法、高尿酸血症と痛風、2015; 23 (1):68-73.
- (2) Hasegawa H, Shinohara Y, Nozaki S, Nakamura M, Oh K, Namiki O, Suzuki K, Nakahara A, Miyazawa M, Ishikawa K, Himeno T, Yoshida S, Ueda T, Yamada Y, Ichida K. Hydrophilic-interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometric determination of erythrocyte 5-phosphoribosyl 1-pyrophosphate in patients with

- hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase deficiency. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 査読有、2015; 976-977:55-60.
- (3) Yamada Y, Nomura N, Yamada K, Kimura R, Fukushi D, Wakamatsu N, Matsuda Y, Yamauchi T, Ueda T, Hasegawa H, Nakamura M, Ichida K, Kaneko K, Fujimori S. Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HPRT) deficiencies: HPRT1 mutations in new Japanese families and PRPP concentration. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2014; 33(4-6):218-22.
- (4) Nakamura M, Sasai N, Hisatome I, Ichida K. Effects of irbesartan on serum uric acid levels in patients with hypertension and diabetes. *Clin Pharmacol.* 査読有、2014; 6: 79-86.
- (5) 中村 真希子, 細山田 真, 市田 公美, ウリカーゼ融合タンパク質を用いた細胞内尿酸検出法の開発、痛風と核酸代謝、査読有、2013; 37(2):93-101 .
- (6) Tomioka NH, Nakamura M, Doshi M, Deguchi Y, Ichida K, Morisaki T, Hosoyamada M. Ependymal cells of the mouse brain express urate transporter 1 (URAT1). *Fluids Barriers CNS.* 査読有、2013; 10(1):31.
- (7) Stiburkova B, Sebesta I, Ichida K, Nakamura M, Hulkova H, Krylov V, Kryspinova L, Jahnova H. Novel allelic variants and evidence for a prevalent mutation in URAT1 causing renal hypouricemia: biochemical, genetics and functional analysis. *Eur J Hum Genet.* 査読有、2013; 21(10):1067-73.
- (8) 中村 真希子, 安西 尚彦, 細山田 真, 市田 公美, Fluorescein を用いた尿酸トランスporter機能評価法の検討、痛風と核酸代謝、査読有、2012; 36 (2):87-94.
- (9) Nakamura M, Mie M, Nakamura M, Kobatake E, Construction of multi-functional extracellular matrix proteins that inhibits migration and tube formation of endothelial cells. *Biotechnol Lett.* 査読有、2012; 34: 71-1577.
- (10) Nakamura M, Yamaguchi Y, Sass JO, Matsumura T, Schwab KO, Nishino T, Hosoya T, Ichida K. Identification of a xanthinuria type I case with mutations of xanthine dehydrogenase in an Afghan child. *Clin Chim Acta.* 査読有、2012; 14: 158-60.
- (11) Ichida K, Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Murakami K, Shimizu T, Yamanashi Y, Kasuga H, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Kawamura Y, Inoue H, Okada C, Utsumi Y, Ikebuchi Y, Ito K, Nakamura M, Shinohara Y, Hosoyamada M, Sakurai Y, Shinomiya N, Hosoya T, Suzuki H. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. 査読有、*Nat Commun.* 2012; 3: 764.
- 〔学会発表〕(計 44 件)
- (1) 中村 真希子, Blanka Stiburkova, 木村 徹, 櫻井 裕之, 市田 公美, 尿酸トランスporter-URAT1 遺伝子の重複変異を持つ低尿酸血症例における URAT1 機能評価、第 88 回日本薬理学会年会、2015 年 3 月、名古屋
- (2) 中村 真希子, Blanka Stiburkova, 木村 徹, 櫻井 裕之, 市田 公美, 尿酸トランスporter-URAT1 遺伝子重複変異モデルにおける尿酸輸送活性及び URAT1 発現局在の検討、第 48 回日本痛風・核酸代謝学会総会、2015 年 2 月、東京
- (3) 小林 知加, 光石 昌平, 中村 真希子, 市田 公美, ウリカーゼ融合タンパク質による尿酸トランスporter阻害薬スクリーニング法の開発、第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月、横浜
- (4) 伊藤 祥子, 清水 考大, 中島 健裕, 中村 真希子, 市田 公美, 脳内 ZMP 増加のもたらす AMPK 活性化と神経症状発現の関連性に関する検討、第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月、横浜
- (5) 中村 真希子, 清水 考大, 杉本 大輔, 篠原 佳彦, 市田 公美, Lesch-Nyhan 病に伴う脳内 ZMP の増加と神経症状の関連性に対する検討、第 131 回成医会総会、2014 年 10 月、東京
- (6) 中村 真希子, 山根 千佳, 光石 昌平, 市田 公美, 新規融合タンパク質プロ プによる尿酸トランスporter評価法の開発、第 9 回トランスporter研究会年会、2014 年 6 月、名古屋
- (7) Stiburkova B, Stekrova J, Nakamura M, Ichida K, Hereditary renal hypouricemia causing by defect in URAT1: a new insight into molecular pathology, The European Society of Human Genetics Conference 2014, 2014 May, Milano, Italy
- (8) Nakamura M, Mitsuishi S, Yamane C, Ichida K, Construction of fluorescent uricase fusion protein for characterization of urate transporters, 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress, 2014 April, Melbourne, Australia
- (9) 中村 真希子, 山根 千佳, 光石 昌平, 市田 公美, ウリカーゼ融合タンパク質を用いた尿酸トランスporter機能評価法

- の開発、日本化学会第 94 春季年会、2014 年 3 月、名古屋
- (10)中村 真希子、足立 匠、細山田 真、市田 公美、蛍光化合物を用いた尿酸トランスporter-URAT1 機能評価法の開発、第 87 回日本薬理学会年会、2014 年 3 月、仙台
- (11)中村 真希子、笹井 信夫、久留 一郎、市田 公美、高血圧を伴う糖尿病患者におけるイルベサルタンの血清尿酸値降下作用、第 47 回日本痛風・核酸代謝学会総会、2014 年 2 月、神戸
- (12)長谷川 弘、篠原 佳彦、中村 真希子、山田 裕一、市田 公美、ヒポキサンチン・グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ活性欠損症フェノタイプングにおける赤血球中 5-ホスホリボシル-1-ピロリン酸濃度測定の有用性、第 47 回日本痛風・核酸代謝学会総会、2014 年 2 月、神戸
- (13)富岡 直子、中村 真希子、市田 公美、森崎 隆幸、内田 俊也、細山田 真、マウス脳内 URAT1 は脳室上衣細胞脳室側膜に局在する、第 47 回日本痛風・核酸代謝学会総会、2014 年 2 月、神戸
- (14)光石 昌平、山根 千佳、細野 彩奈、中村 真希子、市田 公美、Uricase 融合タンパク質を用いた尿酸トランスporter 機能解析法の開発、第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月、神戸
- (15)清水 考大、杉本 大輔、篠原 佳彦、中村 真希子、市田 公美、Lesch-Nyhan 病に伴う脳内 ZMP の増加と神経症状の関連性に対する検討、第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月、神戸
- (16)大塚 恵子、大澤 朱子、五十嵐 則紀、中村 真希子、市田 公美、血中尿酸低下による活性酸素過剰の運動後急性腎不全への関与の検討、第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月、神戸
- (17)浅見 友一、小池 晋太郎、豊田 優、高田 龍平、中村 真希子、長谷川 弘、市田 公美、尿酸排泄トランスporter-ABCG2 による高尿酸血症治療薬輸送の検討、第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月、神戸
- (18)小池 晋太郎、豊田 優、高田 龍平、中村 真希子、長谷川 弘、市田 公美、高尿酸血症治療における尿酸排泄トランスporter-ABCG2 の役割、第 57 回日本薬学会関東支部大会、2013 年 10 月、東京
- (19)山田 裕一、野村 紀子、山農 亜里佐、山田 憲一郎、木村 礼子、福士 大輔、長谷川 弘、中村 真希子、市田 公美、若松 延昭、HPRT 欠損症：新たな日本人家系の HPRT1 変異と PRPP 濃度、第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月、横浜
- (20)山根 千佳、光石 昌平、細野 彩奈、中村 真希子、市田 公美、新規蛍光タンパク質プローブを用いた尿酸トランスporter 機能解析法の開発、第 128 回日本薬理学会関東部会、2013 年 7 月、東京
- (21)杉本 大輔、柴崎 透、清水 考大、篠原 佳彦、中村 真希子、市田 公美、Lesch-Nyhan 病における神経症状の病因解明に関する検討、第 128 回日本薬理学会関東部会、2013 年 7 月、東京
- (22)大澤 朱子、大塚 恵子、五十嵐 則紀、山浦 千恵、中村 真希子、市田 公美、運動後急性腎不全の発症機序における angiotensin II 亢進の寄与の検討、第 128 回日本薬理学会関東部会、2013 年 7 月、東京
- (23)足立 匠、中村 真希子、松尾 広大、細山田 真、市田 公美、蛍光化合物を用いた尿酸トランスporter-Urate Transporter1(URAT1)機能解析法の開発、第 128 回日本薬理学会関東部会、2013 年 7 月、東京
- (24)中村 真希子、足立 匠、松尾 広大、市田 公美、蛍光化合物輸送を指標とした尿酸トランスporter-URAT1 機能解析法の開発、第 8 回トランスporter 研究会年会、2013 年 6 月、熊本
- (25)Stiburkova B, Sebesta I, Ichida K, Nakamura M, Characterization of 18 patients with renal hypouricemia: Biochemical, molecular genetics and function analysis, 15th International Symposium on Purine and Pyrimidine Metabolism in Man, 2013 June, Madrid, Spain
- (26)中村 真希子、松尾 洋孝、高田 龍平、中山 昌喜、清水 徹、細山田 真、四ノ宮 成祥、鈴木 洋史、細谷 龍男、市田 公美、腸管尿酸排泄低下に起因する新たな「腎負荷型」高尿酸血症の解明、第 56 回日本腎臓学会学術総会、2013 年 5 月、東京
- (27)市田 公美、松尾 洋孝、高田 龍平、中山 昌喜、清水 徹、春日 裕志、中島 宏、中村 好宏、高田 雄三、河村 優輔、内海 由貴、中村 真希子、櫻井 裕、細谷 龍男、四ノ宮 成祥、鈴木 洋史、尿酸の腸管排泄低下は高尿酸血症の主要な新規機序である、第 99 回日本消化器病学会総会、2013 年 3 月、鹿児島
- (28)中村 真希子、細野 彩奈、細山田 真、市田 公美、ウリカーゼ融合タンパク質を用いた尿酸トランスporter 機能評価法の開発、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月、福岡
- (29)中村 真希子、細山田 真、市田 公美、ウリカーゼ融合タンパク質を用いた尿酸トランスporter 機能評価法の開発、第 46 回日本痛風・核酸代謝学会総会、2013 年 2 月、東京
- (30)渡部 多真紀、富岡 直子、中村 真希子、道志 勝、金子 希代子、内田 俊也、藤森

- 新、市田 公美、土屋 雅勇、細山田 真、マウス血清尿酸値のインビトロ上昇、第 46 回日本痛風・核酸代謝学会総会、2013 年 2 月、東京
- (31) 松田 安史、岸 慎治、山内 高弘、吉田 明、上田 孝典、山田 裕一、三澤 美和、江川 克哉、中村 真希子、市田 公美、若年性発症の高尿酸血症・痛風により判明した Lesch-Nyhan-variant の一家系症例、第 46 回日本痛風・核酸代謝学会総会、2013 年 2 月、東京
- (32) 松尾 洋孝、高田 龍平、中山 昌喜、清水 徹、高田 雄三、井上 寛規、岡田 千沙、中村 真希子、細山田 真、四ノ宮 成祥、細谷 龍男、市田 公美、ABCG2 の機能低下による腎外の尿酸排泄低下：高尿酸血症の症例解析と動物モデル解析、第 46 回日本痛風・核酸代謝学会総会、2013 年 2 月、東京
- (33) 松尾 洋孝、高田 龍平、中山 昌喜、清水 徹、春日 裕志、中島 宏、中村 好宏、高田 雄三、中村 真希子、櫻井 裕、四ノ宮 成祥、鈴木 洋史、市田 公美、痛風病因遺伝子 ABCG2 の解析による高尿酸血症の新規病態の解明、第 23 回日本疫学会学術総会、2013 年 1 月、大阪
- (34) 山根 千佳、細野 彩奈、中村 真希子、市田 公美、ウリカーゼ融合タンパク質を用いた尿酸トランスポーター機能解析法の開発、第 35 回日本分子生物学会年会、2012 年 12 月、福岡
- (35) 杉本 大輔、柴崎 透、篠原 佳彦、中村 真希子、市田 公美、Lesch-Nyhan 病における神経症状の発症機序解明、第 35 回日本分子生物学会年会、2012 年 12 月、福岡
- (36) 大澤 朱子、山浦 千恵、中村 真希子、市田 公美、運動後急性腎不全の発症機序における angiotensin II 亢進の関与の検討、第 35 回日本分子生物学会年会、2012 年 12 月、福岡
- (37) 足立 匠、松尾 広大、中村 真希子、細山田 真、市田 公美、蛍光化合物を用いた尿酸トランスポーター urate transporter 1 機能解析法の開発、第 35 回日本分子生物学会年会、2012 年 12 月、福岡
- (38) Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Shimizu T, Kasuga H, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Kawamura Y, Utsumi Y, Ogata H, Nakamura M, Sakurai Y, Hosoya T, Shinomiya N, Suzuki H, Ichida K, Common dysfunctional variants of ABCG2 decrease extra-renal urate excretion and cause hyperuricemia, 62nd The American Society of Human Genetics Annual Meeting, 2012 November, San Francisco, USA
- (39) 中村 真希子、細野 彩奈、市田 公美、ウリカーゼ融合タンパク質を用いた尿酸トランスポーター機能解析法の開発、第 34 回日本バイオマテリアル学会大会、2012 年 11 月、仙台
- (40) 中山 昌喜、松尾 洋孝、高田 龍平、清水 徹、春日 裕志、中島 宏、中村 好宏、高田 雄三、河村 優輔、内海 由貴、中村 真希子、櫻井 裕、細谷 龍男、四ノ宮 成祥、鈴木 洋史、市田 公美、ABCG2 機能低下による「腎外排泄低下型」高尿酸血症、第 127 回日本薬理学会関東部会、2012 年 10 月、東京
- (41) 中村 真希子、細野 彩奈、市田 公美、ウリカーゼ融合タンパク質を用いた尿酸トランスポーター機能解析法の開発、第 129 回成医会総会、2012 年 10 月、東京
- (42) Ichida K, Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Murakami K, Shimizu T, Yamanashi Y, Kasuga H, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Kawamura Y, Utsumi Y, Nakamura M, Hosoyamada M, Sakurai Y, Shinomiya N, Hosoya T, Suzuki H, Novel common mechanism of hyperuricemia by decreased extra-renal urate excretion, European Human Genetics Conference 2012, 2012 June, Nürnberg, Germany
- (43) 松尾 広大、中村 真希子、足立 匠、細山田 真、市田 公美、蛍光化合物を用いた尿酸トランスポーター機能解析法の開発、第 7 回日本分子イメージング学会総会、2012 年 5 月、浜松
- (44) 細野 彩奈、山根 千佳、中村 真希子、市田 公美、ウリカーゼ融合タンパク質による尿酸蛍光検出法の開発、第 7 回日本分子イメージング学会総会、2012 年 5 月、浜松
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)
- 取得状況(計 0 件)
- 〔その他〕
なし
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
中村 真希子 (NAKAMURA, Makiko)
東京薬科大学・薬学部・助教
研究者番号：80447557
- (2) 研究分担者
なし
- (3) 連携研究者
なし