

平成 30 年 5 月 12 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08398

研究課題名(和文)細胞増殖・鉄代謝に関連するDAP分子の機能解析

研究課題名(英文)An analyses of DMT1 Associated Protein that is related to cellular proliferation and iron metabolism

研究代表者

岡崎 泰昌 (OKAZAKI, Yasumasa)

名古屋大学・医学系研究科・講師

研究者番号：30403489

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：細胞での鉄輸送はDMT1に担われる。本研究では赤芽球モデルであるK562細胞株を用いDAPの発現変化を検討した。DAPにはPPIXと共通する受容体がアミノ酸配列から想定され、DAPとPPIXは相互作用を持つと考えて実験を行った。PPIX投与後のDAP、DMT1、TfR1、FTHの蛋白量とmRNA量の発現変化を調べた。PPIXはDAP、DMT1の蛋白量を減少させ、DMT1mRNAの低下はDMT1の転写因子であるC/EBPaの発現低下が原因と考えた。PPIXはFTH、DAP、DMT1の減少を誘導し、ライソソーム阻害剤とプロテアソーム阻害剤の併用はFTHの蛋白分解作用を最も阻害した。

研究成果の概要(英文)：Transport of iron is carried by divalent metal transporter 1(DMT1) in mammalian cell. In this grant, K562 was employed as an erythroid precursor model to study DMT1 Associated Protein(DAP). An analysis of DAP amino acid sequence revealed the binding domain to PBR. Protoporphyrin IX(PPIX) is presumed to bind with PBR, suggesting the interaction between DAP and PPIX via PBR. The expression levels of DAP, DMT1, transferrin receptor 1(TfR1), ferritin heavy chain(FTH) were examined after exposure of PPIX. PPIX decreased the protein level of DAP and DMT1 at 1 h. mRNA level of DAP was induced at 8 h and protein level was recovered at 24 h, while, mRNA of DMT1 was not increased until 24 h after PPIX exposure. C/EBPa, which transcribe DMT1 mRNA, were decreased by PPIX treatment. PPIX-induced degradation of DAP, FTH, DMT1 was presumed to be carried in lysosome and proteasome. The combination of lysosomal and proteasomal inhibitor were most effective way to prevent the degradation of FTH.

研究分野：実験病理学

キーワード：鉄代謝 DMT1 DMT1 Associated Protein

1. 研究開始当初の背景

鉄は多くの酵素反応を触媒する生体内で最も豊富に含まれる遷移金属であり、ヒトでは4-5gの鉄が保持されているが、体外への排泄は1-2mg/日に留まることが知られ、鉄代謝は‘半閉鎖回路’とも形容されている(図1)。ヒトでの鉄欠乏は鉄欠乏性貧血や成長障害を来し、マウス、ラットでも同様の症状を呈することが知られている。

生体内での非ヘム鉄は十二指腸で行われ、divalent metal transporter 1 (DMT1) により吸収が行われる。DMT1は十二回膜貫通型運搬体であり、5'側3'側に二個ずつのtranscriptional variantが存在し、四種類存在する。3'側には、iron responsive element (IRE) を mRNA に含む IRE form と、IRE を含まない non-IRE form に大別される。IRE form は細胞内鉄濃度を感知してタンパク質への翻訳制御を行う IRE/IRP (iron regulatory protein) system により調節される。十二指腸では IRE form の DMT1 が多く発現していることが示されている。

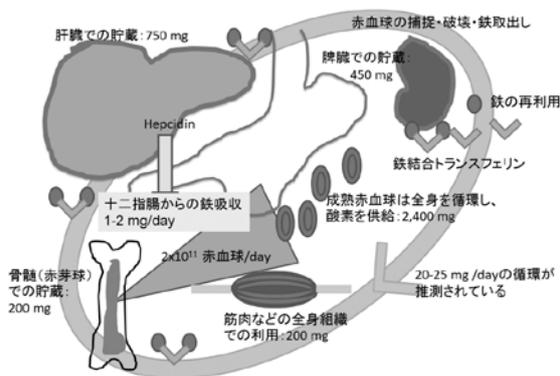


図1

非ヘム鉄は十二指腸の刷子縁に局在する Duodenal cytochrome b reductase (Dcytb) により三価鉄から二価鉄に還元され、DMT1 分子がエンドサイトーシスにより細胞質に取込まれることで吸収される。細胞質に取り込まれた DMT1 を含む小胞は細胞質を移動し、labile iron pool (LIP) と呼ばれる細胞内不安定鉄プールに鉄を供給する。腺上皮から体内に鉄を供給するため、ferroportin (FPN) から二価鉄が基底側方膜側に放出され、hepcidin (Hep) により二価鉄が三価鉄に酸化され、トランスフェリンと結合して体内に供給される。不安定鉄プールから溢れた過剰鉄はフェリチン内に貯蔵される(図2)。DMT1 が同定された1997年から、鉄代謝に関わる重要分子は次々と明らかになって来ているが、DMT1 を含む小胞がどのように細胞質内を移動して、LIP に鉄を供給するのかという分子機構の詳細は明らかになっていない。

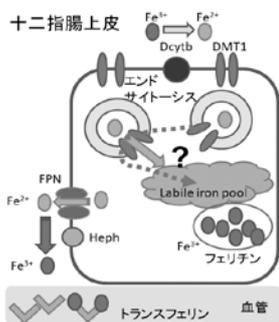


図2

2. 研究の目的

研究代表者は、DMT1(IRE) のC末端と相互作用を示す分子を Yeast-two-hybrid system を用いて同定し、DMT1 Associated protein (DAP)として細胞内機能の解析を行った。DAPは鉄代謝と関連するだけではなく、細胞増殖と正の相関を示す分子であることを明らかにし(Okazaki Y, et al: Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 302(10):G1180-1190, 2012)、本研究ではDAPの細胞内発現調節機構の解析と鉄代謝について解析を行った。

3. 研究の方法

(1)赤白血病細胞株(K562)を用いた研究

赤芽球系細胞のモデル細胞株として汎用されている K562 を用いて研究を行った。DAP は 526 アミノ酸からなり 101-166 アミノ酸配列には Acyl-CoA binding domain (ACBD)/peripheral benzodiazepine receptor (PBR)モチーフがある。PBR はミトコンドリアに発現し coproporphyrinogen をミトコンドリア内に輸送することで、ヘム合成に関与するだけではなく、protoporphyrin IX (PPIX) がリガンドの一つであることが想定されている。そのため、DAP と PPIX は PBR を介して相互作用を有することが推測される。また、PPIX はミトコンドリア内で ferrochelatase によりポルフィリン環に二価鉄が組み込まれてヘムとなる鉄キレート基質である。そのため、PPIX の作用が細胞内で強い状態では鉄欠乏状態で、ヘムの作用が強い状態では鉄過剰状態に細胞内鉄濃度バランスを傾けることが推測され、細胞内ヘム合成系を用いて鉄欠乏状態から鉄過剰状態における鉄代謝関連蛋白の変動を検索できる。本研究では K562 に PPIX やヘミン (PPIX に鉄が入った化合物)、Ferric ammonium citrate, (FAC)を添加後に、細胞内の PPIX とヘム濃度、細胞内鉄代謝関連蛋白について mRNA 量は qRT-PCR 法で、蛋白量は western blot で検討を行った。

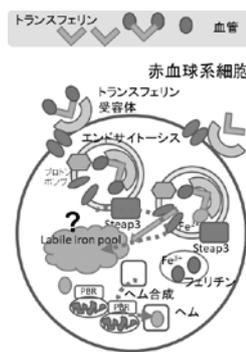


図3

(2)大腸癌細胞株(Caco2)を用いた研究

Caco2 は culture insert 上で培養しても単層を維持し、apical 側に吸収微絨毛を形成する。細胞間 tight junction を trans epithelial electrical resistance(TEER)として電気的に測定することで、吸収上皮への分化を確認できる。Apical chamber に鉄-アスコルビン酸を投与することで鉄吸収を再現し、Basal chamber に、蛍光色素標識 holo-transferrin(Tf) や calcein を投与して側方基底膜由来小胞の可視化が可能である。

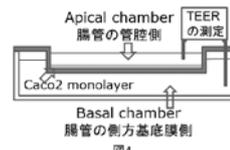


図4

4. 研究成果

(1)赤白血病細胞株(K562)を用いた研究

①. PPIX(5μM)投与後に細胞内 PPIX 濃度は 10pmol/well から 2,000pmol/well と二百倍に増加し、細胞内ヘム濃度は 7nmol/well から 50nmol/well と七倍に増加した。

K562 細胞を維持培地から無血清培地に交換して一晚培養後に、PPIX とヘミン、FAC を添加した 24 時間後に K562 細胞を回収し、細胞内の PPIX やヘム濃度の測定を行った。FAC 投与は細胞内 PPIX やヘム濃度の増加は乏しかったが、ヘミン(50μM)投与は非処置群や FAC よりもヘム濃度は 2-3 割増加していた。PPIX(5μM)処置は非処置群よりも、PPIX 濃度は二百倍に増加したがヘム濃度は七倍高く、PPIX とヘミンの細胞内への取込は大きく異なっていた。PPIX の取り込みパターンを解析するため、PPIX(5μM)の投与 1,2,4,8,12,24 時間後に K562 を回収し、PPIX とヘム濃度の解析を行った。PPIX 投与 1 時間後に 10pmol/well から 400pmol/well に上昇し、12 時間後までに大きな濃度増加は見られず、24 時間後に 2,000pmol/well まで二百倍の増加が見られた。細胞内ヘム濃度も同様の三層性の濃度増加を示したが、細胞内濃度が元々高いため、増加割合は七倍に留まる。この三層性の増加は、無血清培地に FAC 50μM, Deferoxamine mesylate (DFO) 50μM を加えても同様の増加傾向であり、鉄濃度よりは鉄キレート性基質である PPIX の作用の方が強かった。

②. PPIX(5μM)は DAP, DMT1, ferritin heavy chain (FTH)蛋白の分解と再発現を誘発し、transferrin receptor 1(TfR1), homoglobin F (HbF)の蛋白産生を誘導する。

PPIX(5μM)投与 1 時間後に、DAP と DMT1 の蛋白量は減少したが、12, 24 時間後には発現量の回復が見られた。

TfR1 の蛋白量は PPIX(5μM)投与によって減少は明らかではなく、24 時間後に蛋白量の増加が見られた。

FTH の蛋白量は PPIX(5μM)投与 8 時間後に最も減少したが、24 時間後に蛋白量の回復が見られた。

HbF は PPIX 投与に伴って発現が誘導されることは既に報告されている分子であり、western blot における増加蛋白の陽性対照として用い、PPIX(5μM)投与 2 時間後に減少傾向が見られたが、投与 24 時間後に増加していた。

Tf は無血清培地にも添加しているが、PPIX(5μM)投与後に一定の増加や減少傾向は明らかではなかった。

無血清培地に FAC 50 μM, DFO 50 μM を加えた条件で PPIX(5μM)を加えると、FAC を加えた条件では DAP や FTH の減少が緩和されていた。DFO を加えた条件では TfR1 の誘導が強く見られた。培地中に加えた十分な鉄量は PPIX により誘導される蛋白分解作用を減弱する可能性が考えられ、基礎培地に

DMEM ではなく鉄量が少ない RPMI1640 を用いているため、鉄欠乏の影響が出やすかった可能性が考えられる。また、本研究は 10%FBS を添加した維持培地でも実験を行ったが、血清のロットにより PPIX により誘導される DAP や DMT1 の分解作用の再現性が良くなかったため、無血清培地で PPIX の影響を検討した。FAC 50 μM と比べて 10%FBS に含まれる鉄量は非常に少量であり、成長因子やサイトカインが PPIX の代謝に影響を与えると考えられる。

	TfR1	DMT1(IRE)	FTH
IRE 配列	3'側	3'側	5'側
鉄欠乏時	蛋白量の増加	蛋白量の増加	蛋白量の減少
鉄過剰時	蛋白量の減少	蛋白量の減少	蛋白量の増加
以下は研究代表者が行った実験結果である。			
PPIX(5 μM) 1 時間後	蛋白量の変化は乏しい	蛋白量が最も減少	蛋白量の軽度減少
PPIX(5 μM) 8 時間後	蛋白量の変化は乏しい	蛋白量の発現が回復	蛋白量が最も減少
PPIX(5 μM) 24 時間後	蛋白量の増加	蛋白量の発現が回復	蛋白量の増加

DAP は mRNA に IRE 配列を持たないため、細胞内鉄濃度を感知する IRE/IRP 調節機構の影響は少ないと考えられる。DMT1(IRE), TfR1 は 3'側 mRNA に IRE 配列を持つため、鉄欠乏を感知して、IRE/IRP 配列により蛋白への翻訳効率が上がることが期待できる。一方、FTH は 5'側に IRE 配列があり、鉄欠乏では IRE/IRP 配列により翻訳効率が低下する。そのため、TfR1, DMT1(IRE) と FTH の蛋白量が並走することは従来の IRE/IRP システムとは異なる発現制御機構が作用していることが推察される。

③. PPIX(5μM)は DAP, FTH の mRNA の増加を誘発するが、TfR1, DMT1 の mRNA 発現レベルの減少を誘導する。

DAP の mRNA レベルは PPIX(5μM)投与 4 時間後から 24 時間後まで増加する。一方、DMT1(IRE), (non-IRE)ともに PPIX(5μM)投与 4 時間後から有意に減少した。

TfR1 は PPIX(5μM)投与 12 時間後に有意に増加したが、PPIX(5μM)投与 24 時間後に有意に減少した。

FTH は PPIX(5μM)投与 12 時間後から 24 時間後まで、有意に増加した。

	TfR1	DMT1(IRE)	FTH
鉄欠乏時	mRNA 増加	mRNA 増加	mRNA 著変なし
鉄過剰時	mRNA 減少	mRNA 減少	非ヘム鉄は著変ないが、ヘム鉄では増加

以下は報告者が行った実験結果である。

PPIX(5 μM) 4 時間後	mRNA 著変なし	mRNA 減 少	mRNA 軽度増加
PPIX(5 μM)12 時 間後	mRNA 増加	mRNA 減 少	mRNA 増加
PPIX(5 μM)24 時 間後	mRNA 減少	mRNA 減 少	mRNA 増加

DAP と DMT1(IRE)の蛋白量はほぼ平行して変化したが、mRNA 量は異なる変化パターンであった。

TfR1 と FTH の mRNA 量の解析からは、PPIX 投与 12 時間後では TfR1 と FTH の mRNA 量が両方とも増加し、IRE/IRP システムとは異なる機構が働いていることが考えられる。内部標準として mRNA 量を補正する GAPDH の mRNA 量が低下したために相対的に TfR1 と FTH が増加した可能性も考えられる。異なる鉄濃度培地で比較した実験では、PPIX 投与 12 時間後の TfR1 の mRNA 量は、FAC 添加状態では増幅割合が高く(ベースとなる vehicle の発現量が低いために相対的に高くなる)、DFO 添加状態では増幅割合が低い(ベースとなる vehicle の発現量が高いために相対的に変化幅が低くなる)、という実験結果が得られたことから TfR1 の mRNA は誘導が起こっていると考えた。ヘム鉄は FTH の転写を亢進することが報告されており、報告者が行った実験でもヘミン単独投与で FTH の mRNA の発現は誘導されており、PPIX が LIP から鉄を使用して鉄欠乏状態にしているために生じる TfR1 高発現と、ヘム鉄が FTH の転写を亢進している状態が混在している状態であると考えた。PPIX(5μM)投与 24 時間後では、FTH の mRNA は増加し、TfR1 の mRNA は減少し、鉄過剰状態と考えられる。

④. PPIX(5μM)は C/EBPα蛋白の発現低下を誘導する。

③で報告したように、PPIX(5μM)投与 4 時間後から 24 時間後まで、DMT1(IRE), DMT1(nonIRE)の mRNA 量が有意に減少していた。IRE/IRP 系が主体の調節機構なら、影響を受ける DMT1mRNA は IRE isoform のみであるが、nonIRE isoform も同様の挙動を示した。FAC やヘミンを添加する実験では mRNA の有意な変動は IRE isoform に限定されていたため、PPIX(5μM)は DMT1 mRNA のプロモーター領域に作用すると考えた。DMT1mRNA を増加する転写因子には、AP1, NFκB, C/EBPαの三種類が知られている。C/EBPαは赤芽球系細胞への分化に伴って減少することが知られており、western blot で蛋白量の検討を行った。PPIX 投与 4 時間後に C/EBPαが減少していたため、C/EBPαの発現低下から DMT1mRNA 減少に至ったと考えた。

⑤. Chloroquine と Lactacystin の併用は

PPIX(5μM)により誘導される FTH の減少を阻害する。

PPIX(5μM)投与 8 時間後に明瞭な FTH 蛋白の減少は、ライソソーム阻害剤である Leupeptin(30μM), Chloroquine(25μM)の単独投与では抑制効果は乏しく、プロテアソーム阻害剤である MG132(5μM)は効果が乏しく、Lactacystin(2.5μM)が単独投与では最も有効性があった。そのため、Chloroquine (25μM)と Lactacystin(2.5μM)を組合せてライソソームとプロテアソームを阻害すると、最も FTH の分解阻害に有効であった。これらの実験結果は PPIX による FTH の分解はライソソームとプロテアソームにより行われていると考えられるが、DAP と DMT1(IRE)は上記のライソソームとプロテアソーム阻害剤では分解を抑制する作用は明らかではなく、PPIX により惹起される DAP と DMT1 蛋白の分解経路の解析は今後の検討課題である。

(2)大腸癌細胞株(Caco2)を用いた研究

①. 側方基底膜側由来小胞と管腔側由来小胞は鉄の授受を行う。

Basal chamber に calcein と蛍光標識 apo-Tf を投与し、basolateral-derived vesicles (BLDV)を標識した。標識後に apical chamber に鉄(5μM)とアスコルビン(500μM)酸を投与し、20 分後に culture insert を固定した。Calcein シグナルは有意に減少し、鉄を含む apical-derived vesicle (ADV)と BLDV は鉄の授受を行うことが示された。この calcein の消光は細胞膜透過性鉄キレート剤である 2,2'-dipyridyl(DPD)の投与により回復し、鉄が calcein と錯体を形成することで、消光していたことを明らかにした。また、calcein と apo-Tf は近接した細胞内に位置していたが、分布位置は異なっていた。これらの実験結果は固定後の Caco2 細胞を用いており、生細胞での動態を観察するため、ライブセルイメージングを行った。ライブセルイメージングでは apical chamber のバッファー内に dipping lens を進入させ、レンズの結像距離内に Caco2 単層培養細胞が入ることで、蛍光色素を可視化した。この実験モデルを用い、calcein, dextran は側方基底膜側から取り込まれることを明らかにした。HEPES-buffered isotonic solution で洗浄後に再観察を行ったが、calcein を basal chamber に投与した時と同じ観察条件では calcein を検出することが出来なかった。そのため、レーザー出力を大きく増加する必要があるが、共焦点画像を取得した範囲は calcein の蛍光が消褪し、photobleaching を起こしていた。そのため、同一部位を連続観察することで、鉄アスコルビン酸複合体投与と DPD 投与に伴う鉄動態の変化を calcein で可視化することは断念した。異なる観察部位であるが、鉄アスコルビン酸複合体の投与に伴って calcein は消光し、DPD 投与に伴って calcein は回復し、ライブセルイメージングと固定後

で同じ傾向が見られた。また、K562, HepG2(肝細胞癌), H9C2(心筋細胞), J774(マクロファージ)といった細胞株では apical, basal といった細胞の方向性は無く、calcein で染色すると、蛍光は細胞質全体に陽性像を呈する。そのため、BLDV に由来する calcein が側方基底膜側に局在することは、tight junction が重要な役割を果たしていると考えた。実際に Caco2 モデルでライブセルイメージングを行っているときに、単層から遊離してバッファー内に浮遊している数個の Caco2 細胞は細胞質全体が calcein で染色され、側方基底膜側に限局していなかった。そのため、Caco2 単層培養細胞を搔破して tight junction が傷害された floating layer を作成し、観察を行った。Culture insert の membrane に付着している adherent layer や junction area では calcein は基底側方膜に限局していたが、floating layer 内では細胞質全体が染色される Caco2 細胞が見られ、tight junction が calcein を含む BLDV の局在に重要な役割を果たしていることが示唆された。

②.ヘミンは calcein の消光に 2 時間かかり、DMT1 の内在化も 2 時間必要である。

Basal chamber に calcein を投与し、apical chamber にヘミン(50 $\mu$ M)を投与後の 30, 60, 120 分後に固定し、calcein のシグナルを解析した。30,60 分後に固定した検体では calcein のシグナル減少は軽度で、ヘミン投与 120 分後に有意な calcein シグナルの低下が見られた。また、DMT1(IRE) の刷子縁から細胞質への内在化はヘミン投与 30, 60 分後では乏しく、120 分後では明瞭な変化であった。ヘミンは細胞内に取り込まれた後に、heme oxygenase(HO)によりビリベルジン、一酸化炭素、鉄に分解される。HO には 1 と 2 があり、1 は細胞ストレスで早期に誘導される蛋白であり、Heat shock protein 32 (Hsp32)とも呼ばれ、HO2 は恒常的に発現している分子である。HO によりヘミンから放出された鉄が LIP に入り calcein を消光すると考えられるので、calcein の消光に二時間かかることは、誘導された HO1 がヘミンを分解して放出された鉄を LIP に供給するために必要な時間と考えられる。Caco2 にヘミンを投与することで HO1 が誘導されることは既に報告されているが、DMT1(IRE)の内在化と LIP の増加(calcein の消光)は本研究で明らかにすることができた研究成果である。ペルオキシソームに局在する HO から細胞質に放出された鉄が形質膜上の DMT1 の内在化を誘導するためにどのような内在化経路が活性化されているのかは、今後の検討課題である。

十二指腸からの非ヘム鉄の吸収は 1997 年に DMT1 が同定されてから分子機構の解析が行われているが、ヘム鉄は heme carrier protein 1(HCP1)が 2000 年に報告されたが、HCP1 遺伝子変異は葉酸欠乏を呈することが示され、ヘム鉄を吸収する transporter の探索が続けられている。一方、ヘム鉄を細胞外

に排出する運搬体として feline leukemia virus subtype C receptor (FLVCR)が同定されている。非ヘム鉄は FPN により細胞外に排泄され、非ヘム鉄とヘム鉄と吸収、代謝機構は異なることが考えられている。また、鉄輸送に関わる transporter として Zrk-like irt-like protein (ZIP14)が同定されたが、DMT1 とは至適 pH が異なり、十二指腸からの鉄吸収は DMT1 が主要な役割を果たしていると考えられている。

#### 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 12 件)

以下は全て査読がある英文雑誌である。

① A fluorescent metal-sensor study provides evidence for iron transport by transcytosis in the intestinal epithelial cells. Ma Y, Okazaki Y, Glass J.

**J Clin Biochem Nutr.** 2018;62(1):49-55. doi: 10.3164/jcbn.17-74

② Phlebotomy as a preventive measure for crocidolite-induced mesothelioma in male rats.

Ohara Y, Chew SH, Shibata T, Okazaki Y, Yamashita K, Toyokuni S.

**Cancer Sci.** 2018;109(2):330-339. doi: 10.1111/cas.13460.

③ Role of catalytic iron and oxidative stress in nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia and its amelioration by Saireito (TJ-114).

Hirako S, Tsuda H, Ito F, Okazaki Y, Hirayama T, Nagasawa H, Nakano T, Imai K, Kotani T, Kikkawa F, Toyokuni S.

**J Clin Biochem Nutr.** 2017;61(3):176-182. doi: 10.3164/jcbn.17-17

④ Protoporphyrin IX regulates peripheral benzodiazepine receptor associated protein 7 (PAP7) and divalent metal transporter 1 (DMT1) in K562 cells.

Okazaki Y, Glass J.

**Biochem Biophys Rep.** 2017; 27;10:26-31. doi: 10.1016/j.bbrep.2017.02.007.

⑤ Astaxanthin ameliorates ferric nitrotriacetate-induced renal oxidative injury in rats.

Okazaki Y, Okada S, Toyokuni S.

**J Clin Biochem Nutr.** 2017;61(1):18-24. doi: 10.3164/jcbn.16-114.

⑥ Iron and thiol redox signaling in cancer: An exquisite balance to escape ferroptosis. Toyokuni S, Ito F, Yamashita K, Okazaki Y, Akatsuka S.

**Free Radic Biol Med.** 2017;108:610-626.  
doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.024

⑦ Non-thermal plasma induces a stress response in mesothelioma cells resulting in increased endocytosis, lysosome biogenesis and autophagy.  
Shi L, Ito F, Wang Y, Okazaki Y, Tanaka H, Mizuno M, Hori M, Hirayama T, Nagasawa H, Richardson DR, Toyokuni S.  
**Free Radic Biol Med.** 2017;108:904-917.  
doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.368

⑧ Rheostatic CD44 isoform expression and its association with oxidative stress in human malignant mesothelioma.  
Chew SH, Okazaki Y, Akatsuka S, Wang S, Jiang L, Ohara Y, Ito F, Saya H, Sekido Y, Toyokuni S.  
**Free Radic Biol Med.** 2017;106:91-99.  
doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.02.011

⑨ Stapled BIG3 helical peptide ERAP potentiates anti-tumour activity for breast cancer therapeutics.  
Yoshimaru T, Aihara K, Komatsu M, Matsushita Y, Okazaki Y, Toyokuni S, Honda J, Sasa M, Miyoshi Y, Otaka A, Katagiri T.  
**Sci Rep.** 2017;12;7(1):1821.  
doi: 10.1038/s41598-017-01951-6.

⑩ Protein kinase A inhibition facilitates the antitumor activity of xanthohumol, a valosin-containing protein inhibitor.  
Shikata Y, Yoshimaru T, Komatsu M, Katoh H, Sato R, Kanagaki S, Okazaki Y, Toyokuni S, Tashiro E, Ishikawa S, Katagiri T, Imoto M.  
**Cancer Sci.** 2017;108(4):785-794.  
doi: 10.1111/cas.13175

⑪ Biphasic effects of l-ascorbate on the tumoricidal activity of non-thermal plasma against malignant mesothelioma cells.  
Shi L, Wang Y, Ito F, Okazaki Y, Tanaka H, Mizuno M, Hori M, Richardson DR, Toyokuni S.  
**Arch Biochem Biophys.** 2016;605:109-16.  
doi: 10.1016/j.abb.2016.05.016.

⑫ Role of hemoglobin and transferrin in multi-wall carbon nanotube-induced mesothelial injury and carcinogenesis.  
Wang Y, Okazaki Y, Shi L, Kohda H, Tanaka M, Taki K, Nishioka T, Hirayama T, Nagasawa H, Yamashita Y, Toyokuni S.  
**Cancer Sci.** 2016;107(3):250-7.  
doi: 10.1111/cas.12865

[学会発表] (計 4 件)

(1) 第 13 回アスタキサンチン研究会  
アスタキサンチンは鉄ニトリロ三酢酸により誘発される酸化ストレスを抑制する。  
(岡崎泰昌、岡田茂、豊国伸哉)  
(平成 29 年 9 月 8 日) 一般口演

(2) 第 105 回日本病理学会  
Analysis of iron-related carcinogenesis and identification of molecule, which regulates cellular proliferation and associates with endocytosis.  
(Okazaki, Y.). (平成 28 年 5 月 12-14 日)  
**平成 27 年度学術奨励賞**

(3) 第 10 回プラズマ医療 サイエンスの扉  
活性酸素と病理学～病気の原因を探る～  
(岡崎泰昌)  
(平成 28 年 4 月 15 日) **市民公開講座**

(4) 新学術領域「プラズマ医療科学の創成」  
合同公開シンポジウム  
非平衡大気圧プラズマは、生体高分子を紫外線と活性酸素で同時に修飾する。  
(岡崎泰昌、全 11 名)  
(平成 27 年 8 月 5 日) **招待口演**

[図書] (計 2 件)

(1) **Plasma Medical Science**; Toyokuni S, Hori M, Ikehara Y, Kikkawa F, eds.  
5.3. Pathology of Oxidative Stress.  
Okazaki Y and Toyokuni S.  
Academic Press (Elsevier) in press

(2) **ロビンス基礎病理学 原書 10 版**  
豊国伸哉、高橋雅英 監訳  
題目: 第 17 章 膵臓 岡崎泰昌  
エルゼビアジャパン 発刊準備中  
[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)  
○取得状況 (計 0 件)  
[その他]  
ホームページ等: なし

**2017 年 J Clin Biochem Nutr (JCBN) High Citation Award** (日本酸化ストレス学会公式雑誌(JCBN)より授与)

**2015 年度八木記念学術奨励賞** (日本酸化ストレス学会 JCBN 編集委員会より授与)

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
岡崎 泰昌 (OKAZAKI, Yasumasa)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号: 30403489

(2) 研究分担者  
研究分担者なし  
( )  
研究者番号:

(3) 連携研究者  
連携協力者なし  
( )  
研究者番号:

(4) 研究協力者  
研究協力者なし  
( )