

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：学術創成研究費

研究期間：2005～2009

課題番号：17GS0419

研究課題名(和文) ガス分子を介した新しい生体制御機構の学際的アプローチによる解明と医学への応用

研究課題名(英文) Biomedical Application of Gas Biology through Multidisciplinary Approaches

研究代表者

末松 誠 (SUEMATSU MAKOTO)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：00206385

研究成果の概要(和文): ガス分子の受容体探索は、それ自体の技術的困難と、異なるガス分子と受容体が構成する複雑なフィードバックが交錯する代謝システムの系統的解析が困難であったために未開の領域であった。本プロジェクトではメタボロームと分子質量イメージングなどの最新の質量分析技術と計算機科学による予測生物学的アプローチを駆使してこの問題を解決し、新しい酸素センシング機構やストレス応答で変動する CO, NO, H<sub>2</sub>S を介した細胞機能制御機構を発見し、それらが構成する複雑かつ精妙なガス分子感受性代謝システム制御機構の存在が示唆された。

研究成果の概要(英文): The multiplicity of gas actions and gas targets and the difficulty in measuring local gas concentrations obscures detailed mechanisms whereby gases exert their actions, and many questions remain unanswered. In this project, advanced mass spectrometry combined with high-performance computer technology allowed us to mine biological mechanisms for gas-responsive signal transducing systems. We also take an integrated approach to the interaction of gases by considering the physiological significance of CO, NO, and H<sub>2</sub>S on metabolic systems and energy-supporting enzyme systems including cytochrome c oxidase, a key target and central mediator of mitochondrial respiration. By evaluating gas-mediated control functions from both in vitro and in vivo perspectives, we attempted to elaborate on the complex multiple interactions of O<sub>2</sub>, NO, CO, and H<sub>2</sub>S

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	56,700,000	17,010,000	73,710,000
2006年度	49,500,000	14,850,000	64,350,000
2007年度	49,500,000	14,850,000	64,350,000
2008年度	49,500,000	14,850,000	64,350,000
2009年度	49,500,000	14,850,000	64,350,000
総計	254,700,000	76,410,000	331,110,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：一酸化炭素、ガスバイオロジー、酸素センサー、メタボローム、cytochrome oxidase、構造生物学、ミトコンドリア、Hypoxia inducible factor

## 1. 研究開始当初の背景

本研究課題は「創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究」を観点として推薦さ

れた。遺伝子および蛋白質の網羅的機能解析により、細胞や生体の機能制御メカニズムの理解が進みつつある。一方細胞内外に分布す

る低分子化合物の生理的挙動や病態生化学は水分子や酵素など限られた分子種の理解は進んでいるものの包括的な理解は遅れている。酵素反応の基質・生成物・アロステリック調節分子となるこれらの化合物は生体内で複雑な代謝ネットワークを形成していると思われるが今日までその網羅的・定量的解析法が存在しなかったため生物学的研究の進展が妨げられていた。

## 2. 研究の目的

本研究では生体高分子の隙間に浸透し、低分子の官能基を認識して部位特異的に結合しその機能を調節できるガス分子による生体制御の生物学 (Gas Biology) の推進を目指し、ガス分子の生成・受容・分配に関わる主要標的分子を同定する。その具体的手段として分子・細胞・臓器レベルの各階層で目的に応じて物理化学・構造生物学・生命情報科学、計算機科学を利用し、学際的な研究アプローチを積極的に導入して問題解決を図る。ガス分子の生物作用の人為的制御法を確立することにより、代謝の酸素依存性が問題となる幹細胞生物学や病原微生物統御などの基礎医学研究、あるいは循環器疾患制御、救急蘇生学などの臨床医学研究での展開を果たすことを目標とする。

## 3. 研究の方法

本研究は3つの柱:(1)メタボローム解析法により探索されたガス分子受容蛋白質と異なるガス分子との相互作用の構造生物学的解析とその生物学的意義の解明、(2)既知の低分子化合物がNOやH<sub>2</sub>Sなどの反応性の高い分子と相互作用することにより新たに生じる新規低分子化合物の探索とその生物学的意義の解明、(3)体内で細胞膜を自由に通過・移動すると考えられてきたガス分子が、イオンチャネルやキャリア低分子との複合体形成により生体内の特定のコンパートメントに分布し、生物活性を発揮する可能性の検証、から構成される。上記の研究の3つの柱を確立するために(1)メタボローム解析技術を支援する Differential Metabolomics Display (DMD)、(2)振動分光学を駆使したガス分子と生体高分子の相互作用解析プラットフォーム、(3)ガス分子の生物作用解析に必要な細胞・臓器・個体レベルの In vivo 実験医学的プラットフォー

ムを構築した。また課題推薦の観点に鑑み、研究代表者・分担者の共同研究成果が「革新的・学際的学問領域を創成する研究」に相応しく、Gas Biology 以外の研究領域への波及効果(図右上赤字参照)を創出できるよう、研究組織内での collaboration を通じて過去の技術では不可能であった研究手法や技術開発: 計算機科学の積極的導入による問題解決、希少試料におけるエネルギー代謝解析、Predict -able medicine の可能性などに取り組んだ。

## 4. 研究成果

メタボローム解析技術と計算機技術の融合により、ガス分子の濃度変化を感知して生体防御に関わる多くの新しいメカニズムを哺乳類、病原微生物などを用いて解明した。ガス分子は金属中心を有する補欠分子族を有する酵素を標的として生物作用を発揮することから、その生物作用はメタボロームチャート上に footprint として反映される。この方法以外にもナノビーズに補欠分子を結合させて標的たんぱく質候補分子を系統的に探索する方法も確立して威力を発揮しつつある。さらに正常酸素供給を受けた組織と虚血組織を弁別して代謝物を系統的に探索できる Imaging mass spectrometry を用いて低分子代謝物の臓器内マッピングを行う技術も本研究で確立できた。以下にそれらの成果の一端を示す。

(1)赤血球の hemoglobin を介した酸素センシング機構解明: 計算機科学の融合による予測生物学的解決

赤血球はヘモグロビン (Hb) のアロステリを巧みに調節して組織への効率的な酸素運搬を実現していることは古くから知られている。我々は大規模細胞代謝シミュレーションである E-Cell を元に構築した赤血球代謝のシミュレーションモデルを用いて、「どの酵素(複数の酵素の組み合わせを含む)が Hb の、Band III への結合で活性化されると ATP 生成と 2,3-BPG 生成を同時に最適化できるか」を条件として低酸素状態の赤血球における代謝変動を予測し、CE-MS で実証的に得られるメタボロームデータ、あるいは各種の酸素環境下で <sup>13</sup>C-glucose を用いた pulse chase metabolome を計測することにより各実験条件下での律速段階の系統的探索を行って、仮想実験結果との照合を行った。その結果、phosphofructokinase と glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase が Hb の Band III への結合を契機に活性化されるモデルが最もよく metabolome データを再現すること、<sup>13</sup>C-glucose の pulse chase 解析の結果、実際に上記2つの酵素が低酸素依存性の律速を示

すことなどが実証された。

(2) 部位特異的遺伝子改変技術による **Cytochrome c oxidase (CCO)** の酸素感知機能の解明

動物の CCO は、ミトコンドリア内膜に埋もれた膜蛋白質複合体であり、呼吸鎖の末端酸化酵素として分子状酸素を水に還元する。本酵素は酸素消費に共役してマトリックスから膜間腔へプロトン能動輸送(プロトンポンプ)するため内膜内側が負の膜電位が発生する。この膜電位・プロトン濃度勾配は ATP 合成酵素を介したプロトンの膜内再駆入されと ATP 合成に不可欠である。この反応による酸素消費は体内での酸素消費の 95% 以上を占め、長年酸素センシングの候補分子と考えられてきた。低酸素時には電子伝達が阻害され、呼吸鎖上流の余剰電子から生じた活性酸素(ROS)が低酸素シグナルとして作用し、低酸素の警報機構として作用するとの仮説が提唱されているが、そもそも ROS 量が酸素濃度で規制されるためこの仮説には強い批判がある。我々はこの問題を解決するために CCO のプロトンポンプ活性が本酵素の酸素センシングの本態であると仮説を立て、その立証を果たすべく電子伝達系を介した酸素消費を変化させずにプロトンポンプ活性のみを欠失させた細胞の創出を果たした(文献 4)。13 subunit からなる本酵素の触媒中心を構成するサブユニット I は mitochondrial DNA でコードされている。哺乳類固有のアミノ酸残基である Asp51 は、膜外側の酵素分子表面近くに位置する残基で、酵素の酸化還元によってその構造を変え、酸化型では酵素分子内にあり、還元型では酵素分子表面に露出し、ポンプサイトとして機能する残基であることが、兵庫県立大の吉川、大阪大の月原、および教室の島田らの共同研究により示唆された。この Asp51 を Asn に置換すると、変異酵素は酸素消費を維持したまま、プロトンポンプ活性を消失し、非共役呼吸となる。我々は ミトコンドリア移行シグナルを付与した CCO の subunit 1 の Asp51Asn 変異体遺伝子(ミトコンドリア DNA であるため、ミトコンドリア移行シグナルを付与したコンストラクトを Genomic transfection)を Hela 細胞あるいはマウスに高発現させ、内膜上に変異蛋白を発現させた dominant negative (DN) transgenic system を創製した。この仕組みを用いて CCO を介した酸素センシングにおけるプロトンの役割を解析中である。

(3) 造血幹細胞における HIF-1 を介した酸素感知機構の解明

細胞内酸素依存性転写因子 HIF-1 の **conditional knockout mice** を作成し、エネルギー代謝維持と幹細胞の生存機構に関して考察を進めた。造血幹細胞が、骨髄中で幹細胞の居るべき場所(ニッチ)に局在し、ニ

ッチの低酸素環境効果によって特殊な代謝状態が保たれ、幹細胞の自己複製能が保たれているとの仮説を立てた。仮説の証明のために、**Mx1-Cre Tg mice** と **HIF-1 $\alpha$ -conditional KO mice** との交配し得られたマウスに PolyI:C を投与することで、骨髄造血細胞を含めた細胞の HIF-1 発現を欠失させた。この変異マウスの末梢血像はコントロール群と比較して大きな変化は認められなかったものの、骨髄造血幹細胞分画(KSL: c-kit+Sca+Lin-)が変異マウスでは約 3 倍に増加していること、また静止(G0)期にある KSL 分画の細胞数が半減していることが分かった。また、BrdU を用いた実験より、これらの KSL 細胞の増殖能が非常に亢進していることが明らかになった。

(4) Stress-inducible CO による cystathionine  $\beta$ -synthase (CBS) を介した H<sub>2</sub>S 制御機構の発見

Stress による Heme oxygenase-1 の誘導によって増加する CO が、含硫アミノ酸代謝の律速酵素である CBS を阻害することにより、この酵素が生成する H<sub>2</sub>S の制御を行い、肝臓における胆汁のアルカリ化、脳の neurovascular unit における低酸素性血管拡張反応に関与することが示唆された。

## 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 40 件) 全て査読有

1) Takubo K, Goda N, Yamada W, Ikeda E, Kubota Y, Shima H, Johnson RS, Hirao A, Suematsu M, Suda T. Regulation of the HIF-1 $\alpha$  level is essential for hematopoietic stem cells. **Cell Stem Cell**, in press 2010.

2) Hattori K, Kajimura M, Nakanishi T, Fujiwake H, Ogawa K, Nagahata Y, Hishiki T, Kubo A, Setou M, Suematsu M. Paradoxical ATP elevation in ischemic penumbra revealed by quantitative imaging mass spectrometry. **Antioxid Redox Signal** 2010, In press

3) Kurihara T, Kubota Y, Ozawa Y, Takubo K, Noda K, M. Simon C, Johnson RS, Suematsu M, Tsubota K, Ishida S, Goda N, Suda T, and Okano H. von Hippel-Lindau protein regulates transition from fetal to adult circulatory system in retina. **Development** 137(9), 1563-1571, 2010

4) Kajimura M, Fukuda R, Bateman RM, Yamamoto T, Suematsu M. Interactions of multiple gas-transducing systems: Hallmarks and uncertainties of CO, NO and H<sub>2</sub>S gas biology. **Antioxid Redox Signal** In press 2010

5) Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A. TGF- $\beta$ -FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid

leukaemia. **Nature**. 463:676-680, 2010.

6 ) Endo J, Sano M, Katayama T, Hishiki T, Shinmura K, Morizane S, Matsushashi T, Katsumata Y, Zhang Y, Ito H, Nagahata Y, Marchitti S, Nishimaki K, Wolf AM, Nakanishi H, Hattori F, Vasiliou V, Adachi T, Ohsawa I, Taguchi R, Hirabayashi Y, Ohta S, Suematsu M, Ogawa S, Fukuda K. Metabolic remodeling induced by mitochondrial aldehyde stress stimulates tolerance to oxidative stress in the heart. **Circ Res** 105(11), 1118-1127, 2009.

7 ) Tamase A, Muraguchi T, Naka K, Tanaka S, Kinoshita M, Hoshii T, Ohmura M, Shugo H, Ooshio T, Nakada M, Sawamoto K, Onodera M, Matsumoto K, Oshima M, Asano M, Saya H, Okano H, Suda T, Hamada JI, Hirao A. Identification of tumor-initiating cells in a highly aggressive brain tumor using promoter activity of nucleostemin. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 106:17163-17168, 2009

8 ) Minami, Y., Kasukawa, T., Kakazu, Y., Iigo, M., Sugimoto, M., Ikeda, S., Yasui, A., van der Horst, G., Soga, T., Ueda, H., "Measurement of Internal Body Time by Blood Metabolomics. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 9890-9895, 2009.

9 ) Yoshikawa N, Nagasaki M, Sano M, Tokudome S, Ueno K, Shimizu N, Imoto S, Miyano S, Suematsu M, Fukuda K, Morimoto C, Tanaka H. Ligand-based gene expression profiling identifies critical role of glucocorticoid receptor in rat neonatal cardiomyocytes. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. 296(6):E1363-1373, 2009.

10 ) Hirayama, A., Kami, K., Sugimoto, M., Sugawara, M., Toki, N., Onozuka, H., Kinoshita, T., Saito, N., Ochiai, A., Tomita, M., Esumi, H., \*Soga, T."Quantitative Metabolome Profiling of Colon and Stomach Cancer Microenvironment by Capillary Electrophoresis Time-of-flight Mass Spectrometry. **Cancer Res**. 69, 4918-4925, 2009.

11 )Soga, T., Igarashi, K., Itoh, C., Mizobuchi, K., Zimmermann, H., Tomita, M., Metabolomic Profiling of Anionic Metabolites by Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry. **Anal. Chem**. 81, 6165-6174, 2009.

12 ) Saito, N., Robert, M., Kochi, H., Matsuo, G., Kakazu, Y., Soga, T., Tomita, M., Metabolite profiling reveals YihU as a novel hydroxybutyrate dehydrogenase for alternative succinic semialdehyde metabolism in *Escherichia coli*. **J. Biol. Chem**. 109, 16442-16451, 2009.

13 ) Iuchi, Y., Okada, F., Takamiya, R., Kibe, N., Tsunoda, S., Nakajima, O., Toyoda, K., Nagae, R., Suematsu, M., Soga, T., Uchida, K., Fujii, J.

Rescue of anemia and autoimmune responses in SOD1-deficient mice by transgenic expression of human SOD1 in erythrocytes. **Biochem. J**. 422, 313-320, 2009.

14 ) Tajima, T., Goda, N., Fujiki, N., Hishiki, T., Nishiyama, Y., Senoo-Matsuda, N., Shimazu, M., Soga, T., Yoshimura, Y., Johnson, R.S., Suematsu, M., HIF-1 $\alpha$  is necessary to support gluconeogenesis during liver regeneration **Biochem. Biophys. Res. Commun**. 387, 789-794, 2009.

15 ) Kuramori, C., Hase, Y., Hoshikawa, K., Watanabe, K., Nishi, T., Hishiki, T., Soga, T., Nashimoto, A., Kabe, Y., Yamaguchi, Y., Watanabe, H., Kataoka, K., Suematsu, M., Handa, H., "Mono-(2-ethylhexyl) phthalate Targets Glycogen Debranching Enzyme and Affects Glycogen Metabolism in Rat Testis. **Toxicol. Sci**. 109, 143-151, 2009.

16 ) Shintani, T., Iwabuchi, T., Soga, T., Kato, Y., Yamamoto, T., Takano, N., Hishiki, T., Ueno, Y., Ikeda, S., Sakurakawa, T., Ishikawa, K., Goda, N., Yitagawa, Y., Kajiyama, M., Matsumoto, K., Suematsu, M., Cystathionine  $\beta$ -synthase as a Carbon Monoxide-sensitive Regulator of Bile Excretion. **Hepatology** 49, 141-150, 2009.

17 ) Ohmura M, Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Shugo H, Tamase A, Uema N, Ooshio T, Arai F, Takubo K, Nagamatsu G, Hamaguchi I, Takagi M, Ishihara M, Sakurada K, Miyaji H, Suda T, \*Hirao A. Identification of Stem Cells During Prepubertal Spermatogenesis Via Monitoring of Nucleostemin Promoter Activity. **Stem Cells**. 26:3237-3246, 2008

18 ) Nanno, M., Kanari, Y., Naito, T., Inoue, N., Hisamatsu, T., Chinen, H., Sugimoto, K., Shimomura, Y., Yamagishi, H., Shiohara, T., Ueha, S., Matsushima, K., Suematsu, M., Mizoguchi, A., Hibi, T., Bhan, A.K., Ishikawa, H. Exacerbating Role of  $\gamma\delta$  T Cells in Chronic Colitis of T Cell Receptor  $\alpha$  Mutant Mice. **Gastroenterology** 134, 481-490, 2008

19 ) Akahoshi N, Kobayashi C, Ishizaki Y, Izumi T, Himi T, Suematsu M, and Ishii I. Genetic background conversion ameliorates semi-lethality and permits behavioral analyses in cystathionine beta-synthase-deficient mice, an animal model for hyperhomocysteinemia. **Hum. Mol. Genet**. 17:1994-2005, 2008

20 ) Ishii, N., Nakahigashi, K., Baba, T., Robert, M., Soga, T., Kanai, A., Hirasawa, T., Naba, M., Hirai, K., Hoque, A., Ho, P.Y., Kakazu, Y., Sugawara, K., Igarashi, S., Harada, S., Masuda, T., Sugiyama, N., Togashi, T., Hasegawa, M., Takai, Y., Yugi, K., Arakawa, K., Iwata, N., Toya, Y., Nakayama, Y., Nishioka, T., Shimizu, K., Mori, H., Tomita, M. Multiple Highthroughput

- Analyses Monitor The Response of E. coli to Perturbations”, **Science** 316, 593-597, 2007.
- 21 ) Shimokata K, Katayama Y, Murayama H, Suematsu M, Tsukihara T, Muramoto K, Yoshikawa S, Shimada H. A peptide bond provides unidirectional respiratory proton pumping in bovine cytochrome *c* oxidase. **Proc Natl Acad Sci USA** 104(10), 4200-4205, 2007
- 22 ) Egawa, T., Tsuneshige, A., Suematsu, M., Yonetani, T. Method for determination of association and dissociation rate constants of reversible biomolecular reactions by isothermal titration calorimeters. **Anal. Biochem.** 79(7), 2972-2978, 2007
- 23 ) Hangai-Hoger, N., Tsai, A.G., Carbales, P., Suematsu, M., Intaglietta, M. Microvascular and systemic effects following top load administration of saturated carbon monoxide-saline solution. **Crit Care Med** 35(4), 1123-1132, 2007.
- 24 ) Kinoshita, A., Tsukada, K., Soga, T., Hishiki, T., Ueno, Y., Nakayama, Y., Tomita, M., Suematsu, M. Roles of hemoglobin allostery in hypoxia-induced metabolic alterations in erythrocytes: simulation and its verification by metabolome analysis. **J Biol Chem** 282(14), 10731-10741, 2007.
- 25 ) Sano M, Izumi Y, Helenius K, Asakura M, Rossi DJ, Xie M, Taffet G, Hu L, Pautler RG, Wilson CR, Boudina S, Abel ED, Taegtmeyer H, Scaglia F, Graham BH, Kralli A, Shimizu N, Tanaka H, Makela TP, Schneider MD. Menage-a-Trois 1 is critical for the transcriptional function of PPARgamma coactivator 1. **Cell Metab** 5(2), 129-142, 2007
- 26 ) Baran, R., Robert, M., Suematsu, M., Soga, T., Tomita, M. Visualization of three-way comparisons of omics data. **BMC Bioinformatics**, 8(1), 72e, 2007
- 27) Ishikawa H, Naito T, Iwanaga T, Takahashi-Iwanaga H, Suematsu M, Hibi T, Nanno M. Curriculum vitae of intestinal intraepithelial T cells: their developmental and behavioral characteristics. **Immunol Rev** 215, 154-165, 2007.
- 28 ) Ito K, Takubo K, Arai F, Satoh H, Matsuoka S, Ohmura M, Naka K, Azuma M, Miyamoto K, Hosokawa K, Ikeda Y, Mak TW, Suda T, Hirao A. Regulation of reactive oxygen species by atm is essential for proper response to DNA double-strand breaks in lymphocytes. **J Immunol.** 178, 103-110, 2007
- 29 ) Baran, R., Kochi, H., Saito, N., Suematsu, M., Soga, T., Nishioka, T., Robert, M., Tomita, M. MathDAMP: a package for differential analysis of metabolite profiles. **BMC Bioinformatics** 7: 530e, 2006
- 30 ) Ueno T, Yokoi N, Unno M, Matsui T, Tokita M, Yamada M, Ikeda-Saito M, Nakajima H, Watanabe Y. Design of metal cofactors activated by a protein-protein electron transfer system. **Proc Natl Acad Sci USA** 103, 14, 9416-9421, 2006.
- 31 ) Matsui T, Kim SH, Jin H, Hoffman BM and Ikeda-Saito M. Compound I of heme oxygenase cannot hydroxylate its heme *meso*-carbon **J. Am. Chem. Soc.** 128, 1090-1091, 2006.
- 32 ) Suganuma K, Tsukada K, Tsuneshige A, Kashiba M, Yonetani T, Suematsu M. T-state stabilization of hemoglobin allostery by nitric oxide: a protection against post-ischemic hepatobiliary dysfunction. **Antioxid Redox Signal** 8, 1847-1855, 2006
- 33 ) Soga T, Baran R, Suematsu M, Ueno Y, Ikeda S, Sakuragawa T, Kakazu Y, Ishikawa T, Robert M, Nishioka, T., Tomita, M. Differential metabolomics reveals ophthalmic acid as an oxidative stress biomarker indicating hepatic glutathione consumption. **J Biol Chem** 281(24) 16768-16776, 2006. (Suematsu M is a corresponding author)
- 34 ) Cameron-Scafer S, Kondo K, Ishige A, Tsuyama S, Uchida K, Hanawa T, Suematsu M, Watanabe K. Maintaining the redox balance intact: gosha-jinki-gan but not insulin activates guanylate cyclase in diabetic rats. **Ophthalmic Res** 38(2), 95-104, 2006.
- 35 ) Miyao N, Suzuki Y, Takeshita K, Kudo H, Ishii M, Hiraoka R, Nishio K, Tamatani T, Sakamoto S, Suematsu M, Tsumura H, Ishizaka A, Yamaguchi K. Various adhesion molecules impair microvascular leukocyte kinetics in ventilator-induced lung injury. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol** 290, L1059-L1068, 2006
- 36 ) Matsui T, Nakajima A, Fujii H, Mansfield K, Matera C, Migita T, Yoshida T and Ikeda-Saito M. O<sub>2</sub>- and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- dependent verdoheme degradation by heme oxygenase: Reaction mechanisms and potential physiological roles of the dual pathway degradation **J Biol Chem** 280, 36833-40, 2005
- 37 ) Tian J, Bryk R, Itoh M, Suematsu, M, Nathan C. Variant tricarboxylic acid cycle in *Mycobacterium tuberculosis*: Identification of  $\alpha$ -ketoglutarate decarboxylase. **Proc Natl Acad Sci USA** 102, 10670-10675, 2005.
- 38 ) Ishikawa M, Kajimura M, Adachi T, Maruyama K, Makino N, Goda N, Yamaguchi T, Sekizuka E, Suematsu M. Carbon monoxide from heme oxygenase-2 is a tonic regulator against nitric oxide-dependent vasodilatation in the adult rat cerebral microcirculation. **Circ Res** 97(12), e104-e114, 2005.
- 39 ) Fujii K, Sakuragawa T, Kashiba M, Sugiura

Y, Maruyama K, Goda N, Nimura Y, Suematsu M. Hydrogen sulfide as an endogenous modulator of biliary bicarbonate excretion in the rat liver. **Antioxid Redox Signal**. 7(5-6), 788-794, 2005.

40) Sugiura, Y., Kashiba, M., Hoshikawa, K., Sasaki, R., Saito, K., Kimura, H., Maruyama, K., Goda, N., Suematsu M. Cadmium exposure alters metabolomics of sulfur-containing amino acids in rat testes. **Antioxid. Redox Signal** 7(5-6), 781-787, 2005.

〔学会発表〕(計 198 件)

1) Suematsu M. Biomedical application of metabolome analysis to mine gaseous signal transducers in the liver. **APS Symposium: Frontiers in the Cellular and Molecular Physiology of the Hepatic Microcirculation for EB2007**. Invited Lecture. Washington DC, April 29, 2007

2) Suematsu M. Metabolome analyses reveal roles of cystathionine beta synthase as a CO-responsive metabolic regulator in mammals. In NO and CO: distinct biological properties. **The 20<sup>th</sup> IUBMB Symposium Organizer**, Kyoto, June 19-22, 2006 (Organizer and Symposiast)

3) Suematsu M. Biomedical application of metabolome analysis. **Harvard-Kitasato Symposium for Critical Path for Translational Research**. Tokyo, October 24, 2006 (Invited Lecture)

4) Suematsu M. Carbon monoxide as a guardian against the liver injury. Plenary Lecture, **ISBRA Satellite Symposium**, September 2, 2005.

5) Erythrocytes as an oxygen-sensing metabolic sink determining microvascular tone. **IUPS Plenary Symposium**: San Diego CA April 5-8, 2005 (Plenary Lecture)

〔産業財産権〕

出願状況(計 4 件)

1) 名称: 酸素同位体で標識したヘモグロビンを含む生体組織検査薬及びその製造方法

発明者: 藤林 康久、森 哲也、末松 誠、太田 勝次

権利者: 国立大学法人福井大学

種類: 特許

番号: 特願 2006-545217

出願年月日: 2005 年 11 月 18 日

国内外の別: 国内

2) 名称: Biological Tissue Examination Agent Comprising Hemoglobin Labeled with Oxygen Isotope And Method For Probing The Same

発明者: FUJIIHASHI YASUHISA, MORI TETSUYA,

SUEMATSU MAKOTO, OHTA KATSUJI

権利者: University of Fukui

種類: 特許

番号: 66755205 A

出願年月日: 2005 年 11 月 18 日

国内外の別: 国外

3) 名称: 酸化ストレスの判定方法

発明者: 曾我 朋義、末松 誠

権利者: 学校法人 慶應義塾

種類: 特許

番号: 特願 2006-012955

出願年月日: 2006 年 1 月 20 日

国内外の別: 国内

4) 名称: METHOD FOR DETERMINATION OF OXIDATIVE STRESS.

発明者: Tomoyoshi Soga, Makoto Suematsu

権利者: Keio University

種類: 特許

番号: 07706844.3, 12/161,203

出願年月日: 2007 年 1 月 16 日

国内外の別: 国外

6. 研究組織

(1) 研究代表者

末松 誠 (SUEMATSU MAKOTO)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号: 00206385

(2) 研究分担者

斎藤 正男 (SAITOU MASAO)

東北大学・多元物質研究所・教授

研究者番号: 70302239

曾我 朋義 (SOGA TOMOYOSHI)

慶應義塾大学・環境情報学部・教授

研究者番号: 60338217

平尾 敦 (HIRAO ATSUSHI)

金沢大学・がん研究所・教授

研究者番号: 90343350

田中 廣壽 (TANAKA HIROTOSHI)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号: 00171794

(3) 連携研究者: なし