

教育研究業績書

2020年10月27日

所属：薬学科

資格：准教授

氏名：山下 沢

研究分野	研究内容のキーワード
タンパク質の機能と構造の相関	シトクロムP450、ヘム、酵素、薬物、環境
学位	最終学歴
博士（薬学）	熊本大学大学院薬学研究科博士後期課程

教育上の能力に関する事項		
事項	年月日	概要
1 教育方法の実践例		
2 作成した教科書、教材		
1. ミニマムエッセンス 薬学数学	2020年3月	薬学に必要な数学について、基礎的な知識がない学生でも一から分かるように、懇切丁寧に説明を書き、練習問題を多く入れた、入門的な教科書である。
3 実務の経験を有する者についての特記事項		
4 その他		

職務上の実績に関する事項		
事項	年月日	概要
1 資格、免許		
1. 薬剤師免許証	1999年5月17日	薬剤師国家試験に合格し、薬剤師免許証を取得した
2 特許等		
3 実務の経験を有する者についての特記事項		
4 その他		

研究業績等に関する事項				
著書、学術論文等の名称	単著・共著書別	発行又は発表の年月	発行所、発表雑誌等又は学会等の名称	概要
1 著書				
1. ミニマムエッセンス 薬学数学	共	2020年3月	京都廣川書店	薬学に必要な数学について、基礎的な知識がない学生でも一から分かるように、懇切丁寧に説明を書き、練習問題を多く入れた、入門的な教科書である。
2 学位論文				
1. Studies on the Gas Sensing and Activation Mechanisms of a Transcriptional Factor CoxA	単	2004年3月25日	熊本大学	ガス感知転写因子CooAに関して、網羅的な変異体解析を実施し、その機能発現機構に関する知見を世界で初めて明らかにした。
3 学術論文				
1. Impact of Single Nucleotide Polymorphisms (R132Q and W120R) on the Binding Affinity and Metabolic Activity of CYP2C19 Toward Some Therapeutically Important Substrates	共	2020年6月 accepted	Xenobiotica, (2020), in press.	Derayea, S. M., Tsujino, H., Oyama, Y., Ishikawa, Y., Yamashita, T., and Uno, T. CYP2C19におけるSNPsのうち、R132QとW120Rに着目し、結合親和性および代謝活性測定から、これらのSNPsでは活性中心であるヘムへの電子の流れが減少していることを明らかにした。
2. Redox State Control of Human Cytochrome c by Direct Electrochemical Method to Investigate its Function in Molecular Basis	共	2020年5月	Chem. Pharm. Bull., 68 (8), 1-5 (2020)	Mie, Y., Takahashi, K., Torii, R., Jingkai, S., Tanaka, T., Sueyoshi, K., Tsujino, H., and Yamashita, T. "Last author" 三重らが独自に開発したナノ孔を有するように修飾を施した電極を用い、Cytcの酸化還元による酵素学的な機能について、電気化学的に追跡することに成功した。
3. Bitterness-Suppressing Effect of Umami Dipeptides and Their Constituent Amino Acids on Diphenhydramine: Evaluation by Gustatory Sensation and Taste Sensor Testing.	共	2020年3月	Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 68 (3), 234-243 (2020)	Okuno, T., Morimoto, S., Nishikawa, H., Haraguchi, T., Kojima, H., Tsujino, H., Arisawa, M., Yamashita, T., Nishikawa, J., Yoshida, M., Habara, M., Ikezaki, H., and Uchida, T. 共著者の一人として、分子間相互作用解析や味覚センサーによる味覚受容体への薬物結合に伴う知見について、ドッキングシミュレーションにより整合性を検証した。
4. Nanoporous gold based electrodes for electrochemical studies	共	2020年1月	Electrochemistry Communications, 110, 1066	Mie, Y., Takahashi, K., Itoga, Y., Sueyoshi, K., Tsujino, H., Yamashita, T., and Uno, T.

研究業績等に関する事項

著書、学術論文等の名称	単著・ 共著書別	発行又は 発表の年月	発行所、発表雑誌等 又は学会等の名称	概要
3 学術論文				
of human neuroglobin			21 (2020)	"Corresponding author" Ngbの活性酸素消去機能に関わるヘム鉄の酸化状態の変化を、ナノ孔を有するように修飾を施した電極を独自に開発し、電気化学的に追跡することに成功した。
5. Effect of Drug Combination on Omeprazole Metabolism by Cytochrome P450 2C19 in Helicobacter Pylori Eradication Therapy	共	2019年8月1日	Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 67 (8), 810-815 (2019)	Attia, T. Z., Yamashita, T., Tsujino, H., Derayea, S. M., Tsutsumi, Y., and Uno, T. "Corresponding author" ヘリコバクターピロリ菌による胃潰瘍の治療やその除菌に用いる薬物において、代謝に関わるCYP2C19での競合阻害に伴う治療効果への影響について、組み合わせとそれに伴う結合および代謝への影響を in vitro で精査した (Highlighted by Editor-in-Chief 論文として採用)。
6. Investigation on drug-binding in heme pocket of CYP2C19 with UV-visible and resonance Raman spectroscopies	共	2019年2月	Spectrochim. Acta A, Mol. Biomol. Spectrosc., 209, 209-216 (2019)	Derayea, S. M., Tsujino, H., Oyama, Y., Ishikawa, Y., Yamashita, T., and Uno, T. ヒト薬物代謝酵素であるCytochrome P450の分子種の1つであるCYP2C19を単離精製し、7つの薬物の各々について、紫外可視吸収スペクトルおよび共鳴ラマンスペクトルを測定し、結合親和性を滴定法によって定量した。
7. Correlation of indoleamine-2,3-dioxygenase 1 inhibitory activity of 4,6-disubstituted indazole derivatives and their heme binding affinity	共	2019年10月1日	Bioorg. Med. Chem. Lett., 29 (19), 126607 (2019)	Tsujino, H., Uno, T., Yamashita, T., et al. 免疫応答に関与するとされるヒトIDO1というタンパク質について、インダゾール骨格を有する化合物を合成し、阻害活性と結合性を評価し、結合様式についてシミュレーションにて計算することで、新規抗がん剤の候補物質となり得る化合物の選別を行った。
8. Roles of N- and C-terminal domains in the ligand-binding properties of cytoglobin.	共	2018年2月	J. Inorg. Biochem., 179, 1-9 (2018)	Hanai, S., Tsujino, H., Yamashita, T., et al. "Corresponding author" Cygが他のグロビタンパク質と異なる構造上の特徴として有する長い両末端領域について、本領域がCygの機能発現の制御に関わっていること、またその機能としてタンパク質間相互作用による線維化抑制があることを解明した。
9. Allosteric activation of cytochrome P450 3A4 by efavirenz facilitates midazolam binding	共	2018年12月	Xenobiotica, 48(12), 1227-1236 (2018)	Ichikawa, T., Tsujino, H., Miki, T., Kobayashi, M., Matsubara, C., Miyata, S., Yamashita, T., et al. "Corresponding author" Cytochrome P450の分子種の1つである3A4に着目し、併用薬物間でおきる相互作用について、特にエフェクター作用について、エファビレンツおよびその類縁体を用いて、ミダゾラムの代謝への影響を調べた
10. Effects of PM2.5 water-soluble components on degranulation of mast cell line	共	2017年1月	J. Jpn. Soc. Atmos. Environ., 52 (1), 12-18 (2017)	Kataoka, H., Nakamura, T., Tazuya-Murayama, K., Yamashita, T., and Nishikawa, J. PM2.5の主な水溶性成分である硫酸アンモニウムが、マスト細胞株における脱顆粒の増強に影響し、そこにはアンモニウムイオンの寄与があることを明らかにした。
11. Membrane anchor of cytochrome P450 reductase suppresses the uncoupling of cytochrome P450	共	2015年4月	Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 63, 286-294 (2015)	Miyamoto, M., Yamashita, T., Yasuhara, Y., Haysaki, A., Hosokawa, Y., Tsujino, H., and Uno, T. "Equal contribution" 薬物代謝酵素であるシトクロムP450に対して電子を供給する還元酵素の機能発現機構に関して、膜貫通領域を切除した変異体を調製して影響を精査し、薬物の性質によって反応サイクルの経路に違いがあることを提唱した (表紙論文として採用)
12. Dynamics of the heme-binding bacterial gas sensing dissimilative nitrate respiration regulator (DNR) and activation barriers for ligand binding and escape	共	2014年7月18日	J. Biol. Chem., 289 (38), 26514-26524 (2014)	Lobato, L., Bouzahir-Sima, L., Yamashita, T., Wilson, M. T., Vos, M. H., and Liebl, U. 新規ガスセンサータンパク質であるDNRに関して、CoOとの比較により、その機能発現に関わるヘムへのガス結合性を、時間分解スペクトルを用いて同定した。
13. Ferric human neuroglobin scavenges superoxide to form oxy adduct	共	2014年6月3日	Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 62 (6), 613-615 (2014)	Yamashita, T., Hafsi, L., Masuda, E., Tsujino, H., and Uno, T. "First author" ヘモグロビンと同じグロビタンパク質の1つであるNgbの機能について、活性酸素消去など、新規の知見を得たため、生体内でのモデル提唱を含め、報告した。
14. Disulfide bonds regulate binding of exogenous ligand to human cytoglobin	共	2014年3月19日	J. Inorg. Biochem., 135, 20-27 (2014)	Tsujino, H., Yamashita, T., Nose, A., Kukino, K., Sawai, H., Shiro, Y., and Uno, T. "Equal contribution & Corresponding author" Cgbが機能を発現する際に、分子内のジスルフィド結合の有無が重要であることを同定し、シミュレーション

研究業績等に関する事項

著書、学術論文等の名称	単著・ 共著書別	発行又は 発表の年月	発行所、発表雑誌等 又は学会等の名称	概要
3 学術論文				
15. Effect of cytochrome P450 2C19 and 2C9 amino acid residues 72 and 241 on metabolism of tri cyclic antidepressant drugs	共	2014年2月5日	Chem Pharm Bull (Tokyo)., 62(2), 176-181 (2014)	ヨンなどと合わせて、その構造的な知見に関して報告した。 Attia, T. Z., Yamashita, T., et al. "Equal contribution & Corresponding author" 酸性の薬物と塩基性の薬物をそれぞれ主に代謝するCYP2C9と2C19に着目し、91%の相同性の中でも異なる重要な残基に変異を導入することで、固有の薬物の認識に関わるアミノ酸を同定するに至った(表紙論文として採用)。
16. Development of an anti-claudin-3 and -4 bispecific monoclonal antibody for cancer diagnosis and therapy	共	2014年10月	J. Pharmacol. Exp. Ther., 351(1), 206-213 (2014)	Li, X., Iida, M., Tada, M., Watari, A., Kawahigashi, Y., Kimura, Y., Yamashita, T., et al. 癌細胞において高発現であるclaudin3およびclaudin4に着目し、それらのモノクローナル抗体を作製することで、治療に有効となる抗体を検討した。
17. Crystallization and preliminary X-ray analysis of human MTH1 with a homogeneous N-terminus	共	2013年1月9日	Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun., 69(Pt 1), 45-48 (2013)	Koga, Y., Inazato, M., Nakamura, T., Hashikawa, C., Chirifu, M., Michi, A., Yamashita, T., et al. DNAの修復酵素であるMutTと相同性の高いヒトMTH1について、結晶構造解析につながる条件を検討し、その結晶化に成功した。
18. Comparison of cytochrome p450 mediated metabolism of three central nervous system acting drugs	共	2012年9月29日	Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)., 60(12), 1544-1549 (2012)	Attia, T. Z., Yamashita, T., et al. "Equal contribution & Corresponding author" 中枢神経系に関わる薬物を主な対象として、その代謝に関わるCYPの分子種を検討した結果、薬物の構造上の相違に応じて、分子種ごとの貢献度が異なることを明らかにした。
19. Correlations between ligand binding properties and redox states of haem and disulphide bond in neuroglobin	共	2010年12月	AIP Conference Proceedings, 1267, 879-880 (2010)	Hafsi, L., Tsujino, H., Yamashita, T., Aoyama, H., and Uno, T. 脳や網膜に主に発現しているNgbについて、ヘム鉄の酸化還元および分子内ジスルフィド結合の形成に有無によって、外来性配位子の結合性に影響があること、またその相関関係について明らかにした。
20. Hydrophobic residues regulate distal histidine coordinations in human Cgb and Ngb	共	2010年12月	AIP Conference Proceedings, 1267, 877-878 (2010)	Tsujino, H., Yamashita, T., Hafsi, L., Nose, A., Kukino, K., Kawada, N., Yoshizato, K., Shiro, Y., Aoyama, H., and Uno, T. 機能がよく分かっていないヒトCygbとNgbについて、ガス分子によって置換される遠位側の軸配位子ヒスチジンの制御に関わる疎水性のアミノ酸残基とその役割について、両タンパク質を比較して議論した。
21. Heme Ligand Binding Properties and Intradimer Interactions in the Full-length Sensor Protein Dcs from Escherichia coli and Its Isolated Heme Domain	共	2009年12月	J. Biol. Chem., 284(52), 36146-36159 (2009)	Lechauve, C., Bouzahir-Sima, L., Yamashita, T., Marden, M. C., Vos, M. H., Lieb, U., and Kiger, L. 先に報告した論文(T. Yamashita, et al., JBC, 2008)において、酵素ドメインを欠損させた機能発現機構を同定していたため、さらに酵素ドメインも含めて検討を行い、機能発現に関わるドメインとの相互作用に関して明らかとした。
22. Drug binding and metabolizing properties of human CYP2D6.	共	2009年10月	J. Biol. Inorg. Chem., 14, S195 (2009)	Uno, T., Uemura, S., Yanagita, S., Yamashita, T., and Aoyama, H. ヒト薬物代謝酵素であるシトクロムP450について、その主要な分子種の1つである2D6に着目し、大腸菌を用いた大量発現系を構築し、精製によって獲得した2D6について、薬物の結合性と代謝活性をin vitroで評価した。
23. Ligand dynamics and early signaling events in the heme domain of the sensor protein Dcs from Escherichia coli	共	2008年1月	J. Biol. Chem., 283(4), 2344-2352, (2008)	Yamashita, T., Bouzahir-Sima, L., Lambry, J. C., Liebl, U., and Vos, M. H. "First author" ヘム含有酸素センサータンパク質であるDcsに着目し、時間分解測定によって、ピコ秒レベルでのヘム周辺構造の変化を追跡した。その結果、酸素の解離に伴う再結合時において、早い段階(7 ps)と遅い段階(35 ps)の2つの構造を有することを明らかとし、さらに分子動力的シミュレーションによって、酸素結合に伴う酵素としての機能発現に繋がる構造変化の一端を明らかにした。
24. Subpicosecond oxygen trapping in the heme pocket of the oxygen sensor FixL observed by time-resolved resonance Raman spectroscopy.	共	2007年5月	Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 104(18), 7408-13 (2007)	Kruglik, S. G., Jasaitis, A., Hola, K., Yamashita, T., Liebl, U., Martin, J. L., and Vos, M. H. 酸素感知酵素であるFixLについて、酸素の結合における構造変化について、時間分解測定を用いた解析によって、ヘム周辺環境での構造変化とそれに伴う酵素機能の発現へ繋がるメカニズムについて新たな知見を得た。
25. Roles of heme axial ligands in the regulation of CO binding to CooA.	共	2004年5月	J. Biol. Chem., 279(20), 21394-400 (2004)	Yamashita, T., Hoashi, Y., Watanabe, K., Tomisugi, Y., Ishikawa, Y., and Uno, T. "First author" ガス感知転写因子CooAについて、ガスの結合に伴っ

研究業績等に関する事項

著書、学術論文等の名称	単著・共著書別	発行又は発表の年月	発行所、発表雑誌等又は学会等の名称	概要
3 学術論文				
26. The C-helix in CooA rolls upon CO binding to ferrous heme.	共	2004年11月	J. Biol. Chem., 279 (45), 47320-5 (2004)	て置換される軸配位子に着目し、変異を導入して一酸化炭素の結合親和性の変化および結合に伴う構造変化を吸収および共鳴ラマンスペクトルで追跡することで、転写活性化機構において重要な軸配位子の置換に関する知見を得た。 Yamashita, T., Hoashi, Y., Tomisugi, Y., Ishikawa, Y., and Uno, T. "First author" ガス感知転写因子CooAの一酸化炭素結合に伴う転写活性化機構について、二量体界面に存在するC-helixに着目し、網羅的に変異を導入し、それに伴う一酸化炭素の結合親和性および結合時における一酸化炭素の周辺環境の構造変化を共鳴ラマンスペクトルによって解析することで、活性化機構に関するスライド機構を提唱した。
その他				
1. 学会ゲストスピーカー				
1. ナノ粒子を用いたCYP薬物代謝の新規ハイスループット評価系～医薬品開発の効率化及び適正使用に向けて～	単	2017年4月21日	第6回関西バイオ創薬研究会	関西バイオ創薬研究会において、ゲストスピーカーとして、CYPによる薬物代謝の新規評価系へと繋がる基礎研究の進捗状況について、医薬品開発におけるメリットなども含め、発表を行った。
2. 学会発表				
1. Contribution of oppositely charged residues to the drug metabolism of cytochrome P450 2C9 and 2C19	共	2014年3月28日	日本薬学会134年会（熊本）	2014年にCorrespondingとして発表した論文の内容に伴い、CYP2C9と2C19の2つの分子種に相互に類似するような変異を導入して、薬物の結合性や代謝活性を評価し、さらにドッキングシミュレーションを実施して得られた知見を、ポスターにて発表した。
2. Comparison of Cytochrome P450 Mediated Metabolism of Three CNS Acting Drugs	共	2012年12月3日	50th Anniversary Symposium on Cytochrome P450 in Fukuoka	2012年にCorrespondingとして発表した論文の内容に伴い、CYPの分子種による中枢神経系に作用する薬物への貢献度を検討し、さらにそのうちの1つであるamitriptylineに関して、ドッキングシミュレーションを実施、得られた知見をポスターにて発表した。
3. 酸素センサータンパク質Dosのガス結合前後の配位構造変化と酸素活性化機構の関係	共	2010年3月28日	日本薬学会130年会（岡山）	2008年と2009年にJBCにて発表した酸素センサータンパク質Dosに関する論文について、ガスが結合した前後での酵素ドメインにおける構造変化に関する知見を時間分解測定によって得ることに成功したため、口頭発表を行った。
4. 酸素感知タンパク質Dosにおける固有の「ヘム-軸配位子-残基」相互作用	共	2009年5月22日	第9回日本蛋白質科学会年会（熊本）	酸素センサータンパク質であるDosについて、時間分解スペクトルと吸収スペクトル、さらに分子動力学的シミュレーションを行い、ヘムと軸配位子、残基との間の相互作用に関して得られた知見をポスターにて発表した。
5. ピコ秒レベルでの構造変化にみる酸素センサータンパク質におけるアミノ酸の配向性	共	2009年10月24日	第59回日本薬学会近畿支部大会（東大阪）	酸素センサータンパク質であるFixLとDosについて、2007年にPNASで報告したFixLの時間分解測定の結果と、2008年にJBCで報告したDosの結果を基に、酸素センサータンパク質のヘム鉄への軸配位子であるアミノ酸の役割について得られた知見を口頭発表した（日本薬学会近畿支部奨励賞を受賞）
3. 総説				
1. Recent Studies on Gas Sensors, CooA, FixL, and Dos	単	2010年9月1日	YAKUGAKU ZASSHI 130 (9) 1181-1187 (2010)	2010年1月の日本薬学会近畿支部大会での奨励賞の受賞を記念し、ガスセンサータンパク質に関して、これまでに得られた研究の成果をまとめて総説とした。
2. ガスセンサータンパク質の機能発現機構 -CooAにおける転写活性化機構の解明-	単	2005年3月	生物物理, 45 (3), 149-152 (2005)	ヘムを含有するガスセンサータンパク質であるCooAについて、2004年にJ. Biol. Chem.にて発表した二報の内容をまとめ、最終的に転写因子としての機能発現機構について解明した内容を報告した。
4. 芸術（建築模型等含む）・スポーツ分野の業績				
5. 報告発表・翻訳・編集・座談会・討論・発表等				
1. Correlations between ligand binding properties and redox states of haem and disulphide bond in neuroglobin.	共	2010年12月	AIP Conference Proceedings, 1267, 879-880 (2010)	Hafsi, L., Tsujino, H., Yamashita, T., Aoyama, H., and Uno, T.
2. Hydrophobic residues regulate distal histidine coordinations in human Cgb and Ngb.	共	2010年12月	AIP Conference Proceedings, 1267, 877-878 (2010)	Tsujino, H., Yamashita, T., et al.
3. Drug binding and metabolizing properties of human CYP2D6.	共	2009年	J. Biol. Inorg. Chem., 14, S195 (2009)	Uno, T., Uemura, S., Yanagita, S., Yamashita, T., and Aoyama, H.
6. 研究費の取得状況				
1. 確率可制御性縮約による機械学習援用制御手法の可解釈性獲得		2018年4月	科研費（基盤B：分担）	大阪大学・基礎工学研究科（現職・京都大学）の加嶋准教授と共同研究を行い、薬物代謝酵素における基質となる薬物と代謝物との相互作用など主な例と

研究業績等に関する事項

著書、学術論文等の名称	単著・共著書別	発行又は発表の年月	発行所、発表雑誌等又は学会等の名称	概要
6. 研究費の取得状況				
2. 新規標的タンパク質の構造解析に基づく新たな抗結核薬の創製	共	2015年4月	科研費（基盤C：代表）	し、その機構について計算科学的アプローチを用いて、確率によって検証する 結核菌に対して新規化合物が作用する際の標的タンパク質として同定されたものに対して、X線結晶構造解析法を用いて、標的タンパク質の立体構造を明らかにし、そこから、さらなる抗結核薬の創製を目的とする
3. 確率ゆらぎと相互作用し機能する制御系の設計論：不変測度解析と応用	共	2014年4月	科研費（基盤B：分担）	大阪大学・基礎工学研究科（現職・京都大学）の加嶋准教授と共同研究を行い、薬物代謝酵素における基質となる薬物と代謝物との相互作用などを、計算科学を用いて確率によって検討する
4. 薬物代謝活性の発現機構の詳細説明	単	2012年6月7日	第一三共生命科学振興財団 海外共同研究支援助成	フランスのDr. Vosらのグループとの共同研究を行い、CYPの分子種のいくつかを選択して薬物の結合性などを、新規の分光学的手法を用いて検討を行った。
5. 静的および動的アプローチによる薬物代謝酵素の代謝活性メカニズム	単	2011年5月16日	科研費（若手B：代表）	薬物代謝酵素のCYPに関して、薬物の結合親和性や吸収スペクトルの変化などを追跡する『静的』な検討と、分子動力的シミュレーションや時間分解測定を行う『動的』な検討を行い、今日まで得られていないCYPの活性部位近傍での代謝物の動向などの追跡を試みた。
6. 最小単位分子ガスによって制御される転写機構の解明	単	2009年3月16日	ノバルティス科学振興財団研究奨励金	一酸化炭素センサー転写因子であるCooAを研究対象とし、一酸化炭素の結合に伴う構造変化などを、ヘム鉄の軸配位子の変異体を用いて検証した。

学会及び社会における活動等

年月日	事項