

平成 21 年 5 月 19 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18406003

研究課題名（和文） 南カリフォルニアでの生体内高分子と共有結合する大気中ナフタレン類

研究課題名（英文） Naphthalens that covalently bind to macromolecules contaminated in the atmosphere in southern California

研究代表者

熊谷 嘉人（KUMAGAI YOSHITO）

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授

研究者番号：00250100

研究成果の概要：

本研究では大気汚染地域として知られている南カリフォルニア・リバーサイドで採取した大気中揮発性成分およびディーゼル排気曝露動物を用いて、タンパク質と共有結合する 1,2-ナフトキノンのような親電子性物質を認識する抗体の作成、本抗体の特異性、大気中揮発性成分に存在する親電子性物質とその分子標的について検討した。その結果、当該大気サンプル中には、1,2-ナフトキノンは異なる親電子性物質（群）が複数存在し、それらは細胞内レドックスセンサーである PTP1B に共有結合することで本酵素活性を低下させることが示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2006年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2007年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2008年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
年度			
年度			
総 計	13,300,000	3,990,000	17,290,000

研究分野：環境毒性学

科研費の分科・細目：医歯薬学 A・環境系薬学

キーワード：親電子性物質、キノン系化合物、共有結合

1. 研究開始当初の背景

ロサンゼルスはカリフォルニア州最大、全米では第二の大都市である。広域に分散したコミュニティ間を通勤する手段としてロサンゼルスには 14 車線にもなるフリーウェイをはじめとする、非常に効率的な道路が建設されている。しかし、多地区からの人口移動やそれに伴う自動車数の急激な増加は大気汚染問題を深刻化している。ロサンゼルススモッグは、巨大都市間圏を通行する自動車の排気ガスが太平洋の湿った空気と結合して生じる汚れた灰色の霧のことであるが、これは

“Los Angels basin” と呼ばれるように、周囲を産地で遮られて大気が吹き払われにくいという地形が原因となるとされている。当研究室では、アメリカ環境保護局（EPA）の支援団体である Southern California Particle center との共同研究により、南カリフォルニア地区リバーサイドで採取した大気微小粒子成分中から 1,2-ナフトキノ（1,2-NQ）の存在を明らかにした（Cho et al. 2004）。これまでの結果より、1,2-NQ はタンパク質に直接作用し、機能を変化させることが明らかとなった。よって、1,2-NQ のような

親電子物質が大気汚染物質として存在するならば、タンパク質と不可逆的に結合してタンパク質の機能障害を引き起こし、生体に悪影響を及ぼすことが考えられる。これまでの研究より、大気中ガス状成分にはナフタレン類が多量に存在することが示唆されている。

ディーゼル排気に含まれる揮発性成分の主要物質としてナフタレンが知られている。我々は、ナフタレン代謝物の1つである1,2-NQが血管弛緩の抑制(Sun et al. Arch Toxicol 2006)、気管の収縮(Kikuno et al. Toxicol Appl Pharmacol 2006)、肺の炎症増悪作用(Inoue et al. Eur Respir J 2007; Inoue et al. Arch Toxicol 2007)を示すことを明らかにした。また、1,2-NQはナフタレンの光酸化等を介してディーゼル排出微粒子やPM2.5中に存在することも示した(Cho et al. Aerosol Sci Technol 2004)。1,2-NQは、組織中のタンパク質のシステイン残基と共有結合する性質を有することから、ディーゼル排気に曝露された動物の組織中に1,2-NQが共有結合していることが予想される。1,2-NQの標的となるシステイン残基は、レドックスセンサーや酵素タンパク質の活性に重要な役割を演じている可能性もあることから、1,2-NQと生体内タンパク質との共有結合を明らかにすることは、1,2-NQの有害作用の手掛かりに繋がる。また、1,2-NQを認識する抗体は、1,2-NQ以外の大気中親電子性物質の検出に対して有効なツールとなることが考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、南カリフォルニアでの大気中に存在し、生体内高分子と容易に共有結合する1,2-NQおよび関連化合物の実態を明らかにすることを目的とし、1) ロサンゼルス地区リバーサイドでの大気中サンプルの採取、2) 大気中多環芳香族炭化水素類の検出および1,2-NQを認識する抗体の特異性、3) ディーゼル排気(DE)に長期間曝露されたラット及びマウスの組織中から、システイン残基との共有結合を介して残留する1,2-NQ様親電子性物質の存在、4) 大気中揮発相サンプルのPTP1B活性阻害とそれに伴うシグナル伝達について検討を行った。

3. 研究の方法

大気中揮発相の採集、抽出及び分析

南カリフォルニア地区リバーサイドにて、大気中揮発相のサンプリングを、Tisch 2-channel PUF samplerを用いて行った。XAD-1、XAD-2樹脂で大気サンプルを採集した。XAD-1及びXAD-2を100 mLのジクロロメタン(DCM):acetonitrile (9:1)中でソニケー

ションを行った。抽出物を0.45 µmのミリポアフィルターで濾過した。溶液を1 mL以下になるまで窒素下で蒸発させた。2 mLのDMSOを加え、さらにDCMとacetonitrileを完全に蒸発させた。得られた揮発相サンプルの成分分析を行い、含まれるPAH及びキノン化合物の同定を行った。

動物

日本クレア社から購入した雄性ICRマウス(150-160 g, 6-7週齢)及びC57BL/6Jマウス(18-21 g, 6-7週齢)は、室温23±1℃、湿度55±5%、明期14時間、暗期10時間に管理された室内で飼育した。動物はウッドチップを敷いたケース内で固形飼料と無菌飲水を自由に摂取させた。実験には3日間以上順化したものを使用した。

ディーゼル排気(DE)長期間曝露した動物の肺及び肝臓のサンプル調製

以降の操作は全て4℃条件下で行なった。DE曝露に関する条件は表2に示した。DE曝露した動物の肺及び肝臓の重量測定後、適量のホモジナイズ緩衝液[0.25 M スクロース, 5 mM トリス-HCl (pH 7.5), 0.1 mM EDTA, 1% プロテアーゼインヒビターカクテル]中で、ハサミを用いて細切した。その後、テフロンホモジナイザーを用いて4倍量のホモジナイズ緩衝液中でホモジナイズした。ホモジナイズ液を遠心分離(1,000 x g, 10 min)して上清を得た。得られた1,000 x g上清は、解析まで-80℃で保存した。

PTP1B 活性

PTP1Bの活性測定は2段階の反応で行った。初めに、PTP1Bと各阻害剤を反応させた。反応液(200 µL)は、PTP1B(100 µg)、50 mM KPi pH 7.5(ジチゾン処理済み)、阻害剤(対照サンプルにはDMSO)からなり、阻害剤を加えることで反応を開始した。反応は25℃で行った。その後、反応溶液Aの一部(1 µL)に100 mM sodium acetate (acetate)-0.1 mM EDTA (pH 5.5)を加え、基質として4 mM p-nitrophenyl phosphate (pNPP)(対照サンプルにはH₂O)を添加した。反応は10分間、25℃で行った。反応終了後、反応溶液Bの一部(200 µL)を1M NaOH(1.8 mL)に加え反応を停止させ、波長400 nmにおける吸光度を測定した。

ビオチン-PEAC5-マレイミドラベル法

解離しているSH基のビオチンラベルは、システイン残基の親電子性物質への感受性を評価する方法である。90 µM biotin-PEAC5-maleimide (BPM)になるようにDMSOで希釈したものをストック液とする。精製タンパク質PTP1B(0.5 µg)にDMSOと大

気中揮発相 (VP) サンプルを 20 mM Tris-HCl (pH 8.5) 中で 60 分間、25°C で反応させた後、5 μ M BPM を加え 30 分間、25°C で反応させた。このサンプルを SDS バッファーで変性し、WB 分析を行った。ビオチン標識 SH 基は 1/5000 (v/v) に希釈した HRP-streptavidin を反応させ、Chemi-Luminescence を用いて検出した。

マトリックス支援レーザー脱離イオン化 飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF MS)

MS 測定を行うサンプルを Zip Tip μ C18 (Millipore Corp.) で脱塩・濃縮を行った。Zip Tip μ C18 の樹脂を 100% acetonitrile 中で 1 回ピペッティングし、50% acetonitrile-0.1% trifluoroacetic acid (TFA) 中でさらに 1 回ピペッティングして活性化した後、0.1% TFA 中で 7 回ピペッティングすることで平衡化を行った。サンプル溶液中で 50 回程度ピペッティングを繰り返してタンパク質を濃縮し、0.1% TFA 中で 7 回ピペッティングを行うことでサンプル中の脱塩を行った。80% acetonitrile-0.1% TFA (0.7 μ L) でタンパク質を溶出し、マトリックス synapinic acid (10 mg/mL) を等量混合し、MALDI-TOF MS 解析用サンプルとした。解析は AXIMA-TOF2 (島津製作所) を使い、ポジティブイオンをリニアモードで検出した。

タンパク質溶液のトリプシン消化は、タンパク質の質量に対して Trx の場合は 1/10 量、PTP1B の場合は 1/50 量のトリプシン (in 20 mM Tris-HCl (pH 8)) を反応させ、8~12 時間、37°C で反応させた。トリプシン消化後のサンプルを 100 μ M DTT で還元反応し、0.1% TFA で反応を停止した。トリプシン消化ペプチドの脱塩は Zip Tip μ C18 を用いる方法、またはプレート上の乾燥させたマトリックス混合サンプルに対して 0.1% TFA を用いる方法で行った。ペプチド溶液とマトリックス α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (5 mg/mL) (in 50% acetonitrile-0.1% TFA) を等量混合し、MALDI-TOF MS 解析用サンプルとした。解析は AXIMA-TOF2 を使い、ポジティブイオンをリフレクトロンモードで検出した。質量校正は、Angiotensin II (1046.54 Da)、Angiotensin I (1296.69 Da)、Glul-Fibrinopeptide B (1570.68 Da)、N-acetyl-renin substrate (1800.94 Da)、ACTH fragment 1-17 (2093.09 Da) 及び、ACTH fragment 18-39 (2465.20 Da) を用いて行った。AXIMA-TOF2 で分析したマススペクトルの分子量を用いて、Peptide Mass Fingerprint (PMF) 解析を行った。

4. 研究成果

抗 1,2-NQ 抗体の抗原特異性の検討

多環芳香族炭化水素類 (100 μ M) を 3-メチルコラントレン (3-MC) 前処理した ICR マウスの肝臓酵素溶液と反応させた後、ドットブロット法及びウェスタンブロット法により解析した。cofactor 非存在下で、抗 1,2-NQ 抗体は 1,2-NQ 及び 1,2-NQ-4-sulfonate を反応させた酵素溶液との結合を認識した。さらに、抗 1,2-NQ 抗体に対してナフトキノン化合物を 2 段階反応させたところ、1 段階目に 1,2-NQ または 1,2-NQ-4-sulfonate を反応させた抗体では、2 段階目で 1,2-NQ 結合タンパク質の検出が著しく減少した。一方、1,4-NQ と反応させた抗体は、DMSO と反応させたものと同様であった。これらの結果から、抗 1,2-NQ 抗体は、1,2-NQ を極めて特異的に認識することが示された。次に、3-MC 前処理した ICR マウスの肝臓酵素溶液と cofactor 存在下でナフタレン (100 μ M) を反応させたところ、抗 1,2-NQ 抗体によりナフタレン由来の 1,2-NQ と結合したタンパク質が検出された。また、cofactor 存在下では、さらにナフタレン中間代謝物である 1,2-ジヒドロキシナフタレンから 1,2-NQ が生成されることが示された。一方、もう 1 つのナフタレン中間代謝物である 1-ナフトールでは 1,2-NQ の生成は検出できなかった。加えて、抗 1,2-NQ 抗体は、その他の多環芳香族炭化水素類 (たとえば、ベンゼン、フェナントレン、アントラセン、ピレン等) 及びその代謝物を認識しなかった。以上の結果は、ドットブロット法及びウェスタンブロット法において同様であった。

DE 曝露動物の肺及び肝臓組織内タンパク質と 1,2-NQ との共有結合の検出

老齢期 DE 曝露ラットにおいて、22 ヶ月齢の雄性 WKY ラットに DE を 1 週間曝露した肺の 1,000 x g 上清をドットブロットし、抗 1,2-NQ 抗体と反応させたところ、1,2-NQ との共有結合は検出されなかった。一方、胎仔期・新生仔期 DE 曝露ラットにおいて、交配 5 日目から親ラットに DE 曝露を行い、出産後、さらに 3 週間 DE 曝露した雌性 F344 ラットの肺及び肝臓の 1,000 x g 上清をドットブロットし、抗 1,2-NQ 抗体と反応させたところ、1,2-NQ との共有結合は検出されなかった。また、交配 5 日目から親ラットに DE 曝露を行い、出産後、さらに 12 週間 DE 曝露した雄性 F344 ラットの肺及び肝臓の 1,000 x g 上清をドットブロット又はウェスタンブロットし、抗 1,2-NQ 抗体と反応させたところ、1,2-NQ との共有結合は検出されなかった。さらに胎仔期・新生仔期 DE 曝露マウスにおいて、交配 5 日目から親ラットに DE 曝露を行い、出産後、さらに 12 週間 DE 曝露した雄性 ICR マウスの肺及び肝臓の 1,000 x g 上清をウェスタンブロットし、抗 1,2-NQ 抗体と反

応させたところ、1,2-NQ との共有結合は検出されなかった。

大気中揮発相サンプルに存在する多環芳香族炭化水素類とそのキノン体

ロサンゼルス盆地における大気中揮発相のサンプリングを、Tisch 2-channel PUF samplerを用いて行った。得られたサンプルに対して、多環芳香族炭化水素類及びキノン化合物についてそれぞれの含量を定量した結果、ナフタレンが 92.7 ng/m³、アセナフタレンが 2.33 ng/m³、フルオレンが 6.09 ng/m³、フェナントレンが 6.67 ng/m³、アントラセンが 0.62 ng/m³、ピレンが 1.29 ng/m³、ベンゾアントラセンが 0.66 ng/m³、およびクリセンが 0.03 ng/m³あった。一方、キノン化合物は多環芳香族炭化水素類に比べて含量は少ないが、1,2-NQ (0.549 ng/m³)、1,4-NQ (0.255 ng/m³)、9,10-PQ (0.532 ng/m³)、および 9,10-AQ (0.324 ng/m³) が含まれていた。

大気中揮発相サンプルの PTP1B 活性阻害

ロサンゼルス盆地で、04/16/07 から 6 日間採取した RIV041607-XAD1, -XAD-2 (VP1)、04/25/07 から 6 日間採取した RIV042507-XAD-1, -XAD-2 (VP2)、05/07/07 から 6 日間採取した RIV050707-XAD-1, -XAD-2 (VP3) サンプルの大気中揮発相サンプル (VPs) による PTP1B の活性阻害について検討を行った。その結果、PTP1B (0.05 mg/ml) に VP1、VP2、VP3 を濃度依存的に反応させ、活性測定を行った結果、濃度依存的な活性阻害が見られた。それぞれの IC₅₀ は VP1 で 0.93 m³/mL、VP2 で 0.97 m³/mL、VP3 で 0.70 m³/mL であった。

1,2-NQ は PTP1B の Cys121 への結合を介して本酵素活性を阻害したことから、VPs による PTP1B の活性阻害における Cys121 の関与について検討を行った。その結果、VPs による C121S に対する PTP1B の活性阻害は、wild-type の PTP1B に対する活性阻害と同様の阻害効果を示した。よって、Cys121 は VPs の主要な結合部位でないことが示唆された。

以上の結果より、VPs は PTP1B の活性を阻害し、その阻害効果は 3 種類の VPs で同程度であった。さらに、VPs による PTP1B の活性阻害機構は、共有結合依存的な不可逆的な阻害に加え、PTP1B の活性部位 Cys215 のスルホニル化 (-SO₃H) ではない酸化修飾も一部関与していることが示唆された。

大気中揮発相サンプルの PTP1B への結合

VPs による PTP1B の活性阻害が共有結合に起因することが示唆されたため、VPs の PTP1B への結合を、SH 基とマレイミドの反応を利用したビオチン-PEAC₅-マレイミドラベル法及び、MALDI-TOF MS による質量分析により検討

した。

VPs を処理した PTP1B にビオチン-PEAC₅-マレイミドを反応させ、結合修飾を受けていない SH 基を検出した結果、VP1、VP2、VP3 のいずれのサンプルにおいても濃度依存的に PTP1B への結合が増加した。さらに、MALDI-TOF MS で VPs を処理した PTP1B と未処理の PTP1B の分子量を測定した結果、VPs を処理した PTP1B において、VP1; Δ172.93、VP2; Δ39.56、VP3; Δ137.78 の分子量の増加が検出された。

以上の結果より、大気中揮発相に含まれる成分中に、PTP1B に共有結合するような親電子物質が含まれることが示唆された。

大気中揮発相サンプルによる EGFR シグナル伝達経路活性化

VPs による PTP1B の活性阻害が EGFR を介したシグナル伝達経路に与える影響を検討するため、A549 細胞に VPs を暴露し、EGFR のシグナル伝達経路活性化について検討を行った。その結果、VP1、VP2、VP3 を 3 時間及び 6 時間 A549 細胞に暴露したサンプルにおいて、EGFR のリン酸化及び ERK1/2 のリン酸化が検出された。

以上の結果より、VPs の EGFR シグナル伝達経路の持続的な活性化が明らかとなった。

考察

DE 曝露動物の肺及び肝臓組織内タンパク質と 1,2-NQ との共有結合の検討

ナフタレンを多く含む DE に長期間曝露された動物の組織中では、タンパク質中のシステイン残基との共有結合を介して、その代謝物である 1,2-NQ が残留していることが予想された。しかしながら、DE 曝露した動物の肺及び肝臓組織中から 1,2-NQ を検出することはできなかった。一方、マウス初代肝細胞やヒト肺上皮細胞由来 A549 細胞を用いた検討により、細胞内タンパク質と共有結合した 1,2-NQ は時間依存的にその共有結合量が減少していくことが明らかとなった。したがって、DE 曝露した動物の組織内においても 1,2-NQ との共有結合が、時間と共に減少したため、そのような結合が検出できなかったのかもしれない。

大気中揮発相サンプルによる PTP1B の活性阻害とそれに伴うシグナル伝達

大気中揮発相サンプル (VP1、VP2、VP3) は濃度依存的に PTP1B 活性を阻害した。VP1、VP2、VP3 はそれぞれ異なる時期に採取したサンプルであるが、すべてのサンプルで同様の阻害効果を示した。さらに、大気中揮発相成分中にタンパク質の SH 基と結合する親電子物質が存在することが、MALDI-TOF MS 解析及

び、ビオチン標識マレイミドラベル法で明らかとなった。揮発相サンプル間で PTP1B への親電子物質の結合量に差が見られたが、これは大気中の PAH などが産業排気ガスや交通量、温度などに左右されるため、それぞれのサンプル間で揮発相中の成分含有量に違いがあるためと考えられる。大気中揮発相成分の親電子物質が PTP1B の活性を阻害することを想定し、大気中揮発相サンプルによって失活した PTP1B の活性に対する、DTT の効果を検討した結果、PTP1B の活性が一部回復した。また、大気中揮発相サンプルによる PTP1B の活性阻害は C121S 変異体で抑制されなかったことから、大気中揮発相成分の親電子物質による活性阻害が、1,2-NQ のように Cys121 を介した共有結合に依存しないことが明らかとなった。よって、大気中揮発相サンプルによる PTP1B の活性阻害機構は、揮発相成分中の親電子物質による活性部位 (Cys215) への共有結合に起因すると考えられる。大気中揮発相成分中に含まれる親電子物質の分子量を詳細に知るために、システインを含むペプチドと大気中揮発相サンプルを反応させ、MALDI-TOF MS で質量分析を行った結果、84、122、189 及び 360 Da の質量増加が検出された。よってこれらの分子量を持つ物質が PTP1B の活性阻害を引き起こす親電子物質である可能性がある。以上の知見より、大気中揮発相成分中には PTP1B の Cys215 に結合し、本酵素活性を阻害するような性質を有する、1,2-NQ 以外の低分子の親電子物質が存在することが示唆された。

シグナル伝達経路を負に制御している PTP1B の活性阻害が明らかとなったため、大気中揮発相サンプルによるシグナル伝達経路の活性化について検討した。その結果、大気中揮発相サンプルは EGFR 及び ERK1/2 の持続的なリン酸化を引き起こした。以上の知見より、大気中揮発相サンプル中に、PTP1B の活性を阻害し、EGFR を介したシグナル伝達経路活性化を引き起こす化合物の存在が明らかとなり、それが親電子性を有することが示唆された。

大気中粒子状物質が EGFR のリン酸化を引き起こすことが報告されている (Wu, Samet et al. 2001; Pourazar, Blomberg et al. 2008)。さらに、粒子状物質に含まれている金属 (Zn^{2+}) によって、リガンド非依存的に EGFR がリン酸化されることが明らかとなっている。この Zn^{2+} による EGFR のリン酸化は、c-Src キナーゼ及び、マトリックスメタロプロテアーゼの活性化を介した分泌型リガンド (HB-EGF) 依存的なトランス活性化に起因する (Wu, Graves et al. 2002; Samet, Dewar et al. 2003)。大気中揮発相成分に含まれる親電子物質が、PTP1B の活性を阻害したため、EGFR のリン酸化が PTP1B の不活化に

起因すると予想されるが、c-Src キナーゼ及び、マトリックスメタロプロテアーゼの活性化が関与している可能性も考えられる。

喘息や慢性呼吸器疾患において、EGFR のシグナル伝達経路と炎症や上皮の再生、気管のリモデリングとの関連性が注目を浴びている (Nadel and Burge 2001; Bonner 2002)。さらに、EGFR シグナル伝達経路による有糸分裂誘発、アポトーシス、遊走、分化、増殖などは、喘息を含むさまざまな状況において重要な役割を担っている (Boxall, Holgate et al. 2006)。よって、大気中揮発相成分に対する EGFR シグナル伝達経路の活性化という生体応答は、喘息や慢性呼吸器疾患に影響すると考えられる。これらの知見より、大気汚染物質と呼吸器疾患との関連性が示唆された。今後、このような生理活性を示した成分を大気中揮発相から同定することができれば、大気中に存在する親電子物質による生体応答という新規の知見となり、大気汚染による生体影響への有益な情報となる。

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 6 件)

- ① Taguchi K, Shimada M, Fujii S, Sumi D, Pan XQ, Yamano S, Nishiyama T, Hiratsuka A, Yamamoto M, Cho AK, Froines JR, Kumagai Y. Redox cycling of 9,10-phenanthraquinone to cause oxidative stress is terminated through its monoglucuronide conjugation in human pulmonary epithelial A549 cells. *Free Radical Biology & Medicine* 2008; 44: 1645-1655. 査読有り.
- ② Shinyashiki M, Rodriguez CE, Di Stefano EW, Sioutas C, Delfino RJ, Kumagai Y, Froines JR, Cho AK. On the interaction between glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and airborne particles: Evidence for electrophilic species. *Atmospheric Environment*; 2008; 42: 517-529. 査読有り.
- ③ Iwamoto N, Sumi D, Ishii T, Uchida K, Cho AK, Froines JR, Kumagai Y. Chemical knockdown of protein tyrosine phosphatase 1B by 1,2-naphthoquinone through covalent modification causes persistent transactivation of epidermal growth factor receptor. *Journal of Biological Chemistry* 2007; 282: 33396-33404. 査読有り.

- ④ Taguchi K, Fujii S, Yamano S, Cho AK, Kamisuki S, Nakai Y, Sugawara F, Froines JR, Kumagai Y. An approach to evaluate two-electron reduction of 9,10-phenanthraquinone and redox activity of the hydroquinone associated with oxidative stress. Free Radical Biology & Medicine 2007; 43: 789-799. 査読有り.
- ⑤ Inoue KI, Takano H, Ichinose T, Tomura S, Yanagisawa R, Sakurai M, Sumi D, Hiyoshi K, Kumagai Y. Effects of naphthoquinone on airway responsiveness in the presence or absence of antigen in mice. Archives of Toxicology 2007; 81: 575-581. 査読有り.
- ⑥ Inoue KI, Takano H, Hiyoshi K, Ichinose T, Sadakane K, Yanagisawa R, Tomura S, Kumagai Y. Naphthoquinone enhances antigen-related airway inflammation in mice. European Respiratory Journal 2007; 29: 259-267. 査読有り.

〔学会発表〕(計7件)

- ① 西山彰、岩本典子、外山喬士、角大悟、熊谷嘉人：大気中に含まれる未知の親電子性物質とそれに対する生体応答を評価するシステムの構築. 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2008年10月18日、熊本
- ② 石井剛志、岩本典子、熊谷嘉人. 環境化学物質によるタンパク質の翻訳後修飾：毒性発現機構の解明に向けた修飾タンパク質の検出とその構造解析. 第78回日本衛生学会総会, 2008年3月29日、熊本
- ③ 岩本典子、角大悟、石井剛志、内田浩二、中村肇、淀井淳司、熊谷嘉人：酸化ストレスを生じる1,2-ナフトキノンの分子標的としてのチオレドキシン. 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2007年11月1日、大阪
- ④ 姜海燕、角大悟、田口恵子、Kit I. Tong、山本雅之、熊谷嘉人：1,2-ナフトキノンの解毒に関わるNrf2/Keap1システムの役割. 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2007年11月2日、大阪
- ⑤ 熊谷嘉人、岩本典子、角大悟：大気中親電子性物質によるPTP1B修飾に伴うEGFRリン酸化. 第7回分子予防環境医学研究会, 2007年10月26日、福岡
- ⑥ 岩本典子、張壁伊、角大悟、熊谷嘉人：大気中微小粒子成分によるERK1/2シグナル伝達経路の活性化. 第34回日本トキシコロジー学会 学術年会, 2007年6

月27日、東京

- ⑦ 三浦高、岩本典子、新開泰弘、角大悟、早川和一、熊谷嘉人：大気汚染物質のケミカルバイオロジー(その4)：ナフタレンの活性代謝物1,2-ナフトキノンと共有結合する細胞内タンパク質を検出する免疫化学的方法. 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2006年10月30日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊谷 嘉人(KUMAGAI YOSHITO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授

研究者番号：00250100

(2) 研究分担者

角 大悟(SUMI DAIGO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教授

研究者番号：30400683

(3) 連携研究者

山野 茂(YAMANO SHIGERU)

福岡大学・薬学部・教授

研究者番号：80140755

高野 裕久(TAKANO HIROHISA)

独立行政法人国立環境研究所・

健康系領域長

研究者番号：60281698