

平成30年6月15日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09794

研究課題名(和文) ヒト脳内の青斑核に存在するニューロメラニン様色素の構造解析とその加齢過程の解析

研究課題名(英文) The chemical structural characterization of neuromelanins in human locus coeruleus and its aging process

研究代表者

若松 一雅 (Wakamatsu, Kazumasa)

藤田保健衛生大学・保健学研究科・教授

研究者番号：80131259

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：DAのチロシナーゼ酸化により得られたドーパミンキノン(DAQ)とDPRA(Cys), BSA, α -ラクトグロブリン(α -LG)を反応させた。DAとDPRAとの反応後、6M-HClで水解すると、5-S-システニルドーパミンが得られた。チロシナーゼ以外の酸化剤としてFeイオン, Cuイオンを用いたところ, Cuイオンの方が二倍程反応速度が速かった。DA- α -LG結合体の反応スペクトルは, DA-BSAよりも早く進行した。この結果, タンパク結合型DAの酸化反応は, タンパク質によって異なることがわかった。また, これらのDA-システニル誘導体は pro-oxidant活性を有することがわかった。

研究成果の概要(英文)：Neuromelanin (NM), a dark brown pigment, is found in the Substantia Nigra (SN) in dopaminergic neurons and in the Locus coeruleus (LC) in norepinephrinergic neurons. This study shows that protein-bound dopamine (DA) conjugates formed during the production of NM have pro-oxidant activities that generate reactive oxygen species (ROS) and deplete reduced glutathione (GSH), the most important cellular antioxidant. Further, the results demonstrate that the DAquinone produced is bound to proteins via their SH groups and that the binding yield depends on the structural features of the protein. Binding via cysteine residues in proteins is formed by oxidation using redox-active metal ions as well as tyrosinase. These results suggest that protein-bound DA conjugates produced in the brain possess pro-oxidant activities, which may cause neurodegeneration due to the generation of ROS and the depletion of antioxidants.

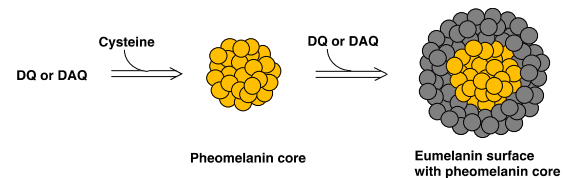
研究分野：有機化学

キーワード：ニューロメラニン ドーパミン pro-oxidant activity ROS antioxidant GSH

1. 研究開始当初の背景

ヒト中脳黒質に存在するニューロメラニン(NM)の構造とその生化学を調べることは、パーキンソン病(PD)の発症とその病因の解明に於いて重要な問題である。この不溶性の色素の起源や性質を解明する目的で、NMに似た合成化合物を調製することは有用と考えられる。NMはドーパミン(DA)が酸化されたDAキノンに脳内のSHタンパクが結合し、引き続き酸化反応によってタンパク結合型メラニンができることが予想される。しかしながら、そのタンパクタンパク結合型DAの生化学上の性質はわかっていなかった。我々は、以前NMのメラニン色素はドーパミン(DA)とシステイン(Cys)が約4:1で酸化重合して生成したフェオメラニン(PM)の構造単位であるベンゾチアジニユニットを持つ部分とDAの酸化重合で得られたユーメラニン(EM)の構造部分からなることを報告したが(図)、最近、加齢過程の研究によりDA:Cys=2:1から合成された合成NMを100で8時間加熱した構造に近いことを証明した。このようにNMの構造単位としてDAとシステイニルドーパミン(Cys-DA)が同定されたことはNM生成によるDAQの無毒化の役割を支持する実験結果である。EMおよびPMを含むNMの三次元構造としてPMを核としてその外側をEMが取り囲む casing model が提唱されている(Ito & Wakamatsu, Photochem. Photobiol., 2008)。すなわち、*in vitro*におけるメラノジェネシスの速度論実験からPM生成はCysが存在している限り進行し、Cysが過剰するとEMの生成が始まるという仮説である。NMの20~25%がPMであるならば、NMの核はPMからなり、表面はEMが優先的に沈着していると推測される。先に述べたようにNMは有毒な有機化合物や鉄などの金属イオンと結合して神経細胞を保護する役割を演じていると考えられている。したがって、この casing model はPMがEMに比べて有機化合物や金属イオンとの結合能力に劣っているという点からも妥当と考えられる。もし、PMがNMの表面に沈着していれば、NMの神経細胞の保護は期待できないと推測される。さらにPD患者の脳ではNMの鉄イオン結合力が健常者の脳より減少していると報告されている。従って、NM表面上のEMが活性酸素により分解され、鉄イオンの結合力の低いPMが露出し、prooxidant となると考えられる。Casing modelは今まで研究者に注目を浴びなかったが、我々の*in vitro*の実験結果とまた海外共同研究者のアメリカDuke大学Simon教授らによる free-electron laser (FEL)-photoelectron emission microscopy (PEEM)を用いる最近の表面酸化電位測定の実験結果から casing model の妥当性が改めて注目を浴びている。このようにNMの化学的組成および三次元構造を知ることは、黒質におけるその役割を知り、PD発症の機序を

解明することに寄与するものと期待される。



青斑核(LC)が、ノルエピネフリン(NE)由来のNM様色素を含んでいるかどうかは、知られていなかった。今回、LC-NMを塩酸水解することにより、β-カルボキシメチルチオ-DAであることが同定された。NMの前駆体であるドーペ(DOPE)、ドベッグ(DOPEG)、ドパック(DOPAC)およびドーマ(DOMA)が酸化を受けて生成するo-キノンの代謝経路を化学的に調べた結果、これらのカテコール代謝物は、プロトン脱離、脱炭酸を経由して、共通の中間体であるキノンメチド互変異性体に変換された後、この不安定なキノンメチドが安定なアルコール体またはカルボニル化合物に変換されることがわかった(Ito, S. et al., Int. J. Mol. Sci., 17, 164, 2016)。

2. 研究の目的

申請者らは30年来メラニン生成の化学的研究に従事しており、本研究の遂行に必要なメラニンの化学的分析方法の確立やメラニン生成の制御機構の化学的研究に携わってきた。この豊富な経験をNMの化学的研究に活かす。

NMの化学組成と生成機序、PD発症との関係などは解明されていないことが多い。したがって、NMの化学構造とその生成機序の解明は、神経化学の進歩に貢献するのみならず、臨床医学的にもPD発症機序の解明、さらにはその予防への足掛かりになると期待される。

3. 研究の方法

DAのチロシナーゼ酸化により生成したドーパミンキノン(DAQ)にシステイン(Cys)、グルタチオン(GSH)、DPRA(Cys)、DPRA(Lys)、ウシ血清アルブミン(BSA)、β-ラクトグロブリン(β-LG)を反応させて0, 1, 3, 5, 10, 30, 60分後のスペクトル変化を追跡して、これらのチオール体の反応性を比較する。続いて、これらのDA-システイン体がpro-oxidant活性(酸化促進作用)を有するかどうかを調べた。

4. 研究成果

黒質は10%程度のタンパク成分を含み、カテコールアミンがタンパクとシステイン残基を経由して共有結合することは既に知られている。しかしながら、DAとタンパクとの結合体がある後の酸化反応によってどのように進行するかは知られていなかった。そこでまず、モデル化合物として、ヘプタペプチドであるDPRA(Ac-RFAACAA-COOH)、タンパクのモデル化合物として、ウシ血清アルブミン

(BSA), α -ラクトグロブリン(α -LG)を使用した。DA と DPRA をチロシナーゼ酸化し、得られた酸化反応混合物を分取 HPLC で分離精製したところ、主生成物として DPRA-5-S-DA (40%)が得られた。これを 1%フェノール, 5%チオグリコール酸存在下, 6M-HCl で水解すると, 5-S-システイニルドーパミン(5-S-CDA)が得られた。同様に, BSA, α -LG をチロシナーゼ酸化し, 続いて HCl 水解すると, 11-35%の収率で 5-S-CDA が得られた。チロシナーゼ以外に, 酸化剤として Fe イオン, Cu イオンを DA と BSA 酸化に用いたところ, Cu イオンの方が二倍反応速度が速かった。DA-BSA, DA- α -LG 結合体の反応スペクトルを経時的に調べたところ, 1 時間後にゆっくりと 580 nm 付近のピークが上昇した。これは, 分子内環化反応などの二次反応が起きていること推察された。DA と α -LG とのチロシナーゼ酸化は BSA よりも早く進行し, 30 分以降のスペクトルはお互いに異なっていることがわかったことから, DA-BSA 結合体が DA- α -LG 結合体よりもより安定であることが予想された。このことから, タンパク結合型 DA の酸化的構造は, タンパク質によって異なることがわかった。次に, これらの DA-システイニル誘導体が pro-oxidant 活性を有するかどうか調べた。その結果, DA-タンパク結合体がグルタチオン(GSH)添加後 β GSSG 生成量と GSH 減少量および過酸化水素発生量を測定した。その結果, 時間経過後, GSH の減少と GSSG の増加が見られ, 過酸化水素の発生を確認した。以上の結果から, いずれのタンパク-DA 結合体は pro-oxidant 活性があることを初めて証明した。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 50 件)

- (1) McNamara, M.E., Kaye, J.S., Benton, M.J., Orr, P.J., Rossi, V., Ito, S., and Wakamatsu, K. Non-integumentary melanosomes can bias reconstructions of the colours of fossil vertebrate skin. *Nature Commun.*, 2018. in press (査読有り).
- (2) Galván, I., Araujo-Andrade, C., Marro, M., Loza-Alvarez, P., and Wakamatsu, K. Raman spectroscopy quantification of eumelanin subunits in natural unaltered pigments. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2018. Doi: 10.1111/pcmr.12707 (査読有り).
- (3) Goto, N., Tsujimoto, M., Nagai, H., Masaki, T., Ito, S., Wakamatsu, K., and Nishigori, C. 4-(4-Hydroxyphenyl)-2-butanol (rhododendrol)-induced melanocyte cytotoxicity is enhanced by UVB exposure through generation of oxidative stress. *Exp. Dermatol.*, 2018. doi: 10.1111/exd.13555 (査読有り).
- (4) Ito, S., Agata, M., Okochi, K., and Wakamatsu, K. The potent pro-oxidant activity of rhododendrol-eumelanin is enhanced by ultraviolet A radiation. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2018. doi: 10.1111/pcmr.12696 (査読有り).
- (5) Ito, S., and Wakamatsu, K. Biochemical mechanism of rhododendrol-induced leukoderma. *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 552, 2018. doi: 10.3390/ijms19020552 (査読有り).
- (6) Oiso, N., Wakamatsu, K., Yanagihara, S., and Kawada, A. Nevus depigmentosus with yellow hair colour due to an excess amount of benzothiazine-type pheomelanin. *Eur. J. Dermatol.* 28(1), 126-128, 2018. doi: 10.1684/ejd.2017.3193 (査読有り).
- (7) Oiso, N., Wakamatsu, K., Yanagihara, S., and Kawada, A. Decreased amount of benzothiazole-type pheomelanin in regrown brown hair in alopecia areata. *Eur. J. Dermatol.*, 28(1), 130-131, 2018. doi: 10.1684/ejd.2017.3194 (査読有り).
- (8) Arai, E., Hasegawa, M., Ito, S., and Wakamatsu, K. Sex allocation based on maternal body size in Japanese barn swallows. *Ethol. Ecol. Evol.* 30, 156-167, 2018. doi: 10.1080/03949370.2017.1336118 (査読有り).
- (9) Berek, H., Sugumaran, M., Ito, S., and Wakamatsu, K. Insect cuticular melanins are distinctly different from those of mammalian epidermal melanins. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 31, 384-392, 2018. doi: 10.1111/pcmr.12672 (査読有り).
- (10) Fargallo, J.A., Martínez, F., Wakamatsu, K., Serrano, D., and Blanco, G. Sex-dependent expression and fitness consequences of sunlight-derived color phenotypes. *The Am. Nat.*, 191, 726-743, 2018. dx.doi.org/10.1086/697218 (査読有り).
- (11) Ito, S., Miyake, S., Maruyama, S., Suzuki, I., Commo, S., Nakanishi, Y., and Wakamatsu, K. Acid hydrolysis reveals a low but constant level of pheomelanin in human black to brown hair. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 31, 393-403, 2018. doi: 10.1111/pcmr.12673 (査読有り).
- (12) Ito, S., Wakamatsu, K., and Sarna, T. Photodegradation of eumelanin and pheomelanin and its pathophysiological implications. *Photochem. Photobiol.*, 94, 409-420, 2018. doi: 10.1111/php.12837 (査読有り).
- (13) Okamura, K., Abe, Y., Araki, Y., Wakamatsu, K., Seishima, M., Umetsu, T., Kato, A., Kawaguchi, M., Hayashi, M., Hozomi, Y., and Suzuki, T. Characterization of melanosomes and melanin in patients with Hermansky-Pudlak Syndrome Type 1, 4, 6 and 9. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 31, 267-276, 2017. doi: 10.1111/pcmr.12662 (査読有り).

- (14) Hines, H.M., Witkowski, P., Wilson, J.S., and Wakamatsu, K. Melanic variation underlies aposematic color variation in two hymenopteran mimicry systems. *Plos One*, 12(7): e0182135, 2017. doi.org/10.1371/journal.pone.0182135 (査読有り).
- (15) Chang, C-H., Kuo, C-J., Ito, T., Su, Y-Y., Jiang, S-T., Chiou, M-H., Lin, Y-H., Nist, A., Mernberger, M., Stiewe, T., Ito, S., Wakamatsu, K., Alkalay, I., and Ben-Neriah, Y. CK1 α ablation in keratinocytes induces p53-dependent, sunburn-protective, skin hyperpigmentation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. E8035-E8044, 2017. Doi: 10.1073/pnas.1702763114 (査読有り).
- (16) Wakamatsu, K., Nagao, A., Watanabe, M., Nakao, K., and Ito, S. Pheomelanogenesis is Promoted at a Weakly Acidic pH. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 30, 372-377, 2017. doi: 10.1111/pcmr.12587 (査読有り).
- (17) Ito, S., Hinoshita, M., Suzuki, E., Ojika, M., and Wakamatsu, K. The Tyrosinase-Catalyzed Oxidation of the Leukoderma-inducing Agent Raspberry Ketone Produces (E)-4-(3-oxo-1-butenyl)-1,2-benzoquinone. *Chem. Res. Toxicol.*, 30, 859-868, 2017. doi: 10.1021/acs.chemrestox.7b00006 (査読有り).
- (18) Ito, S., Okura, M., Wakamatsu, K., and Yamashita, T. The potent pro-oxidant activity of rhododendrol-eumelanin induces cysteine depletion in B16 melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 30, 63-67, 2017. doi: 10.1111/pcmr.12556 (査読有り).
- (19) Arai, E., Hasegawa, M., Makino, T., Hagino, A., Sakai, Y., Otsuki, H., Wakamatsu, K., and Kawata, M. Physiological conditions and genetic controls of pheomelanin pigmentation in nestling barn swallows. *Behav. Ecol.*, 28, 706-716, 2017. doi: 10.1093/beheco/ax012 (査読有り).
- (20) San-Jose, L.M., Ducrest, A-L., Ducret, V., Simon, C., Richter, H., Wakamatsu, K., and Roulin, A. MC1R variants affect the expression of melanocortin and melanogenic genes and the association between melanocortin genes and coloration. *Mol. Ecol.*, 26, 259-276, 2017. doi: 10.1111/mec.13861 (査読有り).
- (21) Bourgeois, Y.X.C., Delahaie, B., Gautier, M., Lhuillier, E. Malé, P-J.G., Bertrand, J.A.M., Cornuault, J., Wakamatsu, K., Bouchez, O., Mould, C., Bruxaux, J., Holota, H., Milá, B., and Thébaud, C. A novel locus on chromosome 1 underlies the evolution of a melanic plumage polymorphism in a wild songbird. *Royal Soc. Open Sci.*, Feb 15;4(2):160805, 2017. doi:10.1098/rsos.160805 (査読有り).
- (22) Edwards, N.P., van Veelen, A., Anne, J., Manning, P.L., Bergmann, U., Sellers, W.I., Egerton, V.M., Sokaras, D., Alonso-Mori, R., Wakamatsu, K., Ito, S., and Wogelius, R.A. Elemental characterization of melanin in feathers via synchrotron X-ray imaging and absorption spectroscopy. *Sci. Rep.*, 6:34002. 2016. doi: 10.1038/srep34002 (査読有り).
- (23) Szewczyk, G., Zadlo, A., Sarna, M., Ito, S., Wakamatsu, K., and Sarna, T. Aerobic photoreactivity of synthetic eumelanins and pheomelanins: generation of singlet oxygen and superoxide anion. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 29, 669-678, 2016. doi: 10.1111/pcmr.12514 (査読有り).
- (24) Hasegawa, M., Arai, E., Ito, S., and Wakamatsu, K. High brood patch temperature of less colourful, less pheomelanin female barn swallows *hirundo rustica*. *Ibis*, 158, 808-820, 2016. doi: 10.1111/ibi.12405 (査読有り).
- (25) Galván, I., and Wakamatsu, K. Color measurement of the animal integument predicts the content of specific melanin forms. *RSC Advances*. 6, 79135-79142, 2016. doi: 10.1039/c6ra17463a (査読有り).
- (26) Oiso, N., Wakamatsu, K., and Kawada, A. Scalp nevus depigmentosus with dermoscopy-detectable diverse hair color. *Eur. J. Dermatol.* 26, 622-623, 2016. doi: 10.1684/ejd.2016.2859 (査読有り).
- (27) Shimo, K., Chihara, T., Beppu, H., Kaneko, T., Shinzato, M., Wakamatsu, K., Higashiguchi, T., and Sonoda, S. Inhibitory effects of emodin on intestinal tumor development in Min mice. *Clinical Pharmacology and Therapy*. 26 (2), 45-54, 2016 (査読有り).
- (28) Williams, S.T., Ito, S., Wakamatsu, K., Goral, T., Edwards, N., Wogelius, R., Henkel, T., Oliveira, L.d., Maiá, L., Strekopytov, S., Jeffries, T. Speiser, D., and Marsden, J. Identification of shell colour pigments in marine snails *clanculus pharaonius* and *C. margaritarius* (Trochoidea; Gastropoda). *Plos One*, 11 (17): e0156664, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0156664 (査読有り).
- (29) Lasisi, T., Ito, S., Wakamatsu, K., and Shaw C.N. Quantifying variation in human scalp hair fiber shape and pigmentation. *Am. J. Phys. Anthropol.* 160, 341-352, 2016. doi: 10.1002/ajpa.22971 (査読有り).
- (30) Ito, S., Kikuta, M., Koike, S., Szewczyk, G., Sarna, M., Zadlo, A., Sarna, T., and Wakamatsu, K. Roles of reactive oxygen species in UVA-induced oxidation of 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) melanin as studied by differential spectrophotometric method. *Pigment Cell*

- Melanoma Res. 29, 340-351, 2016. doi: 10.1111/pcmr.12469 (査読有り).
- (31) Hida, T., Yoneta, A., Wakamatsu, K., Yanagisawa, K., Ishii-Osai, Y., Kan, Y., Kato, J., and Yamashita, T. Circulating melanoma cell is a potential biomarker to detect metastasis and evaluate prognosis. *Australas J. Dermatol.* 57, 145-149, 2016. doi: 10.1111/ajd.12455 (査読有り).
- (32) Ito, S., Yamanaka, Y., Ojika, M., and Wakamatsu, K. The Metabolic Fate of ortho-Quinones Derived from Catecholamine Metabolites. *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 164, 2016. doi:10.3390/ijms17020164 (査読有り).
- (33) Abe, Y., Okamura, K., Kawaguchi, M., Hozumi, Y., Aoki, H., Kunisada, T., Ito, S., Wakamatsu, K., Matsunaga, K., and Suzuki, T. Rhododendrol-induced leukoderma in a mouse model mimicking Japanese skin. *J. Dermatol. Sci.*, 81, 35-43. 2016. doi: 10.1016/j.jdermsci.2015.10.011 (査読有り).
- (34) Paterson, E. K., Fielder, T. J., MacGregor, G. R., Ito, S., Wakamatsu, K., Gillen, D. L., Eby, V., Boissy, R. E., and Ganesan, A. K. Tyrosinase depletion prevents the maturation of melanosomes in the mouse hair follicle. *Plos One*, 10(11): e0143702, 2015. doi:10.1371/journal/pone.0143702 (査読有り).
- (35) Hirobe, T., Ito, S., and Wakamatsu, K. The slaty (*slt/Dct^{slt}*) allele decreases the content of eumelanin, pheomelanin in the mouse hair. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 29, 110-112, 2015. doi: 10.1111/pcmr.12427 (査読有り).
- (36) Premi, S., Wallisch, S., Mano, C. M., Weiner, A. B., Bacchocchi, A., Wakamatsu, K., Bechara, E. J. H., Halaban, R., Douki, T., and Brash, D. E. Excited electrons in melanin induce cyclobutane dimers in the dark. *Cancer Res.*, 75 (15 Supplement): abstract number: LB-104. 2015. doi:10.1158/1538-7445.AM2015-LB-104 (査読有り).
- (37) Del Bino, S., Ito, S., Sok, J., Nakanishi, Y., Bastien, P., Wakamatsu, K., Bernerd, F. Chemical analysis of constitutive pigmentation of human epidermis reveals rather constant eumelanin to pheomelanin ratio. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28, 707-717, 2015. doi: 10.1111/pcmr.12410 (査読有り).
- (38) Lindgren, J., Sjövall, P., Carney, R., Cincotta, A., Uvdal, P., Hutcheson, S., Gustafsson, O., Lefèvre, U., Escuillié, F., Heimdal, J., Engdahl, A., Gren, J., Kear, B., Wakamatsu, K., Yans, J., and Godefroit, P. Molecular composition and ultrastructure of Jurassic paravian feathers. *Sci. Rep.* 5:13520, 2015. doi: 10.1038/srep13520 (査読有り).
- (39) Abram, P. K., Guerra-Grenier, E., Després-Einspenner, M-L., Ito, S., Wakamatsu, K., Boivin, G., and Brodeur, J. An insect with selective control of egg coloration. *Curr. Biol.*, 25, 2007-2011, 2015. doi: 10.1016/j.cub.2015.06.010. (査読有り)
- (40) Okura, M., Yamashita, T., Ishii-Osai, Y., Yoshikawa, M., Sumikawa, Y., Wakamatsu, K. and Ito, S. Effects of Rhododendrol and Its Metabolic Products on Melanocytic Cell Growth. *J. Dermatol. Sci.*, 80, 142-149, 2015. doi: 10.1016/j.jdermsci.2015.07.010 (査読有り).
- (41) Galván, I., Jorge, A., Edelaar, P., and Wakamatsu, K. Insect synthesize pheomelanin. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28, 599-602, 2015. doi: 10.1111/pcmr.12397 (査読有り).
- (42) Ito, S., and Wakamatsu, K. A convenient screening method to differentiate phenolic skin whitening tyrosinase inhibitors from leukoderma-inducing phenols. *J. Dermatol. Sci.*, 80, 18-24, 2015. doi:10.1016/j.jdermsci.2015.07.007 (査読有り).
- (43) Wakamatsu, K., Tabuchi, K., Ojika, M., Zucca, F. A., Zecca, L., and Ito, S. Norepinephrine and its metabolites are involved in the synthesis of neuromelanin derived from the locus coeruleus. *J. Neurochem.*, 135, 768-776, 2015. doi: 10.1111/jnc.13237 (査読有り).
- (44) Chihara, T., Shimpo, K., Beppu, H., Yamamoto, N., Kaneko, T., Wakamatsu, K., and Sonoda, S. Effects of aloe-emodin and emodin on proliferation of the MKN45 human gastric cancer cell line. *Asian Pac J Cancer Prev.*, 16(9), 3887-3891, 2015. doi: 10.7314/APJCP.2015.16.9.3887 (査読有り).
- (45) Dorshorst, B., Henegar, C., Liao, X., Almén, M.S., Rubin, C-J., Ito, S., Wakamatsu, K., Stothard, P., Doormaal, B.V., Plastow, G., Barsh, G.S., and Andersson, L. Dominant Red Coat Color in Holstein Cattle is Associated with a Missense Mutation in the Coatome Protein Complex, Subunit Alpha (COPA) *Gene. PloS One*, 4; 10(6): e0128969, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0128969 (査読有り).
- (46) San-Jose, L. M., Ducrest, A-L., Ducret, V., Beziers, P., Simon, C., Wakamatsu, K., and Roulin, A. Effect of the MC1R gene on sexual dimorphism in melanin-based colorations. *Mol. Ecol.*, 24, 2794-2808, 2015. doi: 10.1111/mec.13193 (査読有り).
- (47) d'Ischia, M., Wakamatsu, K., Cicoira, F., Di Mauro, E., Garcia-Borron, J. C., Commo, S., Galván, I., Ghanem, G., Kenzo, K., Meredith, P., Pezzella, A., Santato, C., Sarna, T., Simon, J. D., Zecca, L., Zucca, F. A., Napolitano, A., and Ito, S. Melanins and melanogenesis: from pigment cells to human health and

- technological applications. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28, 520-544, 2015. doi: 10.1111/pcmr.12393 (査読有り).
- (48) Ito, S., Okura, M., Nakanishi, Y., Ojika, M., Wakamatsu, K., and Yamashita, T. Tyrosinase-catalyzed metabolism of rhododendrol (RD) in B16 melanoma cell: production of RD-pheomelanin and covalent binding with thiol proteins. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28, 295-306, 2015. doi: 10.1111/pcmr.12363 (査読有り).
- (49) Okazaki, S., Funasaka, Y., Wakamatsu, K., and Kawana, S. Effect of infrared radiation A on photoaged hairless mice harboring eumelanin and pheomelanin in the epidermis. *J. Dermatol.*, 42, 382-390, 2015. doi: 10.1111/1346-8138.12790 (査読有り).
- (50) Premi, S., Wallisch, S., Mano, C. M., Weiner, A. B., Bacchocchi, A., Wakamatsu, K., Bechara, E. J. H., Halaban, R., Douki, T., and Brash, D. E. Chemiexcitation of Melanin Derivatives Induces DNA Photoproducts Long after UV exposure, *Science*, 347, 842-847, 2015. doi: 10.1126/science.1256022 (査読有り).

〔学会発表〕(計 10 件)

- (1) Wakamatsu, K. Roles of pH in mixed melanogenesis. 23rd International Pigment Cell Conference. Denver, USA, 8月27日～8月31日, 2017.
- (2) Nakao, K., Kumura, Y., Ojika, M., Ito, S., Wakamatsu, K. Structural modification in oxidative coupling reaction of dopamine to cysteine-containing peptidic moieties. 23rd International Pigment Cell Conference. Denver, USA, 8月27日～8月31日, 2017.
- (3) Tanaka, H., Yamashita, Y., Ito, S., Wakamatsu, K. Pro-oxidant activity of mouse hair pheomelanin is promoted by UVA irradiation. 23rd International Pigment Cell Conference. Denver, USA, 8月27日～8月31日, 2017.
- (4) Okamura, K., Araki, Y., Abe, Y., Wakamatsu, K., Tamiya, G., Seishima, M., Umetsu, T., Kato, A., Kawaguchi, M., Hayashi, M., Hozomi, Y., Suzuki, T. Melanin analysis for hair samples from Japanese patients with Hermansky-Pudlak syndrome type 1, 4, 6, and 9. 23rd International Pigment Cell Conference. Denver, USA, 8月27日～8月31日, 2017.
- (5) Wakamatsu, K., Yamanaka, Y., Ojika, M., Ito, S. The metabolic fate of ortho-quinones derived from catechol metabolites. 20th European Society of Pigment Cell Research Meeting, Milan, Italy, 9月11日～9月18日, 2016.
- (6) 伊藤祥輔, 黄倉真恵, 若松一雅, 山下利春. ロドデノールユーメラニン強い酸化促進作用をもつ. 第27回日本色素細胞学会学術大会, 岐阜. 11月12日～11月13日, 2016.
- (7) 後藤典子, 辻本昌理子, 永井宏, 正木太朗, 伊藤祥輔, 若松一雅, 錦織千佳子. N-acetylcysteine(NAC)は紫外線によるロドデノールの色素細胞障害性増強効果を軽減する. 第27回日本色素細胞学会学術大会, 岐阜. 11月12日～11月13日, 2016.
- (8) 若松一雅, 山中佑太, 田中ひとみ, 小鹿一, 伊藤祥輔. カテコールアミン代謝物のオルトキノンの反応性の比較. 第27回日本色素細胞学会学術大会, 岐阜. 11月12日～11月13日, 2016.
- (9) 伊藤祥輔, 黄倉真恵, 山下利春, 小鹿一, 中西由紀子, W. Gerwat, J. Kolbe, 若松一雅. メラニン産生細胞におけるロドデノールの代謝. 第26回日本色素細胞学会学術大会, 札幌. 11月14日～11月15日, 2015.
- (10) 広部知久, 伊藤祥輔, 若松一雅. マウスの毛髪突然変異遺伝子, スレーティーはメラノサイトにおける黄色メラニン生成には影響しない. 第26回日本色素細胞学会学術大会, 札幌. 11月14日～11月15日, 2015.

〔図書〕(計 1 件)

1. 若松一雅, 伊藤祥輔. 色素細胞-基礎から臨床へ- 第2版. 慶應義塾大学出版会. 2015.
〔産業財産権〕

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
若松 一雅 (WAKAMATSU, Kazumasa)
藤田保健衛生大学医療科学部・教授
研究者番号: 80131259