

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 19 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390153

研究課題名(和文) マイクロRNAを指標とする分子疫学と実験研究に基づく繊維・粒子状物質のリスク評価

研究課題名(英文) MicroRNA-based risk assessment for fibrous and particulate substances on the basis of molecular epidemiological and experimental studies

研究代表者

平工 雄介(Hiraku, Yusuke)

三重大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：30324510

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：繊維・粒子状物質の吸入曝露は呼吸器の発がんや線維化を起こすが、その機構には不明な点が多い。本課題では、石綿やインジウム化合物を気管内投与した動物の肺組織におけるマイクロRNA(miRNA)と遺伝子の発現をマイクロアレイで網羅的に解析した。その結果、多数のmiRNAの発現量が有意に変動し、発がんや線維化に関わる遺伝子を制御する可能性を明らかにした。インジウム化合物に曝露したラットの血清でも有意に存在量の変動するmiRNAを認めた。miRNAはこれらの物質の曝露を受けた個人の呼吸器疾患のリスク評価指標になりうると考えられ、インジウム曝露者を対象とした分子疫学研究への応用につながる知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：Inhalation exposure to fibrous and particulate materials induces carcinogenesis and fibrosis in respiratory systems, but precise mechanisms remain to be clarified. We have performed comprehensive microarray analysis for microRNA (miRNA) and gene expression in the lung tissues of animals exposed to asbestos and indium compounds. We found that these compounds significantly changed the expression levels of several miRNAs, which may regulate genes involved in carcinogenesis and fibrosis. We also found that an indium compound altered miRNA levels in the serum of rats. These findings raise the possibility that miRNAs can be used for evaluation of the risk of respiratory diseases in individuals exposed to these compounds and provide an insight into molecular epidemiology for indium-exposed workers.

研究分野：衛生学

キーワード：繊維・粒子状物質 マイクロRNA インジウム 石綿 発がん リスク評価

## 1. 研究開始当初の背景

繊維・粒子状物質の吸入曝露は呼吸器の発がんや線維化などの健康障害をもたらす。環境医学および産業医学における重要な問題である。石綿(アスベスト)は肺癌、悪性中皮腫、石綿肺を起こす。最近では種々のナノ素材が工業や医療などの分野に応用されているが、カーボンブラックやカーボンナノチューブ(CNT)などは実験動物で発がんを起こす。研究分担者の大前と田中らは、テレビや携帯電話の液晶画面や太陽光発電パネルなどに使用されるレアメタルの一種であるインジウム化合物が、労働者に重篤な間質性肺炎を起こすことを世界で初めて症例報告(*J Occup Health* 2003)および疫学調査で明らかにした(*Eur Respir J* 2007)。実験動物ではインジウム化合物が肺癌をもたらすという報告がある(*IARC Monograph* 2006, *J Occup Health* 2011)。しかしその分子機構には不明な点が多く、リスク評価法は十分確立されていない。

マイクロRNA(miRNA)とは22塩基前後の短いRNAであり、メッセンジャーRNAに結合してそれ自身を分解するか、あるいは蛋白への翻訳を阻害して標的遺伝子の発現を抑制する(図1)。miRNAは様々な疾患や生命現象に関与すると考えられており、現在ヒトでは2,500種類以上が知られている。miRNAは発がんや臓器の線維化への関与について多くの報告があり、種々の疾患のバイオマーカーとして応用が期待されている。

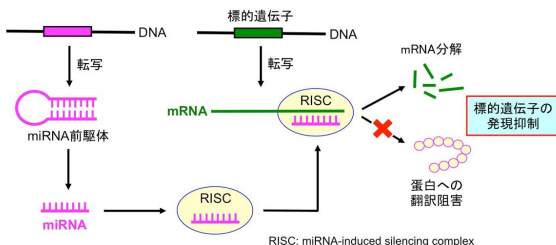


図1 miRNAの発現と標的遺伝子の制御

miRNAに注目する理由として、1) 低侵襲で得られる血清・血漿中に存在する、2) 安定性に優れ、血漿を室温放置や凍結融解しても分解されにくい、3) 比較的少量の検体で網羅的解析が可能である点が挙げられる。したがってmiRNAは疾病のバイオマーカーとして、実用化を視野に入れた有力な研究対象となりうる。しかし、化学物質のリスク評価にmiRNAを応用する研究は極めて少ない。

## 2. 研究の目的

本課題では、発がん性と線維原性を発揮する繊維・粒子状物質として、石綿およびインジウム化合物に注目して研究を行った。これらの物質を実験動物に気管内投与し、肺組織におけるmiRNAと遺伝子の発現量を網羅的に解析して、有意に増減するmiRNAとそれ

らの標的遺伝子を探索する。この成果を基盤として、miRNAの毒性発現における役割と医学・生物学的意義を解明するとともに、有害物質に曝露した個人のリスク評価に資するバイオマーカー候補を探索する。その結果、インジウム曝露作業員などの呼吸器疾患のハイリスク集団を対象とする分子疫学研究的基盤を構築することが出来る。また、石綿に曝露したヒトの肺組織やナノ素材に曝露した肺上皮細胞における炎症反応とDNA損傷について、それぞれ分子疫学研究および実験研究を行い、発がん機構の解明とリスク評価法の確立を目指す。

## 3. 研究の方法

(1) 石綿曝露マウスの肺組織におけるmiRNAと遺伝子発現の解析: ICRマウス(オス、6週齢)に0.05% (v/v) Tween 80で懸濁した石綿(UICCクリソタイルあるいはクロシドライト、0.05 or 0.2 mg/回)を1週間間隔で4回気管内投与し、最終投与の翌日に肺組織を摘出した。肺組織から市販キット(*mirVana*<sup>TM</sup> miRNA Isolation Kit, Ambion製)を用いてmiRNAを含む全RNAを抽出した。RNAを蛍光色素Cy3で標識し、miRNA発現用マイクロアレイにハイブリダイズして専用スキャナー(Agilent Technologies製)で蛍光画像を取り込んだ。画像処理ソフトウェア(Feature Extraction)により各miRNAの発現量を数値化し、マイクロアレイデータ解析ソフトウェア(GeneSpring GX)を用いて、クリソタイルあるいはクロシドライトにより有意に増減するmiRNAを列挙した。遺伝子発現の網羅的解析については、マイクロアレイを用いて上記と同様の方法で行い、有意に発現量が変動する遺伝子を列挙した。miRNAの標的遺伝子候補については、1) 3つの国際的データベース(miRBase, TargetScan, PicTar)の全てに収録されている、2) 遺伝子発現マイクロアレイで発現量が対照群に比して有意に2倍以上増減する、3) 当該miRNAと逆の変動を示す、という条件を全て満たすものに限定した。以上の条件に合致するmiRNAと標的遺伝子候補の発現量についてリアルタイムPCRおよびウエスタンブロッティング法で定量し、マイクロアレイ解析の結果と比較検討した。実験方法の概略を図2に示す。

(2) インジウム化合物曝露ラットの肺組織におけるmiRNAと遺伝子発現の解析: 酸化インジウム( $In_2O_3$ )あるいはインジウム・スズ酸化物(ITO)の微粒子を蒸留水で懸濁した。これらの化合物(10 mg/kg/回、インジウム量に換算)を週2回、計5回Wisterラット(オス、8週齢)に気管内投与した。その後動物を12週間飼育して肺組織を摘出した。上記(1)の石綿曝露マウスの場合と同様の方法で、肺組織より全RNAを抽出し、マイクロアレイによるmiRNAと遺伝子の網羅的解析を行った。

miRNA の標的遺伝子候補については、1)データベース miRBase あるいは TargetScan に収録されており、2)マイクロアレイ解析で発現量が有意に 2 倍以上変動し、3)当該 miRNA と逆の変動を示す、かつ 4) 発がんや臓器の線維化に関わる可能性を示す文献が存在するものを列挙した。

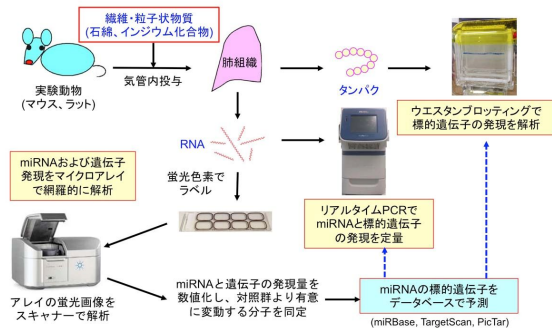


図 2 miRNA 発現解析と標的遺伝子の探索

(3) ITO 曝露ラット血清中の miRNA の解析：上記(2)の実験で ITO に曝露させたラットの血清から、RNA 抽出キット(*mirVana PARIS kit*, Ambion 製)で全 RNA を抽出した。マイクロアレイによる miRNA の網羅的解析は、上記(1)(2)の実験と同様の方法で行い、ITO 曝露により対照群に比して有意に存在量が変動する miRNA を列挙した。これらの miRNA をリアルタイム PCR で定量し、マイクロアレイ解析の結果と比較検討した。

(4) ヒト肺組織における石綿繊維量と DNA 損傷との関連の解析：悪性中皮腫患者(n=15)および非石綿関連疾患患者(石綿肺、肺癌、悪性中皮腫を有しない)の肺組織(n=21)の剖検あるいは手術標本を得た。透過型分析電子顕微鏡により乾燥組織重量あたりの繊維[クリソタイル、角閃石系石綿(クロシドライト、アモサイトなど)、非石綿繊維]を計数した。肺組織のパラフィン包埋切片を作成し、炎症条件下で生成される DNA 損傷塩基 8-ニトログアニン(8-nitroG)について免疫組織染色法で解析した。抗 8-nitroG 抗体については、独自にウサギポリクローナル抗体を作成した。標本を光学顕微鏡で観察し、各視野の染色強度を評価して全視野の平均値を計算し、各標本の染色強度とした。その値と無機繊維量との相関を統計学的に解析した。

(5) CNT による肺上皮細胞における DNA 損傷の解析：本研究では、2 種類の繊維長の異なる多層 CNT [Nanostructured and Amorphous Materials 製、長さ 1-2  $\mu\text{m}$  (CNT-S)および 5-15  $\mu\text{m}$  (CNT-L)、直径 20-40 nm)を実験に用いた。CNT を細胞培地(5 %胎児ウシ血清含有 DMEM)に懸濁し、ヒト肺上皮由来の A549 細胞に添加して(1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、一定時間 37  $^{\circ}\text{C}$  で培養した。8-NitroG の生成は免疫細胞染色法で解析した。8-NitroG 生成の分子機構を解析

するため、リソソームに存在する Toll 様受容体(TLR) 9 の siRNA、あるいはその活性化に関わる核蛋白 HMGB1 (High-mobility group box 1)やその受容体 RAGE (Receptor for advanced glycation end products)に対する抗体で前処理し、8-nitroG 生成に対する抑制効果を検討した。

#### 4. 研究成果

(1) 石綿曝露マウスの肺組織における miRNA と標的遺伝子発現：石綿(クリソタイル、クロシドライト)を気管内投与したマウスの肺組織における miRNA と遺伝子の発現を網羅的に解析した。その結果、クリソタイルあるいはクロシドライト(0.05 mg/回)で 2 倍以上有意に変動した miRNA が 14 種存在した。クリソタイルのみで有意に変動した miRNA は 9 種(4 種増加、5 種減少)、クロシドライトのみで増加したのは 1 種、両者で変動したのは 4 種(3 種増加、1 種減少)であった。両者で有意な発現増加が見られた miR-21 は、肺癌をはじめとする種々の腫瘍の発生に関わる可能性が報告されている。リアルタイム PCR でも、miR-21 はクリソタイルおよびクロシドライトに曝露したマウスの肺でいずれも有意に発現量が増加したが、クリソタイル(0.2 mg/回)で特に顕著であった。遺伝子発現マイクロアレイ解析では、クリソタイルとクロシドライトでそれぞれ 921 種(569 種増加、352 種減少)および 473 種(206 種増加、267 種減少)の遺伝子発現が 2 倍以上有意に変動した。データベース解析では、miR-21 はがん抑制遺伝子 *Pdcd4* および *Reck* を標的としてそれらの機能を抑制する可能性が示唆された。リアルタイム PCR では *Pdcd4* の発現量は石綿曝露により有意な変動を示さなかったが、ウェスタンブロットング法では、クリソタイルにより有意に発現量が減少した。以上の結果から、miR-21 は蛋白レベルで PDCD4 の発現を抑制すると考えられた。*Reck* の発現量は、リアルタイム PCR でクリソタイルおよびクロシドライトにより有意に減少した。ヒト肺上皮細胞由来の A549 細胞に miR-21 inhibitor (一本鎖 RNA)を導入すると、*Pdcd4* と *Reck* の発現量が mRNA レベルで有意に増加した。本研究は、石綿発がんの過程で miRNA の発現変動に関わる可能性を初めて実験的に示したものである。miRNA とその標的遺伝子産物は石綿発がんのリスク評価指標および予防・治療の標的になり得ると考えられる。また miR-21 以外にも発がんに関わる可能性のある miRNA を見いだしており、現在研究を進めている。

(2) インジウム曝露ラットの肺組織における miRNA と遺伝子発現：インジウム化合物を気管内投与したラットの肺組織におけるマイクロアレイ解析を行った結果、 $\text{In}_2\text{O}_3$  あるいは ITO の投与により 2 倍以上有意に変動した

miRNA がそれぞれ 27 種(11 種増加、16 種減少)および 61 種(19 種増加、42 種減少)認められた。両者で変動が見られたのは 11 種(7 種増加、4 種減少)であった。そのうち、ヒト肺癌組織における miRNA 発現のメタ解析(*Int J Cancer* 2013)で、miR-21 と miR-183 は癌組織で正常組織より有意に発現量が増加することが報告されており、今回はこれらの miRNA に注目して検討を行った。リアルタイム PCR では、In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> と ITO 曝露群における miR-21 および ITO 曝露群における miR-183 の発現が有意に増加した(図 3)。遺伝子発現マイクロアレイ解析では、In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> と ITO でそれぞれ 420 種(281 種増加、139 種減少)および 1,368 種(784 種増加、584 種減少)の遺伝子が 2 倍以上有意に変動した。実験結果に基づくデータベース解析と文献検索により、miR-21 と miR-183 は複数のがん抑制遺伝子および臓器の線維化を抑制する遺伝子の発現を制御する可能性が示唆された。これらの標的遺伝子の発現については、mRNA と蛋白レベルで今後解析を進める予定である。

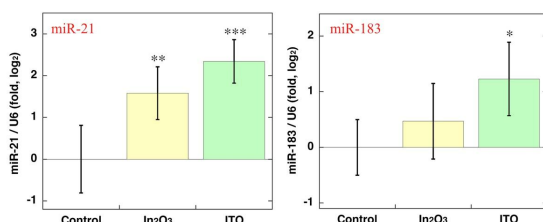


図 3 インジウム曝露ラットの肺組織における miRNA の発現上昇(リアルタイム PCR)。\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs control by ANOVA + Tukey's test,  $n=5$ 。miR-21 および miR-183 の発現量は U6 でノーマライズした。

(3) ITO 曝露ラット血清中の miRNA の解析：ラット血清中の miRNA のマイクロアレイ解析では、ITO 曝露により、6 種(4 種増加、2 種減少)の miRNA が有意に変動した。そのうち 2 倍以上有意に増加したのは miR-210-3p、有意に減少したのは miR-208a-5p のみであった。リアルタイム PCR で定量した結果、miR-208a-5p のみが ITO により有意に減少した。この miRNA の医学・生物学的意義は現在不明であり、今後機能解析を進める予定である。

(4) ヒト肺における石綿繊維量と DNA 損傷との関連：石綿曝露を受けたヒト肺組織において、DNA 損傷塩基 8-nitroG の生成は肺胞上皮細胞や炎症細胞で認められた。中皮腫患者では肺組織における 8-nitroG の染色強度と石綿繊維量の間に関連を認めなかったが、非石綿関連疾患患者では、8-nitroG の染色強度が総石綿量( $R=0.560$ ,  $p=0.008$ )および角閃石系石綿量( $R=0.534$ ,  $p=0.013$ )と有意に関連した。石綿肺癌の労災認定基準に記載のある繊維長 1  $\mu\text{m}$  以上の石綿に限定すると、8-nitroG の

染色強度は総石綿量( $R=0.652$ ,  $p=0.001$ ) および角閃石系石綿量 ( $R=0.659$ ,  $p=0.001$ )とより高い相関を示した。8-NitroG は石綿曝露および発がんリスク指標として応用できる可能性が考えられる(*J Occup Health* 2014)。

(5) CNT に曝露した肺上皮細胞における DNA 損傷：我々は多層 CNT が A549 細胞で 8-nitroG を生成し、その過程にはエンドサイトーシスが関わることを報告した(*Toxicol Appl Pharmacol* 2012)。リソソームに存在する TLR9 の siRNA を A549 細胞に導入すると、CNT による 8-nitroG 生成は有意に抑制された。ネクローシスを起こした細胞より放出される核蛋白 HMGB1 とその受容体 RAGE に対する抗体で細胞を前処理した場合でも、CNT による 8-nitroG 生成は抑制された。以上の結果から、CNT は細胞傷害を起こして HMGB1-RAGE-TLR9 のシグナルを介した NO 産生および 8-nitroG 生成をもたらすと考えられた。この機構は CNT による新規発がん機構と考えられる(論文作成中)。

(6) インジウム曝露作業員コホート研究：研究分担者の大前と田中らは、インジウム曝露作業員のコホートを対象として 5 年間の追跡調査を行った。その結果、血清インジウム濃度と肺病変の血清指標(KL-6 および SP-D)が減少する傾向を認めた。しかし、血清インジウム濃度が 20  $\mu\text{g/L}$  を超える場合は肺の気腫性変化が増悪する傾向を示した(*Chest* 2014)。今後はインジウム肺の新規発生、気腫性変化の増悪、肺癌の発生などの可能性を念頭に置いた継続的な経過観察を行うとともに、上記の実験研究の成果に基づくリスク評価指標の確立を目指した分子疫学研究の推進が必要と考えられる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者および研究分担者には下線)

(雑誌論文)(計 17 件)

1. Hiraku Y, Sakai K, Shibata E, Kamijima M, Hisanaga N, Ma N, Kawanishi S, Murata M. Formation of the nitrative DNA lesion 8-nitroguanine is associated with asbestos contents in human lung tissues: a pilot study. *J Occup Health* **56**: 186-196 (2014) (査読有) doi: <http://dx.doi.org/10.1539/joh.13-0231-OA>
2. Hiraku Y, Goto H, Kohno M, Kawanishi S, Murata M. Metal-mediated oxidative DNA damage induced by methylene blue. *Biochim Biophys Acta* **1840**: 2776-2782 (2014) (査読有) doi: 10.1016/j.bbagen.2014.04.020
3. 平工雄介、環境因子による酸化・ニトロ化 DNA 損傷と発がんリスク評価、*福岡医学雑誌* **105**: 33-41 (2014) (査読有) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24908906>
4. Nakano M, Omae K, Uchida K, Michikawa T,

- Yoshioka N, Hirata M, Tanaka A. Five-year cohort study: emphysematous progression of indium-exposed workers. *Chest* **146**: 1166-1175 (2014) (査読有) doi: 10.1378/chest.13-2484
5. Thanan R, Oikawa S, Hiraku Y, Ohnishi S, Ma N, Pinlaor S, Yongvanit P, Kawanishi S, Murata M. Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *Int J Mol Sci* **16**: 193-217 (2014) (査読有) doi: 10.3390/ijms16010193
  6. Thanan R, Pairojkul C, Pinlaor S, Khuntikeo N, Wongkham C, Sripa B, Ma N, Vaetee-woottacharn K, Furukawa A, Kobayashi H, Hiraku Y, Oikawa S, Kawanishi S, Yongvanit P, Murata M. Inflammation-related DNA damage and expression of CD133 and Oct3/4 in cholangiocarcinoma patients with poor prognosis. *Free Radic Biol Med* **65**: 1464-1472 (2013) (査読有) doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.034
  7. Laothong U, Pinlaor P, Boonsiri P, Hiraku Y, Khoontawad J, Hongrichan N, Charoensuk L, Pinlaor S.  $\alpha$ -Tocopherol and lipid profiles in plasma and the expression of  $\alpha$ -tocopherol-related molecules in the liver of *Opisthorchis viverrini*-infected hamsters. *Parasitol Int* **62**: 127-133 (2013) (査読有) doi: 10.1016/j.parint.2012.11.002
  8. Thanan R, Oikawa S, Yongvanit P, Hiraku Y, Ma N, Pinlaor S, Pairojkul C, Wongkham C, Sripa B, Khuntikeo N, Kawanishi S, Murata M. Inflammation-induced protein carbonylation contributes to poor prognosis for cholangiocarcinoma. *Free Radic Biol Med* **52**: 1465-1472 (2012) (査読有) doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.01.018
  9. Thanan R, Ma N, Iijima K, Abe Y, Koike T, Shimosegawa T, Pinlaor S, Hiraku Y, Oikawa S, Murata M, Kawanishi S. Proton pump inhibitors suppress iNOS-dependent DNA damage in Barrett's esophagus by increasing Mn-SOD expression. *Biochem Biophys Res Commun* **421**: 280-285 (2012) (査読有) doi: 10.1016/j.bbrc.2012.03.152
  10. Rucksaken R, Khoontawad J, Roytrakul S, Pinlaor P, Hiraku Y, Wongkham C, Pairojkul C, Boonmars T, Pinlaor S. Proteomic analysis to identify plasma orosomucoid 2 and kinesin 18A as potential biomarkers of cholangiocarcinoma. *Cancer Biomark* **12**: 81-95 (2012) (査読有) doi: 10.3233/CBM-130296
  11. Prakobwong S, Charoensuk L, Hiraku Y, Pinlaor P, Pairojkul C, Mairiang E, Sithithaworn P, Yongvanit P, Khuntikeo N, Pinlaor S. Plasma hydroxyproline, MMP-7 and collagen I as novel predictive risk markers of hepatobiliary disease-associated cholangio- carcinoma. *Int J Cancer* **131**: E416-424 (2012) (査読有) doi: 10.1002/ijc.26443
  12. Mo Y, Midorikawa K, Zhang Z, Zhou X, Ma N, Huang G, Hiraku Y, Oikawa S, Murata M. Promoter hypermethylation of Ras-related GTPase gene RRAD inactivates a tumor suppressor function in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Lett* **323**: 147-154 (2012) (査読有) doi: 10.1016/j.canlet.2012.03.042
  13. Guo F, Ma N, Horibe Y, Kawanishi S, Murata M, Hiraku Y. Nitrate DNA damage induced by multi-walled carbon nanotube via endocytosis in human lung epithelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol* **260**: 183-192 (2012) (査読有) doi: 10.1016/j.taap.2012.02.010
- [学会発表] (計 22 件)
1. 平工雄介、山田達彦、馬寧、川西正祐、村田真理子、多層カーボンナノチューブによる細胞内ニトロ化 DNA 損傷: Toll 様受容体の関与、第 85 回日本衛生学会総会、和歌山県民文化会館・ホテルアパローム紀の国(和歌山市)、2015 年 3 月 26~28 日
  2. 平工雄介、山田達彦、馬寧、川西正祐、村田真理子、多層カーボンナノチューブによるニトロ化 DNA 損傷と Toll 様受容体の役割、第 14 回分子予防環境医学研究会、大阪市立大学(大阪市)、2015 年 2 月 13~14 日
  3. 平工雄介、山田達彦、馬寧、村田真理子、多層カーボンナノチューブによる細胞内 DNA 損傷の解析(第 3 報): リソソーム内 Toll 様受容体の役割、日本産業衛生学会東海地方会、三重大学(津市)、2014 年 11 月 22 日
  4. 渡辺純、金子晟、市瀬孝道、村田真理子、平工雄介、アスベスト曝露マウスの肺組織におけるマイクロ RNA 発現の解析(第 2 報): 発がんへの関与の可能性、日本産業衛生学会東海地方会、三重大学(津市)、2014 年 11 月 22 日
  5. 平工雄介、市瀬孝道、村田真理子、Alteration in miRNA expression in the lung of asbestos-exposed mice (アスベスト曝露マウスの肺組織におけるマイクロ RNA の発現変動)、第 73 回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜(横浜市)、2014 年 9 月 25~27 日
  6. 平工雄介、市瀬孝道、村田真理子、アスベスト気管内投与マウスの肺組織におけるマイクロ RNA 発現の解析、第 84 回日本衛生学会総会、岡山コンベンションセンター(岡山市)、2014 年 5 月 25~27 日
  7. 平工雄介、酒井潔、柴田英治、上島通浩、久永直見、村田真理子、ヒト肺組織におけるニトロ化 DNA 損傷と石綿繊維量の関連および繊維長の影響、第 87 回日本産業衛生学会、岡山コンベンションセンター・岡山シティミュージアム(岡山市)、2014 年 5 月 21~24 日
  8. Yusuke Hiraku, Feiye Guo, Ning Ma, Shosuke Kawanishi, Mariko Murata, Nitrate DNA damage in lung epithelial cells exposed to multi-walled carbon nanotube, 6th International Symposium on Nanotechnology, Occupational

- and Environmental Health, 名古屋国際会議場(名古屋市)、2013年10月28-31日
9. 平工雄介、市瀬孝道、吉田成一、定金香里、村田真理子、アスベスト曝露マウスの肺組織におけるマイクロRNA発現の解析、日本産業衛生学会東海地方会、愛知医科大学(長久手市)、2013年10月26日
  10. 平工雄介、環境因子による酸化・ニトロ化DNA損傷と発がんリスク評価、新学術領域研究「プラズマ・ナノマテリアル動態学の創成と安全安心医療科学の構築」第11回医工連携ゼミ、九州大学(福岡市)、2013年7月30日(招待講演)
  11. 平工雄介、Feiye Guo、馬寧、川西正祐、村田真理子、多層カーボンナノチューブによる細胞内8-ニトログアニン生成(第2報): 繊維長のDNA損傷能への影響、第13回日本NO学会学術集会、沖縄県医師会館(沖縄・南風原町)、2013年6月28-29日
  12. 平工雄介、村田真理子、ナノ素材のリスク評価に関する基礎的研究(第3報): 多層カーボンナノチューブによる細胞内ニトロ化DNA損傷の解析、第86回日本産業衛生学会、ひめぎんホール(松山市)、2013年5月14-17日
  13. 平工雄介、Feiye Guo、馬寧、川西正祐、村田真理子、多層カーボンナノチューブによるDNA損傷: 肺上皮細胞における8-ニトログアニン生成、第12回分子予防環境医学研究会、つくばサイエンス・インフォメーションセンター(つくば市)、2013年2月1-2日
  14. 平工雄介、Feiye Guo、村田真理子、多層カーボンナノチューブによる細胞内DNA損傷の解析(第2報) 繊維長の影響、日本産業衛生学会東海地方会、じゅうろくプラザ(岐阜市)、2012年11月3日
  15. 平工雄介、馬寧、川西正祐、村田真理子、Association of asbestos fiber contents with oxidative and nitrative DNA damage in human lung (ヒト肺における石綿繊維量と酸化・ニトロ化DNA損傷との関連)、第71回日本癌学会総会、札幌市教育文化会館(札幌市)、2012年9月19-21日
  16. Yusuke Hiraku, Kiyoshi Sakai, Eiji Shibata, Michihiro Kamijima, Naomi Hisanaga, Ning Ma, Shosuke Kawanishi, Mariko Murata, Nitrative DNA damage in human lung tissues in association with asbestos exposure, The 7th International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, Edinburgh, UK, 2012年7月22-26日
  17. 平工雄介、Feiye Guo、馬寧、川西正祐、村田真理子、多層カーボンナノチューブによる細胞内8-ニトログアニン生成、第12回日本NO学会学術集会、神戸国際会議場(神戸市)、2012年6月29-30日
  18. 平工雄介、酒井潔、柴田英治、上島通浩、久永直見、村田真理子、ヒト肺組織におけ

る石綿繊維量と酸化・ニトロ化DNA損傷およびDNA修復酵素発現との関連、第85回日本産業衛生学会、名古屋国際会議場(名古屋市)、2012年5月30日~6月2日

〔図書〕(計3件)

1. Hiraku Y, Kawanishi S. Role of nitrative DNA damage in inflammation-related carcinogenesis. In: *Cancer and Inflammation Mechanisms: Chemical, Biological, and Clinical Aspects*. Hiraku Y, Kawanishi S, Ohshima H (ed.). Wiley, 41-59 (2014)
2. Hiraku Y. Role of chronic inflammation and resulting DNA damage in cervical carcinogenesis induced by human papillomavirus. In: *Human Papillomavirus and Related Diseases - From Bench to Bedside - Research aspects*. Broeck DV (ed.). InTech, 359-382 (2012)
3. Ma N, Murata M, Ohnishi S, Thanan R, Hiraku Y, Kawanishi S. 8-Nitroguanine: A potential biomarker to evaluate the risk of inflammation-related carcinogenesis. In: *Biomarker*. Khan TK (ed.). InTech, 201-224 (2012)

〔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

<http://www.medic.mie-u.ac.jp/eiseigaku/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平工 雄介 (HIRAKU YUSUKE)  
三重大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号: 30324510

### (2) 研究分担者

大前 和幸 (OMAE KAZUYUKI)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号: 60118924

田中 昭代 (TANAKA AKIYO)  
九州大学・医学研究院・講師  
研究者番号: 10136484