

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860187

研究課題名(和文)フラボノイドの作用機序から探る細胞保護作用の発動機構の解明

研究課題名(英文)The mechanisms of Nrf2-HO-1 activation and cytoprotective effects induced by flavonoids

研究代表者

松島 充代子(Matsushima, Miyoko)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：10509665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：フラボノイドは天然に存在する機能性成分でさまざまな細胞保護作用がある。本研究ではフラボノイドによるNrf2の活性化機序および細胞保護作用機序について検討した。フラボノイドの中で細胞保護作用は示すが、HO-1の誘導能がないクリシンを見出し、HO-1を誘導するケルセチンと比較をすることでHO-1の作用機序を検討した。その結果、HO-1は、カルシウムの流入より上流のシグナルに作用することが明らかとなった。さらに、ケルセチンによる脂質ラフトの構造変化により、細胞膜構成蛋白質であるcaveolin-1とNrf2が細胞膜から細胞質および核へ移行することによりHO-1の発現が誘導される可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Flavonoids are known to exhibit various cytoprotective effects. In this study, we investigated the mechanisms of Nrf2 activation and cytoprotective effects induced by flavonoids. We found the chrysin, one of the flavonoids, had cytoprotective effect without HO-1 induction. We compared the effect of quercetin, which can induce HO-1, and chrysin on the inhibition of mast cell activation, and suggested that HO-1 might regulate signaling events before calcium mobilization associated with mast cell activation. We also focused on caveolin-1 (Cav-1), with which Nrf2 interacted in cell membrane to regulate cellular anti-oxidant capacity. We showed that quercetin changed the formation of lipid rafts, and the expression level of Cav-1 and Nrf2 was decreased in cell membrane and increased in cytosol and nucleus after exposure to quercetin. These results suggested that the disruption of lipid rafts would translocate Cav-1 and Nrf2 from cell membrane and to nucleus, leading to HO-1 induction.

研究分野：薬理学

キーワード：フラボノイド Nrf2 heme oxygenase-1

## 1. 研究開始当初の背景

フラボノイドは主に野菜や果物に存在する天然の機能性成分で抗アレルギー作用、抗炎症作用、抗酸化作用など多彩な細胞保護作用を示す。これまでに肥満細胞の抗アレルギー作用、活性酸素による肺胞上皮細胞の傷害の抑制、線維芽細胞での膠原線維増生の抑制などフラボノイドの持つ多彩な細胞保護作用が転写因子 Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) を介した heme oxygenase (HO)-1 の活性化および発現誘導によることを明らかにしてきた。Nrf2 は生体に本来備わる防御機構のひとつで、ストレスを感知し生体応答を起こす、いわば細胞内のストレスセンサーである。Nrf2 が活性化すると HO-1 を含む抗酸化酵素および薬物代謝第二相酵素が誘導され、細胞や組織をストレスによる炎症や傷害から保護する。Nrf2 が細胞内のストレスセンサーであること、フラボノイドによって Nrf2 が活性化することを考え合わせると、フラボノイドは細胞に刺激(ストレス)を与えずにストレスセンサーを動かす“ストレスミミック”な刺激を与えて、予め細胞に身を守る準備(Nrf2 の活性化)を継続させていると考えられる。したがって、野菜や果物に含まれ安全性が担保されているフラボノイドによる Nrf2 の活性化機構は、もともと生体に備わっている生体防御機構を安全にかつ効果的に刺激することができると考えられる。本来ストレスを受けてから誘導される生体防御機構をフラボノイドにより賦活し、生体の防御能力を高める分子機構が同定できると考えられ、新規治療薬・健康増進薬のターゲットとして期待できる。

## 2. 研究の目的

転写因子 Nrf2 は細胞外のストレスに対し HO-1 や薬物代謝の酵素などを誘導して細胞に対して保護的に作用する。フラボノイドは食物にも含まれる安全な天然の機能性成分であり、これまでの研究から細胞外ストレスと同様にフラボノイドがストレスセンサーである Nrf2 を活性化させ、細胞を警戒状態に導くことが細胞保護的作用の根幹であると考えられる。本研究ではフラボノイドによる Nrf2 が活性化する機序およびフラボノイドの細胞保護作用機序を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 1. 細胞培養

細胞はラット肥満細胞株 RBL-2H3 細胞およびマウス線維芽細胞株 NIH3T3 細胞を用いた。RBL-2H3 細胞の培養には 10%FBS (fetal bovine serum)、100 U/ml penicillin、100 µg/ml streptomycin を添加した EMEM、NIH3T3 細胞の培養には 10%FBS、100 U/ml non-essential amino acids、100 U/ml antibiotic-antimycotic、100 U/ml sodium pyruvate を添加した DMEM を使用した。

### 2. Quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR)

合成した cDNA の各遺伝子の probe を用いて、Thermal Cycler Dice Real Time System II (TAKARA) を使用し、95 30 秒、95 5 秒、60 30 秒を 45 サイクル行った。内部標準物質には *Gapdh* を使用し、各遺伝子の相対的発現量を算出した。

### 3. Western blotting

10%または 12%ゲルを使用して 20 µg に調整した蛋白質を SDS-PAGE で分離し、polyvinylidene difluoride (PVDF) メンブレンに転写した。1 時間ブロッキングした後、1 次抗体を反応させた。洗浄後、西洋ワサビペルオキシターゼ標識抗ウサギ IgG 抗体あるいは抗マウス IgG 抗体を 1 時間反応させ、目的の蛋白質を化学発光にて検出した。

### 4. β-hexosaminidase 活性

96 well プレートに各実験で得られた上清 50 µl と β-hexosaminidase の基質である 1 mM p-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide を 50 µl 加え、37 °C で 1 時間インキュベートした。その後 0.1 M carbonate 緩衝液 (pH10.5) 200 µl を加えて反応を停止し、405 nm で吸光度を測定した。なお、β-hexosaminidase 活性は、(刺激物による β-hexosaminidase 放出量 - 自然 β-hexosaminidase 放出量) / (総 β-hexosaminidase 量 - 自然 β-hexosaminidase 放出量) × 100 (%) で表した。

### 5. 細胞内カルシウムイオン測定

DNP-IgE で 2 時間培養し洗浄した細胞に Fluo4-AM (3 µM) を 100 µl 加え、37 °C で 45 分間インキュベートした。その後洗浄し、クリシンを加え 15 分間反応させた後、DNP-BSA を加え 15 分間反応させた。蛍光強度は Wallac 1420 ARVO MX Multilabel Counter によって測定した。

### 6. 免疫蛍光染色

細胞を LabTek チャンバー スライド (Thermo Scientific) 中で培養し、ケルセチンと共に 1, 2, 4 時間インキュベートした。スライドは固定後、Cav-1 に対する一次抗体と 4 で一晩反応させた後、PBS で洗浄し、スライドを室温で 3 時間 Alexa555 標識抗マウス IgG と共に反応させた。4', 6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) (Vector) により核染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

### 7. ショ糖密度勾配遠心法による脂質ラフト分画の分離

NIH3T3 細胞を 1 ml の lysis buffer (25 mM Tris-HCl pH7.5、150 mM NaCl、2 mM CaCl<sub>2</sub>、5 mM MgCl<sub>2</sub>、1% Triton-X -100、プロテアーゼ阻害剤カクテル) に懸濁し、超音波処理後、サ

ンプルを氷上で30分間インキュベートした。次いで試料に8%スクロース溶液1mlを混合し2mlの40%スクロースとし、5.5mlの30%スクロースおよび3.5mlの5%スクロースを重層した。39,000 rpmで22時間超遠心し、上層から1mlずつ分画を回収した。

8. Cholera Toxin Subunit B (CTB)染色による monisialotetrahexosylganglioside (GM1)の検出  
ケルセチン反応後の細胞を30分間、3.7%ホルマリンで固定し、PBSで洗浄後、細胞を室温で15分間 Alexa Fluor 488-conjugated CTB と反応させ、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

#### 9. 統計・解析

データはすべて mean ± S.D. で表し、統計解析は Stat View (Abacus Concept, Berkeley, CA, USA) を使用し、 $p < 0.05$  を有意と評価した。

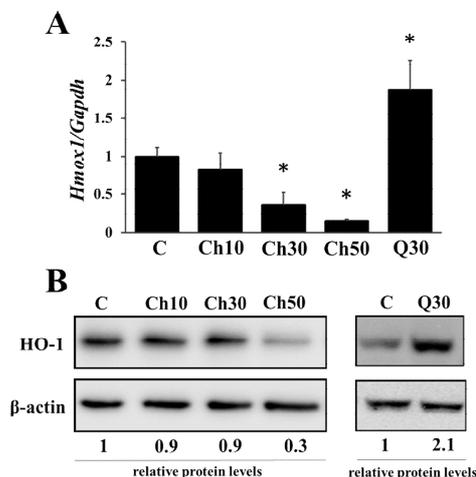


図1 クリシンによるHO-1の発現  
RBL-2H3細胞のクリシン(10, 30, 50 μM)を4時間あるいは8時間曝露し、real-time PCR法(A)およびwestern blotting法(B)にてHO-1の発現を評価した。\* $p < 0.05$   
C: コントロール, Ch: クリシン, Q: ケルセチン

#### 4. 研究成果

##### 1. フラボノイドの細胞保護作用機序についての検討

HO-1 を介したフラボノイドの細胞保護作用機序について検討するため、さまざまなフラボノイドを用いてHO-1の誘導能を確認した。細胞はフラボノイドによる抗アレルギー作用が確認されている肥満細胞株 RBL-2H3細胞を用いた。HO-1 を強く誘導するケルセチンを含めた8種類のフラボノイドを用いてHO-1の誘導能を確認した。その結果、検討したフラボノイドのうちHO-1を誘導しないものが3種類あり、なかでもクリシンは細胞保護作用を持つにもかかわらずHO-1を誘導しないことが明らかとなった(図1, 2)。また、HO-1阻害剤を用いてクリシンの抗アレルギー作用とHO-1の関与を検討したところ、Nrf2-HO-1系とは異なる機序で細胞保護作用

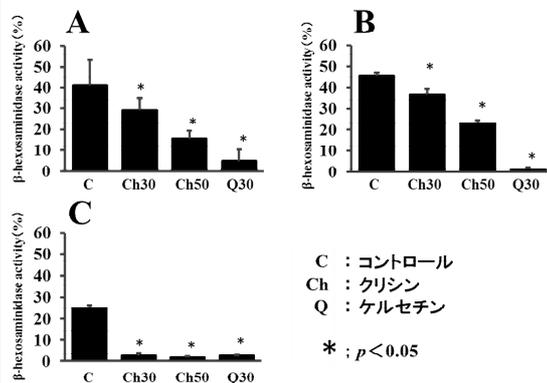


図2 クリシンによる脱顆粒の抑制  
RBL-2H3細胞にクリシン(10, 30, 50 μM)を15分曝露後、A23187(A)、タブシガルギン(B)、IgE(C)にて刺激した。

を持つ可能性が明らかとなった(図3)。

次に細胞保護作用があり、HO-1を発現誘導するケルセチンとHO-1を発現誘導しないクリシンを用いて、肥満細胞活性化に重要な細胞内へのカルシウム流入を測定した。RBL-2H3細胞にクリシンを15分間曝露後、A23187、タブシガルギンあるいは抗原により刺激した。ケルセチンでは各刺激においてカルシウム流入の抑制が見られたのに対し、クリシンはA23187またはタブシガルギン刺激では変化はなく、抗原刺激においては抑制した(図4)。したがって、HO-1はカルシウム流入より上流のシグナル伝達分子に作用する可能性が示唆された。

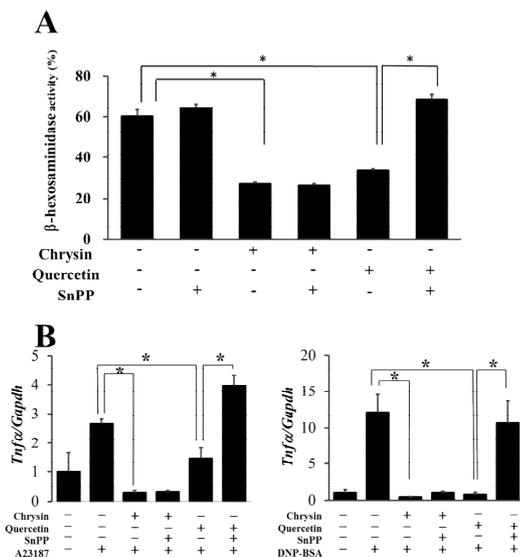


図3 クリシンの抗アレルギー作用とHO-1の関与

A) RBL-2H3細胞( $2 \times 10^5$  cells/ml)にSnPP(10 μM)で1時間処理したのち、50 μMのクリシンまたは10 μMのケルセチンを15分間曝露した。曝露後、A23187( $5 \times 10^{-7}$  M)で刺激を加え、上清のβ-hexosaminidase活性を測定した。値はmean ± S.D.で表した。\* $p < 0.05$ を有意とした。

B) RBL-2H3細胞( $2 \times 10^5$  cells/ml)にSnPP(10 μM)で1時間処理したのち、50 μMのクリシンまたは30 μMのケルセチンを15分間曝露した。曝露後、A23187( $5 \times 10^{-7}$  M)(B)、または抗原(DNP-IgE(0.1 μg/ml)+DNP-BSA(0.2 μg/ml))(C)で刺激を加え、細胞を回収した。回収した細胞からRNAを抽出し、real-time PCR法にてTnfaのmRNA発現を評価した。値はmean ± S.D.で表し、\* $p < 0.05$ を有意とした。

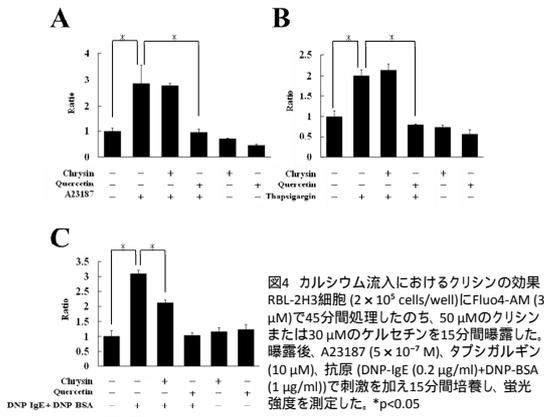


図4 カルシウム流入におけるケルセチンの効果  
RBL-2H3細胞 ( $2 \times 10^5$  cells/well)にFluo4-AM (3  $\mu$ M)で45分間処理したのち、50  $\mu$ Mのケルセチンまたは30  $\mu$ Mのケルセチンを15分間曝露した。曝露後、A23187 ( $5 \times 10^{-7}$  M)、タブシガルギン (10  $\mu$ M)、抗原 (DNP-IgE (0.2  $\mu$ g/ml)+DNP-BSA (1  $\mu$ g/ml))で刺激を加え15分間培養し、蛍光強度を測定した。\* $p < 0.05$

## 2. フラボノイドによる Nrf2 活性化機序の検討

先行研究でフラボノイドによる HO-1 誘導能を持たない細胞と HO-1 誘導能を持つ細胞を見出しており、これらの細胞を用いてフラボノイドと Nrf2 の活性化を中継する分子の探索を試みたが、特定の分子を同定するまでには至らなかった。

そこで次に、これまでにフラボノイドの細胞保護作用発揮に関与することを見出している phospholipase D、caveolin-1 (Cav-1)、STIM1 などの分子のうち、HO-1 の発現を主に調節することが報告されている Cav-1 について検討した。Cav-1 はカベオラの構造蛋白質成分で、Nrf2 と相互作用し、HO-1 などの抗酸化酵素の発現を阻害することが報告され、Cav-1 が HO-1 の発現調節において重要

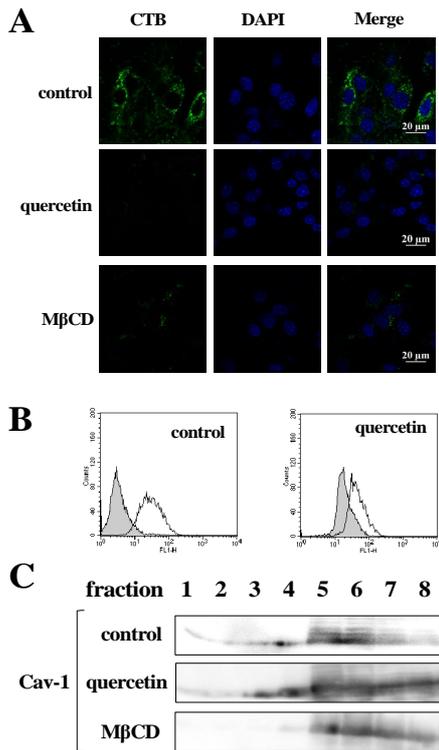


図5 脂質ラフトの形成におけるケルセチンの影響  
NIH3T3細胞にケルセチン30  $\mu$ MまたはM $\beta$ CD 10 mMを1時間曝露した。Alexa488標識CTBで染色し、免疫蛍光染色(A)またはフローサイトメトリー(B)にてGM1の発現レベルを検出した。また、シヨ糖密度勾配遠心法により各分画を単離し、Cav-1の発現を評価した。

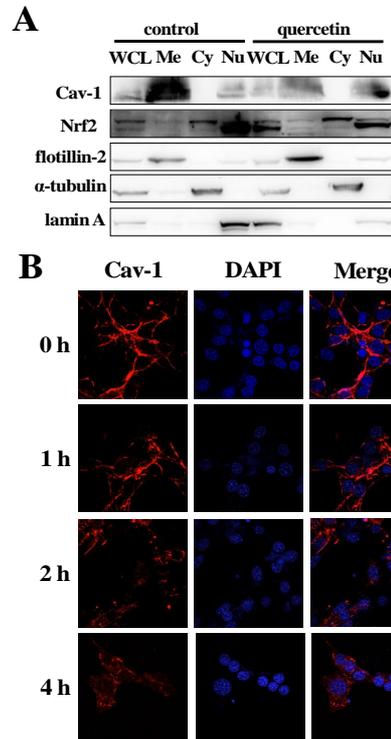


図6 脂質ラフトの形成におけるケルセチンの影響  
(A) NIH3T3細胞にケルセチン30  $\mu$ MまたはM $\beta$ CD 10 mMを1時間曝露し、シヨ糖密度勾配遠心法により各分画を単離し、Cav-1、Nrf2の発現を評価した。細胞膜のマーカーとしてflotillin-2、核のマーカーとしてLamin A、細胞質のマーカーとして $\alpha$ -tubulinを使用した。(B) NIH3T3細胞にケルセチン30  $\mu$ Mを1,2,4時間曝露し、Cav-1の局在を免疫蛍光染色にて評価した。

な役割を果たすことが示唆されている。細胞はマウス線維芽細胞株 NIH3T3 細胞を使用し、フラボノイドは HO-1 を強く誘導することが分かっているケルセチンを使用した。はじめに NIH3T3 細胞においてケルセチンが脂質ラフトの形成に影響を与えるか検討し、GM1 に特異的に結合する Alexa Fluor 488-conjugated CTB で処理し、細胞表面の GM1 発現を評価した。GM1 の発現はケルセチンにより減少し、コレステロール除去剤である M $\beta$ CD を用いた結果と一致した (図 5A, B)。次にシヨ糖密度勾配遠心法で細胞膜を詳細に分画して Cav-1 の発現を評価することによりケルセチンによる脂質ラフトの構造変化を確認した。コントロールにおいて Cav-1 はほとんどがラフト分画 (5、6 分画) に豊富に局在しているのに対し、ケルセチンまたは M $\beta$ CD 処理により Cav-1 の分布が分画 5-8 まで広がった (図 5C)。以上の結果より、ケルセチンは脂質ラフトの構造を変化させる可能性が示唆された。さらに、Cav-1 と Nrf2 の局在に及ぼすケルセチンの影響について検討した。シヨ糖密度勾配遠心法を用いて NIH3T3 細胞を細胞膜、細胞質、核分画に分け、各分画における Cav-1 と Nrf2 の発現に及ぼすケルセチンの効果を調べた。Nrf2 の発現はケルセチン曝露により細胞質から核へと移行した。Cav-1 はケルセチン曝露後に、細胞質および核へと移行した。さらに Nrf2 は正常状態で細胞膜にも発現しており、Cav-1 と

同様にケルセチン処理後に細胞膜分画で減少し、細胞質および核分画へ移行した (図 6A)。さらに、免疫蛍光染色で Cav-1 の局在を観察した。ケルセチン曝露時間に依存して Cav-1 の発現が細胞膜で減少することを確認した (図 6B)。以上の結果より、ケルセチンは細胞膜に作用し、caveolin-1 を脂質ラフトから剥離し、細胞質および核へと移行させることで Nrf2/HO-1 を活性化する可能性が示唆された。

#### 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4件)

1. Yamamoto A., Hioki S., Tanada C., Miwa T., Inoue Y., Yamamoto R., Matsushima M., Kawabe T. Design and development of a suitable adsorbent to capture theophylline for non-invasive therapeutic drug monitoring with exhaled breath. *Anal. Methods*, 2015, 7, 423-427, 2014 査読有 doi: 10.1039/C4AY02243B
  2. Takashima K, Matsushima M., Hashimoto K, Nose H, Sato M, Hashimoto N, Hasegawa Y, Kawabe T. Protective effects of intratracheally administered quercetin on lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Respir Res.* 15(1):150, 2014 査読有 doi: 10.1186/s12931-014-0150-x
  3. Shikida M, Yoshikawa K, Matsuyama T, Yamazaki Y, Matsushima M., Kawabe T. Catheter flow sensor with temperature compensation for tracheal intubation tube system. *Sensors and Actuators A: Physical.* 215:155-160, 2014 査読有 doi: 10.1016/j.sna.2013.08.004
  4. Shikida M, Shikano T, Matsuyama T, Yamazaki Y, Matsushima M., Kawabe T. Micromachined catheter flow sensor and its applications in breathing measurements in animal experiments. *Microsyst Technol.* 20 (3): 505-513, 2014 査読有 doi: 10.1007/s00542-013-1855-3
- [学会発表](計22件)
1. Aya Oomura, Miyoko Matsushima, Yuka Kodera, Marika Shiga, Hiroki Ogiso, Tsutomu Kawabe. The effect of diazinon on macrophage activation. 第43回日本免疫学会, 2014.12.11 国立京都国際会館(京都府)
  2. Hiroki Ogiso, Miyoko Matsushima, Yuka Kodera, Marika Shiga, Aya Oomura, Tsutomu Kawabe. Protective effects of quercetin on lipopolysaccharide-induced acute lung injury. 第43回日本免疫学会, 2014.12.10 国立京都国際会館(京都府)
  3. Yuka Kodera, Miyoko Matsushima, Marika Shiga, Aya Oomura, Hiroki Ogiso, Tsutomu Kawabe. The involvement of cell membrane changes in quercetin-induced cytoprotective effects. 第43回日本免疫学会, 2014.12.10 国立京都国際会館(京都府)
  4. Marika Shiga, Miyoko Matsushima, Yuka Kodera, Aya Oomura, Hiroki Ogiso, Tsutomu Kawabe. Different mechanism of cytoprotective effects by flavonoids, quercetin and chrysin. 第43回日本免疫学会, 2014.12.10 国立京都国際会館(京都府)
  5. 安藤栄充, 川越寛之, 服部雄治, 山中真仁, 松島充代子, 高嶋浩司, 長谷川好規, 森健策, 川部勤, 西澤典彦. SC光を用いたラット肺組織の3次元超高分解能OCTイメージングによる解析. 日本光学学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2014, 2014.11.7. 筑波大学東京キャンパス文京校舎(東京都)
  6. 大村綾, 松島充代子, 志賀茉梨化, 草次裕人, 小笠原名奈子, 武村和哉, 小寺佑果, 小木曾寛希, 川部勤. 肥満細胞活性化に対するクリシンとケルセチンの抑制効果とその機序の相違. 第9回日本臨床検査学教育学会学術大会, 2014.8.21 大田区産業プラザ(東京都)
  7. 小寺佑果, 松島充代子, 小笠原名奈子, 武村和哉, 志賀茉梨化, 大村綾, 小木曾寛希, 川部勤. TLR7を介した肺胞マクロファージの活性化に対するケルセチンの効果. 第9回日本臨床検査学教育学会学術大会, 2014.8.21 大田区産業プラザ(東京都)
  8. Marika Shiga, Miyoko Matsushima, Yuto Kusatsugu, Nanako Ogasawara, Kazuya Takemura, Yuka Kodera, Aya Oomura, Hiroki Ogiso, Tsutomu Kawabe. Inhibitory action of mast cell degranulation by chrysin. The 24th Congress of Interasma Japan / North Asia, 2014.7.18 ウィンクあいち(愛知県)
  9. Aya Oomura, Miyoko Matsushima, Nanako Ogasawara, Kazuya Takemura, Yuka Kodera, Marika Shiga, Hiroki Ogiso, Tsutomu Kawabe. Effects of quercetin on TLR7-mediated macrophage activation. The 24th Congress of Interasma Japan / North Asia, 2014.7.18 ウィンクあいち(愛知県)
  10. 松島充代子, 小笠原名奈子, 河村奈美, 武村和哉, 小寺佑果, 志賀茉梨化, 大村綾, 小木曾寛希, 上山純, 川部勤. マクロファージの免疫調節機能に及ぼすダイアジノンの効果. 第45回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会, 2014.6.28 福岡ソフトリサーチパーク(SRP)センタービル(福岡県)
  11. 日置清香, 三輪俊夫, 山本良平, 井上嘉則, 山本敦, 松島充代子, 川部勤.

- エアロゾル用吸着剤の開発と呼気中薬物分析への適用．第 21 回クロマトグラフィシンポジウム, 2014.6.5 名古屋市工業研究所 (愛知県)
12. 日置清香, 三輪俊夫, 山本良平, 井上嘉則, 山本 敦, **松島充代子**, 川部 勤. 非侵襲的治療薬物モニタリングのための呼気用新規吸着剤の開発. 日本薬学会第 134 年会, 2014.3.29 熊本市総合体育館 (熊本県)
  13. Yuka Kodera, **Miyoko Matsushima**, Haruka Nose, Takehiro Yamaguchi, Marika Shiga, Tsutomu Kawabe. The inhibitory effect of quercetin on TLR7-induced activation of alveolar macrophages. 第 42 回日本免疫学会, 2013.12.13 幕張メッセ (千葉県)
  14. Marika Shiga, **Miyoko Matsushima**, Haruka Nose, Takehiro Yamaguchi, Yuka Kodera, Tsutomu Kawabe. Chrysin suppresses mast cell activation via HO-1-independent pathway. 第 42 回日本免疫学会, 2013.12.11 幕張メッセ (千葉県)
  15. 安井正宏, **松島充代子**, 川部 勤. TLR7 を介した肺胞マクロファージの活性化に対するケルセチンならびにその誘導する HO-1 の効果について. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013.11.28 ホテルニューオータニ (東京都)
  16. 山口剛広, **松島充代子**, 川部 勤. 環境物質曝露によるマクロファージの活性化に対するフラボノイドの効果とその機序. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013.11.28 ホテルニューオータニ (東京都)
  17. 服部雄治, 川越寛之, 石田周太郎, 荒巻光利, 西澤典彦, **松島充代子**, 高嶋浩司, 長谷川好規, 川部勤. 正常・疾患ラット肺組織の 3 次元超高分解能 OCT イメージング. 日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2013 2013.11.12-14 奈良県新公会堂(奈良県) 11.13 発表
  18. Haruka Nose, **Miyoko Matsushima**, Aya Oomura, Kanae Mori, Nanako Ogasawara, Kazuya Takemura, Takehiro Yamaguchi, Yuka Kodera, Marika Shiga, Tsutomu Kawabe. The effect of quercetin on the activated alveolar macrophages. ICI 2013, Milan, Italy, August 24, 2013. MiCo Milano Congressi (Italy)
  19. **Miyoko Matsushima**, Aya Oomura, Kanae Mori, Nanako Ogasawara, Kazuya Takemura, Haruka Nose, Takehiro Yamaguchi, Yuka Kodera, Marika Shiga, Tsutomu Kawabe. Difference in reaction patterns of M1 and M2 macrophages induced by quercetin. ICI 2013, Milan, Italy, August 24, 2013. MiCo Milano Congressi (Italy)
  20. Yuka Kodera, **Miyoko Matsushima**, Hiroki Ogiso, Nanako Ogasawara, Kazuya Takemura, Haruka Nose, Takehiro Yamaguchi, Marika Shiga, Tsutomu Kawabe. Investigation on frequency of mutation in the gene segments of immunoglobulin in CD40 knockout mice. ICI 2013, Milan, Italy, August 24, 2013. MiCo Milano Congressi (Italy)
  21. Marika Shiga, **Miyoko Matsushima**, Ayaka Teranishi, Haruka Nose, Nanako Ogasawara, Kazuya Takemura, Takehiro Yamaguchi, Yuka Kodera, Tsutomu Kawabe. Chrysin regulates mast cell activation via HO-1-independent pathway. ICI 2013, Milan, Italy, August 24, 2013. MiCo Milano Congressi (Italy)
  22. **松島充代子**, 小笠原名奈子, 武村和哉, 野瀬遥加, 山口剛広, 小寺佑果, 志賀茉莉花, 上山 純, 川部 勤. 環境物質に対するフラボノイドの細胞保護効果とその機序. 第 44 回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会 2013.7.5 小田急ホテルセンチュリー相模大野 (神奈川県)
- 〔その他〕  
ホームページ等  
研究室ホームページ  
<http://square.umin.ac.jp/kawabe/index.html>
- 6 . 研究組織  
(1)研究代表者  
松島充代子 (MATSUSHIMA, Miyoko)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号 : 10509665