

## 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：33916

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500450

研究課題名(和文) ヒト脳内に存在するメラニン様色素の構造とその加齢過程の解明

研究課題名(英文) Biosynthetic pathway to neuromelanin and its aging process

## 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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：ニューロメラニン(NM)は中脳黒質および青斑核に存在する黒褐色のメラニンである。このメラニン構造はまだ不明な点が多いが、天然のNMの化学反応から、黒質NMはDA、DOPAC、DOPE由来、一方、青斑核NMは、NE、DOMAおよびDOPEGに加えて、DA、DOPAC、DOPEにも由来していることがわかった。一方、チオグリコール酸とフェノールの共存下、青斑核NMの塩酸水解を行うと、NEまたはCys-NEのベンジル位のヒドロキシ基がチオグリコール酸と置換反応して生成した化合物が得られた。この実験結果は、NEおよびCys-NEが青斑核NMに取り込まれていることを証明する初めての化学的証拠である。

研究成果の概要(英文)：Neuromelanin (NM) occurs in dopaminergic neurons of the substantia nigra (SN) and in noradrenergic neurons of the locus coeruleus (LC). HPLC analysis after HI hydrolysis of natural NM detected AHPEA, AHPAA and AHEB, which confirmed that SN-NM and LC-NM contain melanin derived not only from DA and NE, but also from several other catecholic metabolites, such as DOPA, DOPAC, DOMA, DOPE and DOPEG, in addition to the corresponding Cys-derivatives in varying degrees. However, HI hydrolysis showed that LC-NM produced the same degradation products as were detected in SN-NM. Thus, we needed to develop a new chemical detection method to validate the existence of NE in LC-NM. HCl hydrolysis of LC-NM in the presence of thioglycolic acid yields new products arising from substitution of the hydroxyl group by thioglycolic acid at the benzyl position of NE and cysteinyl-NE. This is the first chemical evidence showing that NE and cysteinyl-NE are incorporated into LC-NM.

研究分野：有機化学

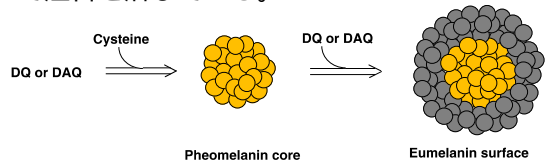
キーワード：ニューロメラニン 黒質 青斑核 化学分析 ノルエピネフリン ドーパミン パーキンソン病

1. 研究開始当初の背景

メラニン色素は、黒色～黒褐色の不溶性なニューメラニンと赤褐色～黄色でアルカリ可溶性なフェオメラニンからなる。メラニンは動植物界に広く分布し、脊椎動物では大部分体表に存在している。メラニンの構造は不明な点が多いが、詳細な化学分解反応により、ニューメラニン(EM)は5,6-ジヒドロキシインドール(DHI)および5,6-ジヒドロキシインドール-2-カルボン酸(DHICA)が様々な比率で重合したポリマーであることが明らかにされた。一方、フェオメラニン(PM)はシステイニルドーパ(Cys-DOPA)の酸化により生成するベンゾチアジン誘導体が複雑に結合したポリマーであることがわかった。我々は、今までにヒト、マウス、鳥類、魚類さらにはバクテリアなどに存在する様々なメラニン色素を分析してきた。我々の開発したEM、PM微量分析法(Wakamatsu & Ito, Pigment Cell Res. 1994, 2002)は世界的に評価され、標準法として広く用いられている(D'Orazio, Nature, 2006)。EMは皮膚では紫外線から下部組織を防御する役割をしていることが明らかになっている。さらに金属イオンや芳香族化合物を吸着する作用も強い。それに対して、PMは紫外線により発がん性のラジカルを発生することが知られており、さらに紫外線がなくても骨格の構造変換により活性酸素を発生することが最近明らかになった。

一方、褐色で不溶性のメラニン様色素(ニューロメラニン、NM)がヒトやほ乳類の中樞神経系に存在する。NMは中脳の substantia nigra(黒質)および locus coeruleus(青斑核)のカテコールアミン作動性ニューロンに存在している。さらに最近、我々は脳内 putamen(被殻)、premotor cortex(前運動野皮質)、cerebellum(小脳)などにニューロメラニン様色素が存在することを発見した(L. Zeccaら, Proc. Natl. Acad. Sci., 2008)。しかしながら、皮膚のメラニンとは対照的にその構造や機能は単離の困難さや適切な生化学的モデル化合物がないため不明な点が多い。NMは3~5才で生成し始め、加齢とともに増加するが、パーキンソン病(PD)患者では著明に減少する。したがって、近年この色素がPDの病因に重要な役割をしていると関連づけられているが、詳細は不明である。しかし、NMが金属イオン、有毒な有機化合物、またフリーラジカルを補足することにより無毒化するとともに、NMの生成過程が細胞毒性をもつドーパミンキノン(DAQ)の解毒化をもたらす、結果として、NMの生成は高い酸化ストレスに対する細胞の防御機構の結果であると仮定されている。その一方で、色素沈着した神経細胞の分解にともない、NMがフリーラジカルや細胞毒性を有する化合物の供給源になり、酸化ストレスや神経細胞損失のサイクルを永続化させているという報告もある。このようにNMの生理学的機能には複雑な二面性があると考えられている。NMの

構造については、我々を含む数グループのNMの構造研究の結果から、EMおよびPMからなるメラニン色素と、さらに脂肪族化合物、ペプチド化合物が複雑に会合した構造をしていると推測されている。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PMの構造単位であるベンゾチアジンユニットを持つ部分とDAの酸化重合で得られたEMの構造部分からなることを報告したが(図1)、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が涸渇すると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。

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。

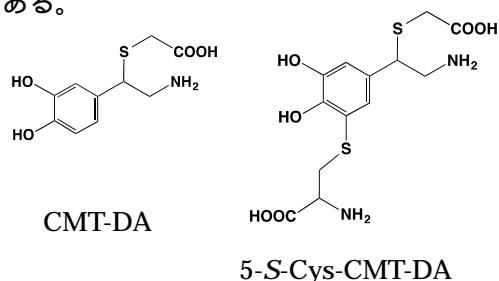
### 3. 研究の方法

ヒトまたはほ乳動物の中脳黒質に存在する褐色のメラニンである NM の生成過程においては、DA または NE とともに、DA と NE からの代謝物の酸化的重合の関与も重要視されている。DA と NE からの代謝物としては、DOPAC、DOPE、DOPEG および DOMA が知られている。これらの代謝物が NM に含有されているかどうかを調べるには、HI 法が最も有用である。NM の HI 還元により DOPAC、DOPE、DOPEG および DOMA 由来の構造単位は、アミノヒドロキシフェニル酢酸 (AHPAA) とアミノヒドロキシエチルベンゼン (AHEB) を与えると予想される。これらの化合物は、市販がないため新たに合成する必要があった。今回、まず、AHPAA は、*m*-または *p*-ヒドロキシフェニル酢酸の *o*-ニトロ体を得るために 60%硝酸と反応させた後、57%HI によりニトロ基を還元して望ましい AHPAA を合成した。AHEB は *m*-または *p*-ヒドロキシエチルベンゼンに同様に硝酸を反応させた後、HI により還元し、目的の AHEB を合成した。以前合成していた AHPEA も今回新たに、*m*-または *p*-ヒドロキシエチルアミンのニトロ化、還元により合成した。一方、NM の化学分解反応は、アルカリ性過酸化水素酸化法および HI 水解法を用いた。

### 4. 研究成果

天然の黒質由来と青斑核由来の NM 由来のカテコール体を調べる目的で、DA、NE、DOPAC、DOMA、DOPEG および DOPE と Cys を 1:1 でチロシナーゼ酸化して得られる DA+Cys-DA メラニン、NE+Cys-NE メラニン、DOPAC+Cys-DOPAC メラニン、DOMA+Cys-DOMA メラニン、DOPEG+Cys-DOPEG メラニンと DOPE+Cys-DOPE メラニンを合成した。これらのメラニンの HI 水解により得られる、4-AHPEA、4-AHPAA、4-AHEB を新規に合成した。つぎに、天然の黒質由来と青斑核由来の NM を HI 水解したところ、黒質由来の NM (SN-NM)からは初めて AHEB を確認することができた。また、青斑核由来の NM (LC-NM)からは、AHPEA、AHPAA、AHEB、AHP を初めて検出することができた。このことは、黒質由来、青斑核由来の NM は、DA および NE 由来のみならず、DOPA、DOPAC、DOMA、DOPE および DOPEG に由来することがわかった。しかしながら、従来用いられてきた化学分解

反応 (HI 水解法、アルカリ性過酸化水素酸化法) を用いた SN-NM と LC-NM の結果からは、ともに、上記の分解産物が得られたため、SN-NM と LC-NM の明確な違いを判別することができず、LC-NM が NE 由来かどうかはわからなかった。そこで、従来からタンパク質の水解法として知られている、5%チオグリコール酸および 1%フェノール共存下で 6 M-HCl で 110℃、6 時間加水分解反応を LC-NM と SN-NM に行ったところ、天然の SN-NM からは、DA、DOPA、DOPAC、Cys-DA、Cys-DOPAC および Cys-DOPA が得られた。一方、天然の LC-NM からは、DA、DOPA、DOPAC、Cys-DOPA が得られたが、主生成物として構造未知の化合物が得られ、NE を得ることができなかった。そこで、この主生成物を単離・生成し、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、LC-MS、HR-MS の詳細な各種機器分析を行って、この未知化合物が  $\beta$ -カルボキシメチルチオ-DA (CMT-DA) であることが同定された。その他に、 $\beta$ -カルボキシメチルチオ-Cys-DA (5-S-Cys-CMT-DA) も得られた。この実験結果は、NE と Cys-NE のベンジル位のヒドロキシ基がチオグリコール酸と置換反応した結果、得られたことを示している。以上の実験結果は、LC-NM が NE と Cys-NE を含んでいることを初めて化学的に証明した結果である。



### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 35 件)

1. Wakamatsu, K., Tanaka, H., Tabuchi, K., Ojika, M., Zucca, F.A., Zecca, L., Ito, S. Reduction of the nitro group to amine by hydroiodic acid to synthesize *o*-aminophenol derivatives as putative degradative markers of neuromelanin. *Molecules*, 査読有, 19(6), 8039-8050, 2014. doi:10.3390/molecules19068039.
2. Tanaka, G., Parker, A.R., Hasegawa, Y., Siveter, D.J., Yamamoto, R., Miyashita, K., Takahashi, Y., Ito, S., Wakamatsu, K., Mukuda, T., Matsuura, M., Tomikawa, K., Furutani, M., Suzuki, K., Maeda, H. Colour vision in a 300Ma fish. *Nat. Commun.*, 査読有, 5: 5920, 2014. doi: 10.1038/ncomms6920.
3. Ito, S., Ojika, M., Yamashita, T., Wakamatsu, K. Tyrosinase-catalyzed oxidation of Rhododendrol produces 2-methylchromane-6,7-dione, the putative ultimate toxic metabolite: implication for

- melanocyte toxicity. *Pigment Cell Melanoma Res.* 査読有, 27, 744-753, 2014. doi: 10.1111/pcmr.12275
4. Ito, S., Gerwat, W., Kolbe, L., Yamashita, T., Ojika, M., Wakamatsu, K. Human tyrosinase is able to oxidize both enantiomers of rhododendrol. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 査読有, 27, 1149-1153, 2014. doi: 10.1111/pcmr.12300
  5. Hirobe, T., Ito, S., Wakamatsu, K., Kawa, Y., Abe, H. The mouse brown (*b/Tyrp1<sup>b</sup>*) allele does not affect pheomelanin synthesis in mice. *Zool. Sci.*, 査読有, 31, 53-63, 2014. doi: 10.2108/zsj.31.53
  6. Galván, I., Bonisoli-Alquati, A., Jenkinson, S., Ghanem, G., Wakamatsu, K., Mousseau, T.A., Møller, A.P. Chronic exposure to low-dose radiation at Chernobyl favors adaptation to oxidative stress in birds. *Functional Ecology*, 査読有, 28, 1387-1403, 2014. doi: 10.1111/1365-2435.12283
  7. Galván, I., Wakamatsu, K., Alonso-Alvarez, C., Solano, F. Buthionine sulfoximine diverts the melanogenesis pathway toward the production of more soluble and degradable pigments. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 査読有, 24, 2150-2154, 2014. doi: 10.1016/j.bmcl.2014.03.031
  8. Okuda, H., Yoshino, K., Wakamatsu, K., Ito, S., Sota, T. Degree of polymerization of 5,6-dihydroxyindole-derived eumelanin from chemical degradation study. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 査読有, 27, 664-667, 2014. doi: 10.1111/pcmr.12254
  9. Galván, I., Wakamatsu, K., Alonso-Alvarez, C. Black bib size is associated with feather content of pheomelanin in male house sparrows. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 査読有, 27, 1159-1161, 2014. doi: 10.1111/pcmr.12313
  10. Galván, I., Wakamatsu, K., Camarero, P.R., Mateo, R., Alonso-Alvarez, C. Low-quality birds do not display high-quality signals: the cysteine-pheomelanin mechanism of honesty. *Evolution*, 査読有, 69, 26-38, 2014. doi: 10.1111/evo.12549
  11. Arai, E., Hasegawa, M., Nakamura, M., Wakamatsu, K. Male pheomelanin pigmentation and breeding onset in barn swallows *Hirundo rustica gutturalis*. *J. Ornithology*, 査読有, 156, 419-427, 2014. doi: 10.1007/s10336-014-1140-y
  12. Mizote, Y., Wakamatsu, K., Ito, S., Uenaka, A., Ohue, Y., Kurose, K., Isobe, M., Ito, A., Tamura, Y., Honda, H., Yamashita, T., Nohara, S., Oka, M., Jimbow, K., Nakayama, E. TLR4 and NLRP3 inflammasome activation in monocytes by N-propionyl cysteaminyphenol-maleimide-dextran (NPCMD). *J. Dermatol. Sci.*, 査読有, 73, 209-215, 2014. doi: 10.1016/j.jdermsci.2013.11.006
  13. Ito, S., Wakamatsu, K., Glass, K., Simon, J. D. HPLC estimation of cross-linking of dihydroxyindole moiety in eumelanin. *Anal. Biochem.*, 査読有, 434, 221-225, 2013. doi: 10.1016/j.ab.2012.12.005
  14. Ito, S., Pilat, A., Gerwat, W., Skumatz, C.M.B., Ito, M., Kiyono, A., Zadlo, A., Nakanishi, Y., Kolbe, L., Burke, J.M., Sarna, T., Wakamatsu, K. Photoaging of human retinal pigment epithelium is accompanied by oxidative modification of its eumelanin. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 査読有, 26, 357-366, 2013. doi: 10.1111/pcmr.12078
  15. Ito, S., Suzuki, N., Takebayashi, S., Commo, S., Wakamatsu, K. Neutral pH and copper ions promote eumelanogenesis after the dopachrome stage. *Pigment Cell Melanoma Res.* 査読有, 26, 817-825, 2013. doi: 10.1111/pcmr.12137
  16. Hirobe, T., Ito, S., Wakamatsu, K. The mouse ruby-eye 2<sup>d</sup> (*ru2<sup>d</sup>/Hps5<sup>ru2-d</sup>*) allele inhibits eumelanin but not pheomelanin synthesis. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 査読有, 26, 723-726, 2013. doi: 10.1111/pcmr.12118
  17. d'Ischia, M., Wakamatsu, K., Napolitano, A., Briganti, S., Garcia-Borron, J-C., Kovacs, D., Meredith, P., Pezzella, A., Picardo, M., Sarna, T., Simon, J.D., Ito, S. Melanins and melanogenesis: methods, standards, protocols. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 査読有, 26, 616-633, 2013. doi: 10.1111/pcmr.12121
  18. Singaravelan, N., Ratz, S., Tzur, S., Belifante, S., Pavlicek, T., Beiles, A., Ito, S., Wakamatsu, K., Nevo, E. Adaptation of pelage color and pigment variations in Israel subterranean blind mole rats, *Splax ehrenbergi*. *Plos One*. 査読有, 8, e69346, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0069346
  19. Galván, I., Jorge, A., Ito, K., Tabuchi, K., Solano, F., Wakamatsu, K. Raman Spectroscopy as a non-invasive technique for the quantification of melanins in feathers and hairs. *Pigment Cell melanoma Res.*, 査読有, 26, 917-923, 2013. doi: 10.1111/pcmr.12140
  20. Roulin, A., Mafli, A., Wakamatsu, K. Reptiles produce pheomelanin: Evidence in the Eastern Hermann's Tortoise (*Eurotestudo boettgeri*). *J. Herpetol.*, 査読有, 47, 258-261, 2013. doi: 10.1670/12-028
  21. Glass, K., Ito, S., Wilby, P. R., Sota, T., Nakamura, A., Bowers, C. R., Miller, K. E., Dutta, S., Summons, R. E., Briggs, D. E.G., Wakamatsu, K., Simon, J. D. Impact of diagenesis and mutation on the survival of eumelanin in the fossil record. *Organic Geochem.*, 査読有, 64, 29-37, 2013. doi: 10.1016/j.orggeochem.2013.09.002
  22. 若松一雅, 伊藤祥輔. メラニンの化学: 微

- 量分析法の開発とUVAおよび加熱によるメラニンの分解反応. *Aesthetic Dermatology*, 査読有, 23, 63-73, 2013.
23. Wakamatsu, K., Murase, T., Zucca, F.A., Zecca, L., Ito, S. Biosynthetic pathway to neuromelanin and its aging process. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 査読有, 25, 792-803, 2012. doi: 10.1111/pcmr.12014
  24. Wakamatsu, K., Nakanishi, Y., Miyazaki, N., Kolbe, L., Ito, S. UVA-induced oxidation degradation of melanins: Fission of indole moiety in eumelanin and conversion to benzothiazole moiety in pheomelanin. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 査読有, 25, 434-445, 2012. doi: 10.1111/j.1755-148X.2012.01011.x
  25. Ito, S., Nishigaki, A., Ishi-Osai, Y., Ojika, M., Wakamatsu, K., Yamashita, T., Tamura, Y., Ito, A., Honda, H., Nakayama, E., Jimbow, K. Mechanism of putative neo-antigen formation from N-propionyl-4-S-cysteaminylphenol, a tyrosinase substrate, in melanoma models. *Biochem. Pharmacol.*, 査読有, 84, 646-653, 2012. doi: 10.1016/j.bcp.2012.06.015
  26. Kono, M., Kondo, T., Ito, S., Suzuki, T., Wakamatsu, K., Ito, S., Tomita, Y. Genotype analysis in a patient with oculocutaneous albinism 1 minimal pigment type. *Br. J. Dermatol.*, 査読有, 166, 896-898, 2012. doi: 10.1111/j.1365-2133.2011.10690.x
  27. Commo, S., Wakamatsu, K., Lozano, I., Panhard, S., Loussouarn, G., Bernard, B.A., Ito, S. Age-dependent changes in eumelanin composition in hairs of various origins. *Int. J. Cosmetic. Sci.*, 査読有, 34, 102-107, 2012. doi: 10.1111/j.1468-2494.2011.00691.x
  28. Galván, I., Erritzøe, J., Wakamatsu, K., Møller, A.P. High prevalence of cataracts in birds with pheomelanin-based colouration. *Comp. Biochem. Physiol. Part A: Mol. Integr. Physiol.*, 査読有, 162, 259-264, 2012. doi: 10.1016/j.cbpa.2012.03.012
  29. van den Brink, V., Henry, I., Wakamatsu, K., Roulin, A. Melanin-based colouration in juvenile kestrels (*Falco tinnunculus*) covaries with anti-predatory personality traits. *Ethology*, 査読有, 118, 673-682, 2012. doi: 10.1111/j.1439-0310.2012.02057.x
  30. Ishi-Osai, Y., Yamashita, T., Tamura, Y., Sato, N., Ito, A., Honda, H., Wakamatsu, K., Ito, S., Nakayama, E., Okura, M., Jimbow, K. N-propionyl-4-S-cysteaminylphenol induces apoptosis in B16F1 cells and mediates tumor-specific T-cell immune responses in a mouse melanoma model. *J. Dermatol. Sci.*, 査読有, 67, 51-60, 2012. doi: 10.1016/j.jdermsci.2012.04.009
  31. Chiaverini, C., Sillard, L., Flori, E., Ito, S., Briganti, S., Wakamatsu, K., Fontas, E., Berard, E., Cailliez, M., Cochat, P., Foulard, M., Guest, G., Niaudet, P., Picardo, M., Bernard, F.-X., Antignac, C., Ortonne, J.-P., Ballotti, R. Cystinosin is a melanosomal protein that regulates melanin synthesis. *The FASEB J.*, 査読有, 26, 3779-3789, 2012. doi: 10.1096/fj.11-201376
  32. Glass, K., Ito, S., Wilby, P.R., Sota, T., Nakamura, A., Bowers, C.R., Vinther, J., Dutta, S., Summons, R., Briggs, D.E., Wakamatsu, K., Simon, J.D. Direct chemical evidence for eumelanin pigment from the Jurassic period. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 査読有, 109, 10218-10223, 2012. doi: 10.1073/pnas.1118448109
  33. Hirobe, T., Wakamatsu, K., Ito, S. A new mutation of mouse ruby-eye 2, *ru2<sup>d</sup>/Hps5<sup>ru2-d</sup>* inhibits eumelanin synthesis but stimulates pheomelanin synthesis in melanocytes. *Zool. Sci.*, 査読有, 29, 652-661, 2012. doi: 10.2108/zsj.29.652
  34. Ito, A., Yamaguchi, M., Okamoto, N., Sanematsu, Y., Kawabe, Y., Wakamatsu, K., Ito, S., Honda, H., Kobayashi, T., Nakayama, E., Tamura, Y., Okura, M., Yamashita, T., Jimbow, K., Kamihira, M. T-cell receptor repertoires of tumor-infiltrating lymphocytes after hyperthermia using functionalized magnetite nanoparticles. *Nanomedicine*, 査読有, 10/2012; doi:10.2217/nnm.12.142.
  35. Engelen, M., Vanna, R., Bellei, C., Zucca, F. A., Wakamatsu, K., Monzani, E., Ito, S., Casella, L., Zecca, L. Neuromelanins of human brain have soluble and insoluble components with dolichols attached to the melanic structure. *PLoS One*, 7(11); e48490, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0048490.
- [学会発表](計 20 件)
1. K. Wakamatsu. Elaboration of approach to structure of neuromelanin. XXII International Pigment Cell Conference (IPCC), Singapore, 9月4日～7日, 平成 26 年.
  2. S. Ito, M. Ojika, T. Yamashita, K. Wakamatsu. Tyrosinase-catalyzed oxidation of rhododendrol produces 2-methylchromane-6,7-dione, the ultimate toxic metabolite: implication for melanocyte toxicity. XXII International Pigment Cell Conference (IPCC), Singapore, 9月4日～7日, 平成 26 年.
  3. Y. Niki, M. Fukata, Y. Fukata, S. Oku, C. Makino-Okamura, S. Takeuchi, K. Wakamatsu, S. Ito, C. Nishigori, L. Declercq, D. B. Yarosh, N. Saito. Palmitoylation of tyrosinase regulates melanin synthesis through ubiquitination. XXII International Pigment Cell Conference (IPCC), Singapore, 9月4日～7日, 平成 26 年.
  4. J. Pino, S. Ito, K. Wakamatsu, L. Kos.

- Regulation of murine pigment production by endothelin-3. XXII International Pigment Cell Conference (IPCC), Singapore, 9月4日～7日, 平成26年.
5. K. Ito, S. Ito, K. Wakamatsu. Weakly acidic pH suppresses eumelanogenesis but promotes pheomelanogenesis. XXII International Pigment Cell Conference (IPCC), Singapore, 9月4日～7日, 平成26年.
  6. K. Tabuchi, H. Tanaka, M. Ojika, F. A. Zucca, L. Zecca, S. Ito, K. Wakamatsu. Convenient synthetic method of putative degradative markers to identify various catecholic metabolites in addition to dopamine and norepinephrine incorporated in neuromelanin. XXII International Pigment Cell Conference (IPCC), Singapore, 9月4日～7日, 平成26年.
  7. T. Hida, K. Wakamatsu, T. Yamashita. Detection of circulating melanoma cells in melanoma patients. XXII International Pigment Cell Conference (IPCC), Singapore, 9月4日～7日, 平成26年.
  8. T. Yamashita, M. Okura, Y. Ishii-Osai, M. Yoshikawa, Y. Sumikawa, K. Wakamatsu, S. Ito. Production of reactive oxygen species and anti-oxidative responses in rhododendrol-treated human melanocytes. XXII International Pigment Cell Conference (IPCC), Singapore, 9月4日～7日, 平成26年.
  9. 伊藤祥輔, 鈴木菜摘, 竹林史織, Stéphane Commo, 若松一雅. 中性 pH と銅イオンはドーパクロム以降のユーメラニン形成を促進する. 第25回日本色素細胞学会, 大阪大学医学部, 大阪, 11月16日～17日, 平成25年.
  10. 仁木洋子, 深田正紀, 深田優子, 奥 慎一郎, 岡村千絵子, 竹内聖二, 若松一雅, 伊藤祥輔, 錦織千佳子, Lieve Declercq, Daniel B. Yarosh, 齋藤尚亮. チロシナーゼの S-パルミトイル化はその分解を制御しメラニン生成を調整する. 第25回日本色素細胞学会, 大阪大学医学部, 大阪, 11月16日～17日, 平成25年.
  11. 増田吉弘, 奥田英和, 小池謙造, 門田圭司, 中村隆仁, 若松一雅, 伊藤祥輔, 宗田孝之. 量子化学計算からの 5,6-dihydroxyindole の光吸収特性の重合度と酸化度への依存性. 第25回日本色素細胞学会, 大阪大学医学部, 大阪, 11月16日～17日, 平成25年.
  12. 溝手雄, 若松一雅, 伊藤祥輔, 上中明子, 黒瀬浩史, 大植祥弘, 西尾佑美, 岡三喜男, 神保孝一, 中山睿一. 新規製剤 NPCMD による TLR4, NLRP3 の活性化, 第72回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜, 横浜, 10月3日～5日, 平成25年.
  13. 溝手雄, 若松一雅, 伊藤祥輔, 上中明子, 黒瀬浩史, 大植祥弘, 西尾佑美, 岡三喜男, 神保孝一, 中山睿一. 新規製剤 N-propionyl cysteaminylphenol-maleimid-dextran (NPCMD)による免疫応答賦活効果, 第17回日本がん免疫学会総会, ANA クラウンプラザホテル宇部, 山口, 7月3日～5日, 平成25年.
  14. K. Wakamatsu, K. Tabuchi, H. Tanaka, S. Ito. Degradative approach to the structure of neuromelanins. 18th Meeting of the European Society for Pigment Cell Research, Lisbon, Portugal, 9月9日, 平成25年.
  15. S. Ito, K. Wakamatsu. (Photo)degradation of eumelanin and pheomelanin and its physiological implication. 18th Meeting of the European Society for Pigment Cell Research, Lisbon, Portugal, 9月9日, 平成25年.
  16. 若松一雅, メラニンの化学, 第30回日本美容皮膚科学会総会, ウェスティンナゴヤキャッスル, 名古屋, 8月17日, 平成24年.
  17. 神保孝一, 米田明弘, 田村保明, 山下利春, 井藤彰, 本多裕之, 若松一雅, 伊藤祥輔, 野原聡, 中山睿一, 小林猛, メラニン形成を利用したメラノーマ標的の化学温熱免疫療法とペプチドワクチン, 第71回日本癌学会総会, ホテルロイトン札幌, 札幌, 9月19日～21日, 平成24年.
  18. 井藤彰, 山口雅紀, 岡本憲明, 實松裕次, 河邊佳典, 若松一雅, 伊藤祥輔, 本多裕之, 小林猛, 中山睿一, 田村保明, 黄倉真恵, 山下利春, 神保孝一, 上平正道. 機能性磁性ナノ粒子を用いた温熱療法で誘導される腫瘍浸潤T細胞におけるT細胞受容体のレパトワ解析. 第64回日本生物工学会, 神戸国際会議場, 神戸, 10月23日～26日, 平成24年.
  19. 若松一雅, 中西由紀子, 宮崎成美, Ludger Kolbe, 伊藤祥輔. UVA によるメラニンの酸化分解. 第24回日本色素細胞学会学術大会, 長浜バイオ大学, 長浜, 11月24日～25日, 平成24年.
  20. 伊藤祥輔, 若松一雅, Keely Glass, John D. Simon. ユーメラニン中のジヒドロキシインドール構造の加熱による架橋形成. 第24回日本色素細胞学会学術大会, 長浜バイオ大学, 長浜, 11月24日～25日, 平成24年.
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
  - (2)研究分担者  
伊藤 祥輔 (ITO, Shosuke)  
藤田保健衛生大学・名誉教授  
研究者番号: 70121431