

厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)
分担研究報告書

気道障害性を指標とする室内環境化学物質のリスク評価手法の開発に関する研究

気道障害性の *in vitro* 評価

研究分担者	香川(田中) 聡子	横浜薬科大学薬学部 教授
研究協力者	大河原 晋	横浜薬科大学薬学部 准教授
研究協力者	神野 透人	名城大学薬学部 教授

研究要旨：TRP (Transient Receptor Potential) チャンネルは温度や化学物質の刺激を感知する侵害刺激受容体で、特に TRPA1 と TRPV1 は気道過敏性に重要な役割を果たしている。本研究では、生活環境化学物質による侵害刺激を明らかにする目的で、既に研究代表者らが評価系を確立したヒト TRPV1 およびヒト TRPA1 に加え、気道での侵害刺激への関与が最近明らかにされたヒト TRPM8 について安定発現細胞株を用いるアッセイ系の確立を行った。さらに、生活環境化学物質による侵害刺激の種差を明らかにする目的で、マウス TRPA1 アッセイ系についても開発を行った。研究班共通検討対象物質に選定した 2-Ethyl-1-hexanol, 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (TexanolTM, TMPD-MIB と略す) および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIBTM, TMPD-DIB と略す) の 3 物質をはじめ、化粧品や家庭用品に使用される (-)-Menthol や、香料アレルゲン、タバコアルカロイド等生活環境中の化学物質に関して本研究で確立したイオンチャンネル活性化を指標として気道刺激性の種差を明らかにするとともに、それらの複合曝露の影響についても検討した。さらに、複合曝露時の相乗効果のメカニズムについても検討を加えた。その結果、ある種の化学物質については、その気道刺激性にヒトとマウスで種差があること、複数の環境化学物質の複合曝露によって気道刺激が相乗的に増強されることが判明した。気道刺激性などに関する安全性評価を行う際には侵害受容チャンネルの種差や、複合曝露の影響を十分に考慮する必要性が示された。

研究協力者：桃井 夢子 (横浜薬科大学薬学部)、浅井 理香 (名城大学薬学部薬学科)、野中 志保 (名城大学薬学部薬学科)、前川 梨沙 (名城大学薬学部薬学科)、森 葉子 (名城大学薬学部薬学科)

A. 研究目的

TRP (Transient Receptor Potential) チャンネ

ルは 6 回膜貫通型の非選択的 Cation チャンネルで、TRPV、TRPA、TRPM、TRPC、TRPP および TRPML の 6 つの Subfamily で構成され、ヒトでは 28 種類の遺伝子が同定されている。気道において、幾種類かの TRP チャンネルが末梢の知覚神経をはじめ、鼻腔や気管支、肺などの上皮系の細胞にも発現しており、咳などの侵害応答や炎症に関与する

ことが明らかにされている。著者らは、既に後根神経節 Total RNA からクローニングしたヒト TRPV1 (hTRPV1) およびヒト TRPA1 (hTRPA1) を安定的に発現する Flp-In 293 細胞株を樹立し、多種多様な生活環境化学物質がこれらの TRP チャンネルを活性化することを明らかにしてきた^{1,2)}。初年度の研究においては、hTRPV1 および hTRPA1 に加えて、気道での侵害刺激への関与が最近明らかにされたヒト TRPM8 (hTRPM8) について安定発現細胞株を用いるアッセイ系の確立を行い、研究班共通検討対象物質の評価を行うとともに、TRPA1 活性化について比較的大きな種差の存在が報告されていることから、生活環境化学物質による侵害刺激の種差を明らかにする目的で、マウス TRPA1 (mTRPA1) アッセイ系も開発した³⁾。

2 年目の研究では、これまでに樹立した hTRPA1 および mTRPA1 安定発現細胞株を用いる TRPA1 活性化のハイスループットアッセイ法を用いて、生活環境化学物質による TRPA1 の活性化とその種差について検討した。

最終年度においては、第 21 回 シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会において室内濃度指針値策定候補物質として追加されることが検討された 2-Ethyl-1-hexanol、2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (TexanolTM, TMPD-MIB と略す) および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIBTM, TMPD-DIB と略す) について TRPA1 に対する活性化を評価するとともに、それら化合物の侵害刺激におよぼす(-)-Menthol の効果について hTRPA1 高発現細胞株を用いて評価した。さらに、作用

機序の異なる 2 種類の TRPA1 アゴニストの相互作用について検討を加えた。

B. 実験方法

B-1. Calcium Mobilization Assay

hTRPA1 安定発現細胞株 (Flp-In 293/hTRPA1 細胞) はそれぞれ 100 µg/mL Hygromycin を添加した選択培地で培養した。Assay 前日に Flp-In 293/hTRPA1 細胞を Poly-D-Lysine-coated 96-well Dish に 3.5×10^5 cells/mL の細胞濃度で播種した。翌日に培地を除去して FLIPR Calcium 6 試薬溶液に置換し、37°C で 2 時間培養したのちに、分注機能付きマイクロプレートリーダー FlexStation3 を用いて下記の測定条件で被検物質曝露による Flp-In 293/hTRPA1 細胞の細胞内 Calcium 濃度の変動を記録した。

FlexStation3 測定条件

[Temperature]

37°C

[Read Mode]

Fluorescence/Bottom Read

[Wave Length]

Excitation: 485 nm

Emission: 525 nm

Cut off: 515 nm

[Sensitivity]

Readings: 3

PMT: Medium

B-2. Western Blot Assay と Immunoprecipitation Assay

Flp-In 293/hTRPA1 細胞を 60 mm ディッシュ (IWAKI 社製) に播種し一晩培養したのち、Component B 4 mL を各ディッシュに添加して 2 時間培養後、被験物質 1 mL を加えて 1 分後に Protease Inhibitor Cocktail (EDTA-free) を含む RIPA buffer 500 µL で細胞を回

収して Whole cell lysate を調製した。

7.5% ミニプロテイン® TGX™ プレキャストゲル (BIO-RAD 社製) を用いて Whole cell lysate を SDS-PAGE で分離し、PVDF 膜 (ATTO 社製) に転写した。3% BSA で一晩ブロッキング後、一次抗体として anti-phosphoserine antibody、二次抗体として peroxidase -linked anti-mouse antibody を用いてリン酸化タンパク質を検出した。

また、Calmodulin と TRPA1 タンパク質との相互作用をあきらかにする目的で、Whole cell lysate を anti-Calmodulin 抗体で免疫沈降し、上記と同様 Anti-V5-HRP Antibody を用いる Western Blot Assay を行った。

タンパク質の検出には Pierce™ ECL Plus を用い、Typhoon FLA-9000 (GE ヘルスケア社製) にて蛍光シグナルを解析した。

C. 結果と考察

C-1. hTRPM8 を活性化する室内環境化学物質のハイスループットスクリーニング系の確立と評価

ヒトの気道上皮、肺および気道の知覚神経末端で発現する侵害受容チャンネルとして TRPV1 および TRPA1 の他に TRPM8 が同定されていることから、本研究ではまずヒト前立腺 cDNA からクローニングした TRPM8 を安定的に発現する Flp-In 293 細胞株を新たに樹立した。

共通検討対象物質である TMPD-DIB、TMPD-MIB および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol について hTRPM8 に対する Agonist 作用を検討した結果、これらの化合物にはいずれも活性化能は認められなかった (data not shown)。

C-2. mTRPA1 を活性化する室内環境化学物質のハイスループットスクリーニング系の確立と評価

TRP Superfamily の中で、TRPA1 はヒトとげっ歯類の間のホモロジーが比較的 low (80%程度)、Menthol のように Agonist 作用に種差が認められる化合物が報告されている。室内環境化学物質による TRPA1 活性化の種差を明らかにするために、従来 Assay に用いてきた hTRPA1 と比較可能な mTRPA1 安定発現細胞を樹立し、典型的な TRPA1 Agonist である Cinnamic Aldehyde、ならびに hTRPM8 の Agonist であり、かつ hTRPA1 を活性化することが知られている Menthol を Positive Control として、両化合物による hTRPA1 と mTRPA1 の活性化を比較、検証した。その結果、図 1A に示すように、Cinnamic Aldehyde では、hTRPA1 と mTRPA1 でほぼ同一の濃度-反応曲線が得られ、EC50 値にもほとんど差異は認められなかった (それぞれ 23 μ M、17 μ M)。

C-3. 2-Ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB および TMPD-DIB による TRPA1 活性化の種差

研究班共通検討対象物質に選定した 2-Ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB および TMPD-DIB とその代謝物 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol による TRPA1 活性化の種差を検討した。評価化合物の構造式を図 2 に、評価結果を図 3 に示す。2-Ethyl-1-hexanol は、hTRPA1 および mTRPA1 のいずれのチャンネルに対しても濃度依存的な活性化を引き起こし、その EC50 濃度に顕著な差は認められなかった (ヒト TRPA1; 150 μ M、マウス TRPA1; 188 μ M)。一方、TMPD-MIB は、ヒト TRPA1 に対して濃度依存的な活性化を引

き起こし、典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し (EC50; 173 μ M)、mTRPA1 では、250 μ M を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した。

室内環境中で高頻度に検出される TMPD-DIB に関しては、本研究条件では hTRPA1 および mTRPA1 に対する活性化作用は認められなかった (data not shown)。しかし、TMPD-DIB の加水分解代謝物である TMPD-MIB が hTRPA1 に対する活性化作用を有することから、生体内に取り込まれた TMPD-DIB がカルボキシルエステラーゼによって加水分解を受けたのちに hTRPA1 の活性化を引き起こす可能性もある。

本研究班では分担研究者である埴岡らが TMPD-MIB からヒトカルボキシルエステラーゼによる加水分解によって 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol が生じることを見出している。TMPD-MIB の代謝物である 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol は、ヒトおよびマウスいずれの TRPA1 に対しても活性化作用は認められなかった (data not shown)。このことから、ヒトカルボキシルエステラーゼが TMPD-MIB の解毒代謝に重要な役割を果たしていると考えられる。

C-4. タバコアルカロイドによる TRPA1 活性化の種差

タバコ葉に含まれる Nicotine 類縁体 (図 4) がヒトおよび mTRPA1 に及ぼす影響について検討を行った。その結果、Nicotine の他に、Nornicotine、Anabasin および Anatabin はいずれも濃度依存的に hTRPA1 および mTRPA1 発現細胞株の細胞内カルシウム濃度を増加させた (図 5)。ただし、Anabasin

および Anatabin では、TRPA1 を異所的に発現していない Flp-In 293 細胞でも顕著な細胞内カルシウム濃度の増加が認められたことから、TRP チャンネル非依存的な機序も無視できない。

一方、Nicotine の酸化代謝物である Cotinine (図 4) について TRPA1 に対する影響を検討した結果、mTRPA1 では濃度依存的な活性化が認められるのに対し、hTRPA1 では細胞内カルシウム濃度の増加は観察されなかった (図 6)。

喫煙は気管支炎、肺炎や COPD (慢性閉塞性肺疾患) などの呼吸器系肺疾患の原因となることが知られている。その発症メカニズムとして、チャンネルの関与が示唆されている。特に、COPD の発症には気管支や肺の感覚神経 C 線維に発現する TRPA1 が関与することが報告されている。タバコ煙の成分の中で、NNN (N'-Nitrosornicotine)、NNK (4-(Methyl-nitrosoamino)-1-(3-pyridinyl)-1-butanone)、Formaldehyde や Acrolein などの化合物が COPD の発症に関与していると考えられており、実際に Formaldehyde や Acrolein が TRPA1 の活性化を引き起こすことが明らかにされている。一方、タバコの主要成分である Nicotine にも弱い TRPA1 活性化能が報告されているものの、Nicotine 以外のアルカロイド類の影響については明らかにされていなかった。本研究ではタバコアルカロイド 4 化合物の TRPA1 に対する影響を検討した結果、文献既知の Nicotine に加え、Nornicotine もヒトおよびマウス TRPA1 を濃度依存的に活性化することが明らかとなった。さらに、Nicotine 代謝物 Cotinine による TRPA1 活性化にはヒトとマウスの間に顕著な差異が認められ、mTRPA1 のみが活性化

されることが明らかとなった。本研究の結果から、タバコアルカロイドによる侵害刺激を評価する際には、代謝物の影響、ならびに種差の存在を考慮する必要があると考えられる。

C-5. テルペン類による TRPA1 活性化の種差

単環式モノテルペン類である (-)-Menthol および α -Terpineol、非環式モノテルペン類である (-)-Citronellal および Linalool (図 7) について評価した。(-)-Menthol では、hTRPA1 が典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し、mTRPA1 の場合は、細胞内カルシウム濃度の最高値と比較すると、hTRPA1 の 1/2 ないし 1/3 程度で、100 μ M を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した (図 8)。3 種類のテルペン類、 α -Terpineol、(-)-Citronellal および Linalool はいずれも hTRPA1 および mTRPA1 の両者を濃度依存的に活性化したが、(-)-Citronellal では EC50 値に 3 倍程度の差異が認められ、(-)-Citronellal に対する感受性には種差が存在することが明らかになった。

TRP Superfamily の中で、TRPA1 はヒトとげっ歯類の間のホモロジーが比較的 low (80%程度)、Menthol のように Agonist 作用に種差が認められる化合物が報告されていることから、本研究では Menthol 以外に単環式モノテルペン類と、非環式モノテルペン類について評価した結果、(-)-Citronellal に対する感受性に種差が存在することが明らかになった。これらのテルペン類は香料として化粧品や家庭用品に広範に使用されており、気道刺激性などに関する安全性評

価を行う際には侵害受容チャネルの種差を十分に考慮する必要があると考えられる。

C-6. 香料アレルゲンによる TRPA1 活性化

香料成分として欧州連合の化粧品指令でアレルギー物質としてラベル表示を義務付けられた物質を対象として、TRP イオンチャネル活性化について検討を行った。植物エキス等を除く 18 物質 (図 9)のうち、Benzyl cinnamate については、試薬調製の段階で結晶の析出が認められたため、評価対象外とした。終濃度 1000 μ M を最高濃度として細胞内カルシウム濃度の増加を指標として hTRPA1 チャネルの活性化を評価した結果、今回評価可能であった 17 物質中 9 物質が濃度依存的に TRPA1 の活性化を引き起こすことが明らかとなった (図 10)。なかでも、2-(4-tert-Butylbenzyl) propionaldehyde による TRPA1 活性化の EC50 値は 33 μ M であり、この数値は典型的な TRPA1 活性化物質で、本研究において陽性対照物質として評価した trans-Cinnamaldehyde に匹敵することが明らかとなった。本研究で、TRPA1 の活性化を引き起こすことが判明した香料について作用の強さを EC50 値で比較した結果、2-(4-tert-Butylbenzyl) propionaldehyde に次いで、Isoeugenol (EC50; 103 μ M)、Citral (EC50; 118 μ M)、b-Citronellol (EC50; 191 μ M)、Eugenol (EC50; 216 μ M)、Hydroxy-citronellal (EC50; 308 μ M)、Geraniol (EC50; 327 μ M)、Coumarin (EC50; 445 μ M)、Cinnamyl alcohol (EC50; 値は本試験条件下では算定不可)の順であった。なお、今回の実験条件では TRPV1 の活性化は認められなかった (data not shown)。

さらに複数の化合物の曝露により、相乗的な活性化が引き起こされることが判明した(図 11)。

近年、高残香性の衣料用柔軟仕上げ剤や香り付けを目的とする加香剤商品等の市場規模が拡大している。それに伴い、これら生活用品の使用に起因する危害情報も含めた相談件数が急増しており、呼吸器障害をはじめ、頭痛や吐き気等の体調不良が危害内容として報告されている⁴⁾。このような室内環境中の化学物質はシックハウス症候群や喘息等の主要な原因、あるいは増悪因子となることが指摘されているが、そのメカニズムについては不明な点が多く残されている。

著者らは、これまでに残香をうたった衣類用柔軟剤を対象として、ディスク型 MonoTrap DCC18 (ジーエルサイエンス) に揮発性成分を吸着させ Methanol で抽出し、その Methanol 抽出液についてヒト TRPA1 の活性化能を検討した結果、評価対象とした 20 製品中 18 製品が用量依存性的かつ溶媒対照 (Methanol) の 2 倍を超える TRPA1 の活性化を示すことを報告した²⁾。さらに、Methanol 抽出液を GC/MS で分析した結果、これら柔軟剤の香料成分として含まれる Linalool に加えて、Rose Oxide にも TRPA1 活性化能があることを明らかにした²⁾。

そこで本研究では、香料成分としてラベル表示を義務付けられている物質を対象として、TRP イオンチャネル活性化について検討を行った結果、17 物質中 9 物質が濃度依存的にヒト TRPA1 の活性化を引き起こすこと、さらに、複合曝露されることによりその作用が増強されることが判明した。以上

の結果より、これら香料アレルゲンが TRPA1 の活性化を介して気道過敏の亢進を引き起こす可能性を示唆しており、シックハウス症候群の発症メカニズムを明らかにする上でも極めて重要な情報であると考えられる。

C-7. 消毒副生成物・ハロアセトアミドによる TRPA1 活性化

Chloroacetamide をはじめとするハロアセトアミド類 9 物質 (図 12) についてヒト TPRA1 及び TRPV1 に対する活性化を評価した。その結果、TRPV1 の活性化は認められなかったが (data not shown)、Bromoacetamide、Tribromoacetamide、Dibromochloroacetamide が濃度依存的に TPRA1 を活性化することが明らかになり、その EC50 値はそれぞれ 41 μ M、107 μ M、246 μ M であった (図 13)。

塩素による消毒は水道水のみならず公衆浴場や遊泳プール等において広範に用いられているが、その過程で生ずる消毒副生成物の中には発がん性や皮膚・粘膜刺激性等が指摘されているものもある。また、屋内プールでの遊泳と喘息の発症リスクとの因果関係を指摘する報告もあり、消毒副生成物がこれら疾病の発症や増悪に重要な役割を果たしている可能性も考えられる。本研究では、トリハロメタン類やハロ酢酸類に比べて毒性が強いハロゲン化含窒素消毒副生成物・ハロアセトアミド類が気道過敏性の亢進にも深く関与する TRPA1 を活性化することが明らかになった。塩素消毒によって生じる副生成物によって TRPA1 を介した感覚神経あるいは気道の刺激が引き起こされ

る可能性を示唆するものであると考えられる。

C-8. hTRPA1 活性化における新規室内濃度指針値策定候補物質と (-)-Menthol の相乗作用

TMPD-MIB、2-Ethyl-1-hexanol および (-)-Menthol 単独処理による hTRPA1 の活性化を図 14 に示す。これら化合物単独処理によって hTRPA1 の濃度依存的な活性化が認められるが (図 14)、これら化合物の単独処理では TRPA1 の活性化が認められない濃度域において、TMPD-MIB と (-)-Menthol の同時処理、2-Ethyl-1-hexanol と (-)-Menthol の同時処理によって顕著な TRPA1 の活性化が認められることが判明した (図 15)。

C-9. Cinnamaldehyde 前処理による (-)-Menthol の hTRPA1 活性化増強

(-)-Menthol の hTRPA1 活性化における Cinnamaldehyde を前処理の影響を検討した。Cinnamaldehyde 単独処理では hTRPA1 の顕著な活性化認められない濃度領域において、Cinnamaldehyde で処理し、その約 20 秒後に (-)-Menthol で処理することにより、濃度依存的な TRPA1 活性の増強が認められた (図 16)。

C-10. Cinnamaldehyde 処理による TRPA1 タンパク質リン酸化ならびに Calmodulin との相互作用

Allyl Isothiocyanate や Cinnamaldehyde などは、hTRPA1 チャンネルのシステイン残基の酸化修飾反応により活性化する可能性が示されているが、この活性化に関与する 3CK (C621, C641, C665, K710) 領域とは別に、

(-)-Menthol や Linalool が作用する ST (S873, T874) 領域が存在し、3CK 領域はシステイン残基との共有結合による活性化部位として、また ST 領域はリガンド結合による活性化部位として作用すると考えられている。近年、プロテインキナーゼ A による TRPA1 の Ser 残基のリン酸化⁵⁾、ならびに低濃度のカルシウムイオンの流入による C 末端領域への Calmodulin の結合⁶⁾が TRPA1 の活性化を増強させる機序として示唆された。そこで本研究では、作用機序の異なる 2 種類の TRPA1 アゴニストの複合曝露時の活性化メカニズムをあきらかにする目的で、TRPA1 のリン酸化ならびに TRPA1 の C 末端領域への Calmodulin の結合に関して検討した。

Flp-In-293/hTRPA1 細胞を Cinnamaldehyde (15.6 μ M, 31.2 μ M) で処理しても、今回の実験条件下では、ヒト TRPA1 タンパク質のリン酸化の亢進は認められなかった (図 17)。

一方、Cinnamaldehyde (15.6 μ M, 31.2 μ M) で処理した Flp-In 293/hTRPA1 細胞の hole cell lysate を anti-Calmodulin で免疫沈降して、抗 V5 抗体を用いて検出したところ、Cinnamaldehyde 処理群では、hTRPA1 に相当する分子サイズ的位置にシグナルが検出された (図 18)。この結果は、Cinnamaldehyde によって Calmodulin と TRPA1 の結合が促進される可能性を示唆している。すなわち、Cinnamaldehyde の処理によって細胞内の Ca イオン濃度が増加し、Calmodulin が TRPA1 の C 末端に結合することが相乗的活性化に寄与している可能性が示された。

D. 結論

本研究では、これまでに樹立した hTRPA1

安定発現細胞株を用いる TRPA1 活性化のハイスループットアッセイ法に加えて、気道での侵害刺激への関与が最近明らかにされた hTRPM8 について安定発現細胞株を用いるアッセイ系の確立を行った。さらに、生活環境化学物質による侵害刺激の種差を明らかにする目的で、mTRPA1 アッセイ系も確立した。確立したアッセイ系を用いて、生活環境化学物質による TRP イオンチャネルの活性化とその種差、ならびにそれら化学物質の複合曝露による影響を検討した。その結果、室内に存在する多種化学物質がイオンチャネルの活性化を介して気道刺激を引き起こす可能性を示した。さらに、ある種の化学物質については、その気道刺激性にヒトとマウスで種差があること、複数の環境化学物質の複合曝露によって気道刺激が相乗的に増強されることが判明した。気道刺激性などに関する安全性評価を行う際には侵害受容チャネルの種差や、複合曝露の影響を十分に考慮する必要性が示された。

E. 参考文献

1. 厚生労働科学研究費補助金 化学物質リスク研究事業「家庭用品から放散される揮発性有機化合物の気道刺激性及び感受性を指標とするリスク評価 (H22 - 化学 - 一般 - 002)」研究代表者 香川聡子, 平成 22 年度~24 年度 総合研究報告書
2. 厚生労働科学研究費補助金 化学物質リスク研究事業「家庭用品から放散される揮発性有機化合物の健康リスク評価モデルの確立に関する研究 (H25 - 化学 - 一般 - 006)」研究代表者 香川聡子, 平成 25 年度~27 年度 総合研究報

告書

3. 厚生労働科学研究費補助金 化学物質リスク研究事業「気道障害性を指標とする室内環境化学物質のリスク評価手法の開発に関する研究 (H27 - 化学 - 一般 - 009)」研究代表者 神野透人, 平成 27 年度 総括・分担研究報告書
4. 柔軟剤のにおいに関する情報提供、独立行政法人国民生活センター 報道資料、平成 25 年 9 月 19 日
5. Meents JE, Fischer MJM, McNaughton PA: Sensitization of TRPA1 by Protein Kinase A. *PLoS ONE* 12(1): e0170097. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170097> (2017).
6. Hasan R, Leeson-Payne ATS, Jaggar JH, Zhang X: Calmodulin is responsible for Ca²⁺-dependent regulation of TRPA1 Channels. *Sci Rep.*, 7, 45098 doi:10.1038/srep4509845098 (2017).

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Takeuchi S., Tanaka-Kagawa T., Saito I., Kojima H., Jin K., Satoh M., Kobayashi S., Jinno H.: Differential determination of plasticizers and organophosphorus flame retardants in residential indoor air in Japan. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2015, Jun 24. doi:10.1007/s11356-015-4858-z
2. Ephedra Herb extract activates/desensitizes transient receptor potential vanilloid 1 and reduces capsaicin-induced pain. Nakamori S, Takahashi J, Hyuga S, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Hyuga M, Hakamatsuka T, Odaguchi H, Goda Y, Hanawa T, Kobayashi Y. *J Nat Med*. 2017 Jan;71(1):105-113. doi: 10.1007/s11418-016-1034-9. Epub 2016 Sep 8.

学会発表

1. 河上 強志, 伊佐間 和郎, 香川(田中) 聡

- 子, 神野 透人: 家庭用水性スプレー製品中のグリコール類及びグリコールエーテル類等の分析, 24 回環境化学討論会, 2015 年 6 月
2. Jinno H, Tanaka-Kagawa T: Revision of the Indoor Air Quality Guidelines in Japan: Consumer Products as Sources of Air Pollution in Indoor Environment. AsiaTox 2015, 2015 年 6 月
 3. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 神野 透人: 生活環境化学物質による TRP イオンチャンネルの活性化, 第 42 回日本毒性学会学術年会, 2015 年 6 月
 4. 田原 麻衣子, 真弓 加織, 五十嵐 良明, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: COSMO-RS 法による空気-鼻粘液分配係数の予測, 第 42 回日本毒性学会学術年会, 2015 年 6 月
 5. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 神野 透人: 金属化合物によるヒト侵害刺激受容 TRP イオンチャンネルの活性化, メタルバイオサイエンス研究会 2015, 2015 年 8 月
 6. 香川(田中) 聡子, 田原 麻衣子, 上村 仁, 斎藤 育江, 武内 伸治, 神野 透人: 室内環境中の粒子状物質の日内変動とその組成に関する研究, フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2015 年 9 月
 7. 河上 強志, 伊佐間 和郎, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: 家庭用芳香剤などのスプレー製品に含まれるグリコールエーテル等の実態調査, 第 52 回全国衛生化学技術協議会年会, 2015 年 12 月
 8. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 埴岡 伸光, 神野 透人: 香料アレルゲンによるヒト侵害受容器 TRPA1 の活性化, 第 43 回日本毒性学会学術年会, 名古屋, 2016 年 6 月
 9. 野中 志保, 戸邊 隆夫, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田 康次, 大河原 晋, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: タバコアルカロイドによる侵害受容チャンネルの活性化, 第 62 回 日本薬学会東海支部大会, 名古屋, 2016 年 7 月
 10. 浅井 理香, 戸邊 隆夫, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田 康次, 大河原 晋, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: テルペン類による侵害受容体 TRPA1 の活性化: ヒトおよびマウスの種差, フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー, 東京, 2016 年 12 月
 11. 神野 透人, 浅井 理香, 野中 志保, 戸邊 隆夫, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田 康次, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子: タバコ煙による侵害刺激受容体活性化の種差に関する研究, 平成 28 年室内環境学会学術大会, つくば, 2016 年 12 月
 12. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人: 香料アレルゲンによる気道刺激に関する研究, 平成 28 年室内環境学会学術大会, つくば, 2016 年 12 月
 13. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人: 消毒副生成物・ハロアセトアミドによるヒト侵害受容器 TRPA1 の活性化, 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2016 年 3 月
 14. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 青木 明, 植田 康次, 岡本 誉士典, 埴

- 岡 伸光, 神野 透人:室内濃度指針値策
定候補物質によるヒト侵害受容体
TRPA1 活性化とその種差:第 44 回日本
毒性学会学術年会, 横浜, 2017 年 7 月
15. 前川 梨沙, 青木 明, 岡本 誉士典, 植
田 康次, 大河原 晋, 埴岡 伸光, 香川
(田中) 聡子, 神野 透人:作用機序の異
なる 2 種類のアゴニストによるヒト侵
害受容体 TRPA1 の相乗的活性化, フォ
ーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコ
ロジー, 仙台, 2017 年 9 月
16. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史,
長谷川 達也, 埴岡伸光, 神野透人:侵
害刺激受容体を活性化する金属化合物
に関する研究, メタルバイオサイエンス
研究会 2017, 岡山, 2017 年 10 月
17. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史,
青木 明, 植田 康次, 岡本 誉士典, 埴
岡 伸光, 神野 透人:新規室内濃度指針
値策定候補物質によるヒト侵害受容体
TRPA1 活性化とその種差, 平成 29 年室
内環境学会学術大会, 佐賀, 2017 年 12
月
18. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 百井 夢子,
磯部 隆史, 青木 明, 植田 康次, 岡本
誉士典, 埴岡 伸光, 神野 透人:TRPA1
活性化における新規室内濃度指針値策
定候補物質と(-)-Menthol の相乗作用, 日
本薬学会第 138 年会, 金沢, 2018 年 3
月

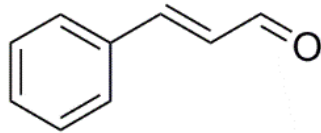
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含
む)

特許取得

なし

実用新案登録



trans-Cinnamaldehyde

CAS# 14371-10-9

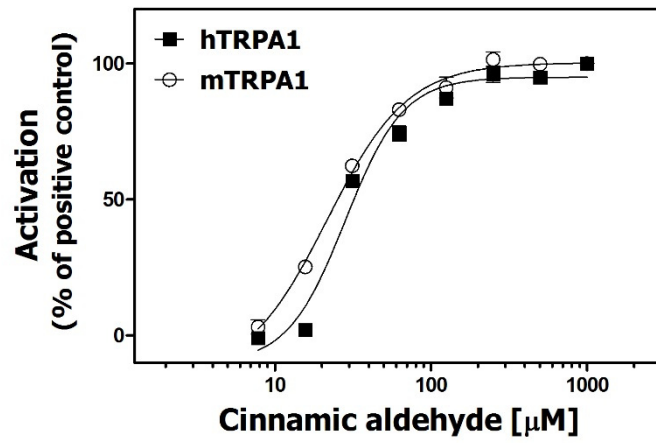
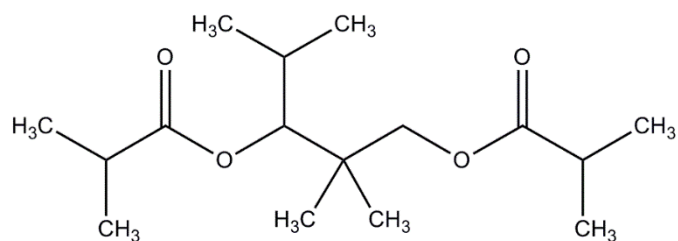
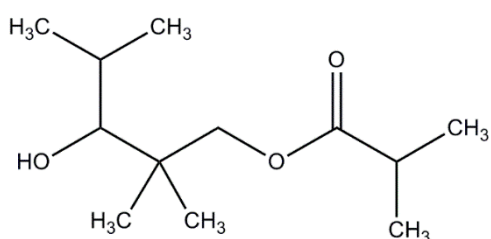


図1 Cinnamic Aldehyde による hTRPA1 および mTRPA1 の活性化



TMPD-DIB; 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

CAS# 6846-50-0

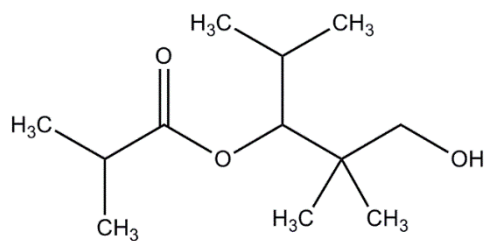


3-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl

Isobutyrate

TMPD-MIB(60%)

CAS# 74367-34-3

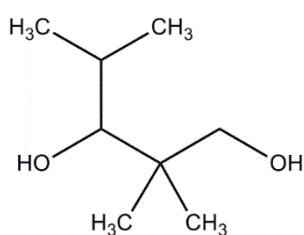


2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol 3-

Monoisobutyrate

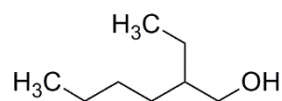
TMPD-MIB(40%)

CAS# 25265-77-4



2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol

CAS# 144-19-4



2-Ethyl-1-hexanol

CAS# 104-76-7

図2 研究班共通検討対象物質

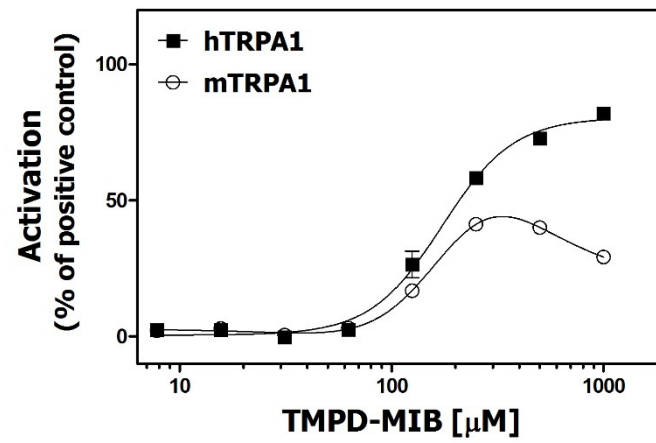
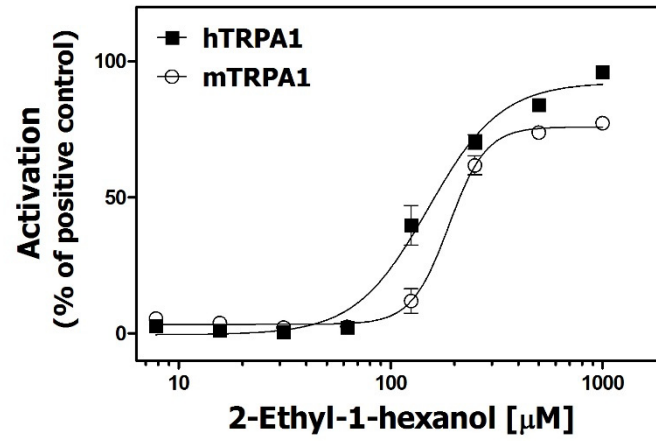


図3 2-Ethyl-1-hexanol および TMPD-MIB による TRPA1 活性化の種差

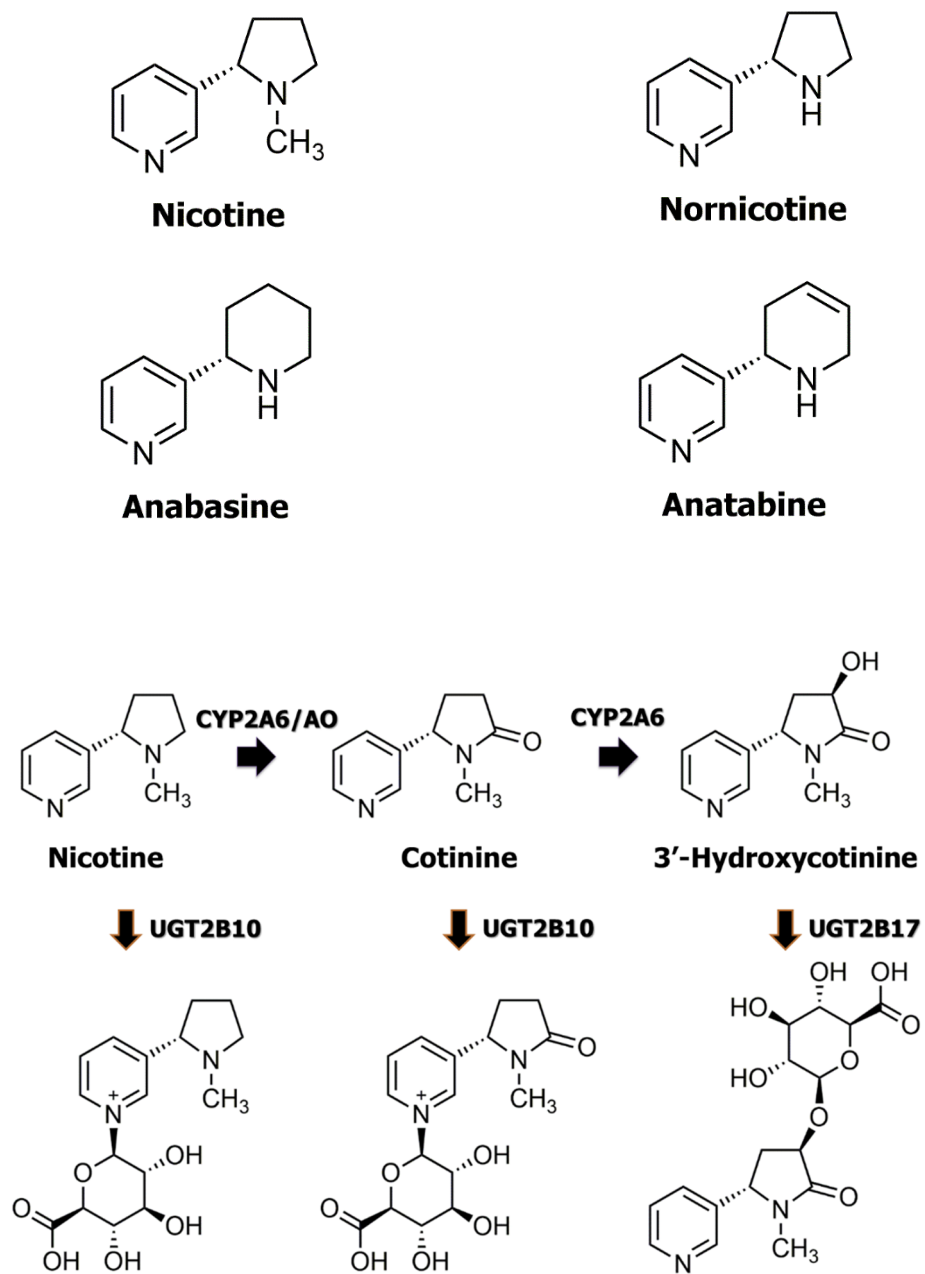


図4 本研究で評価したタバコアルカロイドとその代謝

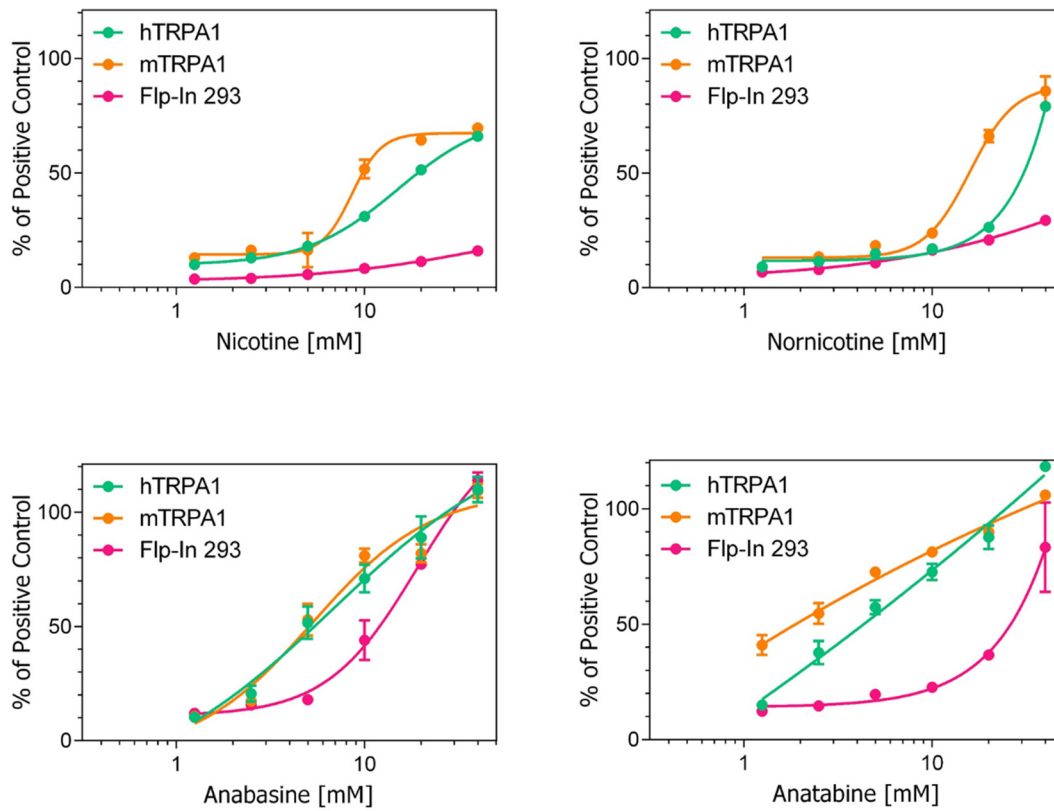


図5 タバコアルカロイドによる TRPA1 活性化の種差

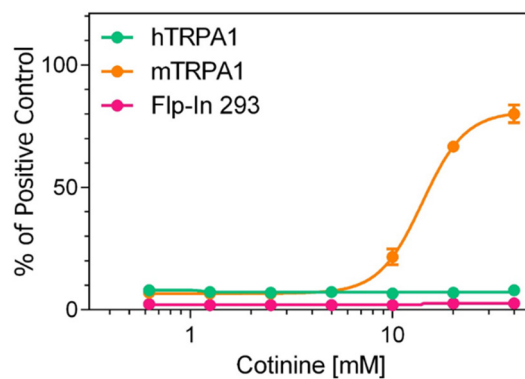


図6 ニコチン代謝物・コチニンによる TRPA1 活性化の種差

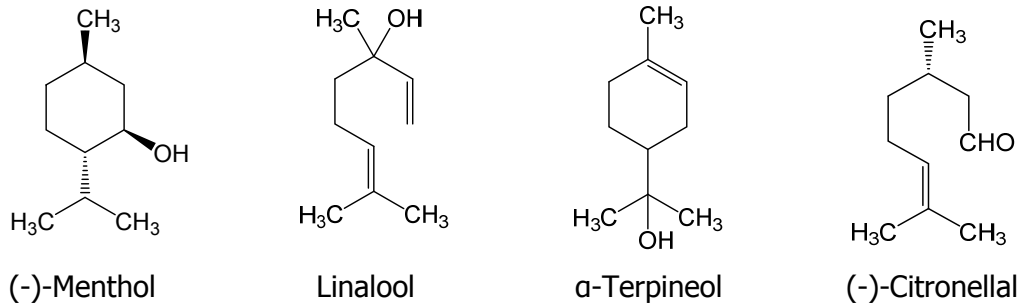


図7 本研究で評価したテルペン類の構造式

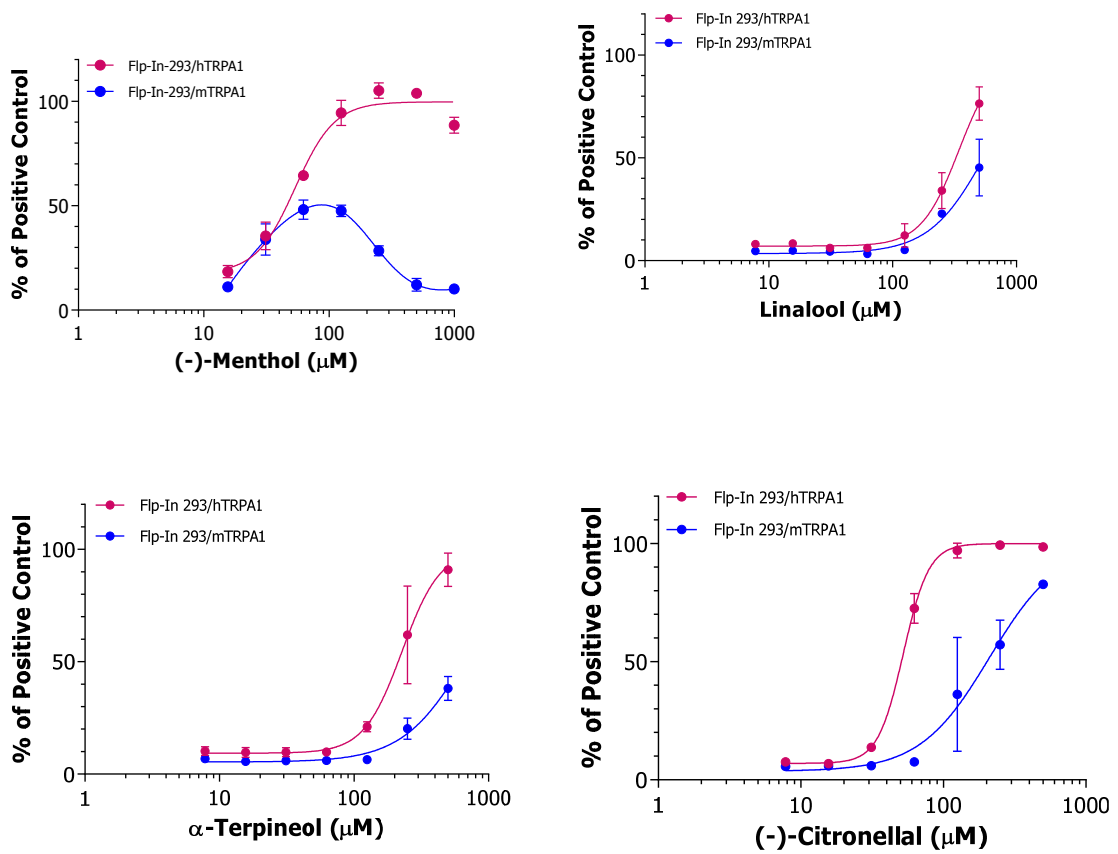


図8 テルペン類による TRPA1 活性化の種差

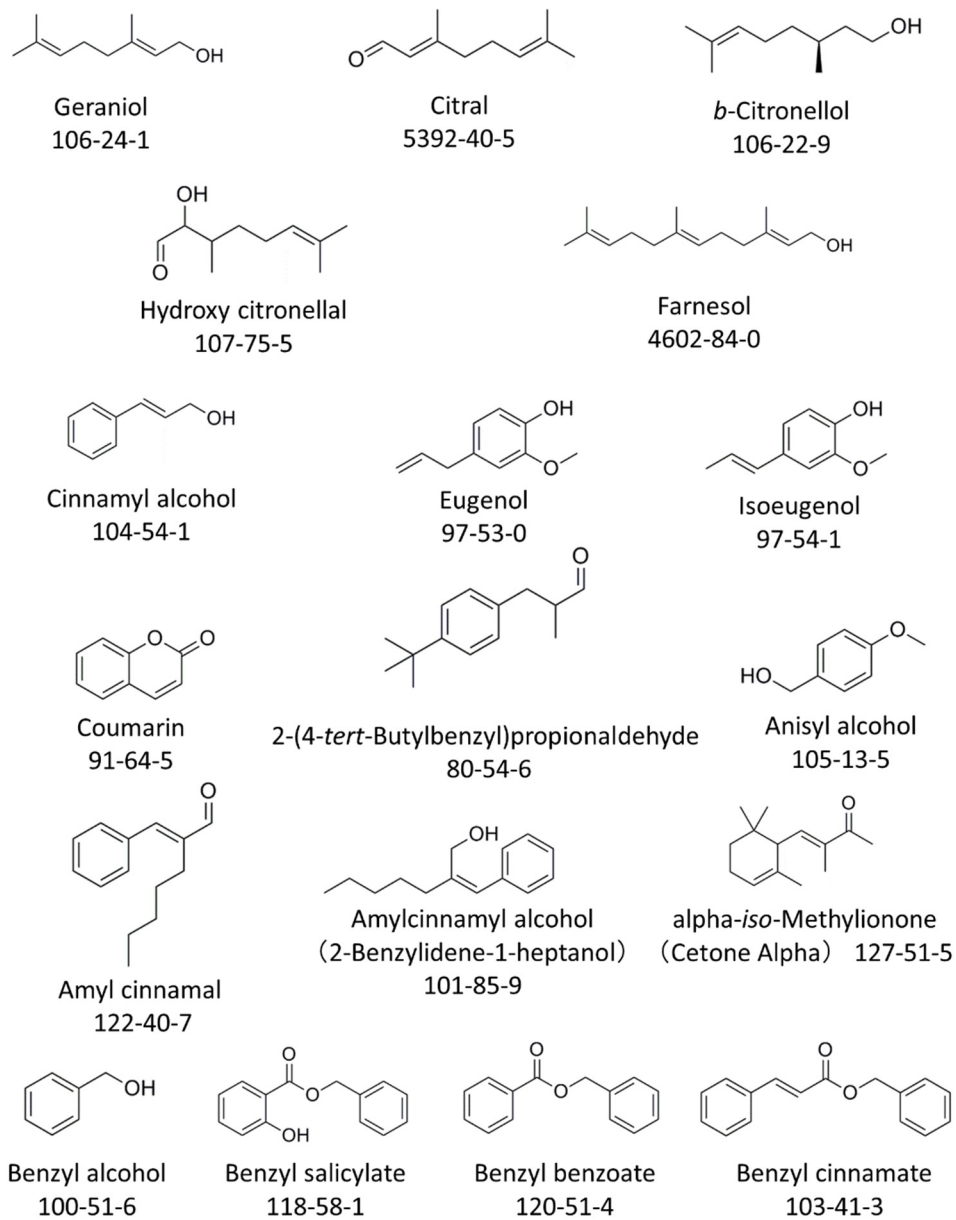


図9 本研究で評価した香料アレルゲン（数字は CAS No.）

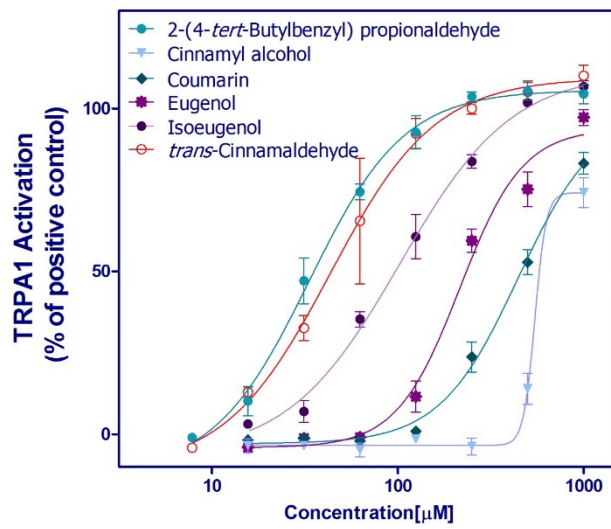
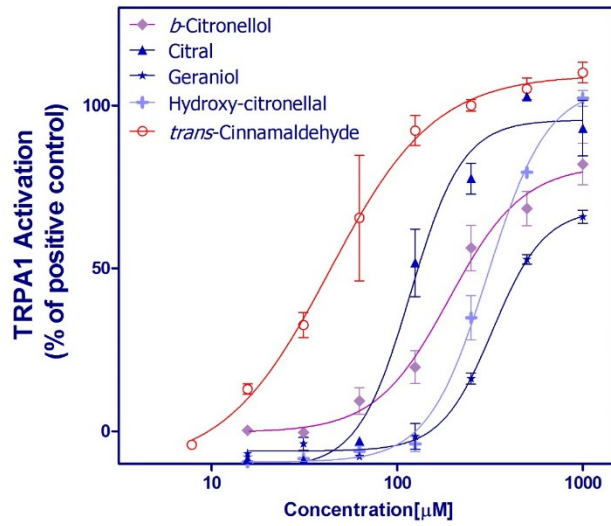


図 10 香料アレルゲンによるヒト TRPA1 活性化

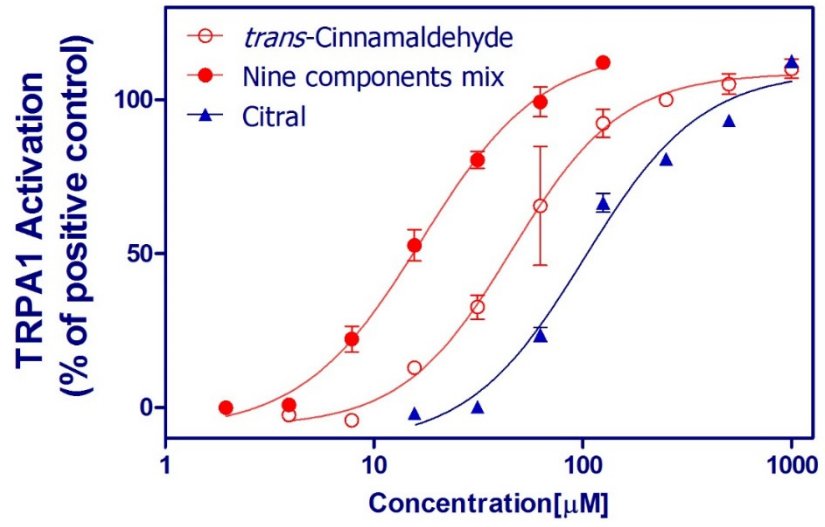


図 11 香料アレルゲン複合曝露によるヒト TRPA1 活性化の相乗効果

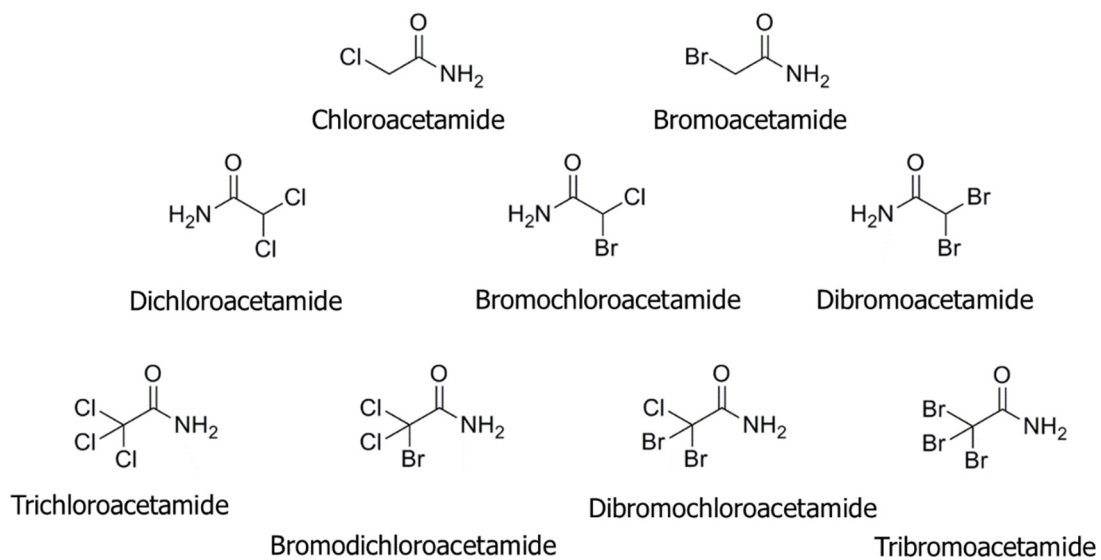


図 12 本研究で評価した消毒副生成物 ハアロアセトアミド

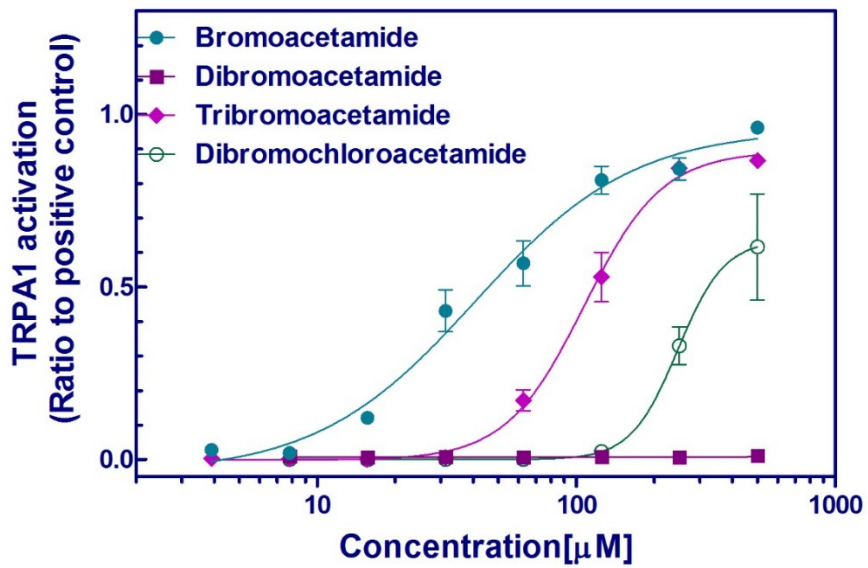
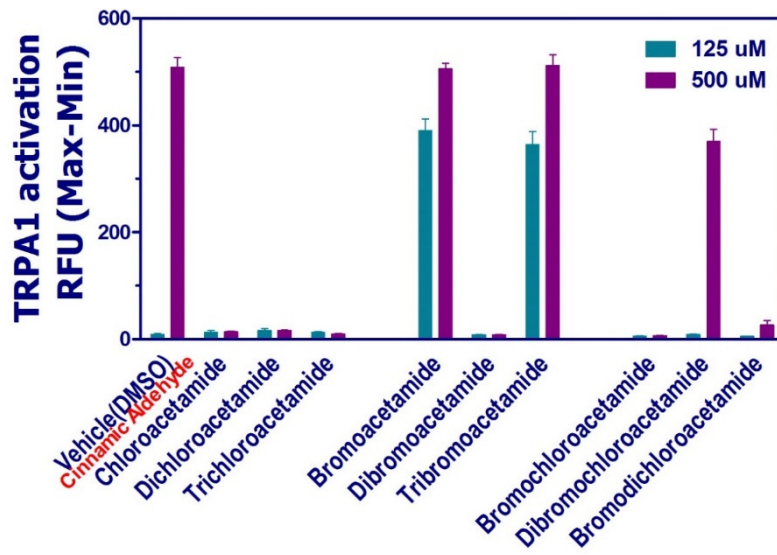


図 13 消毒副生成物・ハロアセトアミドによるヒト TRPA1 活性化

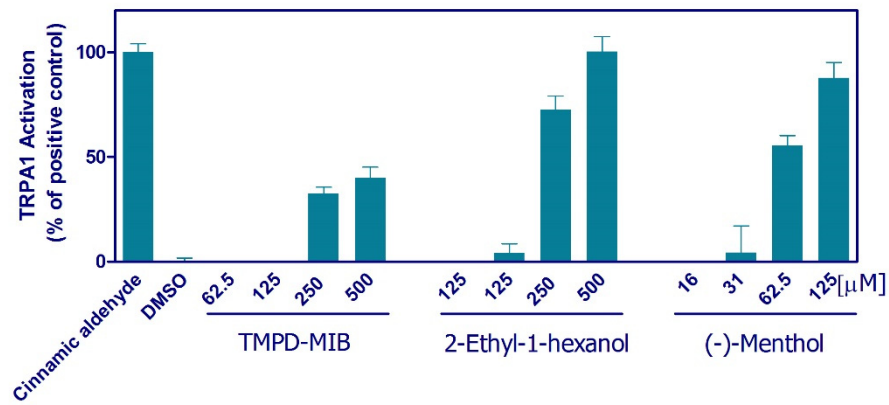


図 14 TMPD-MIB および 2-Ethyl-1-hexanol によるヒト TRPA1 の活性化

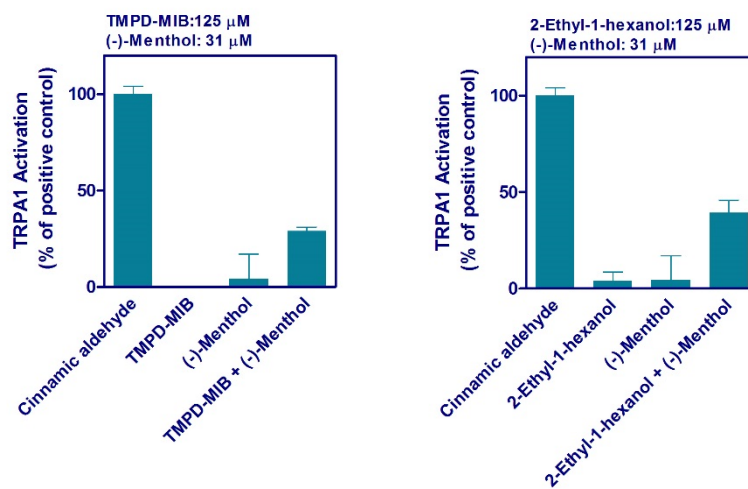


図 15 TMPD-MIB および 2-Ethyl-1-hexanol によるヒト TRPA1 の活性化における (-) - Menthol による増強

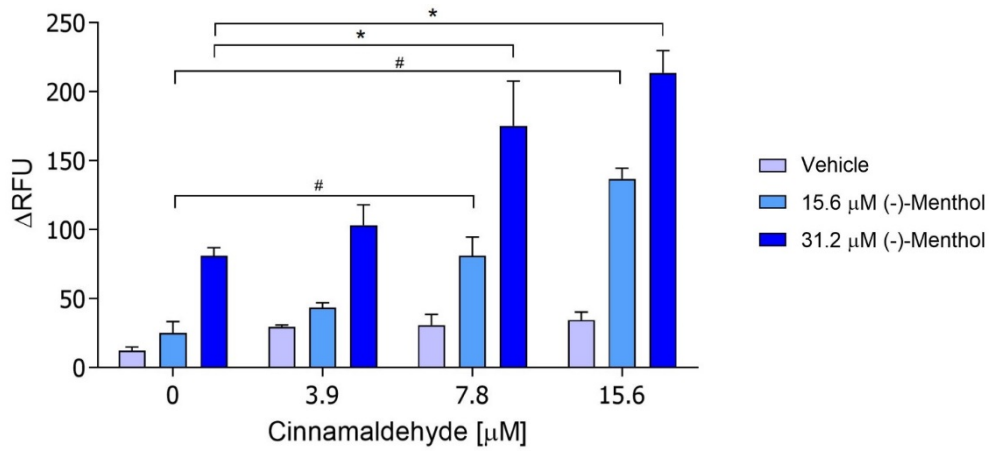


図 16 (-) - Menthol によるヒト TRPA1 の活性化における
 Cinnamaldehyde 前処理の影響
 (#, * ; $p < 0.001$)

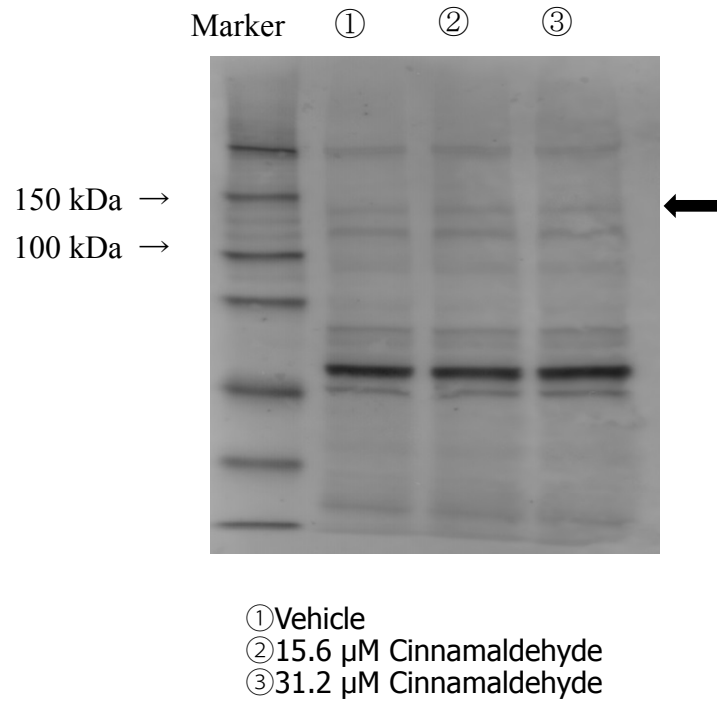


図 17 ヒト TRPA1 のリン酸化におよぼす Cinnamaldehyde の影響

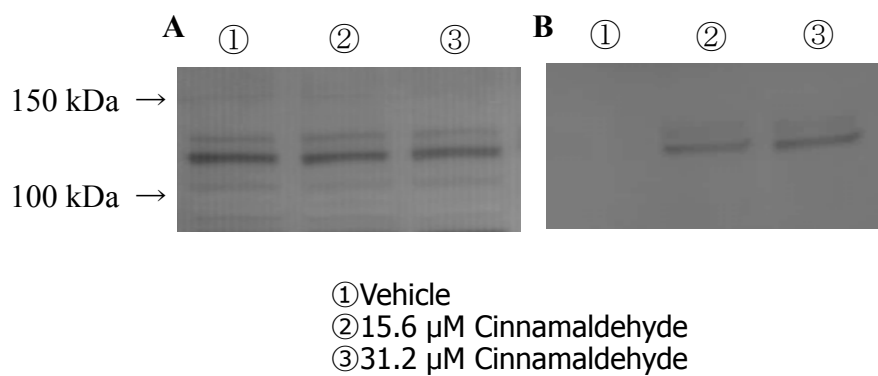


図 18 Cinnamaldehyde によるヒト TRPA1 への Calmodulin の結合

(A) IB: anti-V5 (Whole cell lysate), (B) IP: anti-Calmodulin, IB: anti-V5