

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月4日現在

機関番号：23701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590169

研究課題名（和文） 網膜血管系のレドクス恒常性維持機構の破綻に起因する病態増悪メカニズムの解明

研究課題名（英文） Contribution of impairment of redox-regulation in development of Intraretinal microvascular abnormalities

研究代表者

足立 哲夫（ADACHI TETSUO）

岐阜薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40137063

研究成果の概要（和文）:

糖尿病網膜症は網膜細小血管障害であり、小胞体（ER）ストレスが細胞障害の一因になっている。ER ストレス誘導剤をマウス眼内投与した場合、トレーサー色素の網膜血管系からの漏出が観察された。網膜血管内皮細胞に ER ストレス誘導剤を作用させた場合、内皮細胞層透過性亢進とともにタイトジャンクションタンパクである claudin-5 の発現低下が認められ、この反応には p38 MAP kinase と NF- κ B シグナル系が関与していた。またステロイドは受容体依存的にこの反応を抑制した。

研究成果の概要（英文）:

Diabetic retinopathy (DR) is characterized by the development of intraretinal microvascular abnormalities. Endoplasmic reticulum (ER) stress is known to play a pathogenic role in vascular impairment in DR. Intravitreal injection of an ER stress inducer in mice increased the permeability of tracer dye across retinal blood vessels. The treatment of human retinal endothelial cells with ER stress inducers leads to the down-regulation of mainly claudin-5 among tight junction proteins, accompanied by elevation of retinal endothelial permeability. Moreover, p38 MAP kinase and subsequent NF- κ B signaling pathways should contribute to the regulation of claudin-5 expression. The effects of dexamethasone are thought to be due to the transrepression of the above signaling and direct regulation of claudin-5 gene.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
21年度	1,300,000	390,000	1,690,000
22年度	1,100,000	330,000	1,430,000
23年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：糖尿病網膜症，網膜血管内皮細胞，小胞体ストレス，レドクス恒常性，血管透過性，タイトジャンクション，MAP kinase，NF- κ B，extracellular-superoxide dismutase

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者の著しい増加に伴い、その細小血管合併症である糖尿病網膜症の患者は200万人以上に達し、日本における中途失明原因疾患の第2位を占め社会的に大きな問題となっている。糖尿病網膜症などの加齢とともに増加する網膜変性疾患の発症にはレドクス恒常性の破綻がその引き金の一つになると考えられている。一方、網膜細小血管系を構成する内皮細胞とそれを囲む周皮細胞（peri細胞とMüller細胞）との間にはレドクス恒常性を維持するためのストレス防御機構が存在すると考えられるが、そのメカニズムは全く明らかにされていない。

糖尿病病態の長期化により陥る網膜細小血管の動脈硬化や閉塞に起因するハイポキシアを介して誘導される小胞体(ER)ストレスがperi細胞のアポトーシス(pericyte loss)を誘導すること、さらに、tumor necrosis factor- α (TNF- α)などのサイトカイン類が血管系障害に関わることも報告された。

本課題の主マーカーである extracellular-superoxide dismutase (EC-SOD) については、近年、血管系を酸化ストレスから防御している因子として注目を集め、病態との関連性に着目した研究が増えている。応募者はEC-SODの発見者であるMarklund博士(Sweden, Umeå大学)との共同研究を発端とし、本酵素が血管内皮細胞表面に局在してゾーンディフェンスラインを形成し血管系を酸化ストレスから防御していること、EC-SODの発現誘導が血管系の酸化ストレス防御能の亢進に寄与していることを明らかにしてきた。また、糖尿病・インスリン抵抗性病態における血中EC-SODレベルの変動や血管系細胞での発現制御についても明らかにした。さらに、ハイポキシアに起因するEC-SOD発現低下に対し抗酸化剤が抑制作用を有することを見出すなど有用化合物の探索に関わる研究も実施してきた。

2. 研究の目的

(1) 糖尿病網膜症の進展過程においては組織がハイポキシアに陥ること、それに起因する酸化ストレスやERストレスが結果的に内皮細胞でのvascular endothelial growth factor (VEGF)発現を亢進し、無秩序な血管新生から失明を誘発することが報告されている。一方、周皮細胞の生理的役割・機能については不明な点が多い。我々は、すでに血管においては酸化ストレス防御酵素であるEC-SODの発現が血管系の恒常性維持に重要な役割を演じていることを明らかにしてきた。そこで、網膜血管系構成細胞のストレス(酸化ストレス, ERストレス)に対する

抵抗性をEC-SODなどの抗酸化酵素と向炎症因子の発現量から解析する。また、その発現調節機構を明らかにする。

(2) 糖尿病網膜症は網膜血管の透過性が亢進した炎症病態であると言われている。そこで、ラットおよびヒト網膜血管内皮細胞を用い、ERストレスを負荷した場合の内皮細胞層透過性とタイトジャンクション構成タンパク質(TJP)発現の変動並びにその細胞内シグナリングメカニズムについて明らかにする。

(3) ストレス負荷時の細胞応答メカニズムを解明するために、網膜血管系細胞のみならず、他の細胞(例えば、神経系細胞, 単球-マクロファージ, 腎尿細管細胞, 脂肪細胞)などでのストレスに対する細胞応答反応を明らかにし、それらの情報を総合的に考察する。

3. 研究の方法

(1) 各細胞は、それぞれの細胞に至適の培地を用い、至適条件下で培養した。

(2) SOD, TJP, ERストレスマーカーおよび他の因子のmRNA発現量はRT-PCR法またはreal-time PCR法により測定した。

(3) EC-SODタンパク量はELISAにて測定した。また、各種因子のタンパク発現量はwestern blottingにて解析した。

(4) 網膜血管内皮細胞層透過性はトランスウエルを用い、電気抵抗値, FITC-dextranやFITC-albuminの透過率にて解析した。

4. 研究成果

(1) 網膜血管系構成細胞のストレス抵抗性

Peri細胞ではVEGFやTNF- α などの向炎症性因子の発現が比較的高いにもかかわらず、EC-SODの発現は低く、このことがperi細胞が酸化ストレスに対し脆弱である一因と考えられた。Peri細胞から調製したconditioned mediumを別のperi細胞培養系に添加した場合、EC-SODの発現は低下し、一方でVEGFやTNF- α , ERストレスマーカーであるGRP78の発現は亢進していた。また、EC-SOD発現の変動は細胞総タンパク量やMTT活性の変動とよく一致した。ERストレス誘導剤やケミカルシャペロン添加実験から、EC-SODや向炎症性因子の発現調節機構としてERストレスの関与が示唆された。さらに、新鮮培地を連続供給するperi細胞培養系を用いた場合、GRP78の発現は低下し、EC-SOD発現は上昇した。以上の結果から、ERストレスに起因するEC-SOD発現の低下が糖尿病網膜症の進展・悪化に関与すると推察された。さらに、TNF- α 発現の変化にはTNF- α のオートクリン機構が関与していることが示唆された。

(2) 網膜血管内皮細胞層透過性の亢進

増殖性糖尿病網膜症患者では硝子体中の EC-SOD が高値を示すことを明らかにしているが、その原因について、血液-網膜関門の本体である網膜血管内皮細胞層の透過性の亢進によるという仮説を検証した。また、高血糖というような病態下では細胞に ER ストレスが曝露されることが知られているため、以下の *in vivo* 実験、*in vitro* 実験においては ER ストレス誘導剤であるツニカマイシン (Tm)、タブシガルギン (Tg) を負荷した。

In vivo 実験として、Tm をマウスに眼内投与した場合、網膜の VEGF や GRP78 の mRNA レベルは上昇したが、EC-SOD mRNA には変動がみられなかった。また、*in vivo* トレーサー実験の結果、Tm 投与 72 時間後の網膜では低分子色素 (Hoechst 33342) の血管外への漏出が観察された。(Fig.1)

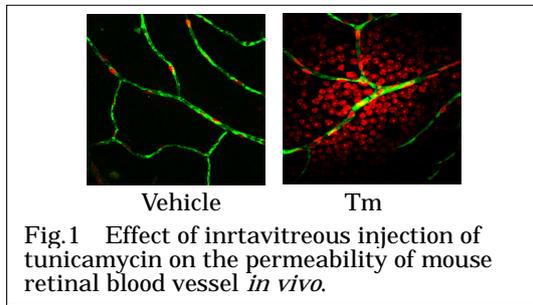


Fig.1 Effect of intravitreal injection of tunicamycin on the permeability of mouse retinal blood vessel *in vivo*.

次に *in vitro* 実験として、培養ラット網膜血管内皮細胞に Tg または Tm を負荷した場合、EC-SOD 発現には変化が認められなかったが、GRP78 や VEGF 発現は上昇していた。一方、TJP の発現変動について検討した結果、occludin、ZO-1 の発現には変化が認められなかったものの claudin-5 の発現が有意に低下していた。次に、トランスウエルを用いた内皮細胞層透過性実験の結果、Tg または Tm にて内皮細胞を処理した場合、細胞層電気抵抗値の低下とともに、FITC-dextran や FITC-albumin の透過性が有意に上昇し、さらに EC-SOD の透過性も有意に亢進していた。また、これらの結果は、ケミカルシャペロンである 4-phenylbutric acid (PBA) にて細胞を前処理することで有意に抑制された。(Fig.2)

(3) 網膜血管内皮細胞層透過性亢進の細胞内シグナリングメカニズムの解明

培養ヒト網膜血管内皮細胞においても、Tg または Tm にて処理した場合、claudin-5 の発現が有意に低下することが血管透過性の亢進につながる事が判明した。そこで、ER ストレス負荷時の claudin-5 発現低下のメカニズムについて、MAP kinase と NF-κB の関与の観点から検討した。その結果、p38 MAPK 阻害剤 SB203580 (SB) や NF-κB 阻

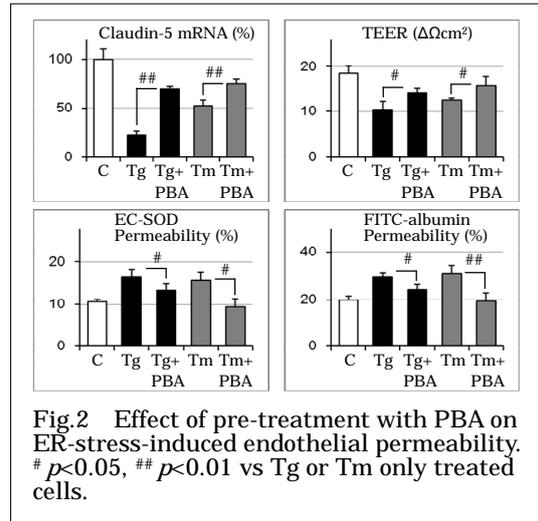


Fig.2 Effect of pre-treatment with PBA on ER-stress-induced endothelial permeability. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs Tg or Tm only treated cells.

害剤である dexamethasone (DEX) または pyrrolidine dithiocarbamate を添加した場合、Tg 処理による claudin-5 の発現低下は有意に抑制され、網膜血管内皮細胞層透過性亢進も抑制された。また、この DEX の作用は RU486 により阻害された結果より、ステロイド受容体依存性であることが判明した。さらに、NF-κB 活性化剤である TNF-α や LPS によっても claudin-5 発現の抑制が確認された。Tg 処理による p38 MAPK のリン酸化や NF-κB の核移行も観察された結果から、小胞体ストレスに起因する claudin-5 の発現低下には p38 MAPK、NF-κB シグナリングが関与していることが明らかとなった。(Fig.3)

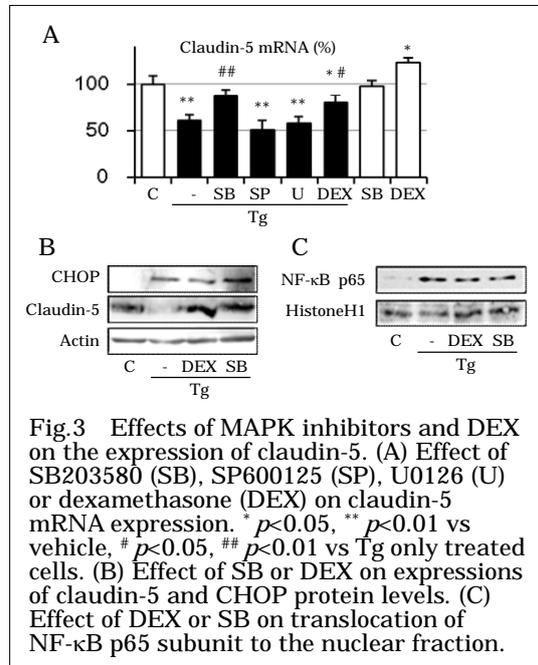


Fig.3 Effects of MAPK inhibitors and DEX on the expression of claudin-5. (A) Effect of SB203580 (SB), SP600125 (SP), U0126 (U) or dexamethasone (DEX) on claudin-5 mRNA expression. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs vehicle, # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs Tg only treated cells. (B) Effect of SB or DEX on expressions of claudin-5 and CHOP protein levels. (C) Effect of DEX or SB on translocation of NF-κB p65 subunit to the nuclear fraction.

(4) 種々細胞におけるストレス負荷時の細胞応答

網膜血管内皮細胞でのストレスに対する反応性を理解するために、それ以外の細胞として、COS7 腎尿管細胞、SH-SY5Y 神経

芽細胞腫, U937 単球系細胞, マウス 3T3-L1 由来脂肪細胞に対し, 小胞体ストレス, 酸化ストレス (CdCl₂, ZnSO₄), 低酸素ストレス (CoCl₂) などを負荷した場合の反応性について, 特に EC-SOD 並びに向炎症性因子の発現変動を中心に測定し、さらにその細胞応答メカニズムを解明した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](リスト外を含め計 20 件)

Adachi T, Teramachi M, Yasuda H, Kamiya T, Hara H: Contribution of p38 MAPK, NF-κB and glucocorticoid signaling pathways to ER stress-induced increase in retinal endothelial permeability, *Arch. Biochem. Biophys.*, **520**, 30-35, 2012 (査読有)

DOI:10.1016/j.abb.2012.01.014

Makino J, Kamiya T, Hara H, Adachi T: TPA induces the expression of EC-SOD in human monocytic THP-1 cells: Involvement of PKC, MEK/ERK and NOX-derived ROS, *Free Radical Res.*, **46**, 637-644, 2012 (査読有)

DOI:10.3109/10715762.2012.664841

Kamiya T, Izumi M, Hara H, Adachi T: Propolis suppresses CdCl₂-induced cytotoxicity of COS7 cells through the prevention of intracellular ROS accumulation, *Biol. Pharm. Bull.*, in press (査読有)

Adachi T, Yasuda H, Nakamura S, Kamiya T, Hara H, Hara H, Ikeda T: Endoplasmic reticulum stress induces retinal endothelial permeability of extracellular-superoxide dismutase, *Free Radical Res.*, **45**, 1083-1092, 2011 (査読有)

DOI:10.3109/10715762.2011.595408

Kamiya T, Makino J, Hara H, Inagaki N, Adachi T: Extracellular-superoxide dismutase expression during monocytic differentiation of U937 cells. *J. Cell. Biol.*, **112**, 244-255, 2011 (査読有)

DOI:10.1002/jcb.22917

Hara H, Kamiya T, Adachi T: Endoplasmic reticulum stress inducers provide protection against 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity. *Neurochem. Int.* **58**, 35-43, 2011 (査読有)

DOI:10.1016/j.neuint.2010.10.006

Takiguchi S, Ayaori M, Uto-Kondo H, Iizuka M, Sasaki M, Komatsu T, Takase B, Adachi T, Ohsuzu F, Ikewaki K: Olmesartan improves endothelial function in hypertensive patients: link with extracellular superoxide dismutase, *Hypertens. Res.*, **34**, 686-692, 2011 (査読有)

DOI:10.1038/hr.2011.11

Kamiya T, Obara A, Hara H, Inagaki N, Adachi T: ER stress inducer, thapsigargin,

decreases extracellular-superoxide dismutase through MEK/ERK signaling cascades in COS7 cells, *Free Radical Res.*, **45**, 692-698, 2011 (査読有)

DOI:10.3109/10715762.2011.567985

Adachi T, Aida K, Nishihara H, Kamiya T, Hara H: Effect of hypoxia mimetic cobalt chloride on the expression of extracellular-superoxide dismutase in retinal pericytes, *Biol. Pharm. Bull.*, **34**, 1297-1300, 2011 (査読有)

DOI:10.1248/bpb.34.1297

Obara A, Kamiya T, Izumi M, Hara H, Yamada H, Adachi T: Extracellular-superoxide dismutase expression in COS7 cells exposed to cadmium chloride, *Biol. Pharm. Bull.*, **34**, 1443-1447, 2011 (査読有)

DOI:10.1248/bpb.34.1443

Hara H, Nakamura Y, Ninomiya M, Mochizuki R, Kamiya T, Aizenman E, Koketsu M, Adachi T: Inhibitory effects of chalcone glycosides isolated from Brassica rapa L. 'hidabeni' and their synthetic derivatives on LPS-induced NO production in microglia, *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 5559-5568, 2011 (査読有)

DOI:10.1016/j.bmc.2011.07.036

Adachi T, Yasuda H, Aida K, Kamiya T, Hara H, Hosoya K, Terasaki T, Ikeda T: Regulation of extracellular-superoxide dismutase in rat retina pericyte. *Redox Rep.*, **15**, 250-258, 2010 (査読有)

DOI:10.1179/135100010X12826446921662

Kamiya T, Hara H, Inagaki N, Adachi T: The effect of hypoxia mimetic cobalt chloride on the expression of EC-SOD in 3T3-L1 adipocytes. *Redox Rep.*, **15**, 131-137, 2010 (査読有)

DOI:10.1179/174329210X12650506623483

Nakano K, Hasegawa G, Fukui M, Yamasaki M, Ishihara K, Takashima T, Kitagawa Y, Fujinami A, Ohta M, Hara H, Adachi T, Ogata M, Obayashi H, Nakamura N: Effect of pioglitazone on various parameters of insulin resistance including lipoprotein subclass according to particle size by a gel-permeation high-performance liquid chromatography in newly diagnosed patients with type 2 diabetes. *Endocr. J.*, **57**, 423-430, 2010 (査読有)

DOI:10.1507/endocrj.K10E-006

Adachi T, Toishi T, Wu H, Kamiya T, Hara H: Expression of extracellular superoxide dismutase during adipose differentiation in 3T3-L1 cells. *Redox Rep.*, **14**, 34-40, 2009 (査読有)

DOI:10.1179/135100009X392467

Izuta H, Chikaraishi Y, Adachi T, Shimazawa

M, Sugiyama T, Ikeda T, Hara H: Extracellular SOD and VEGF are increased in vitreous bodies from proliferative diabetic retinopathy patients. *Mol. Vis.*, **15**, 2663-2672 2009 (査読有)

<http://www.molvis.org/molvis/v15/a283>

Hara H, Kamiya T, **Adachi T**: Zinc induces expression of the BH3-only protein PUMA through p53 and ERK pathways in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Neurochem. Res.*, **34**, 1498-1506 2009 (査読有)

DOI:10.1007/s11064-009-9937-4

[学会発表](リスト外を含め計 43 件)

寺町真由美, 安田浩之, 神谷哲朗, 原 宏和, **足立哲夫**: 小胞体ストレス誘発網膜血管内皮細胞層透過性亢進 - p38MAPK, NF- κ B, グルココルチコイドシグナリングの関与 -, 第 55 回日本糖尿病学会学術集会, 横浜 (2012, 5/17-19)

神谷哲朗, 和泉美里, 原 宏和, **足立哲夫**: プロポリスのカドミウム誘導性腎尿細管上皮細胞傷害抑制作用, 日本薬学会第 132 年会, 札幌 (2012, 3/28-31)

山田晴生, **足立哲夫**, 山田裕一: Extracellular superoxide dismutase 基礎と臨床, 日本酸化ストレス学会東海支部設立シンポジウム, 名古屋 (2012, 2/18)

原 宏和, **足立哲夫**: 酸化・ニトロ化ストレス細胞障害を抑制する保護物質の探索研究, 日本酸化ストレス学会東海支部設立シンポジウム, 名古屋 (2012, 2/18)

足立哲夫, 寺町真由美, 安田浩之, 神谷哲朗, 原 宏和, 池田恒彦: 小胞体ストレス誘発網膜血管内皮細胞層透過性亢進に対するステロイドの抑制効果. TEAM2011 (第 17 回日本糖尿病眼学会), 東京 (2011, 12/2-4)

足立哲夫, 寺町真由美, 安田浩之, 神長智幸, 神谷哲朗, 原 宏和: 小胞体ストレスに起因する網膜血管内皮細胞層透過性の亢進. 第 26 回日本糖尿病合併症学会, 大宮 (2011, 10/14,15)

牧野純也, 神谷哲朗, 原 宏和, **足立哲夫**: ヒト単球系細胞株 THP-1 細胞の分化過程における EC-SOD 発現変動とその調節機構 第 84 回日本生化学会大会, 京都 (2011, 9/21-24)

安田浩之, 神谷哲朗, 原 宏和, 原 英彰, 池田恒彦, **足立哲夫**: 小胞体ストレス負荷時のラット培養網膜血管内皮細胞における EC-SOD 透過性の変化. 第 57 回日本薬学会東海支部大会, 名古屋 (2011, 7/9)

神谷哲朗, 牧野純也, 町浦雅量, 原 宏和, **足立哲夫**: TPA による THP-1 細胞分化過程における EC-SOD 発現変動. 第 64 回日本酸化ストレス学会学術集会, 北海道

(2011, 7/2,3)

足立哲夫, 安田浩之, 寺町真由美, 神長智幸, 神谷哲朗, 原 宏和: 小胞体ストレス負荷時の EC-SOD 網膜血管内皮細胞層透過性の亢進. 第 64 回日本酸化ストレス学会学術集会, 北海道 (2011, 7/2,3)

神谷哲朗, 牧野純也, 原 宏和, **足立哲夫**: THP-1 細胞のマクロファージへの分化過程における EC-SOD 発現変動. 日本薬学会第 131 年会, 静岡 (2011, 3/28-31)

安田浩之, **足立哲夫**, 神谷哲朗, 原 宏和, 池田恒彦: ラット培養網膜血管内皮細胞層における EC-SOD 透過性の小胞体ストレス負荷による変化. 日本薬学会第 131 年会, 静岡 (2011, 3/28-31)

牧野純也, 神谷哲朗, 原 宏和, **足立哲夫**: THP-1 細胞分化過程における EC-SOD 発現調節機構. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同学会, 神戸 (2010, 12/7-10)

神谷哲朗, 原 宏和, 稲垣直樹, **足立哲夫**: 小胞体ストレス下の 3T3-L1 細胞における EC-SOD 発現変動. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同学会, 神戸 (2010, 12/7-10)

原 宏和, 神谷哲朗, **足立哲夫**: 小胞体ストレスによるプレコンディショニングは 6-ヒドロキシドパミンによる細胞障害を抑制する. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同学会, 神戸 (2010, 12/7-10)

相田一成, 神谷哲朗, 原 宏和, **足立哲夫**: ラット網膜血管周皮細胞に対する塩化コバルト処理の影響. 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会 2010, 静岡 (2010, 11/28)

足立哲夫, 安田浩之, 神谷哲朗, 原 宏和, 原 英彰, 池田恒彦: 小胞体ストレスによる培養網膜血管内皮細胞層透過性の変化. 第 16 回日本糖尿病眼学会総会, 大阪 (2010, 11/26-28)

Tetsuro Kamiya, Hirokazu Hara, Naoki Inagaki, **Tetsuo Adachi**. The expression of extracellular-superoxide dismutase in 3T3-L1 adipocytes during endoplasmic reticulum stress. SFRBM's 17th annual meeting, a joint meeting with SFRRI, Sheraton Atlanta Hotel, Orlando, USA (2010, 11/17-21)

Hirokazu Hara, Tetsuro Kamiya, **Tetsuo Adachi**: Pretreatment with endoplasmic reticulum stress inducers ameliorates, 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity. Neuroscience 2010, Convention Center, San Diego, USA (2010, 11/13-17)

小原彩, 神谷哲朗, 原 宏和, 山田晴生,

- 足立哲夫**：カドミウム曝露下の COS7 細胞における extracellular-superoxide dismutase 発現変動。第 22 回腎とフリーラジカル研究会，東京（2010，10/16）
- 21 小原彩，神谷哲朗，原 宏和，**足立哲夫**：カドミウム曝露下の COS7 細胞における EC-SOD 発現の変動。第 56 回日本薬学会東海支部大会，岐阜（2010，7/3）
- 22 **足立哲夫**，神谷哲朗，原 宏和，細谷健一，寺崎哲也，池田恒彦：ラット網膜 pericyte における EC-SOD 発現に対する小胞体ストレスの影響。第 63 回日本酸化ストレス学会学術集会，横浜（2010，6/24-25）
- 23 神谷哲朗，牧野純也，原 宏和，稲垣直樹，**足立哲夫**：単球系細胞分化過程における EC-SOD 発現変動。第 63 回日本酸化ストレス学会学術集会，横浜（2010，6/24-25）
- 24 **足立哲夫**，安田浩之，神谷哲朗，原 宏和，池田恒彦：ラット網膜 pericyte における EC-SOD 発現の変動機構。第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会，岡山（2010，5/27-29）
- 25 神谷哲朗，原 宏和，稲垣直樹，**足立哲夫**：ER ストレス下の 3T3-L1 細胞における extracellular-superoxide dismutase 発現変動。日本薬学会第 130 年会，岡山（2010，3/28-30）
- 26 **足立哲夫**，神谷哲朗，原 宏和，細谷健一，寺崎哲也，池田恒彦：ラット網膜 pericyte における extracellular-superoxide dismutase 発現の変動，日本薬学会第 130 年会，岡山（2010，3/28-30）
- 27 **Tetsuo Adachi**, Kazunari Aida, **Tetsuro Kamiya**, Hirokazu Hara, Ken-ichi Hosoya, Tetsuya Terasaki, **Tsunehiko Ikeda**：The Expression of Extracellular-Superoxide Dismutase in Rat Retinal Pericytes, SFRBMs 16th Annual Meeting, San Francisco (2009, 11/18-21)
- 28 **足立哲夫**，相田一成，神谷哲朗，原 宏和，池田恒彦：ラット網膜血管系細胞におけるストレス負荷時の EC-SOD の発現の変動，第 24 回日本糖尿病合併症学会学術集会，岡山（2009，10/9-10）
- 29 神谷哲朗，小原 彩，原 宏和，稲垣直樹，**足立哲夫**：小胞体ストレス下の COS7 細胞における EC-SOD 発現変動，第 21 回腎とフリーラジカル研究会，岡山（2009，9/26）
- 30 神谷哲朗，原 宏和，稲垣直樹，**足立哲夫**：In vitro 虚血誘導時の COS7 細胞における EC-SOD 発現変動，第 3 回日本腎と薬剤研究会学術大会 2009，名古屋（2009，9/19-20）
- 31 神谷哲朗，原 宏和，稲垣直樹，**足立哲夫**：ER stress 誘導時の COS7 細胞における

- EC-SOD 発現変動，第 62 回日本酸化ストレス学会学術集会，福岡（2009，6/11-12）
- 32 **足立哲夫**，神谷哲朗，原 宏和，細谷健一，寺崎哲也：ラット網膜血管系細胞における extracellular-superoxide dismutase 発現変動，第 52 回日本糖尿病学会年次学術集会，大阪（2009，5/21-24）

〔図書〕(リスト外を含め計 3 件)

神谷哲朗，小原 彩，原 宏和，稲垣直樹，**足立哲夫**：小胞体ストレス下の COS-7 細胞における EC-SOD 発現変動，腎とフリーラジカル 第 10 集，東京医学社，56-58，2010

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：酸化ストレス防御酵素 EC-SOD の測定法

発明者：足立哲夫

権利者：岐阜市

種類：特許

番号：特願 2011-057517

出願年月日：23 年 3 月 16 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

http://www.gifu-pu.ac.jp/research/research_rinyaku.html

<http://www.gifu-pu.ac.jp/lab/rinyaku/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

足立 哲夫 (ADACHI TETSUO)

岐阜薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40137063

(2) 研究分担者

原 宏和 (HARA HIROKAZU)

岐阜薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：30305495

神谷 哲朗 (KAMIYA TETSURO)

岐阜薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：60453057

(3) 連携研究者

池田 恒彦 (IKEDA TSUNEHICO)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：70222891