

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2010～2013

課題番号：22689012

研究課題名(和文)ミトコンドリア活性酸素発生制御モデルマウスを用いた加齢性疾患発症メカニズムの解析

研究課題名(英文) Analysis of age-related diseases with oxidative stress in mitochondrial ROS-inducible model mice

研究代表者

石井 恭正 (ISHII, Takamasa)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：20548680

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,600,000円、(間接経費) 5,580,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、加齢性疾患の発症における酸化ストレス障害の寄与を明らかにすることを目的とした。ミトコンドリアでの活性酸素発生量を制御したモデルマウスを用い、胎児期から老齢期に至るまでの表現型解析を実施し、酸化ストレス障害に起因する生体組織機能の加齢変化を追跡した。その結果、酸化ストレスに起因する生体機能異常として、低出生体重児出産、涙腺炎症によるドライアイを伴う加齢性角膜疾患の亢進、脳海馬領域でのグリア環境の変容、習慣性流産や母体死の発生、持続性高血糖症を確認した。今後、これらの分子機構解明により、生体の加齢変容を予防する手段の端緒が得られると期待する。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on age-related diseases with oxidative stress. The age-dependent alterations of tissue functions caused by oxidative stress were analyzed in mitochondrial reactive oxygen species (ROS)-inducible model Tet-mev-1 mice. In the results, 1) low-birth-weight infants, 2) accelerated age-related corneal dysfunctions with dry eyes by lacrimal gland inflammations, 3) glial environmental defects in hippocampal regions with age, 4) recurrent abortions and maternal death, and 5) chronic hyperglycemia were confirmed as aging phenomena caused by mitochondrial oxidative stress. It was expecting that a means would be demonstrated to suppress the age-dependent homeostatic unbalanced alterations in individuals, when these molecular mechanisms would be clarified in this mouse model.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：酸化ストレス ミトコンドリア 習慣流産 不妊 神経変性疾患 学習記憶 レドックスシグナル マウス

### 1. 研究開始当初の背景

加齢に応じてその発症率が増加する加齢性疾患、中でも生活習慣病(糖尿病・高血圧・動脈硬化症など)・神経変性疾患・がんの発症における酸化ストレス障害の影響は数多く報告されている。しかし、酸化ストレス障害の発生から疾患発症に至るまでの一連のメカニズムが明らかにされた報告は数少なく、これら疾患の確固たる予防手段が明らかにされた例はない。

細胞内酸化ストレスの大部分はミトコンドリア電子伝達系から発生するスーパーオキシドアニオン ( $O_2^{\cdot-}$ ) に起因する。これは免疫応答や細胞増殖・分化などの生体恒常性維持の役割を担うが、過剰量となると、より強い毒性をもつ活性酸素種 (ROS) に代謝され、生活習慣病・神経変性疾患・がんなどの発症原因になるとされている。これまでの研究では、疾患発症後に酸化ストレス障害の検証を行うことで、疾患における酸化ストレス障害の影響が理解されてきた。しかし、このような検証からは酸化ストレスが原因となる疾患発症機序を明確に知ることは困難であった。

このような背景において、我々の研究グループは、線虫 *mev-1* 変異体を用いてミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生を惹起する電子伝達系複合体 II の SDHC<sup>V69E</sup> 変異の特定に成功していた。これを基に、ミトコンドリアから発生する  $O_2^{\cdot-}$  を遺伝的に制御した SDHC E69 細胞株・*Tet-mev-1* コンディショナルトランスジェニックマウスを構築し、細胞内酸化ストレスの生体への影響を健康な状態あるいは疾患発症以前から疾患発症に至るまで一貫して検証することを可能にしていた。

### 2. 研究の目的

本研究では、*Tet-mev-1* コンディショナルトランスジェニックマウスの胎児期から老齢期にかけてミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  発生量を過剰誘導し、その影響を加齢依存的に生体レベルで検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、独自に開発したテトラサイクリン系薬剤による遺伝子発現量制御システム (特許番号: W02005123918 A1) を用いた *Tet-mev-1* コンディショナルトランスジェニックマウスとその標準マウス (C57BL/6j 近交系マウス) を用いた。既に C57BL/6j 近交系マウスにおいて、加齢変化によるミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  発生と酸化ストレス障害について検証を行っており、本研究の基盤は得ていた (Masaki Miyazawa, et al. J. Radiat. Res. 2009)。さらに、本研究では、性成熟後の雌雄マウスをドキシサイクリン薬剤含有水の自由飲水で飼育し、自然交配によって得られた子孫を試験対象群とした。

これまでに、細胞内酸化ストレスの発生を任意に制御した環境下で病態の発生を検証

したモデル研究の報告はなく、当該モデルが何れの疾患を発症するか予測不可能であった。そこで先ず、生体の老化・加齢に応じた酸化ストレスの影響が報告されている生殖器官 (不妊・流産)・眼角膜 (ドライアイ・加齢性角膜障害)・脳神経 (学習記憶能力減衰・神経変性疾患) の表現型解析を実施し、下記の項目に従い本研究を展開した。

- (1) 胎児発生～成熟期におけるミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生の影響解析
- (2) 生殖器および生殖細胞へのミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生の影響解析
- (3) 加齢性角膜障害へのミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生の影響解析
- (4) 海馬依存的学習記憶能力へのミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生の影響解析
- (5) ミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生に伴い遺伝子発現量が増大するタンパク質の機能解析
- (6) 低出生体重仔生体成熟後の糖尿病性代謝異常の検証

### 4. 研究成果

#### (1) 胎児発生～成熟期におけるミトコンドリア $O_2^{\cdot-}$ 過剰発生の影響解析

ドキシサイクリン薬剤自由飲水飼育下の妊娠メスマウスから 13.5 日胚にあたる胎児を検証した結果、標準マウスは正常な発生段階にあったのに比べ、ミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生が誘導された *Tet-mev-1* マウスは 7 日程度で胎生致死となった個体や生存しているものの数日程度の発生遅延を示す個体が確認された (図 1)。

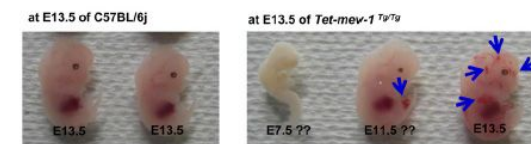


図 1 . 13.5 日胚マウス胎児。写真左側 C57BL/6j 標準マウス、右側がミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  を過剰発生させた *Tet-mev-1* マウス (胎生致死・発生遅延個体) を示す。青色矢印は異常な血管新生を示す (Redox Biology 2 (2014) 679-685 から引用)。

また、自然分娩で出生したマウス個体の体重を出生から成熟期まで追跡した結果、ミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生が誘導された *Tet-mev-1* マウスは低出生体重仔として出生し、その後、12 週齢まで成長が遅延することが確認された (図 2)。

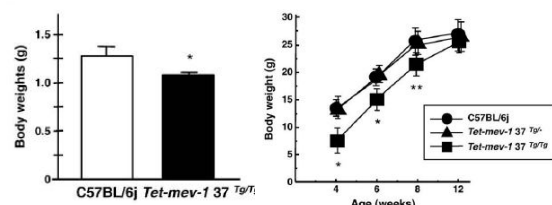


図 2 . 出生時体重と成熟期までの体重推移。左グラフは出生体重、右側グラフが成熟期ま

での体重推移を示す。*Tet-mev-1* 37<sup>Tg/Tg</sup> はミトコンドリア  $O_2^{\cdot -}$  を過剰発生する *Tet-mev-1* マウスを示す (Mitochondrion 11 (2011) 155-165 から引用)。

低出生体重仔として出生した *Tet-mev-1* マウスでは、様々な臓器で無秩序なアポトーシスが過剰誘導されていた (参考文献 Mitochondrion 11 (2011) 155-165) 。これは、細胞分裂が盛んな成長段階で、ミトコンドリア呼吸鎖活性が高く維持されていることが原因と考えられた。これにより、成熟期までの *Tet-mev-1* マウスの組織細胞では予想を上回る致命的な酸化ストレスが誘導され、無秩序なアポトーシスを惹起し、成長遅延が起きたと考えられる。

また、胎生致死の現象も、線虫を用いた研究成果と合わせて考察すると、過剰な酸化ストレスによる無秩序なアポトーシス誘導が原因であると結論付けられた (図3)。

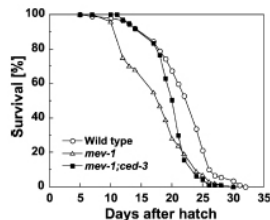


図3 . 線虫 *C. elegans*, *mev-1* 変異株の寿命変化。Wild type は標準株 N2、*mev-1*; *ced-3* はアポトーシス誘導を遺伝的に阻害した *mev-1* 変異株を示す。グラフの結果は、個体の成長時期から繁殖期で、致死率が高かった *mev-1* 変異株がアポトーシスの阻害によって、標準株と同等の寿命推移を示している (J Biol Chem 278 (2003) 22031-22036 から引用)。

以上の結果から、電子伝達系複合体 II 異常により遺伝的に制御されたミトコンドリア  $O_2^{\cdot -}$  の過剰発生は、増殖過程にある様々な組織細胞で無秩序なアポトーシスを惹起し、胎生期においては一部の個体を致死へと追いやり、成長期には成長遅延を起こすことを明らかにした。

## (2) 生殖器および生殖細胞へのミトコンドリア $O_2^{\cdot -}$ 過剰発生の影響解析

ドキシサイクリン薬剤自由飲水飼育下の性成熟雌雄マウス個体において、それぞれ生殖器でのミトコンドリア  $O_2^{\cdot -}$  過剰発生による酸化ストレス障害の有無を検証し、生殖能を解析した。

まず、ミトコンドリア活性を有し体細胞分裂が盛んな精母細胞では、過剰なアポトーシス誘導を確認した (図4) 。しかしながら、ミトコンドリア電子伝達活性が低く減数分裂期に入った精原細胞が大多数を占める精巣組織全体を解析した結果では、ミトコンドリア  $O_2^{\cdot -}$  過剰発生の誘導を確認することは出来なかった (参考文献 Redox Biology 2 (2014)

679-685) 。この結果を裏付けるように、*Tet-mev-1* マウス精巣内での精子形成や精巣上体内での精子数に異常は確認されず、*in vitro* において精子運動能が 8 割程度に低下するといった微小な変化しか確認されなかった (図4) 。

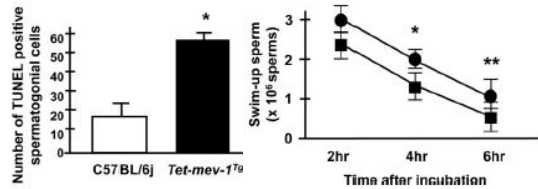


図4 . TUNEL 陽性精母細胞数と精子運動能。左グラフは精巣内 TUNEL 陽性アポトーシス誘導精母細胞数、右グラフは精子運動能を示す。C57BL/6j 標準マウス、*Tet-mev-1* マウスの精子運動能を示す (Redox Biology 2 (2014) 679-685 から引用)。

次に、雌性生殖器 (卵巣~子宮) でのミトコンドリア  $O_2^{\cdot -}$  とカルボニル化タンパク質量変化による酸化ストレス障害を測定した結果、*Tet-mev-1* マウスにおいて過剰な酸化ストレス発生と障害の蓄積が確認された (図5) 。

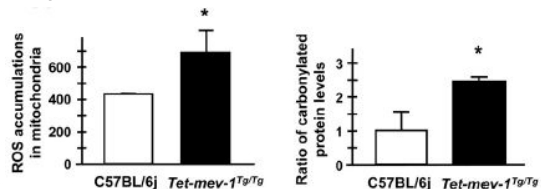


図5 . ミトコンドリア ROS 産生量とカルボニル化タンパク質量。左グラフは化学発光プローブによるミトコンドリア画分での活性酸素種 (ROS) 産生量変化、右グラフは DNPH 抗体を用いた ELISA 法によるカルボニル化タンパク質量変化の結果を示す (Redox Biology 2 (2014) 679-685 から引用)。

さらに、*Tet-mev-1* マウスの卵巣では、過剰な血管新生による血管腫に似た表現型が確認され、また、間質細胞において過剰なアポトーシス誘導細胞が確認された (図6) 。

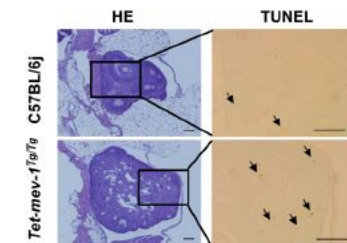


図6 . 卵巣の HE と TUNEL 染色像。黒矢印は TUNEL 陽性アポトーシス誘導細胞を示す (Redox Biology 2 (2014) 679-685 から引用)。

この結果に伴って、*Tet-mev-1* マウスでは排卵数の減少が確認された。また、*Tet-mev-1* マウスの精子と卵子による *in vitro* での受精能に 2 割程度の低下が認められたが、ミト



コンドリア電子伝達活性が低い初期発生段階において発生異常は確認されなかった(参考文献 Redox Biology 2 (2014) 679-685)。

そこで、ミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  に起因する酸化ストレスの初期発生後および母体への影響を確認するため妊娠マウスでの解析を行った。その結果、*Tet-mev-1* マウスでは血小板の増加および脾腫が確認された(参考文献 Redox Biology 2 (2014) 679-685)。さらに、胎盤の解析を行った結果、ヒトでの流産の原因と言われている血管内皮増殖因子受容体(VEGFR-1, Flt-1)タンパク質の減少が確認された(図7)。

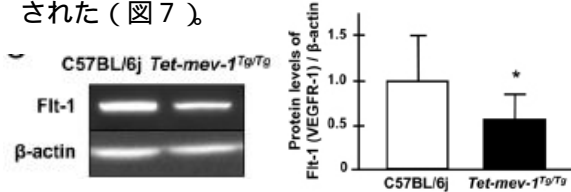


図7. 血管内皮増殖因子受容体(VEGFR-1, Flt-1)のウェスタンブロット解析。左図はウェスタンブロット解析の写真結果、右グラフはウェスタンブロット解析の定量的解析結果を示す(参考文献 Redox Biology 2 (2014) 679-685 から引用)。

以上の結果から、電子伝達系複合体 II 異常により遺伝的に制御されたミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  の過剰発生は、雌性不妊および習慣流産の原因になることを明らかにした。さらなる研究により、雌性不妊、特に習慣流産の治療法および予防の解明を期待している。

### (3) 加齢性角膜障害へのミトコンドリア $O_2^{\cdot-}$ 過剰発生の影響解析

ドキシサイクリン薬剤自由飲水飼育下のマウス個体を用いて、ミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生に起因する酸化ストレス障害による眼角膜の加齢変化を解析した。

まず、図5同様の手法と8-OHdG抗体を用いた免疫組織化学的解析による核酸への酸化ストレス障害を指標に眼および涙腺組織でのミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  発生量と酸化ストレス障害を検証した。共に *Tet-mev-1* マウスでは標準マウスより増加していることを確認した(参考文献 Invest Ophthalmol Vis Sci 53 (2012) 5780-5787, PLoS ONE 7 (2012) e45805)。そこで、ミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  に起因する酸化ストレス障害と加齢依存的な角膜障害の相関解析を実施した。

角膜上皮細胞層において、*Tet-mev-1* マウスでは加齢依存的な細胞分裂数および総細胞数の低下が確認された(図8)。

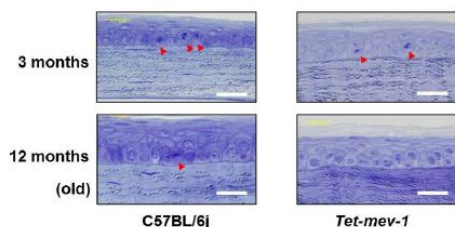


図8. 角膜上皮細胞のトルイジンブルー染色像。赤矢印は有糸分裂中の核を示す(参考文献 Invest Ophthalmol Vis Sci 53 (2012) 5780-5787 から引用)。

これに伴い、*Tet-mev-1* マウスでは角膜炎の発症が確認され、角膜上皮障害後の上皮化の加齢依存的な遅延が加速されていることが確認された(図9)。

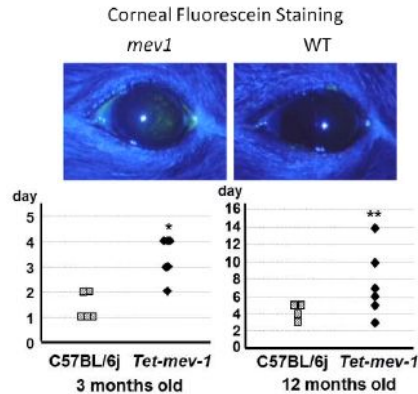


図9. 角膜炎と角膜上皮化の推移。上部図は蛍光色素染色による角膜炎、下部グラフはエタノール処理後の角膜上皮化に要する日数を示す。上部図の *mev-1* はミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  を過剰発生する *Tet-mev-1* マウス、WT は C57BL/6j 標準マウスを示す(参考文献 PLoS ONE 7 (2012) e45805, Invest Ophthalmol Vis Sci 53 (2012) 5780-5787 から引用)。

さらに興味深いことに、ミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  を過剰発生する *Tet-mev-1* 雄マウスでは、3か月齢以降から涙腺の炎症・線維化、および涙液分泌量の低下が確認された(図10)。

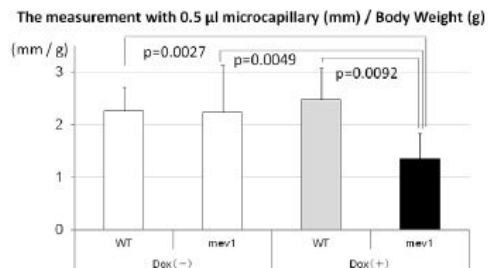
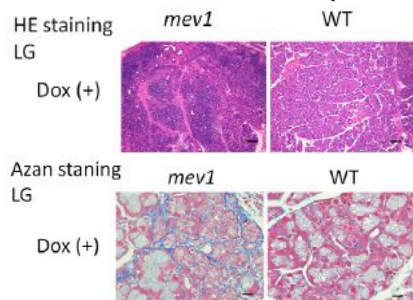


図10. 涙腺のHE/Azan染色像と涙液分泌量。*mev-1* は *Tet-mev-1* マウス、WT は C57BL/6j 標準マウス、Dox(+)はミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  過剰発生を誘導するドキシサイクリン薬剤自由飲水下の飼育環境を示す(参考文献 PLoS ONE 7 (2012) e45805 から引用)。

以上の結果から、電子伝達系複合体 II 異常により遺伝的に制御されたミトコンドリア  $O_2\cdot^-$  の過剰発生は、ドライアイを発症し、角膜炎を伴う角膜上皮層の加齢変化を亢進することを明らかにした。

また、角膜上皮層に限らず内皮細胞層や実質細胞層においても、角膜内皮細胞の減少・Descemet's 膜の肥厚や実質細胞層の菲薄化といった加齢依存的な変化が亢進していることを確認した。このことから、電子伝達系複合体 II 異常により遺伝的に制御されたミトコンドリア  $O_2\cdot^-$  の過剰発生に起因する酸化ストレス障害は、フックス角膜内皮変性症や円錐角膜の発症を加齢依存的に亢進することも明らかにした (参考文献 Invest Ophthalmol Vis Sci 53 (2012) 5780-5787)。

#### (4) 海馬依存的学習記憶能力へのミトコンドリア $O_2\cdot^-$ 過剰発生の影響解析

ドキシサイクリン薬剤自由飲水飼育下の若齢期 (4 - 8 か月齢) と壮年期 (10 - 14 か月齢) のマウス個体を用いて、ミトコンドリア  $O_2\cdot^-$  に起因する酸化ストレス障害による脳海馬領域の加齢変化を解析した。

まず、化学蛍光プローブを用いたミトコンドリア  $O_2\cdot^-$  の産生量と蓄積量、および細胞内活性酸素種 (ROS) 蓄積量を組織化学的解析により検証した。その結果、*Tet-mev-1* マウス若齢期では、ミトコンドリア  $O_2\cdot^-$  産生量は増加しているものの、その蓄積および細胞内 ROS 蓄積量ともに増加は確認されなかった (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。一方、壮年期では、ミトコンドリア  $O_2\cdot^-$  産生量・蓄積量および細胞内 ROS 蓄積量ともに増加が確認された。これらの結果は、若齢期においてスーパーオキシドジスムターゼ (MnSOD・Cu/ZnSOD) の活性が増加しているためであることを明らかにした (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。

さらに、このような酸化ストレス状態に陥った *Tet-mev-1* マウス壮年期の脳海馬領域では、一部の MAPK シグナルに依存的なレドックスシグナル伝達経路が活性化されていることを確認した (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。この結果、脳海馬領域でのグリア環境が脆弱化し、学習記憶能力が低下していることを確認した (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。また興味深いことに、抗酸化能力を亢進していた *Tet-mev-1* マウス若齢期の脳海馬領域では、学習記憶能力を増進するカルシウムシグナル伝達系の活性化が確認された (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。

一方、 $\beta$ -アミロイドの沈着や神経細胞死などの神経変性疾患様の表現型はいずれの時期においても確認されなかった (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。以上の結果から、電子伝達系複合体 II 異常により遺伝的に制御されたミトコンドリア  $O_2\cdot^-$  の過

剰発生は、加齢依存的な脳内グリア環境の脆弱を惹き起こすものの、神経変性疾患を発症する直接的な原因にはならないことを明らかにした。現在、これまでの成果を学術論文にまとめ、投稿中である。

#### (5) ミトコンドリア $O_2\cdot^-$ 過剰発生に伴い遺伝子発現量が増大するタンパク質の機能解析

上記項目(4)の神経機能の解析に関連して、電子伝達系複合体 II 異常により遺伝的に制御されたミトコンドリア  $O_2\cdot^-$  の過剰発生に依存して遺伝子発現量が増大するタンパク質 (未発表のため匿名) の機能解析を実施した。当該タンパク質はリン酸化酵素であることが知られており、先ず標的タンパク質特定のために、酵母ツーハイブリット法 (YTH) 用いたタンパク質間相互作用解析を実施した。その結果、ミトコンドリア局在タンパク質を中心に相互作用タンパク質候補 8 因子が特定された (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。本研究では、その内の一つと当該タンパク質のタンパク質間相互作用解析を詳細に実施した結果、当該タンパク質がミトコンドリアエネルギー代謝と細胞分化を正に制御することを明らかにした (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。

当該研究成果について、現在、学術論文投稿中である。今後、上記項目(4)と合わせて研究の発展を見込んでおり、加齢依存的なグリア環境の変容と破綻の改善を目指した健康医療的なサプリメント栄養剤療法などの提案が行える研究成果を期待している。

#### (6) 低出生体重仔生体成熟後の糖尿病性代謝異常の検証

ヒト低出生体重児は成人後に糖尿病や動脈硬化症を発症する確率が高いことが疫学的に知られている。そこで、低出生体重仔である当該モデルの成熟後を対象に糖尿病性の代謝異常について検証した。

先ず、空腹時の末梢血中グルコース濃度測定を行った結果、若齢期から壮年期の *Tet-mev-1* マウスで血糖値の増加が確認され、血中グルコース負荷による耐糖能異常が認められた (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。

しかしながら、尿中でのグルコース濃度およびインスリン産生量・分泌能には異常が確認されなかった (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。そこで、エネルギー代謝主要臓器である肝臓・筋肉・脂肪組織・脳・末梢血のメタボローム解析を実施した。現在のところ、自律神経系が交感神経系優位に働くことで空腹時持続性高血糖が生じていることを示唆する成果が得られている (未発表のためデータ非公開。後日更新予定)。

今後、生体内酸化ストレスと加齢変化に自律神経制御の変容が深く関わっていること

を仮説に研究テーマを展開することで、電子伝達系複合体 II 異常により遺伝的に制御されたミトコンドリア  $O_2^{\cdot-}$  の過剰発生が自律神経系を交感神経優位にする機構解明の端緒を得られると期待する。

#### 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 14 件)

(1) Takamasa Ishii, Masaki Miyazawa, Yumi Takanashi, Maya Tanigawa, Kayo Yasuda, Noboru Kawabe, Junji Mitsushita, Phil S. Hartman, Naoaki Ishii. Genetically induced oxidative stress in mice causes thrombocytosis, splenomegaly and placental angiodyplasia that leads to recurrent abortion. *Redox Biology*. 査読有. (2014) 2: 679-685.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231714000664>

(2) Takamasa Ishii, Masaki Miyazawa, Hiromi Onouchi, Kayo Yasuda, Phil S. Hartman, Naoaki Ishii. Model animals for the study of oxidative stress from complex II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 査読有. (2013) 1827: 588-597.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005272812010730>

(3) Takamasa Ishii, Masaki Miyazawa, Phil S. Hartman, Naoaki Ishii. Mitochondrial superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) inducible “*mev-1*” animal models for aging research. *BMB Rep*. 査読有. (2011) 44: 298-305.

<http://www.bmbreports.org/fulltext/bmbreports/view.php?vol=44&page=298>

(4) Takamasa Ishii, Masaki Miyazawa, Akira Onodera, Kayo Yasuda, Noboru Kawabe, Mika Kirinashizawa, Shinichi Yoshimura, Naoki Maruyama, Phil S. Hartman, Naoaki Ishii. Mitochondrial reactive oxygen species generation by the SDHC V69E mutation causes low birth weight and neonatal growth retardation. *Mitochondrion*. 査読有. (2011) 11: 155-165.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567724910001613>

他、10 件 .

〔学会発表〕(計 52 件)

(1) Takamasa Ishii, et al. Effects of Mitochondrial ROS from Complex II on Age-related Impairments or Unbalanced Homeostatic Regulations. International Symposium on Mitochondria 2013, The Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine (Invited Speaker).

2013/11/6-7. Tokyo, Japan.

(2) Takamasa Ishii, et al. Mitochondrial ROS and Aging. The 20<sup>th</sup> IAGG World Congress of Gerontology and Geriatrics, IAGG 2013 (Invited Speaker). 2013/6/23-27. Seoul, Korea.

(3) Takamasa Ishii, et al. Effects of mitochondrial oxidative stress induced by the complex II SDHC V69E mutation on infertility and habitual abortion. Molecular Genetics of Aging, Cold Spring Harbor Meeting 2012. 2012/10/9-13. New York, USA.

(4) Takamasa Ishii, et al. Mitochondrial oxidative stress-inducible *mev-1* models for aging research. Molecular and Cellular Biology of Aging, The 34<sup>th</sup> Japanese Society for Biomedical Gerontology Symposium and Micro-Nano Global COE (Invited Speaker). 2012/10/16. Nagoya, Japan.

(5) Takamasa Ishii, et al. Mitochondrial Superoxide-accelerated Age-dependent Corneal Cell Dysfunctions. The 2012 Spring Conference of the Korean Society for Gerontology and the 11<sup>th</sup> Korea-Japan Gerontologist Joint meeting (Invited Speaker). 2012/6/14-15. Osong, Korea.

(6) 石井恭正. 細胞内活性酸素種の生体への影響の解明. 2011 年度日本放射線影響学会奨励賞受賞講演. 2011 年 11 月 18 日. 神戸.

(7) Takamasa Ishii, et al. Effects of mitochondrial  $O_2^{\cdot-}$  inducible complex II mutation on fertility and delivery in *mev-1* mouse model. The 5<sup>th</sup> Biennial Meeting of SFRR-Asia, 8<sup>th</sup> Conference of ASMRM and 11<sup>th</sup> Conference of J-mit (The Winner of Young Investigator Award). 2011/9/2. Kagoshima, Japan.

他、45 件 .

〔その他〕

ホームページ等

(1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学石井研究室

<http://mls.med.u-tokai.ac.jp/jp/index.htm>

(2) 東海大学医学科伊勢原キャンパス石井恭正

[http://kyousho.pr.tokai.ac.jp/index.php?p=s&yyg\\_shoc=030066&tsc\\_shoc=&cmp\\_sho\\_kubun\\_cd=100&yyg\\_bu\\_cd=2230&yyg\\_kyoinc=261474](http://kyousho.pr.tokai.ac.jp/index.php?p=s&yyg_shoc=030066&tsc_shoc=&cmp_sho_kubun_cd=100&yyg_bu_cd=2230&yyg_kyoinc=261474)

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

石井 恭正 (ISHII, Takamasa)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：20548680