

遺伝子導入による興奮性アミノ酸誘導性神経細胞死の抑制

著者	北尾 康子
著者別表示	Kitao Yasuko
雑誌名	平成16(2004)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2002-2004
ページ	9p.
発行年	2005-04
URL	http://doi.org/10.24517/00049272

KAKEN
2004
49

研究成果報告書

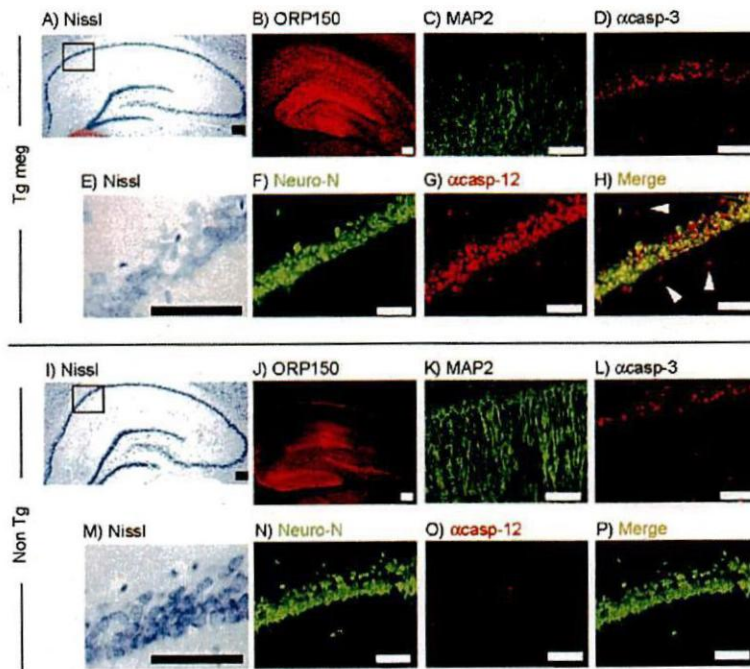
金沢大学

研究課題名

遺伝子導入による興奮性アミノ酸誘導性神経細胞死の抑制

課題番号14580725

平成14年度～平成16年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）研究成果報告書



金沢大学附属図書館



0500-04145-8

平成17年 4月

研究代表者

北尾 康子
(金沢大学大学院医学系研究科・助手)

はしがき

研究組織

研究代表者： 北尾 康子 (金沢大学大学院医学系研究科・助手)
研究分担者： 小川 智 (金沢大学大学院医学系研究科・教授)
研究分担者： 堀 修 (金沢大学大学院医学系研究科・助教授)

交付決定額

	直接経費(円)	間接経費(円)	合計(円)
平成14年度	1,500,000	0	1,500,000
平成15年度	1,400,000	0	1,400,000
平成16年度	700,000	0	700,000
総計	3,600,000	0	3,600,000

研究発表

1. Yamaguchi A, Taniguchi M, Hori O, Ogawa S, Tojo N, Matsuoka N, Miyake Si S, Kasai K, Sugimoto H, Tamatani M, Yamashita T, Tohyama M. Peg3/Pw1 Is Involved in p53-mediated Cell Death Pathway in Brain Ischemia/Hypoxia. *J. Biol. Chem.* 2002; 277, 623-629
2. Hori O, Ichinoda F, Tamatani T, Yamaguchi A, Sato N, Ozawa K, Kitao Y, Miyazaki M, Harding HP, Ron D, Tohyama M, Stern DM, and Ogawa S. Transmission of cell stress from endoplasmic reticulum to mitochondria: expression of Lon protease. *J. Cell Biol.* 2002, 157: 1151-1160
3. Miyazaki M, Ozawa K, Hori O, Kitao Y, Matsushita K, Ogawa S, and Matsuyama T. Expression of ORP150 (150 kDa oxygen regulated protein) in the hippocampus suppresses delayed neuronal cell death. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002; 22, 979-987
4. Miyagi T, Hori O, Koshida K, Egawa M, Kato H, Kitagawa Y, Ozawa K, Ogawa S, and Namiki M. Antitumor effect of reduction of 150-kDa oxygen-regulated protein expression on human prostate cancer cells. *Int J Urol.* 2002; 9: 577-585
5. Asahi H, Koshida K, Hori O, Ogawa S, and Namiki M. Immunohistochemical detection of the 150-kDa oxygen-regulated protein in bladder cancer. *BJU Int.* 2002; 90: 462-466
6. Ikematsu K, Tsuda R, Kondo T, Kondo H, Ozawa K, Ogawa S, and Nakasono I. The expression of a novel stress protein '150-kDa oxygen regulated protein' in sudden infant death. *Leg Med (Tokyo).* 2003 ;5: 15-9
7. Miyagi T, Koshida K, Hori O, Konaka H, Katoh H, Kitagawa Y, Mizokami A, Egawa M, Ogawa S, Hamada H, Namiki M. Gene therapy for prostate cancer using the cytosine deaminase/uracil phosphoribosyltransferase suicide system. *J Gene Med.* 2003; 5: 30-37
8. Popivanova BK, Koike K, Tonchev AB, Ishida Y, Kondo T, Ogawa S, Mukaida N, Inoue M,

Yamashima T. Accumulation of microglial cells expressing ELR motif-positive CXC chemokines and their receptors CXCR2 in monkey hippocampus after ischemia-reperfusion. *Brain Res* 970: 195-204, 2003

9. Yatabe N, Kyo S, Maida Y, Nishi H, Nakamura M, Kanaya T, Tanaka M, Isaka K, Ogawa S, Inoue M. HIF-1-mediated activation of telomerase in cervical cancer cells. *Oncogene*. 2004 23:3708-37015
10. Kitao Y, Hashimoto K, Matsuyama T, Iso H, Tamatani T, Hori O, Stern DM, Kano M, Ozawa K, and Ogawa S. ORP150/HSP12A regulates Purkinje cell survival: a role for endoplasmic reticulum stress in cerebellar development. *J Neurosci*. 2004; 24: 1486-96
11. Hori O, Ichinoda F, Yamaguchi A, Taniguchi M, Koyama Y, Tohyama M, Stern D, Ozawa K, Kitao Y, Ogawa S. Role of Herp in the endoplasmic reticulum (ER) stress response. *Genes Cells*. 2004 :457-469
12. Okada K, Minamino T, Tsukamoto Y, Liao Y, Hirota A, Yutani A, Ozawa K, Ogawa S, Tomoike H, Hori M, and Kitakaze M. Prolonged ER Stress in Hypertrophic and Failing Heart Following Aortic Constriction: Possible Contribution of ER Stress to Cardiac Myocyte Apoptosis. *Circulation*. 2004; 110: 705-12
13. Bando Y, Tsukamoto Y, Katayama T, Ozawa K, Kitao Y, Hori O, Stern DM, Yamauchi A, Ogawa S. ORP150/HSP12A protects renal tubular epithelium from ischemia-induced cell death. *FASEB J*. 2004; 18: 1401-3.
14. Nakagomi T, Kitada O, Kuribayashi K, Yoshikawa H, Ozawa K, Ogawa S, Matsuyama T. The 150-kilodalton oxygen-regulated protein ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Am J Pathol*. 2004; 165: 1279-1288
15. Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, Yoshiuchi K, Hatazaki M, Matsuoka TA, Ozawa K, Ogawa S, Hori M, Yamasaki Y, Matsuhisa M. Involvement of endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes. *J Biol Chem*. 2005; 280(1): 847-851
16. Bando Y., Katayama T., Taniguchi M., Matsuo N., Ishibashi T., Ogawa
17. S., Tohyama M. RA410/Sly1 suppresses MPP+ and 6-hydroxydopamine induced cell death in SH-SY5Y cells. *Neurobiology of Disease* 2005; 18: 143-151
18. Ozawa K, Miyazaki T, Hori O, Kitao Y, Tamatani T, and Ogawa S. The ER chaperone 150 kDa Oxygen Regulated Protein (ORP150) improves insulin resistance in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes*. 2005; 54(3): 657-63
19. Aleshin AN, Sawa Y, Kitagawa-Sakakida S, Bando Y, Ono M, Memon IA, Tohyama M, Ogawa S, and Matsuda H. 150-kDa oxygen-regulated protein attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in rat heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2005; 38(3): 517-25.

神経発生における小胞体ストレスに関する研究

主任研究者
分担研究者
同

北尾康子
小川 智
堀 修

研究要旨

ORP150は、生後4-8日にかけて小脳、特にプルキンエ細胞に強い発現パターンを示した。ORP150を過剰発現させたトランスジェニックマウス(TG)では、プルキンエ細胞に強いORP150の発現を認めるとともに、ORP150ノックアウトヘテロ接合体(KO)では、その発現は明らかに減弱していた。ORP150の強制発現によってこの時期における細胞死が抑制され、逆にORP150ノックアウトマウスでは、神経細胞死が加速された。ORP150は海馬神経においてグルタミン酸による細胞内Ca⁺⁺上昇を抑え、細胞死を抑制することから小脳発生過程における神経細胞死にも小胞体を介する神経細胞死の関与が示唆される。

A. 研究目的

脳はグリア細胞やオリゴデンドロサイト、血管内皮細胞など異なった種類の細胞によって構成されるが、中心的存在である神経細胞は虚血に対してとりわけ脆弱である。したがって、長時間に及ぶ虚血では脳を構成するすべての細胞が壊死に陥るが、虚血が短時間である場合、神経細胞だけが死に到る。これに反してアストログリアや血管内皮細胞は虚血に対して強い抵抗性を示すことが知られている。さらに、アストログリアは虚血などの自らの生存すら危うくしかねないような環境下でも神経細胞に対する保護機作を発揮することが知られている。

本研究では、アストログリアが虚血環境で生き抜くためのいくつかの戦略を解析し、その戦略を利用して、虚血環境にあっても神経細胞死を抑制しうるかをテーマとして研究を進めてきた。また、虚血性神経細胞死だけでなくアルツハイマー病による神経細胞死も小胞体のストレス応答異常による可能性が示されてきた。本研究では、小胞体の機能異常が脳虚血とアルツハイマー病に共通する神経細胞死の経路であるとの認識に立ち、小胞体の機能制御による神経細胞死の抑制に関して研究してきた。

B. 研究方法

野生型マウス(WT)、ORP150トランスジェニックマウス(TG)、ORP150ノックアウトマウスヘテロ接合体(KO)より生後1-10日にか

けて小脳を分離しNP-40(1%)にて蛋白を抽出後、SDS-PAGEで分離し、ORP150、GRP78、HSP70、GAD133、による抗体を用いてWestern blotを行った。また、各のマウスを灌流固定し上記抗体による免疫組織染色を行った。小脳プルキンエ細胞のマーカーはCalbindin_{D28k}を用いた。神経細胞死は活性化Caspase-3抗体による免疫染色およびTUNEL法によって行った。

マウスの行動テストはRotor Rodにて評価した。また、小脳プルキンエ細胞の神経回路形成の評価は電気生理学的に行った。

C. 研究結果

マウスにおける小脳発生では神経細胞死がおこることが知られているが、新規小胞体ストレス蛋白であるORP150は、生後4-8日にかけて小脳、特にプルキンエ細胞に強く発現、GRP78、GRP94、HSP70などとは異なった発現パターンを示した。ORP150を過剰発現させたトランスジェニックマウス(TG)では、プルキンエ細胞に強いORP150の発現を認めるとともに、ORP150ノックアウトヘテロ接合体(KO)では、その発現は明らかに減弱していた。野生型マウスでは生後4日をピークにプルキンエ細胞層で活性化型Caspase-3の免疫陽性細胞が見られたが、TGでは陽性細胞数が有意に減少していた。Calbindin染色で評価したプルキンエ細胞数も生後4-20日にかけてTGで多く、KOで減少していた。また、グルタミン酸拮抗薬であるMK-801の投与に

より、TGと同様の傾向が再現された(23)。ORP150ノックアウトマウスの発生初期の小脳プルキンエ細胞を観察すると、出生後4-6日にかけて、TUNEL法および活性化caspase-3による免疫染色で胞死が検出される。この細胞死は、野生型、ORP150トランスジェニックマウ(TG)の順に、すなわち、ORP150の発現が強くなるほど抑制される傾向にあった。さらに、TGでは、プルキンエ細胞の密度も、明らかに増加していた。ところが、行動テストで評価された小脳の機能は、逆にTGで傷害されていた。

D. 考察

グルタミン酸塩受容器とグルタミン酸の結合によって開始される一連の生体反応は、細胞内のカルシウム上昇、さらには、細胞内環境の変化を来し、最終的には神経細胞死に至らしめる。ORP150は興奮性アミノ酸投与によりマウス海馬に誘導され、また、培養海馬

培養神経細胞においてもグルタミン酸負荷に応答して発現上昇する。発生段階の小脳プルキンエ細胞においても、グルタミン酸入力回路の増加が生後4-8日におけると報告されており、ORP150の発現のピークと一致する。砂ネズミの一過性総頸動脈結紮によって海馬CA1領域に遅発性神経細胞死(DND)が起こり、この細胞死は虚血耐性を獲得させた個体では起こらない。ORP150は虚血耐性を獲得した砂ネズミCA1領域に極めて強く発現し、また、あらかじめCA1領域にアデノウイルスベクターを用いてORP150を遺伝子導入することにより、神経細胞死を救済することができる。DNDでは1-2週間で神経細胞死が完成する「慢性虚血性神経細胞死モデル」である。このパラダイムにおいてもORP150は神経細胞死を抑制することが示されている。

E. 結論

発生段階におけるORP150の発現は、発生と

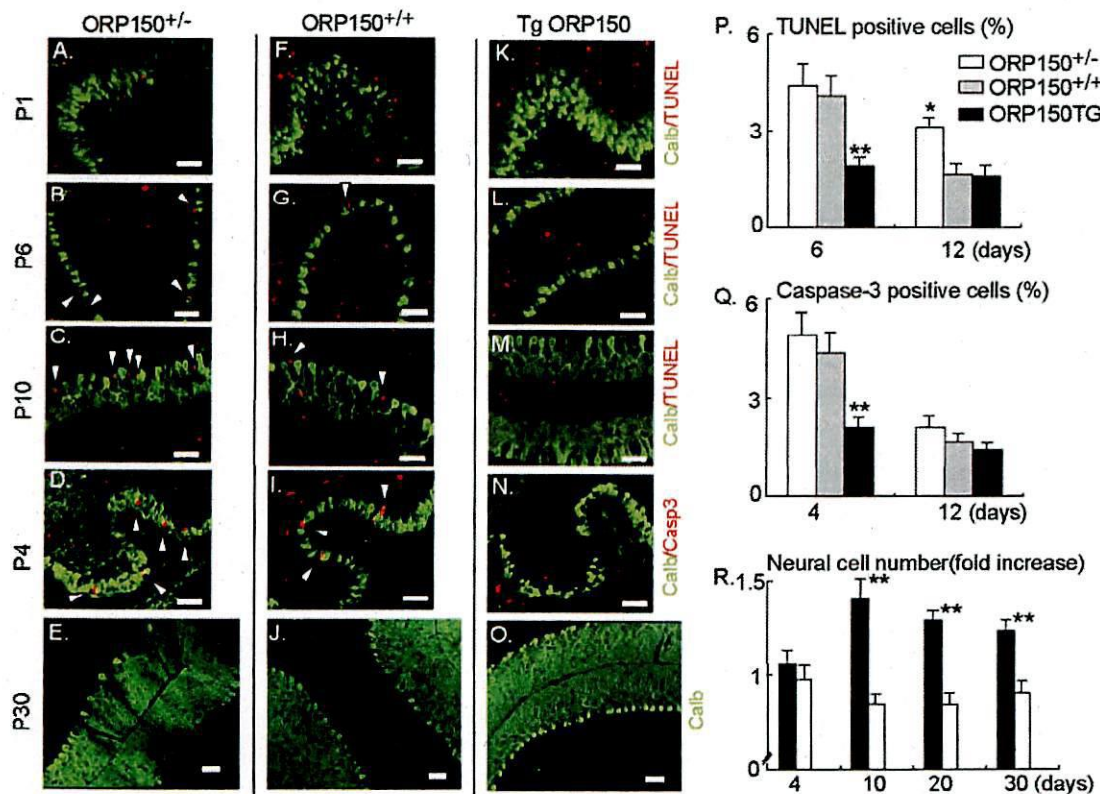


図: 発生初期の小脳体ストレスが小脳プルキンエ細胞の至適密度を決める。

ORP150ノックアウトマウスの発生初期の小脳プルキンエ細胞を観察すると、出生後4-6日にかけて、TUNEL法および活性化caspase-3による免疫染色で胞死が検出される。この細胞死は、野生型、ORP150トランスジェニックマウ(Tg ORP150)の順に、すなわち、ORP150の発現が強くなるほど抑制される傾向にあった。さらに、Tg ORP150では、プルキンエ細胞の密度も、明らかに増加していた。ところが、行動テストで評価された小脳の機能は、逆にTg ORP150で傷害されており、発生段階における小脳体ストレスが、ホストのプルキンエ細胞の至適密度を決めると考えられる。

いうより慢性的な変化における小胞体ストレスの存在を示している。急性虚血だけでなくヒトに見られるような慢性虚血、さらには慢性的に進行する神経変性疾患においても小胞体ストレスの重要性が示唆される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Ikematsu K, Tsuda R, Kondo T, Kondo H, Ozawa K, Ogawa S, and Nakasono I. The expression of a novel stress protein '150-kDa oxygen regulated protein' in sudden infant death. *Leg Med (Tokyo)*. 2003 ;5: 15-9
- Miyagi T, Koshida K, Hori O, Konaka H, Katoh H, Kitagawa Y, Mizokami A, Egawa M, Ogawa S, Hamada H, Namiki M. Gene therapy for prostate cancer using the cytosine deaminase/uracil phosphoribosyltransferase suicide system. *J Gene Med*. 2003; 5: 30-37
- Kitao Y, Hashimoto K, Matsuyama T, Iso H, Tamatani T, Hori O, Stern DM, Kano M, Ozawa K, and Ogawa S. ORP150/HSP12A regulates Purkinje cell survival: a role for endoplasmic reticulum stress in cerebellar development. *J Neurosci*. 2004; 24: 1486-96
- Yatabe N, Kyo S, Maida Y, Nishi H, Nakamura M, Kanaya T, Tanaka M, Isaka K, Ogawa S, Inoue M. HIF-1-mediated activation of telomerase in cervical cancer cells. *Oncogene*. 2004, in press.
- Hori O, Ichinoda F, Yamaguchi A, Taniguchi M, Koyama Y, Tohyama M, Stern D, Ozawa K, Kitao Y, Ogawa S. Role of Herp in the endoplasmic reticulum (ER) stress response. *Genes to Cells*, 2004, in press.
- Okada K, Minamino T, Tsukamoto Y, Liao Y, Hirota A, Yutani A, Ozawa K, Ogawa S, Tomoike H, Hori M, and Kitakaze M. Prolonged ER Stress in Hypertrophic and Failing Heart Following Aortic Constriction: Possible Contribution of ER Stress to Cardiac Myocyte Apoptosis. *Circulation*, 204, in press.
- Bando Y, Tsukamoto Y, Katayana T, Ozawa K, Kitao Y, Hori O, Stern D, Yamauchi A, and Ogawa S. ORP150/HSP12A protects renal tubular epithelium from ischemia-induced cell death. *FASEB J*, 2004, in press.

2. 学会発表

Kitao Y, Tamatani T, Hori O, Ozawa K, and Ogawa S. ORP150は発生段階における小脳プルキンエ細胞死を抑制する。神経科学学会、2003 名古屋

Kitao Y, Ozawa K, Hori O, and Ogawa S. 脳虚血における小胞体ストレスの役割。神経科学学会、2003 名古屋

Hori O, Ichinoda F, Kitao Y, Ozawa K, and Ogawa S. 小胞体ストレスにおけるユビキチン様蛋白Herp/SUPの役割。日本分子生物学会、2003 神戸。

ORP150/HSP12A suppresses Purkinje cell death in cerebellar development. 米国細胞生物学会、2003 サンフランシスコ

Hori O, Ichinoda F, Yamaguchi A, Taniguchi M, Koyama Y, Tohyama M, Stern D, Ozawa K, Kitao Y, Ogawa S. Role of a ubiquitin-like protein in the endoplasmic reticulum (ER) stress response. 米国細胞生物学会、2003 サンフランシスコ

Neuroserpinopathyのモデルとしてのメグシントランスジェニックラットの解

主任研究者 北尾康子
分担研究者 小川 智
同 堀 修

研究要旨

セリンプロテアーゼの遺伝子変異により異常なセリンプロテアーゼが小胞体内に蓄積する疾患はserpinopathyと総称される。セリンプロテアーゼ阻害ペプチドであるメグシンを全身発現させたメグシントランスジェニックラット(Tg Mrg)は、そのホモ接合体は腎不全や糖尿病などの全身疾患を呈し、若年にて死亡するが、ヘテロ接合体は、正常に生育するものの、生後12ヶ月で、行動テストにて記憶力低下を示した。Tg Mrg(ヘテロ接合体)より得られた神経細胞はカルシウム代謝異常を示し、アストロサイトは低酸素環境にてより脆弱であり、その細胞死には小胞体ストレス蛋白の発現上昇とcaspase-12の活性化を伴った。Tg Mrgでは生後2-4ヶ月で海馬CA1領域にcaspase-12の活性化、4-6ヶ月でcaspase-3の活性化を示し、同領域における神経細胞密度の低下を示した。さらにcaspase-12の活性化は黒質緻密層でもみられ、チロシン水酸化酵素(TH)染色陽性の神経細胞の密度減少を伴っていた。以上の事実は、メグシンの過剰発現によって慢性的に小胞体負荷のかかった神経細胞で慢性的かつ緩徐な細胞死が起こることを示している。

はじめに

a1アンチトリプシン欠損症は、遺伝子の欠損ではなくa1アンチトリプシンの遺伝子変異により小胞体で正常にfoldingされずに小胞体内に異常アンチトリプシンが蓄積、小胞体負荷をもたらす疾患で、同様の疾患はserpinopathyと総称される。中枢神経系でも神経回路の可塑性に関与するセリンプロテアーゼ、およびその阻害ペプチドの変異はneuroserpinopathyと呼ばれる神経変性疾患を呈することが知られている。

メグシンは東海大学の宮田らによって腎糸球体上皮細胞において発現しているセリンプロテアーゼ阻害ペプチドとしてクローニングされた。非常に興味深いことに、メグシンを強制発現させたトランスジェニックラットのホモ接合体では、加齢に伴って、糖尿病、腎不全、低蛋白血症、呼吸器障害などを呈し12週齢以前に死亡するためserpinopathyのモデルであると考えられる。

これに対して、Tg Mrgのヘテロ接合体では生後12ヶ月を経ても主たる臓器異常は見られない。ところが中枢神経系の詳細な観察では、海馬や黒質緻密層(SNpc)において、ORP150をはじめとする小胞体ストレス蛋白の発現上

昇、caspase-12などの細胞死関連酵素の活性化がみられ、神経細胞密度の減少がみられることが明らかになった。

研究方法

1) ERストレス蛋白、細胞死マーカーを用いた免疫組織染色

Tg Mrgヘテロ接合体ラット(以下、Tg Megと略す)およびコントロールとしてメグシントランスジェンを持たない野生型ラット(Non Tgと略す)を用い、生後2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月の時点で灌流固定し、海馬領域の免疫組織染色(抗ORP150抗体、抗MAP2抗体、抗活性化型caspase-3、抗Neuro-N抗体)を用いた免疫組織染色を行った。

2) 培養アストロサイトを用いた検討

生後すぐのTg MegおよびNon Tgラット脳よりアストロサイトを分離培養し、2次培養の後、以下の実験に供した。アストロサイトを最長48時間まで低酸素環境に暴露し、そのviabilityをLive and dead方にて評価した。また、ORP150、GRP78、活性化型caspase-12を

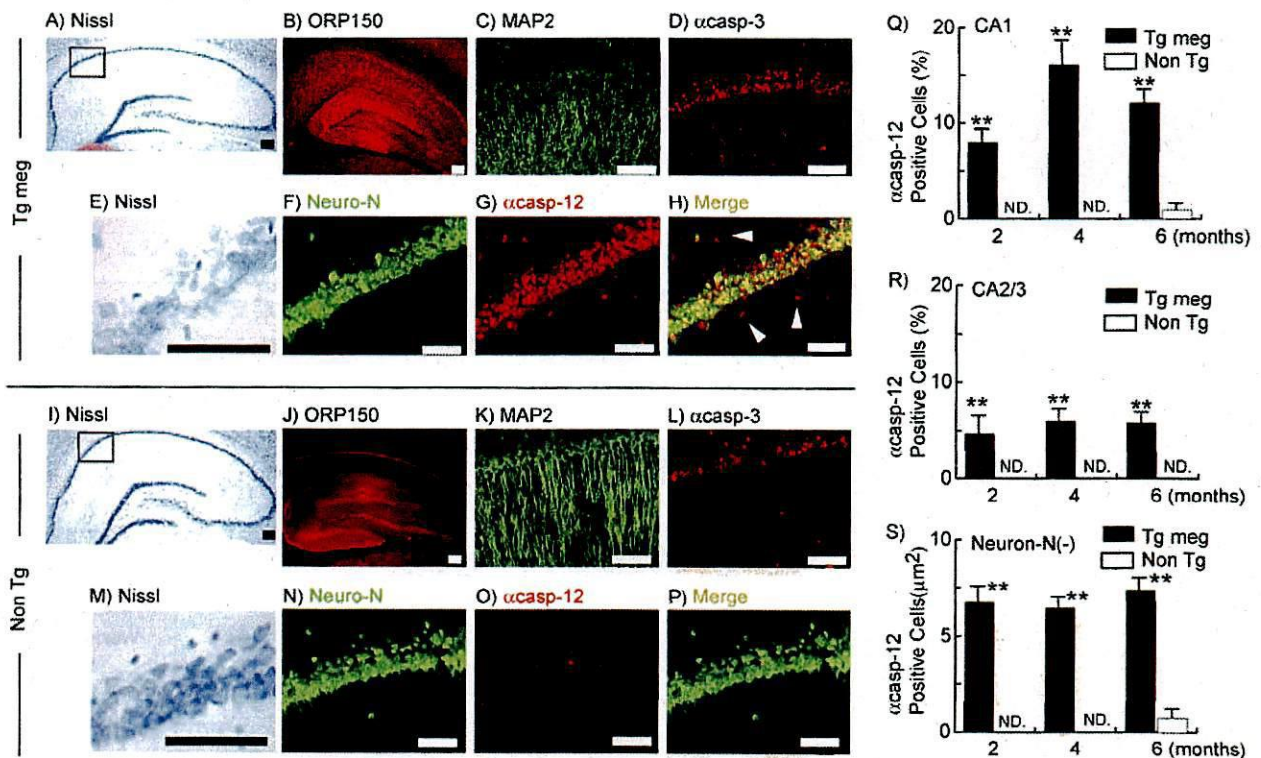


図1: メグシンを過剰発現させたラットではCA1領域で神経細胞死が加速する。

Tg Mrgでは、Non Tgと比較して、生後2-6ヶ月にかけて海馬全体でORP150の発現上昇を認め、これに一致してCA1領域で、活性化型caspase-12およびcaspas-3のシグナルも増加していた。CA3でも若干のシグナル増強を認めた。また、Neuro-N抗体で染色されない細胞、すなわち神経細胞以外の細胞でもTg Mrgでは活性化型caspase-12の陽性シグナルを検出した。

認識する抗体、およびb-actin抗体を用いたWestern blotを行った。低酸素暴露後18時間の細胞を用いてGRP78およびメグシンに対する抗体を用いて免疫組織染色を行った。また、小胞体での蛋白分解を阻害する物質としてLactacystinを用いた。さらに、低酸素環境下でのメグシンの細胞内分布を確認する目的でOptiPrepによる密度勾配用によって小胞体分画とゴルジ分画を分離し、dotプロットを行った。局在マーカーとしてそれぞれ、calnexin抗体(小胞体)とTGN38抗体(ゴルジ装置)を用いた。また、強制発現されたメグシンが小胞体から処理される過程を分析するためユビキチンを用いた免疫沈降を行った。

結果

1)海馬CA1領域における神経細胞死(図1)

Tg Mrgでは、Non Tgと比較して、生後2-6ヶ月にかけて海馬全体でORP150の発現上昇を認め、これに一致してCA1領域で、活性化型

caspase-12およびcaspas-3のシグナルも増加していた。CA3でも若干のシグナル増強を認めた。また、Neuro-N抗体で染色されない細胞、すなわち神経細胞以外の細胞でもTg Mrgでは活性化型caspase-12の陽性シグナルを検出した。

2)細胞死とメグシンの細胞内分布(図2)

Tg Megより得られたアストロサイトは低酸素環境で、Non Tgより得られた細胞に比し明らかな脆弱性を示した。また、Western blotでは、Tg Mrg由来のアストロサイトではORP150やGRP78などの小胞体ストレス蛋白の発現上昇が明らかであり、さらに低酸素暴露24時間後でcaspase-12の活性化を認めた。また、メグシンの細胞内分布は低酸素負荷前はGRP78のそれと一致する小胞体パターンを示し、低酸素暴露後は核周囲に凝集する傾向が見られ、これはLactacystin添加による変化に類似していた。さらに、OptiPrepによる細胞分画では低酸素暴露前には小胞体とゴルジ装置に連続的に分布していたメグシンが、低

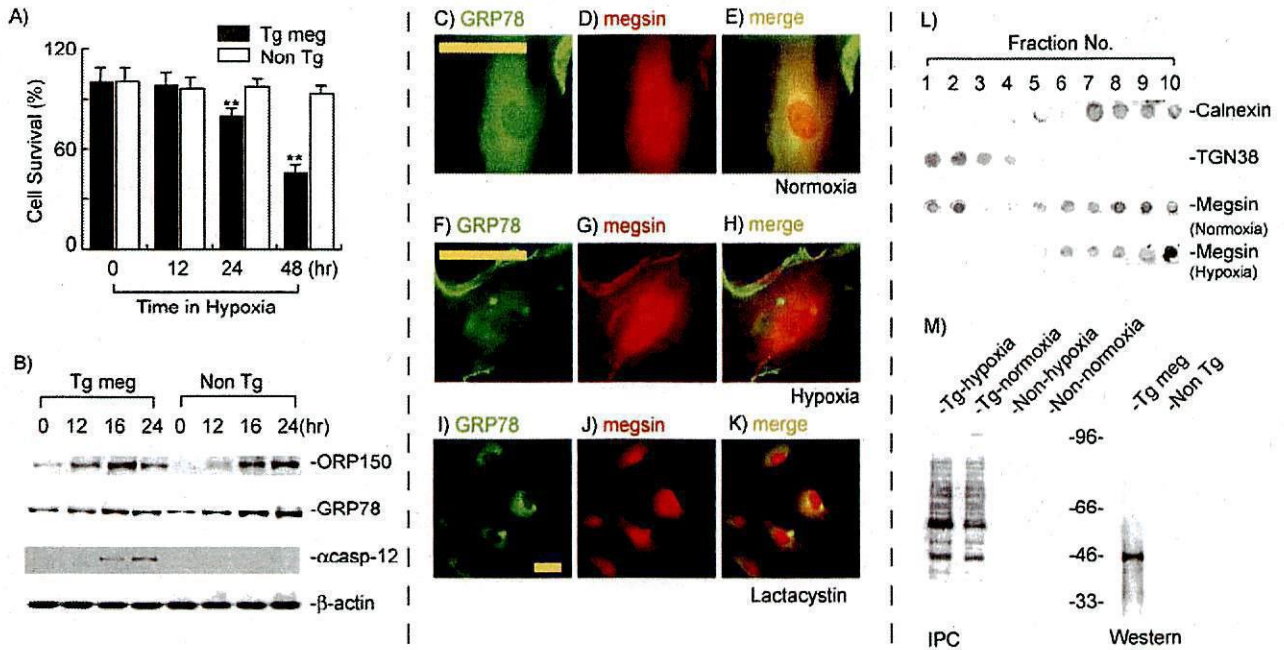


図2: メグシンを過剰発現させたラットではCA1領域で神経細胞死が加速する。

Tg Megより得られたアストロサイトは低酸素環境で、明らかな脆弱性を示した(A)。Tg Mrg由来のアストロサイトではORP150やGRP78などの小胞体ストレス蛋白の発現上昇が明らかであり、低酸素暴露24時間後でcaspase-12の活性化を伴った(B)。メグシンの細胞内分布は低酸素暴露後は核周囲に凝集する傾向が見られた(C-K)。OptiPrepによる細胞分画では、低酸素環境では小胞体に局在する傾向を示した(L)。メグシンが低酸素暴露にかかわらず、ユビキチン化され、小胞体から分解輸送されていることが明らかとなった(M)。

酸素環境では小胞体に局在する傾向を示した。またユビキチンを用いた免疫沈降では、メグシンが低酸素暴露にかかわらず、ユビキチン化され、小胞体から分解輸送されていることが明らかとなった。

考察

小胞体に不必要な蛋白が蓄積した場合ERAD (ER-associated degradation)と呼ばれる機構により細胞質に引き出され、蛋白分解を受けることが知られている。Tg Megにおけるメグシンは、通常でもこのERADにより分解されていると考えられるが、低酸素などの環境変化によって小胞体機能の維持が困難になった場合、小胞体のfolding capacityを超え、細胞死に至ると考えられる。海馬CA1領域では、通常でも興奮性アミノ酸によって常に小胞体負荷がかかった状態にあると考えられる。前回の我々の報告でもORP150ノックアウトマウスでは興奮性アミノ酸の負荷によってCA1領域の神経細胞死が見られた。Tg Megでは、慢性的なかつ繰り返す興奮性アミノ酸の負荷と小胞体負荷によりこの部位での神経細胞死

が緩やかに進んでいくと考えられた。

発表論文

Bando Y., Katayama T., Taniguchi M., Matsuo N., Ishibashi T., Ogawa S., Tohyama M. RA410/Sly1 suppresses MPP+ and 6-hydroxydopamine induced cell death in SH-SY5Y cells. *Neurobiology of Disease* 2005; 18: 143-151

Ozawa K, Miyazaki T, Hori O, Kitao Y, Tamatani T, and Ogawa S. The ER chaperone 150 kDa Oxygen Regulated Protein (ORP150) improves insulin resistance in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes*. 2005; 54(3): 657-63

Aleshin AN, Sawa Y, Kitagawa-Sakakida S, Bando Y, Ono M, Memon IA, Tohyama M, Ogawa S, and Matsuda H. 150-kDa oxygen-regulated protein attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in rat heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2005; 38(3): 517-25.