

- CP Jr and Selby JV: Hypoglycemic episodes and risk of dementia in older patients with type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 301: 1565 - 1572, 2009.
- 4) Ikeda T, Takahashi T, Sato A, Tanaka H, Igarashi S, Fujita N, Kuwabara T, Kanazawa M, Nishizawa M and Shimohata T: Predictors of outcome in hypoglycemic encephalopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 101: 159 - 163, 2013.
- 5) Jung SL, Kim BS, Lee KS, Yoon KH and Byun JY: Magnetic resonance imaging and diffusion-weighted imaging changes after hypoglycemic coma. *J Neuroimaging* 15: 193 - 196, 2005.
- 6) Ikeda T, Takahashi T, Tsujita M, Kanazawa M, Toriyabe M, Koyama M, Itoh K, Nakada T, Nishizawa M and Shimohata T: Effects of Alda - 1, an Aldehyde Dehydrogenase - 2 Agonist, on Hypoglycemic Neuronal Death. *PLoS One* 10: e0128844, 2015

4 糖尿病性臓器障害の基礎的検討 —糖尿病性心筋症・腎症と小胞体ストレス—

渡辺 賢一・Arun PL・Vivian S・Flori RS
 Vijayakumar S・Vijayasree V・Rejina Afrin・Somasundaram Arumugam
 Vengadesh Karuppagounder・Rajarajan A. Thandavarayan
 Vigneshwaran Pitchaimani・Remya Sreedhar・張馬 梅蕾
 結城 智史・鈴木 浩史・宮下しずか
 野本真由美・中村 隆志
 新潟薬科大学・薬学部・臨床薬理学

Basic Studies of Diabetes Mellitus - diabetic Cardiomyopathy and Nephropathy

K WATANABE, Arun Prasath LAKSHMANAN, Vivian SOETIKNO, Flori R SARI
 Vijayakumar SUKUMARAN, Vijayasree V GIRIDHARAN, Rejina AFRIN
 Somasundaram ARUMUGAM, Vengadesh KARUPPAGOUNDER, Rajarajan A THANDAVARAYAN
 Vigneshwaran PITCHAIMANI, Remya SREEDHAR, M HARIMA, S YUKI, H SUZUKI
 S MIYASHITA, M NOMOTO and T NAKAMURA

*Department of Clinical Pharmacology, Niigata University of
 Pharmacy and Applied Life Sciences*

要 旨

心臓・腎臓など糖尿病性臓器障害の進展は、AMP活性化プロテインキナーゼ (AMPK) と小胞体ストレスが関与する。AMPKと小胞体ストレスは、糖尿病性臓器障害における新治療薬の標的となりうることが示唆される。糖尿病性腎症モデルの腎臓では酸化ストレス・炎症・線維

Reprint requests to: Kenichi WATANABE
 Department of Clinical Pharmacology, Niigata
 University of Pharmacy and Applied Life Sciences,
 265 - 1 Higashijima, Akiha - ku,
 Niigata 956 - 8603, Japan.

別刷請求先：〒956-8603 新潟市秋葉区東島265-1
 新潟薬科大学・薬学部・臨床薬理学 渡辺 賢一

化・脂肪沈着が亢進している。クルクミンはこれらを改善し、安価な糖尿病腎症の予防薬・治療薬となりうることが示唆される。

Diabetic nephropathy (DN) is the leading cause of chronic kidney disease (CKD) in patients starting renal replacement therapy and affects ~ 40 % of type 1 and type 2 diabetic patients. Hyperglycemia plays a key role in the pathogenesis of long-term complications in diabetes mellitus. This process is influenced by individual susceptibility (i.e. genetic determinants) and by accelerating factors such as hypertension, inflammation and dyslipidemia, all of which are able to stimulate generation of reactive oxygen species (ROS). The increased of ROS production causes tissue damage through 4 major mechanisms: (1) increased flux of glucose and other sugars through the polyol pathway; (2) increased intracellular formation of advanced glycation end products (AGEs) and its receptor; receptor for AGEs (RAGE) and its activating ligands; (3) activation of protein kinase C (PKC) isoforms; and (4) overactivity of the hexosamine pathway. The PKC signaling pathway is the postulate that has received the most attention lately. PKC activation is involved in the regulation of vascular permeability and contractility, endothelial cell activation and vasoconstriction, extracellular matrix (ECM) synthesis and turnover, abnormal angiogenesis, excessive apoptosis, leucocyte adhesion, abnormal growth factor signaling and cytokine action, as well as abnormal cell growth and angiogenesis, all of which are involved in the pathophysiology of diabetic vascular complications.

There is growing evidence that abnormal lipid metabolism and renal accumulation of lipids play a role in the pathogenesis of DN. Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) are transcription factors that regulate fatty acid and cholesterol synthesis. SREBPs belong to basic helix-loop-helix-leucine zipper family and activate the entire program of fatty acid and cholesterol synthesis in liver. Currently, there are three SREBPs isoforms that have been identified and characterized, namely, SREBP-1a, SREBP-1c, and SREBP-2. Multiple lines of evidence suggest that SREBP-1 and SREBP-2 have different relative effects on target genes. SREBP-1 preferentially activates genes involved in fatty acid and triglyceride synthesis, including Acetyl-CoA carboxylase (ACC) and fatty acid synthase (FAS), whereas SREBP-2 preferentially activates genes involved in cholesterol biosynthesis such as hydroxymethylglutaryl CoA synthase, hydroxymethylglutaryl CoA reductase, farnesyl diphosphate synthase, and squalene synthase. It has been demonstrated that there is an inverse correlation between 5' Adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) and SREBP-1c activity in hepatocytes and in livers of re-fed mice and ethanol-fed mice. In fact, AMPK is sufficient and necessary for the suppression of SREBP-1c proteolytic processing, nuclear translocation, and gene expression of target lipogenic enzymes in response to AMPK activators, such as polyphenols and metformin, in primary hepatocytes under conditions mimicking *in vivo* hyperglycemia and hyperinsulinemia.

Curcumin is the major active constituent of turmeric, a yellow compound originally isolated from the plant *Curcuma longa L.* and has been used as a dietary spice and coloring agent in foods. It has a wide spectrum of biological and pharmacological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, anti-obesity, and anticancer properties, prevents liver injury and kidney toxicity.

We investigated the role of curcumin in experimental type 1 diabetic rats. Our results suggest that curcumin could ameliorate hyperglycemia, hyperlipidemia, inflammation and fibrosis in kidney tissues associated with DN which involved the dual blockade of both PKC α and PKC β 1 activities, reduced macrophage infiltration through the inhibition of NF- κ B, and reduced renal triglyc-

eride accumulation through the modulation of AMPK-SREBP pathway. Collectively, my present study provides data to support the role of curcumin in ameliorating DN in rats.

キーワード：小胞体ストレス, 酸化ストレス, 糖尿病性心筋症, 糖尿病性腎症, クルクミン

Key words: endoplasmic reticulum stress, oxidative stress, diabetic cardiomyopathy, diabetic nephropathy, curcumin

はじめに

糖尿病では持続的高血糖・終末糖化産物によるさまざまな代謝異常だけでなく、内臓脂肪型肥満・脂質異常症・高血圧などの危険因子が重複する例が多い。更に、アデポネクチン低下・活性酸素増加・高インスリン・インスリン様成長因子(IGF)-1活性増加などにより、癌発生率や再発率が増加する¹⁾⁻¹⁰⁾。

糖尿病合併症は網膜症・腎症・神経障害のみならず、ケトアシドーシス・高浸透圧昏睡・大血管障害・認知症など多岐にわたる。臓器障害の成因は多岐にわたるが、ポリオール(ソルビトール・フルクトース)経路と神経障害、代謝異常・糸球体高血圧と腎障害、血管新生・血管内皮増殖因子(VEGF)・血液網膜関門と網膜症などの関係が注目されている。更に、細胞膜上電位依存性カルウムチャネル遺伝子KCNQ1なども注目されている。

Diabetic Cardiomyopathyは糖尿病性心筋症と和訳され、明らかな冠動脈狭窄を有さない心筋障害を意味しているが、その定義は明確でない。病理学的には心筋肥大・線維化・拡張不全・微小血管壁肥厚・微小血管障害などが見られるが、特徴的な所見ではない¹¹⁾⁻¹⁵⁾。

AMP活性化プロテインキナーゼ(AMP-activated protein kinase: AMPK)は、糖・脂質・蛋白質などの代謝に関係し細胞エネルギー代謝における重要な酵素である(図-1)。糖尿病やメタボリック症候群でインスリン抵抗性が注目されている。インスリンの効き目が悪くなって、高インスリン血症になると数々の疾患の発生や再発を促進するが、AMPKはインスリン抵抗性を改善する因

子として注目されている。AMPKは人から酵母まで真核細胞に高度に保存されているセリン・スレオニンキナーゼの一種で、代謝物感知タンパク質キナーゼファミリー(metabolite-sensing protein kinase family)のメンバーとして細胞内のエネルギーのセンサーとして重要な役割を担っている。全ての真核生物は、細胞が活動するエネルギーとしてアデノシン三リン酸(Adenosine Triphosphate: ATP)を利用している。ATPがエネルギーとして使用されるとADP(Adenosine Diphosphat)とAMP(Adenosine Monophosphate)が増加する。すなわち、 $ATP \rightarrow ADP + 1 \text{リン酸}$ $\rightarrow AMP + 2 \text{リン酸}$ と分解され、リン酸を放出する過程でエネルギーが産生される。AMPKはこのAMPで活性化されるタンパクリン酸化酵素で、低グルコース・低酸素・虚血・熱ショックなどの細胞内ATP供給が枯渇する状況において、AMP増加に反応して活性化される。AMPKは細胞内エネルギー(ATP)減少を感知して活性化し、異化の亢進(ATP産生の促進)と同化の抑制(ATP消費の抑制)を誘導し、ATPのレベルを回復させる効果がある。すなわち、AMPKが活性化すると糖・脂肪・蛋白質合成は抑制され、分解(異化)が亢進してATPが産生される。したがって、AMPKの活性化は運動と同効果になり、肥満や2型糖尿病の治療にも応用が可能となることが示唆されている¹⁶⁾⁻²⁰⁾。

AMPKは、 $\alpha \cdot \beta \cdot \gamma$ の3つのサブユニットからなるヘテロ三量体として存在し、AMPが γ サブユニットに結合することでその複合体が活性化される。AMP/ATP比の増加・細胞内pHおよび還元状態の変化・クレアチン/ホスホクレアチン比増加だけでなく、レプチン・アディポネクチン

AMPK signaling mechanisms

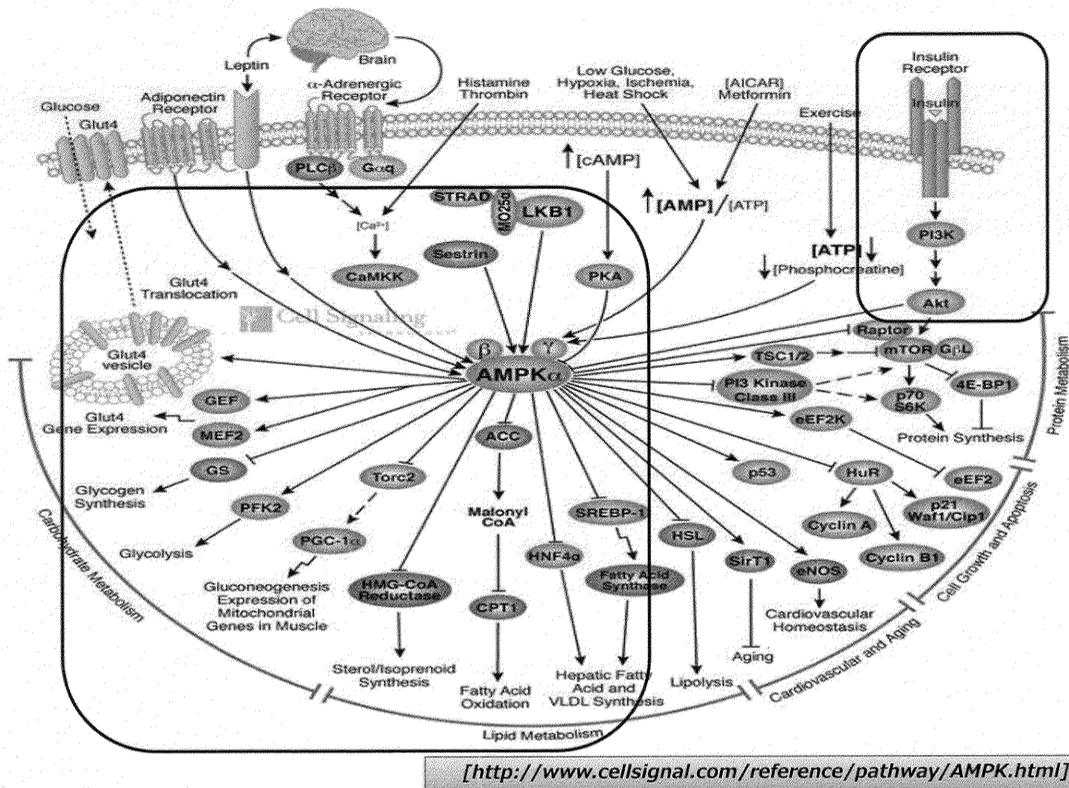


図1 AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMP - activated protein kinase: AMPK)

- AMPK は、糖・脂質・蛋白質などの代謝に関係し細胞エネルギー代謝における重要な酵素である。
- This figure shows the physiological roles of AMPK, mainly the signaling pathways that mediate the glucose and lipid metabolism, aging process, cell growth and apoptosis and protein metabolism.
- During high or low glucose level the AMP: ATP is disturbed and which leads to the activation of alpha subunit of AMPK with the activation of the upstream kinases of AMPK LKB1 and CaMKK. Then which leads to enhanced glucose metabolism through the GLUT4 translocation process as well as the activation of PGC - 1 - alpha for gluconeogenesis process.
- In view of lipid metabolism, AMPK phosphorylates the ACC thereby prevent the Malonyl CoA enzyme action, thereby increase the activation of CPT1 finally leads to the enhanced lipid metabolism. In addition, AMPK controls the SREBP - 1c regulation for the fatty acid metabolism.

などの肥満関連サイトカインにより活性化されることや、中枢神経系での摂食行動の制御への関与が明らかとなりつつある。更に、AMPKがmTOR経路を阻害し癌発生・増殖の抑制や、癌治療効果

を高めることが報告されている。したがって、AMPKと癌・老化の関連側からみるとSU剤などのインスリン分泌促進薬よりもビッグアナイドなどのインスリン抵抗性改善薬の方が好ましいといえ

表1

Type 1 diabetes mellitus----ストレプトゾトシン100-150mg/kg

Model category	Type 2 diabetes mellitus	
	Obese	Non-obese
Spontaneous or genetically derived diabetic animals	Ob/ob mouse Db/db mouse KK mouse KK/Ay mouse NZO mouse NONcNZO10 mouse TSOD mouse M16 mouse Zucker fatty rat ZDF rat SHR/N-cp rat OLETF rat Obese rhesus monkey	Cohen diabetic rat GK rat SDT rat Akita mouse ALS/Lt mouse

る。

糖尿病に限らずほとんど全ての疾患に酸化ストレスが関係することが明らかになりつつある。一方、小胞体ストレスおよび小胞体を介するアポトーシスも注目されつつある。小胞体はタンパクの構築、脂質やコレステロールの代謝を行う重要な細胞内器官である。小胞体ストレスが蓄積すると、細胞内に折りたたまれない蛋白が増加・活性化しGRP78が活性化される。GRP78はさらにIRE1・PERK・ATF6を活性化する。小胞体ストレスが長引けば、CHOP経路を介して更に下流のアポトーシス経路を刺激する。虚血・酸化ストレス・高血糖・感染などにより小胞体の折りたたみ機能が傷害される。心不全・心肥大・糖尿病性心筋症など傷害された臓器では、CCAAT/enhancer binding protein homology protein (CHOP) 発現が充

進している^{21) - 26)}。

微小血管症である網膜症・腎症・神経障害は三大合併症と呼ばれている。糖尿病腎症 (Diabetic Nephropathy ; DN) は、新規透析患者数の40%以上を占めている。DNの発症・進展阻止は医療経済や国民の健康上大きな課題となっている。アンジオテンシンが小胞体ストレス・腎細胞障害・アポトーシスに大きく関与し、腎保護作用が優れているアンジオテンシン変換酵素 (Angiotensin Converting Enzyme; ACE) 阻害薬やアンジオテンシン受容体拮抗薬 (Angiotensin Receptor Blocker; ARB) が治療薬として用いられているが治療効果が不十分であり、新たな作用機序を持った創薬が必要とされている。21世紀に入り生物学的薬剤や核酸医薬などが合成されているが、中世時代の生薬・医食同源も見直されている。たとえ

ば桑葉の血糖降下作用などが報告されている。一方、クルクミンはカレーに使われるスパイスのウコン（ターメリック）に含まれるポリフェノールで、肝臓疾患・アルツハイマー病・アルコール障害などへの効能が期待されている。数千年の歴史を持つインドの伝承医学アーユルヴェーダにも記述があり、現在も滋養強壮や美肌効果を求めて民間医療に使われているが不明点が多い。

糖尿病モデル動物として、Zucker・ZDF・SDT・ob/obなどの遺伝的ラット・マウスやストレプトゾトシン（Streptozotocin）誘発モデル等がある（表-1）。2型糖尿病モデル動物のSpontaneous Diabetic Torii（SDT）を用いて心臓における酸化ストレス・小胞体ストレスの関与について検討した。次に、1型糖尿病モデルとしてストレプトゾトシン誘発糖尿病腎症モデルを作成し、組織病理学・炎症線維化関連因子・酸化ストレス関連因子・腎細胞アポトーシス等にてクルクミンの腎保護作用を検討した^{27) - 52)}。

材料と方法

(A) 正常 Sprague-Dawley (SD) ラットと自然発症 2型糖尿病モデルラット SDT を用いて 8 週齢から 32 週齢まで経過を観察し、(1) AMPK・マイトージェン活性化キナーゼ（Mitogen Activated Protein Kinase；MAPK）の役割、(2) 小胞体ストレスシグナル伝達経路（PERK, ATF6 and IRE-1 α ）の役割を検討した。ウエスタンブロット法にて、酸化ストレス（p47phox, p67phox and 3-nitrotyrosine）・レニンアンジオテンシン経路（AT-1R, AT-2R and Ang (1-7) mas R）・AMPK 経路（Tak1, LKB1, p-AMPK α , SREBP-1c, PPAR α , PPAR γ , CPT-1, PGC-1 α and GLUT4）・インスリン経路（p-Akt and p-PI3K）・MAPK 経路（p-P38 MAPK, p-JNK and p-ERK1/2）・小胞体経路（GRP78, calreticulin, p-PERK, p-IRE-1 α , p-eIF2 α , XBP-1, ATF6, TRAF2 and CHOP/GADD153）・アポトーシス経路（Bcl2, p-BAD, cytochrome C, caspase-7 and caspase-12）の蛋白発現を検討した。

心機能・病理組織像・免疫染色・アポトーシス TUNEL 染色などは既報告の方法にて比較検討した^{27) - 52)}。

(B) 8 週齢 SD ラットに STZ55mg/kg を腹腔内投与し、Medi-safe chips を用いて血糖値を測定し 300mg/dl 以上のラットを糖尿病と判断し使用した。糖尿病モデル無治療群（n = 8）・糖尿病モデルにクルクミン 100mg/kg/day 投与群（n = 8）・同週齢健常ラット（n = 8）の 3 群を STZ 投与 3 週間後から 8 週間にわたり対比検討した。尿・血液・腎臓病理組織・酸化ストレスマーカーなどを測定した。腎臓を 10% formalin で固定し、パラフィン包埋を行った。3~5 μ m の厚さのパラフィン切片を作成し、ヘマトキシリンエオジン・Azan-Mallory・オイルレッド染色及びコラーゲン IV・フィブロネクチン・FLK-1 の免疫組織染色を行った。酸化ストレスマーカーとして NADPH オキシダーゼの p67phox・Nox4 を、サイトカイン・MAPK・炎症・脂質代謝のマーカーとして、ERK・PKC・TGF- β ・VEGF・ICAM-1・IkB α ・NF κ B・TNF- α ・MCP-1・SREBP-1・AMPK α などをウエスタンブロット法にて測定した。アポトーシスは TUNEL 法にて測定した。TNF- α ・IL-1 β ・p300・ACC・FAS は RT-PCR にて測定した。One-way ANOVA followed by Tukey's for post-hoc analysis and two-tailed *t*-test を用いて統計計算を行った^{27) - 52)}。

結果・考察

(A) SDT ラットでは SD ラットに比し、21~32 週齢目で高血糖（750 vs 115 mg/dL）・体重減少・インスリン（0.4 vs 2.5 ng/mL）低下が見られた。また、心筋細胞肥大と心機能の低下も見られた。32 週齢 SDT の心臓では SD ラットに比し、(1) インスリン経路の p-Akt・p-PI3K が低下していた。(2) AMPK α 活性低下とその下流の MAPK 特に p38 MAPK と JNK の活性低下が見られた。(3) 小胞体経路では特に PERK と ATF6 が活性化し小胞体ストレス（Unfolded Protein

Response ; UPR) が増加していた。(4) 酸化ストレス・レニンアンジオテンシン経路が活性化しアポトーシスが亢進していた^{27) - 52)}。

(B) 糖尿病腎症では PKC α ・PKC β 1・p67phox・Nox4 の発現亢進が見られ, 更に I κ B α の低下と p-NF κ B・TNF- α ・IL-1 β の増加が見られた。クルクミン投与でこれらが改善したことから, 糖尿病では酸化ストレス・炎症経路が亢進しクルクミンはこれらを改善することが示唆された。糖尿病腎臓では ADRP 強染色・オイルレッド染色 (+) やアポトーシス・コラーゲン IV・TGF β ・OPN 蛋白発現亢進が見られたが, クルクミン投与でこれらが改善した。以上から, 糖尿病性腎症では線維化・脂肪沈着などが生じているがクルクミン投与にてそれらの改善が示唆された^{27) - 52)}。

結 論

糖尿病性心臓障害の進展は, AMPK と小胞体ストレスが関与する。AMPK・UPR は, 糖尿病性臓器障害における新治療薬の標的となりうることが示唆された。糖尿病性腎症モデルの腎臓では酸化ストレス・炎症・線維化・脂肪沈着が亢進していた。クルクミンはこれらを改善し, 安価な糖尿病腎症の予防薬・治療薬となりうることを示唆された。

文 献

- Shaw JE and Sicree RA: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 87, 4 - 14, 2010.
- Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 414, 813 - 820, 2001.
- Whiteside CI and Dlugosz JA: Mesangial cell protein kinase C isozyme activation in the diabetic milieu. *Am J Physiol Renal Physiol.* 282, F975 - 980, 2002.
- Adler AI and Stratton IM: Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 36): prospective observational study. *BMJ.* 321, 412 - 419, 2000.
- Sheetz MJ and King GL: Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *JAMA.* 288, 2579 - 2588, 2002.
- Steinberg SF: Structural basis of protein kinase C isoform function. *Physiol Rev.* 88, 1341 - 1378, 2008.
- Geraldes P and King GL: Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res.* 106, 1319 - 1331, 2010.
- Kelly DJ and Zhang Y: Protein kinase C beta inhibition attenuates the progression of experimental diabetic nephropathy in the presence of continued hypertension. *Diabetes.* 52, 512 - 518, 2003.
- Wu D and Peng F: PKC- β 1 mediates glucose-induced Akt activation and TGF- β 1 upregulation in mesangial cells. *J Am Soc Nephrol.* 20, 554 - 566, 2009.
- Brosius FC and Heilig CW: Glucose transporters in diabetic nephropathy. *Pediatr Nephrol.* 20, 447 - 451, 2005.
- Goldberg H and Whiteside C: O-linked β -N-acetylglucosamine supports p38 MAPK activation by high glucose in glomerular mesangial cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 301, E713 - E726, 2011.
- Nishikawa T and Edelstein D: Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature.* 404, 787 - 790, 2000.
- Thompson J and Wilson P: Renal accumulation of biglycan and lipid retention accelerates diabetic nephropathy. *Am J Pathol.* 179, 1179 - 1187, 2011.
- Goldstein JL and Brown MS: From fatty streak to fatty liver: 33 years of joint publications in the *JCI*. *J Clin Invest.* 118, 1220 - 1222, 2008.
- Browning JD and Horton JD: Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin*

- Invest. 114, 147 - 152, 2004.
- 16) Ikonen E: Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 9, 125 - 138, 2008.
 - 17) Proctor G and Jiang T: Regulation of renal fatty acid and cholesterol metabolism, inflammation, and fibrosis in Akita and OVE26 mice with type 1 diabetes. *Diabetes.* 55, 2502 - 2509, 2006.
 - 18) Ishigaki N and Yamamoto T: Involvement of glomerular SREBP-1c in diabetic nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun.* 364, 502 - 508, 2007.
 - 19) Uttarwar L and Gao B: SREBP-1 activation by glucose mediates TGF- β upregulation in mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 302, F329 - F341, 2012.
 - 20) Yang J and Craddock L: AMP-activated protein kinase suppresses LXR-dependent sterol regulatory element-binding protein-1c transcription in rat hepatoma McA-RH7777 cells. *J Cell Biochem.* 106, 414 - 426, 2009.
 - 21) Li Y and Xu S: AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice. *Cell Metab.* 13, 376 - 388, 2011.
 - 22) Navarro-González JF and Mora-Fernández C: Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol.* 7, 327 - 340, 2011.
 - 23) Guijarro C and Egido J: Transcription factor-kappa B (NF-kappa B) and renal disease. *Kidney Int.* 59, 415 - 424, 2001.
 - 24) Galkina E and Ley K: Leukocyte recruitment and vascular injury in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 17, 368 - 377, 2006.
 - 25) Chow FY and Nikolic-Paterson DJ: Monocyte chemoattractant protein-1-induced tissue inflammation is critical for the development of renal injury but not type 2 diabetes in obese db/db mice. *Diabetologia.* 50, 471 - 480, 2007.
 - 26) Adarkwah CC and Gandjour A: Cost-effective-ness of angiotensin-converting enzyme inhibitors in nondiabetic advanced renal disease. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2011, 11, 215 - 223, 2011.
 - 27) Somasundaram A, Remya S, Vengadesh K, Rajarajan AT, Vijayasree V, Vigneshwaran P, Rejina A, Harima M, Suzuki K and Watanabe K: Comparative evaluation of torasemide and furosemide on rats with streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Experimental and Molecular Pathology.* 97; 137 - 143, 2014.
 - 28) Somasundaram A, Vengadesh K, Rajarajan AT, Vigneshwaran P, Sone H and Watanabe K: Diabetic cardiomyopathy and oxidative stress. *Diabetes - Oxidative Stress and Dietary Antioxidants.* Editor: Victor R Preedy. Elsevier. Chapter 3, PP25 - 32, 2013.
 - 29) Vivian S, Flori RS, Vijayakumar S, Lakshmanan A P, Harima M, Suzuki K, Kawachi H and Watanabe K: Curcumin decreases renal triglyceride accumulation through AMPK-SREBP signaling. *J Nutrit Biochem.* 24: 796 - 802, 2013.
 - 30) Vivian S, Flori RS, Vijayakumar S, Lakshmanan A P, Sone H and Watanabe K: Molecular understanding of curcumin in diabetic nephropathy. *Drug Discovery Today.* 18: 756 - 763, 2013.
 - 31) Vivian S, Suzuki K, Veeraveedu P, Somasundaram A, Arun P L, Harima M, Kawachi H and Watanabe K: Curcumin alleviates oxidative stress, inflammation, and renal fibrosis in remnant kidney through the Nrf2-keap1 pathway. *Mol Nutr Food Res.* 57; 1649 - 1659, 2013.
 - 32) Arun P L and Watanabe K: The hyperglycemia stimulated myocardial endoplasmic reticulum (ER) stress contributes to diabetic cardiomyopathy in the transgenic non-obese type 2 diabetic rats: A differential role of unfolded protein response (UPR) signaling proteins. *Int J Bioch Cell Bio.* 45: 438 - 447, 2013.
 - 33) Watanabe K, Somasundaram A, Rajarajan AT,

- Nakamura T, Suzuki K and Kodama M: Diabetic cardiomyopathy: Role of renin angiotensin system, *Angiotensin New Research*, Nova Science Publishers Inc. Editors; S Harada and I Moi. pp 205 - 213, 2012.
- 34) Vivian S, Watanabe K, Lakshmanan AP, Somasundaram A, Flori RS, Vijayakumar S, Rajarajan AT, Harima M, Suzuki K, Kawachi H, Nagata M, Takagi R and Kodama M: Role of protein kinase C - MAPK, oxidative stress and inflammation pathways in diabetic nephropathy. *Nephrology & Therapeutics*. S2: 1 - 9, 2012.
- 35) Vivian S, Flori RS, Punniyakoti TV, Rajarajan AT, Harima M, Vijayakumar S, Lakshmanan AP, Suzuki K, Kawachi H and Watanabe K: Curcumin Prevents Diabetic Cardiomyopathy in Streptozotocin - Induced Diabetic Rats: Possible Involvement of PKC - MAPK Signaling Pathway. *Eur J Pharm Sci*. 47: 604 - 614, 2012.
- 36) Arumugam S, Thandavarayan RA, Palaniyandi SS, Giridharan VV, Arozal W, Sari FR, Soetikno V, Harima M, Suzuki K, Kodama M and Watanabe K: Candesartan cilexetil protects from cardiac myosin induced cardiotoxicity via reduction of endoplasmic reticulum stress and apoptosis in rats: Involvement of ACE2 - Ang (1 - 7) - mas axis. *Toxicology*. 291: 139 - 145, 2012.
- 37) Arumugam S, Thandavarayan RA, Arozal W, Sari FR, Giridharan VV, Soetikno V, Palaniyandi SS, Harima M, Suzuki K, Nagata M, Tagaki R, Kodama M and Watanabe K: Quercetin offers cardioprotection against progression of experimental autoimmune myocarditis by suppression of oxidative and endoplasmic reticulum stress via endothelin - 1/MAPK signaling. *Free Radic Res*. 46, 154 - 163, 2012.
- 38) Arun Pra L, Watanabe K, Rajarajan AT, Flori RS, Harima M, Vivian S, Somasundaram A, Vijayasree VG, Suzuki K and Kodama M: Modulation of AT - 1R/MAPK cascade by an olmesartan treatment attenuates diabetic nephropathy in streptozotocin - induced diabetic mice. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 348: 104 - 111, 2012.
- 39) Somasundaram A, Rajarajan AT, Punniyakoti TV, Nakamura T, Wawaimuli A, Flori RS, Vijayasree VG, Vivian S, Suresh SP, Harima M, Suzuki K, Kodama M and Watanabe K: Beneficial effects of edaravone, a novel antioxidant, in rats with dilated cardiomyopathy. *J Cell Mole Med*. 16; 2176 - 2185, 2012.
- 40) Arun PL, Harima M, Sukumaran V, Soetikno V, Nagata M, Takagi R, Suzuki K, Kodama M and Watanabe K: Modulation of AT - 1R/AMPK - MAPK cascade plays crucial role for the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy in transgenic type 2 diabetic (Spontaneous Diabetic Torii) rats. *Biochemical Pharmacology*. 83: 653 - 660, 2012.
- 41) Flori RS, Bambang W, Rajarajan AT, Harima M, Shaosong Z, Muslin AJ, Kodama M and Watanabe K: Attenuation of CHOP - mediated myocardial apoptosis in pressure - overloaded dominant negative p38 α mitogen - activated protein kinase mice. *Cell Physiol Biochem*. 27; 487 - 496, 2011.
- 42) Vivian S, Flori RS, Punniyakoti TV, Rajarajan AT, Harima M, Vijayakumar S, Lakshmanan AP, Suzuki K, Kawachi H and Watanabe K: Curcumin ameliorates macrophage infiltration by inhibiting NF - κ B activation and proinflammatory cytokines in streptozotocin induced - diabetic nephropathy. *Nutrition & Metabolism*. 8: 35 - 46, 2011.
- 43) Vivian S, Watanabe K, Flori RS, Harima M, Rajarajan AT, Punniyakoti TV, Wawaimuli A, Vijayakumar S, Lakshmanan AP, Somasundaram A and Suzuki K: Curcumin attenuates diabetic nephropathy by inhibiting PKC - α and PKC - β 1 activity in streptozotocin - induced type 1 diabetic rats. *Mol Nutr Food Res*. 55: 1655 - 1665, 2011.
- 44) Arun PL, Watanabe K, Rajarajan AT, Flori RS, Harima M, Vivian S, Somasundaram A,

- Vijayasree VG, Suzuki K and Kodama M: Curcumin attenuates hyperglycaemia - mediated AMPK activation and oxidative stress in cerebrum of streptozotocin - induced diabetic rat. *Free Radic Res.* 45: 788 - 795, 2011.
- 45) Arun PL, Watanabe K, Rajarajan AT, Flori RS, Harima M, Vijayasree VG, Vivian S, Kodama M and Aizawa Y: Telmisartan attenuates oxidative stress and renal fibrosis in streptozotocin induced diabetic mice with the alteration of angiotensin - (1 - 7) mas receptor expression associated with its PPAR - γ agonist action. *Free Radic Res.* 45: 575 - 584, 2011.
- 46) Vijayakumar S, Watanabe K, Punniyakoti TV, Narasimman G, Ma M, Rajarajan AT, Arun PL, Yamaguchi K, Suzuki K and Kodama M: Olmesartan, an AT1 antagonist, attenuates oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and cardiac inflammatory mediators in rats with heart failure induced by experimental autoimmune myocarditis. *Int J Biol.Sci.* 7: 154 - 167, 2011.
- 47) Wawaimuli A, Watanabe K, Punniyakoti TV, Ma M, Rajarajan AT, Vijayakumar S and Suzuki K: Telmisartan prevents the progression of renal injury in daunorubicin rats with the alteration of angiotensin II and endothelin - 1 receptor expression associated with its PPAR - γ agonist actions. *Toxicology.* 279: 91 - 99, 2011.
- 48) Arun P L, Rajarajan AT, Suresh SP , Flori RS, Harima M, Vijayasree VG, Soetikno V, Suzuki K, Kodama M and Watanabe K: Modulation of AT - 1R/CHOP - JNK - Caspase12 pathway by olmesartan treatment attenuates ER stress - induced renal apoptosis in streptozotocin - induced diabetic mice. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 44: 627 - 634, 2011.
- 49) Flori RS, Watanabe K, Bambang W, Rajarajan AT and Harima M: Gender differences play a role in cardiac endoplasmic reticulum stress (ERS) and ERS - induced apoptosis by pressure overload and thapsigargin. *Cardiovasc. Pathol.* 20: 281 - 290, 2011.
- 50) Rajarajan AT, Watanabe K, Narasimman G, Flori RS, Ma M, Suzuki K, Nishida H, Hari NB, Shaosong Z and Muslin AJ: Modulation of doxorubicin - induced cardiac dysfunction in dominant negative of p38 α mitogen - activated protein kinase mice. *Free Radic. Biol. Med.* 49: 1422 - 1431, 2010.
- 51) Watanabe K, Rajarajan AT, Harima M, Flori RS, Narasimman G, Punniyakoti TV, Mito S, Wawaimuli A, Vijayakumar S, Arun PL, Vivian S, Kodama M and Aizawa Y: Role of differential signaling pathways and oxidative stress in diabetic cardiomyopathy. *Current cardiology reviews.* 6: 280 - 290, 2010.
- 52) Flori RS, Watanabe K, Bambang W, Rajarajan AT, Harima M, Shaosong Z and Muslin AJ: Partial inactivation of 14 - 3 - 3 protein in vivo elicits endoplasmic reticulum stress (ERS) and activates ERS - initiated apoptosis in ERS - induced mice. *Cell Physiol Biochem.* 26: 167 - 178, 2010.