

動物モデルを用いた，心疾患・非アルコール性脂肪肝炎・ アトピー性皮膚炎の研究

渡 辺 賢 一

新潟大学大学院医歯学総合研究科
生活習慣病予防検査医学
特任教授

**Animal Models of Heart Diseases, NASH and Atopic Dermatitis
— From PhD. Thesis. Understanding the Past, Predicting the Future —**

Kenichi WATANABE

*Professor, Department of Laboratory Medicine and Clinical Epidemiology for Prevention of
Noncommunicable Diseases, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences*

Abstract

My research projects in Niigata university of Pharmacy were mechanisms of human diseases including fatty acid metabolism, diabetic cardiomyopathy, atopic dermatitis, colitis and hepatitis et ct. Total twenty-one Students from abroad such as Bangladesh, India, Egypt, Syria, China, Indonesia et al. research mechanisms of many kinds of diseases. Three students from abroad graduated last year at the Department of Clinical Pharmacology, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences. These students reported on treatments for heart disease, non-alcoholic steatohepatitis and atopic dermatitis and on underlying mechanisms. The titles of these reports are 「Study of the role of cardiac 14-3-3 η protein in cardiac inflammation and adverse cardiac remodeling during heart failure in mice」, 「Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): onset of mechanisms under diabetic background and treatment strategies」 and 「The role of HMGB1 and its cascade signaling pathway in atopic dermatitis」. It can be concluded from these theses that oxidative stress and inflammation are some of the principal mechanisms underlying these diseases. Distinct disease phenotypes affect different organ systems, whereas overlapping disease

Reprint requests to: Kenichi WATANABE
Department of Laboratory Medicine and Clinical
Epidemiology for Prevention of Noncommunicable
Diseases, Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒 951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
生活習慣病予防検査医学講座

渡 辺 賢 一

phenotypes are more likely to be caused by two genes encoding proteins that interact within the same pathway.

Key words : Heart failure; Diabetes; Oxidative stress, Endoplasmic reticulum stress; High mobility group box protein 1 (HMGB1)

はじめに

我々大学教員は教育者+研究者であり多くのことに興味を抱いてはいるものの、自分の研究範囲は時間的・金銭的制約などがあり狭くせざるを得ない。また、優れた天才は別にして、私のような凡人は先人の残してくれた多くの業績の中から新しい何かを見つけることが多いと思う。2017年の *New Engl J Med* 新年号にゲノムの多様性が記載されていた¹⁾。それによると、血縁関係のない7,374名の患者の遺伝子を解析すると28%に遺伝子異常が見られ、その中の5% (101名)に複数遺伝子が同時に発現して異なる病態を呈した。これは、1遺伝子変異-1疾患の考えが、複数遺伝子-1疾患の考えに変わっていくことを意味する。それは、1遺伝子変異-複数疾患の考え方も間違えとは言えない。言い換えると、「病気は1個の遺伝子異常だけでなく数個の遺伝子異常が組み合わさって起こりうるし、逆に1個の遺伝子異常でも1つの疾患だけでなく多くの疾患の発症原因となりうる」とのことだと思ふ。病気の原因究明に取り組む相手として遺伝子異常・炎症・酸化ストレス・大腸内細菌叢など、いずれのテーマも魅力あふれるものばかりであるが、時間的・経済的理由などによりどれかに焦点を絞らざるを得ない。

薬学に興味を抱き静岡県立大学薬学部で薬学博士号を取得し、縁あって1997年から薬学系大学に勤務することになった。薬学系大学教員になる前から一般病院で勤務の合間に循環器系の研究を行っていた。Duchenne型筋ジストロフィー患者では心筋のジストロフィンが欠損し二次性心筋症が起きることや、CD36欠損症患者では脂肪酸の一部を心筋に取り込めないことを発見し報告した²⁾⁻⁵⁾。恩師から、大学教員は教育と研究が絶対使命であり、退官までには合計論文数と

インパクトファクター(IF)はそれぞれ100を超えるように言われた。そこで、薬科大学教員になるにあたって教育目標と研究目標を設定した。その中の数個を簡単に紹介する。まず教育目標は、薬剤師国家試験合格に値する学力を身に付けさせる・国家試験に関係ないが医療人として必要なことを身に付けさせることを2大テーマとした。研究目標についてはずいぶん悩んだが、基礎研究の本筋を学んでいない私がこれから研究を始めても *Nature*・*Science* などの超一流紙は無理だが、*Circulation* (本年のIF=17.0) や *J Biol Chem* (IF=4.3) 位だと頑張れば何とかたどり着けるのではないかと考えた。共同研究者などに恵まれ、最終的には両雑誌に研究成果が掲載されIF=600点・論文数200個以上に達した⁶⁾⁻⁹⁾。指導した海外からの留学生はエジプト・シリア・中国・イランなど計21名になる(図1)。全員の研究テーマは紹介できないが、その中の(1)動物モデルを用いた心疾患(糖尿病性心筋症など)・(2)非アルコール性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis: NASH)・(3)アトピー性皮膚炎とまったく分野が異なる疾患のメカニズム解明と薬物治療を紹介する。

動物モデルを用いた心疾患 (糖尿病性心筋症など)の研究

研究を始めるにあたり幸運だったことに、優れた動物モデルが身近にあった。友人のK先生が作成した、ラットにブタミオシンを投与すると自己免疫性心筋炎が発症しその後心不全となるモデルである¹⁰⁾。心筋炎はヒト巨細胞性心筋炎と極似し、その後の心不全もヒト拡張型心筋症に極似している優れた動物モデルである。この自己免疫性心筋炎にインターロイキン(IL)-10を投与すれば心筋炎を抑制・改善・治療できうると考えた

Challengers from Abroad



図1 PhD Course Students from Abroad (from Bangladesh, India, China, Egypt, Syria, Indonesia and Iran). Professor Ken WATANABE. Department of Clinical Pharmacology, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences, JAPAN. 2017.

が、IL-10 を確実に生体内へ投与し効果を持続させるのは困難であった。このモデルの心筋炎後最高血中 IL-10 濃度は 42pg/mL で、800 μ g の plasmid DNA (pCAGGS-IL-10) をエレクトロポレーション法で数回投与すると血中濃度 200pg/mL 以上を長時間維持継続可能となり心筋炎が改善した⁶⁾¹¹⁾。

次の動物モデルは、「Study of the role of cardiac 14-3-3 η protein on cardiac inflammation and adverse cardiac remodeling during heart failure in mice 心不全における 14-3-3 η タンパク質の役割に関する研究」である。14-3-3 タンパク質ファミリーは、細胞内シグナル伝達系、とりわけタンパク質キナーゼを介した情報伝達経路に深く関わった機能を有することが知られている¹²⁾¹³⁾。この 14-3-3 蛋白は、多くのタンパク質に作用して細胞構築・代謝・アポ

トーシスなどに影響し、 $\beta \cdot \gamma \cdot \epsilon \cdot \zeta \cdot \eta \cdot \sigma \cdot \tau$ の 7 アイソフォームがある。p38mitogen-activated protein kinase (MAPK) は MAPK family の 1 つで $\alpha \cdot \beta \cdot \gamma \cdot \delta$ のアイソフォームがあり、心臓では α が最も多く存在する。p38MAPK はアポトーシスや小胞体ストレス由来の細胞死に重要な役割を果たす。小胞体は Ca 代謝・コレステロールや脂質構築など重要な働きをするが、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心臓などの臓器では、CCAAT/enhancer binding protein homology protein (CHOP) 等の発現が亢進している。ミトコンドリアや小胞体機能における 14-3-3 タンパク質と p38 MAPK pathways は重要と考えられているが、心血管系疾患における役割は不明点が多く存在する。そこで本研究では心筋梗塞モデルと

糖尿病モデルを作成し、*in vivo*にて14-3-3タンパク質の役割を検討した。ストレプトゾトシン投与にて糖尿病性心筋症を、左冠動脈結紮にて心筋梗塞モデルを作成し心肥大・心不全を誘発した。心臓に特異的に発現する dominant negative (DN) 14-3-3 η トランスジェニックマウス・対照 Wild-type (WT) マウスを用いて、心機能・病理組織像・タンパク発現・免疫染色などを比較検討した。その結果、心筋梗塞モデルでは、DN14-3-3 η マウスの心臓はWTマウスに比べて酸化ストレス・小胞体ストレスが亢進していた。更に心負荷を伴うとDN14-3-3 η マウスの心臓ではWTマウスに比べてアポトーシスが亢進し、酸化ストレス・小胞体ストレスが増大していた。それらは小胞体ストレス回路上流の glucose regulated protein (GRP)-78・下流の CHOP とともに p38 MAPK 亢進と関係していた。心肥大から心不全に進行するリモデリング(線維化など再構築)では、更に酸化ストレス・小胞体ストレス・アポトーシスが亢進していた。糖尿病心筋症モデルでは心筋梗塞モデルの変化と同様の変化が見られたが、小胞体ストレスの変化は軽微であった¹⁴⁾⁻¹⁶⁾。以上から、14-3-3タンパクは酸化ストレス・小胞体ストレス・アポトーシス・心肥大経路を抑制し、p38MAPKを抑制することにより酸化ストレス・小胞体ストレスに起因するアポトーシス回路を抑制することができた。この2つのタンパクは酸化ストレス・小胞体ストレスが関係する心血管系疾患における新治療薬の標的となりうると思われた。

動物モデルを用いた非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis : NASH) の研究

次に、「Non-alcoholic steatohepatitis onset of mechanisms under diabetic background and treatment strategies 非アルコール性脂肪性肝炎の発症メカニズムと治療戦略の研究」である。アルコールに由来しない非アルコール性脂肪肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD) は肝細胞での脂肪蓄積で、非アルコール性脂肪肝炎

(non-alcoholic steatohepatitis : NASH) は NAFLD の進行型で脂肪蓄積と線維症から肝硬変・原発性肝臓癌 (HCC) へと進行する¹⁷⁾。NASHは糖尿病・肥満・メタボリックシンドロームと関係し、世界的に増加している。肝細胞壊死・炎症・漸進性肝障害・HCCを関連づける分子機構を解明することは、NASH-HCCに対する新しい治療戦略の開発にきわめて重要である。Glypican-3は、細胞膜表面上に存在する約60kDaの糖タンパク質で、グリコシルフォスファチジルイノシトール (GPI) アンカーにより細胞膜に結合している。トランスクリプトーム解析から、glypican-3遺伝子が胎児期の肝臓と肝臓癌細胞において高発現していることが確認され、glypican-3は肝がん組織に発現しているが成人正常肝臓・肝炎・肝硬変の組織には発現が認められなかったことから、肝臓のモニタリングに glypican-3が有用であると言われている。High mobility group box-1 (HMGB1) は、Pathogen-Associated Molecular Patterns と Damage-Associated Molecular Patterns の刺激によって樹状細胞から放出されるおよそ215残基のタンパク質で、最近様々な疾患との関連が注目されている。HMGB1は、p53やNF- κ Bなどの転写因子の機能発現に重要な核内DNA結合タンパク質であると同時に、活性化された樹状細胞・マクロファージ・あるいは壊死細胞から細胞外に放出され、周辺細胞が発現している Receptor of Advanced Glycation End-product (RAGE)、あるいは、Toll-Like Receptor (TLR) 2やTLR4にリガンドとしても作用する。これらの細胞のRac・Cdc42・NF- κ Bを活性化し、侵襲局所では自然免疫の誘導、幹細胞のリクルートを介した修復などに働くことが知られている。クルクミン(天然フェノール合成物)は、抗炎症・抗癌作用など多彩な作用を持っている。NASH-HCCモデルを用いて、NASHの進行機序の解明とクルクミンの効果を検討した。1型糖尿病モデル動物はStreptozotocin (STZ) 55mg/kg腹腔内注射によって作成した。NASH-HCCモデルは、新生児C57BL/6J雄に低用量STZを投与し4週~14週齢まで高脂肪食(High Fat

Diet 32 : HFD32) を与えて作成し健常動物を対照とした。クルクミンを NASH-HCC モデルに投与し、トリグリセリド (TG), 総コレステロール (TC) とアラニン・アミノ転移酵素 (ALT) を測定した。肝組織を摘出し、組織病理学・免疫組織化学に用いた。HMGB1・酸化ストレス・小胞体ストレスとアポトーシス (CHOP・ASK1・cleaved caspase-3 など)・炎症 (IL-1 β ・TNF α ・TLR4)・HCC マーカー (glypican-3) などはウエスタンブロットにて解析した。その結果、糖尿病モデルでは対照群に比し血糖・TG・TC の上昇が見られた。HMGB1・酸化ストレス・小胞体ストレスとアポトーシス (CHOP・ASK1・cleaved caspase-3 など)・炎症 (IL-1 β ・TNF α ・TLR4) なども糖尿病群で高値を示した。NASH-HCC モデル動物でも同様の変化が見られた。NASH モデルで glypican-3 の上昇が見られたが糖尿病群では見られず、NASH モデルの肝臓では風船状膨化・コラーゲン 1 の増加が見られた。クルクミンは、これらを改善することができた¹⁸⁾⁻²¹⁾。以上から、NASH が糖尿病と深い関連があり、クルクミンが脂肪肝の脂肪沈着抑制・炎症抑制と肝臓への進展を抑制することを明らかにした。NASH は生活習慣病・メタボリックシンドロームに関係するので、今後の臨床応用を目指した研究が期待される。

動物モデルを用いたアトピー性皮膚炎の研究

最後に、「The role of HMGB1 and its cascade signaling pathway in atopic dermatitis アトピー性皮膚炎における HMGB1 とそのカスケードシグナル伝達経路の役割」である。皮膚は身体全体を覆うバリアの働きを持つ臓器であり、外界から身体を保護し保温・発汗などによる体温調節の機能を担う^{22) 23)}。皮膚はストレスの影響を受けやすい臓器であり、体内の活性酸素が活性化された場合、皮膚上の皮脂が過酸化物質へ変質され皮膚内部を攻撃し、痤瘡や皮膚炎などの皮膚疾患へとつながっていく。アトピー性皮膚炎 (AD) は乳児期から幼小児期にかけて発生する例が多く、痒みがあり左右対称性の湿潤性湿疹がみられる。AD 患者

は IgE が高値を示すことが多いが、皮膚炎との関与において不明点が多く存在する。また AD 患者は、T helper 2 cell (Th2 細胞) が優位な状態であることが報告されている。Th2 サイトカインである IL-4 や IL-31 は、それぞれ炎症や掻痒を引き起こし AD を悪化させる。別の病因として皮膚のバリア機能の低下があり、外来抗原の暴露に密接につながっていくことも考えられている。前述のように HMGB1 は Rac・Cdc42・NF- κ B を活性化し、侵襲局所では自然免疫の誘導・幹細胞のリクルートを介した修復などに働くことが知られている。今回酸化ストレスのほかに炎症の指標である HMGB1・tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1)・RAGE・Cyclooxygenase-2 (COX-2) に着目した。AD の治療としてステロイド軟膏が臨床で使用されているが、時に副作用に悩まされる。一方、クエルセチン・レスベラトロール・タンニン酸はブドウ・オレンジなどに含まれるポリフェノールで、AD への応用も期待されている。ダニクリーム (コナヒョウヒダニ由来成分 100 mg) を皮膚へ塗布することにより AD モデルマウスを作成し、2 週間目～4 週間目まで 2 週間クエルセチン (50 mg/kg/day)・レスベラトロール (20 mg/kg/day)・タンニン酸 (80 mg/kg/day) を経口投与した。ベタメサゾン軟膏 (BM) を対照とし皮膚炎の経過を観察した (Dermatitis Score)。最終日に皮膚を摘出し、病理組織と HMGB1・TNFR1・RAGE・COX-2 等のウエスタンブロットに用いた。その結果、皮膚症状はクエルセチン・レスベラトロール・タンニン酸治療にて改善したが、ベタメサゾン軟膏ほどの改善は見られなかった。HMGB1・TNFR1・RAGE・COX-2 は正常群に比べ AD 群で著明な増加が見られた。AD+クエルセチン・レスベラトロール・タンニン酸群では、ベタメサゾン軟膏と同程度の HMGB1・TNFR1・RAGE・COX-2 タンパクの減少がみられた。皮膚病理組織染色では、AD 群で著明な炎症細胞増加が見られたが、ベタメサゾン軟膏投与で著明な改善が見られた。クエルセチン・レスベラトロール・タンニン酸治療によっても炎症細胞の減少が確認できた。アトピー性皮膚炎の病因と

して、Th2細胞が優位となり、種々のサイトカインが産生されることにより炎症が引き起こされると考えられている。治療によるTNFR1の減少は、TNF- α の作用を減弱させ炎症を抑制すると考えられた。RAGEは細胞内酸化ストレスの増強に寄与するため、RAGEの産生を抑制することにより、皮膚の組織細胞障害を抑え抗炎症作用を現すと考えられる。患部の搔破により、アラキドン酸カスケードを活性化しProstaglandin (PG)が生成することで、炎症や搔痒が増悪する可能性がある。ベタメサゾン軟膏以外の3剤でもCOX-2の発現を抑えられたことから、ポリフェノールなどもPGの生成を抑制し症状の緩和に寄与することが考えられた。ベタメサゾンはグルココルチコ

イド受容体に作用し、強力な抗炎症作用を呈する。クエルセチン・レスベラトロール・タンニン酸はADの炎症の緩解に寄与し、そのメカニズムとしてHMGB1経路が重要な経路と考えられた^{24)–27)}。以上から、ADモデル動物にクエルセチン・レスベラトロール・タンニン酸を投与し、デキサメサゾンまでは達しないがある程度の改善が見られた。クエルセチン・レスベラトロール・タンニン酸はADの炎症の緩解に寄与し、そのメカニズムとしてHMGB1経路が重要な経路であると考えられた。現在、ステロイドを用いた治療がADの治療方針として掲げられる中、ポリフェノールを用いた新たな治療の可能性を考察することができた。今後ADの病因病態がもっと明確となり、そ

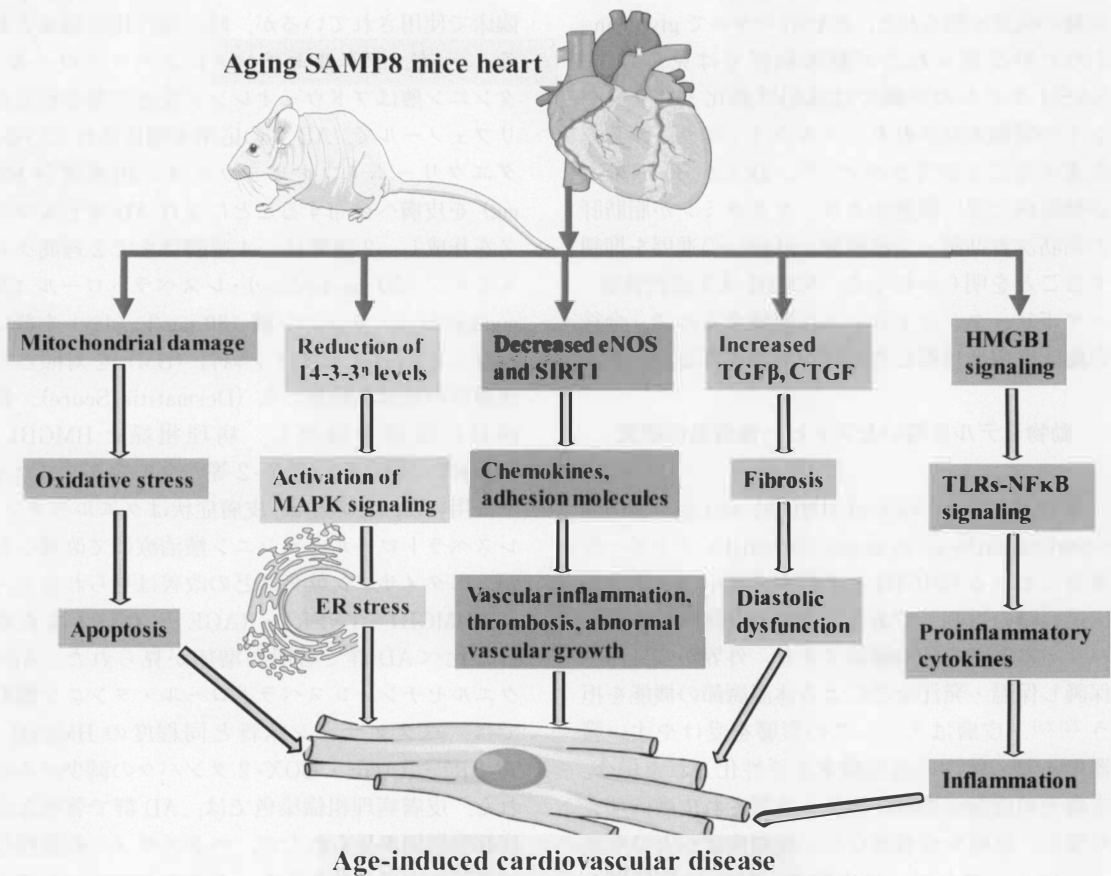


図2 Possible molecular mechanism underlying the pathogenesis of age-induced cardiovascular disease in senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice. From Vengadeshprabhu K, Watanabe K et al. Ageing Research Reviews. 35: 291–229, 2017²⁸⁾.

れに則した創薬の発展を期待したいと思う。

文 献

おわりに

老化促進モデルマウス (senescence accelerated mouse, SAM) の心臓では、酸化ストレス・小胞体ストレス・線維化・炎症などがみられ (図 2)、多臓器でも同様の変化が検討されている²⁸⁾。私の研究テーマであった心疾患から始まって、発展・進化した 3 個の大学院博士論文を簡単に紹介した。これらの博士論文から、心疾患・NASH・アトピー性皮膚炎とまったく分野が異なる疾患で酸化ストレス・小胞体ストレス・炎症が関係し、ポリフェノールなどの抗酸化薬・食品などがそれらの治療薬となりうる事が示されたと思う。逆に、違った側面からの遺伝子異常・大腸内細菌叢・漢方薬などから本研究を行っていただければ興味ある結果が報告できた可能性がある²⁹⁾。いずれにせよ、興味を持った研究に情熱を注ぎながら、ちょっと一服して別の面から自分の研究を客観的に見つめる余裕を持ちたいものである。

謝 辞

この研究成果は日本人のみならず海外から新潟薬科大学・薬学部・臨床薬理学研究室へ留学し多くの事に興味をもってくれた、Wahed MI・Narasimman G・Suresh PS・Juan W・Fadia AK・Paras P・Reyad AEB・Punniyakoi TV・Behnam H・Rajarajan AT・Wawaimuri A・Flori RS・Vijayakumar S・Ma C・Arun LP・Vivian S・Somasundaram A・Vigneshwaran P・Vengadeshprabhu KG・Rejina MA・Remya Sreedhar 計 21 名の留学生たちが張馬梅蓄准教授のもとで頑張ってくれたおかげである。その中の数名が、The Best Award of Experimental Biology and Medicine (San Diego, USA. 2008) や Young Investigator's Award of Japanese Circulation Society (2010・2012・2014) を受賞した。改めて心からの敬意と謝意を述べたい。さらに、科学研究費・私学助成金・研究委託金・奨学寄附金などを提供していただいた、国・県・市・企業などへ謝意を述べたい。

- 1) Posey JE, Harel T, Liu P, Rosenfeld JA, James RA, Akdemir ZHC, Walkiewicz M, Bi W, Xiao R, Ding Y, Xia F, Beaudet AL, Muzny DM, Gibbs RA, Boerwinkle E, Eng CM, Sutton VR, Shaw CA, Plon SE, Yang Y and Lupski JR: Resolution of disease phenotypes resulting from multilocus genomic variation. *New Engl J Med* 376: 21-31, 2017.
- 2) Watanabe K, Izumi T, Natsui M, Matsubara N, Miyakita Y, Koyama S, Inomata T, Suzuki M and Shibata A: Dystrophin negative skeletal and myocardial muscle cells in a carrier of Duchenne's muscular dystrophy. *Eur Heart J* 14: 989-992, 1993.
- 3) Watanabe K, Toba K, Ogawa Y, Kodama M, Hirono S, Ohkura Y, Hanawa H, Nakamura Y, Aoki Y, Fuse I, Aizawa Y, Miyajima S, Kusano Y, Nagatomo T, Hasegawa G and Naito M: Hypertrophic cardiomyopathy with type I CD36 deficiency. *Circulation J* 62: 541-542, 1998.
- 4) Watanabe K, Ohta Y, Toba K, Ogawa Y, Hanawa H, Hirokawa Y, Kodama M, Tanabe N, Hirono S, Ohkura Y, Nakamura Y, Kato K, Aizawa Y, Fuse I, Miyajima S, Kusano Y, Nagatomo T, Hasegawa G and Naito M: Myocardial CD36 expression and fatty acid accumulation in patients with type I and II CD36 deficiency. *Ann Nuc Med* 12: 261-266, 1998.
- 5) Hanawa H, Watanabe K, Nakamura T, Ogawa Y, Toba K, Fuse I, Kodama M, Kato K, Fuse K and Aizawa Y: Identification of cryptic splice site, exon skipping and novel point mutations in type I CD36 deficiency. *J Med Genetics* 39: 286-291, 2002.
- 6) Watanabe K, Nakazawa M, Fuse K, Hanawa H, Kodama M, Aizawa Y, Ohnuki T, Gejyo F, Maruyama H and Miyazaki J: Protection against autoimmune myocarditis by gene transfer of interleukin-10 by electroporation. *Circulation*. 104: 1098-1100, 2001.
- 7) Watanabe K, Fujii H, Takahashi T, Kodama M,

- Aizawa Y, Ohta Y, Ono T, Hasegawa G, Naito M, Nakajima T, Kamijo Y, Gonzalez F and Aoyama T: Constitutive regulation of cardiac fatty acid metabolism through peroxisome proliferator-activated receptor α associated with age-dependent cardiac toxicity. *J Biol Chem* 275: 22293-22299, 2000.
- 8) Watanabe K, Ohta Y, Nakazawa M, Higuchi H, Hasegawa G, Naito M, Fuse K, Ito M, Hirono S, Tanabe N, Hanawa H, Kato K, Kodama M and Aizawa Y: Low dose carvedilol inhibits progression of heart failure in rats with dilated cardiomyopathy. *Brit J Pharmacol* 130: 1489-1495, 2000.
- 9) Watanabe K, Takahashi T, Nakazawa M, Wahed M, Fuse K, Tanabe N, Kodama M, Aizawa Y, Ashino H and Tazawa S: Effects of carvedilol on cardiac function and cardiac adrenergic neuronal damage in rats with dilated cardiomyopathy. *J Nucl Med* 43: 531-535, 2002.
- 10) Kodama M, Matsumoto Y, Fujiwara M, Zhang S, Hanawa H, Itoh E, Tsuda T, Izumi T and Shibata A: Characteristics of giant cells and factors related to the formation of giant cells in myocarditis. *Circ Res* 69: 1042-1050, 1991.
- 11) Palaniyandi SS, Watanabe K, Ma M, Tachikawa H, Kodama M and Aizawa Y: Inhibition of mast cells by interleukin-10 gene transfer contributes to protection against acute myocarditis in rats. *Eur J Immunol* 34: 3508-3515, 2004.
- 12) Muslin AJ, Tanner JW, Allen PM and Shaw AS: Interaction of 14-3-3 with signaling proteins is mediated by the recognition of phosphoserine. *Cell* 84: 889-897, 1996.
- 13) Thandavarayan RA, Watanabe K, Ma M, Veeraveedu PT, Gurusamy N, Palaniyandi SS, Zhang S, Muslin AJ, Kodama M and Aizawa Y: 14-3-3 protein regulates Ask1 signaling and protects against diabetic cardiomyopathy. *Biochemical pharmacology* 75: 1797-1806, 2008.
- 14) Sreedhar R, Arumugam S, Thandavarayan RA, Giridharan VV, Karuppagounder V, Pitchaimani V, Afrin R, Harima M, Nakamura M, Suzuki K, Gurusamy N, Krishnamurthy P and Watanabe K: Depletion of cardiac 14-3-3 η protein adversely influences pathologic cardiac remodeling during myocardial infarction after coronary artery ligation in mice. *Interna J Cardiol* 202: 146-153, 2016.
- 15) Sreedhar R, Arumugam S, Thandavarayan RA, Giridharan VV, Karuppagounder V, Pitchaimani V, Afrin R, Miyashita S, Nomoto M, Harima M, Gurusamy N, Suzuki K and Watanabe K: Myocardial 14-3-3 η protein protects against mitochondria mediated apoptosis. *Cellular Signalling* 27: 770-776, 2015.
- 16) Sreedhar R, Giridharan VV, Arumugam S, Karuppagounder V, Palaniyandi SS, Krishnamurthy P, Quevedo J, Konishi T, Thandavarayan RA and Watanabe K: Role of MAPK-mediated endoplasmic reticulum stress signaling in the heart during aging in senescence-accelerated prone mice. *Bio Factors* 42: 368-375, 2016.
- 17) Vuppalanchi R and Chalasani N: Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 49: 306-317, 2009.
- 18) Rejina MA, Somasundaram A, Azizur MR, Wahed MII, Vengadeshprabhu K, Harima M, Suzuki H, Miyashita S, Suzuki K, Yoneyama H, Ueno K and Watanabe K: Curcumin ameliorates liver damage and progression of NASH in NASH-HCC mouse model possibly by modulating HMGB1-NF- κ B translocation. *Intern Immunopharm* 44: 174-182, 2017.
- 19) Rejina MA, Somasundaram A, Vivian S, Rajarajan A T, Vigneshwaran P, Vengadeshprabhu K, Remya S, Harima M, Suzuki H, Miyashita S, Nomoto M, Suzuki K and Watanabe K: Curcumin ameliorates streptozotocin-induced liver damage through modulation of endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in diabetic rats. *Free Radical Research* 49: 279-289, 2015.
- 20) Afrin MA, Somasundaram A, Md. Rahman A, Vengadeshprabhu K, Remya S, Harima M, Suzuki H, Nakamura T, Miyashita S, Suzuki K, Ueno K and Watanabe K: Le Carbone, a charcoal supplement, modulates DSS-induced

- acute colitis in mice through activation of AMPK α and downregulation of STAT3 and caspase 3 dependent apoptotic pathways. *Internat Immunopharm* 43: 70-78, 2017.
- 21) Rejina MA, Somasundaram A, Wahed MII, Vigneshwaran P, Vengadeshprabhu K, Remya S, Harima M, Suzuki H, Miyashita S, Nakamura T, Suzuki K, Yoneyama H, Nakamura M, Ueno K and Watanabe K: Attenuation of Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Liver Damage by Mulberry Leaf Diet in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Am J Chinese Med* 44: 87-101, 2016.
- 22) Williams HC: Clinical practice. Atopic dermatitis, *New Engl J Med* 352: 2314-2324, 2005.
- 23) Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, Goudie DR, Sandilands A, Campbell LE, Smith FJ, O'Regan GM, Watson RM, Cecil JE, Bale SJ, Compton JG, DiGiovanna JJ, Fleckman P, Lewis-Jones S, Arseculeratne G, Sergeant A, Munro CS, Houate BEI, McElreavey K, Halkjaer LB, Bisgaard H, Mukhopadhyay S and McLean WH: Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nature genetics* 38: 441-446, 2006.
- 24) Karuppagounder V, Arumugam S, Thandavarayan RA, Pitchaimani V, Sreedhar R, Afrin R, Harima M, Suzuki H, Nomoto M, Miyashita S, Suzuki K and Watanabe K: Resveratrol attenuates HMGB1 signaling and inflammation in house dust mite-induced atopic dermatitis in mice. *Int Immunopharmacol.* 23, 617-623 (2014).
- 25) Karuppagounder V, Arumugam S, Thandavarayan RA, Pitchaimani V, Sreedhar R, Afrin R, Harima M, Suzuki H, Nomoto M, Miyashita S, Suzuki K, Nakamura M and Watanabe K: Modulation of HMGB1 translocation and RAGE/NF κ B cascade by quercetin treatment mitigates atopic dermatitis in NC/Nga transgenic mice. *Exp Dermatol* 24: 418-423, 2015.
- 26) Karuppagounder V, Arumugam S, Thandavarayan RA, Pitchaimani V, Sreedhar R, Afrin R, Harima M, Suzuki H, Nomoto M, Miyashita S, Suzuki K, Nakamura M, Ueno K and Watanabe K: Tannic acid modulates NF κ B signaling pathway and skin inflammation in NC/Nga mice through PPAR γ expression. *Cytokine* 76: 206-213, 2015.
- 27) Karuppagounder V, Arumugam S, Thandavarayan RA, Sreedhar R, Giridharan VV, Pitchaimani V, Afrin R, Harima M, Krishnamurthy P, Suzuki K, Nakamura M, Ueno K and Watanabe K: Naringenin ameliorates skin inflammation and accelerates phenotypic reprogramming from M1 to M2 macrophage polarization in atopic dermatitis NC/Nga mouse model. *Exp Dermatol* 25: 404-407, 2016.
- 28) Karuppagounder V, Arumugam S, Babu SS, Palaniyandi SS, Watanabe K, Cooke JP and Thandavarayan RA: The senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8) : A novel murine model for cardiac aging. *Ageing Res Rev* 35: 291-296, 2017.
- 29) Somasundaram A and Watanabe K: Japanese Kampo Medicines for the Treatment of Common Diseases. Academic Press, Elsevier. United Kingdom. 2017.
-