

Protective mechanism against oxidative stress

MIZOGUCHI Tadashi

Protective mechanism against oxidative stress

T. Mizoguchi (Department of Human Environment, Faculty of Socio-Culture, Otemae University)

A change in the redox state of a cellular specific protein such as NF- κ B, and AP-1 constitutes a transcriptional signal which can modulate the biological activities of specific target proteins. The thiol groups and disulfide bonds of proteins often play essential catalytic roles. Consequently, changes in the thiol/disulfide redox state of a protein may be associated with large changes in the biological activity. The thiol groups must generally be maintained in a thiol redox state for optimal activity. If the changes to the oxidation state are extreme, pathological alterations in the intracellular normal status may occur, possibly with lethal repercussions. The protective mechanism against oxidative stress and the transcriptional modification in the redox state are presented here in an outline involving the roles of glutathione and thioredoxin.

酸化ストレスの防御機構

溝 口 正

はしがき

老化現象の機構のひとつに活性酸素悪玉説がある。また、酸化ストレスを防ぐ抗酸化力が衰えると生活習慣病に陥り、様々な重篤な疾患へと発展する。そのため酸化ストレスの防御機構に関して研究者達のみならず世間一般から多くの関心が寄せられている。とりもなおさず活性酸素は酸化ストレスをもたらす主原因である。もともと活性酸素は外から侵入するバクテリアなどの外敵に備えて常に用意されているが、一方で過剰な活性酸素が生体内に持続して存在し続けると細胞に障害を惹起することになる。勿論、生体内には特殊な抗酸化成分や強力な酵素システムが存在し活性酸素を消去している。これまでに赤血球、眼レンズ、肝臓に多く存在する抗酸化成分のグルタチオンに関する報告がなされ、特殊な酵素、スーパーオキシドデイズミューターゼについて興味深い研究がなされている。活性酸素によって容易に攻撃されるのは重要な生理的機能を営む細胞内タンパク質であるから細胞にとって非常にそのダメージは大きい。極度の緊張から精神的ストレスが持続すると臓器の血管が異常に収縮、血行が悪くなり、外敵に備えて用意されていた血液中の活性酸素は血管細胞を攻撃してそれを破壊、出血に至る、あるいは血行不順をもたらす様々な疾病へと進展する。酸化ストレスの防御機構はまだ未知なる領域があって残されている課題は多い。著者らは活性酸素の細胞内挙動に注目しどのような影響を与えるのか、それを防ぐ生体内防御システムはどのように仕組みられているのか、これまでの研究成果を踏まえさらなる領域の拡大に努めてきた。身体の中でも紫外線による酸化ストレスを集中的に浴びる眼レンズ、また食物の中に含まれる酸化ストレス誘引物質の被害を蒙る小腸、この2器官を取り上げ様々な角度から研究している。疾病治療を探る上で、また、健康を保持するためにも酸化ストレスの防御機構を明らかにすることは極めて重要な研究課題である。肉食に偏った食事を続けると抗酸化力が衰えるといわれているがそのメカニズムを明らかにすることも興味深い問題である。常日頃の食生活に関心を持ち、これを改善することは万人共通の課題であろう。

研究方法

これまでに得た著者らのデータ（すでに論文発表済み、文献参照）をはじめ、第73回日本生化学会大会（2000年秋、横浜）の発表から得た極く最近のデータをもとに論述する。一方常法によってインターネット検索を行い世界各国の研究状況も調査した。そこでは今なお酸化ストレスに関する膨大な研究論文が発表され続けている。それだけに全体を網羅総説することは難しいので自らの研究に関係する内容に絞って論述する。疾病の原因を求めて基礎的な研究を進めると活性酸素と分子生物学上の諸機能との相関関係が浮かびあがってくる。生活習慣病や老化現象とも絡む問題に臓器内活性酸素の関与があり、著者らが酸化ストレスに興味を持っている所以がそこにある。分子生物学上の活性酸素の研究には大きく分けて二つの方向がありひとつは遺伝子発現に及ぼす細胞内の酸化還元状態（redox state）、つまり酸化ストレスによる転写因子の制御であり、いまひとつは多くの細胞内タンパク質の酸化ストレスによる活性調節である。両者について以下レビューする。

本論

Redox制御

生命現象をつかさどるタンパク質、そしてタンパク質を作り出す遺伝子は酸化ストレス条件下様々な影響を受け複雑な制御のもとそれぞれの作用を発現する。その際酸化ストレスに誘発されて新たな抑制反応が惹起し還元機構によって元の状態に復元する。それを別の表現を用いればredox制御という。特殊タンパク質、NF-kBは生体防御タンパク質に関わる遺伝子群の発現を制御しており、なかでも炎症プロセスに影響する遺伝子の発現を調節する転写因子として定義付けされている。NF-kBはウイルス、lipopolysaccharide, TNF- α , interleukin-1, 活性酸素等により活性化され、活性酸素は紫外線照射、重金属等により生成する。そこには次から次へと拡大増幅してゆくカスケード反応が生まれ、リレー方式で影響が広がってゆく。他方、酸化ストレス条件下NF-kBは分子内チオール基をジスルフィド基へ変化、本来の活性を減弱し、別途持ち込まれる還元性タンパク質の力を借りてその活性を復元する（図1）。

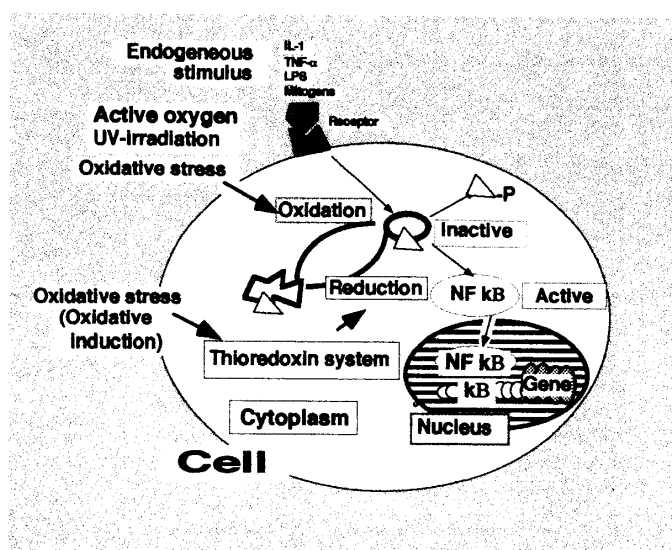


図1 NF-kBによる細胞内のredox制御

また、転写制御因子AP-1は還元状態でヘテロダイマーを形成、DNAに結合、遺伝子発現の調節を行い、AP-1のredox制御を介して遺伝子発現と密接に関連している。NF-kBの場合、その復元に機能する還元性タンパク質としてチオレドキシシンが必要であり、AP-1の場合は還元活性化するためにRef-1タンパク質を要求する。炎症と密接に関連するマクロファージや好中球はその炎症過程で過酸化水素を生成し、過酸化水素はNF-kBの重要な刺激因子となる。また、チオレドキシシンは酸化ストレスにより誘導されるタンパク質であり遺伝子発現におけるredox制御に深く関わっている。

小腸のチオレドキシシン

チオレドキシシンは活性中心のチオール基が反応性に富んでいることから、酸化ストレスに機能することが推定されている。小腸は消化吸収する臓器であるため口から摂取した食物が通過する過程で様々なストレスを蒙る可能性があるが、にもかかわらずそれに抗して小腸では良好な恒常性が維持されている。この恒常性はどのようなメカニズムによるものか今まで明らかにされていなかった。著者らは小腸細胞にストレスから守る防御メカニズムのひとつとしてチオレドキシシンの存在を想定し研究を進めた。

酸化ストレスを除去した後の障害したチオレドキシシンは酵素、チオレドキシシンレダクターゼによって還元する。したがってチオレドキシシンをターゲットにする場合この酵素の存在も明らかにしなければならない。著者らは従来の方法に若干の改良を加え初めてウシ小腸から両者の精製に成功した（表1a、チオレドキシシン、表1b、チオレドキシシンレダクターゼ）。チオレドキシシンは収率3.9%、比活性1.30units/mg、また、チオレドキシシンレダクターゼは収率6.2%、比活性35.0units/mgであり双方の精製はともに良好であった。興味あることにタンパク質の混合ジスルフィドはチオレドキシシンレダクターゼにとって極めて望ましい基質になる、これまで知られていなかった事実である。用いた混合ジスルフィドはウシ眼レンズの α クリスタリン・グルタチオンであり、補因子チオレドキシシンの有無に関係なくチオレドキシシンレダクターゼによって還元された。このことは抗酸化作用を示すチオレドキシシンが枯渇しても、時にはチオレドキシシンレダクターゼが単独で損傷して

表1a チオレドキシシンの精製

Purification step	Protein (mg)	Activity (units)	Sp (munits/mg)	Recovery (%)
Extract	2,120	2.85	0.00134	100
(Am) ₂ SO ₄	1,240	2.20	0.00177	77.2
SephacrylS-100	43.8	1.54	0.0351	54.0
Q-Sepharose	1.57	1.34	0.854	47.1
CM-Sephadex	0.087	0.111	1.300	3.9

Brush border (160g) of bovine small intestine was subjected to purification. pI's of thioredoxin and thioredoxin reductase were 4.93 and 4.68, respectively

表1b チオレドキシシンレダクターゼの精製

Purification step	Protein (mg)	Activity (units)	Sp (munits/mg)	Recovery (%)
Extract	3,240	53.0	0.0163	100
(Am) ₂ SO ₄	1,570	32.5	0.0207	61.3
UltrogelAca	246	17.0	0.0691	32.0
Q-Sepharose	11.37	9.86	0.865	18.6
2',5'-ADP-Sepharose	0.140	4.43	30.97	8.4
Txn-AHC-Sepharose*	0.094	3.28	35.06	6.2

Brush border (120g) of bovine small intestine was subjected to purification. Txn-AHC-Sepharose* is thioredoxin ligand 6-aminohexanoic acid Sepharose 4B.

生じたタンパク質のジスルフィドを還元して元に還元することを示唆している。チオレドキシシン存在下、酸化ストレスを負荷するとある種の酵素は活性化され、また別の酵素は失活する事実が見つかった。失活する酵素はグルタチオンS-トランスフェラーゼ、一方活性化される酵素は小腸のアルドースレダクターゼであった。もともとチオレドキシシンは酸化的に感受性が高く、ウシ小腸のグルタチオンS-トランスフェラーゼも同様に酸化ストレスに対する感受性が高い。その際チオレドキシシンシステムが共存するとグルタチオンS-トランスフェラーゼが酸化ストレスから防御される。一方過酸化水素によって50%に失活したグルタチオンS-トランスフェラーゼはそのまま放置するとさらに活性が減少するがチオレドキシシンが共存すればその失活を抑制するのみならず20分後には80%にまで活性を還元した。このようにチオレドキシシンシステムは生体内で酸化ストレスの防御のみならず障害した酵素の還元にも機能していることを示唆していて興味深い。ウシ小腸のアルドースレダクターゼに過酸化水素ならびにチオレドキシシンを混合しインキュベートすると経時的に酵素活性が上昇しその価は1.5倍に達する。反応液中の遊離チオレドキシシンを測定した結果、過酸化水素の濃度に応じて減少した。恐らくアルドースレダクターゼとチオレドキシシンとの混合ジスルフィドの形成によるものであろう。グルタチオンも同様にアルドースレダクターゼの活性化を促進するが必要な濃度はチオレドキシシンのその約50倍であったので本酵素の活性化促進はチオレドキシシンに特異的であることを示している。こうした事実から小腸細胞では含まれる酵素の活性が生体内チオール成分、チオレドキシシンの存在により適宜調節されており、大きな損傷から保護されるものと推定された。

培養小腸細胞における酸化ストレス

下等な細菌から高等動物に至るすべての生物は活性酸素の障害を防ぐ様々な手段を備えている。活性酸素が通常レベル以上になった時それを消去する機構が劣化すれば疾病に陥る。スーパーオキシドデスムターゼは抗酸化酵素のひとつであるがこうした解毒酵素群および抗酸化タンパク質群は発現誘導によって準備される生体防御の例である。nrf2タンパク質は活性酸素の刺激により著明に活性化されるので応答系の中心的な制御因子である。そのメカニズムはnrf2タンパク質の転写誘導を伴わずその後続くメカニズムによって活性化される。細胞骨格結合性タンパク質kcapIがnrf2に結合するとnrf2の活性が抑制され活性酸素により解離しnrf2は細胞核内へ移行し抗酸化酵素群の転写活性を誘導する。つまり、結合型kcapI・nrf2は酸化ストレスのセンサーとして機能している。AP-1や酵母のタンパク質、pap-1は酸化ストレスに応答した転写活性化因子であり細胞の核外受容体システムにより負の制御を受ける。pap-1が核内移行を実現するためにはMAPキナーゼ(sty-1)の存在が必要である。

培養ラット小腸上皮細胞IEC-6に過酸化水素による酸化ストレスを負荷するとチオレ

ドキシンの活性が上昇することを認めた。小腸上皮細胞IEC-6のチオレドキシンの活性と細胞の回収率との関係求めてみた (図2)。図中の折れ線グラフは回収されるタンパク質を

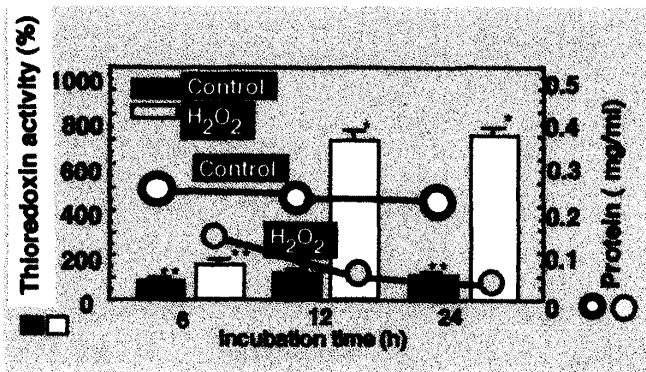


図2 酸化ストレス負荷によるチオレドキシンの活性の上昇 (培養小腸上皮細胞)

表しており、過酸化水素障害はタンパク質の回収を減少させ経時的な細胞自身の消失を招くことが判明した。しかし、酸化ストレスに耐えて生き残った培養細胞ではチオレドキシンの著明な活性上昇があり、この事実は酸化ストレスを防御するためこの培養細胞ではチオレドキシンの活性が増加したことを示唆するものであり興味深い。培養細胞IEC-6

のチオレドキシンの活性上昇が遺伝子発現時の転写レベルで惹起することを確認した。微量のmRNAを測定可能なRT-PCR法を実施するにあたりチオレドキシンのプライマーをデザインした。過酸化水素処理によって培養細胞IEC-6におけるチオレドキシンのPCR産物は著しく発現量が増大していることが判明、予想されたように酸化ストレスに耐えて生き残った培養細胞ではチオレドキシンのmRNAがにわかに誘導合成され、防御タンパク質、チオレドキシンの生成したのである。このように小腸では酸化ストレスに呼応してチオレドキシンの遺伝子が急激に発現することを示唆するものである。

ヘムオキシゲナーゼ1は酸素添加反応によりプロトヘムなど有害な遊離ヘムを分解し還元鉄やビリルビンを生成、排泄する酵素であるが、臓器血流を維持する血管弛緩物質でもある。酸化ストレス誘導型ヘムオキシゲナーゼ1は炎症反応を抑制することで知られている。この酵素を高発現する単球細胞ではインテグリン発現量が低下し遊離ヘムによる細胞障害も低下した。従来から認められてきた酵素活性中心の作用メカニズムと、さらに別の作用機構の存在を示唆する結果であった。

細胞死を招く因子としてタンパク質誘導説がある。ヒト単球細胞の培養で酸素制御タンパク質の遺伝的欠損株は細胞死に至る。このタンパク質は低酸素にて誘導されるストレスタンパク質で小胞体に存在する分子シャペロンである。ヒト動脈硬化病巣に集まるマクロファージに発現していて変性したLDLがあると増強され活性酸素の発生を抑制し細胞死を防いでいると考えられる。哺乳動物のストレスタンパク質は種々のストレスで誘導合成され過酸化水素などに対抗して作られる。熱ショックでも誘導されるのでその場合ヒートショックタンパク質と呼ばれる。このヒートショックタンパク質はほとんどの生物に存在し変性したタンパク質の不可逆的凝集から守る分子シャペロンとして働く。細胞構造タンパク質、チューブリンやアクチンの立体構造の形成、つまりタンパク質のフォールディング

グに関与する。タンパク質が最終的に立体構造を作り上げる際の必須成分なのである。

酸化ストレスが細胞機能の低下をもたらすことは良く知られた特異な現象であり多くの症例で確認されている。しかし、直接的な病態例はいまだ見つかっていない。神経変性疾患では酸化ストレスによりタンパク質の変性が起きる。アルツハイマー病など神経変性疾患では例外なく変性タンパク質（アルデヒド修飾タンパク質）が検出されている。神経毒のスクリーニングの結果シクロペンテノン型プロスタグランジンが見つかった。いわゆる酸化ストレス誘発因子のひとつである。

γ -グルタミルシステイン合成酵素はグルタチオン生合成の律速酵素である。グルタチオンは抗酸化剤として生体に広く存在する重要な成分であり本酵素は酸化ストレスの防御機構に欠くことの出来ない重要な働きを担っている。本酵素が生成してくるきっかけは実は酸化ストレスなのである。アンチセンス遺伝子を用いてこの酵素の発現を減少させると膜輸送が衰えて酸化障害が増大する。この事実から本酵素は細胞内グルタチオン濃度を維持する働きと直接的な抗酸化作用の双方を有すると考えられる。アミノ酸のひとつシステインはグルタチオン生合成に欠くことの出来ない成分であるが細胞内にこれを取り込むため特別の輸送系タンパク質Xcが存在する。活性酸素によってこのタンパク質は著しく誘導され細胞内のグルタチオンも増大する。逆にこのタンパク質の働きを阻害すると細胞内のグルタチオンが低下し一定レベルを維持出来なくなる。遺伝子xctは輸送系タンパク質Xc発現の遺伝子で活性酸素レスポンスエレメントをこの遺伝子の上流に持ち制御を受けつつ抗酸化メカニズムの一員となっている。

ビタミンEは摂取しなければならない食品成分であるが生体内ではその働きのひとつに抗酸化剤としての役割がある。ラット小腸の培養上皮細胞IEC-6に過酸化水素による酸化ストレスを負荷する際、ビタミンEを加えておくとその濃度に依存して酸化障害が防御されその防御効果は培養4時間にて最大になった。ビタミンEの影響を調べるためチオレドキシンの活性とその遺伝子の発現を指標にして培養上皮細胞IEC-6に過酸化水素の酸化ストレスを負荷した（図3）。過酸化水素とビタミンE双方が存在する時、培養したIEC-6細胞のチオレドキシンの活性は有意に増加しビタミンE単独の場合より顕著であった。チオレドキシンのレダクターゼ活性も増加傾向にあるがチオレドキシンの活性ほど明瞭ではない。転写レベルにおけるビタミンEの影響を検討したが培養上皮細胞IEC-6のチオレドキシンのメッセンジャーRNAの発現に対してビタミンE添加の有意差は認められなかった。

過去に未熟児を酸素部屋で保育し活性酸素による未熟児障害が発症して大きな問題になった。活性酸素は眼球において脂質を酸化し過酸化脂質が生成、これが毒性を誘発したのである。ストレス負荷のラットでは眼球に過酸化脂質が現れ、毒性が現れる前にビタミンEを予め注射しておくとその毒性が中和され症状が起きなくなる。ビタミンEは脂溶性であり細胞膜に存在して抗酸化剤となり、ビタミンCは水溶性で細胞質に存在して抗酸化剤

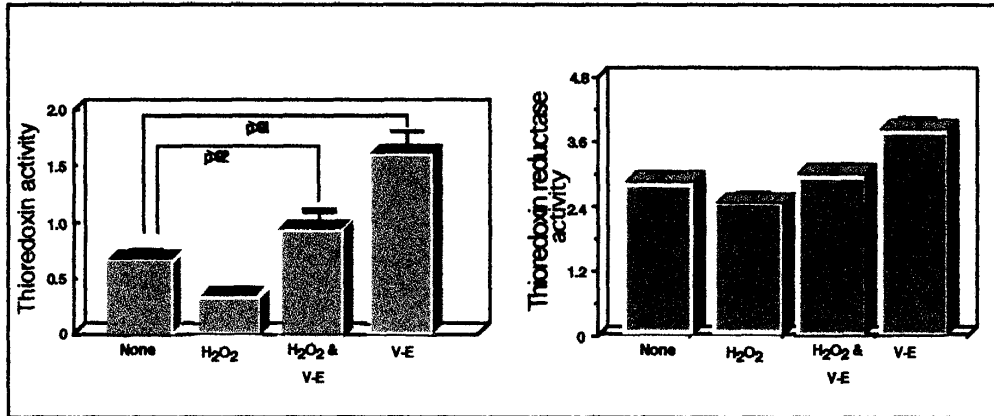


図3 チオレドキシシン (左) なびにチオレドキシシンレダクターゼ (右) 活性に及ぼすビタミンEの影響

として機能する。野菜に含まれるフラボノイドは活性酸素を捕捉除去してくれるので抗酸化作用をもつ食品成分として認識されている。

チオレドキシシンは同じ仲間のタンパク質からなるスーパーファミリーに属する。グルタチオン系と同様、細胞内でredox調節を受ける典型的なタンパク質であり、細胞死や細胞周期に至る過程で重要な関わりを持っている。虚血再灌流の刺激(酸化ストレス)によりチオレドキシシンが誘導されるが上述の著者らの研究成果が示すように酸化ストレスに対してチオレドキシシンは防御的に働く重要な因子である。

紫外線照射の影響

酸素はあらゆる生物にとって細胞のエネルギー生産、あるいは酸化反応に必須である。紫外線照射や種々の体内反応で生ずる活性酸素はしかし、生体にとって重篤な障害をもたらす。光化学反応によっておこしたタンパク質は損傷をうけ活性を失う。なかでも紫外線は強力なエネルギーによって生理的に重要なタンパク質を失活させる恐れがある。

眼は外界の映像をレンズ経由で視神経の網膜に伝える器官である。眼レンズはその形、厚さを変えて遠近広範囲の物体を網膜上に結像する重要な役割をもつ。光の透過性、レンズの透明性はタンパク質の約90%を構成するクリスタリンに依存しており、このレンズタンパク質が変性、部分分解することによってレンズ細胞内における分子配列の乱れを引き起こし混濁化して眼レンズ白内障の主因となる。白内障には遺伝性、老人性、糖尿病性、さらに化学物質の暴露性等の要因があり中でも紫外線照射の影響に関する研究が多くなされている。絶えず眼は強弱があるものの紫外線に曝されているからである。

紫外線照射による酸化ストレスが負荷されるとタンパク質のアミノ酸残基が分解する。抗酸化剤グルタチオンが容易に紫外線照射によりレンズタンパク質と混合ジスルフィドを形成する。ブタ眼レンズの主なるタンパク質についてグルタチオン混合ジスルフィドを定量した結果(表II)、クリスタリン、アルドースレダクターゼ、乳酸脱水素酵素を含

む全タンパク質にそれが検出された。試験管内で γ -クリスタリンに紫外線を照射すると混濁が観察されその際グルタチオンが共存するとこの混濁は抑制される。(図4)。それはグルタチオンとの混合ジスルフィドを形成することによって濁りを防いでいたのである。眼レンズに存在する分解酵素、カルパインで処理すると紫外線照射で得た γ -クリスタリンの混合ジスルフィドは著しく速やかに消化されることが明らかになった。タンパク質にグルタチオンが結合すると構造に新たな折れ曲がりが生じカルパインに対する感受性を高めると考えられる。紫外線照射に限らず光化学反応はタンパク質の光化学修飾を推し進めるのでこうした混合ジスルフィド形成が白内障の初発反応かもしれない。分かりやすくするためグルタチオンとクリスタリンとの混合ジスルフィド形成をモデル化したのが図5である。タンパク質のアミノ酸残基が分解するメカニズムも併記した。

有機セレン化合物は活性酸素を分解することが知られている。セレンシステインを含む酵素タンパク質、グルタチオンパーオキシダーゼは過酸化物を解毒代謝する。低分子のセレン化合物、エブセレンはある種の酵素を失活させ、すでに治験薬の段階にきている医薬品である。紫外線照射において失活する酵素を防御するのにエブセレンが働くか否かに興味があった。ブタ眼レンズからグルタチオンS-トランスフェラーゼを精製し、これに紫外線を照射すると経時的に酵素が失活する。光化学失活した酵素に極く微量のエブセレンとグルタチオンとを混合してインキュベートすると酵素活性が復元

表II 目レンズの混合ジスルフィドタンパク質

	Mixed disulfide (nmol GSH/mg protein)
Aldose reductase	1.41
Lactate dehydrogenase	0.83
α -Crystallin	0.46
β -Crystallin	2.30
γ -Crystallin	1.56
Whole proteins	1.14
Free GSH & GSSG	29.20

Pig lens proteins were isolated and the content of protein mixed disulfides with GSH or free GSH including GSSG were determined with enzymatic cycling assay. Values are the means of three experiments.

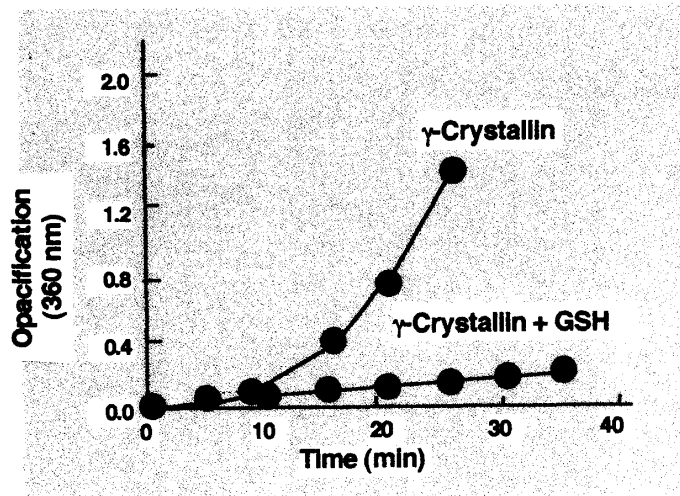


図4 グルタチオン (GSH) による混濁抑制

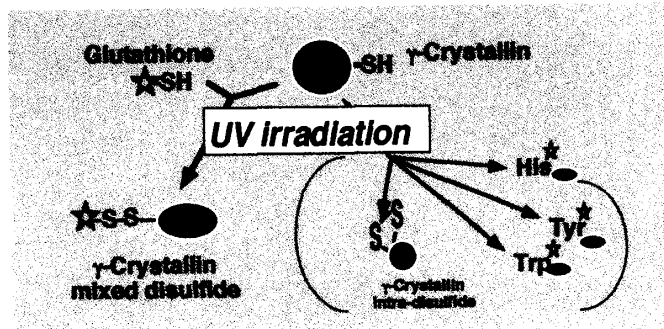


図5 クリスタリンとグルタチオンとの混合ジスルフィド形成モデル

した。抗酸化剤であるグルタチオンのみの添加では酵素活性の復元はない。一方 γ -クリスタリンの分子内チオール基が紫外線照射で減少するにつれて混濁も増大する。この分子内チオール基の減少した γ -クリスタリンにグルタチオンとエブセレンを添加インキュベートすると分子内チオール基が復元することが明らかになった。これは酵素、グルタチオンS-トランスフェラーゼ活性の復元と同様であった。こうした事実から酵素グルタチオンS-トランスフェラーゼを例にエブセレンの作用機構を推定し図6にモデルを示した。光化学失活した酵素にエブセレンが疎水結合しそこに抗酸化剤グルタチオンが働き酵素のジスルフィド結合を解離しエブセレン自身グルタチオンと結合する。抗酸化剤グルタチオンのみでも復元はあるがその速度は緩慢である。眼レンズにおけるエブセレンの薬剤としての将来性が期待される。

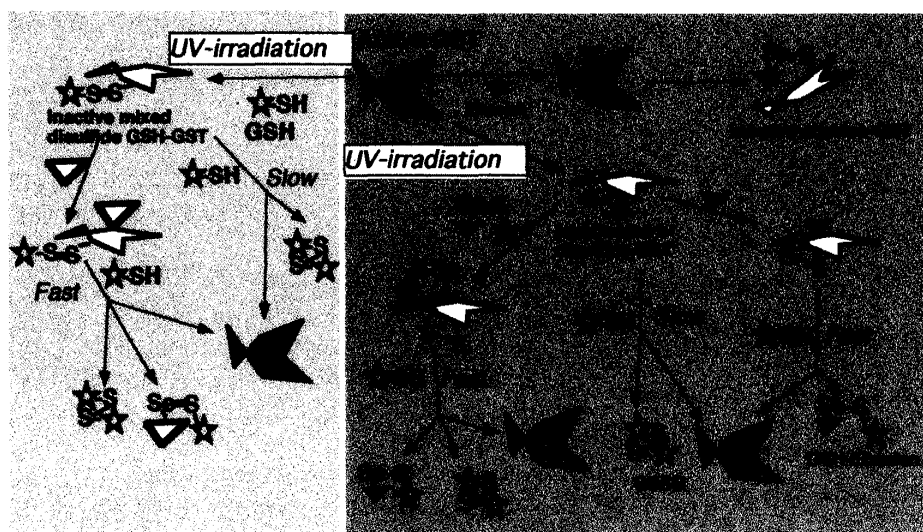


図6 酵素グルタチオンS-トランスフェラーゼの紫外線による失活とエブセレンによる活性の復元モデル

まとめ

生体内には遺伝子発現の調節のためredox制御が行われておりその引き金は酸化ストレスが生み出す。酸化ストレスは即ち活性酸素が主原因であるが、バクテリアなどの外敵から守るため少量はいつも準備されている。しかし、redox制御がスムーズに行われている裏には機能を終えた活性酸素を消去するシステムがあるからである。いわゆる防御機構の存在である。その第一候補として著者らはチオレドキシンを想定し、それを確証する様々な研究成果を得た。酸化ストレスはタンパク質の変性、失活をもたらし、大きな障害因子になるが分子生物学的なアプローチからそのメカニズムも分かってきた。酸化ストレスに由来する疾病に、あるいは障害の予防に研究成果を生かしてゆきたいものである。

謝辞

本研究は大阪大学大学院薬学研究科で行われたものであり、同研究科、生体機能分子化学分野、八木清仁教授ならびに研究室員諸氏に謝意を表します。

文献

- 1 cDNA sequence of bovine thioredoxin. Hideki TERASHIM, Sayaka GOTOH, Kiyohito YAGI, Tadashi MIZOGUCHI, *DNA Sequence Vol 10(3), 203-205 (1999)*
- 2 Formation of lens aldose reductase mixed disulfide with GSH by UV irradiation and its proteolysis by lens calpain. Tadashi MIZOGUCHI, Isamu MAEDA, Kiyohito YAGI, Peter F. KADOR, *Advances in Experimental Medicine and Biology Vol 463, 481-486 (1999)*
- 3 Increase in thioredoxin activity of intestinal epithelial cells mediated by oxidative stress. Ayako HIGASHIKUBO, Noriyuki TANAKA, Naoto NODA, Isamu MAEDA, Kiyohito YAGI, Tadashi MIZOGUCHI, Hiroki NANRI, *Biological Pharmaceutical Bulletin Vol 22(9) 900-903 (1999)*
- 4 D-Fructose-mediated stimulation of bovine lens aldose reductase activation by UV-irradiation. Tadashi MIZOGUCHI, Takeharu OGURA, Kiyohito YAGI, Peter F. KADOR, *Advances in Experimental Medicine and Biology Vol 414, 529-535 (1996)*
- 5 Modulation of subcellular particles of the rat small intestine and liver by ebselen. Tadashi MIZOGUCHI, Tohru NISINAKA, Hirofumi NANJO, Kiyohito YAGI, Hideo HAKUSUI, *Biological Pharmaceutical Bulletin Vol 18(4) 491-495 (1995)*
- 6 Responses of glutathione-related enzymes in isolated rat small intestine to Fe²⁺-EDTA-mediated oxidative stress. Tadashi MIZOGUCHI, Yoshiaki MORITA, Hirofumi NANJO, Tomoyuki TERADA, Tsutomu NISHUHARA, *Biological Pharmaceutical Bulletin Vol 17 (5) 607-611 (1994)*