

来は急性毒性モデルとして考えられていた 6-OHDA 脳室内投与マウスを, 慢性進行性障害を検討するためのモデルとしても応用できることを示すとともに, 脳機能障害におけるグルタチオン系の重要性を明らかにした。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- ① Ogawa N: Immunophilin ligands: Possible neuroprotective agents. *NeuroScience News* (1999) 2: 28-34.
- ② Kondo Y, Asanuma M, Iwata E, Kondo F, Miyazaki I and Ogawa N: Early treatment with cyclosporin A ameliorates the reduction of muscarinic acetylcholine receptors in gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia. *Neurochem Res* (1999) 24: 9-13.
- ③ Iwata-Ichikawa E, Kondo Y, Miyazaki I, Asanuma M and Ogawa N: Glial cells protect neuronal cells against oxidative stress via transcriptional up-regulation of the glutathione system. *J Neurochem* (1999) 72: 2334-2344.
- ④ Mogi M, Togari A, Tanaka K, Ogawa N, Ichinose H and Nagatsu T: Increase in level of tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  in 6-hydroxy-dopamine-lesioned striatum in rats without influence of systemic L-DOPA on the TNF- $\alpha$  induction. *Neurosci Lett* (1999) 268: 101-104.
- ⑤ Gómez-Vargas, M., Asanuma M, Nishibayashi-Asanuma S, Iwata E, and Ogawa N: Nitric oxide modulated muscarinic acetylcholine receptor binding in the cerebral cortex of gerbils. *Neurochem Res* (1999) 24: 629-635.
- ⑥ Kondo Y, Nakanishi T, Takigawa M and Ogawa N: Immunohistochemical localization of connective tissue growth factor in the rat central nervous system. *Brain Res* (1999) 834: 146-151.

- ⑦ Iida M, Miyazaki I, Tanaka K, Kabuto H, Iwata-Ichikawa E and Ogawa N: Dopamine D2 receptor-mediated antioxidant and neuroprotective effects of ropinirole, a dopamine agonist. *Brain Res* (1999) 838: 51-59.
- ⑧ Miyazaki I, Iwata-Ichikawa E, Iida M and Ogawa N: Bifemelane hydrochloride protects against cytotoxicity of hydrogen peroxide on cultured rat neuroblastoma cell line. *Neurochem Res* (1999) 24: 857-860.

### 2. 学会発表

- ① Ogawa, N., Miyazaki, I., Tanaka, K., Iida, M. and Asanuma, M. : Dopamine D2 receptor mediated antioxidant and neuroprotective effects of ropinirole. XIII International Congress on Parkinson's Disease, 1999.
- ② Ogawa, N.: Potential neuroprotective properties of ropinirole. International Parkinson's Disease Expert Forum, 1999.
- ③ Ogawa, N.: Management of motor fluctuations. Fourth International Symposium on the Treatment of Parkinson's Disease, 1999.
- ④ 小川紀雄: 脳におけるイムノフィリンの新展開. 第 26 回日本脳科学会, 1999.
- ⑤ 小川紀雄: 神経細胞死に対する新しい治療 - 神経保護・修復療法 -. 第 13 回老年期痴呆研究会 1999.
- ⑥ 田中健一, 和田尚子, 堀 耕治, 野村正彦, 小川紀雄. 脳血流慢性低灌流ラットにおける免疫抑制剤の学習障害改善効果. 第 72 回日本薬理学会年会, 1999.
- ⑦ 田中健一, 宮崎育子, 藤田尚子, 浅沼幹人, 小川紀雄. 6-OHDA 投与後の脳内酸化ストレス消去系の経時変化. 第 29 回日本神経精神薬理学会年会, 1999.

### 研究協力者

田中健一 (岡山大学医学部神経情報学部門 助手)  
浅沼幹人 (岡山大学医学部神経情報学部門 助手)

## 分担研究報告書

### パーキンソン病における神経細胞死の分子機構とその保護治療に関する研究

分担研究者 久野 貞子 国立療養所宇多野病院 臨床研究部長

**研究要旨** ドーパミン神経細胞死を抑制し、その保護治療に最適とされる神経栄養因子 **Glial cell-lined derived neurotrophic factor (GDNF)** は、サル MPTP パーキンソンモデルでは卓越した運動障害改善と細胞保護効果が知られている (1)。しかし、その存在が超微量なため蛋白レベルでの脳内分布や作用機序の解明は不十分であった。そこで 10 年度は GDNF 抗体を作成し、高感度 ELISA 系の開発を行った。このシステムを用いてパーキンソン病患者の脳脊髄液や血中濃度を測定し、非パーキンソン病患者と比較したが特異的な変化は検出出来なかった。そこで 11 年度は、パーキンソン病治療薬であるドーパミンアゴニスト **apomorphine** の神経細胞保護効果を培養グリア細胞を用いて検討した。その結果、**apomorphine** は、神経栄養因子 NGF および GDNF 遺伝子発現と分泌を促進した (実験 1)。また、この抗体を用いて免疫組織染色法により MPTP パーキンソンモデル発症過程に GDNF 発現が関与しているかどうかを検討した。MPTP による黒質細胞障害には、GDNF 発現の減少がドーパミン神経細胞の減少に先行する傾向が見られた。11 年度はこの減少の程度を定量的に計測したところ、MPTP による黒質神経細胞死には GDNF の生成または取り込みの障害が関与していると推論された (実験 2)。

#### A. 研究目的

**実験 1:** パーキンソン病の薬物療法の基本は、L-ドーパ、ドーパミンアゴニスト、抗コリン剤等によるドーパミン補充及び対症療法である。近年、ドーパミンアゴニストが、培養細胞や動物モデルを用いた実験で、神経保護作用を持つことが示されている (Olanow CW, et al: *Ann Neurol* 44: S167-174, 1998.)。そのメカニズムは、主にフリーラジカルによる酸化ストレスを抑制することによるとされているが、その他のメカニズムについては、ほとんど調べられていない。一方、神経栄養因子のいくつかはドーパミンニューロンに作用することが実験的に知られており (Lindsay RM et al: *Exp Neurol* 124: 103-118, 1993)、特に GDNF 投与は、既に臨床応用が試みられている (Kordower JH, et al: *Ann Neurol* 46: 419-424, 1999)。我々は、ドーパミンアゴニスト **apomorphine** が、脳内の神経栄養因子生成を刺激して、神経保護作用を持つ可能性を調べるために本実験を行った。

**実験 2:** MPTP パーキンソン病モデルサル脳黒質の抗 GDNF 陽性細胞および抗 TH 陽性細胞の経時的変化

GDNF 免疫染色陽性細胞は脳内で線条体、マイネルト核、大脳皮質など広い範囲で存在しており、黒質中にも免疫染色陽性を示す細胞が多数認められている。MPTP は黒質ドーパミンニューロンを障害し、パーキンソン病モデル動物作製を可能としたが、この MPTP パーキンソン病モデルサルに、GDNF を投与して黒質ドーパミンニューロンが回復することが知られている (Gash DM, et al: *Nature* 380(6571):252-5, 1996 Mar 21)。しかし、黒質には多数の GDNF 陽性細胞が存在しており、これらが MPTP 投与による黒質ドーパミンニューロンの変性にどのように関与しているかは不明である。黒質の GDNF 陽性細胞の状態は、MPTP パーキンソン病モデルに限らずパーキンソン病の発症や進行にも影響を及ぼしている可能性が考えられ、パーキ

ンソン病発症や進行のメカニズムを理解する上で重要な因子と考える。今回、我々はサルに MPTP を静脈内投与し、黒質ドーパミンニューロンの変化と GDNF 陽性細胞の変化を経時的に調べ、黒質ドーパミンニューロン死に対する GDNF の関与の有無を検討した。

## B. 研究方法

### 実験 1: (1) アストログリア細胞の培養

古川らが報告した、マウスアストログリア細胞を用いた (Furukawa S, et al: *Biochem Biophys Res Commun* 136: 57-63, 1986)。細胞を  $2 \times 10^4/cm^2$  の密度でまき、底面一杯に広がれば、0.5% BSA を含む無血清 DMEM 培養液に交換し、さらに約 1 週間培養し、細胞を静止期にする。apomorphine を含む培養液で 0 時間~24 時間 incubate し、培養液及び細胞を採取する。

### (2) 神経栄養因子分泌量の測定

培養上清中の NGF (nerve growth factor)、BDNF (brain-derived neurotrophic factor)、GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) の濃度は、我々が開発した ELISA 法にて測定した。

### (3) 神経栄養因子遺伝子発現の解析

細胞から総 RNA をフェノール・イソチオシアネート法で抽出し、ノーザンブロット法または半定量的 RT-PCR 法で調べた。ノーザンブロット法は、フルオレセインでラベルしたプローブにて、ブロットを 65 度で一晩インキュベーションして、プローブと結合したバンドをアルカリフォスファターゼを用いた化学発光法にて検出した。半定量的 RT-PCR 法は、PCR 産物をアガロースゲルで電気泳動して増幅バンドの濃さを NIH Image でデジタル解析し、対コントロール比を計算して半定量した。

実験 2: MPTP 0.2mg/kg~0.5mg/kg を静脈内投与して 6 日目、10 日目、20 日目、96 日目、136 日目のサル各一頭の脳を 2%

パラホルムアルデヒドバッファー溶液で固定、電気冷却器付きマイクロームを用いて  $30\mu m$  に薄切し、自家作成した抗 GDNF 抗体 (ウサギ) を用いて、ABC 法により Floating 法で免疫染色を行った。対照として MPTP 未投与カニクイザルを用いた。黒質の Dopamine neuron の状態をみるために抗 tyrosine hydroxylase (TH) 抗体 (モルモット) を用いて同様の方法で免疫染色を行った。抗 GDNF 抗体による染色と抗 TH 抗体による染色は隣り合った切片をペアとして用い、出来るだけ同じ部位について  $0.25mm^2$  内の免疫陽性細胞数を比較した。

## C. 研究結果

実験 1: (1) 様々な apomorphine 濃度でアストログリア細胞を 17 時間 incubate したところ、培養液中の NGF 分泌量は、apomorphine 濃度が 88mM でピークとなった (図 1)。

(2) apomorphine (88mM) で 0-24 時間 incubate した後の NGF、BDNF、GDNF の分泌量の経時変化を調べた。コントロールと比較すると、NGF 分泌量は 4 時間で 20 倍、6 時間で 50 倍、24 時間で 122 倍 ( $1681pg/ml$ ,  $p < 0.001$ , Student's t-test) に上昇した。BDNF 分泌量は 1-24 時間で、

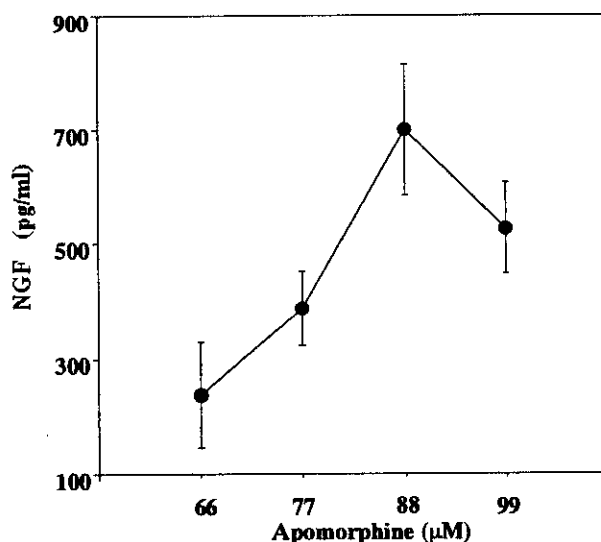


図 1 apomorphine 濃度と NGF 分泌量

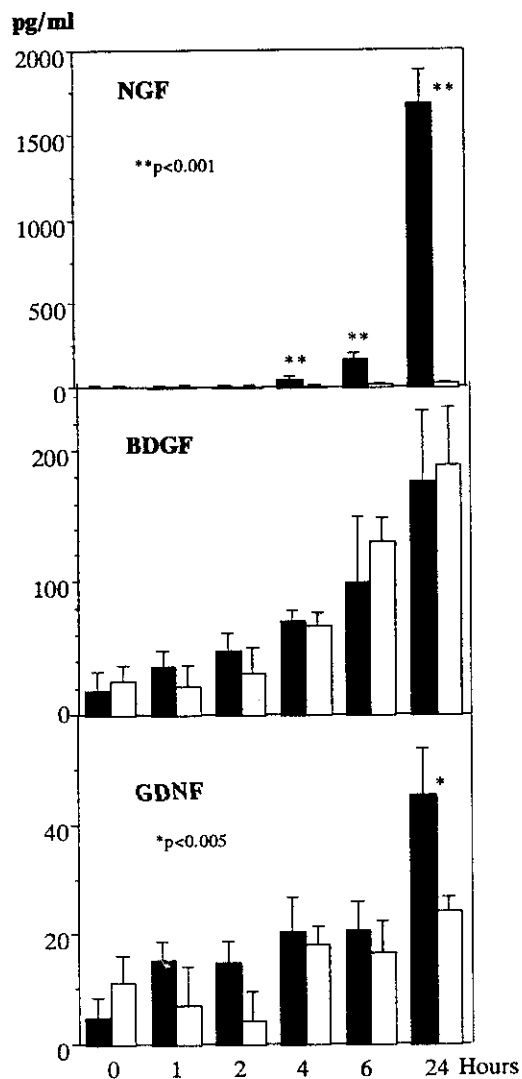


図2 apomorphine添加後の神経栄養因子分泌量の経時変化

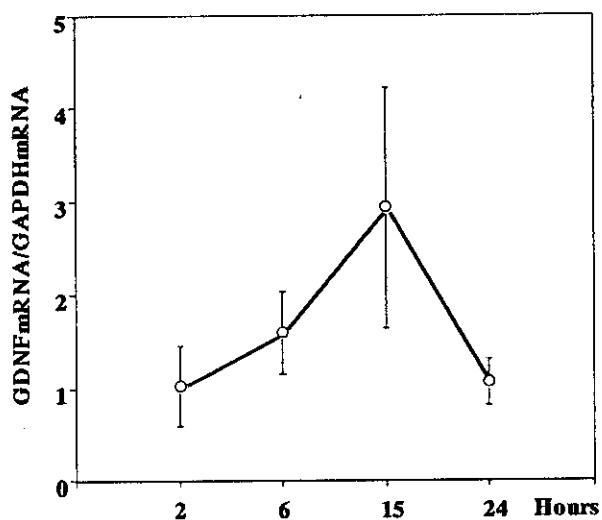
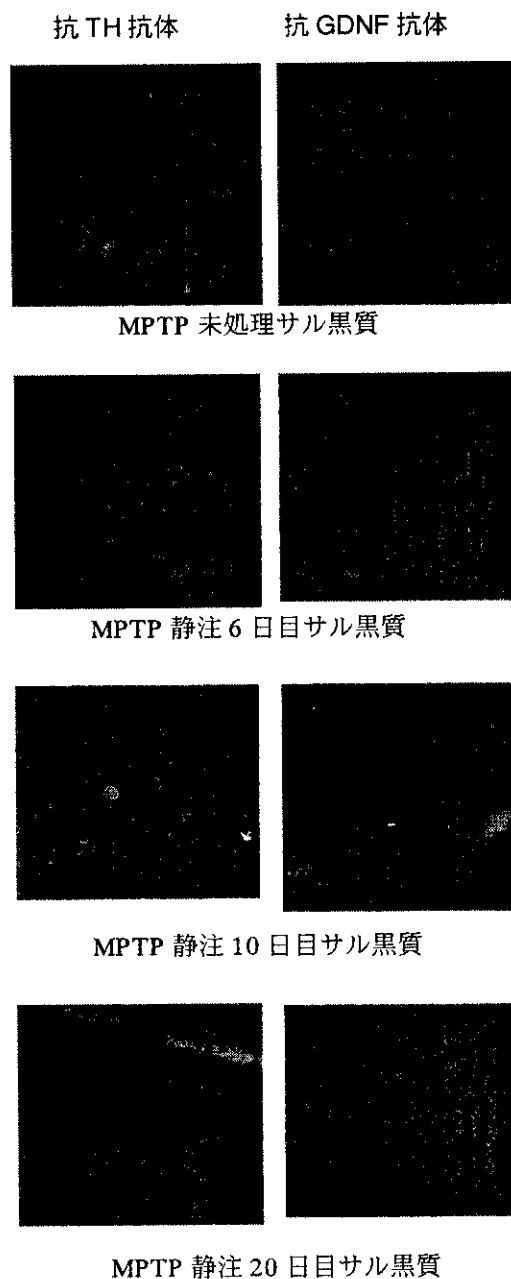


図3 半定量的RT-PCR法によるGDNF遺伝子発現量の経時変化

図4 MPTP 処理および未処理サルの黒質免疫染色

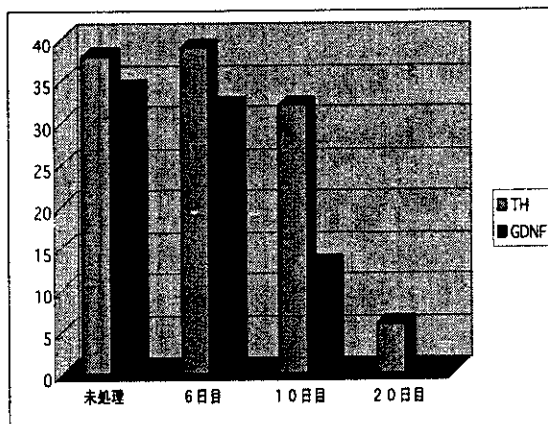


コントロールと比べて有意差がなかった。GDNF 分泌量は 6 時間まではコントロールと比べて有意差がなかったが、24 時間でコントロールの 1.8 倍 (42pg/ml、 $p < 0.005$ ) に上昇していた (図 2)。(3) apomorphine による分泌刺激がみられた NGF、GDNF について、遺伝子発現を

調べた。ノーザンブロット法でアストログリア細胞内の NGF 遺伝子の発現を調べたところ、コントロールでは検出できなかったが、アポモルフィン添加後 2 時間で発現がみられ、添加後 6 時間で著明に増加し、24 時間後も検出可能であった (図略)。GDNF 遺伝子については、発現量が低いいため、RT-PCR 法で調べたところ、アポモルフィン添加後 15 時間後にコントロールの 2.9 倍の発現がみられた (図 3)。

実験 2: 抗 GDNF、抗 TH 抗体いずれも MPTP 未投与対照サル脳では黒質で陽性の細胞が多数認められた。投与 6 日目サル脳黒質でも対照に比較してほとんど差のない数の抗 GDNF 抗体、抗 TH 抗体陽性細胞が認められた。投与 10 日目サル脳黒質で

図 5 免疫染色陽性細胞数(0.5mm×0.5mm)



は抗 TH 抗体陽性細胞は多数認められたが、抗 GDNF 抗体陽性細胞は対照に比べて明らかに減少していた。投与 20 日目サル脳黒質では抗 GDNF 抗体、抗 TH 抗体陽性細胞ともに著明に減少していた (図 4)。定量的 0.5 x 0.5 mm 四角内の細胞数をカウントした結果は、図 5 に示すように MPTP 注射後 6 日目では GDNF 陽性細胞数、TH 陽性細胞数に著変はなかったが、10 日目では GDNF 細胞は 62% 減少しているのに対し、TH 陽性細胞は 16% 減に留まっていた。20 日目では GDNF 細胞は検出されず、TH 細胞は 6% 残存していた。96

日目、136 日目はいずれも検出されなかった。MPTP による黒質神経細胞死には GDNF の生成または取り込みの障害が関与していると推論した。

#### D. 考察

パーキンソン病の主病巣である黒質線条体ドーパミンニューロンに対する神経保護作用は、神経栄養因子の投与及び酸化ストレスからの防御といった二つの観点から研究されている。神経栄養因子については、GDNF, BDNF, NT(neurotrophin)-3, NT-4/5 について黒質線条体ドーパミンニューロン保護作用が報告されている他、NGF については PC12 細胞やクロム親和性細胞に対する保護作用が報告されている (Rohrer DC et al: Cell Transplant 5: 57-68, 1996; Winn SR et al: J Neural Transplant Plast 3: 115-124, 1992)。一方、Mogi らによりパーキンソン病患者の死後脳において、黒質、線条体中の NGF, BDNF が低下していることが報告された (Mogi M et al: Neurosci Lett 270: 45-48, 1999)。従って、薬剤による脳内神経栄養因子産生刺激も、パーキンソン病の神経保護治療に結びつくと考えられる。アストログリア細胞はパーキンソン病でも障害されず、また様々な神経栄養因子産生能を持つことが知られている (Müller HW et al: Pharmac Ther 65: 1-18, 1995)。よって我々は、培養アストログリア細胞に対する apomorphine の神経栄養因子生成刺激作用を、NGF、GDNF、BDNF について検討した。

実験 1 の結果から、apomorphine が培養アストログリア細胞の NGF 分泌、遺伝子発現を著明に促進することがわかった。また、GDNF 分泌も有意に刺激され、遺伝子発現の増加も見られた。しかしながら、BDNF 産生に対しては、apomorphine による影響は見られなかった。

ドーパミンアゴニストは、フリーラジカルによる酸化ストレスからドーパミンニ

ニューロンを直接的、間接的に保護することが、実験的に報告されている。apomorphine は日本国内では抗パーキンソン薬剤としては使用されていないが、欧米では、皮下注で使用されている D1/D2 ドーパミンアゴニストである。最近、apomorphine がフリーラジカスキャベンジャー作用を介して、PC12 細胞に対して保護効果を持つことが報告された (Gassen M, et al: *Mov Disord* 13: 242-248, 1998)。これに加えて、apomorphine が脳内のアストログリア細胞に作用して、NGF 及び GDNF 分泌の促進を介して神経保護作用をもたらす可能性が今回の実験結果から示唆された。

実験 2 については、GDNF 抗体を用いて免疫組織染色法により MPTP パーキンソンモデル発症過程に GDNF 発現が関与しているかどうかを検討した。MPTP による黒質神経細胞障害には、GDNF 発現の減少がドーパミン神経細胞の減少に先行することを定量的に明らかにした。黒質ドーパミンニューロンの維持に GDNF が関与している可能性があり、今後黒質での GDNF とドーパミンニューロン生存の関連について検討を要する。

#### E. 結論

GDNF 抗体を作成し、高感度 ELISA 系の開発を行った。このシステムを用いてパーキンソン病患者の脳脊髄液や血中濃度を測定し、非パーキンソン病患者と比較したが特異的な変化は検出出来なかった。そこで 11 年度は、パーキンソン病の薬物療法の基本薬であるドーパミンアゴニスト apomorphine の神経細胞保護効果を培養グリア細胞を用いて検討した。その結果、apomorphine は、神経栄養因子 NGF および GDNF 遺伝子発現と分泌を促進した (実験 1)。また、この抗体を用いて免疫組織染色法により MPTP パーキンソンモデル発症過程に GDNF 発現が関与しているかどうかを検討した。MPTP による黒質細胞障害には、GDNF 発現の減少がドー

パミン神経細胞の減少に先行する傾向が見られた。11 年度はこの減少の程度を定量的に計測したところ、MPTP による黒質神経細胞死には GDNF の生成または取り込みの障害が関与していると推論した。

#### F. 研究発表

##### 英文原著論文

Mogi M, Togari A, Kondo T, Mizuno Y, Komure O, Kuno S, Ichinose H, Nagatsu T: Brain-derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neuroscience Letters* 270: 45-48, 1999

Yasuda M, Kawamata T, Komure O, Kuno S, D'Souza I, Poorkaj P, Kawai J, Tanimukai S, Yamamoto Y, Hasegawa H, Sasahara M, Hazama F, Schellenberg GD, Tanaka C: A mutation in the microtubule-associated protein tau in pallido-nigro-luysian degeneration. *Neurology* 53: 864-868, 1999

Nishimura M, Mizuta I, Mizuta E, Yamasaki S, Ohta M, Kuno S: Influence of interleukin-1 $\beta$  gene polymorphisms on age-at-onset of sporadic Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, 2000, in press

Araki I, Kuno S: Assessment of voiding dysfunction in Parkinson's disease by the international prostate symptom score. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 68, 2000, in press.

Yasuda M, Tanaka C, Komure O, Kuno S: A mutation in the microtubule-associated protein tau in pallido-nigro luysian degeneration. *Neurology*, 2000, in press.

Ohta M, Mizuta I, Ohta K, Nishimura M, Mizuta E, Hayashi K, Kuno S: Apomorphine up-regulates NGF and GDNF synthesis in cultured mouse astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, in submission

## 日本語原著論文

久野貞子：パーキンソン病の薬物治療の現状と問題点. 内科 83(3): 464-468, 1999

水田英二、久野貞子：パーキンソン病の治療-精神症状（抑鬱、幻覚、妄想）に対して. 今月の治療 7(3): 80-82, 1999

## 日本語総説

久野貞子：卒後教育セミナー 1-パーキンソン病の診断と治療. 臨床神経学 1(1): 104-106, 1999

## 日本語単行本

久野貞子：幻覚・妄想・異常行動  
外来診療のすべて，メジカルビュー社，高久史麿他編，p188-189, 1999

久野貞子：錐体外路疾患—パーキンソン病  
わかりやすい内科学，文光堂，井村裕夫編，東京，p563-568, 1999

久野貞子：錐体外路疾患—進行性核上麻痺  
わかりやすい内科学，文光堂，井村裕夫編，東京，p572-573, 1999

久野貞子：錐体外路疾患—線条体黒質変性症，わかりやすい内科学，文光堂，井村裕夫編，東京，p574-576, 1999

久野貞子：口部ジスキネジア  
今日の治療指針 1999，医学書院，多賀須幸男，尾形悦朗編，東京，p245-246, 1999

## 国際学会

Society for Neuroscience 29th Annual Meeting  
Miami, October 23, 1999  
Dopaminergic mechanisms underlying bladder hyperactivity in rats with a unilateral 6-hydroxydopamine (6-OHDA) lesion of the nigrostriatal pathway.  
Kuno S, de Groat WC, Yoshimura N

## 国内学会

第40回 日本神経学会総会 5月 東京  
MPTP パーキンソン病モデルサル脳黒質の抗 GDNF 陽性細胞及び抗 Th 陽性細胞の経時的変化  
山崎俊三、水田英二、斎木英資、太田光熙、久野貞子

第40回 日本神経学会総会 5月 東京  
パーキンソン病の排尿障害に関する研究—Urodynamic studyによる検討  
久野貞子、水田英二、山崎俊三

第40回 日本神経学会総会 5月 東京  
パーキンソン病治療における胃瘻造設の意義  
水田英二、山崎俊三、久野貞子

第40回 日本神経学会総会 5月 東京  
MAO-A 阻害剤はパーキンソン病モデルサルに対する L-dopa の作用を増強する  
斎木英資、山崎俊三、水田英二、久野貞子

第40回 日本神経学会総会サテライトシンポジウム 5月 東京  
パーキンソン病の最近の治療戦略—パーキンソン病の薬物療法  
久野貞子

第40回 日本神経学会総会サテライトシンポジウム 5月 東京  
パーキンソン病のドパミンアゴニスト治療  
久野貞子

第17回 神経治療学会総会 6月 横浜  
L-dopa 効果減退パーキンソン病に対するアスコルビン酸併用の試み  
三五美和、渡土真奈美、水田英二、山崎俊三、久野貞子

第17回 神経治療学会総会 6月 横浜  
大脳皮質基底核変性症に対する外科的治療の試み  
久野貞子、斎木英資、山崎俊三、水田英二

第54回 国立病院・療養所総合医学会 11

月 大阪

MPTP パーキンソン病モデルサル脳黒質の  
抗 GDNF 陽性細胞及び抗 Th 陽性細胞の  
経時的変化

山崎俊三、水田英二、齋木英資、太田光熙、  
久野貞子

第 54 回 国立病院・療養所総合医学会 11

月 大阪

モノアミン酵素阻害剤の抗パーキンソン病  
効果－サルのパーキンソン病モデルにおけ  
る検討

久野貞子、山崎俊三、水田英二、齋木英資

第 54 回 国立病院・療養所総合医学会 11

月 大阪

パーキンソン病治療における胃瘻造設の意  
義

水田英二、山崎俊三、久野貞子

第 71 回 日本神経学会近畿地方会 11 月

大阪

爆発性の構語障害と酩酊様歩行を呈した進  
行性核状性麻痺と考えられる 1 症例

平居昭紀、渡土真奈美、中野浩子、水田英  
二、山崎俊三、久野貞子



19990380

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

「研究成果の刊行に関する一覧表」

**Functionally important residues tyrosine-171 and serine-18 in  
sepiapterin reductase**

Kengo Fujimoto, Hiroshi Ichinose, Toshiharu Nagatsu, Takamasa  
Nonaka, Yukio Mitsui, Setsuko Katoh  
Biochimica Et Biophysica Acta. 1431: 306-314, 1999

**Exogenous microglia enter the brain and migrate into ischaemic  
hippocampal lesions**

Fumihiro Imai, Makoto Sawada, Hiromi Suzuki, Berislav V.  
Zlokovic, Junjiro Kojima, Shigehiko Kuno, Toshiharu Nagatsu,  
Tohru Nitatori, Yasuo Uchiyama, Tetsuo Kanno  
Neuroscience Letters. 272: 127-130, 1999

**Molecular mechanisms of hereditary progressive dystonia with  
marked diurnal fluctuation, Segawa's disease**

Hiroshi Ichinose, Hidehito Inagaki, Takahiro Suzuki, Tamae  
Ohye, Toshiharu Nagatsu  
Brain & Development. 21: 1-3, 1999

**Expression of human tyrosine hydroxylase type I in *Escherichia  
coli* as a protease-cleavable fusion protein (Short Communication)**

A. Nakashima, K. Mori, T. Nagatsu, and A. Ota  
Journal of Neural Transmission. 106: 819-824, 1999

**Stimulus-Coupled Interaction of Tyrosine Hydroxylase with 14-3-3 proteins**

Chiharu Itagaki, Toshiaki Isobe, Masato Taoka, Tohru Natsume, Noriko Nomura, Tsuneyoshi Horigome, Saburo Omata, Hiroshi Ichinose, Toshiharu Nagatsu, Lloyd A. Greene, and Tohru Ichimura

Vol. 38 No. 47 : 15673-15680, 1999

**Age-associated changes in the dopamine synthesis as determined by GTP cyclohydrolase I inhibitor in the brain of senescence-accelerated mouse-prone inbred strains (SAMP8)**

Nobuyuki Karasawa, Yoko Yamawaki, Toshiharu Nagatsu, Toshio Kawase, Katsuhiko Nishiyama, Kazuko Watanabe, Minoru Onozuka, Ikuko Nagatsu

Neuroscience Research. 35: 31-36, 1999

**Nicotine withdrawal up-regulates *c-Fos* transcription in pheochromocytoma cells**

Naohiro Ichino, Hiroshi Ishiguro, Kouji Yamada, Kazuhiro Nishii, Hirohide Sawada, Toshiharu Nagatsu

Neuroscience Research. 35: 63-69, 1999

**Dopa-producing astrocytes generated by adenoviral transduction of human tyrosine hydroxylase gene: in vitro study and transplantaton to hemiparkinsonian model rats**

Hideki Hida, Mitsuhiro Hashimoto, Ichiro Fujimoto, Keiya Nakajima, Yasunobu Shimano, Toshiharu Nagatsu, Katsuhiko Mikoshiba, Hitoo Nishino

Neuroscience Research. 35: 101-112

- Nagatsu, T., Ichinose, H. (1999). Molecular biology of catecholamine-related enzymes in relation to Parkinson's disease. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 19, 57-66.
- Kobayashi, K., Nagatsu, T. (1999). Mice lacking tyrosine hydroxylase gene and transcomplementation with the human genome : ongoing prospects for human gene therapy. *Biogenic Amines*, 15, 1-20.
- Ichinose, H., Ohye, T., Suzuki, T., Sumi-Ichinose, C., Nomura, T., Hagino, Y., and Nagatsu, T. (1999). Molecular cloning of the human *Nurr1* gene -- Characterization of the human gene and cDNAs. *Gene*, 230, 233-239.
- Nagatsu, T., Ichinose, H. (1999). Regulation of pteridine-requiring enzymes by the cofactor tetrahydrobiopterin. *Mol. Neurobiol.*, 19, 79-96.
- Nagatsu, T., Ichinose, H., Mogi, M., and Togari, A. (1999). Neopterin and cytokines in hereditary dystonia and Parkinson's disease. *Pteridines*, 10, 5-13.
- Sawada, M., Suzumura, A., Hosoya, H., Marunouchi, T., and Nagatsu, T. (1999). IL-10 inhibits both production of cytokines and expression of cytokine receptors in microglia. *J. Neurochem.*, 72, 1466-1471.
- Nakashima, A., Mori, K., Suzuki, T., Nagatsu T., and Ota, A. (1999). Dopamine inhibition of human tyrosine hydroxylase type 1 is controlled by the specific portion in the N-terminus of the enzyme. *J. Neurochem.*, 72, 2145-2153.
- Mogi, M., Togari, A., Tanaka, K., Ogawa, N., Ichinose, H., and Nagatsu, T. (1999). Increase in level of tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  in 6-hydroxydopamine-lesioned striatum in rats without influence of systemic L-DOPA on the TNF- $\alpha$  induction. *Neurosci. Lett.*, 268, 101-104.
- Mogi, M., Togari, A., Kondo, T., Mizuno, Y., Komure, O., Kuno, S., Ichinose, H., and Nagatsu, T. (1999). Brain derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.*, 270, 45-48.
- Nagatsu, I., Ikemoto, K., Kitahama, K., Nishimura, A., Ichinose, H., and Nagatsu, T. (1999). Specific localization of the guanosine triphosphate (GTP) cyclohydrolase-I immunolocalization in the human brain. *J. Neural Transm.*, 106, 607-617.
- Nagatsu, T., Mogi, M., Ichinose, H., Togari, A., and Riederer, P. (1999). Cytokines in Parkinson's disease. *Neuroscience News*, 2, 88-90.
- Inagaki, H., Ohye, T., Suzuki, T., Segawa, M., Nomura, Y., Nagatsu, T., and Ichinose H. (1999). Decrease in GTP cyclohydrolase I gene expression caused by inactivation of one allele in hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 260, 747-751.
- Suzuki, T., Ohye, T., Inagaki, H., Nagatsu, T., and Ichinose, H. (1999). Characterization of wild-type and mutants of recombinant human GTP cyclohydrolase I: Relationship to etiology of dopa-responsive dystonia. *J. Neurochem.*, 73, 2510-2516.
- Ichinose, H., Suzuki, T., Inagaki, H., Ohye, T., and Nagatsu, T. (1999). Molecular genetics of dopa-responsive dystonia. *Biol. Chem.*, 380, 1355-1364.
- Mogi, M., Togari, A., Kondo, T., Mizuno, Y., Komure, O., Kuno, S., Ichinose, H., Nagatsu, T. (2000) Caspase activities and tumor necrosis factor receptor R1 (p55) level are elevated in the substantia nigra from Parkinsonian brain. *J. Neural Transm.*, 107, 335-341.

- Shimura H, Hattori N, Kubo S, Yoshikawa M, Kitada T, Matsumine H, Asakawa S, Minoshima S, Yamamura Y, Shimizu N, Mizuno Y: Immunohistochemical and subcellular localization of Parkin: †Absence of protein in AR-JP Patients. *Ann Neurol* 45:668-672, 1999
- Wang M, Hattori N, Matsumine H, Kobayashi T, Yoshino H, Morioka A, Kitada T, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Mizuno Y: Polymorphism in the parkin gene among sporadic Parkinson's disease. *Ann Neurol* 45:655-658, 1999
- Shimura-Miura H, Hattori N, Kang D, Miyako K, Nakabeppu Y, Mizuno Y: Increased 8-oxo-dGTPase in the mitochondria of substantia nigral neurons in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 46: 920-924, 1999
- Miwa H, Yoritaka A, Mizuno Y. Hemifacial spasm in Parkinson's disease. *Mov Disord* 14: 358-359, 1999
- Mizuno Y, Hattori N, Mori H. Genetics of Parkinson's disease. *Biomed & Pharmacother* 53: 109-116, 1999
- Kitada T, Asakawa S, Matsumine H, Hattori N, Minoshima S, Shimizu N, Mizuno Y. Positional cloning of the autosomal recessive juvenile parkinsonism (AR-JP) gene and its diversity in deletion mutations. *Parkinsonism & Related Disord* 5: 163-168, 1999
- Ogawa N: Immunophilin ligands: Possible neuroprotective agents. *NeuroScience News* (1999) 2: 28-34.
- Kondo Y, Asanuma M, Iwata E, Kondo F, Miyazaki I and Ogawa N: Early treatment with cyclosporin A ameliorates the reduction of muscarinic acetylcholine receptors in gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia. *Neurochem Res* (1999) 24: 9-13.
- Iwata-Ichikawa E, Kondo Y, Miyazaki I, Asanuma M and Ogawa N: Glial cells protect neuronal cells against oxidative stress via transcriptional up-regulation of the glutathione system. *J Neurochem* (1999) 72: 2334-2344.
- Gómez-Vargas, M., Asanuma M, Nishibayashi-Asanuma S, Iwata E, and Ogawa N: Nitric oxide modulated muscarinic acetylcholine receptor binding in the cerebral cortex of gerbils. *Neurochem Res* (1999) 24: 629-635.
- Kondo Y, Nakanishi T, Takigawa M and Ogawa N: Immunohistochemical localization of connective tissue growth factor in the rat central nervous system. *Brain Res* (1999) 834: 146-151.
- Iida M, Miyazaki I, Tanaka K, Kabuto H, Iwata-Ichikawa E and Ogawa N: Dopamine D2 receptor-mediated antioxidant and neuro-protective effects of ropinirole, a dopamine agonist. *Brain Res* (1999) 838: 51-59.
- Miyazaki I, Iwata-Ichikawa E, Iida M and Ogawa N: Bifemelane hydrochloride protects against cytotoxicity of hydrogen peroxide on cultured rat neuroblastoma cell line. *Neurochem Res* (1999) 24: 857-860.

Mogi M, Togari A, Kondo T, Mizuno Y, Komure O, Kuno S, Ichinose H, Nagatsu T: Brain-derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. Neuroscience Letters 270: 45-48, 1999

Yasuda M, Kawamata T, Komure O, Kuno S, D'Souza I, Poorkaj P, Kawai J, Tanimukai S, Yamamoto Y, Hasegawa H, Sasahara M, Hazama F, Schellenberg GD, Tanaka C: A mutation in the microtubule-associated protein tau in pallido-nigro-luysian degeneration. Neurology 53: 864-868, 1999

Nishimura M, Mizuta I, Mizuta E, Yamazaki S, Ohta M, Kuno S: Influence of interleukin-1 $\beta$  gene polymorphisms on age-at-onset of sporadic Parkinson's disease. Neuroscience Letters, 2000, in press

Araki I, Kuno S: Assessment of voiding dysfunction in Parkinson's disease by the international prostate symptom score. J Neurol Neurosurg Psychiatry 68, 2000, in press.