

1999.00386A

厚生科学研究費補助金

(脳科学研究事業)

「ミトコンドリア機能障害によるアルツハイマー病の
発症機序と予測に関する研究」

— 痴呆疾患の克服に関する研究 —

日本医科大学 老人病研究所

太田成男

1997～1999

* 研究組織

主任研究者 : 太田成男 (日本医科大学 老人病研究所 教授)

分担研究者 : 三木哲郎 (愛媛大学 教授)

松田貞幸 (鹿屋体育大学 教授)

太田 茂 (広島大学 教授)

川上 潔 (自治医科大学 助教授)

* 研究経費

平成 9年度 50,000千円

平成10年度 27,000千円

平成11年度 26,000千円

計 103,000千円

厚生大臣 丹羽雄哉 殿

フリガナ オオタ シゲオ
 研究者 氏 名 太田 成男
 (所属施設 日本医科大学老人病研究所)

平成 11 年度厚生科学研究費補助金 (脳科学 研究事業) に係る研究事業を完了したので次のとおり報告する。

研究課題名 (課題番号) : 痴呆疾患の克服に関する研究 (ミトコンドリア機能障害によるアルツハイマー病の発症機序と予測に関する研究) (H10-脳-013)

国庫補助金精算所要額 : 金 26,000,000 円也

1. 厚生科学研究費補助金総括研究報告書概要版及びこれを入力したフロッピーディスク (別添1のとおり)
2. 厚生科学研究費補助金総括研究報告書 (別添2のとおり)
3. 厚生科学研究費補助金分担研究報告書 (別添3のとおり)
4. 研究成果の刊行に関する一覧表

| 刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名、巻号数、論文名) | 刊行年月日 | 刊行書店名 | 執筆者氏名 |
|---|--------------------|-------|--------------------------------------|
| Distribution of Geriatric Disease-Related genotypes in the National Institute for Longevity Sciences, Longitudinal Study of Aging(NILS-LSA). J.Epidemiol. | 2000. in press. | | Shimokata, H., and Ohta, S.et al. |
| Modification Defect at Anticodon Wobble Nucleotide of Mitochondrial tRNAs ^{LEU} (UUT) with Pathogenic mutations of Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Episodes. J.Biol.Chem. 275(6):4251-4257. | 2000. | | Yasukawa, T. and Ohta, S.et al. |
| Functional integrity of mitochondrial genomes in human platelets and autopsied brain tissues from elderly patients with Alzheimer's disease. Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 96:2099-2103. | 1999. | | Ito, S. and Ohta, S.et al. |

ミトコンドリア機能障害によるアルツハイマー病の発症機序と予測に関する研究

主任研究者 太田 成男 (日本医科大学老人病研究所 教授)

研究要旨 ミトコンドリアのエネルギー代謝のクエン酸回路の酵素であるDLST (dihydrolipoamide succinyltransferase) の遺伝子多型がアルツハイマー病と相関関係がある原因を分子レベルで確定した。DLST遺伝子ではイントロン7から転写するmRNAがあり、小さなDLST (sDLST)がミトコンドリアの表面にあるミトコンドリアの生合成に関与していることが示唆された。また、新しい危険因子として、ミトコンドリアのアルデヒド脱水素酵素の酵素欠損がアルツハイマー病の危険因子であり、APOE4と相乗作用をすることを明らかにした。

分担研究者

三木 哲郎 (愛媛大学医学部 教授)
松田 貞幸 (鹿屋体育大学 教授)
太田 茂 (広島大学医学部 教授)

A. 研究目的

アルツハイマー病の危険因子を発見し、発症初期診断法に貢献すること、危険因子からアルツハイマー病の防御策を講じるようにすることが本研究の目的である。

ミトコンドリア酵素であるクエン酸回路の α -ケトグルタル酸脱水素酵素複合体の構成酵素であるDLST遺伝子の多型解析によりDLST遺伝子型とアルツハイマー病には相関関係があることを見だし、DLSTがアルツハイマー病の危険因子であることを示唆した。しかし、DLSTがアルツハイマー病にどのように関与しているかについての分子機構は全く分かっていない。最も重要な点は、遺伝子型を分類する遺伝子多型によって遺伝子産物のアミノ酸が変化しないということである。分子機構を確立することで、危険因子であることの根拠を確立することが目的である。

昨年、DLSTの解析を進めているときに、DLST遺伝子のイントロン7からmRNAが合成されていることを見出した。また、このmRNAはアルツハイマー病患者大脳皮質では対照脳に比べ、極端に少ないことが示され、アルツハイマー病との関連が明らかとなった。もし、イントロン7から転写されるmRNAの遺伝子産物(sDLST)がもつ機能を証明し、さらにsDLSTのアルツハイマー病発症への関与が証明できればDLST遺伝子が関与するアルツハイマー病発症の分子機構の一端が解明できると考えられた。そこで、老化などの諸要素や、DLSTの遺伝子型に依存してsDLSTタンパク質の合成量が低下すると、ミトコンドリアタンパク質のミトコンドリアへの局在効率が低下し、ミトコンドリアの機能が低下することによって、アルツハイマー病になる危険性が高まるという作業仮説を想定し、その実証を目指した。

また、新規危険因子の探索をした。ミトコンドリアのアルデヒド脱水素酵素に注目した。

B. 研究方法

sDLSTが存在するための証明

(1)抗体の作成

ヒト、ラットのsDLSTをそれぞれglutathione S-transferase (GST)との融合タンパク質として大腸菌内で発現させるためのプラスミドを大腸菌に導入し、大量発現させ、抗原とした。ラットのsDLSTとGSTとの融合タンパク質は、ポリクローナル抗体を得るために、ウサギに免疫した。一方、ヒトの

sDLSTとGSTとの融合タンパク質は、モノクローナル抗体を得るためにマウスに免疫した。

新規危険因子の探索にはアルツハイマー病患者と対照の人のALDH2の多型をPCRと制限酵素の切断の有無で判断し、統計処理を行った。患者あるいは、家族および対照人には遺伝子研究に使う旨を知らせ、許可を得た。動物は、日本医科大学規定に基づき実験を行った。

C. 結果

(1)sDLSTの局在

ラットの肝臓のミトコンドリア画分、ヒト由来のHeLa細胞のミトコンドリア画分に、抗sDLST抗体に反応する30kDaのバンドが、DLSTに相当する55kDaのバンドとともに検出された。さらに、細胞内で実際に存在している分子種は、このメチオニンから翻訳された分子種そのものではなく、翻訳後、プロセッシングを受けたものであることが明らかになった。

また、分離したミトコンドリアを蛋白分解酵素で処理し、消化される様子から、ミトコンドリア外膜に存在することが示唆された。

(2)sDLSTの分子機能の解明

sDLST抗体のミトコンドリア蛋白輸送阻害実験を行った。DLSTはミトコンドリアのマトリクス(内部)に存在するのに対し、sDLSTはミトコンドリア外膜に存在することを予想し、ミトコンドリア蛋白前駆体のミトコンドリアへの輸送に関与することを想定した。そこで、ミトコンドリアタンパク質のミトコンドリアへの取り込みが抗sDLST抗体によって阻害されるかどうかの実験を行なった。

ミトコンドリアマトリクスのタンパク質であるアドレノドキシ前駆体(pAd)をウサギ網状赤血球ライセートを用いたin vitroタンパク質合成系で、[35S]メチオニン存在下、合成した。合成したpAdをラットの肝臓から単離したミトコンドリア画分と抗体存在下で反応させた後、ミトコンドリアを回収してSDS-PAGEにかけ、35Sを含むバンドを検出した。pAdはミトコンドリアにとりこまれると、マトリクスでプロセッシングを受けて分子量が小さな分子種となり、また、ミトコンドリア外から加えたプロテアーゼに対して耐性を獲得する。さらに、この放射能を定量することによって、取り込み効率を計算することもできる。この方法で、ラットのsDLSTに対する抗体のミトコンドリアへの取り込みに対する阻害効果を調べた。ミトコンドリア10 μ gに対して、精製したラットsDLSTに対する抗体40 μ gを共存させて取り込み実験を行なったところ、免疫前の血清から精製した抗体を用いた場合に比べ、pAdの取り込み効率が、約20%低下した。ミトコンドリア

外膜に存在し、ミトコンドリアタンパク質前駆体の受容体と考えられているTom20の場合では、抗Tom20抗体300ng/ミトコンドリア20 μ gの条件で、約60%の取り込み効率の低下が起こることが報告されている。

(3)sDLSTの存在様式

このように、ミトコンドリアタンパク質の取り込みに関与しているTom20に比べ、sDLSTに対する抗体での阻害効果が低い原因を探るために、sDLSTがミトコンドリアの外側に露出しているかを調べた。ラット肝ミトコンドリアをプロテアーゼであるproteinase Kの濃度を変えて処理すると、sDLSTと考えられる30kDaのバンドは、100 μ g/mlでもほとんど消化されなかった。このとき、大部分がミトコンドリアの外側に露出しているTom20では、10 μ g/mlでほぼ完全に消化され、Tom20同様、ミトコンドリア外膜タンパク質であるが、外側にはほとんど露出していないと考えられているTom40は、100 μ g/mlでも消化されなかった。この実験から、sDLSTはTom40同様、ミトコンドリアの外側にはほとんど露出していないことを明らかとなった。抗体によるミトコンドリアタンパク質の取り込み阻害効果がTom20の場合に比べて低いのは、sDLSTがミトコンドリアの外側にほとんど露出していないためであると考えられる。

ALDH2の酵素欠損型の人にはアルツハイマー病患者に有意に多く、アルツハイマー病の危険因子であることが推定された。また、APOE4と相乗効果でアルツハイマー病発症頻度をたかめ、発症年齢を速めることも明らかとなった。

D. 考察

以上の結果は、DLST遺伝子がbifunctional遺伝子であることを示すものである。すなわち、DLST遺伝子産物はミトコンドリア内に移行し、エネルギー代謝の中心的役割を果たす、クエン酸回路の律速酵素として機能する。一方、イントロン7から転写開始するmRNAにコードされるsDLSTはミトコンドリア表面に存在し、ミトコンドリアの生合成に関与する。このような例はなく、重要な発見である。

次には神経細胞死やアルツハイマー病発症と関わるかという課題を明らかにすることである。そのためには、sDLST欠損神経由来培養細胞あるいはsDLST欠損マウスを作成し、細胞死への関与を分子レベルで解明する予定である。 β -アミロイドの凝集沈着とのかかわり合いも明らかにすべき重要な課題である。

ALDH2が新しい危険因子であり、APOE4と相乗効果を示すことをあきらかにした。この遺伝子多型は北アジア人に特有のものなので、日本で研究する意義は大きい。

E. 結論

特定のDLST遺伝子型がアルツハイマー病発症率を増加させる原因として、イントロン7から転写されるmRNAの遺伝子産物sDLSTがミトコンドリア表面に存在することを証明し、さらにミトコンドリアの生合成に関与する因子であることを示唆した。これは、DLST遺伝子はbifunctional遺伝子であることを示した結果で全く新しい概念を提示した重要な結果である。さらに、ミトコンドリア形成自体がアルツハイマー病発症率を増加させることを示唆する重要な結果であり、今後の研究の方向性が明らかになった。

また、ALDH2がアルツハイマー病の危険因子であることを見い出した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1)Yasukawa, T.1), Suzuki, T.1), Ishii, N., Ueda, T.1), Ohta, S., Watanabe, K.1) (1)東大院工学系) : Defect in Modification at the Anticodon Wobble Nucleotide of Mitochondrial tRNA^{Lys} with the MERRF Encephalomyopathy Pathogenic Mutation. FEBS Letters. 467:175-178. 2000.
- 2)Nanbu-Wakao, R.1), Asoh, S., Nishimaki, K., Tanaka, R. and Ohta, S. (1)ヘリックス研究所) : Bacterial Cell death induced by human pro-apoptotic Bax is blocked by an RNaseE mutant that functions in an antioxidant pathway. genes to cells. 2000. in press.
- 3)Shimokata, H.1), Yamada, Y.2), Nakagawa, M.3), Okubo, R-i.3), Saido, T.4), Funakoshi, A.5), Miyasaka, K.6), Ohta, S., Tsujimoto, G.7), Tanaka M.8), Ando F.1), Niino N.1) (1)国立長寿医療研究センター・疫学、.2)国立長寿医療研究センター・老年医学、3)鹿児島大学・医学部・三内、4)理科学研究所・脳科学神経蛋白質制御、5)国立九州ガンセンター・消化器、6)都立老人研、7)国立小児病院・小児医療研究センター、8)岐阜県立国際バイオ研・遺伝子治療) : Distribution of Geriatric Disease-Related genotypes in the National Institute for Longevity Sciences, Longitudinal Study of Aging(NILS-LISA). J.Epidemiol. 2000. in press
- 4)Tanabe, T.1), Takata, I.2,3), Kuwabara, T.2,3), Warashina, M.2,3), Kawasaki, H.2), Tani, K.1), Ohta S., Asano, S.1), Taira, K.2,4) (1)東大・医科研、2)工技院・融合研、3)筑波大・応生、4)東大院工学系) : Maxizymes, Novel Allosterically Controllable Ribozymes, Can Be Designed to Cleave Various Substrates. Biomacromolecules. 2000. in press.
- 5)Yasukawa, T.1), Suzuki, T.1), Suzuki, Ta.1), Ueda, T.1), Ohta, S., Watanabe, K.1). (1)東大院工学系) : Modification Defect at Anticodon Wobble Nucleotide of Mitochondrial tRNAs LEU(UUT) with Pathogenic mutations of mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like Episodes. J.Biol.Chem. 2000. in press.
- 6)Kamino, K., Wijsman, E.1), Anderson, L.1), Nemens, E.1), Yamagata, H.2), Ohta, S., Bird, T.D.1), Schellenberg, G.D.1) (1)Geriatric Research, Education and Clinical Center, 2)愛媛大学・医・老人科) : A family with late-onset Alzheimer's disease carrying Val91Met mutation of apolipoprotein A-II gene suggests altered plasma lipid metabolism in Alzheimer's disease. In: Alzheimer's disease & related disorders,(edited by K. Iqbal, D.F.Swaab, B. Winblad and H.M. Wisniewski.) John Wiley & Sons Ltd. 501-506. 1999.
- 7)Ito, S.1), Ohta, S., Nishimaki, K., Kagawa, Y.2), Miyazaki, R.1), Kuno, S-Y.1), Komatsuzaki, Y.3), Mizusawa, H.4), Hayashi, J-I.1) (1)筑波大・生物、2)女子栄養大、3)初石病院、4)東京医科歯科大・神経内科) : Functional integrity of mitochondrial genomes in human platelets and autopsied brain tissues from elderly patients with Alzheimer's disease. Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 96; 2099-2103. 1999.
- 8)Asoh, S., Mori, T.1), Ohta, S. (1)埼玉医大) : Practicable recovery of plasmids carrying cDNA encoding

anti-apoptotic factors that had been introduced by particle bombardment into 5-week old rat hippocampal slices. *Neuroscience Letters*. 272; 62-66. 1999.

- 1) 太田成男：ミトコンドリア脳筋症. 細胞工学. 2000. 印刷中
 - 2) 太田成男：老化におけるミトコンドリアの関与. 「臨床フリーラジカル研究会編-老化とフリーラジカル」2000. 印刷中
 - 3) 紙野晃人、太田成男：ミトコンドリア障害「脳の科学」(2000年度増刊号「アルツハイマー病のすべて」アルツハイマー病の発症機序. 星和書店. 2000. 印刷中
 - 4) 太田成男、安川武宏1)、上田卓也1) (1) 東京大学大学院新領域)：ミトコンドリア病とtRNA. 「RNA研究の最前線-RNAと蛋白質の複合機能」(志村令郎、渡辺公綱 編)2000. シュプリンガー・フェアラーク東京. 2000. 印刷中
 - 5) 紙野晃人、太田成男：ミトコンドリア機能障害をめぐって. (Functional alteration of Mitochondria Enzymes in Alzheimer's) 「脳と神経」特集-アルツハイマー病の発症要因-. 52 (2) 医学書院. 2000. 印刷中
 - 6) 麻生定光、太田成男：ミトコンドリアと細胞死. -神経細胞死をめぐって(細胞の生と死)- 「Clinical Neuroscience」18 (4) 中外医学社. 2000. 印刷中
 - 7) 紙野晃人、太田成男：アルツハイマー病とミトコンドリア機能. 特集企画「アルツハイマー病をめぐり最近の諸問題」-アルツハイマー病の形態学・生化学・遺伝子学的研究のシンポジウム7)アルツハイマー病とミトコンドリア機能. -「カレントセラピー」18 (4) ライフメディコ社. 2000. 印刷中
 - 8) 太田成男：老人性痴呆. 「多因子性疾患の遺伝解析と臨床応用」日本医大誌. 66 (5) 21-24. 1999.
 - 9) 太田成男、石橋佳朋：アポトーシスの分子機構. 「脳と発達」日本小児神経学会、診断と治療社. 31 (2) :122-128. 1999.
 - 11) 太田成男：アポトーシスにおけるミトコンドリアの関与. 「臓器別アポトーシス証明法」(大槻勝紀、小路武彦、渡辺慶一編集)南江堂. 44 (4) 395-403. 1999.
 - 12) 太田成男：Alzheimer病とミトコンドリア. 「Annual Review神経」中外医学社. 237-243. 1999.
 - 13) 太田成男：アポトーシスにおけるミトコンドリアの新たな役割. 「アポトーシスの最前線と疾患」最新医学社. : 54 (4) 853-860. 1999.
 - 14) 麻生定光、太田成男：ミトコンドリア障害とアポトーシス. 「アポトーシスと疾患-中枢神経疾患編」(水野美邦編集)、医薬ジャーナル. (印刷中) 1999.
- 追加) 太田成男：ミトコンドリアの分子生物学. 「臨床遺伝子医学ガイドランス-分子医学へのアプローチ」(小澤敬也 編)南山堂. 75-79. 2000.

2. 学会発表

- 1) Asho, S., Ohtu, T., Ohta, S. : Anti-apoptotic factor Rat

Bcl-xL mutanto generated by site-Directed Mutagenesis Gains a Novel Function of Inducing IL-3-Independent Cell Growth. *American Society of Cell Biology*, 1999.12-15. (Washington DC).

(国際シンポジウム)

- 1) Kamino, K., Yamamoto, H., Yoneda, H., Miki, T., Imagawa, M., Ohta, S. : International Symposium on Dementia. Association screening of Alzheimer's disease with chromosome 12 candidate genes, 1999.9. (Kobe).
- 2) Ohta S. : Defect in the modification at anticodon wobble bases of mitochondrial tRNAs with pathogenic mutations of mitochondrial encephalomyopathy. *Mitochondrial Encephalomyopathy - from Pathophysiology to Treatment. (Mitochondrial DNA defect)*, 1999.9. (Tokyo).

- 3) Ohta, S., Yasukawa, T.1), Suzuki, T.1), Ueda T.1), Watanabe, K.1) (1) Univ. Tokyo) : Defect in the modification at anticodon wobble base of mutant mitochondrial tRNAs in MELAS mitochondrial encephalopathy. 4th European Meeting on Mitochondrial Pathology. (Molecular aetiology of mtDNA disease), 1999.9. Queens College Cambridge, (UK).

- 4) Ohta, S., Kamino, K., Nagasaka, K. : Deficiency of mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH2) modifies the risk for late-onset Alzheimer's disease in the Japanese population. (Keystone Symposium Meeting details) *Mitochondrial Dysfunction in Pathogenesis*. 2000.1. Santa Fe, (New Mexico).

(シンポジウム)

- 1) 太田成男：老人性痴呆. 「多因子性疾患の遺伝解析と臨床応用」日本医科大学医学会. 第9回公開シンポジウム. 1999.6.5

- 2) Kamino, K., Yamamoto, H., Yoneda, H., Miki, T., Imagawa, M., Ohta, S. : International Symposium on Dementia. Association screening of Alzheimer's disease with chromosome 12 candidate genes. 1999.9. 神戸.

- 3) 紙野晃人、太田成男：ミトコンドリアと老化の生理. 第42回日本神経科学会シンポジウム1. 「神経老化の最前線」. 1999.9. 広島.

- 4) 安川武宏1)、鈴木勉1)、上田卓也2)、渡辺公綱1)、太田成男 (1) 東大院・工学系、2) 東大院・新領域先端生命)：ミトコンドリア病変異tRNAにおけるアンチコドン修飾塩基の欠損. 第72回日本生化学学会年会、1999.10. 横浜.

(ワークショップ)

- 1) 麻生定光、大津敬、太田成男：Bcl-xLのpore-formingドメインのflexibilityを改変したスパー抗アポトーシス因子Bcl-xLFNKは生長因子非依存的増殖誘導能を獲得した. 第22回日本分子生物学会年会. 1999.12. 福岡.

(一般演題)

- 1) 紙野晃人、太田成男、三木哲郎1)、山本秀樹2)、畑中康子3)、満田憲昭3)、荻原俊男3)、米田博4)、今川正樹5) (1) 愛媛大学医学部老人科、2) 大阪市立弘済院附属病院内科、3) 大阪大学・医・老人科、4) 大阪医科大学老人科、5) 尼崎県立尼崎病院・精神科)：アルツハイマー型老年痴呆におけるAPOE、

LRP、 $\alpha 2$ マクログロブリン遺伝子の関連解析. 第96回日本内科学会講演会, 1999.3. 東京.

2)安川武宏1)、鈴木勉1)、上田卓也2)、渡辺公綱1)、太田成男 (1)東大.院.工.化学生命工学、2)東大.院.新領域.先端生命) : ミトコンドリア病変異tRNAにおけるアンチコドン修飾塩基の欠損. 第1回日本RNA学会年会, 1999.8. 京大会館.

3)紙野晃人、山本秀樹1)、三木哲郎2)、太田成男 (1)大阪市立弘済院附属病院内科、2)愛媛大学医学部老人科) : アルツハイマー病におけるAPOA-II遺伝子変異の検討.第41回日本老年医学会学術集会. 1999.6 京都.

4)浦上克哉1)、紙野晃人、涌谷陽介1)、和田健二1)、古和久典1)、足立芳樹1)、太田成男、中島健二1) (1)鳥取大・医・神経内) : アルツハイマー病におけるアポリポA-II遺伝子変異の解析.第41回日本老年医学会学術集会, 1999.6.京都.

5)紙野晃人、太田成男 : ミトコンドリアと老化の生理.第42回日本神経科学会シンポジウム1.「神経老化の最前線」. 1999.9.広島.

6)紙野晃人、三木哲郎1)、今川正樹2)、山本秀樹3)、米田博4)、植木彰5)、太田成男 (1)愛媛大学・医・老人、2)兵庫県立尼崎病院・精神科、3)大阪市立弘済病院附属・内科、4)大阪医科大・老人、5)自治医大・大宮医療センター) : アルツハイマー病におけるミトコンドリア酵素遺伝子多型との関連. 第18回日本痴呆学会, 1999.10.熊本.

7)田中理絵、石橋佳朋、太田成男 : BH3,BH1領域を欠くBax (112-192) は単独でアポトーシスを誘導する.第72回日本生化学学会年会.1999.10.横浜.

8)西槇貴代美、麻生定光、表弘志1)、二井将光1)、太田成男 (1)大阪大.産研) : 大腸菌ATP合成酵素変異株による、アポトーシス誘導因子Bax蛋白の大腸菌致死作用の抑制効果. 第72回日本生化学学会年会.1999.10.横浜.

9)中野恭子1)、水島千春2)、田邊真理子1)、中河志朗3)、太田成男、松田貞幸4) (1)鹿児島女短・生化、2)鹿児島大・理、3)鹿児島大・医・解剖1、4)鹿屋体大・生物) : 骨格筋細胞膜の25K-DLSTはDLST遺伝子のイントロン7から転写される. 第72回日本生化学学会大会1999.10.6-9. 横浜.

10)伊藤清香1)、太田成男、香川靖雄2)、水澤英洋3)、林純一1) (1)筑波大・生物、2)女子栄養大、3)東医歯大・医・神経内科) : アルツハイマー病患者ミトコンドリアDNAの培養細胞への移植と解析.第72回日本生化学学会年会. 1999.10. 横浜.

11)金森 崇、西川周一1)、SHIN,Injae.2)、SCHULTZ,Peter G.3)、遠藤斗志也1) (1)名大院・理、2)Yonsei大・化学、3)Scripps研・化学) : 部位特異的光架橋法によるタンパク質のミトコンドリア外膜透過機構の解析. 第72回日本生化学学会大会1999.10.6-9.横浜.

12)江崎雅俊1)、金森 崇、西川周一1)、遠藤斗志也1) (1)名大院・理) : Cytochrome b2 のミトコンドリア外膜透過を駆動する2つのメカニズム. 第72回日本生化学学会大会1999.10.6-9.横浜.

13)山本 林1)、金森 崇、江崎雅俊1)、西川周一1)、遠藤斗志也1) (1)名大院・理) : Cytochrome b2 のミトコンドリア膜間部への仕分けに関与する因子の検索. 第72回日本生化学学会大会1999.10.6-9.横浜.

14)紙野晃人、永坂恵子、太田成男 : ミトコンドリア型アルデヒド脱水素酵素欠損はアルツハイマー型老年痴呆の発症リスクを高める. 第22回日本分子生物学会年会.1999.12.福岡.

15)田中理絵、石橋佳朋、太田成男 : N端側欠如Baxによるcaspase-3に依存しないアポトーシス. 第22回日本分子生物学会年会.1999.12.福岡.

16)西槇貴代美、紙野晃人、金森崇、麻生定光、石橋佳朋、松田貞幸1)、中野恭子2)、井原康夫3)、山口晴保4)、太田成男 (1)鹿屋体育大.生物、2)鹿児島女短大.生化、3)東大医基礎神経、4)群馬大医保健) : イントロン7から開始するDLSTmRNAはアルツハイマー病患者脳に少ない. 第22回日本分子生物学会年会, 1999.12.福岡.

17)石橋佳朋、麻生定光、太田成男 : ミトコンドリアDNA決失により発現誘導される新規遺伝子ILmtD. 第22回日本分子生物学会年会, 1999.12.福岡.

18)日野成実1)、安川武宏1.2)、鈴木勉2)、太田成男、渡辺公綱1.2)、上田卓也1.2) (1)東大・院新領域・先端生命科学、2)同・院工・化学生命工) : 乳児致死性心筋症由来点変異をもつミトコンドリアtRNAIleの異常な不安定性の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 1999.12.福岡.

19)三上俊夫1)、石橋佳朋、太田成男 (1)日本医大・スポーツ科学) : 持久的運動トレーニングは生体のストレス耐性の獲得に有効か否か-HSP70の発現からの検討-. 第22回日本分子生物学会年会, 1999.12.福岡.

20)中野恭子1)、水島千春2)、田邊真理子1)、中河志朗3)、太田成男、Rafamantanantsoa.Hoby.Hasina., 松田貞幸4) (1)鹿児島女短大・生化、2)鹿児島大・理、3)同・医1解剖、4)鹿屋体育大・生物) : イントロン7から転写される骨格筋細胞膜の25K-DLSTの解析. 第22回日本分子生物学会年会, 1999.12.福岡.

G. 知的所有権の取得状況
なし

孤発性アルツハイマー病の責任遺伝子の同定

分担研究者 三木哲郎 愛媛大学医学部老年医学 教授

研究要旨

晩期発症型孤発性アルツハイマー病(LSAD)の原因遺伝子を同定するために、疾患感受性遺伝子を遺伝子多型の頻度から発見する。アルツハイマー病脳に出現する老人斑の構成成分の一つである α -synuclein(SNCA)遺伝子のと、近年、動脈硬化との関連が報告されているDCP1遺伝子多型にも焦点をあて検討した。LSADの遺伝因子として、SNCA遺伝子そのものか、あるいは近傍の遺伝子が、女性患者の発症に関与している結果を得た

A. 研究目的

多因子病である晩期発症型孤発性アルツハイマー病(late onset sporadic Alzheimer's disease: LSAD)の原因遺伝子の同定を目的として研究を進めている。LSADは、複数の環境因子に複数の遺伝因子が、その発症に関与する多因子病である。これまでに、意識を失うような頭部外傷とアポリポ蛋白E(APOE)遺伝子のサブタイプ4(APOE4)が、発症要因として広く認められている。また、家族性アルツハイマー病(FAD)の原因遺伝子として、アミロイド前駆体蛋白質(APP)、プレセニリン(PSEN1, PSEN2)などが報告されている。現在、さらに、その遺伝子の蛋白機能を解析する研究がすすめられている。ADの大部分は、孤発性晩期発症型であり、日本では、患者数は、50万人以上と予想されている。遺伝因子として、APOE4以外に、VLDL受容体(VLDLR)、LDL受容体関連蛋白(LRP1)、 α 1-antichymotrypsin(AACT)など、多数報告されている。しかし、APOE4以外に、原因として多くの施設で、一致した見解をえられている因子はほとんどない。今回、LSADを対象として、老人斑の構成要素の1つの α -synuclein(SNCA)遺伝子と、動脈硬化などの循環器疾患の危険因子として報告されているアンジオテンシン変換酵素(DCP1)遺伝子について検討をおこなった。

B.研究方法

NINCDS-ADRDAの診断基準に基づく孤発性晩期発症型AD患者および孤発性早期発症型AD患者である。健常者は年齢と性を一致させた健常老年者集団であり、症例—対照研究(case-control study)を行い、対立遺伝子頻度をカイ二乗検定を用いて比較検討した。SNCA遺伝子多型：全ゲノムにわたって、PCR-DDGE法にて変異、多型のスクリーニングを行い、イントロン3に2塩基(CT)挿入(I)/欠失(D)多型を見いだした。日本人一般集団においてIアレルは0.4、Dアレルは0.6の遺伝子頻度であると確認し、AD患者180名と健常老年者143名で、PCR-RFLPを用いて遺伝子頻度を検出し比較検討した。DCP1遺伝子：AD患者125名、健常老年者128名においてPCRにより遺伝子多型のタイピングを行い遺伝子頻度を検出し、比較検討した。

C.研究結果

SNCA遺伝子：AD群、健常老年者群とも遺伝子頻度の分布はHardy-Weinbergの法則に則っていた。ApoE4の有無でも有意差はみとめなかった。性別にみると、女性健常老年者にII型が有意に多かった($p<0.01$)ため、Dアレルを危険因子としてとらえ、APOE4およびSNCAのDアレルの有無で4つのカテゴリーにわけ、男女別に比較して、オッズ比をとると、APOE4は男女ともオッズ比の上昇がみられたが、男性ではDアレルの有無でオッズ比は変わらなかった。女性では、APOE4(+)かつD(-)のオッズ比は、5.4(95%信頼区間1.8-16.0)で、APOE4(+)かつD(+)のオッズ比は14.8(95%信頼区間5.4-40.8)と高値であった。SNCA遺伝子あるいは近傍の遺伝子が女性特異的な危険因子となると考えられた。

DCP1遺伝子：孤発性晩期発症型AD患者において遺伝子型IIの頻度(0.46)対立遺伝子Iの頻度(69%)は健常老年者の頻度(0.37, 0.57)に比べ、有意に高かった($p=0.009$, $p=0.013$)。DCP1遺伝子多型は危険因子として関連していることが示唆された。

D.考察

SNCA遺伝子は、7エクソンからなり、第4染色体に存在する。翻訳されると140アミノ酸からなり、神経の可塑性に関係するとされており、シナプス前終末に存在し、主に脳に特異性をもち嗅球、海馬、線条体、梨状皮質に多く存在する。AD患者の脳にみられる老人斑、血管アミロイドにある少数派蛋白で、パーキンソン病のLewy小体の主要構成物である。これまで、ADにおいて本遺伝子の遺伝子変異は発見されておらず、プロモーター領域にある繰り返し多型との関連性について議論されている。今回、イントロン3に新しい遺伝子多型を発見し、LSAD患者の女性にかぎって、欠失多型がリスクになると考えられた。このことは、他集団においても確認しなくては行けない。今後、確認できれば、SNCA遺伝子、あるいはその近傍のゲノムについて検討をすすめる必要がある。

DCP1遺伝子の多型は、イントロン16に存在する287bpのAlu配列の有無により決定される。DCP1遺伝子多型と関連のある疾患として、虚血性心疾患、高血圧、心肥大、肥大型心筋症、拡張型心筋症、IgA腎症、糖尿病患者の腎障害、頸動脈エコーによる動脈硬化の評価などとの関連について賛否両論が

出されている。痴呆との関連も検討されてきており、今後、さらに追試される必要がある。

E. 結論

LSADの原因は、多因子であるが、SNCA遺伝子そのものか、あるいは近傍の遺伝子が、女性患者の発症に関与している結果を得た。今回の結果をもとに、今後、さらに候補遺伝子を同定していく予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表 無し
2. 学会発表

1) Matsubara M, Yamagata H and Miki T.: Association study of late-onset Alzheimer disease and ACE, PON1, PON2. International Dementia Symposium 99. Sep 11-13, 1999, Kobe, Japan.

2) 松原美穂、山縣英久、小原克彦、三木哲郎、近藤郁子: アルツハイマー病における α -synuclein遺伝子多型の分布第96回日本内科学会講演会 1999.3.30-4.1.東京

脳におけるアルデヒド誘導体由来化合物の分析

分担研究者 太田 茂 広島大学医学部総合薬学科 教授

研究要旨

神経変性疾患と関連のある生体内アルデヒド由来の化合物群に焦点を当て、それらの合成、神経毒性を評価した。また神経変性疾患時に脳内蓄積が起こる可能性を検討するために、脳内検出するための基礎実験を行った。

A.研究目的

神経変性疾患の発症時に脳内に蓄積する可能性のある物質群としてアルデヒド類が挙げられる。これらの物質はいずれも反応性が高く、生体内成分と化学反応を起こし種々の化合物へと変換されると考えられる。そこで生体内物質として神経伝達に重要な役割を有しているフェネチルアミン誘導体を想定し、アルデヒド類との反応生成物(TIQ誘導体)を神経活動に重篤な変化を与える物質群としてとらえ、それらを神経疾患時の脳内から検出し、神経毒性を評価することを目的とする。

B.研究方法

上記の条件を満たすTIQ誘導体を分子設計し、化学合成を行い、それらの物質の神経毒性をマウス等の実験動物を用いて評価する。特に毒性の高い物質に関してはガスクロマトー質量分析計を用いて脳内から検出する。検出された化合物は脳内在性神経毒であるので、それらの化合物が神経変性疾患の発症物質となり得るか否かを検討する。なおこの際動物実験に関しては本学規定の動物実験指針に準じて行っており、倫理的問題はないと考えている。

C.研究結果

現在まで14種類のTIQ誘導体を化学合成した。そのうち10種の化合物がマウス中脳神経細胞培養系において神経毒性を示した。特に直鎖アルキル基を有するTIQ誘導体は強い神経毒性を示した。次にこれらの化合物を神経疾患のヒト死後脳から検出をする目的で、脳内超微量分析の方法論を確立した。その結果各化合物とも0.1ng/g脳の感度で検出可能であることが明らかとなった。

D.考察

既に我々はフェネチルアミン誘導体と生体内アルデヒドとが脳内でTIQ誘導体となることを明らかとした。またパーキンソン病患者死後脳から検出することに成功し、パーキンソン病患者で増加することも明らかとした。これら化合物はマウスにおいてパーキンソニズムを発症することも確認され、TIQ誘導体のうち数種はパーキンソン病発症物質の候補として提唱されている。

上記の結果を広く神経変性疾患にも適応すべく本実

験ではパーキンソン病発症物質候補とは異なるタイプのTIQ誘導体に関して検討を行った。その中で長鎖アルキル基の置換したTIQ誘導体はパーキンソン病と異なる神経毒性を有する事が明らかとなった。この長鎖アルキル基は生体内において長鎖アルデヒド由来であると考えられ、これらのアルデヒドと神経変性疾患の関係が今後重要になってくると思われる。

E.結論

神経変性疾患の発症時に蓄積するアルデヒド由来のTIQ誘導体と想定される数種の化合物を取り上げ、神経毒評価を行い、長鎖アルキル基の置換したTIQ誘導体において神経毒性が強いことを明らかにした。また脳内検出を行う準備を行った。各種の神経変性疾患発症時ににおいてこれらの化合物が存在するか否かに関しては今回検討できなかったが、今後もし患者脳から検出されれば本化合物群の重要性が更に明らかになると考えられる。

F.研究発表

T. Yamakawa, S. Ohta. : Biosynthesis of a parkinsonism-preventing substance, 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, is inhibited by parkinsonism-inducing compounds in rat brain mitochondrial fraction. *Neurosci. Lett.* 259, 157-160 (1999)

H. Kawai, Y. Kotake, Y. Makino, M. Hirobe, S. Ohta. : Dopaminergic activity of endogenous 1BnTIQ derivatives. *Neurochem. Res.* 24, 127 (1999)

T. Yamakawa, S. Ohta.: Biosynthesis of 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, an endogenous parkinsonism-preventing substance in the brain. *Neurochem. Res.* 24, 129.(1999)

T. Yamakawa, Y. Kotake, M. Fujitani, H. Shintani, Y. Makino, S. Ohta. :Regional distribution of parkinsonism-preventing endogenous tetrahydroisoquinoline derivatives and an endogenous parkinsonism-preventing substance-synthesizing enzyme in monkey brain. *Neurosci. Lett.* 276, 68-70. (1999)

K. Igarashi, Y. Sugiyama, F. Kasuya, K. Saiki, T. Yamakawa, S. Ohta. : Determination of 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline in mouse brain after treatment with haloperidol by gas chromatography-selected ion monitoring. *J. Chromatogr. B* 731, 53-58 (1999)

H. Kawai, S. Ohta. : Metabolite research of neurotoxic 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives and in vitro study of their activity. *Neurochem. Res.* 24, 955 (1999)

Y. Kotake, M. Sakurai, I. Kanazawa, S. Ohta. : Neurotoxicity of an endogenous amine in the brain, 1BnTIQ in organotypic slice co-culture of ventral mesencephalon and striatum. *Neurochem. Res.* 24, 955-956. (1999)

S. Yoshihara, K. Harada, S. Ohta. : Metabolism of 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in Perfused Rat Liver: Involvement of Hepatic Aldehyde Oxidase as a Detoxification Enzyme. *Drug Metab. Dispos.* in press. (2000)

ミトコンドリア機能障害によるアルツハイマー病の発症機序と予測に関する研究
S.DLSTとアルツハイマー病

分担研究者 松田貞幸 鹿屋体育大学 教授

研究要旨

ジヒドロリポアミドサクシニル転移酵素 (DLST) の (ac/ac) 遺伝子型はアルツハイマー病発症の原因の一つであること、②DLST遺伝子には選択的スプライシング、あるいはイントロン中にプロモーターが出現することによって低分子量のDLST(S.DLST)が出現することを明らかにした。このS.DLSTによるアルツハイマー病の発症の原因である可能性が強い作業仮説を提出した。

A. 研究目的

最近、私たちは、ミトコンドリア酵素である α -ケトグルタル酸脱水素酵素複合体の構成酵素であるジヒドロリポアミド・サクシニル転移酵素 (DLST) 遺伝子の特定の遺伝子型が極めて有意にアルツハイマー病患者に見いだされることを発見した。これはアルツハイマー病患者251名と健常者452名を調べることによって判明したものである。この事実はDLSTの特定の遺伝子型は他の遺伝子型と異なり、何らかの理由によりアルツハイマー病を発症させるものと理解される。そこで本研究の目的はDLST遺伝子の特定の遺伝子型がどのようにしてアルツハイマー病を発症させるのかを明らかにすることである。

B. 研究方法

ラット及びヒト脳、骨格筋を用いてタンパク化学的及び免疫組織染色を行うことによって分子量の低いDLST (S・DLST) の存在をより詳細に明らかにする。更に、Cap site cDNAライブラリーよりこれらのS・DLSTをコードするcDNAを単離し、その存在を証明する。

C. 研究結果

DLST遺伝子には6種類の遺伝子型があるが、このうちの (ac/ac) 型と名付けた遺伝子型のみがアルツハイマー病患者群に高い頻度で見い出される。(ac/ac) 型と言えども、他のDLST遺伝子型とアミノ酸の変化は見られなかった。従って、選択的スプライシング異常か、イントロン中にプロモーターが出現するか、遺伝子発現に関わる変化が発症の原因であると考えられる。その可能性の一つである選択的スプライシング異常に注目してアルツハイマー病発症とDLST遺伝子との関わりを明らかにしようとするものである。結果を要約すると以下の如くである。

1. 脳、骨格筋に分子量の低いDLST (Small・DLST S-DLST) が存在する。
2. 脳においては、S・DLSTの細胞内局在は不明であるが、骨格筋においては、S.DLSTは細胞膜や小胞体に存在し、加齢とともに増加する。
3. 脳、骨格筋よりDLSTのイントロンから転写されるmRNAに対応するcDNAを単離した。

4. このmRNAの存在は、RNase protection 解析、primer extension 解析によって確認された。このmRNAはS.DLSTをコードするのに十分な情報を保持していた。

5. S. DLSTをコードするmRNAはcap構造を持たず、その5' 非翻訳配列は、internal ribosome entryによる転写開始機構による転写条件を満たす配列を保持していることが示唆された。

D. 考察

以上の結果から脳、骨格筋に存在するS. DLSTをコードするmRNAは、DLST遺伝子のイントロン7から転写されることが明らかとなった、このmRNAには、cap構造はなく、internal ribosome entry 機構によって、転写される可能性が示唆された。これらの研究のなかで、大変興味あることは、一ケの遺伝子の中で、二種類のmRNAが転写され、全く機能の異なる二種類のタンパク質が合成されるということである。我々の知る範囲内では、真核生物においてはこのようなことは知られていない。また、このイントロン7から転写されるmRNAが、遺伝子型 (ac/ac) の特徴づけになり、このタイプの人が、S. DLSTの蓄積をもたらし、アルツハイマー病の発症の原因になる可能性が高いと考えられた。今後は、このイントロン7の近辺には (ac/) 型に特異的な塩基置換があるので、他の遺伝子型とで遺伝子発現量を比較する必要がある。また、S. DLST-mRNAの *in vitro* タンパク質合成と、*in situ* hybridization解析を行うことによって、S. DLST-mRNAの細胞室内存在と確認することも必要である。

E. 結論

脳、骨格筋に分子量の低いDLST (S・DLST) が存在し、脳においてはS・DLSTは細胞内局在は不明であるが、骨格筋においてはS・DLSTは細胞膜や小胞体に存在し、加齢とともに増加する。これらのS・DLSTはDLST遺伝子のイントロン7から転写されることが判明した。このことがDLSTによるアルツハイマー病の特定の遺伝子型 (ac/ac) をイントロン7から転写されるmRNAの発現に関連づけることが可能となり、その発現量の違いが発症の原因である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakano K., Ohta S., Nishimaki K., Miki T., Matuda S.: Alzheimer's disease and DLST genotype. *Lancet*, 350, 1367-1368 (1997)
2. Matuda S., Kodama J., Goshi N., Takase C., Nakano K., Nakagawa S., Ohta S.: A Polypeptide Derived from Mitochondrial Dihydroliipoamide Succinyltransferase Is Located on the Plasma Membrane in Skeletal Muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 241, 151-156 (1997)

2. 学会発表

1. 中野恭子, 太田成男, 高瀬千義, 西槇貴代美, 麻生定光, 北村伸, 赫彰郎, 紙野晃人, 吉岩葵, 三木哲郎, 中河志郎, 松田貞幸 : 孤発型アルツハイマー病はジヒドロリポアミド・サクシニル転移酵素遺伝子の多型と有意に相関 (associate) する第20回日本分子生物学会年会 (1997)
2. Ohta S., Nakano K., Miki T., Matuda S.: Genetic association of Alzheimer's disease with the nuclear and mitochondrial genes encoding mitochondrial proteins COE International Symposium on Alzheimer's Disease (1998)
3. 高瀬千義, 中野恭子, 中河志郎, 太田成男, 松田貞幸 : 脳、骨格筋に分子量の小さいジヒドロリポアミド転移酵素が存在する。第71回日本生化学会 (1998)
4. 西槇貴代美, 紙野晃人, 金森崇, 麻生定光, 石橋佳朋, 松田貞幸, 中野恭子, 井原康夫, 山口晴保, 太田成男 : イントロン7から開始するDLST mRNA はアルツハイマー病患者脳に少ない。第22回日本分子生物学会年会. (1999)
5. 中野恭子, 水島千春, 田邊真理子, 中河志郎, 太田成男, Rafamantanantsoa.Hoby.Hasina., 松田貞幸 : イントロン7から転写される骨格筋細胞膜の25K-DLSTの解析。第22回日本分子生物学会年会. (1999)
6. 中野恭子, 水島千春, 田邊真理子, 中河志郎, 太田成男, 松田貞幸 : 骨格筋細胞膜の25K-DLSTはDLST遺伝子のイントロン7から転写される。第72回日本生化学会大会. (1999)

(著書)

- 1) Yasukawa, T., Suzuki, T., Ishii, N., Ueda, T., Ohta, S. and Watanabe, K. : Defect in Modification at the Anticodon Wobble Nucleotide of Mitochondrial tRNA^{Lys} with the MERRF Encephalomyopathy Pathogenic Mutation. *FEBS Letters*. 467:175-178. 2000.
- 2) Nanbu-Wakao, R., Asoh, S., Nishimaki, K., Tanaka, R. and Ohta, S. : Bacterial Cell death induced by human pro-apoptotic Bax is blocked by an RNaseE mutant that functions in an anti-oxidant pathway. *genes to cells*. 2000. in press.
- 3) Shimokata, H., Yamada, Y., Nakagawa, M., Okubo, R-i., Saido, T., Funakoshi, A., Miyasaka, K., Ohta, S., Tsujimoto, G., Tanaka M., Ando F., Niino N.: Distribution of Geriatric Disease-Related genotypes in the National Institute for Longevity Sciences, Longitudinal Study of Aging(NILS-LSA). *J.Epidemiol*. 2000. in press
- 4) Tanabe, T., Takata, I., Kuwabara, T., Warashina, M., Kawasaki, H., Tani, K., Ohta S., Asano, S., Taira, K. : Maxizymes, Novel Allosterically Controllable Ribozymes, Can Be Designed to Cleave Various Substrates. *Biomacromolecules*. 1(1):108-117.2000.
- 5) Yasukawa, T., Suzuki, T., Suzuki, Ta., Ueda, T., Ohta, S. and Watanabe, K. : Modification Defect at Anticodon Wobble Nucleotide of Mitochondrial tRNAs^{LEU}(UUT) with Pathogenic mutations of Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Episodes. *J.Biol.Chem*. 275(6):4251-4257. 2000.
- 6) Kamino, K., Wijsman, E., Anderson, L., Nemens, E., Yamagata, H., Ohta, S., Bird, T.D., Schellenberg, G.D : A family with late-onset Alzheimer's disease carrying Val91Met mutation of apolipoprotein A-II gene suggests altered plasma lipid metabolism in Alzheimer's disease. In: *Alzheimer's disease & related disorders*,(edited by K. Iqbal, D.F.Swaab, B.Winblad and H.M.Wisniewski.) John Wiley & Sons Ltd. 501-506. 1999.
- 7) Ito, S., Ohta, S., Nishimaki, K., Kagawa, Y., Miyazaki, R., Kuno, S-Y., Komatsuzaki, Y., Mizusawa, H. and Hayashi, J-I.: Functional integrity of mitochondrial genomes in human platelets and autopsied brain tissues from elderly patients with Alzheimer's disease. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*. 96:2099-2103. 1999.
- 8) Asoh, S., Mori, T., Ohta, S. : Practicable recovery of plasmids carrying cDNA encoding anti-apoptotic factors that had been introduced by particle bombardment into 5- week old rat hippocampal slices. *Neuroscience Letters*. 272: 62-66. 1999.
- 9) Okazaki, M., Ishibashi, Y., Asoh, S., Ohta, S. : Overexpressed mitochondrial Hinge protein, a cytochrome c binding protein accelerates apoptosis by enhancing the release of cytochrome c from mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 243(1):131-136.1998.
- 10) Asoh S, Nishimaki K, Nanbu-Wakao R, Ohta S: A trace amount of the human proapoptotic factor Bax induces bacterial death accompanied by damage of DNA. *J Biol Chem*. 273(18):11384-11391.1998.
- 11) Ishibashi, Y., Nishimaki, K., Asoh, S., Nanbu-Wakao, R., Yamada, T., Ohta, S. : Pore formation Domain of human pro-apoptotic Bax induces mammalian apoptosis as well as bacterial death without antagonizing anti-apoptotic factors. *Biochem Biophys Res Commun* 243(13):609-616. 1998.

- 12) Yasukawa, T., Suzuki, T., Ueda, T., Hayashi, J-I., Ohta, S. and Watanabe, K. : Stability of mitochondrial tRNA molecules with pathogenic point mutations. *Nucleic Acids Symposium Series* 39:257-258.1998.
- 13) Matuda, S., Kodama, J., Goshi, N., Takase, C., Nakano, K., Nakagawa, S, Ohta, S. : A polypeptide derived from mitochondrial dihydrolipoamide succinyltransferase is located on the plasma membrane in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 241:115-156 1997.
- 14) Grillot, D, A., Gonzalez-Garcia, M., Ekhterae, D., Duan, L., Inohara, N., Ohta, S., Seldin, M, F., Nunez, G. : Genomic organization, promoter region analysis, and chromosome localization of the mouse bcl-x gene. *J Immunol* . 158:4750-4757.1997.
- 15) Aritomi, M., Kunishima, N., Inohara, N., Ishibashi, Y., Ohta, S., Morikawa, K. : Crystal structure of rat Bcl-xL : Implication for the function of the Bcl-2 protein family. *J Biol Chem.* 272 : 27866-27892. 1997.
- 16) Asoh, S. and Ohta, S. : Bcl-2 Completely Blocks Fas-Mediated Apoptosis in mtDNA-Depleted HeLa Cells . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 237:659-662,1997
- 17) Suzuki Y., Shirato S, Taniguchi F, Ohara K, Nishimaki K, Ohta S. : Mutations in the TIGR gene in familial primary open-angle glaucoma in Japan. *Am J Hum Genet* 61:1202-1204. 1997.
- 18) Nakano, K., Ohta, S., Nishimaki, K., Miki, T., Matuda, S. : Alzheimer's disease and DLST genotype. *Lancet* 350 :1367-1368. 1997.
- 19) Namekata, K., Imagawa, M., Terashi A., Ohta S, Oyama F., Ihara Y. : Association of transferrin C2 allele with late-onset Alzheimer's-disease. *Hum Genet* 101:126-129. 1997.

【総説】

- 1) 太田成男 : ミトコンドリア脳筋症 (ミトコンドリア変異tRNAのWobbling異常) 細胞工学. 19 (4) : 596-604. 2000.
- 2) 太田成男 : 老化におけるミトコンドリアの関与. フリーラジカルの臨床. 14 : 51-54. 2000.
- 3) 紙野晃人、太田成男 : ミトコンドリア障害「脳の科学」(2000年度増刊号「アルツハイマー病のすべて」アルツハイマー病の発症機序. 星和書店. 2000. 印刷中
- 4) 太田成男、安川武宏1)、上田卓也1) (1) 東京大学大学院新領域) : ミトコンドリア病とtRNA. 「RNA研究の最前線-RNAと蛋白質の複合機能」(志村令郎、渡辺公綱 編) 2000. シュプリンガー・フェアラーク東京. 2000. 印刷中
- 5) 紙野晃人、太田成男 : ミトコンドリア機能障害をめぐって. (Functional alteration of Mitochondria Enzymes in Alzheimer's) 「脳と神経」特集-アルツハイマー病の発症要因-. 52 (3) : 193-200. 2000. 医学書院.

- 6)麻生定光、太田成男：ミトコンドリアと細胞死。－神経細胞死をめぐる（細胞の生と死）－「Clinical Neuroscience」18（4）：42-44. 2000. 中外医学社.
- 7)紙野晃人、太田成男：アルツハイマー病とミトコンドリア機能. 特集企画「アルツハイマー病をめぐる最近の諸問題」－アルツハイマー病の形態学・生化学・遺伝子学的研究のシンポ7) アルツハイマー病とミトコンドリア機能. －「カレントセラピー」18（4）：121-124. 2000. ライフメディコ社.
- 8)太田成男：ミトコンドリアの分子生物学. 「臨床遺伝子医学ガイダンス－分子医学へのアプローチ」（小澤敬也 編）南山堂. 75-79. 2000.
- 9)太田成男：アポトーシスにおけるミトコンドリアの関与. 「臓器別アポトーシス証明法」（大槻勝紀、小路武彦、渡辺慶一編集）南江堂. 44（4）：9-15. 2000.
- 10)太田 成男：老人性痴呆. 「多因子性疾患の遺伝解析と臨床応用」日本医大誌.66(5)：21-24. 1999.
- 11)太田成男、石橋佳朋：アポトーシスの分子機構. 「脳と発達」日本小児神経学会、診断と治療社. 31（2）：122-128. 1999.
- 12)太田成男：Alzheimer病とミトコンドリア. 「Annual Review神経」中外医学社. 237-243. 1999.
- 13)太田成男：アポトーシスにおけるミトコンドリアの新たな役割. 「アポトーシスの最前線と疾患」最新医学社. :54（4）：853-860.1999.
- 14)麻生定光、太田成男：ミトコンドリア障害とアポトーシス. 「アポトーシスと疾患－中枢神経疾患編」（水野美邦編集）、医薬ジャーナル.（印刷中）1999.
- 15) 有富正治, 太田成男：アポトーシス関連蛋白質の構造生物学－TNF関連、Fas関連、Bcl-2ファミリーおよびカスパーゼファミリー蛋白質の構造解析の現状. 「構造生物学のフロンティア－シグナル伝達とDNAトランスアクション」 「蛋白質核酸 酵素」増刊号, 共立出版 44（4）：395-403. 1999.
- 16)Ohta S : Pore-Forming Structure and Bifunction of the Pro-Apoptotic Factor, Bax.in` Apoptosis : its roles and mechanism(Yamada,T.&Hashimoto,T,eds. Business Center for Academic Societies Japan) 65-84. 1999.
- 17) 太田成男：Alzheimer病とミトコンドリア異常. Annual Review 「神経－変性疾患」（後藤文男, 高倉公朋, 木下真男, 柳澤信夫, 清水輝男編集）中外医学社. 237-243. 1998.

- 18) 麻生定光, 太田成男 : アポトーシスと癌治療. 医薬ジャーナル. 34 (12) : 93-104. 1998.
- 19) 太田成男 : ミトコンドリア病. 「臨床化学」 (ミトコンドリア特集) 27 : 180-190. 1998.
- 20) 太田成男 : 疾病とアポトーシス. 「図説 分子病態学」 (市ノ瀬白帝、鈴木宏治編集) 中外医学社. 53-56. 1998.
- 21) 麻生定光, 太田成男 : アポトーシスにおけるミトコンドリアの新しい役割. 神経精神薬理. 19 : 967-970. 1997.
- 22) 太田成男 : アポトーシスと関連疾患 シンポジウムのはじめに. (特集 : アポトーシスと関連疾患). 日本医科大学雑誌. 64 : 73-76. 1997.
- 23) 太田成男 : ミトコンドリア脳筋症、治療の展望. (第15回日本神経治療学会総会特集—シンポジウム ; 神経疾患の新しい治療と展望—) 神経治療学. 14 (6) : 555-561. 1997.

199900386A

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、ここから 4 ページ前から記載の（著書）ご参照ください。

