

運動ニューロン疾患の病態関連分子の同定と 治療法の開発

(H12-脳-010)

平成12年度厚生科学研究費補助金脳科学総合研究事業

研究報告書

平成13年 3 月

主任研究者 祖 父 江 元

(名古屋大学大学院医学研究科教授)

目 次

I. 総括研究報告書	----- 1
運動ニューロン疾患の病態関連分子の同定と治療法の開発 祖父江元	
II. 分担研究報告書	----- 4
1. 運動ニューロン疾患の病態関連分子の同定と治療法の開発 --- (4) 道勇 学	
2. I113T変異SOD1トランスジェニックマウスの作製および解析 --- (6) 中野亮一	
III. 研究成果刊行に関する一覧表	----- 8
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 10

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
総括研究報告書

運動ニューロン疾患の病態関連分子の同定と
治療法の開発

主任研究者 祖父江 元 名古屋大学医学部神経内科学講座教授

研究要旨

レーザービームを用いて運動ニューロンを単離してその発現遺伝子プロファイルを解析することで ALS を始めとする運動ニューロン疾患の新しい病態解明・新規治療法開発システムを構築することを今回検討した。cDNA マイクロアレイにて ALS 運動ニューロンと対照例との間で発現量に差がある遺伝子群を同定できた。また、家族性 ALS モデル動物である SOD1 トランスジェニックマウスを用いて、同様に運動ニューロンを単離し non-transgenic littermate との間で発現差のある遺伝子につき検討した。また家族性 ALS のモデルとして I113T SOD1 を発現するトランスジェニックマウスを作成した。これは慢性進行性の運動ニューロン変性を示し、良好なモデルと考えられた。今後はこれらシステムを用いて得た遺伝子情報をもとに、いわゆるゲノム創薬に繋がる ALS の新しい病態解明・新規治療法開発戦略が推進できると考える。

分担研究者

道勇 学 名古屋大学医学部神経内科学講座講師

中野 亮一 新潟大学医学部付属病院神経内科助手

A. 研究目的

運動ニューロン疾患には筋萎縮性側索硬化症 (ALS)をはじめとするいくつかの疾患が含まれるが、選択的運動ニューロン死が共通の最終の common pathway である。しかしこの運動ニューロン死の機序は現在のところ不明である。その病態形成には多くの因子が関与していると考えられるが、現在のところ病態解明の糸口さえ見出されていない。ヒトゲノムプロジェクトの進展によりヒトゲノムの塩基配列および発現遺伝子についての情報が解明されようとしているが、この成果をもとに疾病の病態解明および新規治療法を開発を志すものが「ゲノム創薬」である。我々はこの考えに基づき ALS を始めとする運動ニューロン疾患の病態解明・新規治療法開発戦略を以下のように考えている。レーザーマイクロダイセクション法を用いて、single cell の状態で細胞を集め、RNA 増幅法により発現遺伝子プロファイルを作成することが可能となってきた。さらにマイクロアレイ又はDNAチップを用いることにより、多数の遺伝子の発現を同時かつ包括的に、定量的に測定することが可能となってきた。神経組織は神経細胞、グリア細胞、上皮細胞など lineage の異なる細胞群が混在する heterogeneity の高い組織であり、疾患の病態もおそらくこれらの lineage によって大きく異なっていることが考

えられる。特に運動ニューロン疾患のように脊髄前角運動ニューロンが選択的に変性死に陥るような疾患では、脊髄を構成する細胞群に占める脊髄前角運動ニューロンの割合は極めて小さいために運動ニューロンを単離してその発現遺伝子プロファイルを解析することが病態解明に有効であると考えている。このシステムを用いて得た運動ニューロン疾患に関わる多数の遺伝子の情報を用いることにより、運動ニューロン疾患の病態解明・新規治療法開発しようと考えている。また孤発性を含めた ALS と病理学的な共通点も多い

ALS モデル動物である SOD1 トランスジェニックマウスを用いて、発症段階や病理像のより純粋で均一な組織を用いて精度の高い遺伝子発現プロファイルを検討することで、ヒトの運動ニューロン疾患についての理解がより深まるものと思われる。今後は発現遺伝子プロファイリングを用いて得られた多数の遺伝子に関する情報をもとに、培養神経細胞モデルや遺伝子改変マウスを用いたより詳細な病態の分子機序の検討を行い、ALS を初めとする運動ニューロン疾患の治療的インターベンションの可能性につき研究を行う。

B. 研究方法

1) ALS における運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析

ALS 6 例、対照 8 例の腰髄膨大部凍結組織を用いた。各々の凍結切片作成後、レーザーマイクロダイセクション法にて脊髄前角運動ニューロンを切り出した。50 個の脊髄前角運動ニューロンを 1 サンプルとし、RNA 抽出後 cDNA を作成し T7 RNA polymerase により増幅した。増幅後サンプルを蛍光標識後 cDNA マイクロアレイ(Clontech

社:Atlas Glass Human 1.0 Microarray)にメーカープロトコールに従いハイブリダイズ・洗浄後 GenePix 4000 (Axon Instruments 社)でスキャンし定量し遺伝子発現量の変化を検討した。cDNA の機能別分類は Clontech 社の分類に従った。

2)プロモーター領域を含むヒトゲノム SOD1 に Kunkel 法で遺伝子変異を導入し、EcoRI、BamHI で処理した遺伝子をそれぞれ BDF マウスの受精卵雄性前核にマイクロインジェクション法により注入し、それらの受精卵を仮親マウスの卵管に移入して TG マウスを作成した。得られたマウスは genomic Southern blot、RT-PCR、Western blot により解析し、ROTA-ROD を用いて行動解析を行った。病理学的解析にはマウスをエーテル麻酔下で tail cut、灌流固定を行い、蛋白抽出には頸椎脱臼にて苦痛を与えないように配慮した。

3)ALS モデルマウスにおける運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析

SOD1 遺伝子変異による家族性 ALS のモデルである変異 SOD1 トランスジェニックマウスを用いた。病理学的変化出現前、発症直前、発症直後、進行期に至る遺伝子発現の経時的変化を見るために、7wk、11wk、14wk、17wk の各々 SOD1 トランスジェニックマウスおよび non-transgenic littermate の腰髄前角運動ニューロンをレーザーマイクロダイセクション法にて切り出し、ヒト剖検組織の場合と同様に RNA を増幅し、サンプルを蛍光標識後 cDNA マイクロアレイ (Incyte 社: Microarray)を用いて遺伝子発現量の変化を検討した。

(倫理面への配慮)

名古屋大学医学部倫理委員会承認後、剖検組織の採取の際に御家族に十分なインフォームド・コンセントを施行し上記の研究を行った。

C. 研究結果

1)ALS における運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析

cDNA マイクロアレイによる発現遺伝子プロファイル解析において cDNA の機能別に分けて ALS 運動ニューロンと対照例の発現遺伝子を比較した。アポトーシス関連遺伝子群・カルシウム濃度制御関連遺伝子群においては ALS 運動ニューロンは対照例に比し全体的に発現量が多くなっているパターンを示した。サイトカイン・成長因子関連遺伝子群・転写因子関連遺伝子群では両者の発現パターンには大きな差がなかった。cDNA マイクロアレイにて ALS 運動ニューロンと対照例との間で発現量の大きな差が見られたアポトーシス関連遺伝子 No.1 とあまり差が見られなかったアポトーシス関連遺伝子 No.9 について定量 RT-PCR および

免疫染色でその mRNA および蛋白レベルでの発現量の検証をしたところ、いずれも cDNA マイクロアレイでのデータを裏付ける結果を得た。

2)I113T 変異を導入した TG マウスは 3 ライン得られ、その F1 マウスを用いた RT-PCR では脳、肝、腎いずれの臓器でも mRNA が発現していた。さらに Western blot により内在性マウス SOD1 の 1-3 倍の導入遺伝子産物の発現を確認した。表現型では、生後 12 ヶ月目より後肢に軽度の麻痺を生じ、徐々に進行した。ROTA-ROD では得られた全てのライン間で同胞の non-TG と TG では、12 ヶ月目から明らかに有意差 ($p < 0.005$) が認められ、月齢を経ることにその差は増大した。

病理では TG は 18 ヶ月齢から骨格筋の神経原性変化を認め、月齢を経ることに著明となった。脊髄では、前核細胞の変性・脱落を認め、一部空胞変性を認めた。坐骨神経では、マクロファージの浸潤を伴った編成と軸索の大小不同が顕著で、これらは一次運動ニューロンおよび二次運動ニューロンの変性を示唆する所見であった。

3) ALS モデルマウスにおける運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析

現在経時的変化に沿って各種遺伝子の発現変化につき検討を行っている。

D. 考察

運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析にて ALS 運動ニューロンは対照例比しアポトーシス関連遺伝子群・カルシウム濃度制御関連遺伝子群で発現量が多くなっている遺伝子を多く見たことは運動神経細胞死の機序を考える上で重要な結果である。これまでの病理学的検討では、ALS における運動ニューロン変性がアポトーシスであるか否かやどのような signaling pathway によって神経細胞死を生じるかについては明確な結論は出ておらず、これを明らかにすることが、ALS を初めとする運動ニューロン疾患の病態解明、さらには今後の根本的な治療法の開発・確立のために必須であると考えられる。また孤発性を含めた ALS と病理学的な共通点も多い ALS モデル動物である SOD1 トランスジェニックマウスを用いて、発症段階や病理像のより純粋で均一な組織を用いて精度の高い遺伝子発現プロファイルを検討することで、ヒトの運動ニューロン疾患についての理解がより深まるものと思われる。今後は発現遺伝子プロファイリングを用いて得られた多数の遺伝子に関する情報をもとに、培養神経細胞モデルや遺伝子改変マウスを用いたより詳細な病態の分子機序の検討を行い、ALS を初めとする運動ニューロン疾患の治療的インターベンションの可能性につき研究を行う。

E. 結論

レーザービームを用いて運動ニューロンを単離

してその発現遺伝子プロファイルを解析する研究をもとに、ALSを始めとする運動ニューロン疾患の新しい病態解明・新規治療法開発戦略が描けると期待できる。これをさらに発展させることでいわゆる「ゲノム創薬」に繋がっていくと考える。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・Adachi H, Sobue G, et al: Transgenic mice with an expanded CAG repeat controlled by the human AR promoter show polyglutamine nuclear inclusions and neuronal dysfunction without neuronal cell death. **Hum Mol Genet**, in press, 2001
- ・Niwa J, Ishigaki S, Doyu M, Suzuki T, Tanaka K, Sobue G: A novel centromeres RING-finger protein, Dorfin, mediates ubiquitin ligase activity. **Biochem Biophys Res Com**, in press, 2001
- ・Q Shanlou, Iwashita T, Furukawa T, Yamamoto M, Sobue G, Takahashi M: Differential effects of LAR on biochemical and biological activities of RET-MEN2A and RET-MEN2B mutant protein. **J Biol Chem**, in press
- ・Kobayashi Y, Kume A, Li M, Doyu M, Hata M, Ohtsuka K, Sobue G: Chaperones, Hsp70 and Hsp40, suppress aggregate formation and apoptosis in cultured neuronal cells expressing truncated androgen receptor protein with expanded polyglutamine tract. **J Biol Chem**, 275: 8772-8778, 2000
- ・McCampbell A, Taylor JP, Taye AA, Robitschek J, Li M, Walcott J, Merry D, Chai Y, Paulson H, Sobue G, Fischbeck KH: CREB-binding protein sequestration by expanded polyglutamine. **Hum Mol Genet**, 9: 2197-2202, 2000
- ・Watanabe H, Tanaka F, Doyu M, Riku S, Yoshida M, Hashizume Y, Sobue G: Differential somatic CAG repeat instability in variable brain cell lineage in dentatorubral pallidoluysian atrophy (DRPLA): a laser-captured microdissection (LCM)-based analysis. **Hum Genet**, 107: 452-457, 2000

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
1件
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

運動ニューロン疾患の病態関連分子の同定と
治療法の開発

分担研究者 道勇 学 名古屋大学医学部神経内科学講座講師

研究要旨

レーザービームを用いて運動ニューロンを単離してその発現遺伝子プロファイルを解析することで ALS を始めとする運動ニューロン疾患の新しい病態解明・新規治療法開発システムを構築することを今回検討した。cDNA マイクロアレイにて ALS 運動ニューロンと対照例との間で発現量に数倍程度の差がある遺伝子群を同定できた。また、家族性 ALS モデル動物である SOD1 トランスジェニックマウスを用いて、同様に運動ニューロンを単離し T7-RNA 増幅法を用いて増幅した mRNA をもとに、non-transgenic littermate との間で発現差のある遺伝子につき検討した。今後はこのシステムを用いて得た遺伝子情報をもとに、いわゆるゲノム創薬に繋がった ALS の新しい病態解明・新規治療法開発戦略が描けると考える。

A. 研究目的

運動ニューロン疾患の基本病態は、運動ニューロンの選択的変性死がである。しかしこの運動ニューロン死の機序には多くの因子が関与していると考えられているが、現在のところその詳細は不明である。ヒトゲノムプロジェクトの進展によりヒトゲノムの塩基配列および発現遺伝子についての情報が解明されようとしているが、この成果をもとに疾病の病態解明および新規治療法を開発を志すものが「ゲノム創薬」である。我々はこの考えに基づき筋萎縮性側索硬化症(ALS)を始めとする運動ニューロン疾患の病態解明・新規治療法開発のためレーザーマイクロダイセクション法を用いたマイクロアレイ又はDNAチップによる発現遺伝子解析が有効な戦略であると考えている。最新のテクノロジーの進歩によりレーザーマイクロダイセクション法により single cell の状態で細胞を集め、RNA増幅法により発現遺伝子プロファイルを作成することが可能となってきた。さらにマイクロアレイ又はDNAチップを用いることにより、多数の遺伝子の発現を同時かつ包括的に、定量的に測定することも可能となってきた。神経組織は神経細胞、グリア細胞、上皮細胞など lineage の異なる細胞群が混在する heterogeneity の高い組織であり、疾患の病態もおそらくこれらの lineage によって大きく異なっていることが考えられる。特に運動ニューロン疾患のように脊髄前角運動ニューロンが選択的に変性死に陥るような疾患では、脊髄を構成する細胞群に占める脊髄前角運動ニューロンの割合は極めて小さいために運動ニューロンを単離してその発現遺伝子プロファイルを解析することが病態解明に有効であると考えている。このシステムを用い

て得た運動ニューロン疾患に関わる多数の遺伝子の情報を用いることにより、運動ニューロン疾患の病態解明・新規治療法開発しようと考えている。今回の報告ではこのシステムの概要と試行についてまとめた。

B. 研究方法

1)ALSにおける運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析

ALS 6例、対照 8例の腰髄膨大部凍結組織を用いた。各々の凍結切片作成後、レーザーマイクロダイセクション法にて脊髄前角運動ニューロンを切り出した。50個の脊髄前角運動ニューロンを1サンプルとし、RNA抽出後 cDNA を作成し T7 RNA polymerase により増幅した。増幅後サンプルを蛍光標識後 cDNA マイクロアレイ(Clontech 社:Atlas Glass Human 1.0 Microarray)にメーカープロトコールに従いハイブリダイズ・洗浄後 GenePix 4000 (Axon Instruments 社)でスキャンし定量し遺伝子発現量の変化を検討した。cDNA の機能別分類は Clontech 社の分類に従った。

2)ALS モデルマウスにおける運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析

SOD1 遺伝子変異による家族性 ALS のモデルである変異 SOD1 トランスジェニックマウスを用いた。病理学的変化出現前、発症直前、発症直後、進行期に至る遺伝子発現の経時的変化を見るために、7wk, 11wk, 14wk, 17wk の各々 SOD1 トランスジェニックマウスおよび non-transgenic littermate の腰髄前角運動ニューロンをレーザーマイクロダイセクション法にて切り出し、ヒト剖検組織の場合と同様に RNA を増幅し、サンプル

を蛍光標識後 cDNA マイクロアレー (Incyte 社) を用いて遺伝子発現量の変化を検討した。

(倫理面への配慮)

名古屋大学医学部倫理委員会承認後、剖検組織の採取の際に御家族に十分なインフォームド・コンセントを施行し上記の研究を行った。

C. 研究結果

1) ALS における運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析

cDNA マイクロアレーによる発現遺伝子プロファイル解析において cDNA の機能別に分けて ALS 運動ニューロンと対照例の発現遺伝子を比較した。アポトーシス関連遺伝子群・カルシウム濃度制御関連遺伝子群においては ALS 運動ニューロンは対照例比し全体的に発現量が多くなっているパターンを示した。サイトカイン・成長因子関連遺伝子群・転写因子関連遺伝子群では両者の発現パターンには大きな差がなかった。cDNA マイクロアレーにて ALS 運動ニューロンと対照例との間で発現量の大きな差が見られたアポトーシス関連遺伝子 No.1 とあまり差が見られなかったアポトーシス関連遺伝子 No.9 について定量 RT-PCR および免疫染色でその mRNA および蛋白レベルでの発現量の検証をしたところ、いずれも cDNA マイクロアレーでのデータを裏付ける結果を得た。

2) ALS モデルマウスにおける運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析

現在経時的変化に沿って各種遺伝子の発現変化につき検討を行っている。

D. 考察

運動ニューロン発現遺伝子プロファイル解析にて ALS 運動ニューロンは対照例比しアポトーシス関連遺伝子群・カルシウム濃度制御関連遺伝子群で発現量が多くなっている遺伝子を多く見たことは運動神経細胞死の機序を考える上で重要な結果である。これまでの病理学的検討では、ALS における運動ニューロン変性がアポトーシスであるか否かやどのような signaling pathway によって神経細胞死を生じるかについては明確な結論は出ておらず、これを明らかにすることが、ALS を初めとする運動ニューロン疾患の病態解明、さらには今後の根本的な治療法の開発・確立のために必須であると考えられる。また孤発性を含めた ALS と病理学的な共通点も多い ALS モデル動物である SOD1 トランスジェニックマウスを用いて、発症段階や病理像のより純粋で均一な組織を用いて精度の高い遺伝子発現プロファイルを検討することで、ヒトの運動ニューロン疾患についての理解がより深まるものと思われる。今後は発現遺伝子プロファイリングを用いて得られた多数の遺伝子に関する情報をもとに、培養神経細胞モデルや遺伝子改変マウスを用いたより詳細な病態の分子機序

の検討を行い、ALS を初めとする運動ニューロン疾患の治療的インターベンションの可能性につき研究を行う。

E. 結論

レーザービームを用いて運動ニューロンを単離してその発現遺伝子プロファイルを解析する研究をもとに、ALS を初めとする運動ニューロン疾患の新しい病態解明・新規治療法開発戦略が描けると期待できる。これをさらに発展させることでいわゆる「ゲノム創薬」に繋がっていくと考える。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1) 論文発表

・Qiao S, Iwashita T, Furukawa T, Yamamoto M, Sobue G, Takahashi M: Differential effects of LAR on biochemical and biological activities of RET-MEN2A and RET-MEN2B mutant protein. *J Biol Chem*, in press

・Kobayashi Y, Kume A, Li M, Doyu M, Hata M, Ohtsuka K, Sobue G: Chaperones, Hsp70 and Hsp40, suppress aggregate formation and apoptosis in cultured neuronal cells expressing truncated androgen receptor protein with expanded polyglutamine tract. *J Biol Chem*, 275: 8772-8778, 2000

・McCampbell A, Taylor JP, Taye AA, Robitschek J, Li M, Walcott J, Merry D, Chai Y, Paulson H, Sobue G, Fischbeck KH: CREB-binding protein sequestration by expanded polyglutamine. *Hum Mol Genet*, 9: 2197-2202, 2000

・Watanabe H, Tanaka F, Doyu M, Riku S, Yoshida M, Hashizume Y, Sobue G: Differential somatic CAG repeat instability in variable brain cell lineage in dentatorubral pallidoluysian atrophy (DRPLA): a laser-captured microdissection (LCM)-based analysis. *Hum Genet*, 107: 452-457, 2000

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む.)

1. 特許取得

1件

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I113T 変異 SOD1 トランスジェニックマウスの作製および解析

分担研究者：中野 亮一 新潟大学医学部附属病院神経内科講師

共同研究者：菊川公紀²⁾、福島隆男¹⁾、小宅睦郎¹⁾、佐藤俊哉¹⁾、田中恵子¹⁾、
朴 月膳³⁾、林森太郎³⁾、山田光則³⁾、高橋 均³⁾、小出隆司⁴⁾、
犬塚 貴⁵⁾、辻 省次¹⁾

- 1) 新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野
- 2) 国立療養所西新潟中央病院神経内科
- 3) 新潟大学脳研究所病態神経科学部門神経病理学分野
- 4) 国立療養所犀潟病院神経内科
- 5) 岐阜大学医学部高齢医学講座

要 旨：変異 SOD1 による運動ニューロン変性のメカニズムを探り、治療法開発に役立てるために I113T 変異を導入した変異 SOD1 トランスジェニック(TG)マウスを作製した。このマウスは表現型では生後 12 ヶ月より両後肢に脱力を生じ徐々に進行する。ROTA-ROD を用いた運動機能の解析では生後 12 ヶ月齢から non-TG と TG 間で明らかな有意差($p < 0.005$)が認められ、月齢を経るごとにその差は増大した。病理では前角細胞の変性、脱落、坐骨神経の変性と筋線維の神経原性萎縮を認めた。本マウスは神経細胞の変性脱落前から運動麻痺と骨格筋の神経原性変化を認め、これは運動ニューロンの dysfunction を示唆する所見と考えた。また、本マウスは導入遺伝子の発現が生理的な蛋白のレベルに近く、病態の解明および治療研究にも有用であると思われた。

A. 目 的

すでに数種類の変異 SOD1 TG マウスが作成されているが、いずれの変異も実際のヒトの病理所見が報告されておらず、ヒトの病理との対比が十分になされていない。また、いずれの TG マウスも変異タンパクの発現量が極端に多く、それに起因すると思われる病理変化が加わっている可能性があり、生理的レベルの変異

蛋白量で発症する TG マウスを作成し、病態の解明および治療研究に役立てることを目的に研究を行った。

B. 方 法

プロモーター領域を含むヒトゲノム SOD1 に Kunkel 法で遺伝子変異を導入し、*EcoRI*、*BamHI* で処理した遺伝子をそれぞれ BDF1 マウスの受精卵雄性前核にマ

イクロインジェクション法により注入し、それらの受精卵を仮親マウスの卵管に移入して TG マウスを作製した。得られたマウスは、genomic Southern blot、RT-PCR、Western blot により解析し、ROTA-ROD を用いて行動解析を行った。病理学的解析にはマウスをエーテル麻酔下で tail cut、灌流固定を行い、蛋白抽出には頸椎脱臼にて苦痛を与えないよう配慮した。

C. 結果

I113T 変異を導入した TG マウスは、3 ライン得られ、その F1 マウスを用いた RT-PCR では脳、肝、腎いずれの臓器でも mRNA が発現していた。さらに Western blot により内在性マウス SOD1 の 1-3 倍の導入遺伝子産物の発現を確認した。表現型では、生後 12 ヶ月目より後肢に軽度の麻痺を生じ、徐々に進行した。ROTA-ROD では、得られたすべてのライン間で同胞の non-TG と TG では、12 ヶ月目から明らかに有意差($p < 0.005$)が認められ、月齢を経るごとにその差は増大した。

病理では、TG は 18 ヶ月齢から骨格筋の神経原性変化を認め、月齢を経るごとに著明となった。脊髄では、前角細胞の変性、脱落を認め、一部空胞変性を認めた。坐骨神経では、マクロファージの浸潤を伴った変性と軸索の大小不同が顕著で、これらは一次運動ニューロンおよび二次運動ニューロンの変性を示唆する所見であった。

D. 考察

本マウスは、神経細胞の変性が生じる前から症状および筋病変が認められ、こ

れらのことは運動ニューロンの dysfunction を示唆し、家族性 ALS の初期像を示している可能性を考えた。また、得られた TG マウスは変異蛋白の発現量がこれまでの報告例に比べて生理的なレベルに近く、表現型が得られる時期が 12 ヶ月目と中年期以後の発症であり、症状の進行も緩徐であった。これらのことから、今回作製したマウスは神経細胞の dysfunction の時期から神経細胞死に至るまでを観察することが可能であり、運動ニューロンの変性機構の解析や治療薬の薬効の評価により有用なマウスであると考えた。

(文献)

- 1) Gurney ME, et al: Science 264: 1772-1775, 1994.
- 2) Ripps ME et al: Proc Natl Acad Sci USA 92: 689-693, 1995.
- 3) Wong PC et al: Neuron 14: 1105-1116, 1995.
- 4) Bruijn LI et al: Neuron 18: 327-338, 1997.
- 5) Kikugawa K et al: Neurogenetics 1: 113-115, 1997.

研究成果の刊行に関する一覧

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
Transgenic mice with an expanded CAG repeat controlled by the human AR promoter show polyglutamine nuclear inclusions and neuronal dysfunction without neuronal cell death. Hum Mol Genet , in press	2001	Oxford University Press	Adachi H, Kume A, Li M, Nakagomi Y, Niwa H, Do J, Sang C, Kobayashi Y, <u>Doyu M</u> , <u>Sobue G</u>
A novel centromerel RING-finger protein, Dorfin, mediates ubiquitin ligase activity. Biochem Biophys Res Com , in press	2001	Academic Press	Niwa J, Ishigaki S, <u>Doyu M</u> , Suzuki T, Tanaka K, <u>Sobue G</u>
Painful alcoholic polyneuropathy with predominant small-fiber loss and normal thiamine status. Neurology , in press	2001	Lippincott-Raven	Koike H, Mori K, Misu K, Hattori N, Ito H, Hirayama M, <u>Sobue G</u>
Evidence of both inter- and intra-molecular cooperation for full catalytic activity of RET kinase. Cancer Res , in press	2001		Kato M, Iwashita T, Akhand AA, Kawamoto Y, Senga T, <u>Sobue G</u> , Yamamoto M, Hamaguchi M, Takahashi M, Nakashima I
Gene expression profile in Alzheimer's brain screened by molecular indexing. Mol Brain Res , 87: 1-11	2001	Elsevier Science	<u>Doyu M</u> , Sawada K, Mitsuma N, Niwa J, Yoshimoto M, Fujii Y, <u>Sobue G</u> , Kato K
Differential effects of LAR on biochemical and biological activities of RET-MEN2A and RET-MEN2B mutant protein. J Biol Chem , 276(12): 9460-9467	2001	Cadmus Professional Communication	Qiao S, Iwashita T, Furukawa T, Yamamoto M, <u>Sobue G</u> , Takahashi M
Immunoglobulin therapy for idiopathic chronic sensory ataxic neuropathy. Neurology , 54: 1008-1010	2000	Lippincott-Raven	Takeuchi H, Misu K, Hattori N, Nagamatsu M, <u>Sobue G</u>
Chaperones, Hsp70 and Hsp40, suppress aggregate formation and apoptosis in cultured neuronal cells expressing truncated androgen receptor protein with expanded polyglutamine tract. J Biol Chem , 275(12): 8772-8778	2000	Cadmus Professional Communication	Kobayashi Y, Kume A, Li M, <u>Doyu M</u> , Hata M, Ohtsuka K, <u>Sobue G</u>
Anticipation in early-but not late onset familial amyloid polyneuropathy (TTR Met 30) in Japan. Neurology , 55: 451-452	2000	Lippincott-Raven	Misu K, Hattori N, Ando Y, Ikeda S, <u>Sobue G</u>
Detection of triplet repeat expansion in the human genome by use of hybridization signal intensity. Analytical Biochem , 286: 59-66	2000	Academic Press	Sawada K, <u>Doyu M</u> , Tanaka F, <u>Sobue G</u> , Kato K
CREB-binding protein sequestration by expanded polyglutamine. Hum Mol Genet , 9: 2197-2202	2000	Oxford University Press	McC Campbell A, Taylor JP, Taye AA, Robitschek J, Li M, Walcott J, Merry D, Chai Y, Paulson H, <u>Sobue G</u> , Fischbeck KH
Differential somatic CAG repeat instability in variable brain cell lineage in dentatorubral pallidolusian atrophy (DRPLA): a laser-captured microdissection (LCM)-based analysis. Hum Genet , 107: 452-457	2000	Springer-Verlag	Watanabe H, Tanaka F, <u>Doyu M</u> , Riku S, Yoshida M, Hashizume Y, <u>Sobue G</u>

研究成果の刊行に関する一覧

Two novel genes, human neugrin and mouse m-neugrin, are upregulated with neuronal differentiation in neuroblastoma cells. Biochem Biophys Res Com , 279: 526-533	2000	Academic press	Ishigaki S, Niwa J, Yoshihara T, Mitsuma N, <u>Doyu M</u> , <u>Sobue G</u>
Mutations in the peripheral myelin protein zero and connexin 32 genes detected by non-isotopic RNase cleavage assay and their phenotype in Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease. Hum Mut , on line	2000	WILEY-LISS	Yoshihara T, Yamamoto M, <u>Doyu M</u> , Misu K, Hattori N, Hasegawa Y, Mokuno K, Mitsuma T, <u>Sobue G</u>
An axonal form of Charcot-Marie-Tooth disease showing distinctive features in association with mutations in the perihel myelin protein zero gene (Thr124Met or Asp75Val). J Neurol Neurosurg Psychiatry , 69: 806-811	2000	BMJ Publishing Group	Misu K, Yoshihara T, Shikama Y, Awaki E, Yamamoto M, Hattori N, Hirayama M, Takegami T, Nakashima K, <u>Sobue G</u>
Familial amyotrophic lateral sclerosis with onset in bulbar sign, benign clinical course, and Bunina bodies: a clinical, genetic, and pathological study of a Japanese family. Acta Neuropathol , 100: 603-607	2000	Springer-Verlag	Tsuchiya K, Shintani S, Nakabayashi H, Kikugawa K, <u>Nakano R</u> , Haga C, Nakano I, Ikeda K, Tsuji S
気の遠くなるような治療研究の積み重ね 難病と在宅ケア, 6(7): 7-10	2000		<u>中野 亮一</u> , 辻 省次
神経症候群 IV -その他の神経疾患を含めて-, 日本臨床, 29: 337-340,	2000	日本臨床社	<u>中野 亮一</u> , 田中 恵子
重症クリプトコッカス性髄膜炎 2例における培養で分離されない髄液真菌数の推移, Brain and Nerve , 52(8): 729-733	2000	医学書院	小澤 鉄太郎, 姉崎 利治, 小原 竜軌, 坂井 勇仁, <u>中野 亮一</u> , 磯田 昌岐, 高橋 俊昭, 新井 亜希, 小林 央, 遠藤 稔, 高野 弘基, 河内 泉, 豊島 靖子, 高橋 均, 相馬 芳明, 辻 省次

20000443

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。