

G. 知的所有権の取得状況

なし

CAG リピート病の細胞死モデル系の作成と抑制系の研究

貫名信行（理化学研究所 脳科学総合研究センター）

研究要旨

CAG リピート病における凝集体形成過程に関するモデル系として確立したハンチンチンエクソン1+GFP 融合タンパクの誘導的発現系に関して、ポリグルタミンの伸長に依存性に HSP40, 70 が結合することを確認し、またこれらの HSP が凝集抑制、細胞死抑制効果があることを示した。またこの系においてプロテアソーム-ミトコンドリア系が細胞死に関与していることを認めた。さらに *in vitro* における凝集形成を検討するためにミオグロビンにポリグルタミンを挿入した系を作成した。この構造解析から伸長したポリグルタミンは分子内、分子間の β シートを形成することがわかった。

A. 研究目的

我々はポリグルタミン病の細胞死のメカニズムを解析するために Neuro2a 細胞にポリグルタミンを誘導し、細胞死を引き起こす系を確立した。本研究ではこの細胞モデル系においてポリグルタミンの構造変化に細胞がどのように反応しているのかを解析し、細胞死に関与するカスケードを同定することをめざした。一方、伸長したポリグルタミンの構造変化にどのような特性があるのかを解析することを目的に新たに *in vitro* モデル系を作成した。

B. 研究方法

(1) エクダイソンによる伸長したポリグルタミン誘導細胞において可溶性ポリグルタミン融合蛋白(16Q, 60Q, 150Q)に結合する HSP について、融合蛋白を免疫沈降して、そのイムノプロットを HDJ1, HDJ2, HSP70, HSC70 ユビキチンの抗体によって染色した。さらにこれらのシャペロンを遺伝子導入することによって細胞死や凝集体抑制に対する影響を検討した。またプロテアソーム阻害剤を投与することによりユビキチン化されたポリグルタミンを含む断片の変化を検討し、プロテアソームの活性を可溶性分画と不溶性分画につい

て検討した。またこの系におけるミトコンドリアからのチトクローム C の遊離、Caspase 3, 9 の活性化を検討した。

(2) ポリグルタミン鎖を安定性の極めて高い蛋白質の一つであるマッコウクジラミオグロビンへ挿入し、ポリグルタミン鎖の構造およびポリグルタミン挿入に伴う蛋白質の構造について CD, IR, 常磁性 NMR をもちいて検討した。

C. 研究結果

(1) 異なるポリグルタミン鎖を発現した細胞からポリグルタミン融合蛋白を免疫沈降したところ 150Q を発現した細胞からの免疫沈降ではイムノプロットによって HDJ1, HDJ2, HSP70, HSC70 が結合していることが確認された。HDJ1 と HSC70 をこの細胞系に一過性発現したところ、凝集体抑制効果が認められた。さらに HDJ1, HSP70 と共発現したところ細胞死抑制効果も認められた。

さらに上記の免疫沈降においてそのイムノプロットをユビキチン染色したところ、ユビキチン化された 150Q が確認された。このようなユビキチン化されたポリグルタミン断片は 60Q, 16Q においてもプロテアソーム阻害剤を用いることによって長さ依存性に増加した。そこでこの細胞のプロ

テアソーム活性を検討したところ、可溶性分画のプロテアソーム活性はポリグルタミン発現後の時間とともに減少し、不溶性分画の活性は上昇した。またプロテアソームの基質である p53 の増加を認めた。さらにこの細胞においてミトコンドリアからのチトクローム C の遊離、ミトコンドリア膜電位の変化を確認し、caspase-3, -9 の活性化も認められたが、これらの現象がポリグルタミンを含まない細胞でプロテアソーム阻害剤を用いたときに認められることも確認した。

(2) ミオグロビンに 12Q, 28Q, 35Q, 50Q を挿入した融合蛋白を作成した。これらの融合蛋白はミオグロビンの安定性から純度の高い精製が可能であった。1C2 抗体によるイムノプロットを行ったところ 28Q, 35Q, 50Q を挿入した変異ミオグロビンが認識され、挿入ポリグルタミンが疾患関連の構造を取っていることが示唆された。CD, IR の検討結果は wild type との差スペクトルにおいてポリグルタミン伸長に伴うピークを確認できた。これらの結果からポリグルタミンの伸長に伴い分子内 β シート構造と分子間 β シート構造を取ることが示唆された。NMR による検討の結果はミオグロビンのコアの部分の構造には影響が少ないことが示された。

D. 考察

本研究によって我々の確立したポリグルタミン病の細胞モデル系についていくつかの発症機序に関連する事実が明らかになった。すなわち 1) 伸長したポリグルタミンの発現に対する細胞側の反応として HSP40/70 のシャペロン系が結合しているということ、またこのシャペロン系は凝集体形成抑制、細胞死抑制作用があること、2) この細胞においては異常伸張したポリグルタミン断片はユビキチン化されており、さらにプロテアソーム活性はポリグルタミンの増加とともに可溶性分画においては減少し、不溶性分画において増加し、さらにプロテアソームの基質である p53 の増加が認められ、この細胞系においてプロテアソームの

活性異常が細胞死に関与していることが示唆された。1) によって認められた伸長したポリグルタミンに結合するシャペロンの存在は、伸長したポリグルタミンが特異的な構造を取っていることを示しているが、この点はミオグロビンにポリグルタミンを挿入した系においてポリグルタミン部分が分子内 β シートを形成していることと直接対応している可能性がある。一方我々の検討では伸長したポリグルタミンを挿入することによりミオグロビンは部分的にアンフォールドした状態になると考えられるのでこのような状態を認識している可能性もある。

2) に関してはこのモデル細胞がプロテアソーム活性が低下していることを、またプロテアソーム活性が阻害された場合にこのモデル系と同じ状態を引き起こすことからポリグルタミン病の病態の新たな側面を示唆するものとして興味深い。ポリグルタミン鎖は β 構造を取り、この硬い構造はプロテアソーム系で処理されるアンフォールドした状態とは反するものである。このような構造上の特性がプロテアソームがポリグルタミン凝集体に集積はしても処理できない状態とし、さらにプロテアソーム系の不溶性分画へのシフトを生ずることにより、可溶性分画でのプロテアソーム活性の低下を引き起こし、その後の細胞死のカスケードを引き起こす可能性を考えている。

E. 結論

ポリグルタミン病の細胞モデル系の解析によって、シャペロン系の凝集体形成、細胞死に対する影響などを検討することができた。一方でこの系にプロテアソーム活性異常による細胞障害という新たな細胞死カスケードの可能性を確認した。また *in vitro* の系の確立は構造解析に有用であることを示すと同時に、今後の凝集体形成抑制実験に有用であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Wang, G-H., Sawai, N., Kotliarova, S., Kanazawa, I., Nukina, N. Ataxin-3, the MJD1 gene product, interacts with the two human homologs of yeast DNA repair protein RAD23, HHR23A and HHR23B. *Hum. Mol. Genet.* 9, 1795-1803 (2000).

Jana, N-R., Tanaka, M., Wang, G-H., Nukina, N. Polyglutamine length-dependent interaction of Hsp40 and Hsp70 family chaperones with truncated N-terminal huntingtin: their role in suppression of aggregation and cellular toxicity. *Hum. Mol. Genet.* 9, 2009-2018 (2000).

Nagao, Y., Ishiguro, H., Nukina, N. DMSO and glycerol reduce bacterial death induced by expression of truncated N-terminal huntingtin with expanded polyglutamine tracts. *Biochim Biophys Acta* 1502, 247-256 (2000).

Uchida, Y., Ito, S., Nukina, N. Sandwich ELSA for the measurement of Apo-E4 levels in serum and the estimation of the allelic status of Apo-E4 isoforms. *J. Clin. Lab. Anal.* 14, 260-264 (2000).

Iwata, A., Miura, S., Kanazawa, I., Sawada, M., Nukina, N. α -synuclein forms a complex with transcription factor Elk-1. *J. Neurochem.* (in press).

2. 学会発表

Tanaka, M., Morishima, I., Nukina, N. Studies on sperm whale myoglobin mutants containing inserted glutamine repeats. P295 1064. 18th International Congress of Biochemistry and Molecular (Birmingham, 7.16-20, 2000).

Iwata, A., Miura, S., Kanazawa, I., Nukina, N. Alpha-synuclein associates with transcription factor Elk-1 in glial cytoplasmic inclusion of

multiple system atrophy. *Brain Pathol.* 10, 522-523 C05-03 (2000). XIVth International Congress of Neuropathology (Birmingham, 9.4, 2000).

Mitsui, K., Jana, N.R., Kotliarova, S. E., Tanaka, M., Nukina, N. Intranuclear polyglutamine aggregate does not affect protein synthesis in hepatocyte primary culture from Tg61 transgenic mouse strain of Huntington's disease. Society for Neuroscience Abstracts P197 382.1 (2000). Society for Neuroscience 30th Annual Meeting (New Orleans, 11.6, 2000).

Nukina, N., Wang, G-H., Sawai, N., Kotliarova, S.E., Kanazawa, I. Ataxin-3, the MJD1 gene product, interacts with two human homologues of yeast DNA repair protein RAD23, HHR23A and HHR23B. Society for Neuroscience Abstracts P248 479.1 (2000). Society for Neuroscience 30th Annual Meeting (New Orleans, 11.7, 2000).

Iwata, A., Nukina, N., Kanazawa, I. α -synuclein associates with transcription factor Elk-1 in glial cytoplasmic inclusion of multiple system atrophy. Society for Neuroscience Abstracts P298 578.11 (2000). Society for Neuroscience 30th Annual Meeting (New Orleans, 11.7, 2000).

Nukina, N. Polyglutamine diseases: molecular model to animal model. Second Korea-Japan Joint Workshop on Neurobiology and Neuroinformatics (Kyongyu, 11.20-21, 2000).

貫名信行. シンポジウム 2 「痴呆性疾患の細胞障害分子機構」 3) CAG repeat 病. -日本学術会議 50 周年シンポジウム-第 34 回 脳のシンポジウム シンポジウム 2-3) (東京, 3.19, 1999).

岩田 淳, 三浦聖子, 三井健一, 金澤一郎, 貫名信

行. 多系統萎縮症(MSA)の Glial cytoplasmic inclusion (GCI)における Elk-1 の共存について. 第 41 回日本神経学会総会 III-H-14 (松本, 5.24, 2000).

貫名信行. ハンチントン病~CAG リピート病の分子病態. 第 15 回日本大脳基底核研究会 シンポジウム 2-3 (S-2-3) (霞ヶ浦, 7.14, 2000).

王 光輝, 澤井紀子, スベトラーナ コトリヤローワ, 金澤一郎, 貫名信行. MJD1 遺伝子の産物である ataxin-3 は、酵母 DNA 修復蛋白質 RAD23 の 2つのヒトホモログ HHR23A,HHR23B と結合する. 第 23 回日本神経科学大会・第 10 回日本神経回路学会大会合同大会 227 P-440 (横浜, 9.5, 2000).

G. 知的所有権の取得状況

特になし

ポリグルタミンによって誘導される細胞死の機序解明と その抑制法の研究

宮下 俊之(国立小児病院小児医療研究センター)

研究要旨

伸張したポリグルタミンと特異的に結合するアポトーシス実行分子カスパーゼについて主として免疫染色法、GST pull-down assay を用いて解析した。その結果、カスパーゼ活性化カスケードの上流に位置するカスパーゼ 8 と 10 のみが伸張したポリグルタミンと核内凝集体上で結合していることが明らかとなった。更に少なくともポリグルタミンと共存しているカスパーゼ 8 は限定分解を受けた活性化型であること、両者の結合は直接的ではないことも示された。一方ポリグルタミン病に属する DRPLA の責任遺伝子と相同性のある遺伝子 *RE RE* (*RE repeats encoded*) を単離した。*RE RE* 遺伝子産物 (*RE RE*) は DRPLA 蛋白質と C 端側で相同性が高く、DRPLA 蛋白質と同様2このアルギニン・グルタミン酸リピートを有したが、ポリグルタミンはもたなかった。このリピートを介して両者は直接結合し、細胞内でも核で共存した。また両者の結合は伸張したポリグルタミンによって増強された。これらの結果は発症機構のみでなく DRPLA 蛋白質の正常機能の解析にも示唆を与えるものと考えられる。

A. 研究目的

CAG リpeat病でみられる細胞死において、DNA の断片化等の所見から、少なくとも一部はアポトーシスが関与していると思われる。昨年度我々は、主として免疫沈降法を用いて、今までに報告されているカスパーゼのうち、カスパーゼ 8 と、それに相同性の高いカスパーゼ 10 が特異的に伸張したポリグルタミンに結合することを示した。今年度はポリグルタミンに共凝集しているカスパーゼ 8 が活性化型であるか、更にこれらのカスパーゼと伸張したポリグルタミンの結合が直接的であるかを解析する目的で、活性化型カスパーゼ 8 特異的抗体の作製と GST pull-down assay を行った。また DRPLA における病変部位特異性や DRPLA 蛋白質の正常機能の解析を目的に、DRPLA 蛋白質の相同分子のクローニング及び機能解析を行った。

B. 研究方法

1. 活性化型カスパーゼ特異抗体の作製

カスパーゼ 8 及び 9 が活性化される際に、限定分解を受けて生ずる C 末端の 6 アミノ酸を抗原として用いた。得られたウサギ抗血清を、抗原として用いたのと同じペプチドのカラムで精製し、リコンビナントカスパーゼを用いて全長のカスパーゼとは反応しないこ

とを確認した。精製した抗血清を用いて免疫染色を行い、ポリグルタミンの核内凝集と局在を比較した。

2. GST pull-down assay

GST と様々な長さのポリグルタミンとの融合蛋白質をグルタチオンビーズを用いて精製し、*in vitro* で合成したラジオアイソトープ標識された何種類かのカスパーゼと反応させ、結合を解析した。

3. *RE RE* 蛋白質のクローニングと機能解析

DRPLA 遺伝子を用いて相同遺伝子の検索を行い、新規遺伝子 *RE RE* を得た。*RE RE* 発現ベクターを用いて *RE RE* 蛋白質の細胞内分布、DRPLA 蛋白質との結合等を検討した。

C. 研究結果

伸張したポリグルタミンは主に核内で凝集体を形成する。今回新規に作成した活性化型カスパーゼ 8 及び 9 に対する特異抗体を用いて蛍光免疫染色を行った。その結果ポリグルタミンの核内凝集の部位で活性化型カスパーゼ 8 が陽性であった。これに対し、同部位で活性化型カスパーゼ 9 は検出されなかった。また GST pull-down assay によって、少なくとも *Bcl-2* とその結合分子として知られる *Bax* が結合する条件下で、ポリグルタミンは例え伸張していてもカスパーゼ 8、9 いずれとも直接は結合しないことが示さ

れた。またカスパーゼ阻害剤やカスパーゼ 8 のドミナントネガティブ変異体はいずれも伸張したポリグルタミンによる凝集体の形成は阻害しなかったが、核の凝集、断片化といったアポトーシス様の変化は抑制した。

一方 DRPLA 蛋白質の相同分子として新たに発見された RERE は 1566 このアミノ酸からなり、DRPLA 蛋白質と C 端側で相同性が高く(アミノ酸で 67%)、DRPLA 蛋白質と同様 2 このアルギニン・グルタミン酸(RE)リピートを有したが、ポリグルタミンはもたなかった。このリピートを介して両者はそれぞれホモ及びヘテロダイマーを形成し、細胞内でも核で共存した。特に RERE 蛋白質は強制発現させると点状の分布を示した。両分子の結合には N 端側の RE リピートが重要であった。また両者の結合は伸張したポリグルタミンによって増強された。

D. 考察

ポリグルタミンとカスパーゼに関する研究結果はほぼ昨年度の成果を裏付けるものであった。すなわち、アポトーシスの経路において最初に活性化されるカスパーゼは Fas 等の Death Receptor を介する経路の場合カスパーゼ 8 であり、DNA 損傷や成長因子の除去などミトコンドリアを介する経路の場合カスパーゼ 9 であるが、伸張したポリグルタミンによって生ずるアポトーシスはカスパーゼ 8 を介することがいくつかの異なるアプローチによって確認されたことになる。換言すれば、カスパーゼ 8 を介する新たな細胞死伝達経路が見出されたといえる。この経路には、昨年度の成果も踏まえると、カスパーゼ 8 と近縁のカスパーゼ 10 も関わっている可能性がある。一方で伸張したポリグルタミンとカスパーゼ 8 の共凝集は両分子の直接結合ではないことが明らかとなったことから FADD 等のアダプター分子を介しているものと考えられる。

RERE の核移行は欠失変異体の解析から N 端側にある核移行シグナルによって媒介されると考えられる。また他にも RERE リピートを含む蛋白質が報告されているので(U1 snRNP, Acinus 等)、DRPLA、RERE 両蛋白質はそれらとも結合し機能している可能性もある。両者は互いに結合して核において機能していることが示唆されると共に、両者の結合はポリグルタミンの伸張によって増強したことから、DRPLA の発症にも関与している可能性がある。

E. 結論

ポリグルタミンによる細胞死はカスパーゼ 8 及び 10 の活性化で始まる新規の細胞死経路であることを示した。また DRPLA 蛋白質の正常機能、あるいは DRPLA における病理部位の特異性の解析に示唆を与える新規蛋白質 RERE を発見した。

F. 研究発表

1. 論文発表

U, M., Miyashita, T., Ohtsuka, Y., Okamura-Oho, Y., Shikama, Y. and Yamada, M. Extended polyglutamine selectively interacts with caspase-8 and -10 in nuclear aggregates. *Cell Death Differ.* (in press).

Shikama, Y., U, M., Miyashita, T. and Yamada, M. Comprehensive studies on subcellular localizations and cell death-inducing activities of GFP-tagged eight apoptosis-related caspases. *Exp. Cell Res.* (in press).

Komatsu, K., Miyashita, T., Hang, H., Hopkins, K.M., Zheng, W., Cuddeback, S., Yamada, M., Lieberman, H.B. and Wang, H.G. Human homologue of *S. pombe* Rad9 interacts with BCL-2/BCL-xL and promotes apoptosis. *Nature Cell Biol.* 2: 1-6, 2000.

Mitchell, K.O., Ricci, M.S., Miyashita, T., Dicker, D.T., Jin, Z., Reed, J.C. and El-Deiry, W.S. Bax is a transcriptional target and mediator of c-myc- induced apoptosis. *Cancer Res.* 60: 6318-6325, 2000.

Yanagisawa, H., Bundo, M., Miyashita, T., Okamura-Oho, Y., Tadokoro, K., Tokunaga, K. and Yamada, M. Protein binding of a DRPLA family through arginine-glutamic acid dipeptide repeats is enhanced by extended polyglutamine. *Hum. Mol. Genet.* 9: 1433-1442, 2000.

宮下俊之, 鹿間芳明, 禹麻美. 特異抗体及び Green Fluorescent Protein によるアポトーシス関連蛋白質の細胞内分布の解析. *Organ Biology* 7: 53-60, 2000.

宮下俊之. p53 とアポトーシス. 血液・腫瘍科 41: 310-318, 2000.

宮下俊之. トリプレットリピート異常伸張とアポトーシス.(水野美邦 編)"アポトーシスと疾患、中枢神経系疾患編", 医薬ジャーナル社, 135-144, 2000.

2. 学会発表

Miyashita, T., Shikama, Y., U, M. and Yamada, M: Expanded polyglutamine selectively interacts with caspase-8 at nuclear aggregates. American Association of Cancer Research, Special Conference, Programmed Cell Death, 2000.2.27-3.1, Lake Tahoe, USA

Subramanian, R., Chen, J., Zhang, L., Miyashita, T. and Fu, H: Interaction of 14-3-3 proteins with apoptosis signal-regulating kinase 1. Fourteenth Symposium of the Protein Society, 2000.8.5-9, San Diego, USA

Shikama, Y., U, M., Miyashita, T. and Yamada, M: Subcellular localizations and cell death-inducing activities of eight apoptosis-related caspases. Keystone Symposia, Molecular Mechanisms of Apoptosis, 2001.1.16-22, Keystone, USA

Shikama, Y., Kawakami, H., Yamada, M. and Miyashita, T: Fiber Formation of Caspase-8 and -10 Prodomain Correlates with Binding to FADD and NF- κ B Activation. Molecular Basis of Immune Cell Activation and Immunological Disorders, 2001.2.15-18, San Diego, USA

鹿間芳明, 宮下俊之:カスパーゼ8種の細胞内局在とアポトーシス誘導能の比較. 第54回小児血液・腫瘍懇話会, 2000.7.19, 東京

鹿間芳明, 宮下俊之, 山田正夫:GFP 融合蛋白を用いたカスパーゼの細胞内局在の検討. 第59回日本癌学会総会, 2000.10.4-6, 横浜

井上 仁, 武村晴行, 吉田 明, 河合泰一, 上田孝典, 宮下俊之: Pre-B 白血病細胞株由来

dexamethasone 耐性株 697/DR には bcl-2 過剰発現が関与する. 第59回日本癌学会総会, 2000.10.4-6, 横浜

於保祐子, 緒方幸恵, 宮下俊之, 山田正夫: DRPLA 蛋白の機能ドメイン. 日本人類遺伝学会第45回大会, 2000.10.25-27, 福岡

於保祐子, 緒方幸恵, 宮下俊之, 山田正夫: 53kDa インスリン受容体基質(IRS β)の機能. 第23回日本分子生物学会年会, 2000.12.13-16, 神戸

鹿間芳明, 禹麻美, 大塚裕子, 米谷元邦, 宮下俊之, 山田正夫:カスパーゼの細胞内局在とアポトーシス誘導能の検討. 第23回日本分子生物学会年会, 2000.12.13-16, 神戸

禹麻美, 於保祐子, 石井雅巳, 目黒裕子, 油谷浩幸, 宮下俊之, 山田正夫:伸張したポリグルタミンによって発現の変化する遺伝子の解析. 第23回日本分子生物学会年会, 2000.12.13-16, 神戸

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

IV. 研究成果の刊行に 関する一覧表 及びその別刷

研究成果の刊行に関する一覧表

辻 省次 (新潟大学脳研究所神経内科)

| 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 |
|--|-------|-------|--|
| Nature Genet. 26:29-36 Expanded polyglutamine stretches associated with CAG repeat diseases interact with TAFII130, interfering with CREB-dependent transcription. | 2000 | | Shimohata, T, Nakajima, T, Yamada, M, Uchida, C, Onodera, O, Naruse, S, Kimura, T, Koide, R, Nozaki, K, Sano, Y, Ishiguro, H, Sakoe, K, Ooshima, T, Sato, A, Ikeuchi, T, Oyake, M, Sato, T, Aoyagi, Y, Hozumi, I, Nagatsu, T, Takiyama, Y, Nishizawa, M, Goto, J, Kanazawa, I, Davidson, I, Tanese, N, Takahashi, H and <u>Tsuji, S.</u> |
| Acta Neuropathol. 99:615-618 Ubiquitinated filamentous inclusions in cerebellar dentate nucleus neurons in dentatorubral-pallidoluysian atrophy contain expanded polyglutamine stretches. | 2000 | | Yamada, M., Piao, Y.-S., Toyoshima, Y., <u>Tsuji, S.</u> and Takahashi, H. |
| Ann. Neurol. 49:14-23 Widespread occurrence of intranuclear atrophin-1 accumulation in the central nervous system neurons of patients with dentatorubral-pallidoluysian atrophy. | 2001 | | Yamada, M., Wood, J.D., Shimohata, T., Hayashi, S., <u>Tsuji, S.</u> , Ross, C. A. and Takahashi, H. |
| Am. J. Hum. Genet. 68:523-528 Ancestral origins of the Machado-Joseph disease mutation: A Worldwide haplotype study. | 2001 | | Gaspar, C., Lopes-Cendes, I., Hayes, S., Goto, J., Arvidsson, K., Dias, A., Silveira, I., Maciel, P., Coutinho, P., Lima, M., Zhou, Y.-X., Soong, B.-W., Watanabe, M., Giunti, P., Stevanin, G., Riess, O., Sasaki, H., Hsieh, M., Nicholson, G. A., Brunt, E., Higgins, J. J., Lauritzen, M., Tranebjaerg, L., Volpini, V., Wood, N., Ranum, L., <u>Tsuji, S.</u> , Brice, A., Sequeiros, J. and Rouleau, G. A. |

研究成果の刊行に関する一覧表

祖父江 元 (名古屋大学医学部神経内科)

| 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 |
|--|-------|-----------------------------------|--|
| Gene expression profile in Alzheimer's brain screened by molecular indexing. Mol Brain Res , in press | 2001 | Elsevier Science | Doyu M, Sawada K, Mitsuma N, Niwa J, Yoshimoto M, Fujii Y, Sobue G, Kato K |
| Differential effects of LAR on biochemical and biological activities of RET-MEN2A and RET-MEN2B mutant protein. J Biol Chem , in press | 2001 | Cadmus Professional Communication | Shanlou Q, Iwashita T, Furukawa T, Yamamoto M, Sobue G, Takahashi M |
| 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, Sobue G, Yamamoto M, Hamaguchi M, Takahashi M, Nakashima I |
| 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, Sobue G |
| Immunoglobulin therapy for idiopathic chronic sensory ataxic neuropathy. Neurology , 54: 1008-1010 | 2000 | Lippincott-Raven | Takeuchi H, Misu K, Hattori N, Nagamatsu M, 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(12): 8772-8778 | 2000 | Cadmus Professional Communication | Kobayashi Y, Kume A, Li M, Doyu M, Hata M, Ohtsuka K, Sobue G |
| 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, Sobue G |
| 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, Doyu M, Tanaka F, Sobue G, 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, Sobue G, 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, Doyu M, Riku S, Yoshida M, Hashizume Y, Sobue G |

研究成果の刊行に関する一覧表

貫名 信行 (理化学研究所脳科学総合研究センター)

| 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 |
|--|-------|-------|--|
| Hum. Mol. Genet. 9, 1795-1803 Ataxin-3, the MJD1 gene product, interacts with the two human homologs of yeast DNA repair protein RAD23, HHR23A and HHR23B. | 2000 | | Wang, G-H., Sawai, N., Kotliarova, S., Kanazawa, I., and <u>Nukina, N.</u> |
| Hum. Mol. Genet. 9, 2009-2018 Polyglutamine length-dependent interaction of Hsp40 and Hsp70 family chaperones with truncated N-terminal huntingtin: their role in suppression of aggregation and cellular toxicity. | 2000 | | Jana, N-R., Tanaka, M., Wang, G-H., and <u>Nukina, N.</u> |
| Biochim Biophys Acta 1502, 247-256 DMSO and glycerol reduce bacterial death induced by expression of truncated N-terminal huntingtin with expanded polyglutamine tracts. | 2000 | | Nagao, Y., Ishiguro, H., and <u>Nukina, N.</u> |
| 生体の科学 51, 25-31 神経変性疾患の克服: CAG リピート病. | 2000 | | <u>貫名信行</u> |
| 現代医療 32, 2251-2255 ポリグルタミン病の分子機構. | 2000 | | <u>貫名信行</u> |

研究成果の刊行に関する一覧表

宮下 俊之 (国立小児病院小児医療研究センター)

| 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 |
|---|----------|----------|---|
| Nature Cell Biol. 2:1-6 Human homologue of <i>S. pombe</i> Rad9 interacts with BCL-2/BCL-x _L and promotes apoptosis. | 2000 | | Komatsu, K., <u>Miyashita, T.</u> , Hang, H., Hopkins, K.M., Zheng, W., Cuddeback, S., Yamada, M., Lieberman, H.B. and Wang, H.G. |
| Cancer Res. 60:6318-6325 Bax is a transcriptional target and mediator of c-myc-induced apoptosis. | 2000 | | Mitchell, K.O., Ricci, M.S., <u>Miyashita, T.</u> , Dicker, D.T., Jin, Z., Reed, J.C. and El-Deiry, W.S. |
| Hum. Mol. Genet. 9:1433-1442 Protein binding of a DRPLA family through arginine-glutamic acid dipeptide repeats is enhanced by extended polyglutamine. | 2000 | | Yanagisawa, H., Bundo, M., <u>Miyashita, T.</u> , Okamura-Oho, Y., Tadokoro, K., Tokunaga, K. and Yamada, M. |
| Cell Death Differ. Extended polyglutamine selectively interacts with caspase-8 and -10 in nuclear aggregates. | in press | | U, M., <u>Miyashita, T.</u> , Ohtsuka, Y., Okamura-Oho, Y., Shikama, Y. and Yamada, M. |
| Exp. Cell Res. Comprehensive studies on subcellular localizations and cell death-inducing activities of GFP-tagged eight apoptosis-related caspases. | in press | | Shikama, Y., U, M., <u>Miyashita, T.</u> and Yamada, M. |
| Organ Biology 7:53-60 特異抗体及び Green Fluorescent Protein によるアポトーシス関連蛋白の細胞内分布の解析. | 2000 | | 宮下 俊之, 鹿間 芳明, 禹 麻美 |
| 血液・腫瘍科 41:310-318 p53 とアポトーシス. | 2000 | | 宮下 俊之 |
| アポトーシスと疾患 中枢神経系疾患編 (水野美邦 編) 135-144 トリプレットリピート異常伸張とアポトーシス. | 2000 | 医薬ジャーナル社 | 宮下 俊之 |