

2. CAG リピート病における神経細胞機能障害機構の解明を基盤とした治療法の開発

分担研究者 辻 省次
新潟大学脳研究所 神経内科

研究要旨

伸長ポリグルタミン鎖を有する変異タンパクの核移行と核内集積に伴う核の機能障害、転写障害の実体を明らかにして、その転写障害を緩和することにより治療法開発の可能性を検討し、伸長ポリグルタミン鎖の発現が cAMP 応答遺伝子群の転写を阻害すること、CPT-cAMP によりその阻害を緩和できることを示した。

A. 研究目的

ポリグルタミン病の治療法を開発することを目的とする。具体的には、伸長ポリグルタミン鎖を有する変異タンパクの核移行と核内集積に伴う核の機能障害、転写障害の実体を明らかにして、その転写障害を緩和することにより治療法開発の可能性を探る。

B. 研究方法

培養細胞系を用い、種々の長さのポリグルタミン鎖、核移行シグナル、GFP の融合タンパクを発現する実験系を確立する。この実験系を用いて、種々の長さのポリグルタミン鎖が、cAMP 応答遺伝子群の転写にどのような影響を与えるか、培地に cAMP analogue を添加することによりその転写を活性化できるかどうかを検討する。

(倫理面への配慮)

培養細胞を用いた実験系であり、倫理面での問題は生じないと考える。

C. 研究結果

Neuro2a 細胞に、種々の長さのポリグルタミン鎖、核移行シグナル、GFP の融合タンパクを発現する実験系を確立した。c-fos、

リン酸化 CREB の発現を経時的に観察したところ、Q0、Q19、Q57 とポリグルタミン鎖長依存性に、c-fos、リン酸化 CREB の発現が抑制された。また、この抑制は、2mM CPT-cAMP の添加により、可逆的に回復した。

D. 考察

これまで、レポーター遺伝子を用いた実験系で CREB-依存性の転写活性化の障害を明らかにしてきたが、今回の結果より、c-fos、リン酸化 CREB などの内在性の cAMP 応答遺伝子群の転写が、伸長ポリグルタミン鎖の共発現によって阻害されることを示し、cAMP 応答遺伝子群の転写阻害が、ポリグルタミン病の病態機序に深く関与する可能性を見出した。さらに、CPT-cAMP の添加によりこの転写の阻害が回復することを見出したことは、治療法開発に向けての重要なステップであると考えられる。

E. 結論

伸長ポリグルタミン鎖の発現が cAMP 応答遺伝子群の転写を阻害すること、CPT-cAMP によりその阻害を緩和できるこ

とを示した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamada, M., Wood, J.D., Shimohata, T., Hayashi, S., Tsuji, S., Ross, C. A., and Takahashi, H.: Widespread occurrence of intranuclear atrophin-1 accumulation in the central nervous system neurons of patients with dentatorubral-pallidoluysian atrophy. *Ann. Neurol.* 49:14-23, 2001.

Yamada, M., Hayashi, S., Tsuji, S., and Takahashi, H.: Involvement of the cerebral cortex and autonomic ganglia in Machado-Joseph disease. *Acta Neuropathol.* 101:140-144, 2001.

Shimohata, T., Onodera, O., and Tsuji, S.: Expanded polyglutamine stretches lead to aberrant transcriptional regulation in polyglutamine diseases. *Hum. Cell* 14:17-25, 2001.

Nakamura, K., Jeong, S.E., Uchihara, T., Anno, M., Nagashima, K., Nagashima, T., Ikeda, S., Tsuji, S., and Kanazawa, I.: SCA17, a novel autosomal dominant cerebellar ataxia caused by an expanded polyglutamine in TATA-binding protein. *Hum. Mol. Genet.* 10:1441-1448, 2001.

Yamada, M., Sato, T., Shimohata, T., Hayashi, S., Igarashi, S., Tsuji, S., and Takahashi, H.: Interaction between neuronal intranuclear inclusions and promyelocytic leukemia protein nuclear

and coiled bodies in CAG repeat diseases. *Am. J. Pathol.* 159:1785-1795, 2001.

2. 学会発表

佐藤俊哉, 山田光則, 小宅睦郎, 木村哲也, 勝木元也, 高橋 均, 辻 省次: 歯状核赤核・淡蒼球ルイ体萎縮症の分子機構. 第74回日本生化学会(京都), 2001年10月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

3. 球脊髄性筋萎縮症の治療法の開発

分担研究者 祖父江 元

名古屋大学大学院医学系研究科 神経内科

研究要旨

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) は、アンドロゲン受容体 (AR) 遺伝子内の CAG リピートの異常延長により、運動ニューロンなどが特異的に変性死に陥る。この選択的な運動ニューロン変性死の分子病態については未だ十分に明らかになっておらず、また有効な治療法も開発されていない。我々は SBMA のモデル動物の作成や神経細胞死に関わって特異的に発現が変異する遺伝子群を同定することにより、神経細胞死病態機構の解明や、治療法の開発を行った。

A. 研究目的

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) は、運動ニューロンなどが特異的に変性死に陥り、運動機能障害を生じる。モデル動物や培養細胞モデルの作成により、この選択的な運動ニューロン変性死に係わる分子群を明らかにし、有効な治療法を開発し、厚生行政に貢献すること。

B. 研究方法

Chicken β -actin プロモーターの調節下で異常延長した CAG リピートをもつヒトの全長の AR 遺伝子を発現するトランスジェニックマウスを作成し、雄に対し去勢術、雌に対し testosterone enanthate の皮下投与を施行した。正常長又は異常延長したポリグルタミン鎖をアデノウイルスベクターを用いてマウス神経培養細胞に発現させ、経時的に mRNA を抽出し、DNA microarray を用いて発現遺伝子群の変化を検出した。

(倫理面への配慮)

実験中にはマウスに苦痛を与えぬよう十分に配慮した。

C. 研究結果

CAG リピートが異常延長した全長 AR 遺伝子を発現するトランスジェニックマウス (Tg) では、その症状や病理所見の性差が著しく、雄が雌より重症化した。雄と雌の Tg において、RT-PCR でみた mRNA の発現に明らかな差は認めなかったが、タンパク質レベルでは、変異 AR の発現を雄に多く認め、その殆どは核分画に存在しており、核への変異 AR の蓄積量に性差がみられることが証明された。次に、4 週齢の雄 Tg に去勢術を施行したところ、対照群に比べ表現型、病理学的所見、western blot 解析のいずれに関しても著明な改善が得られた。雌 Tg に対し testosterone enanthate の皮下投与を施行したところ、いずれの所見も著明に悪化した。培養細胞モデルは正常長又は異常延長したポリグルタミン鎖をアデノウイルスベクターを用いてマウス神経培養細胞に発現させ、異常延長したポリグルタミン鎖発現 48 時間後には核内にポリグルタミン鎖よりなる凝集体を認めると共に細胞死も観察された。

D. 考察

トランスジェニックマウスは、運動機能障

害や病理学的な所見に明らかな性差がみられ、SBMA の病態発現に内分泌学的要因が強く関与していることが推定された。雄への去勢術が顕著な治療効果を、雌へのテストステロン投与が増悪効果を示したことから、testosterone を減少させることで変異 AR の核移行が阻害され、治療効果が得られると考えられた。

E. 結論

抗アンドロゲン療法は SBMA 患者の治療として応用可能と考えられ、また、アデノウイルスベクターを用いた培養細胞モデルは安定して変異 AR を発現し、病態発現解析に有用と考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ishigaki, S., Niwa, J., Yoshihara, T., Mitsuma, N., Doyu, M., and Sobue, G.: 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.

Adachi, H., Kume, A., Li, M., Nakagomi, Y., Niwa, H., Do, J., Sang, C., Kobayashi, Y., Doyu, M., and Sobue, G.: 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.* 10:1039-1048, 2001.

Kobayashi, Y., Sobue, G.: Protective effect of chaperones on polyglutamine

diseases. *Brain Res. Bull.* 563:165-168, 2001.

Qiao, S., Iwashita, T., Furukawa, T., Yamamoto, M., Sobue, G., and Takahashi, M.: 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.

Yoshihara, T., Ishigaki, S., Yamamoto, M., Liang, Y., Niwa, J., Takeuchi, H., Doyu, M., and Sobue, G.: Differential expression of inflammation and apoptosis-related genes in spinal cords of a mutant SOD1 transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurochem.* 80:158-167, 2002.

2. 学会発表

Adachi, H., and Sobue, G.: Transgenic mice with human AR promoter-driven extremely expanded CAG repeats show wide-spread polyglutamine nuclear inclusions and neuronal dysfunction. The 13th Naito conference on molecular biological approaches for intractable disease II (Kanagawa, Japan), Nov. 2000.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

4. Machado-Joseph 病原因タンパク質切断酵素の解析

分担研究者 垣塚 彰
京都大学大学院生命科学研究科 分子医学

研究要旨

Machado-Joseph 病 (MJD) の発症の第 1 ステップを担うと考えられる MJD 蛋白の切断酵素の同定を目標とし、強い MJD 切断活性を有する PC12 細胞の亜株を分離することに成功した。

A. 研究目的

研究分担者は、これまで、ポリグルタミンが神経変性を引き起こす起因物質であることを示すとともに、全長蛋白から、伸長したポリグルタミンを含む部分蛋白が切り出されることが、神経変性の第 1 ステップになることを提唱してきた。本研究では、MJD の発症の第 1 ステップを担うと考えられる MJD 蛋白の切断酵素の同定を目指し、さらに、同定した酵素の阻害剤を探ることで、MJD の発症予防の手がかりをつかむことを目的とする。

B. 研究方法

MJD 蛋白がプロセシングされた細胞で薬剤耐性遺伝子が発現するシステムを構築し、MJD 蛋白プロセシング活性を有する細胞を単離し、解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、培養細胞を使った研究であり、倫理的な問題点は無い。

C. 研究結果

NGF によってポストミトティックなニューロン様細胞に分化誘導出来る PC12 細胞について、NGF 添加後に MJD 蛋白を発現させ、数日間にわたって細胞を観察した。その結果、MJD 蛋白を切断する活性をもつ細

胞が、約 0.1%以下の頻度で存在するのを見いだした。次に、MJD 蛋白がプロセシングされた細胞で薬剤耐性遺伝子が発現するシステムを構築し、PC12 細胞の亜株を選別することにより、プロセシング活性の高い細胞株 (約 300 倍に上昇) を選別・樹立することに成功した。

MJD 蛋白の切断は、ポリグルタミンの長さには影響されないようであった。また、切れた蛋白の分子量から、MJD 蛋白の 200 番目のアミノ酸近傍が切断点と考えられた。しかしながら、その付近のアミノ酸配列からは、切断酵素の予想を立てるには至らなかった。

D. 考察

我々は、これまで、Machado-Joseph 病 (MJD) では、原因遺伝子から MJD 蛋白が作られたのち、MJD 蛋白は特異的にプロセシングを受け、伸長したポリグルタミンを含む C 末部分が切り出され、蓄積することが、発症の第 1 ステップとする考えを提唱してきた。本研究によって、MJD 蛋白を限定分解する活性を有する神経細胞を実際に同定できたことには、その証明にむけての大きな前進となるであろう。

E. 結論

MJD の発症の第1ステップを担うと考えられる MJD 蛋白の切断活性を有する PC12 細胞の亜株を分離することに成功した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamamoto, Y., Hasegawa, H., Tanaka, K., and Kakizuka, A.: Isolation of neuronal cells with high processing activity for the Machado-Joseph disease protein. *Cell Death Differ.* 8:871-873, 2001.

Hirabayashi, M., Inoue, K., Tanaka, K., Nakadate, K., Ohsawa, Y., Kamei, Y., Popiel, A. H., Sinohara, A., Iwamatsu, A., Kimura, Y., Uchiyama, Y., Hori, S., and Kakizuka, A.: VCP/p97 in abnormal protein aggregates, cytoplasmic vacuoles, and cell death, phenotypes relevant to neurodegeneration. *Cell Death Differ.* 8: 977-984, 2001

Maeda, H., Hori, S., Nishitoh, H., Ichijo, H., Ogawa, O., Kakehi, Y., and Kakizuka, A.: Tumor growth inhibition by arsenic trioxide (As₂O₃) in the orthotopic metastasis model of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.* 61:5432-5440, 2001.

Kimura, Y., Koitabashi, S., Kakizuka, A., and Fujita, T.: Initial process of polyglutamine aggregate formation in vivo. *Genes Cells* 6:887-897, 2001.

Higashiyama, H., Hirose, F., Yamaguchi, M., Inoue, Y., Fujikake, N., Matsukage,

A., and Kakizuka, A.: Identification of ter94, *Drosophila* VCP, as a modulator of polyglutamine-induced neurodegenerations in *Drosophila*. *Cell Death Differ.* 9:264-273, 2002.

Nakamoto, M., Nakano, S., Kawashima, S., Ihara, M., Nishimura, Y., Shinde, A., and Kakizuka, A.: Unequal crossing-over in unique PABP2 Mutations: a possible cause of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Arch. Neurol.* 59:474-477, 2002

2. 学会発表

Kakizuka, A.: As₂O₃ recruits Daxx and ASK1 to re-organized PML bodies and activates SEK1-JNK cell death kinase cascade in APL cells. Jolly Midas Hotel (Rome, Italy), Oct. 2001.

Kakizuka, A.: Molecular analysis of polyglutamine diseases. Japan-America Frontier of Science (Tokyo, Japan), Oct. 2001.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

5. ポリグルタミンにより誘導される細胞死の機序解析と その抑制法の開発

分担研究者 宮下 俊之

国立成育医療センター研究所 疾患遺伝子構造研究室

研究要旨

伸長したポリグルタミンが転写プロフィールに及ぼす影響を解析するため、ラット PC12 を用いてテトラサイクリン依存的に正常範囲及び病的に伸長したポリグルタミンを発現系する細胞株を確立した。病的範囲のポリグルタミンによってのみ発現が変化する遺伝子を DNA マイクロアレイを用いて解析したところ、113 個の遺伝子発現が誘導され、89 個の遺伝子発現が抑制された。その一部は real-time RT-PCR 法、あるいはウェスタンブロット法で発現の変化が確認された。また、DRPLA 蛋白質と結合するインスリン受容体基質である IRSp53 の 3 種類のアイソフォームについて、その発現パターンとリン酸化の状態が組織によって異なることがわかった。

A. 研究目的

遺伝性神経変性疾患の範疇に属する CAG リピート病は、責任遺伝子はそのほとんどが単離されたが、発症機序には不明な点が多く、治療法も確立されていない。

最近 CAG リピート病の発症機序の一つとして核内で起きる転写調節傷害が注目されている。また CAG リピート病のひとつである歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症 (DRPLA) の原因蛋白質 (DRPLA 蛋白質) のショウジョウバエホモログが発生過程で転写の corepressor としてはたらくことが示された。これらのことから脳内の転写制御の異常が CAG リピート病の発症や病変部位の決定に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。そこで我々は、伸長したポリグルタミンの発現により神経細胞の転写プロフィールがいかに変化するかを DNA マイクロアレイ (以下マイクロアレイ) を用いて解析した。

一方我々は以前、インスリン受容体基質

のひとつである IRSp53 を DRPLA 蛋白質と結合する蛋白質としてイースト・ツー・ハイブリッド法で同定しているが、IRSp53 には 4 種のアイソフォームが存在することがわかっている。そこでこれらのアイソフォームが組織内にどのように分布するか、またいかにインスリンあるいは IGF-I によってリン酸化されるかを解析した。

B. 研究方法

ラット褐色細胞腫由来細胞株 PC12 を用いてテトラサイクリン (Tet) 依存性に正常範囲のポリグルタミン (19 回) と病的に伸長したもの (56 回) をそれぞれ発現する遺伝子導入株を作成した。作成したこれらの細胞株を Nerve growth factor で神経細胞に分化させた後、Tet を培地に添加する前後で RNA を回収し、Affymetrix 社のオリゴヌクレオチドアレイを用いて遺伝子発現プロフィールを解析した。

一方すべての IRSp53 アイソフォームに

反応する共通の抗体の他に L, S, T にそれぞれ特異的に反応する抗体を作成し、ラットの組織及びヒト細胞株における各アイソフォームの発現をウェスタンブロット法で解析した。またヒト子宮頸癌細胞株 HeLa と神経芽細胞腫由来 SH-SY5Y を用いてインスリン及び IGF-I 刺激時のリン酸化の様子を免疫沈降法とウェスタンブロット法で各アイソフォームごとに解析した。(倫理面への配慮)
ヒトの検体を用いた実験は行わなかった。実験動物を用いた解析では、麻酔等により苦痛の除去に努めた。

C. 研究結果

病的範囲のポリグルタミンによってのみ、発現が3倍以上、あるいは1/3以下に変化する遺伝子をマイクロアレイを用いて解析したところ、113個の遺伝子発現が誘導され、89個の遺伝子発現が抑制された。その一部は real-time RT-PCR あるいはウェスタンブロット法で発現の変化が確認された。これらの遺伝子の中には neuronatin α , apolipoprotein C1 等があった。

IRSp53 のアイソフォームのうち、L と S は主に脳で発現が見られた。T は調べた範囲ではラットでの発現は認められず、HeLa 細胞で発現していた。HeLa 細胞においてはこれら3種類のアイソフォームのうち L と S がインスリンによってリン酸化されたのに対し、SH-SY5Y では T が IGF-I によってリン酸化された。

D. 考察

伸長したポリグルタミンによって多くの遺伝子が発現制御を受けていることがわかった。しかしながら、これらの遺伝子の発現変化が CAG リピート病の発症に関わっているかを知るには、更に異なる、できればヒト由来の神経細胞で同様の解析を行う必要があると思われた。

一方 DRPLA 結合蛋白質である IRSp53 のいくつかのアイソフォームが脳に限定して発現しており、インスリンでリン酸化されることは、DRPLA の病変部位を決定するメカニズム解明の手がかりになると思われる。

E. 結論

病的に伸長したポリグルタミンによって発現の上昇する遺伝子113個と減少する遺伝子89個をマイクロアレイ法で同定した。

また DRPLA 蛋白質と結合する IRSp53 の3種類のアイソフォームについて各臓器における発現分布とリン酸化の状態を解析した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Cuddeback, S.M., Yamaguchi, H., Komatsu, K., Miyashita, T., Yamada, M., Wu, C., Singh, S., and Wang, H.G.: Molecular Cloning and Characterization of Bif-1. A novel Src homology 3 domain-containing protein that associates with Bax. *J. Biol. Chem.* 276:20559-20565, 2001.

Shikama, Y., U, M., Miyashita, T., and Yamada, M.: Comprehensive studies on subcellular localizations and cell death-inducing activities of eight GFP-tagged apoptosis-related caspases. *Exp. Cell Res.* 264:315-325, 2001.

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 Diff.* 8:377-386, 2001.

Okamura-Oho, Y., Miyashita, T., and Yamada, M.: Distinctive tissue distribution and phosphorylation of IRSp53 isoforms. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 289:957-960, 2001.

U, M., Miyashita, T., Shikama, Y., Tadokoro, K., and Yamada, M.: Molecular cloning and characterization of six novel isoforms of human Bim, a member of the proapoptotic Bcl-2 family. *FEBS Lett.* 509:135-141, 2001.

Shikama, Y., Shen, L., Yonetani, M., Miyauchi, J., Miyashita, T., and Yamada, M.: Death effector domain-only polypeptides of caspase-8 and -10 specifically inhibit death receptor-induced cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 291:484-493, 2002.

2. 学会発表

川上速人, 松原幸枝, 鹿間芳明, 宮下俊之: GFP 標識したカスパーゼ 10 プロドメインの細胞内局在・電顕組織化学的検討. 第 106 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (高知), 2001 年 4 月

鹿間芳明, 宮下俊之, 山田正夫: カスパーゼ 8、10 のプロドメインによる Fas を介する細胞死の抑制. 第 60 回日本癌学会総会 (横浜), 2001 年 9 月

於保祐子, 中村真耶, 宮下俊之, 山田正

夫: DRPLA 蛋白に結合能を持つ insulin/IGF-I 受容体基質 IRSp53 の機能. 日本人類遺伝学会第 46 回大会 (さいたま), 2001 年 10 月

宮下俊之, 押田忠弘: グルココルチコイドによる白血病細胞における遺伝子発現プロファイルの変化. 第 62 回小児血液・腫瘍懇話会 (東京), 2001 年 11 月

於保祐子, 中村真耶, 宮下俊之, 山田正夫: DRPLA 蛋白の機能ドメイン解析. 第 24 回日本分子生物学会年会 (横浜), 2001 年 12 月

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 8、10 のプロドメインによる Fas 及び TRAIL を介する細胞死の抑制. 第 24 回日本分子生物学会年会 (横浜), 2001 年 12 月

米谷元邦, 鹿間芳明, 大塚裕子, 宮下俊之, 山田正夫: カスパーゼ 8、10 のプロドメインによる NF- κ B 活性化のメカニズムの検討. 第 24 回日本分子生物学会年会 (横浜), 2001 年 12 月

禹麻美, 鹿間芳明, 宮下俊之, 山田正夫: Bcl-2 ファミリータンパク質 Bim の新規アイソフォームの同定とその機能解析. 第 24 回日本分子生物学会年会 (横浜), 2001 年 12 月

柳澤比呂子, 宮下俊之, 中野芳朗, 山元大輔: キイロショウジョウバエ Spin のヒト相同蛋白質による細胞死誘導とその機構. 第 24 回日本分子生物学会年会 (横浜), 2001 年 12 月

Yoshida N., 宮下俊之, 山田正夫, Reed, J. C., 杉田雄二, 押田忠弘: Analysis of

gene expression patterns during glucocorticoid-induced apoptosis using oligonucleotide arrays. 第24回日本分子生物学会年会(横浜), 2001年12月

滝田順子, 宮下俊之, 陳 玉彦, 陳 迎章, 花田良二, 山本圭子, 林 泰秀: 神経芽種における 1p36 領域に存在する caspase 9 遺伝子の解析. 第17回日本小児がん学会(東京), 2001年12月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版年
Iwata, A., Miura, S., Kanazawa, I., Sawada, M., and <u>Nukina, N.</u>	α -synuclein forms a complex with transcription factor Elk-1	J. Neurochem.	77	239-252	2001
Jana, N-R., Zemskov, E-A, Wang, G-H., and <u>Nukina, N.</u>	Altered proteasomal function due to the expression of polyglutamine-expanded truncated N-terminal huntingtin induces apoptosis by caspase activation through mitochondrial cytochrome c release	Hum. Mol. Genet.	10	1049-1059	2001
Iwata, A., Maruyama, M., Kanazawa, I., and <u>Nukina, N.</u>	α -synuclein affects the MAP kinase pathway and accelerates cell death	J. Biol. Chem.	276	45320-45329	2001
Tanaka, M., Morishima, I., Akagi, T., Hashikawa, T., and <u>Nukina, N.</u>	Intra- and intermolecular β -pleated sheet formation in glutamine-repeat inserted myoglobin as a model for polyglutamine diseases	J. Biol. Chem.	276	45470-45475	2001
Yamada, M., Wood, J.D., Shimohata, T., Hayashi, S., <u>Tsuji, S.</u> , Ross, C. A. and Takahashi, H.	Widespread occurrence of intranuclear atrophin-1 accumulation in the central nervous system neurons of patients with dentatorubral-pallidolusia n atrophy	Ann. Neurol.	49	14-23	2001
Yamada, M., Hayashi, S., <u>Tsuji, S.</u> , and Takahashi, H.	Involvement of the cerebral cortex and autonomic ganglia in Machado-Joseph disease	Acta Neuropathol.	101	140-144	2001
Shimohata, T., Onodera, O. and <u>Tsuji, S.</u>	Expanded polyglutamine stretches lead to aberrant transcriptional regulation in polyglutamine diseases	Hum. Cell	14	17-25	2001
Nakamura, K., Jeong, S.E., Uchihara, T., Anno, M., Nagashima, K., Nagashima, T., Ikeda, S., <u>Tsuji, S.</u> , and Kanazawa, I.	SCA17, a novel autosomal dominant cerebellar ataxia caused by an expanded polyglutamine in TATA-binding protein	Hum. Mol. Genet.	10	1441-1448	2001

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

Yamada, M., Sato, T., Shimohata, T., Hayashi, S., Igarashi, S., <u>Tsuji, S.</u> , and Takahashi, H.	Interaction between neuronal intranuclear inclusions and promyelocytic leukemia protein nuclear and coiled bodies in CAG repeat diseases	Am. J. of Pathol.	159	1785 -1795	2001
Ishigaki, S., Niwa, J., Yoshihara, T., Mitsuma, N., Doyu, M., and <u>Sobue, G.</u>	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
Adachi, H., Kume, A., Li, M., Nakagomi, Y., Niwa, H., Do, J., Sang, C., Kobayashi, Y., Doyu, M., and <u>Sobue, G.</u>	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.	10	1039 -1048	2001
Kobayashi, Y., and <u>Sobue, G.</u>	Protective effect of chaperones on polyglutamine diseases	Brain Res. Bull.	563	165 -168	2001
Qiao, S., Iwashita, T., Furukawa, T., Yamamoto, M., <u>Sobue, G.</u> , and Takahashi, M.	Differential effects of LAR on biochemical and biological activities of RETMEN2A and RETMEN2B mutant protein	J. Biol. Chem.	276	9460 -9467	2001
Yoshihara, T., Ishigaki, S., Yamamoto, M., Liang, Y., Niwa, J., Takeuchi, H., Doyu, M., and <u>Sobue, G.</u>	Differential expression of inflammation and apoptosis-related genes in spinal cords of a mutant SOD1 transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis	J. Neurochem.	80	158 -167	2002
Yamamoto, Y., Hasegawa, H., Tanaka, K., and <u>Kakizuka, A.</u>	Isolation of neuronal cells with high processing activity for the Machado-Joseph disease protein	Cell Death Differ.	8	871 -873	2001

Hirabayashi, M., Inoue, K., Tanaka, K., Nakadate, K., Ohsawa, Y., Kamei, Y., Popiel, A. H., Sinohara, A., Iwamatsu, A., Kimura, Y., Uchiyama, Y., Hori, S., and <u>Kakizuka, A.</u>	VCP/p97 in abnormal protein aggregates, cytoplasmic vacuoles, and cell death, phenotypes relevant to neurodegeneration	Cell Death Differ.	8	977-984	2001
Maeda, H., Hori, S., Nishitoh, H., Ichijo, H., Ogawa, O., Kakehi, Y., and <u>Kakizuka, A.</u>	Tumor growth inhibition by arsenic trioxide (As ₂ O ₃) in the orthotopic metastasis model of androgen-independent prostate cancer	Cancer Res.	61	5432-5440	2001
Kimura, Y., Koitabashi, S., <u>Kakizuka, A.</u> , and Fujita, T	Initial process of polyglutamine aggregate formation <i>in vivo</i>	Genes Cells	6	887-897	2001
Higashiyama, H., Hirose, F., Yamaguchi, M., Inoue, Y., Fujikake, N., Matsukage, A., and <u>Kakizuka, A.</u>	Identification of ter94, Drosophila VCP, as a modulator of polyglutamine-induced neurodegenerations in Drosophila	Cell Death Differ.	9	264-273	2002
Nakamoto, M., Nakano, S., Kawashima, S., Ihara, M., Nishimura, Y., Shinde, A., and <u>Kakizuka, A.</u>	Unequal crossing-over in unique PABP2 Mutations: a possible cause of oculopharyngeal muscular dystrophy	Arch. Neurol.	59	474-477	2002
Cuddeback, S.M., Yamaguchi, H., Komatsu, K., <u>Miyashita, T.</u> , Yamada, M., Wu, C., Singh, S., and Wang, H.G.	Molecular Cloning and Characterization of Bif-1. A novel Src homology 3 domain-containing protein that associates with Bax.	J. Biol. Chem.	276	20559-20565	2001
Shikama, Y., U, M., <u>Miyashita, T.</u> , and Yamada, M.	Comprehensive studies on subcellular localizations and cell death-inducing activities of eight GFP-tagged apoptosis-related caspases.	Exp. Cell Res.	264	315-325	2001
U, M., <u>Miyashita, T.</u> , Ohtsuka, Y., Okamura-Oho, Y., Shikama, Y., and Yamada, M.	Extended polyglutamine selectively interacts with caspase-8 and -10 in nuclear aggregates.	Cell Death Diff.	8	377-386	2001

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

Okamura-Oho, Y., <u>Miyashita, T.</u> , and Yamada, M.	Distinctive tissue distribution and phosphorylation of IRSp53 isoforms.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	289	957 -960	2001
U, M., <u>Miyashita, T.</u> , Shikama, Y., Tadokoro, K., and Yamada, M.	Molecular cloning and characterization of six novel isoforms of human Bim, a member of the proapoptotic Bcl-2 family.	FEBS Lett.	509	135 -141	2001
Shikama, Y., Shen, L., Yonetani, M., Miyachi, J., <u>Miyashita, T.</u> , and Yamada, M.	Death effector domain-only polypeptides of caspase-8 and -10 specifically inhibit death receptor-induced cell death.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	291	484 -493	2002

IV. 研究成果の刊行物・別刷

20010647

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。