

ナル強度を基準として標準化した。

DNA マイクロアレイ

DNA マイクロアレイには、Atlas Glass Rat 1.0 (CLONTECH) と国立精神・神経センターの塚原俊文博士が作成した筋肉 DNA マイクロアレイを使用した。筋肉 DNA マイクロアレイの実験では、脱神経筋の mRNA とコントロールの mRNA を 3DNA™ Submicro™ Expression Array Detection Kit (Genisphere Inc.) を用いてそれぞれ Cy5、Cy3 でラベルし、競合的にマイクロアレイとハイブリダイゼーションさせた。ハイブリダイゼーション後、洗浄し遠心により乾燥させた。スポットの解析には、GeneSpring を用いた。

培養細胞

マウス筋芽細胞由来である C2C12 は、理研細胞バンクから譲渡して頂いた (RCB0987)。細胞株は、10%牛胎児血清 (FBS, Sigma) を含む Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Sigma) にて、37°C、5% CO₂ で培養し、セミコンフルエントの状態に継代を行った。

コンストラクト

ARPP-19 遺伝子は、ヒト胎児骨格筋由来 cDNA (CLONTECH) より全長をクローニングした。pGEM-T Easy Vector (Promega) に組み込んだ後、hCMV プロモーターをもつ pSec/DK (pSecTagA, Invitrogen を、当研究室の小池が改変) の *EcoR* I、*Xba* I サイトにサブクローニングし、C 末端側に *myc* タグを付加した。

遺伝子導入と蛍光抗体法

前日に C2C12 細胞を 2×10^4 / well (あらかじめポリリシンコートしてある 2 well スライドチャンバー) となるように播いておき、QIAfilter Plasmid Midi kit (QIAGEN) を使って精製したプラスミドを $2 \mu\text{g}$ / well リポフェクション法 (LipofectAMINE PLUS™ Reagent, Invitrogen) により導入した。遺伝子導入 2 日後、細胞を 3.7% ホルマリンを含む PBS(-) で固定した後、0.1% Triton X 100、1 次抗体、2 次抗体 (FITC-Mouse IgG) とそれぞれ反応させ、90%グリセロールでマウントした。サンプルは、蛍光顕微鏡で観察した。

ウェスタンブロッティング

遺伝子導入後 50 時間たった時点で、細胞を PBS(-) に懸濁し超音波処理により破砕した。破砕後、遠心 (15,000rpm 30min) し上清と沈殿に分けた。それぞれ SDS サンプルバッファーに懸濁し、SDS-PAGE を行った。電気泳動終了後、セミドライ方式で PVDF メンブレンに転写させた。転写後は、1 次抗体、2 次抗体と反応させ、ウェスタン用ペルオキシダーゼ標識キットとペルオキシダーゼ発色キットを用いて発色反応を行った。

C. 研究結果

脱神経により、EDL、Soleus とともに劇的に筋湿重量が変化し、脱神経手術後 2 週間で、EDL は $70.7 \pm 8.4\%$ 、Soleus では $46.6 \pm 6.7\%$ にまで減少した。手術後 2 週間でも、依然として減少を続けており、萎縮が激しいことがわかる。また、手術後 2 日までは EDL、Soleus とともに同じ割合で減少するが、2 日後以降 EDL よりも Soleus のほうが減少の割合が大きく、より萎縮していることがわかった。これは、EDL (白筋) と Soleus (赤筋) の線維タイプの差が関係しているのではないかと推測された。脱神経手術後 1 日では、筋湿重量減少がまったく見られなかった。

脱神経後 7 日目の EDL、Soleus の両筋肉でマイクロアレイ解析を行った。その結果、シグナル強度がある程度以上あり、かつ 2 倍以上変動している遺伝子は EDL では 60 個、Soleus では 41 個存在し、3 倍以上変化しているものは、EDL では 19 個であったが、Soleus ではわずか 4 個であった。

次に、EDL において変動している遺伝子の傾向を分類した。その結果、チャンネルや受容体において変動する遺伝子が多くみられ、次に、トランスポート、エンド・エキソサイトーシス、代謝、アポトーシス、伝達物質、シグナル伝達、プロテアーゼなどにおいて比較的変動傾向がみられた。しかし、変動していると予想されていたストレス蛋白質、分子シャペロン、細胞骨格などにおいては、変動している遺伝子が少なかった。

次に、脱神経において具体的にどのような遺伝子が増えているのかをスクリーニングするた

めに、主に筋肉に発現している 1536 個の遺伝子の cDNA がプリントしてあるマイクロアレイについて解析を行った。その結果、表 2 のような遺伝子を得ることが出来た。これらはすべて脱神経により発現量が非常に増加した遺伝子であり、細胞骨格、代謝、シグナル伝達といったものが検出できた。その中から、上の DNA マイクロアレイで比較的多くの変動している遺伝子があったシグナル伝達系に注目し、特に cAMP - regulated phosphoprotein 19 (ARPP-19) という遺伝子の役割に着目した。

DNA マイクロアレイでは、まだ十分な定量性を得ることが出来ないため、ノーザンハイブリダイゼーションにより ARPP-19 の遺伝子発現変化を調べた (n=4)。DNA マイクロアレイを行った脱神経手術後 7 日目の mRNA において、再現性のある結果を得ることが出来た。さらに、脱神経手術後 1 日、2 日、7 日、14 日目においてノーザンハイブリダイゼーションを行ったところ、2 日目以降から ARPP-19 の発現量が増加していることがわかった。また、時間経過とともに増加しており、14 日目には 6 倍になった。

脱神経により増加した ARPP-19 発現量が、脱神経による直接的な効果かどうかを検討するために、脱神経と同じように筋肉を萎縮させるモデル、主に微小重力による萎縮のモデルとして一般的な尾部懸垂を行い、その EDL と Soleus において ARPP-19 の遺伝子発現変化を調べた。まず、尾部懸垂による筋湿重量変化を調べたところ、2 週間の尾部懸垂により EDL はほとんど減少しなかった ($94.6 \pm 6.2\%$) が、Soleus では $70.2 \pm 7.9\%$ にまで減少していた。しかし、ARPP-19 発現量は、EDL、Soleus とともにほとんど変化しなかった。

ARPP-19 の機能や性質は、PKA によってリン酸化されるだろうということ以外、ほとんど何もわかっていない。そこで、筋肉における ARPP-19 の機能を調べるために、まず筋芽細胞由来の C2C12 に C 末端側に *myc* タグをつけた ARPP-19 を発現させ蛍光抗体法により細胞内局在を調べた。その結果、ほぼ細胞全体に蛍光が見られたが、特に細胞質において強い蛍光が見られた。ウェスタ

ンブロットでも、上清画分に ARPP-19 のバンドがみられ、可溶性蛋白質であり、膜や不溶性蛋白質に強く結合していないことがわかった。また、この条件では C2C12 の変性は見られなかった。この新規遺伝子の機能を明らかにするため、現在、トランスジェニックマウスを作製している。

D. 考察

本研究において、萎縮、特に脱神経筋における遺伝子発現変化を調べた。DNA マイクロアレイの結果から明らかになったことは、萎縮とは一見関係ないチャンネルや受容体といった分類での遺伝子に変動しているものが多く存在したことであった。脱神経した筋肉では、神経からの刺激無しの自発的で同期しない収縮 (線維性収縮) や各種の化学物質に対して敏感になることなどが知られている。チャンネルや受容体に分類される遺伝子の変動が大きかったのは、これらの背景によるものと考えられた。また、トランスポート、エンド・エキソサイトーシス、代謝、アポトーシス、伝達物質、シグナル伝達、プロテアーゼなどの遺伝子で比較的変動が見られた。予想では、筋湿重量が劇的に減少することから、蛋白分解が亢進しており、プロテアーゼの発現が増加していると考えたのだが、実際にはそのような傾向は見られなかった。また一般の筋萎縮にも特徴的なのだが、脱神経された筋肉では酸化的ストレスを受け、蛋白質の酸化を還元し修復する機構が動いていると予想された。しかし、これらの遺伝子発現も変わらず、脱神経された筋細胞では酸化ストレスをあまり受けていないと考えられた。

DNA マイクロアレイでは、まだ十分な定量性を持たせることが可能になっていない。これらの遺伝子がどのように変動したかを具体的に解析していくには、今現在では、すべての遺伝子についてクローニングを行い、ノーザンハイブリダイゼーションにより確認する必要がある。同時に、十分な定量性をもった DNA マイクロアレイの登場を期待したい。

E. 結論

本研究で、筋肉 DNA マイクロアレイで得た遺伝子の中から、ARPP-19 という遺伝子に着目した。ARPP-19 は PKA によってリン酸化され、多くの臓器で発現していることがわかっているが、その機能は不明である。ARPP-19 の N 末端側 16 残基が欠失している ARPP-16 というのも存在する。ARPP-16 は、脳の神経細胞に特異的に発現しており、特にドーパミンニューロンに多く発現している。このことから、ARPP-16 はドーパミンとの関連が主に調べられており、ARPP-19 も神経細胞での研究が主であり、筋肉での研究はまったくない。実験結果から脱神経筋で ARPP-19 発現量が増加していることが、ノーザンハイブリダイゼーションによりわかった。また、時間経過を調べたところ、萎縮が見られはじめた 2 日以降に増加しており、筋湿重量減少という萎縮の下流に ARPP-19 発現量増加があると考えられた。また、時間経過とともに発現量は増加し続け、ここでも萎縮との相関が見られた。現在、ARPP トランスジェニックマウスを作成中であり、生理機能も早晚明らかになると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

・Sasagawa N, Ishiura S.
Myotonic dystrophy protein kinase.
Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine 5:
2203-2205, 2002

・Suzuki T, Nakagawa M, Yoshikawa A,
Sasagawa N, Yoshimori T, Ohsumi Y,
Nishino I, Ishiura S, Nonaka I.
The first molecular evidence that autophagy
relates rimmed vacuole formation in chloroquine
myopathy. J.Biochem. 131: 647-651, 2002

・Kino Y, Oma Y, Takeshita Y, Takahashi N,
Sasagawa N, Ishiura S.
Direct evidence that EXP/muscleblind interacts
with CCUG tetranucleotide repeats.
Basic Appl.Myol. in press

・Takeshita Y, Sasagawa N, Usuki F, Ishiura S.
Decreased expression of alpha-B-crystallin in
C2C12 cells that express human DMPK/160CTG
repeats. Basic Appl.Myol. in press

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

5. リソソーム膜蛋白質の機能解析

分担研究者 田中 嘉孝 九州大学大学院・薬学研究院・細胞生物薬学分野

研究要旨：リソソーム膜の主要な蛋白質である LGP85 (LIMP II) の動物細胞への過剰発現は、エンドソーム・リソソームの空胞化とそれに伴うこれらコンパートメントからの膜輸送の阻害を引き起こした。LGP85 によるこのような効果は、細胞内の小胞輸送を調節する低分子量GTPaseの1つである Rab5 のドミナントネガティブ変異体との共発現により抑制された。これらの結果は、LGP85 がエンドソーム・リソソームにおける輸送小胞の出芽及び融合の制御装置の構成成分として機能することにより、これらコンパートメントの形成・維持に関与している可能性を示唆する。

A. 研究目的

リソソームは細胞内における蛋白質分解の主要な場である。リソソーム内に含まれる多数の酸性加水分解酵素により細胞外および細胞内の蛋白質は分解される。しかしながら、これらリソソーム酵素を他の細胞質コンパートメントから隔離している膜成分の機能に関しては殆ど解明されていない。そこで、リソソーム膜の主要な蛋白質である LGP85 の過剰発現によるエンドソーム・リソソーム系の機能変化を指標に、リソソーム膜蛋白質の生理的役割を解明することを目的とした。

B. 研究方法

LGP85 を COS 細胞に一過性に過剰発現させ、エンドソーム・リソソームの形態変化を共焦点レーザー顕微鏡および免疫電顕により解析した。また、Rab5 のドミナントネガティブ変異体 (Rab5S34N) を作成し、LGP85 との共発現によるエンドソーム・リソソームの空胞化に及ぼす影響について検討した。

C. 研究結果

LGP85 の過剰発現によりエンドソーム・リソソームの空胞化が惹起された。これら空胞は輸送小胞との融合能は保持しているものの、空胞化し

たエンドソームからリソソーム間の膜輸送およびこれらコンパートメントからの新たな小胞形成能は消失していた。エンドソーム間の小胞輸送を調節している Rab5 のドミナントネガティブ変異体との共発現は、LGP85 によるエンドソーム・リソソームの空胞化の阻害を引き起こした。

D. 考察

LGP85 の過剰発現によるエンドソーム・リソソームの空胞化は、主にエンドソーム・リソソームの融合促進及びこれらコンパートメントからの輸送小胞形成阻害により生じることが示唆された。LGP85 の過剰発現によるエンドソーム・リソソームの空胞化が Rab5 のドミナントネガティブ変異体との共発現により阻害されたことに加え、Rab5 の活性型の単独発現により LGP85 と同様の現象が引き起こされるという結果は、LGP85 の過剰発現による Rab5 の活性化がエンドソーム・リソソームの融合を促進し、空胞化を引き起こすと考えられる。

E. 結論

LGP85 は、エンドソーム・リソソームにおける輸送小胞の出芽及び融合などエンドサイトーシス経路の膜輸送制御装置の一構成成分として、エンドソーム・リソソームの形成・維持に重要な

役割を演じていることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

・Niwa K, Tanaka R, Murase H, Ishikawa T, Fujita H, Himeno M, Tanaka Y.
Two lysosomal membrane proteins, LGP85 and LGP107, are delivered to late endosomes/lysosomes through different intracellular routes after exiting from the *trans*-Golgi network. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 301: 833-840, 2003.

・Gamp A.C, Tanaka Y, Lullmann-Rauch R, Wittke D, D'Hooge R, De Deyn P.P, Moser T, Maier T, Hartmann D, Reiss K, von Figura K, Saftig P.
LIMP-2/LGP85 deficiency causes ureteric pelvic junction obstruction, deafness and peripheral neuropathy in mice.
Hum Mol Genet 12: 631-646, 2003.

・Eskelinen E-L, Tanaka Y, Saftig P.
At the acidic edge: Emerging functions for lysosomal membrane proteins.
Trends Cell Biol 13: 137-145, 2003.

・Fujita H, Yamanaka M, Imamura K, Tanaka Y, Nara A, Yoshimori T, Yokota S, Himeno M.
A dominant negative form of the AAA ATPase SKD1/VPS4 impairs membrane trafficking out of endosomal/lysosomal compartments: Class E vps phenotype in mammalian cells.
J. Cell Sci. 116: 401-414, 2003.

・Kuronita T, Eskelinen E-L, Fujita H, Saftig P, Himeno M, Tanaka Y.
A role for the lysosomal membrane protein LGP85 in the biogenesis and maintenance of endosomal and lysosomal morphology. *J. Cell Sci.* 115:

4117-4131, 2002.

・Eskelinen E-L, Illert A-L, Tanaka Y, Schwarzmann G, Blanz J, von Figura K, Saftig P.
Role of LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy. *Mol. Biol. Cell* 13: 3355-3368, 2002.

2. 学会発表

・Fujita H, Ishikawa D, Tanaka Y, Nara A, Yoshimori T, Yokota S, Ishido K, Himeno M.
A Possible Involvement of an AAA-ATPase SKD1 in the Ubiquitin Dependent Endosomal Membrane Transport and Autophagy. American Society for Cell Biology "Nontraditional Functions of Ubiquitin and Ubiquitin-like Proteins" (August 2002, Colorado Springs, USA)

・Kuronita T, Eskelinen E.L, Fujita H, Saftig P, Himeno M and Tanaka Y.
"A role for the lysosomal membrane protein LGP85 in the biogenesis and maintenance of endosomal and lysosomal morphology" III International Symposium on Autophagy "Molecular Biology and Pathophysiology of the Lysosomal/Vacuolar System" (September 2002 Osaka, Japan).

・Saftig P, Eskelinen E-L, Tanaka Y, Illert A.L, von Figura K.
"Functions of lysosomal membrane proteins in lysosomal biogenesis, autophagy and disease" III International Symposium on Autophagy "Molecular Biology and Pathophysiology of the Lysosomal/Vacuolar System" (September 2002 Osaka, Japan).

・Eskelinen E-L, Tanaka Y, Lullmann-Rauch R, von Figura K, Saftig P.
"Double deficiency reveals overlapping functions for the lysosomal membrane proteins LAMP-1 and LAMP-2" Transport Meeting (November 2002, Goettingen, Germany).

・藤田英明, 石川大輔, 田中嘉孝, 奈良篤樹, 吉森保, 横田貞記, 石堂一巳, 姫野勝 「AAAタンパク質 SKD1 によるユビキチンシグナル依存性膜輸送の制御」 第75回日本生化学会大会 (2002年10月 京都) 講演要旨集 p. 891

・広佐古香, 田中嘉孝, 藤田英明, 今里 泰, 姫野 勝 「3-Methyladenine (3MA) は mannose-6-phosphate receptor (MPR) の early endosome から TGN への輸送を選択的に阻害する」 第75回日本生化学会大会 (2002年10月 京都) 講演要旨集 p. 894

・黒仁田敏雄, 田中嘉孝, 藤田英明, Eeva-Liisa Eskelinen, Paul Saftig, 姫野 勝 「リソソーム膜蛋白質 LGP85 の過剰発現による空胞形成機構の解析」 日本薬学会 ファーマバイオフォーラム2002 (2002年11月 東京)

・黒仁田敏雄, 田中嘉孝, 藤田英明, 姫野 勝 「リソソーム膜蛋白質 LGP85 はエンドソーム・リソソームの形成機構に関与している」 第25回日本分子生物学会年会 (2002年12月 横浜)

・廣田有子, 増山菜緒子, 黒仁田敏雄, 藤田英明, 田中嘉孝, 姫野 勝 「動物細胞における post-lysosome 様コンパートメントの解析」 第25回日本分子生物学会年会 (2002年12月 横浜)

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

6. 5型 AAV ベクターによる acid maltase 遺伝子導入の長期効果の検討

分担研究者 辻野 精一

国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第5部室長

協力研究者 水上 浩明, 小澤 敬也

自治医科大学遺伝子治療研究部

研究要旨：アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターは非分裂細胞への遺伝子導入効率に優れ、かつ免疫原性が低く野生型ウイルスでさえ病原性がないという点から遺伝子治療に用いるベクターとして期待されている。昨年度我々は異なる血清型の AAV ベクターによる acid maltase (AM) ノックアウトマウス (KOM) への AM 遺伝子導入の比較検討したところ従来用いていた 2 型に対し 5 型の効率が非常によいことを報告した。ライソゾーム性筋疾患のひとつである AM 欠損症の治療法はいまだ確立されていないが、今回 5 型 AAV ベクターを用いて AM-KOM に対する AM 遺伝子導入の長期効果を検討した。

A. 研究目的

AM 欠損症には重篤な病型があるがその治療法はいまだ確立されていない。将来的な遺伝子治療を目指して 5 型 AAV ベクターによる AM-KOM における AM 遺伝子導入効果を長期的に検討した。

B. 研究方法

6 週齢 AM-KOM 個体の前脛骨筋にヒト AM を発現する 5 型 AAV (AAV5-AM) を 2.3×10^{11} particles 注射し、2, 5, 9 週後と 6 ヶ月後に各 3 匹分ずつ採取した注射した前脛骨筋および他の臓器(対側の前脛骨筋、肝、心)を次の方法により調べた。

- 1) AM 活性の測定
- 2) グリコーゲン含量の測定
- 3) 切片の PAS 染色
- 4) Western blot 解析

モデル動物の取り扱いに関しては必要以上の苦痛を与えないよう十分配慮した。

C. 研究成果

2 週後には AM 活性は正常以上に上昇しグリコーゲン量は低下した。5 および 9 週後には正常程度程度の AM 活性を維持しグリコーゲン量の軽減も

続いていた。6 ヶ月後、AM 活性は再び上昇する傾向を認め、1 個体では著増した。それに伴いグリコーゲン量も再び低下する傾向を認めた。PAS 染色と Western blot でも生化学的解析結果と平行な結果を得たが、PAS 染色では 5 週以降、筋線維によってグリコーゲンが再び蓄積する線維と、持続して蓄積が改善している線維があることが示された。

注射した筋以外の臓器(対側の前脛骨筋、肝、心)では AM 活性の上昇もグリコーゲン含量の低下も認められなかった。

D. 考察

AAV5-AM の AM-KOM 個体筋肉内投与は 6 ヶ月までの長期に AM 活性の上昇およびグリコーゲン含量の低下という効果を及ぼし続けることを示した。しかし注射した前脛骨筋以外の臓器に対しては効果がなく、全身的效果を及ぼすには至らなかった。そのため明らかな臨床症状の改善も観察されなかった。

E. 結論

AAV5-AM の AM-KOM 個体筋肉内投与は 6 ヶ月までの長期及び効果を及ぼし続けることを示したが、全身的效果を及ぼすには至らなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

・Tsukahara T, Tsujino S, Arahata K.
cDNA microarray analysis of gene expression in fibroblasts of patients with X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 25: 898-901, 2002.

・Shiroma N, Kanazawa N, Kato Z, Shimosawa N, Imamura A, Ito M, Ohtani K, Oka K, Wakabayashi K, Iai M, Sugai K, Sasaki S, Kaga K, Ohta T, Tsujino S.

Molecular genetic study in Japanese patients with Alexander disease: a novel mutation, R79L.

Brain Dev 25: 116-121, 2003.

2. 学会発表

・Tsujino S, Mizukami H, Muramatsu S, Ozawa K, Plotz P, Raben N: Efficiency of different serotypes of adeno-associated virus vector for delivering the acid maltase (AM) gene into AM knockout mice. Xth International Congress of Neuromuscular Disease, Vancouver, Canada, 7. 10, 2002

・Korman SH, Kanazawa N, Abu-Libdeh BY, Gutman A, Tsujino S.

Hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrulinuria (HHH) with evidence of mitochondrial dysfunction due to a novel ORNT1 mutation in a Palestinian family.

40th Annual Symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism, Dublin, Ireland, 9. 4, 2002

・辻野精一, 水上浩明, 小澤敬也, 村松慎一, Nina Raben. 異なる serotype の AAV ベクターによる acid maltase 遺伝子導入の比較検討 第43回日本神経学会総会 平成14年5月31日 札幌

城間直秀, 金澤直美, 須貝研二, 中山治美, 西条晴美, 伊藤雅之, 大谷恭一, 岡明, 辻野精一. 日本人 Alexander 病および van der Knaap 病の遺伝子解析

第43回日本神経学会総会 平成14年5月31日 札幌

・城間直秀, 須貝研司, 佐々木征行, 加我牧子, 伊藤雅之, 大谷恭一, 岡明, 中山治美, 西条晴美, 加藤善一郎, 今村淳, 下澤伸行, 若林和代, 井合瑞江, 辻野精一. 白質疾患の遺伝子診断: Alexander 病と van der Knaap 病

第44回日本小児神経学会総会 平成14年6月28日 仙台

・西条晴美, 江添隆範, 荒木克仁, 曾根翠, 浜口弘, 鈴木文晴, 中山治美, 城間直秀, 辻野精一, 平山義人, 有馬正高. MLC1 遺伝子に変異を認められた Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts (van der Knaap 病) の1例 第44回日本小児神経学会総会 平成14年6月27日 仙台

・若林和代, 井合瑞江, 増子香織, 山下純正, 山田美智子, 岩本弘子, 相田典子, 城間直秀, 金澤直美, 辻野精一. 遺伝子解析において診断を得た長期生存の Alexander 病の一例 第44回日本小児神経学会総会 平成14年6月28日 仙台

・金澤直美, 宮本健, 山田穰, 酒井規夫, 乾幸治, 萩原綱一, 川本未知, 幸原伸夫, 杉江秀夫, 坂井文彦, 辻野精一. 日本人若年型 acid maltase 欠損症の高頻度遺伝子変異 S619R 及び新規遺伝子変異 Q776X, M439K 第45回日本先天代謝異常学会 平成14年11月8日 神戸

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名： 論文タイトル名. 発表誌名 巻号： ページ, 出版年
1) Noguchi S, Tsukahara T, Fujita M, Kurokawa R, Toda T, Tsujimoto A, Arahata K, Nishino I. cDNA microarray analysis of individual Duchenne muscular dystrophy patients. <i>Hum Mol Genet</i> 12: 595-600, 2003.
2) Taniguchi K, Kobayashi K, Saito K, Yamauchi H, Ohnuma A, Hayashi YK, Manya H, Jin DK, Lee M, Parano E, Falsaperla R, Pavone P, Van Coster R, Nishino I, Topaloglu H, Voit T, Endo T, Toda T. Worldwide distribution and broader clinical spectrum of muscle-eye-brain disease. <i>Hum Mol Genet</i> 12: 527-534, 2003.
3) Nishino I. Autophagic vacuolar myopathies. <i>Curr Neurol Neurosci Rep</i> 3: 64-69, 2003.
4) Sugie K, Yamamoto A, Murayama K, Takahashi M, Mora M, Riggs JE, Oh SJ, Colomer J, Inturriaga C, Saitoh S, Byrne E, DiMauro S, Noanka I, Hirano M, Nishino I. Clinicopathological features of genetically confirmed Danon disease. <i>Neurology</i> 58: 1773-1778, 2002.
5) Michele DE, Barresi R, Kanagawa M, Saito F, Cohn RD, Satz JS, Dollar J, Nishino I, Kellely RI, Somer H, Straub V, Mathews KD, Moore SA, Campbell KP. Posttranslational disruption of dystroglycan-ligand interactions in congenital muscular dystrophies. <i>Nature</i> 418: 417-422, 2002.
6) Nishino I, Ozawa E. Muscular dystrophies. <i>Curr Opin Neurol</i> 15: 539-544, 2002.
7) Takahashi M, Yamamoto A, Takano K, Sudo A, Wada T, Goto Y, Nishino I, Saitoh S. Germline mosaicism of a novel mutation in LAMP-2 deficiency (Danon disease). <i>Ann Neurol</i> 52: 122-125, 2002.
8) Suzuki T, Nakagawa M, Yoshikawa A, Sasagawa N, Yoshimori T, Ohsumi Y, Nishino I, Ishiura S, Nonaka I. The first molecular evidence that autophagy relates rimmed vacuole formation in chloroquinemyopathy. <i>J Biochem</i> 131: 647-651, 2002.
9) Nishino I, Noguchi S, Murayama K, Driss A, Sugie K, Oya Y, Nagata T, Chida K, Takahashi T, Takusa Y, Ohi T, Nishimiya J, Sunohara N, Ciafaloni E, Kawai M, Aoki M, Nonaka I. Distal myopathy with rimmed vacuoles is allelic to hereditary inclusion body myopathy. <i>Neurology</i> 59: 1689-1693, 2002.
10) Nishino I, Hirano M, DiMauro S. LAMP-2 deficiency. Structural and molecular basis of skeletal muscle diseases. Karpati G ed. ISN Neuropath Press, Basel, Switzerland. pp. 142-144, 2002.
11) Sasagawa N, Ishiura S. Myotonic dystrophy protein kinase. <i>Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine</i> 5: 2203-2205, 2002
12) Suzuki T, Nakagawa M, Yoshikawa A, Sasagawa N, Yoshimori T, Ohsumi Y, Nishino I, Ishiura S, Nonaka I. The first molecular evidence that autophagy relates rimmed vacuole formation in chloroquinemyopathy. <i>J. Biochem.</i> 131: 647-651, 2002

発表者氏名： 論文タイトル名. 発表誌名 巻号： ページ, 出版年

- 13) Niwa K, Tanaka R, Murase H, Ishikawa T, Fujita H, Himeno M, Tanaka Y.
Two lysosomal membrane proteins, LGP85 and LGP107, are delivered to late endosomes/lysosomes through different intracellular routes after exiting from the *trans*-Golgi network. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 301: 833-840, 2003.
- 14) Gamp A.C, Tanaka Y, Lullmann-Rauch R, Wittke D, D'Hooge R, De Deyn P.P, Moser T, Maier T, Hartmann D, Reiss K, von Figura K, Saftig P.
LIMP-2/LGP85 deficiency causes ureteric pelvic junction obstruction, deafness and peripheral neuropathy in mice. *Hum Mol Genet* 12: 631-646, 2003.
- 15) Eskelinen E-L, Tanaka Y, Saftig P.
At the acidic edge: Emerging functions for lysosomal membrane proteins. *Trends Cell Biol* 13: 137-145, 2003.
- 16) Fujita H, Yamanaka M, Imamura K, Tanaka Y, Nara A, Yoshimori T, Yokota S, Himeno M.
A dominant negative form of the AAA ATPase SKD1/VPS4 impairs membrane trafficking out of endosomal/lysosomal compartments: Class E vps phenotype in mammalian cells. *J. Cell Sci.* 116: 401-414, 2003.
- 17) Kuronita T, Eskelinen E-L, Fujita H, Saftig P, Himeno M, Tanaka Y.
A role for the lysosomal membrane protein LGP85 in the biogenesis and maintenance of endosomal and lysosomal morphology. *J. Cell Sci.* 115: 4117-4131, 2002.
- 18) Eskelinen E-L, Illert A-L, Tanaka Y, Schwarzmann G, Blanz J, von Figura K, Saftig P.
Role of LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy. *Mol. Biol. Cell* 13: 3355-3368, 2002.
- 19) Tsukahara T, Tsujino S, Arahata K. cDNA microarray analysis of gene expression in fibroblasts of patients with X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 25: 898-901, 2002.

20020887

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.30- P.31の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。