

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）分担研究報告書
運動失調に関する調査及び病態機序に関する研究班

成人発症のleukoencephalopathy with vanishing white matterの1例
- ALD 症例との臨床的、病理学的比較検討と遺伝学的解析 -

分担研究者 古谷博和 九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科
研究協力者 新納信江、吉良潤一（九州大学医学部神経内科）
津国 秀彰、藤井 直樹（国立療養所筑後病院神経内科）
岩城 徹（九州大学大学院医学研究院附属脳神経病研究施設神経病理）

研究要旨 思春期以降に発症した leukoencephalopathy with vanishing white matter (以下 VWM) 症例を経験した。症例は16歳頃よりふらつきと失調性言語障害で発症。徐々に小脳失調が進行して24歳より排尿障害が出現、34歳より寝たきりとなり、37歳で死亡した。病理所見では脳幹と小脳の萎縮が著明で、皮質はほぼ正常であるものの、大脳白質、小脳白質、脳幹はびまん性に軟化し、空洞を形成していた。組織学的には、萎縮した白質には著明な囊胞性変性が認められ、逆に oligodendrocyte が著明に増殖しているという VWM に典型的な所見であった。一方、ダイレクトシーケンスによる eIF2B 遺伝子の解析では、B1, B2, B3, B4, B5 の5種類のサブユニット遺伝子に変異は認められなかった。これまで VWM 症例の報告は、Caucasian の乳・幼児発症例が殆どであったが、今回成人発症例を認めたことより、成人発症の白質ジストロフィーとして、VWM も鑑別にあげる必要があると考えられた。

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー(ALD)と鑑別が必要になる白質脳症は数多く存在するが、極めて稀ながら、乳幼児期に発症し、重症の小脳症状を呈するものとして、eukaryotic translation initiation factor 2B (eIF2B) 遺伝子に変異の認められる leukoencephalopathy with vanishing white matter (以下 VWM) がある。

今回思春期以降に発症した VWM 症例を経験したので、その臨床症状、病理所見、eIF2B 遺伝子群の解析結果について報告する。

B. 研究対象・方法

症例は37歳男性。主訴は歩行時のふらつきと、構音障害。家族歴で血族結婚、家系内類似疾患無し。16歳頃より歩行時のふらつき、ろれつが回らないなどの症状で発症したが、普通高校卒業後18歳時には自衛隊に就職し、当初は通常勤務も可能であった。しかし症状は徐々に進行し、24歳で歩行困難、尿失禁が出現した。

この時、神経学的には視力低下、失調性構音障害と嚥下障害、両側錐体路徴候、両側体幹失調、四肢失調を認めた。頭部MRI検査で、大脳、小脳、脳幹のほぼ全ての白質にびまん性に T1W1 で低信号、T2W1 で高信号の高度の白質脳症を認めた。

その後、痙性が進行し、除皮質硬直状態となり、それに伴い mental deterioration も進行。コミ

ュニケーションがとれなくなり、34歳頃より植物状態となり、37歳で死亡した。

剖検臓器を病理的に解析するとともに、この臓器からゲノム DNA を抽出し、ダイレクトシーケンス法で GFAP 遺伝子および、eIF2B 遺伝子を解析した。

(倫理面での配慮)

御遺族より剖検と剖検サンプルの研究への使用についての承諾書を得ており、倫理上特に問題はないと考えられる。

C. 研究結果

病理所見では脳幹と小脳の萎縮が著明で、皮質はほぼ正常であるものの、大脳白質、小脳白質、脳幹はびまん性に軟化し、空洞を形成していた。副腎に異常は認められなかった。

組織学的には、萎縮した白質には著明な囊胞性変性が認められ、逆に oligodendrocyte が異常に増殖していた。これに対して、U-fiber でのミエリンは比較的保たれており、明らかに ALD とは異なる所見で、VWM に典型的な所見であった。

ダイレクトシーケンスによる GFAP 遺伝子と eIF2B 遺伝子ファミリーの解析では、GFAP 遺伝子に異常は認められなかった。VWM で異常が報告されている eIF2B の5つのサブユニット(eIF2B1, B2, B3, B4, B5)の解析では、eIF2B5

で既知のポリモルフィズム(A587V)が認められた以外に変異は認められなかった。

D. 考察

病理学的所見、臨床所見より、この症例は思春期以降に発症した VWM と考えられた。これまで VWM と診断された症例では eIF2B 遺伝子 5 つのサブユニットのうちのいずれかに遺伝子変異が報告されているが、本症例では eIF2B ファミリー遺伝子に変異は認められず、これまで報告された症例と異なる機序で VWM が発症している可能性が考えられた。

これまで VWM 症例の報告は caucasian の乳・幼児発症例が殆どであったが、今回日本人で成人発症の VWM を認めたことより、成人発症の白質ジストロフィーや脊髄小脳変性症の原因として、VWM も鑑別にあげると考えられた。

今後、本症例の中樞神経系での eIF2B ファミリーの遺伝子転写、翻訳について解析してゆく予定である。

E. 結論

思春期以降に発症した VWM 症例を経験したので、その臨床症状、病理所見、eIF2B 遺伝子の解析結果について報告した。本症例には eIF2B 遺伝子の変異は認めなかった。

F. 研究発表

論文発表準備中

G. 知的所有権の取得状況

なし

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）分担研究報告書
運動失調に関する調査及び病態機序に関する研究班

ALD モデルマウス線維芽細胞のフラボノイドによる治療効果の検討

分担研究者 古谷博和 九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科
研究協力者 新納信江、吉良潤一（九州大学医学部神経内科）
今中常雄 （富山医科薬科大学薬学部分子細胞機能学研究室）
林 利光 （富山医科薬科大学薬学部薬用資源学講座）

研究要旨 副腎白質ジストロフィー(ALD)に対して、最近ある種の bioflavonoid が患者線維芽細胞の極長鎖脂肪酸(VLCFA)値とβ酸化活性を正常化すると報告されている。そこで今回、ALD 疾患モデルマウスである ABCD-1 ノックアウトマウス線維芽細胞において、それらの bioflavonoid が効果を発揮するかどうかを *in vitro* で検討した。その結果、ALD 患者培養線維芽細胞で認められた bioflavonoid の効果は、同じ条件では、ABCD-1 ノックアウトマウス培養線維芽細胞で認められなかった。この原因としては、種による極長鎖脂肪酸合成・代謝系の違いや、至適薬剤濃度の差異などが考えられた。

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー(ALD)の病態機序に関しては、未だに不明な点が多く、その診断に関しても、血漿極長鎖脂肪酸(pVLCFA)の測定と、頭部 MRI の所見が重要な役目を果たしている。現在治療法の無い ALD に対してはロバスタチンなどによる治療の試みがなされてはいるものの、効果は殆どあがっていない。

最近、ある種の bioflavonoid が ALD 患者線維芽細胞の極長鎖脂肪酸(VLCFA)値とβ酸化活性を正常化するとの報告があり、治療効果が期待されている。そこで、今回我々は、bioflavonoid が ALD モデル動物である ABCD-1 ノックアウトマウス線維芽細胞においても VLCFA 値の改善効果を発揮するかどうかについて、*in vitro* で解析を行った。

B. 研究方法

ABCD-1 ノックアウトマウスの線維芽細胞を 24 ウェルプレートで培養後、ALD 患者培養細胞で VLCFA のβ酸化活性を改善することが報告されている bioflavonoid 3 種類(baicalin, isorhamnetin, baicalin tri-O-methylate それぞれ 20μM) と、その構造類似化合物 (DHEA-S(27.2μM)) , 4-phenylbutyric acid (PBA) (5mM), lovastatin(5μM)を培地に加えて3日間培養した。コントロールとしては、ノックアウトマウスの線維芽細胞に薬剤を溶解する DMSO のみを加えたものを用いた。

3日間培養後、培養細胞の VLCFA を測定し

コントロール(blank)と比較した。実験は別個に3回行い、Fisher's PLSD 法で統計学的に検討した。

(倫理面での配慮)

この研究では、ALD 疾患モデルマウスである ABCD-1 ノックアウトマウス線維芽細胞を用いており、倫理的に問題は無いと考えられる。

C. 研究結果

VLCFA 値は C24/22, C25/22, C26/22 の比と、C26 μg/mg protein 絶対値を測定した。

C26/22 比は、

4-phenylbutyric acid	0.283 ± 0.026
baicalin	0.544 ± 0.034
baicalin tri-O-methylate	0.445 ± 0.014
DHEA-S	0.226 ± 0.014*
lovastain	0.403 ± 0.041
Isorhamnetin	0.437 ± 0.025
Control (blank)	0.380 ± 0.022

C26μg/mg protein 値は、

4-phenylbutyric acid	0.192 ± 0.021
baicalin	0.291 ± 0.019
baicalin tri-O-methylate	0.219 ± 0.015
DHEA-S	0.207 ± 0.013
lovastain	0.403 ± 0.041
Isorhamnetin	0.405 ± 0.033
Control (blank)	0.272 ± 0.028

(**p*<.0001)

であり、DHEA-Sを除いて、bioflavonoid のいずれにおいても、コントロールとの間に明らかな統計学的有意差は認められなかった。

D. 考察

ALD 患者培養線維芽細胞で認められた bioflavonoid の効果が、ABCD-1 ノックアウトマウス線維芽細胞で認められなかった理由として、(1) 培養条件のわずかな違いによって細胞の状態が大きく変化するために、効果のある至適薬剤濃度に変化が出たこと、(2) ABCD-1 ノックアウトマウスでは、VLCFA の高値が認められるものの臨床症状が認められないなど、ABCD-1 と VLCFA 値、VLCFA の β 酸化活性などの代謝系には、種による違いが存在することなどが考えられた。

また、一般的には VLCFA 値と VLCFA の β 酸化活性は相関すると考えられているが、最近それを否定する説もあり、今後は VLCFA の β 酸化活性も併せて検討する必要があると考えられた。

E. 結論

ALD 患者培養線維芽細胞で認められた bioflavonoid の効果は、同じ条件では ABCD-1 ノックアウトマウス培養線維芽細胞では認められなかった。今後、培養条件、薬剤濃度を変えて、さらに効果を検討してゆく予定である。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

ミスセンス変異をもつ ALDP の機能と細胞内動態の解析

分担研究者 今中 常雄 富山医科薬科大学・薬学部・教授
協力研究者 守田 雅志 富山医科薬科大学・薬学部・助手

研究要旨 ALD はペルオキシソーム膜上に存在する ABC タンパク質 ALDP の機能不全に起因する。ALDP の機能不全の約 6 割はミスセンス変異であり、多くの場合 ALDP の発現低下が報告されている。そこで本研究では、ミスセンス変異 ALDP の機能と細胞内運命の解析を試みた。7 種類の ALD 患者由来ミスセンス ALDP-GFP を患者繊維芽細胞ならびに CHO 細胞に発現させ、その発現量と細胞内局在性を検討した。その結果、ミスセンス変異 ALDP はすべて機能不全であったが、ペルオキシソームに局在するもの、ミトコンドリアにミスターゲティングするもの、分解されるものに分類された。また ALDP の分解には一部プロテアソームが関与することが明らかになった。ALDP の局在化や機能ドメイン以外に変異をもつ ALDP の場合、その分解を抑制することにより ALDP の機能を保持させることが可能かもしれない。

A. 研究目的

ALD 患者においては、脳、副腎、血漿中などに極長鎖脂肪酸が蓄積する。この原因は、ペルオキシソーム膜上に存在する ABC タンパク質 ALDP の機能不全により、極長鎖脂肪酸 β 酸化活性が低下することによると考えられている。現在までに約 600 例の ALD 遺伝子変異が報告されているが、その 6 割がミスセンス変異である。ミスセンス変異をもつ ALD 患者繊維芽細胞を用いた immunoblotting や蛍光抗体法による解析により、多くの場合 ALDP の発現量が低下していることが報告されている。本研究では、ALDP 安定化の可能性を見いだすため、ミスセンス ALDP の C 末端に GFP を融合させたタンパク質を ALD 患者繊維芽細胞ならびに CHO 細胞に発現させ、その機能と細胞内運命を解析した。

B. 研究方法

C 末端に GFP を融合させた野生型ならびに 7 種の ALD 患者由来ミスセンス変異 (R104C, G116R, Y174C, S342P, S606P, S606L, H667D) をもつ ALD-GFP cDNA を構築した。これら ALDP-GFP を ALD 患者繊維芽細胞ならびに

CHO 細胞に発現させ、その局在を蛍光抗体法ならびにシヨ糖密度勾配遠心法による細胞分画と immunoblotting により解析した。また極長鎖脂肪酸 β 酸化活性は、細胞に [^{14}C] lignoceric acid を添加し、一定時間後、生成する酸可溶性代謝物を定量することにより求めた。さらにプロテアソーム阻害剤を細胞に添加し、ALDP の安定化について検討した。

(倫理面での配慮)

ALD 患者繊維芽細胞は、提供者（幼児の場合は両親）の同意を得て採取したものを、岐阜大医学部鈴木康之教授、九州大学医学部古谷博和助教授より供与を受けた。

C. 研究結果

ALD 患者繊維芽細胞では、正常細胞に比べ極長鎖脂肪酸 β 酸化活性が約 30% まで低下していた。野生型 ALD-GFP cDNA を ALD 患者繊維芽細胞に導入すると、発現した ALDP-GFP はペルオキシソームに局在し、極長鎖脂肪酸 β 酸化活性を正常化させた。よって ALDP は GFP との融合タンパク質としても正常に機能することが示唆された。そこでミスセンス変異 ALDP-GFP を患者繊維芽細胞に発現させ、

その細胞内局在性を蛍光抗体法で解析した。その結果、GFP の蛍光がペルオキシソームに局在する変異 (R104C, S342P, S606L) と細胞質に拡散する変異 (G116R, Y174C, S606P, H667D) に分類された。後者の場合、Y174C と H667D では immunoblotting において ALDP-GFP のバンド (110 kDa) が全く検出されず、生合成後、急速に分解されている可能性が示唆された。また7種の変異 ALDP-GFP は、ALD 患者繊維芽細胞の極長鎖脂肪酸 β 酸化活性を回復させなかった。

さらに変異 ALDP-GFP の細胞内動態を詳細に解析するため、変異 ALDP-GFP を安定発現する CHO 細胞株を取得し、ALDP-GFP の発現量とその局在性を細胞分画法で解析した。その結果、Y174C ならびに H667D においては患者繊維芽細胞同様 ALDP-GFP のバンドが検出されなかった。また興味深いことにこれらの CHO 細胞では内在性の ALDP のバンドも検出されなかった。一方、患者繊維芽細胞において GFP のペルオキシソーム局在が確認された R104C においては、110 kDa の ALDP-GDP とともに約 45-80 kDa にわたって ALDP-GFP の分解産物が検出された。一方、野生型ならびに変異型 S342P では ALDP-GFP のバンドはペルオキシソームに局在した。なお、S606L は CHO 細胞ではその発現が検出できなかった。

細胞内で急速に分解される可能性を示した H667D について、その安定性に対するプロテアソーム阻害剤 lactacystin の影響を検討した。ALD 患者繊維芽細胞に ALD/H667D-GFP cDNA を導入し、24 時間後より細胞に lactacystin (1 μ l) を添加し、19 時間 incubate した。すると、lactacystin 処理により、ALDP-GFP のバンドが検出されるようになった。

D. 考察

ALDP は遊離型ポリソームで翻訳され、直接ペルオキシソームに輸送される。また ALDP のペルオキシソーム移行には N 末端から transmembrane domain 1 と 2 を含む領域 (a.a.1-164) が重要であること、その領域にシャペロ

ン様機能をもつ Pex19p が結合することが示されている。また Pex19p を欠損した細胞では、生合成された PMP70 などのペルオキシソーム膜タンパク質が急速に分解されることを見いだしている。

本研究では N 末端より任意に7種の変異 ALDP を選び、ALD 患者繊維芽細胞ならびに CHO 細胞を用い、変異 ALDP の細胞内動態を解析した。一部の変異 ALDP-GFP は両細胞で異なる挙動を示したが、ペルオキシソームに局在化するもの、ミトコンドリアにミスターゲティングするもの、分解されるものに分類された。ミスターゲティングした G116R は局在シグナルに異常をもつと推定された。分解される H667 の場合、lactacystin により安定化が改善されたことより、生合成後細胞質においてプロテアソームで急速に分解されている可能性が示唆された。一方、R104C はペルオキシソーム膜上で分解されるので、最近我々が発見したペルオキシソーム型 lon protease が関与しているかもしれない。現在、変異 ALDP の選択的分解機構の詳細について解析しているが、機能ドメインを保持した変異 ALDP をもつ ALD 患者細胞では、ALDP の分解を抑制することにより、ALDP の機能を保持させることが可能かもしれない。

E. 結論

ミスセンス変異をもつ ALDP は、生合成後、多様な運命をたどることが明らかになった。またそのパターンは、ペルオキシソームへ局在化する変異、ミスターゲティングする変異、分解される変異に分類された。ALDP は遊離型ポリソームで生合成されることより、分解される部位は細胞質とペルオキシソーム膜上である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特に得ていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Une, M., Iguchi, Y., Sakamoto, T., Tomita, T., Suzuki, Y., Morita, M., and Imanaka, T.: ATP-dependent transport of bile acid intermediates across rat liver peroxisomal membranes. *J. Biochem. (Tokyo)* (2003) 134, 225-230.
- 2) Kurisu, M., Morita, M., Kashiwayama, Y., Yokota, S., Hayashi, H., Sakai, Y., Ohkuma, S., Nishimura M., and Imanaka, T.: Existence of catalase-less peroxisomes in Sf21 insect cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2003) 306, 169-176.
- 3) Kikuchi, M., Hatano, N., Yokota, S., Shimozawa, N., Imanaka, T., and Taniguchi, H.: Proteomic analysis of rat liver peroxisome: Presence of peroxisome-specific isozyme of lon protease. *J. Biol. Chem.* (2004) 279, 421-428.
- 4) Fujino, T., Une, M., Imanaka, T., Inoue, K., and Nishimaki-Mogami, T.: Structure-activity relationship of bile acids and bile acid analogs in regard to FXR activation. *L. Lipid Res.* (2004) 45, 132-138.
- 5) 柏山恭範, 今中常雄: ペルオキシソーム ABC タンパク質と脂肪酸代謝. 膜 (2003) 28, 263-270.
- ク質と脂肪酸代謝. (ミニシンポジウム) 日本膜学会第 25 年会, 2003, 5, 東京.
- 5) 柴田洋之, 柏山恭範, 守田雅志, 今中常雄, 加藤博章: ペルオキシソーム膜タンパク質局在化機構の解析—Pex19p のドメイン構造と機能. 第 3 回日本蛋白質科学会年会, 2003, 6, 札幌.
- 6) Imanaka, T.: Functional expression of PMP70, a peroxisomal ABC protein on peroxisomal membrane. (シンポジウム) 第 76 回日本生化学会大会, 2003, 10, 横浜.
- 7) Ito, R., Usuda, N., Imanaka, T., and Ito, M.: Peroxisomal transactions and related maturations of 3-ketoacyl-CoA thiolase in mammalian cells hardly producing Pex5p isoforms. 第 76 回日本生化学会大会, 2003, 10, 横浜.
- 8) Kashiwayama, Y., Asahina, K., Morita, M., Shibata, H., Kato, H., and Imanaka, T.: Role of Pex19p in the targeting of PMP70 to peroxisomes. 第 76 回日本生化学会大会, 2003, 10, 横浜.
- 9) Une, M., Fujino, T., Inoue, K., Imanaka, T., and Nishimaki-Mogami T. Structure-activity relationship of bile acid and bile acid analogs in regard to FXR activation. 第 76 回日本生化学会大会, 2003, 10, 横浜.
- 10) Shibata, H., Kashiwayama, Y., Morita, M., Imanaka, T., and Kato, H.: Domain structure and function of human Pex19p, a chaperonelike protein for intracellular trafficking of peroxisomal membrane proteins. 第 76 回日本生化学会大会, 2003, 10, 横浜.

2. 学会発表

- 1) Imanaka, T.: Targeting, assembly and function of peroxisomal ABC proteins. Symposium on ABC proteins and The 5th conference on ABC proteins and ion channels -from gene to disease-, 2003, 1. Kyoto.
- 2) 守田雅志, 田中亜路, 田邊公一, 植田和光, 今中常雄: ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質の ATP 結合・加水分解及びリン酸化. 日本薬学会第 123 年会, 2003, 3, 長崎.
- 3) 柏山恭範, 守田雅志, 柴田洋之, 加藤博章, 今中常雄: PMP70 の膜局在化機構における Pex19p の役割. 日本薬学会第 123 年会, 2003, 3, 長崎.
- 4) 今中常雄: ペルオキシソーム ABC タンパ

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特願 2003-72125

「ペルオキシソーム脂肪酸 β 酸化系活性化剤およびペルオキシソーム脂肪酸 β 酸化系活性化物質のスクリーニング方法」

分担研究報告書

運動失調に関する長鎖及び病態機序に関する研究班

(ALDの発症における新規遺伝子リピドシンの機能解析)

分担研究者 橋本 有弘 三菱化学生命科学研究所 主任研究員

協力研究者 宋時榮 三菱化学生命科学研究所 主任研究員

研究要旨 Lipidosinは副腎白質ジストロフィー(X-ALD)において障害の認められる、脳、副腎、生殖腺に特異的に発現する長鎖アシルCoAシンターゼである。しかし、従来のアシルCoAシンターゼとは一次構造の相同性が低く、新しいアシルCoAシンターゼ・サブファミリーを形成するものと考えられる。Lipidosinのショウジョウバエ変異体は超長鎖飽和脂肪酸を蓄積し、神経変性を示すこと、また、マウス、ラットおよびヒトLipidosinホモログは副腎白質ジストロフィー(X-ALD)で障害を受ける組織特異的な発現を示すことから、LipidosinがX-ALDにおける組織特異的障害の発症に関わっている可能性が考えられる。本年度は、実験的脱髄・髄鞘再生および一過性虚血後再灌流モデルを用いてLipidosinの役割を検討した結果、アストロサイトにおけるLipidosinを介する脂肪酸の同化が髄鞘再生・虚血障害への反応に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

ヒト副腎白質ジストロフィー(ALD)は、副腎白質ジストロフィー・タンパク質(ALDP)遺伝子の変異を原因とする遺伝性疾患であることが明らかにされている。

ALDにおいては、主に脳白質、脊髄、副腎、精巣に障害が現われるが、原因遺伝子ALDPの発現はこれらの組織に限定されるわけではなく、様々な組織で広範に認められる。したがって、ALDPの機能欠損とALDにおける組織特異的障害との間をつなぐ組織特異的な介在因子の存在が予想され、探索されてきた。しかし、有力な候補因子は見いだされておらず、ALDにおける障害発症機序は明らかではない。

私達はマウスおよびヒトより新規遺伝子リピドシン(*lipidosin*, *Lpd*)をクローニングした。*Lpd*のショウジョウバエ・ホモログは、神経変性および超長鎖脂肪酸の蓄積という、ALDに類似の表現型を示すことが報告され、*lpd*がヒトALD発症機序に関わっている可能性が考えられる。本研究は、マウスおよびヒトの新規遺伝子*lpd*の生理機能を解明し、ALD発症機構における*lpd*の役割を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1. イムノブロット解析によるラット*Lpd*の組織分
マウスに0.45% (w/w)クプリゾンを含む餌を6週

間与えて脱髄を誘導した後、クプリゾンの投与を中止し、髄鞘再生を促した。この脱髄-髄鞘再生過程におけるLipidosinの発現変化を、特異的モノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法によって検討した。

スナネズミは虚血性中枢神経変性のモデルとして、有用であることが知られている。スナネズミの片側の総頸動脈を10分間結紮後に再開放し、片側大脳半球に虚血性神経変性を誘導した(東京医科歯科大 黒岩俊彦博士との共同研究)。虚血性障害負荷後経時的に脳を灌流固定し、虚血側および対側半球におけるLipidosinの発現を蛍光抗体法によって比較検討した。

動物実験については三菱化学生命科学研究所動物飼育センターの定める規定にもとづき、動物愛護に配慮のうえ実施した。

C. 研究結果

1. クプリゾン誘起脱髄モデルでの髄鞘再生過程におけるLipidosinの発現増大

マウスにクプリゾンを含む餌を与えると、cingulum, dorsal hippocampal commissure, external capsuleなどに脱髄巣が形成されることが知られている。クプリゾン投与後、正常餌を2週間

与えた個体では髄鞘の再生が認められた。このとき髄鞘再生部位にLipidosin免疫反応強陽性のアストロサイトが認められた。クプリゾン投与動物の白質では対照動物に比べてGFAP免疫反応も増大しているが、GFAP陽性アストロサイトが白質全体に広く分布しているのに対し、Lipidosin強陽性のアストロサイトは抗MBP抗体陽性反応で同定した髄鞘再生部位に局在していることが明らかになった。これはLipidosin陽性アストロサイトが、脂肪酸の同化作用(anabolism)を介して髄鞘再生になんらかの機能を果たしている可能性を示唆している。

一方、Stearyl-CoA desaturase (SCD) は、髄鞘に含まれる代表的脂肪酸oleic acid合成のkey enzymeであることが知られている。抗SCD抗体(三菱化学生命科学研究所 星野歳三博士より恵与)を用いて髄鞘再生過程におけるSCDの局在性を検討したところLipidosinと同じように髄鞘再生にともなって発現増大し、髄鞘再生部位のLipidosin強陽性アストロサイトに発現していることが明らかになった。

2. スナネズミ虚血性神経変性モデルの髄鞘再生過程におけるLipidosinの発現誘導

虚血性神経変性を与えてから3日後の海馬では障害を受けたCA1ニューロンの細胞体周囲やneuropil、線状体を貫通する内包線維束周囲や外包などのアストロサイトにLipidosinの著しい増大を見いだした。このアストロサイトでは、クプリゾン投与動物同様にSCD発現増大も認められた。

D. 考察

脂肪酸の同化(anabolism)経路のkey enzymesであるLipidosinおよびSCDが、髄鞘再生時や虚血障害後の回復過程で、アストロサイトの同じサブセットに発現する、という知見から、私たちは「Lipidosin陽性アストロサイトが脂肪酸の同化を介して、髄鞘形成や虚血障害からの回復に重要な役割を果たしているのではないか」と考

えている。この新しい仮説を検証するため、Lipidosin遺伝子欠損マウスを作製した。現在、繁殖コロニーを確立しているところであり、今後、詳細な表現型解析を行う予定である。

E. 結論

マウスの実験的脱髄・髄鞘再生モデルおよびスナネズミの一過性脳虚血再灌流モデルでの解析から、アストロサイトにおけるLipidosinを介する脂肪酸の同化が髄鞘再生・虚血障害への反応に関与している可能性が示唆された。今後、Lipidosin遺伝子欠損マウスの解析を通じて、「X-ALDにおいてALDPの欠損によって生じた超長鎖脂肪酸の蓄積は、アストロサイトにおける脂肪酸同化経路に破綻をもたらし、その結果、脱髄が引き起こされる」という新しい仮説を提唱したいと考えている。

F. 研究発表

なし。

G. 知的所有権の取得状況

なし。

Ⅲ 研究成果の刊行に関する一覧表

業績

辻 省次

1. Iwata A, Maruyama M, Akagi T, Hashikawa T, Kanazawa I, Tsuji S et al. Alpha-synuclein degradation by serine protease neurosin: Implication for pathogenesis of synucleinopathies. *Hum Mol Genet* 2003 12:2625-2635, 2003
2. Sanpei K, Ikeuchi T, Tsuji S. DIRECT technologies for molecular cloning of genes containing expanded CAG repeats. *Methods in Molecular Biology* 217:73-81, 2003.
Sekijima, Y., Hashimoto, T., Onodera, O., Date, H., Okano, T., Naito, K., Tsuji, S. & Ikeda, S. Severe generalized dystonia as a presentation of a patient with aprataxin gene mutation. *Mov Disord* 18, 1198-1200, 2003
3. Yabe, I., Sasaki, H., Chen, D.H., Raskind, W.H., Bird, T.D., Yamashita, I., Tsuji, S., Kikuchi, S. & Tashiro, K. Spinocerebellar ataxia type 14 caused by a mutation in protein kinase C gamma. *Arch Neurol* 60, 1749-1751, 2003
4. Toyoshima Y, Yamada M, Onodera O, Shimohata M, Inenaga C, Fujita N, Morita M, Tsuji S, Takahashi H. SCA17 homozygote showing Huntington's disease-like phenotype. *Ann Neurol*. 2004 55:281-6,2004.
5. Sano, Y., Date, H, Igarashi, S, Onodera, O, Oyake, M, Takahashi, T, Hayashi, S, Morimatsu, M, Takahashi, H, Makifuchi, T, Fukuhara, N and Tsuji, S. Aprataxin, the causative protein for early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia, is a nuclear protein with a potential role as a nucleotide repair protein. *Ann. Neurol.* 55:241-249. 2004
6. Hara, K, Fukushima, T, Suzuki, T, Shimohata, T, Oyake, M, Ishiguro, H, Hirota, K, Miyashita, A, Kuwano, R, Kurisaki, H, Yomono, H, Goto, J, Kanazawa, I and Tsuji, S. Japanese SCA families with a distinct phenotype linked to a locus overlapping with SCA15 locus. *Neurol.* 62:648-651, 2004
7. Tsuji, S. Spinocerebellar ataxia type 17 (SCA17) –latest member of polyglutamine diseases highlights unanswered questions- *Arch. Neurol.* (in press)
8. Yamada, M, Tan, S-H, Inenaga, C, Tsuji, S, Takahashi, H. Sharing of polyglutamine transport by the neuronal nucleus and cytoplasm in CAG-repeat diseases. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* (in press)

鈴木康之

1. 鈴木康之：ペルオキシソーム病、無カタラーゼ血症。南山堂医学大事典（南山堂、東京）、2001
2. 鈴木康之：ペルオキシソームでの代謝異常症。小児科学第2版（医学書院、東京）、2001
3. Takemoto.K., Suzuki,Y., Horibe.R., Shimozawa,N., Wanders,RJA., & Kondo,N. : Gas chromatography/mass spectrometry analysis of very long chain fatty acids, docosahexaenoic acid, phytanic acid and plasmalogen for the screening of peroxisomal disorders. *Brain & Development*,27:481-487,2003
4. Jia,Y., Qi,C., Zhang,Z., Hashimoto,T., Rao,MS., Huyghe,S., Suzuki,Y., Verdhoven,Van,PP., Baes,M., Reddy,JK. : Overexpression of PPAR α regulated genes in liver in the absence of peroxisome proliferation in mice deficient in both L- and D- forms of enoyl-CoA hydratase/dehydrogenase enzymes of peroxisomal β -oxidation system. *J Biol Chem*,, 278:47232-47239,2003
5. Une,M., Iguchi,Y., Sakamoto,T., Tomita,T., Suzuki,Y., Morita,M., Imanaka,T. : ATP-dependent transport of bile acid intermediates across rat liver peroxisomal membranes. *J Biochem*, 134:225-230,2003
6. Shimozawa,M., Nagase,T., Takemoto,Y., Ohura,T., Suzuki,Y. Kondo,N. : Genetic heterogeneity of peroxisome biogenesis disorders among Japanese patients: evidence for a founder haplotype for the most common PEX10 gene mutation. *Am J Med Genet*, 120A:40-43,2003
7. Matsumoto,N., Tamuta,S., Furuki,S., Miyata,N., Moser,A., Shimozawa,N., Moser,W., Suzuki,Y., Kondo,N., Fujiki,Y. : Mutations in novel peroxin gene PEX26 that cause peroxisome-biogenesis disorders of complementation group 8 provide a genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet*,73:233-246,2003

8. Raas-Rothschild,A., Wanders, RJ., Mooijer,PA., Gooties,J., Waterham,HR., Gutman,A., Suzuki,Y., Shimozawa,N., Kondo,N., Eshel,G., Espeel,M., Roels,F., Korman,SH. : A PEX6-defective peroxisomal biogenesis disorder with severe phenotype in an infant, versus mild phenotype resembling Usher syndrome in the parents. *Am J Hum Genet*, 70:1062-1068,2002
9. Shimozawa,N., Nagase,T., Takemoto,Y., Suzuk,Y., Fujiki,Y., Wanders,RJ., Kondo,N. : A novel aberrant splicing mutation of the PEX16 gene in two patients with Zellweger syndrome. *Biochem Biophys Res Commun.*,292:109-112,2002
10. Susuki,Y., Iai,M., Kamei,A., Tanabe,Y., Chiba,s., Yamaguchi,S., Zhang,Z., Takemoto,Y., Shimozawa,N., Kondo,N. : Peroxisomal acyl Coa oxidase deficiency. *J Pediatr.*,140:128-130,2002
11. Takemoto,Y., Suzuki,Y., Shimozawa,N., Tamakoshi,A., Onodera,O., Tsuji,S., Kondo,N. : Epidemiology of X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *J Hum Genet.*,47:590-593,2002
12. Suzuki,Y., Shimozawa,N., Imamuea,A., Fukudaa,S., Zhang,Z., Orri T., Kondo,N. : Clinical, biological, genetic aspects and neuronal migration in peroxisome biogenesis disorders. *J InheritMetabDis.*,24:151-165,2001
13. Suzuki,Y., Shimozawa,N., Orii,T., Tsukamoto,T., Osumi,T., Fujiki,Y., Kondo,N. : Genetic and molecular bases of peroxisome biogenesis disorders. *Genetics in Medicine*,3:372-376,2001
14. Suzuki,Y., Imamura,A., Shimozawa,N., Kondo,N. : The clinical course of childhood and adolescent adrenoleukodystrophy before and Lorenzo's oil. *Brain & Development*,23:30-33,2001
15. Tamura,S., matsumoto,N., Imamura,S., Shimozawa,N., Suzuki,Y., Kondo,N., Fujiki,Y. : Phenotype-genocyte relationships in peroxisome biogenesis disorders of PEX1-defective complementation group 1 are defined by Pex1p-Pex6p interaction. *Biochem J.*,357:417-426,2001
16. Natsumoto,N., Tamura,S., Moser,A., Moser,H., Braverman,N., Shimozawa,N., Suzuki,Y., Kondo,N., Fujiki,Y. : The peroxin pex6p gene is impaired in peroxisome biogenesis disorders of complementation group 6. *J Hum Genet.*,46:273-277,2001
17. Yamaguchi,S., Iga,M., Kimura,M., Suzuki,Y., Shimozawa,N., Gukao,T., Kondo,N., Tazawa,Y., Orii,T. : Urinary organic acids in peroxisomal biogenesis disorders: a simple screening method. *J Chromat B.*,758:81-86,2001
18. Ito,R., Hunag,Y., Yao,C., Shimozawa,N., Suzuki,Y., Kondo,N., Imanaka,T., Usuda,N., Ito,M. : Temperature-sensitive phenotype of Chinese hamster ovary cells defective in PEX5 gene. *Biochem Biophys Res Commun.*,288:321-327,2001
19. Nakano,K., Suzuki,Y., Zhang,N.,Shimozawa,N., Ishii,N., Funatsuka,M., Shiraakawa,S., Itoh,M., Takashima,S., Une,M., Kana^aki,RR., Mukai,K., Osawa,M., Kondo,N. : D-bifunctional protein deficiency with fetal ascites,polyhydramnios, and contractures of hands and toes. *J Pediatr*,139:865-867,2001
20. Iwamura,A., Shimozawa,N., Suzuki,Y., Zhang,Z., Tsukamoto,T., Orii,T., Osumi,T., Kondo,N. : Temperature sensitive acyl-CoA oxidase import in group A peroxisome biogenesis disorders. *J Med Genet.*, 38:871-874,2001

今中常雄

1. Kurisu, M., Morita, M., Kashiwayama, Y., Yokota, S., Hayashi, H., Sakai, Y., Ohkuma, S., Nishimura, M., and Imanaka, T.: Existence of catalase-less peroxisomes in Sf21 insect cells. *Biochem. Biophys Res Commun.* 306, 169-176, 2003.
2. Une,M., Iguchi, Y., Sakamoto, T., Tomita, T., Suzuki, Y., Morita, M., and Imanaka, T.: ATP-dependent transport of bile acid intermediates across rat liver peroxisomal membranes. *J. Biochem.* 134, 225-230, 2003.
3. Kikuchi, M., Hatano, N., Yokota, S., Shimozawa, N., Imanaka, T., and Taniguchi, H.: Proteomic analysis of rat liver peroxisome: Presence of peroxisome-specific isozyme of lon protease. *J. Biol. Chem.* 279, 421-428, 2004.

4. Fujino, T., Une, M., Imanaka, T., Inoue, K., and Nishimaki-Mogami, T.: Structure-activity relationship of bile acids and bile acid analogs in regard to FXR activation. *J. Lipid Res.* 45, 132-138, 2004.
5. 柏山恭範、今中常雄：ペルオキシソーム ABC タンパク質と脂肪酸代謝。膜 28, 263-270, 2003.

加藤俊一

1. Yahata, T., Kato, S., et al.: A highly sensitive strategy for SCID-repopulating cell assay by direct injection of primitive human hematopoietic cells into NOD/SCID mice bone marrow. *Blood*, 2003;101:2905-13.
2. Hagihara, M., Kato, S., et al.: The in vitro generation of Ph1+ ALL-specific HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocytes using a synthetic 16 mer minor bcr-abl peptide. *Leuk Res.* 2003;27:253-7.
3. Hagihara, M., Kato, S., et al.: Increased frequency of CD3/8/56-positive umbilical cord blood T lymphocytes after allo-priming in vitro. *Ann Hematol.* 2003;82:166-7.
4. Gansuud, B., Kato, S., et al.: Umbilical cord blood dendritic cells are a rich source of soluble HLA-DR: synergistic effect of exosomes and dendritic cells on auto logous or allogeneic T-Cell proliferation. *Hum Immunol.* 2003;64:427-39.
5. Inoue, H., Kato, S., et al.: The kinetics of immune reconstitution after cord blood transplantation and selected CD34+ stem cell transplantation in children: comparison with bone marrow transplantation. *Int J Hematol.* 2003;77:399-407.
6. Ueda, Y., Kato, S., et al.: The effects of alphaGalCer-induced TCR Valpha24 Vbeta 11(+) natural killer T cells on NK cell cytotoxicity in umbilical cord blood. *Cancer Immunol Immunother.* 2003;52:625-31.
7. Yoshida, F., Kato, S., et al.: Complete resolution of severe chronic active Epstein-Barr virus infection by cultured, activated donor T lymphocyte infusion after nonmyeloablative stem cells allografting. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32:107-10.
8. Hagihara, M., Kato, S., et al.: Clinical effects of infusing anti-Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T-lymphocytes into patients with severe chronic active EBV infection. *Int J Hematol.* 2003;78:62-8.
9. Tsuboi, K., Kato, S., et al.: Multivariate analysis of risk factors for hemorrhagic cystitis after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32:903-7.
10. Ueda, Y., Kato, S., et al.: Frequencies of dendritic cells (myeloid DC and plasmacytoid DC) and their ratio reduced in pregnant women: comparison with umbilical cord blood and normal healthy adults. *Hum Immunol.* 2003;64:1141-51.
11. Muguruma, Y., Kato, S., et al.: In vivo and in vitro differentiation of myocytes from human bone marrow-derived multipotent pregenerator cells. *Exp Hematol.* 2003;31:1323-30.
12. Yasuda, Y., Yabe, H., Kato, S., et al.: Comparison of PCR-amplified JC virus control region sequences from multiple brain regions in PML. *Neurology.* 2003, Dec, 9;61(11):1617-9.
13. Tazume, K., Hagihara, M., Kato, S., et al.: Induction of cytomegalovirus-specific CD4+ cytotoxic T lymphocytes from seropositive or negative healthy subjects or stem cell transplant recipients. *Exp Hematol.* 2004, Jan;32(1):95-103.

加我牧子

1. Kaga, K., Kaga, M., Tamai, F., Shindo, M.: Auditory agnosia in children after herpes encephalitis. *Acta Otolaryngol.* 123:232-235, 2003
2. Hatori, T., Inagaki, M., Shirane, S., Kaga, M.: Developmental changes of auditory P300; Difference between two stimuli conditions, non-verbal sound and verbal sound. *Seisin Hoken Kenkyu*, 49:159-167, 2003

3. 田中恭子、稲垣真澄、加我牧子：発達障害のスクリーニングと早期発見 知的障害の子ども。小児看護、26：1637-1641,2003.
4. 稲垣真澄、白根聖子、加我牧子：AD/HD児の高次脳機能評価：視覚性弁別課題による検討。臨床脳波、45:767-772,2003
5. 白根聖子、稲垣真澄、堀口寿広、中村雅子、佐々木匡子、加我牧子：副腎白質ジストロフィー症における両耳分離聴能検査 (Dichotic Listening Test) 異常。脳と発達、2004、印刷中

佐々木秀直

1. 佐々木秀直, 田代邦雄：協調運動の診かた. *Clinical Neuroscience* 21 (3): 288-289, 2003
2. 佐々木秀直, 矢部一郎, 田代邦雄：脊髄小脳変性症の臨書像と鑑別診断. *日本医事新報* 4119: 16-24,2003
3. 矢部一郎, 佐々木秀直, 田代邦雄：Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6) の臨床像についての再考. *脳神経* 55: 299-306, 2003
4. 矢部一郎, 佐々木秀直：フリードライヒ病. *総合リハビリテーション* 31:445-450, 2003
5. Sasaki H, Yabe I, Tashiro K : The hereditary spinocerebellar ataxias in Japan. *Cytogenetic and Genome Research*100:198-205, 2003
6. Yabe I, Sasaki H, Takeichi N, Takei A, Hamada T, Fukushima K, Tashiro K : Positional Vertigo and Macroscopic Downbeat Positioning Nystagmus in Spinocerebellar Ataxia Type 6(SCA6). *J Neurol* 250: 440-443, 2003
7. Li M, Ishikawa K, Toru S, Tomimitsu H, Takashima M, Goto J, Takiyama Y, Sasaki H, Imoto I, Inazawa J, Toda T, Kanazawa I, Mizusawa H : Physical map and haplotype analysis of 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) type III in Japan. *J Hum Genet* ,48:111-118,2003
8. Yabe I, Sasaki H, Chen H-H, Raskind WH, Bird TD, Yamashita I, Tsuji S, Tashiro K : Spinocerebellar ataxia type 14 caused by a mutation in protein kinase C gamma. *Arch Neurol* 60:1749-1751, 2003

水澤英洋

1. Miura, Y., Misawa, N., Inagaki, Y., Yamamoto, N., Ito, M., Yagita, H., Okumura, K., Mizusawa, H., Koyanagi, Y. : TNF-related apoptosis-inducing ligand on HIV-1-infected macrophages induces neuronal apoptosis in murine model of HIV encephalopathy. *PNAS*, 100:2777-2782, 2003
2. Kubodera, T., Yokota, T., Ohwada, K., Ishikawa, K., Miura, H., Matsuoka, T., Mizusawa, H. : Proteolytic cleavage and cellular toxicity of the human $\alpha 1A$ calcium channel in spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). *Neuroscience Letters*, 341:74-78, 2003.
3. Furukawa, Y., Hashimoto, N., Yamakuni, T., Ishida, Y., Kato, C., Ogashiwa, M., Kobayashi, M., Kobayashi, T., Nonaka, I., Mizusawa, H., Song, S. : Down-regulation of an ankyrin repeat-containing protein, V-1, during skeletal muscle differentiation and its re-expression in the regenerative process of muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*, 13:32-41, 2003.
4. Kanda, T., Yamawaki, M., Mizusawa, H. : Sera from Guillain-Barre patients enhance leakage in blood-nerve barrier model. *Neurology*, 60:301-306, 2003
5. Li, M., Ishikawa, K., Toru, S., Tomimitsu, H., Takashima, M., Goto, J., Takiyama, Y., Sasaki, H., Imoto, I., Imazawa, J., Toda, T., Kanazawa, I., Mizusawa, H. : Physical map and haplotype analysis of 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) type III in Japan. *J Hum Genet*, 48:111-113, 2003
6. Mitoma, H., Ishida, K., Ikeda, M., Mizusawa, H. : Dual impairment of GABAA- and GABAB-receptor mediated synaptic responses by autoantibodies to glutamic acid decarboxylase. *J Neurol Sci*, 208:51-56, 2003

7. Owada, K., Uchiyama, T., Ishida, K., Mizusawa, H., Watabiki, S., Tsuchiya, K. : Motor weakness and cerebellar ataxia in Sjogren syndrome-indentification of antineuronal antibody: a case report. *J Neurol Sci*, 197:79-84, 2002.
8. Miura, Y., Kobayashi, Y., Mizusawa, H. : TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induces neuronal apoptosis in HIV-encephalopathy. *J Med Dent Sci*, 50:17-25, 2003.
9. Ishibashi, S., Kuroiwa, T., Endo, S., Okeda, R., Mizusawa, H. : Neurological dysfunction versus regional infarction volume after focal ischemia in mongolian gerbils. *Stroke*, 34:1501-1506, 2003.
10. Ishibashi, S., Yokota, T., Shiojiri, T., Matunaga, T., Tanaka, H., Nishina, K., Hirota, H., Inaba, A., Yamada, M., Kanda, T., Mizusawa, H. : Reversible acute axonal polyneuropathy associated with Wernicke-Korsakoff syndrome: impaired physiological nerve conduction due to thiamine deficiency? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74(5):674-676, 2003
11. Yamada, M., Sodeyama, N., Itoh, Y., Takahashi, A., Matsushita, M., Mizusawa, H. : Association of neprilysin polymorphism with cerebral amyloid angiopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74(6):749-751, 2003
12. Moinul Hossain AKM, Murata, T., Zhang, L., Taura, S., Saitoh, Y., Mizusawa, H., Oda, K., Matsushita, E., Okubo, Y., Shibuya, H. : Brain perfusion SPECT in patients with corticobasal degeneration: analysis using statistical parametric mapping. *Movement Disorders*, 18(6):697-703, 2003
13. Yokota, T., Sakamoto, N., Enomoto, N., Tanabe, Y., Miyagishi, M., Maekawa, S., Yi, L., Kurosaki, M., Taira, K., Watanabe, M., Mizusawa, H. : Inhibition of intracellular hepatitis C virus replication by synthetic and vector-derived small interfering RNAs. *EMBO reports*, 4(6):602-608, 2003
14. Mizusawa, H., Clark, H.B., Koeppe, A.F. : Spinocerebellar ataxias. (Olsson, Y., Dickson, D., Berberon, C., Hardy, J.A., Hauw, J.J., Jellinger, K., Lantos, P., Mizuno, Y., Mizusawa, H., eds), *Neurodegeneration: The Molecular Pathology of Dementia and Movement Disorders*, International Society of Neuropathology Press, Woerthsenec p242-256, 2003

金澤一郎

1. Yazawa, I., Hazeki, N., Nakase, H., Kanazawa, I., Tanaka, M. : Histone H3 is aberrantly phosphorylated in glutamine-repeat diseases. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 302:144-149, 2003
2. Okabe, S., Ugawa, Y., Kanazawa, I. : 0.2-Hz repetitive transcranial magnetic stimulation has no add-on effects as compared to a realistic sham stimulation in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 18(4):382-388, 2003
3. Kawahara, Y., Kwak, S., Sun, H., Ito, K., Hashida, H., Aizawa, H., Jeong, S.Y., Kanazawa, I. : Human spinal motoneurons express low relative abundance of GluR2 mRNA: an implication for excitotoxicity in ALS. *Journal of Neurochemistry*, 85:680-689, 2003
4. Takahashi, Y., Jeong, S.Y., Ogata, K., Goto, J., Hashida, H., Ishihara, K., Uchiyama, Y., Kanazawa, I. : Human skeletal muscle calcium channel $\alpha 1S$ is expressed in the basal ganglia: distinctive expression pattern among L-type Ca^{2+} channels. *Neuroscience research*, 45:129-137, 2003
5. Ugawa, Y., Hanajima, R., Terao, Y., Kanazawa, I. : Exaggerated 16-20 Hz motor cortical oscillation in patients with positive or negative myoclonus. *Clinical Neurophysiology*, 114:1278-1284, 2003
6. Kawahara, Y., Ito, K., Sun, H., Kanazawa, I., Kwak, S. : Low editing efficiency of GluR2 mRNA is associated with a low relative abundance of ADAR2 mRNA in white matter of normal human brain. *European J Neurosci*, 18:23-33, 2003
7. Hanajima, R., Furubayashi, T., Kobayashi, N., Shio, Y., Olabe, S., Kanazawa, I., Ugawa, Y. : Further evidence to support different mechanisms underlying intracortical inhibition of the motor cortex. *Exp Brain Res*, 151:427-434, 2003
8. Kaida, K., Kusunoki, S., Kamakura, K., Motoyoshi, K., Kanazawa, I. : GalNAc-GD1a in human peripheral nerve. *81:465-470*, 2003

9. Liu, W., Goto, J., Wang, Y.L., Murata, M., Wada, K., : Specific inhibition of Huntington's disease gene expression by siRNAs in cultured cells. *Proc Japan Acad SerB*, 79:293-298, 2003
10. Iwata, A., Maruyama, M., Akagi, T., Hashikawa, T., Kanazawa, I., Tsuji, S., Nukina, N. : Alpha-synuclein degradation by serine protease neurosin: implication for pathogenesis of synucleinopathies. *Human Molecular Genetics*, 12(20):2625-2635, 2004

服部孝道

1. Ito, S., Kawahara, S., Sakakibara, R., Oki, T., Arai, H., Oda, S., Hattori, T. : Combined treatment with LDL-apheresis, chenodeoxycholic acid and HMG-CoA reductase inhibitor for cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol Sci*, 216:179-182, 2003
2. Kanai, K., Kuwabara, S., Arai, K., Sung, J.Y., Ogawara, K., Hattori, Y. : Muscle cramp in Machado-Joseph disease: Altered motor axonal excitability properties and mexiletine treatment. *Brain*, 126:965-973, 2003
3. Uchihara, T., Tanaka, J., Funata, N., Arai, K., Hattori, T. : Influences of intranuclear inclusion on nuclear size - morphometric study on pontine neurons of neuronal intranuclear inclusion disease cases. *Acta Neuropathol*, 105:103-108, 2003
4. Yamaguchi, M., Arai, K., Asahina, M., Hattori, T. : Laryngeal stridor in multiple system atrophy. *Eur Neurol*, 49:154-159, 2003
5. Asahina, M., Kikkawa, Y., Uchiyama, T., Yoshiyama, M., Yamanishi, T., Hattori, T. : Cutaneous sympathetic function in patients with multiple system atrophy. *Clin Auton Res*, 13(2):91-93, 2003
6. Sakakibara, R., Matsuda, S., Uchiyama, T., Yoshiyama, M., Yamanishi, T., Hattori, T. : The effect on intranasal desmopressin on nocturnal waking in urination in multiple system atrophy patients with nocturnal polyuria. *Clin Auton Res*, 13(2):106-108, 2003
7. 内山智之、榊原隆次、服部孝道：各種神経疾患における排尿障害。臨床と研究、80(8):1442-1446, 2003
8. 内山智之、榊原隆次、服部孝道：中枢疾患に伴う尿失禁の。Urology View, 1(5):41-47, 2003
9. 服部孝道：脊髄小脳変性症。山口徹、北原光夫総編集、「今日の治療指針」2004年度版 p.638, (医学書院、東京) 2004

祖父江 元

1. Katsuno, M., Adachi, H., Sobue, G. : Sweat relief for Huntington's disease. *Nat Med*, in press, 2004
2. Katsuno, M., Adachi, H., Tanaka, F., Sobue, G. : Spinal and Bulbar musculature atrophy (SBMA): Ligand-dependent pathogenesis and therapeutic perspective. *J Mol Med*, in press, 2004
3. Koike, H., Misu, K., Sugiura, M., Iijima, M., Mori, K., Yamamoto, M., Hattori, M., Mukai, E., Ando, Y., Ikeda, S., Sobue, G. : Pathologic differences between early and late-onset type 1 (TTR Met30) familial amyloid polyneuropathy. *Neurology*, in press, 2004
4. Takeuchi, H., Niwa, J., Hishikawa, N., Ishigaki, S., Tanaka, F., Doyu, M. : Dorfin prevents cell death by reducing mitochondrial localizing mutant superoxide dismutase 1 in a neuronal cell model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem*, in press, 2004
5. Watanabe, H., Fukatsu, H., Katsuno, M., Sugiura, M., Hamada, K., Okada, Y., Hirayama, M., Ishigaki, T., Sobue, G. : Multiple regional 1H-MR spectroscopy in multiple system atrophy: NAA/Cr reduction in pontine base as a valuable diagnostic marker. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 75:103-109, 2004
6. Nodera, H., Bostock, H., Kuwabara, S., Sakamoto, T., Asanuma, K., Jia-Ying, S., Ogawara, K., Hattori, N., Hirayama, M., Sobue, G., Kaji, R. : Nerve excitability properties in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Brain*, 127:203-211, 2004
7. Ito, T., Niwa, J., Hishikawa, N., Ishigaki, S., Doyu, M., Sobue, G. : Dorfin localizes to Lewy bodies and ubiquitinates synphilin-1. *J Biol Chem*, 278:29106-29114, 2003

8. Ishihara,K., Yamagishi,N., Saito,Y., Adachi,H., Kobayashi,Y., Sobue,G., Otsuka,K., Hatayama,T. : Hsp105a suppresses the aggregation of truncated androgen receptor with expanded CAG repeats and celltoxicity. *J Biol Chem.*,278:25143-25150,2003
9. Hishikawa, n., Niwa,J., Doyu,M., Ito,T., Ishigaaki,S., Hashizume,Y., Sobue,G. : Dorfin localizes to the ubiquitylated inclusions in Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, multiple system atrophy, and amyotrophic lateral sclerosis. *Am. J Pathol.*,163:609-619,2003
10. Hattori,N., Yamamoto,M., Yoshihara,T., Koike,M., Nakagawa,N., Yoshikaawa,H., Ohnishi,A., Hayasaka,K., Onodera,O., Baba,M., Yasuda,H., Saito,T., Nakashima,K., Kira,J., Kaji,R., Oka,N., Sobue,G. and the Study Group for Hereditary Neuropathy in Japan : Demyelinating and axonal features of Charcot-Marie-Tooth disease with mutations of myelin-related proteins (PMP22,MPZ, and Cx32): a clinicopathological study of 205 Japanese patients. *Brain*,126:134-151m2003
11. Hishikawa,N., Hashizume,Y., Yoshida,M., Sobue,G. : Clinical and neuropathological correlates of Lewy body disease. *Acta Neuropathol.*,105:341-350,2003
12. Hamada,K., Hirayama,M., Watanabe,H., Kobayashi,R., Ito,H., Ioda,T., Koike,Y., Sobue,G. : Onset age and severity impairment are associated with reduction of myocardial 123I-MIBG uptake in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74:423-425,2003
13. Adachi,H., Katsuno,M., Minamiyama,M., Sang, C., Pagoulatous,G., Angelidis,C., Kusakabe,M., Yoshida,A., Kobayashi,Y., Doyu,M., Sobue,G. : Heat shock protein 70 chaperone overexpression ameliorates phenotypes of the spinal and bulbar muscular atrophy transgenic mouse model by reducing nuclear-localized mutant androgen receptor protein. *J Neurosci.*,23:2208-2211,2003
14. Abe,Y., Kachi,T., Arahata,Y., Yamada,T., Washimi,Y., Iwai,K., Ito,K., Yanagisawa,N., Sobue,G. : Occipital hypoperfusion in Parkinson's disease without dementia correlation to impaired cortical visual processing. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74:419-422,2003
15. Koike,H., Iijima,M., Sugiura,M., Mori,K., Hattori,N., Ito,H., Hirayama,M., Sobue,G. : Alcoholic neuropathy is clinicopathologically distant from thiamine-deficiency neuropathy. *AnnNeurol.*,54:19-29,2003
16. Katsuno,M., Adachi,H., Doyu,M., Minamiyama,M., Sang,C., Kobayashi,Y., Inukai,A., Sobue,G. : Leuprotein rescue polyglutamine-dependent phenotypes in a transgenic mouse model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature Medicine*,9:768-773,2003
17. Wada,M., Kimura,M., Daimon,M., Kurita,K., Kato,T., Johmura,Y., Johkura,K., Kuroiwa,Y., Sobue,G. : As usual phenotype of McLeod syndrome with late onset axonal neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74:1697-1698,2003
18. Katsuno,M., Adachi,H., Inukai,A., Sobue,G. : Transgenic mouse models of spinal bulbar muscular atrophy(SBMA). *Cytogenet Genome Res.*,100:243-251,2003
19. Mori,K., Iijima,M., Sugiura,M., Koike,H., Hattori,N., Ito,H., Hirayama,M., Sobue,G. : Sjogren's syndrome associated painful sensory neuropathy without sensory ataxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74:1230-1322,2003

小野寺 理

1. Sano, Y., Date, H., Igarashi, S., Onodera, O., Oyake, M., Takahashi, T., Hayashi, S., Morimatsu, M., Takahashi, H., Makifuchi, T., et al. (2004). Aprataxin, the causative protein for EAOH is a nuclear protein with a potential role as a DNA repair protein. *Ann Neurol* 55, 241-249.
2. Sekijima, Y., Hashimoto, T., Onodera, O., Date, H., Okano, T., Naito, K., Tsuji, S., and Ikeda, S. (2003). Severe generalized dystonia as a presentation of a patient with aprataxin gene mutation. *Mov Disord* 18, 1198-1200.
3. Toyoshima, Y., Yamada, M., Onodera, O., Shimohata, M., Inenaga, C., Fujita, N., Morita, M., Tsuji, S., and Takahashi, H. (2004). SCA17 homozygotes showing Huntington's disease-like phenotype. *Ann Neurol* 55, 281-286.

西澤正豊

1. Nishizawa, M., et al : Identification of a SACS gene missense mutation in ARSACS. *Neurology*, 52(19) : 107-109, 2004
2. 西澤正豊 : 最近の研究情報、特集「脊髄小脳変性症の最新情報」。「難病と在宅ケア」9(2) : 7-9, 2003
3. 西澤正豊他 : 遺伝性けい性対麻痺の遺伝子的研究。「脳神経」55(9) : 757-763, 2003
4. 西澤正豊他 : 脳梁ひ薄化を伴う遺伝性けい性対麻痺。「脳神経」55(9) : 765-770, 2003
5. 西澤正豊他 : 脊髄小脳変性症の治療の試み。「BIO Clinica」18(12) : 24(1064)-27(1067), 2003

黒岩義之

1. Wang L, Kuroiwa Y, Kamitani T, Li M, wang J ; Do P1 and N1 evoked by the ERP task reflect primary visual processing in Parkinson's disease? *Documenta Ophthalmologica*, 2001 102:83-93.
2. Omoto S, Kuroiwa Y, Li M, Doi H, Shimamura M, Koyana S, Segawa F, Suzuki Y: Modulation of event-related potentials in normal human subjects by visual divided attention to spatial and color factors. *Neurosci Lett* 2001 311:198-202.
3. Yamazaki T, Kamijo K, Kinuya T, Takaki Y, Kuroiwa Y: Multiple dipole analysis of visual event-related potential during oddball paradigm with silent counting. *Brain Topography*, 2001 13:161-168.
4. Yamazaki T, Kamijo K, Kinuya T, Takaki Y, Kuroiwa Y, Ochi A, Otsubo H: PC-based multiple equivalent current dipole source localization system and its applications. *Res Adv in Biomedical Eng* 2001 2:97-109.
5. Johkura K, Komiyama A, Kuroiwa Y: Sustained downgaze in coma after cardiac arrest. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001 71:278-279.
6. Nishiyama T, Johkura K, Johmura Y, Momoo T, Yamada H, Kuroiwa Y: Encephalitis with MRI abnormality as a manifestation of central nervous system involvement of adult T cell leukemic lymphoma. *Eur Neurology* 2001, 146:218-220.
7. Susuki K, Johkura K, Yuki N, Hasegawa O, Kuroiwa Y: Rapid resolution of nerve conduction blocks after plasmapheresis in Guillain-Barre syndrome associated with anti-GM1b IgG antibody. *J Neurol* 2001 248:148-150.
7. Li M, Kuroiwa Y, Wang L, Kamitani T, Takahashi T, Suzuki Y, Omoto S: Early sensory information processes are enhanced on visual oddball and S1-S2 tasks in Parkinson's disease. A visual event-related potentials study. *Parkinsonism and Related Disorders*. 2002, 9:329-340.
8. Yamada H, Momose T, Okada M, Kuroiwa Y: Anticholinergic drugs: response of parkinsonism not responsive to levodopa. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002 72:111-113.
9. Kamitani T, Kuroiwa Y, Wang L, Li M, Suzuki Y, Takahashi T, Ikegami T, Matsubara S: Visual event related potential changes in two subtypes of multiple system atrophy, MSA-C and MSA-P. *J Neurol* 2002 249: 975—982.
10. Yamazaki T, Kamijo K, Kinuya T, Takaki Y, Kuroiwa Y: Multiple dipole analysis of visual event-related potentials during oddball paradigm *International Congress Series (Excerpta Medica)*. 2002, 1232:863-870.
11. Kamijo K, Yamazaki T, Kinuya T, Takaki Y, Kuroiwa Y: Visual event-related potentials during movement imagery and the dipole analysis. *Brain Topography* 2002 14:279-292.
12. Li M, Kuroiwa Y, Omoto S, Hotta S, Suzuki Y, Kamitani T, Koyano S, Segawa F: The effect of stimulus-onset asynchrony on human visual event-related potentials during simple and choice reaction paradigms under constant or random conditions. *Neuroscience Letters*, 2003, 345:109-112.
13. Kamitani T, Kuroiwa Y, Li M, Ikegami T, Matsubara S: Relationship between cerebellar size and variation of the reaction time during a visual cognitive task in normal subjects. *J Neurol* 2003 250: 1001—1003.

- 1 4. Kamitani T, Kuroiwa Y, Wang L, Li M, Ikegami T, Matsubara S: Event-related potentials during visual S1-S2 paradigm in multiple system atrophy: relation to morphologic changes on brain MRI measurement. *changes Parkinsonism and Related Disorders*. 2003, 10:93-100.
- 1 5. Yamada H, Dezawa M, Kuroiwa Y: Transfer of the von Hippel-Lindau gene to neuronal progenitor cells in treatment for Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 2003, 54:352-359.
- 1 6. Shimamura M, Momose T, Takahashi T, Uchida T, Kuroiwa Y: Measurement using 18F-dopa and 11 C-N-methylspiperone PET of striatal dopaminergic function in corticobasal degeneration: comparison with progressive supranuclear palsy and normal controls. (in submission)

中島健二

1. 村上文伸、中曾一裕、佐久間研司、楠見公義、中島健二：フェニトイン長期内服中に認めた小脳半球外側に限局した萎縮性病変。 *神経内科* 58：338-339, 2003
2. Yasuhiro Watanabe, Yasutaka Shimizu, Katsuya Urakami, Eiji Matsushima, Kenji Nakashima, : Vertical ophthalmoplegia in a demented patient with striatopallidodentate calcification. *Psychiat Clin Neurosci* 57: 447-450.
3. Yosuke Wakutani, Hisanori Kowa, Masayoshi Kusumi, Kazuhiro Nakaso, Kenji Isoe-Wada, Hidetaka Yano, Katsuya Urakami, Takao Takeshima, Kenji Nakashima, : A haplotype of the methylenetetrahydrofolate reductase gene is protective against late-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 25: 291-294,2004

眞名信行

1. Tanaka, M., Machida, Y., Niu, S., Ikeda, T., Jana, N. R., Doi, H., Kurosawa, M., Nekooki, M., and Nukina, N. (2004). Trehalose effectively alleviates polyglutamine-mediated pathology in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Nat Med* 10, 148-154.
2. Zemskov, E. A., Jana, N. R., Kurosawa, M., Miyazaki, H., Sakamoto, N., Nekooki, M., and Nukina, N. (2003). Pro-apoptotic protein kinase C delta is associated with intranuclear inclusions in a transgenic model of Huntington's disease. *J Neurochem* 87, 395-406.
3. Zemskov, E. A., and Nukina, N. (2003). Impaired degradation of PKCalpha by proteasome in a cellular model of Huntington's disease. *Neuroreport* 14, 1435-1438.
4. Iwata, A., Maruyama, M., Akagi, T., Hashikawa, T., Kanazawa, I., Tsuji, S., and Nukina, N. (2003). Alpha-synuclein degradation by serine protease neurosin: implication for pathogenesis of synucleinopathies. *Hum Mol Genet* 12, 2625-2635.
5. Wen, F. C., Li, Y. H., Tsai, H. F., Lin, C. H., Li, C., Liu, C. S., Lii, C. K., Nukina, N., and Hsieh, M. (2003). Down-regulation of heat shock protein 27 in neuronal cells and non-neuronal cells expressing mutant ataxin-3. *FEBS Lett* 546, 307-314.
6. Tanaka, M., Machida, Y., Nishikawa, Y., Akagi, T., Hashikawa, T., Fujisawa, T., and Nukina, N. (2003). Expansion of polyglutamine induces the formation of quasi-aggregate in the early stage of protein fibrillization. *J Biol Chem* 278, 34717-34724.
7. Lee, J. A., Lim, C. S., Lee, S. H., Kim, H., Nukina, N., and Kaang, B. K. (2003). Aggregate formation and the impairment of long-term synaptic facilitation by ectopic expression of mutant huntingtin in *Aplysia* neurons. *J Neurochem* 85, 160-169.

山田光則

1. Toyoshima, Y., Yamada, M., Onodera, O. et al. : SCA17 homozygote showing Huntington's disease-like phenotype. *Annals of Neurology*, 55:281-286, 2004
2. 山田光則、高橋均：ポリグルタミン病の神経病理。 *脳と神経*, 55:921-931, 2003
3. 山田光則、高橋均：ポリグルタミン病の病理。大脳皮質における diffuse nuclear staining (1C2)。 *Cognition and Dementia*, 2:23-27, 2003

垣塚 彰

1. Matsumoto, M., Yada, M., Hatakeyama, H., Ishimoto, H., Tanimura, T., Tsuji, S., Kakizuka, A., Kitagawa, M., Nakayama, K. I. : Molecular clearance of ataxin-3 is regulated by a mammalian E4. *EMBOJ*, in press, 2004
2. Kobayashi, T., & Kakizuka, A. : Molecular analyses of Machado-Joseph disease. *Cytogenet. Genome Res.* 100:261-275, 2003
3. Kimura, Y., & Kakizuka, A. : Polyglutamine diseases and molecular chaperones. *IUBMB Life*, 55:337-345, 2003
4. Mizuno, Y., Hori, S., Kakizuka, A., & Okamoto, K. : Vacuole-creating protein in neuro-degenerative diseases. *Neurosci.Lett.*, 343:77-80, 2003

川上秀史

1. Oda, M., Maruyama, H., Komure, O., Morino, H., Terasawa, H., Izumi, Y., Imamura, T., Yasuda, M., Ichikawa, K., Ogawa, M., Mastumoto, M., Kawasaki, H. : Expansion of 44-47 CAG/CAA repeats in the TATA-binding protein gene may not be fully penetrat in spinocerebellar atxia 17. *Archives of Neurology*, in press
2. Terasawa, H., Oda, M., Morita, H., Miyachi, T., Izumi, Y., Maruyama, H., Matsumoto, M., Kawakami, H. : Molecular basis of prevalence and founder a¥effect for Japanese SCA6 population. *Neuroscience Lett.*, in press.
3. Honji, K., Ohshita, H., Kawakami, H., Naka, H., Imon, Y., Maruyama, H., Mimori, Y., Matsumoto, M. : Quantitative assessment of cerebral blood flow in genetically confirmed spinocerebellar ataxia type6. *Archives of Neurology*, in press

久野貞子

1. Izumi, Y., Maruyama, H., Oda, M., Morino, H., Okada, T., Ito, H., Sasaki, I., Tanaka, H., Komure, O., Udaka, F., Nakamura, S., Kawakami, H. : SCA8 repeat expansion: large CTA/CTG repeat alleles are more common in ataxic patients, including those with SCA6. *Am J Hum Genet*, 72:704-9, 2003

武田 篤

1. Nunomura A., Chiba S, Kosaka K, Takeda A, Castellani RJ, Smith MA., Perry G., Neuronal RNA oxidation is a prominent feature of dementia with Lewy bodies. *NeuroReport* 13 : 2035-2039, 2002.
2. Tateyama M., Takeda A., Onodera Y., Matsuzaki M., Hasegawa T., Nunomura A., Hirai K., Perry G., Smith MA., Itoyama Y., Oxidative stress and predominant Abeta42(43) deposition in myopathies with rimmed vacuoles. *Acta Neuropathologica* 105 : 581-585, 2003.
3. Hasegawa T., Matsuzaki M., Takeda A., Kikuchi A., Furukawa K., Shibahara S., Itoyama Y., Increased dopamine and its metabolites in SH-SY5Y neuroblastoma cells that express tyrosinase. *J. Neurochem.* 87 : 470-475, 2003.
4. Masaki T., Matsushita S., Arai H., Takeda A., Itoyama Y., Mochizuki H., Kamakura K., Ohara S., Higuchi S., Association between a polymorphism of BDNF gene and sporadic Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 54 : 276-277, 2003.
5. Tateyama M., Saito N., Fujihara K., Shiga Y., Takeda A., Narikawa K., Hasegawa T., Taguchi Y., Sakuma R., Onodera Y., Ohnuma A., Tobita M., Itoyama Y., Familial inclusion body myositis: a report on two Japanese sisters. *Internal Med.* 42 : 1035-1038, 2003.
6. Kikuchi A., Takeda A., Fujihara K., Kimpara T., Shiga Y., Tanji H., Nagai M., Ichinose H., Urano F., Okamura N., Arai H., Itoyama Y., The Arg (184) His mutant GTP cyclohydrase I, causing recessive hyperphenylalanemia, is responsible for dopa-responsive dystonia: a case. *Movement Disorders* (in press), 2004.