

glutathione–Sepharose 4B ビーズを加え 4°C で 1 時間 incubate した。ビーズは binding buffer で洗浄した後 immunoblotting に用いた。

8) Microtubule cosedimentation assay
polymerized microtubules は purified tubulin (5mg/ml/MES-based buffer) を 50 μ M の Taxol と GFP (final concentration ; 2.5mM) と 37°C で 30 分反応させ、その後 25°C で 100,000xg、30 分間遠心し、作成した。FEZ1 と GST の融合蛋白およびその deletion mutants (0.5 μ g) は 50 μ l の MES-based buffer [100mM MES-NaOH (pH 6.8), 1mM EGTA, 0.1mM EDTA, 0.5mM MgCl₂, 1mM dithiothreitol, 0.1mM GTP] と最終濃度 50 μ M Taxol を混和した溶液に混ぜ、100,000xg、25°C で 1 時間遠心を行い、上清を作成した polymerized microtubules (50 μ g) と混和し 37°C で 30 分反応させた。その後 100 μ l の 30% sucrose/MES-based buffer の上に重層して 25°C で 30,000xg で 30 分間遠心を行う。こうして得られた上清と pellet を immunoblotting で解析した。Agnoprotein と microtubules の結合は、JCI cells を PTN buffer [100mM Pipes-NaOH (pH 6.3), 30mM Tris-HCl, 50mM NaCl, 1mM EGTA, 1.25mM EDTA, 1mM dithiothreitol, 1% Triton X-100, 10mM PMSF] と Complete protease inhibitor cocktail を混和した buffer で溶解し 25°C で 100,000xg で 30 分間遠心を行い、得られた supernatant (100 μ g of protein/ 60 μ l) を polymerized microtubules (50 μ g) 混和し 50 μ M Taxol の存在下で 37°C で 30 分間 incubate した。その後 100 μ l の 30% sucrose/ MES-based buffer の上に重層して 25°C で 30,000xg で 30 分間遠心を行う。こうして得られた上清と pellet を immunoblotting で解析した。

(倫理面の配慮)

本研究では、JCV の感染機構の解析を目的とした。本実験で用いられた JCV は P2 で扱うべきウイルスであり、本研究は当研究室の P2 指

定実験室にて安全性に留意して行なわれた。また本実験で用いた大腸菌の系については人体に対する安全性は認められており、北海道大学の組換え DNA 申請においても承認を得ている。

C. 研究結果

1. Human adult brain cDNA library から Yeast two-hybrid 法を用いて、神経軸索伸長因子である Fasciculation and elongation protein zeta-1 (FEZ1) を agnoprotein 結合タンパク質として同定した。FEZ1 は、Caenorhabditis elegans UNC-76 のホモログとしてクローニングされた分子で、PKC zeta の下流で神経突起の伸長に関与していることが報告されている。
2. agnoprotein と FEZ1 の結合を、免疫沈降法により確認した。さらに共焦点顕微鏡を用い両者の細胞内局在の観察を行い、agnoprotein と FEZ1 は核周囲領域において共局在することを見出した。
3. agnoprotein は核周囲領域で微小管と結合することが報告されていることから、agnoprotein と FEZ1、微小管の 3 者の関係性について検討を加えた。agnoprotein および FEZ1 と微小管との結合性を微小管共沈法により検討したところ、両者はいずれも直接微小管に結合していることが示された。また、agnoprotein は FEZ1 と微小管との結合に対して競合的に作用し、FEZ1 を微小管から解離させた。
4. FEZ1 deletion mutant の組み換えタンパク質を精製し、FEZ1 に対する agnoprotein と微小管の結合領域を検索したところ、agnoprotein は、FEZ1 のコイルドコイル領域に結合したが、微小管はカルボキシル末端付近に結合した。さらにカルボキシル末端部のみからなる FEZ1 の組み換えタンパク質は、微小管には結合するが agnoprotein により微小管から解離することはなかった。

5. FEZ1 の生理的機能である神経突起伸長作用に対して agnoprotein が、どのように作用するかを、PC12 細胞を用いた実験系により検討したところ、agnoprotein は、FEZ1 の神経突起伸長作用を阻害することが判明した。
6. FEZ1 と JCV 感染の関係性について検討するために外来性に FEZ1 を過剰発現する細

胞株を樹立し、感染実験を行った。FEZ1 過剰発現細胞ではウイルス粒子の形成、ウイルスのプロモーターの転写活性には影響を与えなかったが、ウイルス粒子の局在が核に局限しており、感染後期において JC ウイルスの伝播が阻害されていた。

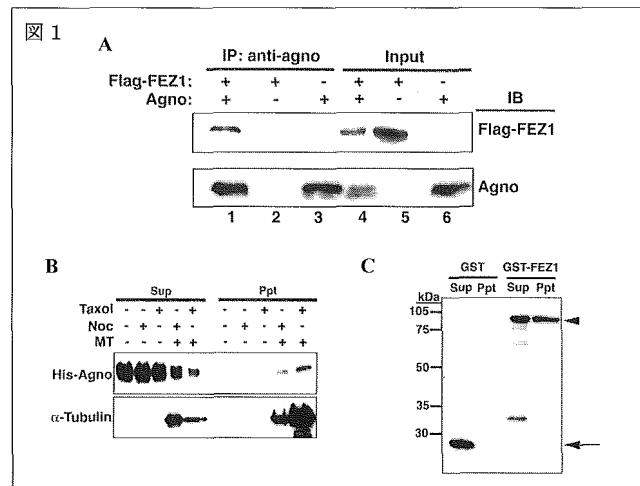


図 1

A: 抗 agnoprotein 抗体による免疫沈降実験。HEK293 細胞に Agnoprotein と Flag-FEZ1 を強制発現させ細胞を回収し抗 Agnoprotein 抗体で免疫沈降後、Western blot 法にて解析した。Agnoprotein と共沈しており、哺乳類の細胞株においても Agnoprotein と FEZ1 の相互作用が確認された。B: 精製 Agnoprotein を用いた微小管共沈実験。昆虫細胞で作成、精製した Agnoprotein を微小管と混合し、100000G、1 時間で超遠心し、上清と沈殿をそれぞれ Western blot 法にて解析した。Agnoprotein は、微小管と共沈しており、Agnoprotein と微小管は直接結合していることが示された。C: 精製 GST-FEZ1 を用いた微小管共沈実験。大腸菌で作成、精製した GST もしくは GST-FEZ1 を微小管と混合し、100000G、1 時間で超遠心し、上清と沈殿をそれぞれ Western blot 法にて解析した。GST-FEZ1 は、微小管と共沈しており、FEZ1 と微小管は直接結合していることが示された。

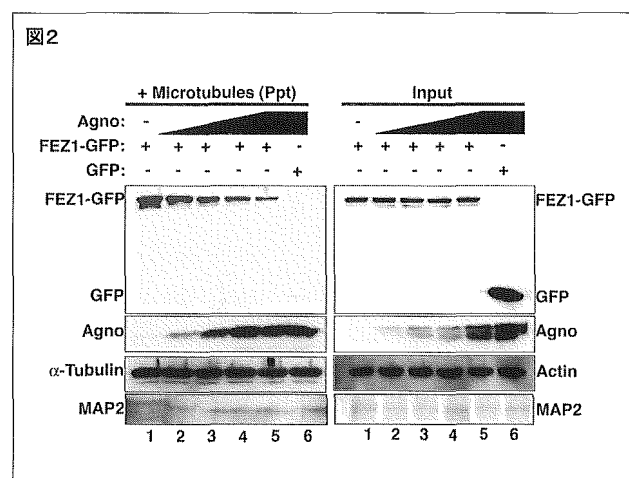


図 2 Agnoprotein による FEZ1 と微小管の結合への影響

サンプルに加える Agnoprotein の量を変化させ、FEZ1 と微小管との結合を微小管共沈実験にて検討した。Agnoprotein の量を増加していくに従って、微小管に結合する FEZ1 の量が減少した。

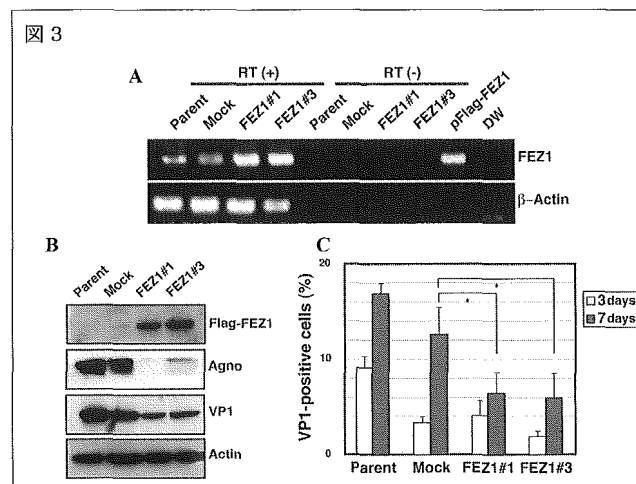


図 3

A: FEZ1 を過剰発現した SVG-A 細胞株の樹立。樹立した細胞株での FEZ1 の mRNA の量を RT-PCR により検出した。β-actin は内部標準として用いた。B: FEZ1 を過剰発現した SVG-A 細胞での JCV 感染実験。樹立した細胞株に JCV を接種し、1 週間後に回収し Western blot 法にて抗 Flag 抗体、抗 Agnoprotein 抗体、抗 VP1 抗体、抗 actin 抗体にて解析した。FEZ1 過剰発現細胞では、ウイルスタンパク質の発現が抑制された。C: 各細胞株にウイルスを接種して 3 日目と 7 日目に細胞を固定し、抗 VP1 抗体にて蛍光免疫染色を行い感染率を算出した。FEZ1 過剰発現細胞においては、Mock 細胞に比べ 7 日目における感染率の上昇が有意に抑制された。

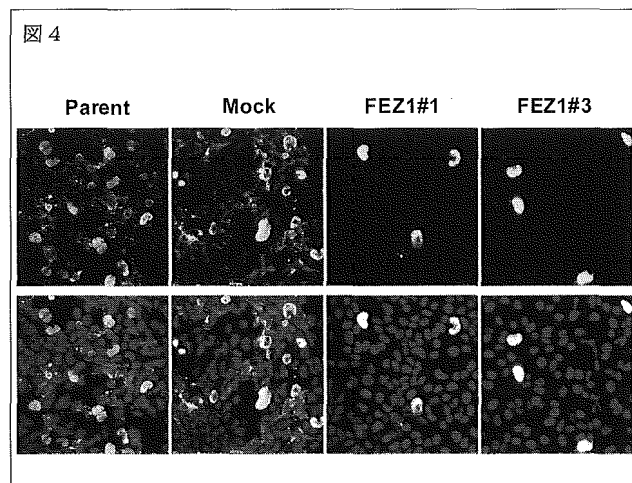


図 4 FEZ1 過剰発現細胞におけるウイルス粒子の局在

各細胞株に JCV を接種、1 週間培養後に固定し抗 VP1 抗体で蛍光免疫染色を行い、共焦点顕微鏡にて観察した。Parent と mock の細胞では、VP1 は核内および細胞質に点状に局在するのに対して、FEZ1 を過剰発現させた細胞では核内のみ局在した。

D. 考察

ウイルスタンパク質 agnoprotein と Yeast two-hybrid 法により同定された神経軸索伸長因子 FEZ1 の相互作用は、FEZ1 と微小管との結合を解離することにより FEZ1 の機能を阻害した。また、FEZ1 はウイルス粒子の細胞内輸送を阻害することによりウイルス感染を阻害した。JC ウイルス感受性細胞において FEZ1

の発現が低いことも考慮すると、FEZ1 は神経軸索伸長という現象のみならず、ウイルス粒子の細胞内輸送の抑制によるウイルス感染の阻害という現象に対しても重要な役割を担う分子であることが示唆された。さらに JCV の agnoprotein はウイルス感染の阻害因子である FEZ1 の機能を FEZ1 と微小管の結合を阻害することにより抑制し、その結果として効率良く

ウイルスを伝播させることにより、ウイルス感染を制御していることが予想された。

E. 結論

JCV の agnoprotein は神経軸索伸長因子 FEZ1 に結合し、その機能を阻害して、その結果として効率良くウイルスを伝播させることにより、ウイルス感染を制御していることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Orba Y, Sawa H, Iwata H, Tanaka S, Nagashima K : Inhibition of virus production in JC virus-infected cells by postinfection RNA interference. *J Virol* **78** : 7270-7273, 2004
- 2) Qu Q, Sawa H, Suzuki T, Semba S, Henmi C, Okada Y, Tsuda M, Tanaka S, Nagashima K : Nuclear entry mechanism of the human polyomavirus JC virus like particle : role of importins and the nuclear pore complex. *J Biol Chem* **279** : 27735-27742, 2004
- 3) Jin M, Sawa H, Suzuki T, Shimizu K, Makino Y, Tanaka S, Nojima T, Fujioka Y, Asamoto M, Suko N, Nagashima K : Investigation of simian virus 40 large T antigen in 18 autopsied malignant mesothelioma patients in Japan. *J Med Virol* **74** : 668-676, 2004
- 4) Sawa H, Komagome R : The JC virus-like particle overlay assay. In Lieberman PM (ed) *Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ 2004 ; **292** : 175-86
- 5) Henmi C, Sawa H, Iwata H, Orba Y, Tanaka S, Nagashima K : Isolation of a monoclonal antibody recognizing a

cell-surface molecule as a receptor for JC virus. *Biochem Biophys Res Commun* **327** : 242-251, 2005

- 6) Khalili K, White MK, Sawa H, Nagashima K, Safak M : The agnoprotein of polyomaviruses : A multifunctional auxiliary protein. *J Cell Physiol* **204** : 1-7, 2005

- 7) Suzuki T, Okada Y, Semba S, Orba Y, Yamanouchi S, Endo S, Tanaka S, Fujita T, Kuroda S, Nagashima K, Sawa H : Identification of FEZ1 as a protein that interacts with JC virus agnoprotein and microtubules : role of agnoprotein-induced dissociation of FEZ1 from microtubules in viral propagation. *J Biol Chem* **280** : 24948-24956, 2005.

2. 学会発表

- 1) Sawa H, Okada Y, Suzuki T, Orba Y, Sunden Y, Henmi C, Semba S, Takahashi H, Tanaka S, Nagashima K : Human polyomavirus agnoproteins disrupts the interaction between HP1alpha and LBR. 2nd International Conference Polyomaviruses and Human Diseases : Basic and Clinical Perspectives, 2004, Sapporo, Japan.
- 2) Henmi C, Sawa H, Orba Y, Tanaka S, Nagashima K : Identification of cell surface molecule as a candidate receptor for JC virus. 2nd International Conference Polyomaviruses and Human Diseases : Basic and Clinical Perspectives, 2004, Sapporo, Japan.
- 3) Suzuki T, Sawa H, Okada Y, Orba Y, Semba S, Nagashima K : JC virus agnoprotein dissociates Fasciculation and elongation protein Zeta I (FEZ1) from microtubules, and facilitates propagation of the viruses. 6th International

- Symposium on NeuroVirology, and HIV Neuroprotection Workshop, 2004, Sardinia, Italy.
- 4) Sunden Y, Sawa H, Suzuki T, Semba S, Umemura T, Nagashima K : Functional analyses of polyomavirus T antigens in JC virus infection using stable expression cell lines. 6th International Symposium on NeuroVirology, and HIV Neuroprotection Workshop, 2004, Sardinia, Italy
 - 5) 大場靖子, 澤 洋文, 長嶋和郎 : siRNA を用いた JC virus の感染抑制効果. 第 51 回日本ウイルス学会総会, 2003 年, 京都 149)
 - 逸見千寿香, 澤 洋文, 岩田博司, 大場靖子, 佐藤真実, 田中伸哉, 長嶋和郎 : 吸着阻害活性を指標とした JC virus (JCV) 感染阻害抗体の単離. 第 45 回日本神経病理学会, 2004 年, 前橋
 - 6) 寸田祐嗣, 岡田由紀, 澤 洋文, 大場靖子, 逸見千寿香, 仙葉慎吾, 田中伸哉, 長嶋和郎 : JC ウイルス感染細胞における agnoprotein の機能. 第 45 回日本神経病理学会, 2004 年, 前橋
 - 7) 鈴木忠樹, 屈 秋民, 澤 洋文, 仙葉慎吾, 岡田由紀, 逸見千寿香, 長嶋和郎 : JC ウイルス (JCV) virus-like particle (VLP) を用いた核内移行の解析. 第 45 回日本神経病理学会, 2004 年, 前橋
 - 8) 大場靖子, 澤 洋文, 長嶋和郎 : Small interfering RNA を用いた JC virus の感染抑制効果. 第 93 回日本病理学会総会, 2004 年, 札幌
 - 9) 中川智子, 澤 洋文, 大場靖子, 七戸秀夫, 黒田 敏, 長嶋和郎 : ウイルス性ヒト脳疾患の実験モデル動物の作成. 第 93 回日本病理学会総会, 2004 年, 札幌
 - 10) 近井佳奈子, 岩田博司, 仙葉慎吾, 大場靖子, 澤 洋文, 長嶋和郎 : JC virus 感染における replication protein A のリン酸化. 第 93 回日本病理学会総会, 2004 年, 札幌
 - 11) 仙葉慎吾, 岡田由紀, 澤 洋文, 長嶋和郎 : JC virus 感染における Cleavage stimulation factor の関与. 第 93 回日本病理学会総会, 2004 年, 札幌
 - 12) 逸見千寿香, 澤 洋文, 岩田博司, 大場靖子, 佐藤真実, 田中伸哉, 長嶋和郎 : 吸着阻害活性を指標としたイムノスクリーニング法による JC virus (JCV) 感染阻害抗体の単離. 第 93 回日本病理学会総会, 2004 年, 札幌
 - 13) 鈴木忠樹, 澤 洋文, 岡田由紀, 大場靖子, 仙葉慎吾, 藤田敏次, 黒田俊一, 長嶋和郎 : JC ウイルス感染におけるウイルス蛋白 agnoprotein と神経軸索伸張因子 FEZ1 の相互作用の機能解析. 第 27 回日本分子生物学会年会, 2004 年, 神戸
 - 14) 澤 洋文, 岡田由紀, 鈴木忠樹, 寸田祐嗣, 大場靖子, 長嶋和郎 : JC virus 後期蛋白 agnoprotein の機能解析. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年, 横浜
 - 15) 仙葉慎吾, 澤 洋文, 長嶋和郎 : JC virus 粒子形成時における Agnoprotein の機能. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年, 横浜
 - 16) 逸見千寿香, 澤 洋文, 岩田博司, 大場靖子, 佐藤真実, 田中伸哉, 長嶋和郎 : JC virus (JCV) 感染阻害抗体の単離. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年, 横浜
 - 17) 久保田佳奈子, 鈴木忠樹, 牧野吉倫, 大場靖子, 澤 洋文, 長嶋和郎 : JC virus 感染と replication protein A (RPA) のリン酸化に関する検討. 第 46 回日本神経病理学会, 2005 年, 宇都宮
 - 18) 的場智子, 鈴木忠樹, 大場靖子, 澤 洋文, 七戸秀夫, 黒田 敏, 落谷孝弘, 長嶋和郎 : JC virus 感染症のモデル動物の作成と

その治療法に関する検討. 第 46 回日本神経病理学会, 2005 年, 宇都宮

- 19) 鈴木忠樹, 岡田由紀, 大場靖子, 仙葉慎吾, 遠藤秀一, 藤田敏次, 黒田俊一, 長嶋和郎, 澤 洋文: JC ウイルス感染におけるウイルス蛋白 agnoprotein と神経軸索成長因子 FEZ1 の相互作用の研究. 第 9 回日本神経ウイルス研究会, 2005 年, 浜松
- 20) 寸田祐嗣, 鈴木忠樹, 大場靖子, 仙葉慎吾, 梅村孝司, 田中伸哉, 長嶋和郎, 澤 洋文: JC ウイルス初期蛋白質 large T

antigen の機能解析および特異抗体の作製. 第 9 回日本神経ウイルス研究会, 2005 年, 浜松

- 21) 鈴木忠樹, 岡田由紀, 大場靖子, 仙葉慎吾, 遠藤秀一, 長嶋和郎, 田中伸哉, 澤 洋文: JC ウイルス agnoprotein と神経軸索成長因子 FEZ1 の相互作用. 第 85 回北海道医学大会病理分科会, 2005 年, 札幌

H. 知的所有権の出願・取得状況
特に無し。

進行性多巢性白質脳症における oligodendroglia 変性機序の解析 ～PML、SUMO-1、ユビキチンなど PML 核体関連蛋白の発現解析から～

分担研究者：原 由紀子 杏林大学医学部病理学教室

研究要旨

進行性多層性白質脳症の感染 oligodendroglia では、promyelocytic leukemia protein nuclear bodies (PML核体)とよばれる核内構造が関与しJCウイルスの封入体が形成されるが、その後の細胞変性機序は明らかでない。そこで本症の脱髄・変性機序を明らかにするため、PML 核体関連蛋白 (PML、SUMO-1、ユビキチン) の発現と細胞内局在を検討した。その結果、PML 核体は核内ウイルス封入体形成後は崩壊することが明らかになった。また、SUMO-1 とユビキチンは、PML 核体の変性に関与すると報告されている他の疾患(ポリグルタミン病や単純ヘルペスウイルス感染症)とは異なった動態を示し、本疾患独自の細胞変性機序の存在が示唆された。

A. 研究目的

進行性多層性白質脳症における oligodendroglia の変性機序を明らかにするため、核内ウイルス封入体形成とその後の細胞変性過程における PML 核体関連蛋白 (PML、SUMO-1、ユビキチン) の動態を解析する。

B. 研究方法

剖検で得られた 5 症例の脳組織を、HE 染色、KB 染色、JCV カプシド蛋白、PML、SUMO-1、ユビキチンに対する免疫染色で解析した。
(倫理面への配慮) 本研究は個人情報を含んでいないので、倫理面での影響はない。

C. 研究結果

組織学的に、脱髄巣の辺縁ではウイルス感染の進行に伴い (i) 極軽度の核腫大を示す小型細胞、(ii) 腫大した核の核膜近傍に PML 核体を示す細胞、(iii) 腫大した核内に full inclusion を

有する細胞が認められた。これらの分布は、脱髄と変性の進行とよく相関していた。

ウイルスカプシド蛋白を免疫染色すると、小型の感染細胞には陰性であったが、PML 核体を有する細胞では PML 核体にカプシド蛋白が集積し、full inclusion を有する細胞では腫大した核全体にカプシド蛋白のびまん性分布を認めた。PML 核体は、封入体形成後は崩壊すると考えられた。

SUMO-1 蛋白は、少数の感染細胞の PML 核体で陽性となったが、full inclusion 形成細胞では染色性を示さなかった。ユビキチンの染色性は、感染初期の細胞では PML 核体に見られたが、full inclusion 形成細胞では細胞質に認められた。

D. 考察

JCV 感染 oligodendroglia の細胞変性には、細胞の高次核機能を担う PML 核体の崩壊が関与し、その過程で SUMO-1 やユビキチンは、

ポリグルタミン病や単純ヘルペスウイルス感染とは異なった動態を示すと考えられた。

E. 結論

JCV 感染 oligodendroglia の変性に、PML 核体の動的変化が関係する。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 宍戸-原由紀子：JC ウイルスはヒトに腫瘍を誘導するか？ 医学のあゆみ, 2005 **214** : 223

2. 学会発表

- 1) 宍戸-原由紀子, 内原 俊記：進行性多巣性白質脳症における PML 核体の役割：PML,

SUMO-1, ユビキチンの発現. 第 10 回日本神経感染症学会, 2005 年 10 月, 東京

- 2) 宍戸-原由紀子：進行性多巣性白質脳症の核内ウイルス封入体形成メカニズム—JC ウイルスは PML 核体を足場に粒子形成する—. 第 9 回日本神経ウイルス研究会, 2005 年 6 月, 浜松

- 3) 宍戸-原由紀子, 内原俊記：進行性多巣性白質脳症における promyelocytic leukemia (PML) 蛋白の発現：JC ウイルスは PML 核体を足場に粒子形成する. 第 46 回日本神経病理学会, 2005 年 5 月, 宇都宮

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Mizusawa H, Nakamura Y, Noguchi M, Furukawa Y, Ishida C, Kuji I, Mitani K, Murayama S, Kohriyama T, Katayama S, Yamashita M, Yamamoto T, Udaka F, Kawakami A, Ihara Y, Nishinaka T, Kuroda S, Suzuki N, Shiga Y, Arai H, Maruyama M, Yamada M.	Clinical diagnosis of MM2-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease	Neurology	64	643-648	2005
Hamaguchi T, Okino S, Sodeyama N, Itoh Y, Takahashi A, Otomo E, Matsushita M, Mizusawa H.	Association of a polymorphism of the transforming growth factor- β 1 gene with cerebral amyloid angiopathy	J Neurol Neurosurg Psychiatry	76	696-699	2005
Tsuchiya K, Murayama S, Mitani K, Oda T, Arima K, Mimura M, Nagura H, Haga C, Akiyama H, Yamanouchi H, Mizusawa H.	Constant and severe involvement of Betz cells in corticobasal degeneration is not consistent with pyramidal signs: a clinicopathological study of ten autopsy cases	Acta Neuropathol	109	353-366	2005
Hachiya N S, Ohkubo T, Kozuka Y, Yamazaki M, Mori O, Mizusawa H, Sakasegawa Y, Kaneko K.	More than a 100-fold increase in immunoblot signals of laser-microdissected inclusion bodies with an excessive aggregation property by oligomeric actin interacting protein 2/D-lactate dehydrogenase protein 2	Anal Biochem	347	106-111	2005
Ishida C, Okino S, Kitamoto T, Yamada M.	Involvement of the peripheral nervous system in human prion diseases including dural graft associated Creutzfeldt-Jakob disease.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	76	325-329	2005
Shiga Y, Wakabayashi H, Miyazawa K, Kido H, Itoyama Y.	14-3-3 protein levels and isoform patterns in the cerebrospinal fluid of Creutzfeldt-Jakob disease patients in the progressive and terminal stage	J Clin Neurosci	in press		2006
Sekiya S, Noda K, Nishikawa F, Yokoyama T, Kumar P. K. R., Nishikawa S.	Characterization and application of a novel RNA aptamer against the mouse prion protein	J Biochem	in press		2006

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Yokoyama T, Shimada K, Tagawa Y, Ushiki YK, Iwamaru Y, Hayashi HK, Shinagawa M.	Western blot assessment of prion inactivation by alkali treatment in the process of horticultural fertilizer production from meat meal.	Soil Sci Plant Nutr.	in press		2006
Kobayashi Y, Kohno N, Wanibe S, Hirayasu K, Uemori H, Tagawa Y, Yokoyama T, Shinagawa M.	A solid-phase immunoassay of protease-resistant prion protein with filtration blotting involving sodium dodecyl sulfate.	Anal Biochem	in press		2006
Shimada K, Hayashi HK, Ookubo Y, Iwamaru Y, Imamura M, Takata M, Schmerr MJ, Shinagawa M, Yokoyama T.	Rapid PrPSc detection in lymphoid tissue and application to scrapie surveillance of fallen stock in Japan: variable PrPSc accumulation in palatal tonsil in natural scrapie.	Microbiol Immunol	49	801-804	2005
Katsuno T, Morishima-Kawashima M, Saito Y, Yamanouchi H, Ishiura S, Murayama S, Ihara Y.	Independent accumulations of tau and amyloid β -protein in the human entorhinal cortex.	Neurology	64	687-692	2005
Ishigami A, Ohsawa T, Hiratsuka M, Taguchi H, Kobayashi S, Saito Y, Murayama S, Asaga H, Toda T, Kimura N, Maruyama N.	Abnormal accumulation of citrullinated proteins catalyzed by peptidylarginine deiminase in hippocampal extracts from patients with Alzheimer's disease.	Neurosci Res	80	120-128	2005
Kobayashi S, Hasegawa S, Maki T, Murayama S.	Retrograde Degeneration of the Corticospinal Tract Associated with Pontine Infarction.	J Neurol Sci	236	91-93	2005
Yoshimi K, Ren Yong-Ri, Seki T, Yamada M, Ooizumi H, Onodera M, Saito Y, Murayama S, Okano H, Mizuno Y, Mochizuki H.	Possibility for neurogenesis in the substantia nigra of Parkinsonian brain.	Ann Neurol	58	31-40	2005
Kobayashi S, Taniguchi H, Murayama S, Sakurai M, Kanazawa I.	Man-in-the-barrel syndrome caused by bilateral intratumoral hemorrhage.	Eur Neurol	54	164-166	2005
Saito Y, Motoyoshi Y, Kashima T, Izumiyama-Shimomura N, Toda T, Nakano I, Hasegawa M, Murayama S.	Unique tauopathy in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy.	J Neuropathol Exp Neurol	64	1118-1126	2005
Sasaki K, Doh-ura K, Wakisaka Y, Tomoda H, Iwaki T.	Fatal familial insomnia with an unusual prion protein deposition pattern: An autopsy report with an experimental transmission study	Neuropathol Appl Neurobiol	31	80-87	2005

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Nakagawa Y, Kawashima T, Yamada T, Harano M, Monji A, Yuzuriha T, Iwaki T.	Aluminum chloride does not facilitate deposition of human synthetic amyloid β 1-42 peptide in the rat ventricular system of a short-term infusion model	Neuropathology	25	195-200	2005
Ohyagi Y, Asahara H, Chui D, Tsuruta Y, Sakae N, Miyoshi K, Yamada T, Kikuchi H, Taniwaki T, Murai H, Ikezoe K, Furuya H, Kawarabayashi T, Shoji M, Checler F, Iwaki T, Makifuchi T, Takeda K, Kira J, Tabira T.	Intracellular A β 42 activates p53 promoter: a pathway to neurodegeneration in Alzheimer's disease	FASEB J	19	255-257	2005
Hachiya NS, Yamada M, Watanabe K, Jozuka A, Ohkubo T, Sano K, Takeuchi Y, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K.	Mitochondrial localization of cellular prion protein (Pr ^{PC}) invokes neuronal apoptosis in aged transgenic mice overexpressing Pr ^{PC}	Neurosci Lett	74	98-103	2005
Hachiya NS, Watanabe K, Kawabata MY, Jozuka A, Ohkubo T, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K.	Prion protein with Y145 STOP mutation induces mitochondria-mediated apoptosis and Pr ^{PC} -containing deposits in vitro	Biochem Biophys Res Commun	327	894-899	2005
Furuoka H, Yabuzoe A, Horiuchi M, Tagawa Y, Yokoyama T, Yamakawa Y, Shinagawa M, Sata T.	Effective antigen-retrieval method for immunohistochemical detection of abnormal isoform of prion proteins in animals.	Acta Neuropathol	109	263-271	2005
Kataoka N, Nishimura M, Horiuchi M, Ishiguro N.	Surveillance of chronic wasting disease in sika deer, Cervus nippon, from Tokachi district in Hokkaido.	J Vet Med Sci	67	349-351	2005
Kurosaki Y, Ishiguro N, Horiuchi M, Shinagawa M.	Polymorphisms of caprine PrP gene detected in Japan.	J Vet Med Sci	67	321-323	2005
Inanami O, Hashida S, Izuka D, Horiuchi M, Hiraoka W, Shimoyama Y, Nakamura H, Inagaki F, Kuwabara M.	Conformational change in full-length mouse prion: A site-directed spin-labeling study.	Biochem Biophys Res Commun	335	785-792	2005
Sakudo A, Lee DC, Nakamura I, Tamiuchi Y, Saeki K, Matsumoto Y, Itohara S, Ikuta K, Onodera T.	Cell-autonomous PrP-Doppel interaction regulates apoptosis in PrP gene-deficient neuronal cells.	Biochem Biophys Res Commun	333(2)	448-454	2005
Vassallo N, Herms J, Behrens C, Krebs B, Saeki K, Onodera T, Windl O, Kretzschmar HA.	Activation of phosphatidylinositol 3-kinase by cellular prion protein and its role in cell survival	Biochem Biophys Res Commun	332(1)	75-82	2005

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Shyu WC, Chen CP, Saeki K, Kubosaki A, Matusmoto Y, Onodera T, Ding DC, Chiang MF, Lee YJ, Lin SZ, Li H.	Hypoglycemia enhances the expression of prion protein and heat-shock protein 70 in a mouse neuroblastoma cell line	J Neurosci Res	80 (6)	887-894	2005
Inoue Y, Yamakawa Y, Sakudo A, Kinumi T, Nakamura Y, Matsumoto Y, Saeki K, Kamiyama T, Onodera T, Nishijima M.	Infection route-independent accumulation of splenic abnormal prion protein.	Jpn J Infect Dis	58 (2)	78-82	2005
Sakudo A, Lee DC, Lee S, Nakamura T, Matsumoto Y, Saeki K, Itohara S, Ikuta K, Onodera T.	PrP cooperates with STI1 to regulate SOD activity in PrP-deficient neuronal cell line.	Biochem Biophys Res Commun	328 (1)	14-19	2005
Sakudo A, Lee DC, Nishimura T, Li S, Tsuji S, Nakamura T, Matsumoto Y, Saeki K, Itohara S, Ikuta K, Onodera T.	Octapeptide repeat region and N-terminal half of hydrophobic region of prion protein (PrP) mediate PrP-dependent activation of superoxide dismutase.	Biochem Biophys Res Commun	326 (3)	600-606	2005
Yamanaka H, Ishibashi D, Yamaguchi N, Yoshikawa D, Nakamura R, Okimura N, Arakawa T, Tsuji T, Katamine S, Sakaguchi S.	Enhanced mucosal immunogenicity of prion protein following fusion with B subunit of Escherichia coli heat-labile enterotoxin	Vaccine	In press		2006
Sakurai-Yamashita Y, Sakaguchi S, Yoshikawa D, Okimura N, Masuda Y, Katamine S, Niwa M.	Female-specific neuroprotection against transient brain ischemia observed in mice devoid of prion protein is abolished by ectopic expression of prion protein-like protein	Neuroscience	136	281-287	2005
Shibata A, Tokunaga T, Asai D, Koizumi O, Mohri S, Nakai M, Yakabe Y, Nose T, Shimohigashi Y.	Ligand-inducing conformation changes in the estrogen receptor C-terminal tail moiety and their sensing by polyclonal antibodies.	Peptide Science		351-354	2005
Kobayashi A, Satoh S, Ironside J W, Mohri S, Kitamoto T.	Type 1 and type 2 human PrPSc have different aggregation sizes in methionine homozygotes with sporadic, iatrogenic and variant Creutzfeldt-Jakob disease.	J Gen Virol	86	237-240	2005
K.Satoh.	14-3-3 protein, total tau and phosphorylated tau in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease and neurodegenerative disease in Japan	Cell Mol Neurobiol	in press		2005

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
S. Shirabe.	Therapeutic Trial and Diagnostic Markers of Human Prion Diseases	21 COE Hokkaido University The 9 Symposium for Zoonosis Control Pathogenesis and Etiology of Zoonoses Causing Encephalitis and / or Encephalopathy	5	5	2005
Hasegawa T, Ukai W, Jo DG, Xu X, Mattson MP, Nakagawa M, Araki W, Saito T, Yamada T.	Homocysteic acid induces intraneuronal accumulation of neurotoxic Aβ42: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease.	J Neurosci Res	80	869-876	2005
Hirata K, Yamaguchi H, Takamura Y, Takagi A, Fukushima T, Iwakami N, Saitoh A, Nakagawa M, Yamada T.	A novel neurotrophic agent, T-817MA [1-(3-[2-(1-benzothiophen-5-yl)ethoxy]propyl)-3-azetidinol maleate], attenuates amyloid-beta-induced neurotoxicity and promotes neurite outgrowth in rat cultured central nervous system neurons.	J Pharmacol Exp Ther	314	252-259	2005
Tsuboi Y, Baba Y, Doh-ura K, Imamura A, Fujioka S, Yamada T.	Diffusion-weighted MRI in familial Creutzfeldt-Jakob disease with the codon 200 mutation in the prion protein gene.	J Neurol Sci	232	45-49	2005
Matsunaga Y, Yamada T.	Hydrolytic Activity of Amyloid-beta and its Inhibition with Short Peptides.	Curr Med Chem	5	165-170	2005
Satoh K, Hata M, Shimizu T, Yokota H, Akatsu H, Yamamoto T, Kosaka K, Yamada T.	Lib, transcriptionally induced in senile plaque-associated astrocytes, promotes glial transmigration through extracellular matrix.	Biochem Biophys Res Commun	335	631-636	2005
Nakano S, Yamashita F, Matsuda H, Kodama C, Yamada T.	Relationship between Delusions and Regional Cerebral Blood Flow in Alzheimer's Disease.	Dement Geriatr Cogn Disord	21	16-21	2006

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Kawatake S, Nishimura Y, Sakaguchi S, Iwaki T, Doh-ura K.	Surface plasmon resonance analysis for the screening of anti-prion compounds	Biol Pharm Bull	in press		2006
Tsuboi Y, Baba Y, Doh-ura K, Imamura A, Fujioka S, Yamada T.	Diffusion-weighted MRI in familial Creutzfeldt-Jacob disease with the codon 200 mutation in the prion protein gene	J Neurol Sci	232	45-49	2005
Todd NV, Morrow J, Doh-ura K, Dealler S, O'Hare S, Farling P, Duddy M, Rainov NG.	Cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate in human variant Creutzfeldt-Jakob disease	J Infect Dis	50(5)	394-396	2005
Sasaki K, Doh-Ura K, Wakisaka Y, Tomoda H, Iwaki T.	Fatal familial insomnia with an unusual prion protein deposition pattern: an autopsy report with an experimental transmission study	Neuropathol Appl Neurobiol	31(1)	80-87	2005
Miki K, Komase K, Mgone CS, Kawanishi R, Iijima M, Mgone JM, Asuo PG, Alpers MP, Takasu T, Mizutani T.	Molecular analysis of measles virus genome derived from SSPE and acute measles patients in Papua New Guinea.	J Med Virol	68	105-112	2002
Mgone CS, Mgone JM, Takasu T, Miki K, Kawanishi R, Asuo PG, Kono J, Komase K, Alpers MP.	Clinical presentation of subacute sclerosing panencephalitis in Papua New Guinea	Trop Med Int Trop Health	8	1-9	2003
Takasu T, Mgone JM, Mgone CS, Miki K, Komase K, Namee H, Saito Y, Kokubun Y, Nishimura T, Kawanishi R, Mizutani T, Markus TJ, Kono J, Asuo PG, Alpers MP.	A continuing high incidence of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in the Eastern Highlands of Papua New Guinea.	Epidemiol Infect	131	887-898	2003
Ichiyama T, Ueno Y, Hasegawa M, Ishikawa Y, Matsubara T, Furukawa S.	Intravenous immunoglobulin does not increase FcγRIIB expression in monocytes/macrophages during acute Kawasaki disease.	Rheumatology	44(3)	314-317	2005
Ichiyama T, Maeba S, Suenaga N, Saito K, Matsubara T, Furukawa S.	Analysis of cytokine levels in cerebrospinal fluid in mumps meningitis: comparison with echovirus type 30 meningitis.	Cytokine	30(5)	243-247	2005
Maeba S, Ichiyama T, Ueno Y, Makata H, Matsubara T, Furukawa S.	Effect of montelukast ion nuclear factorκB activation and proinflammatory molecules.	Ann Allergy Asthma Immunol	94(6)	670-674	2005

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Matsubara T, Ichiyama T, Furukawa S.	Immunological profile of peripheral blood lymphocytes and monocytes/macrophages in Kawasaki disease.	Clin Exp Immunol	141(3)	381-387	2005
Ozawa H, Toba M, Nakamoto M, Noma S, Ichiyama T, Takahashi H.	Increased cytokine levels in a cerebral mycotic aneurysm in a child with Down's syndrome.	Brain Dev	27(6)	434-436	2005
Ichiyama T, Hasegawa M, Ueno Y, Makata H, Matsubara T, Furukawa S.	Cysteinyl leukotrienes induce monocyte chemoattractant protein 1 in human monocytes/macrophages.	Clin Exp Allergy	35(9)	1214-1219	2005
Hirai R, Ayabe M, Shoji H, Kaji M, Ichiyama T, Sakai K.	Herpes simplex encephalitis presenting with bilateral hippocampal lesions on magnetic resonance imaging, simultaneously complicated by small cell lung carcinoma.	Intern Med	44(9)	1006-1008	2005
Imaizumi T, Nishizaka S, Ayabe M, Shoji H, Ichiyama T, Sugita Y.	Probable chronic viral encephalitis with microglial nodules in the entire brain: a case report with necropsy.	Med Sci Monit	11(5)	CS23-26	2005
Ichiyama T, Morishima T, Suenaga N, Kajimoto M, Matsubara T, Furukawa S.	Analysis of serum soluble CD40 ligand in patients with influenza virus-associated encephalopathy.	J Neurol Sci	239(1)	53-57	2005
Sato R, Ayabe M, Shoji H, Ichiyama T, Saito Y, Hondo R, Eizuru Y.	Herpes simplex virus type 2 recurrent meningitis (Mollaret's meningitis): a consideration for the recurrent pathogenesis.	J Infect	51(4)	e217-e220	2005
Matsufuji H, Ichiyama T, Isumi H, Furukawa S	Low-dose carbamazepine therapy for benign infantile convulsions.	Brain Dev	27(8)	554-557	2005
Takemoto M, Kira R, Kusahara K, Torisu H, Sakai Y, Hara T.	Gene expression profiles in peripheral blood mononuclear cells from patients with subacute sclerosing panencephalitis using oligonucleotide microarrays.	J Neurovirol	11(3)	299-305	2005
Otaki M, Sada K, Kadoya H, Kato S, Nagano-Fujii M, Hotta H.	Inhibition of measles virus and subacute sclerosing panencephalitis virus by RNA interference.	Antiviral Res	in press		2006
Takeuchi K, Takeda M, Miyajima N, Ami Y, Nagata, N, Suzuki Y, Shahnewaz J, Kadota S, Nagata K.	Stringent requirement for the C protein of wild-type measles virus for growth both in vitro and in macaques.	J Virol	79	7838-44	2005

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Ikegaya H, Iwase H, Zheng HY, Nakajima M, Sakurada K, Takatori T, Fukayama M, Kitamura T, Yogo Y.	JC virus genotyping using formalin-fixed, paraffin-embedded renal tissues	J Virol Methods	126 (1-2)	37-43	2005
Zheng HY, Takasaka T, Noda K, Kanazawa A, Mori H, Kabuki T, Joh K, Oh-ishi T, Ikegaya H, Nagashima K, Hall WW, Kitamura T, Yogo Y.	New sequence polymorphisms in the outer loops of the JC polyomavirus major capsid protein (VP1) possibly associated with progressive multifocal leukoencephalopathy	J Gen Virol	86 (7)	2035-45	2005
Zheng HY, Ikegaya H, Takasaka T, Matsushima-Ohno T, Sakurai M, Kanazawa I, Kishida S, Nagashima K, Kitamura T, Yogo Y.	Characterization of the VP1 loop mutations widespread among JC polyomavirus isolates associated with progressive multifocal leukoencephalopathy	Biochem Biophys Res Commun	333 (3)	996-1002	2005
Takasaka T, Goya N, Ishida H, Tanabe K, Toma H, Fujioka T, Omori S, Zheng HY, Chen Q, Nukuzuma S, Kitamura T, Yogo Y.	Stability of the BK polyomavirus genome in renal-transplant patients without nephropathy	J Gen Virol	87 (2)	303-306	2006
Qu Q, Sawa H, Suzuki T, Semba S, Henmi C, Okada Y, Tsuda M, Tanaka S, Nagashima K.	Nuclear entry mechanism of the human polyomavirus JC virus like particle: role of importins and the nuclear pore complex.	J Biol Chem	279	7735-27742	2004
Jin M, Sawa H, Suzuki T, Shimizu K, Makino Y, Tanaka S, Nojima T, Fujioka Y, Asamoto M, Suko N, Nagashima K.	Investigation of simian virus 40 large T antigen in 18 autopsied malignant mesothelioma patients in Japan.	J Med Virol	74	668-676	2004
Henmi C, Sawa H, Iwata H, Orba Y, Tanaka S, Nagashima K.	Isolation of a monoclonal antibody recognizing a cell-surface molecule as a receptor for JC virus.	Biochem Biophys Res Commun	327	242-251	2005
Khalili K, White MK, Sawa H, Nagashima K, Safak M.	The agnoprotein of polyomaviruses: A multifunctional auxiliary protein.	J Cell Physiol	204	1-7	2005
Suzuki T, Okada Y, Semba S, Orba Y, Yamanouchi S, Endo S, Tanaka S, Fujita T, Kuroda S, Nagashima K, Sawa H.	Identification of FEZ1 as a protein that interacts with JC virus agnoprotein and microtubules: role of agnoprotein-induced dissociation of FEZ1 from microtubules in viral propagation.	J Biol Chem	280	24948-24956	2005

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
袖山信幸, 水澤英洋	プリオン病	Clinical Neuroscience	23(7)	820-823	2005
袖山信幸, 水澤英洋	プリオン病の現状-病態・感染対策・治療-シリーズ・感染症との新たな闘い⑩	日本薬剤師会雑誌	57(7)	59-64	2005
佐藤 猛	プリオン病研究の進展と展望	医学のあゆみ	215(11)	877-881	2005
渡邊 至, 中村好一	本邦におけるプリオン病の疫学像	神経内科	Vol.63(5)	424-428	2005
佐藤 猛	プリオン病研究の進展と展望	医学のあゆみ	215(11)	877-881	2005
山田正仁	変性疾患の治療に向けて: プリオン病	内科	95	889-895	2005
浜口 毅, 山田正仁	変異型クロイツフェルト・ヤコブ病等の現状	Virus Report	2	28-33	2005
山田正仁	変異型クロイツフェルト・ヤコブ病	臨床精神医学	34	1586-1588	2005
山田正仁, 浜口 毅	変異型 Creutzfeldt-Jakob 病-わが国および世界における最近の発生動向と今後の課題	医学のあゆみ	215	895-900	2005
志賀裕正	CJD の画像診断	医学のあゆみ	213	210-211	2005
志賀裕正	プリオン病の診断基準・病型分類・重症度	内科	95	1521-1523	2005
志賀裕正	プリオン病の MRI 画像診断	神経内科	63	435-440	2005
志賀裕正	その他の医原性 Creutzfeldt-Jakob 病	Clinical Neuroscience	in press		2006
村山繁雄, 斉藤祐子, 金丸和富, 徳丸阿耶, 石井賢二, 沢辺元司, 高齢者ブレインバンクチーム	ブレインバンクの構築と課題	日老会誌	42	483-489	2005

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
堀内基広	異常型プリオン蛋白質の生合成と伝達	膜	30	78-83	2005
堀内基広	BSE 診断法の開発と現状	Virus Report	2	20-27	2005
堀内基広	人獣共通感染症としてのプリオン病	ウイルス	55	45-55	2005
堀内基広	動物由来感染症としてのプリオン病	日本臨床	63	2213-2220	2005
三好一郎	遺伝子組換え動物を用いた疾患モデル動物の開発および疾患原因遺伝子の同定・機能解析	名古屋市立大学医学 会雑誌	56(2,3)	29-40	2005
調 漸	診療茶話 NO.312、痴呆症の話	長崎県医師会報	708	73-75	2005
調 漸, 佐藤克也	プリオン病の概説と具体的事例	難病と在宅ケア	11(7)	43-48	2005
江口博人, 佐藤克也, 調 漸, 江口勝美, 井手芳彦	早期に診断し得た Heidenhain 型 Creutzfeldt-Jakob 病の 1 例	神経内科	63(3)	276-280	2005
佐藤克也, 調 漸, 江口 勝美	プリオン病の臨床検査(14-3-3 蛋白, NSE, Tau 蛋白)	神経内科	63(5)	429-434	2005
吉田香織, 中荘ひとみ, 遠嶋由紀, 小林誠子, 糸永嘉子, 吉田ユリ子, 杉村美佳, 中野正剛, 山田達夫	安心院地区の独居老人における認知障害調査結果(第一報)	地域保健	36	80-85	2005
坪井義夫, 堂浦克美, 山田達夫	プリオン病の治療ー経口キナクリン療法とペントサン硫酸 の脳室内持続投与法の現状ー. 特集: 治療の最前線: 神経疾患の先端的治療.	Brain Medical	17	59-64	2005
坪井義夫, 堂浦克美, 山田達夫	プリオン病の治療 ーペントサンポリサルフェート脳室内持続投与ー.	神経内科	63	441-445	2005
田中美紀, 坪井義夫, 山田達夫	プリオン病の治療 ーキナクリン・キニーネ治療ー	神経内科	63	446-451	2005

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
山田達夫, 坪井義夫	ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与法の臨床試験に関する研究	厚生科学研究費補助金(こころの健康科学研究事業)平成16年度分担研究報告書	215(11)	8-9	2005
逆瀬川裕二, 堂浦克美	プリオン病の治療法の現状	医学のあゆみ	63(5)	901-905	2005
坪井義夫, 山田達夫, 堂浦克美	プリオン病の治療 ーペントサンポリサルフェート脳室内持続投与ー	神経内科	17(3)	441-445	2005
坪井義夫, 山田達夫, 堂浦克美	プリオン病の治療ー経口キノクリン療法とペントサン硫酸の脳室内持続投与法の現状	Brain Medical	37(1)	259-264	2005
山本俊至, 赤坂裕子, 大谷恭一, 林 隆, 柏木史郎, 市山高志, 西河美希, 加藤光広, 前垣義弘, 岡 明, 大野耕策	モヤマ病発症に関連性を示さなかったIGF2R 遺伝子多型	脳と発達	37(1)	15-19	2005
山本俊至, 赤坂裕子, 大谷恭一, 林 隆, 柏木史郎, 市山高志, 西河美希, 加藤光広, 前垣義弘, 岡 明, 大野耕策	モヤマ病原因遺伝子の同定を目的とした3番染色体短腕上 expressed sequence tag のスクリーニング	脳と発達	58(5)	20-25	2005
秋場伴晴, 池田博行, 金井雅代, 笹 真一, 鳥谷部美弥, 坂本美千代, 市山高志	急性脳症を呈した急性巣状細菌性腎炎の1小児例	小児科臨床	10(1)	839-842	2005
市山高志	脳炎・脳症のサイトカイン解析	Neuroinfection	37(6)	53-57	2005
市山高志, 松藤博紀, 末永尚子, 西河美希, 林 隆, 古川 漸	軽症胃腸炎関連けいれんに対する少量 carbamazepine 療法	脳と発達	24(2)	493-497	2005
市山高志	ウイルス性発疹症に伴う急性脳炎・脳症	日小皮会誌	9	116-118	2005
細矢光亮	亜急性硬化性全脳炎に対するリバビリン脳室内投与療法の開発	Neuroinfection	214	79-85	2004
尖戸-原 由紀子	JCウイルスはヒトに腫瘍を誘導するか?	医学のあゆみ	223	223	2005