

B. 研究方法

PV ゲノムの 2A プロテアーゼ領域を欠損した cDNA を作製した。2A プロテアーゼは、PV ゲノム産物の P1 と P2 の間をプロセスする役割を持つので 2A プロテアーゼの無いウイルスゲノム産物は P1 領域の蛋白質と P2 以下の領域の蛋白質を別々に発現させる必要がある。そこで、P1 コーディング領域と P2 以下のコーディング領域の間に EMCV の IRES を挿入し、P1 は PV IRES により、P2 以下は EMCV IRES により発現するように設計したウイルス RNA の cDNA (pPVE2B) を作製した。コントロールウイルスとして、2A プロテアーゼコーディング領域を持ち、さらに EMCV IRES を持つウイルスの cDNA (pPVE2A) を作製した。

これらの cDNA を HeLa 細胞にトランスフェクションし、それぞれの変異ポリオウイルス (PVE2B と PVE2A) を得た。変異ポリオウイルスのレプリコン活性、複製活性、および細胞変性効果の判定は HeLa 細胞または AGMK 細胞を用いて行なった。

キャプシド蛋白質 (P1) を単独で発現させ、その細胞変性効果を検討するために、ワクシニアウイルスベクターを使用し、感染 2 時間後の細胞を観察した。

(倫理面への配慮)

In vitro での実験のみであるので該当しない。

C. 研究結果

これまで 2A プロテアーゼは、ポリオウイルスの RNA 合成や翻訳機構に関与

しており、その欠損ウイルスは複製不可能といわれていた。しかしながら、今回の実験で、2A プロテアーゼ欠損ウイルス (PVE2B) も複製が可能であることが明らかとなった。ただし、複製能力は非常に低く、形成するプラークサイズはコントロール (PVE2A) に比べ非常に大きな差があることが明らかとなった。またコントロールウイルスとして使用した PVE2A のプラークサイズもスタンダードウイルスのプラークサイズにおよばないことが判明した。

プラークが形成されるということは、細胞変性効果を保持していることの現れである。したがって、2A 欠損ウイルスも細胞変性効果を持つということになる。昨年の研究成果で、キャプシド蛋白質領域を欠損し、2A を保持しているウイルス (DI 粒子) は神経細胞に細胞変性を起こさないことを報告した。以上を考え合わせると、ウイルスのキャプシド蛋白質が細胞変性効果に関与している可能性が考えられた。そこで、キャプシド蛋白質の単独発現系をワクシニアウイルスベクターを使用して作製し、HeLa 細胞および神経細胞での細胞変性効果を検討した。その結果、ポリオウイルスキャプシドに細胞変性効果があることが判明した。

D. 考察

ポリオウイルスによる細胞変性効果は、これまで 2A プロテアーゼが中心的な役割を演じていると考えられてきた。しかし、今回の研究は、神経細胞に対する細胞毒性は、2A プロテアーゼではなくキャプシド蛋白質である可能性を強く示す

結果であり、新しい発見である。ポリオウイルスを発現ベクターとして使用する場合、キャプシド蛋白質領域の代わりに外来性 mRNA を挿入すれば、神経細胞に対するキャプシド蛋白質の毒性は考慮する必要はないことが判明した。2A プロテアーゼ欠損ポリオウイルス変異株による細胞変性効果は、通常のポリオウイルスによる細胞変性効果と形態的に異なっている。2A による細胞変性効果のメカニズムも知られていないが、P1 キャプシドによる細胞変性効果のメカニズムも解析する必要がある。

E. 結論

細胞変性効果発現の主役と考えられてきた 2A プロテアーゼはポリオウイルス複製にとって必須の蛋白質ではないことが明らかになった。これは、ポリオウイルスを基礎とした発現ベクター開発にとって有益な情報であるが、実際には複製効率に大きな影響が出ることから、2A を欠損させることは出来ないと結論された。しかし、神経細胞をターゲットとする限り、2A の神経細胞毒性の低さから

考え、2A を欠損させる必要は無いと考えられた。今年度の研究での大きな発見は、ウイルスのキャプシド蛋白質が神経細胞毒性を持つことが示されたことである。しかし現在進行中の本研究では、P1 キャプシド蛋白質をコードするゲノム領域を外来の有用蛋白質発現のための RNA と入れ替える計画なので、P1 蛋白質が持つ細胞毒性は研究遂行上の問題点とはならない。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

五十嵐博子、大岡静衣、野本明男

2A を欠損した自己複製型ポリオウイルス変異株の解析

第 54 回日本ウイルス学会 11 月 19 日
～21 日 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

ALS の shRNA を用いた遺伝子治療の問題点

研究協力者 水澤英洋¹

共同研究者 横田隆徳¹、久保寺隆行¹、山田宏美¹、村山祥子¹、大平進嘉¹、海野敏紀¹、
笹栗弘貴¹、安斎政幸²、三谷匡²

¹東京医科歯科大学大学院脳神経病態学、²近畿大学先端技術研究所

研究要旨 遺伝性疾患，ウイルス性疾患においてその変異遺伝子，病原遺伝子自体を small interfering RNA (siRNA) で治療するといった究極の遺伝子治療を目指した基礎研究が進行している。我々はこれまでに，変異 superoxide dismutase1 (SOD1) を原因遺伝子にもつ筋萎縮性側索硬化症 (ALS) のモデルマウスである G93A SOD1 トランスジェニックマウス (TgM) に anti-SOD1 short hairpin RNA (shRNA) TgM を掛け合わせることで発症と病勢の進行を著明に遅らせることを報告した (JBC, 2005 ; Arch Neurol, 2007)。しかし，1) anti-SOD1 shRNA を導入したマウスは内因性 SOD1 が抑制され，メスに不妊の副作用が認められた。また，2) 最近アデノ随伴ウイルスベクター (AAV) 8 型による shRNA 過剰発現マウスにおいて致死的な肝障害をもたらす shRNA 毒性という副作用が報告された (Nature, 2006)。これらの問題点に対し 1) shRNA で抑制された内因性の野生型遺伝子の発現を shRNA 抵抗性野生型遺伝子を用いて補うことによって，2) AAV ベクターによる shRNA 発現量を適切に調節することによって副作用を回避できる可能性があることを示した。siRNA の *in vivo* への応用には解決すべき問題点も多いが，siRNA の高い抑制効果からその神経疾患への応用が急速に進展していくことは間違いないと思われる。

A. 研究目的

RNA interference は 2 本鎖 RNA (double-stranded RNA: dsRNA) によって配列特異的に mRNA が分解され，その結果遺伝子の発現が抑制される現象である。shRNA は細胞内でプロセスされて siRNA となり，siRNA 配列に相補的な配列をもつ mRNA を分解する。

我々は siRNA の *in vivo* における有効性を検証するために，ALS のモデルマウスである G93A SOD1 TgM を anti-SOD1 shRNA TgM と

掛け合わせることで変異 SOD1 の発現を抑制し発症と病勢の進行を著明に遅らせることを報告した (Saito Y et al, JBC, 2005 ; Yokota T et al, Arch Neurol, 2007)。しかし，1) anti-SOD1 shRNA を導入したマウスは内因性の野生型 SOD1 も抑制され，メスに不妊の副作用が認められた。また，2) 最近 AAV8 型による shRNA 過剰発現マウスにおいて致死的な肝障害をもたらす shRNA 毒性という副作用が報告され，その機序として microRNA のプロセス障害が提案さ

れた(Dirk G et al, Nature, 2006)。今回、これらの問題点に対しその評価及び解決法を検討した。

B. 研究方法

(1) 内因性野生型 SOD1 の回復

shRNA 治療において抑制された内因性の野生型遺伝子の発現を、我々の新しく考案した shRNA 抵抗性遺伝子を用いる方法 (Kubodera T et al, Oligonucleotides, 2005) によって補う。その *in vivo* での有効性は shRNA 抵抗性野生型 SOD1 を過剰発現した TgM を作製して、これを anti-SOD1 shRNA TgM と掛け合わせ作製した Double TgM の解析によって検証する。

(2) shRNA 発現 AAV ベクターの投与

SOD1 に対する shRNA 発現 AAV8 ベクターをマウスに経静脈的に全身性に投与し、その効果と microRNA のプロセス障害を含めた副作用を評価する。

(倫理面への配慮)

マウスを用いた動物実験は東京医科歯科大学の動物実験委員会の規定に基づいて、動物愛護に留意して行った。

C. 研究結果

(1) 内因性野生型 SOD1 の回復

Double TgM において野生型 SOD1 の蛋白が補われ、さらに赤血球中の SOD1 の酵素活性が内因性 SOD1 と同程度にまで回復した。

(2) shRNA 発現 AAV ベクターの効果・副作用

1.5×10^{12} particle の anti-SOD1 shRNA 発現 AAV8 ベクターの静脈注射の後、shRNA に起因する明らかな副作用なく、肝臓において長期間持続する SOD1 の発現抑制に成功した。shRNA の発現

量を増やすと肝機能障害及び病理学的な肝細胞壊死が認められたが、必ずしも microRNA のプロセス障害は明らかでなかった。

D. 考察

(1) anti-SOD1 shRNA TgM は、shRNA のデザインが変異 SOD1 遺伝子特異的ではないため内因性の野生型 SOD1 の発現も抑制された。これに対し shRNA 抵抗性野生型遺伝子を同時に発現させることで、野生型 SOD1 タンパクの発現が補われ、さらに SOD1 の酵素活性も回復した。本手法により shRNA で抑制された内因性野生型 SOD1 を発現及び機能の両面で補うことができたものと考えられる。

(2) shRNA 発現 AAV8 ベクターにより shRNA を肝臓に過剰に発現させると著明な肝機能障害が誘導されたが、shRNA の発現を低く抑えた場合には副作用は観察されなかった。さらに低発現の shRNA によって目的である標的遺伝子の発現を抑制することに成功した。過剰な shRNA は細胞毒性を引き起こす可能性があるが、shRNA の発現を適切に調節すれば、副作用なく有効な RNAi 効果が得られると考えられる。

E. 結論

(1) shRNA 治療において抑制された内因性の野生型遺伝子の発現を、shRNA 抵抗性野生型遺伝子を用いて補った結果、変異遺伝子に選択的な遺伝子抑制に *in vivo* で成功した。

(2) AAV8 ベクターで shRNA を過剰に発現させると著明な肝障害が誘導されるが、shRNA の発現量を適切に調節することで副作用を回避し標的となる内因性遺伝子の発現を抑制することに成功した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Yokota T, Sasaguri H, Saito Y, Yamada H, Unno T, Yamamoto Y, Kubodera T, Anzai M, Mitani T, Mizusawa H: Increase of disease duration of amyotrophic lateral sclerosis in a mouse model by transgenic small interfering RNA. Arch Neurol 64: 145-146, 2007

2. 学会発表

1) 斉藤友紀, 横田隆徳, 笹栗弘貴, 山田宏美, 伊藤薫, 三谷匡, 安斎政幸, 水澤英洋 anti-SOD1 siRNA トランスジェニックマウスを用いた ALS の遺伝子治療 第 47 回日本神経学会総会, 東京, 5 月 11-13 日

2) 久保寺隆行, 横田隆徳, 斉藤友紀, 水澤英洋 いかなる変異に対しても変異アレル特異的な新規 RNA 干渉法の *in vivo* での検討 第 47 回日本神経学会総会, 東京, 5 月 11-13 日

3) 久保寺隆行, 横田隆徳, 斉藤友紀, 水澤英洋 *In Vivo* Analysis of New RNAi Strategy; Selective Suppression of a Mutant Allele to Any Mutation 第 12 回日本遺伝子治療学会総会, 東京, 2006 年 8 月 24-26 日

4) 陳穎偉, 横田隆徳, 久保寺隆行, 大西威一郎, 李一, 仁科一隆, 平井幸彦, 島田隆, 水澤英洋 Adeno-associated Virus Serotype 8 (AAV8)-Mediated shRNA Delivery *In Vivo* 第 12 回日本遺伝子治療学会総会, 東京, 2006 年 8 月 24-26 日

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

IV.研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

祖父江 元 (名古屋大学神経内科)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Ishigaki S, Niwa J, Yamada S, Takahashi M, Ito T, Sone J, Doyu M, Urano F, <u>Sobue G</u>	Dorfin-chip chimeric proteins potently ubiquitylate and degrade familial ALS-related mutant SOD1 proteins and Reduce their cellular toxicity.	Neurobiology of Disease	25	331-341	2006
Katsuno M, Adachi H, Minamiyama M, Waza M, Tokui K, Banno H, Suzuki K, Onoda Y, Tanaka F, Doyu M, <u>Sobue G</u>	Reversible disruption of dynactin 1 - mediated retrograde axonal transport in polyglutamine – induced motor neuron degeneration.	J Neurosci	26	12106-12117	2006
Huang Y, Niwa J, <u>Sobue G</u> , Breitwieser GE	Calcium-sensing receptor ubiquitination and degradation mediated by the E3 ubiquitin ligase dorfin.	J Biol Chem	281	11610-11617	2006
Kawahara Y, Sun H, Ito K, Hideyama T, Aoki M, <u>Sobue G</u> , Tsuji S, Kwak S	Underediting of GluR2 mRNA, a neuronal death inducing molecular change in sporadic ALS, does not occur in motor neurons in ALS1 or SBMA.	Neurosci Res	54	11-4	2006
Banno H, Adachi H, Katsuno M, Suzuki K, Atsuta N, Watanabe H, Tanaka F, Doyu M, <u>Sobue G</u>	Mutant androgen receptor accumulation in spinal and bulbar muscular atrophy scrotal skin: A pathogenic marker.	Ann Neurol	59	520-526	2006
Atsuta N, Watanabe H, Ito M, Banno H, Suzuki K, Katsuno M, Tanaka F, Tamakoshi A, <u>Sobue G</u>	Natural history of spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA): a study of 223 Japanese patients.	Brain	124	1446-1455	2006
Katsuno M, Adachi H, Waza M, Banno H, Suzuki K, Tanaka F, Doyu M, <u>Sobue G</u>	Pathogenesis, animal models and therapeutics in spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA).	Exp Neurol	200	8-18	2006
Waza M, Adachi H, Katsuno M, Minamiyama M, Tanaka F, Doyu M, <u>Sobue G</u>	Modulation of Hsp90 function in neurodegenerative disorders: a molecular-targeted therapy against disease-causing protein.	J Mol Med	84	635-646	2006
Yamada S, Niwa J, Ishigaki S, Takahashi M, Ito T, Sone J, Doyu M, <u>Sobue G</u>	Archaeal proteasomes effectively degrade aggregation-prone proteins and reduce cellular toxicities in mammalian cells.	J Biol Chem	281	23842-23851	2006

糸山 泰人 (東北大学神経内科)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Matsumoto A, Okada Y, Nakamichi M, Nakamura M, Toyama Y, Sobue G, Nagai M, Aoki M, <u>Itoyama Y</u> , Okano H	Disease progression of Human SOD1 (G93A) Transgenic ALS Model Rats	J Neurosci Res	83	119-133	2006
Onodera Y, Aoki M, Mizuho H, Warita H, Shiga T, <u>Itoyama Y</u> .	Clinical features of chromosome 16q22.1 linked autosomal dominant cerebellar ataxia in Japanese	Neurology	67	1300-13002	2006
糸山 泰人	運動ニューロン疾患、特にALSの治療戦略	神経研究の進歩	50	913-918	2006

岡野 栄之 (慶應義塾大学生理学)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Arttamanakul S, Torrecilla M, Kobayashi K, <u>Okano H</u> , Williams JT.	Separation of M-opioid Receptor Desensitization and Internalization.	The Journal of Neuroscience	26	4118-4125	2006
Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Migishima R, Yokoyama M, Mishima K, Saito I, <u>Okano H</u> , Mizushima N.	Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice	Nature	441	885-889	2006
Sakaguchi M, Shingo T, Shimazaki T, Okano HJ, Shiwa M, Ishibashi S, Oguro H, Ninomiya M, Kadoya T, Horie H, Shibuya A, Mizusawa H, Poirier F, Nakauchi H, Sawamoto K, <u>Okano H</u> .	A carbohydrate binding protein, Galectin-1, promotes proliferation of adult neural stem cells.	Proc.Natl.Acad.Sc i.USA	103	7112-7117	2006
Okada S, Nakamura M, Katoh H, Miyao T, Shimzakai T, Ishii K, Katoh H, Yamane J, Yoshimura A, Iwamoto Y, Toyama Y, <u>Okano H</u> .	Conditional ablation of Stat3 or Socs3 discloses a dual role for reactive astrocytes after spinal cord injury.	Nat. Med.	12	829-834	2006
Arata Y, Kouike H, Zhang Y, Herman MA, <u>Okano H</u> , Sawa H.	Wnt Signaling and a Hox Potein Cooperatively Regulate PSA-3/Meis to Determine Daughter Cell Fate after Asymmetric cell divisioI In C elegans	Dev Cell.	11	105-115	2006

Ninomiya M, Yamashita T, Araki N, <u>Okano H</u> , Sawamoto K.	Enhanced neurogenesis in the ischemic striatum following EGF-induced expansion of transit-amplifying cells in the subventricular zone.	Neurosci. Lett.	403	63-67	2006
Yamashita T, Ninomiya M, Acosta PH, Garcia-Verdugo JM, Sunabori T, Sakaguchi M, Adachi K, Kojima T, Hirota Y, Kawase T, Araki N, Abe K, <u>Okano H</u> , Sawamoto K.	Subventricular-Zone-derived Neuroblasts Migrate and Differentiate into Mature Neurons in the Post-Stroke Adult striatum.	J. Neurosci	26	6627-6636	2006
Kaneko N, <u>Okano H</u> , Sawamoto K.	Role of cholinergic system in regulating survival of newrons in the adult mouse dentate gyrus and olfactory bulb.	Genes to Cells	11	1145-1159	2006
Kurihara T, Ozawa Y, Shinoda K, Nagai N, Inoue M, Oike Y, Tsubota K, Ishida S, <u>Okano H</u> .	Neuroprotective Effects of Angiotensin II Type Receptor(AT1R)Blockers Telmisartan, via Modulating AT1R and AT2R Signaling in Retinal Inflammation	IOVS	47	5545-5552	2006
Yoshida S, Shimmura S, Nagoshi N, Matzuzaki Y, Fukuda K, <u>Okano H</u> , Tsubota K.	Isolation of Multipotent Neural Crest-Derived Stem Cells from the Adult Cornea.	Stem Cells	24	2714-2722	2006
Kaneko S, Iwanami A, Nakamura M, Kishino A, Kikuchi K, Shibata S, Okano HJ, Ikegami T, Moriya A, Konishi O, Nakayama C, Kumagai K, Kimura T, Sato Y, Goshima Y, Taniguchi M, Ito M, He Z, Toyama Y, <u>Okano H</u> .	A selective Sema3A-inhibitor enhances regenerative responses and functional recovery of the injured spinal cord.	Nat. Med.	12	1380-1389	2006
Yamada M, Tanemura K, Ozawa M, Ohyama R, Kitamura N, Kawano M, Tan-Takeuchi K, Mizuno H, Okada S, Iwanami A, Nakamura M, Ishitsuka C, Nagai A, Miyawaki A, Takashima A, Ogawa M, <u>Okano H</u> , Kondoh T	Electrical stimulation modulates fate determination of differentiating embryonic stem cells.	Stem Cells	16	[Epub ahead of print]	2006
Ozawa Y, Nakao K, Shimazaki T, Shinmura S, Kurihara T, Ishida S, Yoshimura A, Tsubota K, <u>Okano H</u> .	SOCS3 is required to temporally fine-tune photoreceptor cell differentiation.	Dev. Biol.		in press	2007

Masuda H, Maruyama T, Hiratsu E, Yamane J, Iwanami A, Nagashima T, Ono M, Ito M, Miyoshi H, Okano HJ, <u>Okano H</u> , Matsuzaki Y, Yoshimura Y.	Successful reconstruction of human endometrium from singly dispersed endometrial cells in the severe immunodeficient mouse: its potential application as endometriosis model.	Proc.Natl.Acad.Sc i.USA		in press	2007
Koide Y, Morikawa S, Mabuchi Y, Muguruma Y, Hiratsu E, Hasegawa K, Kobayashi M, Ando K, Kinjo K, <u>Okano H</u> , Matsuzaki Y.	Two distinct stem cell lineages in murine bone marrow.	Stem Cells		in press	2007

郭 伸 (東京大学神経内科)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Kawahara Y, Sun H, Ito K, Hideyama T, Aoki M, Sobue G, Tsuji S, <u>Kwak S</u> .	Underediting of GluR2 mRNA, a neuronal death-inducing molecular change in sporadic ALS, does not occur in motor neurons in ALS1 or SBMA	Neurosci Res	54	11-14	2006
Sun H, Kawahara Y, Ito K, Kanazawa I, <u>Kwak S</u> .	Slow and selective death of spinal motor neurons in vivo by intrathecal infusion of kainic acid: implications for AMPA receptor-mediated excitotoxicity in ALS.	J Neurochemistry	98	782-791	2006
Hideyama T, Momose T, Shimizu J, Tsuji S, <u>Kwak S</u> .	A PET study on the role of nigral lesions in parkinsonism in patients with ALS.	Arch Neurol	63	1719-1722	2006
<u>Kwak S</u> , Weiss JH.	Calcium permeable AMPA channel in neurodegenerative disease and ischemia.	Neurosci Res	16	281-287	2006
西本祥仁、日出山拓人、河原行郎、郭 伸	AMPA受容体サブユニット GluR2 のRNA編集とALSにおける神経細胞死	Clinical Neuroscience	24	222-225	2006
郭 伸	ALSの運動ニューロン死とグルタミン酸受容体の分子変化	神経進歩	50	902-911	2006

高橋 良輔 (京都大学神経内科)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Kitajima K, <u>Takahashi R</u> , Yokota Y.	Localization of Id2 mRNA in the adult mouse brain.	Brain Res.	1073-1074	93-102	2006

Misawa H, Nakata K, Matuura J, Moriwaki Y, Kawashima K, Shimizu T, Shirasawa T, <u>Takahashi R</u>	Conditional knockout of Mn superoxide dismutase in postnatal motor neurons reveals resistance to mitochondrial generated superoxide radicals.	Neurobiol.Dis. Neurobiology of Disease	23(1)	169-177	2006
Mitsueda-Ono T, Ikeda A, Noguchi E, Takaya S, Fukuyama H, Shimohama S, <u>Takahashi R.</u>	Epileptic polyopia with right temporal lobe epilepsyas studied by FDG-PET andMRI: A case report.	J. Neurol. Sci.	247(1)	109-111	2006
Hitomi T, Ikeda A, Matsumoto R, Kinoshita M, Taki J, Usui K, Mikuni N, Nagamine T, Hashimoto N, Shibasaki H, <u>Takahashi, R</u>	Generators and temporal succession of giant somatosensory evoked potentials incortical reflex myoclonus: Epicortical recording from sensorimotor cortex.	Clinical Neurophysiology	117(7)	1481-1486	2006
Arai R, Yoshikawa S, Murayama K, Imai Y, <u>Takahashi R</u> , Shirouzu M, Yokoyama S.	Structure of human ubiquitin-conjugating enzyme E2 G2 (UBE2G2/UBC7).	Acta Crystallograph Sect F Struct Biol Cryst Commun.	62(4)	330-334	2006
Shirakashi Y, Kawamoto Y, Tomimoto H, <u>Takahashi R</u> , Ihara M.	alpha-Synuclein is colocalized with 14-3-3 andsynphilin-1 in A53T transgenic mice.	Acta Neuropathol (Berl).	112(6)	681-689	2006
Omura T, Kaneko M, Okuma Y, Orba Y, Nagashima K, <u>Takahashi R</u> , Fujitani M, Matsumura S, Hata A, Kubota K, Murahashi K, Uehara T, Nomura Y.	Aubiquitin ligase HRD1 promotes the degradation of Pael receptor, a substrate of Parkin.,	Neurochemistry	99(6)	1456-1469	2006
Nakaji K, Ihara M, Takahashi C, Itohara S, Noda M, <u>Takahashi R</u> , Tomimoto H.	Matrix metalloproteinase-2 plays a critical role in the pathogenesis of white matter lesions after chronic cerebral hypoperfusion in rodents.	Stroke	37(11)	2816-2823	2006
Kinoshita M, Ikeda A, Taki J, Usui K, Mikuni N, Takahashi J.B, Matsumoto R, Fukuyama H, Hashimoto N, <u>Takahashi R.</u>	Heterogeneous epileptogenicity and cortical function within malformations of cortical development: A case report.	Jounal of the Neurological. Sciences	251 (1-2)	129-33.	2206
Kuzuya A, Uemura K, Kitagawa N, Aoyagi N, Kihara T, Ninomiya H, Ishiura S, <u>Takahashi R</u> , Shimohama S.	Presenilin 1 is involved in the maturation of beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 (BACE1).	J Neuroscience Research	85(1)	153-165	2007

Kitao Y, Imai Y, Ozawa K, Kataoka A, Ikeda T, Soda M, Namekawa K, Kiyama H, Stern D.M, Hori O, Wakamatsu K, Ito S, Itohara S, <u>Takahashi R</u> , Ogawa S.	Pael Receptor Induces Death of Dopaminergic Neurons in the Substantia Nigra via Endoplasmic Reticulum Stress and Dopamine Toxicity, which is Enhanced under Condition of Parkin Inactivation.	Hum. Molecular Genetics.	16(1)	16(1) 50-60	2007
Wang H, Imai Y, Kataoka A., <u>Takahashi R</u> .	Cell type-specific upregulation of parkin in response to ER stress.	ARS Forum		in press	2007

田中 啓二 (東京都臨床医学総合研究所)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Sato S, Chiba T, Sakata E, Kato K, Mizuno Y, Hattori N, <u>Tanaka K</u> .	14-3-3 η is a novel regulator of parkin ubiquitin-ligase.	EMBO J.	25	211-221	2006
Matsuda N, Kitami T, Suzuki T, Mizuno Y, Hattori, N, <u>Tanaka K</u> .	Diverse effects of pathogenic mutations of Parkin that catalyzes multiple mono-ubiquitylation in vitro.	J. Biol. Chem.	281	3204-3209	2006
Komatsu M, Waguri S, Chiba T, Murata S, Iwata J, Ueno T, Koike M, Uchiyama Y, Kominami E, <u>Tanaka K</u> .	Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice	Nature	441	880-884	2006
Sato S, Chiba T, Nishiyama S, Kakiuchi T, Tsukada H, Hatano T, Fukuda T, Yasoshima Y, Kai N, Kobayashi K, Mizuno Y, <u>Tanaka K</u> , Hattori N.	Decline of striatal dopamine release in parkin-deficient mice revealed by ex vivo autoradiography.	J. Neurosci, Res.	84	1350-1357	2006
Hamazaki J, Iemura S, Natsume T, Yashiroda H, <u>Tanaka K</u> , Murata S.	A novel proteasome interacting protein recruits the deubiquitinating enzyme UCH37 to 26S proteasomes.	EMBO J.	25 (9)	4524-4536	2006
Moon Hee Lee, M. H., Lee, E. J, Choi S, J, Lee, S. W, Chung S. S, Seol J. H, Baek S. H, Kim K. , Chiba T, <u>Tanaka K</u> , Bang O. S, Chung C. H.	SUMO-specific protease susp4 positively regulates p53 by promoting Mdm2 self-ubiquitination	Nature Cell Biology	8 (12)	1424-1431	2006
Hirano Y, Hayashi H, Iemura S, Hendil K.B, Niwa S, Kishimoto T, Natsume T, Kasahara M, <u>Tanaka K</u> , Murata S.	Cooperation of multiple chaperones required for the assembly of mammalian 20S proteasomes	Molecular Cell	24	977-984	2006

Yamasaki S, Yagishita N, Sasaki T, Nakazawa M, Kato Y, Yamadera T, Bae E, Toriyama S, Ikeda R, Zhang L, Fujitani Eunhyung Yoo, Tomohiko Ohta, Katsumi Eguchi, Setsuro Komiya, Ikuro Maruyama K, Higashi N, Sato M, Senoo H, Ochi T, Yokoyama S, Amano T, Kim J, Nishioka K, Tanaka K, Nakajima T.	Cytoplasmic destruction of tumor suppressor gene p53 by the endoplasmic reticulum-resident ubiquitin ligase "Synoviolin"	EMBO J.		in press	2006
Sakata E, Yamaguchi Y, Miyauchi Y, Iwai K, Chiba T, Saeki Y, Matsuda N, <u>Tanaka K</u> , Kato K.	Direct interactions between Nedd8 and ubiquitin E2 conjugating enzymes contribute to up-regulation of cullin-based E3 ligase activity.	Nature Struct. Mol. Biol.		in press	2007
Yoshida Y, Murakami A, Iwai K, Tanaka K.	A Neural-specific F-box protein Fbs1 functions as a chaperone suppressing glycoprotein aggregation	J Biol Chem.		in press	2007

中野 今治 (自治医科大学神経内科)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Ishihara K, Sugie M, Shiota J, Kawamura M, Kitamoto T, <u>Nakano I</u>	Severe cortical involvement I MV2 Creutzfeldt-Jakob disease: An autopsy case report.	Neuropathology	26	433-437	2006
Ishihara K, Araki S, Ihori N, Shiota J, Kawamura M, <u>Nakano I</u>	An autopsy case of frontotemporal dementia with severe dysarthria and motor neuron disease showing numerous basophilic inclusions.	Neuropathology	26	447-454	2006
Ouyang Y, Takiyama Y, Sakoe K, Shimazaki H, Ogawa T, Nagano S, Yamamoto Y, <u>Nakano I</u>	Sacsin-related ataxia (ARSACS): Expanding the genotype upstream from the gigantic exon	Neurology	66	1103-1104	2006
Ouyang Y, Sakoe K, Shimazaki H, Namekawa M, Ogawa T, Ando Y, Kawakami T, Kaneko J, Hasegawa Y, Yoshizawa K, Amino T, Ishikawa K, Mizusawa H, <u>Nakano I</u> , Takiyama Y	16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia: A clinical and genetic study.	Journal of the Neurological Sciences	247	180-186	2006

Kamimura T, Shimazaki H, Morita M, <u>Nakano I</u> , Okazaki H, Mahata S,	Limited Wegene's granulomatosis manifested by Abducens Nerve Palsy Resulting From Pachymeningitis.	Journal of Clinical Rheumatology	12	259-260	2006
石原健司、河村満、塩田純一、 <u>中野今治</u>	Parkinson病の臨床診断におけるL-dopa効果の意義について。	神経内科	64	533-537	2006
嶋崎晴雄、中尾紘一、石川欽也、瀧山嘉久、 <u>中野今治</u>	周期性失調症の症状で発症したSCA6の1例。	脳と神経	58	63-67	2006
中村優子、澤田幹雄、嶋崎晴雄、森田光哉、 <u>中野今治</u>	免疫グロブリン静注療法 (IVIg) は機能的伝導ブロックを速やかに解消する一慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー(CIDP)の1例における経時的電気生理学的解析から一。	神経治療学	23	57-61	2006
石川剛久、藤尾由実、森田光哉、瀧山嘉久、 <u>中野今治</u>	A型インフルエンザ感染後に急性小脳炎を呈し、MRIにて小脳皮質病変がみとめられた1成人例。	臨床神経学	46	491-495	2006
<u>中野今治</u>	痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症の病理。	神経心理学	22	171-177	2006
川上忠孝、 <u>中野今治</u>	脳室系の異常と臨床症状	CLINICAL NEUROSCIENCE	24	1227-1230	2006

船越 洋 (大阪大学分子組織再生)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Tanaka S, Tachino K, Kawahara E, Tanaka J, <u>Funakoshi H</u> , Nakamura T	Hepatocyte Growth Factor in Mouse Soleus Muscle Increases with Reloading after Unloading.	J.Phys. Ther. Sci.	18	33-41	2006
Nakamura K, Ohya W, <u>Funakoshi H</u> , Sakaguchi G, Kato A, Takeda M, Kudo T, Nakamura T	Possible Role of Scavenger Receptor SRCL in the Clearance of Amyloid-B in Alzheimer's Disease.	J Neuroscience Res	84	874-890	2006
Hayashi Y, Kawazoe Y, Sakamoto T, Ojima M, Wang W, Takazawa T, Miyazawa D, Ohya W, <u>Funakoshi H</u> , Nakamura T, Watabe K	Adenoviral gene transfer of hepatocyte growth factor prevents death of injured adult motoneurons after peripheral nerve avulsion.	Brain Research	1111	187-195	2006
Niimura M, Takagi N, Takagi K, Mizutani R, Ishihara N, Matsumoto K, <u>Funakoshi H</u> , Nakamura T, Takeo S	Prevention of apoptosis-inducing factor translocation is a possible mechanism for protective effects of hepatocyte growth factor against neuronal cell death in the hippocampus after transient forebrain ischemia.	Journal of cerebral Blood Flow & Metabolism	26	1354-1365	2006

Zhao MZ, Nonoguchi N, Ikeda N, Watanabe T, Furutama D, Miyazawa D, <u>Funakoshi H</u> , Kajimoto Y, Nakamura T, Dezawa M, Shibata MA, Otsuki Y, Coffin RS, Liu WD, Kuroiwa T, Miyatake S	Novel therapeutic strategy for stroke in rats by bone marrow stromal cells and ex vivo HGF gene transfer with HSV-1 vector.	Journal of cerebral Blood Flow & Metabolism	26	1176-1188	2006
Niimura M, Takagi N, Takagi K, <u>Funakoshi H</u> , Nakamura T, Takeo S	Effects of hepatocyte growth factor on phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase and hippocampal cell death in rats with transient forebrain ischemia.	European Journal of pharmacology	53	114-124	2006
Date I, Takagi N, Takagi K, Tanonaka K, <u>Funakoshi H</u> , Matsumoto K, Nakamura T, Takeo S	Hepatocyte growth factor attenuates cerebral ischemia-induced increase in permeability of the blood-brain barrier and decreases in expression of tight junctional proteins in cerebral vessels.	Neuroscience Letter	407	141-145	2006
Niimura M, Takagi N, Takagi K, Mizutani R, Tanonaka K, <u>Funakoshi H</u> , Matsumoto K, Nakamura T, Takeo S	The protective effect of hepatocyte growth factor against cell death in the hippocampus after transient forebrain ischemia is related to the improvement of apurinic/apurimidinic endonuclease/redox factor-1 level and inhibition of NADPH oxidase activity.	Neuroscience Letters	407	136-140	2006

阿部 康二 (岡山大学神経内科)

発表者	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Ohta Y, Nagai M, Nagata T, Murakami T, Nagano I, Narai H, Kurata T, Shiote M, Shoji M, <u>Abe K</u>	Intrathecal Injection of Epidermal Growth Factor and Fibroblast Growth Factor 2 Promotes Proliferation of Neural Precursor Cells in the Spinal Cords of Mice With Mutant Human SOD1 Gene.	Journal of Neuroscience Research	84	980-992	2006

加藤 信介（鳥取大学脳神経病理）

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Kato M, <u>Kato S</u> , Abe Y, Nishino T, Ohama E, Aoki M, Itoyama Y.	Histological recovery of the hepatocytes is based on the redox system upregulation in the animal models of mutant superoxide dismutase (SOD)1-linked amyotrophic lateral sclerosis.	Histol and Histopathol	21(7)	729-742	2006
Kato M, <u>Kato S</u> , Horiuchi S, Nagai R, Horie Y, Hayashi K.	Mallory bodies in hepatocytes of alcoholic liver disease and primary biliary cirrhosis contain N ε - (carboxymethyl)lysine-modified cytokeratin, but not those in hepatic carcinoma cells.	Yonago Acta medica	49 (3)	83-92	2006
Sumi H, Nagano S, Fujimura H, <u>Kato S</u> , Sakoda S.	Inverse correlation between the formation of mitochondria-derived vacuoles and Lewy-body-like hyaline inclusions in G93A superoxide-dismutase-transgenic mice.	Acta Neuropathol	112(1)	52-63	2006

加藤 丈夫（山形大学神経内科）

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Koyama S, Arawaka S, Chang-Hong R, Wada M, Kawanami T, Kurita K, Kato M, Nagai M, Aoki M, Itoyama Y, Sobue G, Pak H.C, <u>Kato T</u>	Alteration of familial ALS-linked mutant SOD1 solubility with disease progression: Its modulation by the proteasome and Hsp70.	Biochemical and Biophysical Research Communications	343	719-730	2006

菊池 誠志（北海道大学神経内科）

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Tashiro J, <u>Kikuchi S</u> , Shinpo K, Kishimoto R, Tsuji S, Sasaki H	Role of p53 in Neurotoxicity Induced by the Endoplasmic Reticulum Stress Agent Tunicamycin in Organotypic Slice Cultures of rat Spinal Cord.	Jornal of Neuroscience Research	85(2)	395-401	2007
Yamaguchi S, Kuroda S, Kobayashi H, Shichinohe H, Yano S, Hida K, Shinpo K, <u>Kikuchi S</u> , Iwasaki Y.	The effects of neuronal induction on gene expression profile in bone marrow stromal cells (BMSC)-a preliminary study using microarray analysis.	Brain Research	1087 (1)	15-27	2006

Tashiro K, <u>Kikuchi S</u> , Itoyama Y, Tokumaru Y, Sobue G, Mukai E, Akiguchi I, Nakashima K, Kira J, Hirayama K.	Nationwide survey of juvenile muscular atrophy of distal upper extremity (Hirayama disease) in Japan.	Amyotrophic Lateral Sclerosis.	7	38-45	2006
---	---	--------------------------------	---	-------	------

佐古田 三郎 (大阪大学神経内科)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Sumi H, Nagano S, Fujimura H, Kato S, <u>Sakoda S</u> .	Inverse correlation between the formation of mitochondria-derived vacuoles and Lewy-body-like hyaline inclusions in G93A superoxide-dismutase-transgenic mice.	Acta Neuropathol	112	52-63	2006

谷口 直之 (大阪大学生化学)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Park YS, Kim J, Misonou Y, Takamiya R, Takahashi M, Freeman MR, <u>Taniguchi N</u> .	Acrolein Induces Cyclooxygenase-2 and Prostaglandin Production in Human Umbilical Vein Endothelial Cells: Roles of p38 MAP Kinase.	Arterioscler Thromb Vasc Biol		in press	2007

野本 明男 (東京大学微生物学)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Fujiyuki T, Ohka S, Takeuchi H, Ono M, <u>Nomoto A</u> , Kubo T.	Prevalence and phylogeny of Kakugo virus, a novel insect picorna-like virus that infects the honeybee (<i>Apis mellifera</i> L.), under various colony conditions.	J. Virol	80	11	2006

水澤 英洋 (東京医科歯科大学神経内科)

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Yokota T, Sasaguri H, Yamada H, Unno T, Yamamoto T, Kubodera T, Anzai M, Mitani T, <u>Mizusawa H</u>	Increase of disease duration of amyotrophic lateral sclerosis in a mouse model by transgenic small interfering RNA.	Arch Neurol	64	145-146	2007

V. ワークショップ・班会議プログラム

平成18年度「筋萎縮性側索硬化症の画期的診断・治療法に関する研究」班

ワークショップ プログラム

ALSの克服に向けて

■日程■

平成18年 7月28日(金)

10:00～16:20

■会場■

砂防会館 別館 1F 木曾

東京都千代田区平河町2-7-5 TEL 03-3261-8386

主任研究者 祖父江 元

【事務局】

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65

名古屋大学大学院医学系研究科神経内科

TEL 052-744-2386 FAX 052-744-2393

E-mail:brain@med.nagoya-u.ac.jp

挨拶 主任研究者・厚生労働省

(10:00～12:15)

I. ALS治療実現の見通し

座長：岡野 栄之（慶應義塾大学生理学）、高橋 良輔（京都大学神経内科）

(1) 再生医療からのアプローチ

プレゼンター 岡野 栄之（慶應義塾大学生理学）

ディスカッサント 岡田 洋平（慶應義塾大学生理学）

(2) 栄養因子からのアプローチ

プレゼンター 船越 洋（大阪大学再生医学）

ディスカッサント 青木 正志（東北大学神経内科）

(3) RNA干渉からのアプローチ

プレゼンター 横田 隆徳（東京医科歯科大学神経内科）

ディスカッサント 塩見美喜子（徳島大学ゲノム機能研究センター）

— 昼 食 —