

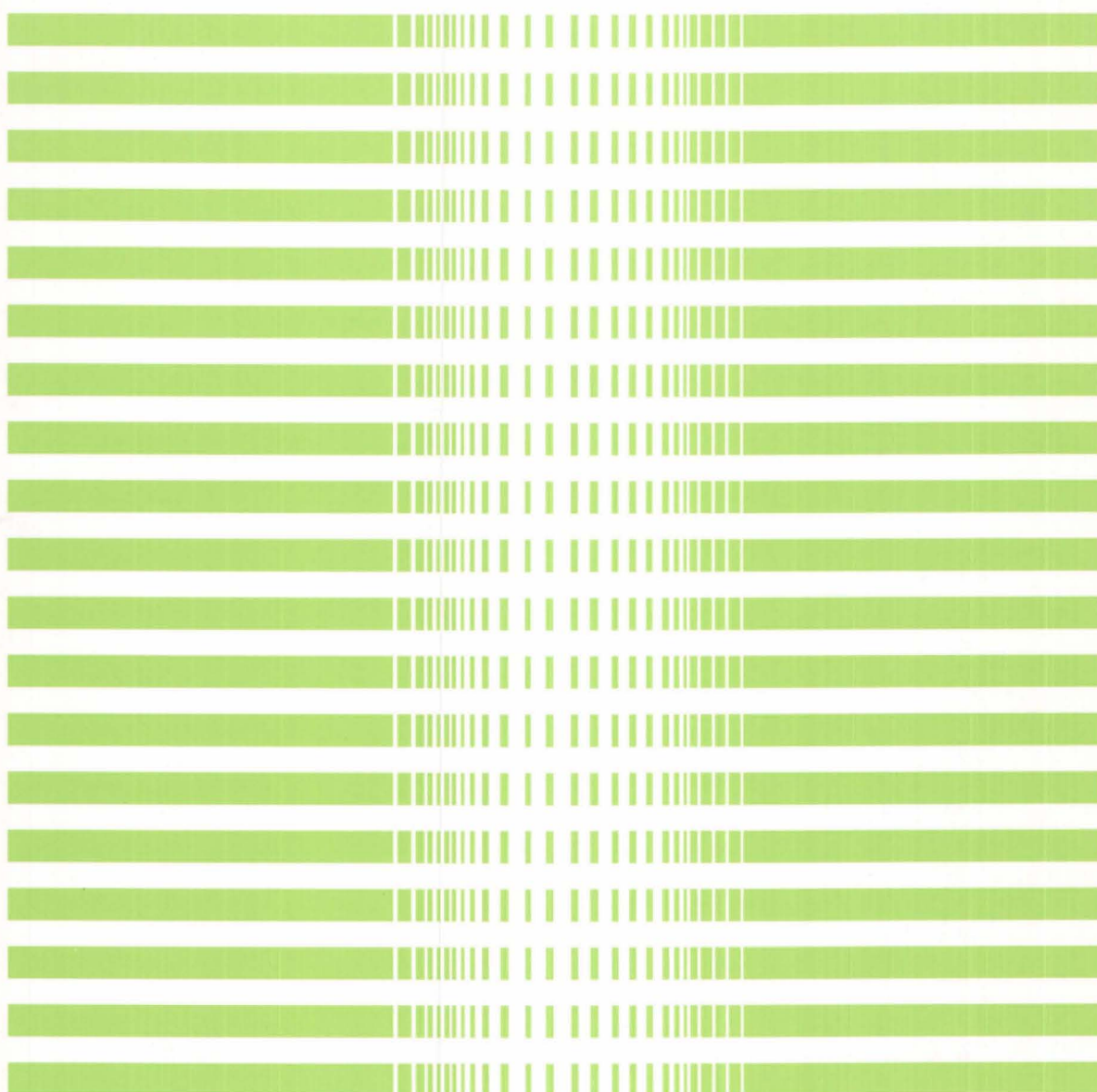
ISSN : 0037-3796



神経化学

Bulletin of the Japanese Society for Neurochemistry

Vol.43 (No. 1), 2004



平成 16 年 3 月

目 次

理事・役員の自己紹介	1
クロマフィン細胞に魅せられて 熊倉鴻之助（上智大学生命科学研究所神経科学部門）	
輝け次代の担い手たち	5
神経幹細胞の生成・維持・分化の分子機構 等 誠司（岡崎国立共同研究機構・生理学研究所 分子神経生理） 神経突起成長の力学的メカニズム：クラッチ機構と細胞接着空間的制御 上口 裕之（理化学研究所・脳科学総合研究センター神経成長機構研究チーム） 小胞体ストレス応答の全貌解明を目指して 今泉 和則（奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科細胞構造学） ハンチントン病の発現誘導マウスモデルおよびPC12細胞モデルにおける 全長変異ハンチンチンのタンパク質分解 中村 雅之（Department of Psychiatry, Johns Hopkins University School of Medicine）	
研究室紹介	47
神戸大学バイオシグナル研究センター・分子薬理部門 谷口 泰造	
Neuro2004のご案内	49
日本神経化学会奨励賞候補者募集のお知らせ	69
学会掲示板	71
編集後記	75

理事・役員の自己紹介

クロマフィン細胞に魅せられて

熊 倉 鴻之助

(上智大学生命科学研究所神経科学部門教授)

私の現在の研究テーマは、「開口分泌の分子機構」という地味なテーマです。主な実験系は、ウシ副腎髄質クロマフィン細胞の初代培養系です。副腎髄質クロマフィン細胞をご存じの方は多くはないでしょう。2年毎に開かれるInternational Symposium on Chromaffin Cell Biologyで、世界中から集まるChromaffin Peopleは、ほとんどがお互い旧知の200名弱です。大学院生や若いポスドクを含めての数ですから、いかに小さな世界か想像ができます。しかし、私がこの培養系を主な実験系にしてから、既に30年弱になりますので、この細胞を語ることで、私の研究歴や研究に対する思い入れを語ろうと思います。

クロマフィン（クロム親和）細胞とは、組織科学的に重クロム酸カリのようなクロム塩を含む溶液で褐色に染まる細胞群のことで、1865年Henleによって反応が発見され、1903年Kohnによって提唱された名前です。副腎髄質は、クロマフィン細胞からなる生体中で最も大きな組織で、それが腫瘍化した細胞がpheocromocytoma, PC12細胞です。副腎髄質は発生の過程で、外胚葉の神経冠（neural crest）に由来し、知覚神経節細胞や交感神経節細胞と同じ起源を持ちます。クロマフィン細胞の初代培養技術が確立されたのは、1970年代中頃で、それまでは副腎髄質そのものが実験系または、実験対象でした。動物（主としてウシ）の副腎は、古くからその抽出液に血圧上昇や止血作用が知られており、副腎抽出液が医療に使われていたようです。1890年代になって、副腎抽出液の有効成分の精製に欧米の研究者間で激しい競争合いが進み、パーク・デイビス社の依頼を受けた高峰譲吉が1900年にアドレナリンを発見したのです。この経緯は、朝日選書「高峰譲吉の生涯」（飯沼和正、菅野富夫著）に詳しく述べられています。とまれ、このような背景を持つ副腎髄質系における研究は、アドレナリン発見以後、幾つかの点で神経細胞での実験研究に先行し、その研究の方向性を決めていました。第一が、カテコールアミン系の伝達物質合成のメカニズムと酵素の発見精製でしょう。第二には、クロマフィン顆粒の発見で、これが神経細胞での大型有芯小胞とシナプス小胞の発見につながったのです。第三に、William W. Douglasによる「Stimulus-Secretion Coupling（刺激分泌連関）」の概念の確立（1965年）です。この発見が、Katzの「シナプス小胞仮説」の確立に果たした役割は大変大きなものであったと思います。

さて、私がクロマフィン細胞の初代培養系で研究を始めたのは、1977年、それまで4年近くいたミラノ大学薬理学研究所からアメリカ合衆国National Institute of Mental HealthのErminio Costa博士の研究室でポスドクに採用され、「チロシン水酸化酵素のシナプス越え誘導」の研究を始めたときです。このシナプス越え誘導がcAMP依存性であるかどうかで、当時

Costa博士とバーゼルのHans Thoenen博士の間で激しい論争が続いていました。ミラノ大学に行って間もない1974年のはじめ、ある会議でCosta博士がThoenen博士に激しく論争を挑んでいる光景を目の当たりにしました。その情熱を見て私は、イタリアの後はどうしてもCosta博士の下に行きたいと決心したのです。Costa研究室での私のテーマは、初代培養細胞を使って、シナプス越え誘導がcAMP依存性である事を証明するというものでした。テキサス大学のJack C. Waimireがウシの副腎髄質からクロマフィン細胞を単離培養する方法を発表したばかりでした。私のスーパーバイザーA. Guidottiがテキサスまで行って彼に方法を教わり、それを私が習って培養を開始しました。設備などもまだ不備で最初の2～3ヶ月はコンタミネーションとの戦いでしたが、今になれば懐かしいことです。このころ、バーゼルのHans Thoenen博士の研究室では、三菱化学生命科学研究所から畠中 寛先生（故人・元大阪大学教授）がポスドクとして、同じ研究に取り組んでいたのです。それを知ったのは帰国してからのことですが、それがきっかけで、畠中さんという兄貴のような友人を得たのです。畠中さんが2年半前に突然他界したことは、いまだに本当に悲しい事ですが、クロマフィン細胞と畠中さんの思い出は、私には切っても切り離せないものです。

クロマフィン細胞の実験系としての魅力は、プレ・シナプス細胞のモデルとしても、ポスト・シナプス細胞のモデルとしても使えることです。私はCosta研究室で、「チロシン水酸化酵素のシナプス越え誘導」のcAMP依存性を証明しました。この現象は、シナプス機能の可塑性に繋がるといっても良いと思います。一方で、cAMP依存性機構の研究はCREBの発見に発展していきまし、他方でcAMP非依存性機構の研究は、Thoenen博士や畠中さんのNGF研究の発展を産んだと思います。

現在のテーマである「開口分泌」または「神経伝達物質の放出機構」は、もう20年来のテーマとなりますが、これをテーマに選んだ理由は、日本に帰国してみると日本中が「リセプター」研究に集中していて、プレ・シナプス機能を研究する人は極めて少なかった事が、一番大きな理由でした。あまり競争相手のいないテーマで、オリジナリティーの高い研究をと考えてのことです。上智大学には施設が無く、アイソトープ実験ができないことも大きな理由で、アイソトープを使わずに競争できるテーマはなんだろうかと考えているときに、カテコールアミンの電気化学的測定法（アンペロメトリー法）が実用化されました。Costa博士の研究室で稼働していると聞いて、一ヶ月ほど戻ってその操作性と有効性を確かめて、これを武器にしていこうと決めました。アンペロメトリーの原理を勉強してみると、高速液体クロマトグラフィーで分離しなくても直接カテコールアミンを測定できることに気がつき、細胞からのカテコールアミン分泌をリアルタイム測定する方法を開発しました。この原理が、現在私の研究室で行っている、微小炭素繊維電極による単一細胞からの分泌測定に発展しています。測定キットで何でもそろそろ現状は、研究の面白さを著しく減じているように感じるのは、私だけでしょうか。この方法で、開口分泌をいわゆるシングル・イベントとして測定解析するほかに、現在は分泌顆粒の細胞内運動を可視的に測定し、分泌部位への顆粒供給機構の解析を進めています。これに伴って、クロマフィン細胞内部の走査電顕像をとることができました。故郷みたいなイタリアの、Alessandro Riva教授（カリアリ大学）の開発した特殊な方法で撮影してもらっているのですが、このようにさまざまな切り口で開口分泌を見てみると、わずか数十ミクロンの大きさしかないクロマフィン細胞の内部に、私はまるで宇宙のような広がりの魅力を感じて、どっぶ

りと浸かりきっています。研究者の幸せを感じていると言ったら言い過ぎでしょうが。微小炭素繊維電極による単一細胞からの分泌測定は、いま研究室の助教授、笹川展幸君がエキスパートとして進めていますし、分泌顆粒の細胞内運動または開口分泌の可視的測定では、上智大学から杏林大学に移った今泉美佳君が見事な研究を展開しています。

ところで最近、私は、「ベルツの日記」を読む機会を持ちました。ベルツとは、明治9年から26年間、東京大学医学部のお雇い教師を務め、「日本の近代医学の父」と呼ばれるエルウィン・ベルツ博士のことです。日本滞在中の日記を、日本人妻ハナとの間に生まれた長男トクが編集し、訳されて岩波文庫から復刻されたものです。私的な背景があつてベルツ博士に興味を持っているのですが、それはさておき、この日記から二つの文章を紹介したいと思います。

まず明治34年（1901年）、彼の日本在留25周年を記念する祝典が開かれた11月22日の日記に、彼の演説内容が残されています。その演説で、ベルツ博士は、30年にわたって外国人が医学校の教師として（日本人の教育に）働いて来たが、次年からは日本人が単独にその仕事を続けなければならないことを述べ、「日本人が自身で産み出し得るようになるためには、科学の精神を我が物とせねばならないという、将来に対する非常にまじめな忠告」（日記より）を以下のように述べていました。

抜粋：（前略）すなわち、わたしの見るところでは、西洋の科学の起源と本質に関して日本では、しばしば間違つた見解が行われているように思われるのであります。人々はこの科学を、年にこれこれだけの仕事をする機械であり、どこかほかの場所へたやすく運んで、そこで仕事をさすことのできる機械であると考えています。これは誤りです。西洋の科学の世界は決して機械ではなく、ひとつの有機体でありまして、・・・（中略）・・・それは精神の大道であり、この道の発端にはピタゴラス、アリストテレス・・・（中略）・・・の名前がしるされています。（中略）西洋各国は諸君に教師を送ったのでありますが、これらの教師は熱心にこの精神を日本に植えつけ、これを日本国民自身のものたらしめようとしたのであります。しかし、かれらの使命はしばしば誤解されました。・・・（中略）・・・日本では今の科学の「成果」のみを彼らから受け取ろうとしたのであります。この最新の成果を彼らから引継ぐだけで満足し、この成果をもたらしめた精神を学ぼうとしないのです。（中略）諸君！このようなことを申し上げるのは、決してごとき好きの性質からでたものではなく、大学の光輝ある将来を切に祈る気持ちから出たものでありまして、・・・（後略）・・・。

次の抜粋は、翌明治35年4月2日の日記からです。この日、音楽学校内の東京最大の講堂で開かれた第一回日本医学大会の、開会式に於けるベルツ博士の演説の一部です。

抜粋：（前略）この種の大会が有益であり、ことにこの日本では必要であるゆえんは、それが医師相互の間の重要な個人的交際を仲介するからでもあります。またことに、このような方法によってのみ最新の知識が国内のいずれの地域へも急速に、しかも徹底的に普及され得るからであります。・・・（中略）・・・しかしながら、この種の会議で最も重要なことは、わたしの考えますところ、講演ではないのでありまして、よしんばそれが非常に優れた先生から出たものであるとしても、そのような講演ではなく、種々様々な意見の活発な交換、ことに各個人の経験—もちろんこれは常に多少異なる結果となるものなのですが—その経験の活発な交換であります。従つてわたくしは主催者の方々に、この点を特に注意くださいます、意見交

換のため十分に、しかも特別の機会を設けてくださるようお願いする次第であります。この理由からまた、会議をあまり多くの分科会に分散しないよう、くれぐれもご注意いたしたいと存じます。・・・（中略）・・・専門家にとってこそ、日ごろあまりにもかたよった仕事をしているのですから、こんな機会に全般的な研究と自己の専門領域との関係を知ることは特に価値があるわけです。・・・（後略）。

時代錯誤と笑われるかも知れませんが、今からおよそ100年前のベルツ博士の言葉に、なぜかわたしは引き付けられ、共感を覚えるのです。この共感を、日本神経化学会の皆様に伝えることで、学会の発展を祈る気持ちを表します。

輝け次代の担い手たち

神経幹細胞の生成・維持・分化の分子機構

等 誠 司

(岡崎国立共同研究機構・生理学研究所 分子神経生理)

1. はじめに

神経幹細胞は、脳の発達期において全ての神経細胞・アストロサイト・オリゴデンドロサイトを産生するのみならず、成体の脳にも存在して特定の領域の神経細胞を供給し、終生にわたる自己複製能と神経系の多分化能を特徴とする未分化な細胞である¹⁾。胎仔期には、神経幹細胞は均等分裂によって神経幹細胞自身の数を爆発的に増やすとともに、不均等分裂によって神経前駆細胞を産出し、発達段階に応じて最初に神経細胞（主に胎生中期から後期）を、次いでオリゴデンドロサイトやアストロサイトを分化させる²⁾。一方、成体脳での神経幹細胞は、主に不均等分裂によって1個

の神経幹細胞と1個の神経前駆細胞とを作ると考えられ（図1）、神経前駆細胞は移動して神経細胞に分化する。哺乳類の成体脳では、嗅球と海馬にのみに神経新生が観察される。例えばラットの海馬では、1日あたり数千個の神経細胞が生まれて、一部の記憶形成に関与していることが確認されている³⁾。

神経幹細胞には特異的な（表面）マーカーがないため、神経幹細胞を同定・分離するために様々な方法が用いられている。例えば、①低密度培養によって1個1個の細胞の分裂・分化を追跡する方法、②無血清条件下でneurosphereと呼ばれる浮遊細胞塊を作らせる方法（neurosphere

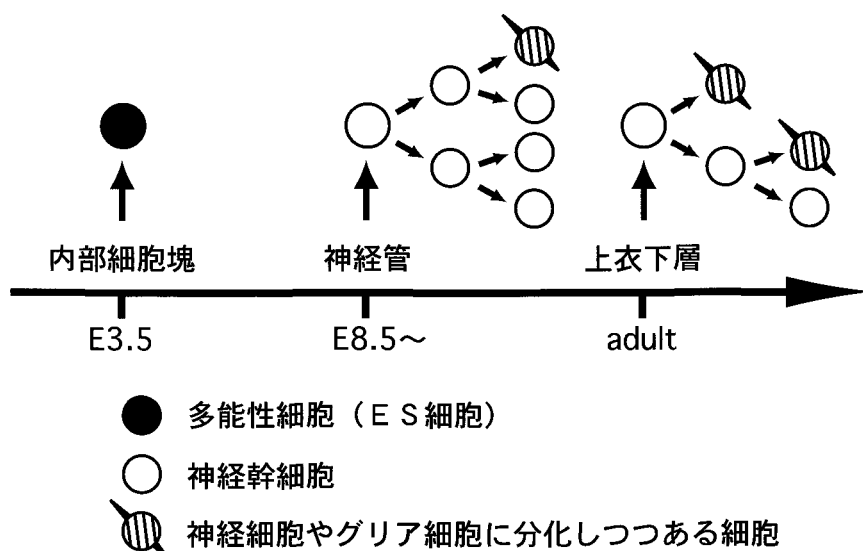


図1 神経幹細胞の系譜

マウス胎生3.5日のblastocystの内部細胞塊は、胎仔の全ての細胞に分化しうる多能性を有する。胎生8.5日には神経幹細胞が検出できるが、その間の系譜はよく判っていない。神経幹細胞は成体の脳にも存在する。

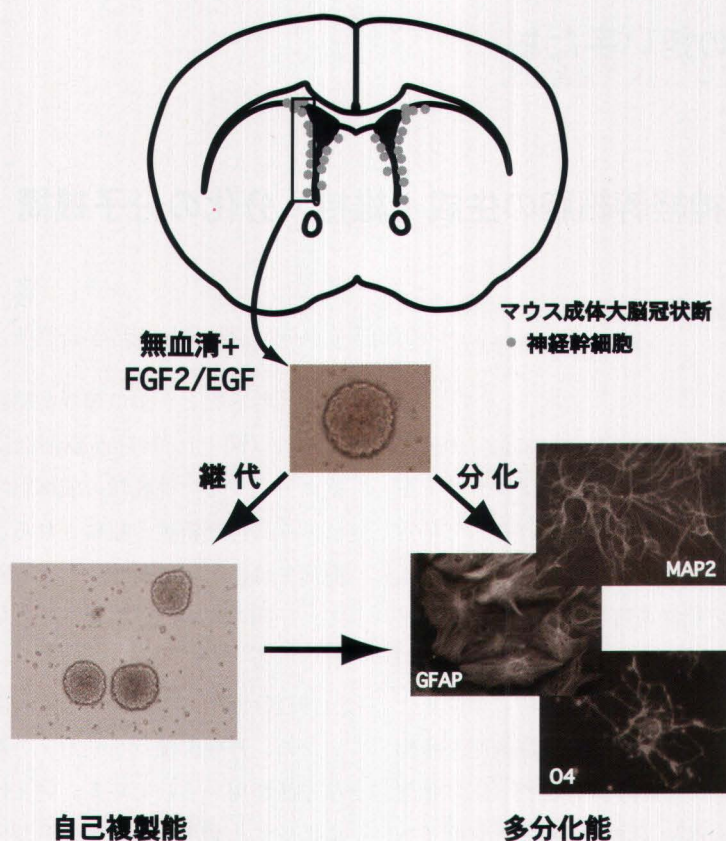


図2 Neurosphere assay

胎仔や成体脳の脳室周囲組織を採取し、個々の細胞まで分散した後、FGF2/EGF添加無血清培地で低密度培養（10-20cells/ μ l）すると、浮遊細胞塊（neurosphere）を得る。Neurosphereを機械的に分散し、同様の条件で培養する（継代）ことにより、secondary neurosphereができる。この継代操作は繰り返し可能である。初代もしくは継代したneurosphereを分化条件で培養することにより、神経細胞・アストロサイト・オリゴデンドロサイトの3種類の細胞への分化が観察される。1個のneurosphereは1個の神経幹細胞に由来する（clonal）と考えられるので、神経幹細胞の多分化能が確認される。

assay)⁴⁾、③Hoechst33342という蛍光色素の排出能力を利用して“side population”として神経幹細胞を分離する方法⁵⁾、④幾つかの細胞表面マーカーを組み合わせて神経幹細胞の存在比を高める方法^{6) 7)}などがある。我々は主に②のneurosphere assayを採用している（図2）。この方法の利点は、簡便に大量の神経幹細胞を扱えることや、1つのneurosphereは1個の神経幹細胞由来と考えられることから、neurosphereの数を測定することで神経幹細胞の数を推定できることが挙げられる。反面、neurosphereには神経幹細胞だけでなく、少し分化の進んだ神経前駆細胞

も含むheterogenousな集団であるという欠点がある。

Neurosphere assayを利用して、マウス脳における神経幹細胞の数を調べてみると、胎性8.5日以降の中枢神経組織において、神経幹細胞が存在することが判明した⁸⁾。しかしながら、胎性7.5日には既に神経板が形成され、この時期の神経上皮細胞には未分化神経系細胞のマーカーとされるNestinの発現が認められる⁹⁾。これらの事実は、神経幹細胞が胎生7.5日神経板の何らかの細胞に由来することを意味する。それは通常のNeurosphere assayでは検出できない細胞（神

経幹細胞よりもさらに未分化な多能性幹細胞?)
なのだろうか。我々は、この疑問に答えるべく神
経幹細胞の起源の解明を目指して、胚性幹細胞
(ES細胞) から神経幹細胞を誘導することを試み
た¹⁰⁾。

2. ES細胞から未分化神経幹細胞の誘導

ES細胞は、マウスで胎生3.5日にあたる胚盤胞
の内部細胞塊を、in vitroで培養して樹立された
細胞である¹¹⁾。血清とLeukemia Inhibitory
Factor (LIF) の存在下で未分化状態を保ち、
trophoblastを除く全ての細胞への分化能
(pluripotency) を示す。血清存在下でLIFを除
いて培養すると、embryoid bodyを形成する。
Embryoid bodyには3胚葉全ての細胞が存在し、
神経系細胞も含まれる。このことを利用して、
ES細胞からembryoid bodyを経由して神経細胞
を誘導する培養系が報告されている^{12) 13)}。しかし、
3胚葉全てが含まれるが故に、神経誘導あるいは
神経幹細胞誘導の分子機構を解析するには不向き
な場合がある。そこで我々は、ES細胞から直接
神経幹細胞を誘導する培養条件を探索した。

最初に行なった条件は、LIFを除いた無血清培
地での低密度培養である。この条件で、6時間後
には一部のES細胞がNestinを発現するようにな
り、24時間後には生存細胞の80%がNestin陽性
で、その一部はNeuNや β III tubulinといった神
経マーカーを発現していた¹⁰⁾。細胞密度を増すと、
nestin陽性細胞の割合は減少した。これらの結果
は、細胞から分泌される因子や細胞間相互作用が
比較的少ない条件では、ES細胞は神経系細胞へ
と分化することを示唆する。しかし、この条件で
はsphereを形成し、多分化能を示すような細胞
は得られなかった。

そこで次にLIFとFibroblast Growth Factor-2
(FGF2) を添加した無血清条件を試したところ、
あたかもneurosphereのような浮遊細胞塊 (ES
sphere) がclonalに形成されることがわかった
(図3)¹⁰⁾。3胚葉全ての細胞を含むembryoid

bodyと異なり、ES sphere内の細胞はほぼ全て
Nestin陽性であった。また、RT-PCRによる検
討でも、中胚葉マーカーであるBrachyury、内
胚葉マーカーのHNF-4、神経同様に外胚葉から
分化する表皮マーカーのCytokeratin-17などの
発現は認められず、embryoid bodyとは異なる
ものと結論した。ES sphereを機械的に分散して
同条件で継代培養すると、10個内外のsecondary
ES sphereが形成され、この継代操作は繰り返し
可能であることから、ES sphereを形成する細胞
の自己複製能が示された。また、ES sphereを分
化条件で培養すると、神経細胞 (MAP2+) ・ア
ストロサイト (GFAP+) ・オリゴデンドロサイ
ト (O4+) が分化してくること (多分化能) から、
脳内に存在する神経幹細胞由来のneurosphereと
非常によく似た性質を持つことが判かった。

一方で、ES sphereとneurosphereとの相違点
も幾つか明らかになった。先に述べたRT-PCRの
検討で、脳由来のneurosphereでは発現してい
ない、初期内胚葉マーカーのGATA4の発現がES
sphereでは認められた。さらに、ES sphere細胞
と桑実胚との共培養 (morula aggregation) に
よってキメラを作製すると、ES sphere由来の細
胞が胎児の全ての組織に取り込まれた。ES
sphere内に未分化なES細胞が存在するわけでは
ないことは、未分化ES細胞のマーカーのOct4や
SSEA-1の発現がないことで確認した。ES sphere
細胞のキメラ形成能 (すなわち、3胚葉全てに寄
与する) は、脳由来の神経幹細胞では観察され
ないもので、より未分化な性質を表していると思
えられる。そこでES sphereを形成する細胞を、
脳由来の神経幹細胞と区別して、未分化神経幹
細胞 (primitive neural stem cell) と名付けた¹⁰⁾。

3. 未分化神経幹細胞の誘導とデフォルトモデル

両生類などにおける神経誘導は、抑制性因子の
脱抑制が重要であるとされる¹⁴⁾。発生の初期にお
いてBone Morphogenetic Protein (BMP) は
外胚葉から表皮分化を誘導するとともに、神経分

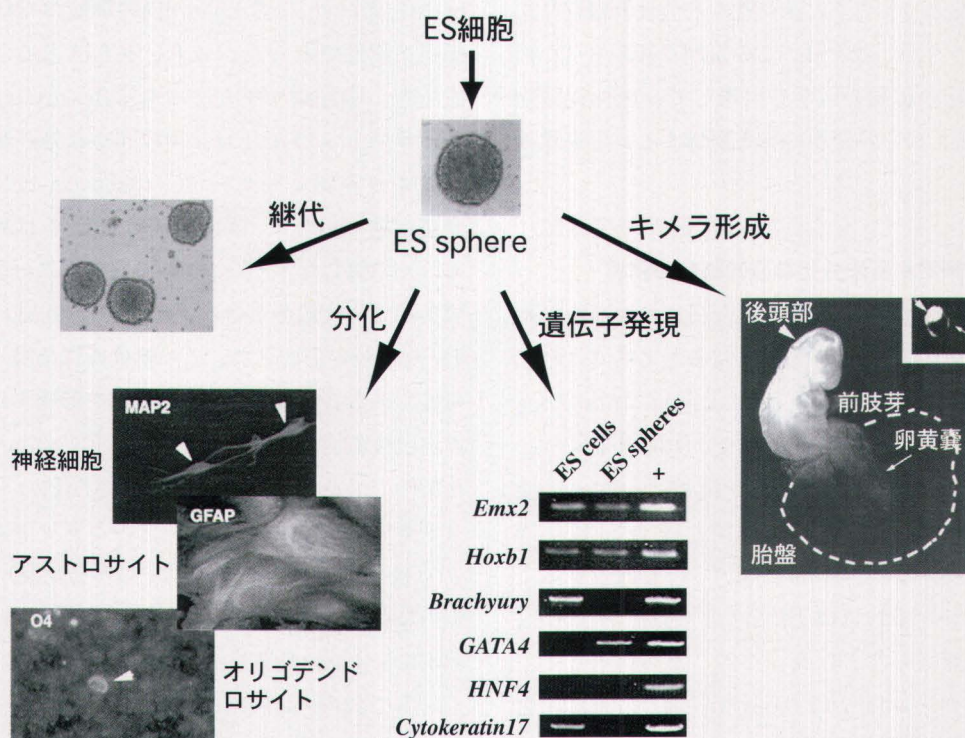


図3 ES sphere assay

ES細胞をLIF添加無血清培地で低密度培養すると、neurosphere類の浮遊細胞塊 (ES sphere) を得る。ES sphereは自己複製能と神経系の多分化能を示すが、同時に未分化な形質も併せ持つ。RT-PCR解析にて、ES sphereは神経マーカー遺伝子に加えて初期内胚葉マーカー遺伝子のGATA4を発現していた。YFP標識ES細胞を用いて、ES sphereと胎生2.5日胚 (Molura) との共培養によってキメラを作製すると、24時間後にはblastocystの内部細胞塊に取り込まれ (インセット)、胚 (写真は胎生9.5日胚) の全ての臓器に寄与していた。(文献10より改変、引用)

化を抑制する。予定神経領域に発現するBMP inhibitorであるNogginやChordinは、BMPシグナルを抑制することで神経への分化を促進する。多くの実験結果から、他の分化系列に誘導する因子が存在しない条件では神経に分化するという、デフォルトモデルが提唱された。同じことがマウスES細胞から未分化神経幹細胞誘導の際にも適応できるであろうか? ES sphere assayにBMP4を添加した結果、ES細胞からES sphereの形成は約半分に抑制され、逆にBMPシグナルが遮断されているSmad4^{-/-} ES細胞からのES sphere形成は約4倍に増加していた¹⁰⁾ (図4)。これらの結果は、ES細胞から未分化神経幹細胞の誘導においても、デフォルトモデルが適応し得ることを示唆している。

一方で、ごく最近デフォルトモデルを疑問視する研究結果も報告されている^{15) 16)}。ニワトリ胚やマウスES細胞を用いた実験によると、神経誘導の際にはFGFシグナルやWntシグナルの関与が無視できないという。我々の実験系でも、ES sphere誘導の際にFGF2を添加する必要はないものの、FGFシグナルが一部遮断されているFGFR1^{-/-} ES細胞からのES sphere形成は低下しており、またFGF2に対する中和抗体を添加することでES sphere形成はほぼ完全に抑制された¹⁰⁾ (図4)。これらのデータは、ES細胞からES sphereの誘導にはFGFシグナルが必要であることを示唆するが、FGF2の必要量は比較的少なく、自身からのautocrine的分泌によって賄われているのかもしれない。

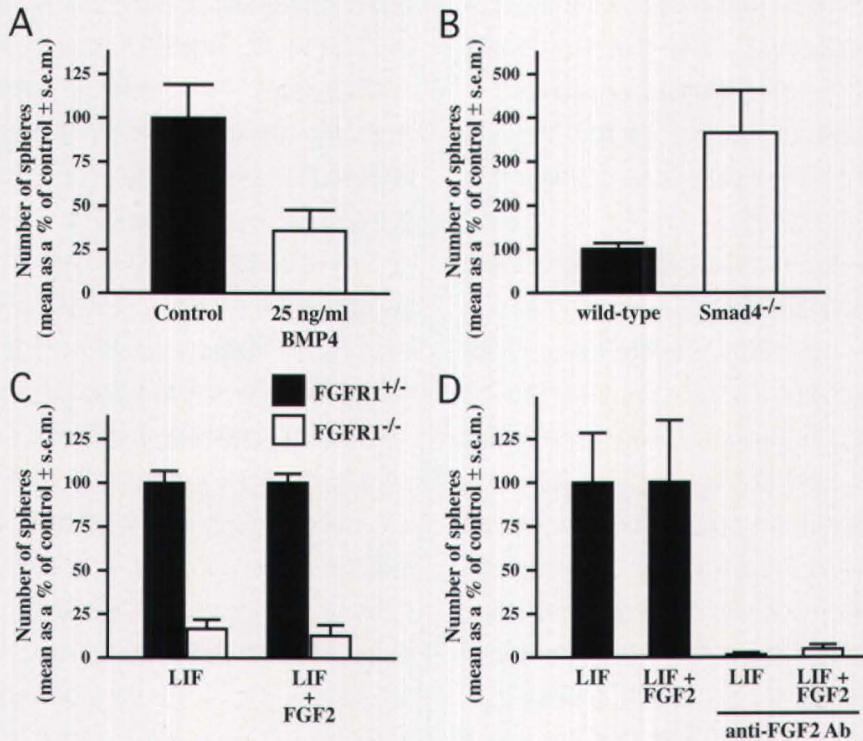


図4 ES sphere誘導に対するTGF- β とFGFシグナルの影響
ES sphere誘導に対するBMP4添加の効果 (A) と、Smad4ノックアウトによるTGF- β シグナル遮断の効果 (B) を観察した。また、FGF Receptor 1を欠くES細胞 (C) およびFGF2に対する中和抗体 (D) を用いることにより、ES sphere誘導におけるFGFシグナルの役割を解析した。(文献10より改変、引用)

4. 生体内における未分化神経幹細胞

ES細胞から誘導した未分化神経幹細胞は、自己複製能と神経系の多分化能という神経幹細胞の特徴を有するものの、継代を重ねてもマーカー遺伝子発現やキメラ形成能などの点で神経幹細胞とは異なる性質を保持する。また、脳由来の神経幹細胞がEpidermal Growth Factor (EGF) 反応性を示すのに対し、ES細胞由来未分化神経幹細胞では、EGF反応性は認められない。これらの事実、ES細胞由来の未分化神経幹細胞が正常な神経幹細胞の系統発生から外れた存在である可能性を示唆する。そこで我々は、生体から未分化神経幹細胞を分離することを試みた。胎生7.5日のマウス早期胚の神経板の前部を採取し、ES sphere assay同様の条件 (無血清+LIF) で培養したところ、得られた数は少ないものの、Nestin陽性の浮遊細胞塊 (Epiblast sphere) が観察さ



図5 Epiblast sphere assay
マウス胎生7.5日の神経板の前部を採取し、分散してLIF添加無血清培地で培養すると、Nestin陽性の浮遊細胞塊 (Epiblast sphere) が観察された。

れた (図5、論文投稿中)。Epiblast sphereは胎生5.5日から検出され、胎生6.5-7.5日に最も多く

なり、神経幹細胞の出現する胎生8.5日頃には消失した。このEpiblast sphereはin vitroで継代することができ（自己複製能）、primaryおよび継代したsphereは分化条件で3種類の神経系細胞に分化した（多分化能）。また、LIF依存性に形成されるがFGF2やEGFには反応しないことや、神経マーカー遺伝子に加えて非神経マーカー遺伝子（例えば未分化内胚葉マーカーのGATA4や原始外胚葉マーカーのFGF5）を発現するなど、ES sphere同様の性質を示した。これらの結果から、胎生5.5-7.5日のepiblastには未分化神経幹細胞が存在することが示唆された。

一方で、胚由来の未分化神経幹細胞にはES細胞由来のものとは異なる点もあることが判明した。例えば、胚由来の未分化神経幹細胞（Epiblast sphere）は継代の際に成長因子依存性を変化させ、神経幹細胞同様のEGF反応性を獲得する。また継代後には、GATA4やFGF5などの非神経マーカー遺伝子の発現が消失し、神経幹細胞と区別できない発現遺伝子パターンを示した。これらの観察結果は、胚由来の未分化神経幹細胞がin vitroで神経幹細胞に分化したことを示唆している。今後、Epiblast sphereとES sphereとを詳細に比較することにより、全能性幹細胞（内部細胞塊）から未分化神経幹細胞を経て、神経幹細胞へと分化する条件を規定する分子機構が解明されるかもしれない。

5. 神経幹細胞の発生・維持・分化におけるNotchシグナルの役割

Neurosphere assayで検出される神経幹細胞は、先にも述べたように、マウスでは胎生8.5日胎仔の神経管に初めて見出される。最初に出現するFGF2依存性神経幹細胞は、均等分裂によって爆発的に数を増すと同時に、胎生12.5日頃にEGF依存性神経幹細胞を産出する。これらFGF2依存性およびEGF依存性神経幹細胞はさらに増殖しつつ、不均等分裂によって神経幹細胞自身と、分化過程に入る神経前駆細胞を生み出す。神経幹細胞

の数は出生前後にピークを迎えると、その後は徐々に減少して、成体脳では安定した数に維持される（未発表データ）。成体脳の神経幹細胞は、非常に長い細胞周期で主に不均等分裂によって神経幹細胞自身と神経前駆細胞を生み出し、自身の数を保つとともに嗅球や海馬に新生神経細胞を供給していると考えられている¹⁷⁾。では、神経幹細胞の維持や分化を制御し、その数をコントロールしている分子機構は何であろうか？我々はNotchシグナルに注目して解析を行なった。

Notchは1回膜貫通型の受容体で、ゴルジ装置内で細胞外ドメインの切断を受け、ヘテロダイマーとして細胞膜に存在する。近隣細胞に発現するか分泌されたリガンド（マウスでDllやJagged）と結合すると、 γ セクレターゼの働きによって、細胞内ドメインが切り出される。このプロセスを制御している（もしくは γ セクレターゼ自身だと考えられている）のがpresenilinである。Notchの細胞内ドメイン（NICD）は核に移行し、RBP-Jと結合することにより、Hes1やHes5などの下流遺伝子の転写を活性化すると考えられている¹⁸⁾（図6：他にNotchシグナルの修飾因子としてFringeやNumbなど、RBP-J以外のシグナル伝

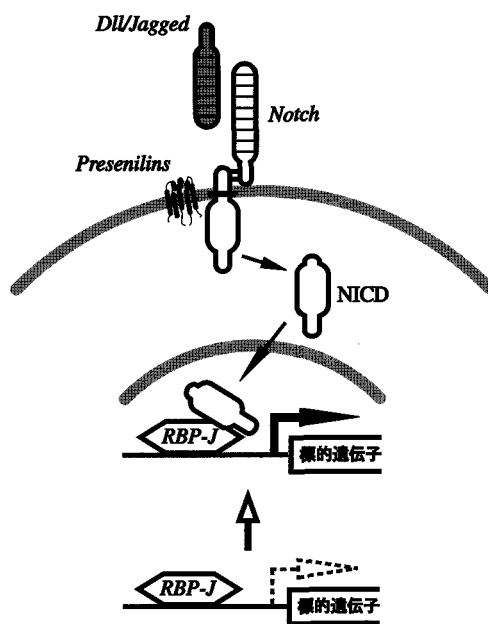


図6 Notch pathway

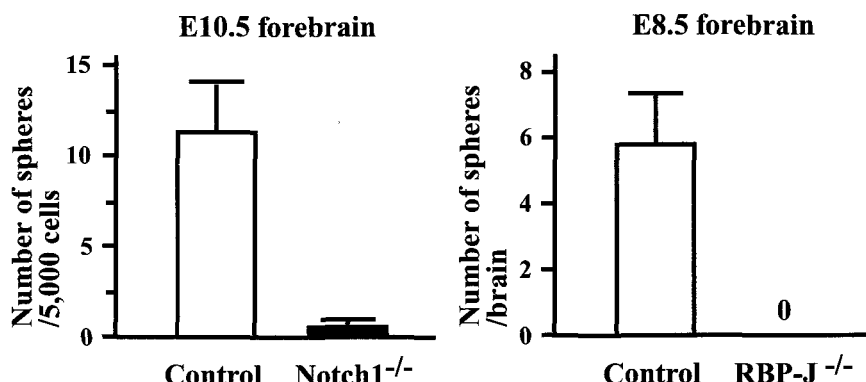


図7 Notchシグナル伝達分子のノックアウトマウスの解析
Notch1やRBP-Jのノックアウトマウスは早期に胎性致死になるが、それ以前の胚で神経幹細胞はほとんど検出されなかった。(文献25より改変、引用)

達経路、他のシグナル系との相互作用が複雑に絡むが、ここでは簡略化している)。

Notchは、ショウジョウバエの翅に変異をもたらす遺伝子として発見されたが、現在では様々な局面で細胞の運命選択を調節する機能がよく知られている¹⁹⁾。系統発生的に線虫から哺乳類に至るまでよく保存され、多くの組織・細胞で働いている。Notchシグナルの活性化が、各組織の前駆細胞(例えば血液幹細胞や筋芽細胞)を未分化な状態に保つ作用があると言われている。Notchシグナルは中枢神経の初期発生にも必要で、シグナル伝達分子を欠くノックアウトマウスでは、胎仔脳の構築の乱れや未成熟な神経細胞分化が観察されている^{20)~22)}。最近、神経幹細胞においても、Notchシグナルが重要な働きをしていることが、我々を含む幾つかのグループから報告された^{23)~25)}。そこには若干の解釈の違いがあるが、ここでは我々のデータを中心に述べる。

我々の実験は、ノックアウトマウスを用いたloss-of-function実験と、レトロウィルスによる活性型Notch1導入を用いたgain-of-function実験から成る。まず、Notchシグナルがほとんど伝達されないと考えられる、Notch1ノックアウトマウスおよびRBP-Jノックアウトマウスを用い、神経幹細胞の分離を試みた。これらのマウスは胎仔期の早い段階で致死になる(Notch1で胎生12

日前後、RBP-Jで胎生9日頃)ので、それ以前の神経管組織をneurosphere法で培養した。しかし、どちらのノックアウトマウスでもホモの胎仔からはneurosphereがほとんど形成されず、神経幹細胞の形成または維持にNotchシグナルが必須であることが示された²⁵⁾(図7)。

これらノックアウトマウスは致死になる時期が早く、neurosphereも得られないため、さらなる解析が困難である。そこで次に、よりマイルドな表現形を示すpresenilin1(PS1)のノックアウトマウスを解析した。PS1^{-/-}の胎仔は、脳の低形成とprematureな神経細胞の分化を示し、大脳皮質に出血を起こしやすいが、出生前後まで生存する。このマウスの神経幹細胞の数の推移を調べたところ、胎生9日目のPS1^{-/-}胎仔神経管には、野生型胎仔のものとはほぼ同等の神経幹細胞が存在するものの、24時間後(胎生10日目)には野生型に比べて15%程度に、胎生14日目には野生型の10%以下にまで著減してしまうことがわかった²⁵⁾(図8)。ここで注意しなければならないのは、正常の発生では神経組織内の神経幹細胞数が、この時期に急速に増加していることである。すなわち、PS1^{-/-}胎仔の神経幹細胞は、胎生9日目の段階からほとんど増加していないと解釈できる。また、PS1ヘテロのマウスは、従来何も異常がみられないと考えられていたが、脳の神経幹細胞数を計測

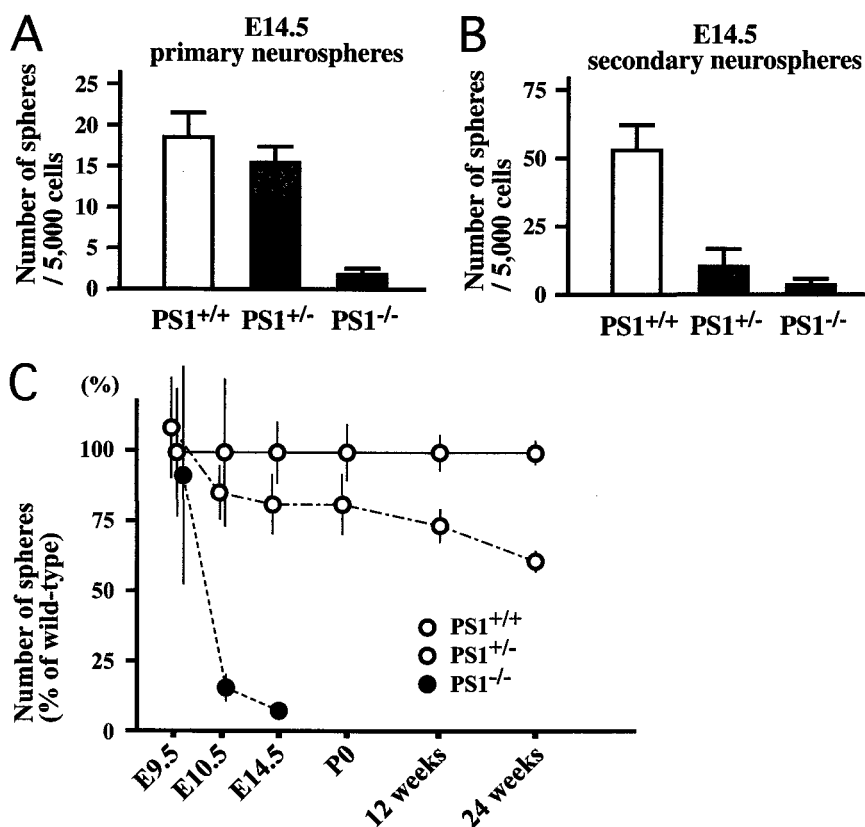


図8 PS1ノックアウトマウスの解析
胎生14.5日のPS1^{-/-}胎仔脳において、神経幹細胞の数が著減していた(A)。ここで得られたPS1^{-/-}およびPS1^{+/-}のneurosphereを継代したところ、どちらも野生型に比べてsecondary neurosphereの数が低下していた(B)。(C) 発達を追って神経幹細胞の数を計測すると、PS1^{-/-}マウスでは胎生10.5日には野生型に比べて著明に減少する。一方、PS1^{+/-}マウスでは胎生期には有意な減少は認められないが、生後徐々にその数を減らすことが判明した。(文献25より改変、引用)

してみたところ、出生前後から徐々に数が減少し、6ヶ月齢の成体脳では野生型の60%に減っていた²⁵⁾(図8)。PS1遺伝子の変異が、gene dosage効果をもって神経幹細胞数を制御していることを示している。

胎生14.5日PS1^{-/-}胎仔脳由来のneurosphereをさらに解析したところ、継代操作によってできるsecondary neurosphereの数も著減しており、PS1^{-/-}神経幹細胞の自己複製能が低いことが示唆された(図8)。また、分化能を調べたところ、神経細胞・グリア細胞への多分化能は保たれているものの、神経細胞への分化もアストロサイトへの分化も促進していた²⁵⁾。

一方、生後1日の新生仔の脳にレトロウィルス

を注入し、活性型Notch1の導入することにより、神経幹細胞の数がコントロールに比べて増加することが判った(実際には、野生型マウスの脳において生後4-6週間の間に神経幹細胞数が減少するので、活性型Notch1の発現によって減少の程度が小さくなる)²⁵⁾(図9)。また、活性型Notch1を発現するneurosphereの分化能を観察したところ、神経細胞とアストロサイトのいずれへの分化も抑制されることがわかった。

以上の結果は、Notchシグナルが神経幹細胞の均等分裂による増殖に必要であり、不均等分裂による神経前駆細胞から神経細胞・グリア細胞の産生を抑制することを示唆すると考えられる。これは、Notchシグナルの活性化が、神経幹細胞によ

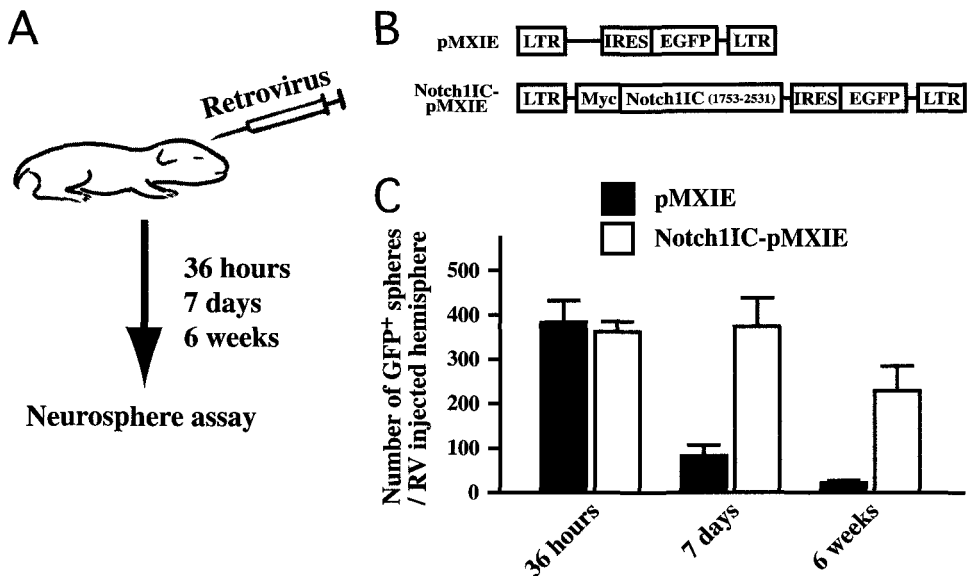


図9 活性型Notch1による神経幹細胞の維持

(A) 実験手順を示す。生後1日の新生仔脳の脳室に 1×10^4 cpuのレトロウィルスを注入し、36時間後、7日後、6週間後にsacrificeしてneurosphere assayを行なった。用いたレトロウィルスはレポーターとしてEnhanced Green Fluorescent Protein (EGFP)を持っている。(B) ので、蛍光顕微鏡下でEGFP陽性neurosphereを計測した。(C) レトロウィルスに感染した神経幹細胞の数は、36時間後ではコントロール (pMXIE) と活性型Notch1 (pNotch1IC-pMXIE) とで変わらず、ウィルス力価は同等と考えられた。正常でも神経幹細胞の数が減少する7日後および6週間後には、コントロールではEGFP⁺ neurosphereの数が減少したが、活性型Notch1導入群では減少が緩やかであった。(文献25より改変、引用)

るGFAPの発現を亢進させ、グリア細胞（胎仔期の放射状グリア、成体脳でのアストロサイト）への分化を促進するという報告^{23) 24)} とは一見矛盾する。しかしながら、放射状グリア²⁶⁾ や少なくとも一部のアストロサイト²⁷⁾ が神経幹細胞そのものであるという最近の知見を考慮すれば、Notchシグナル活性化が（一見グリア細胞にみえる）神経幹細胞の維持に働いているという我々の結論と矛盾しない。

6. 未分化神経幹細胞におけるNotchシグナルの役割

Notch1ノックアウトマウスやRBP-Jノックアウトマウスの早期胚神経管において、神経幹細胞を検出できないという結果は、神経幹細胞そのものが形成されないとも解釈できるし、神経幹細胞は形成されるものの維持できずに分化してしまうとも解釈できる。この点を明らかにするために、

まずRBP-J^{-/-} ES細胞を用いて、未分化神経幹細胞の誘導を観察したところ、RBP-J^{-/-}と野生型で形成されるES sphereの数に違いは認められなかった²⁵⁾。次に、Notch1ノックアウトマウスを用いて、胎生7.5日胚の未分化神経幹細胞を解析したが、ここでも野生型とNotch1^{-/-}とで未分化神経幹細胞の数に差は認められなかった（論文投稿中）。しかしながら、in vitroの継代培養でEGF反応性sphereの形成は、Notch1^{-/-}胎仔由来のepiblast sphereで著減していた。

これらの結果は、未分化神経幹細胞の形成についてはNotchシグナルの影響を受けないが、未分化神経幹細胞から神経幹細胞への分化において、Notchシグナル活性化が必要になることを示唆する。これまでの我々の知見を基にした作業仮説を図10に示す。今後さらに、Notchシグナルの活性化が神経幹細胞の形成・維持に対して充分条件であるのか、また他のシグナルとのクロストークは

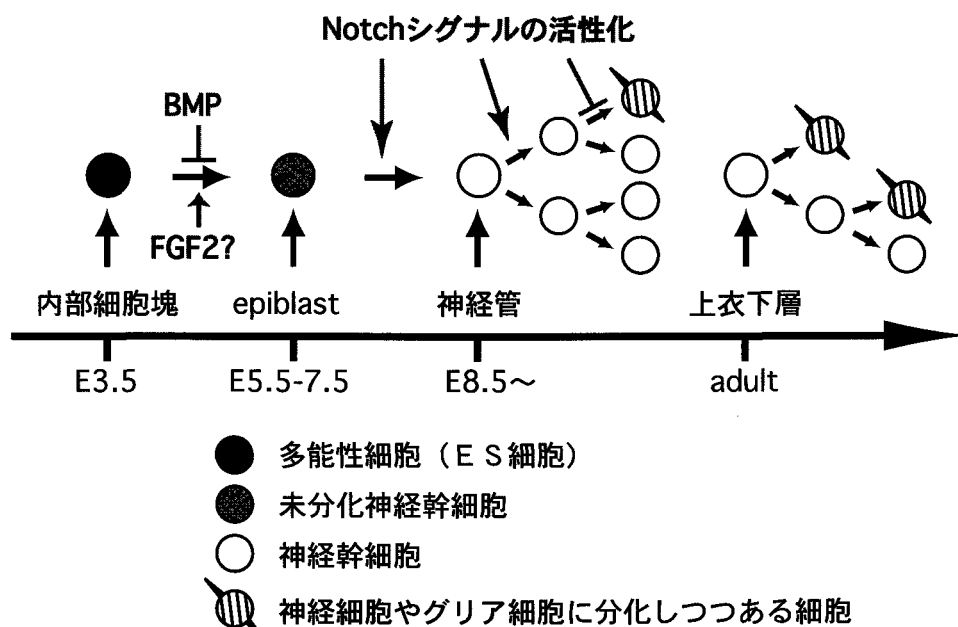


図10 現在考えている神経幹細胞の形成・維持・分化のモデル
内部細胞塊に存在する多能性細胞は、BMPシグナルによる抑制とFGFシグナルなどによる刺激を受けて、LIF依存性未分化神経幹細胞に分化する。未分化神経幹細胞はNotchシグナルの活性化とともに神経幹細胞に分化し、維持される。しかし、胎仔期と成体での神経幹細胞の分裂様式の変化や、成体脳で神経幹細胞の数が一定に保たれる分子機構は不明な点が多い。

関与してるのかなどを解明していく必要がある。

7. おわりに

筆者が神経幹細胞の研究に参加した1999年前後から、この研究領域の活況には目を瞠るばかりである。特に、パーキンソン病を筆頭とする神経(変性)疾患に対する治療を目指し、幹細胞移植の研究が怒濤のように報告されている。神経内科を学んだものとして、臨床応用を直視下においての研究は魅力的ではあるが、反面あまりに性急な動きに戸惑いを憶える。例えば、パーキンソン病に対する幹細胞移植治療を取り上げても、ドーパミン産生神経細胞を作製してただ脳内に移植することで、十分に満足できる結果が得られるとは限らないであろう。それは、パーキンソン病患者脳への中絶胎児中脳細胞移植において、期待通りの効果が必ずしも得られないことや、(倫理的問題を除外しても)ジスキネジアなどの副作用がコントロールできない²⁰⁾といった問題が生じたことか

らも、容易に想像できる。この場合、単に幹細胞から誘導したドーパミン産生神経細胞を移植するだけではなく、正常脳と同じような神経ネットワークの再構築が起こり、フィードバック制御の効いたドーパミン分泌が達成されることが求められる。移植された幹細胞がホスト脳の神経ネットワークに組み込まれ、協調のとれた機能を回復させる技術が開発されれば、自ずと他の神経変性疾患への応用も可能になるであろう。自己複製能と多分化能に加えて可塑性を併せもつ幹細胞によって、それが可能になると考える。

謝 辞

本研究は筆者の留学先のトロント大学で始め、帰国後東京大学神経内科において継続して行なったものを中心に紹介しました。留学中常に刺激的な議論と環境を与えて下さったDerek van der Kooy教授とラボの面々、特に当時大学院生だったVince Tropepeに深謝致します。帰国後も研究

継続のご許可と常なる激励を下された東京大学神経内科 金澤一郎教授（現・国立精神神経センター総長）、辻 省次教授と、臨床教室にもかかわらず基礎研究にご理解を下された医局の先生方に、この場をお借りして御礼申し上げます。また、研究に必要な資材をご提供いただいた、Jeff Nye博士（現・Pharmacia、活性型Notch1）、Dorit DonovielとAlan Bernstein両博士（Samuel Lunenfeld研究所、Presenilin1ノックアウトマウス）、Andrew EliaとTak Mak両博士（Amgen研究所、RBP-JノックアウトマウスとノックアウトES細胞）、Ron Conlon博士（Case Western Reserve大学、Notch1ノックアウトマウス）に感謝致します。最後に、筆者を現所属に招いて下さると同時に、これまでやってきた神経幹細胞研究の継続のご許可と、ベストな研究環境を与えて下さった池中一裕教授、ホットなディスカッションの相手となって下さるラボの同僚に深く感謝申し上げます。

本研究は、留学中はCanadian Institutes of Health Researchからのグラントと奨学金、帰国後は文部科学省科学研究費補助金・特定領域研究「先端脳」および、細胞科学研究財団からの研究助成によって遂行しました。

文 献

- 1) Gage, F. H. Mammalian neural stem cells. *Science* **287**, 1433-1438 (2000).
- 2) Temple, S. The development of neural stem cells. *Nature* **414**, 112-117 (2001).
- 3) Shors, T. J., Miesegaes, G., Beylin, A., Zhao, M., Rydel, T. & Gould, E. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature* **410**, 372-376 (2001).
- 4) Reynolds, B. A., Tetzlaff, W. & Weiss S. A multipotent EGF-responsive striatal embryonic progenitor cell produces neurons and astrocytes. *J. Neurosci.* **12**, 4565-4574 (1992).
- 5) Kim, M. & Morshead, C. Distinct populations of forebrain neural stem and progenitor cells can be isolated using side-population analysis. *J. Neurosci.* **23**, 10703-10709 (2003).
- 6) Uchida, N., Buck, D. W., He, D., *et al.* Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 14720-14725 (2000).
- 7) Rietze, R. L., Valcanis, H., Brooker, G. F., Thomas, T., Voss, A. K. & Bartlett, P. F. Purification of a pluripotent neural stem cell from the adult mouse brain. *Nature* **412**, 736-739 (2001).
- 8) Tropepe, V., Sibilia, M., Ciruna, B. G., Rossant, J., Wagner, E. F. & van der Kooy, D. Distinct neural stem cells proliferate in response to EGF and FGF in the developing mouse telencephalon. *Dev. Biol.* **208**, 166-188 (1999).
- 9) Kawaguchi, A., Miyata, T., Sawamoto, K., *et al.* Nestin-EGFP transgenic mice: visualization of the self-renewal and multipotency of CNS stem cells. *Mol. Cell. Neurosci.* **17**, 259-273 (2001).
- 10) Tropepe, V., Hitoshi, S., Sirard, C., Mak, T. W., Rossant, J. & van der Kooy, D. Direct neural fate specification from embryonic stem cells: a primitive mammalian neural stem cell stage acquired through a default mechanism. *Neuron* **30**, 65-78 (2001).
- 11) Smith, A. in *Stem Cell Biology* (eds Marshak, D. R., Gardner, R. L. & Gottlieb, D.) 205-230 (Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2001).
- 12) Bain, G., Kitchens, D., Yao, M., Huettner, J. E. & Gottlieb, D. Embryonic stem cells express neuronal properties *in*

- vitro. Dev. Biol.* **168**, 342-357 (1995).
- 13) Okabe, S., Forssberg-Nilsson, K., Spiro, A. C. Segal, M. & McKay, R. D. G. Development of neuronal precursor cells and functional postmitotic neurons from embryonic stem cells in vitro. *Mech. Dev.* **59**, 89-102 (1996).
 - 14) Wilson, S. I. & Edlund, T. Neural induction: toward a unifying mechanism. *Nat. Neurosci.* **4** (Suppl), 1161-1168 (2001).
 - 15) Ying, Q.-L., Stavridis, M., Griffiths, D., Li, M. & Smith, A. Conversion of embryonic stem cells into neuroectodermal precursors in adherent monoculture. *Nat. Biotechnol.* **21**, 183-186 (2003).
 - 16) Streit, A., Berliner, A., Papanayotou, C., Sirulnik, A. & Stern, C. D. Initiation of neural induction by FGF signalling before gastrulation. *Nature* **406**, 74-78 (2000).
 - 17) Morshead, C. M., Reynolds, B. A., Craig, C. G., *et al.* Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron* **13**, 1071-1082 (1994).
 - 18) Kimble, J. & Simpson, P. The LIN-12/Notch signaling pathway and its regulation. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **13**, 333-361 (1997).
 - 19) Artavanis-Tsakonas, S., Rand, M. D. & Lake, R. J. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* **284**, 770-776 (1999).
 - 20) Oka, C., Nakano, T., Wakeham, A., *et al.* Disruption of the mouse *RBP-Jk* gene results in early embryonic death. *Development* **121**, 3291-3301 (1995).
 - 21) Donoviel, D. B., Hadjantonakis, A.-K., Ikeda, M., Zheng, H., St George Hyslop, P. & Bernstein, A. Mice lacking both presenilin genes exhibit early embryonic patterning defects. *Genes & Dev.* **13**, 2801-2810 (1999).
 - 22) Handler, M., Yang, X. & Shen, J. Presenilin-1 regulates neuronal differentiation during neurogenesis. *Development* **127**, 2593-2606 (2000).
 - 23) Gaiano, N., Nye, J. S. & Fishell, G. Radial glial identity is promoted by Notch1 signaling in the murine forebrain. *Neuron* **26**, 395-404 (2000).
 - 24) Tanigaki, K., Nogaki, F., Takahashi, J., Tashiro, K., Kurooka, H. & Honjo, T. Notch1 and Notch3 instructively restrict bFGF-responsive multipotent neural progenitor cells to an astroglial fate. *Neuron* **29**, 45-55 (2001).
 - 25) Hitoshi, S., Alxson, T., Tropepe, V., *et al.* Notch pathway molecules are essential for the maintenance, but not the generation, of mammalian neural stem cells. *Genes & Dev.* **16**, 846-858 (2002).
 - 26) Götz, M., Hartfuss, E. & Malatesta, P. Radial glial cells as neuronal precursors: a new perspective on the correlation of morphology and lineage restriction in the developing cerebral cortex of mice. *Brain Res Bull* **57**, 777-788 (2002).
 - 27) Doetch, F., Caille, I., Lim, D. A., Garcia-Verdugo, J. M. & Alvarez-Buylla, A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* **97**, 703-716 (1999).
 - 28) Freed, C. R., Greene, P. E., Breeze, R. E. *et al.* Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* **344**, 710-719 (2001).

輝け次代の担い手たち

神経突起成長の力学的メカニズム：クラッチ機構と細胞接着空間的制御

上 口 裕 之

(理化学研究所・脳科学総合研究センター神経成長機構研究チーム)

はじめに

発生段階の神経組織内を伸長する神経突起が標的細胞に到達することにより、複雑かつ精巧な神経回路網が形成される。神経突起の成長・分化は、神経細胞体からの突起形成・軸索あるいは樹状突起への分化・突起伸長の3段階に分類される。いずれのプロセスにおいても、神経突起と周囲環境との相互作用および神経突起内での機能分子の動態・状態変化が重要な役割を担っている。神経突起と周囲環境（細胞外マトリックスあるいは隣接細胞）との相互作用は、主として神経細胞接着分子により媒介される¹⁾。これまで、神経系に発現する接着分子として免疫グロブリンスーパーファミリー・カドヘリンファミリー・インテグリンファミリーの3群が同定されている。カドヘリンおよび免疫グロブリンスーパーファミリー接着分子の多くは、隣接する細胞表面に発現する同種の分子と接着することにより（ホモフィリック結合）、細胞-細胞間接着を媒介する。一方、インテグリンは細胞外マトリックス分子とヘテロフィリックに結合する。神経細胞に発現するこれら接着分子の多くは、周囲環境に存在するリガンドとの結合に応じて、神経突起の成長を促進する。免疫グロブリンスーパーファミリーに属するL1は、神経突起成長の促進活性が見いだされた最初の接着分子である²⁾。本稿では、神経接着分子L1による神経突起成長の促進機構を、その分子動態および細胞骨格との相互作用を中心に概説する。

L1細胞内領域の機能ドメイン

ヒトL1遺伝子の変異は、皮質脊髓路や脳梁などの軸索路の形成不全を伴ったX連鎖性遺伝性水頭症（XLH）の原因となる^{3, 4)}。L1ノックアウトマウスでは、これらの神経発生異常に加えて、様々な神経細胞の突起形成・投射の異常が報告されている⁵⁻⁸⁾。XLH症例におけるL1遺伝子変異と臨床・病理所見を比較解析したところ、L1接着能を阻害する細胞外領域遺伝子変異のみならず、L1細胞内領域の遺伝子変異も常に軸索路形成不全を引き起こすことが判明した^{3, 9)}。よって、L1細胞内領域を介した軸索内情報伝達あるいは細胞骨格との相互作用は、軸索路の発生に重要であることが示唆された。

L1細胞内領域には多くの機能ドメインが同定されており（図1）、細胞膜貫通領域近傍およびC末端側領域に2カ所のアクチン骨格結合部位が存在する。このうちC末端側領域は、アンキリンを介してスペクトリン/アクチン骨格に結合する。多くのアンキリンアイソフォームのうち、神経組織には主としてアンキリンGおよびアンキリンBが発現し、L1細胞内領域C末端側はいずれのアンキリンとも直接結合する¹⁰⁾。またL1細胞内領域には、神経細胞に特異的に発現するエクソン（RSLE配列：アルギニン-セリン-ロイシン-グルタミン酸）が存在し、このRSLE配列と先行するチロシン残基（YRSLE配列）はクラスリンアダプターAP-2との結合ドメインを構成し、AP-2が結合したL1はクラスリン経路によりエンドサ

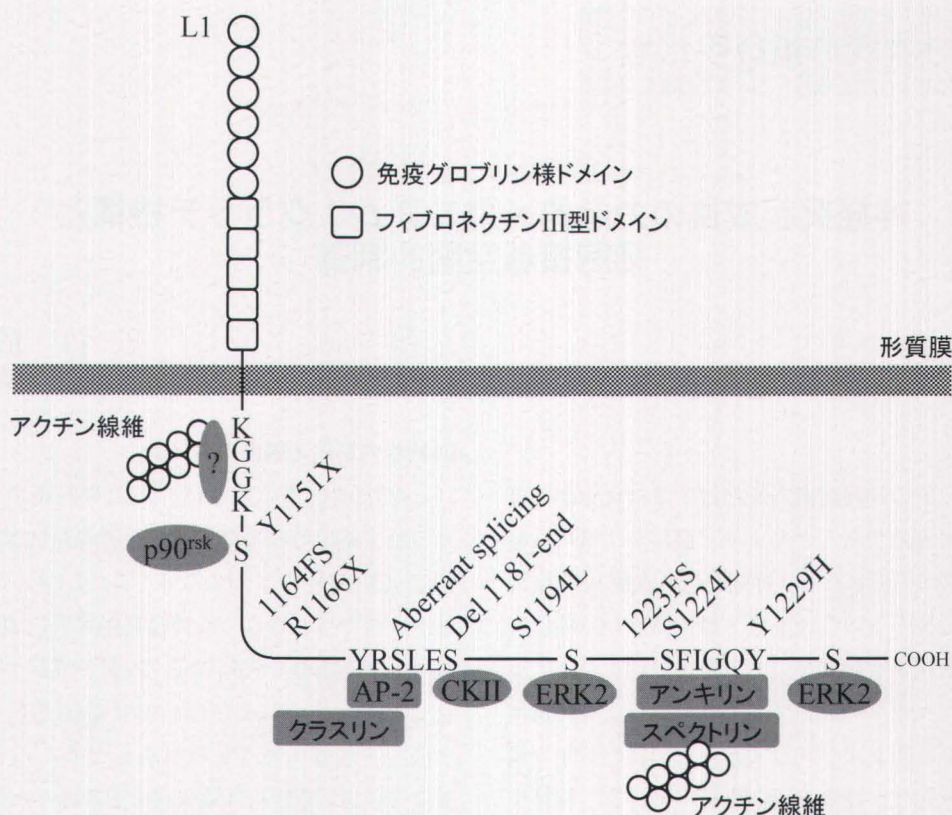


図1 L1細胞内領域の機能ドメインと遺伝子変異臨床例

L1細胞内領域には、リンカー分子を介してアクチン線維と結合するアミノ酸配列、AP-2との結合配列、カゼインキナーゼII (CKII) およびmitogen-activated protein kinase 経路のERK2とp90^{rsk}によりリン酸化されるセリン残基が存在する。これらの機能ドメインとヒトL1細胞内領域遺伝子変異の関連を示す。

イトーシスされる¹¹⁾。これらのL1機能ドメインを介する細胞内蛋白相互作用は、L1の分子動態およびアクチン骨格との連結を制御する重要なメカニズムである。

神経突起成長を制御するクラッチ機構

一般的に、細胞移動あるいは突起成長に必要な牽引力は、細胞内を一方方向性に移動するアクチン線維に依存すると考えられている。移動細胞あるいは成長過程にある神経突起において、その進行方向先端縁近傍ではアクチン単量体がアクチン線維へと重合し、ミオシンモーターの作用により後方へ移動したアクチン線維は脱重合する。脱重合したアクチン単量体は先端縁近傍ヘリサイクルされ、再びアクチン線維へと組み込まれる。このような空間特異的な重合/脱重合制御およびモーター

分子との相互作用により、アクチン線維は細胞質内を後方へ移動する^{12, 13)}。細胞外に存在する不動性基質と結合した接着分子の細胞内領域とアクチン後方移動が、何らかの細胞内分子(クラッチ分子)を介して連結することにより、アクチン後方移動由来の牽引力が細胞外基質へ伝達され、細胞の運動・形態変化が引き起こされる^{14, 15)}。したがって、牽引力伝達の時空的な制御機構を理解するためには、クラッチ分子の同定およびクラッチ接続/解離の分子メカニズムの解明が必須である。

XLHの原因として報告されたヒトL1細胞内領域の遺伝子変異の多くは、ナンセンス変異あるいはフレームシフト変異によるC末端側の欠損である(図1)。さらにL1細胞内領域C末端側のアンキリン結合ドメインには複数のアミノ酸点変異(S1224LとY1229H)が存在する。これらの遺伝

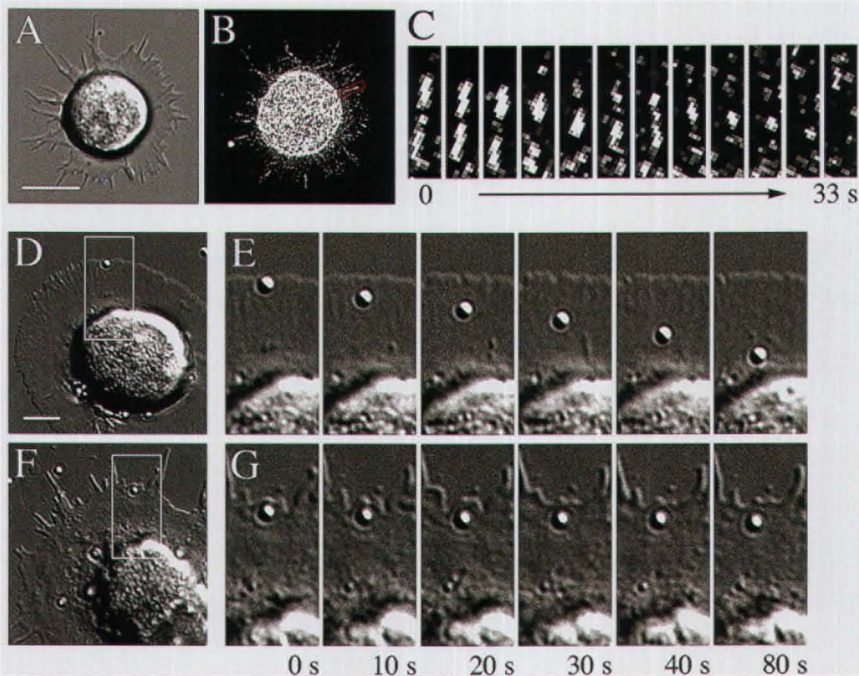


図2 神経細胞体周囲膜様突起・糸状突起におけるクラッチ機構
A-C: マウス脊髄後根神経節由来の培養神経細胞の微分干渉像 (A)、アクチン線維の蛍光斑点像 (B)、および赤線で囲った領域のタイムラプス拡大図 (C) を示す。
D-G: L1コートしたマイクロビーズ (直径800nm) を野生型神経細胞 (D、E) あるいはアンキリンB (-/-) 神経細胞 (F、G) の細胞体周囲膜様突起先端縁に接着させた (0秒)。その後のビーズの運動軌跡を、白線内のタイムラプス拡大図 (E、G) に示す。スケールバー (A、B) 10 μ m; (D、F) 5 μ m (文献16より改変引用)。

子変異はすべて軸索路形成不全を引き起こすことが知られており、L1とアンキリンの結合は軸索路形成に重要であることが示唆された。そこで筆者の研究チームでは、アンキリンがL1とアクチン後方移動を連結するクラッチ分子として機能することにより神経突起成長を制御する可能性についての検証を行った¹⁶⁾。アンキリンG (-/-) マウスおよびアンキリンB (-/-) マウス由来の培養神経細胞を用いて、神経突起成長を定量した。神経細胞をL1基質上に培養することによる (L1-L1ホモフィリック結合による) 神経突起形成能および軸索伸長能を解析したところ、野生型とアンキリンG (-/-) の間には有意差を検出なかった。ところがL1基質上のアンキリンB (-/-) 神経細胞では、野生型と比較して神経突起形成能が有意に低下していたが、軸索伸長能は正常であった。L1依存性神経突起形成におけるアンキリン

Bの関与を追求するため、変異型L1 (S1224LあるいはY1229H) を発現する神経細胞を解析した。いずれのアミノ酸点変異も、L1細胞内領域とアンキリンBの結合を阻害し、かつL1基質上での神経突起形成を抑制した。以上の結果から、L1とアンキリンBの結合は、L1依存性神経突起形成に必要であるが軸索伸長には関与しないことが明らかになった。

タイムラプス顕微鏡法により神経突起形成過程を解析したところ、神経細胞体周囲に形成された膜様突起・糸状突起がさらに突出して神経突起へと移行することが観察された。そこで細胞体周囲膜様突起・糸状突起 (図2A) でのアクチン線維の動態を可視化するため、神経細胞内に極めて低濃度の蛍光標識ファロイدينを注入し、アクチン線維上に形成された蛍光斑点の動きを解析した (Fluorescent speckle microscopy)。図2B、C

に示すように、アクチン線維は約 $5 \mu\text{m}/\text{min}$ の速度で後方（細胞体方向）へ移動した。さらに細胞体周囲膜様突起・糸状突起でのGFP付加アンキリンBの分子動態を解析したところ、アンキリンBはスペクトリンを介してアクチン線維と結合し後方に移動することが判明した。次に、アンキリンBがL1とアクチン後方移動の連結を媒介する可能性を検証するため、L1のリガンドあるいは抗L1抗体をコートしたマイクロビーズを光ピンセットにより細胞体周囲膜様突起の先端縁形質膜上に接着させ、その運動軌跡を解析した。このマイクロビーズは、形質膜上に発現するL1と結合するため、ビーズの運動軌跡はL1の分子動態を反映する。野生型神経細胞の細胞体周囲膜様突起上では、ビーズは約 $5 \mu\text{m}/\text{min}$ の速度で後方（細胞体方向）へ移動した（図2 D、E）。このビーズの後方移動はアクチン線維依存性であり、アクチン後方移動と連結したL1の分子動態を反映するものと考えられた。しかし、アンキリンB (-/-) 神経細胞の細胞体周囲膜様突起上では、ビーズの後方移動速度は有意に低下しており（図2 F、G）、L1とアクチン後方移動の連結不全が観察された。このように、アンキリンBはL1細胞内領域とアクチン後方移動を連結するクラッチの構成分子であることが示された。さらに、L1細胞内領域とアンキリンBの結合（クラッチ接続）は、L1細胞外領域へのリガンド結合により誘起されることも明らかになった。

可動性基質（マイクロビーズ）の代わりに不動性基質（L1コートした培養ディッシュ）により神経細胞でのL1リガンド結合を誘起すると、細胞体周囲に静止した（後方移動しない）アンキリンBの集積が形成された。蛍光共鳴エネルギー移動を指標とした顕微画像解析¹⁷⁾によりL1とアンキリンBの結合（クラッチ接続）を可視化したところ、細胞体周囲の不動性アンキリンB集積部でクラッチが接続していること、およびこのクラッチ接続部位から神経突起が形成されることが明らかになった。以上の結果から、1）アンキリンB

は、L1細胞内領域とアクチン後方移動を連結するクラッチ構成分子である、2）L1細胞外領域へのリガンド結合によりクラッチ接続が誘起される、3）神経細胞体周囲でのクラッチ接続は神経突起形成を促進することが明らかになった（図3）。さらに、ヒトL1細胞内領域遺伝子変異の多くは、L1-アンキリンB結合（クラッチ接続）を阻害することにより神経軸索路の発生を障害することが示唆された。

神経軸索の伸長も同様のクラッチ機構により制御されることが知られている。軸索先端部（成長円錐）の形質膜に存在するL1は、アンキリンB以外の何らかのクラッチ分子を介してアクチン後方移動と連結し、成長円錐を前方へ移動するための牽引力の伝達に関与している^{16, 18)}。

神経接着分子トラフィッキングによる細胞接着空間的制御

細胞・突起が効率的に移動・伸長するためには、周囲環境との接着性の前後方向での勾配（先端縁での強い接着と後部での脱接着）が必要であると考えられている。このような細胞接着の空間的調節機構として、1）接着分子と細胞骨格の結合、2）接着分子のシス会合、3）接着分子トラフィッキング、4）接着分子細胞外領域の蛋白分解などが重要な役割を担っている。筆者の研究チームは、成長円錐に接着性の勾配が存在することを生物物理学的手法により実証し、この接着性の勾配がL1トラフィッキングにより形成・維持されることを明らかにした^{18, 19)}。成長円錐は、アクチン線維を豊富に含む扁平な周辺部、微小管と細胞内小器官を豊富に含む中心部、そして両者の境界領域である移行帯から構成される（図4 A）。成長円錐周辺部でアクチン後方移動と連結したL1は、軸索伸長（成長円錐の前方移動）に伴って中心部方向へ移動する。成長円錐中心部へ進入したL1は細胞内へ取り込まれ（エンドサイトーシス）、微小管依存性小胞輸送により周辺部へ運ばれ、先端縁近傍の形質膜へ再挿入（リサイクル）される。

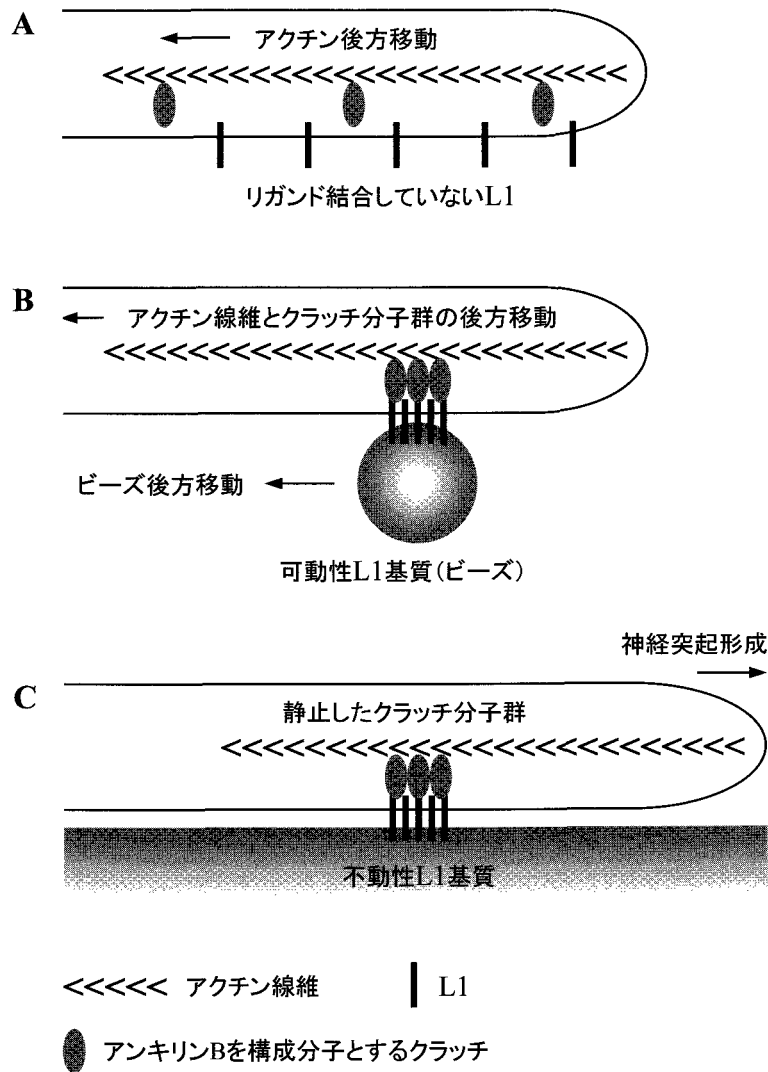


図3 神経突起形成を制御するクラッチ機構

A：神経細胞体周囲膜様突起・糸状突起において、アンキリンBを構成分子とするクラッチはアクチン線維と結合し後方（細胞体方向）へ移動する。細胞外リガンドが結合していないL1の細胞内領域はアンキリンBとは結合しないため、クラッチは解離した状態である。

B：L1コートしたビーズ（可動性L1基質）は、神経細胞形質膜に発現するL1とホモフィリック結合し、L1細胞内領域とアンキリンBの結合およびアンキリンBの集積を誘起する。このクラッチ接続によりビーズは後方移動する。

C：不動性L1基質によりクラッチ接続が誘起されると、基質が後方移動する代わりに細胞体周囲膜が遠心性に牽引され、神経突起が形成する（文献16より改変引用）。

このような部位特異的な接着分子エンドサイトーシス／リサイクルにより、成長円錐における接着性の勾配が形成・維持される。再挿入されたL1は、リガンド結合およびアクチン後方移動との連結により再び中心部方向へ移動する。このようにL1は、成長円錐表面および細胞質内をあたかも

キャタピラのように移動することにより（トラフィッキング）、軸索突起を前方へ牽引する（図4B）。

成長円錐におけるL1の部位特異的エンドサイトーシスはどのように制御されているのであろうか？ 形質膜に存在するL1の細胞内領域YRSLE配列にクラスリンアダプターAP-2が結合すると、

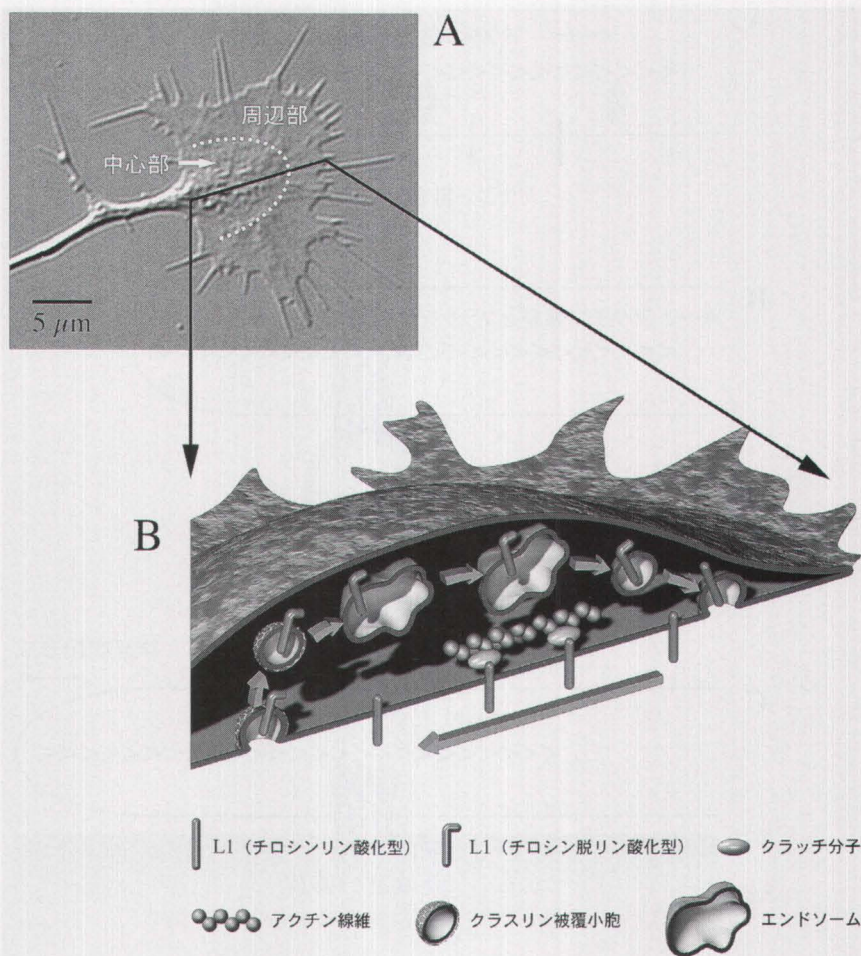


図4 成長円錐でのL1トラフィック

A: L1基質上を移動するニワトリ脊髄後根神経節神経細胞の軸索成長円錐。

B: 成長円錐の断面を示す模式図。アクチン後方移動と連結して成長円錐中心部へ進入したL1は、細胞内領域チロシン脱リン酸化を経て、クラスリン依存性エンドサイトーシスにより細胞内へ取り込まれる。微小管依存性小胞輸送により成長円錐周辺部へ到達したL1は、その先端縁近傍の形質膜へ再挿入され、再びアクチン後方移動と連結して軸索伸長に必要な牽引力を細胞外基質へ伝達する（文献19より改変引用）。

L1は形質膜クラスリン被覆領域に捕捉され細胞内へ取り込まれる¹¹⁾。成長円錐中心部においては、L1の細胞内取り込みの大部分はクラスリン経路を介するものである。AP-2の機能阻害抗体を導入した成長円錐では、L1エンドサイトーシスは著明に抑制され、接着性の前後方向の勾配が減衰し、移動速度（軸索伸長速度）が低下する¹⁸⁾。YRSLE配列のチロシン残基はリン酸化／脱リン酸化修飾を受けることが知られており、AP-2は脱リン酸化型YRSLE配列のみを認識する²⁰⁾。チ

ロシン脱リン酸化型L1を特異的に認識するモノクローナル抗体（74-5H7）で成長円錐を免疫染色すると、小胞様構造体に存在するL1が標識され、74-5H7陽性L1とEps15（クラスリン被覆膜マーカー）は成長円錐中心部でのみ共局在する¹¹⁾。以上の結果から、クラスリン経路によるL1エンドサイトーシスは、L1細胞内領域のチロシンリン酸化により抑制され、チロシン脱リン酸化により誘起されることが明らかになった。

In vitroの実験系において、非受容体型チロシ

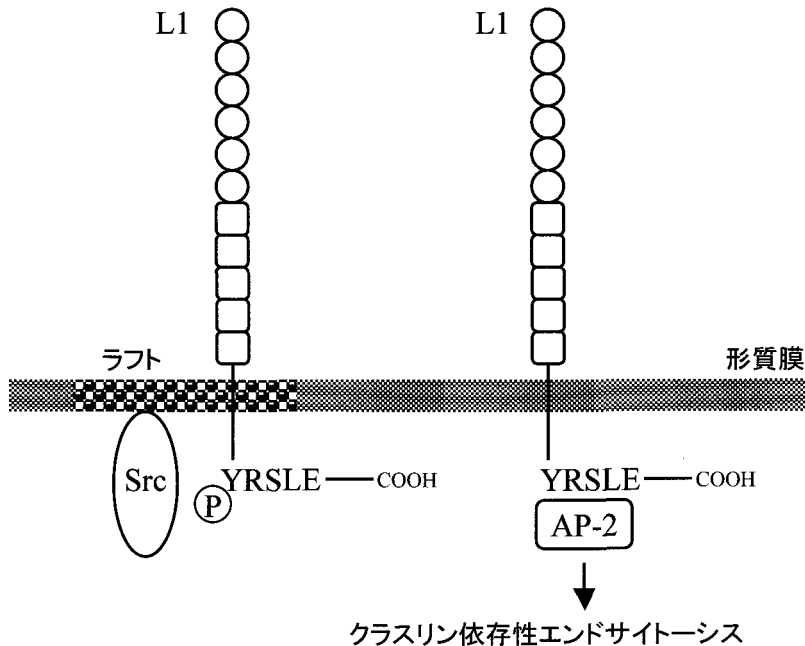


図5 脂質ラフトによるL1エンドサイトーシスの制御機構（一部仮説）
形質膜の脂質ラフト外領域に存在するL1はチロシン脱リン酸化型であり、AP-2との結合によりクラスリン経路で細胞内へ取り込まれる。脂質ラフト領域のL1は、Srcキナーゼによりリン酸化されることによりAP-2との結合が阻害されている。このように脂質ラフトは、L1細胞内領域チロシンリン酸化の場合として機能し、成長円錐でのL1エンドサイトーシスの空間的制御に関与しているらしい。

ンキナーゼSrcはL1細胞内領域YRSLE配列をリン酸化し、L1とAP-2の結合を阻害することが示された²⁰⁾。このチロシン残基を脱リン酸化する酵素は同定されていない。Srcファミリーキナーゼは飽和脂肪酸修飾により細胞膜の細胞質側層にアンカーされている。細胞膜の分子組成は均一ではなく特定の脂質分子が会合した微小ドメインの存在が知られており、Srcファミリーキナーゼは脂質ラフトと呼ばれるドメイン（主としてスフィンゴ糖脂質とコレステロールから構成される界面活性剤不溶性領域）に集積している²¹⁾。筆者らは、L1が細胞膜脂質ラフト内外どちらの領域にも存在することを示し²²⁾、さらに脂質ラフトはL1がSrcと遭遇しチロシンリン酸化される場であることを示唆する知見を得ている（図5）。レーザー分子機能不活性化法による細胞局所での脂質ラフト機能阻害法を開発し、成長円錐での部位特異的ラフト機能解析を行ったところ、成長円錐周辺部

のラフトはL1依存性軸索伸長に必須であり、成長円錐中心部のラフトは軸索伸長には関与しないことが明らかになった²²⁾。以上の結果から、成長円錐周辺部のL1は脂質ラフト内でSrcによりリン酸化されることでクラスリン被覆領域に捕捉されず、アクチン後方移動との連結により成長円錐中心部に進入したL1はラフト外でチロシン脱リン酸化されクラスリン経路により細胞内へ取り込まれるものと推察できる。このように、細胞膜脂質微小環境は接着分子の機能を修飾することにより、細胞接着・極性・運動に重要な役割を担う可能性が示された。

おわりに

神経突起の形成・伸長に影響をおよぼす力学的因子として、筆者は「細胞骨格の分子動態」「クラッチの接続効率」「神経接着分子のリサイクル効率」が重要であると考えている。神経突起の細

胞外周囲環境に応じて、突起成長に関わる接着分子・クラッチ分子・リサイクル経路は多種多彩に変化するが、図4Bに示した基本的なメカニズムは共通であろう。筆者の研究チームでは、接着分子と細胞骨格の動態とそれらの相互作用を時空的に制御する仕組みを探求し、神経突起成長の分子機構を解明することを目指している。

謝 辞

今回紹介した研究の一部は、Case Western Reserve 大学 Vance Lemmon教授、Duke大学 Vann Bennett教授、東京大学医科学研究所 御子柴克彦 教授との共同研究であり、この場をお借りして御礼申し上げます。特に Vance Lemmon教授には、筆者が神経接着分子の研究を開始するにあたり多大なご指導をいただきました。また研究全般の遂行にご支援を賜りました、理化学研究所脳科学総合研究センターのリサーチリソースセンターおよび御子柴克彦グループディレクターに感謝申し上げます。

文 献

- 1) Kamiguchi, H. and Lemmon, V. IgCAMs: bidirectional signals underlying neurite growth. *Curr. Opin. Cell Biol.* **12**, 598-605 (2000).
- 2) Lagenaur, C. and Lemmon, V. An L1-like molecule, the 8D9 antigen, is a potent substrate for neurite extension. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 7753-7 (1987).
- 3) Kamiguchi, H., Hlavin, M. L., Yamasaki, M. and Lemmon, V. Adhesion molecules and inherited diseases of the human nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* **21**, 97-125 (1998).
- 4) Kenwrick, S., Watkins, A. and Angelis, E. D. Neural cell recognition molecule L1: relating biological complexity to human disease mutations. *Hum. Mol. Genet.* **9**, 879-86 (2000).
- 5) Cohen, N. R., Taylor, J. S., Scott, L. B., Guillery, R. W., Soriano, P. and Furley, A. J. Errors in corticospinal axon guidance in mice lacking the neural cell adhesion molecule L1. *Curr. Biol.* **8**, 26-33 (1998).
- 6) Kamiguchi, H., Hlavin, M. L. and Lemmon, V. Role of L1 in neural development: what the knockouts tell us. *Mol. Cell. Neurosci.* **12**, 48-55 (1998).
- 7) Demyanenko, G. P., Tsai, A.Y. and Maness, P. F. Abnormalities in neuronal process extension, hippocampal development, and the ventricular system of L1 knockout mice. *J. Neurosci.* **19**, 4907-20 (1999).
- 8) Demyanenko, G. P. and Maness, P. F. The L1 cell adhesion molecule is essential for topographic mapping of retinal axons. *J. Neurosci.* **23**, 530-8 (2003).
- 9) Yamasaki, M., Thompson, P. and Lemmon, V. CRASH syndrome: mutations in L1CAM correlate with severity of the disease. *Neuropediatrics* **28**, 175-8 (1997).
- 10) Bennett, V. and Chen, L. Ankyrins and cellular targeting of diverse membrane proteins to physiological sites. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**, 61-7 (2001).
- 11) Kamiguchi, H., Long, K. E., Pendergast, M., Schaefer, A. W., Rapoport, I., Kirchhausen, T. and Lemmon, V. The neural cell adhesion molecule L1 interacts with the AP-2 adaptor and is endocytosed via the clathrin-mediated pathway. *J. Neurosci.* **18**, 5311-21 (1998).
- 12) Pollard, T. D. and Borisy, G. G. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell* **112**, 453-65 (2003).

- 13) Dent, E. W. and Gertler, F. B. Cytoskeletal dynamics and transport in growth cone motility and axon guidance. *Neuron* **40**, 209-27 (2003).
- 14) Sheetz, M. P., Felsenfeld, D. P. and Galbraith, C. G. Cell migration: regulation of force on extracellular-matrix-integrin complexes. *Trends Cell Biol.* **8**, 51-4 (1998).
- 15) Suter, D. M. and Forscher, P. Substrate-cytoskeletal coupling as a mechanism for the regulation of growth cone motility and guidance. *J. Neurobiol.* **44**, 97-113 (2000).
- 16) Nishimura, K., Yoshihara, F., Tojima, T., Ooashi, N., Yoon, W., Mikoshiba, K., Bennett, V. and Kamiguchi, H. L1-dependent neuritogenesis involves ankyrin_B that mediates L1-CAM coupling with retrograde actin flow. *J. Cell Biol.* **163**, 1077-88 (2003).
- 17) Miyawaki, A. and Tsien, R. Y. Monitoring protein conformations and interactions by fluorescence resonance energy transfer between mutants of green fluorescent protein. *Methods Enzymol.* **327**, 472-500 (2000).
- 18) Kamiguchi, H. and Yoshihara, F. The role of endocytic L1 trafficking in polarized adhesion and migration of nerve growth cones. *J. Neurosci.* **21**, 9194-203 (2001).
- 19) Kamiguchi, H. and Lemmon, V. Recycling of the cell adhesion molecule L1 in axonal growth cones. *J. Neurosci.* **20**, 3676-86 (2000).
- 20) Schaefer, A. W., Kamei, Y., Kamiguchi, H., Wong, E. V., Rapoport, I., Kirchhausen, T., Beach, C. M., Landreth, G., Lemmon S. K. and Lemmon V. L1 endocytosis is controlled by a phosphorylation-dephosphorylation cycle stimulated by outside-in signaling by L1. *J. Cell Biol.* **157**, 1223-32 (2002).
- 21) Simons, K. and Toomre, D. Lipid rafts and signal transduction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **1**, 31-9 (2000).
- 22) Nakai, Y. and Kamiguchi, H. Migration of nerve growth cones requires detergent-resistant membranes in a spatially defined and substrate-dependent manner. *J. Cell Biol.* **159**, 1097-108 (2002).

小胞体ストレス応答の全貌解明を目指して

今 泉 和 則

(奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科細胞構造学)

1. はじめに

アルツハイマー病を含め多くの神経変性疾患で、変性した神経細胞内あるいはその周囲組織に疾患ごとに特徴的な異常タンパク質の蓄積がみられる。その蓄積が引き金となって神経細胞を破壊していくのか、あるいは神経細胞が傷害された結果、異常タンパク質が産生されるのか、その因果関係は明らかではない。しかし、疾患特異的異常タンパク質の蓄積機構を解明していくことは各種の神経変性疾患でみられる神経細胞死のメカニズムを理解する上で重要である。異常タンパクが細胞内に溜まるという現象は、それを作り出す細胞環境、あるいは処理機構の障害に起因している。小胞体は異常タンパクを識別して排除する、あるいは再び折り畳んで正常化させる“タンパク質の品質管理”を行う重要なオルガネラである。異常タンパクが神経細胞内に蓄積するメカニズムに小胞体の機能異常が関連しても不思議なことではない。

細胞内外からの様々な刺激あるいはストレスにより小胞体内でおこるタンパク質の折り畳みが障害され、小胞体内腔に折り畳み不全のタンパク質(unfolded proteins)がたまる状態を小胞体ストレスという。この小胞体ストレスが神経変性疾患の発症に密接に関わることが最近指摘されるようになってきた。本稿では小胞体ストレス応答の仕組みと最近我々が同定した新規小胞体ストレスセンサーの機能、さらには、異常タンパク感知-処理システムの障害がアルツハイマー病でみられる神経細胞死と密接に関連する可能性を示唆した筆者らの研究成果を紹介する。

2. 小胞体ストレスのシグナル応答

分泌経路を通る大半の蛋白質は小胞体で様々な修飾を受け成熟していく。細胞内外からの各種の刺激やストレスは小胞体内で行われるタンパク質の修飾を阻害し、折り畳み異常あるいは構造異常のタンパク質(unfolded protein)が小胞体に蓄積するようになる。これが小胞体ストレスと呼ばれる状態である¹⁾。小胞体の内腔はカルシウム濃度が高く維持されており、小胞体内腔のカルシウム濃度を低下させる刺激は蛋白質の折り畳みが過度に障害される。生体内では、例えばカイニン酸処理により脳神経細胞内にカルシウムが流入した際に同じような現象が起こりうる。これは、細胞質へのカルシウムの流入が引き金となり、小胞体内腔のカルシウムはカルシウム依存性カルシウムチャンネルを介して細胞質側に流出し、小胞体内腔のカルシウム濃度は著しく低下することにより小胞体ストレスが起こる。また、脳虚血も小胞体ストレスの重要な誘発要因である。詳細なメカニズムは明らかでないが、虚血後、活性酸素による蛋白質修飾や、カルシウムのホメオスタシスの攪乱が異常蛋白質の蓄積に結びつくと考えられる。刺激の強弱はあるにせよ、このような内的あるいは外的ストレスは生体内で常時発生していることは容易に想像できる。小胞体ストレスを引き起こす刺激が過剰な場合あるいは長時間持続する場合、細胞はアポトーシス様の形態変化を起こし死滅する。これに対し、小胞体ストレスが負荷され小胞体の機能が障害されたとき、細胞死から逃れるための防御機構が作動することも良く知られている。

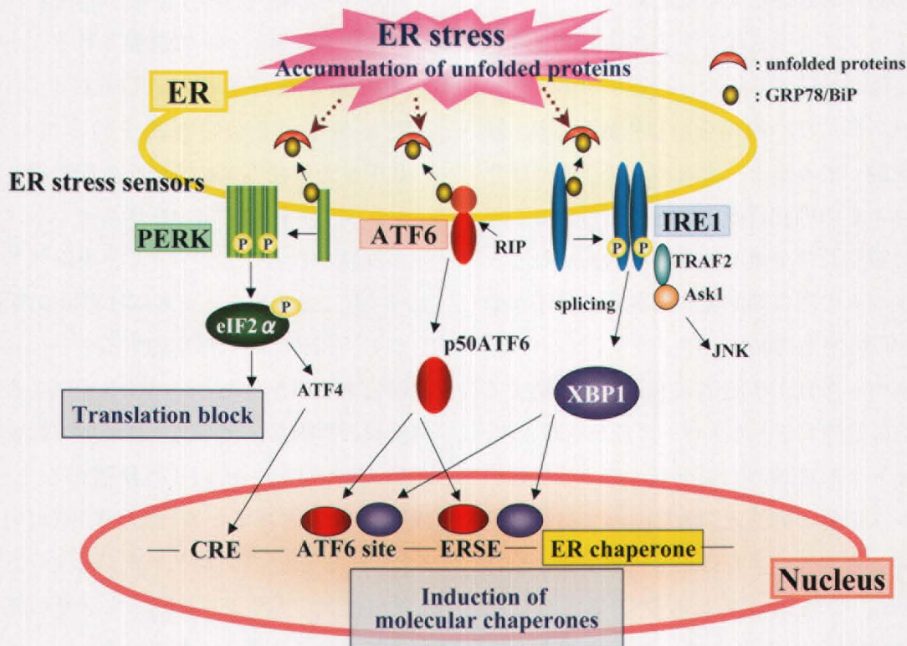


図1 哺乳細胞における小胞体ストレス応答 (unfolded protein response)
小胞体膜上にはストレスシグナル伝達に關する膜タンパク質 (小胞体ストレスセンサー) IRE1 (α および β)、ATF6、PERK が存在する。いずれもストレス負荷がない状態では GRP78/BiP とヘテロダイマーを形成し非活性化状態で存在する。小胞体ストレスが負荷されると、各センサーのセンサードメインから GRP78/BiP が解離し、IRE1 はホモダイマーを、PERK はオリゴマーを形成して活性化する。ATF6 の場合はゴルジ装置に輸送されたあと、S1P および S2P によって膜内切断を受け、切断断片が核に移行する。IRE1 はその C 末端側に存在する RNaseL ドメインによって転写因子 XBP1 のプレ mRNA を切断し活性型の XBP1 をコードする mRNA に変換する。活性化型 XBP1 は核に輸送され、ERSE あるいは ATF6 site に結合して分子シャペロンの転写を促進する。また、IRE1 の C 末端側には TRAF2 および Ask1 がリクルートされ、引き続いて JNK パスウェーを活性化する。PERK は eIF2 α をリン酸化して蛋白質翻訳を抑制する。この PERK-eIF2 α 系の活性化は、転写因子 ATF4 の翻訳を促進する。誘導された ATF4 は CRE (cyclic-AMP responsive element) に結合し分子シャペロンの転写も誘導する。ATF6 切断断片は直接 ERSE に結合し、分子シャペロンの転写を促進する。

これを unfolded protein response (UPR) という。

2-1. UPRに關わる分子群

小胞体膜上に存在する 3 つの 1 回膜貫通型タンパク質 (IRE1, PERK, ATF6) が小胞体ストレスセンサーとして異常タンパク質の蓄積を感知し、細胞質あるいは核内にシグナルを伝える (図 1)²⁻⁵⁾。膜結合型キナーゼである IRE1 および PERK はストレス負荷のない状態ではモノマーとして存在する。小胞体ストレスが負荷されると、IRE1 はホモダイマーを、PERK はオリゴマーを形成して活性化する。IRE1 はその C 末端側に存

在する RNase L ドメインによって転写因子 XBP1 のプレ mRNA を切断し活性型の XBP1 をコードする mRNA に変換する。翻訳された活性型 XBP1 は核に輸送され、小胞体分子シャペロンの遺伝子上流転写調節領域に存在する ERSE (ER ストレス応答エレメント) あるいは ATF6 サイト (あるいは UPRE と呼ばれる) に結合して分子シャペロンの転写を促進する^{6, 7)}。PERK は eIF2 α を直接リン酸化して蛋白質の翻訳を抑制する。ATF6 は小胞体ストレス負荷時に膜内切断を受ける。切断された断片のうち、細胞質側の約 50kDa の ATF6 断片は核に移行して ERSE に結合し、分子シャペロン (GRP78/BiP など) の転写を促進する。

2-2. 小胞体を起源とする細胞死

小胞体ストレスを引き起こす刺激が過剰な場合あるいは長時間持続する場合、細胞はアポトーシス特有の核の断片化や凝縮を示し死滅する⁸⁾。細胞抽出液を調べてみると、カスパー3の活性化やチトクロムCの細胞質内遊離も認められることから、この細胞死はアポトーシスと考えられる。小胞体ストレスの際に細胞死を誘導する分子が最近いくつか同定されている。

1) カスパー12；小胞体ストレスを誘発する物質を細胞に処理するとカスパー12が切断され、活性化フォームに変換される^{9, 10)}。この分子は小胞体ストレス以外の細胞死刺激に対しては全く活性化しない。カスパー12は正常状態では小胞体に局在する。小胞体ストレスが負荷されるとIRE1-TRAF2複合体にカスパー12はリクルートされ、自己切断により活性化する。その後すみやかに小胞体から細胞質側に移行し、プロカスパー9を切断することでアポトーシス実行シグナルを活性化する。カスパー12はマウスで発見されたが、ヒトではカスパー12は存在しない。最近、小胞体ストレス特異的に活性化するカスパー4が、マウスのカスパー12と同じ働きをしている可能性が示された¹¹⁾。

2) IRE1-JNK経路；小胞体ストレスが過剰に負荷された際にJNK (c-Jun N-terminal Kinase) が活性化し、細胞死シグナルを伝達することも知られている。小胞体膜上に存在するストレスセンサーIRE1 α の欠損細胞ではJNKの活性化が消失する¹²⁾。IRE1 α -JNK経路ではTRAF2がIRE1 α と直接結合することによってシグナル伝達に重要な働きをする。また最近、JNKの活性化はIRE1-TRAF2複合体にAsk1 (apoptosis-signaling kinase 1) が結合することが引き金になっていることが明らかにされた¹³⁾。実際にAsk1の欠損細胞では小胞体ストレスによる細胞死が軽減される。

3) CHOP (C/EBP homologous protein-10, also known as GADD153)；CHOPはC/EBP

ファミリーの転写因子で、それ自身、様々なストレスにより転写レベルで誘導される。小胞体ストレスの際の転写誘導はATF6および、PERK-eIF2 α からの2つの経路を使っている^{14, 15)}。CHOPを過剰発現すれば細胞死を誘導し、CHOPノックアウト細胞では小胞体ストレスによる細胞死が抑制されることから^{16, 17)}、小胞体ストレスによって起こるアポトーシスには必須の因子である。しかし、CHOPが転写制御するターゲット遺伝子が何であるのか、あるいはCHOPによる細胞死誘導機構の詳細なメカニズムについてはよくわかっていない。ターゲットの候補のひとつとしてBcl-2が報告されている¹⁸⁾。CHOPはBcl-2の発現を抑制し、細胞内グルタチオン濃度の低下を通して活性酸素の産生を引き起こし、その結果細胞死が誘導されると考えられている。

小胞体ストレスが負荷されると、細胞生存に必要なUPRの活性化とカスパーをはじめとする細胞死シグナルの活性化が同時に起こる。その両者のバランス、つまりどちらのシグナルが強いかで細胞の運命が決定されるものと思われる。CHOPの誘導を抑えたPERKのノックアウト細胞やeIF2 α の機能欠損細胞において小胞体ストレス感受性が亢進することから¹⁹⁻²¹⁾、生存シグナルに関わるUPRのほうが細胞死シグナルよりも優位に働くことが示唆されている。

3. 新たなシグナリング分子の発見

同じ強さの小胞体ストレスを負荷しても細胞ごとに感受性がかなり異なる。このような奇妙な現象を小胞体ストレス応答機構の研究を進める過程で、何度か目の当たりにしてきた。例えば、大脳皮質の初代培養系に小胞体ストレスを負荷すると、神経細胞は短時間のうちに全ての細胞が死滅するのに対し、アストロサイトは生き残る(図2)。これは何を意味するのか？細胞種によって小胞体ストレスのシグナル応答に相違がありストレス感受性、つまりダメージの受けやすさに違いが生じるのではないかと考えた。この仮説を証明するた

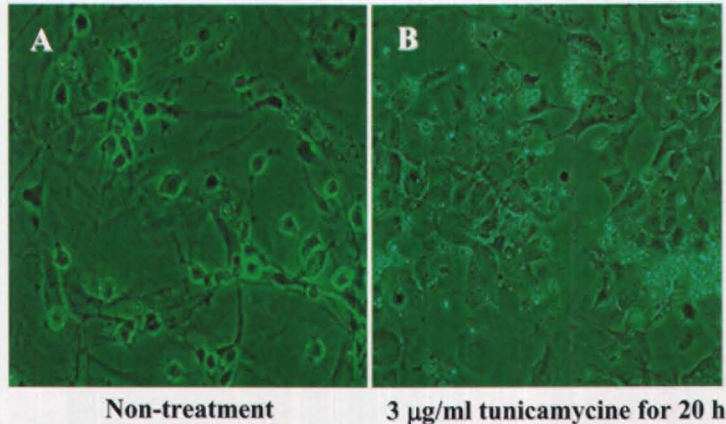


図2 アストロサイトは小胞体ストレスに対して強い抵抗性を示す。
胎生18日マウス的大脑皮質初代培養を行い、メEDIUM中にツニカマイシンを添加した（A：無刺激、B：3 µg/mlツニカマイシン20時間処理）。刺激後20時間目の形態を観察すると、神経細胞はほぼ100%死滅するが、アストロサイトは細胞死を起こさず、形態変化も全く見られない。

め、特にアストロサイトと神経細胞のストレス応答性の違いに着目し、アストロサイトが小胞体ストレスに対し抵抗性を示すメカニズムの解明を目指した。上述したように小胞体ストレス応答の鍵分子である小胞体ストレスセンサー分子は哺乳細胞でこれまでIRE1、ATF6、PERKの3つが同定されている。（図1）。これらは全ての細胞にユビキタスに発現する。筆者らは、アストロサイトにはこれら既存のストレスセンサー以外にアストロサイト固有のストレスセンサーが存在し、そのセンサーからの情報伝達系がアストロサイトの小胞体ストレス抵抗性を生み出す根源であると考えたのである。

3-1. アストロサイトに発現する新規小胞体ストレスセンサーOASIS

データベースサーチによって新規の小胞体ストレスセンサーの同定を試みた。膜貫通型でかつbZIPドメインを持つか、あるいはキナーゼドメインを持つような小胞体ストレスセンサーとしての構造的特徴を有する遺伝子をピックアップしたところ、ATF6とよく似た構造を有するいくつかの膜貫通型bZIP転写因子を見出だした（図3-A）。今回はこのうちOASISの機能解析の結果を

示すことにする。筆者らがOASISに注目したのは、構造的特徴もさることながら、その発現パターンが非常にユニークだったからである。すなわち、長期間培養したアストロサイトに発現してくること、脳損傷時に反応性アストロサイトに発現誘導することなど、アストロサイト特異的に発現する遺伝子であることがすでに知られていた。細胞レベルでOASISの発現解析を行うと、OASISは小胞体ストレス刺激によりmRNAレベルで誘導され、しかもアストロサイト以外（神経芽細胞種、HEK293T細胞、線維芽細胞など）の細胞では発現誘導されないことが分かった。

3-2. OASISは小胞体ストレスに応答して膜内切断を受ける

次にOASISの局在と膜内切断について調べた。OASISは通常小胞体膜上に存在する。小胞体ストレスを負荷するとOASIS陽性反応は核にも見られるようになる（図3-B）。ウェスタンブロッティングを行うと、OASISは80kDaの全長型から小胞体ストレスに反応して50kDaのフラグメントが形成され、膜内切断を受けることが分かった。しかも切断断片は細胞分画法によって核に集積していることも明らかになり、免疫染色と一致

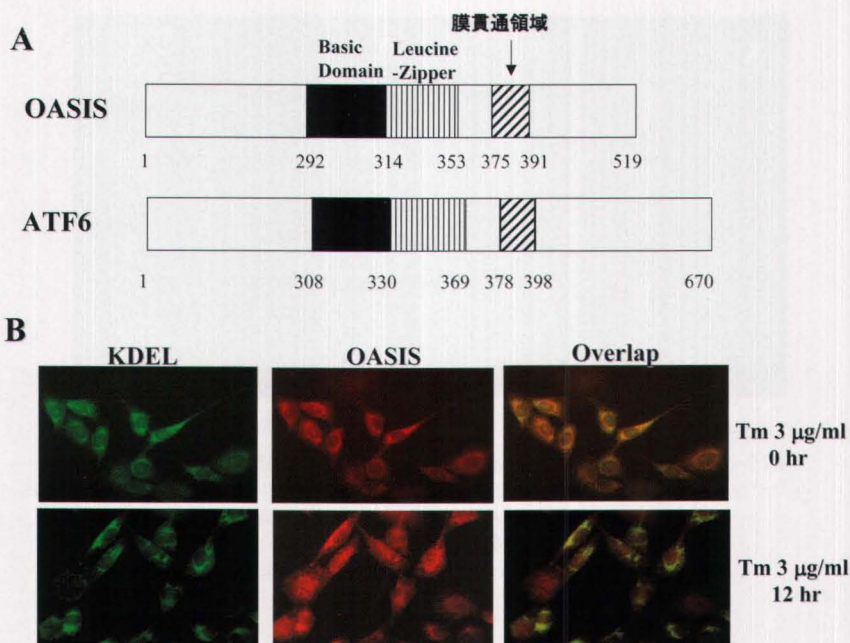


図3 新規小胞体ストレスセンサーOASISの構造と細胞内局在

A: OASISおよびATF6のドメイン構造。

B: OASISの免疫染色。OASISを構成的に発現するC6グリオーマ細胞に3 μ g/mlツニカマイシン (Tm) で刺激した。無刺激のときは、OASISは核周辺に免疫陽性反応が得られ、小胞体分子シャペロンであるGRP78/BiPを染める抗KDEL抗体と完全にオーバーラップする。Tm刺激後OASISは核に強い免疫反応が認められるようになる。

する結果となった。このことからOASISはATF6と同じように小胞体ストレスに反応してS1PおよびS2Pによって膜内で切断され²²⁾、切断されたbZIPドメインを有するN末端断片が核に移行し、何らかのターゲット遺伝子の転写制御に働くと考えられた。

3-3. OASISのターゲット遺伝子は何か

核内では小胞体分子シャペロンの転写制御に重要なシス配列、すなわちERSE (ER stress responsive element) およびCRE (cyclic-AMP responsive element) にOASISは結合して分子シャペロンの発現を誘導することも明らかにした²³⁾。OASISを細胞に強制的に発現させると明らかに小胞体ストレスに対して強い抵抗性を示すようになる。以上の結果は、新規膜結合型転写因子OASISはグリア細胞特異的防御システムを活性化させる小胞体ストレスセンサーであること、な

らびにグリア細胞が他の細胞に比べて強いストレス抵抗性を示す理由がこの分子の存在にあることを示唆する。さらに興味深いことに、OASISはグルタミン酸トランスポーターGLASTの転写を亢進させ、アストロサイトのグルタミン酸取り込みを活性化する。脳内においてはおそらく小胞体ストレスが負荷されるとアストロサイトがまずOASISを発現し、GLASTの転写誘導を起こすものと考えられる。その結果、脳傷害時に放出されるグルタミン酸をアストロサイトが取り込み、興奮毒性から神経細胞を保護する効果を示すようになる。つまり、虚血や外傷によって脳に小胞体ストレスが負荷されると、OASISの活性化を通して脳組織がストレス抵抗性獲得に向けてグリアー神経細胞間情報伝達が活性化して外的ストレスから脳を守るメカニズムが作動するのである。

筆者らは、OASIS以外にも小胞体ストレスセンサーとして機能する可能性のある分子をいくつ

か同定している。これらは組織分布が特徴的であり、OASISの場合と同じように細胞種特異的ストレス応答に関連している可能性が高い。これまでは酵母における小胞体ストレス応答と対比して哺乳細胞における小胞体ストレス応答機構の解明が進められてきた。しかし多様化した哺乳細胞では酵母のように全ての細胞で同じシステムを使って小胞体ストレスに応答しているのではない。おそらくそれぞれの細胞が持つ固有の働きと密接に関連して小胞体ストレスのシグナル応答および発信される情報が複雑かつ特異性をもって制御されているのであろう。

4. 神経変性疾患と小胞体ストレス

小胞体ストレスがアルツハイマー病、パーキンソン病、ポリグルタミン病などの各種神経変性疾患の発症に密接に関わることが指摘されている^{9, 13, 24, 25)}。筆者らはアルツハイマー病原因遺伝子プレセニリン1 (PS1) による神経細胞死が小胞体ストレスと密接に関連することを明らかにしてきた²⁶⁻²⁸⁾。後半はPS1による小胞体ストレス応答の障害メカニズムについて紹介する。

4-1. 変異PS1発現細胞のアポトーシス

家族性アルツハイマー病に連鎖した変異PS1を発現する細胞では、細胞ストレスが負荷されると容易に細胞死を起こす^{29, 30)}。変異PS1によって生じる細胞死は小胞体の機能低下を防御する薬剤により止められる²⁹⁾。また、PS1は主に小胞体存在する膜蛋白質であることも良く知られている。そこで変異PS1と小胞体ストレスとの関連性に着目し、小胞体に特異的にストレスを負荷する薬剤で細胞を処理したときの細胞死の程度を野生型PS1と変異PS1を発現する細胞で比較してみた。変異PS1を発現する細胞は野生型PS1を発現する細胞よりも明らかに小胞体ストレス感受性が増大し、速やかに細胞死を起こした (図4-A)。

4-2. 変異PS1は小胞体ストレス応答を障害する

変異PS1発現細胞が小胞体ストレスに感受性を示すのは、アポトーシスシグナルが活性化しているか、あるいは防御機構であるUPRに障害があるかのどちらかである。筆者らは、PS1によって起こる細胞死が小胞体を起源とすることから、小胞体固有の機能に密接に関連すると考え、後者をその原因であると予想をたて、UPRと変異PS1機能との関連性に注目して研究を進めた。まず、調べたのは変異PS1発現細胞における小胞体ストレスセンサーの活性化である。変異PS1をノックインしたマウス (I213T) から分離した線維芽細胞や変異PS1 stableトランスフェクタント (神経芽細胞腫SK-N-SH細胞) に、小胞体ストレスを負荷したときのIRE1 α およびPERKの活性化状態 (自己リン酸化レベル) を調べた。野生型細胞ではいずれのストレスセンサーともストレス負荷後速やかにリン酸化 (活性化) されるが、変異PS1を発現する細胞では、そのリン酸化が遅延する (図4-B)。さらにATF6の膜内切断も抑制されていることがわかった。つまり全ての小胞体ストレスセンサーの活性化が変異PS1の発現によりブロックされてしまうのである。それではセンサーの下流はどうであろうか? 正常な細胞なら小胞体ストレス下でセンサー分子群が活性化すると下流のエフェクター分子であるGRP78/BiPの遺伝子転写と、eIF2 α のリン酸化が起こる。そこで次に、GRP78/BiP mRNAの発現誘導の変化を検討してみた。予想したようにGRP78/BiP mRNA発現誘導はツニカマイシン添加後6時間で、正常細胞に比べて明らかに低下していた (図4-C)。確かにセンサー障害から下流シグナルの伝達障害が起こっていることが確認できた。しかし、刺激後長時間経過するといずれは対照に用いた細胞のGRP78/BiP mRNA発現レベルまで誘導されるようになる。つまり、変異PS1はGRP78/BiP mRNA誘導を完全にブロックするのではなく遅延させる効果を持つに過ぎないのである。eIF2 α のリン酸化もGRP78/BiP mRNA

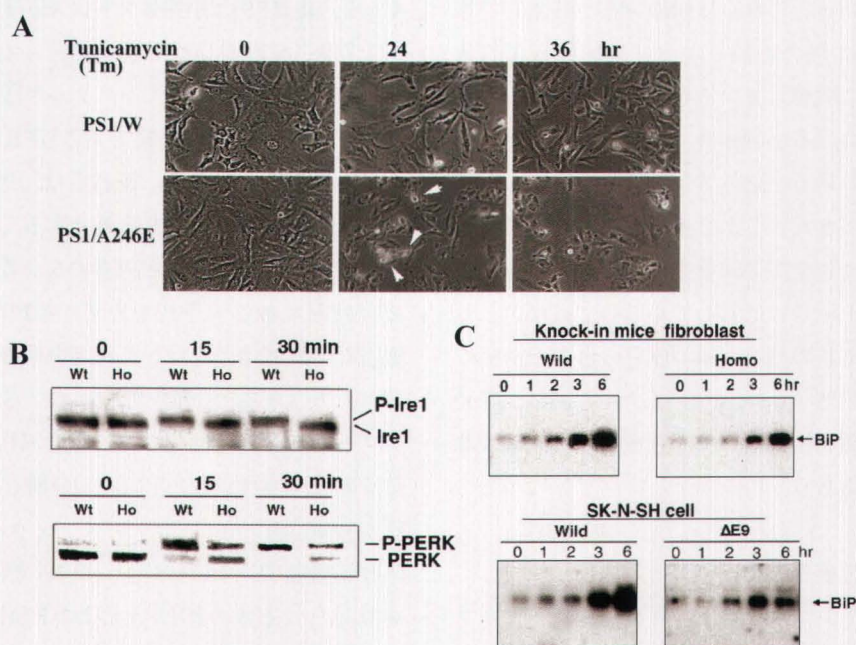


図4 変異PS1発現細胞における小胞体ストレス応答

- A. 野生型PS1 (PS1/W)あるいは変異PS1 (PS1/A246E)を構成的に発現する神経芽細胞種SK-N-SH細胞に3 μ g/mlツニカマイシン (Tm)を処理したときの形態変化。小胞体ストレス負荷後24時間目ごろから変異PS1発現細胞ではアポトーシスを起こした細胞が多数観察される (矢印)。
- B. 上; 変異PS1 (I213T)を発現するノックインマウスから分離した線維芽細胞に0.5mM DTTを処理したときのIRE1のリン酸化変化。Wt、野生型; Ho、ノックインホモマウスの線維芽細胞。P-Ire1はリン酸化Ire1を示す。野生型では刺激後15分以内にIre1のリン酸化がみられるが、ノックインの線維芽細胞では30分後にもリン酸化が起こらない。下; PERKのリン酸化。Ire1の場合と同じようにPERKのリン酸化は変異PS1をノックインした線維芽細胞で遅延する傾向にある。P-PERKはリン酸化PERKを示す。
- C. ツニカマイシン刺激後のGRP78/BiP mRNAノーザンブロッティング。上; 変異PS1をノックインした線維芽細胞、下; 野生型PS1あるいはエクソン9が欠損した変異PS1 (Δ E9)を構成的に発現する神経芽細胞腫。野生型PS1発現細胞に比べ変異PS1発現細胞ではGRP78/BiP mRNA発現上昇が抑制されている。(文献26および28より改変引用)

発現誘導と同様に変異PS1発現細胞では遅延することを確認している。

それでは、GRP78遺伝子の発現抑制が細胞死に直接関連しているのであろうか? 変異PS1を発現する細胞にあらかじめGRP78遺伝子を導入しておき、その後に小胞体ストレスを負荷し、細胞死から救済できるか否かを観察した。するとGRP78の遺伝子導入により変異PS1発現細胞では明らかに小胞体ストレスに対して抵抗性を示すようになり、野生型PS1を発現する細胞と同等の抵抗性にまで回復した。以上から、変異PS1によって起こる細胞死は小胞体分子シャペロンの発現誘

導の減弱が原因であると証明されたわけである。

変異PS1がもたらすGRP78/BiP mRNA誘導障害はPS1の本来の機能喪失 (loss-of-function) によるものかあるいは新たに獲得した機能 (gain-of-function) によるものかを調べるため、PS1/PS2ダブルノックアウトマウスから分離した線維芽細胞に小胞体ストレスを負荷してGRP78/BiP mRNAの発現誘導を調べた。ダブルノックアウト細胞では正常細胞と全く同じようにGRP78/BiP mRNAの誘導が起こっていた。さらにPS1の γ セクレターゼ活性を消失させるアスパラギン酸変異体 (D257AおよびD385A) 発

現細胞でも同様にGRP78/BiP mRNAの誘導が正常に起こった。このような結果から、変異PS1がもたらす小胞体ストレス応答の減弱はPS1のloss-of-functionではなく、PS1の変異によるgain-of-functionによるものと結論した。

4-3. なぜ変異PS1は小胞体ストレスセンサーの活性化を障害するのか

小胞体ストレスセンサーの活性化は、センサードメインからのGRP78/BiPの解離と、それに引き続くオリゴマー形成が引き金となる³¹⁾。小胞体ストレスが負荷され小胞体内腔に異常タンパク質が蓄積するようになると、定常時にはセンサータンパク質と安定な結合をしているGRP78/BiPが異常タンパク質の折り畳みを行うため、センサーから速やかに解離する。PERKのセンサードメインとIRE1のセンサードメインを置換したキメラタンパク質は異常タンパク質を認識して下流シグナルを活性化できる³²⁾。このことはセンサードメインからのGRP78/BiPの解離は共通の機構により生じていることをサポートする証拠でもある。変異PS1がIRE1とPERK分子に対しそれぞれのオリゴマー形成を障害すると考えるよりは、センサーからのGRP78/BiPの解離を障害すると考えると、PS1がIRE1およびPERKの活性化を同時に障害するメカニズムをうまく説明できる。しかし、残念ながら現時点ではまだその証明はできていない。今後小胞体ストレスセンサーのセンシング機構に対する変異PS1の役割を明らかにすることが、アルツハイマー病の神経細胞死メカニズムを解く鍵になるかもしれない。

4-4. 孤発性アルツハイマー病と小胞体ストレス

孤発性アルツハイマー病の発症に小胞体ストレスは関連するのであろうか。筆者らはプレセニリン2 (PS2) 遺伝子のエクソン5を欠失したスプライシング変種 (PS2V) が孤発性アルツハイマー病患者脳で高頻度に発現していることを見出している³³⁻³⁵⁾。PS2Vは、エクソン5を欠失すること

により野生型PS2のN末端119個のアミノ酸をコードした後、フレームシフトが起こり新たに5つのアミノ酸 (SSMAG) を付加して終止する (図5-A)。PS2Vがコードするタンパク質に対する特異的抗体を作成し、免疫組織化学的に脳内発現を調べてみると、アルツハイマー病患者脳の高橋や大脳皮質の神経細胞に強く発現していることがわかった (図5-B)。しかも興味深いことにPS2V免疫陽性細胞の多くは細胞体の萎縮や神経突起が崩壊した変性神経細胞であった。

このような免疫組織化学的検査をアルツハイマー病患者22例、対照健常例6例、対照患者例7例を用いて行った。その結果、アルツハイマー病患者22例全例にPS2V免疫陽性の神経細胞を高橋で多数観察できた。一方対照群では、1例に極めて弱い免疫陽性反応を示す神経細胞を認めたが、他の例には全く観察されなかった。このような結果から、PS2Vの発現、すなわちPS2遺伝子の異常スプライシングは孤発性アルツハイマー病にかなり特異的な現象であることが推察される。しかし、さらに例数を増やし、孤発性アルツハイマー病に特異的な現象なのか否かを確認する必要がある。

PS2VタンパクはPS1と同様に小胞体に局在する。そこでPS2Vを構成的に発現する細胞に小胞体ストレスを負荷しストレス抵抗性とストレス応答経路を調べてみた。小胞体ストレスを起こすカルシウムイオノフォア、ツニカマイシン、低酸素負荷といった刺激を与えてみると、正常細胞に比してPS2V発現細胞では速やかに細胞死を起こした。このときIRE1のリン酸化は抑制され、GRP78/BiP mRNA発現誘導が正常細胞の約1/10程度にまで減弱していた。この現象は変異PS1発現細胞でみられた現象と良く一致する。PS2Vタンパクは孤発性アルツハイマー病脳において、変異PS1と同様なメカニズムで小胞体ストレスを増悪させ細胞死を増強する可能性がある。

異常スプライシングが最初に起こり、産生されたPS2Vタンパクが直接神経細胞死を引き起こすのか、あるいは神経細胞死の過程でスプライシン

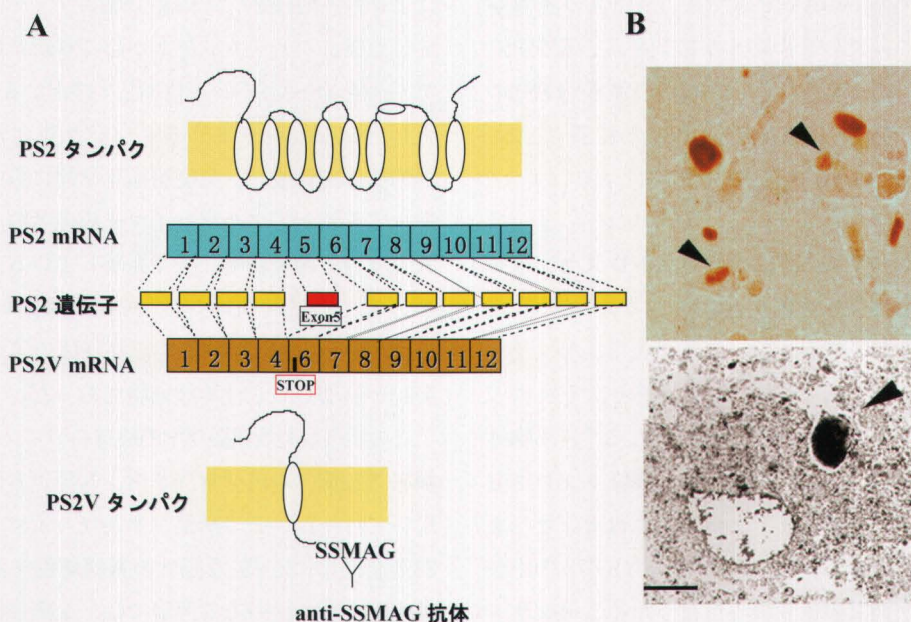


図5 プレセニリン2 スプライシング変種とその発現

- A. プレセニリン2 スプライシング変種 (PS2V) はエクソン5を欠失することにより、PS2のN末端側119個のアミノ酸をコードしたあとフレームシフトを起こし、野生型にはない5つのアミノ酸 (SSMAG) をコードしたあと終止する。PS2Vタンパクに対する特異的抗体の認識エピトープを図に示した。
- B. 孤発性アルツハイマー病患者脳でのPS2Vタンパクの発現。上；抗SSMAG抗体を用いたときのアルツハイマー病患者海馬の免疫染色。萎縮した神経細胞の細胞質に免疫陽性反応がみられる (矢頭)。下；免疫電顕写真。PS2Vタンパク陽性の封入体が細胞質に存在する (矢頭)。(文献34より改変引用)

グ制御が乱れて二次的産物としてPS2Vが発現するのは現時点では明らかになっていない。しかし、*in vitro*の実験からもわかるようにPS2Vが発現すると神経細胞は、小胞体ストレスに対して感受性が亢進し細胞死に陥りやすい。アルツハイマー病脳ではアミロイドの過剰蓄積や活性酸素の産生あるいはカルシウム代謝異常などが神経細胞死を引き起こす危険因子として考えられている。これらはいずれも小胞体ストレスを引き起こす原因物質であることも忘れてはならない。これまで指摘されてきた様々な危険因子による細胞傷害性をPS2Vが発現した神経細胞では小胞体ストレスを通して増幅してしまう可能性がある。このように孤発性アルツハイマー病においてPS2Vタンパクの発現は神経細胞死を引き起こすリスクファクターのひとつとしてとらえることができるのではないだろうか。

5. おわりに

小胞体ストレスが各種の神経変性疾患の発症に深く関連することが数多く報告されてきている。疾患治療法開発のためには小胞体ストレス応答の全貌解明とその制御法の確立が今後の課題である。特に細胞種特異的ストレスセンサーが細胞ごとに見つかってくれば、より特異的に効果を示す薬の開発につながる。例えば、黒質ドーパミン神経細胞のストレスセンサーだけを活性化できれば、他の神経細胞に影響を与えることなく、ターゲット細胞のみに小胞体ストレス応答が活性化でき、パーキンソン病で傷害される神経細胞をストレスから守ることができるようになる。神経難病の治療法開発を視野に入れた今後の小胞体ストレス応答研究のキーワードは“細胞種特異的ストレスセンシング”であろう。

小胞体ストレス研究では克服しなければならな

い問題がもうひとつある。神経変性疾患発症と小胞体ストレスとの関連性を示唆する知見は、いずれもin vitroレベルの解析から得られたもので、実際に脳内で小胞体ストレスが発症に寄与するかどうかは未だ全く証明されていない。さらに小胞体ストレス自体ヒトの脳でいつ、どの神経細胞で起こり、どの程度細胞にダメージを与えているのかも全く理解できていない。今後は細胞レベルの研究から一歩踏み込み、生体内で小胞体ストレスがどのような時空間的パラメーターによりに制御を受け神経細胞の生死に影響を与えているのかを解明しなければいけない。このようなin vivoの解析を行うことにより、神経変性疾患の発症機序の全貌が解明されることを期待したい。

謝 辞

ここで紹介した研究は、奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科細胞構造学講座の近藤慎一氏、村上智彦氏、大阪大学大学院医学系研究科ポストゲノム疾患解析学講座遠山正彌教授、片山泰一博士、米田託成博士、同精神医学講座武田雅俊教授、工藤喬助教授をはじめとする多くの研究者との共同研究により行われたものであり、感謝の意を表したいと思います。本研究は文部科学省研究費、三菱財団自然科学研究助成、東レ科学技術研究助成からの援助をいただきました。

引用文献

- 1) Kaufman, R.J. Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes Dev.* **13**, 1211-1233 (1999).
- 2) Tirasophon, W., Welihinda, A.A., and Kaufman, R.J. A stress response pathway from the endoplasmic reticulum to the nucleus requires a novel bifunctional protein kinase/endoribonuclease (Ire1p) in mammalian cells. *Genes Dev.* **12**, 1812-1824

- (1998).
- 3) Wang, X.Z., Harding, H.P., Zhang, Y., Jolicoeur, E.M., Kuroda, M., and Ron, D. Cloning of mammalian Ire1 reveals diversity in the ER stress responses. *EMBO J.* **17**, 5708-5717 (1998).
- 4) Harding, H.P., Zhang, Y., and Ron, D. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature* **397**, 271-274 (1999).
- 5) Haze, K., Yoshida, H., Yanagi, H., Yura, T., and Mori, K. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Mol. Biol. Cell* **10**, 3787-3799 (1999).
- 6) Yoshida, H., Matsui, T., Yamamoto, A., Okada, T., and Mori, K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell* **107**, 881-891 (2001).
- 7) Calton, M., Zeng, H., Urano, F., Till, J.H., Hubbard, S.R., Harding, H.P., Clark, S.G., and Ron, D. IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA. *Nature* **415**, 92-96 (2002).
- 8) Imaizumi, K., Miyoshi, K., Katayama, T., Yoneda, T., Taniguchi, M., Kudo, T., and Tohyama, M. The unfolded protein response and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta.* **1536**, 85-96 (2001).
- 9) Nakagawa, T., Zhu, H., Morishima, N., Li, E., Xu, J., Yankner, B.A., and Yuan, J. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature* **403**,

- 98-103 (2000).
- 10) Yoneda, T., Imaizumi, K., Oono, K., Yui, D., Gomi, F., Katayama, T., and Tohyama, M. Activation of caspase-12, an endoplasmic reticulum (ER) resident caspase, through tumor necrosis factor receptor-associated factor 2-dependent mechanism in response to the ER stress. *J Biol Chem.* **276**, 13935-13940 (2001).
 - 11) Hitomi, J., Katayama, T., Eguchi, Y., Kudo, T., Taniguchi, M., Koyama, Y., Manabe, T., Yamagishi, S., Bando, Y., Imaizumi, K., Tsujimoto, Y., and Tohyama, M. Involvement of caspase-4 in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and A β -induced cell death. *J. Cell Biol.* in revision.
 - 12) Urano, F., Wang, X., Bertolotti, A., Zhang, Y., Chung, P., Harding, H.P., and Ron, D. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science* **287**, 664-666 (2000).
 - 13) Nishitoh, H., Matsuzawa, A., Tobiume, K., Saegusa, K., Takeda, K., Inoue, K., Hori, S., Kakizuka, A., and Ichijo, H. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats. *Genes Dev.* **16**, 1345-1355 (2002).
 - 14) Yoshida, H., Haze, K., Yanagi, H., Yura, T., and Mori, K. Identification of the cis-acting endoplasmic reticulum stress response element responsible for transcriptional induction of mammalian glucose-regulated proteins. Involvement of basic leucine zipper transcription factors. *J. Biol. Chem.* **273**, 33741-33749 (1998).
 - 15) Ma, Y., Brewer, J.W., Diehl, J.A., and Hendershot, L.M. Two distinct stress signaling pathways converge upon the CHOP promoter during the mammalian unfolded protein response. *J. Mol. Biol.* **318**, 1351-1365 (2002).
 - 16) Oyadomari, S., Koizumi, A., Takeda, K., Gotoh, T., Akira, S., Araki, E., and Mori, M. Targeted disruption of the Chop gene delays endoplasmic reticulum stress-mediated diabetes. *J. Clin. Invest.* **109**, 525-532 (2002).
 - 17) Zinszner, H., Kuroda, M., Wang, X., Batchvarova, N., Lightfoot, R.T., Remotti, H., Stevens, J.L., and Ron, D. CHOP is implicated in programmed cell death in response to impaired function of the endoplasmic reticulum. *Genes Dev.* **12**, 982-995 (1998).
 - 18) McCullough, K.D., Martindale, J.L., Klotz, L.O., Aw, T.Y., and Holbrook, N.J. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state. *Mol Cell Biol.* **21**, 1249-1259 (2001).
 - 19) Harding, H.P., Zhang, Y., Bertolotti, A., Zeng, H., and Ron, D. Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Mol. Cell* **5**, 897-904 (2000).
 - 20) Harding, H.P., Novoa, I., Zhang, Y., Zeng, H., Wek, R., Schapira, M., and Ron, D. Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells. *Mol. Cell* **6**, 1099-1108 (2000).
 - 21) Scheuner, D., Song, B., McEwen, E., Liu, C., Laybutt, R., Gillespie, P., Saunders, T., Bonner-Weir, S., and Kaufman, R.J. Translational control is required for the unfolded protein response and in vivo

- glucose homeostasis. *Mol. Cell* **7**, 1165-1176 (2001).
- 22) Ye, J., Rawson, R.B., Komuro, R., Chen, X., Dave, U.P., Prywes, R., Brown, M.S., and Goldstein, J.L. ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. *Mol Cell* **6**, 1355-1364 (2000).
- 23) Kondo, S., Murakami, T., Iseki, K., Tatsumi, K., Wanaka, A., and Imaizumi, K. Astrocyte-specific unfolded protein response regulated by OASIS, a transmembrane bZIP transcription factor. Submitted.
- 24) Imai, Y., Soda, M., Inoue, H., Hattori, N., Mizuno, Y., and Takahashi, R. An unfolded putative transmembrane polypeptide, which can lead to endoplasmic reticulum stress, is a substrate of Parkin. *Cell* **105**, 891-902 (2001).
- 25) Tobisawa, S., Hozumi, Y., Arawaka, S., Koyama, S., Wada, M., Nagai, M., Aoki, M., Itoyama, Y., Goto, K., and Kato, T. Mutant SOD1 linked to familial amyotrophic lateral sclerosis, but not wild-type SOD1, induces ER stress in COS7 cells and transgenic mice. *Biochem Biophys Res Commun.* **303**, 496-503 (2003).
- 26) Katayama, T., Imaizumi, K., Sato, N., Miyoshi, K., Kudo, T., Hitomi, J., Morihara, T., Yoneda, T., Gomi, F., Mori, Y., Nakano, Y., Takeda, J., Tsuda, T., Itoyama, Y., Murayama, O., Takashima, A., St. George-Hyslop, P., Takeda, M., and Tohyama, M. Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol.* **1**, 479-485 (1999).
- 27) Imaizumi, K., Katayama, T., and Tohyama, M. Presenilin and the UPR. *Nat Cell Biol.* **3**, E104 (2001).
- 28) Katayama, T., Imaizumi, K., Honda, A., Yoneda, T., Kudo, T., Takeda, M., Mori, K., Rozmahel, R., Fraser, P., St. George-Hyslop, P., and Tohyama, M. Disturbed activation of endoplasmic reticulum stress transducers by familial Alzheimer's disease-linked presenilin-1 mutations. *J. Biol. Chem.* **276**, 43446-43454 (2001).
- 29) Guo, Q., Sopher, B.L., Furukawa, K., Pham, D.G., Robinson, N., Martin, G.M., Mattson, M.P. Alzheimer's presenilin mutation sensitizes neural cells to apoptosis induced by trophic factor withdrawal and amyloid beta-peptide: involvement of calcium and oxyradicals. *J. Neurosci.* **17**, 4212-4222 (1997).
- 30) Guo, Q., Fu, W., Sopher, B.L., Miller, M.W., Ware, C.B., Martin, G.M., and Mattson, M.P. Increased vulnerability of hippocampal neurons to excitotoxic necrosis in presenilin-1 mutant knock-in mice. *Nat Med.* **5**, 101-106 (1999).
- 31) Bertolotti, A., Zhang, Y., Hendershot, L.M., Harding, H.P., and Ron, D. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nat. Cell Biol.* **2**, 326-332 (2000).
- 32) Liu, C.Y., Schroder, M., and Kaufman, R.J. Ligand-independent dimerization activates the stress response kinases IRE1 and PERK in the lumen of the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* **275**, 24881-24885 (2000).
- 33) Sato, N., Hori, O., Yamaguchi, A., Lambert, J.C., Chartier-Harlin, M.C., Robinson, P.A., Delacourte, A., Schmidt, A.M., Furuyama, T., Imaizumi, K.,

- Tohyama, M., and Takagi, T. A novel presenilin-2 splice variant in human Alzheimer's disease brain tissue. *J. Neurochem.* **72**, 2498-2505 (1999).
- 34) Sato, N., Imaizumi, K., Manabe, T., Taniguchi, M., Hitomi, J., Katayama, T., Yoneda, T., Morihara, T., Yasuda, Y., Takagi, T., Kudo, T., Tsuda, T., Itoyama, Y., Makifuchi, T., Fraser, P.E., St. George-Hyslop, P., and Tohyama, M. Increased production of beta-amyloid and vulnerability to endoplasmic reticulum stress by an aberrant spliced form of presenilin 2. *J. Biol. Chem.* **276**, 2108-2114 (2001).
- 35) Manabe, T., Katayama, T., Sato, N., Gomi, F., Hitomi, J., Yanagita, T., Kudo, T., Honda, A., Mori, Y., Matsuzaki, S., Imaizumi, K., Mayeda, A., and Tohyama, M. Induced HMGA1a expression causes aberrant splicing of Presenilin-2 pre-mRNA in sporadic Alzheimer's disease. *Cell Death & Differ.* **10**, 698-708 (2003).

輝け次代の担い手たち

ハンチントン病の発現誘導マウスモデルおよびPC12細胞モデル における全長変異ハンチンチンのタンパク質分解

中 村 雅 之

(Johns Hopkins University School of Medicine
Department of Psychiatry)

はじめに

近年、遺伝学および分子生物学的手法の発展に伴い、多くの遺伝性疾患の病因遺伝子が同定され、それらの分子機構の解明が急速に進みつつある。遺伝性神経変性疾患の代表疾患ともいえるハンチントン病 (Huntington's Disease: HD) は、1993年に病因遺伝子 (*huntingtin* 遺伝子) が同定され、その遺伝子が産生する蛋白質 (Huntingtin: Htt) のポリグルタミン鎖をコードするCAGリピートの異常伸長によって生じることが示された¹⁾。ポリグルタミン鎖の異常伸長により引き起こされる疾患はこれまでのところ脊髄小脳失調症 (SCA) 1, 3, 6, 7, 17型、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症 (DRPLA)、球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) の9疾患でみつかっており²⁾、ポリグルタミン病と総称されることもある。HDをはじめとするポリグルタミン病の研究においては病因遺伝子の発見により変異遺伝子を導入した細胞モデルや動物モデルによる研究が可能となり、以後の研究を大きく変えることになった。CAGリピートの異常伸長と制御領域を含む *huntingtin* 遺伝子のエクソン1を導入したトランスジェニックマウスにおいて核内凝集体が発見され、次いで患者の剖検脳において同様の核内封入体が証明された³⁾。すなわち遺伝子発見以前の病理研究で看過されていたものが、遺伝子の発見により作成された動物モデルで初めて見いだされたのである。その後、SCA3、DRPLA、SBMA

など他のポリグルタミン病でも同様の核内凝集体が次々と確認され^{4)~6)}、ポリグルタミン病共通の所見として注目されている。現在、核内凝集体はその病的意義について意見が分かれているところであるが、p53、CBP、Sp1およびTAF130などとの結合による遺伝子発現への影響などについての報告が相次いでなされている^{7)~10)}。また、ポリグルタミン鎖の異常伸長をもつHttはN端側で切断をされ、その伸長ポリグルタミンを含むN末端断片が核内に集積していることがわかってきている。従って、HDにおいて、Httの分解過程におけるN末端断片の産生が病的機構に深く関わっている事が予想される。

2000年から、筆者はジョンズ・ホプキンス大学においてHDの研究が盛んなChristopher A. Ross教授の研究室で仕事をする機会を得た。本稿では、動物モデルや細胞モデルにおいて現在までに得られたデータを紹介しつつ、HDにおける異常Httの分子機構、特に異常HttのN端におけるタンパク質切断について説明していきたい。

ハンチントン病における伸長ポリグルタミン鎖によるgain of toxic functionとloss of function

HDは常染色体優性遺伝形式を示す遺伝性神経変性疾患で、一般的には中年期から初老期に発症し、舞踏様不随意運動、精神症状や痴呆をともしない緩徐に進行し、発症から15年から20年で死に至る疾患である¹¹⁾。神経病理学的には、HDにおい

ては脳全体の萎縮も認めるが、特に線条体における選択的神経変性・脱落が特徴的である¹²⁾。HD患者ではHtt中のポリグルタミンをコードするCAG繰返し配列の異常伸長が*huntingtin*遺伝子中に認められる¹³⁾。HDはそのCAG繰返し数が36以上になると発症し、多くは中年期に発症を示す疾患であるが、発症年齢は、CAG繰返し数に負に相関し、CAG繰返し数が70以上になると若年期に発症をきたし症状もより重篤となる¹⁴⁾。特に男親から異常遺伝子を受け継いだとき、その発症年齢が若年化し症状も重篤となることがあり、表現促進現象と言われる。その実態は、遺伝子が子に伝わるときのCAG繰返し数の異常伸長の増大にあった¹⁵⁾。ハンチントン病は、このように伸長したCAGリピート、すなわちタンパク質レベルでは伸長ポリグルタミン鎖が疾患に深く関わる。他のポリグルタミン病も伸長ポリグルタミン数が発症年齢や重症度との相関を持ち、表現促進現象を示すなど共通点が多い。ポリグルタミン病はSBMA（伴性劣性遺伝形式）を除き、常染色体優性遺伝形式をとり、ポリグルタミン鎖を発現する動物モデルにおいて運動失調、神経変性を引き起こすことからポリグルタミン病は伸長ポリグルタミン鎖によるgain of toxic functionで生じる神経変性疾患と言える。

また、変異Httはloss of functionで説明できる一面も有する。正常なポリグルタミンリピート数をもつHttは、脳由来神経栄養因子（BDNF）の転写因子をupregulateするが、変異Httはこの機能を阻害し、変異Httが存在するとBDNF発現が減少することが報告された¹³⁾。すなわち、変異HttによるBDNFのloss of functionである。

Huntingtin

図1にHttの構造を示す。Httはポリグルタミン数を23とした場合、3144アミノ酸からなる、分子量約350kDaの比較的大きな蛋白質である。ポリグルタミン鎖はN端側に位置し、N末端から数えると18番目のアミノ酸からポリグルタミンが始

まる。ポリグルタミン領域の後に引き続き、多型性に富んだポリプロリン領域を有する。変異Httにはp53、CBP、HAP-1およびGAPDHなど結合蛋白の存在が数多く報告されているが^{7)、8)、14)~16)}、その多くはポリグルタミン鎖やポリプロリン領域を中心としたN端部と結合する。最近このポリプロリン領域と結合蛋白質や凝集体の構造との関連が注目されている¹⁷⁾。このポリグルタミンとポリプロリンを含んだN端を除いた他の部分は、HEATと呼ばれる α ヘリックス・ループ・ α ヘリックスが連続するモチーフを持つと予想されている¹⁸⁾。図1において拡大して示しているN端に注目すると、Httの437~586アミノ酸領域にカスパーゼやカルパインによる切断部位が集中している^{19)~21)}。最近これらカスパーゼやカルパインによって生じるHttのN端切断片よりも短い断片が、アスパラギン酸プロテアーゼによって cp-A、cp-Bの部位での切断で生じ、cp-Aによるポリグルタミンを含む断片が核内移行していることが示唆された²²⁾。

動物モデル

最初のHDの動物モデルは、CAG異常伸長を含む*huntingtin*のエクソン1のトランスジェニックマウスであり²³⁾、このモデルによって初めてHDにおける核内凝集体が証明された²⁴⁾。以後、変異HttのN端断片（171アミノ酸）を用いたもの²⁴⁾、変異Httエクソン1の発現誘導マウスモデル²⁵⁾、全長変異Httのトランスジェニックマウス²⁶⁾、全長変異Httの導入にYACをもちいたトランスジェニックマウス²⁷⁾、マウスのHttに変異Httの一部をノックインしたモデル²⁸⁾など多くのマウスモデルが報告されている。筆者のグループは、食餌もしくは飲水中へのドキシサイクリンの添加または除去によって、ポリグルタミン鎖にグルタミンを148含む全長ヒト変異Httを発現抑制または誘導するトランスジェニックマウスを作製した（投稿準備中）。生まれた直後にドキシサイクリンを除去すると生後約6ヶ月目にロタロッドテスト

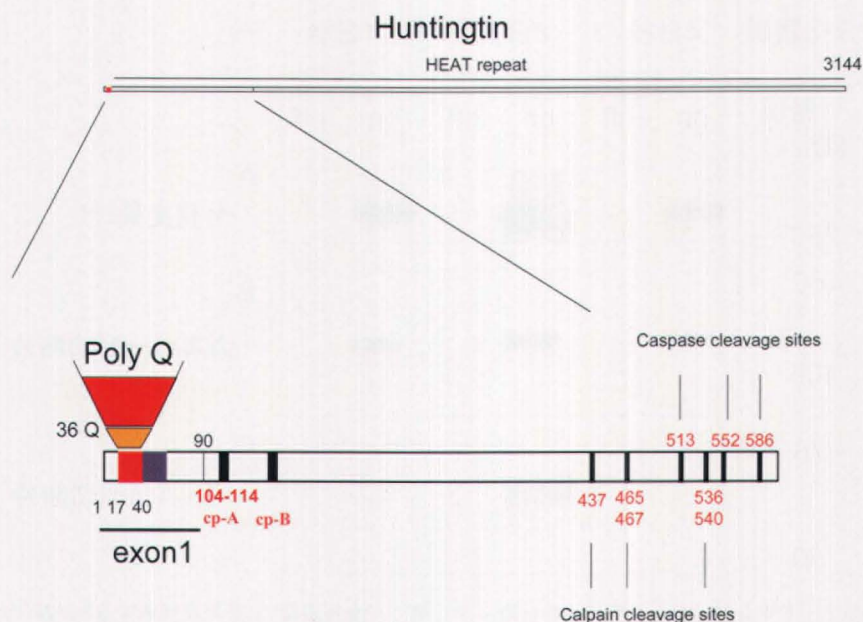


図1 Huntingtinはポリグルタミン数を23とした場合、3144アミノ酸からなる、分子量約350kDaの蛋白質である。ポリグルタミン鎖はN末端から18番目のアミノ酸から始まる。赤色で示したポリグルタミン領域の後に引き続き、青色で示した多型性に富んだポリプロリン領域を有する。ポリグルタミンとポリプロリンを含んだN端を除いた他の部分は、HEATと呼ばれる α ヘリックス・ループ・ α ヘリックスが連続するモチーフを持つと予想されている¹⁸⁾。拡大して示しているN端に注目すると、Httの437~586アミノ酸領域にカスパーゼやカルパインによる切断部位が集中している^{19)~21)}。cp-A、cp-Bの部位での切断が生じ、cp-A部位でのポリグルタミンを含む段端が核内移行していることが示唆された。またcp-A、B部位を切断するのはアスバラギン酸プロテアーゼではないかと予想されている。

においてコントロールとの間に差を生じた。発症後は進行性に、歩行障害、振戦、クラスピングなどの神経症状に加え、体重減少、ハンチバックを示し、終末には寡動となり、1年までに死亡する。HttのN端を認識する抗体を用いると、核分画中にウェスタンブロットで、前述のcp-A類似のHttのN端断片のバンドを認め、免疫組織化学において線条体、大脳皮質、海馬および小脳に核内凝集体を認めた。

すなわち、このマウスモデルにおいては、全長の変異Httが切断され、cp-A類似の短いN端断片が核内に集積している事が示唆された。

HD細胞モデル

我々のグループはさらに、HDの細胞モデルとして、ドキシサイクリンを培養液から除去することにより、ポリグルタミン領域に148個のグルタミ

ンを有し、N末端にmyc-tagを付加した全長変異Httを発現するPC12細胞（全長Htt誘導発現モデル）を作製した（投稿準備中）。血清を除去しNGFを添加することによりPC12細胞を神経細胞様に分化させ、同時にドキシサイクリンを培養液中から除去し、全長変異Httを発現させた（図2）。分化発現誘導後、約4日後から、全長変異Httに加え、約60kDaのcp-A、B類似の変異Htt切断片が弱いシグナルで出現し、分化発現誘導後8日から10日後にピークになる（図2C）。また、このモデルにおいては分化後にもドキシサイクリンを続け、変異Httの発現を抑制した細胞と比較すると、細胞死の割合の差が分化後6日目に明らかになる。一方で同様の誘導発現法を用いて、ポリグルタミン領域に148個のグルタミンを有するが、全長Httではなく、HttのN端断片を発現するモデル²⁰⁾においては全長変異Httを発現するモデル

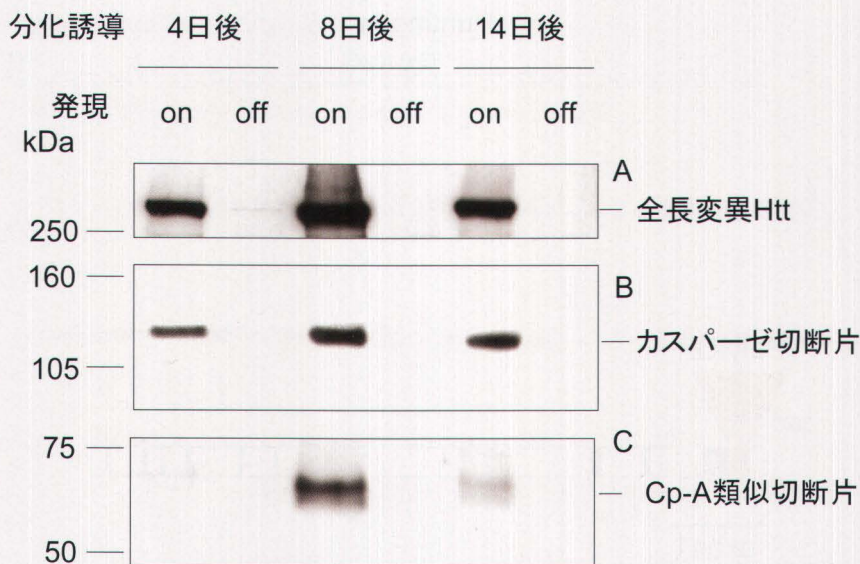


図2 ドキシサイクリンを培地から取り除く事で、全長変異Httを発現誘導するPC12細胞を用いた。血清を除去しNGFを添加することにより神経細胞様に分化させ、分化と同時にドキシサイクリンを培養液中から除去し、全長変異Httを発現させ分化誘導後4、8、14日目の細胞からタンパク質を抽出しウエスタンブロットを行った。A：N端部（aa55-66）を認識する抗体を用いて全長変異Htt（約350kDa）を検出した。B：Httのカスパーゼの切断部を特異的に認識する抗体を用いたウエスタンブロット。既に4日目に強いバンドが出現し、14日目にも比較的持続している。C：N端部（aa55-66）を認識する抗体を用いると60kDa付近に短いバンドが出現する。分化誘導後4日目に少量出現し、8～10日目にピークとなる。

より早期により高い細胞死を示す。このことは、全長変異Httを発現するモデルにおいて、4日目から出現する短いN端断片が毒性の高い断片である可能性を示唆する。

また免疫蛍光染色において、核内凝集体は、N末端に付加したmycを認識する抗体によって核内凝集体を染める事ができるが、cp-Aとカスパーゼ切断部位の間（アミノ酸497-513）を認識する抗体では核内凝集体を染める事はできなかった（図3 B）。一方で、細胞質内凝集体に関してはどちらの抗体でも染まるものと、N末端抗体でないと染まらないものが混在していた（図3 A）。

このcp-A類似の切断片とカスパーゼによる切断片の関連をみるために、カスパーゼの切断部位（552）を特異的に認識する抗体を用いて、全長Httからのカスパーゼ切断片の出現をウエスタンブロット法で調べると、分化誘導後2日目からカスパーゼ断片が先行して出現し始め、図2 Bに示

したようにすでに4日目には強いシグナルで存在していた。まだ予備的ではあるが、分化誘導と同時にカスパーゼ阻害剤を用いて細胞を処理するとcp-A類似断片の出現が部分的に抑制されていた。

これらの結果はcp-A類似断片が、部分的にカスパーゼ出現に引き続いて生じていることを示唆する。図4にこの蛋白質分解過程の予想モデルを示す。

すなわち、全長変異Httは、まず、カスパーゼもしくはカルパインにより切断される。この断片は細胞質内凝集体を形成し得るが核内へは移行できない。カスパーゼもしくはカルパインの切断に引き続き、アスパラギン酸プロテアーゼによる切断を受け、より短い断片を生ずる。この短い断片は、核内に移行でき、核内凝集体の元になる。また、細胞質内で凝集体を形成する事もある。

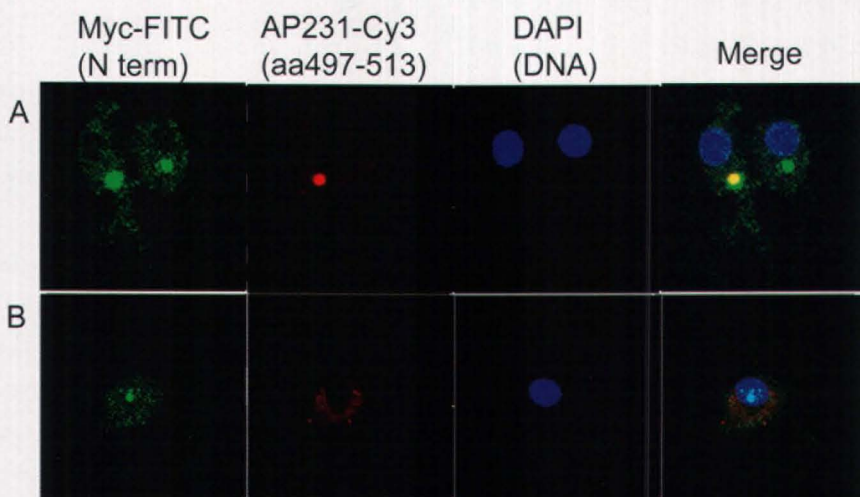


図3 N端側を認識するの抗体（抗myc-tag抗体、2次抗体はFITC）と、cp-Aとカスパーゼの間（aa497～513）をエピトープとする抗体（AP231、2次抗体はCy-3）を用いた免疫多重蛍光染色の共焦点顕微鏡写真
A：細胞質凝集体にはN端側を認識する抗体しか染まらないものと、AP231と両方染まるものが存在する。
B：核内凝集体は、N端側を認識する抗体で染色できるがAP231では染できない。

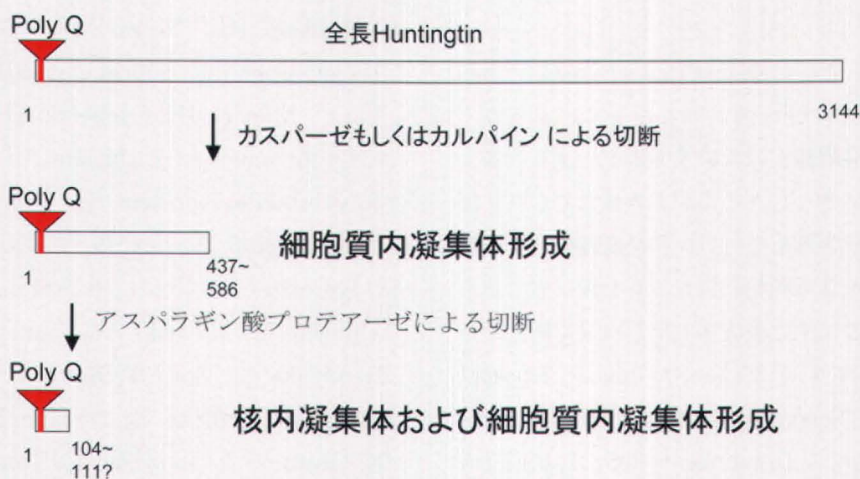


図4 蛋白質分解過程の予想モデル
全長変異Httは、まず、カスパーゼもしくはカルパインにより切断される。この断片は細胞質内凝集体を形成し得るが核内へは移行できない。カスパーゼもしくはカルパインの切断に引き続き、アスパラギン酸プロテアーゼによる切断を受け、より短い断片を生ずる。この短い断片は、核内に移行し、核内凝集体を形成する。また、細胞質内で凝集体を形成する事もある。

まとめ

Httの分解・切断によって生じる伸長ポリグルタミン鎖を含んだ短いN端側の断片は凝集体形成や細胞毒性との密接に関連していることが予想される。HDには多くのN端断片を用いた動物モデルや細胞モデルが存在する。Httが比較的大きな

蛋白質でありかつ、ポリグルタミンが高次構造をとりやすい可能性があり、このために全長Httを大量発現するモデルを作製するのは大変困難であると予想される。しかしHDのモデルとして、蛋白質分解を解析するためにはヒト全長Httを発現するモデルを用いる事が望ましいと思われる。

今回私は全長Httを発現する発現誘導モデルとして動物モデルおよび細胞モデルを用いて、カスパーゼやカルパインによる切断端より短いN端断片が我々のモデルにも存在する事を確認した。細胞モデルでは、そのHttの短いN端断片は、カスパーゼによる切断のあとに引き続いて生じている可能性が示唆された。この短いN端断片は核内凝集体を形成しており、核内においてCBPやTAF_{II}130などと結合し、cAMP応答性遺伝子群の転写障害を引き起こしている可能性があり、細胞毒性との関連が予想される。このN端断片の正確な切断酵素や切断部は未だ同定されていない。今後これらの道程や切断を完全にブロックすることがHD治療法開発のひとつの重要なポイントであることが予想され、今回提示したモデルは今後の治療法開発の上でも有用であると思われる。

謝 辞

本稿で紹介した研究は私が留学中のJohns Hopkins Universityにおいて行っているものであり、まだ発展途上のため未発表データも数多く十分に紹介できないところがあり残念でした。帰国後も引き続き解析を行い、神経変性疾患の機構の解明と治療法の開発に少しでもお役に立てたらと願っております。最後まで惜しみなく研究の指導とご助言をくださったJohns Hopkins University School of Medicine Division of Neurobiology, Department of Psychiatry Christopher A. Ross教授に心より感謝申し上げます。また、今回の留学を援助していただいた財団法人先進医薬振興財団に心より感謝申し上げます。そしてこの研究留学を支援してくださった愛媛大学神経精神医学・田邊敬貴教授、温かいご指導を頂いた鹿児島大学大学院医歯学総合研究科精神機能病学分野・佐野 輝教授、徳島大学医学部情報統合医学精神学分野・上野修一助教授に心より感謝申し上げます。研究の進行にあたり、技術的な指導助言をくださったJohns Hopkins University関係者の皆様に心より感謝いたします。

文 献

- 1) Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* **72**, 971-983, (1993).
- 2) Margolis RL, Ross CA. Expansion explosion: new clues to the pathogenesis of repeat expansion neurodegenerative diseases. *Trends Mol Med.* **7**, 479-82, (2001).
- 3) Davies SW, Turmaine M, Cozens BA, DiFiglia M, Sharp AH, Ross CA, Scherzinger E, Wanker EE, Mangiarini L, Bates GP. Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell* **90**, 537-48 (1997).
- 4) Paulson HL, Perez MK, Trottier Y, Trojanowski JQ, Subramony SH, Das SS, Vig P, Mandel JL, Fischbeck KH, Pittman RN. Intranuclear inclusions of expanded polyglutamine protein in spinocerebellar ataxia type 3. *Neuron* **19**, 333-344 (1997)
- 5) Igarashi S, Koide R, Shimohata T, Yamada M, Hayashi Y, Takano H, Date H, Oyake M, Sato T, Sato A, Egawa S, Ikeuchi T, Tanaka H, Nakano R, Tanaka K, Hozumi I, Inuzuka T, Takahashi H, Tsuji S. Transgenic mice harboring a full-length human mutant DRPLA gene exhibit age-dependent intergenerational and somatic instabilities of CAG repeats comparable with those in DRPLA patients. *Hum Mol Genet.* **8**, 99-106 (1999)
- 6) Sisodia, S.S. Nuclear inclusions in glutamine repeat disorders: are they pernicious, coincidental, or beneficial? *Cell*, **95**, 1-4. (1998)
- 7) Steffan JS, Kazantsev A, Spasic-Boskovic

- O, Greenwald M, Zhu YZ, Gohler H, Wanker EE, Bates GP, Housman DE, Thompson LM. The Huntington's disease protein interacts with p53 and CREB-binding protein and represses transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97, 6763-6768. (2000)
- 8) McCampbell A, Taylor JP, Taye AA, Robitschek J, Li M, Walcott J, Merry D, Chai Y, Paulson H, Sobue G, Fischbeck KH. CREB-binding protein sequestration by expanded polyglutamine. *Hum Mol Genet.* 9, 2197-202. (2000)
- 9) Nucifora FC Jr, Sasaki M, Peters MF, Huang H, Cooper JK, Yamada M, Takahashi H, Tsuji S, Troncoso J, Dawson VL, Dawson TM, Ross CA. Interference by huntingtin and atrophin-1 with cbp-mediated transcription leading to cellular toxicity. *Science* 29, 2423-2428 (2001)
- 10) Dunah AW, Jeong H, Griffin A, Kim YM, Standaert DG, Hersch SM, Mouradian MM, Young AB, Tanese N, Krainc D. Sp1 and TAFII130 transcriptional activity disrupted in early Huntington's disease. *Science* 296, 2238-2243 (2002)
- 11) Harper, P.S. *Huntington's Disease* (2nd edn), W.B. Saunders (1996)
- 12) Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED, Richardson EP Jr. Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 44, 559-577 (1985)
- 13) Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science* 293, 493-498, (2001).
- 14) Cattaneo E, Rigamonti D, Goffredo D, Zuccato C, Squitieri F, Sipione S. Loss of normal huntingtin function: new developments in Huntington's disease research. *Trends Neurosci.* 24, 182-188 (2001)
- 15) Li XJ, Li SH, Sharp AH, Nucifora FC Jr, Schilling G, Lanahan A, Worley P, Snyder SH, Ross CA. A huntingtin-associated protein enriched in brain with implications for pathology *Nature* 378, 398-402 (1995)
- 16) Burke JR, Enghild JJ, Martin ME, Jou YS, Myers RM, Roses AD, Vance JM, Strittmatter WJ. Huntingtin and DRPLA proteins selectively interact with the enzyme GAPDH. *Nat Med.* 2, 347-350 (1996)
- 17) Qin ZH, Wang Y, Sapp E, Cuiffo B, Wanker E, Hayden MR, Kegel KB, Aronin N, DiFiglia M. Huntingtin bodies sequester vesicle-associated proteins by a polyproline-dependent interaction. *J Neurosci.* 24, 269-281 (2004).
- 18) Takano H. & Gusella JF. The predominantly HEAT-like motif structure of huntingtin and its association and coincident nuclear entry with dorsal, an NF-kB/Rel/dorsal family transcription factor. *BMC Neurosci.* 3, 15 (2002)
- 19) Gafni J & Ellerby LM. Calpain activation in Huntington's disease. *J Neurosci.* 22, 4842-4849 (2002)
- 20) Wellington CL, Singaraja R, Ellerby L, Savill J, Roy S, Leavitt B, Cattaneo E, Hackam A, Sharp A, Thornberry N, Nicholson DW, Bredesen DE, Hayden MR. Inhibiting caspase cleavage of huntingtin reduces toxicity and aggregate formation in neuronal and nonneuronal cells. *J Biol Chem.* 275, 19831-19838 (2000)
- 21) Hermel E, Gafni J, Propp SS, Leavitt BR, Wellington CL, Young JE, Hackam AS, Logvinova AV, Peel AL, Chen SF,

- Hook V, Singaraja R, Krajewski S, Goldsmith PC, Ellerby HM, Hayden MR, Bredezen DE, Ellerby LM. Specific caspase interactions and amplification are involved in selective neuronal vulnerability in Huntington's disease. *Cell Death Differ.* in press
- 22) Lunkes A, Lindenberg KS, Ben-Haiem L, Weber C, Devys D, Landwehrmeyer GB, Mandel JL, Trottier Y. Proteases acting on mutant huntingtin generate cleaved products that differentially build up cytoplasmic and nuclear inclusions. *Mol Cell.* **10**, 259-269 (2002)
- 23) Mangiarini L, Sathasivam K, Seller M, Cozens B, Harper A, Hetherington C, Lawton M, Trottier Y, Lehrach H, Davies SW, Bates GP. Exon 1 of the HD Gene with an Expanded CAG Repeat Is Sufficient to Cause a Progressive Neurological Phenotype in Transgenic Mice. *Cell* **87**, 493-506 (1996)
- 24) Schilling G, Becher MW, Sharp AH, Jinnah HA, Duan K, Kotzuk JA, Slunt HH, Ratovitski T, Cooper JK, Jenkins NA, Copeland NG, Price DL, Ross CA, Borchelt DR. Intranuclear inclusions and neuritic aggregates in transgenic mice expressing a mutant N-terminal fragment of huntingtin. *Hum Mol Genet.* **8**, 397-407 (1999)
- 25) Yamamoto A, Lucas JJ, Hen R. Reversal of neuropathology and motor dysfunction in a conditional model of Huntington's disease. *Cell* **101**, 57-66 (2000)
- 26) Reddy PH, Williams M, Charles V, Garrett L, Pike-Buchanan L, Whetsell WO Jr, Miller G, Tagle DA. Behavioural abnormalities and selective neuronal loss in HD transgenic mice expressing mutated full-length HD cDNA. *Nat Genet.* **20**, 198-202 (1998)
- 27) Hodgson JG, Agopyan N, Gutekunst CA, Leavitt BR, LePiane F, Singaraja R, Smith DJ, Bissada N, McCutcheon K, Nasir J, Jamot L, Li XJ, Stevens ME, Rosemond E, Roder JC, Phillips AG, Rubin EM, Hersch SM, Hayden MR. A YAC mouse model for Huntington's disease with full-length mutant huntingtin, cytoplasmic toxicity, and selective striatal neurodegeneration. *Neuron* **23**, 181-192 (1999)
- 28) Lin CH, Tallaksen-Greene S, Chien WM, Cearley JA, Jackson WS, Crouse AB, Ren S, Li XJ, Albin RL, Detloff PJ. Neurological abnormalities in a knock-in mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet.* **10**, 137-144 (2001)
- 29) Igarashi S, Morita H, Bennett KM, Tanaka Y, Engelender S, Peters MF, Cooper JK, Wood JD, Sawa A, Ross CA. Inducible PC12 cell model of Huntington's disease shows toxicity and decreased histone acetylation. *Neuroreport.* **14**, 565-568 (2003)

研究室紹介

神戸大学バイオシグナル研究センター・分子薬理部門

谷 口 泰 造

いつもは空しくひびく「六甲おろしにさっそうと・・・」の歌声が18年ぶりに感慨深くこだました六甲山山麓に、私が所属します神戸大学バイオシグナル研究センターがあります。最寄りの駅は阪急六甲で、学生さんの足では10分、私の足では20分の所にあります。センターの近くにあり、神戸大学100周年を記念して作られた「百年記念館」からの眺望は絶景で、特に夜は100万ドルの夜景を楽しむことが出来ます。最近、イノシシの親子もよく訪れ、神戸大学のマスコットとなっています。

1970年代後半に神戸大学において西塚泰美教授らによりプロテインキナーゼC (PKC) が見出されました。このPKCの発見に始まる細胞膜におけるシグナル変換機構、細胞内情報伝達における脂質の重要性の提唱は、それまではサイクリックAMPやカルシウムイオンの上昇のみで説明されていた生理活性物質の働きに関する通念を越え、細胞内情報伝達機構研究の新時代を開くものでした。バイオシグナル研究センターは、このような本学の伝統を基に、我が国の細胞内情報伝達研究の拠点となることを目指して、平成元年にその設置が国より認められ、平成6年に開設された研究センターであります。

私が所属する分子薬理部門は、齋藤尚亮教授、白井康仁助教授、上山健彦助手（現在留学中）と講師の私を専任スタッフとし、COE研究員、学生、他大学等の非常勤研究員をあわせると総勢20名に及ぶ大所帯です。研究室の特色としては、これまで、活性を中心に評価されていた蛋白、特

にキナーゼの働きに対して、時間と空間の概念を導入し、PKCを中心とする蛋白がどのような刺激に対してどこへ動き（トランスロケーション）、何時活性化されるかを生きた細胞でリアルタイムに評価するシステムを構築し、細胞内情報伝達研究の新分野で世界をリードしている研究室であることです。リードし続けるためのプレッシャーも相当なもので、本研究の中心機器である共焦点顕微鏡は、予約可能な2週間先までの予約が予約解禁日には全てつまる程です。ただ、プレッシャーだけではなく、刺激に応じて蛋白が細胞質から細胞膜、核内へとトランスロケーションし、時には、細胞質と細胞膜の間を行ったり来たりするオシレーション現象がリアルタイムで見られたりすると生命活動の神秘を実感し、その美しさに虜になる人が多いのも理由の一つかも知れません。（参照URL <http://www.biol.f.biosig.kobe-u.ac.jp/>）

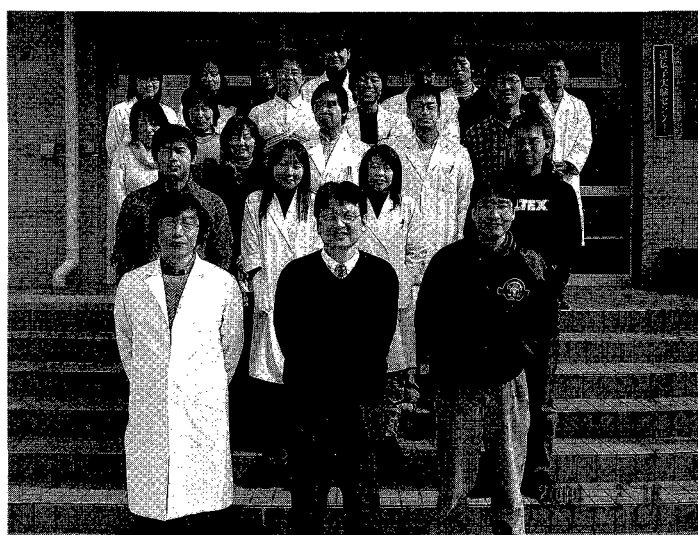
私が行なっています研究は、「行動」と「構造」をキーワードとして（1）細胞内情報伝達機構をベースとしながら、その異常が原因で起こる疾患、特に高次脳機能異常を固体レベル（マウス）で解析する、具体的には、行動学試験を指標として、マウスの認知機能、学習機能の評価を行なうことで、細胞内情報伝達機構の変異と高次脳機能異常との因果関係を検討する。（2）細胞内情報伝達機構の変異は、その主役である蛋白の機能異常によって引き起こされるわけですが、この蛋白の機能異常は蛋白の構造の変異が原因であるとの仮説をたて、機能と構造の相関関係を検討する。の2つのテーマに取り組んでいます。このように、一

見関連性のない2つのテーマに私が取り組むきっかけとなったのは、神戸大学医学部の大学院を終え、それまでは癌の研究を中心に行っていたのが医局人事で痴呆の研究に派遣され、タウ蛋白の研究をしなければならなくなったことです。ちょうどその頃、家族性痴呆症の一つFTDP-17にタウ遺伝子のミスセンス変異が報告されました。ひとつのアミノ酸の変異が痴呆症を引き起こすというわけですが、私にはにわかにそんなことが信じられませんでした。本当にそんなことがあるのかという疑問に答えるため、変異タウ遺伝子を発現したマウスが“痴呆”になるかどうか、ひとつのアミノ酸の変化がどのような蛋白の機能異常を引き起こすのかという問題に取り組むことから始めました。結果、変異タウ発現マウスは、Spatial learning、Fear learningを中心とした高次脳機能低下を示し、また、In vitroにおいても、変異タウ蛋白はWildタウ蛋白と比べてそのコンフォメーション、凝集のメカニズムが異なっていました。ひとつのアミノ酸の持つ重要性を認識させられた瞬間です。その時の驚きと感動が現在の2つのテーマにつながっているように思います。2002年にバイオシグナル研究センターに移ってからは、テトラサイクリン投与の有無により発現のOn-

OFFを制御出来るマウスを使う機会を与えられましたので、脳内の特定部位におけるPKCの発現量とマウスの高次脳機能の相関関係の研究もスタートさせています。

研究室の毎週の行事として、火曜日にデータ検討会と論文紹介があります。齋藤教授始め、全スタッフの輪番制でやっています。特に義務化しているわけではありませんが、ほとんどの学生はパワーポイント等でプレゼンテーションをしてくれます。その後、実験室の掃除を行ないます。また、ユニークなものとしては、齋藤教授が主催する金曜日のモーニングカンファレンスがあります。2003年度は、「カープ分子細胞生物学」を輪読し、今年度は何を読むかを検討中です。朝8時から始まるわけですが、「朝御飯はろくに食べていないであろう下宿学生に、週に1回くらいはまともな朝食を食べさせてやろう。」との教授の配慮から朝食付きで行なわれます。食事の準備は当番性ですが、教授自らが腕を振ったシチュー、サラダが最も人気ありました。

厳しさの中にも、和気あいあいとした雰囲気の研究室です。お近くにおいでの際には是非お立ち寄り下さい。



神戸大学バイオシグナル研究センター 分子薬理部門の面々
(最前列中央が齋藤尚亮教授、右が白井康仁助教授、左が筆者)
連絡先 E-mail: tanigu@kobe-u.ac.jp

Neuro2004 のご案内

第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学会大会 合同大会 (Neuro2004) ご案内

開催概要

会 期：2004年9月21日（火）～23日（木）

会 場：大阪国際会議場（グランキューブ大阪）

〒530-0005 大阪市北区中之島5-3-51

TEL：06-4803-5555 FAX：06-4803-5620

大 会 長：第27回日本神経科学大会

村上富士夫 大阪大学大学院生命機能研究科脳神経工学講座

第47回日本神経化学会大会

遠山正彌 大阪大学大学院医学系研究科ポストゲノム疾患解析学講座

大会事務局：Neuro2004大会事務局

〒541-0047 大阪市中央区淡路町3-6-13 (株)コングレ内

TEL：06-6227-0157 FAX：06-6229-2556

e-mail: neuro2004@congre.co.jp

大会ホームページ：<http://www.congre.co.jp/neuro2004/>

ご挨拶

第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学会大会 合同大会 (Neuro2004) が2004年9月21日、22日、23日の3日間にわたり大阪市（グランキューブ大阪（大阪国際会議場））で開催されます。

神経科学大会および神経化学会大会は、既にそれぞれ26回と46回を数え、基礎的或いは臨床的脳科学の国際的発展に尽くしてまいりました。平成10年を機に3年に一度、両学会の成果を持ち寄り交流を深め、一層の脳科学の発展に寄与する合同学会を開催することとなり、本合同学会で3回を数える運びとなりました。前2回の合同学会には2,000名以上の参加者があり、演題数は1,000題を越えております。又、シンポジウムは、外国から多くの先端的研究を行っている研究者をお招きし、全て英語によって行う国際シンポジウムを同時併行しております。欧米でも大きな評価を受けておりますこのシンポジウムには本年度も斯界のトップクラスの研究者（国内40名、欧米35名）の参加を予定しております。脳科学の分野は最も進歩の著しい分野で、その基礎的研究と臨床的研究の融合により、これまで治療が不可能であった各種難治神経疾患の原因解明を通じた新規治療法の開発が強く期待されております21世紀の重点分野であります。本学会は難治神経疾患の克服をめざし、3年に一度基礎的成果と臨床的成果を持ち寄

り、お互いの融合を通じて、神経難病の克服を目指すことをその目的、趣旨としており、学問的にも社会的にも開催の意義は極めて高いものと確信しております。

奮ってご応募下さいますようお願い申し上げますと共に、多くの皆様のご参加をお待ち申し上げます。

第27回日本神経科学大会

大会長 村上富士夫

第47回日本神経化学学会大会

大会長 遠山 正彌

参加登録要項

参加登録・懇親会費：

	会 員	非会員	学生（会員）	学生（非会員）	懇親会（学生以外）	懇親会（学生）
事前登録	10,000円	11,000円	2,000円	3,000円	4,000円	2,500円
当日登録	12,000円	13,000円	3,000円	4,000円	5,000円	3,000円

事前参加登録：

登録開始：2004年3月1日（月）0：00～

登録締切：2004年5月31日（月）～24：00

（演題応募締切とは異なりますのでご注意ください。）

事前参加登録方法：

演題登録手続きには必ず事前参加登録が必要となりますので、あらかじめ参加手続きをお願い致します。

（手続き手順の概略はフローチャートをご参照下さい。）

事前参加登録は、ホームページ上（<http://www.congre.co.jp/neuro2004/>）で行っております。必ずホームページ上で参加登録をし、パスワードとIDナンバーを取得して下さい。参加手続き後に表示されます「郵便払込金受領確認用紙」をプリントアウトの上、郵便局にて振込みをお願い致します。郵便払込金受領書を「郵便払込金受領確認用紙」に貼付し、大会事務局までFAXして下さい。

（ホームページ）参加登録ボタン→各項目入力→確認画面（確認→IDナンバー・パスワード発行）→郵便払込金受領確認用紙を表示（PDFファイル）→印刷→確認メール送付

（入金作業）郵便局で振込む→郵便払込金受領書（払込み控）を郵便払込金受領確認用紙に貼付→事務局へファックス送付する。（完了）

プログラム・抄録集配布方法

神経科学学会の会員として演題登録をされた場合

事前に演題登録をされた方には参加証（ネームカード：領収証つき）、Neuro2004用のプログラム、CD-ROM抄録集が郵送されます。

印刷された大会抄録集は別売りとなりますので大会会場にてご購入下さい

（部数に限りがございますので売り切れの際にはご容赦下さい。）

神経科学学会の会員として演題登録された方の英文抄録は「Neuroscience Research誌のSupplement（Elsevier）」に掲載されます。筆頭著者は英文抄録掲載費として4,000円が必要です。事前登録の際、神経科学学会員としてお申込みいただければ自動的に英文抄録掲載費も請求されますので参加登録費と一緒に入金してください。

神経科学学会の会員として参加登録をされた場合

事前に参加登録をされた方には参加証（ネームカード：領収証つき）、Neuro2004用のプログラム、CD-ROM抄録集が郵送されます。当日会場にて参加登録をされた場合は会場にて配布されます。

印刷された大会抄録集は別売りとなりますので大会会場にてご購入下さい

（部数に限りがございますので売り切れの際にはご容赦下さい。）

神経化学学会の会員として演題登録または参加登録をされた場合

神経化学学会誌「神経化学」抄録集号が（大会への参加・不参加を問わず）郵送されます。事前に演題登録または参加登録をされた方には参加証（ネームカード：領収証つき）、Neuro2004用のプログラム、CD-ROM抄録集も郵送されます。当日参加登録の場合は会場で配布されます。

学会員以外の参加者

事前に参加登録をされた方には参加証（ネームカード：領収証つき）、Neuro2004用のプログラム、CD-ROM抄録集が郵送されます。当日会場にて参加登録をされた場合は会場にて配布されます。

印刷された大会抄録集は別売りとなりますので大会会場にてご購入下さい

（部数に限りがございますので売り切れの際にはご容赦下さい。）

学生参加者の方へ

学生の方は、会員・非会員にかかわらず、事前登録の場合は郵便払込金受領書FAX用紙の所定欄に指導教官の署名が必要です。当日登録の方は、受付にて学生証を提示してください。

懇親会参加の方へ

懇親会もできる限り事前にお申込みください。懇親会費は事前登録参加費と同時にご入金をお願い致します。

学会入会について

筆頭発表者は日本神経化学会、または日本神経科学学会の会員でなければなりません。登録に際して会員番号が必要となります（日本神経化学会会誌「神経化学」、または日本神経科学学会「神経科学ニュース」「大会案内」郵送時の宛名ラベルに記載された10桁の番号）。発表を予定されている筆頭発表者で非会員の方は以下の連絡先にて入会申し込み手続きを行ってください。

入会申込連絡先

日本神経化学会会員：(財)日本学会事務センター 会員業務部

電話：03-5814-5810／Fax：03-5814-5825

<http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsn/>

日本神経科学学会会員：日本神経科学学会事務局

電話：03-3813-0272／Fax：03-3813-0272

<http://www.jnss.org/indexj.html>

その他

事前登録費は、理由の如何にかかわらず返金できません。二重登録にご注意ください。

参加登録についてのお問い合わせ先

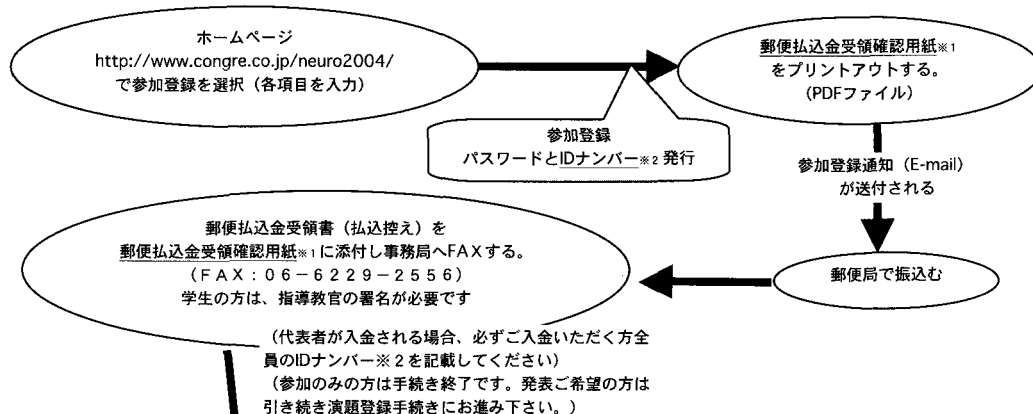
Neuro2004大会事務局

〒541-0047 大阪府中央区淡路町3-6-13 (株)コングレ内

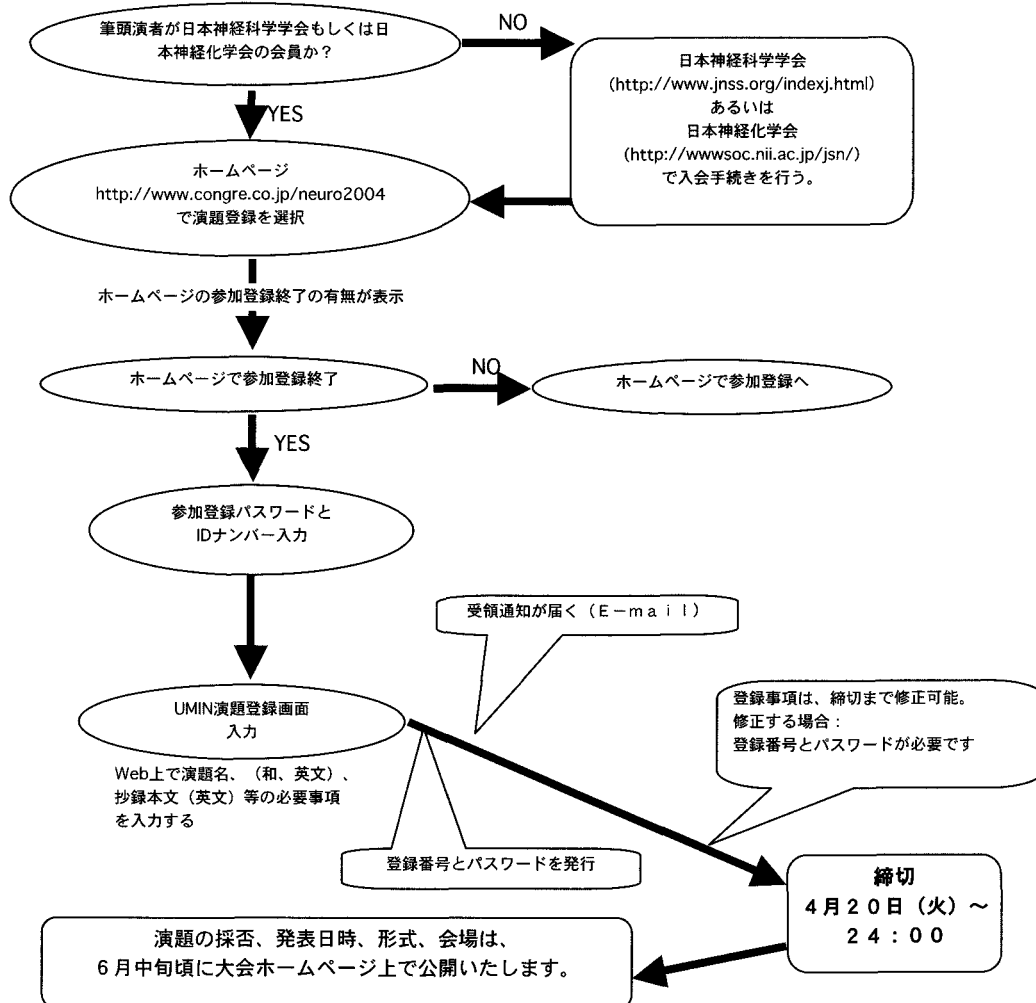
TEL：06-6227-0157 FAX：06-6229-2556

e-mail: neuro2004@congre.co.jp

参加登録について



演題登録について



演題募集要項

一般演題（口演・ポスター）を公募致します。今回は、インターネットによるオンラインの募集のみと致します。用紙での受付は致しませんのでご注意ください。

Neuro2004合同大会ホームページ <http://www.congre.co.jp/neuro2004/>

応募期間 演題応募開始：2004年3月1日（月）0：00～

演題応募締切：2004年4月20日（火）～24：00

（演題応募手続きの前に事前参加登録手続き及び参加登録費の振込みが必要です。）

応募資格 筆頭著者は日本神経科学学会および日本神経化学会の会員であることを原則とします。筆頭著者としての応募は、1名につき1題に限られます。ただし、特別講演・プレナリーレクチャーの指定演題はこの限りではありません。非会員の方は、速やかに入会手続きを行ってください。発表当日までに入会手続きが完了していない場合は、演題を取り消すことがあります。

- ・現在入会申請中の方は、日本神経科学学会の場合（00）、日本神経化学会の場合（99）と入力ください。

- ・筆頭著者は、発表者としてください。

使用言語 今回は、全ての抄録を英文のみで受け付けることになりました。このため、発表演題申込みの際、抄録は英文で作成してください。

ただし、演題名、演者名、所属は、和文、英文の両方をご用意ください。

発表形式

口演発表かポスター発表かの最終的な形式の決定は、プログラム委員会にご一任ください。

各発表形式の詳細は未定です。大会ホームページでご確認下さい。

①口演発表

一般演題の口演発表は日本語、英語のどちらで行っていただいても結構です。

口演発表時間は、討論を含めて15分を予定しています。ただし、時間は、応募演題数などにより変更になる場合があります。

発表用機材は、PC用プロジェクターのみを用意します。

②ポスター発表

発表用の原稿は、すべて英語で作成してください。ただし日本語のサマリーも掲示してください。

応募方法

- ・抄録は全て、英文のみの受け付けとなります。英文の抄録をご準備ください。
- ・大会のホームページ（URL：<http://www.congre.co.jp/neuro2004/>）より、UMINの演題登録画面にアクセスし、表示される案内に従って、必要事項を入力してください。
- ・必ず、事前に「入力について」をよくお読みの上、準備をお願いします。
- ・入力項目は、発表形式・カテゴリー・演者氏名（発表者を筆頭に15名以内）・所属機関（10

施設以内)・連絡先・電子メールアドレス・演題名・抄録本文です。文字数、氏名数の制限を越えるものは受け付けませんのでご注意ください。

- ・投稿された抄録は原則として校正されません。そのまま印刷されますので、提出者の責任において作成してください。

演題採否

- ・演題の採否ならびに発表日時・形式・会場等については、6月中旬頃に大会ホームページ上で公開いたします。演題受付番号での発表となりますので、演題受付番号は必ず控えておいて下さい。尚、演題の採否につきましてはプログラム委員会にご一任願います。

注意事項

- ・演題を登録すると、演題受付番号が自動発行されます。この受付番号と自分で設定したパスワードを入力することにより、演題登録受付期間内に限り、抄録の変更が可能です。セキュリティの関係上、受付番号およびパスワードのお問い合わせには応じられませんのでご注意ください。
- ・投稿された抄録は原則として校正されません。そのまま印刷されますので、提出者の責任において作成してください。
- ・登録締切後の原稿の変更及び共同演者の追加、変更は一切出来ません。重要な共同演者が漏れていることのない様、十分ご確認ください。
- ・コンピュータの環境によっては、ホームページからの演題登録ができない場合があります。テスト登録期間中に、テスト登録されることをおすすめします。演題登録受付期間終了後は、事情に関わらず、特別な配慮はいたしかねますのでご注意ください。

入力について

- ・筆頭著者の氏名、所属機関、連絡先、E-mailアドレス(受領通知送付先)、会員IDを和文、英文の両方を入力してください。
- ・著者全員の所属機関、名前、所属機関番号を入力してください。所属機関、名前は和文、英文の両方を入力してください。
- ・6～7ページをご参照のうえ演題分類項目番号を入力してください。
- ・抄録本文の枠には、英文で抄録本文のみを記入してください。本文の先頭行は、1マスあけたりせずに、左詰めで入力してください。字数制限は、演題名、全著者名、所属機関名を含めて、合計1,220文字です(スペースも含む)。必要事項を入力後、「次に進む」のボタンをクリックすると、現在の文字数を確認することができますので、それに従って文字数を調節してください。

〈改行指定について〉

- ①ブラウザによっては、抄録本文の記入枠が極端に横長になってしまう場合があります。本文の作成に不便な場合は本文の途中で適宜EnterもしくはReturnキーによる改行指定を入れていただいても結構です。EnterもしくはReturnキーによる改行指定は、登録の際自動的に削除されます。
- ②意図的に改行を設ける場合、改行位置に半角で
と入力してください。

(例) GDNF promoted the survival of dopaminergic neurons in vitro.

○ GDNF promoted the survival
 of dopaminergic neurons in vitro.

× GDNF promoted the survival ↓ of dopaminergic neurons in vitro.

〈使用可能な特殊文字・文字装飾の入力について〉

①以下の特殊文字・記号が使用できます。これらの特殊文字・記号は演題登録用ホームページの一覧表よりコピーして抄録本文の必要個所にペーストすることで、より正確な抄録を作成することができます。

< (全角) > (全角) → ← ↑ ↓

%‰ Å + ? ± × ÷ = ≠ ≈ ≡ ≤ ≥ ∞ ∞ ∞ ⊆ ⊇ ⊂ ⊃ ∪ ∩ ∧ ∨

α β γ δ ε ζ η θ ι κ λ μ ν ξ ο π ρ σ τ υ φ χ ψ ω ~ °C

Α Β Γ Δ Ε Ζ Η Θ Ι Κ Λ Μ Ν Ξ Ο Π Ρ Σ Τ Υ Φ Χ Ψ Ω

②文字装飾は以下の要領で行ってください。 <I></I> <U></U>は必ず半角を使用してください。これらの書式指定用タグも演題登録用ホームページの一覧表よりコピーして抄録本文の必要個所にペーストすることで、より正確な抄録を作成することができます。

・上付き文字：上付き文字が必要なときは、文字の前後を^とで囲ってください。

(例) Na⁺ は Na⁺ となります。

・下付き文字：下付き文字が必要なときは、文字の前後を_とで囲ってください。

(例) H₂O は H₂O となります。

・イタリック文字：イタリック文字が必要なときは、文字の前後を<I>と</I>で囲ってください。

(例) <I>c-fos</I> は c-fos となります。

・太文字：太文字が必要なときは、文字の前後をとで囲ってください。

(例) AAA は AAA となります。

・アンダーライン：アンダーラインが必要なときは、文字の前後を<U>と</U>で囲ってください。

(例) <U>AAA</U> は AAA となります。

注) 書式指定用タグとの混乱を防ぐため、抄録本文内で<および>の記号を使うときは(たとえばp<0.05、CO>2.2が挙げられます)、必ず全角の<および>を使ってください。

(例) × p<0.05、○ p<0.05

演題申込みに関するお問い合わせは、

Neuro2004大会事務局

〒541-0047 大阪府中央区淡路町3-6-13 (株)コングレ内

TEL: 06-6227-0157 FAX: 06-6229-2556

E-mail: neuro2004@congre.co.jp

演題分類項目一覧

A. Excitable Membranes and Synaptic Transmission (興奮性膜、シナプス伝達)

1. Ion Channels and Excitable Membranes (イオンチャネル、興奮性膜)
2. Synapse (シナプス)
3. Synaptic Plasticity (シナプス可塑性)

B. Cellular Neurobiology (細胞神経生物学)

4. Neurotransmitters and Modulators (神経伝達物質、修飾物質)
5. Receptors and Transporters (受容体、輸送体)
6. Signal Transduction and Modulation (情報伝達、変換、修飾)
7. Axonal Transport, Cell Motility and Cytoskeleton (軸索輸送、細胞運動、細胞骨格)
8. Glia and Myelin (グリア、ミエリン)
9. Blood-Brain Barrier (血液脳関門)

C. Developmental Neurobiology (発生、発達、再生に関する研究)

10. Pattern Formation (パターン形成)
11. Cellular Differentiation (細胞分化)
12. Axonal Outgrowth and Network Formation (突起伸展、回路網形成)
13. Trophic Factors and Cytokines (栄養因子、サイトカイン)
14. Cell Adhesion Molecules (細胞接着因子)
15. Regeneration, Transplantation (再生、移植)
16. Neuronal Death and Apoptosis (神経細胞死、アポトーシス)

D. Sensorimotor System (感覚系、運動系)

17. Motor System (運動)
18. Visual System (視覚)
19. Auditory and Vestibular System (聴覚、前庭感覚)
20. Olfaction, Taste and Chemical Senses (嗅覚、味覚、化学感覚)
21. Somatosensory System (体性感覚)
22. Pain (痛覚)
23. Viscerosensory System (内臓感覚)

E. Autonomic and Endocrine Regulation (自律機能、内分泌の調節)

24. Autonomic Nervous System (自律神経系)
25. Neuroendocrine System (神経内分泌)
26. Neuroimmunology (神経免疫)

F. Neural Basis of Behavior (行動の神経科学的基盤)

27. Instinct and Emotional Behavior (本能と情動行動)
28. Sleep and Biological Rhythms (睡眠、生体リズム)
29. Learning and Memory (学習、記憶)

30. Cognition (認知)

G. Disorders (疾患、神経病理学)

- 31. Animal Models (疾患モデル)
- 32. Developmental Disorders (発育、発達障害)
- 33. Neurodegenerative Diseases (Parkinson's Disease and others) (変性疾患)
- 34. Neuropsychiatric and Neurological Diseases (精神神経疾患)
- 35. Muscle Disorders (筋疾患)
- 36. Ischemia (虚血)
- 37. Trauma (外傷)
- 38. Aging, Dementia and Alzheimer's (老化、痴呆、アルツハイマー)
- 39. Drug Abuse and Psychopharmacology (Addiction) (薬物依存、精神薬理)
- 40. Neurotoxicity (中毒症)
- 41. Neuro-oncology (脳腫瘍)
- 42. Epilepsy (てんかん)
- 43. Infection (感染症)
- 44. Cerebral Blood Flow and Metabolism (脳血流、代謝)

H. Methodology (方法論)

- 45. Imaging (イメージング)
- 46. Molecular and Cellular Biological Techniques (分子生物学的、細胞生物学的方法)

I. Theory and Applications (理論と応用)

- 47. Learning Theory (学習理論)
- 48. Computer Science and Robot (コンピューター科学、ロボット)

キーワード集

A

ACURRENT
ABDOMINAL
ABDUCENS
ABDUCTION
ABLATION
ABSORPTION
ABSTINENCE
ABSTRACTION
ABUSE
ACCESSORY
ACCOMMODATION
ACCUMBENS
ACETYL-L-CARNITINE
ACETYLCHOLINE [ACH]
ACETYLCHOLINESTERASE
[ACHE]
ACETYL-L-CARNITINE
ACETYLTRANSFERASE
ACID
ACOUSTIC
ACQUISITION
ACRYLAMIDE
ACTH
ACTIN
ACTION POTENTIAL
ACTIVATION
ACTIVATOR
ACTIVITY
ACTIVITY DYNAMICS
ACUITY
ADAPTATION
ADDICTION
ADENOSINE
ADENYLATE CYCLASE
ADENYLIC ACID
ADHESION
ADIPOSE
ADRENAL
ADRENALECTOMY
ADRENALINE
ADRENERGIC
AFFERENT
AFFINITY
AFM [ATOMIC FORCE
MICROSCOPY]
AFTERDISCHARGE
AFTERHYPERPOLARIZATION
AFTERPOTENTIAL
AGGLUTININ
AGGRESSION
AGING [AGEING]
AGONIST
AKT
ALCOHOL
ALDOSTERONE
ALERTING
ALGORITHM
ALKALOID
ALLELE
ALLERGIC
ALLODYNIA
ALLOGRAFT
ALPHA
ALS [AMYOTROPHIC LATERAL
SCLEROSIS]
ALTERNATION
ALTERNATIVE
ALUMINUM
ALZHEIMER

AMACRINE
AMBIGUOUS
AMINE
AMINERGIC
AMINO ACID
AMNESIA
AMPA
AMPHETAMINE
AMPLITUDE
AMYGDALA
AMYLOID
ANALGESIA
ANALOG CIRCUIT
ANALOGY
ANALYSIS
ANDROGEN
ANESTHESIA
ANGIOTENSIN
ANION
ANISOMYCIN
ANKLE
ANOREXIA
ANOXIA
ANTAGONIST
ANTENNA
ANTERIOR
ANTEROGRADE
ANTIBODY
ANTICHOLINERGIC
ANTICHOLINESTERASE
ANTICIPATION
ANTICONVULSANT
ANTIDEPRESSANT
ANTIGEN
ANTIpsychotic
ANTISENSE
ANTISERUM
ANXIETY
ANXIOLYTIC
AP-1
APHASIA
APLYSIA
APOMORPHINE
APOPTOSIS
APPETITE
ARACHIDONIC
ARCHITECTURE
ARCuate
AREA
ARGININE
ARM
AROMATASE
AROUSAL
ARRHYTHMIA
ARTERY
ARTIFICIAL INTELLIGENCE
ARTIFICIAL LIFE
ASCIDIAN
ASCORBIC
ASPARTATE
ASSOCIATION
ASSOCIATIVE
ASSOCIATIVE MEMORY
ASTROCYTE [ASTROGLIA]
ATAXIA
ATP [ADENOSINE TRIPHOS-
PHATE]
ATPase
ATRIUM
ATROPHY
ATROPINE

ATTENTION
AUDITORY
AUTOIMMUNITY
AUTONOMIC
AUTOPHOSPHORYLATION
AUTORADIOGRAPHY
AUTORECEPTOR
AVERSION
AVOIDANCE
AVP [ARGININE-VASO-
PRESSIN]
AXON
AXON TERMINAL
AXONAL
AXONAL TRANSPORT
[AXOPLASMIC TRANSPORT]
AXONOGENESIS
AXOPLASM
AXOTOMY

B

BACK PROPAGATION
BACLOFEN
BAG CELL
BALANCE
BARBITURATE
BARIUM
BARORECEPTOR
BARREL
BARRIER
BASAL
BASAL FOREBRAIN
BASAL GANGLIA
BASAL LAMINA
BASALIS
BASILAR
BASIS FUNCTION
BASKET CELL
BATRACHOTOXIN
BAX
BAYESIAN
BCL-2
BCL-X
BDNF [BRAIN DERIVED
NEUROTROPHIC FACTOR]
BEHAVIOR
BENZODIAZEPINE
BETA
BETA-AMYLOID
BICUCULLINE
BINAURAL
BINDING
BINOCULAR
BIOGENIC AMINE
BIOSYNTHESIS
BIPOLAR
BIRDSONG
BLADDER
BLINDNESS
BLOCK
BLOOD
BLOOD FLOW
BLOOD PRESSURE
BLOOD-BRAIN
BODY WEIGHT
BOMBESIN
BOTULINUM
BOVINE
BRACHIUM
BRADYKININ
BRAIN

BRAINSTEM
BROWN
BUCCAL
BULB
BUNGAROTOXIN
BURST

C

CELEGANS
C-FIBER
C-MET
CA1
CA3
CAFFEINE
CAG
CAGED
CALCINEURIN
CALCITONIN
CALCIUM [CA]
CALLOSUM
CALMODULIN
CALRETININ
CANNABINOIDS
CAPILLARY
CAPSAICIN
CAR
CARBACHOL
CARDIAC [HEART]
CARDIOVASCULAR
CAROTID
CASPASE
CASTRATION
CAT
CATECHOLAMINE
CATEGORY
CATHEPSIN
CATION
CAUDAL
CAUDATE
CCK [CHOLECYSTOKININ]
CDK
CDNA
CELL
CENTRAL GRAY
CENTRAL PATTERN
GENERATOR
CEREBELLAR
CEREBELLUM
CEREBRAL
CHANNEL
CHAOS
CHARACTER RECOGNITION
CHEMOKINE
CHEMORECEPTOR
CHI
CHIASM
CHICK
CHLORAMPHENICOL
CHLORIDE
CHLORPROMAZINE
CHOLESTEROL
CHOLINE ACETYL TRANS-
FERASE
CHOLINERGIC
CHOROID
CHROMAFFIN
CHRONIC
CILARY
CINGULATE
CIRCADIAN
CIRCUIT

CIRCULATION
 CIRCUMVENTRICULAR
 CLIMBING FIBER
 CLOCK
 CLONE
 CLONIDINE
 CLONING
 ONS [CENTRAL NERVOUS
 SYSTEM]
 COCAINE
 COCHLEA
 CODING
 COERULEUS [CERULEUS]
 COFFILI
 COGNITION
 COGNITIVE
 COHERENCE
 COLD
 COLLAGEN
 COLLAPSE
 COLLATERAL
 COLLICULUS
 COLOR
 COLUMN
 COMMAND
 COMMISSURE
 COMPETITION
 COMPETITIVE LEARNING
 COMPLEX
 COMPOUND
 COMPUTATIONAL THEORY
 COMPUTER
 CONCENTRATION
 CONDITIONAL PROBABILITY
 CONDITIONED
 [CONDITIONING]
 CONDUCTANCE
 CONDUCTION
 CONE
 CONNECTION
 CONNECTIONIST
 CONSCIOUSNESS
 CONSUMPTION
 CONTEXT
 CONTEXTUAL
 CONTOUR
 CONTRACTILE
 CONTRAST
 CONTROL
 CONTUSION
 CONVERGENCE
 CONVULSION
 CORD
 CORRELATION
 CORTEX
 CORTICAL
 CORTICOSTERONE
 CORTICOTROPIN
 COUPLED
 CRANIAL
 CREB
 CRF [CRH]
 CRITICAL
 CRMP [COLLAPSE RESPONSE
 MEDIATOR PROTEIN]
 CROSS
 CRUSTACEA
 CSF [CEREBROSPINAL FLUID]
 CULTURE
 CUNEATE
 CURRENT
 CUTANEOUS
 CYCLIC ADP RIBOSE
 CYCLIC AMP [CAMP, C-AMP]

CYCLIC GMP [CGMP, C-GMP]
 CYSTEAMINE
 CYTOARCHITECTURE
 CYTOCHROME
 CYTOCHROME OXIDASE
 CYTOKINE
 CYTOPLASM
 CYTOSKELETON
 CYTOSOL

D
 DARK
 DARK REARING
 DBH
 DEAFFERENTATION
 DEAFNESS
 DEATH
 DECARBOXYLASE
 DECEREBRATE
 DECISION
 DEEP CEREBELLAR NUCLEI
 DEFENSE
 DEGENERATION
 DEHYDROGENASE
 DELAYED
 DELAYED RESPONSE
 DELTA
 DEMENTIA
 DEMYELINATION
 DENDRITE
 DENDRITIC
 DENERVATION
 DENSITY
 DENTATE
 DEOXYGLUCOSE
 DEPENDENT
 DEPOLARIZATION
 DEPOLARIZING
 DEPRESSION
 DEPRIVATION
 DESCENDING
 DESENSITIZATION
 DESIPRAMINE
 DESYNCHRONIZATION
 DEVELOPMENT
 DEXAMETHASONE
 DFP
 DIABETES
 DIAGONAL BAND
 DIALYSIS
 DIAPHRAGM
 DIAZEPAM
 DICHOTIC
 DIENCEPHALON
 DIET
 DIFFERENCE
 DIFFERENTIAL DISPLAY
 DIFFERENTIATION
 DIFFUSION
 DIGESTION
 DIGITAL
 DIGITAL CIRCUIT
 DIGITONIN
 DIMORPHIC
 DIPHTHERIA
 DIRECTIONAL
 DISABLED
 DISEASE
 DISPARITY
 DISSOCIATION
 DISTRIBUTION
 DISUSE
 DMSO [DIMETHYLSULFOXIDE]
 DNA

DNA COMPUTER
 DOLICHOL
 DOLPHIN
 DOMAIN
 DOMINANCE
 DOMINANT
 DOPA
 DOPAMINE
 DOPAMINERGIC
 DORSAL
 DORSAL COLUMN [DORSAL
 FUNICULUS]
 DORSAL HORN
 DORSAL MOTOR NUCLEUS
 DORSAL ROOT
 DORSAL ROOT GANGLION
 [DRG]
 DORSOLATERAL
 DORSOMEDIAL
 DOSE-RESPONSE
 DOWN SYNDROME
 DREBRIN
 DRINKING
 DRIVE
 DROSOPHILA
 DRUG
 DURA
 DYE
 DYNAMICS
 DYNAMIN
 DYNORPHIN
 DYSLEXIA
 DYSTONIA
 DYSTROPHIC

E
 EAR
 EATING
 ECTODERM
 EDINGER WESTPHAL
 EEG [ELECTROENCEPHALOGRAPH]
 EFFERENT
 EGG LAYING
 ELASMOBRANCH
 ELECTRIC ORGAN
 ELECTROCONVULSIVE SHOCK
 ELECTRON
 ELECTRONIC
 ELECTROPHYSIOLOGY
 ELECTROPORATION
 ELECTRORECEPTOR
 ELECTROTONIC
 ELONGATION FACTOR-2
 EMBRYO
 EMG [ELECTROMYOGRAM]
 EMOTION
 ENCEPHALOMYELITIS
 ENCODING
 ENDOCRINE
 ENDORPHIN
 ENDOTHELIAL
 ENDPLATE
 ENERGY
 ENKEPHALIN
 ENOLASE
 ENTERIC
 ENTOPEDUNCULAR
 ENTORHINAL
 ENTRAINMENT
 ENUCLEATION
 ENVIRONMENTAL
 ENZYME
 ENZYMEIMMUNOASSAY
 EOS

EPILEPSY
 EPILEPTIFORM
 EPINEPHRINE [ADRENALINE]
 EPITHELIUM
 EPP [ENDPLATE POTENTIAL]
 EPSC
 EPSILON
 EPSP [EXCITATORY
 POSTSYNAPTIC POTENTIAL]
 EQUILIBRIUM STATE
 ER [ENDOPLASMIC
 RETICULUM]
 ERG [ELECTRORETINOGRAM]
 ESCAPE
 ESTERASE
 ESTROGEN [ESTRADIOL]
 ESTROUS
 ETA
 ETHANOL
 EVALUATION FUNCTION
 EVENT
 EVOKED
 EVOLUTION
 EVOLUTIONAL DYNAMICS
 EXCITOTOXICITY
 EXCITABILITY
 EXERCISE
 EXOCYTOSIS
 EXPLANT
 EXPLORATION
 EXPRESSION
 EXTINCTION
 EXTRA
 EXTRACELLULAR
 EXTRAOCULAR
 EXTRASTRIATE
 EYE
 EYE FIELD
 EYE MOVEMENT
 EYE POSITION
 EYEBLINK

F
 FACE
 FACE NEURON
 FACIAL
 FACILITATION
 FACS
 FACTOR
 FASCIA DENTATA
 FASCICULATION
 FAST
 FASTIGIAL
 FATIGUE
 FATTY ACID
 FEAR
 FEATURE EXTRACTION
 FEED FORWARD
 FEEDBACK
 FEEDING
 FEMALE
 FETAL
 FEVER
 FIBROBLAST
 FIBRONECTIN
 FIELD
 FILAMENT
 FILOPODIA
 FIMBRIA
 FINGER
 FISH
 FIXATION
 FLASH
 FLEXION

FLEXOR
FLIGHT
FLOCCULUS
FLOOR
FLUORESCENCE
FLUORIDE
FMI-43
FMRFAMIDE [FMRFAMIDE]
FMRI [FUNCTIONAL MRI]
FOOD
FORCE
FOREBRAIN
FORELIMB
FORGETTING
FORMATION
FORNIX
FORSKOLIN
FORWARD MODEL
FOS
FOVEAL
FRAGMENTATION
FREE RADICALS
FREEZE FRACTURE
FREQUENCY
FRONTAL
FSH [FOLLICLE-STIMULATING
HORMONE]
FUNCTIONAL
FURA-2

G

GPROTEIN
GABA [GAMMA-
AMINOBUTYRIC]
GABAERGIC
GAD
GALECTIN-1
GAMMA
GANGLION
GANGLIOSIDE
GAP JUNCTION
GAP-43
GASTRIC
GASTROINTESTINAL
GATING
GDNF
GEF
GENE
GENERALIZATION
GENETIC ALGORITHM
GENOME
GERBIL
GFA [GLIAL FIBRILLARY
ACIDIC PROTEIN]
GFP [GREEN FLUORESCENT
PROTEIN]
GILL
GIRK
GLAND
GLIA
GLIOMA
GLOBUS PALLIDUS
[PALLIDUM]
GLOMERULUS
GLT1
GLUCAGON
GLUCOCORTICOID
GLUCOSE
GLUCOSE-6-PHOSPHATE
GLUR
GLUTAMATE
GLUTAMATE DECARBOX-
YLASE
GLUTAMIC ACID

GLYCINE
GLYCOGEN
GLYCOLIPID
GLYCOPROTEIN
GLYCOSYLTRANSFERASE
GM1
GNRH
GOLGI
GONAD
GONADOTROPIN
GRI-ANCHORED PROTEIN
GRACILIS
GRAFT
GRANULE
GRAY
GROOMING
GROWTH
GROWTH CONE
GROWTH FACTOR
GROWTH HORMONE
GRP [GLUCOSE REGULATED
PROTEIN]
GTP
GUANINE
GUIDANCE
GUINEA PIG
GUSTATORY
GYRUS

H

H-REFLEX
HABENULA
HABITUATION
HAIR CELL
HALOPERIDOL
HALOTHANE
HAND
HARDWARE IMPLEMENTATION
HEAD
HEARING
HEAT
HEMISPHERE
HEMOGLOBIN
HEMORRHAGE
HEPATIC
HEROIN
HERPES
HIERARCHY
HIGHER
HINDBRAIN
HINDLIMB [LEG]
HIPPOCALCIN
HIPPOCAMPAL
HIPPOCAMPUS
HISTAMINE
HISTOCHEMISTRY
HISTOCOMPATIBILITY
HISTORY
HOPFIELD NETWORK
HORIZONTAL CELL
HORMONE
HPLC
HRP [HORSERADISH
PEROXIDASE]
HUMAN
HUNTINGTON
HYBRIDIZATION
HYDROCEPHALUS
HYPERACTIVITY
HYPERALGESIA
HYPERGLYCEMIA
HYPERPOLARIZATION
HYPERSENSITIVITY
HYPERTENSION

HYPERTHERMIA
HYPOGLOSSAL
HYPOGLYCEMIA
HYPOPHYSECTOMY
HYPOTENSION
HYPOTHALAMUS
HYPOTHERMIA
HYPOTHYROID
HYPOVOLEMIC
HYPOXIA

I

IA
IB
IBOTENIC ACID
ICA
IDENTIFICATION
ILLUSION
IMAGE PROCESSING
IMAGE SEGMENTATION
IMAGING
IMIPRAMINE
IMMEDIATE EARLY GENE
IMMUNITY
IMMUNOCYTOCHEMISTRY
IMMUNOELECTRON
IMMUNOGLOBULIN
IMMUNOHISTOCHEMIS-TRY
IMMUNOREACTIVITY
IMMUNOSUPPRESSION
IMPLANT
IN SITU
IN VITRO
IN VTVO
INACTIVATION
INCERTA
INDEPENDENT COMPONENT
INDOLEAMINE
INDUCTION
INFERENCE
INFERIOR
INFERIOR COLLICULUS
INFERIOR OLIVE
INFLAMMATION
INFOMAX
INFORMATION
INFRAORBITAL
INFRARED
INHIBITION
INHIBITOR
INHIBITORY
INJURY
INNOMINATA
INOSITOL
INPUT
INSECT
INSECTICIDE
INSPIRATORY
INSULA
INSULIN
INTELLIGENCE
INTERFERON
INTERHEMISPHERIC
INTERLEUKIN
INTERMEDIOLATERAL
INTERNAL REPRESENTATION
INTERNALIZATION
INTERNEURON
INTEROCULAR
INTERPEDUNCULAR
INTERPOSITUS
INTRACELLULAR
INTRACISTERNAL
INTRACORTICAL

INTRATHECAL
INTRINSIC
INVERSE MODEL
ION
IOTA
IP3
IPSC
IPSP [INHIBITORY
POSTSYNAPTIC POTENTIAL]
IRIS
ISCHEMIA
ISLET-3
ISOLATION
ISTHMI

J

JAPANESE MONKEY
JAW
JIMPY
JOINT
JUN
JUNCTION

K

KAINATE
KAINIC ACID
KAPPA
KETAMINE
KIDNEY
KILON
KINASE
KINDLING
KINESIN
KINETIC [KINETICS]
KNOCK-IN
KNOCKOUT
KOHONEN NETWORK
KOLLIKER-FUSE
KORSAKOFF

L

L-TYPE
LI
LABYRINTH
LACTATE
LACTATION
LACZ
LAMBDA
LAMINA
LAMININ
LANGUAGE
LARYNGEAL
LASER
LATARALIZATION
LATERAL
LATERAL GENICULATE [LGB,
LGN]
LATERAL LEMNISCUS
LATERAL LINE
LATERAL POSTERIOR [LP]
LATARALIZATION
LDT
LEAD
LEARNING
LEARNING DYNAMICS
LECTIN
LEG
LEMNISCUS
LEUCINE ZIPPER
LEUKEMIA
LH [LUTEINIZING HOR-MONE]
LHRH
LIBER
LIGHT

M

MACACA FUSCATA
MACAQUE MONKEY
MACROPHAGE
MACULA
MAGNESIUM [MG]
MAGNETIC
MAGNOCELLULARIS
MAGNUS
MALB
MALNUTRITION
MAO [MONOAMINE OXIDASE]
MAP ESTIMATION
MAP KINASE
MAPPING
MARKOV RANDOM FIELD
MASTICATION
MATERNAL
MATING
MATRIX
MATURATION
MAUTHNER
MAZE
MECHANOSENSORY
MEDIAL
MEDIAL GENICULATE
MEDIAN EMINENCE
MEDIAN NERVE
MEDULLA
MEG [MAGNETO-
ENCEPHALOGRAPHY]
MEJPS [MINIATURE
EXITATORY JUNCTIONAL
POTENTIALS]
MELATONIN
MEMBRANE
MEMBRANE POTENTIAL
MEMORY
MENTAL
MEPP
MESENCEPHALIC
METABOLISM

MYOCARDIAL
 MYOCLONUS
 MYOSIN
 MYOTATIC
 MYOTUBE
N
 NA-K ATPASE
 NADPH
 NALOXONE
 NAP-22
 NARCOTIC
 NASAL
 NATRIURETIC
 NAUSEA
 NAVIGATION
 NCAM
 NECK
 NECROSIS
 NEGATIVE
 NEOCOGNITRON
 NEOCORTEX
 NEONATAL
 NERVE
 NESTIN
 NETWORK
 NEURAL
 NEURAL TUBE [NEURALCREST,
 NEURAL PLATE]
 NEURITE
 NEUROBLASTOMA
 NEUROCHEMICAL
 NEUROENDOCRINE
 NEUROFILAMENT
 NEUROGENESIS
 NEUROHYPOPHYSIS
 NEUROLEPTIC
 NEUROMODULATION
 NEUROMUSCULAR
 NEURON
 NEURONAL
 NEUROPATHOLOGY
 NEUROPATHY
 NEUROPEPTIDE
 NEUROPHYSIN
 NEUROPIL
 NEUROPILIN
 NEUROPSIN
 NEUROSECRETION
 NEUROSTEROID
 NEUROTENSIN
 NEUROTOXICITY
 NEUROTRANSMISSION
 NEUROTRANSMITTER
 NEUROTROPHIC
 NEUROTROPHIN
 NEUROTROPIC
 NEWT
 NG108-15
 NGF [NERVE GROWTH
 FACTOR]
 NICOTINE
 NICOTINIC
 NICTITATING
 NIGROSTRIATAL
 NIRS [NEAR-INFRARED
 SPECTROSCOPY]
 NITRIC OXIDE
 NMDA
 [N-METHYL-D-ASPARTATE]
 NMR
 NOCICEPTIN
 NOCICEPTION
 NODE

O
OBESITY
OBLONGATA
OCAM
OCCIPITAL
OCTAPEPTIDE
OCTOPAMINE
OCULAR
OCULOMOTOR
ODOR
OFF
OLFACTION
OLFACTORY
OLIGODENDROCYTE
[OLIGODENDROGLIA]
OLIGONUCLEOTIDE
OLIVARY
OLIVE
OMEGA
OMICRON
ON
ON-LINE
OOCYTE
OPERANT
OPIATE [MORPHINE]
OPIOID
OPTIC
OPTICAL
OPTICAL FLOW
OPTIMIZATION
OPTOKINETIC
ORAL
ORBITOFRONTAL
OREXIN
ORGAN
ORGANOPHOSPHATE
ORGANOTYPIC
ORIENTATION
ORIENTING
ORNITHINE
ORPHAN
OSCILLATION
OSCILLATOR
OSMOTIC PRESSURE
OUABAIN
OUTGROWTH
OUTPUT
OVARY
OXIDATION
OXOTREMORINE
OXYGENASE
OXYGENATION
OXYGENE
OXYTOCIN

P

PACEMAKER
PACINIAN
PAIN
PALMITATE
PANCREAS
PARACHLOROPHENYLALANINE
PARABRACHIAL
PARAFASCICULAR
PARAHIPPOCAMPAL
PARALLEL
PARALYSIS
PARAMECIUM
PARASYMPATHETIC
PARAVENTRICULAR
PARIETAL
PARKINSON
PARVALBUMIN
PASSIVE AVOIDANCE
PATCH CLAMP
PATTERN
PATTERN DISCRIMINATION
PAVLOV
PC12
PCA
PCR
PDZ
PEDUNCLE
PEDUNCULOPONTINE
TEGMENTAL NUCLEUS
PENICILLIN
PENIS
PENTOBARBITAL
PEPTIDE
PEPTIDERGIC
PERCEPTION
PERFORANT
PERFUSION
PERIAQUEDUCTAL GRAY
PERIARCUATE
PERIOD
PERIPHERAL
PERIRHINAL
PERISTRIATE CORTEX
PERIVENTRICULAR
PERMEABILITY
PEROXIDATION
PESTICIDE
PET [POSITRON EMISSION
TOMOGRAPHY]
PHARMACODYNAMICS
PHASE
PHENCYCLIDINE
PHENOBARBITAL
PHENOTYPE
PHENYLETHANOLAMINE
PHENYTOIN
PHEOCHROMOCYTOMA [PC12,
PC-12]
PHI
PHORBOL
PHOSPHATASE
PHOSPHATIDYLINOSITOL
PHOSPHODIESTERASE
PHOSPHOINOSITIDE
PHOSPHOLIPASE
PHOSPHOLIPID
PHOSPHORYLATION
PHOTO-LABELLING
PHOTOLYSIS
PHOTORECEPTOR
PHRENIC
PHYSOSTIGMINE

PI
PIA
PICROTOXIN
PIGMENT
PIMOZIDE
PINEAL
PIPERAZINE
PLRIFORM [PYRIFORM]
PIT
PITUITARY
PKC
PLACODE
PLASMA
PLASMA MEMBRANE
PLASMINOGEN
PLASTICITY
PLATE
PLATELET
PLEXIN
PLEXUS
PNMT [[PHENYL-ETHANO-
LAMINE-N-METHYL
TRANSFERASE]
POLYAMINE
POLYDIPSIA
POLYGLUTAMINE
POLYPEPTIDE
POMC [PROOPIO-
MELANOCORTIN]
PONS
PORPHYRIA
POSTCENTRAL
POSTERIOR
POSTMORTEM
POSTNATAL
POSTREMA
POSTSYNAPTIC
POSTTETANIC
POSTURE
POTASSIUM [K]
POTENTIAL
POTENTIATION
PREDICTION
PREFERENCE
PREFRONTAL
PREGANGLIONIC
PREMOTOR
PRENATAL
PREOPTIC
PREPYRIFORM
PRESENILIN
PRESTRIATE
PRESYNAPSE
PRESYNAPTIC
PRETECTUM
PRF [PROLACTIN RELEASING
FACTOR]
PRIMARY
PRIMATE
PROBABILITY
PROCEDURAL
PROCESSING
PROCTOLIN
PROGENITOR
PROGESTERONE
PROJECTION
PROLACTIN
PROLIFERATION
PROMOTER
PROPERTIES
PROPRIOCEPTIVE
[MYO-TATIC]
PROPRIOSPINAL
PROSTAGLANDIN

PROTEASE
PROTEIN
PROTEIN KINASE
PROTEIN SYNTHESIS
PROTEOGLYCAN
PROTEOLIPID
PROTEOLYSIS
PSD
PSI
PSYCHOPHYSICS
PUBERTY
PULSATILE
PULSE CODING
PULVINAR
PUMP
PUNISHMENT
PUPIL
PURIFY
PURINERGIC
PURKINJE CELL
PURSUTT
PUTAMEN
PYLORUS
PYRAMIDAL
Q
QUAKING
QUANTAL
QUINOLINIC
QUISQUALATE
R
RADIOIMMUNOASSAY
RAFT
RAPHE
RAT
RATE CODING
REACTION
REAL TIME
REAR
REARING
RECEPTIVE FIELD
RECEPTOR
RECOGNITION
RECORDING
RECOVERY
RECRUITMENT
RECTIFICATION
RECURRENT NETWORK
RED NUCLEUS
REDUNDANT
REELER
REELIN
REFLEX
REFRACTORY
REGENERATION
REGULARIZATION
REINFORCEMENT
REINFORCEMENT LEARNING
REINNERVATION
RELATED
RELEASE
REM
RENAL
RENIN
RENSHAW CELL
REPEAT
REPRESENTATION
REPRODUCTION
RESERPINE
RESONANCE
RESPIRATION
RESPONSE
RETENTION

RETICULAR
RETICULOSPINAL
RETICULUM
RETINA
RETINAL GANGLION CELL
RETINOGENICULATE
RETINOTECTAL
RETRIEVAL
RETROGRADE
RETROSPLENIAL
REWARD
RHO
RHYTHM
RNA
ROBOT
ROD
ROTATION
RT-PCR
RUBROSPINAL
RYANODINE

S

SACCADE
SACCULUS
SALIVARY GLAND
SALT
SATIETY
SCAN
SCG10
SCHIZOPHRENIA
SCHWANN CELL
SCIATIC
SCN
SCOPOLAMINE
SCRAPIE
SEARCH
SECOND
SECRETION
SEDATION
SEGMENTS
SEIZURE
SELECTIVE
SELF ORGANIZATION
SELF-ADMINISTRATION
SELF-STIMULATION
SEMAPHORIN
SEMICIRCULAR CANAL
SENILITY
SENSITIZATION
SENSOR
SENSORIMOTOR
SENSORY NEURONS
SEPTUM
SEQUENTIAL
SERINE
SERTONERGIC
SEROTONIN
SERUM
SEX
SEXUAL DIMORPHISM
SHAKER
SHAPE
SHOCK
SIGMA
SIGNAL
SIMULATION
SINGLE UNIT
SKELETAL
SKIN
SLEEP
SLICE
SLOW
SMOOTH
SNARE

SNIFFING
 SODIUM [NA]
 SOLEUS
 SOLITARY [SOLITARIUS]
 SOMATOSENSORY
 SOMATOSTATIN
 SONG
 SONGBIRD
 SOUND
 SPARSE
 SPASTICITY
 SPATIAL
 SPATIO-TEMPORAL
 SPEECH
 SPIKE
 SPINAL
 SPINE
 SPINOTHALAMIC
 SPLEEN
 SPLICING
 SPM
 SPREADING DEPRESSION
 SPROUTING STABILITY
 STAIN
 STARTLE
 STATE MACHINE
 STATUS EPILEPTICUS
 STEM CELL
 STEROID
 STIFFNESS
 STIMULATION
 STOCHASTIC
 STOMATOASTRIC
 STORAGE
 STORAGE CAPACITY
 STRABISMUS
 STRESS
 STRETCH REFLEX
 STRIA TERMINALIS
 STRIATE
 STRIATUM
 STROKE
 STRUCTURE
 SUBCELLULAR
 SUBCORTICAL
 SUBFORNICAL
 SUBICULUM
 SUBSTANCE K
 SUBSTANCE P
 SUBSTANTIA GELATINOSA
 SUBSTANTIA NIGRA
 SUBTHALAMIC
 SUBTRACTION
 SUBUNIT
 SUCKLING
 SUCROSE
 SUICIDE
 SULCUS
 SUMMATION
 SUPERFAMILY
 SUPERIOR
 SUPERSENSITIVITY
 SUPERVISED LEARNING
 SUPPLEMENTARY
 SUPPRESSION
 SUPRACHIASMATIC
 SUPRA OPTIC
 SURAL
 SURFACE
 SURVIVAL
 SWEAT
 SWIMMING
 SYMBOL
 SYMPATHETIC

SYNAPSE
 SYNAPSIN
 SYNAPTIC
 SYNAPTOGENESIS
 SYNAPTOSOME
 SYNAPTOTAGMIN
 SYNCHRONIZATION
 SYNCHRONY
 SYNDROME
 SYNTHESIS
 SYSTEM

T
 TACTILE
 TAG
 TAIL
 TAIL-FLICK
 TARGET
 TARGETING
 TASTE
 TASTE BUD
 TAU
 TAURINE
 TAXOL
 TECTUM
 TEGMENTUM
 TELENCEPHALON
 TELEOST
 TEMPERATURE
 TEMPORAL
 TENDON
 TERMINAL
 TESTOSTERONE
 TETANUS
 TETRAHYDROBIPTERIN
 THALANUS
 THC
 THEOPHYLLINE
 THEORY
 THERMO-SENSITIVE
 THERMOREGULATION
 THETA
 THETA-RHYTHM
 THIAMINE
 THY-1
 THYMUS
 THYROXINE
 TIME
 TISSUE
 TNF
 TOLERANCE
 TONGUE
 TOOL USE
 TOOTH
 TOPOGRAPHY
 TOUCH
 TOURETTE
 TOXICITY
 TOXIN
 TRACER
 TRACT
 TRAINING
 TRANSCRANIAL MAGNETIC
 STIMULATION
 TRANSCRIPTION
 TRANSDUCTION
 TRANSFER
 TRANSFERRIN
 TRANSGENIC
 TRANSMISSION
 TRANSMITTER
 TRANSPLANT
 TRANSPLANTATION
 TRANSPORT

TRANSPORTER
 TRAPEZOID BODY
 TRAUMA
 TREADMILL
 TREMOR
 TRH
 TRIJLUOPERAZINE
 TRIGEMINAL
 TRIMETHYLTIN
 TRK
 TRNA
 TROPIC
 TROPIC
 TRYPTOPHAN
 TSH [THYROID STIMULATING
 HORMONE]
 TTX [TETRODOTOXIN]
 TUBLIN
 TUMOR
 TUNING
 TURNOVER
 TWITCH
 TYMPANIC
 TYROSINE
 TYROSINE HYDROXYLASE

U
 ULTRADIAN
 ULTRASTRUCTURE
 UNIT
 UNSUPERVISED LEARNING
 UPSILON
 UPTAKE
 URINARY
 UTERUS

V
 V1
 V4
 VAGINA
 VAGUS
 VANILOID
 VARIABILITY
 VASCULAR
 VASOACTIVITY
 VASOPRESSIN
 VECTOR
 VELOCITY
 VENOM
 VENTRAL
 VENTRICLE
 VENTROLATERAL
 VENTROMEDIAL
 VERGENCE
 VERMIS
 VESICLE
 VESL-IS
 VESTIBULAR
 VIBRATION
 VIBRISSA [WHISKER]
 VIP
 VIPER
 VIRUS
 VISION
 VISUAL
 VITAMIN
 VLSI
 VOCAL
 VOCALIZATION
 VOLITION
 VOLTAGE
 VOLTAGE CLAMP
 VOLTAGE SENSITIVEDYE
 VOMERONASAL ORGAN

VTA [VENTRAL TEGMEN-
 TALAREA]

W
 W-CELL
 WAKING
 WALKING
 WATER
 WAVE
 WEAVER
 WEIGHT
 WGA [WHEAT GERM
 AGGLUTININ]
 WHOLE CELL
 WING
 WITHDRAWAL
 WORK
 WORKING
 WRIST

X
 X-CELL
 X-IRRADIATION [X-RAY]
 XENOPUS
 XI

Y
 Y-CELL
 YAWNING
 YOHIMBINE
 YOTARI

Z
 ZEBRA FINCH
 ZEBRA FISH
 ZETA
 ZIC
 ZIF268
 ZINC
 ZONA INCERTA
 ZUCKER

宿泊のご案内

この度、大阪国際会議場にて平成 16 年 9 月 21 日(火)～9 月 23 日(木)の3日間、「第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学学会大会」が開催されますことを心より喜び申し上げます。

つきましては、ご出席されます皆様のご便宜を図るため、宿泊予約のお世話を弊社東急観光大阪中央支店がご取扱いすることになりました。

今回は、ホテルフロントにて直接宿泊代金をお支払い頂けるように手続きを簡素化いたしました。

下記案内をご検討いただき、早目にお申し込みを賜りますようお願い致します。

1. 宿泊のご案内

(1)宿泊案内期間…平成 16 年 9 月 19 日(日)～23 日(木)

(2)宿泊ホテルと料金(お一人様…1泊朝食付 サービス料込・消費税込)

- ・お申し込みは、申し込み記号にてお願い申し上げます。
- ・ホテルの予約につきましては、先着順とさせていただきます。また予約状況によりましては、ご希望に添えない場合もございますので、別紙申込書には、必ず第2希望の記号もご記入下さい。
- ・ツインタイプ(2人部屋)ご希望の方は、別紙申込書に必ず同室者名をご記入下さい。

ホテル名	部屋タイプ	料金	申込記号	住所・TEL	最寄駅からの所要時間
リーガロイヤルホテル	シングル	12,075円	1-S	大阪市北区中之島5-3-68 TEL:06-6448-1121	JR大阪駅より シャトルバス12分
	ツイン	11,550円	1-T		
ホテルグランヴィア大阪	シングル	11,550円	2-S	大阪市北区梅田3-1-1 TEL:06-6344-1235	JR大阪駅より 徒歩1分
	ツイン	9,975円	2-T		
大阪第一ホテル	シングル	11,025円	3-S	大阪市北区梅田1-9-20 TEL:06-6341-4411	JR大阪駅より 徒歩3分
	ツイン	9,450円	3-T		
ハートンホテル西梅田	シングル	9,950円	4-S	大阪市北区梅田3-3-55 TEL:06-6342-1111	JR大阪駅より 徒歩4分
	ツイン	8,450円	4-T		
リーガ中之島イン	シングル	8,925円	5-S	大阪市西区江戸堀1-13-10 TEL:06-6447-1122	地下鉄阿波座駅より 徒歩1分
ホテルサンガーデン堂島	シングル	8,925円	6-S	大阪市北区曽根崎新地2-4-1 TEL:06-6342-5531	JR大阪駅より 徒歩8分
	ツイン	7,035円	6-T		
ホテルNCB	シングル	7,500円	7-S	大阪市北区中之島6-2-27 TEL:06-6443-2255	JR大阪駅より 車15分
	ツイン	6,300円	7-T		
ニューオリエンタルホテル	シングル	7,140円	8-S	大阪市西区西本町2-6-10 TEL:06-6538-7141	地下鉄阿波座駅より 徒歩1分
スパ・ホテル伊太田天然温泉	シングル	6,860円	9-S	大阪市西区江戸堀3-6-35 TEL:06-6447-9000	地下鉄阿波座駅より 徒歩5分

2. お申込み方法

別紙の申込書に必要事項をお一人様一枚づつご記入の上、FAXにてお申込み下さい。

※その他ご希望などございましたら備考欄にご記入ください。

3. お申し込み回答及び精算方法について

A) お申し込み回答：FAXにてご回答させていただきます。

また、その用紙が宿泊確認書となりますので大切に保管して下さい。

B) 精 算 方 法：直接ホテルで宿泊利用通知に記入してある金額を現金でお支払下さい。

4. お申し込み締切日

平成 16 年 9 月 6 日(月) 必着

お申し込み期限内であっても、満室になり次第締め切らせていただきますのでお早めにお申し込みください。

5. お取消料について

お申込み後の変更、取消は速やかにご連絡ください。

お申込み後の取消料は右記の通りです。

2日前迄 無料	前日 50%	当日午前 80%	当日午後、連絡なし不泊 100%
------------	-----------	-------------	---------------------

6. お申し込み・お問い合わせ

〒530-0003 大阪市北区堂島2-1-43 東急観光大阪中央支店 TEL06-4799-0190 FAX06-4799-0198

「第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学学会大会」係

平成 年 月 日

東急観光(株)大阪中央支店
FAX06-4799-0198

予約回答

様

第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学会大会 宿泊申込書

※下記太枠内のみご記入下さい。

フリガナ							ご所属		
宿泊者氏名							TEL	()	—
							FAX	()	—
所属住所	〒 —								
第一希望 ホテル記号	第二希望 ホテル記号	9/19	9/20	9/21	9/22	9/23	ツイン時の同室者名		
備考 (その他ご要望等)									

《予約回答・宿泊利用通知》

下記の日程で、宿泊が予約できましたのでご連絡いたします。

尚、ホテル名は下記になりますのでこの用紙をホテルフロントにご提出下さい。

※下記は記入されないで下さい。(東急観光記入欄)

宿泊者名						様	宿泊代金				円
ホテル名							ルームタイプ	シングル・ツイン			
宿泊日(○印)	9/19		9/20		9/21		9/22		9/23		

◎上記金額を、ホテルフロントにて現金でお支払いください。

◎宿泊の取消については、下記の通り取消料がかかりますのでご了承ください。

宿泊の2日前まで・・・・・・・・無 料
 宿泊の前日まで・・・・・・・・50%
 宿泊の当日午前・・・・・・・・80%
 宿泊当日午後/不泊・・・・・・・・100%

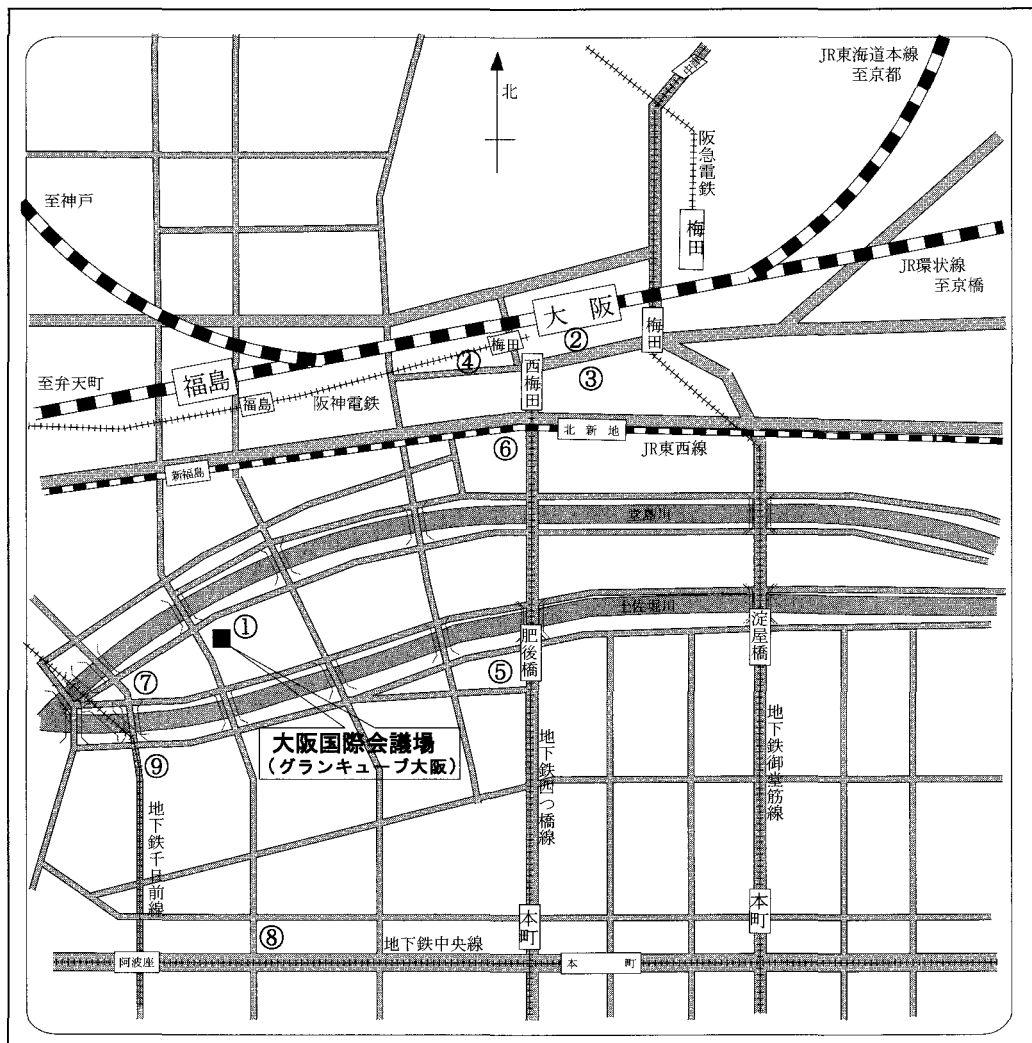
東急観光(株)大阪中央支店

「第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学会大会」係
 TEL06-4799-0190 FAX06-4799-0198

受付担当印

NO.

宿泊ホテル地図



ホテル一覧

- | | | |
|-------------|---------------|-------------------|
| ①リーガロイヤルホテル | ②ホテルグランヴィア大阪 | ③大阪第一ホテル |
| ④ハートンホテル西梅田 | ⑤リーガ中之島イン | ⑥ホテルサンガーデン堂島 |
| ⑦ホテルNCB | ⑧ニューオリエンタルホテル | ⑨スーパーホテルシティ大阪天然温泉 |

日本神経化学会奨励賞候補者募集のお知らせ

日本神経化学会では2000年度より優秀な神経化学若手研究者を対象に、日本神経化学会奨励賞を贈っております。つきましては、下記の事項を注意深く読まれて、奮って応募下さい。

なお、受賞者の発表と授賞式は本年度の第47回日本神経化学会（Neuro2004／第27回日本神経科学大会との合同大会）の会期中に行われます。最優秀奨励賞受賞者には副賞としてメダルと金十萬円が贈られるほか、「神経化学」誌にご自身が書かれた総説を掲載します。また、次年度の大会でシンポジウムを企画することができます。

(1) 候補者の対象

本学会での会員歴3年以上、研究歴3年以上で、本学会で積極的に発表した実績を持ち平成16年4月1日現在で満40歳未満の者。

(2) 奨励賞の応募方法

原則的に自薦とします。申請希望者は以下の書類を、平成16年5月17日（必着）までに、下記事務局へ、必ず簡易書留（宅配便も可）にて送付して下さい。尚、応募書類は返却致しません。

- 1) 研究の概要：申請研究の概要を<研究題目（和英両方のタイトルをつけて下さい）><背景・目的><結果><学術的意義・特色・独創的な点>に分けてA4用紙2枚以内に記入すること。
- 2) 申請者の略歴：大学卒業からの略歴。学位の種類、取得年月日、取得機関も明示すること。また、過去5年程度の日本神経化学会大会における発表歴を必ず記載すること。
- 3) 業績目録：英文原著、英文総説、和文原著、和文総説に分けて、全著者名、発表年、タイトル、雑誌名、巻、開始および最終ページを記入する。申請者名は太字にするか、下線を引く。学会の抄録や要旨、Proceedingsなどは含めない。業績目録の書き方は“Journal of Neurochemistry”の投稿規定に準じること。
- 4) 選考に関連する主要論文の別刷り：3編を8部づつ。

(3) 選考方法

本年度の選考委員会による書類審査で数名の奨励賞受賞者を選出し、第47回日本神経化学会（大阪大会）会期中に開催される「日本神経化学会奨励賞受賞シンポジウム（最優秀奨励賞選考会）」で研究成果を発表して頂いた後、選考委員会で最優秀奨励賞受賞者を決定します。このため、応募は奨励賞受賞シンポジウムで発表の出来る方に限らせていただきます（尚、シンポジウムは一般の参加者にも公開されます）。

本年度選考委員

西澤 正豊（委員長／新潟大）
田代 朋子（青山学院大）
津田 正明（富山医科薬科大）
仲嶋 一範（慶應義塾大）
福井 裕行（徳島大）
山脇 成人（広島大）
和中 明生（奈良県医大）

*「選考委員の所属する研究室から自薦者が出た場合は、選考に加わらない(奨励賞内規5.)」と定められております。

(4) 締 切

平成16年5月17日（月）必着

(5) 応募書類の送付先

113-8622 東京都文京区本駒込5-16-9

(財)日本学会事務センター内

日本神経化学会奨励賞選考委員会

TEL. 03-5814-5801/FAX. 03-5814-5820

日本神経化学会奨励賞規定

日本神経化学会奨励賞は、本会会員で神経化学の進歩に寄与する顕著な研究を発表し、将来の発展を期待される若手研究者個人に対して授与する。

- 1 申請者は会員歴3年以上、研究歴3年以上で本学会で積極的に発表した実績を持ち申請の暦年度の4月1日現在で満40歳未満の者とする。
- 2 最優秀奨励賞受賞は原則として1件程度とし、賞状および副賞を贈る。
- 3 受賞者は再応募できない。
- 4 奨励賞募集要項は「神経化学」誌に掲載するものとし、申請希望者は本会所定の申請用紙を使用の上、指定期日内に申請するものとする。
- 5 日本神経化学会奨励賞選考委員会については別途定めるものとする。

日本神経化学会奨励賞内規

1 候補者の推薦について

奨励賞募集要項は「神経化学」誌およびホームページに掲載するものとし、申請希望者は本会所定の様式(*)で指定期日内に申請するものとする。原則的に自薦とする。

*研究の概要: 申請研究の概要を<研究題目><背景・目的><結果><学術的意義・特色・独創的な点に>分けてA4用紙2枚以内に記入すること。

【その他の提出書類】

- ・申請者の略歴
- ・業績目録: 英文原著、英文総説、和文原著、和文総説に分けて記入し、学会の抄録や要旨、Proceedingsなどは記入しない。
- ・選考に関連する主要論文の別刷り。3編を8部づつ。

2 奨励賞の選考に関しては日本神経化学会奨励賞選考委員会がこれにあたる。

- (1) 選考委員は7名とし、理事会において研究分野、地域性、所属等に偏りが無いことを考慮して評議員から委員を選出し、理事長が委嘱する。選考委員の名前は公表する。
- (2) 委員の任期は2年とし、連続2期までとする。
- (3) 委員は互選により委員長を選出し、理事長がこれを委嘱する。
- (4) 委員会は理事長の諮問に応じて受賞者の選考を行う。
- (5) 選考委員長は選考の経過並びに結果について理事長に報告する。

3 選考方法

選考委員会にて書類審査の上、数名の候補者を選ぶ。日本神経化学会奨励賞選考会で業績を発表して頂いた後、選考委員会が受賞者を決定する。

4 日本神経化学会奨励賞の英文名

The Award for Young Investigator of Japanese Society for Neurochemistryとする。

5 その他の申し合わせ事項

選考委員の所属する研究室から自薦者が出た場合は、選考に加わらない。

学 会 掲 示 板

東京都神経科学総合研究所研究部門長の公募について

募 集 人 員：部門長 2 名（管理職）（国籍不問）

専 門 分 野：システム神経科学研究分野及び神経細胞機能研究分野を中心に募集するが、その他の神経科学分野も応募可能

応 募 資 格：(1)大卒後、研究歴が13年以上で博士の学位を有する者またはこれに相当する能力を有する者

(2)医師で日本の医師免許取得後11年以上の者

任 期：9 年（業績を評価した後更新可能とする。）

（但し、雇用契約は 3 年毎とする。）

採 用 予 定 日：平成16年 8 月 1 日以降早い時期

給 与：年俸制（財団規程による。）

部門付研究員：流動研究員（原則任期 3 年） 3 名採用可

提 出 書 類：(1)履歴書（高校卒以上の学歴及び職歴）

(2)業績目録

(3)これまでの研究概要（A4、2 ページ程度）

(4)研究所でどのような研究を進めるかの抱負（A4、1 ページ程度）

(5)主要論文 7 編（別刷）

(6)科学研究費補助金、その他の助成金受領状況一覧

提 出 期 限：平成16年 4 月 9 日（金曜日）（消印有効）

そ の 他：(1)研究部門長の身分は、財団固有職員となります。

(2)選考の経過で、セミナー（5 月下旬から 6 月上旬）をお願いすることがあります。

提出先（書留で、封筒の表に公募書類在中と朱書きしてください。）

〒183-8526

東京都府中市武蔵台 2 - 6

東京都神経科学総合研究所 事務長

問い合わせ先

事務室庶務係

TEL. 042-325-3881 内線4156

FAX. 042-321-8678

E-mail shomu@tmin.ac.jp

ホームページ <http://www.tmin.ac.jp/>

生理学研究所 生理科学実験技術トレーニングコース

生理学研究所では、「分子・細胞レベルから個体レベルに至るまで人体の機能を総合的に解明する」ことを目標に研究を進めています。毎年夏期に、生理学分野に関心を持つ大学学部学生・大学院生、若手研究者を対象とした実習形式のトレーニングコースを開催しています。実習では第一線で活躍している研究者の指導を直接受け、最新の実験の技術を学ぶことができます。詳細、参加申込方法などは下記ホームページをご覧ください。熱意・意欲ある方の応募をお待ちしています。

日 程：2004年 7月26日（月）～ 7月30日（金）

場 所：岡崎国立共同研究機構（4月からは自然科学研究機構）生理学研究所
（愛知県岡崎市）

講 演

『脳細胞の活動からみる視知覚のしくみ』 小松 英彦（生理学研究所）

実習テーマ

1. 電子位相顕微鏡法
2. 免疫組織化学法
3. 免疫電子顕微鏡法
4. 超高压電子顕微鏡による生物試料の立体観察
5. 神経幹細胞・前駆細胞の基本的な取り扱い
6. ジーンターゲティング法
7. アフリカツメカエル卵母細胞を発現系として用いた膜タンパク質の機能解析
8. パッチクランプ実験解析法の基本とその応用
9. スライスパッチクランプ（基礎コース）
10. スライスパッチクランプ（応用コース）
11. 神経性代謝調節研究法入門
12. 麻酔下動物での電気生理学実験
13. 慢性動物実験法入門
14. 電気生理学及び心理物理学的手法による視知覚メカニズムの解析
15. 脳磁図計測、解析の基礎
16. 脳機能画像解析入門
17. 生理学実験のための電気回路・機械工作

受 講 料：10,200円（予定）

申込方法：ホームページ上にてオンライン受付（<http://www.nips.ac.jp/training/>）

申込期間：2004年 4月21日（水）～ 6月 4日（金）

共 催：日本生理学会，日本神経科学学会

連 絡 先：e-mail: training@nips.ac.jp

募集人員：約150名

第19回神経組織の成長・再生・移植研究会学術集会

日 時：平成16年6月19日（土）

会 場：ぱるるプラザ岐阜（JR岐阜駅前）

演題締切：2004年3月31日（水）

特別講演：高坂 新一（国立精神・神経センター） 岡野 光夫（東京女子医大）

問 合 先：502-8585 岐阜市三田洞東5-6-1

岐阜薬科大学分子生物学教室

世話人代表 古川昭栄

事務担当 山田

Tel&Fax. 058-237-8589

yamada@gifu-pu.ac.jp

第19回日本生体磁気学会大会

日 時：平成16年6月4日（金）～5日（土）

会 場：徳島県郷土文化会館

* 特別講演

「MEGで見る脳溝の機能異常」 中里信和（広南病院）

* 21世紀COEフォーラム

「ストレス研究の最前線」 オーガナイザー 中屋 豊（徳島大学）

* シンポジウム

- ・心臓磁界計測—最近の進歩
- ・小児てんかんに対するMEGの有用性と限界
- ・体磁気計測装置の現在・未来

* 一般演題

- ・生体磁気計測
- ・磁気が生体作用
- ・磁気共鳴イメージング

【問合せ先】

第19回日本生体磁気学会大会事務局

〒770-8503 徳島市蔵本町3-18-15

徳島大学医学部特殊栄養学教室内

TEL：088-633-9249 FAX：088-633-7113

<http://www.bes.d.dendai.ac.jp/JBBS/>

上記の日本生体磁気学会のホームページにアクセスし「第19回日本生体磁気学会」をクリックして大会Webサイトにお入りください。

E-mail:jiki@nutr.med.tokushima-u.ac.jp

第4回（平成16年度）材料科学技術振興財団山崎貞一賞候補者募集

1. 授賞対象分野

(1)「材料」

(2)「半導体及び半導体装置」

(3)「計測評価」

(4)「バイオサイエンス・バイオテクノロジー」生物体の構造・物性・反応を解明する物理・化学・生物学の理論的ならびに実験的手法を用いて生物体の構造や動作・性質や生命現象を研究する学問分野であり、生物独特の現象の解明を通じて産業や健康で豊かな国民生活の実現に大きく寄与するものと期待されています。本賞は、バイオテクノロジー、バイオサイエンスの進歩発展に寄与する研究、技術の開発・方法の創出による本分野の進歩発展と実用化に通ずる顕著な貢献に基づき授与されます。

2. 授賞対象者：詳しくは下記の請求先へお問い合わせ下さるか、URLをご覧ください。

(1)授賞対象は、論文の発表、特許の取得、方法・技術の開発等を通じて、実用的効果につながる優れた創造的業績をあげ、かつ／もしくは、今後そのような業績をあげる可能性が高い将来性のある人（複数人も可）とします。

(2)受賞候補者の国籍は問わず、日本国内において業績をあげた人を授賞対象とします。

(3)過去に応募されたことのある人でも再応募可能です。

3. 顕彰：各分野それぞれに賞状及び副賞（メダル・賞金300万円）を贈呈します。

4. 締切期日：平成16年4月末日必着

5. 推薦書請求先、提出先：

〒157-0067 東京都世田谷区喜多見1-18-6

財団法人材料科学技術振興財団 山崎貞一賞事務局

TEL. 03-3415-2200 E-mail prize@mst.or.jp

FAX. 03-3415-5987 URL <http://www.mst.or.jp/>

複写される方へ

本誌に掲載された著作物を複写したい方は、(財)日本複写権センターと包括複写許諾契約を締結されている企業の従業員以外は、図書館も著作権者から複写権等の行使の委託を受けている次の団体から許諾を受けて下さい。著作物の転載・翻訳のような複写以外の許諾は直接本会へご連絡下さい。

〒107-0052 東京都港区赤坂9-6-41 乃木坂ビル 学術著作権協会

TEL. 03-3475-5618 FAX. 03-3475-5619 E-mail: naka-atsu@muji.biglobe.ne.jp

アメリカ合衆国における複写については下記に連絡して下さい。

Copyright Clearance Center, Inc.

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone. 978-750-8400 FAX. 978-750-4744

Notice about photocopying

In order to photocopy any work from this publication, you or your organization must obtain permission from the following organization which has been delegated for copyright for clearance by the copyright owner of this publication.

Except in the USA

Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC)

6-41 Akasaka 9-chome, Minato-ku, Tokyo 107-0052 Japan

TEL. 81-3-3475-5618 FAX. 81-3-3475-5619

E-mail: naka-atsu@muji.biglobe.ne.jp

In the USA

Copyright Clearance Center, Inc.

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone. 978-750-8400 FAX. 978-750-4744

編集後記

2月上旬、The 6th APSN (Asian-Pacific Society for Neurochemistry) Meetingが香港であり、参加してきました。昨年夏に開かれる予定であったISN MeetingがSARS騒動で中止になったのをうけ、APSNとして新たに企画されたものです。残念ながら本学会員の参加は必ずしも多くありませんでしたが、会場（とくにポスター会場）にはアジアの若い熱気が溢れていました。APSNのあり方や本学会の取り組みについては、今後多くの議論が必要と思われます。しかしながら、時差のない（少ない）地域に生きる研究者が一所に集まって議論することには、それなりの意味と価値があるように感じました。「神経化学」の月号には新しい試みとして、理事・役員をご自身で紹介して頂こうと考え、この度は熊倉副理事長にご執筆頂いております。研究への思いや哲学を若い会員にお伝えできればと願います。また、若手の会員の方々にも、ご自身の研究を紹介して頂く企画を始めました。多様な背景をもつ、異なる世代の研究者が交流する場として学会が発展してほしいと願います。

(柳澤 勝彦)

神経化学 43巻 第1号

平成 16年 3 月31日発行

編集兼発行者 日本神経化学会

代 表 者 御子柴 克彦

発 行 所 日本神経化学会

〒113-8622 東京都文京区本駒込5-16-9

財団法人 日本学会事務センター内

印 刷 所 (株)六甲出版販売
