



# ANNUAL REPORT 2010

**Molecular Neuroscience Research Center**

**Shiga University of Medical Science**



滋賀医科大学  
分子神経科学研究センター  
2010年報

## 巻頭言 (Preface)

本年4月1日から、木村宏名誉教授の後を引き継いでセンター長に就任いたしました。どうぞよろしくお願い申し上げます。

分子神経科学研究センターの前身である分子神経生物学研究センターは、「先端技術を用いた分子神経生物学の研究を通して基本的生命現象の解明と難治性疾患の治療・予防等に資する研究を行う」ことを目的に、10年の時限付きで平成元年に設立されました。以後、設置根拠法令「国立学校設置法施行規則第20条の3」により、学部教育を行わない、研究施設（大学院の）教育実習施設として活動してきました。

当初、教授1名、助手1名でスタートしたセンターは、設立まもなく企業による寄附講座を開設するなど、当初から産学官連携研究にも力を注ぎ、少しずつ規模を拡大してきました。この間、アルツハイマー病の病因解明につながる脳内免疫炎症の研究やアセチルコリン合成酵素の新しいサブタイプの発見を初めとする多くの研究業績をあげました。これらの成果を受けて、平成11年に、分子神経科学研究センターに改組し、定員も客員教授1名を含め10名に増員されました。途中、平成16年に代謝情報制御分野が、MR医学総合研究センターとして独立し、定員8名（客員1名を含む）になり、現在に至っています。

さて、分子神経科学研究センターは、平成20年3月に2回目の時限を迎えました。執行部から、「全学的に神経難病研究者が結集できるような新しい仕組みを作ってほしい」という意見も頂きました。これらを総合した結果、平成21年4月に改組が行われ、神経難病研究推進機構・分子神経科学研究センターとして、「神経難病研究を全面に打ち出し、かつサルを用いた研究など滋賀医大の特色を生かした組織」として新たにスタートしました。神経難病研究推進機構には、「動物生命科学センター」、「MR医学総合研究センター」をはじめとする学内の組織や、国内外の研究組織とも活発な共同研究を行い、センターのみならず大学全体の神経研究の活性化と世界レベルの貢献を目指す意図が込められています。また、本年度は、研究成果の社会還元や社会貢献にも力を入れることとし、6月26日に一般市民を対象にした教養講座「認知症と関連する脳の病気」を開催いたしました。今後とも、皆様のご支援のほどをどうぞよろしくお願い申し上げます。

It is our pleasure to present our annual report for 2010. The Molecular Neuroscience Research Center was founded in 1989 as the Molecular Neurobiology Research Center. In 2009, the center was renewed as the Research Promotion Organization for Intractable Neurological Disease - Molecular Neuroscience Research Center (MNRC).

The overall aim of the MNRC is to understand the molecular basis of neural functions and pathological processes of neurological diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. On the basis of our findings thus far, we have developed diagnostic agents and methods for neurological disorders. We also collaborate with the Biomedical MR Center and Center for Animal Life Science at Shiga University of Medical Science and with other laboratories outside Japan. The Research Promotion Organization for Intractable Neurological Disease was founded specifically to enhance and extend our collaborative research.

We hope that this annual report illustrates a pathway for MNRC research as we move forward and also as a seed to develop productive international collaborations into the future.

平成22年7月1日 (July 1, 2010)

分子神経科学研究センター・センター長 遠山育夫

Ikuko Tooyama, Director, Professor





## 理念

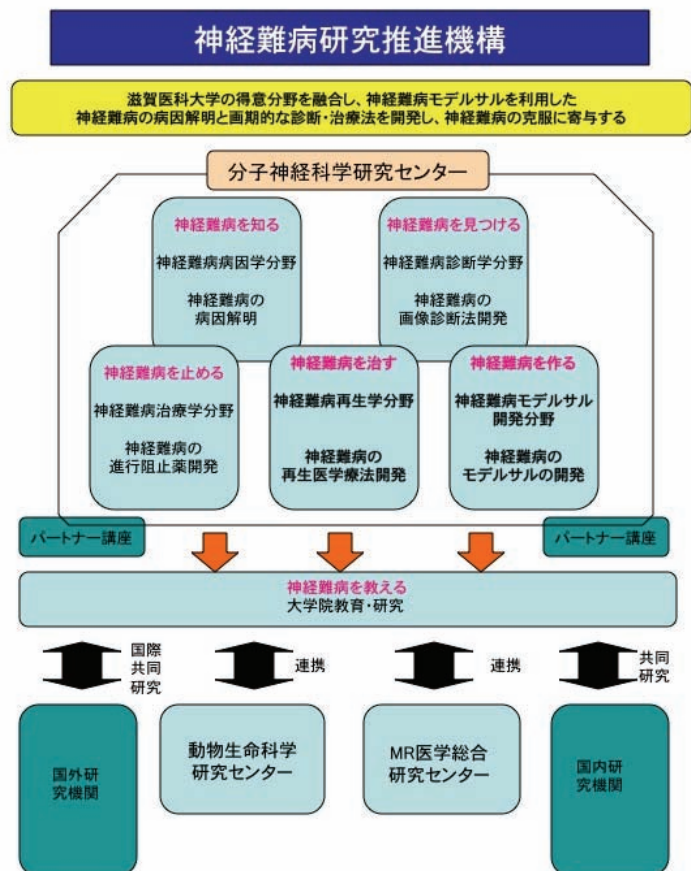
神経難病研究推進機構・分子神経科学研究センター（Research Promotion Organization for Intractable Neurological Disease Molecular Neuroscience Research Center, 略称 MNRC）は、その前身である分子神経生物学研究センター（1989年-1999年）、分子神経科学研究センター（1999年-2009年）を引き継ぎ、再編と拡充を行い2009年4月1日に設立された。このセンターの目的は、先端技術を用い国際共同研究を推進し、身体の神経統御機構とその病理機序を解明することにより、神経難病の克服等に資することである。

## 沿革

1989年 6月28日	滋賀医科大学に分子神経生物学研究センター設立 神経形態学部門（木村宏教授、遠山育夫助手）開設
1991年 1月 1日	神経化学部門（花井一光助教授、楊助手）開設
1992年 6月28日	分子神経生物学研究センター竣工
1993年 4月 1日	生体機能学部門（犬伏俊郎教授、森川茂廣助教授）開設
1999年 4月 1日	分子神経科学研究センター設立（分子神経生物学研究センターの改組） 5研究部門開設
2004年 4月 1日	代謝情報制御部門がMR医学総合研究センターとして分離独立し4部門化
2009年 4月 1日	神経難病推進機構・分子神経科学研究センター5研究分野として改組 センター長 木村宏教授
2010年 4月 1日	センター長 遠山育夫教授

## 組織

分子神経科学研究センターは、神経難病病因学分野（**神経難病を知る**）、神経難病診断学分野（**神経難病を見つける**）、神経難病治療学分野（**神経難病を止める**）、神経難病再生学分野（**神経難病を治す**）、神経難病モデルサル開発分野（**神経難病を作る**）の5分野から構成されている。この5分野は研究のみならず、大学院教育（**神経難病を教える**）を積極的に担っている。さらに、動物生命科学研究センター、MR医学総合研究センターなどの学内組織や国内外の組織と共同で神経難病研究を推進する目的で、神経難病研究推進機構を設置している。



## Organization

The MNRC has five research units: Neurology, Neuropathology and Diagnostics, Neurobiology and Therapeutics, Neuroanatomy, and Animal Models of Neurological Disorders.

### Neurology Unit

Staff: Masaki Nishimura, Associate Professor  
Hiroshi Hasegawa, Special Contract Assistant Professor

Purpose: Molecular biology and molecular genetics of neurological disorders including Alzheimer's disease.

### Unit for Neuropathology and Diagnostics

Staff: Ikuo Tooyama, Professor  
Hiroyasu Taguchi, Special Contract Professor  
Jean-Pierre Bellier, Assistant Professor  
Satoshi Makino, Special Contract Assistant Professor

Purpose: Molecular morphological studies of neurological disorders to clarify higher brain functions and their disorders as well as develop novel diagnostic methods.

### Unit for Neurobiology and Therapeutics

Staff: Makoto Urushitani, Associate Professor  
Ryo Kitahara, Visiting Lecturer

Purpose: Development of novel therapies for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) using animal models of disease and molecular biology techniques.

### Unit for Animal Models of Neurological Disorders

Staff: Ryosuke Takahashi, Visiting Professor (Kyoto University)  
Akinori Matsuo, Assistant Professor

Purpose: Production of appropriate animal models providing precise information about neurological disorders such as Alzheimer's disease.

### New Unit is under development



准教授 西村 正樹  
Masaki Nishimura, Associate Professor  
mnishimu@belle.shiga-med.ac.jp



特任助教 長谷川 浩史  
Special Contract Assistant Professor  
hhasega@belle.shiga-med.ac.jp

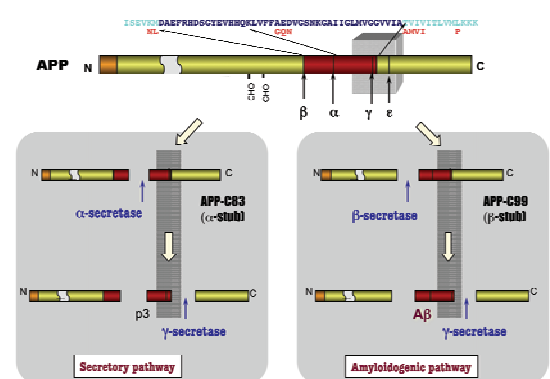
劉 磊	大学院生
三ツ石 弥千代	研究補助員
笠見 卓哉	学部学生
多賀谷 允	学部学生

## 研究内容

アルツハイマー病分子病態に関する研究プロジェクト

アミロイドβペプチド(Aβ)の脳内過剰蓄積がアルツハイマー病の根幹となる分子病態と考えられている。すなわち、アルツハイマー病においては過剰な脳内Aβがオリゴマーを形成し、神経機能を障害し神経変性をきたすことにより、高度の認知症を呈するに到るとされる。Aβは前駆体タンパク質であるAPPの段階的切断によって生成される。まず、APPの細胞外ドメインがβセクレターゼによって切り離され、残ったカルボキシル末端断片(C99)の膜貫通領域がγセクレターゼによって分解されてAβと細胞内ドメイン(AICD)断片が生成される(右図)。γセクレターゼの切断点の差により、Aβには複数の分子種が含まれる。このうち、Aβ40とAβ42がほぼ10:1の比で生成されるが、このうちAβ42が高い凝集性とともな強い病原性を示すとされている。

Proteolytic pathways of β-amyloid precursor protein (APP)



### (I) 細胞内γセクレターゼ活性の制御メカニズムの解明

γセクレターゼはpresenilin (PS), nicastrin (NCT), APH-1, PEN-2から成る膜貫通型高分子量複合体である。プロテアーゼ活性部位はpresenilin (PS1 and PS2)にあるが、他の構成タンパク質も活性発現には欠かせないことが知られる。γセクレターゼ活性の人為的なコントロールはAD治療に有望と目されるものの、NotchをはじめとするAPP以外の多くの基質の切断は細胞内シグナル伝達において重要な役割を果たすことから、過度な活性阻害は重篤な副作用につながるものが危惧される。一方、細胞のもつγセクレターゼ活性制御メカニズムについては充分には明らかでない。我々は、このメカニズムを明らかにすることから、新たな治療戦略を開拓することを目的に研究を進めている。まず、細胞のAβ分泌を抑制するタンパク質の検索を目的に、γセクレターゼ複合体と相互作用する分子のスクリーニングを試みた。



Masaki Nishimura  
Associate Professor  
mnishimu@belle.shiga-med.ac.jp



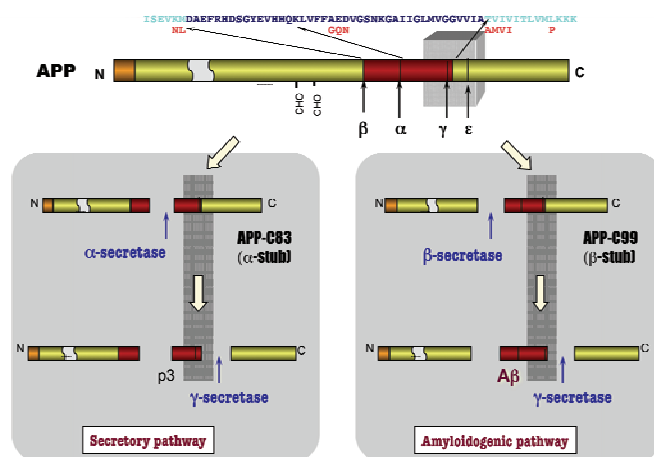
Hiroshi Hasegawa,  
Special Contract Assistant Professor  
hhasgawa@belle.shiga-med.ac.jp

Lei Liu	Graduate Student
Yachiyo Mitsuishi	Technical Assistant
Takuya Kasami	Undergraduate Student
Makoto Tagaya	Undergraduate Student

Research projects on the pathomechanism of Alzheimer disease (AD)

Excessive accumulation of  $\beta$ -amyloid peptide ( $A\beta$ ) in the brain is the accepted cause of AD. Excessive  $A\beta$  peptides oligomerize to cause neuronal dysfunction and degeneration in the brains of AD patients, resulting in the manifestation of severe dementia.  $A\beta$  is generated by sequential proteolysis of the amyloid precursor protein (APP). The ectodomain of APP is cleaved by  $\beta$ -secretase, and the transmembrane domain of the resulting C-terminal fragment (C99) is processed by  $\gamma$ -secretase to generate  $A\beta$  (Figure). The  $\gamma$ -secretase cleavage at multiple sites yields several different  $A\beta$  species including two predominant forms,  $A\beta_{40}$  and  $A\beta_{42}$ .  $A\beta_{42}$  is more prone to aggregation and is pathogenic.

**Proteolytic pathways of  $\beta$ -amyloid precursor protein (APP)**



(1) Molecular mechanism underlying regulation of cellular  $\gamma$ -secretase activity

$\gamma$ -Secretase is a membrane-embedded, multimeric protein complex composed of four membrane proteins: presenilin (PS), nicastrin (NCT), APH-1, and PEN-2. Presenilins (PS1 and PS2) have a catalytic center, although three other components are required for activity. Control of  $\gamma$ -secretase activity is considered a promising therapeutic strategy for AD. However, inhibition of  $\gamma$ -secretase activity has serious adverse effects in mammals, because  $\gamma$ -secretase plays a critical role in regulated intramembrane proteolysis of many type I membrane proteins including Notch receptors, whose proteolyzed cytoplasmic domains mediate pivotal signal transduction *in vivo*. The mechanism of intrinsic  $\gamma$ -secretase regulation remains to be elucidated, although some candidate regulatory



## 《CRB2》

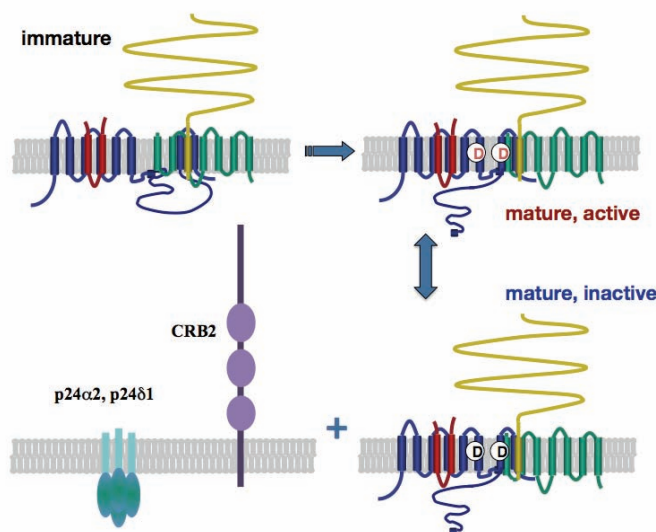
ショウジョウバエのCrumbs分子はNotchの $\gamma$ セクレターゼ切断を阻害しNotchシグナルを抑制すると報告されていた。我々はCrumbsのヒト相同分子のうち脳での発現レベルが高いCRB2に注目し、その $\gamma$ セクレターゼ活性阻害について検討した。HEK293細胞でのCRB2の強制発現によりAPPのC末端断片からのA $\beta$ とAICD産生は阻害された。一方、SH-SY5YのCRB2発現をsiRNAでノックダウンするとA $\beta$ とAICD産生は増加した。この増加は無細胞反応系でも認められた。CRB2はI型膜タンパク質ながら $\gamma$ セクレターゼの基質にはならず、免疫共沈から $\gamma$ セクレターゼ複合体と結合することが示された。CRB2の膜貫通ドメインはA $\beta$ 産生阻害と $\gamma$ セクレターゼ複合体結合に不可欠であることが判明し、さらに細胞内ドメインも補助的な役割を果たすことが示唆された。CRB2とともにPS1ないしAPH-1を共発現させるとA $\beta$ 産生阻害はみられなくなったが、これは共発現がCRB2の $\gamma$ セクレターゼ複合体結合を妨害するためと推測された。これらの結果は、CRB2が細胞内在性 $\gamma$ セクレターゼ活性阻害タンパク質であることを示している。

## 《p24 $\alpha_2$ 》

p24カーゴタンパク質ファミリーに属すp24 $\delta_1$  (TMP21) が $\gamma$ セクレターゼの構成タンパク質であり活性を負に制御することが報告されている。p24ファミリーはp24 $\alpha$ , p24 $\beta$ , p24 $\delta$  および p24 $\gamma$ のサブファミリーに分類される。p24 $\delta_1$ に対しp24 $\beta_1$ は $\gamma$ セクレターゼ活性に関与しないとされる。我々はp24 $\alpha_2$ , p24 $\gamma_3$  ないし p24 $\gamma_4$ について検討した。p24 $\alpha_2$ のノックダウンは培養細胞および無細胞反応系においてA $\beta$ 分泌を増加させたが、AICD産生は変化させなかった。逆に過剰発現はA $\beta$ 分泌を減少させた。p24 $\alpha_2$ は $\gamma$ セクレターゼ複合体と結合することも確認された。それに対して、p24 $\gamma_3$  と p24 $\gamma_4$ の発現変化はA $\beta$ 分泌に影響しなかった。p24 $\alpha_2$ とp24 $\delta_1$ は細胞内領域に小胞体 (ER) 局在シグナルであるLys-Lys-X-Xモチーフをもつ。このモチーフへの変異導入は $\gamma$ セクレターゼ阻害活性を喪失させた。また、p24 $\alpha_2$ とp24 $\delta_1$ の同時ノックダウンあるいは高発現は相加的効果を示さなかった。以上の結果は、Lys-Lys-X-Xモチーフをもつp24 $\alpha_2$ とp24 $\delta_1$ は共同して $\gamma$ セクレターゼ複合体に作用し、その活性を阻害することを示唆している。

CRB2やp24 $\alpha_2$ はともに $\gamma$ セクレターゼ複合体に作用し、活性を負に制御している。細胞に発現しているpresenilin複合体のうち $\gamma$ セクレターゼ活性に寄与するのは約1/7と推測されていることから、これら活性阻害タンパク質は不活性型複合体の形成に関与しているのかも知れない。しかし、p24 $\alpha_2$ は $\gamma$ 切断を阻害するのに対し $\epsilon$ 切断は阻害しないなど、CRB2とは異なる特徴も有している。 $\gamma$ セクレターゼ活性制御のメカニズムをさらに明らかにする必要がある。

### Intracellular pools of $\gamma$ -secretase complexes



## (II) 脳老化によるアルツハイマー病脆弱性の分子基盤の解明

最近の報告から、遺伝子変異による家族性病型に加え、孤発性晩発性アルツハイマー病の症例でもA $\beta$ 42産生比が増加する方向に $\gamma$ セクレターゼの切断部位特異性が変位している可能性が指摘されてきた。一方、加齢がアルツハイマー病の危険因子であることはよく知られ、マウス脳においてA $\beta$ 42/A $\beta$ 40比は加齢とともに増加することが示された。従って、ヒトにおいても加齢とともにA $\beta$ 42/A $\beta$ 40産生比の増加することが、高齢者での高い発病率に対応する分子基盤である可能性が考えられる。近年の老化研究の進歩はめざましく、老化を制御するシグナルや分子が複数同定されてきたことから、これらと $\gamma$ セクレターゼ活性との関連の検討が可能になってきた。この課題による成果が得られれば、本症の分子病態のさらなる理解と予防治療法開発への知見を提供することが期待できる。

proteins have recently been reported. In a screen for proteins that interact with the  $\gamma$ -secretase complex, we identified several proteins that could potentially reduce A $\beta$  secretion.

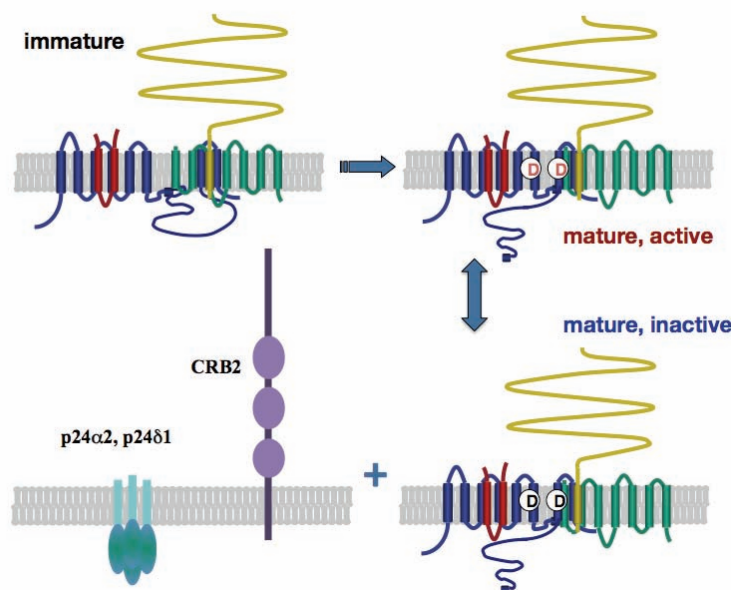
#### <CRB2>

*Drosophila* Crumbs attenuates Notch signaling by inhibiting  $\gamma$ -secretase cleavage at the wing margins. We re-examined  $\gamma$ -secretase inhibition by human CRB2, which is the most abundant Crumbs ortholog in human brain. Transfected CRB2 inhibited proteolytic production of A $\beta$  and APP intracellular domains from APP C-terminal fragments. Conversely, knockdown of endogenous CRB2 increased  $\gamma$ -secretase cleavage products in SH-SY5Y cells. CRB2 inhibition of  $\gamma$ -cleavage was also detected in cell-free assays. CRB2 interacted with the  $\gamma$ -secretase complex, but was not a competitive substrate for  $\gamma$ -cleavage. The transmembrane domain of CRB2 was indispensable for inhibiting A $\beta$  generation, and mediated CRB2 binding with the  $\gamma$ -secretase complex. In addition, the cytoplasmic domain of CRB2 seemed to play a supportive role in  $\gamma$ -secretase inhibition. Co-overexpression of presenilin-1 or A $\beta$ PH-1 abrogated  $\gamma$ -secretase inhibition probably by preventing the incorporation of CRB2 into the  $\gamma$ -secretase complex. Our results suggest that CRB2 functions as an inhibitory binding protein involved in forming a mature but inactive pool of the  $\gamma$ -secretase complex.

#### <p24 $\alpha_2$ >

A member of the p24 cargo protein family, named p24 $\delta_1$  or TMP21, was identified as an activity-modulating component of the  $\gamma$ -secretase complex. The p24 family proteins are divided into four subfamilies (p24 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  and  $\gamma$ ). In contrast to p24 $\delta_1$ , p24 $\beta_1$  has reportedly no effect on  $\gamma$ -cleavage. We investigated whether p24 $\alpha_2$ , p24 $\gamma_3$ , or p24 $\gamma_4$  modulates APP processing. Knockdown of cellular p24 $\alpha_2$  induced a significant increase in A $\beta$  generation, but not in AICD production in cell-based and cell-free assays, whereas p24 $\alpha_2$  overexpression suppressed A $\beta$  secretion. By contrast, A $\beta$  secretion was not altered by p24 $\gamma_3$  or p24 $\gamma_4$  knockdown. Endogenous p24 $\alpha_2$  co-immunoprecipitated with core components of the  $\gamma$ -secretase complex. Mutational disruption of the conserved dilysine ER-retrieval motifs of p24 $\alpha_2$  and p24 $\delta_1$  perturbed inhibition of  $\gamma$ -cleavage. Simultaneous knockdown, or overexpression, of both p24 $\alpha_2$  and p24 $\delta_1$  had no additive or synergistic effect on A $\beta$  generation. Our findings suggest that dilysine ER-retrieval signal-containing p24 proteins, p24 $\alpha_2$  and p24 $\delta_1$ , bind with  $\gamma$ -secretase complexes and collaborate in attenuating  $\gamma$ -cleavage of APP.

#### Intracellular pools of $\gamma$ -secretase complexes



#### (2) Molecular basis of high incidence of Alzheimer disease with increasing age: analysis of functional and molecular modification of the $\gamma$ -secretase complex in aged brains

Recent reports suggested that  $\gamma$ -secretase activity is modulated to preferentially generate A $\beta$ 42 in brains of patients with late-onset sporadic AD. On the other hand, it is well known that aging is a major risk factor for AD, and the A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 ratio in mouse brain increases in an age-dependent manner. Hence, it is possible that the increasing vulnerability of the aged to AD reflects an increase in A $\beta$ 42 generation with aging. Recent advances in aging research implicated several signaling pathways and components in animal aging and cellular senescence. We are therefore investigating aging-associated modification of the  $\gamma$ -secretase complex. This study could shed light on an important aspect of AD pathogenesis, and lead to future study on development of small-molecule agents to inhibit or reverse pathological modifications of the  $\gamma$ -secretase complex.



## 神経難病診断学分野 (Unit for Neuropathology and Diagnostics)



教授  
遠山 育夫  
Ikuo Tooyama  
Professor

特任教授  
田口 弘康  
Hiroyasu Taguchi  
Special Contract  
Professor

助教  
ベリエ ジャン・ピエール  
Jean-Pierre Bellier  
Assistant Professor

特任助教  
牧野 悟士  
Satoshi Makino,  
Special Contract  
Assistant Professor

kinchan@belle.shiga-med.ac.jp

taguti@belle.shiga-med.ac.jp

bellier@belle.shiga-med.ac.jp

野瀬 俊明  
高田 達之  
小西 吉裕  
白井 伸明  
平尾 浩一  
佐藤 晴久  
福原 崇臣  
森 一芳  
高下 雅弘  
南條 俊文  
柳沢 大治郎  
Essam Mohamed Abdelalim  
増田 千明  
竹内 成子  
Piers Vigers  
亀島 直子  
Naomi Bisem  
汪 立剛

特任教授 (動物生命科学研究センター)  
客員教授 (立命館大学教授)  
客員准教授 (国立病院機構鳥取医療センター部長)  
客員講師 (滋賀県工業技術総合センター主任主査)  
客員助教 (滋賀県工業技術総合センター主査)  
客員助手 (洛和会丸太町病院)  
客員助教 (パナソニック四国エレクトロニクス株式会社)  
客員助手 (パナソニック四国エレクトロニクス株式会社)  
客員助手 (パナソニック四国エレクトロニクス株式会社)  
客員助手 (パナソニック四国エレクトロニクス株式会社)  
非常勤研究員  
日本学術振興会外国人特別研究員  
大学院生  
大学院生  
大学院生  
大学院生  
文部科学省奨学金留学生  
大学院生 (特別研究学生)

### 研究内容

アルツハイマー病の病態解明の基礎研究成果を基盤として、アルツハイマー病の体外診断法、画像(とくにMR)診断法の開発などをMR医学総合研究センターや動物生命科学研究センターと共同で推進しています。

## Unit for Neuropathology and Diagnostics



Ikuo Tooyama  
Professor

[kinchan@belle.shiga-med.ac.jp](mailto:kinchan@belle.shiga-med.ac.jp)



Hiroyasu Taguchi  
Special Contract  
Professor

[taguti@belle.shiga-med.ac.jp](mailto:taguti@belle.shiga-med.ac.jp)



Jean-Pierre Bellier  
Assistant Professor

[bellier@belle.shiga-med.ac.jp](mailto:bellier@belle.shiga-med.ac.jp)



Satoshi Makino  
Special Contract  
Assistant Professor

[smakino@belle.shiga-med.ac.jp](mailto:smakino@belle.shiga-med.ac.jp)

Toshiaki Nose	Special Contract Professor (Research Center for Animal Life Science)
Tatuyuki Takada	Visiting Professor (Ritsumeikan University)
Yoshihiro Konishi	Visiting Associate Professor (Tottori Medical Center)
Nobuaki Shirai	Visiting Lecturer (Industrial Research Center of Shiga Prefecture)
Koichi Hirao	Visiting Assistant Professor (Industrial Research Center of Shiga Prefecture)
Haruhisa Sato	Visiting Lecturer (RAKUWAKAI Health Care System)
Takaomi Fukuhara	Visiting Assistant Professor (Panasonic Shikoku Electronics Co., Ltd.)
Kazuyoshi Mori	Visiting Lecturer (Panasonic Shikoku Electronics Co., Ltd.)
Masahiro Koge	Visiting Lecturer (Panasonic Shikoku Electronics Co., Ltd.)
Toshifumi Nanjoh	Visiting Lecturer (Panasonic Shikoku Electronics Co., Ltd.)
Daijiro Yanagisawa	Postdoctoral Fellow
Essam Mohamed Abdelalim	Visiting Foreign Research Fellow of JSPS
Chiaki Masuda	Graduate Student
Shigeko Takeuchi	Graduate Student
Piers Vigers	Graduate Student
Naoko Kameshima	Graduate Student
Naomi Bisem	Japanese Government (Monbukagakusho) Scholarship Student
Ligang Wang	Graduate Student (Foreign Student)

The aim of this laboratory is to understand the molecular basis of neural functions and pathological processes of neurological diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. Based on our findings, we aim to develop diagnostic agents and methods for neurological disorders. To increase our productivity, we collaborate with other units in MNRC, the Biomedical MR Center, and the Center for Animal Life Science.

## 研究トピックス

### 1. アルツハイマー病の画像診断法の開発研究 (JST育成研究、統合的分子イメージングプロジェクトほか)

現在日本には約200万人の認知症患者が存在し、その約半数がアルツハイマー病とされている。しかし、いまだに有効な診断方法がない。そこで我々は、フッ素MR画像法という最先端の技術を駆使し、アルツハイマー病MR画像診断薬の開発研究を行っている。これまでに、230種類以上の化合物をスクリーニングし、有望な新規化合物34個を特許出願した。なかでも、Shiga-Y5は先行薬の10倍以上の強いフッ素NMR信号を出し、アルツハイマー病モデルマウスで老人斑の画像化に成功した。細菌を用いた復帰突然変異試験やラットやマウスを用いた安全性試験の結果、Shiga-Y5の安全性は高く変異原性もないと考えられた。加えて、Shiga-Y系化合物は、アルツハイマー病の原因物質であるアミロイドβペプチド凝集体に対してエノール型で結合し、ケト型で遊離するという優れた性質をもち、アルツハイマー病の画像診断薬として優れるのみならず、互変異性を利用した体外診断薬への展開も可能である。ケト・エノール互変異性を利用した画像診断薬や体外診断薬という発想はこれまでなく、新しい創薬理論を提出するものとして国際学術誌で発表した。老人斑の画像化をより高感度に可能にするためのフッ素MR画像診断用の装置の改良や新しい測定法の開発も行い、国際学術誌に論文発表した。アルツハイマー病の非侵襲的な画像診断法の開発は世界的な競争にある中で、フッ素MR画像技術によるアミロイドイメージングは、我が国がリードしている分野のひとつである。近い将来に予想されている高磁場MR画像装置の臨床現場への導入に備え、フッ素MR画像という次世代MR画像技術によるアルツハイマー病の診断薬をわが国で開発しておくことは、国際競争に打ち勝つためにも重要と考える。

なお、本研究は、JST育成研究（平成19年度-21年度）の支援を受けて行った。引き続き、平成22年度からは、文部科学省プロジェクト経費「統合的分子イメージングを用いた神経難病の画期的な診断・治療法の開発」により研究を継続中である。

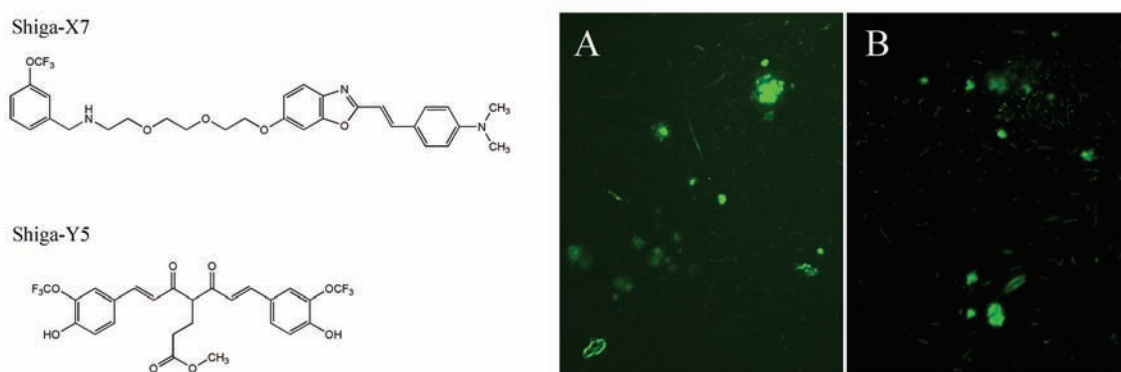


図1. Shiga-X7とShiga-Y5の構造式とアルツハイマー病モデルマウスの老人斑に結合したShiga-X7 (A) と Shiga-Y5 (B)。モデルマウスの静脈内に投与した開発化合物は、脳に入って老人斑に結合して特徴的な蛍光を発する。

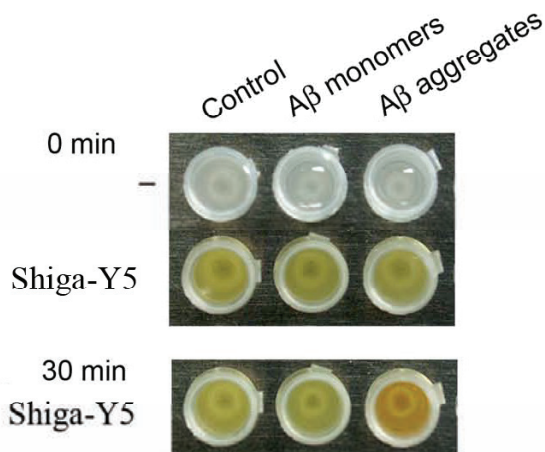


図2. Shiga-Y5の入ったバッファーにAβ凝集体を加えると30分以内にオレンジ色に変化する。Aβモノマーには反応しない (Yanagisawa D et al., *Biomaterials* 31: 4179-4185, 2010)



## Research Projects and Topics

### 1. Development of diagnostic methods for Alzheimer's disease

Magnetic resonance imaging (MRI) at magnetic fields of 1.5 – 3.0 tesla is widely used in hospitals. Recently, several experimental laboratories have introduced high-field MRI that exceeds 7 tesla in field strength, thus extending their technological capabilities for *in vivo* imaging. In particular, high-field MRI provides high-resolution imaging of the brain. For example, MRI can track a single labeled cell in the brain following transplantation. We recently showed that some phagocytic cells such as microglia/macrophages can enter the brain from the blood vessels and phagocytose A $\beta$  peptides (Yang Song et al. *Neuroscience Letters*, 2006; *Histology Histopathology* 2006).

The aims of our research project are 1) to investigate a possible treatment involving modified microglia and bone marrow stem cells in transgenic mouse models of Alzheimer's disease, and 2) to track the administered microglia non-invasively using MRI (Takata et al, *FEBS Letters* 581: 475-478, 2007).

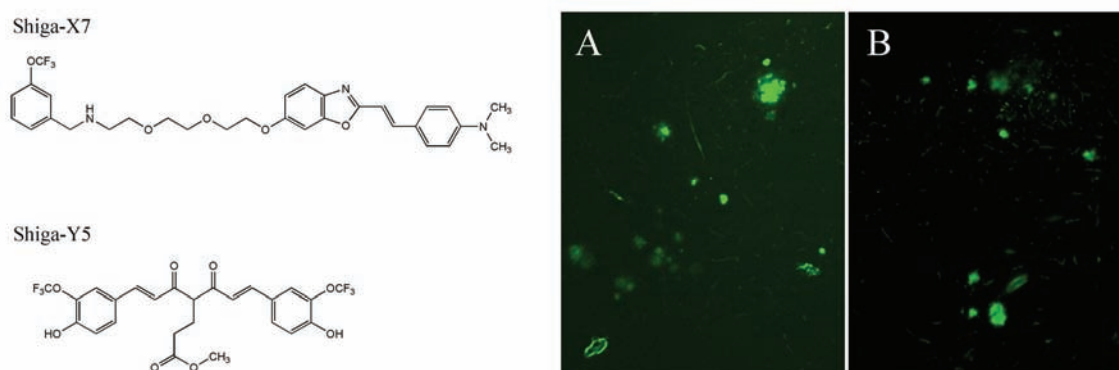


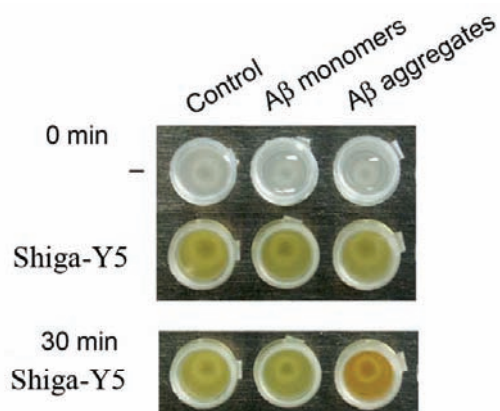
Figure 1. Structures of Shiga-X7 and Shiga-Y5, and fluorescent signals of Shiga-X7 (A) and Shiga-Y5 (B) in the brain of transgenic mouse models of Alzheimer's disease. These fluorochromes were injected into the tail vein of mice, and subsequently bound to senile plaques in the brain.

High-field MRI also allows us to image not only protons but also other nuclear elements such as  $^{17}\text{O}$ ,  $^{13}\text{C}$ , and  $^{19}\text{F}$ . In particular, low-abundant elements such as  $^{19}\text{F}$  can provide better signal-to-noise ratios. We designed a novel positive contrast agent based on a peptide, poly-L-lysine- $\text{CF}_3$  (PLK- $\text{CF}_3$ ), labeled with FITC or Cy5 for MRI microscopy (Maki et al. *Biomaterials* 28: 434-440, 2007). Higuchi et al. reported the imaging of amyloid plaques using  $^{19}\text{F}$ -MRI with (E,E)-1-fluoro-2, 5-bis-(3-hydroxycarbonyl-4-hydroxy) styrylbenzene (FSB), which allowed the detection of A $\beta$  plaques in APP transgenic mice (*Nature Neurosci* 2005). We also used TFMB-2Et and TFMB-3Et for amyloid imaging in APP transgenic mice (Amatsubo et al., *Neurosci Res.* 63:76-81, 2009).

Curcumin, which can exist in equilibria between keto and enol tautomers, binds to A $\beta$  fibrils/aggregates. Curcumin derivatives with keto-enol tautomerism showed high levels of binding to A $\beta$  aggregates, but not to A $\beta$  monomers. The binding activity of the keto form analogue of curcumin to A $\beta$  aggregates was found to be much weaker than that of curcumin derivatives with keto-enol tautomerism. The color of a curcumin derivative with keto-enol tautomerism, which was substituted at the C-4 position, changed from yellow to orange within 30 minutes of being combined with A $\beta$  aggregates in physiological buffer. This followed a remarkable increase in the enol form with extended conjugation of double bonds upon binding.

Curcumin derivatives exist predominantly in the enol form during binding to A $\beta$  aggregates, and that the enolization of curcumin derivatives is crucial for binding to A $\beta$  aggregates. These findings suggest that the

keto-enol tautomerism of curcumin derivatives could provide a novel target for amyloid-binding agents that could be used for therapy and for amyloid detection in Alzheimer's disease. (This study was supported by the JST Practical Application Research Program).



**Figure 2.** In the presence of A $\beta$  aggregates (right), the color of Shiga-Y5 gradually, but dramatically, changed to reddish orange during 30 min. However, Shiga-Y5 did not react with A $\beta$  monomers.

## 2. 神経伝達物質および神経活性物質に関する神経科学的研究

アセチルコリンを神経伝達物質とするコリン神経系は、脳では学習・記憶の神経回路を形成し、アルツハイマー病で強く障害される。我々は神経難病再生学分野の木村宏教授と共同で、コリン神経に関する基礎研究も行っている。とくに、2000年にTooyama and Kimuraが発見したアセチルコリン合成酵素（ChAT）のスプライスバリエントpChATについて、国際共同研究プロジェクトを遂行している。さらに、日本学術振興会外国人特別研究員のAbdelalim博士とは、脳や発生過程におけるナトリウム利尿ペプチドの機能的意義の解明研究を行っている。神経難病の克服には、こうした神経科学の基礎研究の積み重ねも重要であると考えている。

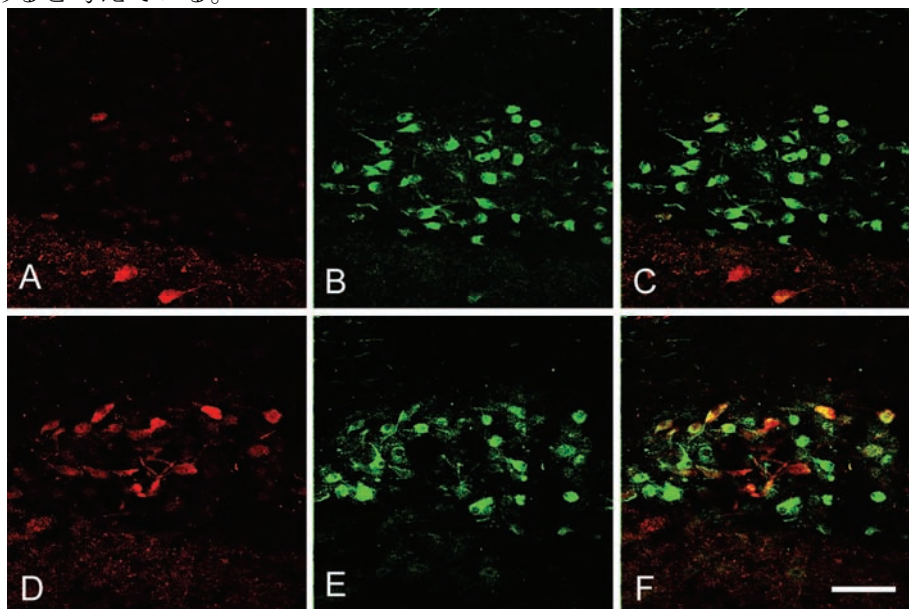


図3. 迷走神経切断後、3日目（上段A, B, C）と7日目（下段D, E, F）の迷走神経背側核におけるcChAT（赤）とpChAT（緑）陽性神経。CはAとBの、FはDとEの合成画像。切断3日後には、cChATは消失し、かわりにpChATが発現する。7日目には、cChATの発現も回復し、一部の神経細胞では、両者が共発現している。（Saito et al., *J Comp Neurol* 513:237-248, 2009）

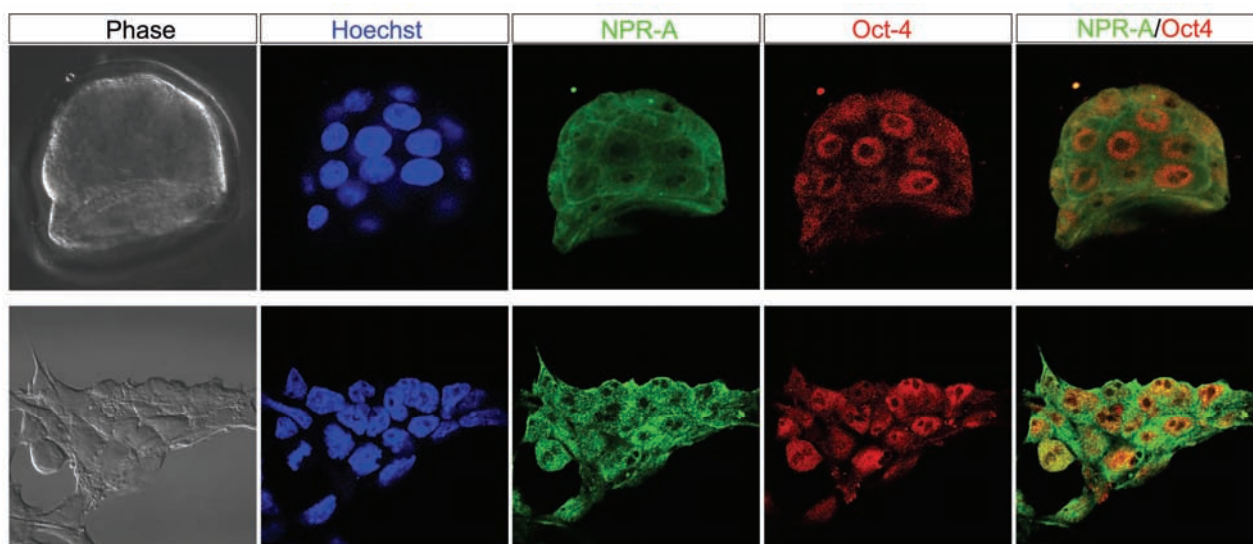
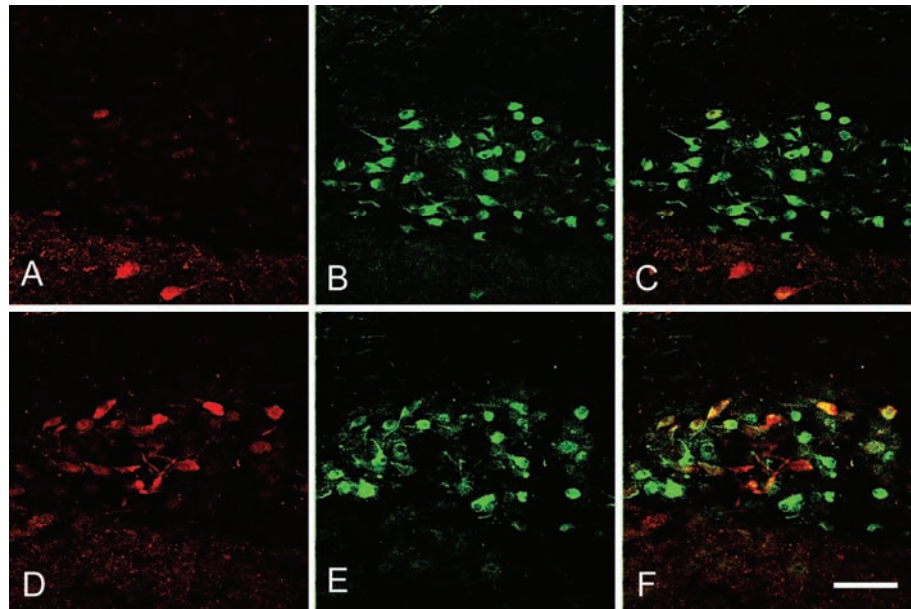


図4. 着床前胚と胚性幹（ES）細胞には、A型ナトリウム利尿ペプチド受容体（NPR-A）が発現している。上段左から、マウス着床前胚の顕微鏡写真、Hoechst染色、NPR-Aの免疫細胞染色、Oct-4の免疫細胞染色、NPR-AとOct-4の免疫二重染色。下段は、マウスES細胞における同様の染色結果。（Abdelalim EM, Tooyama I, *PLoS ONE* 4(4): e5341, 2009）

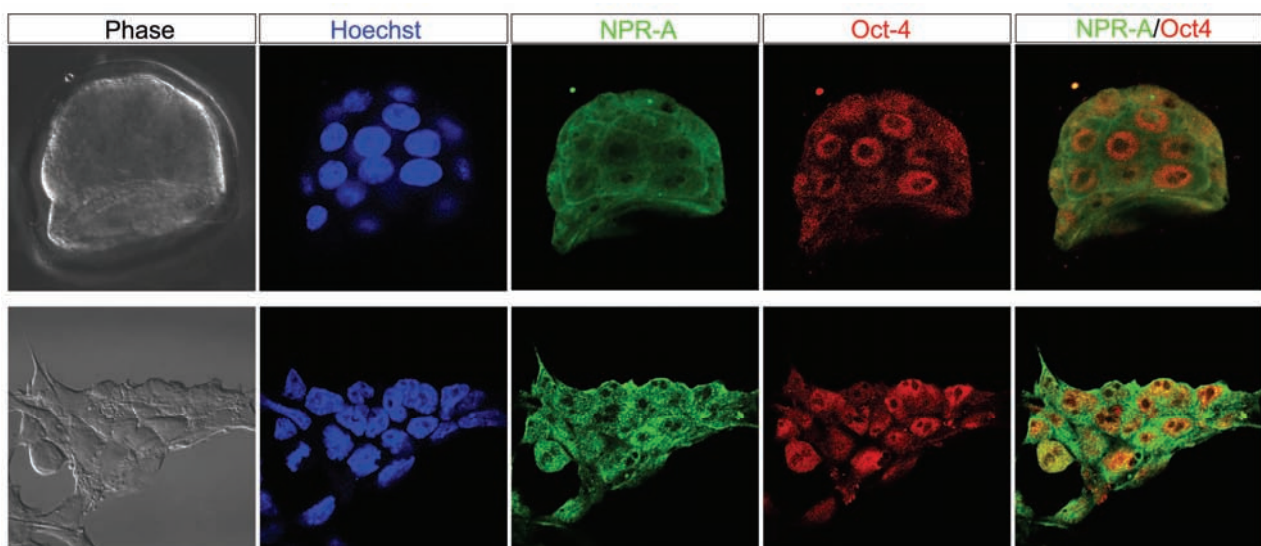
## 2. Research on neurotransmitters and neuropeptides

We also investigate gene functions in the nervous system. Recently, we identified a novel splice variant of choline acetyltransferase that is preferentially expressed in peripheral nervous system (pChAT). We are now investigating the structure, localization, and function of pChAT (Figure 3).

Dr. Essam M. Abdelalim is studying natriuretic peptides in the central nervous system and in embryonic stem cells. His results thus far have implicated these molecules in stem cell functions.

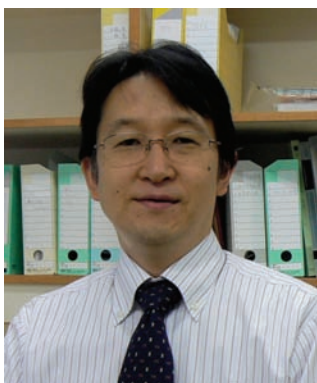


**Figure 3.** Double-immunostaining for cChAT (red) and pChAT (green) in the DMNV at 7 days (A-C) and 28 days (D-F) post-vagotomy. (A, D) cChAT-immunoreactive neurons. (B, E) pChAT-immunoreactive neurons. (C) Merged image of (A) and (B). (F) Merged image of (D) and (E). (A-C) Only a few neurons co-express cChAT and pChAT. (D-F) Some of the cChAT-positive and pChAT-positive neurons co-express the two markers. HN, hypoglossal nucleus. Scale bars: A-F, 200  $\mu$ m. (Saito et al., *J Comp Neurol* 513:237-248, 2009)



**Figure 4.** Natriuretic peptide receptor-A (NPR-A) is expressed in pre-implantation embryos and pluripotent embryonic stem (ES) cells. *Upper panels*, double-immunofluorescence images of 3.5-day-old blastocysts stained with antibodies against NPR-A and Oct4 (a pluripotency marker), and counterstained with Hoechst reagent. *Lower panels*, double-immunofluorescence images of undifferentiated murine ES cells stained as in *upper panels*. (Abdelalim EM, Tooyama I, *PLoS ONE* 4(4): e5341, 2009)





准教授 漆谷 真

Makoto Urushitani, Associate Professor  
uru@belle.shiga-med.ac.jp

井戸 明美	非常勤研究員
大野 美樹	特別研究学生 (京都大学神経内科学大学院生)
北原 亮	客員講師 (立命館大学 薬学部 専任講師)

#### ◆研究紹介

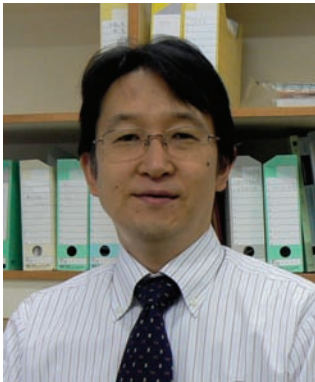
神経難病治療学分野は平成21年6月に発足した新講座で、神経難病の病態に基づく、画期的治療法の開発をめざしている。現在、致死性神経難病である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を中心に、ワクチンや抗体を用いた免疫療法、孤発性ALSにおいて近年同定された新規タンパクTDP-43の解析、運動ニューロンの軸索再生因子の同定を主眼に研究を進めている。

##### 1. 家族性 ALS の運動ニューロン死の機序解明

ALS の 90%は原因不明の孤発例であるが、10%に家族例が存在しさらにその 20%にスーパーオキシドジスムターゼ (SOD1) 遺伝子に突然変異が存在する。変異 SOD1 を導入した遺伝子改変マウスは ALS 同様の致死性四肢麻痺と病理所見を呈する。この ALS モデルマウスの発症機序を解明することは ALS の治療法開発に有用である。我々は、変異 SOD1 は発現細胞に有害であるだけでなく、細胞外に分泌されることによって周囲のグリア細胞を刺激し、ミクログリアの活性化や運動ニューロン毒性を来すことを発見した。

##### 2. ALS モデルマウスの免疫療法

我々は細胞外の変異 SOD1 に治療標的として着目し、ALS モデル動物を用いて変異 SOD1 をワクチン接種した。その結果、発病を著明に遅延させ、疾患の進行も遅らせることに成功した。さらに変異 SOD1 ワクチンを使って抗血清を得、発病後のマウスの脳室内に持続注入したところ、進行を抑制し寿命を延長させた。現在、ワクチン有用性の仕組みを解明する研究を進めると同時に、変異 SOD1 を特異的に認識する抗体の作製に成功し、これを用いて ALS モデルマウスの治療効果を確認し、新たな免疫療法開発に向けた研究を展開している。



Makoto Urushitani  
Associate Professor  
uru@belle.shiga-med.ac.jp

Akemi Ido

Miki Ono

Ryo Kitahara

Researcher (Non-Full-time)

Special Research Student

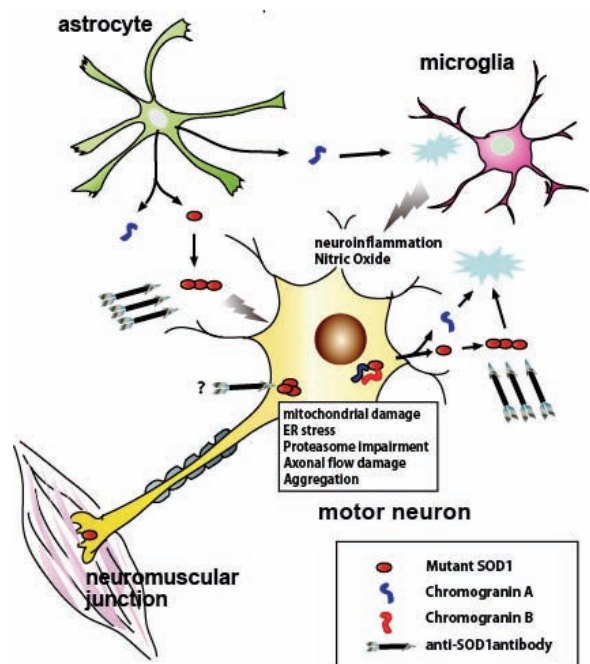
Visiting Lecturer (Ritsumeikan University)

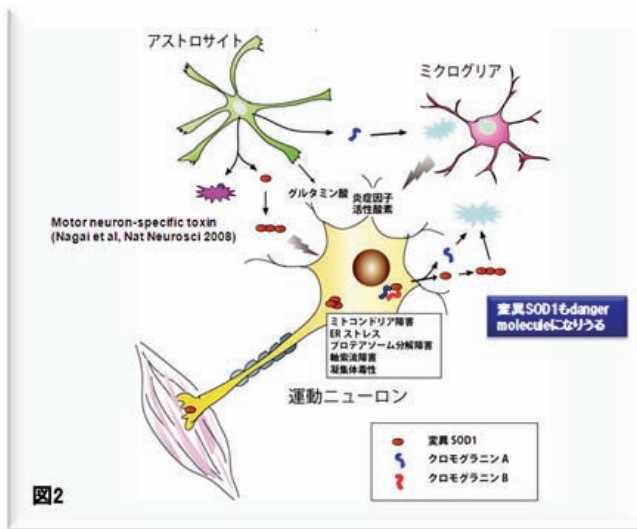
The Unit for Neurobiology and Therapeutics (Neurotherapy Group) is a new laboratory at the MNRC that was launched in June in 2009. Our mission is to develop innovative therapies for amyotrophic lateral sclerosis (ALS), a fatal neurodegenerative disease characterized by progressive muscle wasting and atrophy. There are no effective therapies for ALS, although recent advances in life science technology have yielded significant clues to understanding ALS, including genetic mutations in superoxide dismutase 1 (SOD1) in familial ALS and the abnormal deposition of TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43) in sporadic ALS cases. By using ALS model mice (mutant SOD1 transgenic mice) and various in vivo and in vitro techniques, we aim to clarify the pathomechanisms of ALS and to develop effective and practical treatments for ALS patients.

#### Projects

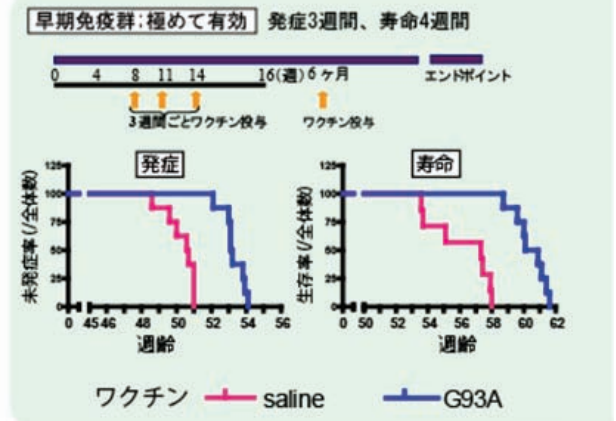
The ultimate goal of our research is to develop innovative therapies against ALS. To this end, we are currently taking multiple approaches using cultured cells, cell-free systems, and ALS model mice. Expertise in our lab encompasses cell biology, protein chemistry, genetics, immunohistochemistry, and animal surgery.

ALS involves multiple pathological pathways, thus combination therapy is accepted as the most practical way to block as many pathways as possible. One of the most important concepts in understanding the pathogenesis of ALS (especially mutant SOD1-linked ALS) is "non-cell-autonomous motor neuron death". According to this theory, the toxicity of motor neuron death is determined by surrounding cells, but not by the motor neurons themselves (1). Various mechanisms have been proposed to explain this phenomenon including neuroinflammation, reactive oxygen species, and excess glutamate. The group of Prof. Jean-Pierre Julien, in which I pursued postdoctoral training, found that mutant SOD1 is secreted together with a neurosecretory protein chromogranin, to generate a proinflammatory effect (2). We also showed the beneficial effect of vaccination and antibody therapy targeting the extracellular SOD1 mutant (3). We are working together with the lab of Prof. Jean-Pierre Julien to develop more effective immunotherapy regimes for ALS.



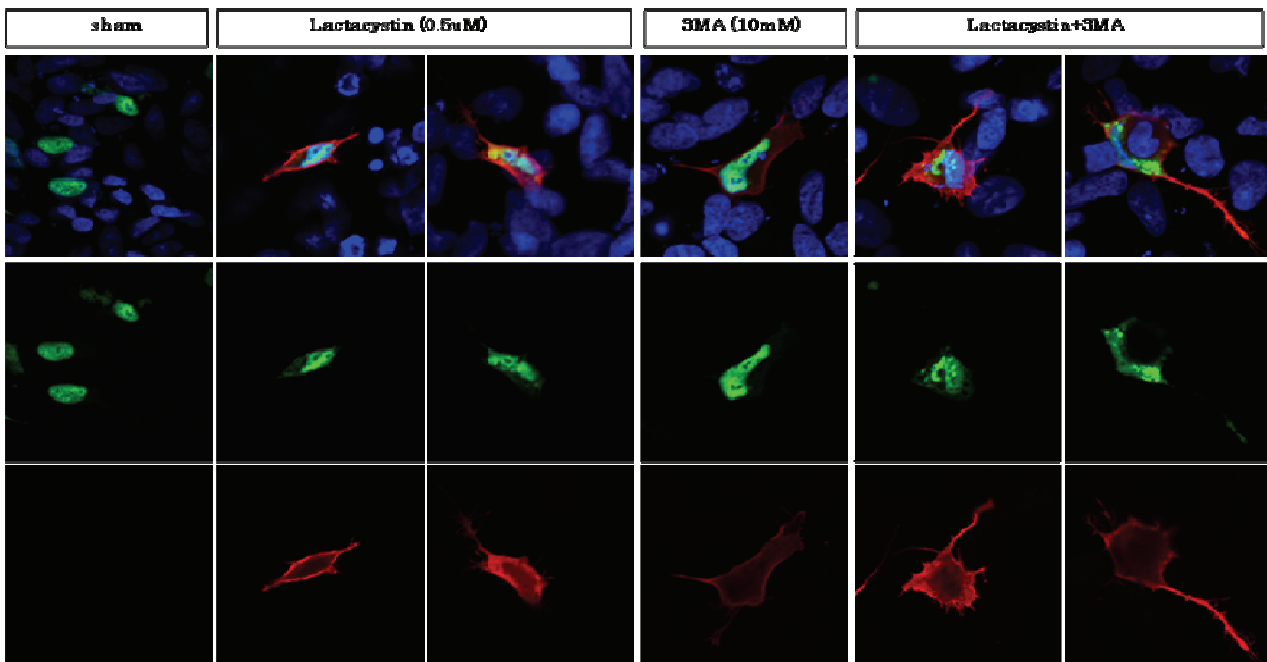


### ALSモデルマウスに対するワクチン療法



### 3. 孤発性 ALS 関連タンパク TDP-43 の分解系の解明

TDP-43 (TAR DNA-binding protein43) は、2006年に本邦と米国から同時に発見された孤発性ALSの病態関連タンパクである。これまでALS患者病巣には通常では認めない異常タンパク凝集体の存在が知られていたが、その本体がTDP-43である。TDP-43がALSの病態に如何に関与しているかは未だ不明であるが、障害の強い病巣ほど蓄積が強いため、本タンパクの分解系の解明はALS治療への大きな足がかりとなる。細胞内の異常タンパクは通常ユビキチン-プロテアソーム分解系を経て代謝されるが、ユビキチン化されたTDP-43はプロテアソームよりもむしろオートファゴソームで分解されることを発見した。さらにALS病巣で発見されるTDP-43の細胞質凝集体はオートファゴソームとプロテアソームの両者の機能低下時に形成されることを発見した。



TDP-43(緑)は正常では核に存在する(sham). ところがプロテアソーム分解系とオートファジー分解系をそれぞれ3メチルアデニン (3MA) とLactacystinで抑制すると細胞質に凝集体が形成される。

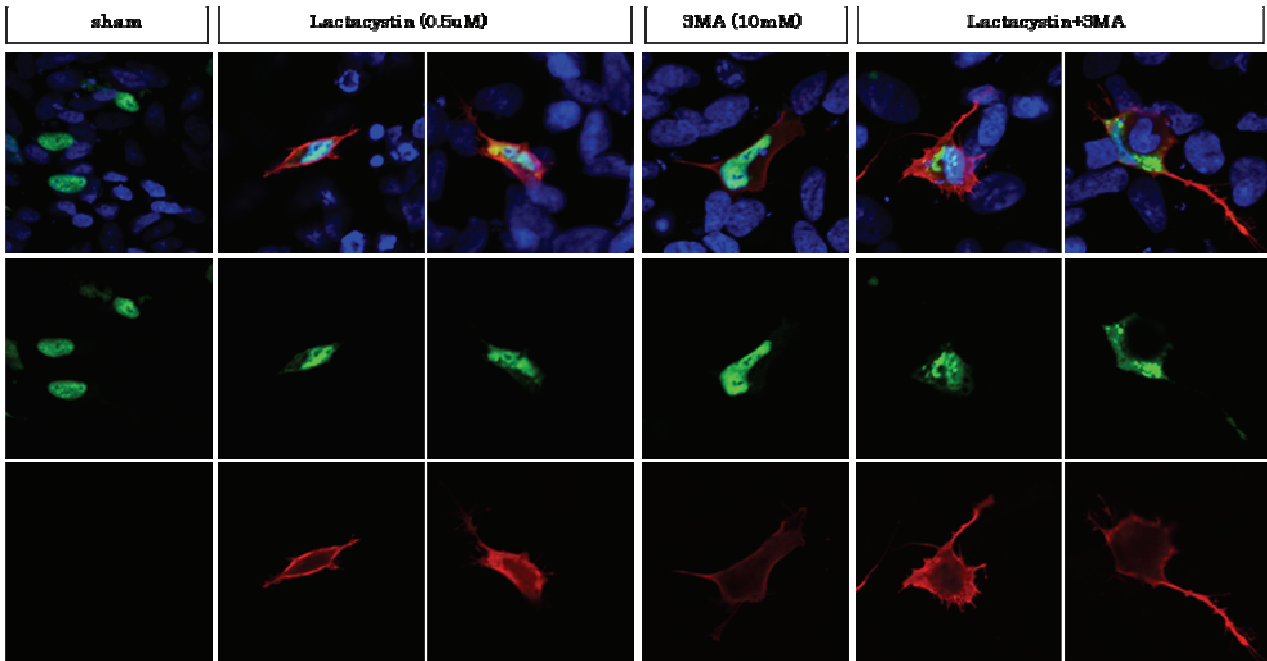
#### ◆国際共同研究

- ① ラバル大学 CHUL リサーチセンター (カナダ) Jean-Pierre Julien (教授)
- ② モントリオール大学 (カナダ) Guy Rouleau (教授)
- ③ メソジスト研究所 (米国) Stanley Appel (教授)



Current projects are as follows:

1. Development of novel immunotherapies for ALS
2. Identification of ALS-specific inhibitors of axonal repair
3. Clarification of the role of TDP-43 mislocalization and ubiquitination in the pathogenesis of sporadic ALS



4. Structural analysis of ALS-linked proteins using sophisticated NMR techniques.



客員教授 高橋 良輔

Ryosuke Takahashi, Visiting Professor  
ryosuket@kuhp.kyoto-u.ac.jp



助教 松尾 明典

Akinori Matsuo, Assistant Professor  
akimatsu@belle.shiga-med.ac.jp

### 研究トピックス

改組に伴って開設された新しい分野です。滋賀医科大学の特色の一つであるサル（カニクイサル）を使ったモデルサル開発を推進する予定です。平成21年度より、京都大学大学院医学研究科（臨床神経学）の高橋良輔教授が客員教授として、また松尾明典博士が助教として着任しました。

アルツハイマー病などの神経難病、統合失調症などの精神疾患、さらには自閉症をはじめとする発達障害については、いまだ確実な病因解明および原因治療には到達していません。動物で自然発症が見られない疾患の研究には、適切な疾患モデルの確立が不可欠です。すでに、げっ歯類を用いた疾患モデルが多数存在する疾患もあり、それらを用いて多くの知見が得られているのは事実です。しかしながら、特に高次脳機能にかかわる部分では、ヒトの病態への外挿性について、種差に起因すると思われる多くの問題が存在しています。この問題を克服するために、よりヒトに近い疾患モデル、すなわちカニクイサルをはじめとする非ヒト霊長類での疾患モデルの確立が望まれています。ヒトに近いということはそれだけ技術的、倫理的にクリアすべき課題は多いのですが、真の病態解明や治療法確立のためには達成していくべき方向と考えられます。

個体発生までの道のりは、いまだはるかですが、本分野では、サルES細胞に安定的に疾患特異的遺伝子を発現させる方法の確立およびレンチウイルスベクターを用いての受精卵への直接導入のための基礎実験を動物生命科学センターのご協力のもとに遂行しています。

## Unit for Animal Models of Neurological Disorders



Ryosuke Takahashi  
Visiting Professor  
ryosuket@kuhp.kyoto-u.ac.jp



Akinori Matsuo  
Assistant Professor  
akimatsu@belle.shiga-med.ac.jp

### Projects

Our unit's aim is to produce appropriate animal models for generating more precise and translatable information about neurological disorders, such as Alzheimer's disease. Shiga University has one of Japan's largest colonies of *Macaca fascicularis*. Taking advantage of these valuable resources, we hope to establish non-human primate disease models.

Reliable etiologies or therapies for the majority of neurodegenerative diseases, psychiatric disorders, and developmental disorders remain to be elucidated, and appropriate animal models are an important part of addressing this knowledge gap. Many rodent-based animal models exist and have provided a lot of useful information. However, extrapolating the data from such models to understand human pathophysiology is not always precise enough due to the significant species differences between rodents and human. Non-human primate animal models are therefore needed to bridge the gap despite the associated technical challenges and ethical issues.

As a start, we are currently establishing stable monkey embryonic stem cells expressing disease-specific genes, and developing a lentiviral vector system for gene transfer into fertilized eggs of monkeys.



## Publication List (2008-2010)

Original research papers and review papers (English)

1. Mitsuishi Y, Hasegawa H, Matsuo A, Araki W, Suzuki T, Tagami S, Okochi M, Takeda M, Roepman R, Nishimura M: Human CRB2 inhibits gamma-secretase cleavage of amyloid precursor protein by binding to the presenilin complex. *J Biol Chem*, 285: 14920-14931, 2010
2. Zhao W, Beers DR, Henkel JS, Zhang W, Urushitani M, Julien JP, Appel SH. Extracellular mutant SOD1 induces microglial-mediated motoneuron injury. *Glia* , 58:231-243, 2010.
3. Yanagisawa D, Shirai N, Amatsubo T, Taguchi H, Hirao K, Urushitani M, Morikawa S, Inubushi T, Kato M, Kato F, Morino K, Kimura H, Nakano I, Yoshida C, Okada T, Sano M, Wada Y, Wada KN, Yamamoto A, Tooyama I: Realationship between the tautomeric structures of curcumin derivatives and their A $\beta$ -binding activities in the context of therapies for Alzheimer's disease. *Biomaterials* 31: 4179-4185, 2010.
4. Abdelalim EM, Tooyama I: NPR-C is expressed in the cholinergic and dopaminergic amacrine cells in the rat retina. *Peptides* 3: 180-183, 2010.
5. Hata S, Fujishige S, Araki Y, Kato N, Araseki M, Nishimura M, Hartmann D, Saftig P, Fahrenholz F, Taniguchi M, Urakami K, Akatsu H, Martins RN, Yamamoto K, Maeda M, Yamamoto T, Nakaya T, Gandy S, Suzuki T: Alcadein cleavages by APP  $\alpha$ - and  $\gamma$ -secretases generate small peptides p3-Alcs indicating Alzheimer disease-related  $\gamma$ -secretase dysfunction. *J Biol Chem* 284: 36024-36033, 2009.
6. Gros-Louis F, Andersen PM, Dupre N, Urushitani M, Dion P, Souchon F, D'Amour M, Camu W, Meininger V, Bouchard JP, Rouleau GA, Julien JP: Chromogranin B P413L variant as risk factor and modifier of disease onset for amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 106, 21777-21782, 2009.
7. Sato T, Takeuchi S, Saito A, Ding W, Matsuura H, Bamba H, Hisa Y, Tooyama I, Urushitani M: Axonal ligation induces transient nuclear exclusion of TDP-43 in brainstem motor neurons. *Neuroscience*, 164, 1565-1578, 2009.
8. Itoh N, Okochi M, Tagami S, Nishitomi K, Nakayama T, Yanagida K, Fukumori A, Jiang J, Mori K, Hosono M, Kikuchi J, Nakano Y, Takinami Y, Dohi K, Nishigaki A, Takemoto H, Minagawa K, Katoh T, Willem M, Haass C, Morihara T, Tanaka T, Kudo T, Hasegawa H, Nishimura M, Sakaguchi G, Kato A, Takeda M: Destruxin-E decreases A $\beta$  generation by reducing colocalization of BACE1 and  $\beta$ APP. *Neurodegenerative Dis*, in press, 230-239, 2009.
9. Urushitani M, Sato T, Bamba H, Hisa Y, Tooyama I: Synergistic effect between proteasome and autophagosome in the clearance of poly-ubiquitinated TDP-43. *J Neurosci Res*, 784-797, 2010
10. Oda K, Makino S, Masuda C, Yoshiki T, Kitamura Y, Takata K, Yanagisawa D, Taniguchi T, Tooyama I: The mRNA distribution of C7orf24, a gamma-glutamyl cyclotransferase, in rat tissues. *J. Histochem Cytochem*, 57: 1121-1126, 2009.
12. Amatsubo T, Morikawa S, Inubushi T, Urushitani M, Taguchi H, Shirai N, Hirao K, Kato M, Morino K, Kimura H, Nakano I, Yoshida C, Okada T, Sano M, Tooyama I: Trifluoromethoxy-benzylated ligands improve amyloid detection in the brain using (19)F magnetic resonance imaging. *Neuroscience Res*, 63 : 76-81, 2009.

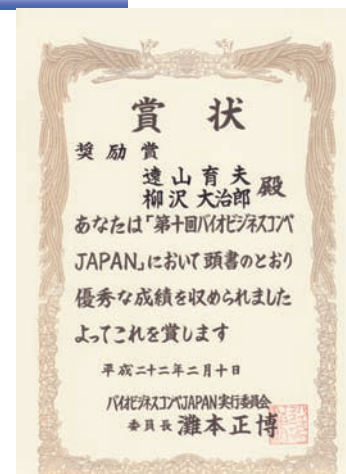
13. Abdelalim EM, Tooyama I: BNP signaling is crucial for embryonic stem cell proliferation. *PLoS ONE* 4(4):e5341, 2009.
14. An Li, Sato H, Konishi Y, Walker DG, Beach TG, Rogers J, Tooyama I: Expression and localization of lactotransferrin messenger RNA in the cortex of Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 452: 277-280, 2009.
15. Yanagida T, Tsushima J, Kitamura Y, Yanagisawa D, Takata T, Shibaie T, Yamamoto A, Taniguchi T, Yasui H, Taira T, Morikawa S, Inubushi T, Tooyama I, Ariga H: Oxidative stress induction of DJ-1 protein in reactive astrocytes scavenges free radicals and reduces cell injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2: 36-42, 2009.
16. Saito A, Sato T, Okano H, Toyoda K, Bamba H, Kimura S, Bellier JP, Matsuo A, Kimura H, Hisa Y, Tooyama I: Axotomy Alters Alternative Splicing of Choline Acetyltransferase in the Rat Dorsal Motor Nucleus of the Vagus Nerve. *J Comp Neurol* 513:237-248, 2009.
17. Hasegawa H, Nishimura M:  $\gamma$ -Secretase complex: core components and modulators. In "*Recent Advances in the Biology of Secretases, Key Proteases in Alzheimer Disease*", ed. Araki W. Research Signpost, p133-150, 2008.
18. Urushitani M, Ezzi SA, Matsuo A, Tooyama I, Julien JP: The endoplasmic reticulum-Golgi pathway is a major target for translocation and aggregation of mutant superoxide dismutase linked to ALS. *FASEB J* 22: 2476-2487, 2008.
19. Abdelalim EM, Masuda C, Bellier JP, Saito A, Yamamoto S, Mori N, Tooyama I: Distribution of natriuretic peptide receptor-C immunoreactivity in the rat brainstem and its relationship to cholinergic and catecholaminergic neurons. *Neuroscience* 155: 192-202, 2008.
20. Yanagisawa D, Kitamura Y, Inden M, Takata K, Taniguchi T, Morikawa S, Morita M, Inubushi T, Tooyama I, Taira T, Iguchi-Ariga SM, Akaike A, Ariga H: DJ-1 protects against neurodegeneration caused by focal cerebral ischemia and reperfusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.*28: 563-578, 2008.
21. Abdelalim EM, Masuda C, Tooyama I: Expression of Natriuretic Peptide-Activated Guanylate Cyclases by Cholinergic and Dopaminergic Amacrine Cells of the rat retina. *Peptides* 29: 622-628, 2008.
22. D'Este L, Kimura S, Casini A, Matsuo A, Bellier JP, Kimura H, Renda TG: First visualization of cholinergic cells and fibers by immunohistochemistry for choline acetyltransferase of the common type in the optic lobe and peduncle complex of octopus vulgaris. *J Comp Neurol.* 509: 566-579, 2008.
23. Yasuhara O, Aimi Y, Matsuo A, Kimura H: Distribution of a splice variant of choline acetyltransferase in the trigeminal ganglion and brainstem of the rat: comparison with calcitonin gene-related peptide and substance P. *J Comp Neurol.* 509: 436-438, 2008.

## 日本語総説ほか

1. 西村正樹.  $\gamma$ セクレターゼRIPの制御と機能. *脳* 21 (1): 39-45, 2010
2. 漆谷 真 : 筋萎縮性側索硬化症に対するワクチン・抗体療法の展望. *難病とケア* 15 (6): 35-39, 2009
3. 長谷川浩史, 西村正樹: アルツハイマー病研究の最新知見. *脳神経外科速報* 19 (7): 791-799, 2009.
4. 遠山育夫, 田口弘康, 雨坪知音, 森川茂廣: 動物モデルを使った高磁場MRIによる認知症診断の可能性. *Cognitive and Dementia* 8 (2): 121-125, 2009.
5. 漆谷 真 : 筋萎縮性側索硬化症. *モダンフィジシャン*, 28 (12): 1737-1744, 2008.
6. 漆谷 真 : ALSモデル動物の免疫療法と今後の展望. *Brain Nerve*, 60 (6): 643-651, 2008.
7. 山田友紀, 加藤智子, 佐藤晴久, 田口弘康, 遠山育夫: アストロサイトによるLow density lipoprotein-related protein(LRP)の発現とベータアミロイドペプチドの取り込み. *鳥取臨床科学* 1 (1): 138-142, 2008.
8. Yoshihiro Konishi, Haruhisa Sato, Keiko Harano, Teruo Harano, Ikuo Tooyama: Cytokine expression profiles in the brain of non-demented control patients with increasing Alzheimer's disease pathology, in comparison with normal control and Alzheimer's disease patients. *鳥取臨床科学* 1 (1): 152-167, 2008.
9. Hasegawa H, Nishimura M.  $\gamma$ -Secretase complex: core components and modulators. In "*Recent Advances in the Biology of Secretases, Key Proteases in Alzheimer Disease*", ed. Araki W. p133-150, 2008
10. 西村正樹, 長谷川浩史. 神経系とregulated intramembrane proteolysis. Regulated intramembrane proteolysisと $\gamma$ セクレターゼ. *Cognition and Dementia* 7 (1): 14-22, 2008
11. 西村正樹. アルツハイマー病の病理・病態 家族性アルツハイマー病の原因遺伝子 プレセニリン. 「*日本臨床増刊 アルツハイマー病*」平井俊策編、p144-149, 2008

## 学会賞など (2010年)

- 1) 第10回バイオビジネスコンペJAPAN奨励賞 遠山育夫(滋賀医科大学)・柳沢大治郎(JST)、バイオビジネスコンペJAPAN実行委員会(大阪府、大阪商工会議所ほかで構成)、ケト・エノール互変異性を利用したアルツハイマー病の新規診断薬、平成22年2月10日







## 研究経費（2010年）

分子神経科学研究センターが、2010年度（2010年6月30日現在）に得た競争的外部資金は以下のとおりである。

2010年度配分額（総額）

### A. 科学研究費(文部科学省)

- (1) 科学研究費 基盤研究(B): 2010-2013 (遠山) “19F-MRIによるアミロイドイメージング法の開発”  
5,330,000円 (14,730,000円)
- (2) 科学研究費 挑戦的萌芽研究: 2010-2011 (漆谷) “TDP-43分子の構造的ゆらぎに着目した筋委縮性側索硬化症の新たな病態探索”  
1,500,000円 (2,800,000円)
- (3) 科学研究費 基盤研究(B): 2008-2010 (木村) “ヒト末梢型コリン神経系の機能形態学的研究”  
1,170,000円 (11,570,000円)
- (4) 科学研究費 若手研究(B): 2010-2011 (J.P. Bellier) “CGH1阻害剤の鎮痛機序の検討”  
2,080,000円 (3,280,000円)
- (5) 科学研究費 若手研究(B): 2010-2011 (牧野) “遺伝性ジストニアDYT3の原因遺伝子N-TAF1に関する神経細胞特異的機能の解明”  
2,080,000円 (3,480,000円)
- (6) 科学研究費 特別研究員奨励費: 2009-2011 (遠山) “ES細胞におけるナトリウム利尿ペプチドの役割の解明”  
900,000円 (1,500,000円)
- (7) 科学研究費 基盤研究(A):2010-2012 (漆谷) “TDP-43過剰発現による弧発性ALSのサルモデル作成”  
1,000,000円 (3,000,000円)

### B. 厚生労働省

- (1) 難治性疾患克服費: 2008-2010 (漆谷) “筋委縮性側索硬化症の病態に基づく画期的治療法の開発”  
1,100,000円 (3,300,000円)

### C. 独立行政法人 日本科学技術振興機構 (JST)

- (1) 研究成果最適展開支援事業フイージビリティスタディ可能性発掘タイプシーズ顕在化: 2010 (遠山) “ウイルソン病治療薬の開発”  
4,095,000円 (7,995,000円)

### D. 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO)

- (1) 知的基盤事業:2008-2010 (遠山) “脳内金属イオン濃度測定方法の開発”  
5,303,000円 (17,759,000円)

### E. 独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター

- (1) 精神神経疾患研究開発事業:2010-2012 (漆谷) “難治性ニューロパチーの診断技術と治療法の開発に関する研究”  
700,000円 (2,100,000円)

## Grant (2010)

### A. Grant-in-Aid for Scientific Research (Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology)

2010 (TOTAL)

(1) Grant-in-Aid for Scientific Research (B): 2010-2013 (Tooyama) “Development of amyloid imaging based on 19F-MRI”

¥5,330,000 (¥14,730,000)

(2) Challenging Exploratory Research: 2010-2011 (Urushitani) “Exploration of the novel pathomechanism of ALS through the investigation of structural instability of TDP-43”

¥1,500,000 (¥2,800,000)

(3) Grant-in-Aid for Scientific Research (B): 2008-2010 (Kimura) “Functional morphology of the human peripheral cholinergic system”

¥1,170,000 (¥11,570,000)

(4) Grant-in-Aid for Young Scientists (B): 2010-2011 (J.P. Bellier) “Mechanism of analgesia by GCH1 inhibitor”

¥2,080,000 (¥3,280,000)

(5) Grant-in-Aid for Young Scientists (B): 2010-2011 (Makino) “Functional analysis of N-TAF1, the disease causative gene of X-linked recessive dystonia-parkinsonism”

¥2,080,000 (¥3,480,000)

(6) Specially Designated Research Promotion: 2009-2011 (Tooyama) “Elucidation of the role of natriuretic peptides in ES cells”

¥900,000 (¥1,500,000)

(7) Grant-in-Aid for Scientific Research (A):2010-2012 (Urushitani) “Development of a monkey model of sporadic ALS by overexpression of TDP-43”

¥1,000,000 (¥3,000,000)

### B. Ministry of Health, Labour and Welfare

(1) 2008-2010 (Urushitani) “Development of epoch-making therapies for ALS based on its pathogenesis”

¥1,100,000 (¥3,300,000)

### C. Japan Science and Technology Agency (JST)

(1) 2010 (Tooyama) “Drug development for Wilson's disease”

¥4,095,000 (¥7,995,000)

### D. New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO)

(1) 2008-2010 (Tooyama) “Development of method to measure metal ion concentration in the brain”

¥5,303,000 (¥17,759,000)

### E. National Center of Neurology and Psychiatry

(1) 2010-2012 (Urushitani) “Development of diagnostic techniques and treatments for intractableneuropathy”

¥700,000 (¥2,100,000)

## 分子神経科学研究センター国際シンポジウム

MNRCでは、2000年より神経科学研究と国際共同研究の更なる発展のため、分子神経科学研究センター・国際シンポジウムを開催している。

(1) 第1回国際シンポジウム 2000,10,2

タイトル: "Molecular Biology of Neurodegenerative Diseases"

Guest speakers: Dr. P. H. St George-Hyslop (University of Toronto, Canada)

Dr. S. Tsuji (Niigata University, Japan)

Dr. R. Takahashi (RIKEN Brain Science Institute, Japan)

Host speaker: I. Tooyama (MNRC)

(2) 第2回国際シンポジウム 2000,11,21

タイトル: "Recent Advances in Neuroscience"

Guest speakers: Dr. H. W. M. Steinbusch (University of Maastricht, Netherlands)

Dr. S. Mori (National Institute of Physiological Sciences, Japan)

Dr. J. I. Nagy (University of Manitoba, Canada)

Host speaker: H. Kimura (MNRC)

(3) 第3回国際シンポジウム 2001,10,9

タイトル: "Alzheimer's disease: towards the elucidation of the pathological process"

Guest speakers: Dr. K. Tanaka (Kyoto Pharmaceutical University, Japan)

Dr. T. Kawamata (Kobe University, Japan)

Dr. K. Duff (New York University, U.S.A.)

Host speaker: O. Yasuhara (MNRC)

(4) 第4回国際シンポジウム 2002,3,4

タイトル: "Cholinergic Mechanisms in the Enteric Nervous System"

Guest speakers: Dr. J. B Furness (University of Melbourne, Australia)

Dr. Y. Tache (University of California, U.S.A.)

Dr. A. Brehmer (University of Erlangen-Nürnberg, Germany)

Dr. T. Powley (Purdue University, U.S.A.)

Dr. R. Phillips (Purdue University, U.S.A.)

Host speaker: H. Kimura and others (MNRC)

(5) 第5回国際シンポジウム 2002,10,7

タイトル: "Mechanism of neuron survival and death"

Guest speakers: Dr. K. Nishi (Shiga University of Medical Science)

Dr. M. Yasuhara (Kyoto Prefectural University of Medicine)

Dr. W. Staines (University of Ottawa, Canada)

Dr. N. von Wurmb-Schwark (Kiel University, Germany)

Dr. M. Oehmichen (Lübeck University, Germany)

Host speaker: Petra Minnash (MNRC)

(6) 第6回国際シンポジウム 2002,11,15

タイトル: " Developments in MR-Guided Minimally Invasive Surgery "

Guest speakers: Dr. Y. Kurumi (Shiga University of Medical Science)

Dr. E. Kumamoto (Kobe University, Japan)

Dr. N. Hata (Tokyo University, Japan)

Dr. F.A. Jolesz (Harvard Medical School, USA)

Host speaker: S. Morikawa (MNRC)

## International Symposium

Since 2000, we have held annual international symposia aiming at contributing to the development in neuroscience research by further international collaborations.

- (1) The 1st MNRC international symposium: *scheduled on Oct 2, 2000*  
Title: "Molecular Biology of Neurodegenerative Diseases"  
Guest speakers: Dr. P. H. St George-Hyslop (University of Toronto, Canada)  
Dr. S. Tsuji (Niigata University, Japan)  
Dr. R. Takahashi (RIKEN Brain Science Institute, Japan)  
Host speaker: I. Tooyama (MNRC)
  
- (2) The 2nd MNRC international symposium: *scheduled on Nov 21, 2000*  
Title: "Recent Advances in Neuroscience"  
Guest speakers: Dr. H. W. M. Steinbusch (University of Maastricht, Netherlands)  
Dr. S. Mori (National Institute of Physiological Sciences, Japan)  
Dr. J. I. Nagy (University of Manitoba, Canada)  
Host speaker: H. Kimura (MNRC)
  
- (3) The 3rd MNRC international symposium: *scheduled on Oct 9, 2001*  
Title: "Alzheimer's disease: towards the elucidation of the pathological process"  
Guest speakers: Dr. K. Tanaka (Kyoto Pharmaceutical University, Japan)  
Dr. T. Kawamata (Kobe University, Japan)  
Dr. K. Duff (New York University, U.S.A.)  
Host speaker: O. Yasuhara (MNRC)
  
- (4) The 4th MNRC international symposium: *scheduled on Mar 4, 2002*  
Title: "Cholinergic Mechanisms in the Enteric Nervous System"  
Guest speakers: Dr. J. B. Furness (University of Melbourne, Australia)  
Dr. Y. Tache (University of California, U.S.A.)  
Dr. A. Brehmer (University of Erlangen-Nürnberg, Germany)  
Dr. T. Powley (Purdue University, U.S.A.)  
Dr. R. Phillips (Purdue University, U.S.A.)
  
- (5) The 5th MNRC international symposium: *scheduled on Oct 7, 2002*  
Title: "Mechanism of neuron survival and death"  
Guest speakers: Dr. K. Nishi (Shiga University of Medical Science)  
Dr. M. Yasuhara (Kyoto Prefectural University of Medicine)  
Dr. W. Staines (University of Ottawa, Canada)  
Dr. N. von Wurmb-Schwark (Kiel University, Germany)  
Dr. M. Oehmichen (Lübeck University, Germany)  
Host speaker: Petra Minnash (MNRC)
  
- (6) The 6th MNRC international symposium: *scheduled on Nov 15, 2002*  
Title: "Developments in MR-Guided Minimally Invasive Surgery"  
Guest speakers: Dr. Y. Kurumi (Shiga University of Medical Science)  
Dr. E. Kumamoto (Kobe University, Japan)  
Dr. N. Hata (Tokyo University, Japan)  
Dr. F.A. Jolesz (Harvard Medical School, USA)  
Host speaker: S. Morikawa (MNRC)



- (7) 第7回国際シンポジウム 2002,2,21  
タイトル: Prospect of MR Research in Biomedicine –New Dimensions of Clinical Tools”  
Guest speakers: Dr. R.E. Lenkinski (Harvard School of Medicine, USA)  
Dr. S. Cerdan (Instituto de Investigaciones Biomedicas, Spain)  
Dr. S.G. Hushek (Norton Hospital, USA)  
Dr. J. Murashita (Shiga University of Medical Science)  
Dr. M. Suzuki (Shiga University of Medical Science)  
Dr. Y. Nishida (Shiga University of Medical Science)  
Dr. Y. Kurumi (Shiga University of Medical Science)  
Dr. M. Seto (Shiga University of Medical Science)  
Host speakers: T. Inubushi (MNRC)  
S. Morikawa (MNRC)
- (8) 第8回国際シンポジウム 2003,9,14  
タイトル: Peptide and Protein Sciences in the Postgenomic Era”  
Guest speakers: Dr. PL. McGeer (University of British Columbia,, Canada)  
Dr. M. Kunimatsu (Nagoya University, Japan)  
Host speakers: A. Matsuo (MNRC)
- (9) 第9回国際シンポジウム 2004, 8, 24  
タイトル: “Neural Structure and Function”  
*“In Celebration of the 30<sup>th</sup> Anniversary of SUMS”*  
Guest speakers: Shinichi Nakagawa (RIKEN Kobe Institute, Japan)  
Dr. Kathleen Rockland (RIKEN Wako Institute, Japan)  
Dr. Uel J McMahan (Stanford University, USA)  
Dr. John Furness (University of Melbourne, Australia)  
Host speakers: Naoaki Saito (MNRC/Kobe University, Japan)  
A. Matsuo (MNRC)  
Mohamed Elnasharty (MNRC, Japan/Egypt)
- (10) 第10回国際シンポジウム 2006,12, 18  
タイトル: “Acetylcholine in the peripheral nervous system”  
Guest speakers: Dr. Gabriella Augusti-Tocco (University of Rome La Sapienza, Italy)  
Host speakers: H. Kimura (MNRC)
- (11) 第11回国際シンポジウム 2009,2,20  
タイトル:Neurodegenerative Disorders”  
Guest speakers: Dr. Gordon W Arbuthnott (Okinawa Institute of Science and Technology)  
Dr.Kheira Jolin-Dahel (University of Ottawa, Canada)  
Dr. Sarah Schock (University of Ottawa, Canada)  
Host speakers: M. Urushitani (MNRC)
- (12) 第12回国際シンポジウム 2009,6,24  
タイトル: Functional Analysis of Neural Network - from cell to the Brain”  
Guest speakers: Dr. William Staines (University of Ottawa, Canada)  
Host speakers: H. Kimura (MNRC)

(7) The 7th MNRC international symposium: *scheduled on Feb 21, 2002*  
Title: Prospect of MR Research in Biomedicine –New Dimensions of Clinical Tools”  
Guest speakers: Dr. R.E. Lenkinski (Harvard School of Medicine, USA)  
Dr. S. Cerdan (Instituto de Investigaciones Biomedicas, Spain)  
Dr. S.G. Hushek (Norton Hospital, USA)  
Dr. J. Murashita (Shiga University of Medical Science)  
Dr. M. Suzuki (Shiga University of Medical Science)  
Dr. Y. Nishida (Shiga University of Medical Science)  
Dr. Y. Kurumi (Shiga University of Medical Science)  
Dr. M. Seto (Shiga University of Medical Science)  
Host speakers: T. Inubushi (MNRC)  
S. Morikawa (MNRC)

(8) The 8th MNRC international symposium: *scheduled on Sep 14, 2003*  
Title: Peptide and Protein Sciences in the Postgenomic Era”  
Guest speakers: Dr. PL. McGeer (University of British Columbia, Canada)  
Dr. M. Kunimatsu (Nagoya University, Japan)  
Host speakers: A. Matsuo (MNRC)

(9) The 9th MNRC international symposium: *scheduled on Aug 24, 2004*  
Title: “Neural Structure and Function”  
*“In Celebration of the 30<sup>th</sup> Anniversary of SUMS”*  
Guest speakers: Shinichi Nakagawa (RIKEN Kobe Institute, Japan)  
Dr. Kathleen Rockland (RIKEN Wako Institute, Japan)  
Dr. Uel J McMahan (Stanford University, USA)  
Dr. John Furness (University of Melbourne, Australia)  
Host speakers: Naoaki Saito (MNRC/Kobe University, Japan)  
A. Matsuo (MNRC)  
Mohamed Elnasharty (MNRC, Japan/Egypt)

(10) The 10th MNRC international symposium: *scheduled on Dec 18, 2006*  
Title: “Acetylcholine in the peripheral nervous system”  
Guest speakers: Dr. Gabriella Augusti-Tocco (University of Rome La Sapienza, Italy)  
Host speakers: H. Kimura (MNRC)

(11) The 11th MNRC international symposium: *scheduled on Feb 20, 2009*  
Title: “Neurodegenerative Disorders”  
Guest speakers: Dr. Gordon W Arbuthnott (Okinawa Institute of Science and Technology)  
Dr. Kheira Jolin-Dahel (University of Ottawa, Canada)  
Dr. Sarah Schock (University of Ottawa, Canada)  
Host speakers: M. Urushitani (MNRC)

(12) The 12th MNRC international symposium: *scheduled on Jun 24, 2009*  
Title: “Functional Analysis of Neural Network - from cell to the Brain”  
Guest speakers: Dr. William Staines (University of Ottawa, Canada)  
Host speakers: H. Kimura (MNRC)

## 公開講座 / Public Lecture

本年度は、研究成果の社会還元や社会貢献にも力を入れることとし、6月26日に一般市民を対象とした教養講座「認知症と関連する脳の病気」を開催いたしました。

### 第9回滋賀医科大学 教養講座 「認知症と関連する脳の病気」

開催日 2010年6月26日 (June 26, 2010)  
時間 14:00～16:00  
会場 滋賀医科大学看護学科棟1階 看護第1講義室  
受講者数 110名

「認知症の種類と見分け方：認知症を疑ったら」

遠山 育夫 滋賀医科大学 分子神経科学研究センター 教授

「アルツハイマー病：脳に起こること、それを治すには」

西村 正樹 滋賀医科大学 分子神経科学研究センター 准教授

「難病ALSはここまでわかった～認知症研究のもたらした光明～」

漆谷 真 滋賀医科大学 分子神経科学研究センター 准教授





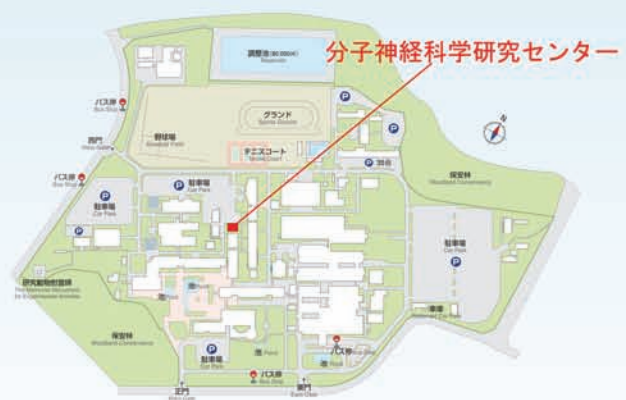
国立大学法人

神経難病研究推進機構

滋賀医科大学

分子神経科学研究センター

Molecular Neuroscience Research Center  
Shiga University of Medical Science



〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町

TEL 077-548-2330 FAX 077-548-2331

Seta-tsukiwa-Cho, Otsu, Japan, 520-2192

<http://ben.shiga-med.ac.jp/~hqmnran/>