

運動系神経変性研究チーム

Laboratory for Motor System Neurodegeneration

チームリーダー 高橋良輔
TAKAHASHI, Ryosuke

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) とパーキンソン病は、それぞれ運動ニューロンと中脳黒質ニューロンが選択的に変性・死滅することによって重篤な運動機能障害が引き起こされる神経変性疾患である。ALS もパーキンソン病も大多数は孤発性であるが、両疾患とも一部に遺伝性のタイプがある。我々はまず、遺伝性の ALS およびパーキンソン病責任遺伝子の変異や欠損が系特異的に神経変性を誘発するメカニズムを明らかにする。さらにその成果を突破口として、全く謎に包まれている孤発性 ALS およびパーキンソン病の病因解明を目指す。

1. 家族性 ALS の責任遺伝子、変異 SOD1 による運動ニューロン変性メカニズムの解明 (館野, 井上 (治), 金, 栗栖, 飯田, 高橋)

ALS の 5~10% は家族性に発症し、そのうちの約 20% の常染色体優性遺伝の家系が Cu,Zn-superoxide dismutase (SOD1) の変異を原因とする。SOD1 は非神経組織を含め、ubiquitous に発現しているが、疾患において変性するのは運動ニューロン系を中心とした一部の神経系のみである。これまで同定された 100 種類以上の変異がほとんど点変異であり、タンパクを欠損する例はない。さらに酵素活性がほぼ正常な変異ヒト SOD1 のトランスジェニックマウスで ALS 類似の症状と病理所見を呈することから、変異によって酵素の機能低下でなく SOD1 に新たに細胞毒性が付与される (gain of toxic function) ことが運動ニューロン変性の原因になると考えられている。しかしその毒性のメカニズムは、病因遺伝子の発見から 10 年以上を経た現在も未解明である。

(1) 不飽和脂肪酸による変異 superoxide dismutase 1 の凝集機構

家族性筋萎縮性側索硬化症における凝集体の形成は、SOD1 の変異による立体構造の異常が原因として推測されるが、そのメカニズムは明らかではない。コンフォメーション異常のタンパク質の凝集には他のタンパク質、脂質、金属イオン、ラジカルなどの分子が凝集を促進或いは抑制するなど、深い関わりが報告されている。我々は、異常タンパク質の凝集を制御する分子として、遊離脂肪酸に着目し、変異 SOD1 の凝集における不飽和脂肪酸の効果を試験管内で検討した。ヒト SOD1 およびその変異体は大腸菌で発現させ組換えタンパク質として精製した。SOD1 は銅と亜鉛を含む含金属酵素であり、精製した SOD1 は試験管内で金属イオンを結合させ、holo 酵素として使用した。金属イオンを含んでいない apo 酵素は SOD1 を酸性溶液に透析し得た。凝集体は SOD1 タンパク質を 37°C で一定時間保温し得た。凝集程度は非還元状 SDS-PAGE, グリセロール密度勾配遠心法, 電子顕微鏡による検鏡などで測定した。凝集体の細胞毒性は分化させた neuro2a 細胞に凝集体を加え、18 時間培養後、MTS 還元, trypan blue 染色で評価した SOD1 にアラキドン酸を加え 37°C で 90 分間反応させ、野生 SOD1 と変異 SOD1 の凝集を比較した結果、holo 酵素に

おいては凝集体が観察されなかったが、apo 酵素は変異と関係なく凝集した。アラキドン酸を加えてないコントロールにおいて、凝集体は見られなかった。apo-SOD1 の凝集はアラキドン酸の濃度に大きく依存した。また、アラキドン酸だけではなく、オレイン酸、リノレン酸も同様の凝集促進効果がみられたが、飽和脂肪酸であるステアリン酸は効果が見られなかった。アラキドン酸による apo-SOD1 の凝集をグリセロール密度勾配遠心法により確認したところ、およそ 80% 程度の SOD1 が 400 kDa 以上の凝集体を形成した。一方、SOD1 の凝集は変異と関係なく、主に apo 酵素において見られる事から、変異が凝集の直接的な原因ではなく、変異によるコンフォメーションの不安定性が凝集に影響すると考えた。holo 酵素を熱処理した後、不飽和脂肪酸により凝集を誘導した結果、変異 SOD1 は著しく凝集したが、野生 SOD1 は変化がなかった。SOD1 と不飽和脂肪酸との結合を解析した結果、apo-SOD1 および熱処理した変異 SOD1 はオレイン酸と結合したが、holo の野生 SOD1 は結合しなかった。これらの結果から、SOD1 の凝集と不飽和脂肪酸結合はタンパク質分子のコンフォメーションと相関すると考えられた。不飽和脂肪酸による apo-SOD1 の凝集体を電子顕微鏡で観察した結果、粒子状の塊であった。neuro2a 細胞を用いた細胞毒性の実験結果、粒子状凝集体を加えた細胞から著しい細胞死が観察された。Superoxide dismutase 1 (SOD1) の遺伝子変異が原因である家族性筋萎縮性側索硬化症は、運動ニューロンおよびアストロサイトにおいて凝集体が観察されるなど、コンフォメーション病としての特徴を持つ。細胞内の変異 SOD1 の半減期は野生型にくらべ短く、プロテアソームにより分解されると知られており、プロテアソーム活性を抑制すると、変異 SOD1 の凝集体が観察される。これらのことから、病態における凝集形成はコンフォメーション異常の変異 SOD1 がシャペロンやプロテアソームなどのタンパク質品質管理システムの処理能力を上回る結果であり、凝集体形成を促進する物質の関与が推測される。本研究の結果が示す、変異 SOD1 の凝集における不飽和脂肪酸の凝集促進効果および凝集体の細胞毒性は、家族性筋萎縮性側索硬化症の病理機序に不飽和脂肪酸の関与する可能性を提示すると考えられる。

(2) 変異 SOD1 の細胞内局在に関する研究

ALS のモデルとなる変異 SOD1 トランスジェニック (Tg)

マウスの脊髄のウェスタンブロットでは発症前から高分子量にシフトした変異 SOD1 のオリゴマーが観察される。これは年齢とともに量が増え、また、不溶化する傾向にある。この変異 SOD1 オリゴマーの細胞内局在を観察すると、発病前後の時期にはすべての分画に出現するようになるが、初期にはまず細胞骨格とミトコンドリアの分画に出現する。また変異 SOD1 マウスの脊髄前角の灰白質と前索の白質とを比較すると、白質に多量の変異 SOD1 オリゴマーが存在することが分かった。これらの結果は変異 SOD1 オリゴマーが運動ニューロンの軸索およびミトコンドリアに蓄積することで毒性を発揮することを示唆している。

2. 常染色体劣性若年性パーキンソニズム (ARJP) の責任遺伝子, Parkin の機能解析 (今居*, 井上(治), 森脇, 井上(真), 片岡, 後藤, 高橋)

常染色体劣性若年性パーキンソニズム (autosomal recessive juvenile parkinsonism: ARJP) は DOPA 反応性のパーキンソニズム、症状の日内変動、下肢のジストニアなどの臨床症状を呈し、病理学的には黒質・青斑核の選択的変性、レビー小体の非形成を特徴とする。1998年、順天堂大学・水野美邦教授、慶応大学・清水信義教授らの共同研究グループにより、APJP の責任遺伝子 Parkin がクローニングされた。Parkin は N 末端にユビキチン様のモチーフ、C 末端に RING-IBR-RING モチーフを有する特徴的な構造のタンパク質であり、SOD1 と同様 ubiquitous に発現している。我々は Parkin が RING 型ユビキチンリガーゼであることを見だし、その基質としてパエル受容体 (Pael-R) を同定した。Pael-R を細胞で過剰発現させると、ミスフォールド化し、不溶性となる。不溶性の Pael-R は小胞体に蓄積して、小胞体ストレスによって細胞死を引き起こす。Parkin はミスフォールド化 Pael-R を選択的にユビキチン化し、その分解を促進して、Pael-R による細胞死を抑制する。さらに不溶性 Pael-R は AR-JP 患者剖検脳でも蓄積が認められた。

(1) Pael-R の生理的役割の解明

Pael-R の生理的役割を解明するため、遺伝子の第一エキソンを欠失した Pael-R ノックアウトマウスを作製した。Pael-R ノックアウトマウスは一見異常はみられなかったが、線条体のドーパミン量は 40% 減少していた。また行動学的解析からは活動性の低下が認められた。さらに Pael-R ノックアウトマウスはドーパミン毒である MPTP に対して抵抗性になっていた。以上より Pael-R にドーパミンの量を増加させる作用があることが示唆された。

(2) AR-JP モデルマウスの作製・解析

AR-JP の動物モデルは本疾患の病態解析、治療法開発を行う上で必須である。我々は、AR-JP モデル動物作製のため、プリオンプロモーターでニューロン特異的に Pael-R を発現するトランスジェニックマウス (Pael-R Tg マウス) を作製した。Pael-R Tg マウスでは線条体での黒質ドーパミン量がノックアウトマウスとは逆に増加傾向にあった。また 1 年齢の Pael-R Tg マウスではドーパミンニューロンがコントロールより 15% 減少することが判明し、Pael-R Tg マウスが AR-JP モデルになる可能性が示唆された。

3. アポトーシス阻害タンパク (IAP) の作用メカニズム・生理的役割の解明 (鈴木*, 栗栖, 高橋)

アポトーシス阻害タンパクは昆虫からヒトまでよくその構造と機能が保存されている分子である。IAP 分子は N 末端に IAP を特徴づける約 70 アミノ酸からなる Baculovirus IAP repeat (BIR) モチーフを 1~3 個、C 末端に RING finger モチーフを有する (RING finger は持たないものもある)。また多くの IAP 分子は培養細胞で強制発現させるとさまざまな刺激によるアポトーシスを抑制する。現在ヒトでは 7 種類の IAP 分子が知られているが、そのうち、NAIP は脊髄性筋萎縮症 (SMA) の責任遺伝子 SMN の近傍にマップされ、SMN と同時に NAIP が欠損すると、症状が重症化することが知られる。この事実は IAP が運動ニューロンの生存維持に重要な役割を果たしていることを示唆し、興味深い。我々は既知のヒト IAP 分子の中で最も強い抗アポトーシス効果を有する XIAP がアポトーシスの実行分子、カスパーゼの阻害因子であることを明らかにした。また XIAP がカスパーゼ-3 の RING 型ユビキチンリガーゼであり、その活性が XIAP の細胞死抑制機能を高めていることを明らかにした。さらに我々は新たな IAP の阻害因子として、ミトコンドリア由来のセリンプロテアーゼ HtrA2/Omi を同定した。この二年間ほどは XIAP の制御因子として重要と考えられる HtrA2 の解析に焦点を移して研究を進めている。

(1) HtrA2 の基質の分子クローニング

発現クローニングにより、*in vitro* で HtrA2 によって切断されるいくつかの基質候補分子を単離した。そのうち、RNA 結合モチーフを持つ RAIN という遺伝子に焦点を絞って研究を行っている。RAIN は構造上、ショウジョウバエからヒトまで保存されている遺伝子である。我々は RAIN が過剰発現によって DNA 損傷による細胞死を防御することを見いだした。このことより、RAIN の分解が HtrA2 による細胞死誘導能のメカニズムの 1 つであることが示唆された。

* 基礎科学特別研究員

Our main research goal is to better understand the molecular mechanisms underlying these two devastating diseases, familial ALS or familial PD, an understanding which should eventually lead to the development of innovative therapies. Although these diseases are relatively rare, they provide invaluable insights into the molecular mechanism of neurodegeneration. Our current research is focused on the functional analysis of superoxide dismutase 1 (SOD1) and Parkin, which are the genes responsible for familial autosomal dominant ALS and autosomal recessive juvenile parkinsonism (AR-JP), respectively. Another important research topic for our laboratory is the molecular mechanism of neuronal apoptosis. We are exploring the involvement of apoptosis in neurodegeneration and examining the possibility of whether cell death inhibitors are applicable to the therapy of neurodegenerative diseases.

1. Molecular Mechanisms of Selective Motor Neuronal Death in Familial ALS

Approximately 5-10% of ALS cases are familial and usually autosomal dominantly inherited. More than 100 kinds of mutations (mostly missense mutations) in Cu/Zn superoxide dismutase-1 (SOD1) have been identified in about 20% of patients with familial autosomal dominant

ALS (FALS). Mutant SOD1 induces motor neuron death as a result of the gain of a new adverse function, not the loss of enzymatic activity. We are in the process of identifying pharmacological and genetic manipulations that affect mutant SOD1-related toxicity in cellular and in vivo models of ALS in an effort to uncover the molecular mechanisms underlying selective motor neuronal degeneration.

(1) The role of calcium permeable AMPA receptors in selective motor neuronal degeneration in the ALS mouse model

Misfolding and subsequent aggregation of mutant SOD1 proteins have been suggested to be responsible for selective death of spinal motoneurons in SOD1-related familial amyotrophic lateral sclerosis (ALS), although the factors mediating such conversion are almost unknown. Focusing on motoneuron-specific expression of Ca²⁺-permeable (GluR2 subunit-lacking) α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA)-type glutamate receptors, we generated *chat-GluR2* transgenic mice with significantly reduced Ca²⁺-permeability of the receptors. Crossbreeding of the *hSOD1*^{G93A} transgenic mouse model of ALS with *chat-GluR2* mice led to markedly delayed disease onset (by 19.3%) and mortality (by 14.3%), with concomitantly delayed release of cytochrome c from mitochondria, induction of *cox2*, and conversion of SOD1 proteins into abnormal forms in cytoplasm and mitochondria. Moreover, levels of protein oxidation, which causes conformational changes to SOD1 *in vitro*, were reduced in double transgenic mice. These results indicate that Ca²⁺-influx through atypical AMPA receptors thus promotes misfolding of mutant SOD1 protein, probably by enhancing cellular oxidative stress, contributing to selective motoneuron degeneration in ALS (Tateno, et al., Hum. Mol. Genet., 2004).

(2) The role of unsaturated fatty acid in the promotion of mutant SOD1 aggregate formation

Superoxide dismutase 1 (SOD1) immunoreactive aggregates have been found in the spinal cord of ALS animal models and patients, implicating that SOD1 aggregates are closely involved in ALS pathogenesis. We examined the molecular mechanism of fibril formation of ALS-related SOD1 mutants. We found that long-chain unsaturated fatty acids (FA) induced fibril formation of SOD1 mutants in both a dose- and time-dependent manner. Metal-deficient, apo-SOD1 was highly oligomerized compared to holo-SOD1 by incubation in the presence of unsaturated FAs. High molecular weight aggregates of SOD1 have protofibrillar morphology and were observed by transmission electron microscopy. These fibrils have an amyloid-like structure that was characterized by binding Congo red, amyloid-binding dye. SOD1 oligomerization is closely associated with their structural instability. Heat-treated holo-SOD1 mutants were readily oligomerized by the addition of FAs, while the wild type was not. Mono-unsaturated FA, oleic acid, directly bound to SOD1 was characterized by solid-phase FA-binding assay using oleate-sepharose. The FA-binding characteristics were closely correlated with oligomerization propensity of SOD1 proteins, which indicate FA-binding may change SOD1 conformation to easily form fibrils. These findings suggest SOD1 mutants gain FA-binding abilities dependent on their structural instability and form amyloid-like fibrils (Kim, et al., J. Biol. Chem, 2005)

2. Functional analysis of parkin, the gene responsible for autosomal recessive juvenile Parkinsonism (AR-JP)

Autosomal recessive juvenile parkinsonism (AR-JP) is a distinct clinical entity characterized by typical parkinsonism, dystonia and superb dopa responsiveness. Neuropathological hallmarks are selective degeneration of the pigmented neurons in the substantia nigra (SN) and locus ceruleus without Lewy body formation. In 1998, a Japanese collaborative research group led by Dr. Yoshikuni Mizuno (Juntendo University) and Dr. Nobuyoshi Shimizu (Keio University) identified a novel parkin gene as a causative gene for AR-JP. Parkin protein is an ubiquitously expressed 465 amino-acid protein with an ubiquitin-homology domain at its NH₂-terminus and a RING finger-like motif near its COOH-terminus. We have shown that Parkin is a RING-type E3 ubiquitin ligase and identified misfolded Pael receptor (Pael-R) as its substrate. When overexpressed in cells, Pael-R tends to become misfolded, insoluble, and ubiquitinated. The insoluble Pael receptor leads to ER stress-induced cell death. Parkin specifically promotes ubiquitination and subsequent degradation of misfolded Pael-R, resulting in suppression of the cell death induced by the accumulation of misfolded Pael-R in the ER. Moreover, the insoluble form of Pael-R accumulates in the brains of AR-JP patients. We are investigating the pathological and physiological roles of Pael-R using cellular and animal model systems

(1) Analysis of Parkin-KO mouse and Pael-R transgenic as murine models for AR-JP

We have generated and analyzed Pael-R-deficient (KO) and Pael-R-transgenic (Tg) mice. The striatal dopamine (DA) level of Pael-R KO mice was only 60% of that in normal mice, while in Pael-R Tg mice, striatal DOPAC as well as vesicular DA content increased. Moreover, the vulnerability of the nigrostriatal dopaminergic neurons to Parkinson's disease-related neurotoxins was well correlated with the levels of Pael-R expression. These results strongly suggest that the Pael-R signal regulates the amount of DA in the dopaminergic neurons and that excessive Pael-R expression renders dopaminergic neurons susceptible to chronic DA toxicity (Imai, et al., submitted).

3. Elucidation of the mechanisms of action of XIAP and its inhibitor, Omi/HtrA2

The inhibitor of apoptosis (IAP) family of proteins has an evolutionarily conserved role in regulating programmed cell death in animals ranging from insects to humans. Most of the IAPs of various species have been shown to block apoptosis when overexpressed in cultured cells and all contain at least one baculovirus IAP repeat (BIR) domain. We have shown that X-linked IAP (XIAP), c-IAP1 and c-IAP2 are direct inhibitors of active 3, 7 and 9, which play critical roles in the execution of apoptosis. A structure-function analysis of XIAP revealed that BIR2 is the minimal essential domain of XIAP required for inhibition of caspase-3 and -7, whereas BIR3 and its surrounding sequences are responsible for caspase-9 inhibition. We found that caspase-3 and caspase-7 were inhibited by XIAP in distinct modes. On the other hand, IAPs with strong apoptotic-inhibitory activities including XIAP, c-IAP1 and c-IAP2 carry RING-finger motif at their COOH-termini. We have shown that XIAP is an E3 ubiquitin ligase for caspase-3 *in vivo* and the E3 activity contributes to anti-apoptotic activity of XIAP. Moreover, we have identified HtrA2/Omi serine protease as an inhibitor of IAPs.

(1) Molecular cloning of the substrates of HtrA2

Using expression cloning, we have isolated several candidate molecules that are cleaved by HtrA2 *in vitro*. Among these candidate molecules, we are focusing on

a newly identified prosurvival protein with RNA binding motifs. We named this protein AMOR (Apoptosis Modulator with RNA binding motifs). AMOR specifically suppresses DNA damage-induced cell death and RNAi-mediated knockdown of AMOR leads to pro-cell death propensities. HtrA2-induced cell death could at least partially be mediated by cleavage and inactivation of AMOR (Suzuki, et al. in preparation)

Staff

Laboratory Head

Dr. Ryosuke TAKAHASHI

Research Scientists

Dr. Haruhisa INOUE
Dr. Yeon-Jeong KIM
Dr. Yasuhiro MORIWAKI
Dr. Yasuyuki SUZUKI
Dr. Minako TATENO
Dr. Hua-Qin WANG

Technical Staff I

Ms. Tomomi GOTO
Ms. Sachiko IITA
Ms. Ayane KATAOKA
Ms. Junko KURISU
Ms. Mariko INOUE
Ms. Kyoko TSUKITA

Assistants

Ms. Chikako MAKINAE

Special Postdoctoral Researchers

Dr. Yasuyuki SUZUKI
Dr. Yuzuru IMAI

RIKEN/BSI Collaborators

Dr. Nobuyuki NUKINA (Lab. Struct. Neuropathol., BSI)
Dr. Shigeyoshi ITOHARA (Lab. Behav. Genet., BSI)
Dr. Akihiko TAKASHIMA (Lab. Alzheimers Dis., BSI)
Dr. Tsutomu HASHIKAWA (Lab. Neural Archit., BSI)

Outside Collaborators

Dr. Tohru KODAMA (Tokyo Metrop. Inst. Neurosci.)
Dr. Toshihiko AOSAKI (Tokyo Metrop. Inst. Gerontol.)
Dr. Shosuke ITO (Fujita Health Univ.)
Dr. Kazumasa WAKAMATSU (Fujita Health Univ.)

Visiting Scientists

Dr. Akihiro KAWATA (Tokyo Metro. Neurol. Hosp.)
Dr. Hidemi MISAWA (Tokyo Metro. Inst. Neurosci.)
Dr. Yukio MIYAZAKI (Tokyo Metro. Neurol. Hosp.)

Dr. Takanori YOKOTA (Tokyo Med. Den. Univ.)
Dr. Tatsuya KISHINO (Nagasaki Univ.)
Dr. Masaki NISHIMURA (Shiga Univ. Med. Sci.)
Dr. Yasuhiro MORIWAKI (JSPS)
Dr. Yuzuru IMAI (Stanford Univ., USA)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Tateno M., Sadakata H., Tanaka M., Itohara S., Shin R., Miura M., Masuda M., Aosaki T., Urushitani M., Misawa H., and Takahashi R.: "Calcium-permeable AMPA receptors promote misfolding of mutant SOD1 protein and development of amyotrophic lateral sclerosis in a transgenic mouse model", *Hum. Mol. Genet.* **13**, 2183–2196 (2004). *

Vyas S., Juin P., Hancock D., Suzuki Y., Takahashi R., Triller A., and Evan G.: "Differentiation-dependent sensitivity to apoptogenic factors in PC12 cells", *J. Biol. Chem.* **279**, 30983–30993 (2004). *

Urushitani M., Kurisu J., Tateno M., Hatakeyama S., Nakayama K., Kato S., and Takahashi R.: "CHIP promotes proteasomal degradation of familial ALS-linked mutant SOD1 by ubiquitinating Hsp/Hsc70", *J. Neurochem.* **90**, 231–244 (2004). *

Hatakeyama S., Matsumoto M., Kamura T., Murayama M., Chui D., Planel E., Takahashi R., Nakayama K. I., and Takashima A.: "U-box protein carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein (CHIP) mediates polyubiquitylation preferentially on four-repeat Tau and is involved in neurodegeneration of tauopathy", *J. Neurochem.* **91**, 299–307 (2004). *

Yamamoto A., Friedlein A., Imai Y., Takahashi R., Kahle P. J., and Haass C.: "Parkin phosphorylation and modulation of its E3 ubiquitin ligase activity", *J. Biol. Chem.* **280**, 3390–3399 (2005). *

(総説)

Imai Y. and Takahashi R.: "How do Pakin mutation result in neurodegeneration?", *Curr. Opin. Neurobiol.* **14**, 384–389 (2004).

高橋良輔: "小胞体ストレスによる神経変性の分子機構: AR-JP のメカニズム", *日薬理誌* **124**, 375–382 (2004).

(その他)

高橋良輔: "パーキンと小胞体ストレス", *Biotherapy* **18**, 127–133 (2004).

高橋良輔: "パーキンソン病の病因究明最前線", *PD Today*, No. 3, pp. 3–11 (2004).

森脇康博, 高橋良輔: "パーキンソン病と小胞体ストレス", *現代医療* **36**, 915–920 (2004).

口 頭 発 表 Oral Presentations

(国際会議等)

Takahashi R.: "The role of misfolded Pael receptor in autosomal recessive juvenile parkinsonism (AR-JP)", 61st

- Ann. Meet. 2004: From Molecules To Systems, Seoul, Korea, May (2004).
- Takahashi R.: “The role of misfolded Pael receptor in Parkinson’s disease”, 2004 FASEB Summer Research Conf. on Protein Misfolding, Amyloid and Conformational Disease, Snowmass, USA, June (2004).
- Takahashi R.: “Familial Parkinson’s disease and ER stress: The pathogenetic mechanisms underlying autosomal recessive juvenile parkinsonism”, 2nd Singapore Int. Neuroscience Conf. on Mechanism, Models & Medicine, (National Neuroscience Institute and National University of Singapore), Singapore, Singapore, July (2004).
- Bezard E. and Takahashi R.: “Strategies for research in PD: where we stand where we should go?”, 9th Int. Symp. on the Treatment of Parkinson’s Disease, Kobe, Sept. (2004).
- Takahashi R.: “How do Parkin mutations cause dopaminergic neurodegeneration?”, 2nd Int. Workshop “Frontiers in Molecular Neuropathology”, (RIKEN BSI Molecular Neuropathology Group), Tokyo, Sept.–Oct. (2004).
- Takahashi R.: “The role of Pael-R/GPR37 on the life and death of dopaminergic neurons”, The Parkinson’s Institute: Special Seminar, Sunnyvale, USA, Oct. (2004).
- Takahashi R.: “How do mutations in the Parkin gene lead to neurodegeneration?”, Int. Symp. on Cell Death, Cell Cycling, Cell Senescence, (MEXT), Kisarazu, Nov. (2004).
- Takahashi R.: “Parkin associated endothelin receptor-like (Pael) receptor is involved in dopamine metabolism of the nigrostriatal system”, 1st Int. Symp. on Dopaminergic and Nondopaminergic Mechanisms in Parkinson’s Disease (ISDNMPD), Osaka, Dec. (2004).
- (国内会議)
- 高橋良輔: “家族性パーキンソン病の分子機構”, 東京医科歯科大学特別講義, 東京, 3月 (2004).
- 高橋良輔: “ALSにおける運動ニューロン選択的細胞死: 変異 SOD1 モデルからわかったこと”, 先端脳・BSI 病因遺伝子研究グループ合同ワークショップ「脳疾患の病態研究と治療法開発の方向性」, (理研 BSI), 和光, 4月 (2004).
- 高橋良輔, 井上治久, 長尾雅裕, 川田明弘: “カスパーゼ-9 は ALS モデルマウスの症状進行に寄与する”, 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 5月 (2004).
- 高橋良輔: “神経変性疾患のメカニズムを理解する”, 東京医科歯科大学大学院高次生体機能制御学特論講義, 東京, 5月 (2004).
- 高橋良輔: “神経変性疾患のメカニズムを理解する 2”, 東京医科歯科大学大学院高次生体機能制御学特論講義, 東京, 5月 (2004).
- 今居譲: “パーキン蛋白質とパーキンソン病の発症メカニズム”, 第 46 回日本老年医学会学術集会・総会, 幕張, 6月 (2004).
- 高橋良輔: “神経変性疾患とアポトーシス”, 第 13 回日本アポトーシス研究会学術集会, 名古屋, 7月 (2004).
- 今居譲: “パーキン蛋白質とパーキンソン病の発症メカニズム”, 第 69 回血栓止血研究会, (国立循環器病センター研究所), 吹田, 7月 (2004).
- 高橋良輔: “ミスフォールド蛋白質とパーキンソン病”, 千里ライフサイエンスセミナー「タンパク質のクオリティコントロールとその破綻」, (千里ライフサイエンス振興財団), 豊中, 9月 (2004).
- 高橋良輔, 今居譲, 井上治久, 片岡礼音, 池田敏男, 月田香代子, 祖田真理子, 児玉亨, 不破達, 本多芳子, 若松一雅, 伊藤祥輔, 糸原重美: “The role of Parkin-associated endothelin receptor-like (Pael) dopamine metabolism of the nigrostriatal system”, 第 23 回日本痴呆学会学術集会, 東京, 9月 (2004).
- 高橋良輔: “変異 SOD1 による運動ニューロン変性のメカニズム”, 平成 16 年度生理学研究所研究会「細胞死の新たな生理機能とそのシグナル伝達」, 岡崎, 11月 (2004).
- 今居譲, 井上治久, 片岡礼音, 増田正雄, 池田敏男, 祖田真理子, 児玉亨, 不破達, 本多芳子, 若松一雅, 伊藤祥輔, 三浦正巳, 青崎俊彦, 糸原重美, 高橋良輔: “Pael receptor is involved in dopamine metabolism of the nigrostriatal system”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月 (2004).
- 山本文子, Friedlein A., 今居譲, 高橋良輔, Philipp K., Haass C.: “Parkin phosphorylation and modulation of its E3 ubiquitin ligase activity”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月 (2004).
- 鈴木泰行, 栗栖純子, 高橋良輔: “ミトコンドリアプロテアーゼ Omi/HtrA2 の基質タンパク質の探索と解析”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月 (2004).
- 高橋良輔: “パーキンソン病の原因はミスフォールドタンパク質の蓄積か?: AR-JP を中心に”, 第 28 回広島神経医科学研究会, 広島, 12月 (2004).
- 高橋良輔: “家族性パーキンソン病の分子機構”, 第 28 回大阪神経懇話会, 京都, 12月 (2004).
- 高橋良輔: “家族性パーキンソン病の分子機構: パーキン遺伝子の変異と神経変性”, 東京理科大学ゲノム創薬研究センター公開シンポジウム「ゲノム創薬のフロンティアを探る」, 野田, 12月 (2004).