

東京大学大学院医学系研究科 教授

金澤 一郎

「ヒト脳の単一神経細胞の発現遺伝子」

## 1. 研究実施の概要

目的：ヒト脳の単一神経細胞で発現している遺伝子は、細胞ごとに異なっていると考えられる。そこで脳機能と直接結びついているイオンチャンネルの遺伝子を系統的・網羅的に調べてカタログを作成した上で、単一神経細胞レベルでこれを調べることを一つの目的とする。すなわち神経細胞の「個性」の解明である。さらに、神経細胞の病態を明らかにするためにCAGリピート病あるいはパーキンソン病を対象として単一神経細胞レベルでの病態を明らかにすることを第二の目的とする。すなわち神経細胞の「運命」の解明である。

方法：単一神経細胞のレーザーによるダイセクション法を開発する。さらに微量のサンプルによる超微量 RT-PCR 法を開発する。また、共通塩基配列あるいは EST を利用して  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Cl}^-$  の各イオンチャンネルについて、新しいチャンネルの発見を目指す。さらに、これらのヒト脳のカタログを作成し、発現量を定量する。最後に単一神経細胞での発現パターンを調べる。一方、CAGリピート病については、ハンチントン病や DRPLA を対象として単一神経細胞レベルでの異常遺伝子の発現を調べて細胞脱落の選択性のメカニズムを検討する。また核内封入体の病態への関与についても検討する。

結果：

### 1. 技術的開発研究

- 1) 単一神経細胞を切り出すためのレーザーダイセクターを開発した。
- 2) 単一神経細胞から採取した微量のサンプルに含まれる mRNA を増幅する超微量 RT-PCR 法を開発した。

### 2. イオンチャンネルに関する研究

- 1) ヒト脳から新規のナトリウムイオンチャンネル サブユニット(SCN12A)を発見した。この遺伝子はテトロドトキシン非感受性 サブユニットであった。
- 2) ヒト脳に発現するナトリウムイオンチャンネル サブユニットのカタログを作成し定量したところ、部位によって発現している主たる サブユニットの種類が異なっていた。特に、大脳皮質では SCN1A ~ SCN3A が、小脳皮質では SCN2A が主たる サブユニットであった。
- 3) ヒト脳の単一神経細胞でのナトリウムイオンチャンネル サブユニットの発現を調べたところ、小脳プルキンエ細胞は4種類、黒質細胞は7種類、脊髄神経節細胞の内の小細胞は3種類など、細胞ごとに個性があることが世界で初めて明らかになった。
- 4) カルシウムイオンチャンネル サブユニットは筋肉だけでなく、大脳皮質や大脳基底核にも少量ながら発現していることを発見した。

### 3. CAGリピート病に関する研究

- 1) CAG リピート病の一つである DRPLA 脳に著しい体細胞モザイクを発見した。
- 2) DRPLA 小脳で単一神経細胞レベルの CAG リピート数を調べたところ、同じ神経細胞

でありながら小脳プルキンエ細胞と小脳顆粒細胞とで体細胞モザイクの程度が著しく異なることを発見した。

- 3) CAG リピート病であるハンチントン病で最も脱落の激しい線条体小細胞と、ほとんど脱落がない小脳プルキンエ細胞とで、正常リピートアレルと異常伸長アレルをそれぞれ単一神経細胞レベルで発現量を比較したところ、線条体小細胞では異常伸長アレルの発現量がプルキンエ細胞の場合よりもわずかながら多く、細胞変性の選択性を説明できる結果であった。
  - 4) ハンチントン病の異常遺伝子の一部を発現させた培養細胞では、細胞質内に形成される封入体は、数分で形成され始め数十分で完成することを見た。
  - 5) ハンチントン病の異常遺伝子の一部を発現させた培養細胞では、核内の封入体を形成する主たる蛋白はハンチンチン、ヒストン、スプライソソームなどであり、ハンチンチンの凝集体に機能分子が巻き込まれて細胞に機能障害をもたらすであろうと考えられた。
  - 6) 新規の優性遺伝性 CAG リピート病を発見した。これは TATA 結合蛋白遺伝子中の CAG リピートの異常伸長によるものであった。
4. その他の神経変性疾患における残存単一神経細胞の発現遺伝子に関する研究
- 1) パーキンソン病黒質で残存するメラニン含有神経細胞の単一神経細胞レベルでのドパミン合成酵素群などの遺伝子発現を調べたところ、予想に反してチロシン水酸化酵素だけが特異的に著減した細胞はなく、むしろ DDC が著減している細胞が少なくなかった。

## 2. 主な研究成果

### (1) 論文発表 (国内 省略、海外 71 件)

- 1) K. Nishiyama, N. Nukina, Y. Ichikawa, I. Kanazawa.: In situ nick end-labeling detects necrosis of hippocampal pyramidal Cell induced by kainic acid. *Neurosci. lett.*, 212,139-142 (1996)
- 2) I. Yazawa, N.Nukina, Y.Ichikawa, I.Kanazawa.: Dentatorubral-pallidolusian atrophy proteins in lymphoblastoid cells. *Neurology*, 47, 586-588 (1996)
- 3) I. Imafuku, M. Kamei, I.Kanazawa, M.Maral Mouradian, H.Okazawa.: POU transcription factors differentially regulate the D1A dopamine receptor gene in cultured cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 222, 736-741 (1996)
- 4) H.Okazawa, J.Shimizu, M.Kamei, I.Imafuku, H.Hamada, I.Kanazawa.: Bcl-2 inhibits retinoic acid-induced apoptosis during the neural differentiation of embryonal stem cells. *J. Cell Biol.*, 132, 955-968 (1996)
- 5) K.Nishiyama, S.Murayama, I.Kanazawa.: Application of in situ hybridization technique to archival human autopsy material: Cu/Zn superoxide dismutase in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis (ALS) *Progress and Perspectives in Basic Research and Clinical Application* (Nakao I & Hirao A, edit), 18-22 (1996)
- 6) H.Okazawa, I.Imafuku, M.T.Minowa, I.Kanazawa, H.Hamada.: M.M.Mouradian Regulation of striatal D1A dopamine receptor gene transcription by Brn-4 PNAS., 93, 11933-11938 (1996)
- 7) I. Yazawa, N.Nukina, I.Kanazawa.: Characterization of detatorubral-pallidolusian atrophy proteins using two-dimensional electrophoretic analysis *Brain Res.*, 732, 154-158 (1996)
- 8) K.Nishiyama, S.Murayama, T.Suzuki, Y.Mitsui, Y.Sakurai, I. Kanazawa.: Presenilin 1 mRNA expression in hippocampi of sporadic Alzheimer's disease patients. *Neurosci. Res.*, 26, 75-78 (1996)
- 9) K.Nishiyama, S.Nakamura, I.Kanazawa.: Regional and cellular expression of the Machado-Joseph Disease gene in Brain of Normal and affected individuals *Ann. Neurol.*, 40, 776-781 (1996)
- 10) A. Chiba, K. Matsumura, T. Inazu, T. Shimizu, S. Kusunoki, I. Kanazawa, A. Kobata, T. Endo.: Structures of sialylated O-linked oligosaccharides of bovine peripheral nerve -dystroglycan. *J. Biol. Chem.*, 272, 2156-2162 (1997)
- 11) A. Chiba, S. Kusunoki, H. Obata, R. Machinami I. Kanazawa.: Ganglioside composition of the human cranial nerves, with special reference to Pathophysiology of Miller-Fisher syndrome. *Brain Res.*, 745, 32-36 (1997)
- 12) K. Nishiyama, S. Murayama, Y. Nishimura, K. Asayama, I. Kanazawa.: Superoxide dismutase-like immunoreactivity in spheroids in Hallervorden-Spatz disease. *Acta Neuropathol.*, 93, 19-23 (1997)
- 13) M. Miyake, Y. Nakafori, I. Matsushita, K. Kobayashi, K. Mizuno, M. Hirai, I. Kanazawa, Y. Nakagome, K. Tokunaga, T. Toda.: YAC and cosmid contigs encompassing the Fukuyama-type congenital Muscular dystrophy(FCMD) candidate region on 9q31. *Genomics*, 40, 284-293 (1997)
- 14) Y. Ichikawa, M. Watanabe, H. Kowa, S. Murayama, T. Mizuno, I. Komure, R. Ishiki, J. Goto, I. Kanazawa.: A Japanese family carrying a novel mutation in the Emery-Dreifuss muscular dystrophy gene. *Ann. Neurol.*, 41, 399-402 (1997)
- 15) K. Nishiyama, K. Murayama, S. Kwak, I. Kanazawa.: Expression of the copper-zinc superoxide dismutase gene in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.*, 41, 551-556 (1997)
- 16) H. Hashida, J. Goto, H. Kurisaki, H. Mizusawa, I. Kanazawa.: Brain regional differences in the expansion of a CAG repeat in the spinocerebellar ataxias: Dentatorubral-pallidolusian atrophy, Machado-Joseph disease, and spinocerebellar ataxia type 1. *Ann. Neurol.*, 41, 505-511 (1997)
- 17) K. Matsumura, A. Chiba, H. Yamada, H. Fukuta-Ohi, S. Fujita, T. Endo, A. Kobata, LVB. Anderson, I. Kanazawa, KP.Campbell, T. Shimizu.: A role of dystroglycan in Schwannoma cell adhesion to laminin. *J. Biol. Chem.*, 272, 13904-13910 (1997)
- 18) K. Nishiyama, K. Nakamura, S. Murayama, M. Yamada, I. Kanazawa.: Regional and cellular expression of the dentatorubral-pallidolusian atrophy gene in brains of normal and affected individuals. *Ann. Neurol.*, 41, 599-602 (1997)
- 19) MA. Kalchman, HB. Koide, K. McCutcheon, RK.Grahammm, K. Nichol, K. Nishiyama, P. Kazemi-Esfarjani, FC. Lynn, S. Wellington, M. Metzler, YP. Goldberg., I. Kanazawa, RD. Gietz, MR. Hayden: HIP1, a human homologue of *S.cerevisiae* Sla2p, interacts with membrane-associated huntingtin in the brain. *Nature Genetics*, 16, 44-53 (1997)
- 20) S. Nagao, S. Kwak, I. Kanazawa.: EAAT4, a glutamate transporter with properties of a chloride channel, is predominantly localized in purkinje cell dendrites, and forms parasagittal compartments in rat cerebellum. *Neurosci.*, 78, 929-933 (1997)
- 21) I. Yazawa, N. Nukina, J. Goto, H. Kurisaki, A. Hebisawa, I. Kanazawa.: Expression of dentatorubral-pallidolusian atrophy(DRPLA) proteins in patients. *Neurosci. Lett.*, 225, 53-56 (1997)
- 22) G. Wang, K. Ide, N. Nukina, J. Goto, Y. Ichikawa, K. Uchida, T. Sakamoto, I. Kanazawa.: Machado-Joseph disease gene product identified in lymphocytes and brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 233, 476-479 (1997)
- 23) Y. Hagiwara, M. Harai, K. Nishiyama, I. Kanazawa, T. Ueda, Y. Sakaki, T. Ito.: Screening for imprinted genes by allelic message display: Identification of a paternally expressed gene Impact on mouse chromosome 18. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94, 9249-9254 (1997)
- 24) J. Goto, M. Watanabe, Y. Ichikawa, SB. Yee, N. Ihara, K. Endo, S. Igarashi, Y. Takiyama, C. Gaspar, P. Maciel, S. Tsuji, GA. Rouleau, I. Kanazawa.: Machado-Joseph disease gene products carrying different carboxyl termini. *Neurosci. Res.*, 28, 373-377 (1997)

- 25) K. Sathasivam, S. Baxendale, L. Mangiarini, F. Bertaux, C. Hetherington, I. Kanazawa, H. Lehrach, GP. Bates.: Aberrant processing of Fugu HD(FrHD) mRNA in mouse cells and in transgenic mice. *Hum. Mol. Genetics*, 6, 2141-2149 (1997)
- 26) K. Ishikawa, H. Tanaka, M. Saito, N. Ohkoshi, T. Fujita, K. Yoshizawa, T. Ikeuchi, M. Watanabe, A. Hayashi, Y. Takiyama, M. Nishizawa, I. Nakano, K. Matsubayashi, M. Miwa, S. Shoji, I. Kanazawa, S. Tsuji, H. Mizusawa.: Japanese families with autosomal dominant pure cerebellar ataxia map to chromosome 19p13.1-13.2 and are strongly associated with mild VAG expansions in the spinocerebellar ataxia type 6 gene in chromosome 19p13.1. *Am. J. Hum. Genet.*, 61, 336-346 (1997)
- 27) T. Toda, M. Miyake, Y. Nakahori, M. Segawa, Y. Nomura, I. Nonaka, S. Ikegawa, E. Kondo, K. Saito, M. Osawa, Y. Fukuyama, M. Yoshioka, T. Shimizu, I. Kanazawa, Y. Nakamura, Y. Nakagome. Toward identification of the Fukuyama type congenital muscular dystrophy gene. *Y. Fukuyama, M. Osawa, K. Saito (Edit.), Congenital Muscular Dystrophies*, 301-308 (1997)
- 28) M. Waragai, I. Imafuku, S. Takeuchi, I. Kanazawa, F. Oyama, Y. Udagawa, M. Kawabata, H. Okazawa.: Presenilin 1 binds to amyloid precursor protein directly. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 239, 480-482 (1997)
- 29) W. Ito, J. Goto, I. Kanazawa, Y. Kurosawa.: Instability of regions containing expanded CAG repeats during replication in *Escherichia coli* probed by labeled oligonucleotides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 240, 471-477 (1997)
- 30) T. Tsukamoto, N. Nukina, K. Ide, I. Kanazawa.: Huntington's disease gene product, huntingtin, associates with microtubules in vitro. *Mol. Brain Res.*, 51, 8-14 (1997)
- 31) S. Hitoshi, S. Kusunoki, I. Kanazawa, S. Tsuji.: Dorsal root ganglia-specific expression of the  $\beta$ -galactosidase 1, fucosyltransferase genes in rabbits. *J. Neurochem.*, 70, 2174-2178 (1998)
- 32) J. Song, H. Murakami, H. Tsutsui, X. Tang, M. Matsumura, K. Itakura, I. Kanazawa, K. Sun, K. K. Yokoyama.: Genomic organization and expression of a human gene for Myc-associated zinc finger protein (MAZ). *J. Biol. Chem.*, 273, 20603-20614 (1998)
- 33) K. Kobayashi, Y. Nakahori, M. Miyake, K. Matsumura, E. Kondo-Lida, Y. Nomura, M. Segawa, M. Yoshioka, K. Saito, M. Osawa, K. Hamano, Y. Sakakihara, I. Nonaka, Y. Nakagome, I. Kanazawa, Y. Nakamura, K. Tokunaga, T. Toda.: An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature*, 394, 388-392 (1998)
- 34) J. Song, H. Murakami, ZQ. Yang, C. Koga, N. Adati, T. Murata, C. Geltinger, F. Saito-Ohara, T. Ikeuchi, M. Matsumura, K. Itakura, I. Kanazawa, K. Sun, K. K. Yokoyama.: Human genes for KNSL4 and MAZ are located close to one another on chromosome 16p11.2. *Genomics*, 52, 374-377 (1998)
- 35) I. Imafuku, M. Waragai, S. Takeuchi, I. Kanazawa, M. Kawabata, M. Mouradian, H. Okazawa.: Polar amino acid-rich sequences bind to polyglutamine tracts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 253, 16-20 (1998)
- 36) H. Hashida, J. Goto, N. Zhao, N. Takahashi, M. Hirai, I. Kanazawa, Y. Sakaki.: Cloning and mapping of ZNF231, a novel brain-specific gene encoding neuronal double zinc finger protein whose expression is enhanced in a neurodegenerative disorder, multiple system atrophy (MSA). *Genomics*, 54, 50-58 (1998)
- 37) I. Yazawa, N. Hazeki, I. Kanazawa.: Expanded glutamine repeat enhances complex formation of dentatorubral-pallidolusian atrophy (DRPLA) protein in human brains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 250, 22-26 (1998)
- 38) I. Yazawa, N. Hazeki, I. Kanazawa.: Different complex formations of dentatorubral-pallidolusian atrophy (DRPLA) protein in human and rat neurons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 253, 209-213 (1998)
- 39) T. Ono, M. R. Zambenedetti, K. Yamasaki, Y. Kawano, N. Kamikawaji, H. Ito, M. Sakurai, Y. Nishimura, J. Kira, I. Kanazawa, T. Sasazuki.: Molecular analysis of HLA class I (HLA-A and -B) and HLA class II (HLA-DRB1) genes in Japanese patients with multiple sclerosis (Western type and Asian type). *Tissue Antigens*, 52, 539-542 (1998)
- 40) Kanazawa I.: Dentatorubral-pallidolusian atrophy or Naito-Oyanagi disease. *Neurogenetics*, 21, 17 (1998)
- 41) S. Hitoshi, S. Kusunoki, I. Kanazawa, S. Tsuji.: Dorsal root ganglia neuron-specific promoter activity of the rabbit  $\beta$ -galactosidase 1,2-fucosyl-transferase gene. *J. Biol. Chem.*, 274, 389-396 (1999)
- 42) H. Osaka, C. Kawanishi, K. Inoue, H. Onishi, T. Kobayashi, N. Sugiyama, K. Kosaka, A. Nezu, K. Fujii, K. Sugita, K. Kodama, K. Murayama, S. Murayama, I. Kanazawa, S. Kimura.: Pelizaeus-Merzbacher disease: three novel mutations and implication for locus heterogeneity. *Ann. Neurol.*, 45, 59-64 (1999)
- 43) N. Hazeki, K. Nakamura, J. Goto, I. Kanazawa.: Rapid aggregate formation of the huntingtin N-terminal fragment carrying an expanded polyglutamine tract. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 256, 361-366 (1999)
- 44) S. Hitoshi, S. Kusunoki, S. Murayama, S. Tsuji, I. Kanazawa.: Rabbit experimental sensory ataxic neuropathy: anti-GD1b antibody-mediated trkC down regulation of dorsal root ganglia neurons. *Neurosci. Lett.*, 260, 157-160 (1999)
- 45) S. Kusunoki, S. Hitoshi, K. Kaida, M. Arita, I. Kanazawa.: Monospecific anti-GD1b IgG is required to induce rabbit ataxic neuropathy. *Ann. Neurol.*, 45, 400-403 (1999)
- 46) K. Ishikawa, M. Watanabe, K. Yoshizawa, T. Fujita, H. Iwamoto, T. Yoshizawa, K. Harada, K. Nakamagoe, Y. Komatsuzaki, A. Satoh, M. Doi, T. Ogata, I. Kanazawa, S. Shoji, H. Mizusawa.: Clinical, neuropathological, and molecular study in two families with spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 67, 86-89 (1999)
- 47) M. Waragai, CH. Lammers, S. Takeuchi, I. Imafuku, Y. Udagawa, I. Kanazawa, M. Kawabata, M. Mouradian, H. Okazawa.: PQBP-1, a novel polyglutamine tract-binding protein, inhibits transcription activation by Brn-2 and affects cell survival. *Hum. Mol. Genetics*, 8, 977-987 (1999)

- 48) I. Kanazawa,: Molecular pathology of dentatorubral-pallidoluysian atrophy. *Philosophical Transactions of the Royal Society, series B, Biological Sciences*, 354, 1069-1074 (1999)
- 49) J. Song, C. Geltinger, K. Sun, I. Kanazawa, KK. Yokoyama,: Direct lysis method for the rapid preparation of plasmid DNA. *Anal. Biochem.*, 271, 89-91 (1999)
- 50) J. Song, I. Kanazawa, K. Sun, T. Murata, KK. Yokoyama,: Removal of ethidium bromide and cesium chloride from plasmid DNA by ethanol precipitation. *BioTschiques*, 26, 1056-1060 (1999)
- 51) M. Hoshino, N. Masuda, Y. Ito, M. Murata, J. Goto, M. Sakurai, I. Kanazawa,: Ataxia with isolated vitamin E deficiency: a Japanese family carrying a novel mutation in the  $\alpha$ -tocopherol transfer protein gene. *Ann. Neurol.*, 45, 809-812 (1999)
- 52) K. Ishikawa, H. Fujigasaki, H. Saegusa, K. Ohwada, T. Fujita, H. Iwamoto, Y. Komatsuzaki, S. Toru, H. Toriyama, M. Watanabe, N. Ohkoshi, S. Shoji, I. Kanazawa, T. Tanabe, H. Mizusawa,: Abundant expression and cytoplasmic aggregations of  $\alpha$ 1A voltage-dependent calcium channel protein associated with neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 6. *Hum. Mol. Genet.*, 8, 1185-1193 (1999)
- 53) S. Kusunoki, A. Chiba, I. Kanazawa,: Anti-GQ1b IgG antibody is associated with ataxia as well as ophthalmoplegia. *Muscle & Nerve.*, 22, 1071-1074 (1999)
- 54) J. Song, H. Murakami, H. Tsutsui, H. Ugai, C. Geltinger, T. Murata, M. Matsumura, K. Itakura, I. Kanazawa, K. Sun, KK. Yokoyama,: Structural organization and expression of the mouse gene for Pur-1, a highly conserved homolog of the human MAZ gene. *Eur. J. Biochem.*, 259, 676-683 (1999)
- 55) T. Sato, M. Oyake, K. Nakamura, K. Nakao, Y. Fukushima, O. Onodera, S. Igarashi, H. Takano, K. Kikugawa, Y. Ishida, T. Shimohata, R. Koide, T. Ikeuchi, H. Tanaka, H. Futamura, R. Matsumura, T. Takayanagi, F. Tanaka, G. Sobue, O. Komure, M. Takahashi, A. Sano, Y. Ichikawa, J. Goto, I. Kanazawa, M. Katsuki, S. Tsuji,: 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)
- 56) S. Kusunoki, S. Hoshi, K. Kaida, S. Murayama, I. Kanazawa,: Degeneration of rabbit sensory neurons induced by passive transfer of anti-GD1b antiserum. *Neurosci. Lett.*, 273, 33-36 (1999)
- 57) I. Imafuku, T. Masaki, M. Waragai, S. Takeuchi, M. Kawabata, S.-I. Hirai, S. Ohno, L.E. Nee, C.F. Lippa, I. Kanazawa, M. Imagawa, H. Okazawa H,: Presenilin 1 suppresses the function of c-Jun homodimers via interaction with QM/Jif-1. *J. Cell Biol.*, 147, 121-133 (1999)
- 58) S. Takeuchi, I. Imafuku, M. Waragai, C. Roth, I. Kanazawa, R. Buettner, M.M. Mouradian, Okazawa H.: AP-2 represses D1A dopamine receptor gene transcription in Neuro2a cells. *Mol. Brain Res.*, 74, 208-216 (1999)
- 59) G. Wang, K. Mitsui, S. Kotliarova, A. Yamashita, Y. Nagao, S. Tokuhira, T. Iwatsubo, I. Kanazawa, N. Nukina,: Caspase activation during apoptotic cell death induced by expanded polyglutamine in N2a cells. *NeuroReport*, 10, 2435-2438 (1999)
- 60) T. Yoshizawa, Y. Yamagishi, N. Koseki, J. Goto, H. Yoshida, F. Shibasaki, S. Shoji, I. Kanazawa,: Cell cycle arrest enhances the in vitro cellular toxicity of the truncated Machado-Joseph disease gene product with an expanded polyglutamine stretch. *Hum. Mol. Genet.*, 9, 69-78 (2000)
- 61) K. Kaida, S. Kusunoki, K. Kamakura, K. Motoyoshi, I. Kanazawa,: Guillain-Barre syndrome with antibody to a ganglioside, N-acetylgalactosaminyl GD1a. *Brain*, 123, 116-124 (2000)
- 62) S.-Y. Jeong, J. Goto, H. Hashida, T. Suzuki, K. Ogata, N. Masuda, M. Hirai, K. Isahara, Y. Uchiyama, I. Kanazawa,: Identification of a novel human voltage-gated sodium channel  $\alpha$  subunit gene, SCN12A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 267, 262-270 (2000)
- 63) K. Ogata, S.-Y. Jeong, H. Murakami, H. Hashida, T. Suzuki, T. N. Masuda, M. Hirai, K. Isahara, Y. Uchiyama, J. Goto, I. Kanazawa,: Cloning and expression study of the mouse tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel  $\alpha$  subunit NaT/Scn11a. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 267, 271-277 (2000)
- 64) M. Waragai, E. Jun, M. Kajikawa, S. Takeuchi, I. Kanazawa, M. Shibata, M.M. Mouradian, H. Okazawa,: PQBP-1/Npw38, a nuclear protein binding to the polyglutamine tract, interacts with U5-15kD/dim1p via the carboxyl-terminal domain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 273, 592-595 (2000)
- 65) T. Suzuki, K. Nishiyama, A. Yamamoto, J. Inazawa, T. Iwaki, T. Yamada, I. Kanazawa, Y. Sakaki: Molecular cloning of a novel apoptosis-related gene, human Nap1(NCKAP1), and its possible relation to Alzheimer disease. *Genomics*, 63, 246-254 (2000)
- 66) G.H. Wang, N. Sawai, S. Kotliarova, I. Kanazawa, N. Nukina,: Ataxin-3, the MJD1 gene product, interacts with the two human homologs of yeast DNA repair protein RAD23, HHR23A and HHR23B. *Hum. Mol. Genet.*, 9, 1795-1803 (2000)
- 67) H. Takuma, S. Kwak, T. Yoshizawa, I. Kanazawa,: Reduction of GluR2 RNA editing, a molecular change that increases calcium influx through AMPA receptors, selective in the spinal ventral gray of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.*, 46, 806-815 (2000)
- 68) N. Hazeki, T. Tsukamoto, J. Goto, I. Kanazawa,: Formic acid dissolves aggregates of an N-terminal huntingtin fragment containing an expanded polyglutamine tract: applying to quantification of protein components of the aggregates. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 277, 386-393 (2000)

( 2 ) 口頭発表

招待、口頭講演 ( 国内 9 件、海外 4 件 )

( ) 国内

- 1) H. Hashida, J. Goto, K. Himuro, I. Yazawa, S.-Y. Jeong, N. Masuda, T. Suzuki, Y. Uchiyama, Y. Sakaki, I. Kanazawa,: 神経細胞特異的遺伝子 ZNF231 のクローニング 第 22 回日本神経科学大会 ( 大阪 ) 平成 1

1年7月6日- 8日

- 2) N. Masuda, S.-Y. Jeong, T. Suzuki, H. Hashida, J. Goto, I. Kanazawa.: ヒトカリウムチャンネル erg family の cDNA クローニング 第 2 2 回日本神経科学大会 (大阪) 平成 1 1 年 7 月 6 日- 8 日
  - 3) T. Suzuki, H. Hashida, S.-Y. Jeong, N. Masuda, H. Murakami, K. Ogata, J. Goto, I. Kanazawa.: 蛍光 Differential Display 法を用いた単一神経細胞の遺伝子発現解析 第 2 2 回日本神経科学大会 (大阪) 平成 1 1 年 7 月 6 日- 8 日
  - 4) S.-Y. Jeong, J. Goto, T. Suzuki, K. Ogata, H. Hashida, N. Masuda, H. Murakami, M. Hirai, Y. Uchiyama, I. Kanazawa.: 新規ナトリウムチャンネル SCN11A のクローニング 第 2 2 回日本神経科学大会 (大阪) 平成 1 1 年 7 月 6 日- 8 日
  - 5) K. Nakamura, Y. Ichikawa, J. Goto, I. Kanazawa, S. Ikeda.: 遺伝性脊髄小脳変性症の新しいポリグルタミン病遺伝子のスクリーニング 第 4 1 回日本神経学会総会 (松本) 平成 1 2 年 5 月 2 4 日
  - 6) M. Murata, Y. Momose, E. Horiuchi, I. Kanazawa.: パーキンソン病の病型と MAOB 遺伝子 GT リピート多型との関連 第 4 1 回日本神経学会総会 (松本) 平成 1 2 年 5 月 2 4 日
  - 7) Y. Ichikawa, J. Goto, I. Kanazawa.: Machado-Joseph 病遺伝子 (MJD) の全遺伝子塩基配列と転写産物の同定 第 4 1 回日本神経学会総会 (松本) 平成 1 2 年 5 月 2 5 日
  - 8) N. Hazeke, T. Tsukamoto, M. Koyama, T. Iwatsubo, I. Someki, T. Hattori, K. Nakamura, J. Goto, I. Kanazawa.: Huntingtin N 末端フラグメントの発現により形成した凝集体の分離および構造解析 第 2 3 回日本神経科学大会 (横浜) 平成 1 2 年 9 月 4 日
  - 9) K. Ogata, S.-Y. Jeong, Y. Takahashi, H. Murakami, H. Hashida, T. Suzuki, N. Masuda, M. Hirai, K. Isahara, Y. Uchiyama, J. Goto, I. Kanazawa.: マウス電位依存性 Na<sup>+</sup> チャンネル サブユニット NaT/Scn11a の同定と発現分布 第 7 3 回日本生化学会大会 (横浜) 平成 1 2 年 1 0 月 1 4 日
- ( ) 海外
- 1) I. Kanazawa.: Molecular pathology of the dentatorubro-pallidoluysian atrophy and Machado-Joseph disease. Glutamine repeats and inherited neurodegenerative disease: Molecular aspects, Novartis Foundation / Royal Society Discussion Meeting (at London) 平成 1 0 年 1 0 月 9 日
  - 2) Y. Ichikawa, J. Goto, M. Hattori, A. Toyoda, K. Ishii, S.-Y. Jeong, H. Hashida, N. Masuda, K. Ogata, Y. Suzuki, S. Sugano, F. Kasai, M. Hirai, P. Maciel, G.A. Rouleau, Y. Sakaki, I. Kanazawa.: Genome structure of MJD gene and its transcripts, European Human Genetics Conference 2000 (at Amsterdam) 平成 1 2 年 5 月 2 9 日
  - 3) I. Kanazawa, J. Goto, Y. Ichikawa, K. Nakamura.: Frequency of gene-verified dominantly inherited ataxias in Japan, 25th World Congress of Internal Medicine (at Cancun, Mexico) 平成 1 2 年 6 月 7 日
  - 4) Y. Ichikawa, J. Goto, M. Hattori, A. Toyoda, K. Ishii, S.-Y. Jeong, H. Hashida, N. Masuda, K. Ogata, Y. Suzuki, S. Sugano, F. Kasai, M. Hirai, P. Maciel, G.A. Rouleau, Y. Sakaki, I. Kanazawa.: The human MJD gene: genomic structure, transcripts, and expression, The American Society of Human Genetics 50 th Annual Meeting (at Philadelphia) 平成 1 2 年 1 0 月 6 日

ポスター発表 (国内 22 件、海外 16 件)

- ( ) 国内
- 1) J. Goto, Y. Ichikawa, I. Kanazawa, M. Watanabe.: Machado-Joseph 病遺伝子の cDNA クローニング 第 3 8 回日本神経学会総会 (横浜) 平成 9 年 5 月 1 5 日
  - 2) Y. Ichikawa, J. Goto, I. Kanazawa.: Machado-Joseph 病と連鎖不均衡を呈する MJD1 遺伝子内多型 第 3 8 回日本神経学会総会 (横浜) 平成 9 年 5 月 1 5 日
  - 3) Y. Ichikawa, J. Goto, I. Kanazawa.: 日本人における Machado-Joseph 病と連鎖不均衡を呈する MJD1 遺伝子内多型 日本人類遺伝学会第 4 2 回大会 (神戸) 平成 9 年 1 0 月 1 6 日
  - 4) T. Suzuki, K. Nishiyama, Y. Misumi, T. Iwatsubo, T. Yamada, I. Kanazawa, Y. Sakaki.: 孤発性アルツハイマー病において発現の変動する新規アポトシス遺伝子の解析 日本分子生物学会年会 (京都) 平成 9 年 1 2 月 1 6 日
  - 5) Hashida H, Goto J, N. Zhao, Takahashi N, Kanazawa I, Sakaki Y.: Cloning of a novel brain specific gene by the application of high density cDNA filter method to a neurodegenerative disorder, multiple system atrophy. 国際ワークショップ「ゲノム研究の最先端」(東京) 平成 1 0 年 4 月 2 7 日
  - 6) J. Goto, I. Kanazawa, K. Takahashi, K. Nakajima, S. Kuzuhara, H. Shoji.: 家族性筋萎縮性側索硬化症における SOD1 変異と臨床像との対応 第 3 9 回日本神経学会総会 (京都) 平成 1 0 年 5 月 2 1 日
  - 7) H. Hashida, J. Goto, I. Kanazawa, Y. Sakaki.: cDNA パネル法による多系統萎縮症小脳の解析により得られた遺伝子 (NDZFP) のクローニング. 第 39 回日本神経学会総会 (京都) 平成 1 0 年 5 月 2 1 日
  - 8) T. Shinoe, S. Murayama, I. Kanazawa.: 凍結筋検体・Gomori trichrome 変法における筋内神経随軸索の定量 第 3 9 回日本神経病理学会総会学術研究会 (福岡) 平成 1 0 年 5 月 3 0 日
  - 9) Y. Ichikawa, M. Hirai, J. Goto, Y. Sakaki, M. Hattori, I. Kanazawa.: Machado-Joseph 病遺伝子 (MJD1) のゲノム構造. 日本人類遺伝学会第 43 回大会 (山梨) 平成 1 0 年 1 0 月 1 4-1 6 日
  - 10) J. Goto, I. Kanazawa, H. Nakabayashi.: 家族性筋萎縮性側索硬化症の 2 家系: SOD1 変異と臨床像 第 4 0 回日本神経学会総会 (東京) 平成 1 1 年 5 月 1 9-2 1 日
  - 11) H. Hashida, J. Goto, K. Himuro, I. Yazawa, I. Kanazawa.: 神経細胞特異的蛋白 ZNF231 に対する抗体作製 第 4 0 回日本神経学会総会 (東京) 平成 1 1 年 5 月 1 9-2 1 日
  - 12) N. Masuda, J. Goto, I. Kanazawa.: ヒト potassium channel erg ファミリーの cDNA クローニング 第 4 0 回日本神経学会総会 (東京) 平成 1 1 年 5 月 1 9-2 1 日
  - 13) K. Ogata, M. Sakurai, I. Kanazawa.: 神経症状で発症した梅毒の診療における問題点-最近の症例の特徴- 第 4 0 回日本神経学会総会 (東京) 平成 1 1 年 5 月 1 9-2 1 日

- 14) N. Hazeki, K. Nakamura, J. Goto, I. Kanazawa.: Huntingtin N 末端フラグメントによる aggregate 形成機構の解析 第 2 2 回日本神経科学大会 (大阪) 平成 1 1 年 7 月 6 - 8 日
- 15) H. Murakami, T. Suzuki, J. Goto, S.-Y. Jeong, H. Hashida, N. Masuda, I. Kanazawa.: In Silico Differential Display 第 2 2 回日本神経科学大会 (大阪) 平成 1 1 年 7 月 6 - 8 日
- 16) N. Hazeki, T. Tsukamoto, K. Nakamura, M. Koyama, T. Iwatsubo, J. Goto, I. Kanazawa.: Huntingtin N 末端フラグメントの発現により形成した aggregate の性状第 7 2 回日本生化学会大会 (横浜) 平成 1 1 年 1 0 月 6 - 9 日
- 17) J. Goto, Y. Ichikawa, I. Kanazawa.: 遺伝性脊髄小脳運動失調症の遺伝子診断による検討 第 4 1 回日本神経学会総会 (松本) 平成 1 2 年 5 月 2 4 日
- 18) H. Hashida, J. Goto, N. Masuda, S.-Y. Jeong, K. Ogata, Y. Takahashi, I. Kanazawa, T. Suzuki.: レーザーマイクロダイセクターを用いた単一神経細胞解析系の開発 第 4 1 回日本神経学会総会 (松本) 平成 1 2 年 5 月 2 4 日
- 19) S. Kwak, H. Hashida, I. Kanazawa.: ヒト脊髄単一運動ニューロンにおけるグルタミン酸受容体関連物質 mRNA 発現の検討 第 4 1 回日本神経学会総会 (松本) 平成 1 2 年 5 月 2 5 日
- 20) N. Masuda, S.-Y. Jeong, H. Hashida, Y. Takahashi, J. Goto, I. Kanazawa.: ヒト potassium channel ERG2 および ERG3 の解析 第 4 1 回日本神経学会総会 (松本) 平成 1 2 年 5 月 2 4 日
- 21) K. Ogata, S.-Y. Jeong, Y. Takahashi, N. Masuda, J. Goto, I. Kanazawa.: マウス電位依存性 Na<sup>+</sup> チャネルサブユニット NaT/Scn11a の同定と発現分布 第 4 1 回日本神経学会総会 (松本) 平成 1 2 年 5 月 2 4 日
- 22) Y. Takahashi, K. Ogata, H. Hashida, J. Goto, I. Kanazawa.: 中枢神経系における電位依存性カルシウムイオンチャネルの部位別発現カタログ 第 4 1 回日本神経学会総会 (松本) 平成 1 2 年 5 月 2 5 日

( ) 海外

- 1) J. Goto, M. Watanabe, Y. Ichikawa, S. Yee, N. Ihara, I. Kanazawa.: cDNA cloning and polymorphism of the Machado-Joseph disease (MJD) gene. The 2nd Meeting of European neuroscience (at Strasbourg) 平成 8 年 9 月 2 8 日
- 2) J. Goto, Y. Ichikawa, H. Hashida, M. Hirai, C. Aspar, P. Maciel, G. A. Rouleau, I. Kanazawa: Machado-Joseph disease gene., Human Genome Meeting (at Toronto) 平成 9 年 3 月 6 - 8 日
- 3) Y. Ichikawa, J. Goto, M. Hattori, M. Hirai, G. A. Rouleau, I. Kanazawa.: Genome structure of MJD1. The American Society of Human Genetics 48th Annual Meeting (at Denver) 平成 1 0 年 1 0 月 3 1 日
- 4) J. Goto, K. Nakashima, K. Takahashi, H. Nakabayashi, S. Kuzuhara, H. Shoji, M. Kinoshita, I. Kanazawa.: Familial amyotrophic lateral sclerosis; correlation between clinical features and SOD1 mutations. The American Society of Human Genetics 48th Annual Meeting (at Denver) 平成 1 0 年 1 0 月 3 1 日
- 5) H. Hashida, J. Goto, T. Suzuki, S.-Y. Jeong, N. Masuda, N. Hazeki, I. Kanazawa.: Single cell analysis of somatic mosaicism of CAG repeats in DRPLA brain. 49th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (at San Francisco) 平成 1 1 年 1 0 月 1 9 - 2 3 日
- 6) N. Masuda, S.-Y. Jeong, H. Hashida, T. Suzuki, Y. Ichikawa, N. Hazeki, J. Goto, I. Kanazawa.: Cloning of two members of the human *erg* potassium channel gene family. 49th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (at San Francisco) 平成 1 1 年 1 0 月 1 9 - 2 3 日
- 7) H. Murakami, T. Suzuki, J. Goto, S.-Y. Jeong, H. Hashida, N. Masuda, I. Kanazawa.: in Silico Differential Display. 49th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (at San Francisco) 平成 1 1 年 1 0 月 1 9 - 2 3 日
- 8) T. Suzuki, H. Hashida, S.-Y. Jeong, N. Masuda, H. Murakami, K. Ogata, J. Goto, I. Kanazawa.: Analysis of gene-expression profiles of single cells. 49th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (at San Francisco) 平成 1 1 年 1 0 月 1 9 - 2 3 日
- 9) N. Hazeki, K. Nakamura, J. Goto, T. Masaki, I. Kanazawa.: Characterization of aggregates composed of the Huntingtin-Terminal fragment carrying an expanded polyglutamine. 29th Annual Meeting Society for Neuroscience (at Miami) 平成 1 1 年 1 0 月 2 3 - 2 8 日
- 10) K. Ogata, S.-Y. Jeong, J. Goto, H. Hashida, N. Masuda, T. Suzuki, H. Murakami, M. Hirai, K. Isahara, Y. Uchiyama, I. Kanazawa.: Identification of NAT, a novel mouse voltage-gated sodium channel subunit. 29th Annual Meeting Society for Neuroscience (at Miami) 平成 1 1 年 1 0 月 2 3 - 2 8 日
- 11) S.-Y. Jeong, J. Goto, H. Hashida, T. Suzuki, K. Ogata, N. Masuda, M. Hirai, K. Ishihara, Y. Uchiyama, S. Kwak, I. Kanazawa.: Identification of SCN11A, a novel voltage-gated sodium channel expressed in both neuronal and non-neuronal cells. 29th Annual Meeting Society for Neuroscience (at Miami) 平成 1 1 年 1 0 月 2 3 - 2 8 日
- 12) S.-Y. Jeong, K. Ogata, Y. Takahashi, H. Hashida, S.-M. Jeong, R.P. Ruberu, J. Goto, I. Kanazawa.: Expression profile of human voltage-gated sodium channels in single neurons. Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology (at Seoul) 平成 1 2 年 1 0 月 2 6 日
- 13) N. Hazeki, K. Nakamura, J. Goto, I. Kanazawa.: Mechanism of aggregate formation of an N-terminal huntingtin Fragment carrying an expanded polyglutamine tract. Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology (at Seoul) 平成 1 2 年 1 0 月 2 6 日
- 14) S.-M. Jeong, T. Suzuki, S.-Y. Jeong, Y. Takahashi, K. Ogata, H. Hashida, M. Murata, J. Goto, I. Kanazawa.: Novel approaches toward Parkinson's disease in single nigral neuron. Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology (at Seoul) 平成 1 2 年 1 0 月 2 6 日
- 15) H. Murakami, T. Suzuki, H. Hashida, S.-Y. Jeong, J. Goto, I. Kanazawa.: In silico differential display. Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology (at Seoul) 平成 1 2 年 1 0 月 2 6 日



16) K. Ogata, S.-Y. Jeong, H. Murakami, H. Hashida, Y. Kawahara, J. Goto, I. Kanazawa: Cloning and expression study of the mouse Tetrodotoxin-Resistant (TTX-R) voltage-gated sodium channel subunit, NaT/Scn11a. Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology (at Seoul) 平成12年10月26日

(3) 特許出願 (国内7件、海外2件)

国内

- 1) 発明の名称：生体サンプルの切断片回収方法、並びにそのための装置  
発明者：建入芳昭、大家智慧、勝又正和、土屋公司、金澤一郎  
出願番号 / 出願日：特願平 9-315642 / 1997.11.17  
公開番号 / 公開日：特開平 11-148887 / 1999.6.2
- 2) 発明の名称：ナトリウムチャンネル SCN8A  
発明者：鄭 善容、金澤一郎、後藤 順  
出願番号 / 出願日：特願平 11-4645 / 1999.1.11
- 3) 発明の名称：遺伝子発現探索方法およびその装置  
発明者：村上 大勇、金澤一郎、鈴木 高史、後藤 順  
出願番号 / 出願日：特願平 11-88410 / 1999.3.30
- 4) 発明の名称：プライマー塩基配列の選定方法およびその装置  
発明者：村上 大勇、金澤一郎、鈴木 高史、後藤 順  
出願番号 / 出願日：特願平 11-88626 / 1999.3.30
- 5) 発明の名称：ヒトナトリウムチャンネル SCN12A  
発明者：金澤一郎、後藤順、鄭善容  
出願番号 / 出願日：特願 2000-152085 / 2000.5.23
- 6) 発明の名称：ナトリウムチャンネル SCN3A  
発明者：金澤一郎、後藤 順、鄭 善容  
出願番号 / 出願日：特願 2000-177544 / 2000.6.13
- 7) 発明の名称：ナトリウムチャンネル SCN1A  
発明者：金澤一郎、後藤 順、鄭 善容  
出願番号 / 出願日：特願 2000-177540 / 2000.6.13

海外

- 1) 発明の名称：ヒト・ナトリウムチャンネル SCN12A および SCN8A  
発明者：鄭 善容、金澤一郎、後藤 順  
出願番号 (出願日)：PCT/JP00/04629 (2000.7.11)
- 2) 発明の名称：ナトリウムチャンネル SCN1A および SCN3A  
発明者：金澤一郎、後藤 順、鄭 善容  
出願番号 (出願日)：PCT/JP01/04956 (2001.6.12)