

大阪大学大学院生命機能研究科 教授

村上 富士夫

「脳の神経回路形成と可塑性の分子機構」

1. 研究実施の概要

神経結合の可塑性は、学習、記憶をはじめとする、脳の様々な高次機能を担っている。したがってその分子機構の解明は、脳の機能の仕組みを知る上で極めて重要な問題である。神経結合の可塑的变化が生じるときには軸索伸長、側枝の形成、標的認識、シナプス形成など、脳の発達期に起こる様々な現象が繰り返される。したがって神経回路形成を支える分子機構の解明はそのまま可塑性の分子機構の解明につながる可能性が高い。発達期の脳では、入力の一側性の損傷により *laterality* に可塑的变化が生ずることが良く知られている。

いっぽう本研究代表者らは発生期脳の神経管正中部にある底板が小脳遠心性線維に対して軸索誘引活性を有し、その成長円錐の正中線へのガイドに寄与している可能性を示した。さらに底板は中脳、後脳、髄脳、脊髄の全てのレベルの交連性ニューロンに対しても同様な活性を示し、これらのニューロンの腹側正中線へのガイドにも寄与していることを示した。さらに、底板が軸索反発活性をも有し、これがまた中脳から脊髄にいたる多種の非交叉性のニューロンのガイドに共通に寄与していることを示す証拠を得た。また軸索誘引の責任分子として脊髄の交連ニューロンに対する拡散性誘引因子として同定されたネトリンが有力な候補であるが、軸索反発活性にはネトリン以外の分子が寄与していることが明らかになった。このような背景のもとに本研究では交叉性神経回路形成のメカニズムの解明を目指した。またその成果に基づき *laterality* の変更をともなう神経結合の可塑的变化を支えるメカニズムの解明をも目標にした。

そのため拡散性ガイド因子の活性検出にはコラーゲンゲル培養法、トランスウェル培養法、全胚培養標本等生体内に近い環境を再現できる *in vitro* 標本を用いて、それに様々な操作を加えることによって交叉性神経回路のガイド機構に迫ることとした。また分子生物学的方法による新規ガイド因子の役割、生体内でのガイド因子の役割を研究するためのモデル動物の開発を目指した。回路形成、可塑性研究グループでは正中線交叉後の軸索の挙動を制御する機構の解明をも含め、交叉性神経回路形成の機構をさまざまな *in vitro* 標本を用いて解析することとした。ガイド因子探索グループでは拡散性ガイド因子をはじめとする軸索ガイド関連因子を分子生物学的手法を駆使して探索することとした。またガイド因子が成長円錐に作用しその行動を制御する機構を解明するためにはガイド因子の細胞内伝達機構を明らかにする必要がある。そこで細胞内伝達機構グループではその反発活性によって軸索ガイドに重要な役割を果たしていることが知られている *SemaIII/collapsin-1* に着目して *SemaIII/collapsin-1* によって惹起される細胞内情報伝達系の解明を目指した。またガイド因子の生体内での働きを知るには、全動物標本での解析が欠かせない。そのためトランスジェニック動物作製グループではガイド因子の候補やその関連分子の役割を明らかにするためのノックアウトマウス、また生体内での軸索走行を可視化するためのトランスジェニックマウスを作成することとした。

本研究の遂行の結果、軸索ガイドの機構に関するいくつかの基本原理が明らかになった。その中で最も重要なものは成長円錐の反応性の変化である。これまでは成長円錐はガイド

キューに対して一定の反応性を有するものと受け止められていたが、我々の研究によりその反応性を動的に変えて行くものであることが明らかになった。成長円錐が正中線に到達したときには底板由来の誘引因子に対する反応性を失うことが、それを越えて更に進んで行くのに必須であることが明らかになった。またその後、吻尾軸に沿って伸びて行くがその際には基板に存在する誘引因子に対する反応性の新たな獲得が起こることを発見した。このように成長円錐の反応性の変化は交叉性神経回路の形成にとって極めて重要な役割を果たすことが示された。さらに、吻尾軸に沿った軸索の走行には背腹軸に沿うものとはこととなり、拡散性の長距離作動性因子でなく基質に結合した局所的な因子が軸索ガイドに決定的な役割を果たしていることが明らかになった。さらにいっぽう、我々は交叉性神経回路の形成に関与する機構と共通する機構、すなわち底板による誘引が、正中線を越えて接線方向に移動する細胞の制御にも関与していることを見出した。さらに、移動細胞の底板誘引活性に対する応答性は底板と遭遇することによって変化し、ガイドキューに対する反応性の変化は細胞移動においても重要な役割を果たしていることを発見した。

その他視床一大脳系をモデルとしておこなった標的認識機構の研究では、軸索の伸長を制御する機構と枝分れを促進させる機構とが独立して働いていることが明らかになった。具体的には前者に関しては、浅層に存在する GPI 結合型の成分と深層に存在するシアル酸の成分が大脳皮質での視床の軸索伸長を制御している可能性が示唆された。後者に関しては層特異的な膜結合型の因子が枝分かれの形成を担っていること、ならびにノイラミナーゼによって除去されるシアル酸の成分が、標的層以外で軸索の分枝形成を抑制することによって層特異的な枝分かれの形成に貢献している可能性が示唆された。

ガイド因子探索グループは以前、大脳皮質脊髄路の軸索が生直後ラットの橋核から分泌される未知因子に反応し皮質橋路の軸索を側副枝として形成することを見い出したが、この責任遺伝子を探索し、発現パターンを時空間的に解析することにより、最終的にガイド因子の遺伝子候補として3種の遺伝子断片を得た。

細胞内情報伝達グループは、反発性の神経ガイド分子セマフォリン 3A (Sema3A) が、神経軸索反発活性を示す分子メカニズムを追求し、細胞内において情報を媒介する分子として、CRMP、Fyn、Cdk5、Fes、LIM キナーゼを同定した。そしてこれらに関与する分子機序を生化学的に検証する一方、*fyn*、*ckd5*、*sema3A* 遺伝子ノックアウトマウスの表現型解析から、これらの分子の少なくとも一部は生体内において作動する証拠を得た。トランスジェニック動物作製グループは、中枢カテコールアミンニューロンおよび運動ニューロンをモデルに、哺乳類脳において特定ニューロンの発生と神経回路の機能発達の分子機構を解明するため、主に、遺伝子改変マウスを用いた生体レベルでの遺伝子機能の解析に取り組んだ。具体的には、核内受容体 Nurr1 によるドーパミンニューロン特異的遺伝子の発現制御機構の解析を行ない、また、低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho のシグナル伝達系の運動ニューロンの発生と神経回路形成における役割を解析し、運動ニューロンの生存および軸索パターン形成の制御機構に関与することを示唆する知見が得られた。第三に、

中脳ドーパミンニューロンの発生と神経回路形成をリアルタイムでモニターするためのトランスジェニックマウス技術の開発を行なった。これを用いることにより、吻尾軸に沿った軸索の走行のメカニズムの解明が大きく進展した。

2. 研究構想

神経結合の可塑性は、学習、記憶をはじめとする、脳の様々な高次機能を担っている。したがってその分子機構の解明は、脳の機能の仕組みを知る上で極めて重要な問題である。神経結合の可塑的变化が生じるときには軸索伸長、側枝の形成、標的認識、シナプス形成など、脳の発達期に起こる様々な現象が繰り返される。したがって神経回路形成を支える分子機構の解明はそのまま可塑性の分子機構の解明につながる可能性が高い。発達期の脳では、入力の一側性の損傷により *laterality* に可塑的变化が生ずることが良く知られている。たとえばネコの大脳一赤核投射は健常動物では同側性であるが、大脳感覚運動野の損傷によって、健常では認められない交叉性投射が生じる。このことから、神経回路形成の中でも特に交叉性神経回路形成のメカニズムの解明が重要であることが示唆される。

いっぽう本研究代表者らは脳における軸索の（正中線）交叉に関して以下のような発見をした。神経管の腹側正中部にある底板は、その前後軸方向に中脳部付近まで伸びているが、本研究代表者らは、まず脊髄背側にある交連性ニューロンと同様、小脳出力線維の軸索が腹側正中部にある底板を通り、対側へと投射することを明らかにした。またラット胚の神経細胞のコラーゲンゲル培養をおこない、底板が小脳遠心性線維に対して軸索誘引活性を有し、その成長円錐の正中線へのガイドに寄与している可能性を示した。そればかりか底板は中脳、後脳、髄脳、脊髄の全てのレベルの交連性ニューロンに対しても同様な活性を示し、これらのニューロンの腹側正中線へのガイドにも寄与している可能性を示す証拠を得た。さらに興味深いことには、底板が軸索反発活性をも有し、これがまた中脳から脊髄にいたる多種の非交叉性のニューロンのガイドに共通に寄与していることを示唆するデータを得た。また軸索誘引の責任分子として脊髄の交連ニューロンに対する拡散性誘引因子として同定されたネトリンが有力な候補であることがわかったが、軸索反発活性にはネトリン以外の分子が寄与していることが明らかになった。

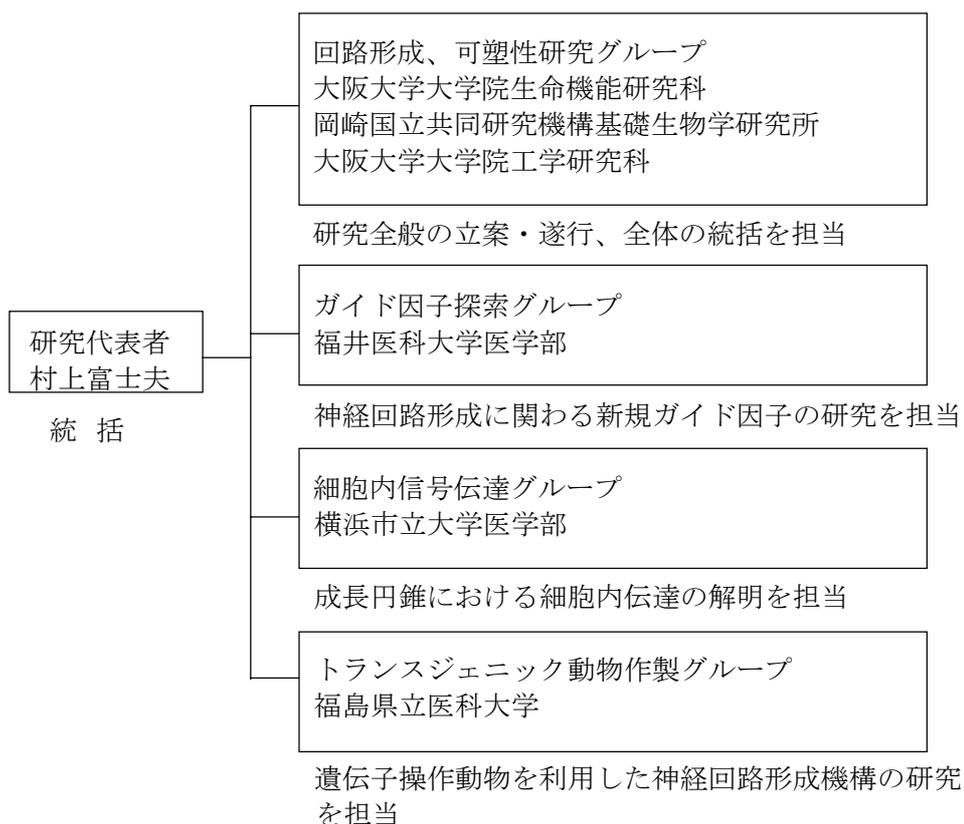
このような背景のもとに本研究では交叉性神経回路形成のメカニズムの解明をすすめることとした。またその成果に基づき *laterality* の変更をとまなう神経結合の可塑的变化を支えるメカニズムの解明をも目標にした。そのため拡散性ガイド因子の活性検出にはコラーゲンゲル培養法、トランスウェル培養法、全胚培養標本等生体内に近い環境を再現できる *in vitro* 標本を用いて、それに様々な操作を加えることによって交叉性神経回路のガイド機構に迫ることとした。また分子生物学的方法による新規ガイド因子の役割、生体内でのガイド因子の役割を研究するためのモデル動物の開発を目指した。

回路形成、可塑性研究グループでは正中線交叉後の軸索の挙動を制御する機構の解明をも含め、交叉性神経回路形成の機構をさまざまな *in vitro* 標本を用いて解析することとした。

ガイド因子探索グループでは拡散性ガイド因子をはじめとする軸索ガイド関連因子を分子生物学的手法を駆使して探索することとした。またガイド因子が成長円錐に作用しその行動を制御する機構を解明するためにはガイド因子の細胞内伝達機構を明らかにする必要がある。そこで細胞内伝達機構グループではその反発活性によって軸索ガイドに重要な役割を果たしていることが知られている SemaIII/collapsin-1 に着目して SemaIII/collapsin-1 によって惹起される細胞内情報伝達系の解明を目指した。またガイド因子の生体内での働きを知るには、全動物標本での解析が欠かせない。そのためトランスジェニック動物作製グループではガイド因子の候補やその関連分子の役割を明らかにするためのノックアウトマウス、また生体内での軸索走行を可視化するためのトランスジェニックマウスを作成することとした。

3. 研究実施体制

(1) 体制



4. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成12年6月2日	公開シンポジウム「幹細胞と遺伝子発現制御」	仙台	200人	幹細胞の遺伝子発現制御に関して、最先端と知見を幅広く討議
平成12年11月21日～22日	非対称分裂と細胞極性：非対称性から多様性へ	大阪	80人	非対称分裂と細胞極性の専門家の研究成果の発表と議論

5. 主な研究成果

村上富士夫

回路形成、可塑性研究グループ

(1) 論文発表

1. Shirasaki, R., Katsumata, R and Murakami, F: Change in chemoattractant responsiveness of developing axons at an intermediate target. *Science*, 279, 105-107 (1998)
2. Song, W-J and Murakami, F: Development of functional topography in the corticorubral projection: an in vivo assessment using synaptic potentials recorded from fetal and newborn cats. *J. Neurosci.*, 281, 9354-9364 (1998)
3. Yamamoto, N., Matsuyama, Y., Harada, A., Inui, K., Murakami, F. and Hanamura, K. Characterization of factors regulating lamina-specific growth of thalamocortical axon. *J. Neurobiol.*, 42, 56-68 (2000)
4. Tashiro, Y., Endo, T., Shirasaki, R., Miyahara, M., Heizmann, C.W. and Murakami, F.: Afferents of cranial sensory ganglia pathfind to their target independent of the site of entry into the hindbrain. *J. Comp. Neurol.*, 417, 491-500 (2000)
5. Nakamura, S., Ito, Y., Shirasaki, R. and Murakami, F.: Local directional cues control growth polarity of dopaminergic axons along the rostrocaudal axis. *J. Neurosci.*, 20, 4112-4119 (2000)
6. Wada, T., Kagawa, T., Ivanova, A., Zalc, B., Shirasaki, R., Murakami, F., Iemura, S., Ueno, N. and Ikenaka, K.: Dorsal spinal cord inhibits oligodendrocyte development. *Dev. Biol.*, 227, 42-55 (2000)
7. Song, W.-J., Baba, Y., Otsuka, T. and Murakami, F.: Characterization of Ca²⁺ channels in rat subthalamic nucleus neurons. *J. Neurophysiol.*, 84, 2630-2637 (2000)
8. Yamamoto, N., Inui, K., Matsuyama, Y., Harada, A., Hanamura, K., Murakami, F., Ruthazer, E.S., Rutishauser, U. and Seki, T.: Inhibitory mechanism by polysialic acid for lamina-specific branch formation of thalamocortical axons. *J. Neurosci.*, 20, 9145-9151 (2000)
9. Tashiro, Y., Miyahara, M., Shirasaki, R., Okabe, M., Heizmann CW., and Murakami F.: Local nonpermissive and oriented permissive cues guide Vestibular axons to the cerebellum. *Development*, 128, 973-981 (2001)
10. Sawamoto, K., Nakao, N., Kobayashi, K., Matsushita, N., Takahashi, H., Kakishita, K., Yamamoto, A., Yoshizaki, T., Terashima, T., Murakami, F., Itakura, T., Okano, H.: Visualization, direct isolation, and transplantation of midbrain dopaminergic neurons labeled with a TH-GFP

transgene. PNAS, 98, 6423-6428 (2001)

11. Shirasaki, R. and Murakami, F.: Crossing the floor plate triggers sharp turning of commissural axons. Dev. Biol., 236, 99-108 (2001)
12. Otsuka, T., Murakami, F. and Song, W.-J.: Excitatory postsynaptic potentials trigger a plateau potential in rat subthalamic neurons at hyperpolarized states. J. Neurophysiol., 86, 1816-1825 (2001)
13. Saito, Y., Katsumaru, H., Wilson, C.J., Murakami, F.: Light and electron microscopic study of corticorubral synapses in adult cat: evidence for extensive synaptic remodeling during postnatal development. J. Comp. Neurol., 440, 236-244 (2001)
14. Nagano, T., Yoneda, T., Hatanaka, Y., Kubota, C., Murakami, F. and Sato, M.: Filamin A-interacting protein FILIP regulates cortical cell migration out of the ventricular zone. Nature Cell Biology, 4, 495-501(2002)
15. Taniguchi, H., Tamada, A., Kennedy, T.E. and Murakami, F.: Crossing the ventral midline causes neurons to change their response to floor plate and alar plate attractive cues during transmedian migration. Dev. Biol., 249, 321-332 (2002)

(2) 新聞報道等

新聞報道

1998. 1. 19 日経新聞「脳神経網の形成、一部解明」

誘導物質で伸びる「細胞の枝」先端にスイッチ、接触で変化

1998. 2. 6 朝日新聞朝刊「通り過ぎたら未練なし-神経細胞の軸索のルート作り」

阪大グループ目標変える能力発見

ガイド因子探索グループ

(1) 特許出願（国内1件、海外0件）

発明の名称：細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質

出願日：平成13年8月27日

出願番号：特願2001-256910

整理番号：A011P40

発明者：佐藤真、永野隆

出願人：科学技術振興事業団

(2) 論文発表

1. Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., Yamaguchi, A., Sasaki, K., Deguchi, K., Shimizu, Y., Bronson, R.T., Gao, Y.-H., Inada, M., Sato, M., Okamoto, R., Kitamura, Y., Yoshiki, S. and Kishimoto, T.: Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturation arrest of osteoblasts. Cell, 89, 755-764 (1997)
2. Tanaka, T., Nakamura, T., Takagi, H. and Sato, M.: Molecular cloning and characterization of a novel TBP-1 interacting protein (TBPIP): Enhancement of TBP-1 action on Tat by TBPIP. BBRC., 239, 176-181 (1997)

3. Nagano, T., Nakamura, A., Mori, Y., Maeda, M., Takami, T., Shiosaka, S., Takagi, H. and Sato, M.: Differentially expressed olfactomedin-related glycoproteins (Pancortins) in the brain. *Mol. Brain Res.*, 53, 13-23 (1998)
4. Nakamura, T., Tanaka, T., Nagano, T., Yoneda, T., Takagi, H. and Sato, M.: Distribution of mRNA encoding Tat binding protein-1 (TBP-1), a component of 26S proteasome, in the rat brain. *Mol. Brain Res.*, 53, 321-327 (1998)
5. Nakamura, T., Tanaka, T., Takagi, H. and Sato, M.: Cloning and heterogenous in vivo expression of Tat binding protein-1 (TBP-1) in the mouse. *Biochim. Biophys. Acta*, 1399, 93-100 (1998)
6. Yoneda, T., Sato, M., Maeda, M. and Takagi, H.: Identification of a novel adenylate kinase system in the brain: Cloning of the fourth adenylate kinase. *Mol. Brain Res.*, 62, 187-195 (1998)
7. Ikeda, K., Kawada, N., Wang Y-Q., Kadoya, H., Nakatani, K., Sato, M. and Kaneda, K.: Expression of cellular prion protein in activated hepatic stellate cells. *Am J. Pathol.*, 153, 1695-1700 (1998)
8. Suzumori, N., Sato, M., Yoneda, T., Ozaki, Y., Takagi, H. and Suzumori, K.: Expression of secretory leukocyte protease inhibitor in ovarian endometriomas and eutopic endometrium of women with endometriosis. *Fertil. Steril.*, 72, 857-867 (1999)
9. Ijichi, H., Tanaka, T., Nakamura, T., Yagi, H., Hakuba, A. and Sato, M.: Molecular cloning and characterization of a human homologue of TBPIP, a BRCA1 locus-related gene. *Gene*, 248, 99-107 (2000)
10. Nagano, T., Nakamura, A., Konno, D., Kurata, M., Yagi, H. and Sato, M.: A2 Pancortins (Pancortin-3 and -4) are the dominant Pancortins during neocortical development. *J. Neurochem.*, 75, 1-8 (2000)
11. Keng, V.W., Yagi, H., Ikawa, M., Nagano, T., Myint, Z., Yamada, K., Tanaka, T., Sato, A., Muramatsu, I., Okabe, M., Sato, M., and Noguchi, T.: Homeobox gene Hex is essential for onset of mouse embryonic liver development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1276(3): 1155-1161.
12. Tanaka, M., Miyoshi, J., Ishizaki, H., Togawa, A., Endo, K., Matsubara, K., Mizoguchi, A., Nagano, T., Sato, M., Sasaki, T. and Takai, Y.: Role of Rab3 GDP/GTP exchange protein in synaptic vesicle trafficking at the mouse neuromuscular junction. *Mol. Biol. Cell*, 12, 1421-1430 (2001)
13. Takamura, Y., Yagi, H., Hase, K., Yoneda, T., Maeda, M., Akagi, Y. and Sato, M.: JDD1, a novel member of Dna J family, expressed in the germinal zone of the rat brain. *BBRC.*, 285, 387-392 (2001)
14. Suzuki, F., Taniguchi, T., Nakamura, S., Akagi, Y., Kubota, C., Sato, M. and Muramatsu, M.: Distribution of alpha-1 adrenoceptor subtypes in RNA and protein in rabbit eyes. *Br. J. Pharmacol.*, 135, 600-608 (2002)

細胞内信号伝達グループ

(1) 論文発表

1. Goshima Y., et al., A novel action of collapsin: collapsin-1 increases antero- and retrograde axoplasmic transport independently of growth cone collapse. *J. Neurobiol.*, **33**, 316-328, (1997)
2. Nakamura, F., Goshima, Y., et al., Isolation of receptor clones by expression screening in *Xenopus* oocytes. *Methods Mol. Biol.*, **128**, 1-18 (1999)
3. Goshima Y., et al., Growth cone neuropilin-1 mediates collapsin-1/Sema III facilitation of antero- and retrograde axoplasmic transport. *J. Neurobiol.*, **39**, 579-589 (1999)
4. Nakayama T, Goshima Y, Misu Y and Kato T: Role of cdk5 and tau phosphorylation in heteromeric G protein-mediated retinal growth cone collapse. *J. Neurobiol.*, **41**, 326-339 (1999)
5. Goshima Y, Sasaki Y, Nakayama T, Ito T and Kimura T: Functions of Semaphorins in axon guidance and neuronal regeneration. *Jpn. J. Pharmacol.*, **82**, 273-279(2000)
6. Arimatsu N, Inagaki N, Chihara K, Menager C, Nakamura N, Amano M, Iwamatsu A, Goshima Y and Kaibuchi K.: Phosphorylation of collapsin response mediator protein-2 by Rho-kinase: evidence for two separate signaling pathways for growth cone collapse. *J. Biol. Chem.*, **275**, 23973-23980 (2000)
7. Fournier AE, Nakamura F, Kawamoto S, Goshima Y, Kalb RG and Strittmatter SM: Semaphorin3A enhances endocytosis at site of receptor-F-actin colocalization during growth cone collapse. *J. Cell Biol.*, **149**, 411-421(2000)
8. Ito, T., Kagoshima, M., Sasaki, Y., Li, C., Udaka, N., Kitsukawa, T., Fujisawa, H., Taniguchi, M., Yagi, T., Kitamura, H. and Goshima, Y. Repulsive axon guidance molecule Sema3A inhibits branching morphogenesis of fetal mouse lung. *Mech Dev.*, **97** (1-2), 35-45(2000)
9. Takemoto T, Sasaki Y, Hamajima, N, Goshima, Y, Nonaka M, Kimura H: Cloning and characterization of the *Caenorhabditis elegans* (CeCRMP/DHP-1 and -2; common ancestors of the CRMP and dihydropyrimidinase. *Gene*, **261**, 259-267 (2000)
10. Aizawa H, Wakatuki S, Ishii A, Moriyama K, Sasaki Y, Ohashi K, Sekine-Aizawa Y, Sehara-Fujisawa A, Mizuno K, Goshima Y and Yahara I: Phosphorylation of cofilin by LIM-kinase is necessary for semaphorin3A-induced growth cone collapse. *Nature Neurosci.*, **4**, 367-373 (2001)
11. Kagoshima M, Ito T, Kitamura H, Goshima Y.: Diverse gene expression and function of semaphorins in developing lung: positive and negative regulatory roles of semaphorins in lung branching morphogenesis. *Genes to Cells*, **6**, 559-571 (2001)
12. Lee S, Kim JH, Lee CS, Kim JH, Kim Y, Heo K, Ihara Y, Goshima Y, Suh PG, Ryu SH. Collapsin Response Mediator Protein-2 Inhibits Neuronal Phospholipase D2 Activity by Direct Interaction. *J Biol Chem.*, **277**, 6542-6549 (2002)
13. Goshima Y, Ito T, Sasaki Y, Nakamura F. Semaphorins as signals for cell repulsion and invasion. *J Clin Invest.*, **109**(8), 993-998 Review.(2002)
14. 佐々木幸夫、五嶋良郎、神経軸索ガイド分子の反発・誘引活性と細胞内機序、細胞骨格と細胞運動、竹縄忠臣編、2002年5月
15. Mitsui N, Inatome R, Takahashi S, Goshima Y, Yamamura H, Yanagi S. Involvement of Fes/Fps tyrosine kinase in semaphorin3A signaling. *EMBO J.*, **21**(13), 3274-3285 (2002)
16. Sasaki Y, Cheng C, Uchida Y, Nakajima O, Ohshima T, Yagi T, Taniguchi M, Nakayama T, Kishida R, Kudo Y, Ohno S, Nakamura F, Goshima Y. Fyn and Cdk5 mediate semaphorin-3A

signaling, which is involved in regulation of dendrite orientation in cerebral cortex. *Neuron*, 35(5), 907-920 (2002)

(2) 特許出願 (国内 1 件、海外 0 件)

日本特許出願

発明者名：五嶋良郎、佐々木幸生

発明の名称：新規合成可溶性蛋白質 sNP

特許出願番号、A011P5

出願の日付 平成 10 年 9 月 9 日

トランスジェニック動物作製グループ

(1) 論文発表

1. Nishii, K., Matsushita, N., Sawada, H., Sano, H., Noda, Y., Mamiya, T., Nabeshima, T., Nagatsu, I., Hata, T., Kiuchi, K., Yoshizato, H., Nakashima, K., Nagatsu, T., Kobayashi, K.: Motor and learning dysfunction during postnatal development in mice defective in dopamine neuronal transmission. *J. Neurosci. Res.*, 54, 450-464 (1998)
2. Kobayashi, K., and Nagatsu, T.: Mutant mice lacking the tyrosine hydroxylase gene and transcomplementation with the human genome: Ongoing prospects for human genetherapy. *Biogenic Amines*, 15, 1-20 (1999)
3. Kobayashi, K., and Sano, H.: Dopamine deficiency in mice. *Brain Dev.*, 22, 54-60 (2000)
4. Kobayashi, K., Noda, Y., Matsushita, N., Nishii, K., Sawada, H., Nagatsu, T., Nakahara, D., Fukabori, R., Yasoshima, Y., Yamamoto, T., Miura, M., Kano, M., Mamiya, T., Miyamoto, Y., and Nabeshima, T.: Modest neuropsychological deficits caused by reduced noradrenaline metabolism in mice heterozygous for a mutated tyrosine hydroxylase gene. *J. Neurosci.*, 20, 2418-2426 (2000)
5. Iwawaki, T., Kohno, K., and Kobayashi, K.: Identification of a potential Nurr1 response element that activates the tyrosine hydroxylase gene promoter in cultured cells. *BBRC.*, 274 (3), 590-595 (2000)
6. Usukura, J., Nishizawa, Y., Shimomura, A., Kobayashi, K., Nagatsu, T., and Hagiwara, M.: Direct imaging of phosphorylation-dependent conformational change and DNA binding of CREB by electron microscopy. *Genes to Cells*, 5, 515-522 (2000)
7. Kobayashi, K. and Nagatsu, T.: Transgenic rescue of Tyrosine hydroxylase-deficient mice: application for generating animal models with catecholamine dysfunction. In *Progress in Gene Therapy -Basic and Clinical Frontiers-* (ed., Bertolotti, R.) VSP, Utrecht, pp. 267-288 (2000)
8. Sawamoto, K., Nakao, N., Kobayashi, K., Matsushita, N., Takahashi, H., Kakishita, K., Yamamoto, A., Yoshizaki, T., Terashima, T., Murakami, F., Itakura, T., Okano, H.: Visualization, direct isolation, and transplantation of midbrain dopaminergic neurons labeled with a TH-GFP transgene. *PNAS*, 98, 6423-6428 (2001)
9. Kobayashi, K. and Yasoshima, Y.: The central noradrenaline system and memory consolidation. *Neuroscientist*, 7, 371-376 (2001)
10. Kobayashi, K. and Kobayashi, T.: Genetic evidence for noradrenergic control of long-term memory consolidation. *Brain Dev.*, 23, S16-S23 (2001)

11. Matsushita, N., Okada, H., Yasoshima, Y., Takahashi, K., Kiuchi, K., and Kobayashi, K.: Dynamics of tyrosine hydroxylase promoter activity during midbrain dopaminergic neuron development. *J. Neurochem.*, 82, 295-304 (2002)
12. 永津俊治、小林和人、鈴木竜世 (1998) ドーパミンレセプター研究の進歩、最新内科学大系 (井村裕夫ら編)、中山書店、pp. 14-28。
13. 小林和人、永津俊治:カテコールアミン関連酵素と受容体の欠損マウス、遺伝子治療開発研究ハンドブック (日本遺伝子治療学会編)、エヌ・ティー・エス、pp. 911-915 (1999)
14. 小林和人: 神経伝達物質としてのドーパミン、*Lisa*、7、pp.2-7 (2000)
15. 小林和人: ドーパミン欠損遺伝子変異マウスにおける脳機能障害、ドーパミン最新の話 (永津俊治編)、*Excerpta Medica*, pp. 18-31 (2000)
16. 小林和人: 免疫毒素による誘導的細胞ターゲティング・記憶研究への展望、脳の動態をみる: 記憶とその障害の分子機構 (高田明和、加藤武、中原大一郎、野村正彦編)、医学書院、pp. 207-215 (2001)
17. 佐野裕美、小林和人: ドーパミン神経伝達による大脳基底核機能制御の分子神経機構: マウス遺伝学からのアプローチ、脳の科学 (特集、大脳皮質—大脳基底核ループと運動制御)、星和書店、vol. 23, no. 12, pp. 1077-1085 (2001)
18. 小林憲太、貝淵弘三、小林和人: Rho GTPase シグナル伝達系による神経細胞の軸索パターン形成と生存の制御、自律神経、vol.39, no.1, pp.45-52 (2002)

(2) 特許出願 (国内 1 件、海外 0 件)

① 日本特許出願

発明者名: 岡野栄之、澤本和延、小林和人、松下夏樹

発明の名称: ドーパミン作動性ニューロンの濃縮・分離方法

特許出願番号: 2000-165150

出願の日付: 平成 12 年 6 月 1 日