

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「生物の発生・分化・再生」
研究課題
「網膜内領域特異化と視神系の発生・再生機構」

研究終了報告書

研究期間 平成13年12月～平成19年3月

研究代表者：野田昌晴

（自然科学研究機構

基礎生物学研究所 教授）

1 研究実施の概要

脳神経系の発生において、神経細胞同士が正確に連絡し合う神経回路がどのようにしてできるのか？ 神経回路は、神経細胞が誕生し、定位置に移動した後、伸長した軸索(axon)が、正しい標的部位の神経細胞とシナプスを形成するという段階を経てできあがる。神経回路成立の分子機構の研究において、トポグラフィックな投射(topographic projection)の系は最も良く使われてきた。Topographic projection はある領域の神経細胞の集団が、その2次元的な相対的位置関係を保った形式で標的領域の神経細胞集団と神経結合を形成するもので、網膜視蓋投射系を始めとして中枢神経系でよく見られる様式である。

我々は、視神経の topographic な投射の分子機構は、個体発生における網膜内領域特異化の分子機構と不可分の関係にあると考え、10 年余り前に RLCS 法等を使って、まず発生期のニワトリ網膜において A-P(前後)、D-V(背腹)軸方向に領域特異的に(勾配をなして)発現する分子を網羅的に同定する試みを行なった。その結果、53 の領域特異的発現を示す分子の同定に成功し、その中にはレチノイン酸合成酵素(RALDH-1, -3)、CBF1, 2 等の転写調節因子、Eph, ephrin, 受容体型 PTP, IgSF 分子等の膜分子、細胞骨格関連分子、Ventroptin 等の分泌分子、等の多様な分子群が含まれることを見出した(全分子について最近発表; *J. Neurobiol.* 59, 34-47, 2004)。次のステップとして、これらの個々の分子の機能を明らかにするとともに、相互の関係を解明する研究が急務となった。

本研究において、我々はまず、網膜内の領域特異化が起こる E2-E6 において領域特異的発現を示す分子群について、その詳細な発現解析と支配関係を明らかにすることを計画した。前後軸、背腹軸、それぞれについて、増殖因子、転写調節因子、膜分子という発現順序がうかがえたことから、これらの間の支配関係を明らかにする研究を実施した。本研究の結果、網膜の前後軸、背腹軸方向の領域特異化のための遺伝子カスケードが概ね明らかになった (*Development* 130, 5203-5215, 2003; *J. Neurosci.* 26, 10868-10878, 2006)。前後軸方向には Fgf8 CBF1/CBF2

SOHo1, GH6 ephrin-A5/EphA3 というカスケードが存在し、背腹軸方向には BMP4/VOPT BMP2/VOPT Tbx2,3,5/cVax ephrin-B1, B2/EphB2, B3, ephrin-A2 というカスケードが存在する(図 4 参照)。その中での特筆すべき発見は、背腹軸は、実際に視神経が投射を始める E6 から後方に傾斜し、投射が起こる時期には、前後軸に対して垂直ではないこと、この傾斜には、BMP4 から BMP2 への遺伝子発現の交替と CBF1 による BMP シグナルの抑制という、当初予想しなかったメカニズムが関与していること(*Development* 130, 5203-5215, 2003)、背腹軸方向の領域特異化は BMP シグナルが決定しており、これまで前後軸方向のトポグラフィック分子と思

われていた ephrin-A2 が、BMP の支配下にあり、E6 から傾斜する DV 軸方向の勾配分子であること、の 3 つが挙げられる。我々は後に、DNA マイクロアレイを用いて、マウス網膜において領域特異的発現を示す分子群の同定を試みたが、同定された分子は全て RLCS 法によってニワトリにおいて同定された分子群に含まれており、RLCS 法の優秀性を証明する結果となった。

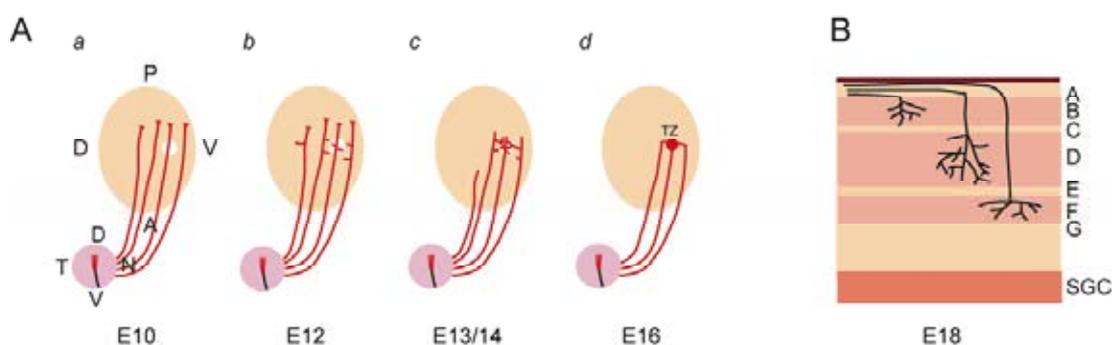
我々は、上記の領域特異的発現分子の中に、受容体型プロテインチロシンホスファターゼ (RPTP) が存在することに注目した。RPTP は線虫やショウジョウバエの遺伝学的研究から、神経軸索のナビゲーションに重要な役割を担うことが明らかになっていたが、その分子機構は不明であった。網膜視蓋投射においては視神経成長円錐に分布する Eph A/B の ephrin-A/B による活性化が領域識別の基盤であるが、我々は、RPTP の 1 つ、Ptpro が Eph を基質としており、ephrin による Eph の活性化を抑制することを見出した。更に、網膜視蓋投射系を用いて、Ptpro の活性を制御することによって *in vivo* の視神経の投射部位を人為的に変えうることを示した (*Nat. Neurosci.* 9, 761-769, 2006)。この研究によって、RPTP が受容体型プロテインチロシンキナーゼ (RPTK) を直接の基質とすることによって、投射に影響を与えていることが初めて明らかになった。我々は、網膜において領域特異的発現を示すもう 1 つの RPTP である Ptpu についても、既にその基質分子を明らかにしている (未発表)。

我々は軸索投射における RPTP 研究の重要性を認識し、研究手段の開発を含めて、詳細な研究を実施する必要性を感じることとなった。RPTP の研究は、RPTK の研究に比較して著しく遅れている。その理由は、リガンド分子の探索および基質分子の探索において、決定的と言える手法がないことにある。そこで我々は、従来から研究してきた Ptpz をモデルとして、PTP の基質分子同定法の開発に着手し、Yeast two-hybrid system を応用した Yeast substrate-trapping system の開発に成功した (*Methods* 35, 54-63, 2005; *Methods in Mol. Biol.* 365, 371-381, 2006)。この方法を用いて、Ptpz の基質分子と数多くの相互作用分子の同定に成功した。本法は PTP の substrate-trapping mutant (DA-mutant) を bait として用いるもので、DA-mutant は上記の Ptpro の基質分子の同定の際にも威力を発揮した。Ptpz は、Git1 (Arf-GAP) や p190 RhoGAP を基質とし、PSD-95 や MAGI-3 等の PDZ ドメインをもつ分子群と C 末で相互作用していることが明らかになった。Ptpz のリガンド分子としては、既に pleiotrophin, midkine といったヘパリン結合性の増殖因子を同定していたが、基質分子の同定によって、Ptpz はリガンドと基質分子が併せて判明した最初の RPTP となった。更に、基質が明らかになったことから、Ptpz はリガンドの結合によって不活化するという制御機構を有することを初めて明らかにすることができた (*FEBS Lett.* 580, 4051-4056, 2006)。Ptpz 遺伝子の欠損マウスの解析では、海馬 LTP や海馬依存性学習の異常が明らかになり (*J. Neurosci.* 25, 1081-1088, 2005; *Neurosci. Lett.* 399, 33-38, 2006)、上記の Ptpz

の基質分子や相互作用分子からも想定されるように、シナプス可塑性における Ptpz の役割が実証された。

また Ptpz の別の役割として、これが神経系以外にも、消化管の粘膜上皮細胞に発現しており、胃潰瘍の原因菌である *H. pylori* が分泌する VacA 毒素の受容体として機能していることを発見した(*Nat. Genetics* 33, 375-381, 2003)。これは、それまでの VacA が細胞空胞化によって細胞毒性を発揮しているという説を覆し、VacA が Ptpz の偽リガンド分子として誤ったチロシンリン酸化シグナルを発生し、細胞 - 基質間接着の弱体化を引き起こすことが胃潰瘍の原因であるという新しい説を提出した。本論文は第 9 回日本ヘリコバクター学会の最優秀賞に選ばれる等、国内外で高い評価を受けた。

ニワトリ網膜神経節細胞は、発生3日目(E3)後半になると軸索(視神経)を伸ばし始め、視交叉を経由して、E6 から E8 にかけて反対側の視蓋に到達する。視蓋上の最初の領域認識は EphA/B, ephrin-A/B の働きによって行なわれるが、ピンポイントで領域特異的とは言えない。網膜背側の視神経でいえば、大部分の軸索は将来の正常な投射位置(terminal zone, TZ)に対して、背腹軸方向にずれて(分散して)いるのみならず、前後軸方向には TZ をかなりの程度通過して停止している状況である(図 A, a)。次のステップとして、軸索は側枝を出し始め、二次元的に正しい TZ を探すことになる(図 A, b)。それとともに視蓋深部にも侵入を始める。視神経は最終的には視蓋の B,D,F の3つの層で終末分枝(arbor)を張ってシナプスを形成するが(図 B)、二次元的な位置関係において誤った位置に形成されたシナプスは、その後、退縮して除かれることになる(図 A, b-d)。この結果、正しい TZ に形成されたシナプスのみが残し、E16 頃までに topographic な投射が完成する(図 A, d)。



網膜視蓋投射の発生。網膜の背側領域から発した視神経が視蓋上で TZ を形成する過程(A)と完成した視神経シナプスを表わす視蓋断面図(B)

この意味で、分枝形成、シナプス形成、及び不必要な軸索や分枝の刈り込み(refinement: 選択的除去)が重要な step であるにもかかわらず、その研究は growth cone navigation の研究に

比較して遅れている。我々はニワトリ網膜において E8 以降を発現ピークとして領域特異的に発現する分子の中に、その発現を人為的に変化させた時、Eph-ephrin 系とは独立に、著しく異常な投射を引き起こす分子が存在することを見出した。この時視神経の視蓋上での走行には、分枝 (branching) が始まる E10 まで大きな異常がないことから、navigation の後に起こる軸索の分枝やシナプス形成、リファインメントのステップにおいて働いていると考えられる。本研究では、この範疇に入るいくつかの分子について研究を行った。

我々は、軸索の伸長・分枝に関与すると言われている CRMP ファミリー (CRMP1-4B) に、新規のアイソフォーム CRMP1-4A が存在することを見出した (*Eur. J. Neurosci.* 17, 2329-2343, 2003)。A, B のアイソフォームは互いに antagonistic に働いて軸索の伸長・分枝を制御していると思われる。新規免疫グロブリンスーパーファミリー分子、および leucine-rich repeat を有する新規分子についても、発現を人為的に変化させると、Eph-ephrin 系の分子の発現を変化させた時以上の影響を与えることが判明した。これらの分子は、視神経軸索の分枝、シナプス形成、リファインメントといったガイダンス後のステップにおいて働いていると推定されるが、その詳細な分子機構の解明には今少し時間を必要としている。また、EphB と ephrin-B は、軸索伸長制御だけでなく、軸索の分枝形成、更にシナプス可塑性を調節しているという知見が集積しつつある。我々が見出した Ptpro は、EphA だけでなく EphB も基質とすることから、両ステップにおける Ptpro の役割が注目される。

本研究では視神経の再生機構もその課題として取りあげた。視神経の再生能の点では動物種によって大きな違いが存在する。魚類では、鳥類、哺乳類と異なり、成体においても視神経切断後、軸索は完全に再生伸長し、正しい投射を再構築する。哺乳類においては、視神経は再生することなく網膜神経節細胞は死滅する。本研究では、キンギョにおいて視神経の再生を可能ならしめている分子機構を明らかにすることを計画した。そのために、再生期の網膜において特異的に発現する遺伝子の同定を試みた。キンギョとマウスの視神経を切断後、網膜において発現が変化する遺伝子群の網羅的解析を行ない、動物種間の違いを明らかにする。特に、キンギョにおいて特異的に、切断後、最初期に発現を開始 (あるいは停止) する神経再生のマスター遺伝子とも呼ぶべき分子の同定とその機能の解明を目指した。

視神経の再生機構研究については、基生研グループにおいて、独自に作製したキンギョの DNA マイクロアレイを用いて、視神経切断後、時間を追って発現が変化する遺伝子群のクラスター解析を行い、視神経再生に伴って発現が変化する遺伝子群を明らかにした。一方、マウスに関しても、市販及び独自に作製した DNA マイクロアレイを用いて同様の解析を行い、視神経切断によって発現が変化する遺伝子群を明らかにした。キンギョ、マウスともに時間経過に伴って

12 の異なる発現パターンに分類できることが明らかになった。cDNA シークエンスによってキンギョにおいて発現パターンの異なる分子群の同定を行なっているが、全体像の解明には今少しの時間が必要である。金沢大のグループでは、キンギョの視神経再生の初期、中期、後期に分けて発現が増加する分子を探索した。この結果、プルプリン (*J. Neurosci.* 24, 8346-8353, 2004)、トランスグルタミナーゼ (*Neuroscience* 142, 1081-1092, 2006)、GAP-43 等を見出し、詳細な解析を行なった。また、魚 (キンギョ、ゼブラフィッシュ等) の視神経再生状態を評価するための行動解析装置を開発した (*J. Neurosci. Methods* 134, 1-7, 2004)。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

A) 網膜における領域特異化の分子機構

ニワトリ網膜については、既に RLCS 法により、計算上 2 万以上の cDNA をスクリーニングしたことになる。その結果同定された、前後 (耳鼻) 軸方向に 33 分子、背腹軸方向に 20 分子、合計 53 の領域特異的分子について、その機能と相互の関係を明らかにする。個々の分子の *in vivo* における機能はレトロウィルスベクター等の発現ベクターを用いて cDNA を異所的に発現させる実験、あるいは、RNAi, Ribozyme, Morpholino 等のテクニックによって発現抑制をかけた時の、他の領域特異的発現分子の発現量や領域特異性の変化等を調べる。解析する分子は分泌因子、転写調節因子、標的認識に関わる分子、シグナル伝達に関わる分子、細胞骨格形成の調節に関わる分子等多岐に亘ることになる。従って、網膜の発生過程における領域特異化の分子機構として、E2-E6 にかけて発現する分泌因子 (成長因子)、転写調節因子、標的認識に関わるトポグラフィック膜分子に注目し、その遺伝子カスケードを前後軸、背腹軸、それぞれについて明らかにすることにする。特に、次の 、 の目標を達成することを目指した。

前後軸方向の領域特異化を支配する CBF1/CBF2 の下流分子の同定とその制御機構の解明

背腹軸方向では、BMP のアンタゴニストである Ventroptin が E5-E6 にかけて腹側特異的発現から腹前側方向へシフトする機構とその意味の解明

については、E6 以降に Ventroptin と pair を成す未知の BMP 分子の同定が必須となる。その後、この分子が BMP2 と判明したことから、BMP4 から BMP2 へスイッチする生理的意義ということになった。BMP2 固有の役割を明らかにするため、時期特異的遺伝子発現系の開発、また

BMP2 特異的遺伝発現制御系の開発が必要となった。ニワトリでは当初予定していた Ribozyme, Morpholino が無効であることが判明したため、ニワトリ U6 プロモーターによる shRNA 発現系を組込んだレトロウイルスによる抑制系を開発することにした。

また、マウス固有のシステムを同定するため、DNA microarray を用いて、マウス網膜の耳側 / 鼻側あるいは背側 / 腹側で発現量に差のある分子を探索する。この内の大部分はニワトリで同定した 53 分子のマウス相同分子であることが予想される。マウス固有の分子に着目して、その発現様式、分子機能を解析する。マウスにおける個々の分子の *in vivo* 機能の解析においては、主に KO マウスの作成と解析を行なう。また Cre-loxP システムを用いて網膜全体、網膜領域特異的に、発現の誘導、抑制を行なう実験も計画する。

B) 領域特異的神経結合形成の分子機構

ニワトリ網膜の RLCS 解析には E8 という時期を選んだことから、標的識別、軸索分枝、神経結合形成、更に結合の refinement に関わる分子群が含まれていることも期待できる。本研究で重点的に解析したい分子は以下のものである。

受容体型プロテインチロシンホスファターゼ(RPTP)

新規免疫グロブリン様分子

新規 CRMP 分子

細胞内骨格の合成・分解の調節に関わると思われる分子

の RPTP の研究において、Ptpro が EphA/B を基質とし、ephrin-A/B による Eph A/B の活性化を制御していることが明らかになった。従来 PTP は、PTK によってリン酸化された PTK の基質分子を逆に脱リン酸化することが役割と考えられてきた。この研究成果は、RPTP が RPTK 自身を基質とし、RPTK の自己リン酸化による活性化を抑制する働きをしていることを初めて示したものとなった。我々は RPTP 研究の重要性を再認識し、Ptporz をモデルにして、有用な PTP の基質分子同定法を開発することにした。また、Ptporz 遺伝子欠損マウスの異常表現型の解析を研究課題に加えた。

C) 視神経再生の分子機構

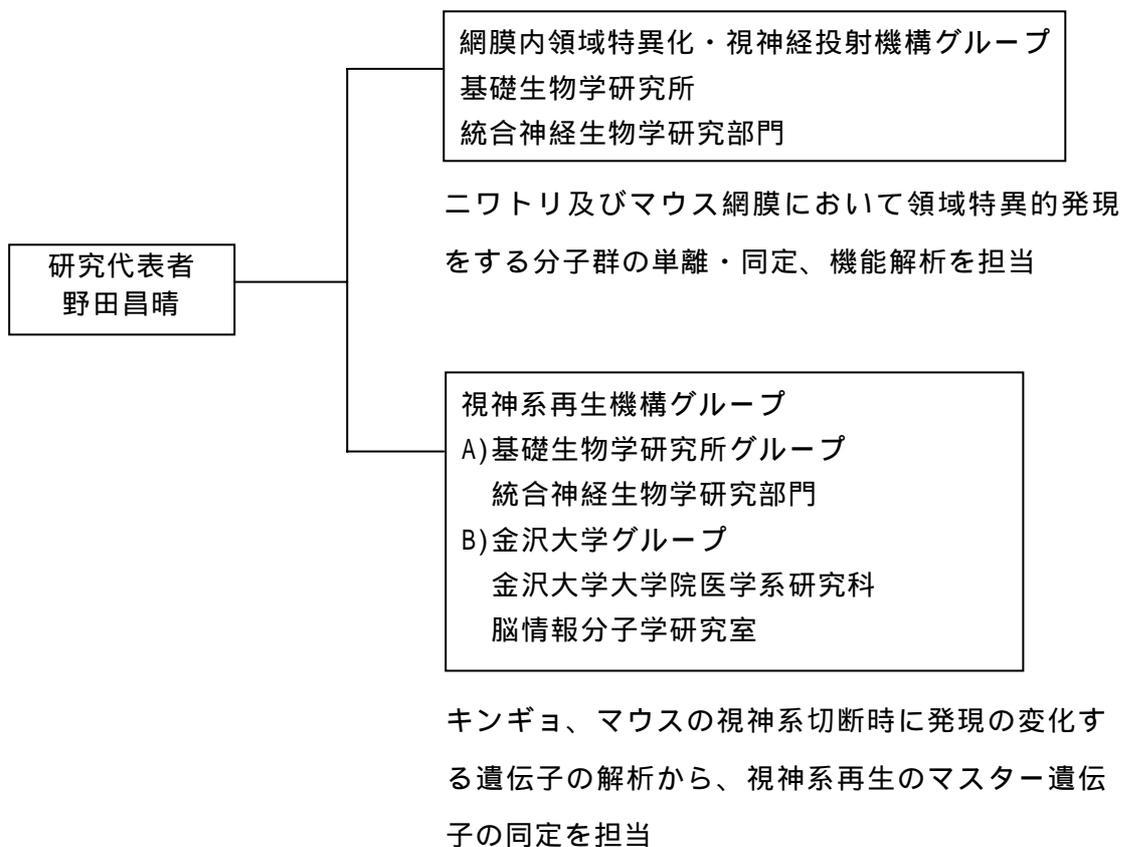
視神経再生能をもつキンギョにおいて、視神経切断後、発現が変化する分子を探索・解析してその分子機構を解析するとともに、再生能のないマウスとの違いを明らかにする。マウスでは既に、GeneChip が利用可能であるが、キンギョではこれがないため、EST データベースの作製から入る。キンギョの視神経切断後の網膜及びいくつかの発生時期の脳神経系の標準化 cDNA ライブラリ

ーを作製し、約5万のcDNAに対してまず一方向のシーケンス決定を行うことによって、約1万の独立ESTのデータベースの構築を目指す。次にDNA microarray作製を外注することによって、目的とする分子の探索を行なう。本研究では、切断数日後のキンギョとマウス間の違いを明らかにするとともに、キンギョにおいて早期に発現の上昇(あるいは下降)する分子を同定することを目指す(基礎生物学研究所グループ)。

この研究ではキンギョのDNA microarray作製のためのcDNAライブラリーのシーケンス、更に同定した陽性クローンの全長シーケンスに時間がかかるため、長期の研究期間が予想される。従って、キンギョにおいて視神経切断後、発現が大きく変化する遺伝子について、独立に、differential display等の手法で、候補分子の同定並びに機能解析を行なうことを計画する(金沢大学グループ)。

研究の過程で、哺乳類においても、免疫細胞を賦活化する条件下で視神経切断を行なうと、再生能が向上するという報告が現れたため、この条件下で活性化される遺伝子の同定も研究の視野に入れることとした。

(2) 実施体制



3 研究実施内容及び成果

3.1 網膜内領域特異化・視神経投射機構グループ(基礎生物学研究所)

(1) 研究実施内容及び成果

ニワトリ網膜について、既に RLCS 法により同定された、前後軸方向に 33 分子、背腹軸方向に 20 分子、合計 53 の領域特異的分子の機能と相互の関係を解析した。53 分子は発現パターンおよび分子構造から、A) 網膜における領域特異化、もしくは、B) 視神経投射における領域特異的神経結合形成のいずれかにおいて機能していると考えられるため、これら 2 つのカテゴリーに分けて研究を行った。個々の分子の *in vivo* における機能はレトロウイルスベクター等の発現ベクターを用いて cDNA を異所的に強制発現させたとき、あるいは、RNAi 等を用いて発現抑制をかけたときの、他の分子の発現量や領域特異性の変化等を解析することによって行った。また、細胞レベルの機能を明らかにするため、初代培養細胞等における各分子の挙動や、機能修飾を行った分子を発現させたときの軸索の動態について、イメージング技術を用いた解析を行った。成果は以下の通りである。

A) 網膜における領域特異化の分子機構

CBF1 と CBF2 による前後軸方向の領域特異化の制御

前後軸方向において我々が発見した 2 つの winged-helix 型転写因子 chick brain factor1 (CBF1) および CBF2 は、それぞれ網膜の鼻側、耳側で領域特異的発現を示す。レトロウイルスを用いた異所的発現実験から、これらが、それぞれ網膜の鼻側、耳側の領域特異性を決定することを明らかにしていたが、その作用機序については不明であった。そこでエレクトロポレーション法を用いた遺伝子導入実験を行い、その結果、CBF1 の耳側網膜における異所的発現により CBF2 の発現は抑制され、逆に CBF2 の鼻側網膜における異所的発現により CBF1 の発現は抑制されることが明らかになった。これら 2 つの転写因子は、相互に抑制し合うことによって互いの発現部位を規定しているものと考えられる。さらに CBF1 の異所的発現により、鼻側網膜で特異的発現を示す SOHo1、GH6 および ephrin-A2、ephrin-A5 については発現領域の拡大が見られ、耳側網膜で特異的発現を示す EphA3 についてはその発現が抑制された。次に CBF1 の作用機構について検討した。CBF1 と even-skipped の転写抑制ドメインをつないだ抑制型コンストラクト、および CBF1 の DNA 結合部位に必須のアミノ酸残基を置換し DNA 結合能をなくした変異型コンストラクトを作成して、発生期網膜に導入し、野生型の CBF1 を異所的に発現させた場合と下流遺伝子の変化を比較検討した。その結果、CBF1 による下流遺伝子の制御機構は多様であり、

ephrin-A5 は転写抑制因子としての DNA 結合依存的な機構によって、ephrin-A2 は DNA 結合非依存的な機構によって、GH6、SOHo1、CBF2、EphA3 は両方の制御機構によって制御されることが判明した(図1)。この CBF1 の多様な制御機構こそが、前後軸方向の領域特異的発現分子の多様な発現勾配を生み出し、網膜内領域特異化の過程を保証しているものと考えられる。以上の結果から、CBF1、CBF2 は網膜の前後軸方向の網膜領域特異化の遺伝子カスケードのトップにあって、これらの相互作用によって網膜の前後軸が決定していることが明らかとなった。

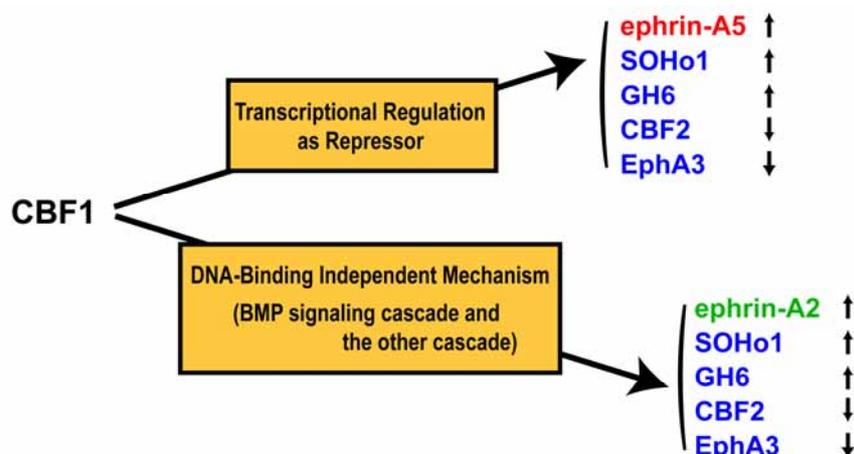


図1 CBF1による下流遺伝子の発現制御機構

CBF1による下流遺伝子の発現制御機構はそれぞれ異なっており、ephrin-A5はDNA結合依存的な機構によって、ephrin-A2はDNA結合非依存的な機構によって、SoHo1, GH6, CBF2, EphA3については2つの制御機構のどちらによっても制御される。これら2つの経路のどちらでも、Eph-ephrinシステムの発現が1セットとして維持されている。

BMP4、BMP2及びVentroptinによる背腹軸方向の領域特異化の制御

背腹軸方向において、発生初期網膜において腹側特異的に発現する新規 BMP 中和分子 Ventroptin を見出した。Ventroptin が背側で発現する BMP4 の活性を調節することにより背腹軸を決定することを明らかにしていた。発生が進行すると BMP4 の発現は急速に消失していくが、これに伴い Ventroptin は背腹軸ばかりではなく前後軸方向においても勾配を持つようになり、発生6日目以降、本来の背腹軸に対して傾いて発現するようになる。Ventroptin の過剰発現により、背腹軸方向ばかりではなく前後軸方向においても網膜視蓋投射が変化することから、発生6日目以降の網膜において Ventroptin と相補的に発現する何らかの BMP ファミリー分子が存在し、Ventroptin は、この分子の活性を調節することにより前後軸方向における網膜視蓋投射をも制御することが推測された。本研究において、まず Ventroptin が傾斜して発現している発生8日目のニワトリ網膜において発現する BMP ファミリー分子の同定を試み、BMP2、BMP4、BMP7、

GDF5、GDF6、GDF7 の 6 種類が発現していることを明らかにした。次に、これら BMP ファミリー分子の発生 8 日目のニワトリ網膜における発現パターンを *in situ* hybridization によって解析したところ、BMP2 のみが Ventroptin と相補的な発現パターンを示すことが判明した。また BMP2 の発現開始時期は Ventroptin の発現が後方に傾斜を始める時期と一致していた。さらに BMP2 を網膜において異所的に発現させると、Ventroptin の場合とは逆に ephrin-A2 の発現が減少した。以上のことは、発生後期網膜において Ventroptin と拮抗する BMP ファミリー分子の実体が BMP2 であることを示している(図 2)。

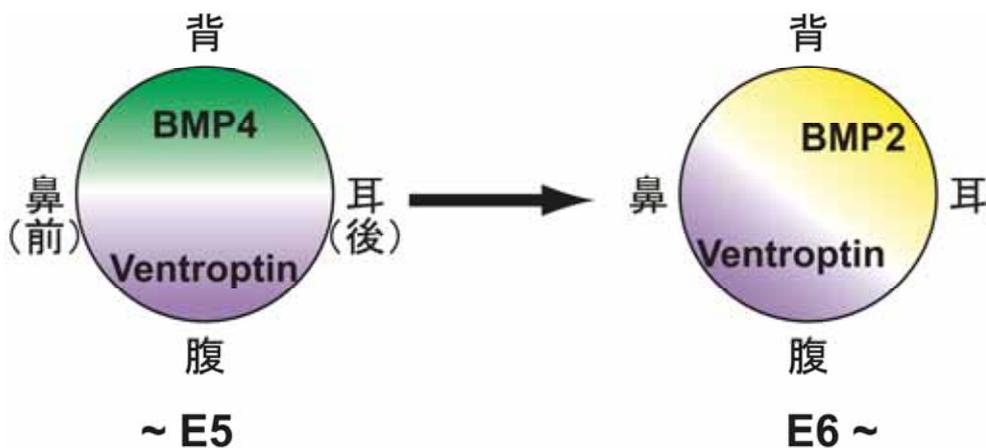


図 2 BMP4 から BMP2 へのスイッチング

発生の進行に従い BMP4 の発現は消失し、発生 6 日目以降では、これに代わって BMP2 が発現するようになる。BMP2 と Ventroptin は、本来の背腹軸に対して後方に傾いて発現する。

次に BMP2 や Ventroptin が本来の背腹軸に対して傾いて発現することの意味を調べるため、RNA 干渉を用いた特異的遺伝子発現抑制系や薬剤による時期特異的発現誘導系の開発を行い、発生網膜において BMP2 の発現レベルを人為的に変化させ、その影響を検討した。BMP2 の発現を抑制すると、網膜背側で発現する Tbx2、Tbx3、Tbx5、ephrin-B1、ephrin-B2 の発現が減少し、腹側で発現する Ventroptin、cVax、EphB2、EphB3 の発現領域が背側へ拡大した。また、驚くべくことに、網膜鼻側で発現する ephrin-A2 の発現も増加していた。これに対して、CBF1、CBF2、GH6、SOHo1、ephrin-A5、EphA3 といった ephrin-A2 以外の前後軸における領域特異的分子の発現パターンには変化が見られなかった。発生後期(発生 6 日目以降)に BMP2 を異所的に発現させた場合では、BMP2 の発現抑制の場合とは逆に、Tbx2、Tbx3、Tbx5、ephrin-B1、ephrin-B2 の発現領域が腹側へと拡大し、Ventroptin、cVax、EphB2、EphB3、ephrin-A2 の発現が減少した。また BMP2 の発現抑制の場合と同様に CBF1、CBF2、GH6、SOHo1、ephrin-A5、

EphA3 の発現パターンは変化しなかった。以上の結果から、背腹軸における領域特異的分子のすべてと ephrin-A2 が BMP2 シグナルの支配下にあることが明らかとなった。また BMP2 支配下の領域特異的分子はすべて、BMP2 や Ventroptin と同様に、発生 6 日目以降、本来の背腹軸に対して傾いた勾配を持って発現するようになることも判明した。さらに、BMP2 の発現抑制 (図 3) や、BMP2 の下流分子である ephrin-A2 の過剰発現により、背腹・前後の両軸方向において網膜視蓋投射が変化することも明らかとなった。以上の結果は、BMP4 から BMP2 へのスイッチングに伴い、背腹軸そのものが傾くため、直行しない 2 つの軸によって網膜視蓋投射が制御されていることを示している。

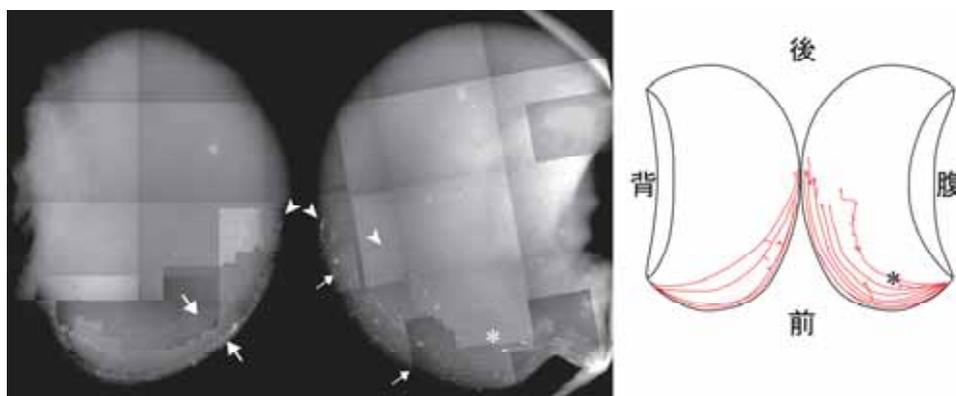


図 3 BMP2 発現抑制時の網膜視蓋投射

網膜における BMP2 の発現を RNAi により抑制した。胎仔の背耳側視由来の少数の視神経軸索を蛍光色素の DiI を用いて標識し、視蓋における神経投射を解析した。視神経軸索は正常な投射位置(星印)を行き過ぎ、視蓋中ほどまで到達していた(矢頭)。また、大部分の視神経軸索は視蓋背側にシフトしており(矢印小)、その一部は本来投射するはずのない背側視蓋へと投射していた(矢印大)。

以上のように本研究により網膜における軸形成と、それに続くパターン形成の遺伝子カスケードの全容が明らかとなった(図4)。前後軸および背腹軸方向における投射は、従来、独立に制御されていると考えられてきた。しかしながら、我々の解析により、BMP2 と Ventroptin が背腹軸を後方に傾斜させることにより前後・背腹両軸方向における投射を制御することが明らかになった。さらに、BMP2 と Ventroptin が本来の背腹軸に対して傾斜して発現するのは、これまで前後軸方向における領域特異性の決定と網膜視蓋投射のみを制御すると考えられていた CBF1 の BMP シグナル阻害活性によることも明らかになった。これらの事実は、前後軸および背腹軸方向における領域特異性が、従来考えられていたように独立にではなく、協調的に進行することを示している。また、これまで1つのトポグラフィック分子の発現を網膜において変化させたとき、視神経の

視蓋での投射が前後・背腹の両方向に変化することが確認されていたが、背腹軸の傾斜によって視神経の投射時には両軸が直交していないという今回の知見は、この実験結果を証明するものである。

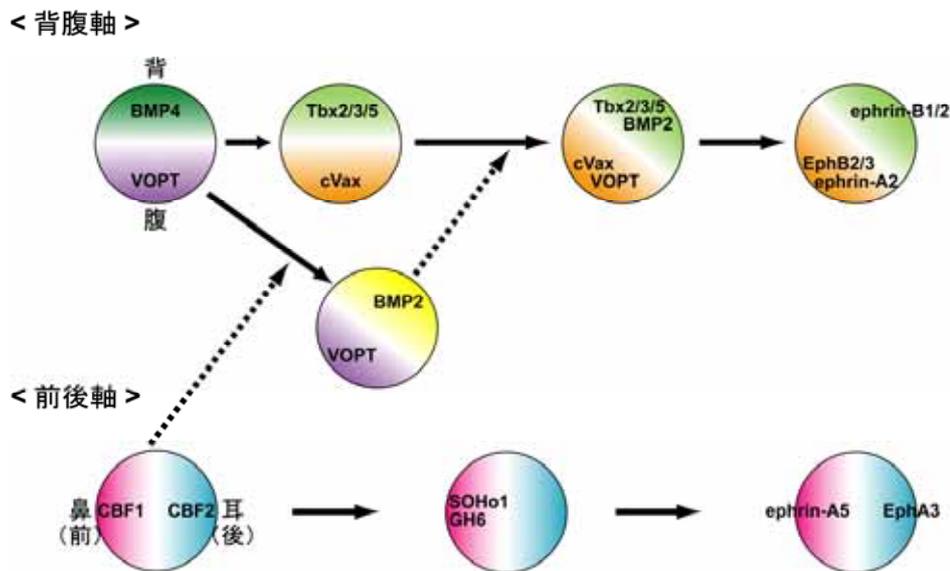


図4 網膜における軸形成およびパターン形成の遺伝子カスケード

網膜の発生初期において、CBF1 と CBF2 の相互作用により前後軸が決定する。一方、BMP4 と Ventroptin (VOPT) の相互作用により背腹軸が決定する。発生の進行に従い、BMP4 から BMP2 へのスイッチングが起こる。このとき BMP2 と Ventroptin は本来の背腹軸に対して後方に傾いて発現するようになるが、これは CBF1 によって BMP シグナルが抑制されることによって誘導される。BMP2 と Ventroptin の相互作用により、後方に傾いた背腹軸方向の領域特異化が生じ、最終的に ephrin-B1,B2 や EphB2,B3, ephrin-A2 等の軸索ガイダンス分子の領域特異的な発現が誘導される。一方、CBF1 と CBF2 によって生じた前後軸方向の領域特異化の結果、ephrin-A5 や EphA3 等の軸索ガイダンス分子の領域特異的な発現が誘導される。最終的に軸索ガイダンス分子の働きによって、前後軸・背腹軸両方向における網膜視蓋投射が制御される。

B) 領域特異的神経結合形成の分子機構

受容体型プロテインチロシンホスファターゼ Ptpro(CRYP-2)

視神経の領域特異的な神経結合形成には、受容体型プロテインチロシンキナーゼの Eph 受容体が必須の役割を果たすことが知られている。Eph 受容体は構造上の相同性から、A タイプ (EphA) と B タイプ (EphB) に分けられ、リガンドである ephrin (ephrin-A もしくは ephrin-B) が結合すると自己リン酸化することにより活性化する。しかしながら、Eph 受容体を不活化するのに必須である Eph 受容体を基質とするタンパク質チロシンホスファターゼ (PTP) については不明であった。

受容体型プロテインチロシンホスファターゼの protein tyrosine phosphatase receptor type O (Ptpro/CRYP-2)は、網膜の耳側で高く鼻側で低い発現を示すため、特異的な基質分子の脱リン酸化を通じて領域特異的の神経結合形成に参与していることが推測された。我々は、新たに Ptpro が EphA と EphB の両受容体を基質として脱リン酸化することを見出した。Ptpro には、ephrin 刺激、あるいは自己集積による Eph 受容体の活性化を抑制する機能があることが判明した。生化学的な解析により、Ptpro は Eph 受容体の活性化においてトリガーとして必須の役割をしている膜近傍のリン酸化チロシン残基を特異的に脱リン酸化することにより、Eph 受容体の活性化を抑制することが明らかになった(図5)。

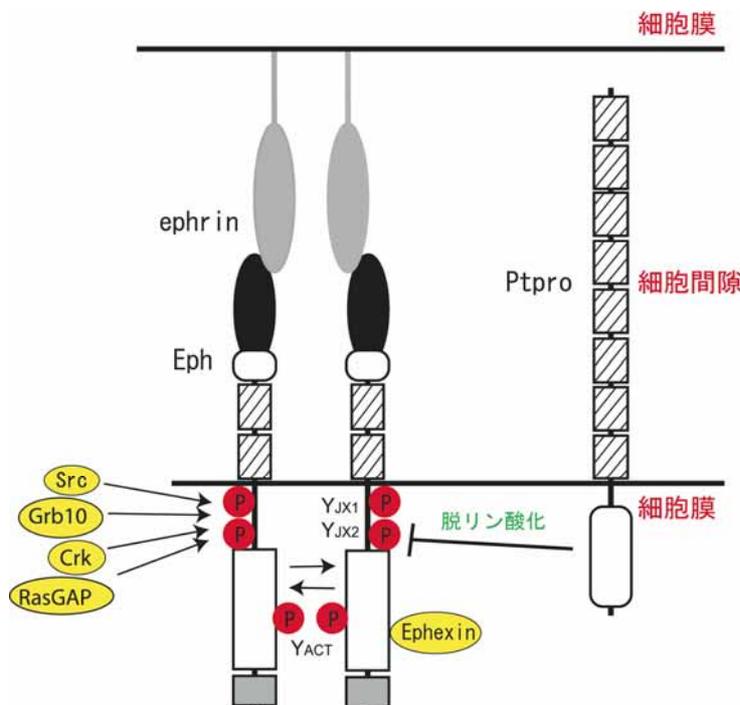


図5 Ptpro による Eph の制御機構の模式図

Eph にリガンドである ephrin が結合すると、Eph は、まず細胞膜近傍の2つのチロシン (Y_{JX1} と Y_{JX2}) を自己リン酸化する。これがトリガーとなって Eph は、酵素活性を担う領域のチロシン (Y_{ACT}) がリン酸化され、活性化する。同時に、リン酸化された Y_{JX1} と Y_{JX2} には様々な情報伝達分子 (Src, Grb10, Crk, RasGAP 等) が結合し、Eph に特異的な様々なシグナルが生じる。Ptpro は Eph の Y_{JX2} のリン酸を除去することにより、Eph の活性化を抑制する。

さらに、領域特異的の神経結合形成における Ptpro の機能を明らかにするために、野生型及びドミナントネガティブ型の Ptpro を発現するコンストラクトを網膜神経節細胞に導入し、軸索の挙動を *in vitro* 及び *in vivo* において解析した。網膜における Eph の発現量 (活性) は、耳側で高く鼻側で低い。一方、リガンドの ephrin は視蓋の後側で高く、前側で低い勾配を示す。このため、耳

側の視神経は ephrin に強く反応し、この結果視蓋の後側には侵入できない。鼻側の視神経は ephrin に対する反応性が低く、視蓋の後側に投射する。網膜の器官培養系を用いた *in vitro* の解析において、野生型 Ptpro の過剰発現により耳側視神経軸索の ephrin に対する反応性の低下が観察された。逆に、ドミナントネガティブ型の Ptpro を発現させると、鼻側視神経の ephrin に対する反応性の上昇(獲得)が観察された(図6)。

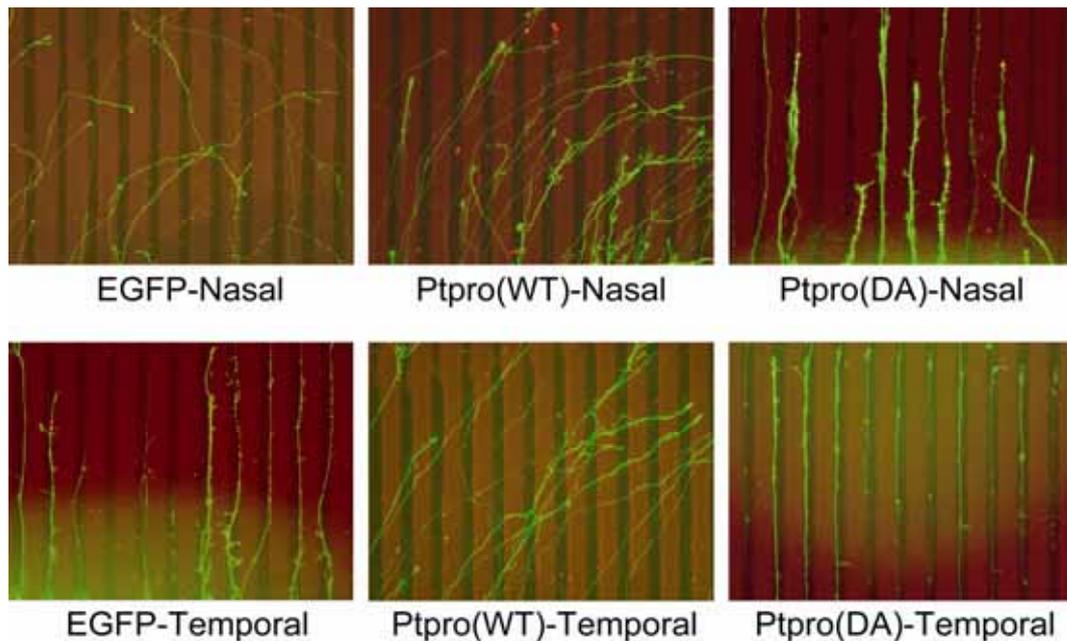


図6 Ptpro による視神経軸索の ephrin に対する反応性の変化

Ephrin-A2 を用いた stripe assay。EGFP のみを発現させたコントロールの耳側視神経は (EGFP-Temporal) Eph が高発現しているため ephrin-A2 に対する反応性が高く、ephrin-A2 が塗布された赤色の領域内には進入できない。ここに、野生型の Ptpro を過剰発現させると (Ptpro(WT)-Temporal) Eph の活性化が抑制され、ephrin-A2 に対する反応性が減少することにより、ephrin-A2 が塗布された赤色の領域内に進入できるようになる。一方、EGFP のみを発現させたコントロールの鼻側視神経は (EGFP-Nasal) Eph の活性が低いため、ephrin-A2 が塗布された赤色の領域内に進入して伸長できる。ここにドミナントネガティブ型の Ptpro を強制発現させると (Ptpro(DA)-Nasal) Eph の活性化が亢進し、ephrin-A2 に対する反応性が上昇することにより、ephrin-A2 が塗布された赤色の領域内に進入できなくなる。

さらに同様の発現コンストラクトを用いて、個体レベルにおける解析を行ったところ、野生型 Ptpro の過剰発現により耳側視神経が視蓋の正常な投射位置を通り過ぎて、後側まで侵入するのが観察された。また、ドミナントネガティブ型 Ptpro の発現により、鼻側視神経が本来の投射位置より手前で停止することが観察された。さらに、Ptpro に特異的な shRNA を網膜に発現させ、

内在性の Ptpro の発現を抑制した場合の影響を解析した。すると、ドミナントネガティブ型の Ptpro を強制発現させた場合と同様に、鼻側視神経が本来の投射位置より手前で停止することが観察された。以上の結果から、Ptpro は Eph の活性を負に制御することにより、領域特異的神経結合形成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

受容体型プロテインチロシンホスファターゼ Ptporz

Ptporz の基質分子の同定及び活性制御機構:我々は、受容体型 PTP(RPTP)の多くにおいて基質分子が同定されていない状況を打破するために、原理上すべての PTP に応用可能な PTP の基質分子探索法、Yeast substrate-trapping system の開発を行った(Kawachi, H., *et al.*, PNAS, 2001; Fukada *et al.*, Methods, 2005)。Ptporz の細胞内領域(DA ミュータント)をベイトに本法を用いて得られたクローンは、チロシンリン酸化に依存して結合性を示す基質候補分子と、恒常的に結合する分子に分けることが可能である。前者については、Ptporz が特異的に脱リン酸化することを確認した。

これら基質分子の機能を簡単に述べると、Git1 は細胞内小胞輸送に関わる低分子量 GTP 結合タンパク質 Arf に対する GAP であり、細胞裏打ちタンパク質の paxillin を細胞接着斑から遊離させて細胞 細胞外マトリックス間の接着を弱めることが知られている。p190 RhoGAP は、低分子量 GTP 結合タンパク質の Rho に対する GAP であり、Rho は、Rho キナーゼ(ROCK)、Rhotekin、Citron、p140mDia を介してアクチン細胞骨格系を制御し、細胞-基質間接着、細胞移動、神経突起形成や神経可塑性などに関わる。最近、この Rho/ROCK シグナルに対して Git1 が負の調節因子であることが示されていた。PIST は、2つの coiled-coil モチーフと一つの PDZ ドメインをもつが、Ptporz との結合は、チロシンリン酸化依存的であり、PDZ ドメインを介する相互作用は検出されていない。トランスゴルジ網に多く集積し、膜輸送や自食作用への関与が指摘されている。Magi-1 は1つの guanylate kinase ドメイン、2つの WW モチーフ、そして6つの PDZ ドメインをもつ。Ptporz との結合には、チロシンリン酸化依存的な相互作用と、PDZ ドメインを介した相互作用の両方の関与が検出された。Magi-1 は細胞間連結装置の一つ接着結合に集積し、裏打ちタンパク質として機能する分子である。

このように、Yeast substrate-trapping system により単離した分子は、基質分子(Git1, p190 RhoGAP)、基質分子と PDZ ドメインを介して結合分子足場タンパク質としての性質を併せ持つ分子(Magi-1, PIST)、PDZ ドメインを介する恒常的な足場タンパク質(PSD95, Magi-3, syntrophin など)、そして、そのいずれにも属さないものに大別された(図7a)。この結果は、細胞や組織内によっては Ptporz が基質分子である Magi-1 や syntrophin のような足場タンパク質と分子複合体を

形成して機能している可能性を示唆した。また Git1 及び p190 RhoGAP に関しては、図 1b に示す様に、Ptpz の担うシグナルを様々な細胞機能に結びつける上で中心的な役割が想定される (図 7b)。

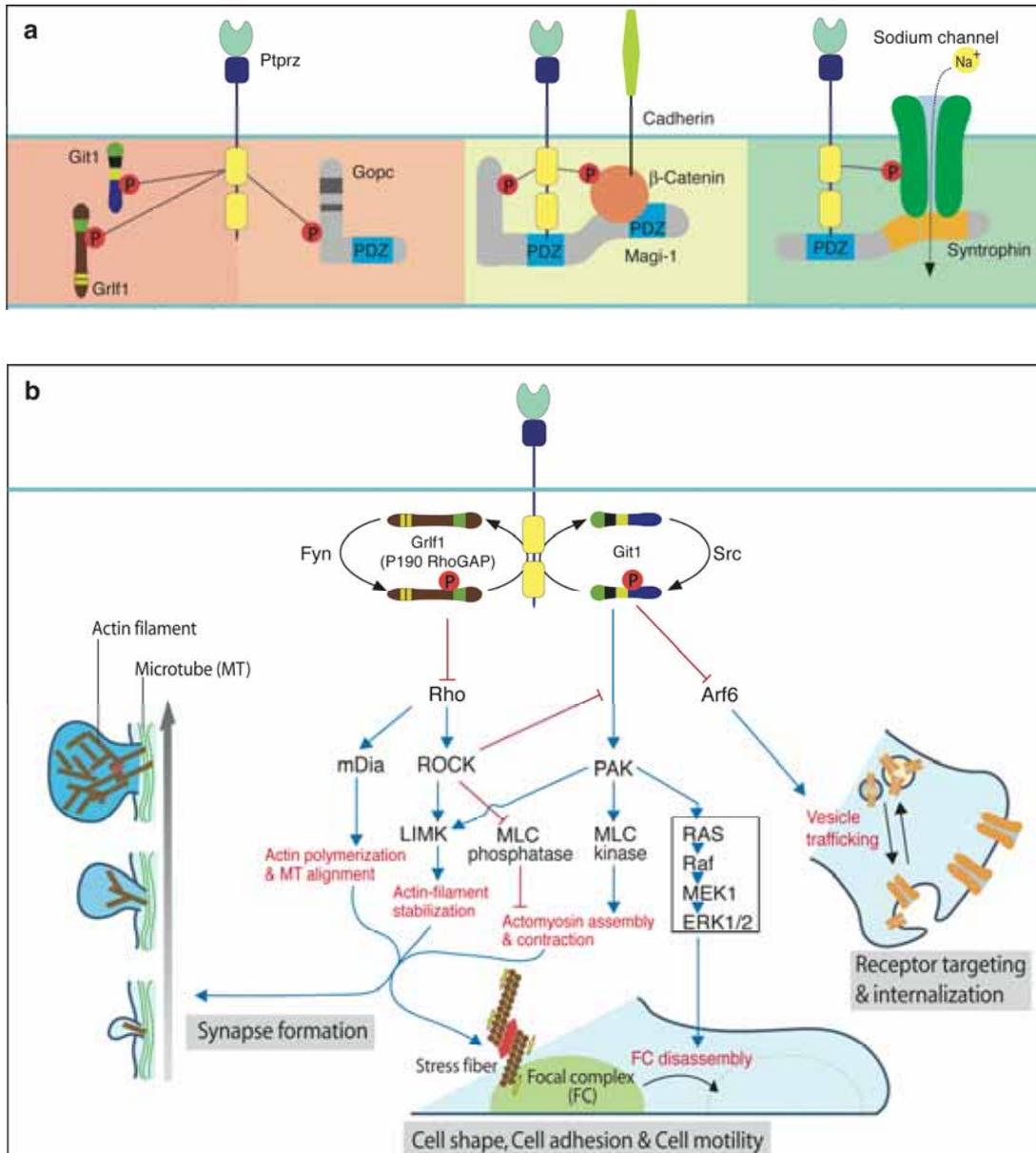


図 7 Ptpz の多様なシグナルカスケード

- (a) Ptpz の基質分子と細胞内結合分子(PDZ ドメイン含有タンパク質)の相互関係の多様性。
 (b) Git1 及び p190 RhoGAP を介した Ptpz シグナル伝達とその生理機能についての想定図。

RPTP 活性の制御機構として、受容体型チロシンキナーゼのそれと類似した、2量体形成による相互抑制モデルが提唱されていたが、完全な証明は行なわれていなかった。その大きな理由は、これまで低分子可溶性リガンドと基質分子が、揃って同定された RPTP が存在していなかったためである。我々は、Ptpzr に関して pleiotrophin(18kDa)という可溶性リガンドを同定していた。今回、基質分子が明らかになったことにより、実験的検証が可能となった。Ptpzr を強制発現させた培養細胞を用いて、pleiotrophin 刺激、人工的架橋剤、また Ptpzr の細胞外領域に対する特異抗体、いずれの場合においても Ptpzr のクラスター化と複数の基質分子(Git1 及び Magi1)のリン酸化レベルの上昇が相関して起こることを明らかにした。これは、内因性リガンドによって、RPTP の複合体が生成され、PTP シグナルが不活性化することを示した最初の報告である。

高次脳機能： Ptpzr の強く発現する領域の一つ海馬において、記憶・学習能力の生後発達(成熟)との関係を見いだした。既に当研究室で作出していた *Ptpzr* 遺伝子欠損マウスをモリス水迷路テストを用いて、学習能力を解析した結果、比較的若い 10 週齢以下では野生型マウスと同レベルであるが、完全に成熟した *Ptpzr* 欠損マウスの学習能力は、同齢の野生型に比べて低下していることが判明した。この行動解析の結果に相関し、成熟した *Ptpzr* 欠損マウスの海馬 CA1 領域における長期増強(LTP)が、野生型に比べて亢進しているという電気生理学的な知見が得られた。また成熟した *Ptpzr* 欠損マウスの LTP では、飽和レベルの亢進も認められた。

Fyn チロシンキナーゼ欠損マウスでは、*Ptpzr* 欠損マウスとは対称的に、海馬 LTP レベルが 10 週齢以降から低下すると報告されている。Fyn と Ptpzr は共通する基質分子のリン酸化・脱リン酸化を介して成熟後の海馬機能に関与する可能性が示唆された。Yeast substrate-trapping system では、Fyn によってリン酸化される p190 RhoGAP が Ptpzr の基質分子として同定されており、p190 RhoGAP の下流の Rho/ROCK 系は細胞骨格の制御を介して神経シナプス形成との関与が報告されている。我々の解析では、ROCK の阻害剤 Y-27632 によって *Ptpzr* 欠損マウスの異常な LTP 亢進分がキャンセルされることが確かめられた。

成熟した *Ptpzr* 欠損マウスの海馬学習能力の低下は、モリス水迷路以外にも状況恐怖条件付け学習試験によっても確認された(図 8a)。状況恐怖条件付け学習時の海馬における p190 RhoGAP のチロシンリン酸化を解析した結果、野生型マウスの海馬では、学習刺激によって p190RhoGAP のリン酸化が有意に低下したが、同条件下の *Ptpzr* 欠損マウスでは、そうした変化は認められなかった(図 8b)。p190 RhoGAP には複数のチロシン残基がリン酸化されることが知られていたが、Ptpzr は 1105 番目のチロシンリン酸化を特異的に脱リン酸化し、このチロシン残基のリン酸化が GAP 活性の亢進に働くことを明らかにした。我々は、この 1105 番目のチロシン残基のリン酸に対する特異抗体を調製し、学習刺激によって野生型マウスの海馬においてのみシグ

ナルの低下を確認した(図8b)。神経シナプス可塑性の制御におけるチロシンリン酸化の重要性は知られていたが、本結果は、成熟海馬の記憶・学習に、Ptpz(Fyn) p190 RhoGAP Rho ROCK 系が関与し、成熟に伴って制御分子のスイッチングなどのダイナミックな変化が起きる可能性を示している。

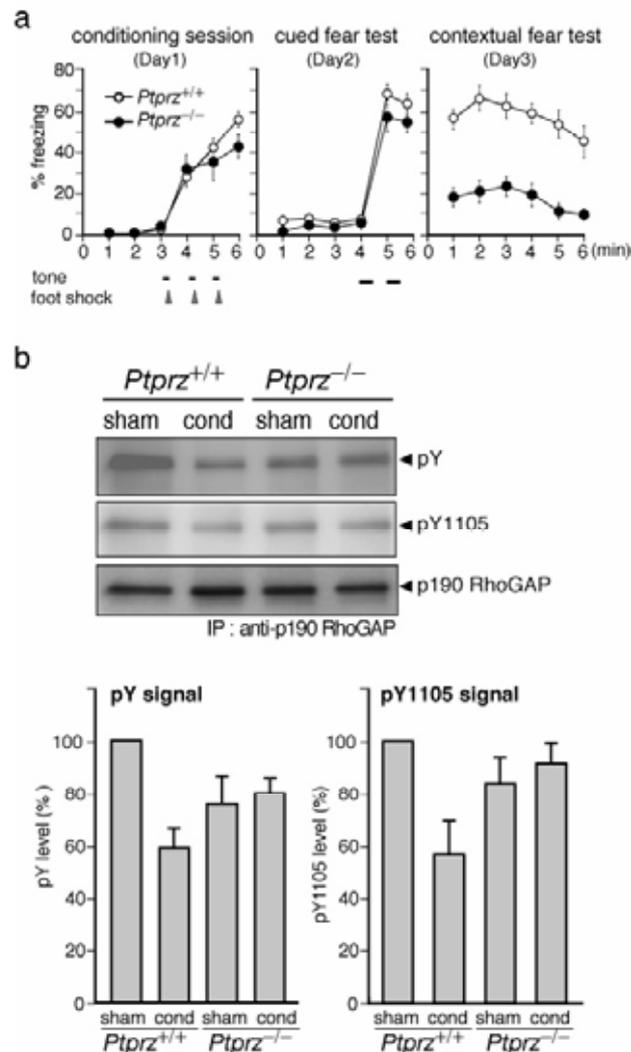


図8 海馬依存性学習時における p190 RhoGAP のリン酸化変化

(a) 初日: コンディショニングチャンバーにおいて、電気ショック(foot shock)と同時に、音(tone)刺激を与える。両マウス間のフリージング応答に差異はない。2日目: 初日とは違う環境下にマウスを置き、4及び5分後に音刺激のみを与える。音刺激を手掛かりにした条件付け学習(扁桃体のみが関与)には差異は認められない。3日目: 初日のコンディショニングチャンバーの環境下では、Ptpz 欠損マウスのフリージング応答は有意に減少している(扁桃体及び海馬の両方が関与)。

(b) 条件付け刺激 1 時間後 (sham は電気刺激なし) の野生型マウスの海馬組織では p190RhoGAP のチロシンリン酸化レベルが有意に低下しているが、Ptpz 欠損マウスでは変化は認められない。Ptpz によって特異的に脱リン酸される 1105 番目のリン酸化チロシン特異抗体を用いても同様の結果が得られる。

上記に加えて、*Ptprz* 欠損マウスは新規環境に慣れにくい性質を示すことも判明している。これは新規物体に対する探索意欲が強い、もしくは新規物体に対する記憶形成が障害されている可能性を示している。この表現型は、覚せい剤(methamphetamine)の主要な標的分子であり、シナプス間隙に放出された dopamine (DA) の再取り込みを担う唯一の分子である dopamine transporter (DAT) の機能障害マウスの表現型と良く似ており、事実、*Ptprz* 欠損マウスは覚せい剤に対して低感受性を示した。また、*Ptprz* 欠損マウスの側坐核では、シナプトソーム画分において DAT 活性の低下が判明した。*Ptprz* は DA 神経において DAT 活性などプレ側シナプスの機能調節にも関与しているらしい(論文準備中)。

胃潰瘍：胃潰瘍の原因菌であるピロリ菌(*Helicobacter pylori*)は、細胞空胞化毒素 (VacA) という、培養細胞に空胞化現象を誘導するタンパク質毒素を分泌する。我々は、胃粘膜組織にも *Ptprz* が発現していることを確認した(図9a,b)。野生型マウスでは精製 VacA 毒素を経口投与 48 時間において、12 例中、全例において胃炎、胃潰瘍を発症したが、*Ptprz* 欠損マウスでは全例において、全く胃粘膜が損傷されないという、驚くべき結果を明らかにした(図9c)。

これまで VacA は、細胞表面上受容体に結合して細胞内に取り込まれた後、その細胞空胞化活性によって胃粘膜を傷害すると思われてきた。しかしながら、*Ptprz* 欠損マウスの胃粘膜細胞内には、野生型マウスと同等レベルに VacA が取り込まれ、加えて *Ptprz* 欠損マウス由来の上皮初代培養細胞においても、野生型細胞と同程度の細胞内空胞化が生じていたことから、細胞空胞化以外の作用によって胃粘膜は傷害されていると考えられた。更に *Ptprz* の内因性リガンドである pleiotrophin の経口投与によっても、VacA と同様に野生型マウス選択的に粘膜傷害が生じることから、胃粘膜傷害は *Ptprz* シグナル伝達の異常によると判断された。更に VacA 添加により、野生型の胃上皮初代培養細胞のみが再構成基底膜から剥離する現象を見だし(図9d)、*Ptprz* シグナルの異常によって細胞 細胞外マトリックス間の接着が弱体化し、これが粘膜傷害に繋がると考えられた。*Ptprz* の基質分子で細胞接着の制御に関わる *Git1* のチロシンリン酸化を解析したところ、VacA の *Ptprz* に対するリガンド作用が明らかになった。胃内壁は基底膜上に並んだ一層の胃上皮細胞シートで覆われているため、VacA 刺激によって上皮細胞シートが局所的にでも剥離すると、その箇所は胃酸やペプシン等の消化を受けて、潰瘍にまで発展するものと考えられる。

これに加えて、*Ptprz* 陽性の胃癌由来細胞株では、VacA 刺激によって MAP キナーゼの p38 及び ERK1/2 が活性化すること、VacA とは異なるピロリ菌の病原因子の一つであり、その発見当初より発がんとの関連性が指摘されていた CagA が、*Ptprz* の基質である *Git1* と複合体を形成することを見出した。このように *Ptprz* シグナル系の長期持続的な異常が胃における発がんに関

わっている可能性がある。

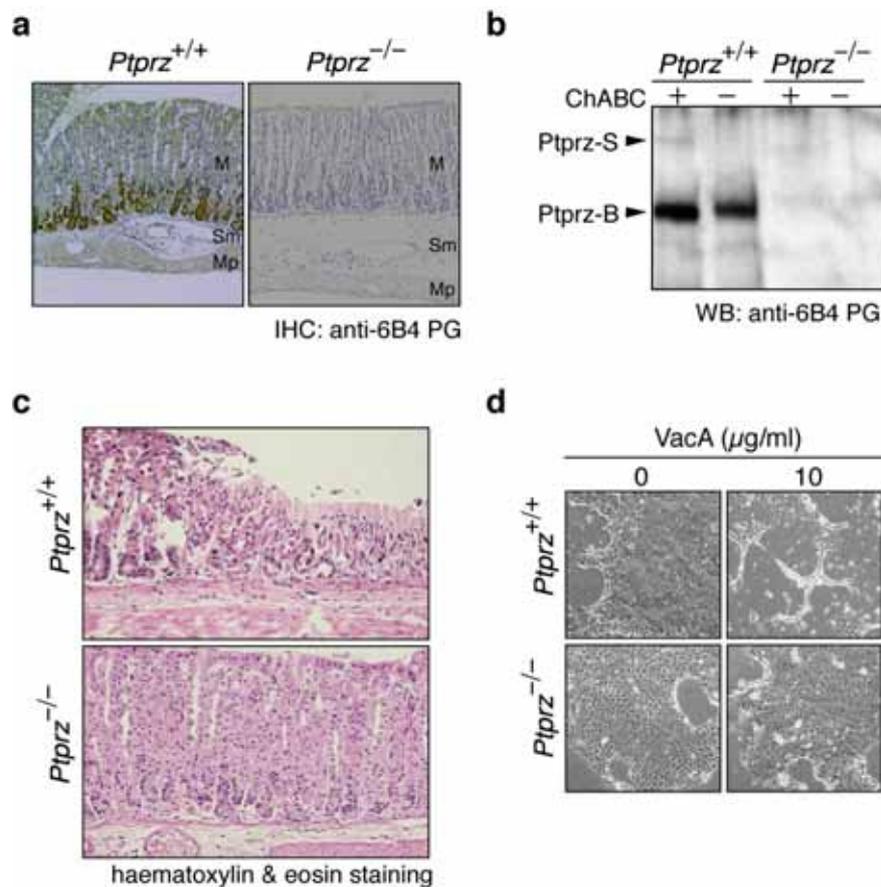


図9 Ptprz シグナル異常と胃潰瘍

- (a) 胃粘膜組織における Ptprz の免疫組織染色。抗体染色（茶褐色）後、ヘマトキシリンによるカウンター染色。M、胃粘膜；Sm、粘膜下層；Mp、粘膜筋板。
- (b) 胃組織における Ptprz 発現のウェスタンブロット解析。
- (c) VacA (500 $\mu\text{g/kg}$)経口投与 48 時間後の胃粘膜組織像。野生型マウスの胃粘膜は著しく損傷されるが、*Ptprz* 欠損型には全く損傷が認められない。
- (d) 胃上皮初代培養細胞に対する VacA の作用。野生型由来の細胞では、VacA 刺激の 24 時間後から細胞剥離現象が出現する。写真は刺激 48 時間後。

新規免疫グロブリンスーパーファミリー分子(D/Bsp120I#1)

免疫グロブリンドメインを2個有する新規分泌性分子が、網膜の背耳側に領域特異的に発現することを見出した。本分子に対する特異的抗体を作成し、ニワトリ網膜及び視蓋について免疫染色を行うとともに、網膜を器官培養することにより伸長させた視神経軸索について免疫染色を行い、本分子の局在について詳しい解析を行ったところ、本分子は軸索内を輸送され、成長円錐まで運ばれることが示唆された。

さらに、本分子の生理機能を明らかにする目的で、ニワトリにおいて個体レベルの機能解析を進めた。レトロウイルスベクターを利用して siRNA を網膜に発現させることにより、本分子の発現を抑制する系を確立した。網膜視蓋投射が完成している時期 (E18) において、背側由来の視神経投射を解析したところ、この分子の発現抑制により、本来視蓋の一カ所にコンパクトに形成されるはずの神経投射の terminal zone が、広い領域に分散した形態をとることが明らかになった (図 10)。本分子は、軸索からの分枝形成、シナプス形成、およびそれに続く不適切な分枝やシナプスの除去の過程において、機能する分子であると思われる。

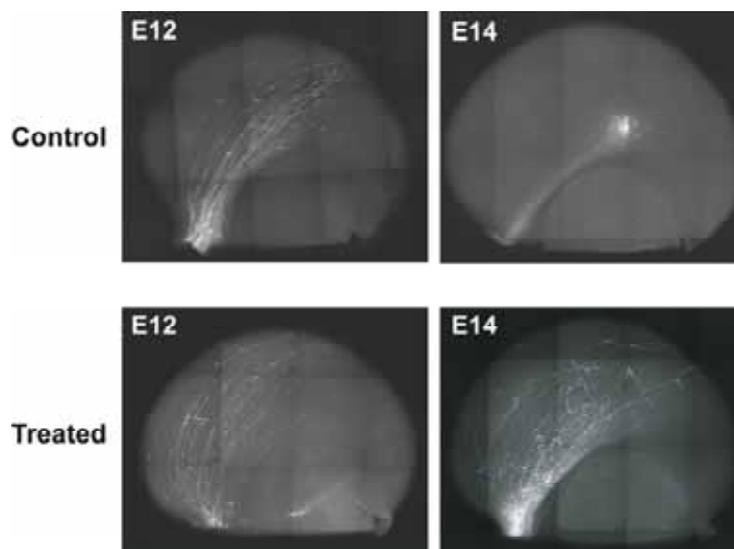


図 10 D/Bsp120I#1 分子の発現が抑制された網膜背側視神経の投射の様子 (DiI ラベル)

D/Bsp120I#1 の発現を RNAi 法により抑制した場合 (下段)、ニワトリの網膜背側領域から発した視神経は、予定 terminal zone (TZ) に無関係に分枝を始め、異所的なシナプスを多数形成する。この誤った場所に形成されたシナプスは refinement を受けない。その結果、視蓋の正しい場所に compact な TZ は形成されない (右下)。Control の投射の様子を上段に示す。

Leucine-rich repeat (LRR) 構造を有する新規分子

発生初期より網膜腹側で発現する、LRR 構造と免疫グロブリンドメインより成る細胞外領域、膜貫通ドメイン、および約 60 アミノ酸から成る細胞内領域を有する新規分子である。本分子の機能を明らかにするために、ニワトリ網膜全体に強制発現を行ったところ、E18 の投射が完成した時期において、網膜背側からの視神経の走行が視蓋内で大きく乱れているのが観察された。網膜内および視蓋に侵入するまでの経路については大きな異常が認められなかった。この投射異常について、発生を追って詳細に解析したところ、視蓋において、視神経と視蓋の神経細胞との間に

シナプスが形成される時期以降 (E14 以降) に、異常が認められたことから、本分子が、リファインメント (不適切な分枝やシナプスの除去) の過程に関与することが推測された。さらに、本分子の細胞外を欠失した変異体を強制的に発現させた個体においても、軸索の走行異常が観察されている。本分子が関与する分子機構を明らかにする目的で、本分子の細胞内領域に結合する分子を yeast two-hybrid 法を用いて探索した。その結果、細胞骨格のアクチン繊維と微小管を制御する分子と結合することが明らかになった。以上の結果から、本分子は、細胞外の情報を細胞骨格に伝達することにより、軸索の形態変化の制御を行っていると考えられる。

新規 CRMP (Collapsin response mediator protein) 分子

我々は RLCS 法により同定した分子群の中に、CRMP3 の新規のバリエーションがあることを見出した。CRMP は、semaphorin family という Eph-ephrin とは別の軸索ガイダンスを担う軸索反発性因子の細胞内シグナル伝達に関わる分子として、同定されていた分子である。CRMP1-5 の5つの分子種が知られているが、CRMP1-4 について同様の新しいバリエーションが存在することが判明した。これらは従来の CRMP に対して、異なる第 1 exon を使うことによって、少し長い、異なる N 末配列を有している。これを CRMP-As と名付け、従来のタイプを CRMP-Bs と呼ぶことにした。CRMP-As と CRMP-Bs はそれぞれ異なるプロモーターにより発現が制御されていると考えられる。

CRMP-2A と -2B を繊維芽細胞に強制発現させると細胞の形態が対照的に変化した。すなわち、CRMP-2A を発現させた場合には、細胞は細長い形態を示したのに対し、CRMP-2B を発現させた場合には伸展した形態を示した。このような形態の変化に伴い、微小管のパターンの対照的な変化が観察された。またこれらの変化は他方の CRMP の発現によりうち消された。さらに、網膜の器官培養を行い、視神経軸索を伸長させた場合に CRMP-2B を単独で過剰発現させると、軸索は盛んに枝分れするのに対し、CRMP-2A を共発現させると軸索は枝分れなく、長く伸長する現象が見られた (図 11)。すなわち、CRMP-2B が優位の場合には軸索は分岐を形成し、CRMP-2A が優位の場合には軸索は長く伸張することが示唆された。視神経では CRMP-2A の発現は E10 から急速に減少する。従ってこの時期には CRMP-2B が CRMP-2A に対して優位となるが、これはちょうど軸索が視蓋に到達し盛んに分岐を始める時期に一致している。また、CRMP-2B は神経細胞の細胞全体に分布するのに対し、CRMP-2A は軸索に特異的に分布する。神経細胞では、軸索と異なり樹状突起は伸長しながら盛んに枝分れするが、これも CRMP-2B が突起の分岐形成に関わるという我々の見方と一致する。

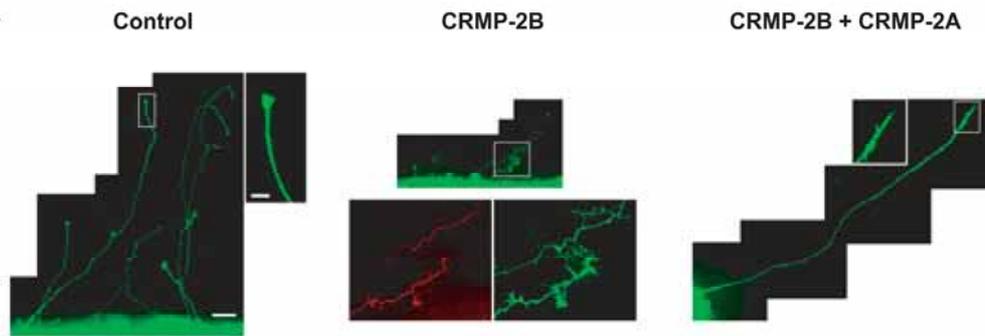


図 11 CRMP-2A 及び 2B の強制発現による視神経軸索の形態変化

発生中のニワトリ網膜を取り出し、電気穿孔法を用いて目的遺伝子の導入を行った後、器官培養を行い、視神経軸索を伸長させた。CRMP-2B を強制発現させると、伸長した視神経軸索は多数の分岐を形成する。一方、CRMP-2A を共発現させると、分岐形成が抑制され、視神経軸索は長く伸長する。

マウス網膜において領域特異的に発現する分子の探索

出生直後のマウス(ニワトリの E8 に相当)の網膜を鼻側と耳側、あるいは、背側と腹側に切り分け、それぞれから RNA を調製した。これらの RNA について、DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現プロファイルの解析を行い、領域特異的に発現する分子の探索を行った。マイクロアレイ解析により領域特異的な発現が示唆された分子については、in situ hybridization 法により確認を行った。その結果、以下の分子が領域特異的に発現する分子として同定された。

鼻側特異的 : ephrin-A5, Vax2

耳側特異的 : BF2, ephrin-B2, COUPTFII

背側特異的 : ephrin-B2, COUPTFII, BAMBI

腹側特異的 : Vax2

いずれも、既に網膜において領域特異的に発現する分子として同定されている分子であり、マウスにおいて新規のものは得られなかった。また、同定された分子数も RLCS で同定された分子数にはるかに及ばない。これは、DNA マイクロアレイ解析に比べて、RLCS 法の方が感度が高く、領域特異的に発現する分子の探索には有効であるためと考えられる。一方、背腹軸方向で領域特異的な発現を示すことが知られている Vax2, ephrin-B2 や COUPTFII が前後軸においても領域特異的に発現することから、我々がニワトリにおける解析で見出した、発生の進行に伴い背腹軸が傾く現象がマウスでも起こっていることが示唆された。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究において、まず網膜の領域特異化の分子機構について、その全体像をほぼ明らかに

することができた。領域特異化に関わる遺伝子カスケードの全容を明らかにした結果、網膜の前後軸方向の領域特異化と背腹軸方向の領域特異化が、従来考えられてきたように独立に進行するのではなく、協調して生じるという、発生学上の新しい概念を提出することができた。体軸に沿った領域特異化(パターンニング)は網膜だけで生じる現象ではなく、様々な組織の発生や器官形成において必須の役割を果たしている。このため、異なる軸に沿ったパターンニングが相互作用しながら協調して進行するという本研究の成果は、網膜だけでなく、他の神経投射路の形成メカニズムを理解する上で重要な示唆を与えるものと考えられる。

一方、領域特異的神経結合形成の分子機構において、まず受容体型 PTP である Ptpro 及び Ptporz の生理機能の一端を明らかにした。タンパク質のチロシンリン酸化シグナルは PTK と PTP によって制御されており、細胞増殖や細胞分化、細胞移動などの細胞の基本的な機能の制御から、神経回路網の形成とその機能発現や、免疫反応の制御などの複雑な生命現象の制御まで、様々な局面で必須の役割を果たしている。しかしながら、多くの PTP に関しては、詳細な生理機能が不明であるとともに、基質分子も未同定のままである等、PTK に較べて解析が進んでいないのが現状である。我々は Ptpro 及び Ptporz について、基質分子を同定するとともに、生理機能について個体レベルで明らかにすることに成功した。Ptporz 欠損マウスはピロリ菌の VacA に対する抵抗性のみならず、覚醒剤に対する応答性が低下しており(論文準備中)、今後そのメカニズムを明らかにする研究の成果が待たれる。また、Eph-ephrin 系は、領域特異的神経投射ばかりでなく、腫瘍の悪性化にも関与することが報告され始めており、Ptpro の研究は、転移の抑制という観点からも重要になると思われる。これらの研究成果は、PTP 研究を大きく進展させるものであり、本研究がモデルとなり、他の PTP の研究の進展に大きく貢献するものと考えられる。

さらに、領域特異的神経結合形成の分子機構において、CRMP ファミリーや新規免疫グロブリンスーパーファミリー分子、Leucine-rich repeat 構造を有する新規分子が視神経軸索の分岐形成等に機能することを明らかにした。軸索ガイダンスを経て視蓋に到達した視神経軸索は、軸索からの分岐形成、シナプス形成、およびそれに続く不適切な分岐やシナプスの除去の過程を経ることにより、コンパクトな terminal zone が発達・形成されるという経過をたどる。軸索ガイダンスに関わる分子機構については多くのことが明らかにされてきているが、軸索の分岐形成以降の分子機構についてはほとんど明らかになっていないため、これらの分子の機能解析をさらに進めることにより、特異的神経結合形成に至る分子機構の解明につながると期待される。

最近、視神経を始めとして、神経を再生させることによって失明や脳疾患を治療しようという試みがなされているが、その研究の大半は、傷害後に起こる神経細胞死を防ぐことや生き残った神経細胞の軸索を再伸張させることに焦点が置かれている。しかしながら機能を回復させるために

は、正しい神経結合が再形成されなければならない。本研究による網膜視蓋投射マップ形成の分子機構の解明は、そのための基盤となる知見を与えるものである。

3.2 視神経再生グループ

(1) 研究実施内容及び成果

哺乳類や鳥類においては、視神経が切断を受けると網膜神経節細胞が死滅し、再生が起こらないのに対して、魚類では視神経切断後、視神経軸索は再び伸長し、トポグラフィックな正常投射を再生する能力を有している。本研究においては、視神経が再生可能であるキンギョと再生不能であるマウスを用いて、視神経切断後の遺伝子発現変化の網羅的解析を行い、その違いを明らかにすることを目的とした。

A) 基礎生物学研究所グループ

本研究においては、キンギョとマウスにおける視神経切断時の遺伝子発現パターンの変化についてマイクロアレイを用いて網羅的に比較解析することにより、再生の初期に機能する鍵となる分子の同定を目指した。

マウス視神経切断時の遺伝子変化の解析

公的データベースの cDNA 配列情報を利用して、マウスについて 44,000 クローン(44K)から成るオリゴ DNA マイクロアレイを独自に作製した。この DNA マイクロアレイ及び市販の 22K DNA マイクロアレイを用いて、視神経切断後の網膜における遺伝子発現プロファイルを経時的に解析した。視神経切断により有意に発現変化が観察された遺伝子についてクラスター解析を行ったところ、これらの遺伝子は、発現変化のパターンに従って 12 のクラスターに分類された(図 12)。

キンギョ視神経切断時の遺伝子変化の解析

視神経切断前後のキンギョの網膜及び視蓋等より調製した RNA より cDNA ライブラリーを構築し、得られたクローンについて 3 端よりシーケンシングを行うことにより、約7万クロンの cDNA の塩基配列を決定した。これらの配列情報を基にして、42K のオリゴ DNA マイクロアレイを独自に作製し、視神経切断後の網膜における遺伝子発現プロファイルを経時的に解析した。視神経切断により有意に発現変化が観察された遺伝子についてクラスター解析を行ったところ、これらの遺伝子は、発現変化のパターンに従って 12 のクラスターに分類された(図 12)。

再生能を有するキンギョではマウスに比べて、著しく早く遺伝子発現の変化が起こっていることが判明した。再生の初期に機能する鍵となる分子を同定するため、マウス及びキンギョのクラスタ

ーの中で、視神経切断直ぐに顕著な発現変化を示した遺伝子クラスター(マウス:A,B,D,L、キンギョ:B,E,K,L)について相互比較を行うことにした。マウスについては完全な遺伝子配列が揃っているのに対し、キンギョに遺伝子に関しては、ほとんどの場合 3 非翻訳領域の配列しか有していない。現在上記のクラスターに含まれるキンギョの遺伝子群についてコーディング部分の塩基配列の決定を進めているところである。今後、キンギョとマウスの比較解析を進めることにより、視神経再生の初期の鍵となる分子を明らかにできると考えている。

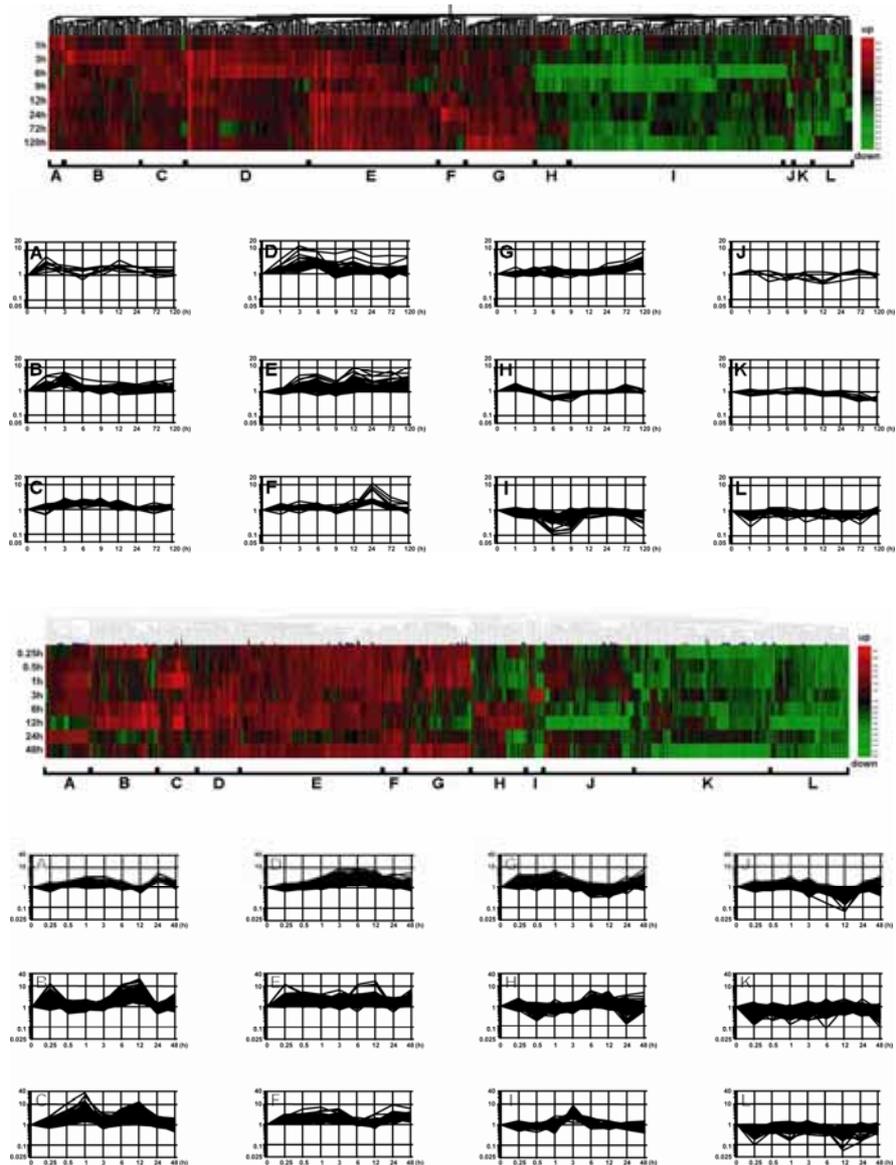


図 12 視神経損傷後の網膜における遺伝子発現プロファイルの変化

マウス(上)及びキンギョ(下)の視神経を損傷後、経時的に網膜を回収し、遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイを用いて解析した。損傷前に比べて有意に発現量に変化があった遺伝子(マウス:432個、キンギョ:1592個)についてクラスター解析を行ったところ、それぞれが12のクラスターに分類された。

Zymosan A 投与による視神経再生誘導現象の解析

視神経障害時に Zymosan A を眼球内に投与すると、活性化マクロファージが眼球内に浸潤し、何らかの因子を放出することにより視神経の再生が誘導される(図 13a)。活性化マクロファージから放出される再生誘導因子、並びに、それに応答して網膜内で視神経再生に関わる遺伝子を明らかにする目的で、Zymosan A 投与によって視神経軸索再生を誘導した場合に、網膜において発現が変化する遺伝子を、独自に作製した 44K のマウス DNA マイクロアレイを用いて解析した。その結果、活性化マクロファージの網膜内への浸潤による視神経の再生誘導に伴って、Zymosan A を投与していないマウスに対して有意に発現が変化する遺伝子を約 80 個同定した。今後、これらの遺伝子について解析を進めることにより、視神経再生誘導に関与する遺伝子を明らかにできると考えている。

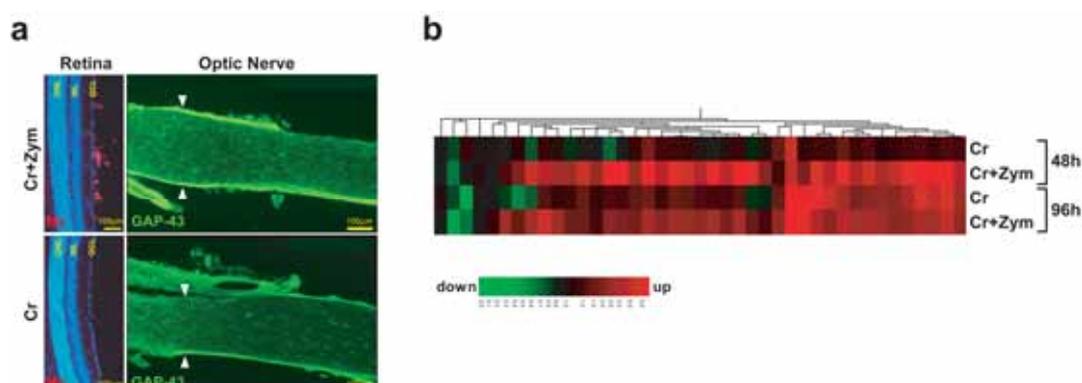


図 13 視神経損傷後の網膜における遺伝子発現プロファイルの変化

- a) 視神経に傷害 (Cr) を与えるのと同時に、眼球内 (Retina) に Zymosan A (Zym) をインジェクションすることによって、マクロファージ (Mf, 赤) を賦活化させる (硝子体内に Mf の浸潤が見られる, 上段左) と、損傷を受けた視神経の軸索 (Optic Nerve) は傷害部位 (矢じり, 白) を乗り越えて再伸長する (Cr+Zym, 上段右)。一方、視神経に傷害を与えただけの場合、軸索は傷害部位を乗り越えて伸長することができない (Cr, 下段右)。再生軸索の可視化は、伸長する軸索に特異的に発現する分子である、GAP-43 (緑) に対する抗体を用いて行っている。
- b) マクロファージによって視神経再生能を賦活化したマウス (Cr+Zym) とコントロールマウス (Cr)、それぞれの網膜において視神経傷害を施した後に発現が変化する遺伝子群を、マイクロアレイを用いて網羅的に調べた。その結果、両者間で約 80 の遺伝子発現に有意な差異が見られた。

受容体型プロテインチロシンホスファターゼ Ptpnz

哺乳類などの中枢神経系においては、傷害により形成されたグリア瘢痕が再生軸索の伸張を抑制することが知られている。グリア瘢痕中には様々な分子が存在するが、中でもコンドロイチン硫酸プロテオグリカンが主な抑制因子として機能していると考えられている。Ptpnz は中枢に発現する主要なコンドロイチン硫酸プロテオグリカンであるため、Ptpnz が神経再生抑制因子として機

能する可能性が考えられた。そこで視神経障害前後の Ptpz の発現を解析したところ、傷害前には視神経全体で観察された Ptpz の発現が、傷害後には、傷害部位から近位側の視神経において減少することが観察された。一方、傷害の遠位側においては Ptpz の減少は見られなかった。視神経障害後、視神経軸索は傷害部までは再伸長が可能であるため、上記の観察から Ptpz が視神経障害後再生抑制因子として機能する可能性が推察された。そこで、Ptpz 欠損マウスの視神経を用いてこの可能性について検討した。ところが予想に反し、野生型及び Ptpz 欠損マウス共に、傷害を受けた視神経は傷害部位を越えて再伸長することは無かった。視神経には他にも再伸長を抑制すると考えられるプロテオグリカンが存在しており、Ptpz はそれらと共同して視神経の再生抑制に関わっていると考えられる。

(2) 研究成果の今後期待される効果

損傷した神経を再生する試みは、医療という応用面において重要であり、世界的に広く研究が行われている。しかし、一度損傷した哺乳類の中枢神経系の軸索を完全に機能的に再生させるのは現時点で不可能である。一方、魚類等の中枢神経系においては、軸索が切断されても再び突起を伸ばし、機能的にも完全な再生を行うことができる。本研究においては、再生可能なキンギョと再生不可能なマウスの視覚系を比較して解析することにより、再生に必要な分子を明らかにすることを目指した。通常の再生研究においては、再生する動物のみを研究している場合がほとんどであり、両者を比較することによって再生に機能する分子を同定しようとしている点が独創的なところである。

まず、キンギョにおいて、視神経再生時に発現が上昇することが分かっていた分子について詳細な解析を進めることにより、視神経の再生を促進する活性を有する分子を複数同定することに成功した。このうちのいくつかの分子については、キンギョと異なり、マウスにおいて視神経切断後に発現上昇が見られないことを確認している。一方、マイクロアレイを用いた、キンギョとマウスにおける視神経切断時の遺伝子発現パターンの網羅的比較解析においては、キンギョとマウスにおいて、視神経切断時の遺伝子発現パターンの網羅的解析は終了した。しかしながら、現時点では、キンギョの cDNA に関しては 3' 末端部分の塩基配列の情報しかないので、相互比較による分子の同定には行き着いていない状況である。今後、コーディング部分の塩基配列の決定により、マウスとの相互比較が可能となれば、神経再生に機能する分子の網羅的同定に結びつくことが期待される。上述のように、既に、視神経再生に機能する可能性が示唆されている分子に加えて、これらの新たに同定される分子群について、遺伝子改変マウス等を用いた詳細な解析を進めることにより、将来的には、再生医療等における応用が有望となると考える。

B) 金沢大学グループ

(1) 研究実施内容及び成果

視神経再生可能なキンギョについて、視神経切断から視覚機能が完全に回復するまでの神経再生過程を、()再生準備(開始)(0~6日)、()軸索伸長期(7~40日)、()視蓋におけるシナプス結合、強化、再編成期、および視覚機能の回復期(150~180日)の3期に区分した。まず、再生の評価方法を確立した。次に、それぞれの時期の損傷網膜、視蓋について cDNA ライブラリーを作製し、ディファレンシャルハイブリダイゼーション法によりそれぞれの時期で発現が増加する cDNA クローンを選択し、解析を行った。その結果、下記に示す分子が、再生現象に関わる分子として同定された(図 14)。

視神経再生過程の評価方法の開発

再生の評価方法として、ニューロトレーサー(WGA-HRP、フルオロゴールド等)による染め出しや、視覚機能評価法として魚類の3次元行動解析装置を考案した(特許出願済み)。従来魚の視神経切断後の視覚機能の評価法には手作業で煩雑な行動指標しか存在しなかった。そこで我々は魚が正常では群れをなし集団で泳ぐ習性があることを利用し、お互いに追尾することを“追尾率”として世界で初めて定量化し約180~200日でこの追尾行動が元に戻ることを明らかにした。次に形態学的検索として、網膜神経節細胞の視神経切断後の形態を調べたところ、神経節細胞の細胞体が損傷10日頃より膨れだし、60日で約2倍と肥大し、その後縮小し約120日で元のサイズに戻った。一方WGA-HRPを眼球内に注射し視蓋での再生視神経の投射を検索したところ、速いもので損傷後2、3週で視蓋に到達し、30~40日でほぼ正常な投射パターンを示した。このことは、再生視神経終末は、損傷後2週から6週にかけて視蓋に到達することを意味する。

準備期に機能する分子

インシュリン様成長因子-I(IGF-I)が損傷後1~7日にかけて、またレチノール結合蛋白の一種であるプルプリンが損傷後2~5日にかけて発現が上昇していた。その mRNA の細胞局在は IGF-I は網膜神経節細胞、プルプリンは視細胞に限局していた。その働きとして未処置網膜片培養に IGF-I やプルプリンのリコンビナント蛋白を添加したところ、有意に成熟金魚網膜からの神経突起の伸長を促進した。更にこのプルプリンの効果はレチノール共存下でのみ有効であり、かつレチノイン酸によって代用されたことより、プルプリンはレチノールの輸送体として働きレチノイン酸合成に重要な役割を担っていると判断された。神経再生におけるレチノイン酸の機能を初めて明らかにした報告である。この様に IGF-I やプルプリンは損傷後1~2日と極めて早い時期に発現し、再生の準備に関与しているものと考えられる。

軸索再伸長期に機能する分子

この時期に発現が上昇する分子として、Na,K-ATPase 3サブユニットとトランスグルタミナーゼをクローニングした。前者の発現は5~40日、後者は10~40日であった。またその細胞局在はいずれも神経節細胞に限局していた。また、リコンビナント蛋白の添加により、神経突起の著明な伸展が、また阻害剤や中和抗体により神経突起の伸展が抑制された。更にトランスグルタミナーゼにおいては特異的な siRNA により、mRNA 発現が半減し神経突起の伸展も抑制された。金魚眼窩内への阻害剤や中和抗体を30日間連続投与し、視蓋での再生軸索の投射を見たところ、明らかに消失又は遅延していた。以上から、これら分子は *in vitro*, *in vivo* の両系において視神経伸長に重要な分子であることが確認された。トランスグルタミナーゼは従来、末梢神経の損傷により酵素活性が上昇することが報告されていたが、その機能等については全く不明であった。我々の研究によって発現時期、細胞局在、機能が初めて明らかになった。

シナプス再編成期に機能する分子

ディファレンシャルハイブリダイゼーション法により、3つのポジティブクローンが得られた。いずれも損傷40日から90日にかけて発現し、ピークは損傷後60日であり、120日で正常レベルに戻った。これらの事実からこれらクローンはシナプス再編成に何らかの役割を果たしていることが予想できた。ポジティブクローンの1個の塩基配列を調べたところ、鉄貯蔵蛋白フェリチンと相同性の高いことが判明した。*In situ* ハイブリ法によって、フェリチン mRNA は、金魚視蓋において損傷60日目に視神経線維が投射する視蓋のSO、SFGS層に分布する細胞で発現の上昇が観察され、120日でほぼ正常レベルに戻った。

その他の研究

再生能をもつ金魚と再生能をもたないラット網膜において視神経損傷後、生存/細胞死シグナル関連分子の動態を比較したところ、金魚では IGF-1 が最初に上昇し、引き続いてリン酸化 Akt(p-Akt)が上昇した。その後 Bcl-2 が上昇しカスパーゼ3の活性が減少した。逆にラットでは IGF-1 が最初に減少し、引き続いて p-Akt が減少し、その後 Bax が上昇しカスパーゼ3活性が上昇し、神経節細胞が消失減少することを見出した。金魚とラットでこれら生存/細胞死シグナルが同じ視神経の損傷を行ったにも拘らず全く正反対になることが明らかとなった。つまり、最初の変化分子 IGF-1 p-Akt Bax カスパーゼ3へのシグナルカスケードが初めて判明した。この最初の IGF-1 が増加するか、減少するかが、再生できるかできないかの分岐点になるのではないかと考えている。

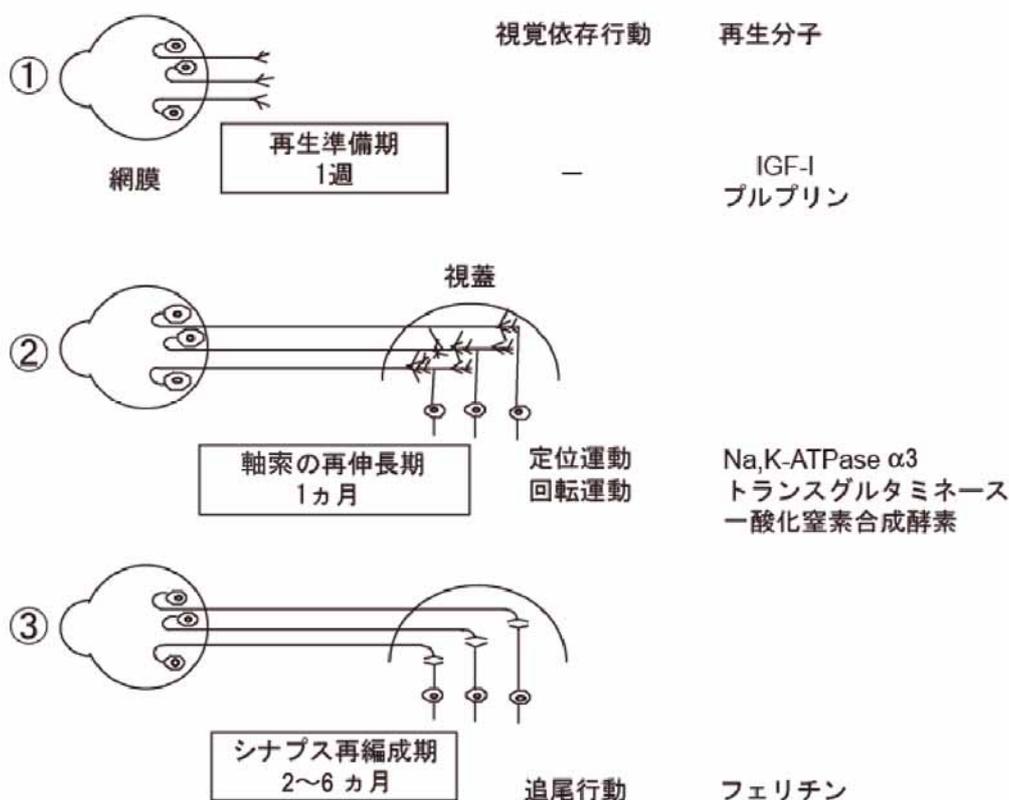


図 14 金魚視神経再生過程

金魚の視神経再生過程（初期、中期、終期）と関与する分子および視覚依存性行動の回復を示す。

(2)研究成果の今後期待される効果

金魚の視神経再生モデルは、視神経線維の再伸長はもとより、視蓋でのシナプス再編成、トポグラフィーの再現など完全な視覚機能回復が起こることが驚異的であり、一方哺乳類では軸索が切断されるとその神経細胞体は死に陥ることと大きな差異である。つまり、現在、神経再生の開始から終了までの全経過が分子レベルで追求できる唯一の系であることが大きな特長である。この系を用いて、神経再生のスイッチオン分子の同定や、脳におけるシナプス再編成、トポグラフィックな線維再配列機構を明らかにできるという生物学的成果が期待できる。我々はレチノール合成蛋白プルプリンがレチノイン酸の合成を通して、神経再生に関わる種々分子の遺伝子転写を活性化しているのではないかと考えている。また、成果の最後で述べた様に、金魚の再生分子から出発して、ラットやヒトでの神経再生につなげる様な夢のある仕事に結びつく可能性も秘めている。現在、緑内障や脊髄損傷の治療薬あるいは補助薬として使えないかの検討を行っているところである。更には、発生研究やゲノム研究が金魚より進んでいる、ゼブラフィッシュでも研究を開始しており、将来は神経

発生における axogenesis と神経再生における axogenesis の相違点、共通点と云った神経生物学の未解決な問題にも迫りたいと考えている。

また、我々が世界に先駆けて自作したコンピューター画像処理装置は神経再生の評価のみならず、神経発生、突然変異魚の検出や複数匹の集団から少数の異常魚を見つけたり、トランスジェニック魚の行動解析、更には環境研究や水産学への応用など幅広い分野での活用が期待できる。

4 研究参加者

網膜内領域特異化グループ（基礎生物学研究所）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
野田 昌晴	基礎生物学研究所	教授	研究総括	平成13年12月～ 平成19年3月
作田 拓	基礎生物学研究所	助手	Ventropin結合蛋白の同定	平成13年12月～ 平成19年3月
新谷 隆史	基礎生物学研究所	助手	領域特異的遺伝子の機能解析	平成13年12月～ 平成19年3月
檜山 武史	基礎生物学研究所	助手	KOマウスの解析	平成13年12月～ 平成19年3月
鈴木 亮子	基礎生物学研究所	CREST研究員	新規Igファミリー分子の機能解析	平成13年12月～ 平成19年3月
藤川 顕寛	基礎生物学研究所	CREST研究員	RPTPの機能解析	平成13年12月～ 平成19年3月
深田 斉秀	基礎生物学研究所	CREST研究員	RPTPの基質分子の解析	平成13年12月～ 平成19年3月
井原 賢	基礎生物学研究所	非常勤研究員	新規特異化分子の機能解析	平成14年4月～ 平成19年3月
中村 佳世	基礎生物学研究所	特別協力研究員	KOマウスの解析	平成18年7月～ 平成19年3月
溝口 正枝	基礎生物学研究所	研究補助員	動物実験補助、生化学的実験補助	平成13年12月～ 平成19年3月
後藤 恵	基礎生物学研究所	研究補助員	ニワトリ胚DNAトランスフェクション	平成13年12月～ 平成18年11月
綾部 夕子	基礎生物学研究所	研究補助員	In situ hybridization等	平成13年12月～ 平成18年11月
小玉 明子	基礎生物学研究所	研究補助員	経理・庶務業務全般	平成13年12月～ 平成19年3月
米原 圭祐	基礎生物学研究所	総研大大学院生D4	新規Igファミリー分子遺伝子改変マウスの解析	平成15年4月～ 平成19年3月
清水 秀忠	基礎生物学研究所	総研大大学院生D4	KOマウスの解析	平成15年4月～ 平成19年3月
Jeremy P.H. Chow	基礎生物学研究所	総研大大学院生D2	KOマウスの解析	平成17年2月～ 平成19年3月
高橋 弘雄	基礎生物学研究所	非常勤研究員	CBF-1とCBF-2の機能解析	平成13年12月～ 平成18年9月
山本 泰憲	基礎生物学研究所	学振研究員	RPTP結合分子の探索	平成15年4月～ 平成18年7月

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
榎谷 和真	基礎生物学研究所	総研大大学院生D4	新規CRMP分子の解析	平成15年4月～ 平成18年8月
加藤 彰	基礎生物学研究所	研究員	新規Igファミリー分子の機能解析	平成13年12月～ 平成15年9月
渡我部 育子	基礎生物学研究所	特別協力研究員	PTPの解析	平成13年12月～ 平成14年1月
松井 深恵	基礎生物学研究所	研究補助員	In situ hybridization等	平成14年3月～ 平成15年9月
鳥海 滋	基礎生物学研究所	総研大大学院生D2	新規CRMP分子の解析	平成14年4月～ 平成15年9月
大河原 剛	基礎生物学研究所	研究員	新規転写調節因子の役割	平成13年12月～ 平成16年12月
田村 洋	基礎生物学研究所	特別協力研究員	KOマウスの解析	平成13年12月～ 平成18年3月

視神経系再生グループ

A) 基礎生物学研究所

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
野田 昌晴	基礎生物学研究所	教授	研究総括	平成13年12月～ 平成19年3月
新谷 隆史	基礎生物学研究所	助手	RPTPの機能、DNAマイクロアレイ解析	平成13年12月～ 平成19年3月
中村 隆弘	基礎生物学研究所	CREST研究員	キングョESTデータベースの構築とマイクロアレイの解析	平成14年4月～ 平成18年11月
竹内 靖	基礎生物学研究所	技官	KO, TGマウスの作成	平成13年12月～ 平成19年3月
中村 佳世	基礎生物学研究所	総研大大学院生D3	TGaseの視神経系再生における機能	平成16年4月～ 平成18年6月
渡辺 英治	基礎生物学研究所	助教授	KOマウスの作成	平成13年12月～ 平成14年10月
田中 瑠美	基礎生物学研究所	総研大大学院生D2	レンチウイルスを用いたTGマウスの作成	平成15年4月～ 平成16年10月
高雄 元晴	基礎生物学研究所	学振研究員	KOマウスの解析	平成15年4月～ 平成17年3月
山田 薫	基礎生物学研究所	研究補助員	SPFマウスの管理等	平成13年12月～ 平成17年9月

視神経系再生グループ

B) 金沢大学大学院医学系研究科 脳情報分子学研究室

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
加藤 聖	金沢大学・院・医学系研究科	教授	新規再生遺伝子の探索	平成13年12月～ 平成19年3月
松川 通	金沢大学・院・医学系研究科	講師	新規再生遺伝子の探索	平成13年12月～ 平成19年3月
郡山 恵樹	金沢大学・院・医学系研究科	助手	再生分子の機能解析	平成14年4月～ 平成19年3月
杉谷 加代	金沢大学・院・医学系研究科	助手	再生分子の機能解析	平成13年12月～ 平成19年3月
永島 幹子	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生 / 研究補助員	in situハイブリ	平成17年4月～ 平成19年3月
櫻井 裕之	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生(M2)	遺伝子の発現	平成18年4月～ 平成19年3月
胡桃沢 智子	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生(M2)	再生分子の機能	平成18年4月～ 平成19年3月
村松 孝紀	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生(M2)	コンピューター解析	平成17年4月～ 平成19年3月
村山 大育	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生(M2)	再生分子の発現	平成17年4月～ 平成19年3月
加藤 保志	金沢大学・院・自然科学研究科	大学院生(M2)	再生分子の発現	平成18年4月～ 平成19年3月
本間 啓子	金沢大学・院・医学系研究科	助手	キンギョ視神経再生分子のラットへの応用研究	平成15年4月～ 平成16年3月 平成18年4月～ 平成19年3月
内池 道隆	金沢大学・院・自然科学研究科	大学院生(M2)	キンギョ視神経再生分子の視蓋での発現	平成18年4月～ 平成19年3月
Ivan Vachkov	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生(D3)	キンギョ視神経再生時におけるFactor XIIIの役割	平成18年4月～ 平成19年3月
荒井 國三	金沢大学・院・自然科学研究科	講師	再生分子の機能解析	平成15年4月～ 平成16年3月
中川 貴志	金沢大学・院・自然科学研究科	大学院生	キンギョの行動解析	平成14年4月～ 平成16年3月
劉 中武	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生 / 学振研究員	再生期発現遺伝子の機能解析	平成13年12月～ 平成16年3月
菅原 清	金沢大学・院・医学系研究科	講師	再生視神経の解剖学的解析	平成13年12月～ 平成17年3月

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
渡辺 雄太	金沢大学・院・自然科学研究科	大学院生	再生期発現遺伝子の機能解析	平成16年4月～ 平成17年3月
安田 里愛	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生(M2)	神経節細胞放電活動の解析	平成16年4月～ 平成17年3月
塚原 みゆき	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生(M2)	キングヨの行動解析	平成16年4月～ 平成17年3月
田中 聖之	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生	組織の単離と遺伝子発現解析	平成14年4月～ 平成18年3月
前田 有	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生	再生分子の発現解析	平成16年4月～ 平成18年3月
布目 知也	金沢大学・院・自然科学研究科	大学院生	レチノール結合タンパクの解析	平成16年4月～ 平成18年3月
金田 学	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生(D3)	網膜の組織学	平成13年12月～ 平成14年3月
角田 真吾	金沢大学・院・医学系研究科	大学院生(M2)	神経節細胞のスパイク活動記録	平成17年4月～ 平成18年3月

5 招聘した研究者等（いずれも所属、役職は当時）

氏名（所属、役職）	招聘の目的	滞在先	滞在期間
John L. Bixby (Univ. of Miami, Professor and Director)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Terrence R. Burke, Jr. (Natl. Cancer Inst., Research Chemist)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Thomas O. Daniel (Immunex Corp., Sr. Vice President)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Anna A. DePaoli-Roach (Indiana Univ., Professor)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Christin A. Frederick (Dana-Farber Cancer Inst., Associate Professor)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Alex Hajnal (Univ. of Zurich, Assistant Professor)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Rob Hooft van Huijsduijnen (Serono Pharm. Res. Inst., Sr. Scientist and Project Leader)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Benjamin G. Neel (Harvard Inst. of Med., Professor)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Ramon E. Parsons (Columbia Univ., Assistant Professor)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Joseph Schlessinger (Yale Univ., Professor and Chairman)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Stephane Schurmans (IBMM, IRIBHN, Professor)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Shirish Shenolikar (Duke Univ., Professor)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
Nicholas K. Tonks (Cold Spring Harbor Lab., Professor)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
乾 誠治（熊本大学医学部、助教授）	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
緒方正人（大阪大学大学院医学系研究科、助手）	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
菊池九二三（北海道大学遺伝子病制御研、教授）	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 参加	岡崎	平成14年3月12日～15日
田村眞理（東北大学加齢研、教授）	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
前田達哉（東京大学分生研、助教授）	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日

氏名(所属、役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間
前濱朝彦(東京都臨床研、研究員)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
松井秀樹(岡山大学大学院医歯学総合研究科、教授)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
的崎 尚(群馬大学生体調節研、センター長)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
矢倉英隆(東京都神経研、部門長)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
渡邊利雄(東北大学加齢研、助教授)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
杉浦麗子(神戸大学大学院医学系研究科、助教授)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月13日～15日
島 礼(北海道大学遺伝子病制御研、助教授)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
斎藤春雄(東京大学医科研、教授)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 講演	岡崎	平成14年3月12日～15日
梅田 泉(帝京大学薬学部、講師)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 参加	岡崎	平成14年3月12日～15日
鈴木 聡(秋田大学医学部、教授)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 参加	岡崎	平成14年3月13日～14日
青木直人(名古屋大学大学院生命農学研究科、助手)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 参加	岡崎	平成14年3月13日～15日
宮崎 均(筑波大学遺伝子実験センター、助教授)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 参加	岡崎	平成14年3月12日～15日
佐々木雄彦(東京都臨床研、主任研究員)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 参加	岡崎	平成14年3月13日～15日
久永真市(東京都立大理学研究科、教授)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 参加	岡崎	平成14年3月12日～15日
近藤英作(岡山大学大学院医歯学総合研究科、助手)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 参加	岡崎	平成14年3月14日
田辺延公(北海道大学遺伝子病制御研、助手)	5 th Int. Conference on Protein Phosphatase 参加	岡崎	平成14年3月12日～15日
Uwe Drescher (King's College London, 上級講師)	「生物の発生・分化・再生」第2回公開国際シンポジウム講演	東京	平成15年5月29日～6月2日

6 成果発表等

(1) 原著論文発表(国内誌 1 件、国際誌 37 件)

1. Devadas, M., Liu, Z., Kaneda, M., Arai, K., Matsukawa, T. & Kato, S.
Changes in NADPH diaphorase expression in the fish visual system during optic nerve regeneration and retinal development.
Neurosci. Res. 40, 359-365, 2001.
2. Arai, K., Ohkuma, S., Matsukawa, T. & Kato, S.
A simple estimation of peroxisomal degradation with green fluorescent protein an application for cell cycle analysis.
FEBS Lett. 507, 181-186, 2001.
3. Sugawara, T., Tsurubuchi, Y., Agarwala, K. L., Ito, M., Fukuma, G., Mazaki-Miyazaki, E., Nagafuji, H., Noda, M., Imoto, K., Wada, K., Mitsudome, A., Kaneko, S., Montal, M., Nagata, K., Hirose, S. & Yamakawa, K.
A missense mutation of the Na⁺ channel α subunit gene *Nav1.2* in a patient with febrile and afebrile seizures causes channel dysfunction.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 6384-6389, 2001.
4. Zubair, M., Watanabe, E., Fukada, M. & Noda, M.
Genetic labeling of specific axonal pathways in the mouse central nervous system.
Eur. J. Neurosci. 15, 807-814, 2002.
5. Thomaidou, D., Coquillat, D., Meintanis, S., Noda, M., Rougon, G. & Matsas, R.
Soluble forms of NCAM and F3 neuronal cell adhesion molecules promote Schwann cell migration: identification of protein tyrosine phosphatases / as the putative F3 receptors on Schwann cells.
J. Neurochem. 78, 767-778, 2002.
6. Liu Z.W., Matsukawa T., Arai K., Devadas M., Nakashima H., Tanaka M., Mawatari K. & Kato S.
Na,K-ATPase alpha3 subunit in the goldfish retina during optic nerve regeneration.
J. Neurochem. 80, 763-770, 2002.
7. Hiyama, T. Y., Watanabe, E., Ono, K., Inenaga, K., Tamkun, M. M., Yoshida, S. & Noda, M.
Na_x channel involved in CNS sodium-level sensing.
Nature Neurosci. 5, 511-512, 2002.
8. Watanabe, E., Hiyama, T. Y., Kodama, R. & Noda, M.
Na_x sodium channel is expressed in non-myelinating Schwann cells and alveolar type II cells in

mice.

Neurosci. Lett. 330, 109-113, 2002.

9. Fujikawa, A., Shirasaka, D., Yamamoto, S., Ota, H., Yahiro, K., Fukada, M., Shintani, T., Wada, A., Aoyama, N., Hirayama, T., Fukamachi, H. & Noda, M.
Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori*.
Nature Genetics 33, 375-381, 2003.
10. Sakaguchi, N., Muramatsu, H., Ichihara-Tanaka, K., Maeda, N., Noda, M., Yamamoto, T., Michikawa, M., Ikematsu, S., Sakuma, S. & Muramatsu, T.
Receptor-type protein tyrosine phosphatase as a component of the signaling receptor complex for midkine-dependent survival of embryonic neurons.
Neurosci. Res. 45, 219-224, 2003.
11. Takizawa, N., Tanaka, M., Liu, Z. W., Koriyama, Y., Matsukawa, T. & Kato, S.
A dissociation of γ -butyrolactone-induced absence seizure and CRE- and AP-1 DNA-binding activities in the developing rat brain.
Neurosci. Res. 45, 483-490, 2003.
12. Koriyama, Y., Chiba, K. & Mohri, T.
Propentofylline protects β -amyloid protein-induced apoptosis in cultured rat hippocampal neurons.
Eur. J. Pharmacol. 458, 235-241, 2003.
13. Arai, K., Wood, J.P. & Osborne, N.N.
 α -adrenergic receptor agonists and antagonists counteract LPS-induced neuronal death in retinal cultures by different mechanisms.
Brain Res. 985, 176-186, 2003.
14. Asahi, M., Tanaka, Y., Izumi, T., Ito, Y., Naiki, H., Kersulyte, D., Tsujikawa, K., Saito, M., Sada, K., Yanagai, S., Fujikawa, A., Noda, M. & Itokawa, Y.
Helicobacter pylori CagA containing ITAM-like sequences localized to lipid rafts negatively regulates VacA-induced signaling *in vivo*.
Helicobacter 8, 1-14, 2003.
15. Tanaka, M., Maeda, N., Noda, M. & Marunouchi, T.
A chondroitin sulfate proteoglycan PTP /RPTP regulates the morphogenesis of Purkinje cell dendrites in the developing cerebellum.
J. Neurosci. 23, 2804-2814, 2003.

16. Yuasa-Kawada, J., Suzuki, R., Kano, F., Ohkawara, T., Murata, M. & Noda, M.
Axonal morphogenesis controlled by antagonistic roles of two CRMP subtypes in microtubule organization.
Eur. J. Neurosci. 17, 2329-2343, 2003.
17. Takahashi, H., Shintani, T., Sakuta, H. & Noda, M.
CBF1 controls the retinotectal topographical map along the anteroposterior axis through multiple mechanisms.
Development 130, 5203-5215, 2003.
18. Watanabe, U., Shimura, T., Sako, N., Kitagawa, J., Shingai, T., Watanabe, E., Noda, M. & Yamamoto, T.
A comparison of voluntary salt-intake behavior in Na_x-gene deficient and wild-type mice with reference to peripheral taste inputs.
Brain Res. 967, 247-256, 2003.
19. Kato, S., Nakagawa, T., Ohakawa, M., Muramoto, K., Oyama, O., Watanabe, A., Nakashima, H., Nemoto, T. & Sugitani, K.
A computer image processing system for quantification of zebrafish behavior.
J. Neurosci. Methods 134, 1-7, 2004.
20. Nakayama, M., Kimura, M., Wada, A., Yahiro, K., Ogushi, K., Niidome, T., Fujikawa, A., Shirasaka, D., Aoyama, N., Kurazono, H., Noda, M., Moss, J. & Hirayama, T.
Helicobacter pylori VacA activates the p38/activating transcription factor 2-mediated signal pathway in AZ-521 cells.
J. Biol. Chem. 279, 7024-7028, 2004.
21. Ohyama, K., Ikeda, E., Kawamura, K., Maeda, N. & Noda, M.
Receptor-like protein tyrosine phosphatase /RPTP is expressed on tangentially aligned neurons in early mouse neocortex.
Develop. Brain Res. 148, 121-127, 2004.
22. Shintani, T., Kato, A., Yuasa-Kawada, J., Sakuta, H., Takahashi, M., Suzuki, R., Ohkawara, T., Takahashi, H. & Noda, M.
Large-scale identification and characterization of genes with asymmetric expression patterns in the developing chick retina.
J. Neurobiol. 59, 34-47, 2004.
23. Ohkawara, T., Shintani, T., Saegusa, C., Yuasa-Kawada, J., Takahashi, M. & Noda, M.

A novel basic helix-loop-helix (bHLH) transcriptional repressor, NeuroAB, expressed in bipolar and amacrine cells in the chick retina.

Mol. Brain Res. 128, 58-74, 2004.

24. Muramatsu, H., Zou, P., Suzuki, H., Oda, Y., Chen, G-Y., Sakaguchi, N., Sakuma, S., Maeda, N., Noda, M. & Muramatsu, T.

$\alpha_4\beta_1$ and $\alpha_6\beta_1$ -integrins are functional receptors for midkine, a heparin-binding growth factor. J. Cell Sci. 117, 5405-5415, 2004.

25. Matsukawa, T., Sugitani, K., Mawatari, K., Koriyama, Y., Liu, Z.W., Tanaka, M. & Kato, S.

Role of purpurin as retinol-binding protein in goldfish retina during the early stage of optic nerve regeneration: Its priming action on neurite outgrowth.

J. Neurosci. 24, 8346-8353, 2004.

26. Hiyama, T.Y., Watanabe, E., Okado, H. & Noda, M.

The subfornical organ is the primary locus of sodium-level sensing by Na_v sodium channels for the control of salt-intake behavior.

J. Neurosci. 24, 9276-9281, 2004.

27. Fukada, M., Kawachi, H., Fujikawa, A. & Noda, M.

Yeast substrate-trapping system for isolating substrates of protein tyrosine phosphatases: Isolation of substrates for protein tyrosine phosphatase receptor type z.

Methods 35, 54-63, 2005.

28. Niisato, K., Fujikawa, A., Komai, S., Shintani, T., Watanabe, E., Sakaguchi, G., Katsuura, G., Manabe, T. & Noda, M.

Aged-dependent enhancement of hippocampal long-term potentiation and impairment of spatial learning through the Rho-associated kinase pathway in protein tyrosine phosphatase receptor type Z-deficient mice.

J. Neurosci. 25, 1081-1088, 2005.

29. Tamura, H., Fukada, M., Fujikawa, A. & Noda, M.

Protein tyrosine phosphatase receptor type Z is involved in hippocampus-dependent memory formation through dephosphorylation at Y1105 on p190 RhoGAP.

Neurosci. Letts. 399, 33-38, 2006.

30. Shintani, T., Ihara, M., Sakuta, H., Takahashi, H., Watakabe, I. & Noda, M.

Eph receptors are negatively controlled by protein tyrosine phosphatase receptor type O.

Nature Neurosci. 9, 761-769, 2006.

31. Fukada, M., Fujikawa, A., Chow, J.P.H., Ikematsu, S., Sakuma, S. & Noda, M.
Protein tyrosine phosphatase receptor type Z is inactivated by ligand-induced oligomerization.
FEBS Lett. 580, 4051-4056, 2006.
32. Sugitani, K., Matsukawa, T., Koriyama, Y., Shintani, T., Nakamura, T., Noda, M. & Kato, S.
Upregulation of retinal transglutaminase during the axonal elongation stage of goldfish optic nerve regeneration.
Neuroscience 142, 1081-1092, 2006.
33. Sakuta, H., Takahashi, H., Shintani, T., Etani, K., Aoshima, A. & Noda, M.
Role of bone morphogenic protein 2 in retinal patterning and retinotectal projection.
J. Neurosci. 26, 10868-10878, 2006.
34. 田中聖之
「ゼブラフィッシュプルプリン遺伝子クローニングと視神経再生網膜における発現」
金沢大学十全医学会雑誌 115 (1) , 2-9, 2006.
35. Watanabe, E., Hiyama, T.Y., Shimizu, H., Kodama, R., Hayashi, N., Miyata, S., Yanagawa, Y., Obata, K. & Noda, M.
Sodium-level-sensitive sodium channel Na_x is expressed in glial laminate processes in the sensory circumventricular organs.
Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol., 290, 568-576, 2006.
36. Homma, K., Koriyama, Y., Mawatari, K., Higuchi, Y., Kosaka, J. & Kato, S.
Early downregulation of IGF-I decides the fate of rat retinal ganglion cells after optic nerve injury.
Neurochem. Int., in press (2007).
37. Koriyama, Y., Homma, K., Sugitani, K., Higuchi, Y., Matsukawa, T. & Kato, S.
Upregulation of IGF-I in the goldfish retinal ganglion cells during the early stage of optic nerve regeneration.
Neurochem. Int., in press (2007).
- (2) その他の著作物
1. 新谷隆史、野田昌晴
「網膜における領域特異化の分子機構」
医学のあゆみ vol. 199, pp. 1020-1024, 2001.
2. Devadas, M., Liu, Z., Kaneda, M., Arai, K., Matsukawa, T. & Kato, S.
A multidisciplinary approach to investigating optic nerve regeneration in the goldfish.

In: New Insights Into Retinal Degenerative Diseases. (Eds. Anderson et al.)
Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA, pp.153-161, 2001.

3. 新谷隆史、野田昌晴
「網膜視蓋投射形成の分子機構」
実験医学増刊 vol. 20, pp. 770-776, 2002.
4. Sugitani, K., Devadas, M., Sugawara, K., Matsukawa, T., Liu, Z.W., Ihita, S., & Kato, S.
The goldfish visual system as a useful model for CNS regeneration: From gene to behaviour.
Recent Res. Devel. Neurochem. 5, 375-383, 2002.
5. 作田拓、野田昌晴
「網膜内で二重勾配を持って発現する新規 BMP 中和分子 Ventroptin」
Medical Science Digest vol. 29, pp. 8-9, 2003.
6. 野田昌晴
「ピロリ菌毒素による胃潰瘍発生の機序」
Medical Practice vol. 20, pp. 884-886, 2003.
7. 新谷隆史、野田昌晴
「網膜視蓋投射における特異性決定機構」
蛋白質核酸酵素 vol. 49, pp. 358-363, 2004.
8. 野田昌晴
「VacA 毒素の標的分子と胃潰瘍発症機序」
日本臨牀 vol. 62, pp. 435-441, 2004.
9. 藤川顕寛、白坂大輔、山元勝一、太田浩良、八尋錦之助、深田斉秀、新谷隆史、和田昭裕、
青山伸郎、平山壽哉、深町博史、野田昌晴
「受容体型プロテインチロシンホスファターゼ (Ptpz) 遺伝子欠損マウスは *Helicobacter pylori* の VacA による胃潰瘍形成に抵抗性である」
日本ヘリコバクター学会誌 vol. 5, pp. 5-8, 2004.
10. 野田昌晴
「VacA による胃潰瘍発症のメカニズム」
日本ヘリコバクター学会誌 vol. 6, no. 1, pp. 19-25, 2004.
11. 藤川顕寛、野田昌晴
「受容体型蛋白チロシンホスファターゼ (Ptpz)」
Helicobacter Research vol. 8, no. 4, pp. 37-41, 2004.

12. 郡山恵樹、松川通、安田里愛、加藤聖
「神経再生機構、金魚の神経再生モデル」
Clinical Neurosci. vol. 22, pp. 1059-1061, 2004.
13. Matsukawa, T., Arai, K., Koriyama, Y., Liu, Z. & Kato, S.
Axonal regeneration of fish optic nerve after injury.
Biol. Pharm. Bull. 27, 445-451, 2004.
14. 田中聖之、郡山恵樹、渡辺雄太、塚原みゆき、松川 通、加藤 聖
「損傷後の中枢神経軸索再生の分子機構 金魚視神経をモデルとして」
リハビリテーション医学 41, pp. 735-740, 2004.
15. 藤川顕寛、野田昌晴
「受容体型チロシンホスファターゼ (Ptpz)の関わる多様な生命現象」
生化学 77(10), pp. 1255-1268, 2005.
16. Noda, M. & Hiyama, T. Y.
Sodium-level-sensitive sodium channel and salt-intake behavior.
Chem. Senses, 30 (Supple. 1), i44-i45, 2005.
17. Koriyama, Y., Homma, K. & Kato, S.
Activation of cell survival signals in the goldfish retinal ganglion cells after optic nerve injury.
In: Retinal Degenerative Diseases, Advances in Experimental Medicine and Biology
Vol. 572, 333-337, Springer, New York (USA), 2006.
18. Sugitani, K., Matsukawa, T., Maeda, A. & Kato, S.
Upregulation of transglutaminase in the goldfish retina during optic nerve regeneration.
In: Retinal Degenerative Diseases, Advances in Experimental Medicine and Biology
Vol. 572, 525-530, Springer, New York (USA), 2006.
19. Kato, S., Koriyama, Y., Matsukawa, T. & Sugitani, K.
Optic nerve regeneration in goldfish.
In: Model Organisms in Central Nervous System Regeneration. (Eds. Becker, C.G., Becker, T.)
pp. 355-372, Wiley-VCH, Weinheim (Germany), 2006.
20. Noda, M.
The subfornical organ, a specialized sodium channel, and the sensing of sodium levels in the brain.
The Neuroscientist, 12, 80-91, 2006.

21. Fukada, M. & Noda, M.

Yeast substrate-trapping system for isolating substrates of protein tyrosine phosphatases.
In: Protein Phosphatase Protocols, Methods in Molecular Biology (Ed. G. Moorehead)
Vol. 365, pp. 371-381, Totowa (USA), 2006.

(3) 学会発表 (国際学会発表及び主要な国内学会発表)

招待講演 (国内会議 6 件、国際会議 7 件)

1. 加藤 聖 (金沢大学大学院医学系研究科)

「損傷後の中枢神経軸索再生の分子機構 - 金魚視神経をモデルとして - 」
第 41 回日本リハビリテーション医学会学術集会 ; 東京 (2004.6.4)

2. Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)

“Sodium-level sensitive sodium channel and salt-intake behavior”
14th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT); Kyoto, Japan (2004.7.5-9)

3. Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)

“Na_x channel involved in CNS sodium sensing”
FASEB Summer Research Conference - Neural Mechanisms in Cardiovascular Regulation;
Snowmass, USA (2004.7.24-29)

4. Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)

“Physiological roles of protein tyrosine phosphatase receptor type Z”
FASEB Summer Research Conference - Protein Phosphatases; Snowmass, USA (2004.7.17-22)

5. Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)

“Protein tyrosine phosphatase zeta: from molecule to brain function”
Europhosphatases Conference 2005; Cambridge, UK (2005.7.10-14)

6. Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)

“Na_x channel and body fluid balance”
2005 American Physiological Society Conference Steamboat, USA (2005.7.16-20)

7. 加藤 聖 (金沢大学大学院医学系研究科)

「分子から見た中枢神経再生機構 魚類視神経をモデルとして」
シンポジウム「分子薬学を基盤とする新規学際的研究と臨床応用」(「分子薬理学を基盤とした生理現象の解明」研究班); 東京 (2005.8.23)

8. 胡桃沢智子、永島幹子、馬渡一浩、加藤 聖 (金沢大学大学院医学系研究科)

“The role of galectins during goldfish optic nerve regeneration”

第 48 回日本神経化学会 ミニシンポジウム；福岡（2005.9.28）

9. Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Protein tyrosine phosphatase : From molecule to brain function”
Invited Lecture at Institute of Biological Chemistry, Academia Sinica ; Taipei, Taiwan
(2005.11.13-15)
 10. 杉谷加代（金沢大学大学院医学系研究科）
「網膜トランスグルタミナーゼによる視神経再生」
シンポジウム「損傷中枢神経の再生」；金沢（2006.2.16）
 11. 布目知也（金沢大学大学院医学系研究科）
「画像処理による魚の神経再生評価」
シンポジウム「損傷中枢神経の再生」；金沢（2006.2.16）
 12. Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Sensing mechanism of the sodium level in the brain”
6th International Congress of Neuroendocrinology ; Pittsburgh, USA (2006.6.19-22)
 13. 加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「視神経の再生 金魚から学んだこと」
岐阜シンポジウム；岐阜（2006.11.25）
- 口頭発表（国内会議 26 件、国際会議 3 件）
1. Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Substrate and functional analysis for PTP (RPTP)”
5th International Conference on Protein Phosphatase ; Okazaki (2002.3.13-15)
 2. 郡山恵樹、杉谷加代、松川通、加藤聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「金魚視神経繊維の再伸長関連分子の機能評価法の確立」
第 49 回中部日本生理学会；富山（2002.10.18-19）
 3. 村本健一郎、中川貴志、島崎克仁、菅原清、加藤聖（金沢大学大学院自然科学研究科）
「画像処理による小型魚類の行動解析システムの開発とその応用」
第 49 回中部日本生理学会；富山（2002.10.18-19）
 4. 野田昌晴（基礎生物学研究所）
“Regional specification in the retina and topographic retinotectal projection: Interrelation among CBF-1, BMPs, Ventroneurin and topographic molecules”
第 25 回日本分子生物学会；横浜（2002.12.11-14）

5. 湯浅純一、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「新規 CRMP バリエーションの同定と機能解析」
第 25 回日本分子生物学会；横浜（2002.12.11-14）

6. 杉谷加代、松川通、加藤聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「金魚視神経再生過程におけるトランスグルタミナーゼ遺伝子発現増加とその役割」
第 80 回日本生理学会；福岡（2003.3.25）

7. 藤川顕寛、白坂大輔、山元勝一、太田浩良、八尋錦之助、深田斉秀、新谷隆史、和田昭裕、青山伸郎、平山壽哉、深町博史、野田昌晴（神戸大学医学部）
「Ptpnz 欠損マウスは VacA による胃潰瘍形成に抵抗性である」
第 9 回日本ヘリコバクター学会；松本（2003.6.26-27）

8. 野田昌晴（基礎生物学研究所）
“Roles of BMP signaling in the topographic retinotectal projection”
第 26 回日本神経科学大会シンポジウム；名古屋（2003.7.23-25）

9. 野田昌晴（基礎生物学研究所）
「ピロリ菌毒素による胃潰瘍発生の機序」
第 1 回プロテインフォスファターゼ研究会学術集会；札幌（2003.7.28-29）

10. 深田斉秀、藤川顕寛、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「Ptpnz による Git1 チロシンリン酸化レベルの調節」
第 1 回プロテインフォスファターゼ研究会学術集会；札幌（2003.7.28-29）

11. 野田昌晴（基礎生物学研究所）
「ピロリ菌毒素による胃潰瘍発生の機序」
動物への遺伝子導入とその応用の開発研究会 第 42 回定例会「胃の炎症と癌」；東京（2003.10.6）

12. 藤川顕寛、白坂大輔、山元勝一、太田浩良、八尋錦之助、深田斉秀、新谷隆史、和田昭裕、青山伸郎、平山壽哉、深町博史、野田昌晴（基礎生物学研究所）
“Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori*”
第 76 回日本生化学会；横浜（2003.10.15-18） * ポスターも発表

13. 野田昌晴（基礎生物学研究所）
「胃潰瘍形成に関わる PTP シグナル」
病態代謝研究会第 34 回研究報告会；東京（2003.10.25）

14. 藤川顕寛、白坂大輔、山元勝一、太田浩良、八尋錦之助、深田斉秀、新谷隆史、和田昭裕、青山伸郎、平山壽哉、深町博史、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「Ptrz 欠損マウスはピロリ菌の VacA 毒素による胃潰瘍発症に抵抗性である」
第 26 回日本分子生物学会；神戸（2003.12.10-13）

15. 野田昌晴（基礎生物学研究所）
「PTP と pylori 菌による胃潰瘍発症機序」
第 77 回日本薬理学会シンポジウム；大阪（2004.3.7-10）

16. Motoharu Takao & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Expression and function of receptor-type protein tyrosine phosphatase / in mammalian retina”
第 27 回日本神経科学大会；大阪（2004. 9. 21-23）

17. 布目知也、村本健一郎、松川通、加藤聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「画像処理装置を用いたゼブラフィッシュの 3 次元行動解析」
第 51 回中部日本生理学会；静岡（2004.10.3）

18. Satoru Kato (Kanazawa University Graduate School Medical Science)
“Molecular mechanism of fish optic nerve regeneration”
4th Asia Pacific Symposium on Neural Regeneration; Osaka (2004.12.5-9)

19. Sugitani, K., Matsukawa, T. & Kato, S. (Kanazawa University Graduate School Medical Science)
“A promoting action of transglutaminase on regrowing optic axons in goldfish”
4th Asia Pacific Symposium on Neural Regeneration; Osaka (2004.12.5-9)

20. 新谷隆史、井原賢、渡我部育子、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「Eph 受容体型チロシンキナーゼを負に制御するチロシンホスファターゼの同定と解析」
第 2 回日本プロテインホスファターゼ研究会学術集会；秋田（2005.8.3-4）

21. 深田斉秀、藤川顕寛、池松真也、佐久間貞俊、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「Pleiotrophin による Ptrz の活性調節」
第 2 回日本プロテインホスファターゼ研究会学術集会；秋田（2005.8.3-4）

22. 野田昌晴（基礎生物学研究所）
「受容体型プロテインチロシンホスファターゼと癌」
第 64 回日本癌学会学術総会；札幌（2005.9.14-16）

23. 村松孝紀、布目知也、村本健一郎、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）

「画像処理を用いたゼブラフィッシュの視神経再生過程における行動解析」
第 52 回中部日本生理学会；名古屋（2005.9.29）

24. 太田景子、永島幹子、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「ゼブラフィッシュの視神経再生に関するガレクチンの研究」
第 52 回中部日本生理学会；名古屋（2005.9.29）

25. 藤川顕寛（基礎生物学研究所）
「中枢神経系における Ptpz の機能」
第 6 回神経組織プロテオグリカン研究会；京都（2006.7.22）

26. 村山大育、田中聖之、永島幹子、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「魚類視神経再生分子の再生および発生における発現パターンの比較」
第 53 回中部日本生理学会；甲府（2006.9.27-28）

27. 本間啓子、郡山恵樹、松川 通、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「視神経損傷後のラットおよび金魚網膜における細胞死 / 生存シグナルの比較」
第 53 回中部日本生理学会；甲府（2006.9.27-28）

28. 加藤保志、永島幹子、松川 通、村本健一郎、加藤 聖（金沢大学大学院自然科学研究科）
「金魚視神経再生過程におけるフェリチンの発現」
第 53 回中部日本生理学会；甲府（2006.9.27-28）

29. 胡桃沢智子、安永さおり、馬渡一浩、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「金魚視神経再生過程における接着分子 SynCAM の発現変化」
第 53 回中部日本生理学会；甲府（2006.9.27-28）

ポスター発表（国内会議 62 件、国際会議 11 件）

1. 松川 通，佐々木由佳，馬渡一浩，荒井國三，加藤 聖．
「キンギョ視神経切断後，レチノール結合タンパク質類似タンパク質 mRNA が網膜で増加した」
第 24 回日本分子生物学会年会；横浜（2001.12.9-12）

2. Akihiro Fujikawa, Goro Katsuura, Gaku Sakaguchi, Wen-Jie Song, Satoko Hattori, Eiji Watanabe & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Dopaminergic dysfunction in the mice lacking the receptor tyrosine phosphatase /RPTP gene”
5th International Conference on Protein Phosphatases; Okazaki (2002.3.13-15)

3. 鈴木亮子、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「Sonoporationによるニワトリ胚への遺伝子導入」
第3回国際音響化学療法シンポジウム；福岡（2002.3.28）
4. 菅原清、中川貴志、村本健一郎、杉谷加代、加藤聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「ゼブラフィッシュ視神経切断後の軸索再生と遊泳行動にみる視覚機能の修復」
第79回日本生理学会；広島（2002.3.28-30）
5. 藤川顕寛、渡辺英治、阪口岳、勝浦五郎、服部聡子、宋文杰、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「ドーパミン神経伝達における PTP /RPTP の役割：PTP 遺伝子欠損マウスの解析」
第25回日本神経科学会；東京（2002.7.7-9）
6. 作田拓、鈴木亮子、高橋弘雄、加藤彰、新谷隆史、家村俊一郎、山本隆正、上野直人、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「網膜における BMP アンタゴニスト Ventroneurin の機能解析」
第25回日本神経科学会；東京（2002.7.7-9）
7. 田中正彦、前田信明、野田昌晴、丸野内棣（藤田保健衛生大学）
「受容体型チロシンフォスファターゼ PTP を介した小脳プルキンエ細胞樹状突起の形態形成制御」
第25回日本神経科学会；東京（2002.7.7-9）
8. 湯浅純一、鈴木亮子、加納ふみ、大河原剛、村田昌之、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「CRMP ファミリーの新規アイソフォームの同定と機能解析」
第25回日本神経科学会；東京（2002.7.7-9）
9. 郡山恵樹、山崎眞津美、千葉賢三、加藤 聖、毛利哲郎（金沢大学大学院医学系研究科）
“The preventive effect of propentofylline on the β -amyloid-induced apoptosis in rat hippocampal neurons”
第45回日本神経化学会大会；札幌（2002.7.17-19）
10. 田中聖之、滝沢 昇、馬渡一浩、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「ラットの発達脳での α -ブチロラクトン誘発欠損てんかんにおける GABAB 受容体と GHB 受容体の分離的役割」
第45回日本神経化学会大会；札幌（2002.7.17-19）
11. 杉谷加代、松川通、本間啓子、加藤聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「金魚視神経再生過程におけるトランスグルタミナーゼの変動とその役割」
第45回日本神経化学会；札幌（2002.7.18）

12. 滝沢 昇、田中聖之、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「急性欠神発作ラットの生後発達における転写因子結合活性と脳波および行動異常との関連性についての研究」
第 49 回中部日本生理学会；富山（2002.10.18-19）

13. 村本健一郎、中川貴志、島崎克仁、菅原 清、加藤 聖（金沢大学大学院自然科学研究科）
「画像処理による小型魚類の行動解析システムの開発とその応用」
第 49 回中部日本生理学会；富山（2002.10.18-19）

14. 郡山恵樹、杉谷加代、松川 通、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「金魚視神経線維の再伸長関連分子の機能評価法の確立 網膜組織片培養法の有用性」
第 49 回中部日本生理学会；富山（2002.10.18-19）

15. 松川 通、斉藤舞子、馬渡一浩、郡山恵樹、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「レチノール結合タンパク質 purpurin はキンギョ視神経に關与している」
第 25 回日本分子生物学会；横浜（2002.12.11-14）

16. Tsuboi, N., Utsunomiya, T., Roberts, R.L., Takahashi, K., Noda, M., Daniel, T.O. & Takahashi, T. (Vanderbilt University)
“Identification of p85, a regulatory subunit of phosphatidylinositol-3 kinase (PI3k), as a potential substrate for receptor tyrosine phosphatase, CD148”
The American Society for Cell Biology 42nd Annual Meeting；San Francisco, USA
(2002.12.14-18)

17. 島崎克仁、村本健一郎、菅原 清、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「魚類視神経切断後の網膜神経節細胞応答」
第 80 回日本生理学会；福岡（2003.3.24-26）

18. 劉 中武、郡山恵樹、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「キンギョ網膜視蓋投射再生における Ephrine A2 および semaphorin IIIA」
第 80 回日本生理学会；福岡（2003.3.24-26）

19. 杉谷加代、松川 通、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「金魚視神経再生過程におけるトランスグルタミナーゼ遺伝子発現増加とその役割」
第 80 回日本生理学会大会；福岡（2003.3.24-26）

20. 新里和恵、駒井章治、新谷隆史、野田昌晴、真鍋俊也（東京大学医科学研究所）
「PTP によるシナプス可塑性の調節」

第 26 回日本神経科学大会；名古屋（2003.7.23-25）

21. 藤川顕寛、白坂大輔、山元勝一、太田浩良、八尋錦之助、深田斉秀、新谷隆史、和田昭裕、青山伸郎、平山壽哉、深町博史、野田昌晴（基礎生物学研究所）
Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori*
第 76 回日本生化学会；横浜（2003.10.15-18） * 口頭でも発表
22. Muramatsu, H., Peng Zou, Suzuki, H., Oda, Y., Chen, G.-Y., Sakaguchi, N., Yamamoto, T., Maeda, N., Noda, M., Takada, Y. & Muramatsu, T. (Nagoya University Graduate School of Medicine)
“ 4 1- and 6 1-integrin are components of the midkine receptor complex and involved in midkine signaling”
第 76 回日本生化学会；横浜（2003.10.15-18）
23. Niisato, K., Komai, S., Shintani, T., Noda, M. & Manabe, T. (University of Tokyo Institute of Medical Science)
“Regulation of synaptic plasticity by PTP ”
Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting ;New Orleans, USA (2003.11.8-12)
24. 中村隆弘、新谷隆史、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「DNA マイクロアレイを用いたマウス網膜における領域特異的発現分子の探索」
第 26 回日本分子生物学会；神戸（2003.12.10-13）
25. 湯浅純一、鈴木亮子、加納ふみ、大河原剛、村田昌之、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「CRMP1-4 ファミリーの新規サブタイプの同定と機能解析」
第 26 回日本分子生物学会；神戸（2003.12.10-13）
26. 高橋弘雄、新谷隆史、作田拓、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「CBF-1 は網膜前後軸方向の領域特異性を決定する」
第 26 回日本分子生物学会；神戸（2003.12.10-13）
27. 松川通、永島幹子、馬渡一浩、劉中武、加藤聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「キンギョ視神経再生に関与していると思われる 2 種の新規遺伝子について」
第 26 回日本分子生物学会；神戸（2003.12.10-13）
28. Masahide Fukada, Akihiro Fujikawa & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Identification of the tyrosine dephosphorylation site of G protein-coupled receptor kinase-interactor 1 (Git1), a substrate for protein tyrosine phosphatase receptor type Z (Ptp^r /PTP /RPTP)”

6th International Conference on Protein Phosphatases; 岡山 (2004.2.18-20)

29. 杉谷加代、松川通、加藤聖 (金沢大学大学院医学系研究科)
「金魚視神経再生過程に発現する網膜トランスグルタミナーゼ(TGR)の変動と役割」
第 81 回日本生理学会 ; 札幌 (2004.6.2)
30. Koriyama Y., Homma, K. & Kato, S. (Kanazawa University Graduate School Medical Science)
“Different cell death and survival signals between goldfish and rat retina after optic nerve injury”
XI International Symposium on Retinal Degeneration. ;Perth, Australia (2004.8.23-28)
31. Sugitani K., Matsukawa, T., Maeda, A. & Kato, S. (Kanazawa University Graduate School Medical Science)
“Upregulation of transglutaminase gene in the goldfish”
XI International Symposium on Retinal Degeneration. ;Perth, Australia (2004.8.23-28)
32. Masahide Fukada, Akihiro Fujikawa & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Identification of tyrosine phosphorylation sites of Git1, a substrate for Ptpz”
第 27 回日本神経科学会 ; 大阪 (2004.9.21-23)
33. Takeshi Ohkawara, Takafumi Shintani, Chika Minabe-Saegusa, Junichi Yuasa-Kawada, Masakazu Takahashi & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“A novel basic helix-loop-helix (bHLH) transcription repressor, NeuroAB, expressed in bipolar and amacrine cells in the developing chick retina”
第 27 回日本神経科学会 ; 大阪 (2004.9.21-23)
34. Motoharu Takao & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Expression and function of receptor-type protein tyrosine phosphatase / in mammalian retina”
第 27 回日本神経科学会 ; 大阪 (2004.9.21-23)
35. Takahiro Nakamura, Takafumi Shintani & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Large-scale screening of topographic molecules in the embryonic mouse retina using oligo DNA microarrays”
第 27 回日本神経科学会 ; 大阪 (2004.9.21-23)
36. Takafumi Shintani, Akira Kato, Junichi Yuasa, Hiraki Sakuta, Masakazu Takahashi & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Large-scale identification and characterization of genes with asymmetric expression patterns in the developing chick retina”

第 27 回日本神経科学会 ; 大阪 (2004.9.21-23)

37. Masahide Fukada, Akihiro Fujikawa & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Identification of tyrosine phosphorylation sites of Git1, a substrate for Ptpz”
第 27 回日本神経科学大会 ; 大阪 (2004.9.21-23)
38. Takeshi Ohkawara, Takafumi Shintani, Chika Minabe-Saegusa, Junichi Yuasa-Kawada, Masakazu Takahashi & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“A novel basic helix-loop-helix (bHLH) transcription repressor, NeuroAB, expressed in bipolar and amacrine cells in the developing chick retina”
第 27 回日本神経科学大会 ; 大阪 (2004.9.21-23)
39. Takahiro Nakamura, Takafumi Shintani & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Large-scale screening of topographic molecules in the embryonic mouse retina using oligo DNA microarrays”
第 27 回日本神経科学大会 ; 大阪 (2004.9.21-23)
40. Takafumi Shintani, Akira Kato, Junichi Yuasa, Hiraki Sakuta, Masakazu Takahashi & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Large-scale identification and characterization of genes with asymmetric expression patterns in the developing chick retina”
第 27 回日本神経科学大会 ; 大阪 (2004.9.21-23)
41. 布目知也、村本健一郎、松川 通、加藤 聖 (金沢大学大学院医学系研究科)
「画像処理装置を用いたゼブラフィッシュの 3 次元行動解析」
第 51 回中部日本生理学会 ; 静岡 (2004.10.3)
42. 深田齊秀、藤川顕寛、野田昌晴 (基礎生物学研究所)
「Ptpz による Git1 チロシンリン酸化レベルの調節」
第 27 回日本分子生物学会 ; 神戸 (2004.12.8-11)
44. Takafumi Shintani, Akira Kato, Jun-ichi Yuasa-Kawada, Hiraki Sakuta, Masakazu Takahashi, Ryoko Suzuki, Takashi Ohkawara, Hiroo Takahashi & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Large-scale identification and characterization of genes with asymmetric expression patterns in the developing chick retina”
第 27 回日本分子生物学会 ; 神戸 (2004.12.8-11)
45. Takeshi Ohkawara, Takafumi Shintani, Chika Saegusa, Junichi Yuasa-Kawada, Masakazu Takahashi & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)

“A novel basic helix-loop-helix (bHLH) transcriptional repressor, NeuroAB, expressed in bipolar and amacrine cells in the retina”

第 27 回日本分子生物学会；神戸（2004. 12. 8-11）

46. 松川通、杉谷加代、馬渡一浩、郡山恵樹、劉中武、加藤聖（金沢大学大学院医学系研究科）

「キンギョ視神経再生の初期過程におけるレチノール結合タンパク質 purpurin の役割」

第 27 回日本分子生物学会；神戸（2004. 12. 8-11）

47. 杉谷加代、郡山恵樹、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）

「魚類における視神経切断後の遠心性ニューロン再生過程とその局在について」

第 82 回日本生理学会；仙台（2005.5.19）

48. 郡山恵樹、前田 有、本間恵子、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）

「金魚視神経損傷後の Akt 活性化および軸索再生初期シグナルの探索」

第 82 回日本生理学会；仙台（2005.5.19）

49. 布目知也、村松孝紀、村本健一郎、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）

「ゼブラフィッシュにおける視覚依存性行動の 3 次元解析」

第 82 回日本生理学会；仙台（2005.5.19）

50. 永島幹子、胡桃沢智子、櫻井寛之、馬渡一浩、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）

「GAP-43 からみた魚類視神経再生の評価」

第 82 回日本生理学会；仙台（2005.5.19）

51. 角田真吾、渡辺雄太、村本健一郎、中島廣志、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）

「魚類視神経再生時における神経節細胞の活動」

第 82 回日本生理学会；仙台（2005.5.19）

52. 田中聖之、東 朋美、松川 通、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）

「ゼブラフィッシュのプルプリン cDNA およびゲノム DNA のクローニング」

第 82 回日本生理学会；仙台（2005.5.19）

53. Takahiro Nakamura, Takafumi Shintani, Kayo Nakamura & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)

“Microarray analysis of gene expression profiles in mouse retina after dissection of the optic axons”

第 28 回日本神経科学会；横浜（2005.7.26-28）

54. Masahide Fukada, Akihiro Fujikawa, Shinya Ikematsu, Sadatoshi Sakuma & Masaharu Noda

(National Institute for Basic Biology)

“Negative regulation of Ptpz activity by dimerization”

第 28 回日本神経科学会；横浜 (2005.7.26-28)

55. Hiraki Sakuta, Hiroo Takahashi, Takafumi Shintani & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)

“Mechanisms for determination of the retinotectal projection by Ventroneptin and BMP family molecules”

第 28 回日本神経科学会；横浜 (2005.7.26-28)

56. 櫻井裕之、馬渡一浩、松川 通、杉谷加代、加藤 聖 (金沢大学大学院医学系研究科)

“Role of retinoids in goldfish retina during optic nerve regeneration”

第 48 回日本神経化学会；福岡 (2005.9.28)

57. 村山大育、郡山恵樹、本間啓子、加藤 聖 (金沢大学大学院医学系研究科)

“IGF-I accelerates axonal regeneration in the goldfish retina after optic nerve injury through PI3K/Akt system”

第 48 回日本神経化学会；福岡 (2005.9.28)

58. 加藤 聖、郡山恵樹、杉谷加代 (金沢大学大学院医学系研究科)

「金魚由来分子による哺乳類視神経再生の試み」

第 52 回中部日本生理学会；名古屋 (2005.9.29)

59. Takafumi Shintani, Masaru Ihara, Ikuko Watakabe & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)

“Identification and characterization of a tyrosine phosphatase that negatively regulates Eph receptors”

第 78 回日本生化学会；神戸 (2005.10.21)

60. Tomoya Nunome, Takanori Muramatsu, Kenichiro Muramoto & Satoru Kato (Kanazawa University Graduate School Medical Science)

“A computer image processing system for quantifying zebrafish behavior during CNS development and regeneration”

International Symposium “Dynamics of Developmental Systems” ;Kazusa, Chiba (2005.11.4)

61. Yoshiki Koriyama, Daisuke Murayama, Keiko Homma & Satoru Kato (Kanazawa University Graduate School Medical Science)

“IGF-I as an early signal of goldfish optic nerve regeneration through PI3K/Akt mechanism”

Society for Neuroscience 35th Annual Meeting “Neuroscience 2005”; Washington D.C., USA (2005.11.16)

62. 中村隆弘、新谷隆史、中村佳世、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「視神経再生を誘導する分子機構:視神経障害後のマウス網膜およびキنگョ網膜における遺伝子発現変化」
第28回日本分子生物学会；福岡（2005.12.7-10）
63. 新谷隆史、井原賢、渡我部育子、野田昌晴（基礎生物学研究所）
「Eph受容体型チロシンキナーゼを負に制御するチロシンホスファターゼの同定と解析」
第28回日本分子生物学会；福岡（2005.12.7-10）
64. Takafumi Shintani, Masaru Ihara, Ikuko Watakabe & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Eph receptors are negatively regulated by protein tyrosine phosphatase receptor type O”
日本プロテインホスファターゼ研究会合同国際シンポジウム；神戸（2006.2.9-11）
65. 胡桃沢智子、馬渡一浩、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「魚類視神経再生期間の網膜におけるガレクチン-1の役割」
第83回日本生理学会；前橋（2006.3.29）
66. 村山大育、村松孝紀、布目知也、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「発生と再生から見たゼブラフィッシュの視覚機能の比較」
第83回日本生理学会；前橋（2006.3.29）
67. Toru Matsukawa, Yasushi Kato & Satoru Kato (Kanazawa University Graduate School Medical Science)
“A non-coding RNA of which expression was enhanced during tissue regeneration”
20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology ; Kyoto
(2006.6.18-23)
68. Hiraki Sakuta, Hiroo Takahashi, Takafumi Shintani, Kazuma Etani & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Role of BMP2 in retinal patterning and retinotectal projection”
第29回日本神経科学会；Kyoto（2006.7.19-21）
69. Takafumi Shintani, Masaru Ihara, Hiraki Sakuta, Hiroo Takahashi, Ikuko Watakabe & Masaharu Noda (National Institute for Basic Biology)
“Eph receptors are negatively controlled by protein tyrosine phosphatase receptor type O”
第29回日本神経科学会；Kyoto（2006.7.19-21）
70. 田中聖之、松川 通、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）

「ゼブラフィッシュプルプリン遺伝子のクローニングと視神経再生における発現」
第 49 回日本神経化学会；名古屋（2006.9.14-16）

71. 永島幹子、布目知也、村松孝紀、馬渡一浩、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「GAP-43 分子の発現からみたゼブラフィッシュ視神経損傷後の視機能の回復」
第 49 回日本神経化学会；名古屋（2006.9.14-16）

72. 郡山恵樹、安田理愛、本間啓子、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「NO 合成が金魚の視神経再生を促進する」
第 49 回日本神経化学会；名古屋（2006.9.14-16）

73. 櫻井裕之、馬渡一浩、村山大育、加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科）
「金魚視神経再生中におけるレチノイン酸代謝について」
第 49 回日本神経化学会；名古屋（2006.9.14-16）

(4) 特許出願

国内出願 (1 件)

発明の名称:「動物の行動解析方法、動物の行動解析システム、動物の行動解析プログラム
ならびにそれを記録したコンピュータ読み取り可能な記録媒体」

発明者:加藤 聖・村本健一郎

出願人:科学技術振興機構

出願日:平成 14 年 8 月 29 日

出願 :特願 2002-252172

海外出願 (2 件)

発明の名称:「動物の行動解析方法、動物の行動解析システム、動物の行動解析プログラム
ならびにそれを記録したコンピュータ読み取り可能な記録媒体」

発明者:加藤 聖

出願人:加藤 聖

出願日:平成 14 年 8 月 28 日

国際出願 :PCT/JP03/10979

発明の名称:「PTP・活性化促進又は抑制物質のスクリーニング法」

発明者:藤川顕寛、野田昌晴

出願人:科学技術振興機構

出願日:平成 13 年 7 月 23 日

特許取得:特許第 3785460 号 (日本、登録日平成 18 年 3 月 31 日)

US 7,166,761 (米国)

(5) 受賞等

受賞

- 1) 藤川顕寛、白坂大輔、山元勝一、太田浩良、八尋錦之助、深田斉秀、新谷隆史、和田昭裕、青山伸郎、平山壽哉、深町博史、野田昌晴

「Ptpz 欠損マウスは VacA による胃潰瘍形成に抵抗性である」

第 9 回日本ヘリコバクター学会 上原 H. pylori 最優秀賞 (平成 15 年 6 月)

2) 檜山武史

「塩分に対する嗜好性の制御に関わる神経機構」

三島海雲記念財団奨励賞（平成 17 年 6 月）

新聞報道

1) Nature Genetics (vol. 33, pp. 375-381, 2003) に掲載の”Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of Helicobacter pylori” (Fujikawa et al.) に関する記事

- ・日本経済新聞「胃潰瘍起こす要因 ピロリ菌の働き解明」2003.2.24
- ・日本工業新聞「情報伝達タンパク質変性 誤った信号で細胞が剥離」2003.2.24
- ・中日新聞「ピロリ菌 胃かいよう仕組み解明」2003.2.24
- ・日刊工業新聞「ピロリ菌起因の胃潰瘍 発症メカニズム解明」2003.2.24
- ・東京新聞「胃かいようの原因ピロリ菌 毒素が粘膜細胞はがす」2003.2.24
- ・北海道新聞「ピロリ菌毒素 胃壁細胞はがす作用」2003.2.24
- ・京都新聞「胃かいよう仕組み解明」2003.2.24
- ・読売新聞(夕刊)「ピロリ菌で胃かいよう発症 国内グループ仕組み解明」2003.2.24
- ・産経新聞「胃粘膜細胞 ピロリ菌の毒素で「剥離」潰瘍」2003.2.24
- ・産経新聞「ピロリ菌、粘膜細胞はがす」2003.2.25
- ・化学工業新聞「潰瘍の発症メカニズム解明」2003.2.25
- ・科学新聞「胃潰瘍発症の仕組み解明」2003.3.7
- ・Nature Genetics News and Views “Intoxicated cells and stomach ulcers” 2003.3.3
- ・Science (vol. 299, no. 5612, pp. 1487-1488) Editor s Choice “Tough on the Stomach” 2003.3.7
- ・Science News (vol. 163, no. 10, pp. 148-149) “Ulcer Clue? Molecule could be key to stomach ailment” 2003.3.8
- ・NHK テレビ おはよう日本「ピロリ菌胃かいようの仕組み解明」2003.2.24
- ・日本テレビズームイン!!SUPER 今日のアングル「胃かいようの原因 ピロリ菌とは？」2003.2.26

2) Nature Neuroscience (vol. 9, pp. 761-769, 2006) に掲載の”Eph receptors are negatively controlled by protein tyrosine phosphatase receptor type O” (Shintani et al.) に関する記

事

- ・日刊工業新聞「神経形成酵素の機構解明 基礎生物研、がん治療に光」2006.5.8
- ・日本経済新聞「神経作る酵素の制御たんぱく質」2006.5.8
- ・読売新聞「リン酸化酵素 別酵素で働き抑制」2006.5.8
- ・朝日新聞(夕刊)「がん悪性化抑制たんぱく質特定 酵素の働きコントロール」2006.5.8
- ・中日新聞「神経形成 ブレーキ役酵素を発見 再生医療に応用も」2006.5.9

その他

なし

(6) その他特記事項

なし

7 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 14 年 3月 13～15 日	第 5 回国際プロテイン ホスファターゼカンフ アレンス	岡崎コンファレ ンスセンター	国内 89 名 国外 13 名	国内外の代表的なプロテイン ホスファターゼ研究者が一同 に会し、その関わる生命現象 の多様性を概観し、生命現象 と機能調節メカニズムの統合 的理解を試みると共に、21 世 紀の研究の方向性を探る。
平成 18 年 2月 16 日	損傷中枢神経の再生	金沢大学医学部 記念館	60 名	網膜、脊髄、脳末梢神経の種々 の損傷とその再生について

8 結び

独創的な研究を実現するにあたっては、常に新たな研究手法を開発することが求められるとともに、それが研究の推進において重要な位置を占めていると考えている。本研究においても PTP の基質分子あるいは相互作用分子を一度に単離・同定する Yeast substrate-trapping system の開発、ニワトリにおける shRNA 発現ベクターの開発による RNAi の実現、ニワトリにおける時期特異的外来遺伝子の発現の実現、ニワトリにおける 2Kb をこえる外来遺伝子の発現法の開発、キンギョにおける視神経再生を評価する行動解析法の開発等、多くの手法を開発する必要があり、これらを達成することによって、初めて目指す研究成果を挙げるのが可能となった。これらの方法論自身は、独立に別の論文としては発表することなく、個々の学術論文の方法欄に書いたのみである場合が多いが、これらの手法は今後、世界中の多くの研究者にとって有益な研究手段になると信ずる。CREST は 5 年間という日本の研究費の中では比較的長期間の研究期間が設定されており、目先の成果だけでなく、このように手法の開発から始めるという、腰を落ち着いた研究が実施できることに最大の魅力を感じている。本研究に参加し研究の推進を支えてくれた全ての人々に感謝するとともに、CREST の長期に亘る支援に改めて御礼申し上げたい。



自然科学研究機構 基礎生物学研究所 統合神経生物学研究部門



金沢大学大学院医学系研究科 脳医科学専攻 脳細胞分子学講座 脳情報分子学研究室