

神経変性疾患におけるニューロン死を制御する
内在性保護因子の解明

(課題番号 12470524)

平成12年度～平成13年度科学研究費補助金

(基盤研究(B)(2))

研究成果報告書

平成14年3月

研究代表者 赤池 昭紀

(京都大学薬学研究科 教授)

神経変性疾患におけるニューロン死を制御する
内在性保護因子の解明

(課題番号 12470524)

平成12年度～平成13年度科学研究費補助金

(基盤研究(B)(2))

研究成果報告書

平成14年3月

研究代表者 赤池 昭紀

(京都大学薬学研究科 教授)

はしがき

グルタミン酸は中枢神経系における主要な興奮性神経伝達物質であり、興奮性シナプス後電位や長期増強などの現象に関与する。このような神経伝達物質としての機能に加えて、脳虚血などの低酸素、低血糖下において過剰に遊離されたグルタミン酸は遅延性ニューロン死を誘発することが報告されてきた。さらに、グルタミン酸神経毒性はパーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症などの難治性中枢神経変性疾患の危険因子の一つとしても注目されている。本研究では、難治性中枢変性疾患におけるニューロン死の危険因子としてのグルタミン酸神経毒性に注目し、グルタミン酸受容体刺激に伴うラジカルストレスにより誘発されるニューロン死を抑制する生体内活性物質の探索を目的として、*in vitro*の培養細胞系を用いた研究を行った。グルタミン酸、活性酸素、NOにより誘発される神経毒性に対して保護作用を持つ内因性物質を探索した結果、ウシ胎仔血清 (FCS) 由来神経保護活性物質を含む種々の内在物質が細胞内の活性酸種レベルを制御することにより神経保護作用を発現することを見出した。さらに、切片培養法を用いて黒質線条体共培養を行い、黒質ドパミンニューロンのグルタミン酸神経毒性に対する抵抗性の変化に活性酸素の制御系が重要な役割を果たすことを見出した。

我々は、培養線条体細胞が NMDA 受容体を含むグルタミン酸受容体サブタイプおよび NOS を発現しているにもかかわらずグルタミン酸神経毒性に対して抵抗性を示すこと、さらに、グルタミン酸を負荷した培養線条体細胞条件培地が培養大脳皮質ニューロンにおけるグルタミン酸神経毒性を抑制することを報告してきた。そこで、培養線条体細胞条件培地に含まれる神経保護活性物質の単離を目指して研究を進めたところ、主たる神経保護活性成分がエーテルにより抽出される疎水性低分子量化合物であることが明らかになった。非蛋白性の物質の精製と構造決定には少なくとも数 10 L の単位の大量の原料を必要とすると予想されたことから、供給の容易な原料の探索のためのパイロット実験を進めた。その結果、培養線条体細胞条件培地に 10% 添加している FCS にも、含量は少ないものの、グルタミン酸神経毒性を抑制する疎水性低分子量化合物が含まれることが明らかになった。FCS は酵素を不活化した後、同量のエーテルで 2 回抽出し、C18 カラムを装着した逆相 HPLC を用いアセトニトリルのグラジエントにより 30 分画に分離した。NO ドナーの S-nitrosocysteine (SNOC) により誘発される急性神経毒性が最も再現性よく神経保護活性を調べることができたことから、1 段階目の HPLC 抽出により得られた分画を SNOC 神経毒性に対する保護作用を指標に検討した。その結果、アセトニトリルのグラジエントで 50% 前後に相当する 14~16 番目のフラクションで著明な保護活性が観察された。そこで、これらのフラクションを 2 段階の HPLC 分離に

供した。2段階目ではメタノールのグラジエントにより分離し、250 nm の紫外吸収で著明なピークが認められた分画について SNOC 神経毒性に対する作用を検討したところ、メタノールのグラジエントで 40-50% に相当する分画に著明な保護活性が認められた。この分画を集めて LC-MS による解析を行った結果、ESI(+)の条件下で m/z 383 の隣接した 2 つのピークが観察された。そこで、m/z 383 のピークを指標にさらに精製を行った結果、保護活性を示すフラクションの主要な成分として分子量 382 の 2 つの化合物が含まれることが明らかになった。この 2 種類の化合物について MS/MS 解析および精密 MS 解析を行った結果、両者ともに ESI(+)条件下に分子量 250 前後の非常に安定したフラグメントイオンを発生し、スルホキシドを含み、分子式が $C_{21}H_{34}O_4S$ からなる化合物であることが示された。本化合物の単離に成功した当初は MS/MS 解析結果よりステロイド骨格を持つと予測して化学構造の解析を進めたが、予測された構造をもとに合成した化合物が天然物とは異なる化学的性質を示し、神経保護活性も示さなかったことから、基本骨格がほ乳類由来化合物としては全く新規なものであると推定された。

未知の基本骨格を持つ化合物の構造決定には ^{13}C NMR による解析が不可欠であるが、 ^{13}C NMR を実施するためには精製化合物として 1 mg 前後の試料を必要とする。本化合物について ^{13}C NMR 解析を行うには、FCS 中の含量から計算して 200~300 L を必要とすると推定された。このような大量の抽出は我々の研究室では不可能であったことから、エーザイ株式会社筑波研究所の杉本八郎博士らの協力により 250 L の血清から本化合物を精製し、2 種類の化合物についてそれぞれ 1.7 mg および 1.4 mg の純品を得ることに成功した。純品について 1H NMR および ^{13}C NMR 解析を行った結果、両化合物ともに同一の平面化学構造を持つこと、基本骨格は *atisane* と呼ばれる環状ジテルペンであること、化学構造は 15-hydroxy-17-methylsulfinylatisan-19-oic acid であることが明らかになった。立体構造解析により 2 種類の化合物はスルホキシドの酸素の向きが異なるエピマーであると判明した。データベース解析の結果、本化合物の化学構造はこれまでに全く報告のない新規な化合物であることが分かった。推定構造をもとに合成を行い、2 種類の化合物の薬理活性を調べたところ、両化合物ともに SNOC 神経毒性、グルタミン酸神経毒性の両者を強力に抑制した。特にグルタミン酸神経毒性に対しては 1 時間の前投与により 1 μM 以下の低濃度で著明な保護作用を示した。ESR 解析の結果、本化合物は $\cdot OH$ 消去能を持つことが明らかになった。本化合物に関する研究成果は原著論文として公表すべく準備を進めている。

このようなウシ胎仔血清由来神経保護活性物質の精製と化学構造決定に関する研究のほかに、ニューロトロフィン、ニコチン性アセチルコリン、エストロゲン、ビタミン D、ブラジキニンなどの内在性生理活性物質の神経保護作用とその機序に関する研究を行った。

黒質ドパミンニューロンの投射先である線条体は、細胞間の直接の接触あるいは栄養因子等を介してドパミンニューロンの突起伸展および生存維持に影響を与えることが報告されている。我々は、中脳線条体切片共培養系において、線条体共培養下では中脳単独培養下と比較してグルタミン酸神経毒性に対して抵抗性を獲得することを見出した。そこで、線条体による中脳ドパミンニューロンの保護機序を明らかにする目的で、NMDA 受容体を介するグルタミン酸神経毒性の発現調節に関わる機構について検討を行った。

ラット新生仔から摘出した中脳切片と線条体切片を共培養することにより、中脳切片から線条体切片へのドパミンニューロン軸索の投射形成が生じ、さらに、投射したドパミンニューロンは線条体領域において網状に多数分岐することが確認された。NMDA 投与により中脳ドパミンニューロン数は著明に減少したが、減少の程度は中脳単独培養の方が中脳線条体共培養より顕著であった。NO ドナーの NOC-18 および ONOO⁻ ドナーの SIN-1 によってもドパミンニューロンに対する著明な神経毒性が観察され、これらの神経毒性も中脳単独培養の方が顕著であった。NMDA 受容体刺激により産生された NO はスーパーオキシドと反応して ONOO⁻ を生成し、神経毒性を発現すると推定されている。ONOO⁻ 自体を測定することは困難であるが、ONOO⁻ は種々の蛋白のチロシン残基のニトロ化を引き起こすことからチロシンニトロ化を指標に ONOO⁻ の生成量を推定することが可能である。そこで、中脳腹側部ではドパミンニューロンに特異的に発現する蛋白質であるチロシン水酸化酵素 (TH) のチロシン残基のニトロ化レベルを調べたところ、Sham 処置群において線条体共培養の中脳と比較して中脳単独培養で高いチロシンニトロ化が観察され、NMDA 処置後のチロシンニトロ化の程度も中脳単独培養において高レベルであった。このことから ONOO⁻ の生成量は中脳単独培養群の方が中脳線条体共培養の中脳よりも多いことが示唆された。ONOO⁻ の生成量の違いが NOS 陽性細胞数の差によるものか否かを検討する目的で NOS および TH の二重染色を行ったところ、中脳単独培養および中脳線条体共培養の両者において NOS 陽性細胞は上丘と黒質周辺部に同程度に観察され、両培養群において NOS 陽性細胞の分布、数に差は認められなかった。

黒質線条体切片のドパミンニューロンが NMDA 神経毒性に対して抵抗性を示すようになる原因が NO 産生の差によるものではないことが示唆されたので、次いで、スーパーオキシドの主要な消去機構の一つである SOD の関与について検討した。Sham 処置群において、中脳線条体共培養後の中脳の SOD 活性は中脳単独培養と比較して高い傾向を示した。さらに、NMDA 投与により両培養群の中脳の SOD 活性は増加し、特に中脳線条体共培養群において著明な増加が観察された。そこで、Cu/Zn-SOD と Mn-SOD の蛋白量をイムノブロット解析により定量したところ、Cu/Zn-SOD の蛋白量について

線条体共培養後の中脳において中脳単独培養と比較して有意な増加が観察された。Mn-SOD の蛋白量については両培養群間に差は認められなかった。

Cu/Zn-SOD を過剰発現させるとドパミンニューロンの生存が促進されるとの報告があることから、線条体共培養による中脳切片での SOD 活性の増加は中脳切片中のドパミンニューロンの生存に寄与することが考えられる。NMDA 受容体刺激のようなストレス負荷による SOD 活性増加の機序は不明であるが、細胞生存を促進する機構の一つとしてラジカル神経毒性を除去するために働いていると推定される。さらに、線条体との共培養により NMDA 神経毒性と NO 神経毒性に対するドパミンニューロンの抵抗性が増大する要因の一つとして、共培養下での Cu/Zn-SOD 発現増加に伴う SOD 活性増大が重要な役割を果たすと考えられる。

以上のような内在性神経保護機構の解明を目指した研究の一環として、グルタミン酸/ラジカル系により誘発される神経毒性に対する保護因子に関する研究を、大脳皮質ニューロン (英文原著 5 報)、中脳黒質ドパミンニューロン (英文原著 7 報)、脊髄運動ニューロン (英文原著 2 報)、網膜ニューロン (英文原著 4 報) について行った。さらに、アフリカツメガエル卵母細胞翻訳系を用いたカルシウムチャネル機能の解析 (英文原著 3 報)、脳虚血の分子機構に関する研究 (英文原著 2 報)、炎症における NO の役割の解析 (英文原著 1 報) を実施することにより、中枢神経系におけるニューロン死制御機構に関する重要な知見を得た。

アルツハイマー病、パーキンソン病などの難治性神経疾患の特徴は症状の進行に伴って脳・脊髄の特定の部位の特定の神経細胞群が脱落することであり、疾患特異的な進行性の選択的細胞死の原因については不明の点が多いが、そのニューロン死の危険因子の一つとしてグルタミン酸神経毒性の関与することが指摘されている。グルタミン酸神経毒性に限らず多くの神経細胞死誘発因子の細胞毒性にはラジカルの細胞毒性が関与すると考えられており、グルタミン酸神経毒性については NO とスーパーオキシドが重要な役割を果たすことが知られている。NO 自体は比較的安定で細胞毒性の少ないラジカル種であるが、酸性条件下でスーパーオキシドと反応すると ONOO を生じて強い細胞毒性を示すようになる。したがって、スーパーオキシドは NO を介するグルタミン酸神経毒性のキー・ファクターとして働き、ニューロトロフィンなどの栄養因子もラジカル制御作用によりグルタミン酸神経毒性に対する保護作用を発現することが示唆されている。本研究の知見もこの考え方を支持するものであり、グルタミン酸/ラジカル・ストレス下でのニューロンの生存にはスーパーオキシドを含む活性酸素の生成を制御する機構が重要な役割を果たすと考えられる。今後のさらなる検討が必要なことは言うまでもないが、本研究の知見は、疾患特異的なニューロン死の制御による症状の進行の阻止・遅延を目的とした予防・治療の実現に大きく寄与するものと期待される。

研究組織

研究代表者：赤池昭紀（京都大学薬学研究科薬品作用解析学分野・教授）

研究分担者：香月博志（京都大学薬学研究科薬品作用解析学分野・助教授）

久米利明（京都大学薬学研究科薬品作用解析学分野・助手）

研究協力者：金田勝幸、衣斐督和、西川弘之、竹中千香子、中西美樹、橋野朝美、山本理恵、吉田耕平、篠原温美、白川久志、高田悠記、田口良太、小坂田文隆、河合裕子、作花範子、柴田治樹、中田大介、森 弘樹、泉 安彦、伊藤 謙、伊藤 亮、藤本真二、米沢 淳、島津誠一郎、高畑和恵

共同研究者：京都大学薬学研究科生体機能解析学分野

佐藤公道（教授）、南 雅文（助教授）、中川貴之（助手）

京都大学薬学研究科医療薬理学分野

金子周司（助教授）、木下真理子、神吉秀明、金津正樹、樋口 里、鈴木 篤

京都大学医学研究科臨床神経学研究領域（神経内科学教室）

柴崎 浩（教授）、下濱 俊（助教授）、澤田秀幸（助手）

京都大学医学研究科視覚病態学研究領域（眼科学教室）

本田孔士（教授）、柏井 聡（助教授）

エーザイ株式会社筑波研究所

杉本八郎、西沢幸夫、世永雅弘、浅川直樹、浅井直樹、寺内太郎

東北大学薬学研究科臨床分析化学分野

真野成康（助手）

京都薬科大学病態生理学教室

谷口隆之（教授）、北村佳久（助教授）

和歌山県立医科大学薬理学教室

前田武彦（講師）

福山大学薬学部薬理学教室

田村 豊（助教授）

交付決定額（配分額）

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合 計
平成12年度	8,100	0	8,100
平成13年度	4,000	0	4,00
総 計	12,100	0	12,100

研究発表

(1) 学会誌等

(1-A) 英文

- 1) Kume, T., Nishikawa, H., Tomioka, H., Katsuki, H., Akaike, A., Kaneko, S., Maeda, T., Kihara, T. and Shimohama, S.
p75-mediated neuroprotection by NGF against glutamate cytotoxicity in cortical cultures.
Brain Res., 852, 279-289 (2000)
- 2) Nishikawa, H., Hashino, A., Kume, T., Katsuki, H., Kaneko, S. and Akaike, A.
Involvement of direct inhibition of NMDA receptors in the effects of σ -receptor ligands on glutamate neurotoxicity in vitro.
Eur. J. Pharmacol., 404, 41-48 (2000)
- 3) Honda, K., Sawada, H., Kihara, T., Urushitani, M., Nakamizo, T., Akaike, A. and Shimohama, S.
Phosphatidylinositol 3-kinase mediates neuroprotection by estrogen in cultured cortical neurons.
J. Neurosci. Res., 60, 321-327 (2000)
- 4) Shimazu, S., Katsuki, H., Takenaka, C., Tomita, M., Kume, T., Kaneko, S. and Akaike, A.
 σ receptor ligands attenuate N-methyl-D-aspartate cytotoxicity in dopaminergic neurons of mesencephalic slice cultures.
Eur. J. Pharmacol., 388, 139-146 (2000)
- 5) Sawada, H., Ibi, M., Kihara, T., Urushitani, M., Nakanishi, M., Akaike, A. and Shimohama, S.
Neuroprotective mechanism of glial cell line-derived neurotrophic factor in mesencephalic neurons.
J. Neurochem., 74, 1175-1184, 2000 (2000)
- 6) Sawada, H., Ibi, M., Kihara, T., Urushitani, M., Honda, Y., Nakanishi, M., Akaike, A. and Shimohama, S.
Mechanisms of antiapoptotic effects of estrogens in nigral dopaminergic neurons.
The FASEB Journal, 14, 1202-1214 (2000)
- 7) Nakamizo, T., Urushitani, M., Inoue, R., Shinohara, A., Sawada, H., Honda, K., Kihara, T., Akaike, A. and Shimohama, S.
Protection of cultured spinal motor neurons by estradiol.
Neuroreport, 11, 3493-3497 (2000)

- 8) Yasuyoshi, H., Kashii, S., Shen, Z., Nishida, A., Yamauchi, T., Honda, Y., Asano, Y., Sato, S. and Akaike, A.
Protective effect of bradykinin against glutamate neurotoxicity in cultured rat retinal neurons.
Inv. Ophthalmol. Vis. Sci., 41, 2273-2278 (2000)
- 9) Shen, Z., Kashii, S., Yasuyoshi, H., Honda, Y., Ujihara, H., Sasa, M., Tamura, Y. and Akaike, A.
Involvement of NMDA-receptor in kainate-induced neurotoxicity in cultured fetal retinal neurons.
Graefe's Arch Clin. Exp. Ophthalmol., 238, 243-248 (2000)
- 10) Zhang, S., Kashii, S., Yasuyoshi, H., Kikuchi, M., Honda, Y., Kaneda, K., Sato, S. and Akaike, A.
Protective effects of ifenprodil against glutamate-induced neurotoxicity in cultured retinal neurons.
Graefe's Arch Clin. Exp. Ophthalmol., 238, 846-852 (2000)
- 11) Toriu, N., Akaike, A., Yasuyoshi, H., Zhang, S., Kashii, S., Honda, Y., Shimazawa, M. and Hara, H.
Lomerizine, a Ca²⁺ channel blocker, reduces glutamate-induced neurotoxicity and ischemia/reperfusion damage in rat retina.
Exp. Eye Res., 70, 475-484 (2000)
- 12) Kashii, S., Honda, Y. and Akaike, A.
Nitric oxide and retinal ischemia.
Nitric Oxide in the Eye (S. Kashii, A. Akaike, Y. Honda eds., Springer-Verlag, Tokyo) pp153-179 (2000)
- 13) Kinoshita, M., Akaike, A. and Kaneko, S.
Positive regulation of capacitative Ca²⁺ entry by intracellular Ca²⁺ in *Xenopus* oocytes expressing rat TRP4.
Cell Calcium, 28, 151-159 (2000)
- 14) Kitamura, Y., Shimohama, S., Akaike, A. and Taniguchi, T.
The parkinsonian models: omvertebrates to mannals.
Jpn. J. Pharmacol., 84, 237-243 (2000)
- 15) Tsuji, M., Higuchi, Y., Shiraishi, K., Kume, T., Akaike, A. and Hattori, H.
Protective effect of aminoguanidine on hypoxic-ischemic brain damage and temporal profile of brain nitric oxide in neonatal rat.
Pediatric Res., 47, 79-83 (2000)
- 16) Yamaoka, J., Kume, T., Akaike, A. and Miyachi, Y.
Suppressive effect of zinc ion on iNOS expression induced by interferon- γ or tumor necrosis factor- α in murine keratinocytes.
J. Dermatol. Sci., 23, 27-35 (2000)

- 17) Kihara, T., Shimohama, S., Sawada, H., Honda, K., Nakamizo, T., Shibasaki, H., Kume, T. and Akaike, A.
 α 7 nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block A β -amyloid-induced neurotoxicity.
J. Biol. Chem., 276, 13541-13546 (2001)
- 18) Honda, K., Shimohama, S., Sawada, H., Kihara, T., Nakamizo, T., Shibasaki, H. and Akaike, A.
Nongenomic antiapoptotic signal transduction by estrogen in cultured cortical neurons.
Neurosci. Res., 64, 466-475 (2001)
- 19) Katsuki, H., Tomita, M., Takenaka, C., Shirakawa, H., Shimazu, S., Ibi, M., Kume, T., Kaneko, S. and Akaike, A.
Superoxide dismutase activity in organotypic midbrain-striatum co-cultures is associated with resistance of dopaminergic neurons to excitotoxicity.
J. Neurochem., 76, 1336-1345 (2001)
- 20) Katsuki, H., Takenaka, C., Kume, T., Kaneko, S. and Akaike, A.
Requirement of neural activity for the maintenance of dopaminergic neurons in rat midbrain slice cultures.
Neurosci. Lett., 300, 166-170 (2001)
- 21) Shimazu, S., Takahata, K., Katsuki, H., Tsunekawa, H., Tanigawa, A., Yoneda, F., Knoll, J. and Akaike, A.
(-)-1-(Benzofuran-2-yl)-2-propylaminopentane enhances locomotor activity in rats due to its ability to induce dopamine release.
Eur. J. Pharmacol., 421, 181-189 (2001)
- 22) Ibi, M., Nakanishi, M., Kume, T., Katsuki, H., Kaneko, S., Shimohama, S. and Akaike, A.
Protective effects of $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ against the neurotoxicity of glutamate and reactive oxygen species in mesencephalic culture.
Neuropharm., 40, 761-771 (2001)
- 23) Urushitani, M., Nakamizo, T., Inoue, R., Sawada, H., Kihra, T., Honda, K., Akaike, A. and Shimohama, S.
N-Methyl-D-Aspartate receptor-mediated mitochondrial Ca^{2+} overload in acute excitotoxic motor neuron death: a mechanism distinct from chronic neurotoxicity after Ca^{2+} influx.
Neurosci. Res., 63, 377-387 (2001)
- 24) Kanki, H., Kinoshita, M., Akaike, A., Satoh, M., Mori, Y. and Kaneko, S.
Activation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor is essential for the opening of mouse TRP5 channels.
Mol. Pharm., 60, 989-998 (2001)
- 25) Kinoshita, M., Nukada, T., Asano, T., Mori, Y., Akaike, A., Satoh, M. and Kaneko, S.
Binding of $\text{G}\alpha_o$ N terminus is responsible for the voltage-resistant inhibition of α_{1A}

(P/Q-type, Ca_v2.1) Ca²⁺ channels.
J. Biol. Chem., 276, 28731-28738 (2001)

- 26) Kitamura, Y., Ishida, Y., Takata, K., Kakimura, J.-i., Mizutani, H., Shimohama, S., Akaike, A. and Taniguchi, T.
 α -Synuclein protein is not scavenged in neuronal loss induced by kainic acid or focal ischemia.
Brain Res., 898, 181-185 (2001)

(1-B) 和文

- 1) 赤池昭紀, 香月博志, 久米利明
グルタミン酸による遅延性神経細胞死に対するニコチンの保護作用
脳の化学, 22, 985-990 (2000)
- 2) 香月博志, 赤池昭紀
ドパミン受容体と Parkinson 病
別冊 医学のあゆみ 7 回膜貫通型受容体研究の新展開 (佐藤公道、赤池昭紀編),
133-137 (2001)
- 3) 赤池昭紀
中脳ニューロンのアポトーシス制御因子
医学のあゆみ, 198, 152-153 (2001)

(2) 学会発表

(2-A) 国際学会・シンポジウムにおける発表

- 1) Akaike, A., Katsuki, H. and Kume, T.
Protective effects of vitamin E analogs and neurotrophins on neurotoxicity induced by glutamate and reactive oxygen species.
4th UNESCO-MCBN/COSTAM/SFRR (ASIA/ASEAN) Workshop Micronutrients and Health: Molecular Biological Mechanisms, Langkawi, Malaysia (2000. 7)
- 2) Akaike, A.
Effect of glial cell line-derived neurotrophic factor on apoptosis induced by oxidative stress in cultured mesecephalic neurons.
9th International Catecholamine Symposium, Kyoto, Japan (2001. 4)

(2-B) 国内学会・シンポジウムにおける発表

- 1) 久米利明, 本橋陽子, 橋野朝美, 西川弘之, 香月博志, 金子周司, 赤池昭紀
培養線条体神経細胞における酸化障害に対するビタミン E 類縁体の作用

- 日本薬学会第120年会, 岐阜 (2000. 3)
- 2) 山本理恵, 香月博志, 久米利明, 金子周司, 赤池昭紀, 真鍋伸一, 柏井聡, 本田孔士
組織培養を用いた網膜神経節細胞死の評価
第73回日本薬理学会年会, 横浜 (2000. 3)
Jpn. J. Pharmacol., 82 (pp. Suppl. 1, 171P, 2000)
 - 3) 中西美樹, 衣斐督和, 久米利明, 香月博志, 金子周司, 赤池昭紀, 澤田秀幸, 下濱俊
中脳培養ニューロンのアポトーシスに対する 17 β -エストラジオールの作用
第73回日本薬理学会年会, 横浜 (2000. 3)
Jpn. J. Pharmacol., 82 (pp. Suppl. 1, 182P, 2000)
 - 4) 竹中千香子, 香月博志, 久米利明, 金子周司, 赤池昭紀
培養中脳ドパミンニューロンの生存・維持における興奮性神経活動の役割
第97回日本薬理学会近畿部会, 大阪 (2000. 6)
日薬理誌, 116 (pp. 84P, 2000)
 - 5) 赤池昭紀
虚血と神経細胞死のメカニズム
仙台セミナー21, 仙台 (2000. 7)
 - 6) 赤池昭紀
神経細胞死を制御する内在性保護因子
第15回臨床薬理セミナー熊本 (2000. 7)
 - 7) 安達徹, 張シン, 柏井聡, 安吉弘毅, 本田孔士, 佐藤幸, 赤池昭紀
ラット網膜初代培養神経細胞におけるグルタミン酸毒性に対する Vitamin B6
の保護作用
第20回日本眼薬理学会, 京都 (2000. 9)
 - 8) 香月博志, 赤池昭紀
組織切片を用いた神経細胞死の解析
第20回日本眼薬理学会, 京都 (2000. 9)
 - 9) 山内知房, 安吉弘毅, Zhang, S., 柏井聡, 本田孔士, 赤池昭紀
網膜神経細胞のグルタミン酸毒性に対するブラジキニンの保護作用
第20回日本眼薬理学会, 京都 (2000. 9)
 - 10) 山本理恵, 香月博志, 中田大介, 久米利明, 赤池昭紀, 金子周司, 真鍋伸一, 安達徹, 柏井聡, 本田孔士
組織培養での網膜神経節細胞のアポトーシスにおける一酸化窒素の関与
第20回日本眼薬理学会, 京都 (2000. 9)
 - 11) 赤池昭紀
中脳ドパミンニューロン死を制御する因子
第1回北海道神経変性疾患治療研究会, 札幌 (2000. 9)

- 12) 張シン, 柏井聡, 山内知房, 本田孔士, 赤池昭紀
ラット網膜初代培養神経細胞におけるグルタミン酸毒性に対する Dopamine の
保護作用のメカニズム
第20回日本眼薬理学会, 京都 (2000. 9)
- 13) 橋野朝美, 小坂田文隆, 西川弘之, 久米利明, 香月博志, 金子周司, 赤池昭紀
培養線条体ニューロンにおける H₂O₂ 誘発神経毒性に対するビタミン E 類縁
体の作用
第98回日本薬理学会近畿部会, 岐阜 (2000. 10)
- 14) 久米利明, 橋野朝美, 小坂田文隆, 西川弘之, 香月博志, 金子周司, 赤池昭紀
ニューロン死におけるビタミン E 類縁体の保護作用
日本薬学会第121年会, 札幌 (2001. 3)
- 15) 金津正樹, 木下真理子, 赤池昭紀, 佐藤公道, 金子周司
新規抗痴呆薬 FK906 による N 型 Ca²⁺チャンネル電流の特異的増強作用
第74回日本薬理学会年会, 横浜 (2001. 3)
- 16) 香月博志, 赤池昭紀
黒質ドパミンニューロン死の制御因子・組織培養を用いたアプローチ
日本薬学会第121年会, 札幌 (2001. 3)
- 17) 高田悠記, 西尾照子, 久米利明, 山岡淳一, 香月博志, 金子周司, 伊藤壽一, 赤池
昭紀
マウス接触性皮膚炎モデルにおける NOS inhibitor による耳介の肥厚の抑制
第74回日本薬理学会年会, 横浜 (2001. 3)
- 18) 赤池昭紀
興奮性アミノ酸により誘発される神経細胞死の制御
第26回日本脳卒中学会総会, 大坂 (2001. 3)
- 19) 西岡直人, 山崎浩誠, 赤池昭紀, 佐藤公道, 金子周司
II-III リンカーを欠損しているヒト α_{1B} (Ca_v2.2) Ca²⁺ チャンネルバリエーションにおけ
る性質の違い
第74回日本薬理学会年会, 横浜 (2001. 3)
- 20) 白川久志, 香月博志, 田口良太, 篠原温美, 金子周司, 伊藤壽一, 赤池昭紀
大脳皮質神経細胞における NMDA 誘発電流および神経細胞死に対する
neurosteroid の作用
第74回日本薬理学会年会, 横浜 (2001. 3)
- 21) 赤池昭紀
脳と眼を守るくすり
京都大学春秋講義, 京都 (2001. 6)
- 22) 田口良太, 西川弘之, 久米利明, 香月博志, 金子周司, 赤池昭紀

In vitro 科学的虚血誘発神経細胞死に対するシグマ受容体リガンドの作用
第99回日本薬理学会近畿部会, 広島 (2001. 6)

- 23) 吉田耕平, 中川貴之, 金子周司, 赤池昭紀, 佐藤公道
脊髄膠様質ニューロンの後根反復刺激誘発性緩徐脱分極反応に対するノシセプチン及びATPの作用
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001. 9)
- 24) 久米利明, 西川弘之, 田口良太, 香月博志, 金子周司, 赤池昭紀
化学的虚血誘発ニューロン死およびグルタミン酸神経毒性に対するシグマ受容体リガンドの作用
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001. 9)
- 25) 金子周司, Cooper, C. B., 西岡直人, 山崎浩誠, 鈴木篤, 赤池昭紀, 佐藤公道, Zamponi, G. W.
ドメインII-IIIリンカーを欠如した新規ヒト α_{1B} ($Ca_v2.2$) 電位依存症 Ca^{2+} チャネル変異体の同定と特徴
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001. 9)
- 26) 香月博志, 竹中千香子, 柴田治樹, 久米利明, 金子周司, 赤池昭紀
培養中脳ドパミンニューロンの維持における神経活動の役割
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001. 9)
- 27) 山内知房, 柏井聡, 本田孔士, 赤池昭紀
網膜神経細胞のグルタミン酸毒性におけるミトコンドリアの役割
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001. 9)
- 28) 赤池昭紀, 香月博志, 久米利明, 柏井聡, 本田孔士
網膜神経細胞死を制御する内在性保護因子
第21回日本眼薬理学会 第13回国際眼研究会議日本部会 合同会議, 東京都 (2001. 9)
- 29) 赤池昭紀
神経細胞死におけるNO作用の二面性
第21回日本眼薬理学会 第13回国際眼研究会議日本部会 合同会議, 東京都 (2001. 9)
- 30) 赤池昭紀, 香月博志, 久米利明
グルタミン酸神経毒性を制御する因子
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001. 9)
- 31) 大町成樹, 三上雅久, 衣斐督和, 赤池昭紀, 伊藤信行
中脳黒質に特異的に発現する神経栄養因子(FGF-20)の作用機構について
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001. 9)
- 32) 白川久志, 香月博志, 田口良太, 篠原温美, 久米利明, 金子周司, 伊藤壽一, 赤池昭紀
NMDA誘発神経毒性およびホールセル電流に対するneuroactive steroidの作用

- 第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001.9)
- 33) 樋口里, 神吉秀明, 久米利明, 赤池昭紀, 佐藤公道, 森泰生, 金子周司
ラット胎仔由来初代培養大脳皮質ニューロンにおける Trp の発現と機能に関する
検討
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001.9)
- 34) 木下真理子, Kellenberger, C., Luu, B., 鈴木篤, 赤池昭紀, 佐藤公道, 金子周司
 α_{1E} 型電位依存症 Ca^{2+} チャンネルに選択的なバツタ由来新規ペプチド PMP-D2 の
抑制作用
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001.9)
- 35) Wang, X., 柏井聡, Zhao, L., Tonchev, A., 香月博志, 赤池昭紀, 本田孔士, 山下純
宏, 山嶋哲盛
Vitamin B6 protects monkey retinal neurons from ischemic injury
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001.9)
- 36) 澤田秀幸, 河野隆一, 木原武士, 作花範子, 中溝知樹, 赤池昭紀, 柴崎浩, 下濱俊
Proteasome はドーパミンニューロン死を伝達し、その抑制は Lewy 小体様封入
体を形成する
第24回日本神経科学 第44回日本神経化学 合同大会, 京都 (2001.9)
- 37) 篠原温美, 香月博志, 久米利明, 金子周司, 赤池昭紀
培養大脳皮質切片における化学的虚血誘発障害の内在性調節機構としての K^+ チ
ャネル
第100回日本薬理学会近畿部会, 大阪 (2001.11)

(3) 出版物

- 1) 佐藤公道、赤池昭紀編
別刷・医学のあゆみ 7回膜貫通型受容体研究の新展開 —ポストゲノム時代
の受容体研究のゆくえ— (医歯薬出版、東京、2001)
- 2) S. Kashii, A. Akaike and Y. Honda (Eds.)
Nitric oxide in the eye (Springer-Verlag, Tokyo, 2001)
- 3) 赤池昭紀 他 67 名
第14改正日本薬局方解説書 (廣川書店、東京、2001)

研究発表論文集 目次

英文原著

1. p75-mediated neuroprotection by NGF against glutamate cytotoxicity in cortical cultures. 1
Kume, T., Nishikawa, H., Tomioka, H., Katsuki, H., Akaike, A., Kaneko, S., Maeda, T., Kihara, T. and Shimohama, S.
Brain Res., 852, 279-289 (2000)
2. Involvement of direct inhibition of NMDA receptors in the effects of σ -receptor ligands on glutamate neurotoxicity in vitro. 12
Nishikawa, H., Hashino, A., Kume, T., Katsuki, H., Kaneko, S. and Akaike, A.
Eur. J. Pharmacol., 404, 41-48 (2000)
3. Phosphatidylinositol 3-kinase mediates neuroprotection by estrogen in cultured cortical neurons. 20
Honda, K., Sawada, H., Kihara, T., Urushitani, M., Nakamizo, T., Akaike, A. and Shimohama, S.
J. Neurosci. Res., 60, 321-327 (2000)
4. σ receptor ligands attenuate *N*-methyl-D-aspartate cytotoxicity in dopaminergic neurons of mesencephalic slice cultures. 27
Shimazu, S., Katsuki, H., Takenaka, C., Tomita, M., Kume, T., Kaneko, S. and Akaike, A.
Eur. J. Pharmacol., 388, 139-146 (2000)
5. Neuroprotective mechanism of glial cell line-derived neurotrophic factor in mesencephalic neurons. 35
Sawada, H., Ibi, M., Kihara, T., Urushitani, M., Nakanishi, M., Akaike, A. and Shimohama, S.
J. Neurochem., 74, 1175-1184, 2000 (2000)
6. Mechanisms of antiapoptotic effects of estrogens in nigral dopaminergic neurons. 45
Sawada, H., Ibi, M., Kihara, T., Urushitani, M., Honda, Y., Nakanishi, M., Akaike, A. and Shimohama, S.
The FASEB Journal, 14, 1202-1214 (2000)
7. Protection of cultured spinal motor neurons by estradiol. 58
Nakamizo, T., Urushitani, M., Inoue, R., Shinohara, A., Sawada, H., Honda, K.,

- Kihara, T., Akaike, A. and Shimohama, S.
Neuroreport, 11, 3493-3497 (2000)
8. Protective effect of bradykinin against glutamate neurotoxicity in cultured rat retinal neurons. 63
Yasuyoshi, H., Kashii, S., Shen, Z., Nishida, A., Yamauchi, T., Honda, Y., Asano, Y., Sato, S. and Akaike, A.
Inv. Ophthalmol. Vis. Sci., 41, 2273-2278 (2000)
9. Involvement of NMDA-receptor in kainate-induced neurotoxicity in cultured fetal retinal neurons. 69
Shen, Z., Kashii, S., Yasuyoshi, H., Honda, Y., Ujihara, H., Sasa, M., Tamura, Y. and Akaike, A.
Graefe's Arch Clin. Exp. Ophthalmol., 238, 243-248 (2000)
10. Protective effects of ifenprodil against glutamate-induced neurotoxicity in cultured retinal neurons. 75
Zhang, S., Kashii, S., Yasuyoshi, H., Kikuchi, M., Honda, Y., Kaneda, K., Sato, S. and Akaike, A.
Graefe's Arch Clin. Exp. Ophthalmol., 238, 846-852 (2000)
11. Lomerizine, a Ca²⁺ channel blocker, reduces glutamate-induced neurotoxicity and ischemia/reperfusion damage in rat retina. 82
Torii, N., Akaike, A., Yasuyoshi, H., Zhang, S., Kashii, S., Honda, Y., Shimazawa, M. and Hara, H.
Exp. Eye Res., 70, 475-484 (2000)
12. Positive regulation of capacitative Ca²⁺ entry by intracellular Ca²⁺ in *Xenopus* oocytes expressing rat TRP4. 92
Kinoshita, M., Akaike, A. and Kaneko, S.
Cell Calcium, 28, 151-159 (2000)
13. Protective effect of aminoguanidine on hypoxic-ischemic brain damage and temporal profile of brain nitric oxide in neonatal rat. 101
Tsuji, M., Higuchi, Y., Shiraishi, K., Kume, T., Akaike, A. and Hattori, H.
Pediatric Res., 47, 79-83 (2000)
14. Suppressive effect of zinc ion on iNOS expression induced by interferon- γ or tumor necrosis factor- α in murine keratinocytes. 106
Yamaoka, J., Kume, T., Akaike, A. and Miyachi, Y.
J. Dermatol. Sci., 23, 27-35 (2000)

15. $\alpha 7$ nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block a β -amyloid-induced neurotoxicity. 115
 Kihara, T., Shimohama, S., Sawada, H., Honda, K., Nakamizo, T., Shibasaki, H., Kume, T. and Akaike, A.
J. Biol. Chem., 276, 13541-13546 (2001)
16. Nongenomic antiapoptotic signal transduction by estrogen in cultured cortical neurons. 121
 Honda, K., Shimohama, S., Sawada, H., Kihara, T., Nakamizo, T., Shibasaki, H. and Akaike, A.
Neurosci. Res., 64, 466-475 (2001)
17. Superoxide dismutase activity in organotypic midbrain-striatum co-culture is associated with resistance to dopaminergic neurons to excitotoxicity. 131
 Katsuki, H., Tomita, M., Takenaka, C., Shirakawa, H., Shimazu, S., Ibi, M., Kume, T., Kaneko, S. and Akaike, A.
J. Neurochem., 76, 1336-1345 (2001)
18. Requirement of neural activity for the maintenance of dopaminergic neurons in rat midbrain slice cultures. 141
 Katsuki, H., Takenaka, C., Kume, T., Kaneko, S. and Akaike, A.
Neurosci. Lett., 300, 166-170 (2001)
19. (-) -1- (Benzofuran-2-yl)-2-propylaminopentane enhances locomotor activity in rats due to its ability to induce dopamine release. 146
 Shimazu, S., Takahata, K., Katsuki, H., Tsunekawa, H., Tanigawa, A., Yoneda, F., Knoll, J. and Akaike, A.
Eur. J. Pharmacol., 421, 181-189 (2001)
20. Protective effects of $1\alpha,25$ -(OH) $_2$ D $_3$ against the neurotoxicity of glutamate and reactive oxygen species in mesencephalic culture. 155
 Ibi, M., Nakanishi, M., Kume, T., Katsuki, H., Kaneko, S., Shimohama, S. and Akaike, A.
Neuropharm., 40, 761-771 (2001)
21. N-methyl-D-aspartate receptor-mediated mitochondrial Ca $^{2+}$ overload in acute excitotoxic motor neuron death: a mechanism distinct from chronic neurotoxicity after Ca $^{2+}$ influx. 166
 Urushitani, M., Nakamizo, T., Inoue, R., Sawada, H., Kihra, T., Honda, K., Akaike, A. and Shimohama, S.
Neurosci. Res., 63, 377-387 (2001)

22. Activation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor is essential for the opening of mouse TRP5 channels. 177
 Kanki, H., Kinoshita, M., Akaike, A., Satoh, M., Mori, Y. and Kaneko, S.
Mol. Pharm., 60, 989-998 (2001)
23. Binding of $G\alpha_o$ N terminus is responsible for the voltage-resistant inhibition of α_{1A} (P/Q-type, $Ca_v2.1$) Ca^{2+} channels. 187
 Kinoshita, M., Nukada, T., Asano, T., Mori, Y., Akaike, A., Satoh, M. and Kaneko, S.
J. Biol. Chem., 276, 28731-28738 (2001)
24. α -Synuclein protein is not scavenged in neuronal loss induced by kainic acid or focal ischemia. 195
 Kitamura, Y., Ishida, Y., Takata, K., Kakimura, J.-i., Mizutani, H., Shimohama, S., Akaike, A. and Taniguchi, T.
Brain Res., 898, 181-185 (2001)

英文総説

1. Nitric oxide and retinal ischemia. 200
 Kashii, S., Honda, Y. and Akaike, A.
 Nitric Oxide in the Eye (S. Kashii, A. Akaike, Y. Honda eds., Springer-Verlag, Tokyo) pp153-179 (2000)
2. The parkinsonian models: omvertebrates to mannals. 227
 Kitamura, Y., Shimohama, S., Akaike, A. and Taniguchi, T.
Jpn. J. Pharmacol., 84, 237-243 (2000)

和文総説

1. グルタミン酸による遅延性神経細胞死に対するニコチンの保護作用 234
 赤池昭紀, 香月博志, 久米利明
 脳の科学, 22, 985-990 (2000)
2. ドパミン受容体と Parkinson 病 240
 香月博志, 赤池昭紀
 別冊 医学のあゆみ 7 回膜貫通型受容体研究の新展開 (佐藤公道, 赤池昭紀 編), 133-137 (2001)
3. 中脳ニューロンのアポトーシス制御因子 245

赤池昭紀
医学のあゆみ, 198, 152-153 (2001)