

平成18年度 学術創成研究費 研究進捗状況報告書（中間評価用）

平成18年3月31日現在

ふりがな	うちやま やすお		所属研究機関・ 部局・職	大阪大学・医学系研究科・教授				
研究代表者 氏名	内山安男							
研究課題名 (英訳名)	オートファジー性神経細胞死の分子細胞生物学的研究 (Molecular mechanisms of autophagic neuron death)							
研究経費 (千円未満切捨) <small>平成16,17年度使用内訳は支出額、平成18年度以降の交付額は内約額、使用内訳は支出予定額を記入</small>	年度	研究経費(千円)		使用内訳(千円) <平成18年度以降は支出予定額>				
		交付額	支出額	設備備品費	消耗品費	旅費	謝金等	その他
	平成16年度	85,800	85,800	51,096	26,144	1,438	5,338	1,782
	平成17年度	84,300	84,300	38,832	23,165	2,978	14,668	4,655
	平成18年度	82,200	82,200	32,812	26,388	3,000	15,000	5,000
	平成19年度	62,400	62,400	9,073	30,327	3,000	15,000	5,000
	平成20年度	55,600	55,600	0	32,600	3,000	15,000	5,000
	総計	370,300						
研究組織(研究代表者及び研究分担者)								
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担(研究実施計画に対する分担事項)					
内山安男	大阪大学・医学系研究科・教授	神経科学・細胞生物学	研究の統括と形態解析					
柴田昌宏	大阪大学・医学系研究科・助手	神経科学・細胞生物学	虚血負荷後の脳組織のプロテオーム解析とノックアウトマウスの作製、TNF-による肝細胞死経路の検討					
小池正人	大阪大学・医学系研究科・助手	神経科学・細胞生物学	虚血負荷後の脳組織の形態・免疫細胞化学的解析とノックアウトマウスの解析、TNF-による肝細胞死経路の検討					
後藤邦仁	大阪大学・医学系研究科・助手	神経科学・細胞生物学	移植肝組織の長期保存再灌流障害の解析、TNF-による肝細胞死経路の検討					
和栗 聡	福島県立医科大学・医学部・教授	神経科学・細胞生物学	DNAマイクロアレイ法による解析、コンディショナルオートファジー欠損マウスの形態学的解析、オートファジー促進因子の探索					
谷田以誠	順天堂大学・医学部・講師	生化学・分子細胞生物学	オートファジー関連遺伝子の分子生物学的・生化学的解析 (コンディショナルオートファジー欠損マウスの生化学的解析)					
計 6名								

当初の研究目的 (交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。)

本研究では、短時間脳虚血モデルや培養神経細胞系を用いて“リソソーム/オートファジー性神経細胞死の分子機構”を解明することを目的とする。

この研究においては、1) ER ストレスに基づくオートファジー性神経細胞死の存在の有無を、短時間あるいは低酸素脳虚血負荷後に生じる海馬錐体細胞死で検討し、2) もし存在すれば、この細胞死はカスパーゼに依存するか否か、さらに、3) その死の分子機構に、特に、リソソームカテプシン D と B がどのように働くか、を中心に解析することを目指した。また、4) カテプシン D は細胞死誘導活性があり、細胞死と直接関連する基質を探索する。これまでに、カテプシン D の内在性インヒビターは高等動物では知られていない。この基質を探索する過程でインヒビターも採取できる可能性があり、これによってオートファジー性神経細胞死を抑制する治療手段の開発に繋がることが期待される。それと同時に、5) アルツハイマー病や神経変性疾患モデル動物(例えばリソソームカテプシン欠損マウス)を使って、オートファジーがどのように組み込まれているかを、形態学、免疫組織細胞化学法を用いて解析する。これによって、オートファジーが誘導される神経細胞の形態に共通する変化を理解することが期待される。さらに、6) DNA マイクロアレイ法により、ラットの発生時期から、成長過程、老化に至る変化を解析し、DNA 発現からみたオートファジー/リソソーム系の変化を解析する。

これまでの研究経過

1. 本研究は、学術創成研究費の趣旨の3つの観点のうち、どの観点到に主眼を置いて研究を行っているかについてお書きください。
 2. 研究の進捗状況について、必要に応じて図表等を用いながら、研究組織内の連携状況を含め、具体的に記入してください。
1. 本研究は、**創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究を目指している**。本研究は“オートファジー性細胞死”が実態としてあるのか、あればどのような意義があるのかという観点で分子細胞生物学的に解析を進めてきた。これまでの結果は、細胞死を考える上で非常に重要な結果が得られたものと考えている。

2. これまでの成果

1) オートファジー関連遺伝子 Atg7 を臓器特異的に欠損したマウスを用いた研究

田中啓二博士(臨床医学研究所)との共同研究。Atg7 はオートファゴソーム形成に必須のタンパク質 LC3 の C 末端グリシンにリン脂質を付加するための E1 酵素で、E2 酵素の Atg3 と共に LC3 -(細胞質型)を LC3 -II (膜結合型)に変換する。

(A)脳で特異的に Atg7 を欠損するマウス: ユビキチンがオートファジーを介するタンパク質分解にも関与し、オートファジーができないと神経変性疾患に陥ることが分かった。ユビキチンタンパク質結合体が封入体として神経細胞に蓄積し、神経変性疾患を考える上で非常に重要なことが明らかとなった(和栗、小池、内山担当、論文2)。

(B)肝臓で特異的に Atg7 を欠損するマウス: 肝肥大と肝炎に陥る。オートファゴソーム形成に小胞体が重要であること、分解されない変形したミトコンドリア、過剰のペロキシソームが認められる。(和栗、内山担当、論文10)。現在、これらマウスを用いてさらに実験を進め、これまでに下記の結果を得ている。

2) オートファジー性(神経)細胞死の解析

(A)低酸素脳虚血(HI)負荷実験: 生後7日齢のマウスの片側総頸動脈を結紮し、45分間の HI 負荷をかけると、24時間以内に海馬領域を中心に錐体細胞死が引き起こされる。これまで様々な原因が提示されてきたが、未だ解決をみない。CA1 錐体細胞層でみると、ほとんどはカスパーゼ-3 非依存性の錐体細胞死で、オートファジーのマーカーである LC3 陽性の顆粒(カテプシン D 陽性)が増加する。脳で Atg7 を欠損するマウスに HI 負荷をかけた所、1例で CA3 領域の一部に細胞死を認めただけで他の10例では全く細胞死が認められなかった(小池、柴田、内山担当、論文作成中)。このことは、ER ストレスに基づくオートファジーによって細胞死が誘導されることを示している。これまでに、共同研究でオートファジーの重要性は主張した(論文3、12)。

(B)冷保存/移植再灌流後の肝不全に関する研究: 24時間冷保存し、同種ラットに肝移植して再灌流すると、移植肝は肝不全に陥り、ほぼ全例で6時間から24時間以内に個体死に陥る。この過程を検討した所、移植後早期からオートファジーが誘導され(論文11)。この抑制剤である Wortmannin を保存液に入れて処理した結果、10個体中9個体で10日以上生存した。即ち、オートファジーが肝不全の原因であることを明らかにした。論文を投稿したが、Atg 欠損マウスを用いて確かめるように指摘を受け現在補足実験を行っている(後藤、内山担当、論文補正中)。

これまでの研究経過 つづき

(C)TNF- α /actinomycin D(ActD)刺激による初代培養肝細胞死の分子機構：近年、TNF- α /ActDの誘導による細胞死は、カスパーゼ依存性であり、その過程でリソソームから漏出したカテプシン B が関与すると報告されている。私達は、カテプシン B あるいは L を欠損するマウス、システインプロテアーゼやアスパラギン酸プロテアーゼのインヒビターを用いて検討した所、カスパーゼ依存性のアポトーシスとリソソームプロテアーゼ依存性の細胞死の系が並立すること、さらには、Atg7 を欠損する肝細胞は、TNF- α 刺激に耐性であることが分かった。即ち、TNF- α /ActD 刺激による肝細胞の死には、アポトーシスとオートファジー/リソソーム性の細胞死の経路が全く独立して存在することが分かった(柴田、小池、内山、論文作成中)

3) リソソームプロテアーゼ/オートファジーに関する研究

(A)神経性セロイドリポフスチン蓄積症(NCL)、アルツハイマー病(AD)などとオートファジーに関する解析：リソソームカテプシン D を欠損するマウスはセロイドリポフスチンを蓄えたリソソームが神経細胞に蓄積し、網膜変性とけいれん発作を伴うヒトの NCL のモデルとなるが、カテプシン B と L を共に欠損するマウスも同様の表現型を呈すること、これらのリソソームの蓄積にはオートファジーが関与することを明らかにした(論文6、9)。また、ADに於いても A β ペプチドの産生にオートファジーが関与することを明らかにした(論文7、13)(小池、柴田、内山担当)

(B)カテプシン D のコンディショナル欠損マウス：カテプシン D を脳で欠損するマウスを作成中。全身での欠損マウスでは、これまでの報告と全く同じ表現型であることを確認した。現在は、その過程で部分的にカテプシン D を欠損するマウスができ、表現型の解析を進めている。極最近、ヒトで2箇所ポイントミューテーションが入った異常カテプシン D を有する17歳の女性がドイツで発見された。(柴田、内山担当)

(C)LC3欠損マウスの作製：LC3Bのターゲティングベクターは exon2 を標的とし、intron 1 に loxP、intron 2 に FRT で挟まれた neo 耐性遺伝子と、loxP 配列を組み込むコンストラクトとした。現在ターゲティングベクターの作製を完了し、ES細胞への導入を行っている(柴田、内山担当)

(D)Atg3,4,5,7,8,9,12に関する研究：各種 Atg タンパク質に特異的な抗体を作製し、mRNA 発現と一緒にラットの各臓器での網羅的な発現を検討している。中でも、Atg4B については、脳の神経細胞に発現が高いことを報告した(論文1)。LC3 に対する抗体は数少ない優れた抗体ができ、世界中の多くの研究者が使用している。DNA マイクロアレイを使って Atg の発現についても解析を進めている。(柴田、内山担当)

(E)オートファジーの分子レベルの解析：谷田は、LC3 の NMR による構造解析、哺乳類オートファジーにおける LC3-II のターンオーバーの重要性、LC3-II のターゲットリン脂質の決定、ヒト Atg4B の X 線構造解析、Atg8L が 4 番目の哺乳類 Atg8 モディファイアーであることを示した。(論文17、18、19)

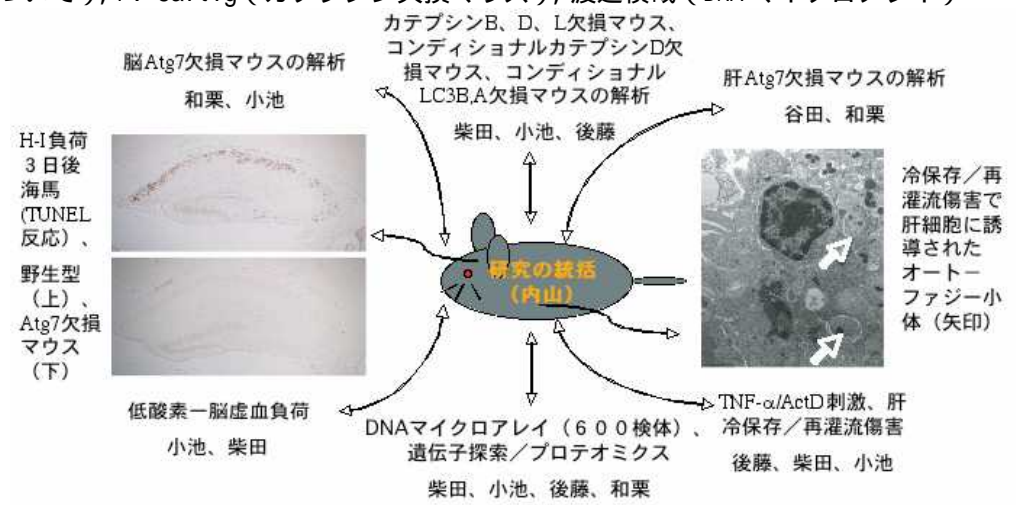
4)カテプシン D の基質の解析：D の欠損マウス脳を用いて解析を進めている。(柴田、小池、内山担当)

5)DNA マイクロアレイによる解析：ラット胎仔から老齢ラットに至るまでの様々な臓器 600 検体の解析がほぼ完了した(論文作成中)。(柴田、小池、後藤、和栗、内山；渡辺慎哉博士との共同研究)

6)細胞死と核 DNA の処理について：大阪大学の長田重一教授とカスパーゼ非依存性に起こる DNA の分解に関する研究を進めている。(論文8、15)(小池、内山担当)

7)リソソーム酵素の細胞内輸送に関する研究：GGA の役割について解析した(論文4、14、16)。(和栗、内山担当)

共同研究：田中啓二 (Atg7 欠損マウス); R.Nixon (アルツハイマー病); 長田重一 (カスパーゼ非依存性の DNA 分解について); P. Saftig (カテプシン欠損マウス); 渡辺慎哉 (DNA マイクロアレイ)



特記事項

これまでの研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入するとともに、推薦者の期待がどの程度達成されつつあるかについて記入してください。

本研究で最も期待されていることは、1) オートファジー性(神経)細胞死が存在するのか、2) 存在すれば、その機構はアポトーシスやネクローシスとどのように異なるのかという点である。

私達は、本研究でオートファジーの破綻したマウスを作製することも予定し、現在進行中である。同時に、臨床医学研究所の田中啓二博士との共同研究により Atg7 を脳や肝臓で欠損するマウスの解析を行い、脳で欠損すると、(1) 成獣では神経変性症に陥ること、(2) ユビキチン化タンパク質複合体が神経細胞内封入体として蓄積すること、(3) ユビキチンプロテアソームの活性は野生型と同様であること、が分かった(論文2)。このことは、ある種のタンパク質はユビキチン化を受け、プロテアソームではなくオートファジー系で分解されることを意味している。また、神経変性疾患では、細胞内に封入体を有する場合が多く、これは、Atg7 欠損脳の解析結果と酷似している。これらの結果は、神経変性疾患を考える上で重要な所見と考える。さらに、このユビキチン化タンパク質封入体には、ユビキチンとユビキチン結合タンパク質 p62 を介して LC3 が結合して存在することも分かってきた。それ故、LC3 をコンディショナルに欠損するマウスの作製は重要であり、その作製を急いでいる。

本研究課題にとって最も重要な点は、この変異マウスを用いて低酸素/脳虚血(HI)負荷実験を行うことができた点である。即ち、脳で Atg7 を欠損するマウスで症状のない生後1週齢のマウスに HI 負荷をかけ、CA1 領域で見ると、野生型では、(1) カスパーゼ-3 陽性の錐体細胞の数は非常に少なく(カスパーゼ-7 陽性細胞は全くない)、ほとんどの錐体細胞はカスパーゼ陰性で TUNEL 陽性になること、(2) LC3 の免疫染色でも陽性顆粒が増加し、その分子型は膜結合型の LC3-II に変換され、電顕的にもオートファゴソームの形成が亢進していること、(3) Atg7 欠損マウスでは、1例で CA3 に極く一部の TUNEL 陽性細胞が認められたが(72時間後)他の10例は全く障害が認められないこと、がわかった。この結果は、世界で初めてのものであり、本研究の課題の一つである、低酸素/脳虚血負荷に基づく変化にオートファジー性神経細胞死が存在することを直接示している(論文作成中)。この事実は、低酸素/脳虚血障害の治療を考える上で非常に重要な結果であり、治療手段の開発が期待できる。現在、コンディショナルカテプシン D 欠損マウスの作製も進み、今後他のカテプシン欠損マウスと共に HI 負荷実験を進め、オートファジーの下流にある機構を解析する予定である。

近年、TNF- α /ActD 刺激による初代培養肝細胞のアポトーシスにリソソームから漏出するカテプシン B が関与することが報告されている。私達は、リソソームからカテプシン B のみ漏出とする報告に疑問を持ち、解析を進めた。その結果、TNF- α /ActD 刺激による細胞死は、これまで典型的なアポトーシスと考えられてきたが、(1) カテプシン B のみならず L を欠損するマウスより得た肝細胞でも、同刺激に対して細胞死は抑制されること、(2) リソソームシステインプロテアーゼとアスパラギン酸プロテアーゼ(カテプシン B、L、D など)を E64d とペプスタチン A とで抑制すると、細胞死をさらに強く抑制できること、(3) このプロテアーゼ阻害剤と汎カスパーゼ阻害剤である BAF あるいは Z-VAD を添加すると、肝細胞死は相加的に抑制されること、(4) Atg7 を欠損する肝細胞は、TNF- α /ActD 刺激に抵抗性を示し、BAF を添加するとやはり相加的に細胞死が抑制されること、(5) 野生型肝細胞では、カスパーゼ-3 および-7 陰性で TUNEL 陽性を示す肝細胞が多数存在すること、また、カスパーゼを抑制しても TUNEL 陽性で Lamp1/LC3 陽性顆粒が増加すること、を見いだした。即ち、TNF- α /ActD 刺激に対する初代培養肝細胞の死の経路には、カスパーゼ依存性のアポトーシスの経路とカスパーゼ非依存性のオートファジー性細胞死の経路の2つの経路が全く独立して存在することが分かった。この事実は、HI 負荷後の海馬錐体細胞のオートファジー性細胞死の分子機構を考える上で重要である。特に、カスパーゼ非依存性で何故核 DNA が分解されるのかが、問題である。実際、カスパーゼ依存性に活性化される DNase である CAD を欠損するマウスを用いて、HI 負荷実験を行うか、あるいは同マウスより得た肝細胞に TNF- α /ActD 刺激実験を行うと、どちらの場合も TUNEL 陽性となる。さらに、私達が解析する限りでは、リソソームプロテアーゼは全く細胞質には漏出しない。いずれにしろ、HI 負荷後の海馬錐体細胞死や TNF- α /ActD 刺激後の初代培養肝細胞死では、オートファジー/リソソーム系が細胞死の経路に関与することが明瞭となり、私達の課題の重要な部分は解決に近づいた。

研究成果の発表状況

この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）最初と最後のページ、発表年（西暦）及び国際会議、学会等における発表状況について、2頁以内に記入してください。

原著論文

- 1) Yoshimura K, Shibata M, Koike M, Gotoh K, Fukaya M, Watanabe M, Uchiyama Y (in press) Effects of RNA interference of Atg4B on the limited proteolysis of LC3 in PC12 cells and expression of Atg4B in various rat tissues. *Autophagy*
- 2) Komatsu M*, Waguri S*, Chiba T, Murata S, Iwata J, Ueno T, Koike M, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K (in press) Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration. *Nature* *Equally contributed to this study.
- 3) Zhu C, Xu F, Wang X, Shibata M, Uchiyama Y, Blomgren K, Hagberg H (2006) Different apoptotic mechanisms are activated in male and female brains after neonatal hypoxia-ischaemia. *J Neurochem*, 96: 1016-1027
- 4) Shacka J, Klocke BJ, Shibata M, Uchiyama Y, Datta G, Schmidt RE, Roth KA (2006) Bafilomycin A1 inhibits chloroquine-induced death of cerebellar granule neurons. *Mol Pharmacol* 69:1125-1136
- 5) Shin H-W, Kobayashi H, Kitamura M, Waguri S, Saganuma T, Uchiyama Y, Nakayama K (2005) Roles of ARFRP1 (ADP-ribosylation factor-related protein 1) in post-Golgi membrane trafficking. *J Cell Sci* 118: 4039-4048
- 6) Koike M, Shibata M, Waguri S, Yoshimura K, Tanida I, Kominami E, Gotow G, Peters C, Figura K, Mizushima N, Saftig P, Uchiyama Y (2005) Participation of autophagy in storage of lysosomes in neurons from mouse models of neuronal ceroid-lipofuscinoses (Batten disease). *Am J Pathol* 167:1713-1728
- 7) Yu WH, Cuervo AM, Kumar A, Peterhoff CM, Schmidt SD, Lee JH, Mohan PS, Mercken M, Farmery MR, Tjernberg LO, Jiang Y, Duff K, Uchiyama Y, J Näslund, Mathews PM, Cataldo AM, Nixon RA (2005) Macroautophagy—a novel amyloid- (A β) peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease. *J Cell Biol* 171: 87-98
- 8) Yoshida H, Kawane K, Koike M, Mori Y, Uchiyama Y, Nagata S (2005) Phosphatidylserine-dependent engulfment by macrophages of nuclei from erythroid precursor cells. *Nature* 434: 754-758
- 9) Shimizu T, Hayashi Y, Yamada J, Zhang J, Yamasaki J, Ukai K, Koike M, Mine K, Figura K, Peters C, Saftig P, Fukuda T, Uchiyama Y, Nakanishi H. (2005) Proteolytic Degradation of Glutamate Decarboxylase Mediates Disinhibition of Hippocampal CA3 Pyramidal Cells in Cathepsin D-deficient Mice. *J Neurochem* 94:680-690
- 10) Komatsu M, Waguri S, Ueno T, Iwata J, Murata S, Tanida I, Ezaki J, Mizushima N, Ohsumi Y, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K, Chiba T (2005) Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice. *J Cell Biol* 169: 425-434
- 11) Lu Z, Dono K, Gotoh K, Shibata M, Koike M, Marubashi S, Miyamoto A, Takeda Y, Nagano H, Umeshita K, Uchiyama Y, Monden M (2005) Participation of autophagy in the degeneration process of rat hepatocytes after transplantation following prolonged cold preservation. *Arch Histol Cytol* 68: 71-80
- 12) Zhu C, Wang X, Xu F, Bahr BA, Shibata M, Uchiyama Y, Hagberg H, Blomgren K (2005) The influence of age on apoptotic and other mechanisms of cell death after cerebral hypoxia-ischemia. *Cell Death Differ* 12:162-176
- 13) Yu WH, Kumar A, Peterhoff C, Shapiro Kulnane L, Uchiyama Y, Lamb BT, Cuervo AM, Nixon RA (2004) Autophagic vacuoles are enriched in amyloid precursor protein-secretase activities: implications for beta-amyloid peptide over-production and localization in Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol* 36: 2531-2540.
- 14) Tomiyama Y, Waguri S, Kanamori S, Kametaka S, Wakasugi M, Shibata M, Ebisu S, Uchiyama Y (2004) Early-phase redistribution of the cation-independent mannose 6-phosphate receptor by U18666A treatment in HeLa cells. *Cell Tissue Res* 317: 253-264
- 15) Hanayama R, Tanaka M, Miyasaka K, Aozasa K, Koike M, Uchiyama Y, Nagata S (2004) Autoimmune Disease and Impaired Uptake of Apoptotic Cells in MFG-E8-Deficient Mice. *Science* 304:1147-1150
- 16) Shiba T, Kametaka S, Kawasaki M, Shibata M, Waguri S, Uchiyama Y, Wakatsuki S. (2004) Insights into the phosphoregulation of beta-secretase sorting signal by the VHS domain of GGA1. *Traffic* 5:437-448
- 17) Tanida I, Sou Y, Minematsu-Ikeguchi N, Ueno T, and Kominami E (in press) Atg8L/Apg8L is the fourth mammalian modifier of mammalian Atg8 conjugation mediated by human Atg4B, Atg7 and Atg3. *FEBS*
- 18) Tanida I, Minematsu-Ikeguchi N, Ueno T, and Kominami E (2005) Lysosomal turnover, but not a cellular level, of endogenous LC3 is a marker for autophagy. *Autophagy* 1 : 84-91
- 19) Sou Y, Tanida I, Komatsu M, Ueno T, and Kominami E (2006) Phosphatidylserine in addition to phosphatidylethanolamine is an in vitro target of the mammalian Atg8 modifiers, LC3, GABARAP and GATE-16. *J. Biol. Chem.* 281, 3017-3024

研究成果の発表状況

この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会等における発表状況について、2頁以内に記入してください。

Plenary lecture

- 1) 内山安男:「神経系におけるオートファジーの破綻」第11回グリアクラブ, February 25, 2006
- 2) Uchiyama Y: Autophagy and CA1 pyramidal neuron death in the hippocampus of mice after hypoxic-ischemic brain injury. XVIIth International Symposium on Morphological Science in Beograd (June 4-8, 2004)

Symposium

- 1) 内山安男「リソソームの実態：特に、リソソームプロテアーゼを欠損するマウスを解析して」第111回日本解剖学会総会・全国学術集会、2006年3月31日
- 2) 和栗聡「TGN エンドソーム輸送における GGA の役割」第111回日本解剖学会総会・全国学術集会、2006年3月29日
- 3) Uchiyama Y, Shibata M, Koike M: Participation of autophagy in storage of lysosomes in neurons from mouse models of neuronal ceroid-lipofuscinoses (Batten Disease). International conference on serine-carboxyl peptidases and related enzymes in Kyoto. (Nov. 10, 2005)
- 4) Koike M: Microglia-dependent neuronal death in brain and retinal tissues of cathepsin d-deficient mice. 4th Asian-Pacific International Congress of Anatomists (Sep. 9, 2005)
- 5) Uchiyama Y: Roles of lysosomal proteinases in autophagic cell death. 2005 Gordon Research Conference on “Autophagy in Stress, Development & Disease” in Il Ciocco. (April 24-29, 2005)
- 6) 内山安男:リソソームプロテアーゼと組織特異性. 第110回日本解剖学会総会・全国学術集会、2005年3月31日
- 7) Uchiyama Y: Cathepsin D deficiency induces caspase dependent and independent neuronal death. 16th International Congress of the IFAA and 109th Annual meeting of Japanese Association of Anatomists, August 23-30, 2004
- 8) Waguri S, Tomiyama Y, Hoflack B, Uchiyama Y: Dissection of the luminal domain-dependent transport pathways of the cation-dependent mannose 6-phosphate receptor. 16th International Congress of the IFAA and 109th Annual meeting of Japanese Association of Anatomists, August 23-30, 2004

ワークショップ(チュートリアル)

柴田昌宏、内山安男：RNAi 法。[分子解剖学研究に必須の基本技術]第111回日本解剖学会総会・全国学術集会、2006年3月29日

第17回日本解剖学会奨励賞受賞講演

小池正人：神経細胞におけるリソソームプロテアーゼの役割に関する分子細胞生物学的研究。第111回日本解剖学会総会・全国学術集会 2006年3月30日

Poster Presentation

- 1) Koike M, Shibata M, Waguri S, Kominami E, Peters C, Figura vK, Mizushima N, Saftig P, Uchiyama Y: Autophagy in cathepsin D-deficient mice expressing GFP-LC3. 35th Annual Meeting Society for Neuroscience (Nov. 11-16, 2005)
- 2) Shibata M, Yoshimura K, Koike M, Uchiyama Y: Distribution of Atg4, an autophagy-related gene product, in rat CNS tissue. 35th Annual Meeting Society for Neuroscience (Nov. 11-16, 2005)
- 3) Koike M, Shibata M, Waguri S, Yoshimura K, Kominami E, Peters C, Figura vK, Mizushima N, Saftig P, Uchiyama Y: Autophagy in cathepsin D deficient mice expressing GFP-LC3. 2005 Gordon Research Conference on “Autophagy in Stress, Development & Disease in Il Ciocco”. (April 23-29, 2005)
- 4) Gotoh K, Lu Z, Koike M, Shibata M, Monden M, Uchiyama Y: Participation of autophagy in the degeneration process of rat hepatocytes after prolonged cold preservation and reperfusion. 2005 Gordon Research Conference on “Autophagy in Stress, Development & Disease in Il Ciocco”. (April 23-29, 2005)
- 5) Shibata M, Koike M, Waguri S, Uchiyama Y: Suppression of LC3 expression in PC12 cells by RNAi. 2005 Gordon Research Conference on “Autophagy in Stress, Development & Disease in Il Ciocco”, (April 23-29, 2005)
- 6) Koike M, Shibata M, Waguri S, Kominami E, Peters C, Figura vK, Saftig P, Uchiyama Y: Neuropathological features of mouse brains lacking cathepsins B and L. 34th Annual Meeting Society for Neuroscience, (Nov. 19-25, 2004)
- 7) Shibata M, Koike M, Waguri S, Uchiyama Y: Suppression of LC3, an autophagy marker protein, in PC12 cells by RNA interference. 34th Annual Meeting Society for Neuroscience (Oct 20-25, 2004)
- 8) Yamamura N, Koike M, Gotoh K, Shibata M, Waguri S, Peters C, Figura vK, Saftig P, Uchiyama Y: Involvement of lysosomal cathepsins in TNF- α induced cell death of primary hepatocytes from mouse liver. 16th International Congress of the IFAA and 109th Annual meeting of Japanese Association of Anatomists. (August 23-30, 2004)