

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

神経化学 (2005.03) 44巻1号:25～33.

輝け次代の担い手たち
神経変性疾患における蛋白輸送系の破綻と神経細胞死

板東良雄

輝け次代の担い手たち

神経変性疾患における蛋白輸送系の破綻と神経細胞死

板 東 良 雄

(旭川医科大学解剖学第1講座)

1. はじめに

核より細胞外への蛋白輸送経路は、菌類から多細胞生物、さらには哺乳類に至るまで保存されている基幹的経路であり、細胞間での情報伝達、細胞外環境の維持、さらには細胞内での不要蛋白の処理など極めて多彩かつ重要な役割を担っている。その経路はリボソームによる一次アミノ酸配列の構築、小胞体における二次修飾、さらにはゴルジ装置における糖鎖修飾・細胞外への分泌など複雑な経路で構成されている。多くの神経変性疾患に認められる蛋白質の凝集・蓄積はこのような蛋白輸送経路のいずれかの破綻によって生じると考えられる。中でも小胞体については最も解析が進んでおり、小胞体内に異常な蛋白質の蓄積を誘導する“小胞体ストレス”は神経変性疾患の発症機構に深く関与していることが明らかになりつつある¹⁾。

神経細胞は神経系を構成する細胞の中で最も環境変化に対して脆弱であり、虚血や様々なストレスによって急速に神経細胞死を起こす。この神経細胞死が神経変性疾患の主要な原因の一つとなっていることは言うまでもない。しかし、その一方でグリア系細胞は環境変化に対して比較的強く、中でもアストロサイトは最も強いとされている。培養アストロサイトを低酸素曝露あるいは再酸素化すると ORP150 (150kDa oxygen regulated protein) および RA410 という分子が強く誘導される²⁻³⁾。興味深いことに、ORP150は小胞体に局在する分子シャペロン⁴⁾、RA410は小胞体ーゴ

ルジ装置間の小胞輸送に関連する蛋白である³⁾。おそらく、アストロサイトはそのような環境下で生き残るツールとして ORP150や RA410を誘導していると考えられる。

本稿では、ORP150および RA410に関するデータを中心に筆者が行った研究について紹介する。

2. 神経変性疾患における蛋白輸送系の関与

近年、異常蛋白質の凝集・蓄積が神経変性疾患に関与していることが次々と明らかになってきている。疾患ごとに関与する蛋白質は異なるが、異常蛋白質の蓄積そのものは多くの神経変性疾患に共通した極めて興味深い特徴である。そのため、神経変性疾患の発症機構を考える上で、異常蛋白質の蓄積機構の解析は極めて重要と考えられる。

3. 低酸素環境下における分子シャペロン ORP150の役割

ORP150は低酸素環境に曝露された培養アストロサイトより、精製・クローニングされた小胞体に局在するストレス蛋白である²⁾。ORP150の発現を人為的に抑制した細胞では、低酸素によって誘導される細胞死に脆弱となる⁵⁾。また、ヒトにおいても脳血管病変などで ORP150の発現は認められる⁶⁻⁷⁾。しかし、低酸素刺激によって細胞死が誘導される際、異常蛋白質が小胞体に蓄積することが細胞死の原因となるのか、それとも結果なのかについては不明であった。そこで、ORP150の発現を人為的に抑制した MDCK 細胞

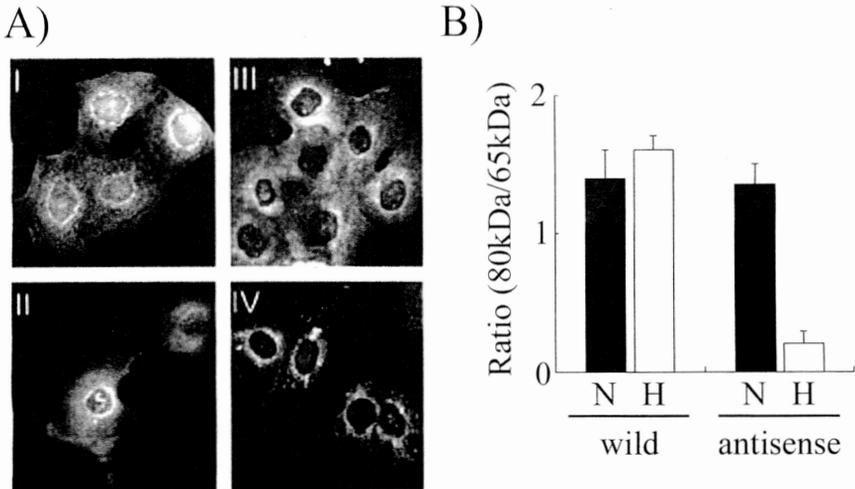


図1 ORP150野生株と ORP150 antisense 株における GP80の細胞内局在 (文献4を改変引用)
 A) 通常状態における ORP150野生株 (I) および ORP150 antisense 株 (II) の GP80の細胞内局在に差は認められなかった。一方、低酸素環境下における GP80の細胞内局在は ORP150 antisense 株 (IV) は野生株 (III) に比べて、より小胞体に限局した。
 B) それぞれの細胞株を低酸素曝露後、蛋白抽出液を sucrose gradient 法により、分画した後、GP80抗体を用いた western blot を行った。GP80の分子量は小胞体で65kDa、ゴルジ装置で80kDaを示すため、小胞体およびゴルジ装置に局在する GP80の比で表した。Nは通常状態、Hは低酸素状態を示す。

(ORP150 antisense 株) において、低酸素環境における GP80の細胞内局在について検討した⁴⁾。GP80は MDCK 細胞の分泌蛋白であり、分泌経路がよく分かっている蛋白である。GP80の分泌状態は通常状態では野生株と ORP150 antisense 株の間に差は認められなかった (図1 A)。しかし、低酸素曝露後の GP80の細胞内局在は ORP150 antisense 株でより強い小胞体パターンを示し、GP80が主に小胞体に蓄積していることが明らかとなった。分画を用いた実験においても ORP150 antisense 株では明らかに GP80が小胞体に蓄積しており (図1 B)、低酸素による細胞死に脆弱であることが明らかとなった⁷⁾。つまり、小胞体に異常蛋白質が蓄積することにより細胞死が惹起され、ORP150は分子シャペロンとしてストレスから細胞を守ろうとしていると考えられた。

4. 小胞体ーゴルジ装置間の小胞輸送関連蛋白と神経細胞死

RA410は主に酸化ストレスによって誘導される小胞輸送関連蛋白であり、実験的脳虚血モデルでもその発現が認められ、病態時のストレス応答に深く関係している³⁾。ちょうど筆者が RA410の解析を始めようとした頃、パーキンソン病 (PD) 患者の剖検脳を用いた組織学および生化学的解析から、PDで認められるレビー小体に α -synuclein⁸⁻⁹⁾, Parkin¹⁰⁻¹⁴⁾, ubiquitin¹⁵⁾ といった PD 発症に関連する分子が含まれていることが明らかとなってきた。そこで筆者らは小胞体ーゴルジ装置間の蛋白輸送経路の障害が PDの発症に関係しているのではないかと考え、ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞を用いて、PDモデルにおける RA410の発現と細胞死への関与について検討することを試みた¹⁶⁾。

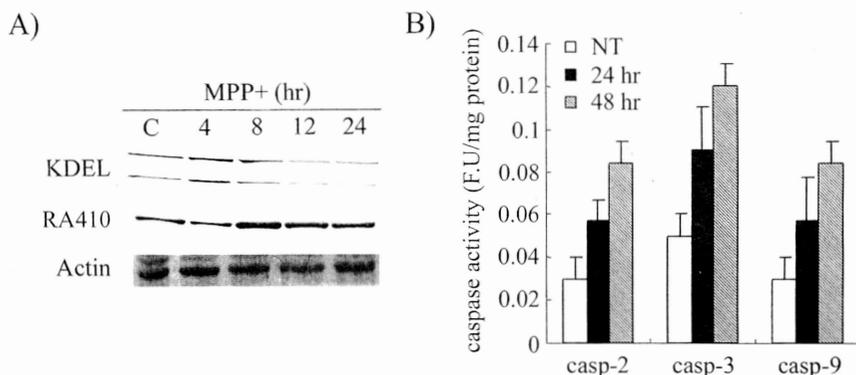


図2 SH-SY5Y細胞におけるMPP+負荷後のRA410の発現変化と細胞死機序

(文献16を改変引用)

- A) SH-SY5Y細胞に1mM MPP+を負荷し、RA410およびKDEL (GRP78およびGRP94を認識)抗体を用いたwestern blotを行った。Actinは内部コントロールとして用いた。
 B) SH-SY5Y細胞に1mM MPP+を負荷し、caspase-2, -3および-9の酵素活性を測定した。

4-1. MPP+負荷モデルにおけるRA410の発現変化

PDの発症機構の解析に1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+)がしばしば用いられる¹⁷⁾。MPP+はミトコンドリアを介して、結果的に酸化ストレスを惹起する¹⁸⁾。したがって、RA410がMPP+によって誘導されても不思議なことではない。そこでまず、神経芽細胞腫SH-SY5Y細胞に1mM MPP+を負荷したときのRA410の発現について検討した。RA410の発現量はMPP+負荷により経時的に増加した(図2A)。興味深いことに、MPP+負荷により小胞体に局在する分子シャペロンGRP78およびGRP94の発現量は経時的に減少した。これらの事実は、少なくともMPP+が小胞体-ゴルジ装置間あるいは小胞体自身に何らかの影響を与えている可能性を示唆するものであった。

4-2. MPP+は小胞体もターゲットにしている

MPP+が惹起する細胞死機序は、ミトコンドリアを介したものが最も広く受け入れられている。では何故、RA410やGRP78の発現変化が起きたのであろうか?細胞死が進行する過程における結果なのであろうか?その問題を解決するために、

まず、ミトコンドリアの膜電位の低下およびシトクロムCの細胞質への流出を指標として、ミトコンドリア機能について検討した。その結果、ミトコンドリアの膜電位低下およびシトクロムCの細胞質への流出は少なくともMPP+負荷後9時間までは起こっていなかった¹⁶⁾。しかし、電子顕微鏡による解析では、MPP+負荷後1.5時間からswollen typeの小胞体が増加し、小胞体に形態変化が認められた(図3)。一方、ミトコンドリアの形態変化は1.5時間ではほとんど認められなかった。このように小胞体の形態変化がミトコンドリアの形態変化に先駆けて起こっていることが明らかとなった。小胞体分子シャペロンの発現量減少の原因はこのような早期から起こる小胞体の形態変化によるものであると考えられた。

4-3. RA410の発現はMPP+が惹起する細胞死を抑制する

RA410の発現がMPP+が惹起する細胞死にどのような影響を及ぼすかを検討するために、RA410を恒常的に過剰発現(RA410 sense株)あるいは抑制した細胞(RA410 antisense株)を作成した。RA410 sense株では野生株に比べて、MPP+が惹起する細胞死を抑制したが、RA410

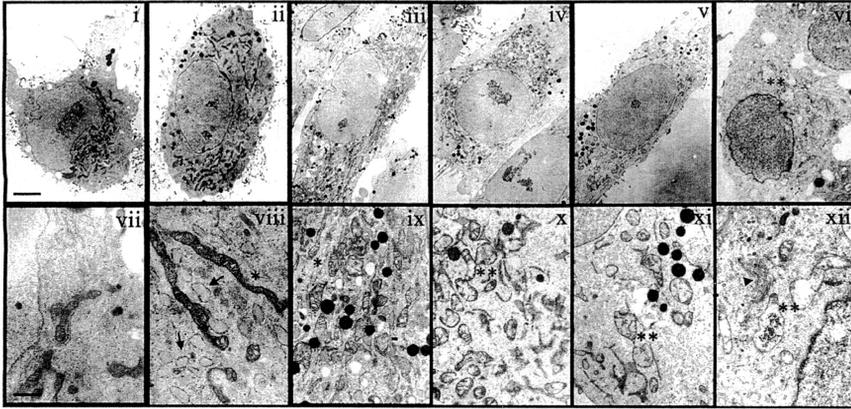


図3 MPP+負荷による小胞体の形態変化 (文献16を改変引用)
 SH-SY5Y 細胞に1mM MPP+を負荷し、コントロール (i および vii)、1.5時間 (ii および viii)、3時間 (iii および ix)、6時間 (iv および x)、9時間 (v および xi)、12時間 (vi および xii) における細胞内小器官の形態変化を経時的に電子顕微鏡にて観察した。矢印は小胞体 (swollen type)、* はミトコンドリアを示す。** はクリステが障害されたミトコンドリアを示している。Swollen type の小胞体は MPP+負荷後、1.5時間で認められるが、ミトコンドリアの形態は維持されている。

antisense 株では MPP+ に対してより脆弱になった¹⁶⁾。MPP+ が惹起する細胞死機序には少なくとも caspase-2, caspase-3 および caspase-9 が関係しており (図 2 B)、RA410 antisense 株では野生株や RA410 sense 株よりも各 caspase 活性が上昇していた¹⁶⁾。興味深いことに caspase-2 はゴルジ装置に局在する caspase であり¹⁹⁾、小胞体-ゴルジ装置間の小胞輸送の障害によって、ゴルジ装置からも細胞死シグナルが生じる可能性が示唆された。では、小胞体の形態変化についてはどうだろうか? 各細胞株に MPP+ を 6 時間負荷し、電子顕微鏡による観察を行った (図 4)。RA410 sense 株では小胞体およびミトコンドリアの形態変化は保たれており、顕著な遊離リボソームも認められなかった。一方、RA410 antisense 株ではほとんどの小胞体は崩壊によって消失していた。ミトコンドリアの形態変化も生じており、野生株における MPP+ 負荷 9 時間後とほぼ同様の形態を示した。つまり、RA410 の発現抑制により、細胞死がより早期から起こっていることが明らかとなった。以上のことから、MPP+ による小胞輸送の障害はミトコンドリアの機能障害と同様に細胞死を惹起する大きな要因となっている可能性が

示唆された。今後は RA410 のターゲットとなる分子の同定やミトコンドリア、小胞体、ゴルジ装置などの細胞内小器官間のクロストークについて詳細な検討を行っていかなければならない。

5. 神経細胞死促進因子の探索

神経変性疾患に対する治療戦略を考える上で小胞体の機能異常や小胞体-ゴルジ装置間の蛋白輸送系の障害をいかに抑制できるかが重要であると考えられる。例えば、小胞体の機能異常を誘導する小胞体ストレスにおいて細胞死を促進する因子の中で最も鍵となる因子を同定できれば、様々な神経変性疾患の治療にも応用出来る可能性が示唆される。そこで、我々はランダム化リボザイムライブラリーを用いて小胞体ストレスを起源とするアポトーシスに対して促進的に働く因子の網羅的な同定 (ジーンディスカバリー) を試みた²⁰⁾。

5-1. リボザイムを用いたジーンディスカバリー法

リボザイムは主に基質認識部位と活性中心部位から成り、その基質と結合する部位の塩基配列と相補的な配列を持つ基質 RNA を認識・結合して切断するという RNA 酵素である。今では RNA

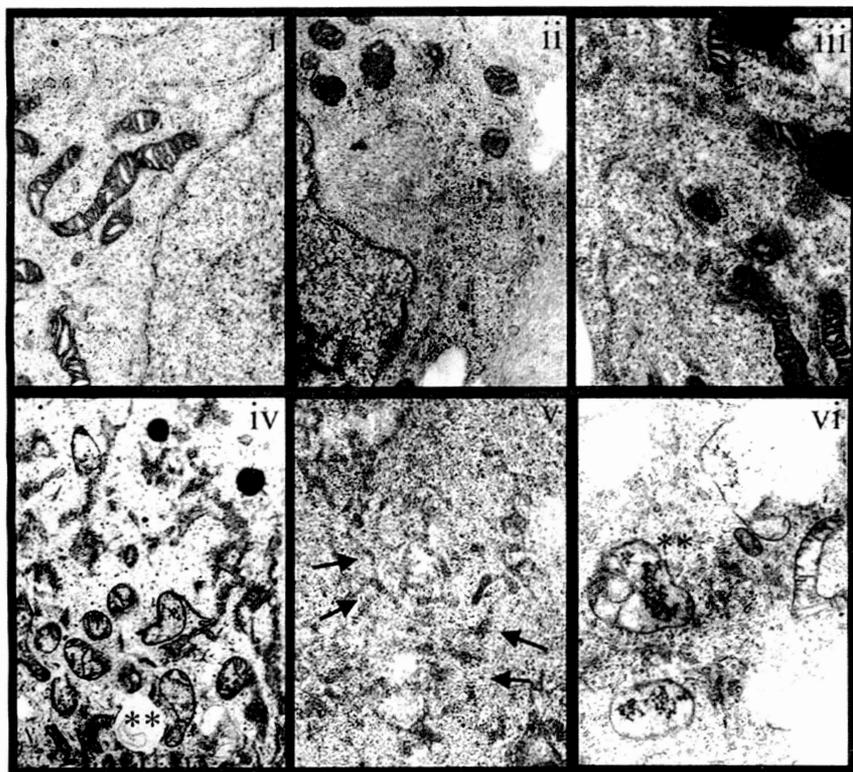


図4 MPP+負荷に対する RA410の細胞死抑制効果 (文献16を改変引用)
 野生株 (i および iv)、RA410 sense 株 (ii および v)、RA410 antisense 株 (iii および vi) の各細胞株に1mM MPP+を6時間負荷し、電子顕微鏡による解析を行った。矢印は小胞体を示し、**は障害されたミトコンドリアを示している。コントロール (i - iii) では各細胞間の形態に有為な差は認められない。MPP+負荷により、野生株や RA410 antisense 株では小胞体の形態変化に加えてミトコンドリアの障害が認められる。一方、RA410 sense 株では小胞体の形態変化は認められない。

interferences (RNAi) が広く用いられるようになったが、リボザイムも mRNA から蛋白質へ翻訳を阻むことで遺伝子の機能障害できるノックダウン技術である。我々は基質認識部位をランダム化し、約 10^6 種類の基質認識配列を持つリボザイムのプール (以下、ライブラリーと呼ぶ) を作成した²¹⁾。このライブラリーをヒト神経芽細胞腫 SK-N-SH 細胞に導入し、小胞体ストレスとしてツニカマイシン (Tm) を負荷した (図5)。もし、細胞死を促進する因子をターゲットとするリボザイムがある細胞に入っていれば、その細胞は生き残るはずである。生き残った細胞を単離し、その細胞内で発現するリボザイムの基質認識配列情報により、標的遺伝子の同定ができる。なぜな

ら、リボザイムの認識配列は結合する mRNA と相補的な配列になっているからである。最終的にこの情報を元にデータベースサーチにて標的遺伝子の同定を行うことができる。

5-2. PKR の同定

リボザイムを用いたジーンディスカバリー法によって、我々は数十以上の候補遺伝子を同定することができた。その中には小胞体・ゴルジ装置を中心とした蛋白輸送経路に関わる因子も存在する。本稿では、その中で最初に解析を行った double stranded RNA dependent protein kinase (PKR) に関して述べる²⁰⁾。

PKR はウイルス感染やインターフェロン応答

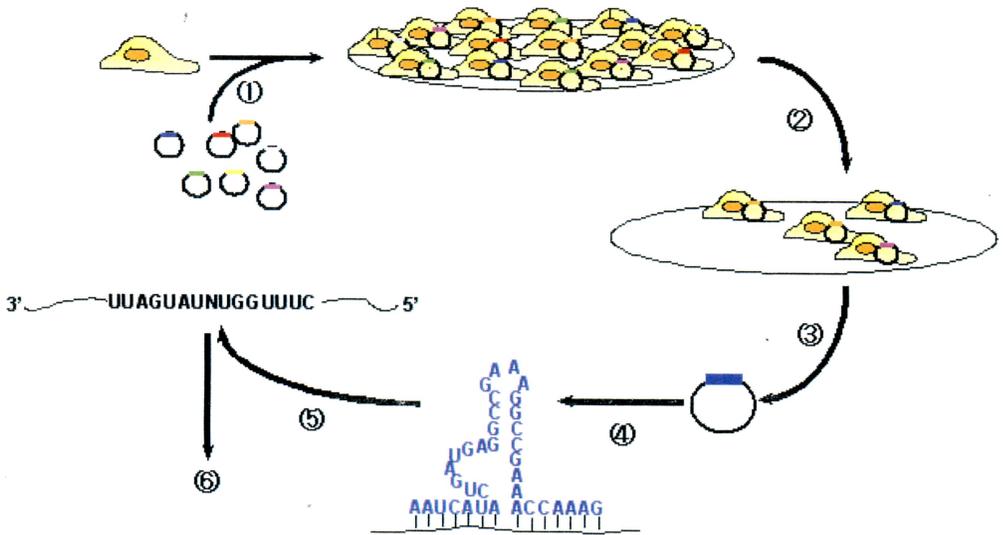


図5 リボザイムライブラリーによるスクリーニングの概略図
標的細胞にライブラリーを遺伝子導入し(①)、目的に応じた試薬を添加(②、本稿ではTm)し、表現系の変化(例;細胞死)を誘導する。生き残った細胞からリボザイムを回収し(③)、再び①に戻り、この過程を何度か繰り返す。その後、回収したリボザイムの配列を決定し(④)、基質側(標的遺伝子)の配列をコンピューターサーチにて検索する(⑤、⑥)。(文献21を改変引用)

に関連する因子であり、自己リン酸化により活性化し、eIF-2 α をリン酸化することによって細胞の蛋白合成やウイルスの増殖を抑制する²²⁻²³。また、PKRの強制発現により、細胞死が惹起される²⁴。我々は神経芽細胞腫SK-N-SH細胞にTmを負荷した際のPKRの発現変化と細胞内局在について検討を行った²⁰。通常、PKRは細胞質に主に存在するが、核内のPKR量がTm処理時間依存的に増加し、さらにリン酸化を受けて活性化していることが明らかとなった。つまり、PKRの核移行にはリン酸化のステップが重要であることが示唆された。そこで次に、PKRの活性に重要なリン酸化部位448番目と451番目のセリン残基をアラニンに置換したドミナントネガティブPKR発現細胞を作製したところ、Tm負荷を行ってもドミナントネガティブPKR発現細胞ではcaspase-3の活性化は有意に抑制された²⁰。Hoechst 33258および抗PKR抗体を用いて細胞染色を行ったところ、Mock導入細胞ではTm負荷によりPKRの核移行とともに細胞死が惹起されたが、ドミナントネガティブPKR発現細胞で

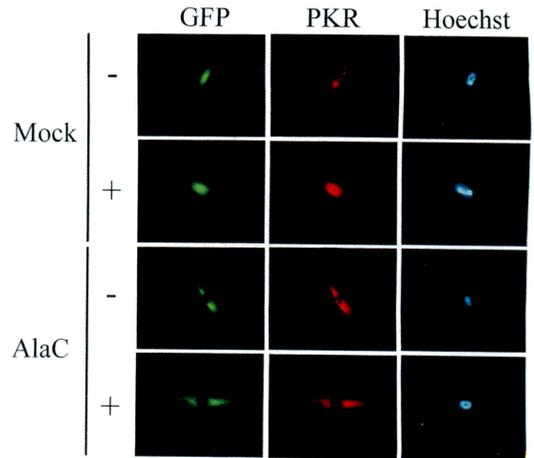


図6 リン酸化型PKRの細胞死への関与

(文献20を改変引用)

SK-N-SH細胞にGFPを発現するMockベクターおよびGFPを付加したPKRのリン酸化部位に変異を入れたドミナントネガティブPKR(AlaC)を発現するベクターを遺伝子導入し、Tmを負荷した。その後、PKR抗体を用いた細胞染色およびHoechst 33258による染色を行った。GFPは緑、PKRは赤、Hoechst 33258は青で表す。MockではTm負荷後(+), PKRは核内に認められる。一方、AlaCを遺伝子導入しただけの状態(-)ではPKRは細胞質に局在し、Tm負荷(+))しても、AlaC発現細胞ではPKRが核内に認められない。また、Hoechst 33258による染色では、Mockでは細胞死が起きているのに対して、AlaCでは細胞死が起きていないことがわかる。

は Tm 負荷を行っても PKR の核移行は認められず、細胞死も認められなかった (図 6)。では、実際にヒト病変での発現は認められるのだろうか？そこで、小胞体ストレスの関与が示唆されているアルツハイマー病剖検脳を用いて解析を行った。その結果、PKR はアルツハイマー病患者脳でコントロール群に比べ、有為に活性化していることが明らかとなった²⁰⁾。今回、我々が確立した系は一つの遺伝子の発現をリボザイムで抑制したことによる表現形の変化を指標に選択を行うため、そのシグナル伝達における鍵となる重要な因子のみを迅速に同定することができる、非常にパワフルな遺伝子探索法であることが示された。この手法は、小胞体ストレスによる細胞死のみならず様々なモデルにおいても応用可能である。

6. おわりに

この数年間に“小胞体ストレス”という概念が一気に広まり、蛋白輸送系が注目されるようになった。現在では、神経変性疾患や精神疾患のみならず、糖尿病や動脈硬化などの発症にも小胞体ストレスが深く関係することが数多く報告されている。筆者は幸運にもこのような潮流に最初から乗ることができたことに喜びを感じている。本稿では ORP150 および RA410 の解析を通して、蛋白輸送系の障害が神経細胞死に密接に関係していることを紹介した。しかしながら、このような因子が蛋白凝集にどのように関与しているかについてはまだまだ不明な点も多く、今後検討していかなければならない。

神経変性疾患の研究は *in vitro* レベルでの詳細な発症機構の解析が可能となり、この数年間に飛躍的に進歩したと言える。しかしながら、*in vivo* レベルでも同じことが起こっているとは限らず、今後は発症機構の解析も含めて *in vivo* ヘフィードバックしていく必要があると考えられる。また、神経変性疾患の多くは慢性疾患であり、急性期と慢性期の 2 つの病態をそれぞれ別の視点から検討する必要があると考えられる。このように

効果的な治療法を考えていくにはまだまだ解決しなければならない問題も数多く残されている。微力ながら、筆者もより一層、神経変性疾患の発症機構の解明に全力を尽くしたいと考えている。

謝 辞

このような執筆の機会を与えて頂きました諸先生方に心より御礼申し上げます。ここで紹介した研究は、筆者が大学院在学時に大阪大学大学院医学系研究科ポストゲノム疾患解析学講座において行ったものであり、ご指導頂きました遠山正彌教授、小川智教授 (現金沢大学大学院医学系研究科神経分子標的学) にこの場をお借りして厚く御礼申し上げます。また、研究の進行にあたり、多くの助言を頂きました大阪大学大学院医学系研究科ポストゲノム疾患解析学講座・片山泰一博士、電子顕微鏡による解析をして頂きました谷口学氏に心より感謝申し上げます。ジーンディスカバリーは、多比良和誠教授 (東京大学大学院工学系研究科) と遠山正彌教授との共同研究で行われたものであり、大貫玲子博士 (現東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学講座) とともに解析を行いました。このような機会を与えて頂きました、遠山正彌教授、多比良和誠教授、大貫玲子博士に心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Imaizumi, K., Miyoshi, K., Katayama, T., Yoneda, T., Taniguchi, M., Kudo, T., Tohyama, M. The unfolded protein response and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1536, 85-96 (2001)
- 2) Kuwabara, K., Matsumoto, M., Ikeda, J., Hori, O., Ogawa, S., Maeda, Y., Kitagawa, K., Imuta, N., Kinoshita, T., Stern, D.M., Yanagi, H., Kamada, T. Purification and characterization of a novel stress protein, the 150kDa oxygen-regulated protein (ORP150), from cultured rat astrocytes and

- its expression in ischemic mouse brain. *J. Biol. Chem.* 271, 5025-5032 (1996)
- 3) Matsuo, N., Ogawa, S., Takagi, T., Wanaka, A., Mori, T., Matsuyama, T., Pinsky, D.J., Stern, D.M., Tohyama, M. Cloning of Putative Vesicle Transport-related Protein, RA410, from Cultured Rat Astrocytes and Its Expression in Ischemic Rat Brain. *J. Biol. Chem.* 272, 26, 16438-16444 (1997)
 - 4) Bando Y., Ogawa S., Yamauchi A., Kuwabara K., Ozawa K., Hori O., Yanagi H., Tamatani M., Tohyama M. 150kDa oxygen-regulated protein (ORP150) functions as a novel molecular chaperone in MDCK cells. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 278: C1172-1182 (2000)
 - 5) Ozawa, K., Kuwabara, K., Tamatani, M., Takatsuji, K., Tsukamoto, Y., Kaneda, S., Yanagi, H., Stern, D.M., Eguchi, Y., Tsujimoto, Y., Ogawa, S., Tohyama, M. 150kDa Oxygen-regulated protein (ORP150) suppresses Hypoxia-induced apoptotic cell death. *J. Biol. Chem.* 274.10, 6397-6404 (1999)
 - 6) Tamatani, M., Matsuyama, T., Yamaguchi, A., Mitsuda, N., Tsukamoto, Y., Taniguchi, M., Che, Y.H., Ozawa, K., Hori, O., Nishimura, H., Yamashita, A., Okabe, M., Yanagi, H., Stern, D.M., Ogawa, S., Tohyama, M. ORP150 protects against hypoxia/ischemia-induced neuronal death. *Nat. Med.* 7, 317-23 (2001)
 - 7) Bando Y., Tsukamoto Y., Katayama T., Ozawa K., Kitao Y., Hori O., Stern D.M., Yamauchi A., Ogawa S. ORP150/HSP12A protects renal tubular epithelium from ischemia-induced cell death. *FASEB J.* 18 (12): 1401-3 (2004)
 - 8) Paxinou, E., Chen, Q., Weisse, M., Giasson, B.I., Norris, E.H., Rueter, S.M., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M., Ischiropoulos, H. Induction of alpha-synuclein aggregation by intracellular nitrate insult. *J. Neurosci.* 15; 21(20), 8053-61 (2001)
 - 9) Spillantini, M.G., Schmidt, M.L., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q., Jakes, R., Goedert, M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388, 839-840 (1997)
 - 10) Mizuno, Y., Hattori, N., Kitada, T., Matsumine, H., Mori, H., Shimura, H., Kubo, S., Kobayashi, H., Asakawa, S., Minoshima, S., Shimizu, N. Familial Parkinson's disease. Alpha-synuclein and Parkin. *Adv. Neurol.* 86, 13-21 (2001)
 - 11) Shimura, H., Hattori, N., Kubo, S., Mizuno, Y., Asakawa, S., Minoshima, S., Shimizu, N., Iwaki, K., Chiba, T., Tanaka, K., Suzuki, T. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat. Genet.* 25, 302-305 (2000)
 - 12) Shimura, H., Schlossmacher M.G., Hattori, N., Frosch, M.P., Trockenbacher, A., Schneider, R., Mizuno, Y., Kosik, K.S., Selkoe, D.J. Ubiquitination of a new form of α -synuclein by Parkin from human brain: implications for Parkinson's disease. *Science* 293, 263-269 (2001)
 - 13) Imai, Y., Soda, M., Inoue, H., Hattori, N., Mizuno, Y., Takahashi, R. An unfolded putative transmembrane polypeptide, which can lead to endoplasmic reticulum stress, is a substrate of Parkin. *Cell* 105, 891-902 (2001)
 - 14) Imai, Y., Soda, M., Hatakeyama, S., Akagi, T., Hashikawa, T., Nakayama, K.I., Takahashi, R. Parkin suppresses unfolded

- protein stress-induced cell death through its E3 ubiquitin-protein ligase activity. *Mol. Cell* 10, 55-67 (2002)
- 15) McNaught, K.S., Mytilineou, C., Jonbaptiste, R., Yabut, J., Shashidharan, P., Jennert, P., Olanow, CW. Impairment of the ubiquitin-proteasome system causes dopaminergic cell death and inclusion body formation in ventral mesencephalic cultures. *J. Neurochem.* 81, 301-306 (2002)
- 16) Bando Y., Katayama T., Taniguchi M., Matsuo N., Ishibashi T., Ogawa S., Tohyama M. RA410/Sly1 suppresses MPP+ and 6-hydroxydopamine induced cell death in SH-SY5Y cells. *Neurobiol. Dis.* 18: 143-151 (2005)
- 17) Nicotra, A, Parvez, S.H. Cell death induced by MPTP, a substrate for monoamine oxidase B. *Toxicology* 16; 153(1-3), 157-66 (2000)
- 18) Speciale, S.G.. MPTP: insights into parkinsonian neurodegeneration. *Neurotoxicol. Teratol.* 24, 607 (2002)
- 19) Mancini, M., Machamer, C.E., Roy, S., Nicholson, D.W., Thornberry, N.A., Casciola-Rosen, L.A., Rosen, A. Caspase-2 is localized at the Golgi complex and cleaves golgin-160 during apoptosis. *J. Cell Biol;* 149(3), 603-12 (2000)
- 20) Onuki R., Bando Y., Suyama E., Katayama T., Kawasaki H., Sugiyama E., Baba T., Tohyama M., Taira K. An RNA-dependent protein kinase is involved in tunicamycin-induced apoptosis and Alzheimer's disease. *EMBO J.* 23(4): 959-968 (2004)
- 21) 大貫玲子、板東良雄、遠山正彌、多比良和誠
小胞体ストレスやアルツハイマー病における
PKR のリン酸化の役割、*実験医学* 22, 9,
1282-1285 (2004)
- 22) Kaufman, R.J. Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes Dev.* 13, 1211-1233 (1999)
- 23) Williams, B.R. PKR; a sentinel kinase for cellular stress. *Oncogene* 18, 6112-6120 (1999)
- 24) Srivastava, S.P., Kumar, K.U., Kaufman, R.J. Phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 2 mediates apoptosis in response to activation of the double strand RNA-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* 273, 2416-2433 (1998)