

平成 28 年 5 月 13 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25430065

研究課題名(和文) シャペロン介在性オートファジーの神経変性疾患・精神疾患発症への関与解明

研究課題名(英文) Elucidation of the involvement of chaperone-mediated autophagy in the pathogenesis of neurodegenerative and psychiatric disorders

研究代表者

関 貴弘 (Seki, Takahiro)

熊本大学・大学院生命科学研究部・准教授

研究者番号：50335650

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はリソソーム系タンパク質分解の中で研究の進んでいないシャペロン介在性オートファジー(CMA)とマイクロオートファジー(mA)の活性を別々に評価する実験方法を開発し、神経疾患への関与解明を行うこととした。申請者が過去に報告したGAPDH-HTをレポータータンパク質として用いる方法にCMA及びmAにそれぞれ関与する分子のノックダウンを組み合わせることで、CMAとmA活性をそれぞれ評価する方法の開発に成功した。さらには薬物誘発パーキンソン病モデルにおいて、CMA/mA活性が低下することやCMA活性化薬により細胞死が抑制されることを示し、パーキンソン病発症におけるCMA/mAの関与が示唆される。

研究成果の概要(英文)： In the present study, we attempted to establish a novel method to monitor chaperone-mediated autophagy (CMA) and microautophagy (mA) activities, separately. siRNA-mediated knockdown of CMA- and mA-related proteins enabled us to assess CMA and mA activities, separately, in cells expressing GAPDH-HT, a reporter protein of CMA/mA activity. Using this method, we revealed that the CMA/mA activity is significantly decreased in drug-induced cell model of Parkinson's disease. Moreover, a chemical that activates CMA prominently inhibited cell death in this model. These findings strongly suggest that disturbance of CMA/mA activity would render the pathogenesis of Parkinson's disease.

研究分野：神経薬理学

キーワード：シャペロン介在性オートファジー ミクロオートファジー パーキンソン病

### 1. 研究開始当初の背景

細胞内タンパク質分解系は、不要のタンパク質を分解するだけでなく、タンパク質の発現制御や栄養不足時のアミノ酸供給など、様々な細胞機能において重要な役割を果たしている。主要なタンパク質分解系の1つであるオートファジー・リソソーム系はマクロオートファジー (MA)・シャペロン介在性オートファジー (CMA)・マイクロオートファジー (mA) からなる (図1)。

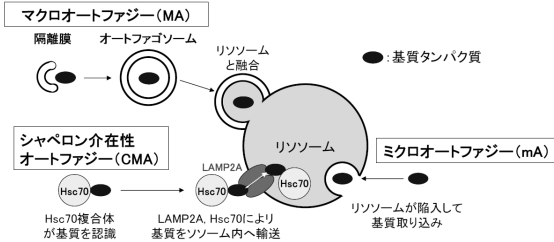


図1 オートファジー・リソソーム系の概要

近年、マクロオートファジーの分子機序が詳細に解明され、感染防御、免疫制御、神経疾患への関与が明らかになっている。しかしながらCMAに関しては、heat shock cognate 70 (Hsc70)や LAMP2A などの関与する分子は明らかになったものの、その活性制御機構や生理的役割、疾患への関与はほとんど不明である。しかし、CMAのターゲットとなるタンパク質が細胞質タンパク質の約30%を占める、CMAは他の分解系と異なり、哺乳細胞でのみ存在する、という点から、CMAは哺乳細胞の機能維持に不可欠であり、CMAの破綻が様々な疾患発症に繋がる可能性は高く、CMAは医学応用の大きなターゲットになりえると考えられる。

申請者は2012年に、CMA活性を一細胞レベルで簡便にモニタリング可能な新規CMA活性評価系を開発し(図2)神経変性疾患である脊髄小脳失調症14型(SCA14)の原因である変異プロテインキナーゼCγ (PKCγ)が培養細胞株及び初代培養小脳ブルキンエ細胞においてCMA活性を低下させることを明らかにした (Seki T et al, PLoS ONE, 7, e31232 (2012))。この結果より、変異PKCγによるCMAの障害がSCA14発症の分子メカニズムの一つである可能性が示唆され、CMAが他の神経変性疾患や精神疾患における神経機能異常に関与している可能性も考えられる。

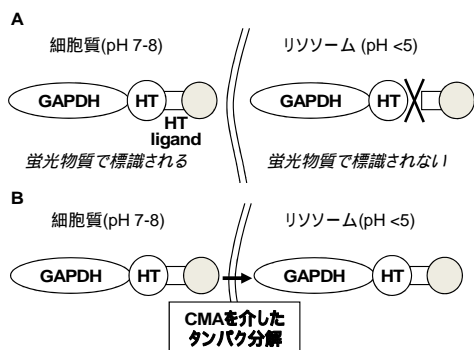


図2 新規CMA活性評価系を用いたモニタリング原理

CMA基質であるGAPDHとHaloTag(HT)との融合タンパク(GAPDH-HT)をCMAセンサーとして用いる。GAPDH-HTはHT ligandと共有結合させることにより蛍光標識できる。

A: HTタンパクとリガンドとの結合反応は、酸性条件下では起こらないので、細胞質のGAPDH-HTのみ標識される。また、反応時点で蛍光標識されたGAPDH-HTの動態のみを追跡することができる。

B: 標識されたGAPDH-HTはやがてCMAによりリソソームに集積する。蛍光色素は酸性条件下でも蛍光を発するため、細胞質からリソソームに移行したCMA基質を観察することができ、この移行を定量解析することでCMA活性評価が可能である。

また、研究計画当初はCMAについての研究を行う予定であったが、我々のCMA活性評価法の報告とほぼ同時期に、不明であった哺乳細胞でのmAのメカニズムが解明され、CMA同様にHsc70が関与し、基質を後期エンドソームへ輸送し、後期エンドソームがリソソームと融合することで基質タンパク質の分解が引き起こされることが明らかとなった (Sahu R et al, Dev Cell, 20, 131-139 (2011))。我々の開発したCMA活性評価法はHsc70で認識されるGAPDHを基質として用いているため、CMAだけでなくmA活性も評価できる可能性が考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究は3点を研究目的とした。

- GAPDH-HT安定発現細胞株を用いCMAとmAをそれぞれ評価する方法を確立する。
- 初代培養神経細胞において、CMAとmAをそれぞれ評価する方法を確立する。
- 神経変性疾患の細胞モデルを用い、CMA/mA活性への影響を検討する。

### 3. 研究の方法

CMA/mA活性のマーカータンパク質として用いるGAPDH-HTを安定的に発現するAD293細胞(ヒト胎児腎臓由来)を樹立するため、Flp-In system (Invitrogen)を用いた。また、神経系細胞株として用いられているSH-SY5Y細胞については、episomal vectorであるpEBMulti-Neo (Wako)を用いて、GAPDH-HT安定発現細胞を作製した。

また、AD293細胞及び初代培養神経細胞におけるタンパク質のノックダウンはsiRNAをLipofectamine RNAiMAXを用いてトランスフェクションすることで行った。いずれのsiRNAでもタンパク質発現が有意に減少したことをウエスタンブロットで確認した。

神経変性疾患の細胞モデルとして、薬物誘発パーキンソン病モデルを用いた。これはSH-SY5Y細胞に6-hydroxydopamine (6-OHDA)を処置することで細胞死を誘導するモデルであり、パーキンソン病モデルとして頻用されている。

#### 4. 研究成果

##### GAPDH-HT 安定発現細胞株を用い CMA と mA をそれぞれ評価する方法を確立する。

GAPDH-HT を安定的に発現する細胞を樹立した。この細胞を蛍光 HT 標識後培養を行うと、時間依存的に GAPDH-HT は細胞質で点状の局在を示した(図3)。この局在は後期エンドソーム及びリソソームのマーカである LAMP1 と共局在していた(図4)。一方、GAPDH-HT の点状の集積が mA 活性を反映しているのであればリソソームだけではなく、後期エンドソームへも GAPDH-HT が集積するはずである。これを確認するために、後期エンドソームのマーカである Rab7 に GFP を融合させたものを共発現すると、GFP-Rab7 と GAPDH-HT は強く共局在し(図4) GAPDH-HT が後期エンドソームに取り込まれていることが示唆された。

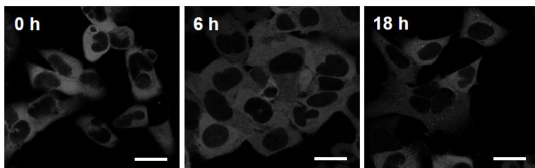


図3 AD293 細胞における GAPDH-HT の局在変化

GAPDH-HT を安定的に発現する AD293 細胞を蛍光 HT リガンドで標識し、標識直後(0 h)及び6時間、18時間培養後の GAPDH-HT 蛍光を観察した。標識直後は細胞質に均一に局在し、6時間後も局在に大きな変化はなかったが、18時間培養後には点状の集積を示す細胞が多く観察された。Bar = 20 μm。

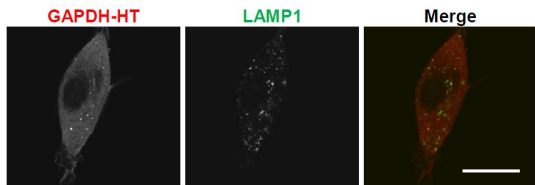


図4 GAPDH-HT の後期エンドソーム/リソソームへの集積

GAPDH-HT を安定的に発現する AD293 細胞を蛍光 HT リガンドで標識し、18時間培養後に固定し、後期エンドソームとリソソームのマーカである LAMP1 の免疫染色を行った。GAPDH-HT の集積は LAMP1 と強い共局在を示した。Bar = 20 μm。

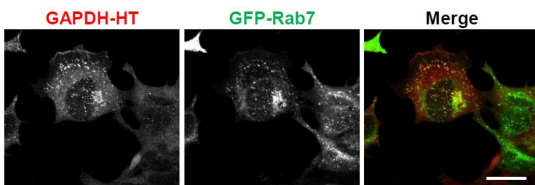


図5 GAPDH-HT の後期エンドソームへの集積

GAPDH-HT を安定的に発現する AD293 細胞に後期エンドソームに局在する GFP-Rab7 を発現させ、蛍光 HT リガンドで標識し、18時間培養後に固定し、蛍光観察を行った。GAPDH-HT の集積は GFP-Rab7 と強い共局在を示した。Bar = 20 μm。

続いて、CMA 関連タンパク質である LAMP2A 及び mA 関連タンパク質である TSG101 をそれぞれノックダウンすることで、mA 及び CMA 活性をそれぞれ評価できるのではないかと考えた。それぞれをノックダウンすると、GAPDH-HT の点状の集積が有意に抑制されるものの、その抑制効果は部分的であった(図6)。また、CMA 活性化薬である mycophenolic acid (MPA) の処置により、TSG101 ノックダウン時では点状の集積が有意に増大した一方で、LAMP2A のノックダウンでは有意な増大は見られなかった(図6B)。以上の結果より、LAMP2A ノックダウンにより mA 活性を、TSG101 ノックダウンにより CMA 活性をそれぞれ評価可能であることが示された。

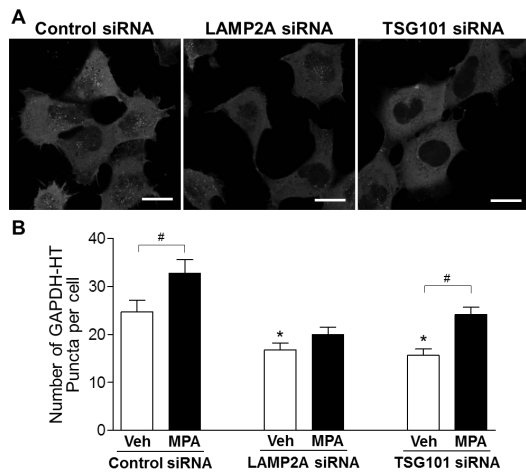


図6 siRNA による LAMP2A 及び TSG101 ノックダウンが AD293 細胞での GAPDH-HT 集積に及ぼす影響

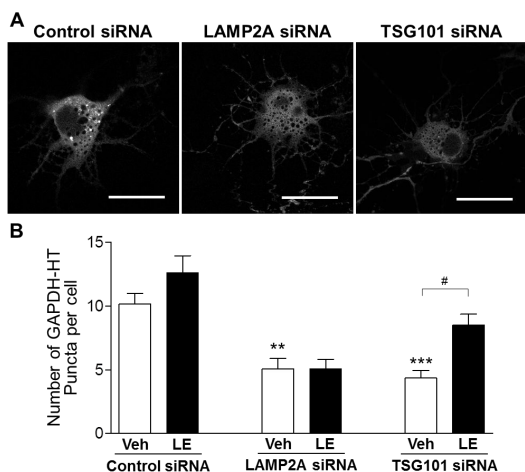
A. GAPDH-HT を安定的に発現する AD293 細胞に siRNA (control, LAMP2A, TSG101) をトランスフェクションし2日間培養後、蛍光 HT リガンドで標識し、18時間培養後に固定し、蛍光観察を行った。GAPDH-HT の集積は LAMP2A 及び TSG101 のノックダウンにより顕著に抑制されたが、完全に抑制されることはなかった。Bar = 20 μm。

B. A と同様に siRNA をトランスフェクションした細胞を HT リガンド標識後に 0.1 % DMSO (Veh) 及び 5 μM mycophenolic acid (MPA) を含む培地で培養し、18時間後の細胞当たりの GAPDH-HT の点状集積を定量解析した。\* p < 0.05 vs control siRNA treated with vehicle, # p < 0.05 (Turkey multiple comparison test, n = 37-44)

##### 初代培養神経細胞において、CMA と mA をそれぞれ評価する方法を確立する。

続いてラット胎児大脳皮質由来の初代培養神経細胞において、同様に CMA と mA 活性をそれぞれ評価できるかを検討した。GAPDH-HT の神経細胞への発現はアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いて行った。GAPDH-HT の点状の集積は AD293 細胞の場合と同様に、LAMP2A 及び TSG101 のノックダウンにより部分的かつ有意に抑制された(図7)。また、MPA 同様に CMA を活性化するレチノイン受容体アンタゴニストである

LE540 の処置を行うと、TSG101 ノックダウン時には LE540 により GAPDH-HT の点状の集積が増大するが、LAMP2A ノックダウンではその増大が観察されなかった (図 7B)。以上の結果から、初代培養神経細胞でも CMA 及び mA 活性をそれぞれ評価可能であることが明らかとなった。

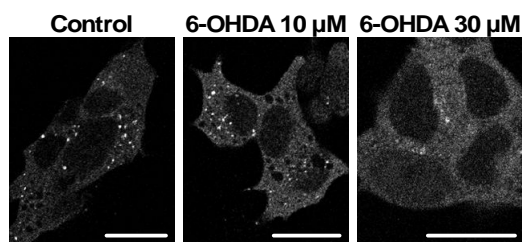


**図 7 siRNA による LAMP2A 及び TSG101 ノックダウンが初代培養大脳皮質神経細胞での GAPDH-HT 集積に及ぼす影響**

A. 神経細胞に GAPDH-HT と siRNA (control, LAMP2A, TSG101) のトランスフェクションを行い、6 日間培養後、蛍光 HT リガンドで標識し、18 時間培養後に固定し、蛍光観察を行った。Bar = 20  $\mu$ m。  
B. 図 6B と同様に HT リガンド標識後に 0.1 % DMSO (Veh) 及び 1  $\mu$ M LE540 (LE) を含む培地で培養し、18 時間後の細胞当たりの GAPDH-HT の点状集積を定量解析した。\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001 vs control siRNA treated with vehicle, # p < 0.05 (Turkey multiple comparison test, n = 18-20)

### 神経変性疾患の細胞モデルを用い、CMA/mA 活性への影響を検討する。

これまでにパーキンソン病において CMA 障害が見られるといくつかのグループから報告されている。そこで、神経変性疾患の中でもパーキンソン病に注目して CMA/mA 活性が影響を受けるかを GAPDH-HT を用いた実験系により検討した。GAPDH-HT を安定的に発現する SH-SY5Y 細胞を樹立し、6-OHDA 処置により薬物誘発パーキンソン病モデルを作製した。このモデルでは 100  $\mu$ M 以上の 6-OHDA で細胞毒性を示すものの、30  $\mu$ M 以下では細胞毒性があまり見られなかった。

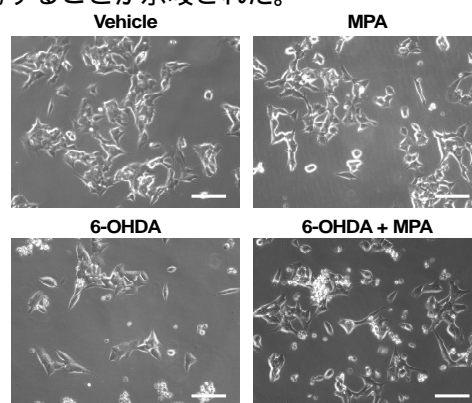


**図 8 6-OHDA が CMA/mA 活性に及ぼす影響**

GAPDH-HT 安定発現 SH-SY5Y 細胞を蛍光 HT リガンドで標識し、6-OHDA 含有培地で 24 時間培養後に細胞を固定し、蛍光観察を行った。Bar = 20  $\mu$ m。

30  $\mu$ M 以下の 6-OHDA 処置は濃度依存的に GAPDH-HT の点状の集積を減少させた (図 8) ことから、CMA/mA 活性を低下させることが示唆された。

続いて、CMA/mA 活性低下が 6-OHDA の細胞死に関連するかどうかを検討するため、CMA 活性化薬の MPA 処置により、6-OHDA の細胞死が抑制されるかを検討した。100  $\mu$ M 6-OHDA による細胞死は 5  $\mu$ M の MPA により顕著に抑制された (図 9)。以上の結果より、CMA の低下が 6-OHDA による細胞毒性に関与することが示唆された。



**図 9 6-OHDA の細胞毒性に対する CMA 活性化薬 MPA の効果**

SH-SY5Y 細胞に 100  $\mu$ M 6-OHDA を 24 時間処置すると vehicle 処置細胞に比べて、顕著な細胞死が誘発され、生存細胞は減少していた。一方、5  $\mu$ M MPA 単独処置 (24 時間) では細胞生存に影響しないが、6-OHDA と MPA 同時処置は 6-OHDA の細胞毒性を顕著に抑制した。Bar = 50  $\mu$ m。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

- Hijioka M, Anan J, Matsushita H, Ishibashi H, Kurauchi Y, Hisatsune A, Seki T, Katsuki H. Axonal dysfunction in internal capsule is closely associated with early motor deficits after intracerebral hemorrhage in mice. *Neurosci Res*, 106, 38-46 (2016)
- Takahashi S, Hisatsune A, Kurauchi Y, Seki T, Katsuki H. Insulin-like growth factor 1 specifically up-regulates expression of modifier subunit of glutamate-cysteine ligase and enhances glutathione synthesis in SH-SY5Y cells. *Eur J Pharmacol*, 771, 99-106 (2016)
- Kamigaki M, Hide I, Yanase Y, Shiraki H, Harada K, Tanaka Y, Seki T, Shirafuji T, Tanaka S, Hide M, Sakai N. The Toll-like receptor 4-activated neuroprotective microglia subpopulation survives via granulocyte macrophage colony-stimulating factor and JAK2/STAT5 signaling. *Neurochem Int*, 93, 82-94 (2016)
- Fujibayashi T, Kurauchi Y, Hisatsune A, Seki T, Shudo K, Katsuki H. Mitogen-activated protein kinases regulate expression of neuronal nitric oxide synthase and neurite outgrowth via non-classical retinoic acid receptor signaling in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J Pharmacol Sci*, 129, 119-126 (2015)

5. Kiyofuji K, Kurauchi Y, Hisatsune A, Seki T, Mishima S, Katsuki H. A natural compound macelignan protects midbrain dopaminergic neurons from inflammatory degeneration via microglial arginase-1 expression. *Eur J Pharmacol*, 760, 129-35 (2015)
6. Ramani B, Harris GM, Huang R, Seki T, Murphy GG, Costa Mdo C, Fischer S, Saunders TL, Xia G, McEachin RC, Paulson HL. A knockin mouse model of spinocerebellar ataxia type 3 exhibits prominent aggregate pathology and aberrant splicing of the disease gene transcript. *Hum Mol Genet*, 24, 1211-1224 (2015)
7. Takahashi H, Adachi N, Shirafuji T, Danno S, Ueyama T, Vendruscolo M, Shuvaev AN, Sugimoto T, Seki T, Hamada D, Irie K, Hirai H, Sakai N, Saito N. Identification and characterization of PKC $\gamma$ , a kinase associated with SCA14, as an amyloidogenic protein. *Hum Mol Genet*, 24, 525-539 (2015)
8. 関 貴弘 蛍光観察によるシャペロン介在性オートファジーの評価 *日本薬理学雑誌*, 145, 206-210 (2015)
9. Nobunaga M, Obukuro K, Kurauchi Y, Hisatsune A, Seki T, Tsutsui M, Katsuki H. High fat diet induces specific pathological changes in hypothalamic orexin neurons in mice. *Neurochem Int*, 78, 61-66 (2014)
10. Matsushita H, Hijioka M, Ishibashi H, Anan J, Kurauchi Y, Hisatsune A, Seki T, Shudo K, Katsuki H. Suppression of CXCL2 upregulation underlies the therapeutic effect of the retinoid Am80 on intracerebral hemorrhage in mice. *J Neurosci Res*, 92, 1024-34 (2014)
11. Tanaka S, Miyagi T, Dohi E, Seki T, Hide I, Sotomaru Y, Saeki Y, Chiocca EA, Matsumoto M, Sakai N. Developmental expression of GPR3 in rodent cerebellar granule neurons is associated with cell survival and protects neurons from various apoptotic stimuli. *Neurobiol Dis*, 68, 215-27 (2014)
12. Yamamoto K, Seki T, Yamamoto H, Adachi N, Tanaka S, Hide I, Saito N and Sakai N. Deregulation of the actin cytoskeleton and macropinocytosis in response to phorbol ester by the mutant protein kinase C gamma that causes spinocerebellar ataxia type 14. *Front Physiol*, 5, Article 126 (2014)
13. Seki T, Gong L, Williams AJ, Sakai N, Todi SV, Paulson HL. JosD1, a membrane-targeted deubiquitinating enzyme, is activated by ubiquitination and regulates membrane dynamics, cell motility and endocytosis. *J Biol Chem*, 288, 17145-17155 (2013)
14. Ogawa K, Seki T, Onji T, Adachi N, Tanaka S, Hide I, Saito N, Sakai N. Mutant  $\gamma$ PKC that causes spinocerebellar ataxia type 14 upregulates Hsp70, which protects cells from the mutant's cytotoxicity *Biochem Biophys Res Commun*, 440, 25-30 (2013)
3. 野間和希, 関 貴弘, 他 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 阻害による海馬神経障害におけるグルタミン酸興奮毒性の関与 第89回日本薬理学会年会 2016年3月11日(横浜市)
4. 倉内祐樹, 関 貴弘, 他 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase の機能抑制による前頭前皮質領域の神経障害機序の解明 第89回日本薬理学会年会 2016年3月11日(横浜市)
5. 関 貴弘, 他 脊髄小脳失調症 21 型の原因となる変異 TMEM240 が神経形態に及ぼす影響 第89回日本薬理学会年会 2016年3月10日(横浜市)
6. 肘岡雅宜, 関 貴弘, 他 マウス脳内出血病態進行過程におけるロイコトリエン B<sub>4</sub> の産生及び機能解析 第89回日本薬理学会年会 2016年3月10日(横浜市)
7. 佐藤正寛, 関 貴弘, 他 初代培養神経細胞におけるマイクロオートファジーとシャペロン介在性オートファジーの可視化 第89回日本薬理学会年会 2016年3月10日(横浜市)
8. 足立直子, 関 貴弘, 他 脊髄小脳失調症 14 型における PKC $\gamma$  のアミロイド様構造体の形成と治療法の探索 第89回日本薬理学会年会 2016年3月9日(横浜市)
9. 吉丸侑子, 関 貴弘, 他 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase の機能抑制によるマウス衝動性行動の解析 第89回日本薬理学会年会 2016年3月9日(横浜市)
10. 阿南純平, 関 貴弘, 他 マウス皮質下出血モデルに対するニコチンの治療効果 第68回日本薬理学会西南部会 2015年11月21日(下関市)
11. 肘岡雅宜, 関 貴弘, 他 好中球浸潤を焦点とした脳内出血病態形成におけるロイコトリエン B<sub>4</sub> の機能解析 第68回日本薬理学会西南部会 2015年11月21日(下関市)
12. 堤 麗帆, 関 貴弘, 他 薬物誘発パーキンソン病モデルにおけるドパミン神経障害への exosome の関与と解明 第37回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2015年11月20日
13. Takahiro Seki, et al. Transmembrane protein 240 (TMEM240), a causal protein for spinocerebellar ataxia type 21, regulates membrane trafficking and intracellular lipid accumulation. *Neuroscience* 2015 2015年10月19日(Chicago, USA)
14. 肘岡雅宜, 関 貴弘, 他 脳内出血病態形成過程におけるリボキシゲナーゼ系の関与 生体機能と創薬シンポジウム 2015 2015年8月27日(船橋市)
15. 高橋周平, 関 貴弘, 他 SH-SY5Y 神経芽腫細胞におけるグルタチオン合成系に対するインスリン及び IGF-1 の効果とそのメカニズムの解明 生体機能と創薬シンポジウム 2015 2015年8月27日(船橋市)
16. 高橋周平, 関 貴弘, 他 SH-SY5Y 神経芽腫細胞におけるグルタチオン合成系酵素 glutamate-cysteine ligase 発現に対するインスリン及び IGF-1 の効果 第38回日本神経科学大会 2015年7月30日(神戸市)
17. 佐藤正寛, 関 貴弘, 他 ミクロオートファジーとシャペロン介在性オートファジーの可視化 第38回日本神経科学大会 2015年7月30日(神戸市)
18. 倉内祐樹, 関 貴弘, 他 双極性障害に関連した脳血管障害におけるグリア細胞活性化の関与 第38回日本神経科学大会 2015年7月30日(神戸市)
19. 関 貴弘, 他 脊髄小脳失調症 21 型原因タンパク質 TMEM240 は細胞内脂質蓄積とリソソーム系タンパク質分解を制御する 第38回日本神経科学大会 2015年7月29日(神戸市)
20. 阿南純平, 関 貴弘, 他 マウス皮質下出血モデルの病態及びニコチンの治療効果の解析 第38回日本神経科学大会 2015年7月28日(神戸市)
21. 関 貴弘, 他 Molecular properties of T MEM240, a causative protein of SCA21. 第56回日本神経学会学術大会 2015年5月21日(新潟市)
22. 高橋周平, 関 貴弘, 他 SH-SY5Y 細胞と C6 細胞でのインスリンおよび IGF-1 のグルタチオン合成系への効果 日本薬学会第135年会 2015年3月28

〔学会発表〕(計56件)

1. 藤田一成, 関 貴弘, 他 PDI 阻害によるオレキシンニューロンの病理学的変化 日本薬学会第136年会 2016年3月27日(横浜市)
2. 堤 麗帆, 関 貴弘, 他 薬物誘発パーキンソン病モデルにおけるドパミン神経障害へのエキソソームの関与と解明 第89回日本薬理学会年会 2016年3月11日(横浜市)

- 日(神戸市)
23. 高岡侑一郎、関 貴弘、他 ミクログリア細胞株 BV-2 における LPS 誘導性 CXCL2 発現に対するレチノイド化合物 Am80 の効果 日本薬学会第 135 年会 2015 年 3 月 28 日(神戸市)
  24. 肘岡雅宜、関 貴弘、他 脳内出血時の脳内におけるロイコトリエン B<sub>4</sub> 産生に関わる酵素群の発現解析 日本薬学会第 135 年会 2015 年 3 月 28 日(神戸市)
  25. 倉内祐樹、関 貴弘、他 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 阻害による脳血管内皮細胞傷害におけるタンパク質 S-グアニル化修飾の関与 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 20 日(名古屋市)
  26. 関 貴弘、他 脊髄小脳失調症 21 型原因タンパク質 TMEM240 の特性 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 19 日(名古屋市)
  27. 本多裕亮、関 貴弘、他 A549 細胞における TLR リガンドによって誘導された炎症応答に対するガングリオシドの効果 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 19 日(名古屋市)
  28. 高橋周平、関 貴弘、他 SH-SY5Y 細胞と C6 細胞のグルタチオン合成系に対するインスリンおよび IGF-1 の効果 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 18 日(名古屋市)
  29. 佐藤正寛、関 貴弘、他 ミクロオートファジーとシャペロン介在性オートファジーの可視化 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 18 日(名古屋市)
  30. 高岡侑一郎、関 貴弘、他 ミクログリア細胞株 BV-2 における CXCL2 発現に対するレチノイド化合物 Am80 の抑制作用 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 18 日(名古屋市)
  31. 肘岡雅宜、関 貴弘、他 脳内出血モデルマウスにおけるロイコトリエン B<sub>4</sub> 産生に関わる酵素類の発現 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 18 日(名古屋市)
  32. 梶原勇人、関 貴弘、他 多動症状マウスにおけるミクログリアとアストロサイトの異なる活性化状態の解析 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 18 日(名古屋市)
  33. 吉丸侑子、関 貴弘、他 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 阻害による多動症状モデルマウスの解析 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 18 日(名古屋市)
  34. 関 貴弘、他 シャペロン介在性オートファジー及びミクロオートファジーの細胞レベルでの可視化 第 37 回日本分子生物学会 2014 年 11 月 26 日(横浜市)
  35. 倉内祐樹、関 貴弘、他 新規脳切片培養モデルを用いた Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 阻害による脳血管構造障害機序の解明 第 67 回日本薬理学会西南部会 2014 年 11 月 23 日(北九州市)
  36. 高橋周平、関 貴弘、他 神経突起と脳機能に対する内因性シアリダーゼの効果 第 37 回日本神経科学大会 2014 年 9 月 13 日(横浜市)
  37. 倉内祐樹、関 貴弘、他 ラット前頭前皮質組織培養系を用いた双極性障害に関連した脳血管構造障害の定量的解析 第 37 回日本神経科学大会 2014 年 9 月 12 日(横浜市)
  38. 香月博志、関 貴弘、他 高脂肪食は iNOS 依存的にオレキシンニューロンの病理変化を誘導する 第 37 回日本神経科学大会 2014 年 9 月 11 日(横浜市)
  39. 関 貴弘、他 蛍光イメージングによる神経細胞でのシャペロン介在性オートファジー活性の可視化 日本薬学会第 134 年会 2014 年 3 月 30 日(熊本市)
  40. 神垣真由美、関 貴弘、他 TLR4 活性化によるミクログリアの生存維持に GM-CSF 自己産生と GM-CSF 受容体の上方制御が関与する 第 87 回日本薬理学会年会 2014 年 3 月 21 日(仙台市)
  41. 神垣真由美、関 貴弘、他 TLR4 を介したアデニン A2a 受容体活性化による ミクログリア機能の調節 第 87 回日本薬理学会年会 2014 年 3 月 21 日(仙台市)
  42. 関 貴弘、他 脱ユビキチン化酵素 JosD1 は細胞形

- 態、細胞移動及びエンドサイトーシスを制御する 第 87 回日本薬理学会年会 2014 年 3 月 19 日(仙台市)
43. 延永瑞希、関 貴弘、他 高脂肪食は視床下部オレキシンニューロンにおける病理学的変化を誘導する 第 87 回日本薬理学会年会 2014 年 3 月 19 日(仙台市)
44. 松下英明、関 貴弘、他 脳内出血モデルマウスにおける内因性レチノイドの役割 第 87 回日本薬理学会年会 2014 年 3 月 19 日(仙台市)
45. 関 貴弘、他 脱ユビキチン化酵素 JosD1 の活性制御機構と細胞機能 第 36 回日本分子生物学会 2013 年 12 月 5 日(神戸市)
46. Takahiro Seki, et al. Ubiquitin-mediated regulation and functional roles of the deubiquitinating enzyme JosD1. Neuroscience 2013 2013 年 11 月 11 日(San Diego, USA)
47. Shigeru Tanaka, Takahiro Seki, et al. GPR3 protects neurons from apoptosis via phosphatidylinositol 3-kinase and mitogen activated protein-kinase signaling pathway. Neuroscience 2013 2013 年 11 月 10 日(San Diego, USA)
48. Eisuke Dohi, Takahiro Seki, et al. Possible relationship between decreased expression of lysosomal-associated membrane protein type 2A and delayed neuronal death after brain ischemia. Neuroscience 2013 2013 年 11 月 10 日(San Diego, USA)
49. 関 貴弘、他 蛍光イメージングを用いた神経細胞でのシャペロン介在性オートファジー活性の解析 第 43 回日本精神神経薬理学会 2013 年 10 月 25 日(沖縄市)
50. 宮城達博、関 貴弘、他 中枢神経系における恒常的 Gs 活性化受容体 GPR3 の局在と機能 第 43 回日本精神神経薬理学会 2013 年 10 月 25 日(沖縄市)
51. 酒井規雄、関 貴弘、他 セロトニントランスポーター機能調節に対するケミカルシャペロン 4-phenylbutylate (4-PBA) の効果 第 43 回日本精神神経薬理学会 2013 年 10 月 25 日(沖縄市)
52. 関 貴弘、他 脱ユビキチン化酵素 JosD はユビキチンによる活性調節を受ける 第 123 回日本薬理学会近畿部会 2013 年 7 月 12 日(名古屋市)
53. 関 貴弘、他 脱ユビキチン化酵素 JosD の機能的役割 Neuro2013 2013 年 6 月 21 日(京都市)
54. 神垣真由美、関 貴弘、田中 茂、白藤俊彦、秀 道広、酒井規雄 TLR 活性化によるミクログリアの生存維持に GM-CSF と TNF/TNFR2 シグナルが関与する Neuro2013 2013 年 6 月 21 日(京都市)
55. 宮城達博、関 貴弘、他 中枢神経系における恒常的 Gs 活性化受容体 GPR3 の局在と機能 Neuro2013 2013 年 6 月 21 日(京都市)
56. 酒井規雄、関 貴弘、他 イメージングを活用した新たなシャペロン介在性オートファジーの解析方法の確立 第 54 回日本神経学会 2013 年 5 月 30 日(東京都)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

関 貴弘 (Takahiro Seki)

熊本大学・生命科学研究所・准教授

研究者番号: 50335650