

インフルエンザウイルスによって発現する
ヒト MxA 蛋白とパーキンソン病病態モデルに関する研究

石橋 大輔

福岡大学薬学部, 814-0180 福岡市城南区七隈 8-19-1

**Involvement of human MxA protein expressed by the influenza virus
in Parkinson's disease.**

Daisuke Ishibashi

Department of Neuropharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University,
Fukuoka 814-0180, Japan.

Abstract

From an epidemiological standpoint, influenza A virus infection exerts an influence on the incidence of subsequent Parkinson's disease (PD). PD patients have an unusual resistance to catching colds partly because of high levels of induction of antiviral MxA protein, which belongs to the family of large GTP hydrolyzing enzyme. MxA protein, when strongly expressed, is able to self-assemble into a large complex and may then act as a seed for the formation of Lewy bodies (LBs) of PD. Transgenic mice constitutively expressing human MxA protein showed significant motor impairment suggestive of parkinsonism without any alteration in gross motor activities first recognized at 12 months after birth. TUNEL-positive cells were observed only in substantia nigral and striatal cells of transgenic mice during the same period, in which dopamine levels and turnover rates were significantly low. These results suggest that a protein seed comprised of virus-induced MxA could be involved in LB formation, resulting in consequent functional and biochemical abnormalities that are characteristic of the PD brain.

Key words

Parkinson's disease (PD), MxA protein, Transgenic mice, parkinsonism, dopamine

緒言

パーキンソン病（PD）は、中脳黒質から線条体に至るドパミン作動性ニューロンが脱落し、病理学的にはLewy小体（Lewy body；LBs）が認められる緩徐進行性の神経変性疾患であり、通常、主に中年（50歳）以降に発症するとされている。日本では薬物治療の進歩と人口の高齢化に伴い、10万人当たり約100人の有病率に増加しているといわれている。PDの症例において、90%以上の大多数が孤発性疾患で、残りの約10%は、家族性疾患とされている。現時点ではPDの原因は不明であるが、特に、孤発性疾患は外的な環境因子と内的な遺伝的因子により発症する多因子遺伝性疾患と考えられている。成人期に発症するPDをはじめとする神経変性疾患の環境要因を考えると、胎児期あるいは乳幼児期にその発症に関わる環境因子に特異的な形式で曝露された可能性が考えられる。もしPDが環境因子とその後の加齢変化によるドパミン産生ニューロンの消失ならば、発症における最初の引き金は、発症の何年も前にさかのぼる時期に起こっていた可能性があると考えられる（1）。

疫学的に、インフルエンザAウイルスによる嗜眠性脳炎によってPDが発症すると推測されており（2）、今日まで、インフルエンザウイルスとPDとの関係を示唆する様々な研究が行われてきた。マウスに直接インフルエンザウイルスを感染させることによりPDの病理所見が発現することを確認し（3-5）、中脳黒質のドパミン産生ニューロンは、インフルエンザAウイルスに対して標的になりやすく、選択的に阻害されることによって、パーキンソニズムを引き起こすと報告されている。感染したウイルスは、長期間にわたり脳内にとどまっているのではなく、脳内における何らかの排除機構によって慢性的には感染し続けられないのである。つまり、これらの実験で認められた変化は、極めて急性の経過を反映したもので、慢性化した所見はではない。実際、PDにおいてインフルエンザAウイルスが脳内に持続感染し、その病態に直接関与しているとされている報告や証拠は今のところ無いのである（6-9）。つまり、感染したインフルエンザウイルスが慢性的な作用を直接引き起こしているのではなく、脳内におけるウイルス感染によって生じる何らかの現象が、PDの発症を引き起こしている可能性があるのではないかと考える。

ウイルス感染に伴い発現するInterferon- α （INF- α ）により誘導される抗ウイルス作用を持つMxA蛋白は、PD患者の脳内に特有に発現するレビー小体の病理巣コア周囲に顆粒状の蛋白として存在することが報告されている（10、11）。

そこで、インフルエンザウイルス感染に際し誘導され、ウイルスの複製を抑制するGTPase活性を持つMxA蛋白は、脳炎後に生じるPD発症の要因の一つになると考え、以下の検討を行った。

ドパミン神経細胞における INF- α 処置後の MxA 蛋白の発現

ドパミン神経系において MxA 蛋白が INF- α により発現するかを検討した。非神経細胞であるヒト肺細胞 (T98G) において MxA 蛋白の発現を検討した報告 (12, 13) があるが、これまでに、ドパミン神経系における検討はない。今回の結果より、MxA 蛋白は、ドパミン神経系においてもその存在が確認された (図 1)。

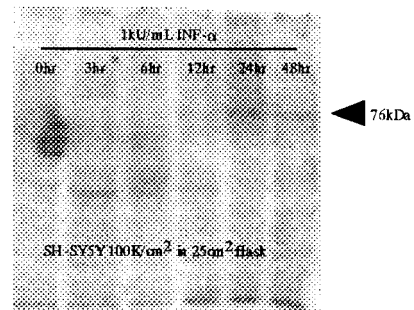


図 1 SH-SY5Y 細胞における MxA 蛋白の発現。

MxA 蛋白の凝集性における検討

神経変性疾患は、脳内に不溶性の凝集した蛋白質の存在を共通の特徴として持つ。特に、PD には細胞質内封入体の LBs が、不溶性蛋白の凝集体で、疾患の原因物質として知られている。現在のところ LBs は、主に α -シヌクレイン (α -syn) 蛋白の変性した凝集体が構成成分とされており、PD の原因物質として研究されている蛋白である (14-17)。疾患の原因となる凝集体の形成は、seed 仮説に従うと考えられている。この仮説は、単量体の α -syn が、seed (種) となり、微小な凝集を形成し、これを核として単量体の様々な蛋白が、歳月をかけて集まり、LBs を構築するという仮説である (18)。初期の seed 形成過程が律速段階となり、ひとたび seed が形成されると、凝集は加速度的に進行することになる。

凝集体の形成が、疾患の発症に相関すると考えられていることより、以下の MxA 蛋白の凝集性について検討した。

ウサギ網状赤血球を用いた無細胞・転写系を用いて、MxA 蛋白を過剰発現させ、シヨ糖濃度勾配で分画し、Western blot で MxA 蛋白質の量を測定した。結果として、無細胞系のシステムで過剰発現した MxA 蛋白は、主に重い分画に存在していたことより、通常 76kDa の MxA 蛋白質が、これらの分画に存在することは、MxA 蛋白質が過剰に発現した状況では、多量体を形成し、不溶性の蛋白として存在

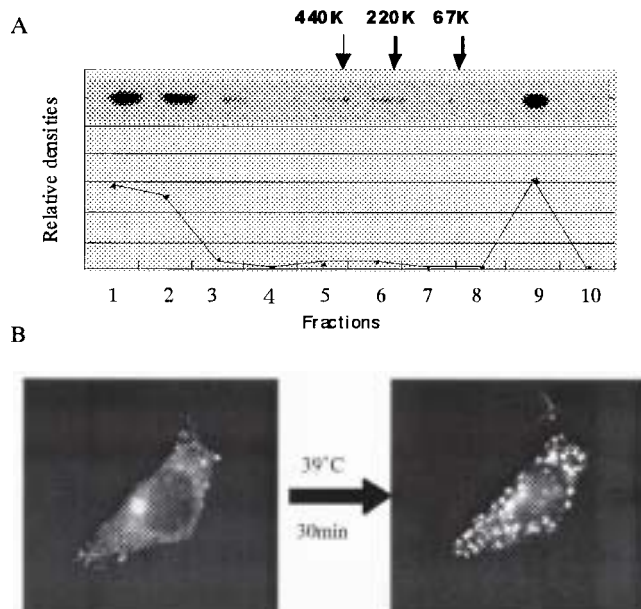


図 2 MxA 蛋白の発現およびその凝集

A. ウサギの網状赤血球を用いた無細胞転写/翻訳系における MxA 蛋白の凝集。
B. HepG2 細胞における MxA 蛋白の transfection。

することを示唆している（図 2, A）. さらに、肝細胞由来の株である HepG2 細胞内へ MxA をトランスフェクションし、細胞における MxA 蛋白の過剰発現について検討した. 細胞への遺伝子導入直後から細胞質内に顆粒状の凝集体が観察され、時間の経過とともに、細胞質全体にわたり、多数の明瞭な比較的大型の顆粒状の細胞質封入体が認められた（図 2, B）. これらの MxA 蛋白における凝集性の検討より、MxA 蛋白は、自己凝集能を持ち、その凝集体は、細胞内の封入体を形成することを示唆している. つまり、この蛋白は PD 発症に関わる原因物質の一つとして、MxA 蛋白による PD の発症の可能性を示唆できるのではないかと考えた.

ヒト MxA 蛋白を過剰発現する遺伝子改変マウス (MxA-Tg) における検討

MxA 蛋白と PD が何らかの関係があることが示唆されたが、MxA 蛋白による PD 発症の可能性を検討するため、MxA 蛋白を過剰発現させた transgenic mouse を用いて以下の検討を行った.

1) MxA-Tg における MxA 蛋白発現の確認

PCR 法を用いた MxA 遺伝子の解析より、マウスの尻尾から DNA を採取し、MxA-Tg と WT (野生型; Wild Type) との判別を検討したところ、WT と MxA-Tg を区別することができた (図 3, A) . さらに、Western blot 法を用いた MxA 蛋白の解析より、脳内に MxA 蛋白質が発現しているのかを確認したところ、76kDa に MxA 蛋白の発現が見られた (図 3, B) . また、この MxA-Tg は脳に MxA 蛋白質の発現が多く、脾臓、肺、心臓、腎臓、胸腺にも発現が見られるが、筋肉と肝臓では MxA 蛋白の発現が見られないことが報告されている (19) .

2) MxA-Tg の運動機能の変化

行動評価には、Rota-rod 法を用いた協調運動の測定ならびに Parkinsonism の症状の中で bradykinesia (無動) を定量的に測定できる方法である (20) Pole test を用いて運動機能の評価を検討した. さらに、Traction meter を用いて筋緊張 (muscle tone) を測定することにより PD の三大症候の中の筋固縮に対する検討を行った.

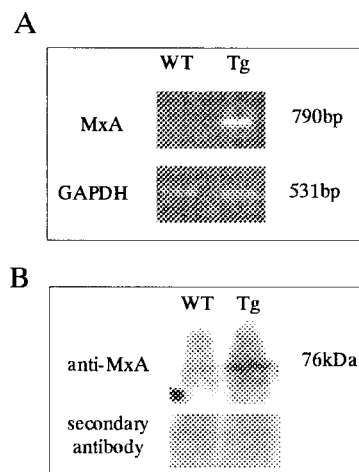


図 3 MxA-Tg における MxA の発現
A. PCR法を用いたマウスの尾における MxA 遺伝子の検出. B. Western blot 法を用いた MxA-Tg の脳における MxA 蛋白質の検出.

Rota-rod 法は、5rpm で回転する棒の上にマウスを回転方向と逆に頭を向けて乗せ、棒から落下するまでの時間 (Latency to fall ; sec) を測定したもの (21) で、 Pole test は、垂直に立てた棒の上端にマウスを上向きに掴まらせて、完全に下向きになるまでの時間 (T-turn ; sec) を測定したものである。 Traction meter は、可動式の金網の上にマウスを乗せ、尾を一定の力でゆっくり後方に引いたときの抵抗するマウスの四肢の脚力 (kgf) を直接測定した (22) 。 Rota-rod 法、 Pole test において、 3、 6 ヶ月齢のマウスでは MxA-Tg と WT 間に変化が見られなかったが、 12 ヶ月齢の MxA-Tg に、 WT に比べ著明な協調運動障害が発現した (図 4, A-B) 。 さらに、 Traction meter において、 3、 6 ヶ月齢のマウスでは MxA-Tg と WT 間に変化が見られなかったが、 12 ヶ月齢の MxA-Tg に、 WT に比べ著明な筋緊張の異常が発現した (図 4 C) 。

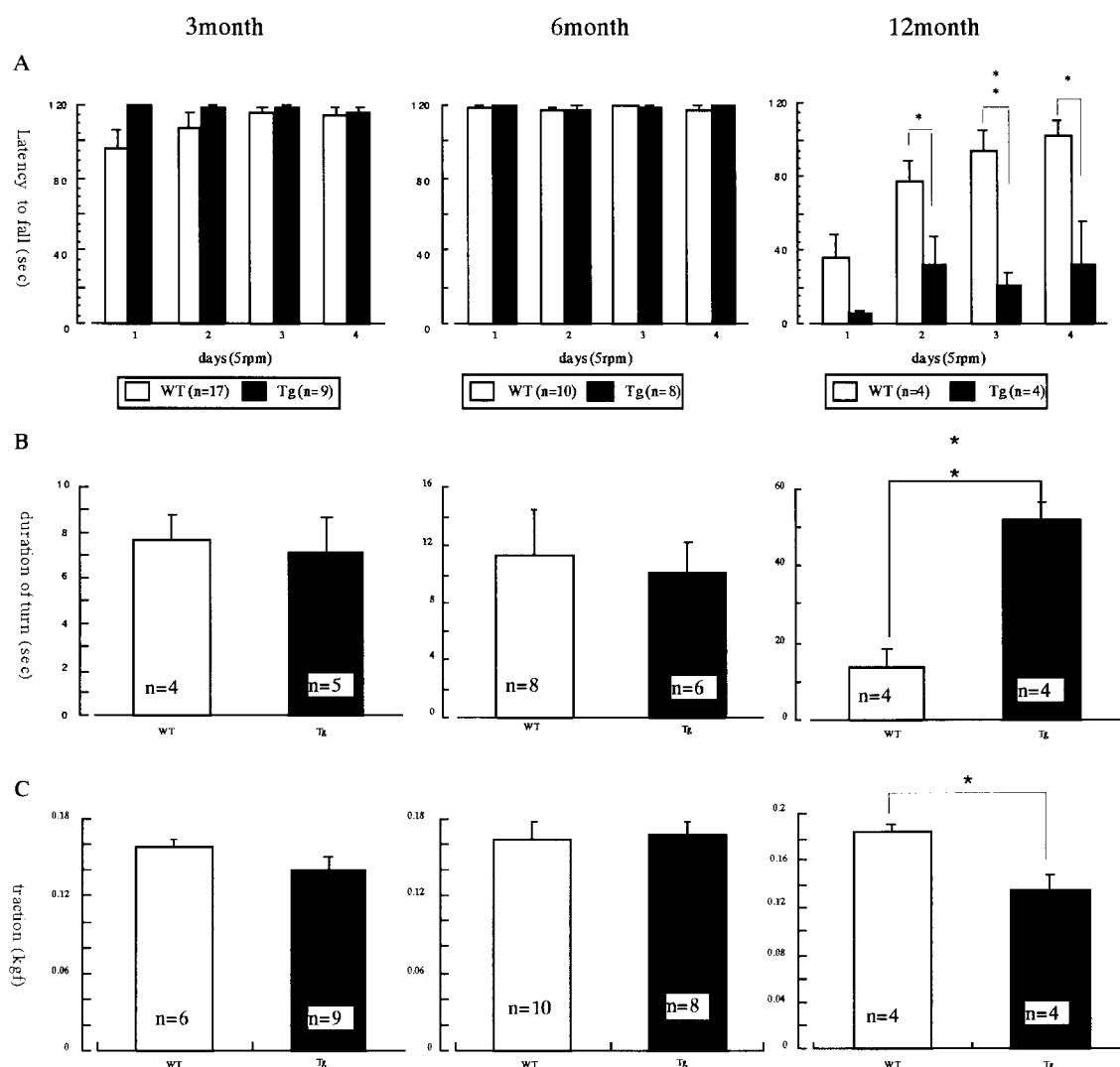


図 4 MxA-Tg における運動機能の変化

A, Rota-rod 法を用いた協調運動の測定。 B, Pole test による運動機能の測定。 C, トラクションメーター法による筋緊張 (筋力) の測定。 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs WT (unpaired Student's *t*-test)

3) MxA-Tg の各脳部位における組織学的検討

組織学的検討は、DNA の断片化を検出する蛍光 TUNEL 染色を行い、アポトーシスに対する検討、ドパミンの生合成に関わる酵素の Tyrosine Hydroxylase (TH) を認識する抗体 (23) を用いて免疫染色を行い、ドパミン神経細胞に対する検討を行った。

結果として、TUNEL 染色では、3, 6 ヶ月齢の WT と MxA-Tg のマウス間に著明な差は見られなかった。しかし、12 ヶ月齢の MxA-Tg は、WT に比べ、大脳皮質、線条体、海馬、視床下部、黒質、小脳で TUNEL 陽性細胞が観察された。その中で、特に、PD に関わる黒質の TUNEL 陽性細胞の数は著明に多かった (表 1, A)。一方、Tyrosine Hydroxylase 抗体を用いた免疫染色では、3, 6 ヶ月齢の WT と MxA-Tg の線条体と黒質に多くの TH 陽性の細胞が観察された。その染色像は 12 ヶ月齢の WT でも同様に観察されたが、MxA-Tg の黒質では TH 陽性細胞の減少や繊維化のような形態が観察された (表 1, B)。これらの結果を模式化したものを表 1 に示す。

A		TUNEL	cortex	striatum	thalamus	hippocampus	hypothalamus	nigra	cerebellum
month									
3	WT	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d
	Tg	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d
6	WT	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d
	Tg	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d
12	WT	n. d	n. d	n. d	n. d		+	n. d	+
	Tg	++	+	n. d	+		+	+++	+

B		TH	striatum	hypothalamus	nigra	cerebellum
month						
3	WT	+++	+	+++	+	
	Tg	+++	+	+++	+	
6	WT	+++	+	+++	+	
	Tg	+++	+	+++	+	
12	WT	+++	+	+++	+	
	Tg	+++	+	+	n. d	

+, mild or a few; ++, moderate
; +++, intense or numerous stainings,
respectively. nd, not detected.

Not detected in cortex, thalamus, hippocampus

表 1 MxA-Tg の加齢による各脳部位の変化
A, TUNEL 染色. B, Tyrosine Hydroxylase 抗体を用いた免疫染色.

PD 患者の黒質-線条体における様々なサイトカインの特異的な増大が明らかにされている (24-29)。この報告と PD 患者の黒質にミクログリア・アストロサイトの活性化 (グリオシス) ならびにサイトカインの異常産生が発現しているとの症例報告

(30-32) とを考慮すると、グリオシスに伴うサイトカインの発現により、炎症反応が生じ、最後に細胞死が発現すると考えられる。12ヶ月齢の MxA-Tg の黒質線条体に特異的に TUNEL 陽性細胞の発現が観察されたことから、この MxA-Tg の各脳部位におけるグリア細胞の変化を以下の順に検討した。アストロサイトを検出する Glial fibrillary acidic protein (GFAP ; グリア線維性酸性タンパク質) 抗体を用いた免疫組織化学的検討では、3, 6ヶ月齢のマウスの脳部位全体に GFAP 陽性の細胞が観察されたが、WT と MxA-Tg との間に差はなく、両マウスとも視床では観察されなかった。12ヶ月齢の WT でも同様に観察されたが、MxA-Tg では、特に大脳皮質、線条体、黒質に GFAP 陽性細胞の増加などのグリオシスが観察された (表 2, A) 。ミクログリアを検出する F4/80 抗体 (33) を用いた免疫染色化学的検討では、3ヶ月齢の WT は、小脳に発現が観察されるのに対し、MxA-Tg では視床にも発現が観察される。しかし、両群に差は無かった。6ヶ月齢の WT と MxA-Tg では、視床、海馬、黒質、小脳に発現が観察されるが、両群に差は無かった。12ヶ月齢では WT と MxA-Tg の大脳皮質を除く全体の領域に発現が観察されたが、両群に差は無かった。つまり、この結果は、加齢依存的にミクログリアの発現が生じていたが、WT と MxA-Tg との間に変化が無いことを示唆している (表 2, B) 。今回の結果を模式化したものを表 2 に示す。

A		GFAP	cortex	striatum	thalamus	hippocampus	hypothalamus	nigra	cerebellum
month									
3	WT	+	+	n. d	+	+	+	+	+
	Tg	+	+	n. d	+	+	+	+	+
6	WT	+	+	n. d	+	+	+	+	+
	Tg	+	+	n. d	+	+	+	+	+
12	WT	+	+	n. d	+	+	+	+	+
	Tg	+++	+++	n. d	+	+	+	+++	+

B		F4/80	cortex	striatum	thalamus	hippocampus	hypothalamus	nigra	cerebellum
month									
3	WT	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	+
	Tg	n. d	n. d	+	n. d	n. d	n. d	n. d	+
6	WT	n. d	n. d	+	+	n. d	+	+	+
	Tg	n. d	n. d	+	+	n. d	+	+	+
12	WT	n. d	+	+	+	+	+	+	+
	Tg	n. d	+	+	+	+	+	+	+

+, mild or a few; ++, moderate; +++, intense or numerous stainings, respectively. nd, not detected.

表 2 MxA-Tg の各脳部位におけるグリア細胞の変化

A. GFAP 抗体を用いた免疫染色。 B. F4/80 抗体を用いた免疫染色。

4) MxA-Tg の黒質、線条体におけるドパミン (DA) 神経系の変化

PD 患者では、黒質における DA 神経細胞の脱落により黒質線条体系の神経伝達物質である DA 量自身の変化が生じ、PD が発症し、Parkinsonism の行動障害を示すとされている (34, 35) . PD モデル動物においても Parkinsonism の発現には黒質-線条体系における DA 量の減少が関わっているとされている (36) . そこで、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、3, 6, 12 ヶ月齢の MxA-Tg と WT の両マウスにおける黒質、線条体中の DA 量およびその代謝物量を測定し、加齢による DA 神経系の変化について検討した. 結果として、12 ヶ月齢の MxA-Tg の線条体において、DA 神経系の代謝回転を示す DA turnover (DOPAC+HVA+3MT/DA) の割合が、WT に比べ有意に減少していた (図 5, A) . さらに、MxA-Tg の黒質中の DA 量は加齢依存的に減少しており、12 ヶ月齢の MxA-Tg において WT に比べ有意に減少していた (図 5, B) . これらの結果は、12 ヶ月齢の MxA-Tg の線条体の DA 神経活動に異常が見られることと黒質における DA の産生系路に異常があることを示唆している.

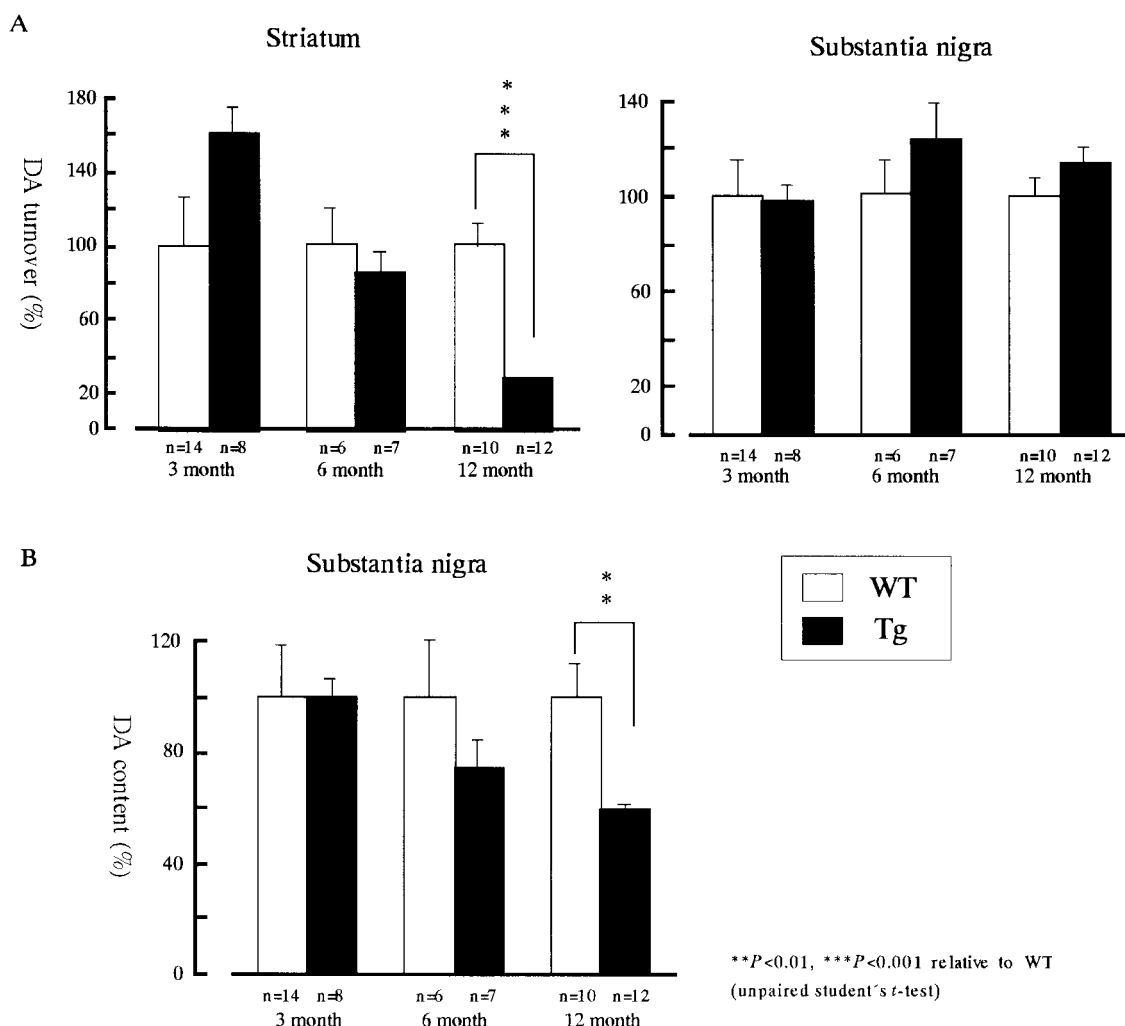


図 5 MxA-Tg の黒質、線条体におけるドパミン神経系の変化

A. MxA-Tg の線条体および黒質における DA turnover の変化. B. MxA-Tg の黒質における DA level の変化.

結論

行動実験より、MxA-Tg は 12 ヶ月齢になって Parkinsonism の症状が発現し、その症状は、組織学的、生化学的検討から黒質における神経細胞死を伴った DA 量の減少を含むドパミン神経の変化により引き起こされたものであることが示唆された。つまり、パーキンソン病は、MxA 蛋白の過剰発現に伴い、黒質のドパミン神経系の脱落が歳月を経て生じ、病態を発現するものであることが示唆された。今回の結果は、MxA 蛋白を介したインフルエンザウイルスとパーキンソン病の関連性に対する仮説を証明したことになる。インフルエンザ感染からパーキンソン病発症までには、いくつかの段階があると考えられ、今回の MxA-Tg の実験では確認されなかったが、最終段階の神経変性疾患に見られる MxA 蛋白の凝集体形成までには、長期にわたるゆっくりとした変化を要すると考えられる (図 6)。この仮説は、全ての PD の発症要因を説明できるわけではないが、今回用いた MxA-Tg の PD モデルは、PD の新たなモデルとして PD 治療薬開発に有益な情報をもたらすと思われる。

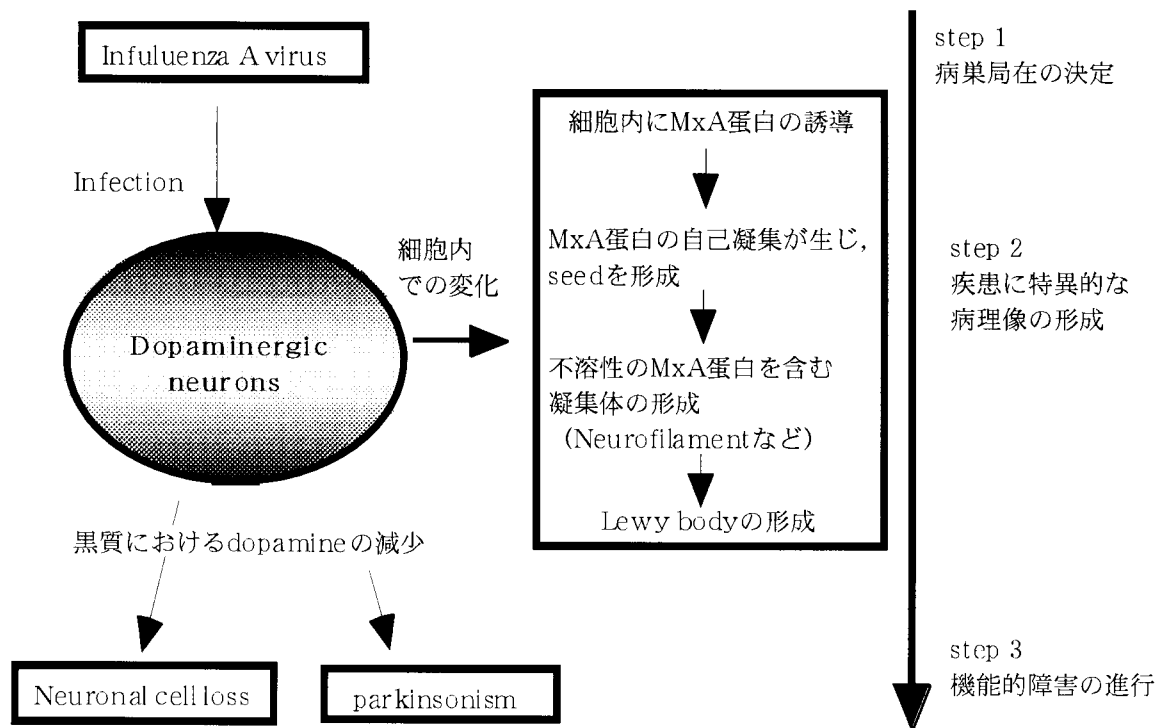


図 6 インフルエンザ感染からパーキンソン病発症に至るまでの病態仮説

謝辞

本稿を終わるにあたり、本研究に終始御指導と御鞭撻を賜りました福岡大学薬学部臨

床疾患薬理学教室の藤原道弘教授，ならびに有益な御助言と御校閲を賜りました福岡大学薬学部薬学疾患管理学教室の片岡泰文教授，臨床薬物治療学教室の高橋三津雄教授，当教室の岩崎克典助教授に深謝します。

参考文献

- 1) Martyn, C.N. : Infection in childhood and neurological disease in adult life. *Br. Med. Bull.*, 53 : 24-39 (1997)
- 2) 山田達夫：インフルエンザ A ウイルス感染とパーキンソニズム. *神経進歩* 43 巻 1 号, 58-67 (1999)
- 3) Takahashi, M., Yamada, T. & Nakanishi, K. : Influenza A virus infection of primary cultured cells from rat fetal brain. *Parkinson Related Disord.*, 3 : 97-102 (1997)
- 4) Takahashi, M., Yamada, T. & Nakajima, S. : The substantia nigra is a major target for neurovirulent influenza A virus. *J Exp Med.*, 181 : 2161-2169 (1995)
- 5) Miyoshi, K., Wolf, A. & Harter, D.H. : Murine influenza virus encephalomyelitis. I. Neuropathological and immunofluorescence findings. *J Neuropath. Exp. Neurol.*, 32 : 51-71 (1973)
- 6) Gamboa, E.T., Wolf, A. & Yahr, M.D. : Influenza virus antigen in postencephalitic parkinsonism brain. *Arch. Neurol.*, 31 : 228-232 (1974)
- 7) Marttila, R.J., Halonen, P. & Rinne, U.K. : Influenza virus antibodies in parkinsonism. *Arch. Neurol.*, 34 : 99-100 (1977)
- 8) Schwartz, J. & Elizan, T.S. : Search for viral particles and virus-specific products in idiopathic Parkinson disease brain material. *Ann. Neurol.*, 6 : 261-263 (1979)
- 9) Wetmur, J.G., Schwartz, J. & Elizan, T.S. : Nucleic acid homology studies of viral nucleic acids in idiopathic Parkinson's disease. *Arch. Neurol.*, 36 : 462-464 (1979)
- 10) Yamada, T., Horisberger, M.A. & Kawaguchi, N. : Immunohistochemistry using antibodies to α -interferon and its induced protein, MxA, in Alzheimer's and Parkinson's disease brain tissues. *Neurosci. Lett.*, 181 : 61-64 (1994)
- 11) Yamada, T. : Further observations on MxA-positive Lewy bodies in Parkinson's disease brain tissues. *Neurosci. Lett.*, 195 : 41-44 (1995)
- 12) Pavlovic, J., Zurcher, T., Haller, O. & Staeheli, P. : Resistance to influenza virus and vesicular stomatitis virus conferred by expression of human MxA protein. *J Virol.*, 64 : 3370-3375 (1990)
- 13) Aebi, M., Fah, J., Hurt, N., Samuel, C.E., Thomis, D., Bazzigher, L., Pavlovic, J., Haller, O. & Staeheli P. : cDNA structures and regulation of two interferon-induced human Mx proteins. *Mol Cell Biol.*, 9 : 5062-5072 (1989)
- 14) Betarbet, R., Sherer, T.B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A.V. & Greenamyre, J.T. : Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci.*, 3(12) : 1301-6 (2000)

- 15) Masliah, E., Rockenstein, E., Veinbergs, I., Mallory, M., Hashimoto, M., Takeda, A., Sagara, Y., Sisk, A. & Mucke, L. : Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. *Science.*, 287(5456) : 1265-9 (2000)
- 16) Masliah, E., Rockenstein, E., Veinbergs, I., Sagara, Y., Mallory, M., Hashimoto, M. & Mucke, L. : beta-amyloid peptides enhance alpha-synuclein accumulation and neuronal deficits in a transgenic mouse model linking Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 98(21) : 12245-50 (2001)
- 17) Feany, M.B. & Bender, W.W. : A *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Nature.*, 404(6776) : 394-8 (2000)
- 18) Wood, S.J., Wypych, J., Steavenson, S., Louis, J.C., Citron, M. & Biere, A.L. : alpha-synuclein fibrillogenesis is nucleation-dependent. Implications for the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Biol Chem.*, 274(28) : 19509-12 (1999)
- 19) Pavlovic, J., Arzet, H.A., Hefti, H.P., Frese, M., Rost, D., Ernst, B., Kolb, E., Staeheli, P. & Haller, O. : Enhanced virus resistance of transgenic mice expressing the human MxA protein. *J Virol.*, 69(7) : 4506-10 (1995)
- 20) Ogawa, N., Hirose, Y., Ohara, S., Ono, T. & Watanabe, Y. : A simple quantitative bradykinesia test in MPTP-treated mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.*, 50(3) : 435-41 (1985)
- 21) Ikeda, T., Mishima, K., Yoshikawa, T., Iwasaki, K., Fujiwara, M., Xia, Y.X. & Ikenoue, T. : Selective and long-term learning impairment following neonatal hypoxic-ischemic brain insult in rats. *Behav. Brain Res.*, 118 : 17-25 (2001)
- 22) Itoh, J., Ukai, M. & Kameyama, T. : Dynorphin A-(1-13) potently improves the impairment of spontaneous alternation performance induced by the μ -selective opioid receptor agonist DAMGO in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 269 : 15-21 (1994)
- 23) Nagatsu, I., Arai, R., Sakai, M., Yamawaki, Y., Takeuchi, T., Karasawa, N. & Nagatsu, T. : Immunohistochemical colocalization of GTP cyclohydrolase I in the nigrostriatal system with tyrosine hydroxylase. *Neurosci. Lett.*, 224(3) : 185-188 (1997)
- 24) Mogi, M., Harada, M., Riederer, P., Narabayashi, H., Fujita, K. & Nagatsu, T. : Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) increases both in the brain and in the cerebrospinal fluid from parkinsonian patients. *Neurosci Lett.*, 165(1-2) : 208-10 (1994)
- 25) Mogi, M., Harada, M., Kondo, T., Riederer, P., Inagaki, H., Minami, M. & Nagatsu, T. : Interleukin-1 beta, interleukin-6, epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha are elevated in the brain from parkinsonian patients. *Neurosci. Lett.*, 180(2) : 147-50 (1994)
- 26) Mogi, M., Harada, M., Kondo, T., Riederer, P. & Nagatsu, T. : Brain beta 2-microglobulin levels are elevated in the striatum in Parkinson's disease. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect.*, 9(1) : 87-92 (1995)
- 27) Mogi, M., Harada, M., Kondo, T., Narabayashi, H., Riederer, P. & Nagatsu, T. : Transforming growth factor-beta 1 levels are elevated in the striatum and in ventricular cerebrospinal fluid in Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.*, 193(2) : 129-32 (1995)

- 28) Mogi, M., Harada, M., Kondo, T., Riederer, P. & Nagatsu, T. : Interleukin-2 but not basic fibroblast growth factor is elevated in parkinsonian brain. Short communication. *J Neural Transm.*, 103(8-9) : 1077-81 (1996)
- 29) Mogi, M., Harada, M., Narabayashi, H., Inagaki, H., Minami, M. & Nagatsu, T. : Interleukin (IL)-1 beta, IL-2, IL-4, IL-6 and transforming growth factor-alpha levels are elevated in ventricular cerebrospinal fluid in juvenile parkinsonism and Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.*, 211(1) : 13-6 (1996)
- 30) McGeer, P.L., Itagaki, S., Boyes, B.E. & McGeer, E.G. : Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology.*, 38(8) : 1285-91 (1988)
- 31) Boka, G., Anglade, P., Wallach, D., Javoy-Agid, F., Agid, Y. & Hirsch, E.C. : Immunocytochemical analysis of tumor necrosis factor and its receptors in Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.*, 172(1-2) : 151-4 (1994)
- 32) McGeer, P.L. & McGeer, E.G. : The inflammatory response system of brain: implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Brain Res Brain Res Rev.*, 21(2) : 195-218 (1995)
- 33) Sasaki, A., Yokoo, H., Naito, M., Kaizu, C., Shultz, L.D. & Nakazato, Y. : Effects of macrophage - colony - stimulating factor deficiency on the maturation of microglia and brain macrophages and on their expression of scavenger reseptor. *Neuropathology.*, 2 : 134-142 (2000)
- 34) Hornykiewicz, O. : Parkinson's disease and the adaptive capacity of the nigrostriatal dopamine system: possible neurochemical mechanisms. *Adv Neurol.*, 60 : 140-7 (1993)
- 35) Jellinger, K. : Overview of morphological changes in Parkinson's disease. *Adv Neurol.*, 45 : 1-18 (1987)
- 36) Sedelis, M., Hofele, K., Auburger, G.W., Morgan, S., Huston, J.P. & Schwarting, R.K. : MPTP susceptibility in the mouse: behavioral, neurochemical, and histological analysis of gender and strain differences. *Behav Genet.*, 30(3) : 171-82 (2000)