

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：33920

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2022

課題番号：17K19465

研究課題名（和文）CAGリピート編集によるポリグルタミン病の根治的治療法の開発

研究課題名（英文）Development of curative therapy for polyglutamine disease by CAG repeat genome engineering

研究代表者

岡田 洋平（Okada, Yohei）

愛知医科大学・加齢医科学研究所・教授

研究者番号：30383714

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：近年のゲノム編集技術の著しい進展により、根治的治療法のない遺伝性神経変性疾患に対する治療開発が期待されている。本研究では、アンドロゲン受容体（AR）のポリグルタミン鎖（CAGリピート）の異常伸長により発症する球脊髄性筋萎縮症（SBMA）を標的に、ARのCAGリピート長を制御するゲノム編集技術の開発を行った。その結果、培養細胞株において野生型ARの正常CAGリピートを伸長して表現型を再現すること、またSBMA疾患特異的iPS細胞において変異ARの異常伸長したCAGリピートを正常長に短縮することに成功した。本技術は、様々な遺伝性神経変性疾患における根治的治療開発に応用可能であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの遺伝性神経変性疾患では、リピート配列の伸長により発症することが知られており、リピート配列の制御が根治的治療法の開発につながると考えられる。本研究の成果により、リピート配列の制御が可能になれば、様々な神経変性疾患の根治的治療法の開発につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：With the recent advances in genome editing technology, the development of novel therapeutics for hereditary neurodegenerative diseases is expected. In this study, we targeted Spinal Bulbar Muscular Atrophy (SBMA), which is caused by abnormal expansion of the polyglutamine tract (CAG repeat) of the androgen receptor (AR) gene, and developed genome editing technology to control the CAG repeat length of the AR. As a result, we succeeded in expanding the normal CAG repeats of wild-type ARs in cultured cell lines to reproduce the phenotype, and in shortening the abnormal CAG repeats of mutant ARs to normal length in SBMA disease-specific iPSCs. This technology may be applicable to the development of curative therapies for various hereditary neurodegenerative diseases.

研究分野：神経内科学 幹細胞生物学 分子神経生物学

キーワード：ゲノム編集 神経変性疾患 ポリグルタミン病 根治的治療法

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

多くの神経変性疾患では、ほとんどの場合は治療法がないか、あるとしても対症療法に限られていることが多い。例えば、パーキンソン病では、レボドパやドパミン作動薬など、様々な治療薬があり、明らかな症状の改善をもたらすが、その効果は永続的なものではなく、また疾患そのものを治療するものではない。したがって、より根治的な治療法の開発が望まれてきた。

近年、DNA を切断して任意のゲノム配列を削除、置換、挿入する新たな遺伝子改変技術（ゲノム編集技術）が著しい進展をみせている。とりわけ CRISPR/Cas9 システムにより、ゲノム操作が簡便に、かつ自在に行われるようになった。また最近になり *in vivo* におけるゲノム編集も報告されたことから、これまで治療法がなかった遺伝性神経変性疾患に対する新たな治療開発が期待されている。

本研究で対象とする、球脊髄性筋萎縮症（Spinal bulbar muscular atrophy: SBMA）は、アンドロゲン受容体（AR）のポリグルタミン鎖（CAG リピート）の異常伸長により発症する神経変性疾患（運動ニューロン病）である。SBMA では、ポリグルタミン鎖の伸長した変異 AR が、リガンドであるテストステロン依存的に核内に移行して凝集体を形成し、運動ニューロンの変性をもたらすと考えられてきた（Katsuno et al., *Neuron* 2002）。この病態に着目した LH-RH アナログ（リュープロレリン）による抗アンドロゲン療法は、特に発症早期の患者で有効性を示すことが報告されているが（Katsuno *Nat Med* 2003, Katsuno et al., *Lancet Neurol* 2010）、やはり根治的治療法とはいえず、また抗アンドロゲン作用による副作用により使用できない患者も少なくない。したがって、真に有効な治療法の開発が求められてきた。

### 2. 研究の目的

本研究では、SBMA の根治的治療法の開発につながる変異 AR の伸長 CAG リピートを短縮（正常化）するゲノム編集技術の開発を行う。本研究で開発する手法は、最終的には、様々な遺伝性神経変性疾患における根治的治療戦略に応用可能であると考えられる。

### 3. 研究の方法

#### (1) ヒト筋芽細胞株（Hu5/KD3）を用いた CAG リピート編集

最もアプローチしやすい培養細胞株を用いて、AR の CAG リピートのゲノム編集を行う。CRISPR/Cas9 による遺伝子のノックインには、標的の配列を認識させるガイド RNA（sgRNA）、ゲノム二本鎖切断酵素（ヌクレアーゼ）である Cas9、およびゲノムにノックインする目的配列を含む Donor DNA（両端に 500bp-1kb の挿入部位の相同配列を含む）が必要である。まず、ヒト AR 遺伝子の CAG リピート近傍で化膿性連鎖球菌由来 SpCas9 の標的となる PAM 配列（NGG）を検索し、非特異的切断をもたらすオフターゲット配列が少なく、高効率に二本鎖 DNA を切断できる、最適な標的配列およびガイド RNA（sgRNA）を決定する。

#### (2) Foot print-free システムを用いたヒト筋芽細胞株（Hu5/KD3）における CAG リピート編集

本研究で編集を行う AR の CAG リピート配列は翻訳領域にあるため、ゲノム編集後にゲノム中に余分な配列を残さないシステムを構築する必要がある。そこで、二つの TTAA 配列に挟まれた領域を切り出せる PiggyBac transposase を活用し、クローン選択後にゲノム（Donor DNA）中に挿入された薬剤選択カセットを跡形もなく取り除く Foot print-free システムを用いて行う。また、本解析で用いるヒト筋芽細胞株（Hu5/KD3）の AR は正常の CAG リピート数（24 回：AR24Q）であることから、Multisite gateway による Foot print-free の Donor vector の構築システム（Yoshimatsu et al., *PLoS One* 2019）を用いて、CAG リピート数が 55 回（AR55Q）または 97 回（AR97Q）の目的配列と、5'、3' 側の相同配列（アーム）薬剤選択カセットを連結した Foot print-free の Donor DNA を作成する。作成した Donor DNA を決定した sgRNA、SpCas9 とともにヒト筋芽細胞株（Hu5/KD3）に導入して CAG リピートの編集（伸長）を行う。CAG リピートの伸長を確認できたら、筋芽細胞を分化誘導してその表現型を検討する。

#### (3) SBMA 疾患特異的 iPS 細胞における CAG リピートの短縮

SBMA の疾患特異的 iPS 細胞を用いて CAG リピート編集による遺伝子治療を行う。正常 CAG リピート配列（24 回：AR24Q）を含む Donor DNA を作成し、前述の実験で決定した sgRNA、SpCas9 とともにエレクトロポレーションにより SBMA 疾患特異的 iPS 細胞に導入する。Donor DNA 中に挿入した薬剤選択カセットを用いて、ノックインされた iPS 細胞クローンを選択する。また、非特異的切断を起こし得るオフターゲット配列をウェブツールである CRISPR direct により推定し、ゲノム編集後の iPS 細胞クローンの樹立後、候補領域のシーケンシング、エクソーム解析、全ゲノム解析などにより、非特異的切断を検討する。

#### (4) ゲノム編集した SBMA 疾患特異的 iPS 細胞における表現型解析

SBMA 疾患特異的 iPS 細胞から誘導した運動ニューロンでは、(1) 早期病態関連分子 (CALCA : CGRP-1) の発現上昇、(2) 小胞体ストレス誘導剤 (Tunicamycin, Thapsigargin) による神経突起伸長抑制 (HB9<sup>e438</sup>::Venus レポーターを用いたタイムラプスイメージング) の表現型が明確にみられることから、CAG リピート編集後の iPS 細胞を運動ニューロンへと分化誘導し、これらの表現型がレスキューされるか否かを解析する。

#### 4. 研究成果

(1) Foot print-free システムを用いたヒト筋芽細胞株 (Hu5/KD3) における CAG リピート編集  
まず、培養細胞株として用いるヒト筋芽細胞株 (Hu5/E18) に CAG リピートの伸長した AR を導入し、その表現型を確認した。Hu5/KD3 の AR は正常の CAG リピート数 (24 回 : AR24Q) であることから、55 回 (AR55Q)、または 97 回 (AR97Q) へと伸長した変異 AR (AR55Q, 97Q)、および野生型 AR (AR24Q) を PiggyBac vector を用いて Hu5/KD3 細胞に導入し、筋管へと分化誘導を行なった。その結果、変異 AR を導入した Hu5/KD3 は、分化異常を示すことを見出した。

次に、類似の筋芽細胞株 (Hu5/KD3) を用いて、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集により、変異 AR のノックインを行なった。Hu5/KD3 の AR も正常の CAG リピート数 (24 回) であることから、ヒト AR 遺伝子の CAG リピート近傍で SpCas9 の標的となる PAM 配列 (NGG) を検索し、非特異的切断をもたらすオフターゲット配列が少なく、高効率に二本鎖 DNA を切断できる標的配列およびガイド RNA (sgRNA) を検索した。次に、培養細胞株を用いて、切断効率やオフターゲット効果などを指標に最適な標的配列、およびそれに対する sgRNA を決定した。また、ゲノム編集の標的遺伝子である AR に対して、Multisite gateway による PiggyBac transposase を活用した Foot print-free の Donor vector 構築システム (Yoshimatsu et al, PLoS One 2019) を用いて、CAG リピートが 55 回 (AR55Q)、または 97 回 (AR97Q) へと伸長した Donor DNA を作成した。作成した Donor DNA を決定した sgRNA、SpCas9 とともに細胞に導入し、限界希釈によりゲノム編集後の細胞のクローニングを行い、ゲノム DNA を抽出して PCR とシーケンス解析により適切にノックインされたクローンを選択した。さらに、Excision only transposase を用いて、Donor 配列に含まれる薬剤選択カセットの除去を行ない、ゲノム DNA の PCR およびシーケンス解析により、最終的に適切に薬剤選択カセットが除去されたクローンを得た。取得したクローンにおいて CAG リピートの伸長を確認したところ、適切に CAG リピートの伸長を確認できたクローン (Hu5/KD3-AR55Q、および-AR97Q) を取得することができた。また、取得したクローンを筋管へと分化誘導したところ、強制発現の場合と同様の分化異常を認め、表現型が得られることを確認した。

(2) SBMA 疾患特異的 iPS 細胞における CAG リピートの短縮と表現型のレスキュー

次に SBMA 疾患 iPS 細胞を用いて CAG リピート編集を行なった。正常 CAG リピート配列 (24 回 : AR24Q) を含む Foot print-free の Donor DNA を作成し、前項と同じ標的配列の sgRNA を準備し、SpCas9 タンパク質とともにエレクトロポレーションにより SBMA 疾患特異的 iPS 細胞 (SBMA 3E-10; AR の CAG リピートが 60 回に伸長) に導入した。Donor DNA 中に挿入した薬剤選択カセットを用いて、ノックインされた iPS 細胞クローンを選択した。ゲノム編集後の iPS 細胞クローンからゲノム DNA を抽出し、PCR、およびシーケンス解析により編集後のゲノム配列を確認し、適切に編集された (CAG リピートを 24 回に短縮された) クローンを選択した。さらに、Excision only transposase を用いて、Donor 配列に含まれる薬剤選択カセットの除去を行ない、ゲノム DNA の PCR およびシーケンス解析による確認を経て、最終的に適切に薬剤選択カセットが除去された 4 クローンを得た。さらに、染色体解析により、正常染色体であることを確認した。

SBMA 疾患特異的 iPS 細胞から誘導した運動ニューロンでは、(1) 早期病態関連分子の発現上昇やシグナル変化、(2) 神経突起伸長の抑制 (HB9<sup>e438</sup>::Venus レポーター) などの表現型を確認していることから (Onodera et al., in preparation) 現在、CAG リピート編集後の iPS 細胞を運動ニューロンへと分化誘導し、これらの表現型がレスキューされるか否かを解析している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計22件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Koike H, Mouria N, Fukamia Y, Iijima M, Matsuo K, Yagi N, Saito A, Nakamura H, Takahashi K, Nakae Y, Okada Y, Tanaka F, Sobue G, Katsuno M	4. 巻 421
2. 論文標題 Two distinct mechanisms of neuropathy in immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 117305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jns.2020.117305.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toritsuka M, Yoshino H, Makinodan M, Ikawa D, Kimoto S, Yamamuro K, Okamura K, Akamatsu W, Okada Y, Matsumoto T, Hashimoto K, Ogawa Y, Saito Y, Watanabe K, Aoki C, Takada R, Fukami SI, Hamano-Iwasa K, Okano H, Kishimoto T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Developmental dysregulation of excitatory-to-inhibitory GABA-polarity switch may underlie schizophrenia pathology: A monozygotic-twin discordant case analysis in human iPS cell-derived neurons.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurochem Int.	6. 最初と最後の頁 105179
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.omtn.2021.02.007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamamoto K, Yamaoka N, Imaizumi Y, Nagashima T, Furutani T, Ito T, Okada Y, Honda H, Shimizu K	4. 巻 21
2. 論文標題 Development of a Human Neuromuscular Tissue-on-a-Chip Model on a 24-Well-Plate-Format Compartmentalized Microfluidic Device	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 1897-1907
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d1lc00048a.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taguchi S, Koide H, Oiwa H, Hayashi M, Ogawa K, Ito C, Nakashima K, Yuasa T, Yasumoto A, Ando H, Fujikake A, Fukuoka T, Tokui K, Izumi M, Tsunoda Y, Kawagashira Y, Okada Y, Niwa JI, Doyu M.	4. 巻 16
2. 論文標題 Antiparkinsonian drugs as potent contributors to nocturnal sleep in patients with Parkinson's disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0255274
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0255274.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Toritsuka M, Yoshino H, Makinodan M, Ikawa D, Kimoto S, Yamamuro K, Okamura K, Akamatsu W, Okada Y, Matsumoto T, Hashimoto K, Ogawa Y, Saito Y, Watanabe K, Aoki C, Takada R, Fukami SI, Hamano-Iwasa K, Okano H, Kishimoto T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Developmental dysregulation of excitatory-to-inhibitory GABA-polarity switch may underlie schizophrenia pathology: A monozygotic-twin discordant case analysis in human iPS cell-derived neurons.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurochem Int.	6. 最初と最後の頁 105179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2021.02.007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakamura R, Misawa K, Tohnai G, Nakatochi M, Furuhashi S, Atsuta N, Hayashi N, Yokoi D, Watanabe H, Watanabe H, Katsuno M, Izumi Y, Kanai K, Hattori N, Morita M, Taniguchi A, Kano O, Oda M, Shibuya K, Kuwabara S, Suzuki N, Aoki M, Ohta Y, Yamashita T, Abe K, Hashimoto R, Aiba I, Okada Y, Nagasaki M, Sobue G. et al.,	4. 巻 23
2. 論文標題 A multi-ethnic meta-analysis identifies novel genes, including ACSL5, associated with amyotrophic lateral sclerosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-01251-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nagashima T, Hadiwidjaja S, Ohsumi S, Murata A, Hisada T, Kato R, Okada Y, Honda H, Shimizu K	4. 巻 11
2. 論文標題 in vitro model of human skeletal muscle tissues with contractility fabricated by immortalized human myogenic cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Adv Biosyst.	6. 最初と最後の頁 e2000121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adbi.202000121.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okada R, Onodera K, Ito T, Doyu M, Okano HJ, Okada Y	4. 巻 153
2. 論文標題 Modulation of oxygen tension, acidosis, and cell density is crucial for neural differentiation of human induced pluripotent stem cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci. Res.	6. 最初と最後の頁 34-42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.01.015.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koike H, Mouria N, Fukamia Y, Iijima M, Matsuo K, Yagi N, Saito A, Nakamura H, Takahashi K, Nakae Y, Okada Y, Tanaka F, Sobue G, Katsuno M	4. 巻 421
2. 論文標題 Two distinct mechanisms of neuropathy in immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Neurol Sci.	6. 最初と最後の頁 117305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2020.117305.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaoka N, Shimizu K, Imaizumi Y, Ito T, Okada Y, Honda H.	4. 巻 13
2. 論文標題 Open-Chamber Co-Culture Microdevices for single-cell analysis of skeletal muscle myotubes and motor neurons with neuromuscular junctions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BioChip Journal	6. 最初と最後の頁 127-132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13206-018-3202-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiyama T, Suzuki N, Ishikawa M, Fujimori K, Sone T, Kawada J, Funayama R, Fujishima F, Mitsuzawa S, Ikeda K, Ono H, Shijo T, Osana S, Shirota M, Nakagawa T, Kitajima Y, Nishiyama A, Izumi R, Morimoto S, Okada Y, Kamei T, Nishida M, Nogami M, Kaneda S, Ikeuchi Y, Mitsuhashi H, Nakayama K, Fujii T, Warita H, Okano H	4. 巻 45
2. 論文標題 Aberrant axon branching via Fos-B dysregulation in FUS-ALS motor neurons.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EBioMedicine.	6. 最初と最後の頁 362-378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2019.06.013. Epub 2019 Jun 29.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iida M, Sahashi K, Kondo N, Nakatsuji H, Tohna G, Tsutsumi Y, Noda S, Murakami A, Onodera K, Okada Y, Nakatochi M, Okabe Y, Shimizu S, Mizuno M, Adachi H, Okano H, Sobue G, Katsuno M	4. 巻 10
2. 論文標題 Src inhibition attenuates polyglutamine-mediated neuromuscular degeneration in spinal and bulbar muscular atrophy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 4262
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-12282-12287.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hyodo T, Rahman ML, Karnan S, Ito T, Toyoda A, Ota A, Wahiduzzaman M, Tsuzuki S, Okada Y, Hosokawa Y, Konishi H.	4. 巻 30
2. 論文標題 Tandem paired nicking promotes precise genome editing with scarce interference by p53	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 1195-1207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.12.064.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Onodera K, Shimojo D, Ishihara Y, Yano M, Miya F, Banno H, Kuzumaki N, Ito T, Okada R, Ohyama M, Yoshida M, Tsunoda T, Katsuno M, Doyu M, Sobue G, Okano H, Okada Y	4. 巻 13
2. 論文標題 Unveiling synapse pathology in spinal bulbar muscular atrophy by genome-wide transcriptome analysis of purified motor neurons derived from disease specific iPSCs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol. Brain	6. 最初と最後の頁 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-0561-1. doi: 10.1186/s13041-020-0561-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 岡田洋平	4. 巻 123
2. 論文標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経変性疾患の病態解析と新規治療法開発	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床雑誌内科	6. 最初と最後の頁 1315-1319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nao Yamaoka, Shimizu Kazunori, Yu Imaizumi, Takuji Ito, Yohei Okada, Hiroyuki Honda	4. 巻 in press
2. 論文標題 Open-Chamber Co-Culture Microdevices for Single-Cell Analysis of Skeletal Muscle Myotubes and Motor Neurons with Neuromuscular Junctions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BioChip Journal	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13206-018-3202-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 田中智史、今釜史郎、石黒直樹、岡田洋平	4. 巻 69
2. 論文標題 ゲノム編集を用いた神経変性疾患の病態解明と治療法開発	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 整形外科	6. 最初と最後の頁 922
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 新海宏明、丹羽智史、佐伯将臣、平田仁、岡田洋平	4. 巻 69
2. 論文標題 ES細胞由来運動神経細胞移植による末梢神経の運動機能再建	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 整形外科	6. 最初と最後の頁 1322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakatsuji Hideaki, Araki Amane, Hashizume Atsushi, Hijikata Yasuhiro, Yamada Shinichiro, Inagaki Tomonori, Suzuki Keisuke, Banno Haruhiko, Suga Noriaki, Okada Yohei, Ohyama Manabu, Nakagawa Tohru, Kishida Ken, Funahashi Tohru, Shimomura Iichiro, Okano Hideyuki, Katsuno Masahisa, Sobue Gen	4. 巻 264
2. 論文標題 Correlation of insulin resistance and motor function in spinal and bulbar muscular atrophy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Neurology	6. 最初と最後の頁 839 ~ 847
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00415-017-8405-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyawaki Shingo, Okada Yohei, Okano Hideyuki, Miura Kyoko	4. 巻 7
2. 論文標題 Teratoma Formation Assay for Assessing Pluripotency and Tumorigenicity of Pluripotent Stem Cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BIO-PROTOCOL	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.2518	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



1. 著者名 岡田洋平、祖父江元	4. 巻 32
2. 論文標題 難治性神経変性疾患における治療開発～患特異的iPS細胞を用いた神経疾患モデルの構築と治療薬の開発	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 トランスレーショナルリサーチを支援する遺伝子医学MOOK	6. 最初と最後の頁 110-116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡田洋平、祖父江元	4. 巻 36
2. 論文標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経変性疾患の病態解析・創薬研究	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 328-332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計58件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 15件)

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた運動ニューロン疾患の病態解明と治療開発
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 病態に基づいた神経疾患の再生戦略
3. 学会等名 浜松医科大学先端医学シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経・筋病態の解明
3. 学会等名 第60回日本臨床検査医学会東海・北陸支部総会、第344回日本臨床化学会東海・北陸支部例会 連合大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野寺一成, 下門大祐, de Ara?jo Herculano B, 石原康晴, 依田真由子, 太田明伸, 矢野真人, 宮冬樹, Rashid MI, 伊藤卓治, 岡田梨奈, 角田達彦, 細川好孝, 道勇学, 祖父江元, 勝野雅央, 岡野栄之, 岡田 洋平
2. 発表標題 Elucidating early pathophysiology of spinal-bulbar muscular atrophy using disease-specific iPSCs
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横井聡, 伊藤卓治, 佐橋健太郎, 中村亮一, 石垣診祐, 熱田直樹, 勝野雅央, 岡田 洋平, 祖父江元
2. 発表標題 SynGAP variant from ALS cohort causes spine abnormality by excessive recruitment of FUS and hnRNPk
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中島 康自, 小出 弘文, 林 未久, 伊藤 千弘, 湯淺 知子, 安本 明弘, 安藤 宏明, 田口 宗太郎, 藤掛 彰史, 福岡 敬晃, 徳井 啓介, 川頭 祐一, 岡田 洋平, 丹羽 淳一, 道勇学
2. 発表標題 脳卒中患者における自律神経機能と病状との関連
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 蛭雑智紀, 佐橋健太郎, 立川潔, Leu A, Nguyen M, Mukthavaram R, Karmali P, Chivukula P, 藤内玄規, 飯田円, 小野寺一成, 大山学, 岡田 洋平, 岡野栄之, 勝野雅央
2. 発表標題 Allele selective suppression of mutant polyQ protein by LNP-delivered siRNA targeting CAG expansions
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福井ナナミ、伊藤卓治、杉山香織、岡田梨奈、小野寺一成、Zohora Khatun、道勇学、岡田洋平
2. 発表標題 The effects of g-secretase inhibitor on differentiation of iPSC-derived neurons
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 CJK第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤卓治、ラシッド ムハンマド イルファヌール、田中智史、下門大祐、岡野栄之、道勇学、岡田洋平
2. 発表標題 Establishment of hiPSC-derived functional neuromuscular models for the analysis of neuromuscular diseases
3. 学会等名 ヒトiPS細胞由来運動ニューロンと骨格筋を用いた機能的神経筋共培養モデルの構築、第44回日本神経科学大会 CJK第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rashid MI, Ito T, Shimojo D, Khatun Z, Sakurai H, Shimizu K, Doyu M, Okada Y.
2. 発表標題 Efficient, reproducible, and functional differentiation of human induced pluripotent stem cells (iPSCs) into skeletal muscles for muscular disease modeling.
3. 学会等名 PACTALS 2021 NAGOYA (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Onodera K, Shimojo D, de Ara?jo Herculano B, Ishihara Y, Yoda M, Ota A, Rashid MI, Ito T, Okada R, Hosokawa Y, Doyu M, Sobue G, Katsuno M, Okano H, Okada Y
2. 発表標題 Elucidating early pathophysiology of Spinal-bulbar muscular atrophy using diseasespecific iPSCs.
3. 学会等名 ISSCR/JSRM 2021 Tokyo International Symposium, Tokyo (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ito T, Rashid MI, Tanaka S, Shimojo D, Okano H, Doyu M, Okada Y.
2. 発表標題 Establishment of iPSC-derived neuromuscular co-culture model for the analysis of non-cell autonomous neurodegeneration in motor neuron diseases
3. 学会等名 ISSCR/JSRM 2021 Tokyo International Symposium, Tokyo (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rashid MI, Ito T, Shimojo D, Khatun Z, Sakurai H, Shimizu K, Doyu M, Okada Y.
2. 発表標題 Efficient, reproducible and functional differentiation of human iPSCs into skeletal muscles for muscular disease modeling.
3. 学会等名 ISSCR/JSRM 2021 Tokyo International Symposium, Tokyo (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 疾患iPS細胞を用いた運動ニューロン疾患の病態解明と治療開発
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 末梢神経障害の機能再建におけるヒトiPS細胞の可能性と問題点
3. 学会等名 第31回日本末梢神経学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経・筋病態の解明
3. 学会等名 第6回日本筋学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 エルクラノ ブルーノ、小野寺一成、伊藤卓治、下門大祐、岡田梨奈、勝野雅央、道勇学、祖父江元、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 Drug screening for early pathology of SBMA using disease specific iPSCs and novel biomarkers
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤卓治、小野寺一成、下門大祐、田中智史、岡田梨奈、ラシッド ムハンマド イルファヌール、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 疾患iPS細胞による神経・筋共培養を活用した神経変性疾患の病態解析
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ラシッド ムハンマド イルファヌール、伊藤卓治、小野寺一成、道勇学、岡田洋平
2. 発表標題 Efficient and reproducible skeletal muscle differentiation from iPSCs for muscular diseases modeling
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Onodera K, Shimojo D, Yoda M, Ishihara Y, Ota A, Yano M, Miya F, Rashid MI, Ito T, Okada R, Tsunodna T, Hosokawa Y, Doyu M, Katsuno M, Okano H, Sobue G, Okada Y.
2. 発表標題 Elucidation of early pathophysiology of spinal-bulbar muscular atrophy using disease- specific iPSCs.
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Onodera K, Shimojo D, Yoda M, Ishihara Y, Ito T, Okada R, Doyu M, Katsuno M, Okano H, Sobue G, Okada Y
2. 発表標題 Pathophysiological analysis of spinal and bulbar muscular atrophy using disease-specific iPSCs.
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yokoi S, Ito T, Sahashi K, Ishigaki S, Katsuno M, Okada Y, Sobue G.
2. 発表標題 FUS depletion induces spine abnormality and SynGAP depletion in hiPSC-derived motor neuron.
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okada Y, Okada R, Li J, Onodera K, Ito T, Okano HJ, Doyu M
2. 発表標題 The effects of hypoxia on differentiation and maturation of human induced pluripotent stem cell-derived neural progenitors.
3. 学会等名 ISSCR 2019 Annual Meeting, LosAngeles (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Niwa S, Saeki M, Shinkai H, Kurimoto S, Hirata H, Doyu M, Okada Y
2. 発表標題 Reconstruction of motor function in peripheral nerves by transplanatation of human iPSC-derived motor neuron progenitors.
3. 学会等名 ISSCR 2019 Annual Meeting, LosAngeles (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ito T, Tanaka S, Shimojo D, Doyu M, Okano H, Okada Y
2. 発表標題 Elucidation of non-cell autonomous neurodegeneration in spinal and bulbar muscular atrophy using iPSC-derived neuromuscular models.
3. 学会等名 ISSCR 2019 Annual Meeting, LosAngeles (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 iPS細胞を用いた神経疾患研究
3. 学会等名 SBMAの会 第8回医療セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 iPS細胞を用いたNMJ形成
3. 学会等名 AMED再生医療実現拠点ネットワークプログラム「疾患特異的iPS細胞の利活用促進・難病研究加速プログラム」研究拠点I疾患別ミーティング（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 Controversy3 PDの病態はiPS細胞で再現できるか Yes -
3. 学会等名 第12回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 iPS細胞を用いた神経疾患研究
3. 学会等名 第66回 脳の医学生物学研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Onodera K, Ito T, Shimojo D, Ishihara Y, Doyu M, Katsuno M, Okano H, Sobue G, Okada Y.
2. 発表標題 Pathophysiological analysis of spinal and bulbar muscular atrophy using disease-specific iPSCs
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Okada Y, Onodera K, Ito T, Shimojo D, Okada R, Ishihara Y, Tanaka S, Katsuno M, Doyu M, Sobue G, Okano H.
2. 発表標題 Pathophysiological analysis of Spinal-bulbar muscular atrophy using disease specific iPSCs.
3. 学会等名 ISSCR 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ito T, Tanaka S, Shimojo D, Doyu M, Okano H, Okada Y.
2. 発表標題 Establishment of iPSC-derived neuromuscular models for the analysis of non-cell autonomous neurodegeneration in motor neuron diseases.
3. 学会等名 ISSCR 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡田洋平、小野寺一成、依田真由子、伊藤卓治、勝野雅央、道勇学、祖父江元、岡野栄之
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経変性疾患の早期病態の解明
3. 学会等名 新学術領域「脳たんぱく質老化と認知症制御」第8回班員会議・第4回リトリート
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤卓治、田中智史、下門大祐、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 iPS細胞を用いた神経筋接合部可視化システムおよび機能評価系の構築
3. 学会等名 新学術領域「脳たんぱく質老化と認知症制御」第8回班員会議・第4回リトリート
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡田洋平、小野寺一成、依田真由子、伊藤卓治、岡田梨奈、勝野雅央、道勇学、祖父江元、岡野栄之
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経変性疾患の早期病態の解明
3. 学会等名 新学術領域「脳たんぱく質老化と認知症制御」第9回班員会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた球脊髄性筋萎縮症の病態解明と新規治療標的の探索
3. 学会等名 2018年度6事業合同成果報告会「疾患克服への挑戦2018」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丹羽将史、佐伯将臣、新海宏明、栗本秀、平田仁、岡田洋平
2. 発表標題 末梢神経損傷におけるヒトiPS細胞由来運動神経前駆細胞を用いた運動機能再建
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤卓治、田中智史、下門大祐、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 疾患iPS細胞による神経・筋共培養を活用した新たな病態解析システムの構築
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山岡奈央、清水一憲、今泉裕、伊藤卓治、岡田洋平、本多裕之
2. 発表標題 マイクロデバイスを用いたヒトiPS由来運動神経細胞と骨格筋細胞の三次元共培養
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okada Y, Onodera K, Ito T, Shimojo D, Ishihara Y, Tanaka S, Katsuno M, Doyu M, Sobue G, Okano H
2. 発表標題 Pathophysiological analysis of spinal-bulbar muscular atrophy using disease specific iPSCs (シンポジウム)
3. 学会等名 Society for Neuroscience Annual Meeting, Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡田洋平
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた球脊髄性筋萎縮症の病態解析と新規治療法の開発研究 (招待講演)
3. 学会等名 愛知県特定疾患研究協議会、平成29年度難病教育講演会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡田洋平、小野寺一成、伊藤卓治、李家?、岡田梨奈、勝野雅央、道勇学、祖父江元、岡野栄之
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経変性疾患の早期病態の解明
3. 学会等名 新学術領域「脳たんぱく質老化と認知症制御」第6回班員会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤卓治、田中智史、下門大祐、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 iPS細胞を用いた神経筋接合部可視化システムの構築
3. 学会等名 新学術領域「脳たんぱく質老化と認知症制御」第6回班員会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小野寺一成、下門大祐、石原康晴、道勇学、勝野雅央、祖父江元、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた球脊髄性筋萎縮症（SBMA）の病態解析
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤卓治、田中智史、下門大祐、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 神経筋接合部のライブセルイメージング
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中智史、伊藤卓治、太田明伸、曾根岳史、下門大祐、今釜史郎、細川好孝、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 ゲノム編集を用いた骨格筋における球脊髄性筋萎縮症（SBMA）の病態解析
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 丹羽智史、新海宏明、小野寺一成、伊藤卓司、田中智史、李家?、栗本秀、中野智則、道勇学、平田仁、岡田洋平
2. 発表標題 ヒトiPS細胞由来運動神経細胞移植による末梢神経における運動機能の再建
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡田洋平、李家イ、岡田梨奈、小野寺一成、伊藤卓司、岡野ジェイムズ洋尚、勝野雅央、道勇学、岡野栄之、祖父江元
2. 発表標題 低酸素がヒトiPS細胞由来神経系前駆細胞の分化成熟に与える影響
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Okada Y, Ito T, Tanaka T, DShimojo D, Onodera K, Katsuno M, Okano H, Sobue G, Doyu D
2. 発表標題 The analysis of neuromuscular pathology of spinal-bulbar muscular atrophy using iPSC-derived disease model
3. 学会等名 第23回世界神経学会議・第58回日本神経学会学術大会（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Onodera K, Shimojo D, Ishihara Y, Doyu M, Okano H, Katsuno M, Sobue G, Okada Y
2. 発表標題 Pathophysiological analysis of spinal and bulbar muscular atrophy using disease-specific iPSCs.
3. 学会等名 第23回世界神経学会議・第58回日本神経学会学術大会（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Okada Y, Onodera K, Ito T, Shimojo D, Katsuno M, Doyu M, Sobue G, Okano H
2. 発表標題 Therapeutic approach for neurodegenerative diseases focusing on early pathogenesis and disease accelerating factors using disease specific iPSCs
3. 学会等名 新学術領域研究「脳タンパク質老化と認知症制御」第2回国際シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tanaka S, Ito T, Ota A, Sone T, Shimojo D, Imagama S, Hosokawa Y, Doyu M, Okano H, Okada Y
2. 発表標題 Pathophysiological analysis of skeletal muscles in spinal bulbar muscular atrophy by genome editing of CAG repeats
3. 学会等名 Society for Neuroscience Annual Meeting, Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ito T, Tanaka S, Shimojo D, Doyu M, Okano H, Okada Y
2. 発表標題 Establishment of iPSC-derived neuromuscular models for pathological analysis and drug screening
3. 学会等名 Society for Neuroscience Annual Meeting, Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤卓治、田中智史、下門大祐、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 iPS細胞由来神経筋共培養モデルを用いた神経筋疾患の病態解析
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会・生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中智史、伊藤卓治、太田明伸、曾根岳史、今釜史郎、細川好孝、岡野栄之、道勇学、岡田洋平
2. 発表標題 ゲノム編集を用いた球脊髄性筋萎縮症（SBMA）における骨格筋病態の解析
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会・生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡田梨奈、李家イ、小野寺一成、伊藤卓治、勝野雅央、祖父江元、岡野栄之、道勇学、岡野ジェイムズ洋尚、岡田洋平
2. 発表標題 低酸素がヒトiPS細胞由来神経系前駆細胞の分化成熟に与える影響
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会・生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小野寺一成、下門大祐、伊藤卓治、石原康晴、勝野雅央、道勇学、祖父江元、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた球脊髄性筋萎縮症（SBMA）の病態解析
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会・生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡田洋平、小野寺一成、伊藤卓治、岡田梨奈、勝野雅央、道勇学、祖父江元、岡野栄之
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経変性疾患の早期病態の解析
3. 学会等名 新学術領域「脳たんぱく質老化と認知症制御」第7回班員会議
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 祖父江元、伊藤卓治、岡田洋平、他	4. 発行年 2017年
2. 出版社 中山書店	5. 総ページ数 451
3. 書名 神経疾患治療ストラテジー	

〔産業財産権〕

〔その他〕

愛知医科大学 加齢医科学研究所 神経iPA細胞研究部門 <a href="https://okadalab-hp.com/">https://okadalab-hp.com/</a> 愛知医科大学医学部内科学講座（神経内科） <a href="https://www.aichi-med-u.ac.jp/su06/su0607/su060703/02.html">https://www.aichi-med-u.ac.jp/su06/su0607/su060703/02.html</a>
---

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------