

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07367

研究課題名(和文) ALS/FTLDおよびタウオパチーに共通する病態基盤の解明

研究課題名(英文) Common pathogenesis in a wide-range of FTLD spectrum including ALS/FTLD and tauopathies

研究代表者

石垣 診祐 (Ishigaki, Shinsuke)

名古屋大学・医学系研究科・特任准教授

研究者番号：40378170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：FUS/SFPQ機能異常が病態を反映する疾患スペクトラムを明らかにする目的で、非神経疾患剖検脳、ALS/FTLD、進行性核上性麻痺(PSP)、アルツハイマー病や大脳皮質基底核変性症(CBD)、Pick病などの剖検脳におけるFUS・SFPQの微小局在の変化について、疾患横断的に比較検討を行い、FUSとSFPQの結合性の変化はALS/FTLD-FUS、ALS/FTLD-TDP、PSP、CBDで対照群と比較して有意に低下していた。この結果から、FUS・SFPQの神経細胞核内における微小局在は広義のFTLD疾患スペクトラムにおいて障害されていることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

FUS・SFPQの神経細胞核内における微小局在は広義のFTLD疾患スペクトラムにおいて障害されていることが明らかになったことから、これまでスペクトラムを形成するものの病態機序が不明であったALS、FTLD、PSP、CBDといった疾患に共通のメカニズムが存在していることが示唆され、こうした知見をもとに疾患修飾薬の開発を進めることを可能にした。

研究成果の概要(英文)：Immunofluorescent imaging showed impaired intranuclear colocalization of FUS and SFPQ in neurons of ALS/FTLD-FUS, ALS/FTLD-TDP, PSP, and CBD patients, but not in AD and PiD patients. Immunoprecipitation analyses of FUS and SFPQ revealed reduced interactions between the two proteins in ALS/FTLD-TDP and PSP patients, but not in those with AD. Furthermore, the mRNA ratio of 4R/3R-tau was elevated in patients with ALS/FTLD-TDP and PSP, but was largely unaffected in patients with AD. Lastly, considerable variation was observed in the expression of FUS and SFPQ within the neuronal nuclei of patients with ALS/FTLD-FUS, ALS/FTLD-TDP, PSP, and CBD, but was absent in those with AD or PiD.

研究分野：神経内科、病態神経科学

キーワード：前頭側頭葉変性症 筋萎縮性側索硬化症 FUS SFPQ タウ タウオパチー 進行性核上性麻痺 大脳皮質基底核変性症

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

FUSの発現抑制ニューロンの網羅的発現解析より、FUSが3 repeat-tau (3R-tau), 4 repeat-tau (4R-tau)の発現比率を、選択的スプライシングを通じて制御していること、FUS抑制マウスがFTLD様の行動異常を示すこと、この機序としてFUSとSFPQとの核内複合体形成が機能不全を起こすと4R-tauの増加を介して成体神経新生など神経機能異常や神経脱落を生じさせること、ポストシナプスの異常が関与することなどを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

FUSとSFPQの核内での結合変化について、疾患横断的に検討を行うことでFUS/SFPQ機能異常が病態を反映する疾患スペクトラムを明らかにし、制御機構を明らかにする。

3. 研究の方法

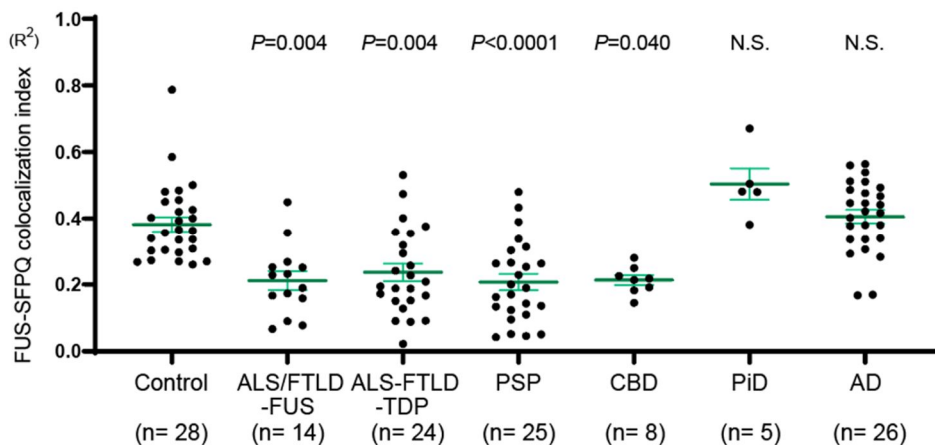
多数症例の剖検脳解析を通じて、アルツハイマー病や大脳皮質基底核変性症(CBD)、Pick病などの剖検脳におけるFUS・SFPQの微小局在の変化を、前頭葉など海馬歯状回とそれ以外の部位において比較検討を行う。剖検脳凍結組織を用いた検討についても同様に疾患横断的に多数症例で、FUSとSFPQの結合性の変化が生じている疾患スペクトラムを明らかにする。FUSおよびSFPQがMAPTの選択的スプライシングを制御するメカニズムの詳細を明らかにするために、MAPT pro mRNAに結合するタンパク質のprofileを作成し、剖検脳におけるFUSとの結合性などから病的意義を持つ分子群を同定する。

4. 研究成果

(1) FUSとSFPQの結合変化についての疾患横断的検討：FUSとSFPQの核内での結合変化について、FUS/SFPQ機能異常が病態を反映する疾患スペクトラムを明らかに目的で、非神経疾患剖検脳、ALS/FTLD、進行性核上性麻痺(PSP)、アルツハイマー病や大脳皮質基底核変性症(CBD)、Pick病などの剖検脳におけるFUS・SFPQの微小局在の変化について、海馬歯状回切片を用いて疾患横断的に比較検討を行い、FUSとSFPQの結合性の変化はALS/FTLD-FUS、

ALS/FTLD-TDP、PSP、CBD で対照群と比較して有意に低下していたが、アルツハイマー病と Pick 病では変化を認めなかった。この結果から、FUS・SFPQ の神経細胞核内における微小局在は広義の FTLD 疾患スペクトラムにおいて障害されていることが明らかになった。また神経病理学的な解析より封入体の存在と FUS/SFPQ の会合障害には関連性が無いことを明らかにした。これらについて論文を完了した (Ishigaki et al., Brain 2020)。

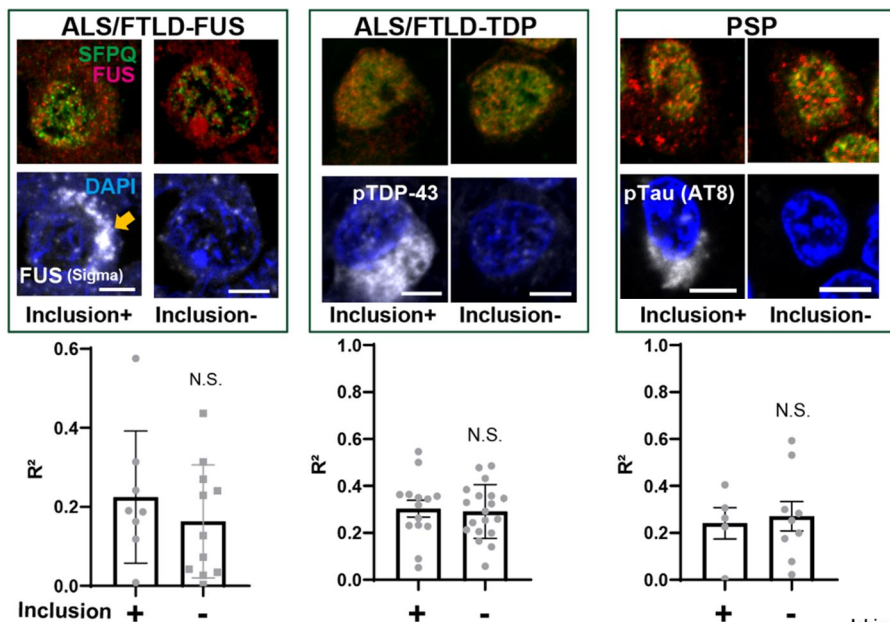
Quantification of intranuclear FUS and SFPQ colocalization across the disease groups



Intranuclear colocalization of FUS and SFPQ was impaired in ALS/FTLD-FUS, ALS/FTLD-TDP, PSP, and CBD when compared to AD or PiD patients, or controls.

Ishigaki et al., Brain 2020

The level of FUS/SFPQ interaction is NOT correlated with the existence of inclusions

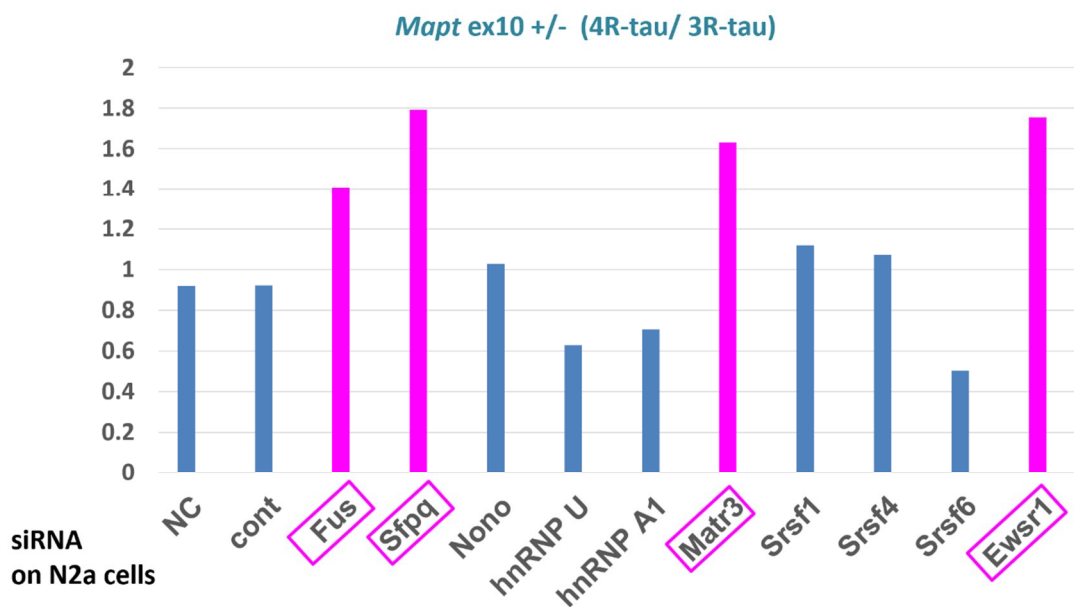


Ishigaki et al., Brain 2020

(2) FUS と SFPQ の *MAPT* の選択的スプライシングを制御するメカニズムの解明: FUS および SFPQ が *MAPT* の選択的スプライシングを制御するメカニズムの詳細を明らかにするために、*MAPT* ex10 の前後の exon および隣接 intron を含む mini-gene に結合するタンパク質 profile を作成し、*MAPT* ex10 の選択的スプライシングに影響を与える分子群を同定した。これらの多くは RNA 結合タンパク質であり、FUS と SFPQ との結合するものが半分以上を占

め、かつ家族性 ALS/FTLD の原因分子が 5 個以上含まれることが明らかになった。

Impacts of RBPs on *Mapt* ex10 skipping



FUS, SFPQ, MATR3, and EWSR exhibit great impacts on alternative splicing of *MAPT*.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ikenaka Kensuke, Ishigaki Shinsuke, Iguchi Yohei, Kawai Kaori, Fujioka Yusuke, Yokoi Satoshi, Abdelhamid Rehab F, Nagano Seiichi, Mochizuki Hideki, Katsuno Masahisa, Sobue Gen	4. 巻 79
2. 論文標題 Characteristic Features of FUS Inclusions in Spinal Motor Neurons of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuropathology & Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 370 ~ 377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nlaa003	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 Ishigaki Shinsuke, Riku Yuichi, Fujioka Yusuke, Endo Kuniyuki, Iwade Nobuyuki, Kawai Kaori, Ishibashi Minaka, Yokoi Satoshi, Katsuno Masahisa, Watanabe Hirohisa, Mori Keiko, Akagi Akio, Yokota Osamu, Terada Seishi, Kawakami Ito, Suzuki Naoki, Warita Hitoshi, Aoki Masashi, Yoshida Mari, Sobue Gen	4. 巻 143
2. 論文標題 Aberrant interaction between FUS and SFPQ in neurons in a wide range of FTLDSpectrum diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain	6. 最初と最後の頁 2398 ~ 2405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/brain/awaa196	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 Araki Kunihiro, (他10名), Ishigaki Shinsuke, Nakamichi Yoko, Tsunekawa Shin, Seino Yusuke, Yamamoto Akiko, Takayama Yasunori, Hidaka Shihomi, Tominaga Makoto, Ohara-Imaizumi Mica, Suzuki Atsushi, Ishiguro Hiroshi, Enomoto Atsushi, Yoshida Mari, Arima Hiroshi, Muramatsu Shin-ichi, Sobue Gen, Katsuno Masahisa	4. 巻 129
2. 論文標題 TDP-43 regulates early-phase insulin secretion via CaV1.2-mediated exocytosis in islets	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 3578 ~ 3593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI124481	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 Sharma Govinda, Huo Anni, Kimura Taeko, Shiozawa Seiji, Kobayashi Reona, Sahara Naruhiko, Ishibashi Minaka, Ishigaki Shinsuke, Saito Taro, Ando Kanae, Murayama Shigeo, Hasegawa Masato, Sobue Gen, Okano Hideyuki, Hisanaga Shin-ichi	4. 巻 294
2. 論文標題 Tau isoform expression and phosphorylation in marmoset brains	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 11433 ~ 11444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008415	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 Watanabe Hirohisa, Bagarinao Epifanio, Yokoi Takamasa, Yamaguchi Hiroshi, Ishigaki Shinsuke, Mausuda Michihito, Katsuno Masahisa, Sobue Gen	4. 巻 1184
2. 論文標題 Tau Accumulation and Network Breakdown in Alzheimer ' s Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Adv Exp Med Biol	6. 最初と最後の頁 231 ~ 240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-32-9358-8_19	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 Ikenaka Kensuke, Ishigaki Shinsuke, Iguchi Yohei, Kawai Kaori, Fujioka Yusuke, Yokoi Satoshi, Abdelhamid Rehab F, Nagano Seiichi, Mochizuki Hideki, Katsuno Masahisa, Sobue Gen	4. 巻 79
2. 論文標題 Characteristic Features of FUS Inclusions in Spinal Motor Neurons of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuropathology & Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 370 ~ 377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nlaa003	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 Ishigaki Shinsuke, Sobue Gen	4. 巻 5
2. 論文標題 Importance of Functional Loss of FUS in FTLD/ALS	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	6. 最初と最後の頁 44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2018.00044	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 Sobue Gen, Ishigaki Shinsuke, Watanabe Hirohisa	4. 巻 12
2. 論文標題 Pathogenesis of Frontotemporal Lobar Degeneration: Insights From Loss of Function Theory and Early Involvement of the Caudate Nucleus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 473
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2018.00473	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 Yokoi Takamasa, Watanabe Hirohisa, Ishigaki Shinsuke, Katsuno Masahisa, Miyao Shinichi, Kato Katsuhiko, Naganawa Shinji, Harada Ryuichi, Okamura Nobuyuki, Yanai Kazuhiko, Yoshida Mari, Sobue Gen (ほか9名)	4. 巻 10
2. 論文標題 Involvement of the Precuneus/Posterior Cingulate Cortex Is Significant for the Development of Alzheimer's Disease: A PET (THK5351, PiB) and Resting fMRI Study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Aging Neuroscience	6. 最初と最後の頁 304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnagi.2018.00304	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 Endo Kuniyuki, Ishigaki Shinsuke, Masamizu Yoshito, Fujioka Yusuke, Watakabe Akiya, Yamamori Tetsuo, Hatanaka Nobuhiko, Nambu Atsushi, Okado Haruo, Katsuno Masahisa, Watanabe Hirohisa, Matsuzaki Masanori, Sobue Gen	4. 巻 130
2. 論文標題 Silencing of FUS in the common marmoset (Callithrix jacchus) brain via stereotaxic injection of an adeno-associated virus encoding shRNA	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 56 ~ 64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2017.08.006	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 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 石垣診祐
2. 発表標題 Functional loss of RNA binding proteins in tauopathies
3. 学会等名 第61回神経学会学術大会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fujioka Y, Kawai K, Endo K, Ishibashi M, Yokoi S, Iwade N, Katsuno M, Watanabe H, Ishigaki S, Sobue G.
2. 発表標題 Impaired dopamine release response in the NAcc is in the center of "binge-like eating" mechanism. -Attempt to detect "Binge like eating" as the early sign of neurodegenerative disease -
3. 学会等名 第61回神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Iwade N, Ishigaki S, Fujioka Y, Endo K, Kawai K, Miyasaka T, Katsuno M, Watanabe H, Sobue G.
2. 発表標題 Tau plays a key role in adult hippocampal neurogenesis alteration caused by environmental changes
3. 学会等名 第61回神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ishigaki S, Riku Y, Yoshida M, Sobue G.
2. 発表標題 Aberrant FUS-SFPQ interaction in a wide-range of FTLD spectrum diseases
3. 学会等名 第39回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ishigaki S, Uno H, Wang Z-H, Ukita Y, Bhardwaj R, Tue PT, Iwabuchi S, Hashimoto S, Oka T, Kawahara K, Takamura Y, Urisu T, Sobue G.
2. 発表標題 A novel State-of-the-art System for the single cell transcriptome analysis based on planar patch clamp.
3. 学会等名 The 49th Society for Neuroscience annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fujioka Y, Kawai K, Endo K, Ishibashi M, Yokoi S, Iwade N, Katsuno M, Watanabe H, Ishigaki S, Sobue G.
2. 発表標題 Real-time monitoring and quantification of binge-like eating behaviors in animal models.
3. 学会等名 The 49th Society for Neuroscience annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名	Shinsuke Ishigaki, Yuichi Riku, Yusuke Fujioka, Satoshi Yokoi, Kuniyuki Endo, Nobuyuki Iwade, Kaori Kawai, Minaka Ishibashi, Masahisa Katsuno, Hirohisa Watanabe, Keiko Mori, Mari Yoshida, Gen Sobue
2. 発表標題	Aberrant interaction between FUS and SFPQ in a wide-ranged FTL spectrum including ALS and PSP
3. 学会等名	第60回神経学会学術大会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Nobuyuki Iwade, Shinsuke Ishigaki, Yusuke Fujioka, Kaori Kawai, Tomohiro Miyasaka, Hirohisa Watanabe, Masahisa Katsuno, Gen Sobue
2. 発表標題	The roles of tau isoforms in adult hippocampal neurogenesis
3. 学会等名	第60回神経学会学術大会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Shinsuke Ishigaki, Yuichi Riku, Mari Yoshida, Gen Sobue
2. 発表標題	Aberrant interaction between FUS and SFPQ in the brain of a wide-ranged FTL spectrum including amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and progressive supranuclear palsy (PSP)
3. 学会等名	第60回神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Shinsuke Ishigaki, Yuichi Riku, Yusuke Fujioka, Minaka Ishibashi, Satoshi Yokoi, Kuniyuki Endo, Nobuyuki Iwade, Kaori Kawai, Hirohisa Watanabe, Masahisa Katsuno, Mari Yoshida, Gen Sobue
2. 発表標題	Involvement of SFPQ in the pathogenesis of a wide-ranged FTL spectrum
3. 学会等名	The 42nd annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年	2019年

1. 発表者名 Dilina Tuerde, Kotaro Furusawa, Toshiyuki Takasugi, Taeko Kimura, Shinsuke Ishigaki, Kanae Ando, Shin-ichi Hisanaga, Gen Sobue
2. 発表標題 Tau Phosphorylation at AT8 Pathological Site during Brain Development
3. 学会等名 The 42nd annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ishigaki S, Sobue G
2. 発表標題 RNA結合タンパク質FUSの機能と神経変性疾患への関わり
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 ワークショップ
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石垣診祐
2. 発表標題 FUS/TLSに関連するALS/FTLDの分子病態
3. 学会等名 第59神経学会学術大会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ishigaki, S, Sobue, G
2. 発表標題 Functional Loss of FUS in neurodegenerative diseases
3. 学会等名 The 41st annual Meeting of the Japan Neuroscience Society Symposium (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ishigaki S, Uno H, Wang Z-H, Ukita Y, Bhardwaj R, Tue PT, Hashimoto S, Oka T, Kawahara K, Takamura Y, Urisu T, Sobue G.
2. 発表標題 Development of a single cell analysis tool for neurological disorders on 2D planar-patch-clamp plate with positional information
3. 学会等名 The 48th Society for Neuroscience annual meeting, Nano symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 タウのサプライシングを制御するアンチセンスオリゴヌクレオチド及びその用途	発明者 石垣診祐、祖父江元、佐橋健太郎、遠藤邦幸、他3名	権利者 国立大学法人名古屋大学、神戸天然物化学株式
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/26470	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 タウのサプライシングを制御するアンチセンスオリゴヌクレオチド及びその用途	発明者 祖父江元、石垣診祐、他5名	権利者 名古屋大学
産業財産権の種類、番号 特許、C20170255JP#P01	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 TDP-43の発現量を調節するアンチセンスオリゴヌクレオチド及びその用途	発明者 祖父江元、石垣診祐、他7名	権利者 名古屋大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/025792	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

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
研究協力者	吉田 真理 (Yoshida Mari) (60288545)		
研究協力者	陸 雄一 (Riku Yuichi) (50748382)		

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
---------	---------