

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03551

研究課題名(和文) ALS2分子ネットワーク異常に着眼した上位運動ニューロン変性メカニズムの解明

研究課題名(英文) An ALS2-linked functional cellular network-based study on molecular mechanisms of selective upper motor neuron degeneration in ALS

研究代表者

秦野 伸二 (Hadano, Shinji)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：60281375

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、上位運動ニューロン優位に変性する家族性2型筋萎縮性側索硬化症に注目し、その原因遺伝子産物であるALS2の分子構造と機能およびALS2分子ネットワーク異常を中軸にした細胞機能解析を行うことにより、ALS患者における上位運動ニューロン変性メカニズムの解明を目的とした。研究の結果、ALS2と新規ALS2結合タンパク質Rab17の結合を介した新たなオルガネラネットワークの存在を明らかにするとともに、神経特異的なALS2高次複合体の存在を発見した。また、ALS2機能的複合体形成に必須なALS2天然変性領域を同定し、その天然変性領域がALS2細胞内動態に必須な調節領域であることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ALSは、上位運動ニューロンと下位運動ニューロンの両者がともに侵される疾患であるにもかかわらず、これまでの疾患発症メカニズムに関する研究は、ほとんど例外なく脊髄の下位運動ニューロンを対象としていた。ALSの治療法や治療薬を開発するためには、発症メカニズムを正確に理解することが前提条件であり、よって下位運動ニューロンのみならず上位運動ニューロンの変性メカニズムを解明することは極めて重要である。本研究により、ALS2の分子機能の一端が明らかにされたことは、これまでほとんど研究の進んでいない上位運動ニューロン変性メカニズムの解明にとって重要な一歩である。

研究成果の概要(英文)：ALS is a fatal neurodegenerative disorder characterized by a selective loss of motor neurons. The aim of this study was to delineate molecular function of ALS2, a causative gene product of upper motor neuron-dominated motor neuron diseases, thereby clarifying molecular mechanism for upper motor neuron dysfunction and death. We conducted four sets of studies; 1) differentiation methods for upper motor neurons from patient-derived iPSCs, 2) organelle transport in the axon, 3) the structure-function relationship for the ALS2 complex, and 4) the intracellular ALS2 molecular network and their physiological functions. We demonstrated that 1) ALS2 plays a role in the regulation of Rab17-associated endosomal trafficking, 2) the intrinsically disordered region of ALS2 is implicated not only in the regulation of intracellular localization but also in the self-oligomerization of ALS2, and 3) the high-molecular weight ALS2 complex represents a unique form of ALS2-homophilic oligomers in the CNS.

研究分野：分子病態神経科学

キーワード：筋萎縮性側索硬化症 運動ニューロン ALS2 細胞内オルガネラ動態 iPSC細胞 マイクロ流体デバイス

1. 研究開始当初の背景

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis; ALS) は、上位および下位運動ニューロンの選択的変性・脱落を特徴とする進行性の神経変性疾患であり、発症後 3~5 年で死に至る極めて重篤な疾患である。疾患の名前にある「筋萎縮」については「下位運動ニューロン」の変性・脱落が主な原因であるのに対し、「側索硬化」については「上位運動ニューロン」の傷害に起因する病理的特徴である。ALS は、このように上位運動ニューロンと下位運動ニューロンの両者がともに侵される疾患である。しかし、それにもかかわらず、これまでの疾患発症メカニズムに関する研究は、ほとんど例外なく脊髄の下位運動ニューロンを対象としている。ALS の治療法や治療薬を開発するためには、発症メカニズムを正確に理解することが前提条件であり、よって、下位運動ニューロンのみならず上位運動ニューロンの変性メカニズムを解明することは喫緊の研究課題であると言える。これまで我々は、上位運動ニューロン優位に変性する家族性 2 型 ALS に注目し、その原因遺伝子である *ALS2* を同定するとともに[引用文献]、原因遺伝子産物である *ALS2* タンパク質 (以下 *ALS2* と略) を介した細胞内分子ネットワーク機能を解析し、*ALS2* がオートファジーを含めた細胞内タンパク質恒常性維持調節機能を有することを明らかにしてきた [引用文献]。

2. 研究の目的

本研究では、これまでの研究成果を進展させ、*ALS2* の分子構造と機能、および *ALS2* 分子ネットワーク異常を中軸にした細胞機能解析を行うことにより、ALS 患者における上位運動ニューロン変性分子メカニズムの解明に挑むものである。

3. 研究の方法

(1) ヒト iPS 細胞の上位運動ニューロンへの分化誘導と長期培養法の確立

これまでに我々が確立した手法[引用文献]を用いて、健常者および *ALS2* 患者、ならびに *FUS* 変異を有する ALS 患者の iPS 細胞から上位および下位運動ニューロン様神経細胞へ分化誘導した。上位運動ニューロン様神経細胞については、これまでの手法を改良することにより、より分化・成熟度の高い大脳皮質運動ニューロンへの分化方法の開発を目指した。

(2) マイクロ流体デバイスを用いたオルガネラ動態の時間空間的解析

iPS 細胞由来運動ニューロンに適したデバイス改良と画像解析方法を開発する予備実験として、変異 *SOD1* 発現 ALS マウスモデルの大脳皮質初代培養神経細胞軸索におけるオルガネラの詳細な時間空間的 (spatiotemporal) 動態異常について、マイクロ流体デバイスを用いて解析した。具体的には、“酸性小胞” および “ミトコンドリア” の軸索内移送に注目し、細胞死や細胞恒常性の破綻の基盤となる細胞内機能障害を解析した。

(3) *ALS2* 分子複合体構造と細胞内での *ALS2* 活性化の分子メカニズム解析

未だ解決されていないヒト上位運動ニューロン変性分子メカニズムを解明するため、*ALS2* 分子ネットワークに焦点を当てて研究を遂行した。具体的には、*ALS2* のリン酸化を含めた翻訳後修飾と *ALS2* 活性化の関連を生化学的、細胞生物学的、計算機学的手法を用いて解析し、さらに *ALS2* 複合体構造ならびに細胞内局在制御機構の解明を目指した。

(4) *ALS2* 結合分子群によるオルガネラ動態制御メカニズムの解析

ALS2 は、細胞内の様々なコンパートメントでの特定因子との結合を介して、種々の細胞内オルガネラ機能の調節に関わっている。本研究項目では、これまでに明らかにされている *Rab5* を介するオートファジー・エンドリソソーム系調節に加え、*Rab17*、*Rab30*、および *NEK1* 等の *ALS2* 結合因子に注目し、*ALS2* と細胞内オルガネラネットワークとの関連について分子レベルで解析した。

4. 研究成果

(1) ヒト iPS 細胞の上位運動ニューロンへの分化誘導と長期培養法の確立

これまで作製してきた大脳皮質興奮性ニューロンよりさらに大脳皮質錐体細胞の性質に近い細胞へ分化誘導するために必要な候補因子を同定した[未発表]。

(2) マイクロ流体デバイスを用いたオルガネラ動態の時間空間的解析

マイクロ流体デバイスを用いて、変異型 *SOD1* 遺伝子を発現する ALS マウスモデルの脳組織から分離・調製した大脳皮質初代培養神経細胞を培養し、その軸索内の酸性小胞 (オートファゴソ

ームおよび後期エンドソーム)とミトコンドリアの時間空間的動態のハイスループット解析を行った。その結果、野生型に比べて変異 SOD1 発現している神経細胞においては、軸索内での酸性エンドソーム輸送が活性化していることが判明した。一方、ミトコンドリア輸送についてはむしろ抑制されていることが明らかとなった。従って、ALS 患者の神経細胞において種々のオルガネラの軸索輸送が異常を来し、その結果神経細胞の恒常性維持機構が破綻し、そのことが神経変性の要因の一つであることが示唆された。

これらの結果に基づいて、次にヒト iPS 細胞から分化誘導した上位ならびに下位運動ニューロンにおける軸索表現型の解析を行った。その結果、上記で使用したマウス神経細胞に比べてヒト iPS 細胞から分化誘導した運動ニューロンはその細胞サイズが小さく、マウス神経細胞に最適化したマイクロデバイスでは、細胞がマイクロ流路を通過するため、極性を分けた解析が出来ないことが判明した。そこで、ヒト iPS 細胞由来の運動ニューロンの種々の表現型の解析に最適化したマイクロ流体デバイスの設計ならびに最適化を新たに行った。その結果、ヒト iPS 細胞由来の運動ニューロンの解析に最適化した新規マイクロ流体デバイスによるハイスループット軸索オルガネラ移送計測系の開発に成功した[未発表]。

(3) ALS2 分子複合体構造と細胞内での ALS2 活性化の分子メカニズム解析

ALS2 は、1657 アミノ酸残基からなるタンパク質である。ALS2 は、その C 末端側に存在する MORN モチーフ/VPS9 ドメイン領域を介して低分子量 G タンパク質 Rab5 を活性化し、細胞内でのマクロピノソーム、エンドソームおよびオートファゴソームの膜小胞動態を調節する作用を有する[引用文献]。そして、それらの作用により、細胞内での膜小胞移送系やタンパク質分解系機能の調節を担っている。一方、ALS2 自体の細胞内局在は、細胞外からの成長因子等による刺激により活性化する Rac1 の作用により、細胞質基質から膜ラッフルおよびエンドソームへと局在を変化させ、エンドソーム上で Rab5 を活性化する[引用文献]。また、ALS2 の N 末端側領域には ブレードプロペラ構造を有する RCC1 様ドメイン(RLD)が存在し、その領域が ALS2 の細胞内動態を調節している。しかし、この N 末端領域の一部の領域はブレード構造には含まれず、その構造および機能は明らかにされていない。そこで、本研究ではまず計算機を用いたタンパク質構造解析を行った。その結果、その領域は天然変性領域 (IDR) であることが判明した。次に、この IDR が ALS2 の局在および立体構造に及ぼす影響を解析した。その結果、IDR を欠損した ALS2 (IDR) は、プロペラ構造を有する RLD コア領域を有しているにも関わらず細胞内での膜局在能が喪失していた。その一方で、ALS2 (IDR) は、液-液相分離 (LLPS) に関連している SQSTM1/p62-body と共存することが判明した。さらに、ALS2 の高次構造をゲル濾過クロマトグラフィーにより解析したところ、IDR は正常な四量体ではなく異常な高分子複合体を形成していることが判明し、凝集性が高まっていると推定された。以上の結果から、ALS2 の N 末端に存在する IDR は ALS2 細胞内動態に必須の領域であり、その欠損により ALS2 はむしろ LLPS にトラップされる可能性が示唆された。

これまでに我々は、数々の ALS2 変異体の高次構造を解析し、ALS2 の疾患原因変異によって、四量体の構造がより高次化もしくは、二量体化、単量体化することを報告している[引用文献]。そこで、次にイタリア・トリノ大学グループと共同して AlphaFoldDB を用いた ALS2 の立体構造を予測するとともに、その構造を基盤にミスセンス変異を持つ ALS2 疾患変異体 (ALS2_R1611W) の立体構造を予測した。その結果、ALS2_R1611W は、自己多量体化する際に必要な ALS の立体構造が乱れ、特 C 末端領域の VPS9 と N 末端 RLD の自己結合能が高まっていると予測された。実際に、ゲルろ過クロマトグラフィーによって ALS2_R1611W の高次構造を解析した結果、ALS2_R1611W は野生型と比較して正常な四量体としての存在割合が少なく、より高次化しているか、あるいは二量体化および単量体化しており、そのために Rab5 に対する GEF 活性が著しく低下していると示唆された。次に、ALS2_R1611W の高次構造の正常化を目的として、ALS2_R1611W に結合し、その立体構造を回復させる化合物を *in silico* スクリーニングした。その結果、ビタミン K の誘導体である MK4 が候補として同定された。そこで、細胞に ALS2_R1611W を発現させ、MK4 を添加した後にゲルろ過クロマトグラフィーによって高次構造を解析した。その結果、MK4 の添加によって、ALS2_R1611W の四量体の存在量が増加したことから、MK4 は細胞内において ALS2_R1611W 変異体の構造の正常化 (四量体形成) を補助することが示唆された。

さらに、生体における ALS2 複合体の機能についての解析を深めるために、末梢組織と中枢神経系における ALS2 の高次構造を比較した。その結果、正常な脳組織において ALS2 は、四量体に加え、さらなる高次化した構造体を形成することが新たに判明した。また、この高次構造は、神経系譜由来の培養細胞においてもその存在が認められた。よって、神経組織においては、末梢組織に存在する ALS2 複合体とは異なる神経特異的 ALS2 複合体が存在することが明らかとなった。

(4) ALS2 結合分子群によるオルガネラ動態制御メカニズムの解析

ALS2 と Rab17 の機能的関連を明らかにするために、ALS2 の Rab17 に対する触媒活性の測定や、

ALS2 の機能喪失モデル細胞における Rab17 の細胞内動態について解析した。まず、ALS2 の Rab17 に対する触媒活性を測定した結果、ALS2 は不活性化型 Rab17 に結合するにもかかわらず、触媒活性を示さなかった。次に、HeLa 細胞内において、ALS2 と Rab17 を発現させ、両者の細胞内局在を解析した結果、Rab17 は ALS2 と共に、初期エンドソームマーカー EEA1 の局在する成熟した初期エンドソームに局在していた。また、ALS2 をノックダウンし、細胞内の Rab17 の局在を観察した結果、Rab17 は、EEA1 を持たない未成熟肥大化エンドソームに局在することが判明した。また、同条件下で ALS2 を発現させることによって、Rab17 の EEA1 陽性エンドソームへの局在が回復することが明らかとなった。よって、ALS2 は、Rab5 に加え、Rab17 の細胞内局在やその機能を調節する機能を持つことが示された。Rab17 は、細胞内において初期エンドソームとリサイクリングエンドソームの両者に局在することが報告されている。現在、それら膜輸送経路で Rab17 の担う機能は明らかにされていないが、ALS2 の機能喪失は、Rab17 が担う膜輸送経路の異常を誘起すると示唆される。

(5) 今後の展望

ヒト iPS 細胞の上位運動ニューロンへの分化誘導と長期培養法については、上位運動ニューロン様神経細胞の長期培養を安定的に可能にする条件をさらに再現性の高い条件設定を目指し、改良を加える計画である。また、マイクロ流体デバイスを用いたオルガネラ動態の時間空間的解析に関しては、新たに開発したマイクロ流体デバイスを用いて、ヒト iPS 細胞由来の上位ならびに下位運動ニューロンにおける軸索伸長能、軸索内酸性小胞およびミトコンドリア等のオルガネラ移送の定量的解析を行い、疾患特異的異常表現型を同定する計画である。

本研究での *in silico* のスクリーニングにより同定された MK4 は、ビタミン K の誘導体であり、骨粗鬆症の改善薬として、また止血剤として汎用されている。MK4 によって、ALS2_R1611W 変異体の立体構造の改善と GEF 活性の回復がなされれば、それは、ALS2_R1611W を有する患者に対する治療薬となると期待される。同時に、本研究の結果から、AlphaFoldDB を用いた立体構造予測を基盤としたテラーメイド創薬の足掛かりが示された。今後、ALS2 のみならず、ミスセンス変異がタンパク質の立体構造や機能に与える影響を解析することを目的とした研究に応用可能である。また、本研究により明らかにされた中枢神経系特異的な ALS2 複合体については、今後 CryoEM などを用いてその高次構造解析を進めると共に、中枢神経系における ALS2 の機能を明らかにしたい。

さらに、未だ未解決であるヒト上位運動ニューロン変性分子メカニズムを解明するため、ALS2 の分子構造と活性との関連を解析するとともに、これまでに明らかにされている Rab5 および Rab17 を介するオートファジー・エンドリソソーム系、およびリサイクリング系調節に加え、Rab30、NEK1、および C21orf2 等の ALS2 結合因子に注目し、ALS2 とミトコンドリア、ゴルジ体、一次繊毛、中心体との関連について分子レベルでの解明を目指す。ALS2 の担う細胞内膜輸送経路の全容が明らかにされることによって、これまでは想定していなかった ALS2 の細胞内機能が明らかにされると期待される。また、それは 2 型 ALS 発症の新規メカニズムの解明のみならず、ALS に共通した上位運動ニューロンの変性メカニズム解明へと繋がるものと考えられる。

< 引用文献 >

- Hadano S, et al. (2001) A gene encoding a putative GTPase regulator is mutated in familial amyotrophic lateral sclerosis 2. *Nat Genet* **29** (2), 166-173. DOI:10.1038/ng1001-166
- Otomo A, et al. (2003) ALS2, a novel guanine nucleotide exchange factor for the small GTPase Rab5, is implicated in endosomal dynamics. *Hum Mol Genet* **12** (14), 1671-1687. DOI:10.1093/hmg/ddg184
- Otomo A, Pan L, Hadano S (2012) Dysregulation of the autophagy-endolysosomal system in amyotrophic lateral sclerosis and related motor neuron diseases. *Neurol Res Int* **2012**, 498428. DOI:10.1155/2012/498428
- Imaizumi K, et al. (2018) Rostrocaudal areal patterning of human PSC-derived cortical neurons by FGF8 signaling. *eNeuro* **5** (2), e0368-17.2018 1-9. DOI:10.1523/ENEURO.0368-17.2018
- Kunita R, et al. (2007) The Rab5 activator ALS2/alsin acts as a novel Rac1 effector through Rac1-activated endocytosis. *J Biol Chem* **282** (22), 16599-16611. DOI:10.1074/jbc.M610682200
- Sato K, et al. (2018) Altered oligomeric states in pathogenic ALS2 variants associated with juvenile motor neuron diseases cause loss of ALS2-mediated endosomal function. *J Biol Chem* **293** (44), 17135-17153. DOI:10.1074/jbc.RA118.003849

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Shimakura Kento, Sato Kai, Mitsui Shun, Ono Suzuka, Otomo Asako, Hadano Shinji	4. 巻 569
2. 論文標題 The N-terminal intrinsically disordered region mediates intracellular localization and self-oligomerization of ALS2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 106 ~ 111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.06.095	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 Otomo Asako, Ono Suzuka, Sato Kai, Mitsui Shun, Shimakura Kento, Kimura Hiroshi, Hadano Shinji	4. 巻 174
2. 論文標題 High-throughput quantitative analysis of axonal transport in cultured neurons from SOD1H46R ALS mice by using a microfluidic device	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 46 ~ 52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2021.07.005	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 Otomo Asako, Ueda Mahoko Takahashi, Fujie Toshinori, Hasebe Arihiro, Suematsu Yoshitaka, Okamura Yosuke, Takeoka Shinji, Hadano Shinji, Nakagawa So	4. 巻 10
2. 論文標題 Efficient differentiation and polarization of primary cultured neurons on poly(lactic acid) scaffolds with microgrooved structures	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6716
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-63537-z	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 Hayashi Hideki, Wang Ting, Tanaka Masayuki, Ogiwara Sanae, Okada Chisa, Ito Masatoshi, Fukunishi Nahoko, Iida Yumi, Nakamura Ayaka, Sasaki Ayumi, Amano Shunji, Yoshida Kazuhiro, Otomo Asako, Ohtsuka Masato, Hadano Shinji	4. 巻 15
2. 論文標題 Monitoring the autophagy-endolysosomal system using monomeric Keima-fused MAP1LC3B	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0234180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0234180	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 Oka, A., Takagi, A., Komiyama, E., Yoshihara, N., Mano, S., Hosomichi, K., Suzuki, S., Haida, Y., Motosugi, N., Hatanaka, T., Kimura, M., Ueda, M. T., Nakagawa, S., Miura, H., Ohtsuka, M., Tanaka, M., Komiyama, T., Otomo, A., Hadano, S., Mabuchi, T., Beck, S., Inoko, H., and Ikeda, S.	4. 巻 57
2. 論文標題 Alopecia areata susceptibility variant in MHC region impacts expressions of genes contributing to hair keratinization and is involved in hair loss	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EBioMedicine	6. 最初と最後の頁 102810 ~ 102810
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2020.102810	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 Nozaki Masahisa, Otomo Asako, Mitsui Shun, Ono Suzuka, Shirakawa Ryohei, Chen YongPing, Hama Yutaro, Sato Kai, Chen XuePing, Suzuki Toshiyasu, Shang Hui-Fang, Hadano Shinji	4. 巻 22
2. 論文標題 SQSTM1L341V variant that is linked to sporadic ALS exhibits impaired association with MAP1LC3 in cultured cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eNeurologicalSci	6. 最初と最後の頁 100301 ~ 100301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ensci.2020.100301	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 該当する

1. 著者名 Yokoyama, S., Otomo, A., Hadano, S., and Kimura, H.	4. 巻 13
2. 論文標題 An open-type microdevice to improve the quality of fluorescence labeling for axonal transport analysis in neurons.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomicrofluidics	6. 最初と最後の頁 34104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5090968	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 Ono, S., Otomo, A., Murakoshi, S., Mitsui, S., Sato, K., Fukuda, M., and Hadano, S.	4. 巻 523
2. 論文標題 ALS2, the small GTPase Rab17-interacting protein, regulates maturation and sorting of Rab17-associated endosomes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commn.	6. 最初と最後の頁 908-915
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.12.122	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 秦野伸二	4. 巻 272
2. 論文標題 オートファジーと神経変性疾患 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) と前頭側頭型認知症 (FTD) を中心として	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 885-891
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 Mitsui Shun, Otomo Asako, Sato Kai, Ishiyama Masahito, Shimakura Kento, Okada-Yamaguchi Chisa, Warabi Eiji, Yanagawa Toru, Aoki Masashi, Shang Hui-Fang, Hadano Shinji	4. 巻 158
2. 論文標題 SQSTM1, a protective factor of SOD1-linked motor neuron disease, regulates the accumulation and distribution of ubiquitinated protein aggregates in neuron	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurochemistry International	6. 最初と最後の頁 105364 ~ 105364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2022.105364	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 Rossi Sebastiano Matteo, Ermondi Giuseppe, Sato Kai, Otomo Asako, Hadano Shinji, Caron Giulia	4. 巻 27
2. 論文標題 Personalized Treatment for Infantile Ascending Hereditary Spastic Paralysis Based on In Silico Strategies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 7063 ~ 7063
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27207063	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 該当する

1. 著者名 Motosugi Nami, Sugiyama Akiko, Okada Chisa, Otomo Asako, Umezawa Akihiro, Akutsu Hidenori, Hadano Shinji, Fukuda Atsushi	4. 巻 2
2. 論文標題 De-erosion of X chromosome dosage compensation by the editing of XIST regulatory regions restores the differentiation potential in hPSCs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports Methods	6. 最初と最後の頁 100352 ~ 100352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.crmeth.2022.100352	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 Sato Kai, Suzuki-Utsunomiya Kyoko, Mitsui Shun, Ono Suzuka, Shimakura Kento, Otomo Asako, Hadano Shinji	4. 巻 638
2. 論文標題 Central nervous system specific high molecular weight ALS2/alsin homophilic complex is enriched in mouse brain synaptosomes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 168 ~ 175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.11.061	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 Jiang Qirui, Lin Junyu, Wei Qianqian, Li Chunyu, Hou Yanbing, Zhang Lingyu, Ou Ruwei, Liu Kuncheng, Yang Tianmi, Xiao Yi, Hadano Shinji, Shang Huifang	4. 巻 123
2. 論文標題 Genetic and clinical characteristics of ALS patients with NEK1 gene variants	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neurobiology of Aging	6. 最初と最後の頁 191 ~ 199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neurobiolaging.2022.11.001	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 Rossi Sebastiano Matteo, Ermondi Giuseppe, Hadano Shinji, Caron Giulia	4. 巻 27
2. 論文標題 AI-based protein structure databases have the potential to accelerate rare diseases research: AlphaFoldDB and the case of IAHS/Alsin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Drug Discovery Today	6. 最初と最後の頁 1652 ~ 1660
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.drudis.2021.12.018	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

〔学会発表〕 計39件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Otomo, A., Ono, S., Sato, K., Mitsui, S. Shimakura, K., Fukuda, M., and Hadano, S.
2. 発表標題 Structural architecture and cellular functions of juvenile motor neuron disease-causative gene product ALS2: implication of endosome maturation and endocytic recycling.
3. 学会等名 Keystone Symposia/eSymposia, Neurodegenerative Diseases: Genes, Mechanisms and Therapeutics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shimakura, K., Sato, K., Mitsui, S., Ono, S., Otomo, A., and Hadano, S.
2. 発表標題 The intrinsically disordered region at the N-terminus of ALS2 acts as a determinant for the intracellular localization and oligomerization of ALS2.
3. 学会等名 PACTALS 2021 NAGOYA (Pan-Asian Consortium for Treatment and Research in ALS) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mitsui, S., Otomo, A., Sato, K., Shimakura, K., Ishii, T., Yanagawa, T., Aoki, M., and Hadano, S.
2. 発表標題 Neural cell-specific SQSTM1 deficiency exacerbates disease symptoms in a SOD1H46R-expressing ALS mouse model by regulating the formation and distribution of ubiquitin-positive aggregates in motor neurons.
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shimakura, K., Sato, K., Mitsui, S., Ono, S., Otomo, A., and Hadano, S.
2. 発表標題 The intrinsically disordered region at the N-terminus of ALS2 acts as a determinant for the intracellular localization and oligomerization of ALS2
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sato, K., Suzuki-Utsunomiya, K., Mitsui, S., Yudahira, H., Ono, S., Shimakura, K., Otomo, A., and Hadano, S.
2. 発表標題 ALS2 forms a unique homophilic complex in the central nervous system, whose molecular weight is higher than those in the peripheral tissues.
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡田 - 山口千沙、秦野伸二、荒木琢磨、佐々木亜由美、竹腰進、小濱一弘、金子堯子、中村彰男
2. 発表標題 原始的な真核生物における形態変化に關与する分子の網羅的解析
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島倉健人、佐藤海、三井駿、小野鈴花、大友麻子、秦野伸二
2. 発表標題 ALS2の天然変性領域はALS2細胞内局在および多量体形成に影響する
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内藤佳津子、大友麻子、村松優作、西島恵子、木村啓志、秦野伸二
2. 発表標題 下位運動ニューロンと骨格筋の共培養による神経筋結合部の構築とその機能評価
3. 学会等名 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【Tune】第14回学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西島恵子、大友麻子、村松優作、木村啓志、石川充、秦野伸二
2. 発表標題 効率的な下位運動ニューロン分化誘導法を用いたALS細胞モデルの作出
3. 学会等名 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【Tune】第14回学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sato, K., Otomo, A., Ueda, M. T., Hiratsuka, Y., Suzuki-Utsunomiya, K., Sugiyama, J., Murakoshi, S., Mitsui, S., Ono, S., Nakagawa, S., Shang, H. -F., and Hadano, S.
2. 発表標題 Altered oligomeric states in pathogenic ALS2 variants associated with juvenile motor neuron diseases cause loss of ALS2-mediated endosomal function.
3. 学会等名 Experimental Biology 2020/2020 ASBMB Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三井駿、石山政仁、島倉健人、佐藤海、小野鈴花、大友麻子、石井哲郎、柳川徹、青木正志、秦野伸二
2. 発表標題 SQSTM1の欠損は神経細胞と末梢組織細胞のユビキチン化タンパク質動態に異なる影響をもたらす
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤海、鈴木-宇都宮恭子、三井駿、小野鈴花、島倉健人、大友麻子、秦野伸二
2. 発表標題 神経終末画分におけるALS2は細胞質画分とは異なる特異的高次構造を形成する
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 秦野伸二
2. 発表標題 細胞内膜小胞トラフィッキング異常に焦点を当てた神経変性疾患新規薬剤スクリーニング系の開発
3. 学会等名 東海大学卓越研究員制度シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内藤佳津子、加納葵、藤田紘暉、大友麻子、木村啓志、秦野伸二
2. 発表標題 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 細胞モデルの構築を目指した骨格筋及下位運動ニューロン培養法の確立
3. 学会等名 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【T μ ne】第13回学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加納葵、藤田紘暉、大友麻子、秦野伸二、木村啓志
2. 発表標題 マイクロ流体デバイスを用いた神経筋接合部モデルの確立
3. 学会等名 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【T μ ne】第13回学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Otomo, A., Onodera, W., Matsui, K., Sato, K., Mitsui, S., Ono, S., Fukuda, M., and Hadano, S.
2. 発表標題 ALS2 along with a novel ALS2 interacting protein Rab30 regulates morphological integrity and functions of the Golgi apparatus.
3. 学会等名 30th International Symposium on ALS/MND (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Otomo, A., Kushida, T., Ishida, T., Araki, R., Sato, K., Mitsui, S., Ono, S., Kimura, H., and Hadano, S.
2. 発表標題 A microdevice-based method for quantifying endolysosomal and mitochondrial axonal transport in neurons derived from a mouse model of ALS.
3. 学会等名 30th International Symposium on ALS/MND (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shimakura, K., Sato, K., Mitsui, S., Ono, S., Otomo, A., and Hadano, S.
2. 発表標題 Phosphorylation state of ALS2/alsin alters its intracellular localization and endosome dynamics.
3. 学会等名 30th International Symposium on ALS/MND (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ono, S., Murakoshi, S., Sato, K., Mitsui, S., Otomo, A., Fukuda, M., and Hadano, S.
2. 発表標題 ALS2 controls the intracellular localization of small GTPase Rab17 and regulates endosome maturation.
3. 学会等名 ASCB/EMBO 2019 meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mitsui, S., Ishiyama, M., Shimakura, K., Sato, K., Ono, S., Otomo, A., Ishii, T., Yanagawa, T., Aoki, M., and Hadano, S.
2. 発表標題 Neural cell-specific SQSTM1 deficiency accelerates the onset of disease in an ALS mouse model.
3. 学会等名 Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Brain Therapeutics: Disruptive Technologies and Opportunities (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三井駿、石山政仁、島倉健人、佐藤海、小野鈴花、大友麻子、石井哲郎、柳川徹、青木正志、秦野伸二
2. 発表標題 神経系特異的SQSTM1の欠損はALSマウスモデルの発症を早期化させる
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会/第62回日本神経化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤海、大友麻子、上田-高橋真保子、平塚結衣、鈴木-宇都宮恭子、杉山純也、村越秀治、三井駿、小野鈴花、中川草、Hui-Fang Shang、秦野伸二
2. 発表標題 ALS2疾患原因変異体の高次構造の変化はALS2が担うエンドソーム機能を喪失させる
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会/第62回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大友麻子、串田隆志、石田智之、荒木良介、三井駿、小野鈴花、佐藤海、木村啓志、秦野伸二
2. 発表標題 ALSマウスモデル由来初代神経培養細胞のマイクロデバイスを用いた定量的軸索輸送解析
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会/第62回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大友麻子、串田隆志、石田智之、荒木良介、三井駿、佐藤海、小野鈴花、木村啓志、秦野伸二
2. 発表標題 マイクロデバイスによるALSマウスモデル由来初代神経培養細胞の定量的軸索輸送解析
3. 学会等名 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【Tune】第11回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島倉健人、佐藤海、大友麻子、秦野伸二
2. 発表標題 ALS2のリン酸化修飾がエンドソーム動態に及ぼす影響
3. 学会等名 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【Tune】第11回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野鈴花、大友麻子、福田光則、秦野伸二
2. 発表標題 ALS2タンパク質及び新規結合因子Rab17の分子機能解析
3. 学会等名 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【Tune】第11回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤海、鈴木（宇都宮）恭子、島倉健人、大友麻子、秦野伸二
2. 発表標題 神経終末におけるALS2 は、特異的な高次構造を形成する
3. 学会等名 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【Tune】第11回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秦野伸二、林英樹、王テイ、田中政之、荻原早苗、岡田千沙、伊藤誠敏、福西菜穂子、飯田裕美、中村彩花、佐々木垂由美、天野俊二、吉田和弘、大友麻子、大塚正人
2. 発表標題 単量体Keima融合型LC3Bによるオートファジー・エンドリソソーム系モニタリング法の開発
3. 学会等名 第12回オートファジー研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野鈴花、村越秀治、佐藤海、三井駿、大友麻子、福田光則、秦野伸二
2. 発表標題 ALS2はRac1活性依存的に低分子量Gタンパク質Rab17の細胞内局在を調節する
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤海、鈴木-宇都宮恭子、島倉健人、三井駿、小野鈴花、大友麻子、秦野伸二
2. 発表標題 ALS2は神経終末画分において細胞質画分とは異なる特異的高次構造を形成する
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三井駿、石山政仁、島倉健人、佐藤海、小野鈴花、大友麻子、石井哲郎、柳川徹、青木正志、秦野伸二
2. 発表標題 神経系特異的SQSTM1の欠損はALSマウスモデルの発症を早期化させる
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秦野伸二
2. 発表標題 Dysfunction of the autophagy-endolysosomal system in ALS and FTD
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内藤佳津子、大友麻子、秦野伸二
2. 発表標題 マウス由来骨格筋とヒト由来下位運動ニューロンの共培養による神経筋結合部の構築とその機能評価
3. 学会等名 日本実験動物技術者協会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秦野伸二
2. 発表標題 FTLD-ALS疾患スペクトラムにおけるオートファジー・エンドリソソーム分解系の異常
3. 学会等名 日本認知症学会/日本老年精神医学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 島倉健人、岡田 - 山口千沙、湯田平陽香、岡晃、大友麻子、秦野伸二
2. 発表標題 光変換蛍光タンパク質Dendra2を用いたSQSTM1細胞内動態観察
3. 学会等名 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 湯田平陽香、佐藤海、島倉健人、石川充、大友麻子、秦野伸二
2. 発表標題 筋萎縮性側索硬化症責任遺伝子NEK1およびALS2の機能的連関が神経細胞表現型に及ぼす影響
3. 学会等名 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大友麻子、西島恵子、村上裕太、石川充、木村啓志、秦野伸二
2. 発表標題 ヒトiPSCs由来下位運動ニューロンの培養と軸索表現型評価に適したマイクロデバイスの開発
3. 学会等名 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秦野伸二
2. 発表標題 神経変性疾患のLLPS：光変換蛍光タンパク質Dendra2を用いたSQSTM1/p62-bodyの細胞内動態解析
3. 学会等名 東海大学総合医学研究所第18回研修会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Serizawa, S. and Hadano, S.
2. 発表標題 Clinical care practices for amyotrophic lateral sclerosis patients in Japan during the coronavirus disease pandemic 2019: Current and future issues
3. 学会等名 East Asia Forum of Nursing Scholars (EAFONS) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Otomo, A. and Hadano, S. (Edited by Hamano, T. and Mutoh, T.)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 ACADEMIC PRESS (Elsevier)	5. 総ページ数 19
3. 書名 Autophagy dysfunction in Alzheimer's disease and dementia/ Chapter 1 Degradation mechanisms of cells	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東海大学医学部医学部医学科基礎医学系生体機能学 分子神経病態科学研究室
<http://mls.med.u-tokai.ac.jp/hadano/>

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 分 担 者	木村 啓志 (Kimura Hiroshi) (40533625)	東海大学・マイクロ・ナノ研究開発センター・教授 (32644)	
研究 分 担 者	大友 麻子 (Otomo Asako) (50535226)	東海大学・医学部・講師 (32644)	

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			
中国	West China Hospital, Sichuan University			
イタリア	University of Torino			