

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08281

研究課題名(和文)皮質オルガノイドを用いたてんかん性脳症の収束的メカニズムおよび治療研究

研究課題名(英文) A study for convergent molecular mechanisms underlying epileptic encephalopathy using cortical organoids

研究代表者

酒井 康成 (Sakai, Yasunari)

九州大学・医学研究院・准教授

研究者番号：10380396

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Developmental and Epileptic Encephalopathy (DEE)関連遺伝子GNAO1がコードするタンパク質Gaoとの結合分子を網羅的に探索し、Gaoは他のDEE関連分子SPTAN1と複合体を形成することを見出した。GNAO1変異脳オルガノイドでは、SPTAN1他、軸索起始部・細胞骨格関連タンパク質の発現、細胞外刺激によるカルシウム応答性がいずれも減衰していた。これらのデータは、Gao-SPTAN1複合体が、ニューロンが分化段階で機能的な極性を獲得する上で不可欠である可能性を支持していた(Akamine S, FASEB J 2020)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

異なる二つのDEE関連遺伝子(GaoとSPTAN1)が脳内で複合体を形成し、神経分化に重要な役割を果たすことを初めて明らかにした。これらのタンパク質複合体が脳内で制御する下流分子シグナルをさらに明らかにすることで、難治性てんかんにおける新しい治療標的の同定に寄与できると考えた。

研究成果の概要(英文)：Through a proteomic search for Gao, encoded by a developmental and epileptic encephalopathy (DEE)-associated gene GNAO1, we found that the two DEE-associated proteins, Gao and SPTAN1 formed an endogenous complex in the brain. GNAO1-mutated brain organoids showed aberrant expressions of SPTAN1 and other genes associated with axon initial segment and cytoskeletal remodeling. GNAO1 was thus suggested to regulate the process acquiring the functional polarity of differentiating neurons (Akamine S, FASEB J, 2020).

研究分野：小児神経学

キーワード：GNAO1 発達性てんかん性脳症 分子シグナル 細胞骨格 SPTAN1 タンパク質複合体 極性

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

発達性てんかん性脳症(Developmental and Epileptic Encephalopathy, DEE)は、乳児期早期に難治性てんかんを発症し、多くは長期的に重度の知的障害を伴う予後不良な疾患群である。近年、エクソーム解析技術の進歩にともない、様々な DEE 関連遺伝子が同定された。しかしながら、これらの変異がなぜ乳児期早期に難治性てんかんを発症させ、重度の脳機能障害を来たすのか、その分子メカニズムについては十分に明らかにされていない。

本研究に先立ち、免疫共沈降法を用いて GNAO1 がコードするタンパク質 (Gao) との結合分子を網羅的に探索した。その結果 Gao は、他の DEE 関連分子として知られる SPTAN1 [Saitou H, Nat Genet 2008; Tohyama J, J Hum Genet 2015] と脳内で複合体を形成することが明らかになった。GNAO1/Gao と SPTAN1 は、いずれも DEE 関連分子として知られる。また SPTAN1 は、細胞骨格および軸索起始部の形成に必須な分子である。したがって、Gao-SPTAN1 複合体が制御する下流シグナルを同定することで、DEE の新たな分子病態を解明できる可能性が示唆された。

2. 研究の目的

Gao と結合する新規タンパク質を網羅的に探索し、Gao の新しい分子機能を明らかにする。Gao が発達段階の脳内でどのような分子シグナルを制御し、機能的な神経ネットワークを形成するかについて、生化学・分子生物学的手法に基づく解析データから推定する。

3. 研究の方法

倫理事項

実験は全て施設ガイドラインおよびプロトコルに厳格に従い、九州大学倫理審査委員会の承認を受けた(23-53, 28-88, 29-393, 678-01)。健常対照の血球提供者、患者の両親、および間葉系幹細胞を得るために乳歯を提供した児の両親から、検体提供前に同意を得た。動物実験のための特定のプロトコルは施設動物取扱委員会から承認を受けた (A29-254-1)。

蛍光免疫抗体法

培養細胞は 4%パラホルムアルデヒド (PFA) 含有リン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH 7.4) を用いて 15 分間固定し、0.1% Triton X-100 で 10 分間透過処理した (25)。実験動物は深麻酔され 4%PFA 含有氷冷 PBS で灌流された。脳を摘出し直ちに 4% PFA に一晩浸した。その後、固定された脳は 4 の 20% および 30% スクロース含有 PBS に 24 時間浸した後、OCT コンパウンド (Sakura Finetek, Tokyo, Japan) で凍結した。固定試料から、40 μm 厚の連続切片を作製した。その後、試料は Block Ace (KAC Co. Ltd., Kyoto, Japan) でブロッキングし、1 次抗体で 4 で一晩静置した。2 次抗体として Alexa 488、555 および 647 (Life Technologies) を用いた。核染色の蛍光色素として 4',6-ジアミジノ-2-フェニリンドル (DAPI) を用いた。関心領域 (ROI) の標識タンパク質の信号強度は、NIS-elements AR ソフトウェアプログラム (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) を用いて測定した。

共免疫沈降法

Neuro2a 細胞に、GFP または GaO-GFP 融合タンパク質を安定発現する細胞系列 (Figure S1) を 10 cm ディッシュで培養した。対数的に増殖した細胞は、1-2 × 10⁸ 個となった時に氷上で、細胞溶解液+Protease Inhibitor Cocktail を用いて回収した。細胞抽出液は、15-20 mg/ml のタンパク質濃度になるように調製し、1% 仔ウシ・ヘモグロビン含有・細胞溶解液で溶液量を 1 ml に調節した。細胞抽出液のプレクリーニングのため、1%ヘモグロビンコーティングしたプロテイン A/G アガロースビーズを 4 1 時間ローテートした。プレクリーニング後に上清を回収した後、50 μL の anti-GFP 結合磁気ビーズを用いて GFP または GaO-GFP タンパク質複合体を 4 で一晩免疫沈降した。磁気ビーズに捕捉されたタンパク質の全量を 20 μl 2-メルカプトエタノール (1%) 含有 Laemlli サンプルバッファーで抽出した。試料を煮沸後、SDS-PAGE で展開した。タンパク質泳動バンドを CBB で検出した。WT マウスの脳抽出物を既報告の通りに免疫沈降した。4 で 2 時間ローテートして免疫沈降反応を行った後に 4 回洗い、溶出タンパク質をウエスタンブロット法で解析した。

LC-MS 解析

CBB 染色後、タンパク質バンドが存在するゲルの領域を 1 mm 四方に切り抜き、既報告の方法でゲル内消化させた (27)。トリプシン処理したペプチドは、Easy-nLC1000 システム (Thermo Fisher Scientific) により、Acclaim PepMap100 trap カラム (20 × 0.075 mm; 3 μm) と Acclaim PepMap RSLC 分析カラム (150 × 0.05 mm; 2 μm) を用いて分離され、Q-Exactive Orbitrap 質量分析計 (ThermoScientific) で解析した。タンパク質の同定には、ヒトタンパク質データベース Uniprot を参照し、SequestHT アルゴリズムを用いた Proteome Discoverer ソフトウェアプログラム (ThermoScientific) を使用した。

顕微鏡解析

共焦点レーザー顕微鏡 A1 HD25 (Nikon)を用いた。解析プログラムの BZ-X analyzer (Keyence, Osaka, USA)を備えた一体型顕微鏡 BZ-X800 を形態的特徴の定量解析に用いた。深層画像を得るために、4% PFA で固定したオルガノイドを ScaleView-A2 reagents (Fujifilm-Wako, Osaka, Japan)で処理した。BZ-X800 および Spin SR10 顕微鏡を深層画像撮影に使用した(深達度: 615-705 μm)。

iPSCs

末梢血単核球(PBMNCs)は、KBM502 培地内で Dynabeads human T-Activator CD3/CD28 を用いて 6 日間かけて活性化した。活性化 T 細胞 (2.5×10^5 個)を MOI=6 として、CytoTune-iPS 2.0 を加えた 350 μl の KBM502 培地に懸濁し、24 ウェルプレートでさらに 72 時間培養した。健康者由来コントロール細胞は、StemFit AK03 に添加した Recombinant Laminin-511 E8 fragments でコーティングした 6 ウェルプレートに移した。感染 20~30 日後、iPSC のコロニーを選択した。GNAO1 脳症患者から得た iPSC の樹立も同様のプロトコルで行った。bFGF 含有の Primate ES 培地中にマイトマイシン C 不活性化 SNL フィーダー細胞の上で iPSC を増殖した。iPSC は全て、幹細胞特異的マーカー TRA-1-60、NANOG、SSEA4、OCT4 および ALP を発現していることを、蛍光免疫染色または免疫組織染色により確認した。また胚様体形成 21 日後、蛍光免疫染色により iPSC が AFP (endoderm), SMA (mesoderm), TUJ1 (ectoderm)を発現しており、3 胚葉に分化能があることを確認した。全ての iPSC クロームは、第 16 継代までセンダイウイルス DNA は存在しなかった。G バンド染色体分析により第 10 継代での染色体異常は除外した。樹立 iPSC は、mTeSR1 培地に加えられたマトリゲル上で培養した。細胞は 5 日毎に TrypLE Select および Rho-kinase inhibitor Y27632 を用いて継代した。

神経細胞への分化

iPSC から皮質神経細胞へ無血清凝集浮遊培養法を用いて分化させた。簡潔には iPSC を 50 μM の Y27632 で 3 時間、前処理し TrypLE Express で剥離し、低細胞接着 96 ウェル培養プレート (10000 cells/well, 150 μl) で以下の分化培地で急速に再凝集させた。Knockout Serum Replacement、MEM non-essential amino acids solution、L-glutamine および 2-mercaptoethanol を含有する DMEM/Nutrient Mixture F-12 Ham を用いた。培地は 4 日毎に交換した。Rho キナーゼ阻害剤、ALK5 チロシンキナーゼ阻害剤、AMP キナーゼ阻害剤 (Y27632 [50 μM], SB431542 [10 μM] および Dorsomorphin Dihydrochloride [2 μM]) を分化培地に開始から 4 日目まで加えた。18 日目には細胞凝集体を非接着ディッシュに移し、B27 および L-glutamine 含有 Neurobasal Medium で培養した。単一神経細胞、神経スフェロイドとオルガノイドは iMatrix 511 で前処理された 35 mm カバークラス上で形態的解析を行った。

siRNA

Neuro2a 細胞に Lipofectamine RNA iMAX を用いて 100 μM siRNA を導入した。siGao1 CUGAACGGUUCUCUGCAGATT、5' -UCUGCAGAGAACGGUUCAGTT。Stealth RNAi Negative Control Low GC Duplex(es) (CUUCAUCCUAAGACGAGAtt, UCUCGUCUJAGGCUUGAAGta; Life Technologies) は既報告に従ってコントロールとして用いた。ノックダウン効果は トランスフェクション 48~72 時間後に、定量 PCR およびウエスタンブロットで評価した。

カルシウムイメージング

分化開始 120~150 日後の WT オルガノイドおよび GNAO1 KO オルガノイドは、iMatrix-511 でコーティングされたカバーガラス上に置かれ、続く 100 日間の培養で神経細胞は神経突起を伸ばした。その後神経細胞は Calcium Kit-Fluo4 で前処理した後、100 μM イオノマイシンで刺激した。細胞内カルシウム濃度の変動はアルゴンレーザーで励起された Fluo4-AM シグナルを A1 共焦点顕微鏡の 488 nm チャンネルで捕捉して NIS-Elements AR ソフトウェアプログラムを用いて検出した。刺激開始から 10 分までのライブイメージング画像を 300msec 間隔で記録した。

統計的解析

実験動物、培養細胞、オルガノイドは 1 つの実験につき 3 個 (体) 以上用意し、解析した。統計的解析はすべて、JMP Software Program を用いて行った。集められたデータは、別途記載がない場合は平均 \pm 標準偏差 (SD) で表した。ノンパラメトリック検定として、Wilcoxon の順位和検定を用いた。p < 0.05 を統計学的有意とした。

4. 研究成果

Gao の新規結合分子

本研究では、G 0 の新たな結合パートナーとして SPTAN1 を同定した。2 つのタンパク質はいずれも DEE と関連するため、我々は DEE 患者の脳内で障害を示す共通の分子経路に関心を持った。siRNA による GNAO1 の欠失が SPTAN1 タンパク質の開裂に関わる分子シグナルの活性化を妨げることを見出した。また G 0-SPTAN1 相互作用の喪失が、イオノマイシン処理

後の SPTAN1 タンパク質の非効率な開裂と関連していた。

DEE 患児由来脳オルガノイド

今回、特徴的な DEE 病型を示した患児が、GNAO1 遺伝子に病的変異を有することを見出した。GNAO1 関連脳症の神経生物学的メカニズムを解明するために、患児由来 iPS を樹立し、大脳皮質型・脳オルガノイドを誘導した。GNAO1 変異オルガノイドは、健常者由来オルガノイドに比べて成長（サイズ増大）が遅く、表面構造の凹凸が目立った。神経幹細胞および前駆細胞マーカー（FOXP1、PAX6 および Nestin）の発現レベルに差はなかったが、GNAO1 変異オルガノイドの表層付近には、未熟ニューロン（GFAP 陽性細胞群）の占める層構造が目立ち、相対的に成熟マーカー（NeuN）の発現レベルは低下していた。

GNAO1 変異ニューロンの発火障害

GNAO1 変異オルガノイドでは、SPTAN1 他、軸索起始部・細胞骨格関連タンパク質の発現、リン酸化 ERK、細胞外刺激によるカルシウム応答性がいずれも減衰していた。これらのデータは、Gao-SPTAN1 複合体が、ニューロンが分化段階で機能的な極性を獲得する上で不可欠である可能性を支持した。

以上の結果を英文誌に報告した[Akamine S, FASEB J 2020]。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計26件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 7件）

| | |
|---|-----------------------------|
| 1. 著者名 Akamine S | 4. 巻 34 |
| 2. 論文標題 GNAO1 organizes the cytoskeletal remodeling and firing of developing neurons | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 The FASEB Journal | 6. 最初と最後の頁 16601 ~ 16621 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202001113R | 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 Kunii Misako, Doi Hiroshi, Hashiguchi Shunta, Matsuishi Toyojiro, Sakai Yasunari, Iai Mizue, Okubo Masaki, Nakamura Haruko, Takahashi Keita, Katsumoto Atsuko, Tada Mikiko, Takeuchi Hideyuki, Ishikawa Taro, Miyake Noriko, Saitsu Hiroto, Matsumoto Naomichi, Tanaka Fumiaki | 4. 巻 416 |
| 2. 論文標題 De novo CACNA1G variants in developmental delay and early-onset epileptic encephalopathies | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences | 6. 最初と最後の頁 117047 ~ 117047 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2020.117047 | 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 Nakashima Y | 4. 巻 117 |
| 2. 論文標題 Lipidomics links oxidized phosphatidylcholines and coronary arteritis in Kawasaki disease | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Cardiovascular Research | 6. 最初と最後の頁 96 ~ 108 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cvr/cvz305 | 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 Kobayashi Y | 4. 巻 43 |
| 2. 論文標題 Clinical manifestations and epilepsy treatment in Japanese patients with pathogenic CDKL5 variants | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Brain and Development | 6. 最初と最後の頁 505 ~ 514 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2020.12.006 | 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 Miyatake S | 4. 巻 7 |
| 2. 論文標題 De novo ATP1A3 variants cause polymicrogyria | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Science Advances | 6. 最初と最後の頁 eabd2368 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abd2368 | 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 Sagata N | 4. 巻 40 |
| 2. 論文標題 Forskolin rapidly enhances neuron like morphological change of directly induced neuronal cells from neurofibromatosis type 1 patients | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Reports | 6. 最初と最後の頁 396 ~ 400 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/npr2.12144 | 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 Nishiyama K | 4. 巻 21 |
| 2. 論文標題 Gastrointestinal symptoms as an extended clinical feature of Pierson syndrome: a case report and review of the literature | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 BMC Medical Genetics | 6. 最初と最後の頁 ofaa288 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12881-020-01019-9 | 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 Kurokawa M | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 The expanding phenotype of hypokalemic periodic paralysis in a Japanese family with p.Val1876Glu mutation in CACNA1S | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Molecular Genetics & Genomic Medicine | 6. 最初と最後の頁 e1175 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mgg3.1175 | 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 Ueda T | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Survival and ocular preservation in a long-term cohort of Japanese patients with retinoblastoma | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 BMC Pediatrics | 6. 最初と最後の頁 37 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12887-020-1923-7 | 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 Nishiyama K, Kurokawa M, Torio M, Sakai Y*, Arima M, Tsukamoto S, Obata S, Minamikawa S, Nozu K, Kaku N, Maehara Y, Sonoda KH, Taguchi T, Ohga S | 4. 巻 NA |
| 2. 論文標題 Gastrointestinal symptoms as an extended clinical feature of Pierson syndrome: A case report and review of the literature | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 BMC Med Genet | 6. 最初と最後の頁 NA |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12881-020-01019-9 | 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 Kurokawa Mari, Torio Michiko, Ohkubo Kazuhiro, Tocan Vlad, Ohyama Noriko, Toda Naoko, Ishii Kanako, Nishiyama Kei, Mushimoto Yuichi, Sakamoto Ryuichi, Nakaza Maki, Horie Riho, Kubota Tomoya, Takahashi Masanori P., Sakai Yasunari, Nomura Masatoshi, Ohga Shouichi | 4. 巻 NA |
| 2. 論文標題 The expanding phenotype of hypokalemic periodic paralysis in a Japanese family with p.Val1876Glu mutation in CACNA1S | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Molecular Genetics & Genomic Medicine | 6. 最初と最後の頁 NA |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mgg3.1175 | 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 Ueda Tamaki, Koga Yuhki, Yoshikawa Hiroshi, Tanabe Mika, Yamana Kanako, Oba Utako, Nakashima Kentaro, Ono Hiroaki, Ichimura Takuya, Hasegawa Shunji, Kato Wakako, Kobayashi Tetsuko, Nakayama Hideki, Sakai Yasunari, Yoshitake Tadamasa, Ohga Saiji, Oda Yoshinao, Suzuki Shigenobu, Sonoda Koh-Hei, Ohga Shouichi | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Survival and ocular preservation in a long-term cohort of Japanese patients with retinoblastoma | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 BMC Pediatrics | 6. 最初と最後の頁 NA |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12887-020-1923-7 | 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 Kinoshita Keishiro, Ishizaki Yoshito, Yamamoto Hiroyuki, Sonoda Motoshi, Yonemoto Kousuke, Kira Ryutarou, Sanefuji Masafumi, Ueda Akihiko, Matsui Hiroataka, Ando Yukio, Sakai Yasunari, Ohga Shouichi | 4. 巻 63 |
| 2. 論文標題 De novo p.G696S mutation in COL4A1 causes intracranial calcification and late-onset cerebral hemorrhage: A case report and review of the literature | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Medical Genetics | 6. 最初と最後の頁 103825 ~ 103825 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejmg.2019.103825 | 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 Nakashima Yasutaka, Sakai Yasunari, Mizuno Yumi, Furuno Kenji, Takada Hidetoshi, Ohga Shouichi, Hara Toshiro | 4. 巻 NA |
| 2. 論文標題 Lipidomics links oxidized phosphatidylcholines and coronary arteritis in Kawasaki disease | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Cardiovascular Research | 6. 最初と最後の頁 NA |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cvr/cvz305 | 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 Taira Ryoji, Inoue Hirosuke, Sawano Toru, Fujiyoshi Junko, Ichimiya Yuko, Torio Michiko, Sanefuji Masafumi, Ochiai Masayuki, Sakai Yasunari, Ohga Shouichi | 4. 巻 NA |
| 2. 論文標題 Management of apnea in infants with trisomy 18 | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Developmental Medicine & Child Neurology | 6. 最初と最後の頁 NA |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dmcn.14403 | 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 Sonoda M, Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Kanno S, Kaku N, Inoue H, Motomura Y, Ochiai M, Sakai Y, Nakayama M, Ohara O, Ohga S | 4. 巻 NA |
| 2. 論文標題 Prognostic factors for survival of herpes simplex virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Int J Hematol | 6. 最初と最後の頁 NA |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-019-02738-3 | 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 Matsushita Yuki, on behalf of the Neonatal Research Network of Japan (NRNJ), Sakai Yasunari, Torio Michiko, Inoue Hirotsuke, Ochiai Masayuki, Yasuoka Kazuaki, Kurata Hiroaki, Fujiyoshi Junko, Ichiyama Masako, Taguchi Tomoaki, Kato Kiyoko, Ohga Shouichi | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 Association of perinatal factors of epilepsy in very low birth weight infants, using a nationwide database in Japan | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Perinatology | 6. 最初と最後の頁 1472 ~ 1479 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41372-019-0494-7 | 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 Sasazuki Momoko, Sakai Yasunari, Kira Ryutaro, Toda Naoko, Ichimiya Yuko, Akamine Satoshi, Torio Michiko, Ishizaki Yoshito, Sanefuji Masafumi, Narama Miho, Itai Koichiro, Hara Toshiro, Takada Hidetoshi, Kizawa Yoshiyuki, Ohga Shouichi | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Decision-making dilemmas of paediatricians: a qualitative study in Japan | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 BMJ Open | 6. 最初と最後の頁 e026579 ~ e026579 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjopen-2018-026579 | 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 Yasuoka Kazuaki, Inoue Hirotsuke, Egami Naoki, Ochiai Masayuki, Tanaka Koichi, Sawano Toru, Kurata Hiroaki, Ichiyama Masako, Fujiyoshi Junko, Matsushita Yuki, Sakai Yasunari, Ohga Shouichi | 4. 巻 212 |
| 2. 論文標題 Late-Onset Circulatory Collapse and Risk of Cerebral Palsy in Extremely Preterm Infants | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Pediatrics | 6. 最初と最後の頁 117 ~ 123.e4 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpeds.2019.05.033 | 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 Takata Atsushi, Nakashima Mitsuko, Saitsu Hiroto, Osaka Hitoshi, Nakamura Kazuyuki, Takeshita Saoko, Sakai Yasunari, Miyake Noriko, Miyatake Satoko, Matsumoto Naomichi | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Comprehensive analysis of coding variants highlights genetic complexity in developmental and epileptic encephalopathy | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Nature Communications | 6. 最初と最後の頁 NA |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-10482-9 | 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 Nguyen Nguyen Huong Thi, Kato Hiroki, Sato Hiroshi, Yamaza Haruyoshi, Sakai Yasunari, Ohga Shouichi, Nonaka Kazuaki, Masuda Keiji | 4. 巻 513 |
| 2. 論文標題 Positive effect of exogenous brain-derived neurotrophic factor on impaired neurite development and mitochondrial function in dopaminergic neurons derived from dental pulp stem cells from children with attention deficit hyperactivity disorder | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications | 6. 最初と最後の頁 1048 ~ 1054 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.04.084 | 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 Iwasawa Shinya, Yanagi Kumiko, Kikuchi Atsuo, Sakai Yasunari, Fujita Atsushi, Miyake Noriko, Niihori Tetsuya, Shiota Matsuyuki, Funayama Ryo, Nonoyama Shigeaki, Ohga ShNakayama Keiko, Aoki Yoko, Matsumoto Naomichi, Kaname Tadashi, Matsubara Yoichi, Shoji Wataru, Kure Shigeo | 4. 巻 85 |
| 2. 論文標題 Recurrent de novo MAPK81P3 variants cause neurological phenotypes | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Annals of Neurology | 6. 最初と最後の頁 927 ~ 933 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ana.25481 | 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 Takemoto Ryuichi, Motomura Yoshitomo, Kaku Noriyuki, Ichimiya Yuko, Muraoka Mamoru, Kanno Shunsuke, Tanaka Tamami, Sakai Yasunari, Maehara Yoshihiko, Ohga Shouichi | 4. 巻 19 |
| 2. 論文標題 Late-onset sepsis and encephalopathy after bicycle-spoke injury: a case report | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 BMC Infectious Diseases | 6. 最初と最後の頁 NA |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12879-019-4082-4 | 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 Okuzono Sayaka, Fukai Ryoko, Noda Marie, Miyake Noriko, Lee Sooyoung, Kaku Noriyuki, Sanefuji Masafumi, Akamine Satoshi, Kanno Shunsuke, Ishizaki Yoshito, Torisu Hiroyuki, Kira Ryutaro, Matsumoto Naomichi, Sakai Yasunari, Ohga Shouichi | 4. 巻 41 |
| 2. 論文標題 An acute encephalopathy with reduced diffusion in BRAF-associated cardio-facio-cutaneous syndrome | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Brain and Development | 6. 最初と最後の頁 378 ~ 381 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2018.10.012 | 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 Takemoto Ryuichi, Motomura Yoshitomo, Kaku Noriyuki, Ichimiya Yuko, Muraoka Mamoru, Kanno Shunsuke, Tanaka Tamami, Sakai Yasunari, Maehara Yoshihiko, Ohga Shouichi | 4. 巻 19 |
| 2. 論文標題 Late-onset sepsis and encephalopathy after bicycle-spoke injury: a case report | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 BMC Infectious Diseases | 6. 最初と最後の頁 NA |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12879-019-4082-4 | 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 Sonoda Yuri, Yamamura Kenichiro, Ishii Kanako, Ohkubo Kazuhiro, Ihara Kenji, Sakai Yasunari, Ohga Shouichi | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 A Child with Prostaglandin I ₂ -associated Thyrotoxicosis: Case Report | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology | 6. 最初と最後の頁 207 ~ 210 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4274/jcrpe.galenos.2018.2018.0169 | 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0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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 |
|-------|--|--|----|
| 研究分担者 | 中別府 雄作 (Nakabeppu Yusaku) (30180350) | 九州大学・生体防御医学研究所・教授 (17102) | |

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 |
|---------|---------|