

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24500428

研究課題名(和文) 組換えウイルスを用いたALS運動ニューロン培養系およびモデルラットの樹立と解析

研究課題名(英文) Establishment of cellular and rodent models for amyotrophic lateral sclerosis using recombinant viral vectors

研究代表者

渡部 和彦 (WATABE, Kazuhiko)

公益財団法人東京都医学総合研究所・運動・感覚システム研究分野・副参事研究員

研究者番号：30240477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト筋萎縮性側索硬化症(ALS)における運動ニューロン変性のメカニズムは依然として不明であるが、ALS関連遺伝子としてTDP-43、FUSなど様々なものが知られ、さらに蛋白分解系の異常によって運動ニューロンにおける細胞内凝集体形成や細胞死が促進されることがわかってきた。本研究では、各種の組換えウイルスベクターを用いてTDP-43、FUSなどのALS関連遺伝子および蛋白分解系に対するshRNAを培養系および成体マウス・ラット運動ニューロンに発現させ、ALSに特徴的な凝集体の形成過程や細胞死、周囲の細胞への播種・進展様式を解析することにより、ALS病変の発症進展機序の解明を目指している。

研究成果の概要(英文)：Formation of TDP-43- or FUS-positive cytoplasmic aggregates in neuronal and glial cells is one of the pathological hallmarks of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). We have demonstrated that inhibition of protein degradation pathways enhanced adenovirus-induced neuronal cytoplasmic aggregate formation of TDP-43 and FUS in vitro and in vivo. We then produced recombinant adeno-associated virus type 9 (AAV9) and lentivirus vectors encoding wild type and mutant TDP-43 or FUS, and those encoding shRNAs for protein degradation machineries and demonstrated their long-term retrograde transduction of the foreign genes and formation of cytoplasmic aggregates in adult mouse facial and spinal motoneurons. We also performed time-lapse imaging analysis of neuronal and glial cells infected with adenoviruses encoding TDP-43 and FUS cDNAs under conditions of proteasome inhibition to examine cytoplasmic aggregate formation, cell death, and cell to cell spreading of these aggregates.

研究分野：神経科学・神経解剖学・神経病理学

キーワード：運動ニューロン TDP-43 FUS 筋萎縮性側索硬化症 凝集体 組換えウイルス プロテアソーム オートファジー

## 1. 研究開始当初の背景

ALS における運動ニューロン死に関しては、これまで活性酸素・窒素種の関与や、細胞体内のニューロフィラメントの蓄積と軸索輸送の障害、ミトコンドリアの障害、グルタミン酸と興奮毒性の関与、プロテアソーム・エンドソーム・オートファジー経路による蛋白分解系の機能障害など、様々な病態メカニズムが指摘されてきたが、その一次的な病態は依然として解明されていない。一方、Neumann ら、Arai らによって 2006 年に TAR DNA binding protein-43 (TDP-43) が FTLD、ALS における神経細胞内凝集体の主たる構成成分として同定され、2008 年に TDP-43 遺伝子変異による家族性 ALS が発見されて以来、ALS の病態解明に関する研究は TDP-43 を中心として飛躍的な進展を遂げている。しかしながら、当初の予想と異なり、ヒト ALS の病態を忠実に反映した培養細胞あるいは動物モデルの作製は変異 TDP-43 においても容易ではないことが明らかになってきた。家族性 ALS にみられる点変異 TDP-43 cDNA を培養細胞にそのまま発現させても凝集体形成はなかなか誘導されず、他方、変異 TDP-43 のみでなく正常の TDP-43 を発現するトランスジェニックマウスでも運動神経症状を発症する反面、TDP-43 の細胞内局在の異常や TDP-43 陽性凝集体の形成はあっても僅かであることが報告されている。さらに、ALS 関連遺伝子発見の嚆矢となった SOD1 の他、ここ数年間で fused in sarcoma (FUS)、valosin-containing protein (VCP)、optineurin、ubiquilin-2 (UBQLN2)、C9ORF72 など多数の ALS 変異遺伝子が相次いで同定されている。一方、ALS を含む神経変性疾患全般において、プロテアソームやエンドソーム、オートファジー経路による蛋白分解系の障害が凝集体形成や細胞死に深く関わっていることが指摘されており、蛋白分解系の障害が ALS の発症進行に直接間接の影響を与えていると想定されている。さらに、近年、ALS 病変の進展様式として細胞内凝集体を構成する異常蛋白の周囲細胞への播種・伝播が想定されているが、実験的検証はほとんどなされていない。これら蛋白分解系と細胞死および ALS 関連遺伝子の関わりを培養細胞や生体脳組織で解析し、病変の伝播を検証するには、運動ニューロン内の特定の分子を強制発現またはノックアウトしその細胞内変化および組織変化を経時的に捉えうる新たな実験系が必要であり、その実験系は培養系、生体系ともにニューロン、とりわけ運動ニューロンの特異性を明確にターゲティングしたものでなくてはならない。

そこで我々はこれまで、正常および変異 TDP-43、FUS cDNA および蛋白分解系を阻害する shRNA を発現する組換えアデノウイルスを培養運動ニューロンや成体ラット運動ニューロンに感染発現させ、ヒト ALS に特徴的な細胞内凝集体を形成させる実験系を確

立した(渡部雑誌論文 4,10)。ヒト正常・変異 TDP-43 または C 末断片 (208-414) TDP-43 cDNA、ヒト正常・変異 FUS cDNA およびプロテアソーム (PSMC1)、エンドソーム (VPS24)、オートファジー (ATG5) に対する shRNA を発現する組換えアデノウイルスを作製し、マウス ES 細胞由来分化運動ニューロン、ラット神経幹細胞由来ニューロン・グリア培養系に接種したところ、TDP-43 または変異 FUS と蛋白分解系 shRNA 組換えウイルスの共感染により細胞体に粗大な凝集体形成を認めた。これら組換えウイルスを成体ラット顔面神経に感染接種すると、組換えウイルスの逆行輸送により顔面神経核運動ニューロンに導入遺伝子が強発現し、培養系と同様に TDP-43 または FUS と蛋白分解系 shRNA 組換えウイルスの共感染により運動ニューロン細胞体に凝集体の形成が認められた。すなわち、運動ニューロンにおける TDP-43、FUS の凝集体形成は蛋白分解系の阻害により促進されると考えられた。しかしながら、組換えアデノウイルスによる遺伝子発現は接種後 1 週間をピークに急速に減衰していき以降の解析は困難であった。そこで我々は最近、より長期間安定した遺伝子導入発現が期待できる組換えアデノ随伴ウイルス 9 型 (AAV9) または組換えレンチウイルス (LxFuGB2) の末梢神経からの逆行輸送を試み、成体マウス運動ニューロンへの ALS 関連遺伝子導入に成功した。これら組換えウイルスの感染により凝集体形成が可能になれば、当初は感染運動ニューロンに限局するこの凝集体が伝播していくか否かを長期的に観察できると考えている。

## 2. 研究の目的

- (1) 培養運動ニューロンにおける凝集体形成と細胞死の解明：ALS 関連遺伝子 (TDP-43、FUS) の cDNA、およびプロテアソーム・エンドソーム・オートファジー経路の主要分子に対する shRNA を発現する組換えアデノウイルス、AAV9、レンチウイルスをマウス ES 細胞由来分化運動ニューロン、またはラット神経幹細胞由来ニューロン・グリア培養系に種々の組み合わせで接種し、培養下で経時的に解析することにより凝集体形成や細胞死のメカニズムを明らかにする。
- (2) 成体ラット運動ニューロンにおける凝集体形成と細胞死の解明：上記の各種組換えウイルスを成体マウス・ラット顔面神経または坐骨神経に注入接種し、逆行輸送によって成体運動ニューロンに遺伝子導入し経時的に解析することにより凝集体形成や細胞死のメカニズムを明らかにする。さらに、組換え AAV9、レンチウイルスの末梢神経注入後の長期観察により、当初は感染運動ニューロンに限局するこの凝集体が伝播していくか否か、いわゆる seeding 仮説に沿っ

た ALS 病変の脳内播種を実験的に証明しうるかを検討する。

本研究において組換えアデノウイルス、AAV9、レンチウイルスを使用する主な利点は、1) 非増殖細胞培養系において高効率の遺伝子導入が可能であること、2) 成体運動ニューロンに対して上記組換えウイルスの逆行輸送による特異的遺伝子導入が可能であること、にある。

1) これまで培養系における ALS 関連変異遺伝子の発現実験の大半はマウス神経芽腫細胞株 Neuro-2a やマウス運動ニューロン様ハイブリッド株 NSC34 などを用いて検討されてきた。しかし最近のプロテオーム解析では、これら(増殖する)神経細胞株は本来のニューロンとは性質が著しく異なることが判明し (Hornburg et al., Mol Cell Proteomics 2014), ALS 運動ニューロンの研究に用いるには最早不適当であり、その実験結果をもって運動ニューロンに特異的な病態を説明出来るとは云い難い。我々は増殖を停止し完全に分化したマウス ES 細胞由来運動ニューロン、ラット神経幹細胞由来運動ニューロン・グリア、ヒト iPS 細胞由来運動ニューロンを用いて実験を行い、上記組換えウイルスの感染によって 80% 以上の細胞に遺伝子を導入しうることを確認済みであり、極めて確実かつ効率的な実験解析を行う。

2) 我々はこれまでに、組換えアデノウイルス、AAV9、レンチウイルス(FuGB2)を成体マウス・ラットの末梢神経に接種すると、軸索からの逆行輸送によりウイルスが運動ニューロンの細胞体に運ばれ、ウイルスに組み込まれた外来遺伝子が転写翻訳され目的とする蛋白が産生されることを証明した。単独または複数(一度に 8 種類程度までひとつの細胞に感染検出可能である)の組換えウイルスを逆行輸送によって運動ニューロン限定的に感染導入することにより、凝集体形成や細胞死がどの経路の組み合わせで起こっているかを各パーツに分けて明瞭に順次解析していくことが可能である。これら組換えウイルスは非増殖性で当該運動ニューロン以外に感染が広がることはなく、特に AAV9、レンチウイルスを用いれば、当初は感染運動ニューロンに限局するこの凝集体蛋白が周囲の細胞に伝播するか否かの長期的な解析が可能である。さらに、この seeding 仮説を検証するためには、脳実質を傷つけることなく末梢神経からのウイルスの逆行輸送によって特定の運動ニューロンのみに凝集体を形成させるメリットは極めて大きい。これまでの凝集体蛋白や組換えウイルスをマウス脳実質に針やガラスピペットで直接注入する実験系では needle track に沿った注入物の脳全体への漏出が不可避で、伝播が起きたか否かの結果の解釈が実際は非常に困難なためである。

すなわち、これらのシステムを利用して以下の点を成体動物において明らかにできる可能性が大きい。

成体運動ニューロンにどの ALS 関連遺伝子を発現させると凝集体が形成されるか、成体運動ニューロンのどの蛋白分解系の遺伝子をノックアウトすると凝集体形成が促進されるか、成体運動ニューロンにおける蛋白分解系、凝集体形成と細胞死にはリンクがあるのか、あるとすればどこにリンクがあり、何が引き金となるのか。ALS 変異遺伝子の発現による病変惹起は運動ニューロンのほかにグリア細胞の関与が必要か否か、本モデルで「凝集体の重合が細胞から細胞へ伝播して広がり病変が拡大する」という seeding 仮説を検証しうるか。以上の大変重要な諸問題の検討が、多大な時間、労力、費用を要する遺伝子改変マウスの作成および掛け合せに依らず、本研究によって比較的容易かつ短時間に解析しうるかと考えている。

### 3. 研究の方法

(1) 組換えアデノウイルス、AAV9、レンチウイルスの作製

ALS 関連遺伝子 TDP-43, FUS のクローニング: ヒト正常および変異 TDP-43 または C 末断片 (208-414) TDP-43, 正常および変異 FUS をそれぞれ RT-PCR, site-directed mutagenesis により DsRed 発現ベクターにクローニングした。

shRNA 発現ベクターの作製: 以下の蛋白分解系に参与する遺伝子の発現を阻止しうるラット・マウス shRNA 配列を shRNA/EGFP 発現ベクターにクローニングした; PSMC1 (proteasome 26S subunit, ATPase 1), VPS24 (vacuolar protein sorting 24), ATG5, ATG7 (autophagy 5, 7)。

組換えアデノウイルスの作製: 上記の cDNA/DsRed, shRNA/EGFP 断片をアデノウイルス・コスミドカセットにサブクローニングし、293 細胞にトランスフェクトして組換えアデノウイルスを作製し精製アデノウイルスを得た。

組換え AAV9 の作製: 上記の cDNA/DsRed, shRNA/EGFP 断片を AAV 発現プラスミドにサブクローニングし、AAV9 packaging & helper plasmids とともに 293 細胞にトランスフェクトして培養上清から精製組換え AAV9 を得た。

組換えレンチウイルスの作製: 上記の cDNA/DsRed, shRNA/EGFP 断片をレンチウイルス発現プラスミドにサブクローニングし、helper plasmids とともに 293T 細胞にトランスフェクトして培養上清から精製組換えレンチウイルスを得た。

(2) 組換えアデノウイルスを用いた培養運動ニューロン・グリア細胞における凝集体形成と細胞死の経時的観察

ニューロン、アストロサイト、またはオリゴデンドロサイトに分化すると各々 tubulin

beta-3 (TUBB3), GFAP, cyclic nucleotide phosphodiesterase (CNP) プロモータ制御下に EGFP を発現するプラスミドをラット神経前駆細胞株 1464R に導入し各安定発現株を得た。これら細胞株をレンチノイン酸負荷によって EGFP 陽性ニューロン, グリアに分化させたのち, ヒト正常または C 末断片 (208-414) TDP-43 を DsRed とともに発現する組換えアデノウイルスを共感染させた。感染 24 時間後, プロテアソーム阻害剤 MG-132 を添加し, DeltaVision (GE) によるタイムラプス蛍光撮影を 72 時間行い, 細胞質凝集体の形成と細胞死を経時的に観察した。

### (3) 成体マウス・ラット運動ニューロンにおける凝集体形成

2~3 ヶ月齢 ICR マウス, Fischer 344 ラットの顔面神経または坐骨神経に上記組換えウイルスを単独または複数の組み合わせにより 33G シリンジで注入接種した。接種 3 日後より 6 ヶ月後まで経時的に灌流固定し脳幹・脊髄の凍結切片を作成した。組換えウイルスの逆行輸送による運動ニューロンにおける導入遺伝子の発現は, DsRed, EGFP の蛍光あるいは免疫染色でモニターすることによって確認した。一方, 凝集体の周囲の細胞への播種・進展様式を解析するための予備実験として, ヒト正常 TDP-43 を EGFP とともに発現する組換え AAV9 を 1 日齢 ICR マウスの側脳室に注入接種した。接種 2,4 週~6 ヶ月後に灌流固定し脳脊髄の凍結切片を作成し, ヒト TDP-43 の長期発現を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 組換えアデノウイルスを用いた培養運動ニューロン・グリア細胞における凝集体形成と細胞死の経時的観察

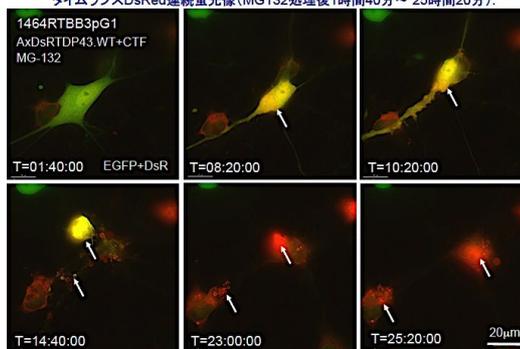
これまでの研究で, ヒト正常および C 末断片 (208-414) TDP-43, ヒト変異 FUS を発現する組換えアデノウイルス, およびプロテアソーム (PSMC1), エンドソーム (VPS24), オートファジー (ATG5) に対する shRNA を発現する組換えアデノウイルスをマウス ES 細胞由来分化運動ニューロン, ラット神経幹細胞由来ニューロン・グリア培養系に単独または混合して感染接種した。組換えウイルスは上記培養細胞系に対してほぼ 100% の感染発現効率を示し, TDP-43 または FUS/DsRed と PSMC1, ATG5 shRNA/EGFP 組換えウイルスの共感染により凝集体形成を認めた。

今回の培養タイムラプスの解析では, 組換えアデノウイルスをラット神経幹細胞由来 EGFP 陽性分化ニューロン, グリアに感染発現させ MG-132 を負荷すると, DsRed 陽性 TDP-43 凝集体が細胞質に徐々に充満し, やがて細胞膜の破綻とともに細胞死に至り, 残存した不溶性の凝集体が長時間浮遊する像が観察された。この凝集体は sarkosyl 不溶性の顆粒状構造物からなり, リン酸化 TDP-43 を含んでいた。また細胞外に放出された凝集体が隣接する細胞に取り込まれる像も観察

された。現在, 凝集体の細胞間伝播の可視化に関しても検討を行っている【図 1】。

### 【図 1】培養タイムラプス解析

図. ラット神経幹細胞由来ニューロンに DsRed/TDP43 (WT, C末断片) 組換えアデノウイルスを感染させ, MG-132(プロテアソーム阻害)存在下で細胞質凝集体を形成。凝集体(矢印)が細胞死とともに放出され, 隣接する他の細胞に取り込まれている。タイムラプス DsRed 連続蛍光像 (MG132 処理後 1 時間 40 分 ~ 25 時間 20 分)。

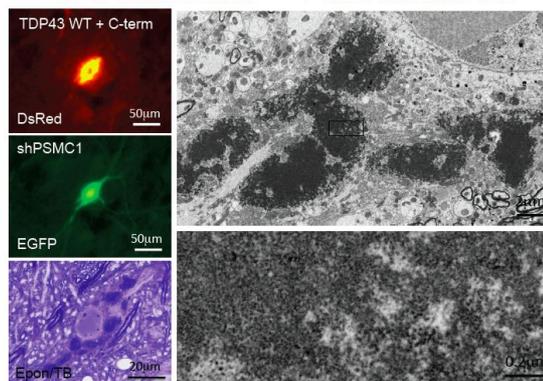


### (2) 成体マウス・ラット運動ニューロンにおける凝集体形成

成体マウス・ラットでは, 組換えアデノウイルス接種後 5 日で注入軸索からの組換えウイルスの逆行輸送により顔面神経核, 腰髄前角運動ニューロンに導入遺伝子の強い発現を認め, TDP-43 または FUS/DsRed と PSMC1, VPS24, ATG5 shRNA/EGFP 組換えウイルスの共感染により運動ニューロン細胞体に凝集体の形成が認められた【図 2】。すなわち, 運動ニューロンにおける TDP-43, FUS の凝集体形成はプロテアソームまたはオートファジーの阻害により促進されると考えられた。

### 【図 2】ラット運動ニューロン凝集体形成

ラット顔面神経に DsRed/TDP43 (WT+C-term), shPSMC1/EGFP 組換えウイルスを接種することにより, 顔面神経核運動ニューロン細胞体に凝集体を形成 (7 日後)



一方, 組換え AAV9, 組換えレンチウイルスとともに顔面神経または坐骨神経からの逆行輸送により注入後 2~4 週間で顔面神経核, 腰髄前角運動ニューロンに局限して TDP-43, FUS, shRNA 導入遺伝子の発現を認めた【図 3】。さらに, TDP-43 または FUS/DsRed と PSMC1, ATG5 shRNA/EGFP 組換え AAV9 の共感染によりマウス運動ニューロン細胞体に凝集体の形成が認められた【図 4】。

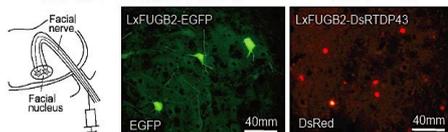
組換え AAV9 またはレンチウイルスの軸索内逆行輸送によって運動ニューロン限局的な TDP-43, FUS や shRNA の長期にわたる遺

伝子導入が可能であり、組換え AAV9 の共感染により細胞質凝集形成された。当初は感染運動ニューロンに局限するこの凝集体が伝播していくか否かを経時的に観察できると考えられる。一方、TDP-43/EGFP 組換え AAV9 の新生仔マウス側脳室注入接種により、接種 2.4 週～6 ヶ月後にわたって大脳、脳幹、脊髄に瀰漫性に EGFP 陽性ニューロンを認め、ヒト特異的 TDP-43 免疫組織化学では核が陽性に染色された。今後、このマウスにヒト TDP-43 および蛋白分解系阻害 shRNA 組換えアデノウイルスを追感染させて局所の運動ニューロンにヒト TDP-43 凝集体を形成させ、凝集体が周囲の細胞にヒト TDP-43 を介して伝播していくか否かを経時的に観察する予定である。

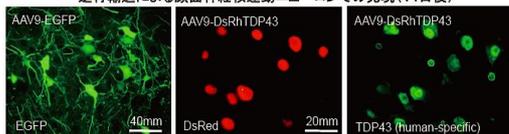
これらの実験系を用いて、細胞変性や凝集体形成のメカニズムを解析するとともに変性を抑止する方法を見出し、ALS の治療法開発に繋げていきたい。

### 【図 3】AAV9, レンチウイルスによる運動ニューロンへの逆行性遺伝子導入

組換えレンチウイルスによるマウス運動ニューロンへの逆行性遺伝子導入  
マウス顔面神経にLxFUGB2-EGFPまたはLxFUGB2-DsRed/hTDP43を注入;  
逆行伝送による顔面神経核運動ニューロンでの発現(14日後)

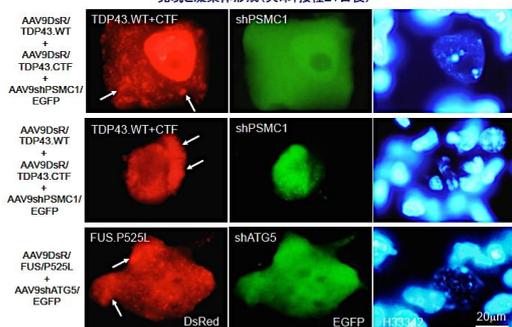


組換えAAV9によるマウス運動ニューロンへの逆行性遺伝子導入  
マウス顔面神経にAAV9-EGFPまたはAAV9-DsRed/hTDP43を注入;  
逆行伝送による顔面神経核運動ニューロンでの発現(14日後)



### 【図 4】AAV9 による凝集体形成

マウス坐骨神経にTDP43(WT, CTF)+shPSMC1,またはFUS(P525L)+shATG5  
組換えAAV9を混合接種、ウイルスの逆行伝送による腰髄前角運動ニューロンでの  
発現と凝集体形成(矢印;接種21日後)



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 18 件)

1) Niimi N, Yako H, Tsukamoto M, Takaku S, Yamauchi J, Kawakami E, Yanagisawa H,

Watabe K, Utsunomiya K, Sango K. Involvement of oxidative stress and impaired lysosomal degradation in amiodarone-induced schwannopathy. Eur J Neurosci 2016 (in press). URL [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1460-9568](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1460-9568) (査読有)

2) Bokuda K, Shimizu T, Imamura K, Kawata A, Watabe K, Hayashi M, Nakayama Y, Isozaki E, Nakano I. Predictive factors for prognosis following unsedated percutaneous endoscopic gastrostomy in ALS patients. Muscle Nerve 2016 (in press) DOI: 10.1002/mus.25051. [Epub ahead of print] (査読有)

3) Nakayama Y, Shimizu T, Hayashi K, Mochizuki Y, Nagao M, Watabe K, Kawata A, Nakano I, Oyanagi K. Predictors of impaired communication in amyotrophic lateral sclerosis patients with tracheostomy invasive ventilation. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener 2016;17:38-46.DOI:10.3109/2167842.1.2015.1055276. (査読有)

4) 渡部和彦.筋萎縮性側索硬化症とニューロパチーの病態解明をめざして;運動ニューロン・シュワン細胞病変モデルの構築と解析.九州薬学会会報 2015;69:1-5.

5) Murakami T, Sango K, Watabe K, Niimi N, Takaku S, Li Z, Yamamura K, Sunada Y. Schwann cells contribute to neurodegeneration of transthyretin amyloidosis. J Neurochem 2015;134:66-74. DOI: 10.1111/jnc.13068. (査読有)

6) Tsukamoto M, Sango K, Niimi N, Yanagisawa H, Watabe K, Utsunomiya K. Upregulation of galectin-3 in immortalized Schwann cells IFRS1 under diabetic conditions. Neurosci Res 2015;92:80-85. DOI: 10.1016/j.neures.2014.11.008. (査読有)

7) Mochizuki Y, Kawata A, Maruyama H, Homma T, Watabe K, Kawakami H, Komori T, Mizutani T, Matsubara S. A Japanese patient with familial ALS and a p.K510M mutation in the gene for FUS resulting in the totally locked-in state. Neuropathology 2014;34:504-509. DOI: 10.1111/neup.12130. (査読有)

8) Ito U, Hakamata Y, Watabe K, Oyanagi K. Mannitol infusion immediately after reperfusion suppresses the development of focal cortical infarction after temporary cerebral ischemia in gerbils. Neuropathology 2014;34:360-369. DOI: 10.1111/neup.12113. (査読有)

9) Shimizu T, Fujimaki Y, Nakatani-Enomoto S, Matsubara S, Watabe K, Ugawa Y. Complex fasciculation potentials and survival in amyotrophic lateral sclerosis. Clin Neurophysiol 2014;125:1059-1064. DOI: 10.1016/j.clinph.2013.10.052. (査読有)

10) Watabe K, Akiyama K, Kawakami E, Ishii T, Endo K, Yanagisawa H, Sango K, Tsukamoto M. Adenoviral expression of TDP-43 and FUS

genes and shRNAs for protein degradation pathways in rodent motoneurons in vitro and in vivo. *Neuropathology* 2014;34:83-98. DOI: 10.1111/neup.12058. ( 査読有 )

- 11) 渡部和彦 . 株化シュワン細胞を用いた末梢神経変性・再生機構の解析 . 末梢神経 2014;25:214-218. <http://jpns.jp/index.html>
- 12) Sango K, Kato K, Tsukamoto M, Niimi N, Utsunomiya K, Watabe K. Physiological and pathological roles of aldose reductase in Schwann cells. *J Mol Genet Med* 2014;S1: 012. DOI: 10.4172/1747-0862.S1-012 ( 査読有 )
- 13) Fu XM, Lee JK, Miwa K, Shimizu T, Takagishi Y, Hirabayashi M, Watabe K, Usui A, Kodama I, Ueda Y. Sympathetic innervation induced in engrafted engineered cardiomyocyte sheets by glial cell line derived neurotrophic factor in vivo. *Biomed Res Int* 2013; 532720. DOI:10.1155/2013/532720. ( 査読有 )
- 14) Ito U, Hakamata Y, Watabe K, Oyanagi K. Astrocytic involvement in the maturation phenomenon after temporary cerebral ischemia. *Acta Neurochir Suppl* 2013;118:23-9. DOI: 10.1007/978-3-7091-1434-6\_4. ( 査読有 )
- 15) Miwa K, Lee JK, Takagishi Y, Ophhof T, Fu X, Hirabayashi M, Watabe K, Jimbo Y, Kodama I, Komuro I. Axon guidance of sympathetic neurons to cardiomyocytes by glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). *PLoS One* 2013;8:e65202. DOI: 10.1371/journal.pone.0065202. ( 査読有 )
- 16) 三五一憲, 柳澤比呂子, 高久静香, 渡部和彦, 堀江秀典, 門屋利彦 . 末梢神経再生とガレクチン-1 . 末梢神経 2013;24:63-70. <http://jpns.jp/index.html>
- 17) 三五一憲, 渡部和彦 . シュワン細胞株をもちいた末梢神経再生機構の解析 . 臨床神経 2013;53:1117-1119. PMID: 24291897
- 18) Takaku S, Yanagisawa H, Watabe K, Horie H, Kadoya T, Sakumi K, Nakabeppu Y, Poirier F, Sango K. GDNF promotes neurite outgrowth and upregulates galectin-1 through the RET/PI3K signaling in cultured adult rat dorsal root ganglion neurons. *Neurochem Int* 2013; 62:330-339. DOI: 10.1016/j.neuint.2013.01.008. ( 査読有 )

[学会発表] (計 84 件・以下 7 件抜粋)

- 1) 渡部和彦 . 筋萎縮性側索硬化症とニューロパチーの病態解明をめざして ; 運動ニューロン・シュワン細胞病変モデルの構築と解析 . 第 7 回信州大学神経病理学セミナー , 信州大学 ( 長野県松本市 ), 2015.9.29. ( 招待講演 )
- 2) Watabe K. Schwann cell biology and pathology. Brain Conference 2014, the Joint Conference of Congress of Asian Society of Neuropathology, Korean Society for Brain and Neural Science, and Korean Society for Neurodegenerative Diseases. Seoul, Korea,

2014.11.6. ( 招待講演 )

- 3) Watabe K, Ishii T, Yanagisawa H, Sango K, Akiyama K, Kawakami E, Endo K, Tsukamoto M, Niimi N, Akutsu H, Misawa H. Myelination in coculture of rodent stem cell-derived neurons and Schwann cell lines. XVIIIth International Congress of Neuro-pathology, Rio de Janeiro, Brazil. 2014.9.17.
- 4) Ishii T, Akiyama K, Kawakami E, Yanagisawa H, Sango K, Okado H, Miwa A, Miyake K, Kato S, Kobayashi K, Misawa H, Watabe K. Retrograde axonal delivery of TDP-43 and FUS genes using AAV9 and lentivirus vectors to adult mouse motoneurons. XVIIIth International Congress of Neuropathology, Rio de Janeiro, Brazil. 2014.9.15.
- 5) 渡部和彦 . 株化シュワン細胞を用いた末梢神経変性・再生機構の解析 . 第 25 回日本末梢神経学会学術集会 , シンポジウム 3 「再生医療を用いた神経再生」, ホテルルビノ京都堀川 ( 京都府京都市 ). 2014.8.30. ( 招待講演 )
- 6) Watabe K. Adenoviral expression of TDP-43 and FUS genes and shRNAs for proteolytic pathways in rodent motoneurons in vitro and in vivo. Joint Conference of Seoul Neuropathology Forum and Korean Society of Neuropathologists. Seoul, Korea. 2012.12.8. ( 招待講演 )
- 7) 渡部和彦 . 組換えアデノウイルスを用いた ALS 運動ニューロン培養系およびモデルラットの樹立 . 第 53 回日本神経病理学会総会学術研究会 ; シンポジウム 2 「筋萎縮性側索硬化症 : TDP-43 の発見とその後」, 朱鷺メッセ ( 新潟県新潟市 ). 2012.6.29. ( 招待講演 )

[ 図書 ] ( 計 1 件 )

- 1) Sango K, Tsukamoto M, Utsunomiya K, Watabe K. Spontaneously immortalized adult rodent Schwann cells as valuable tools for the study of peripheral nerve degeneration and regeneration. In: Schwann cell development and pathology (Sango K, Yamauchi J eds), 2014, pp147-170. Tokyo: Springer.

[ 産業財産権 ]

出願状況 ( 計 0 件 )  
取得状況 ( 計 0 件 )

[ その他 ]

ホームページ [www.igakuken.or.jp/](http://www.igakuken.or.jp/)

6 . 研究組織

- (1) 研究代表者  
渡部 和彦 ( WATABE, Kazuhiko )  
公益財団法人東京都医学総合研究所・運動・感覚システム研究分野・副参事研究員  
研究者番号 : 30240477