

令和元年6月17日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06763

研究課題名(和文) 組換えウイルスを用いた筋萎縮性側索硬化症病変の発症進展機序の解明

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)

杏林大学・保健学部・教授

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)：筋萎縮性側索硬化症(ALS)では神経細胞にリン酸化TDP-43蛋白を含む細胞質凝集体が出現するが、その変性メカニズムは依然として不明である。我々はヒトTDP-43を発現する組換えアデノウイルスをプロテアソーム阻害条件下で培養ニューロンや成体ラット・マウス運動ニューロンに感染発現させ、ALSに特徴的なリン酸化TDP-43を含む細胞質凝集体形成モデルを確立した。一方、熱ショック応答のマスター制御転写因子であるHSF1によりこの細胞質TDP-43凝集体形成が顕著に抑制されることを見出し、その下流で働くTDP-43凝集体抑制分子の同定を目指している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ALSモデル動物として、これまで多数のTDP-43遺伝子改変マウス、ラットが報告されているが、ヒトALSの病態、特にTDP-43凝集体形成を忠実に反映したものは殆ど知られていない。我々は組換えウイルスを用いた独自の培養系および成体マウス・ラットTDP-43凝集体形成モデルを確立し、粗大なTDP-43凝集体が細胞死を惹起し細胞間を伝播することを培養タイムラプス解析で明らかにした。近年、熱ショック応答関連分子によるTDP-43凝集体形成抑制作用が報告されているが、いずれも明瞭な凝集体形成モデルではなく、他の未知の分子を含め臨床応用を考える上で我々の実験モデルによる詳細な検討が必要である。

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 shown that inhibition of protein degradation pathways enhanced adenovirus-induced neuronal cytoplasmic aggregate formation of TDP-43 and FUS in vitro and in vivo. We also performed time-lapse imaging analysis of neuronal and glial cells infected with adenoviruses encoding TDP-43 under conditions of proteasome inhibition and demonstrated cytoplasmic aggregate formation, cell death, and cell to cell spreading of these aggregates. These TDP-43 aggregate formation was markedly suppressed by co-infection of an adenovirus expressing heat shock transcription factor 1 (HSF1), a master regulator of heat shock response. We then performed cDNA microarray analysis to identify candidate molecules locating downstream of HSF1 that counteract TDP-43 aggregate formation.

研究分野：神経病理学・神経化学・神経内科学

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

## 1. 研究開始当初の背景

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis; ALS) は運動ニューロンの選択的な変性脱落により骨格筋・呼吸筋麻痺を来し死に至る最も過酷な神経変性疾患であり、ニューロンに細胞質凝集体が出現する。ALS の運動ニューロン病変に関しては、活性酸素・室素種の関与、細胞内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、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、2006年に TAR DNA binding protein-43 (TDP-43) が 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 を中心に飛躍的な進展を遂げたが、その凝集体形成を忠実に反映した実験モデルは殆どない。他方、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与し、ALS の発症進展機序に直接間接の影響を与えていると考えられている。さらに、近年、ALS 組織病変の進展様式として細胞内凝集体の周囲細胞への播種・伝播が想定されており、これに対応した新しい ALS 治療の方法論として、heat shock transcription factor 1 (HSF1) をマスター制御因子とする熱ショック応答を介した細胞内凝集体形成の抑制が注目を集めている。

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。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。また我々は、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局限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。さらに、組換えアデノウイルスを用いた熱ショック応答に関与する分子群の発現により、TDP-43 凝集体形成を抑制しうるか解析する。
- (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局限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を使用する主な利点は、組換えアデノウイルスにより非増殖細胞である神経細胞培養に対する高効率かつ大量の遺伝子導入が可能であること、同じ組換えウイルスにより成体齧歯類の運動ニューロンに対する逆行輸送を利用した特異的遺伝子導入が可能であること、にある。

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)、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言い難い。我々は増殖を停止し分化したマウス ES 細胞由来運動ニューロン、ラット神経幹細胞由来ニューロン・グリア、ヒト iPS 細胞由来運動ニューロンに TDP-43 組換えアデノウイルスを感染させ、80%以上の細胞に大量の組換え TDP-43 蛋白を発現誘導し、従来のプラスミド・トランスフェクション法では不可能であったヒト ALS 特有の粗大な細胞質凝集体の形成に成功した。

さらに、上記組換えアデノウイルスをそのまま成体齧歯類の実験系 (in vivo) に応用できる点が大きなメリットである。我々はこれまでに、組換えアデノウイルスを成体マウス・ラット

の末梢運動神経（顔面神経，脊髄神経）に接種すると，逆行性軸索輸送によりウイルスが運動ニューロン細胞体に運ばれ，組換え外来遺伝子が転写翻訳され蛋白が大量に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 in vivo で明瞭に順次解析していくことが可能である．

### 3．研究方法

(1) 組換えアデノウイルス，AAV9，レンチウイルスの作製：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．また，プロテアソーム（PSMC1），オートファジー（ATG5）およびエンドソーム（VPS24）発現を阻害する shRNA ベクターを構築し，これらの cDNA/DsRed，shRNA/EGFP 断片を発現するアデノウイルス，AAV9，レンチウイルスを作製した．

(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：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．

(3) 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．

(4) 培養ニューロン細胞質 TDP-43 凝集体形成を抑制する分子の探索：ヒト正常または C 末断片（208-414）TDP-43/DsRed および HSF1/EGFP を発現する組換えアデノウイルスをラット神経幹細胞 1464R 由来ニューロンに各々共感染させ，プロテアソーム阻害剤 MG-132 を負荷して DsRed 陽性 TDP-43 凝集体を形成させたのち total RNA を調製し，cDNA マイクロアレイ解析を行った．HSF1 による凝集体形成抑制に伴って発現の上昇を認めた遺伝子の蛋白翻訳領域を RT-PCR により EGFP ベクターにクローニングし，1464R 細胞にトランスフェクションして TDP-43 凝集体形成抑制効果を蛍光顕微鏡で検討した．一部の cDNA については組換えウイルスを作製し 1464R 由来ニューロンに各々共感染させ，蛍光顕微鏡およびウェスタンブロットで解析した．

### 4．研究成果

#### (1) 組換えウイルスを用いた ALS モデルの樹立

ヒト正常および変異 TDP-43 または C 末断片（208-414）TDP-43，ヒト正常および変異 FUS を DsRed とともに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 EGFP とともに発現する組換えアデノウイルスをそれぞれ作製し，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 1464R 由来ニューロン・グリア培養系，および成体ラット・マウス顔面神経に単独または混合して感染接種した．組換えアデノウイルスはこれら培養細胞系で 80%以上の感染発現効率を示し，TDP-43/DsRed 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凝集体形成を認めた．一方，成体ラット・マウスでは，組換えアデノウイルス接種後 4-5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運動ニューロンに導入遺伝子の強い発現を認め，TDP-43/DsRed 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質に凝集体の形成が認められた．以上から，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．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．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．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体形成された．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週から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。

### (2) TDP-43 凝集体形成の経時的観察

上述のように、TDP-43 発現組換えアデノウイルスをプロテアソーム阻害条件下で培養ニューロンや成体ラット・マウス運動ニューロンに感染発現させると、TDP-43 細胞質凝集体が形成される。しかし、凝集体形成と細胞死の関連は明確ではない。そこで、培養ニューロンおよびグリア細胞における TDP-43 細胞質凝集体の形成過程と細胞死をタイムラプス・イメージングにより経時的に観察した。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 TUBB3, GFAP, CNP プロモータ制御下に EGFP を発現するプラスミドを上述したラット神経幹細胞株 1464R に遺伝子導入し各安定発現株を得た。これら細胞株をレ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、ヒト正常および C 末断片 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、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。その結果、感染ニューロン、グリアの細胞質に DsRed 陽性 TDP-43 凝集体が徐々に充満し、やがて細胞膜の破綻とともに細胞死に至り、残存した不溶性凝集体が放出される像が観察された。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 を含むことを電子顕微鏡およびウェスタンブロットで確認した。また、この不溶性 TDP-43 凝集体は隣接する細胞に取り込まれ、時間とともに細胞質で増大し、凝集シードとして機能することを見出した。本実験系は TDP-43 凝集体の細胞間伝播を解析する上で有用と考えられ解析を続けている。

### (3) TDP-43 凝集体形成の抑制

一方、ALS を含む神経変性疾患に対する熱ショック応答の治療応用が近年注目を集めている。そこで、組換えウイルスを用いた熱ショック応答に関与する分子群の共発現により、上記の実験的 TDP-43 凝集体形成を抑制しうるか解析を行っている。熱ショック応答のマスター制御転写因子である HSF1 を発現する組換えアデノウイルス、およびこれまでに TDP-43 凝集抑制効果が報告されている heat shock protein 70 (HSP70), DNAJB2a または HSPB8 とともに EGFP を発現する組換えウイルスを作製し、ラット神経幹細胞 1464R 由来分化ニューロンに上述したヒト正常および C 末断片 TDP-43 を DsRed とともに発現する組換えウイルスとともに各々共感染させ、プロテアソーム阻害剤 MG-132 を負荷させた後、細胞質凝集体の形成を解析した。その結果、HSF1 組換えウイルスの共感染により TDP-43 凝集体形成は有意に抑制され、ウェスタンブロットではリン酸化 TDP-43 を含む RIPA 不溶性分画の著明な減少を認めた。一方、本研究では HSP70, DNAJB2a, HSPB8 各分子を発現する組換えウイルスには明瞭な TDP-43 凝集体形成抑制効果を認めなかった。そこで、上記正常および C 末断片 TDP-43, HSF1 組換えウイルスを 1464R 細胞由来ニューロンに共感染させ、プロテアソーム阻害剤 MG-132 を負荷、total RNA を調製し、cDNA マイクロアレイ解析を行った。その結果、HSF1 により 2 倍以上に発現が上昇する遺伝子は 64 個、HSF1 による凝集体形成抑制に伴って 2 倍以上に発現が上昇する遺伝子は 393 個同定された。現在、HSF1 の下流で働くこれら TDP-43 凝集体抑制候補分子についての発現および機能解析を行っており、ALS の新規治療法開発の糸口に繋げていきたいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

### 【雑誌論文】(計 14 件)

- 1) 渡部和彦. 組換えウイルスを用いた筋萎縮性側索硬化症病変の発症進展機序の解明. Medical Science Digest 2019;45(4):73-76. (査読無)
- 2) Moriwaki Y, Ohno Y, Ishii T, Takamura Y, Kita Y, Watabe K, Sango K, Misawa H. SIMPLE binds specifically to PI4P through SIMPLE-like domain and participates in protein trafficking in the trans-Golgi network and/or recycling endosomes. PLoS One 2018;13(6):e0199829. doi: 10.1371/journal.pone.0199829. (査読有)
- 3) Niimi N, Yako H, Takaku S, Kato H, Matsumoto T, Nishito Y, Watabe K, Ogasawara S, Mizukami H, Yagihashi S, Chung SK, Sango K. A spontaneously immortalized Schwann cell line from aldose reductase-deficient mice as a useful tool for studying polyol pathway and aldehyde metabolism. J Neurochem 2018;144:710-722. doi: 10.1111/jnc.14277. (査読有)
- 4) Yanagisawa H, Ishii H, Endo K, Kawakami E, Akiyama K, Watabe K, Komatsu M, Yamamoto D, Eto Y. L-leucine and SPNS1 coordinately ameliorate dysfunction of autophagy in mouse and human Niemann-Pick type C disease. Sci Rep 2017;7(1):15944. doi: 10.1038/s41598-017-15305-9. (査読有)
- 5) Ishii T, Kawakami E, Endo K, Misawa H, Watabe K. Myelinating coculture of rodent stem cell line-derived neurons and immortalized Schwann cells. Neuropathology 2017;37(5):475-481. doi: 10.1111/neup.12397. (査読有)
- 6) Ishii T, Kawakami E, Endo K, Misawa H, Watabe K. Formation and spreading of TDP-43

- aggregates in cultured neuronal and glial cells demonstrated by time-lapse imaging. PLoS One 2017;12(6):e0179375. doi: 10.1371/journal.pone.0179375. (査読有)
- 7) 村上龍文, 三五一憲, 渡部和彦, 新見直子, 李正花, 山村研一, 砂田芳秀. TTR 型アミロイドーシスでの末梢神経障害機序の研究: シュワン細胞の関与について. *Peripheral Nerve* 2017;27:62-67. (査読無)
  - 8) Hayashi K, Mochizuki Y, Takeuchi R, Shimizu T, Nagao M, Watabe K, Arai N, Oyanagi K, Onodera O, Hayashi M, Takahashi H, Kakita A, Isozaki E. Clinicopathological characteristics of patients with amyotrophic lateral sclerosis resulting in a totally locked-in state (communication Stage V). *Acta Neuropathol Commun* 2016;4:107. (査読有)
  - 9) Bokuda K, Shimizu T, Kimura H, Yamazaki T, Kamiyama T, Watabe K, Kawata A, Hayashi M, Isozaki E. Quantitative analysis of the features of fasciculation potentials and their relation with muscle strength in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Sci*. 2016 Dec;37(12):1939-1945. DOI: 10.1007/s10072-016-2692-9. (査読有)
  - 10) 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 Jul;44(1):1723-33. doi: 10.1111/ejn.13268. Epub 2016 Jun 7. (査読有)
  - 11) 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 Aug;54(2):277-283. doi: 10.1002/mus.25051. (査読有)
  - 12) 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* 2015;17(1-2):38-46. doi: 10.3109/21678421.2015.1055276. (査読有)
  - 13) 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)
  - 14) 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. (査読無)

#### 〔学会発表〕(計 30 件)

- 1) Watabe K, Kato Y, Sakuma M, Murata M, Niida-Kawaguchi M, Kakita A, Shibata N. HSF1 suppresses adenovirus-induced neuronal TDP-43 aggregate formation in culture. 19th International Congress of Neuropathology. September 26, 2018.
- 2) Shibata N, Niida-Kawaguchi M, Masui K, Kakita A, Watabe K. Excessive soluble iron stimulates microglia to release glutamate in ALS spinal cords. 19th International Congress of Neuropathology. September 24, 2018.
- 3) 村上龍文, 刀祢重信, 三五一憲, 渡部和彦, 水口峰之, 砂田芳秀. 家族性アミロイドポリニューロパチーTTR E61K の神経変性機序の研究: アミロイド凝集能の検討. 第 29 回日本末梢神経学会学術集会. 2018 年 9 月 7 日.
- 4) 渡部和彦, 加藤陽一郎, 佐久間美帆, 村田麻喜子, 新井田素子, 柿田明美, 柴田亮行. 熱ショック応答による TDP-43 細胞質凝集体の形成抑制効果. 第 41 回日本神経科学大会. 2018 年 7 月 28 日.
- 5) 渡部和彦, 加藤陽一郎, 佐久間美帆, 村田麻喜子, 新井田素子, 柿田明美, 柴田亮行. 熱ショック応答関連分子による TDP-43 細胞質凝集体形成の抑制効果. 第 59 回日本神経学会学術大会. 2018 年 5 月 23 日.
- 6) 柳澤比呂子, 秋山けい子, 石井智裕, 渡部和彦, 遠藤堅太郎, 河上江美子, 小松雅明, 山元大輔, 衛藤義勝. SPNS1 はニーマンピック病 C 型のオートファジー不全と関連している. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会. 2017 年 12 月 6 日.
- 7) 新井田素子, 塚原富士子, 須藤則弘, 山本智子, 澤田誠, 丸義朗, 渡部和彦, 柴田亮行. ミクログリアにおける ALS 関連変異 SOD1 蛋白の除去機構の解明. 第 12 回臨床ストレス応答学会大会. 2017 年 11 月 4 日.
- 8) 佐久間美帆, 加藤陽一郎, 村田麻喜子, 新井田素子, 柿田明美, 柴田亮行, 渡部和彦. HSF1 による培養ニューロン細胞質 TDP-43 凝集体の形成抑制. 第 12 回臨床ストレス応答学会大会. 2017 年 11 月 4 日.
- 9) Shibata N, Niida-Kawaguchi M, Kato Y, Noguchi N, Kakita A, Watabe K. Soluble iron accumulation makes microglia to overproduce and release glutamate via aconitase 1, TACE and glutaminase C in ALS spinal cords. XXIII World Congress of Neurology. September 19, 2017.
- 10) Watabe K, Kato Y, Murata M, Sakuma M, Niida-Kawaguchi M, Kakita A, Shibata N. Heat

shock response suppresses adenovirus-induced TDP-43 aggregate formation in cultured neuronal cells. XXIII World Congress of Neurology. September 19, 2017.

- 11) 佐久間美帆, 加藤陽一郎, 村田麻喜子, 新井田素子, 柿田明美, 柴田亮行, 渡部和彦. 熱ショック応答による培養ニューロン内 TDP-43 細胞質凝集体の形成抑制. 第 58 回日本神経病理学会総会学術研究会. 2017 年 6 月 3 日.
- 12) 柳澤比呂子, 秋山けい子, 石井智裕, 河上江美子, 遠藤堅太郎, 山元大輔, 渡部和彦, 衛藤義勝. ニーマンピック病 C 型における治療効果をオートファジー不全から探る. 第 30 回日本小児脂質研究会. 2016 年 11 月 26 日.
- 13) Watabe K, Ishii T, Misawa H. Adenovirus-induced TDP-43 and FUS aggregates in cultured neuronal and glial cells demonstrated by time-lapse imaging. 46th Annual Meeting of Society for Neuroscience. November 14, 2016.
- 14) 柳澤比呂子, 秋山けい子, 石井智裕, 渡部和彦, 河上江美子, 遠藤堅太郎, 山元大輔, 衛藤義勝. ニーマンピック病 C 型におけるオートファジー不全を改善する因子の解析. 第 58 回日本先天代謝異常学会総会. 2016 年 10 月 27 日.
- 15) 石井智裕, 河上江美子, 秋山けい子, 遠藤堅太郎, 三澤日出巳, 渡部和彦. TDP-43 組換えアデノウイルスによる培養ニューロン・グリア細胞内凝集体の形成過程. 第 57 回日本神経病理学会総会学術研究会. 2016 年 6 月 3 日.
- 16) 渡部和彦. 培養シュワン細胞の実験神経病理. 第 57 回日本神経病理学会総会学術研究会; シンポジウム 1 「グリア細胞から見た神経病理学». 2016 年 6 月 2 日. (招待講演)
- 17) 村上龍文, 三五一憲, 渡部和彦, 新見直子, 山下倫太郎, 李正花, 山村研一, 砂田芳秀. TTR 型アミロイドーシスの神経障害発生機序の研究: シュワン細胞の関与について. 第 57 回日本神経学会学術大会. 2016 年 5 月 18 日.
- 18) 柳澤比呂子, 石井智裕, 河上江美子, 遠藤堅太郎, 平岡由佳, 上野隆, 山元大輔, 小松雅明, 渡部和彦. L-leucine 添加によるオートファジー不全を改善するメカニズムと Spin1 との関連. 第 38 回日本分子生物学会年会, 2015 年 12 月 2 日.
- 19) 渡部和彦. 株化シュワン細胞の樹立とミエリン形成. 第 37 回神経組織培養研究会, 2015 年 11 月 8 日.
- 20) 石井智裕, 秋山けい子, 河上江美子, 柳澤比呂子, 岡戸晴生, 三輪昭子, 遠藤堅太郎, 三宅弘一, 三澤日出巳, 渡部和彦. 筋萎縮性側索硬化症における TDP-43 凝集体形成モデルの確立. 第 37 回神経組織培養研究会, 2015 年 11 月 8 日.
- 21) Moriwaki Y, Ohno Y, Ishii T, Takamura Y, Sango K, Watabe K, Misawa H. SIMPLE, a causative gene for Charcot-Marie-Tooth disease type 1C, participates in protein trafficking in trans-Golgi network and recycling endosome. 45th Annual Meeting of Society for Neuroscience. October 17-21, 2015.
- 22) 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. 2015 年 9 月 29 日. (招待講演)
- 23) 石井智裕, 河上江美子, 柳澤比呂子, 秋山けい子, 遠藤堅太郎, 三澤日出巳, 渡部和彦. 組換えアデノウイルスによる培養ニューロン細胞質内 TDP-43, FUS 凝集体形成の経時的観察. 第 58 回日本神経化学学会大会. 2015 年 9 月 13 日.
- 24) 村上龍文, 三五一憲, 渡部和彦, 大澤裕, 李正花, 山村研一, 砂田芳秀. シュワン細胞は TTR 型アミロイドーシスの神経変性に関与する. 第 26 回日本末梢神経学会学術集会. 2015 年 9 月 18 日.
- 25) 渡部和彦, 石井智裕, 柳澤比呂子, 三五一憲, 秋山けい子, 河上江美子, 遠藤堅太郎, 阿久津英憲, 三澤日出巳. 幹細胞由来ニューロンと株化シュワン細胞の共培養によるミエリン形成. 第 38 回日本神経科学大会. 2015 年 7 月 28 日.
- 26) 石井智裕, 河上江美子, 柳澤比呂子, 秋山けい子, 遠藤堅太郎, 三澤日出巳, 渡部和彦. 組換えアデノウイルスによる培養ニューロン細胞質内 TDP-43 凝集体形成の経時的観察. 第 38 回日本神経科学大会. 2015 年 7 月 28 日.
- 27) Murakami T, Sango K, Watabe K, Niimi N, Takaku S, Ohasawa Y, Li Z, Yamamura K, Sunada Y. Schwann cells contribution to neuropathy in transthyretin amyloidosis. 2015 Peripheral Nerve Society Biennial Meeting. June28-Jul2, 2015.
- 28) 石井智裕, 河上江美子, 柳澤比呂子, 秋山けい子, 遠藤堅太郎, 三澤日出巳, 渡部和彦. 組換えアデノウイルスによる培養ニューロン細胞質内 TDP-43 凝集体形成の経時的観察. 第 56 回日本神経病理学会総会学術研究会. 2015 年 6 月 5 日.
- 29) 村上龍文, 三五一憲, 渡部和彦, 新見直子, 高久静香, 李正花, 山村研一, 砂田芳秀. Schwann cells affect neuropathy in transthyretin amyloidosis. 第 56 回日本神経学会学術大会. 2015 年 5 月 22 日.
- 30) 渡部和彦, 石井智裕, 河上江美子, 柳澤比呂子, 秋山けい子, 遠藤堅太郎, 三澤日出巳. Adenovirus-induced neuronal TDP-43 aggregates demonstrated by time-lapse imaging. 第 56 回日本神経学会学術大会. 2015 年 5 月 20 日.