

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：33920

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K15470

研究課題名（和文）疾患iPS細胞を用いた運動ニューロン疾患の神経・筋相互作用分子基盤の解明

研究課題名（英文）Elucidation of molecular basis of neuromuscular interactions in motor neuron diseases using disease specific iPSCs.

研究代表者

伊藤 卓治（ITO, Takuji）

愛知医科大学・加齢医科学研究所・助教

研究者番号：30794151

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：運動ニューロン疾患特異的iPS細胞を用いた神経・筋病態の解明を行うためのシステム開発と病態解析を行った。(1)神経筋接合部（NMJ）を可視化するレポーターを構築し、NMJ形成を可視化・定量化することに成功した。(2)運動ニューロン疾患の疾患特異的iPS細胞を用いて、運動ニューロンと骨格筋を分化誘導した。その結果、表現型の一部を捉えることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疾患特異的iPS細胞を用いることで、患者由来運動ニューロンや骨格筋を用いた解析が可能になる。また、本解析で進める解析法は、様々な運動ニューロン疾患や筋疾患における神経・筋病態の解明に応用可能であり、神経・筋疾患における新たな病態解明と治療開発へと発展するものである。

研究成果の概要（英文）：We developed a system to elucidate neuromuscular pathology using motor neuron disease-specific iPSC cells. (1) We created a reporter to visualize the neuromuscular junction (NMJ) and succeeded in visualizing and quantifying NMJ formation. (2) We succeeded in capturing part of the phenotype using disease-specific iPSC cells of SBMA.

研究分野：神経科学

キーワード：運動ニューロン 骨格筋 iPS細胞 運動ニューロン疾患 タイムラプスイメージング

1. 研究開始当初の背景

球脊髄性筋萎縮症(SBMA)は中年期の男性に発症する下位運動ニューロン変性疾患である。SBMAはアンドロゲン受容体(AR)のCAGリピート(ポリグルタミン鎖)の異常伸長により発症することが示されており、これまでのモデルマウスを用いた解析により、ポリグルタミン鎖の伸長した変異ARが運動ニューロンにおいて凝集体を形成することで運動ニューロン変性がもたらされると考えられてきた。しかし、従来用いられてきた変異AR(AR-97Q)の強制発現によるSBMAモデルマウスは必ずしも患者の病態を忠実に再現しておらず、発症に要するCAGリピート数や骨格筋病理像が実際の患者とは異なるなどの問題点が指摘されてきた(Katsuno et al, 2002、Yu et al, 2006)。近年、RNA病態や骨格筋病態の関与が示されてきたが、神経変性の分子基盤は十分に解明されていない。このような問題を解決し得るのが患者由来体細胞から樹立される疾患特異的iPS細胞である。

2. 研究の目的

これまでに、SBMA疾患特異的iPS細胞を用いた神経・筋病態の解明を行うためのシステム開発を行ってきたが、本研究ではこれらの研究を進展させ、SBMAにおける神経・筋相互作用による新たな病態解明と治療標的の同定を目的としている。

3. 研究の方法

(1) ヒトiPS細胞由来骨格筋を用いた神経・筋共培養システムの確立：神経筋接合部(NMJ)を可視化するレポーターを構築した。さらに、薬剤誘導性MyoD1の発現により、ヒトiPS細胞から短時間で高効率に骨格筋細胞を安定的に誘導する培養法を確立した。この方法を用いて分化誘導したiPS細胞由来骨格筋にレンチウイルスを用いてNMJレポーターを導入し、レポーターで可視化したヒトiPS細胞由来運動ニューロンと共培養を行った(図1)。

(2) SBMAの疾患特異的iPS細胞を用いた病態再現：SBMA由来iPS細胞を用いて、運動ニューロンと骨格筋を分化誘導して、病態を解析した。

4. 研究成果

(1) 神経筋接合部(NMJ)を可視化するレポーターにより、NMJ形成を可視化・定量化することに成功した。さらに、タイムラプスイメージングにより、NMJ形成を経時的に捉えることに成功した。

(2) SBMAの疾患特異的iPS細胞を用いて、運動ニューロンと骨格筋を分化誘導し、病態を解析したところ、一部の病態を再現できた。今後は、より詳細に病態を解析していく予定である。

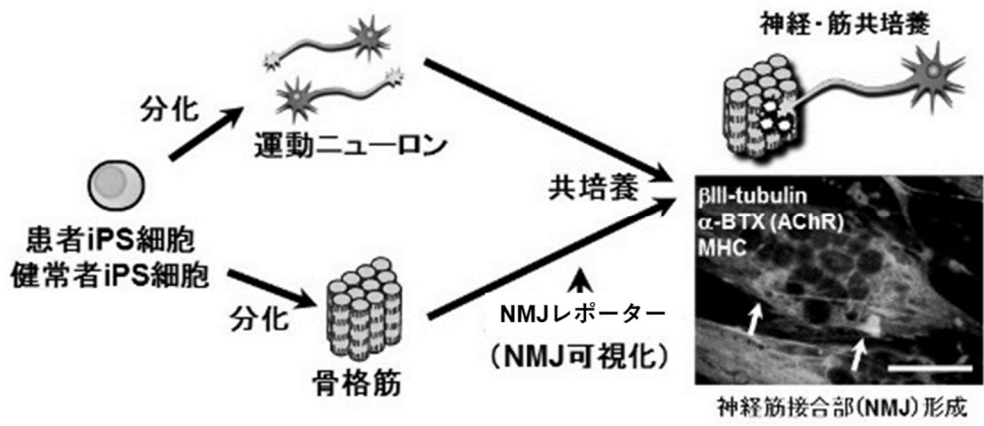


図1 疾患特異的iPS細胞による神経・筋共培養システム

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Rashid MI, Ito T, Miya F, Shimojo D, Arimoto K, Onodera K, Okada R, Nagashima T, Yamamoto K, Khatun Z, Shimul RI, Niwa J, Katsuno M, Sobue G, Okano H, Sakurai H, Shimizu K, Doyu M, Okada Y	4. 巻 13(1)
2. 論文標題 Simple and efficient differentiation of human iPSCs into contractible skeletal muscles for muscular disease modeling.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 8146-8146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-34445-9	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 Nakamura R et al	4. 巻 -
2. 論文標題 Genetic factors affecting survival in Japanese patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis: a genome-wide association study and verification in iPSC-derived motor neurons from patients.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Neurol Neurosurg Psychiatry.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/jnnp-2022-330851	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 Jahan M, Tsuzuki T, Ito T, Bhuiyan M, Takahashi I, Takamatsu H, Kumanogoh A, Negishi T, Yukawa K	4. 巻 13
2. 論文標題 PlexinA1-deficient mice exhibit decreased cell density and augmented oxidative stress in parvalbumin-expressing interneurons in the medial prefrontal cortex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 IBRO Neurosci. Rep.	6. 最初と最後の頁 500-512
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ibneur.2022.11.002	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 Yokoi S, Ito T, Sahashi K, Nakatochi M, Tohna G, Nakamura R, Fujioka Y, Ishigaki S, Udagawa T, Izumi Y, Morita M, Kano O, Oda M, Sone T, Okano H, Atsuta N, Katsuno M, Okada Y, Sobue G.	4. 巻 42 (47)
2. 論文標題 The SYNGAP1 3'UTR variant in ALS patients causes aberrant SYNGAP1 splicing and dendritic spine loss by recruiting HNRNPK	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Neurosci.	6. 最初と最後の頁 8881-8896
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.0455-22.2022	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 Yamamoto K, Yamaoka N, Imaizumi Y, Nagashima T, Furutani T, Ito T, Okada Y, Honda H, Shimizu K	4. 巻 21
2. 論文標題 Development of a Human Neuromuscular Tissue-on-a-Chip Model on a 24-Well-Plate-Format Compartmentalized Microfluidic Device	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 1897-1907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1lc00048a.	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 *Jahan M, *Ito T, Ichihashi S, Masuda T, Bhuiyan M, Takahashi I, Takamatsu H, Kumanogoh A, Tsuzuki T, Negishi T, Yukawa K.	4. 巻 Oct 22;9
2. 論文標題 PlexinA1 deficiency in BALB/cAJ mice leads to excessive self-grooming and reduced prepulse inhibition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IBRO reports	6. 最初と最後の頁 276 - 289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ibror.2020.10.004	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 Onodera K, Shimojo D, Ishihara Y, Yano M, Miya F, Banno H, Kuzumaki N, Ito T, Okada R, de Araujo Herculano B, Ohyama M, Yoshida M, Tsunoda T, Katsuno M, Doyu M, Sobue G, Okano H, Okada Y	4. 巻 Feb 19
2. 論文標題 Unveiling synapse pathology in spinal bulbar muscular atrophy by genome-wide transcriptome analysis of purified motor neurons derived from disease specific iPSCs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Brain	6. 最初と最後の頁 13(1):18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-0561-1.	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 Okada R, Onodera K, Ito T, Doyu M, Okano HJ, Okada Y.	4. 巻 Feb;163
2. 論文標題 Modulation of oxygen tension, acidosis, and cell density is crucial for neural differentiation of human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci Res.	6. 最初と最後の頁 34-42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.01.015	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 Hyodo T, Rahman ML, Karnan S, Ito T, Toyoda A, Ota A, Wahiduzzaman M, Tsuzuki S, Okada Y, Hosokawa Y, Konishi H.	4. 巻 Jan 28;30(4)
2. 論文標題 Tandem Paired Nicking Promotes Precise Genome Editing with Scarce Interference by p53	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 1195-1207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.12.064.	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 Nao Yamaoka, Shimizu Kazunori, Yu Imaizumi, Takuji Ito, Yohei Okada, Hiroyuki Honda	4. 巻 Jun 13
2. 論文標題 Open-Chamber Co-Culture Microdevices for Single-Cell Analysis of Skeletal Muscle Myotubes and Motor Neurons with Neuromuscular Junctions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BioChip Journal	6. 最初と最後の頁 127-132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13206-018-3202-3	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 Onodera K, Shimojo D, Ishihara Y, Yano M, Miya F, Banno H, Kuzumaki N, Ito T, Okada R, de Araujo Herculano B, Ohyama M, Yoshida M, Tsunoda T, Katsuno M, Doyu M, Sobue G, Okano H, Okada Y	4. 巻 Feb 19
2. 論文標題 Unveiling synapse pathology in spinal bulbar muscular atrophy by genome-wide transcriptome analysis of purified motor neurons derived from disease specific iPSCs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Brain	6. 最初と最後の頁 13(1):18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-0561-1.	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 Okada R, Onodera K, Ito T, Doyu M, Okano HJ, Okada Y.	4. 巻 Jan 31
2. 論文標題 Modulation of oxygen tension, acidosis, and cell density is crucial for neural differentiation of human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurosci Res.	6. 最初と最後の頁 30043-2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.01.015.	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 Hyodo T, Rahman ML, Karnan S, Ito T, Toyoda A, Ota A, Wahiduzzaman M, Tsuzuki S, Okada Y, Hosokawa Y, Konishi H.	4. 巻 Jan 28;30(4)
2. 論文標題 Tandem Paired Nicking Promotes Precise Genome Editing with Scarce Interference by p53.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 1195-1207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.12.064.	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 Hossain M, Tsuzuki T, Sakakibara K, Imaizumi F, Ikegaya A, Inagaki M, Takahashi I, Ito T, Takamatsu H, Kumanogoh A, Negishi T, Yukawa K	4. 巻 14(8)
2. 論文標題 PlexinA1 is crucial for the midline crossing of callosal axons during corpus callosum development in BALB/cAJ mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0221440
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0221440. eCollection 2019.	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 Nao Yamaoka, Shimizu Kazunori, Yu Imaizumi, Takuji Ito, Yohei Okada, Hiroyuki Honda	4. 巻 in press
2. 論文標題 Open-Chamber Co-Culture Microdevices for Single-Cell Analysis of Skeletal Muscle Myotubes and Motor Neurons with Neuromuscular Junctions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BioChip Journal	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13206-018-3202-3	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 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 小野寺一成、下門大祐、石原康晴、太田明伸、Muhammad Irfanur Rashid、伊藤卓治、岡田梨奈、細川好孝、道勇学、祖父江元、勝野雅央、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) の早期病態解明と治療開発
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Khatun Z, Onodera K, Yamaguchi S, Okada R, Ito T, Rashid MI, Inoue H, Aoki M, Okano H, Doyu M, Okada Y
2. 発表標題 Establishment of a more efficient disease model for ALS using feeder-free disease specific iPSCs
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤卓治、ラシッド ムハンマド イルファヌール、小野寺一成、岡田梨奈、下門大祐、田中智史、勝野雅央、祖父江元、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 疾患iPS細胞由来神経・筋共培養モデルを用いた運動ニューロン疾患の非細胞自律的神経変性を担う分子病態の解明
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Rashid MI, Ito T, Miya F, Shimojo D, Arimoto K, Onodera K, Okada R, Nagashima T, Yamamoto K, Khatun Z, Okano H, Sakurai H, Shimizu K, Doyu M, Okada Y
2. 発表標題 Bulk differentiation of iPSCs into contractible muscles for muscular disease modeling
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Khatun Z, Onodera K, Yamaguchi S, Okada R, Ito T, Rashid MI, Inoue H, Aoki M, Okano H, Doyu M, Okada Y
2. 発表標題 Establishment of a more efficient disease model for ALS using feeder-free disease specific iPSCs
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤卓治、ラシッド ムハンマド イルファヌール、小野寺一成、岡田梨奈、下門大祐、田中智史、勝野雅央、祖父江元、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 疾患iPS細胞由来神経・筋共培養モデルを用いた運動ニューロン疾患の非細胞自律的神経変性を担う分子病態の解明
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Khatun Z, Onodera K, Yamaguchi S, Okada R, Ito T, Rashid MI, Inoue H, Aoki M, Okano H, Doyu M, Okada Y
2. 発表標題 Establishment of a more efficient disease model for ALS using feeder-free disease specific iPSCs
3. 学会等名 第33回日本末梢神経学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤卓治、ラシッド ムハンマド イルファヌール、小野寺一成、岡田梨奈、下門大祐、田中智史、勝野雅央、祖父江元、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 疾患iPS細胞由来神経・筋共培養モデルを用いた運動ニューロン疾患の非細胞自律的神経変性を担う分子病態の解明
3. 学会等名 第33回日本末梢神経学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小野寺一成、下門大祐、Bruno De Araujo Herculano ¹ 、石原康晴、依田真由子、太田明伸、矢野真人、宮冬樹、Rashid Muhammad Irfanur、伊藤卓治、岡田梨奈、角田達彦、細川好孝、道勇学、祖父江元、勝野雅央、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 Elucidating early pathophysiology of spinal-bulbar muscular atrophy using disease-specific iPSCs
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤 卓治, ラシッド ムハンマド, イルファヌール, 田中 智史, 下門 大祐, 岡野 栄之, 道勇 学, 岡田, 洋平
2. 発表標題 ヒトiPS細胞由来運動ニューロンと骨格筋を用いた機能的神経筋共培養モデルの構築
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会 / CJK第1回国際会議 (神戸)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takuji Ito, Muhammad Irfanur Rashid, Satoshi Tanaka, Daisuke Shimojo, Hideyuki Okano, Manabu Doyu, Yohei Okada
2. 発表標題 ESTABLISHMENT OF IPSC-DERIVED NEUROMUSCULAR CO-CULTURE MODEL FOR THE ANALYSIS OF NON-CELL AUTONOMOUS NEURODEGENERATION IN MOTOR NEURON DISEASES
3. 学会等名 ISSCR/JSRM 2021 Tokyo International Symposium (Tokyo) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤卓治, 小野寺一成, 小野寺一成, 下門大祐, 下門大祐, 田中智史, 田中智史, 岡田梨奈, RASHID Muhammad Irfanur, 道勇学, 岡野栄之, 岡田洋平
2. 発表標題 疾患iPS細胞による神経・筋共培養を活用した神経変性疾患の病態解析
3. 学会等名 日本再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ito T, Tanaka S, Shimojo D, Doyu M, Okano H, Okada Y
2. 発表標題 ELUCIDATION OF NONCELL AUTONOMOUS NEURODEGENERATION IN SPINAL AND BULBAR MUSCULAR ATROPHY USING IPSC-DERIVED NEUROMUSCULAR MODELS
3. 学会等名 International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 2019 Annual Meeting (Los Angeles) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Onodera K, Ito T, Shimojo D, Ishihara Y, Doyu M, Katsuno M, Okano H, Sobue G, Okada Y.
2. 発表標題 Pathophysiological analysis of spinal and bulbar muscular atrophy using disease-specific iPSCs
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Okada Y, Onodera K, Ito T, Shimojo D, Okada R, Ishihara Y, Tanaka S, Katsuno M, Doyu M, Sobue G, Okano H.
2. 発表標題 Pathophysiological analysis of Spinal-bulbar muscular atrophy using disease specific iPSCs.
3. 学会等名 ISSCR 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ito T, Tanaka S, Shimojo D, Doyu M, Okano H, Okada Y.
2. 発表標題 Establishment of iPSC-derived neuromuscular models for the analysis of non-cell autonomous neurodegeneration in motor neuron diseases.
3. 学会等名 ISSCR 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡田洋平、小野寺一成、依田真由子、伊藤卓治、勝野雅央、道勇学、祖父江元、岡野栄之
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経変性疾患の早期病態の解明
3. 学会等名 新学術領域「脳たんぱく質老化と認知症制御」第8回班員会議・第4回リトリート
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤卓治、田中智史、下門大祐、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 iPS細胞を用いた神経筋接合部可視化システムおよび機能評価系の構築
3. 学会等名 新学術領域「脳たんぱく質老化と認知症制御」第8回班員会議・第4回リトリート
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡田洋平、小野寺一成、依田真由子、伊藤卓治、岡田梨奈、勝野雅央、道勇学、祖父江元、岡野栄之
2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いた神経変性疾患の早期病態の解明
3. 学会等名 新学術領域「脳たんぱく質老化と認知症制御」第9回班員会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤卓治、田中智史、下門大祐、道勇学、岡野栄之、岡田洋平
2. 発表標題 疾患iPS細胞による神経・筋共培養を活用した新たな病態解析システムの構築
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山岡奈央、清水一憲、今泉裕、伊藤卓治、岡田洋平、本多裕之
2. 発表標題 マイクロデバイスを用いたヒトiPS由来運動神経細胞と骨格筋細胞の三次元共培養
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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