

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：32644

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650189

研究課題名(和文)オートファジー系を分子標的とする新規神経疾患治療薬スクリーニング系の開発

研究課題名(英文) Toward a development of the novel drug-screening system based on monitoring autophagy dynamics

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) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：筋萎縮性側索硬化症(ALS)は、運動ニューロンの選択的変性を特徴とする神経変性疾患である。本研究では、細胞・個体レベルでのオートファジー動態の可視化を可能にする新たなツールを開発するため、mKeima-RedとLC3Bの融合タンパク質を発現する新たなTGマウスの作出を試みた。その結果、神経系及び心筋・骨格筋においてmKeimaRed_LC3Bを高発現する2系統のTGマウスを樹立するとともに、培養細胞実験によりmKeimaRed_LC3B動態観察によりオートファゴソームの成熟過程をモニターすることに成功した。今後、これらのツールを用いて、治療候補化合物のスクリーニングを継続する必要がある。

研究成果の概要(英文)：The autophagy-endolysosomal system is an evolutionarily conserved degradation system that is tightly linked to a wide variety of physiological processes. Dysfunction of this system is associated with many neurodegenerative diseases including amyotrophic lateral sclerosis (ALS). In this study, we sought to generate a novel analytical tool for the autophagy-endolysosomal system in vivo. First, we generated the expression construct encoding mKeimaRed_LC3B chimeric protein, and successfully detected the bimodal excitation spectrum of mKeimaRed_LC3B in HeLa cells under starved conditions. Then, we microinjected it into fertilized eggs from C57BL/6 mice, and transplanted them into the oviduct of pseudopregnant recipient mice. As a result, we have successfully established 2 lines of transgenic mouse expressing mKeima-Red_LC3B, particularly in heart, skeletal muscle and the central nervous system. These mice could become useful tools for development of the new drug-screening systems.

研究分野：神経解剖学・神経病理学

キーワード：脳神経疾患 脳・神経 トランスレショナルリサーチ 動物 神経科学

1. 研究開始当初の背景

筋萎縮性側索硬化症(ALS)を含めた多くの神経変性疾患の病因は未だ不明であり、その有効な治療法・治療薬はない。神経変性疾患の発症・進行を防御するためには、疾患要因を分子標的とした治療薬開発研究の推進が極めて重要である。近年、異常タンパク質の脳神経系組織における蓄積が、神経細胞の機能障害ならびに神経細胞死に関わっていることが明らかにされた。そして、遅発性・進行性という特徴を有する多くの神経変性疾患では、異常タンパク質の産生が上昇するというより、むしろ異常タンパク質の分解系が十分に機能しないため、徐々に異常タンパク質が蓄積するものと考えられている。また、ALS では、神経細胞の軸索における異常な形態の膜小胞および細胞内小器官の蓄積、および軸索変性が、細胞体自体の変性・脱落よりも先行して起こるとされ、膜小胞・物質移送系と連携した異常タンパク質の蓄積、細胞内小器官の異常が注目されている。これまでに、我々は、家族性ALSの原因遺伝子ALS2を同定し(Hadanoら, Nat Genet 2001)、その遺伝子産物であるALS2が細胞における膜小胞移送ならびにタンパク分解に関与することを示してきた(Hadanoら, PLoS ONE 2010, Otomoら, FEBS Lett 2011)。特に最近、オートファジー・リソソーム系の変調が、疾患の発症及び進行を左右する重要な要因と考えられるに至った。従って、膜小胞・物質移送と連携したタンパク質分解系は、神経変性疾患の発症及び進行に強く関連しており、よって、そのような細胞内調節系は新たな治療標的系と捉えることができる。しかし、これまでにその様な細胞内恒常性維持機構の改善を目指した疾患治療薬の開発研究はほとんど行われていない。

2. 研究の目的

本研究は、未だ有効な治療法が無いALSの次世代分子標的治療薬の開発を目指すものである。そのために本研究では、新たな治療標的としてオートファジー・リソソーム系に焦点を当て、「膜小胞移送と連携した異常タンパク質の分解と細胞内小器官の恒常性維持作用」の定量的計測に基づく薬剤スクリーニング系を確立することを目的とする。具体的には、細胞・個体レベルでのオートファジー動態の可視化を可能にする新たなツールを開発するため、mKeima-RedとLC3の融合タンパク質を発現する新たなTGマウスの作出を試みた。

3. 研究の方法

(1) GFP-LC3 発現 ALS マウスモデルの作出と解析

本研究では、神経変性疾患の中でも最も過酷とされている神経難病ALSのマウスモデルの中で、変異SOD1トランスジェニック

(TG)マウス系統(SOD1^{H46R})を用いた。先行研究の解析結果から、SOD1^{H46R}マウスでは緩徐型ALS様表現型を呈するとともに、オートファゴソーム等の異常膜小胞の蓄積を伴う軸索変性を示すことが明らかとなっている。変異SOD1-TGマウスとオートファゴソームを可視化することができる既存のGFP-LC3B-TGマウスを各々交配し、神経変性疾患発症・進行に伴うオートファジー・リソソーム系の異常を可視化できる評価系動物(GFP-LC3;SOD1^{H46R})を作出した。その上で、該当マウスの体重及び生存分析を行うことにより、LC3分子の過剰発現がALSマウスモデルの疾患症状に及ぼす影響について解析した。

(2) mKeimaRed_LC3B 融合タンパク質発現コンストラクトの構築

ヒトLC3BをコードするMAP1LC3B遺伝子由来のcDNAをRT-PCR法により増幅し、CAGプロモーター及びCMVプロモーター制御下でmKeima-Redとの融合タンパク質として発現するコンストラクトを構築した。

(3) mKeimaRed_LC3B 融合タンパク質発現コンストラクトを用いたオートファジー動態解析

オートファジーを誘導した状況下でのmKeimaRed_LC3Bの動態を観察するため、HeLa細胞にEffectene Transfection Reagent(QIAGEN)を用いて、mKeimaRed_LC3B融合タンパク質発現コンストラクトをトランスフェクションした。FBSを含むDMEM培地で培養後、血清を含まないHBSS培地に交換してさらに培養した。その後、レーザー共焦点顕微鏡、蛍光顕微鏡、及び細胞ソーティング(FACS)を用いてmKeimaRed_LC3Bの動態を観察した。

(4) マイクロインジェクションによるmKeimaRed_LC3B 融合タンパク質発現マウスの作出

pCAG_mKeima-Red_LC3BコンストラクトのNotI断片(ベクター部分を除去)を、C57BL/6マウスから採取した受精卵にマイクロインジェクションした。それらの中から生存受精卵を選び、偽妊娠させた仮親マウスの卵管に移植した。得られた仔マウスの遺伝子型をPCR法により解析し、さらに陽性個体(F₀)を野生型マウスと交配させることにより、F₁個体を得た。F₁個体での遺伝子型及び挿入TG遺伝子コピー数の分析を定量的PCR法により行った。得られたF₁マウスからさらにF₂マウスを作出し、TGマウス系統を樹立した。

(5) mKeimaRed_LC3B 融合タンパク質発現マウスの発現タンパク質組織分布の解析

樹立した各系統のマウスの組織を採取し、タンパク質を抽出した。タンパク質サンブ

ルは、SDS-PAGE により展開し、その後、PVDF 膜上に転写した後、抗 LC3 抗体 (MBL) を用いた Western blot 法により導入遺伝子に由来する mKeimaRed_LC3B 融合タンパク質の発現を検出した。

4. 研究成果

(1) GFP-LC3 発現 ALS マウスモデルの作出と解析

GFP-LC3B-TG マウスと SOD1^{H46R} 発現 ALS モデルマウスとの交配実験を行った結果、LC3B の過剰発現は疾患の発症及び進行自体には影響しないことが明らかとなった。また、GFP-LC3B タンパク質の解析により、神経変性疾患症状の進行に伴って、オートファゴソームが蓄積することも明らかとなった。従って、LC3B 分子は、ALS 疾患進行時のオートファジー・リソソーム系の異常検出に有効なマーカーであることが示された。

(2) mKeimaRed_LC3B 融合タンパク質発現コンストラクトの構築

マウス全身で導入遺伝子を発現する系統を作出するため、遺伝子プロモーターとして CAG プロモーター制御下で mKeimaRed_LC3B を発現する発現コンストラクトを構築した。また、各種動物細胞での mKeima-Red_LC3B 及び mKeima-Red の発現動態解析を行うため、CMV プロモーター制御下で発現するコンストラクトも同時に構築した。

(3) mKeimaRed_LC3B 融合タンパク質発現コンストラクトを用いたオートファジー動態解析

培養細胞レベルでの検討については、既にこれまでに利用されてきた EGFP-LC3B を陽性対照群として、mKeima-Red 融合型 LC3B の細胞内で発現及び経時的動態に関して検討した。その結果、mKeima-Red 融合型 LC3B は、EGFP 融合型のものと同様に飢餓培養条件下でオートファゴソームへの局在化することが確認された。さらに、栄養飢餓によりオートファジーが亢進することに伴って引き起こされる mKeima-Red_LC3B 融合タンパク質の pH 依存性励起スペクトルの経時的变化を捉えることに成功した。従って、mKeima-Red_LC3B 融合タンパク質は、経時的オートファジー動態の変動を測定する新たなツールとしての利用が可能であると考えられた。

(4) マイクロインジェクションによる mKeimaRed_LC3B 融合タンパク質発現マウスの作出

pCAG_mKeima-Red_LC3B コンストラクトの NotI 断片 (ベクター部分を除去) を、C57BL/6 マウスから採取した 428 個の受精卵にマイクロインジェクションした。それ

らの中から 369 個の生存受精卵を選び、仮親マウスの卵管に移植し、60 匹の仔マウスを得た。PCR 法により、この中の 4 匹 (F₀ マウス) のゲノムに mKeima-Red_LC3B の DNA 配列が導入されていることを確認した。F₀ 個体を野生型マウスと交配させることにより F₁ 個体を得た。生殖系列細胞での遺伝的伝搬が確認できた 3 系統の F₁ 個体での挿入 TG 遺伝子コピー数の分析を、定量的 PCR 法により行った。その結果、Line #4、#12-1、及び #21 におけるコピー数は、各々 1 コピー、80-100 コピー、及び 8-10 コピーであることが判明した。

(5) mKeimaRed_LC3B 融合タンパク質発現マウスの発現タンパク質組織分布の解析

交配により得られた 3 系統の F₁ マウス (Line #4、#12、及び #21) における導入遺伝子のタンパク質レベルで発現を解析するため、各種臓器・組織を採取し、Western blot 法により発現解析を行った。その結果、Line#1 においては、mKeima-Red_LC3B 融合タンパク質の発現は検出されなかった。一方、Line#12 及び Line#21 については、脳神経系、骨格筋、及び心筋において mKeima-Red_LC3B を発現することを確認した。特に、その発現量は、Line#21 で高いことが判明した。本実験では、CAG プロモーターにより導入遺伝子の発現を制御するようにデザインしたが、結果として肝臓等の多くの末梢臓器での発現は低く、神経・筋細胞において特異的に高発現するマウス系統が作出された。

(6) 今後の展望

本研究では、神経系及び心筋・骨格筋において mKeimaRed_LC3B を高発現する 2 系統の TG マウスを樹立するとともに、培養細胞実験により mKeimaRed_LC3B 動態観察によりオートファゴソームの成熟過程をモニターすることに成功した。今後、樹立された mKeima-Red_LC3B TG マウスにおける個体レベルでのオートファジー反応性、及び初代培養細胞を用いたオートファジー・リソソーム系の定量的計測に基づく新たな薬剤スクリーニング系の確立を目指す計画である。また、より幅広い臓器・組織で mKeimaRed_LC3B 融合タンパク質を発現する系統を樹立するため、現在、TG マウスの作出を継続している。DBF1 受精卵へのマイクロインジェクションを行うことにより、現時点ですでに新たな 20 匹の F₀ マウスの作出に成功している。これらのマウスについても今後解析を進める計画である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

- 1) Yang, Y., Tang, L., Zhang, N., Pan, L., Hadano, S., and Fan, D. -S. (2015) Six SQSTM1 mutations in a Chinese

- amyotrophic lateral sclerosis cohort. *Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemp. Degen.* (in press) (査読有り)
- 2) 秦野伸二 (2014) 動物実験の基本的考え方と関連法規等について. *日本香粧品学会誌* 38 (4)、250-257 (査読無し).
 - 3) Chen, Y. P., Zheng, Z. Z., Chen, X. P., Huang, R., Yang, Y., Yuan, L. X., Pan, L., Hadano, S., and Shang, H. -F. (2014) *SQSTM1* mutations in Han Chinese populations with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol. Aging* 35 (3), 726.e7-726.e9. (査読有り) DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.09.008
 - 4) Kanno, T., Tanaka, K., Yanagisawa, Y., Yasutake, K., Hadano, S., Yoshii, F., Hirayama, N., and Ikeda, J. -E. (2012) A novel small-molecule, N-(4-(2-pyridyl)(1,3-thiazol-2-yl))-2-(2,4,6-trimethylphenoxy)acetamide, selectively protects against oxidative stress-induced cell death by activating the Nrf2-ARE pathway: Therapeutic implications for ALS. *Free Radical Biol. Med.* 53 (11), 2028-2042. (査読有り) DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.010
 - 5) Otomo, A., Pan, L., and Hadano, S. (2012) Dysregulation of the autophagy-endolysosomal system in amyotrophic lateral sclerosis and related motor neuron diseases. *Neurol. Res. Int.* 2012, Article ID 498428, doi:10.1155/2012/498428. (査読有り) DOI: 10.1155/2012/498428
 - 6) Pan, L., Yoshii, Y., Otomo, A., Ogawa, H., Iwasaki, Y., Shang, H. -F., and Hadano, S. (2012) Different human copper-zinc superoxide dismutase mutants, SOD1^{G93A} and SOD1^{H46R}, exert distinct harmful effects on gross phenotype in mice. *PLoS ONE* 7 (3), e33409. (査読有り) DOI: 10.1371/journal.pone.0033409
- [学会発表](計 29 件)
- 1) Pan, L., Otomo, A., Koike, M., Uchiyama, Y., Aoki, M., Abe, K., Ishii, T., Yanagawa, T., Shang, H. -F., Yoshii, F., and Hadano, S. (2014) p62/SQSTM1 deficiency accelerates motor neuron degeneration in SOD1^{H46R} transgenic mice. *Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemp. Degen.* 15 (suppl. 1), 11 (C18) (25th International Symposium on ALS/MND, Brussels, Belgium, December 5-7).
 - 2) Hadano, S., Wang, T., Tanaka, M., Hayashi, H., Ogiwara, S., Okada, C., Itoh, M., Fukunishi, N., Iida, Y., Nakamura, A., Otomo, A., and Ohtsuka, M. (2014) Generation and characterization of a novel transgenic mouse model for monitoring the autophagy-endolysosomal system. 第 37 回日本分子生物学会年会、プログラム、266 (2P-0944)、パシフィコ横浜 (神奈川県、横浜市)(Nov 25-27).
 - 3) 小野寺和歌奈、大友麻子、福田光則、秦野伸二 (2014) 筋萎縮性側索硬化症原因遺伝子産物 ALS2 に結合する新規調節因子 Rab30 の機能解析 (Onodera, W., Otomo, A., Fukuda, M., and Hadano, S. (2014) Identification and characterization of a novel ALS2 interacting protein Rab30.). 第 37 回日本分子生物学会年会、プログラム、301 (3P-0384)、パシフィコ横浜 (神奈川県、横浜市)(Nov 25-27).
 - 4) 小野鈴花、大友麻子、福田光則、秦野伸二 (2014) ALS2 及び新規 ALS2 結合低分子量 G タンパク質 Rab17 の細胞内局在解析 (Ono, S., Otomo, A., Fukuda, M., and Hadano, S. (2014) Subcellular distribution of ALS2 and the novel ALS2-interacting small G protein Rab17.). 第 37 回日本分子生物学会年会、プログラム、301 (3P-0385)、パシフィコ横浜 (神奈川県、横浜市)(Nov 25-27).
 - 5) Hadano, S., Pan, L., Otomo, A., Abe, K., Koike, M., Uchiyama, Y., Aoki, M., Ishii, T., Yanagawa, T., Shang, H. -F., and Yoshii, F. (2014) Loss of p62/SQSTM1, an autophagy substrate, aggravates motor dysfunction in a SOD1^{H46R}-expressing mouse ALS model. Oral Session: Polyglutamine Diseases, ALS, SCD, Other Neurodegenerative Disorders 1, 01-I-1-1、第 37 回日本神経科学大会 (Neuroscience2014)、パシフィコ横浜 (神奈川県、横浜市) (September 11-13).
 - 6) 秦野伸二 (2014) 動物実験の基本的考え方と関連法規等について (Principles for biomedical research involving laboratory animals and their regulations). 第 39 回日本香粧品学会、シンポジウム (香粧品の更なる安心・信頼を追求するための新しい視点)、有楽町朝日ホール (東京都、千代田区) (June 5-6). (招待講演)
 - 7) 秦野伸二、潘雷、大友麻子、阿部幸一郎、小池正人、内山安男、青木正志、吉井文均、石井哲郎、柳川徹 (2014) オートファジー関連因子 p62/SQSTM1 の機能喪失は ALS マウスモデルの疾患症状を悪化

- させる.日本実験動物科学技術さっぽろ 2014 : 第 61 回日本実験動物学会総会/ 第 48 回日本実験動物技術者協会総会、講演要旨集、p190 (0088-S)、札幌コンベンションセンター(北海道、札幌市)(May 15-17) .
- 8) 秦野伸二 (2014) SQSTM1 遺伝子変異が筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の発症に及ぼす影響. 東海大学総合医学研究所第 17 回公開研究報告会、東海大学医学部(神奈川県、伊勢原市)(March 28) .
- 9) 秦野伸二 (2013) SQSTM1 遺伝子変異が筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の発症に及ぼす影響. 第 7 回オートファジー研究会兼新学術領域「オートファジー」第 1 回班会議、ヤマハリゾートつま恋(静岡県、掛川市)(December 19-21) .
- 10) Chen, Y., Chen, X., Huang, R., Zheng, Z., Wei, Q., Guo, X., Pan, L., Hadano, S., and Shang, H. (2013) SQSTM1 mutations in sporadic Chinese patients with amyotrophic lateral sclerosis. 24th International Symposium on ALS/MND, SW06, Milan, Italy (December 6-8).
- 11) Pan, L., Otomo, A., Abe, K., Ogawa, H., Chiba, T., Koike, M., Uchiyama, Y., Aoki, M., Yoshii, F., Ishii, T., Yanagawa, T., and Hadano, S. (2013) Loss of p62/SQSTM1 exacerbates motor dysfunction in a mutant SOD1-expressing mouse ALS model. Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemp. Degen. 14 (suppl. 1), 180-181 (P217) (24th International Symposium on ALS/MND, Milan, Italy, December 6-8).
- 12) 秦野伸二 (2013) 細胞内エンドソーム動態と神経変性. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業神経変性疾患に関する調査研究班、「病態に根ざした ALS の新規治療法開発」分科班、平成 25 年度ワークショップ、プログラム・要旨集、p3、都市センターホテル(東京都、千代田区)(September 27) .
- 13) Hadano, S. (2013) Molecular pathogenesis of ALS/MNDs: Dysfunction of autophagy-endolysosomal system. Fujian Conference of Neurology on Neurodegenerative Diseases, Invited lecture at Fujian Medical University, Fuzhou, China (July 4).
- 14) Nagata, E., Moriya, Y., Fujii, N., Kohara, S., Satoh, T., Takao, M., Pan, L., Ogawa, H., Hadano, S., Mihara, B., and Takizawa, S. (2013) Inositol hexakisphosphate kinase 2 is one of the candidate molecules as diagnostic marker for amyotrophic lateral sclerosis. Neuro2013 : 第 36 回日本神経科学学会大会/第 56 回日本神経化学学会大会/第 23 回日本神経回路学会大会、02-9-1-1、京都国際会館(京都府、京都市)(June 20-23) .
- 15) Otomo, A., Pan, L., Ogawa, H., Hiratsuka, Y., and Hadano, S. (2013) Rab5 activator ALS2 and RabGEF1, regulate amphisome formation and degradation. Neuro2013 : 第 36 回日本神経科学学会大会/第 56 回日本神経化学学会大会/第 23 回日本神経回路学会大会、P1-2-31、京都国際会館(京都府、京都市)(June 20-23) .
- 16) 森谷祐介、永田栄一郎、潘雷、佐藤忠之、小川温子、秦野伸二、瀧澤俊也(2013) ALS モデルマウスにおける IP6K2 の病態への関連性について(第 2 報). 第 54 回日本神経学会学術大会、東京国際フォーラム(東京都、千代田区)(May 29-June 1) .
- 17) Hadano, S. (2013) Molecular pathogenesis of ALS/MNDs: Dysfunction of autophagy-endolysosomal system. Invited lecture at Beijing University, Beijing, China (March 5).
- 18) Hadano, S. (2013) Animal experiments in Tokai University: Center of Genetic Engineering for Human Diseases (CGHED). Invited lecture at Dalian Institute of Chemical Physics, Dalian, Liaoning, China (March 4).
- 19) 秦野伸二 (2013) マウスモデルを用いた ALS 疾患症状の調節要因に関する研究. 東海大学総合医学研究所第 4 回シンポジウム・私立大学戦略的研究基盤形成支援事業進捗報告会、東海大学校友会館/霞ヶ関ビル(東京都、千代田区)(February 23) .
- 20) 大友麻子、潘雷、小川温子、平塚結衣、秦野伸二(2012) 低分子量 G タンパク質 Rab5 の活性化因子、ALS2 と RabGEF1 は、EEA1-LC3 要請小胞の形成と成熟を調節する. 第 35 回日本分子生物学会年会、3ST-067 (3P-0087)、福岡国際会議場(福岡県、福岡市)(Dec 11-14) .
- 21) Tanaka, K., Kanno, T., Yanagisawa, Y., Yasutake, K., Hadano, S., Yohii, F., and Ikeda, J. -E. (2012) Bromocriptine retards disease progression in an ALS mouse model via suppression of glial inflammation. Amyotroph. Lateral Scler. 13 (suppl. 1), 63 (P9) (23rd International Symposium on ALS/MND, Chicago, Illinois, U.S.A., December 5-7).
- 22) Pan, L., Yoshii, Y., Otomo, A., Ogawa, H., Iwasaki, Y., Shang, H. -F., and Hadano, S. (2012) Different human

- copper-zinc superoxide dismutase mutants, SOD1^{G93A} and SOD1^{H46R}, exert distinct harmful effects on gross phenotype in mice. *Amyotroph. Lateral Scler.* 13 (suppl. 1), 36 (C60) (23rd International Symposium on ALS/MND, Chicago, Illinois, U.S.A., December 5-7).
- 23) Moriya, Y., Nagata, E., Pan, L., Sato, T., Ogawa, H., Hadano, S., Takizawa, S. (2012) Role of inositol hexakisphosphate kinase 2 in a mouse model for amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroscience 2012*, Program#/Poster#: 242.06/E24, New Orleans, Louisiana, U.S.A. (October 13-17).
- 24) Hadano, S., Suzuki-Utsunomiya, K., Otomo, A., Hiratsuka, Y., Pan, L., Ogawa, H., Kunita, R., and Ikeda, J.-E. (2012) High-molecular weight oligomeric complexes of ALS2/alsin are enriched in the brain synaptosomal compartments. *J. Neurochem.* 123 (suppl. 1), 105-106 (P08-31) (The 11th Biennial Meeting of the Asian Pacific Society for Neurochemistry/The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry, 神戸国際会議場(兵庫県、神戸市), Japan, September 30-October 2).
- 25) Pan, L., Yoshii, Y., Otomo, A., Ogawa, H., Iwasaki, Y., Shang, H.-F., and Hadano, S. (2012) Different human copper-zinc superoxide dismutase mutants, SOD1^{G93A} and SOD1^{H46R}, exert distinct harmful effects on gross phenotype in mice. *Chin. J. Neurol.* 45 (suppl.), 737-738 (The 15th National Conference of Neurology, Program p61, Guangzhou, China, September 20-23).
- 26) Hadano, S. (2012) Dysregulation of the autophagy-endolysosomal system in ALS and FTD. The 15th National Conference of Neurology, Program p25, Guangzhou, China (September 20-23).
- 27) 秦野伸二 (2012) 家族性 ALS 原因遺伝子産物 ALS2 の機能喪失がオートファジー系に及ぼす影響. 第 11 回生体機能研究会、プログラム集、小田急山のホテル(神奈川県、箱根町)(July 21-22).
- 28) 森谷祐介、永田栄一郎、潘雷、佐藤忠之、小川温子、秦野伸二、瀧澤俊也、高木繁治 (2012) ALS モデルマウスにおけるイノシトール 6 リン酸キナーゼ 2 (IP6K2) の病態への関連性について. 第 53 回日本神経学会学術大会、東京国際フォーラム(東京都、千代田区)(May 23-25).

- 29) Hadano, S. (2012) Dysregulation of the autophagy-endolysosomal system in motor neuron diseases. BIT 's 3rd Annual World Congress on NeuroTalk-2012, Abstract p163, Beijing, China (May 18-20).

〔図書〕(計 1 件)

- 1) 大友麻子、白川健太郎、宮嶋裕明、秦野伸二 (2013) ALS2/Alsin、アクチュアル脳・神経疾患の臨床「すべてがわかる ALS・運動ニューロン疾患」IV. ALS の病態関連遺伝子と遺伝子変異、辻省次、祖父江元編、中山書店、東京、pp157-165.

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし