

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08507

研究課題名(和文) リアノジン受容体チャネル作動機構の原子レベルでの解明

研究課題名(英文) Elucidation of ryanodine receptor channel gating mechanism at atomic level

研究代表者

村山 尚 (Murayama, Takashi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：10230012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：筋小胞体のカルシウム遊離チャネルであるリアノジン受容体(RyR)の動作原理を理解するため、分子内に多数存在する疾患変異の表現型解析と原子レベルに迫る高分解能構造モデルを組み合わせて動作の予測と検証を行った。Ca²⁺感受性を増大させる薬物であるカフェインの動作機構を明らかにした。さらに、Ca²⁺結合がチャネルを開口させるために必要な、細胞質領域から膜貫通領域に至る一連の相互作用部位を同定し、チャネルの動作機構を提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では変異体の機能解析と高分解能構造モデルを組み合わせることで、RyRの動作原理の本質に原子レベルで迫ることができた。特にカフェインによるCa²⁺感受性増大機構の解明は世界初であり、RyR制御機構における重要な成果である。本研究成果はリガンド作動性チャネルの動作原理として、イオンチャネル研究における大きな一歩である。また、本手法はRyRに特徴的な巨大な細胞質領域にも応用が可能である。細胞質領域には疾患変異が集中しているため、今後の研究により疾患変異の分子機構や薬物開発が大きく加速することが期待される。

研究成果の概要(英文)：To understand the gating mechanism of ryanodine receptor (RyR), a calcium-release channel of sarcoplasmic reticulum, we combined functional analysis of RyR carrying disease-associated mutations with its structural model at near atomic resolution. We have elucidated for the first time the molecular mechanism of action of caffeine, which has long been known as a drug that increases Ca²⁺ sensitivity. In addition, we identified a series of interaction sites from the cytoplasmic region to the transmembrane region that require channel opening by Ca²⁺ binding.

研究分野：薬理学

キーワード：リアノジン受容体 カルシウムイオン イオンチャネル 動作原理 骨格筋 心筋

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

リアノジン受容体 (RyR) は筋小胞体の Ca^{2+} 遊離チャネルで、骨格筋および心筋の興奮収縮連関に中心的な役割を果たしている。RyR は総分子量が 2 MDa を超える巨大 4 量体膜蛋白質で N 末が活性制御を担う細胞質ドメインを、C 末が 6 回膜貫通型チャネルを形成している (図 1)。骨格筋には RyR1、心筋には RyR2 という異なるサブタイプが発現しており、RyR1 の遺伝子変異は悪性高熱症 (MH) やセントラルコア病 (CCD) といった筋疾患を、RyR2 の変異はカテコラミン誘発性多型性心室頻拍 (CPVT) や催不整脈源性右室心筋症 (ARVC) 等の不整脈性心疾患を引き起こす。

RyR は Ca^{2+} によって開口する Ca^{2+} 誘発性 Ca^{2+} 遊離 (CICR) 活性を示すが、 Ca^{2+} がチャネルを開口する分子機構については全く分かっていなかった。また、遺伝子変異が疾患を引き起こすメカニズムについても不明であった。2015 年からクライオ電子顕微鏡法による RyR1 チャネルの原子レベルに迫る高分解能構造モデルが相次いで発表され、各ドメインの構造とチャネル開閉での構造変化が明らかになってきた (図 1)。このような背景から、RyR1 および RyR2 変異体の機能解析を網羅的に行って、その結果を構造モデルと照合することにより、チャネル開口に重要な相互作用部位の同定やチャネル動作機構を原子レベルで明らかに出来るのではないかと、という着想を得た。

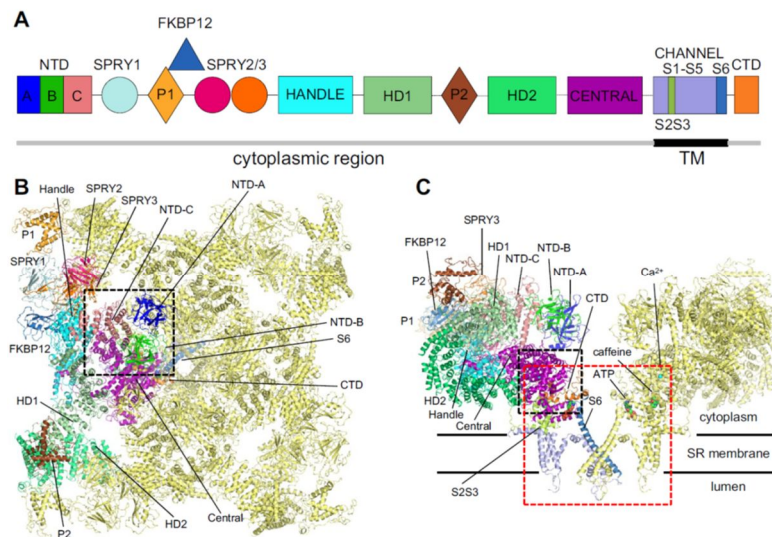


図 1. RyR の構造. A. ドメイン構造。15 のドメインからなり、N 末が細胞質領域を、C 末がチャネルを形成する。B、C. クライオ電子顕微鏡法によって得られた高分解能構造。B. 細胞質側から見た図。C. 小胞体膜と平行に見た図。Ogawa, 2020 より引用。

2. 研究の目的

本研究では、(1)疾患変異を導入した RyR の CICR 活性を評価して、(2)その結果を高分解能構造モデル (Yan ら、3.8Å) と照合してチャネル作動機構を予測し、(3)予測に基づいた新たな変異体の機能評価による検証を行なうことで、RyR チャネルの作動機構を原子レベルで解明することとした。RyR は巨大な細胞質ドメインによっても制御を受けているが、本研究では最初の一步としてチャネルドメインを対象として実験を行う。具体的には、チャネルドメインの相互作用 (ヘリックス間およびヘリックス-細胞質ドメイン間) の役割を明らかにする、各ヘリックスおよび S4-S5 リンカーの動きの順番を明らかにすることである。

3. 研究の方法

RyR チャネルの作動機構を解明するため、以下の方法で行った。

1. 野生型および変異型 RyR チャネルを培養 HEK 細胞に安定発現させる。
2. CICR 活性を定量的 [³H]リアノジン結合および小胞体内腔 Ca^{2+} 測定により評価する。
3. 結果を高分解能構造モデルと照合して、当該アミノ酸の役割を予測する。
4. 予測に基づいた人工変異を導入して検証を行う。これを多くの疾患変異部位で行うことで最終的に全体の作動機構モデルを構築する。

4. 研究成果

4-1. カフェインによる Ca^{2+} 感受性制御機構

本研究を開始した直後、RyR1 においてチャネル活性を制御する 3 種類のリガンド (Ca^{2+} 、ATP、カフェイン) の結合部位がクライオ電子顕微鏡法で報告された (des Georges et al., Cell, 2016)。これらの結合部位近傍の疾患変異を探索したところ、RyR2 のカフェイン結合部位に CPVT 変異 (W4645R) が報告されていた。そこで、マウス RyR2 に相当する変異 (W4644R) を導入して

HEK293 細胞に発現させて活性を測定したところ、小胞体内 Ca^{2+} の著明な低下が見られチャンネル活性の増大が示唆された。リアノジン結合活性では Ca^{2+} 感受性が大きく増大しており、カフェインの作用は完全に消失していた (図 2)。同様な結果はアラニン置換変異体 (W4644A) でも見られた。この結果は、W4644 変異体はカフェインと同様の作用をしていることを示唆している。

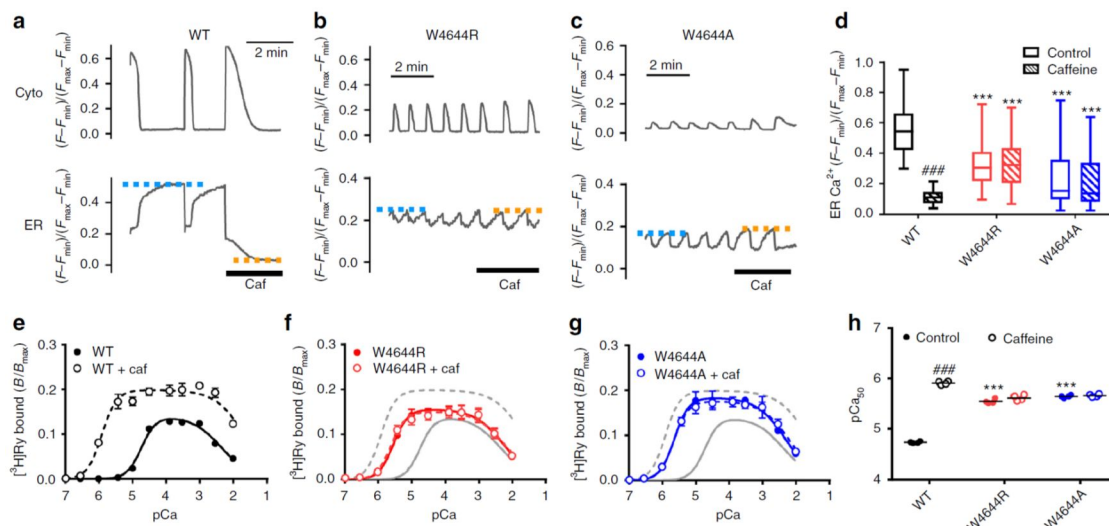


図 2. a-c. 野生型および変異型 RyR2 を発現させた HEK293 細胞の細胞質および小胞体内 Ca^{2+} 濃度変化。W4644R、W4644A では小胞体内 Ca^{2+} レベルが低下している。実験の最後にカフェインを投与した。野生型 (a) はカフェインによる Ca^{2+} 遊離が見られたが、変異体 (b, c) はカフェインに応答しなかった。d. データのまとめ。e-g. Ca^{2+} 依存性 $[^3\text{H}]$ リアノジン結合実験。野生型はベル型の Ca^{2+} 依存性を示した。カフェインは活性化 Ca^{2+} 感受性を増大した (e)。変異体は Ca^{2+} 感受性が増大していて、カフェインには応答しなかった (f, g)。h. Ca^{2+} 感受性のまとめ、Murayama, 2018 より引用。

この現象の分子基盤を理解するため、des Georges らの構造を詳細に検討した。W4644 は S2S3 領域に存在し、カフェインがない状態では C 末ドメイン (CTD) の I4925 と近接していた。カフェイン結合状態では側鎖の向きが変わり、距離が離れていた (図 3)。興味深いことに、カフェイン存在下では Ca^{2+} 結合ポケットが小さくなっていった。このことから、W4644 と I4925 が相互作用することで、CTD を引き下げて Ca^{2+} 結合ポケットを大きくして Ca^{2+} に対する親和性を下げ、カフェインはその相互作用を阻害することで、ポケットを小さくして親和性を上げるのではないかと、という着想を得た。

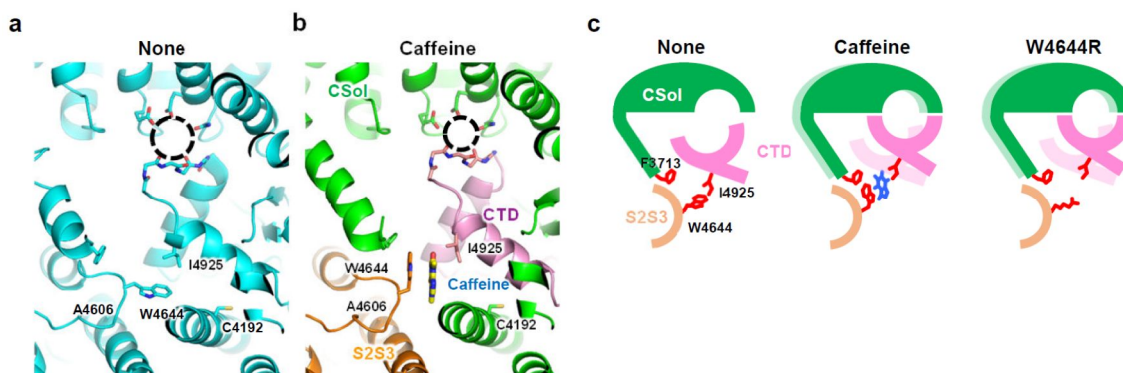


図 3. a, b. カフェイン結合部位近傍の構造。a. カフェイン無しでは W4644 は I4925 と近接している。 Ca^{2+} 結合ポケットは大きい (点線)。b. カフェインは W4644 の側鎖の向きを変えて入り込み、I4925 との距離を遠ざける。 Ca^{2+} 結合ポケットは小さくなる。c. カフェイン結合部位による Ca^{2+} 結合ポケットの制御モデル。W4644-I4925 相互作用は CTD を引き下げ、 Ca^{2+} 結合ポケットを小さくする。カフェイン結合により相互作用が阻害され、 Ca^{2+} 結合ポケットは小さくなる。W4644R は相互作用が消失するため、カフェインと同様な表現型になる。Murayama, 2018 を改変。

この仮説を検証するため、I4925 をアラニン置換して活性を評価した。I4925A も W4644A/R と同様な表現型を示した。W4644 と I4925 の二重変異体 (W4644A_I4925A) は単独変異体と変わらない活性を示したことから、両変異の作用点が同一であることが確認された。

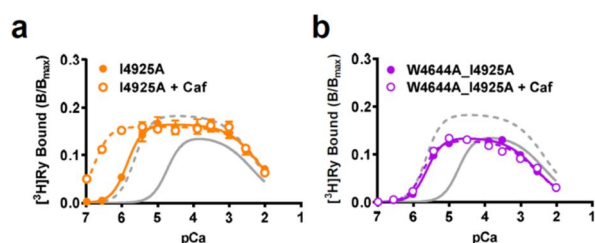


図 4. 検証変異体の $[^3\text{H}]$ リアノジン結合活性。a. I4925A では Ca^{2+} 感受性が増大している。b. W4644A_I4925A 二重変異体では Ca^{2+} 感受性の増大は単独変異と同じであった。Murayama, 2018 を改変。

W4644 と I4925 の相互作用が Ca^{2+} 感受性に重要な役割を果たしているとする、この近傍の

アミノ酸変異はチャネル機能に影響を与える可能性がある。データベースで疾患変異を探索したところ、RyR2 に C4193W と A4607P という 2 つの CPVT 変異が見つかった。マウス RyR2 に相同な変異 (C4192W および A4606P) を導入して機能解析を行ったところ、両者ともに Ca^{2+} 感受性が大きく増大することが分かった (図 5)。C4193 は I4925 が位置する CTD に直下のヘリックスに、A4606 は W4644 が位置する S2S3 直下のヘリックスにそれぞれ存在することから、立体障害により W4644-I4925 相互作用に干渉する可能性が示唆された。

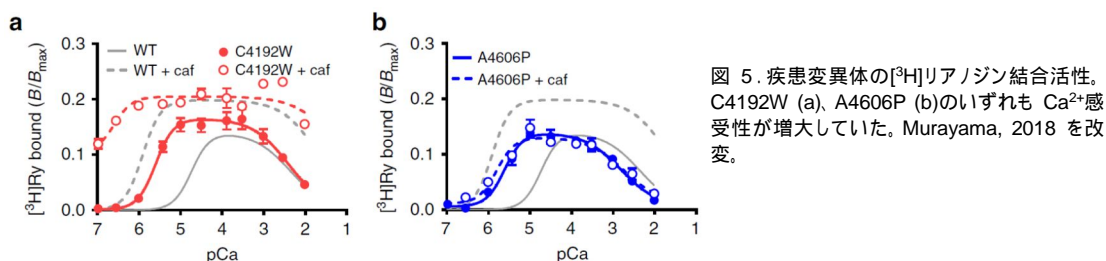


図 5. 疾患変異体の $^3\text{H}]/\text{リアノジン}$ 結合活性。C4192W (a)、A4606P (b)のいずれも Ca^{2+} 感受性が増大していた。Murayama, 2018 を改変。

本研究で、RyR2 のカフェイン結合部位が Ca^{2+} 結合ポケットを制御している分子機構を明らかにすることができた。この制御を破綻する変異は不整脈性心疾患の原因となることから、この制御は生理的に非常に重要であることが示された。本成果は *Communications Biology* 誌に出版された。

4-2.CICR の動作機構

CICR は RyR2 チャネルの生理的な Ca^{2+} 遊離機構である。 Ca^{2+} 結合ポケットはチャネルゲートを構成する S6 ヘリックスから 60\AA 以上離れており、長距離の構造変化が必要となる。そこで、閉状態と開状態のチャネルの高分解能構造を比較することで、動作に関わる部位の同定を試みた。その結果、 Ca^{2+} 結合ポケットの下部を構成する CTD が U-motif と相互作用し、U-motif の動きが S2S3 ドメインに伝達されることが分かった。S2S3 の構造変化は膜貫通セグメントの S1-S4 を動かし、最終的に S4-S5 リンカーが外側に移動して S6 が倒れてゲートが開くという一連の動作を確認することができた。

上記の動作機構に基づいて、各ドメイン間およびドメイン内の相互作用候補領域を同定した。近傍に疾患変異があるかどうかをデータベース検索したところ、いくつもの疾患変異が見出された。変異体を作製して機能解析を行ったところ、チャネル活性が増大する変異体と低下する変異体に分かれた。変異体の機能から動作原理を予測してチャネルの動作機構のモデル化を行うことに成功した。本成果については、現在、論文を執筆中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計25件（うち査読付論文 25件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 15件）

1. 著者名 Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi	4. 巻 87
2. 論文標題 Assays for Modulators of Ryanodine Receptor (RyR)/Ca ²⁺ Release Channel Activity for Drug Discovery for Skeletal Muscle and Heart Diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Protocols in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 e71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1002/cpph.71	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 Mori Shuichi, Iinuma Hiroto, Manaka Noriaki, Ishigami-Yuasa Mari, Murayama Takashi, Nishijima Yoshiaki, Sakurai Akiko, Arai Ryota, Kurebayashi Nagomi, Sakurai Takashi, Kagechika Hiroyuki	4. 巻 179
2. 論文標題 Structural development of a type-1 ryanodine receptor (RyR1) Ca ²⁺ -release channel inhibitor guided by endoplasmic reticulum Ca ²⁺ assay	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 837 ~ 848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.076	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 Nozaki Yoshihiro, Kato Yoshiaki, Uike Kiyoshi, Yamamura Kenichiro, Kikuchi Masahiro, Yasuda Maki, Ohno Seiko, Horie Minoru, Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi, Horigome Hitoshi	4. 巻 84
2. 論文標題 Co-Phenotype of Left Ventricular Non-Compaction Cardiomyopathy and Atypical Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia in Association With R169Q, a <i>Ryanodine Receptor Type 2</i> Missense Mutation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 226 ~ 234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1253/circj.CJ-19-0720	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 Zhou Xinyu, Park Ki Ho, Yamazaki Daiju, Lin Pei-hui, Nishi Miyuki, Ma Zhiwei, Qiu Liming, Murayama Takashi, Zou Xiaoqin, Takeshima Hiroshi, Zhou Jingsong, Ma Jianjie	4. 巻 126
2. 論文標題 TRIC-A Channel Maintains Store Calcium Handling by Interacting With Type 2 Ryanodine Receptor in Cardiac Muscle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation Research	6. 最初と最後の頁 417 ~ 435
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.316241	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 該当する

1. 著者名 Yamazawa Toshiko, Ogawa Haruo, Murayama Takashi, Yamaguchi Maki, Oyamada Hideto, Suzuki Junji, Kurebayashi Nagomi, Kanemaru Kazunori, Oguchi Katsuji, Sakurai Takashi, Iino Masamitsu	4. 巻 152
2. 論文標題 Insights into channel modulation mechanism of RYR1 mutants using Ca ²⁺ imaging and molecular dynamics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of General Physiology	6. 最初と最後の頁 e201812235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1085/jgp.201812235	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 Ogawa Haruo, Kurebayashi Nagomi, Yamazawa Toshiko, Murayama Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Regulatory mechanisms of ryanodine receptor/Ca ²⁺ release channel revealed by recent advancements in structural studies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Muscle Research and Cell Motility	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) https://doi.org/10.1007/s10974-020-09575-6	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 Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi	4. 巻 87
2. 論文標題 Assays for Modulators of Ryanodine Receptor (RyR)/Ca ²⁺ Release Channel Activity for Drug Discovery for Skeletal Muscle and Heart Diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Protocols in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 e71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1002/cpph.71	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 Mori Shuichi, Iinuma Hiroto, Manaka Noriaki, Ishigami-Yuasa Mari, Murayama Takashi, Nishijima Yoshiaki, Sakurai Akiko, Arai Ryota, Kurebayashi Nagomi, Sakurai Takashi, Kagechika Hiroyuki	4. 巻 179
2. 論文標題 Structural development of a type-1 ryanodine receptor (RyR1) Ca ²⁺ -release channel inhibitor guided by endoplasmic reticulum Ca ²⁺ assay	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 837 ~ 848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.076	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 Saeki Takanori, Kimura Taisuke, Hashidume Keigo, Murayama Takashi, Yamamura Hisao, Ohya Susumu, Suzuki Yoshiaki, Nakayama Shinsuke, Imaizumi Yuji	4. 巻 510
2. 論文標題 Conversion of Ca ²⁺ oscillation into propagative electrical signals by Ca ²⁺ -activated ion channels and connexin as a reconstituted Ca ²⁺ clock model for the pacemaker activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 242 ~ 247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.01.080	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 Nozaki Yoshihiro, Kato Yoshiaki, Uike Kiyoshi, Yamamura Kenichiro, Kikuchi Masahiro, Yasuda Maki, Ohno Seiko, Horie Minoru, Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi, Horigome Hitoshi	4. 巻 84
2. 論文標題 Co-Phenotype of Left Ventricular Non-Compaction Cardiomyopathy and Atypical Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia in Association With R169Q, a <i>Ryanodine Receptor Type 2</i> Missense Mutation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 226 ~ 234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1253/circj.CJ-19-0720	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 Zhou Xinyu, Park Ki Ho, Yamazaki Daiju, Lin Pei-hui, Nishi Miyuki, Ma Zhiwei, Qiu Liming, Murayama Takashi, Zou Xiaoqin, Takeshima Hiroshi, Zhou Jingsong, Ma Jianjie	4. 巻 126
2. 論文標題 TRIC-A Channel Maintains Store Calcium Handling by Interacting With Type 2 Ryanodine Receptor in Cardiac Muscle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation Research	6. 最初と最後の頁 417 ~ 435
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.316241	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 該当する

1. 著者名 Yamazawa Toshiko, Ogawa Haruo, Murayama Takashi, Yamaguchi Maki, Oyamada Hideto, Suzuki Junji, Kurebayashi Nagomi, Kanemaru Kazunori, Oguchi Katsuji, Sakurai Takashi, Iino Masamitsu	4. 巻 152
2. 論文標題 Insights into channel modulation mechanism of RYR1 mutants using Ca ²⁺ imaging and molecular dynamics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of General Physiology	6. 最初と最後の頁 e201812235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1085/jgp.201812235	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 Murayama Takashi, Ogawa Haruo, Kurebayashi Nagomi, Ohno Seiko, Horie Minoru, Sakurai Takashi	4. 巻 1
2. 論文標題 A tryptophan residue in the caffeine-binding site of the ryanodine receptor regulates Ca ²⁺ sensitivity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s42003-018-0103-x	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 Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi, Ishigami-Yuasa Mari, Mori Shuichi, Suzuki Yukina, Akima Ryunosuke, Ogawa Haruo, Suzuki Junji, Kanemaru Kazunori, Oyamada Hideto, Kiuchi Yuji, Iino Masamitsu, Kagechika Hiroyuki, Sakurai Takashi	4. 巻 94
2. 論文標題 Efficient High-Throughput Screening by Endoplasmic Reticulum Ca ²⁺ Measurement to Identify Inhibitors of Ryanodine Receptor Ca ²⁺ -Release Channels	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Pharmacology	6. 最初と最後の頁 722 ~ 730
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1124/mol.117.111468	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 Eshima Hiroaki, Tamura Yoshifumi, Kakehi Saori, Nakamura Kyoko, Kurebayashi Nagomi, Murayama Takashi, Kakigi Ryo, Sakurai Takashi, Kawamori Ryuzo, Watada Hirotaka	4. 巻 126
2. 論文標題 Dysfunction of muscle contraction with impaired intracellular Ca ²⁺ handling in skeletal muscle and the effect of exercise training in male db/db mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 170 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1152/jappphysiol.00048.2018	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 Saeki Takanori, Kimura Taisuke, Hashidume Keigo, Murayama Takashi, Yamamura Hisao, Ohya Susumu, Suzuki Yoshiaki, Nakayama Shinsuke, Imaizumi Yuji	4. 巻 510
2. 論文標題 Conversion of Ca ²⁺ oscillation into propagative electrical signals by Ca ²⁺ -activated ion channels and connexin as a reconstituted Ca ²⁺ clock model for the pacemaker activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 242 ~ 247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.bbrc.2019.01.080	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 Uehara Akira, Murayama Takashi, Yasukochi Midori, Fill Michael, Horie Minoru, Okamoto Toru, Matsuura Yoshiharu, Uehara Kiyoko, Fujimoto Takahiro, Sakurai Takashi, Kurebayashi Nagomi	4. 巻 149
2. 論文標題 Extensive Ca ²⁺ leak through K4750Q cardiac ryanodine receptors caused by cytosolic and luminal Ca ²⁺ hypersensitivity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Journal of General Physiology	6. 最初と最後の頁 199 ~ 218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1085/jgp.201611624	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 Fujii Yusuke, Itoh Hideki, Ohno Seiko, Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi, Aoki Hisaaki, Blancard Malorie, Nakagawa Yoshihisa, Yamamoto Satoshi, Matsui Yumie, Ichikawa Mari, Sonoda Keiko, Ozawa Tomoya, Ohkubo Kimie, Watanabe Ichiro, Guicheney Pascale, Horie Minoru	4. 巻 14
2. 論文標題 A type 2 ryanodine receptor variant associated with reduced Ca ²⁺ release and short-coupled torsades de pointes ventricular arrhythmia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Heart Rhythm	6. 最初と最後の頁 98 ~ 107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hrthm.2016.10.015	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 該当する

1. 著者名 Hashimoto Ken, Kodama Aya, Honda Takeshi, Hanashima Akira, Ujihara Yoshihiro, Murayama Takashi, Nishimatsu Shin-ichiro, Mohri Satoshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Fam64a is a novel cell cycle promoter of hypoxic fetal cardiomyocytes in mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-04823-1	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 Kobayashi Takuya, Miyashita Takuya, Murayama Takashi, Toyoshima Yoko Y.	4. 巻 12
2. 論文標題 Dynactin has two antagonistic regulatory domains and exerts opposing effects on dynein motility	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0183672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0183672	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 Eshima Hiroaki, Tamura Yoshifumi, Kakehi Saori, Kurebayashi Nagomi, Murayama Takashi, Nakamura Kyoko, Kakigi Ryo, Okada Takao, Sakurai Takashi, Kawamori Ryuzo, Watada Hirota	4. 巻 5
2. 論文標題 Long-term, but not short-term high-fat diet induces fiber composition changes and impaired contractile force in mouse fast-twitch skeletal muscle	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Physiological reports	6. 最初と最後の頁 e13250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.13250	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 Nonaka Miki, Kurebayashi Nagomi, Murayama Takashi, Sugihara Masami, Terawaki Kiyoshi, Shiraishi Seiji, Miyano Kanako, Hosoda Hiroshi, Kishida Shosei, Kangawa Kenji, Sakurai Takashi, Uezono Yasuhito	4. 巻 64
2. 論文標題 Therapeutic potential of ghrelin and des-acyl ghrelin against chemotherapy-induced cardiotoxicity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 S35 ~ S39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.64.S35	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 Murayama T, Kurebayashi N, Ogawa H, Yamazawa T, Oyamada H, Suzuki J, Kanemaru K, Oguchi K, Iino M, Sakurai T	4. 巻 37
2. 論文標題 Genotype-phenotype correlations of malignant hyperthermia and central core disease mutations in the central region of the RYR1 channel.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Human Mutation	6. 最初と最後の頁 1231-1241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://dx.doi.org/10.1002/humu.23072	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 Cabra V, Murayama T, Samsó M	4. 巻 110
2. 論文標題 Ultrastructural analysis of self-associated RyR2s.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 2651-2662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2016.05.013	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 該当する

1. 著者名 Mikami Y, Kanemaru K, Okubo Y, Nakaune T, Suzuki J, Shibata K, Sugiyama H, Koyama R, Murayama T, Ito A, Yamazawa T, Ikegaya Y, Sakurai T, Saito N, Kakizawa S, Iino M	4. 巻 11
2. 論文標題 Nitric oxide-induced activation of the type 1 ryanodine receptor is critical for epileptic seizure-induced neuronal cell death.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 EBioMedicine	6. 最初と最後の頁 253-261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.08.020	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 -

[学会発表] 計17件(うち招待講演 1件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 村山 尚、山澤 徳志子、小林 琢也、呉林 なごみ、野口 悟、井上 高良、井上 由紀子、森 修一、飯沼 大翔、間中 紀暁、湯浅 磨里、影近 弘之、西野 一三、櫻井 隆
2. 発表標題 悪性高熱症モデルマウスを用いた新規RyR1阻害薬の治療効果の検討
3. 学会等名 第5回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村山 尚
2. 発表標題 リアノジン受容体チャネル制御機構への構造・機能学的アプローチ
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Murayama T, Yamazawa T, Kobayashi T, Kurebayashi N, Noguchi S, Nishino N, Mori S, Kagechika H, Lopez JR, Allen PD, Sakurai T
2. 発表標題 Therapeutic effects of a novel RyR1 inhibitor on malignant hyperthermia model mice
3. 学会等名 Biophysical Society 64th Annual Meeting
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村山 尚, 山澤 徳志子, 小林 琢也, 呉林 なごみ, 野口 悟, 西野 一三, 森 修一, 影近 弘之, Jose R. Lopez, Paul D. Allen, 櫻井 隆
2. 発表標題 新規RyR1抑制薬の悪性高熱症モデルマウスに対する効果
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村山 尚, 呉林 なごみ, 湯浅 (石上) 磨里, 森 修一, 鈴木 志奈, 秋間 龍之介, 小川 治夫, 鈴木 純二, 金丸 和典, 小山田 英人, 木内 祐二, 飯野 正光, 影近 弘之, 櫻井 隆
2. 発表標題 小胞体内Ca ²⁺ 濃度測定による新規RyR1阻害薬のハイスループットスクリーニング
3. 学会等名 第4回日本筋学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村山 尚, 呉林 なごみ, 湯浅 (石上) 磨里, 森 修一, 鈴木 志奈, 秋間 龍之介, 小川 治夫, 鈴木 純二, 金丸 和典, 小山田 英人, 木内 祐二, 飯野 正光, 影近 弘之, 櫻井 隆
2. 発表標題 小胞体内Ca ²⁺ 濃度測定によるリアノジン受容体阻害薬探索システムの開発
3. 学会等名 第139回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Murayama T, Ogawa H, Kurebayashi N, Ohno S, Horie M, Sakurai T
2. 発表標題 Molecular basis of Ca ²⁺ binding to the ryanodine receptor for channel activation
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Murayama
2. 発表標題 Identification of novel inhibitors of Ca ²⁺ -induced Ca ²⁺ release for RyR1-related muscle diseases
3. 学会等名 9th FAOPS Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Murayama, Nagomi Kurebayashi, Haruo Ogawa, Toshiko Yamazawa, Takashi Sakurai
2. 発表標題 Genotype-phenotype correlations of central core disease mutations in the C-terminal region of the RYR1 channel
3. 学会等名 Biophysical Society 61st Annual Meeting
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村山 尚、呉林なごみ、小川治夫、山澤徳志子、小山田英人、小口勝司、櫻井 隆
2. 発表標題 1型リアノジン受容体 (RYR1) チャネルC末端領域セントラルコア病変異の遺伝子型-表現型相関
3. 学会等名 第90回日本薬理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村山 尚
2. 発表標題 RyR1関連筋疾患の分子機構：診断と治療に向けて
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村山 尚
2. 発表標題 リアノジン受容体関連疾患の分子機構：診断と治療に向けて
3. 学会等名 第3回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Murayama, Haruo Ogawa, Nagomi Kurebayashi, Takashi Sakurai
2. 発表標題 Molecular basis for Ca ²⁺ and caffeine action on the RyR2 channel and implications in disease states
3. 学会等名 20th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function in Health and Disease (CaBP20) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Murayama
2. 発表標題 Molecular mechanism of type 1 ryanodine receptor-related muscle diseases: toward diagnosis and therapy
3. 学会等名 AuPS Scientific Meeting (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村山 尚、呉林なごみ、山澤徳志子、小川治夫、小山田英人、小口勝司、櫻井 隆
2. 発表標題 1型リアノジン受容体C末端領域疾患変異体の機能解析
3. 学会等名 第2回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 村山 尚、呉林なごみ、小川治夫、山澤徳志子、小山田英人、小口勝司、櫻井 隆
2. 発表標題 1型リアノジン受容体 (RYR1) チャネルC末端領域セントラルコア病変異の遺伝子型-表現型相関
3. 学会等名 第90回日本薬理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村山 尚
2. 発表標題 RyR1関連筋疾患の分子機構：診断と治療に向けて
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計4件

産業財産権の名称 2型リアノジン受容体活性抑制剤	発明者 國廣なごみ、村山尚、影近弘之、森修一、湯浅磨里、飯	権利者 学校法人順天堂、国立大学法人東京医科歯科
産業財産権の種類、番号 特許、2020-020656	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 リアノジン受容体阻害薬	発明者 村山 尚、國廣 なごみ、影近 弘之、森 修一、湯浅 磨	権利者 学校法人順天堂、国立大学法人東京医科歯科
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/039542	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 リアノジン受容体阻害薬	発明者 村山 尚、國廣 なごみ、影近 弘之、森 修一、湯浅 磨	権利者 学校法人順天堂、国立大学法人東京医科歯科
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-205935	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 Ca ²⁺ 誘発性Ca ²⁺ 遊離活性抑制剤のスクリーニング方法	発明者 村山 尚、國廣 なごみ	権利者 学校法人順天堂
産業財産権の種類、番号 特許、特願2016-113147	出願年 2016年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

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