

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03378

研究課題名(和文) Galectin-3による生体内幹細胞障害の機序解明と治療効果の検証

研究課題名(英文) The mechanisms of Galectin3-induced stem cell dysfunction and the effects of anti-galectin3 therapy

研究代表者

今村 武史 (IMAMURA, Takeshi)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号：00552093

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)： 現在、糖尿病合併症に対する有効な治療薬は少なく、人工透析治療を実施している糖尿病性腎症や、失明に至る網膜症などの糖尿病合併症罹患者数は増え続けているのが実情である。本研究では、糖尿病合併症の本態が生体内幹細胞障害にあるとする仮説を検証することを目的とした。本研究では、インスリン抵抗性因子Galectin-3に着目し、培養条件下ではGalectin-3による幹細胞障害が検出されないのに対し、生体内に移植した幹細胞において分化機能障害を惹起することを示した。Galectin-3が生体内においてのみ幹細胞障害を惹起する機序として、我々はmicroRNA発現を介した間接的作用である可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、糖尿病合併症に対する有効な治療薬は殆ど見当たらず、中でも、人工透析治療を実施している糖尿病性腎症や、失明に至る網膜症などの糖尿病合併症罹患者数は増え続けているのが実情である。本研究では、糖尿病合併症の本態が生体内幹細胞障害にあるとする仮説を検証し、インスリン抵抗性因子Galectin-3が生体内幹細胞の分化機能障害を惹起する可能性を示した。この成果を基礎として幹細胞障害治療薬開発につながれば、糖尿病合併症に対する革新的な治療が実現する可能性を有しており、さらには再生医療研究分野にも大きなインパクトがあると考えられる。

研究成果の概要(英文)： At present, we have almost no medicine for diabetic complications, such as diabetic retinopathy and nephropathy, although many studies have been performed to dissolve this problem for a long time. In this study, we hypothesized that galectin-3, an insulin resistance-related factor, damaged stem cell function including proliferation and differentiation, leading to the cause and/or progress of diabetic complications. Here we showed that the continuous infusion of galectin-3 into mice damaged a differentiation process from stem cells, but not proliferation process, and indicated the possible mechanism that galectin-3 can modify microRNA expressions disrupting stem cell functions.

研究分野：薬理学

キーワード：幹細胞機能 galectin-3 糖尿病 細胞分化

## 1. 研究開始当初の背景

現在、日本国内における糖尿病罹患患者数は、糖尿病予備軍とされる前糖尿病状態を有する群を含めると 1600 万人と推定され、更に増加することが懸念されている。中でも、人工透析を要する糖尿病性腎症、失明に至る網膜症などの糖尿病合併症については、日常生活の QOL 障害や医療コストの点からも、有効な治療薬開発が喫緊の課題である。現在に至るまで糖尿病合併症治療について数多くの研究報告がなされ、複数の治療薬が開発されたにもかかわらず、上述のように糖尿病合併症に対する治療効果は全く不十分である。なぜ有効な糖尿病合併症治療薬を見出せないのか？ この問いに対して我々は、真の治療標的を見落としている可能性を考えた。即ち、糖尿病合併症は各臓器・組織細胞の障害だけではなく、合併症の本態として「糖尿病性幹細胞障害」の存在があるという仮説である。糖尿病性幹細胞障害の存在により新生細胞の供給が減少するために、障害された組織の再生・修復遅延が生じ、結果的に様々な糖尿病合併症の治癒遷延・増悪につながる可能性について、本研究計画により検証を試みた。

本仮説を得る手掛かりとして申請者は、インスリン抵抗性因子 Galectin-3 の欠損マウスを用いた米国 UCSD との共同研究 (Cell 2016,167:973-984) の中で上記仮説を示唆する新知見 (項目 2 「本研究の着想に至った経緯」参照) を得ていたが、今回の先行研究として、マウスにおける Galectin-3 持続投与が生体内幹細胞の分化機能抑制に働くという新知見の再現性を確認した。しかし、マウスなどの齧歯類とヒトを含む霊長類では幹細胞機能 (増殖能) に大きな相違がある (Nat Biotech. 26:101-6, 2008) こと、およびヒト Galectin-3 アミノ酸配列との相同性がマウスでは 74% と低い、カニクイザルは 94% の相同性を有することから、本計画ではマウスに加えてカニクイザルを用いることにより、臨床へのフィードバックが容易な研究成果の獲得を目指した。

## 2. 研究の目的

本研究計画では、インスリン抵抗性因子 Galectin-3 による生体内幹細胞障害機序を解明し、下記仮説を証明するエビデンスを得ることが本研究計画の目的である。

糖尿病病態下では幹細胞障害が生じており、それこそが組織再生能低下を介した糖尿病合併症の悪化・治癒遷延の本態とする仮説である。つまり、「糖尿病性幹細胞障害」が合併症治療薬開発の標的となる。背景として、申請者はインスリン抵抗性因子 Galectin-3 が生体内幹細胞機能障害を惹起する可能性を見出した。この新知見を手掛かりとして、本研究計画では、Galectin-3 による幹細胞障害機序を解明することにより、上記仮説を検証する。

## 3. 研究の方法

これまでに我々は、培養条件下のヒト iPS 細胞に対する Galectin-3 附置実験より、血中濃度レベルの Galectin-3 は急性および慢性投与によって幹細胞機能 (増殖能、3 胚葉への分化能) に有意な影響を与えないという知見を得ており、本研究計画では生体内幹細胞への影響評価に焦点を絞った。移植幹細胞の機能変化を精密に評価するため、実験開始時の移植幹細胞がすべての移植個体で同一条件となるように、同一クローン・同時培養のヒト iPS 細胞を分割し、多孔性 (1  $\mu$ m 径) 高分子膜 (CycloPore, Whatmann) を用いた免疫隔離カプセルに包埋して生体内移植を実施した (図 1)。免疫隔離カプセル移植法では、移植細胞と宿主細胞との接触が無い欠点はあるが、1) 免疫拒絶反応からの隔離が確実でヒト幹細胞を使用可能、2) 移植細胞の回収が容易で宿主細胞のコンタミが無い、3) 同一クローン・同時培養の細胞移植により、微細な変化を比較検出可能であるなど、多くの利点が挙げられる。本研究では、ヒト iPS 細胞 201B7 クローン (1x10E-7 個) を培養条件下で生着させた 3 次元スキャフォールドを多孔性高分子膜カプセル内に包埋し、幹細胞移植用免疫隔離カプセルを作成した。

### (1) 高 Galectin-3 血症モデルマウスへの幹細胞移植実験

C57BL/6 マウスへの高脂肪食 8 週間負荷により血中 Galectin-3 濃度の有意な上昇が認められている (Cell 167:973-84, 2016)。同レベルの高 Galectin-3 血症モデルマウスを作成するため、8 週令雄性 C57BL/6 マウスにリコンビナント・ヒト Galectin-3 (0.8 mg/kg/day) あるいは生食対照の皮下投与を実施した。初回投与開始後 3 日目にマウス個体背部皮下にヒト iPS 細胞包埋免疫隔離カプセルを移植し、7 日後に移植カプセルを回収した。カプセルより回収した 3 次元培養スキャフォールドより細胞を回収した。RNA を抽出し、逆転写後に網羅的遺伝子発現解析を実施した。トランスクリプトーム解析およびパスウェイ解析結果より幹細胞機能との関連が示唆される候補遺伝子を抽出し、発現量についてリアルタイム PCR 法あるいは TaqMan PCR 法により定量比較した。後述のように候補遺伝子の強制発現実験により幹細胞機能への作用を検討した。

### (2) カニクイザル糖尿病個体への幹細胞移植実験

滋賀医科大学動物サル実験施設において、カニクイザル糖尿病個体 4 頭および健常個体 4 頭に対して上記同様にヒト iPS 細胞を免疫隔離カプセルを用いた幹細胞移植・回収実験を行なった (図 1)。糖尿病個体における血中 Galectin-3 濃度の有意な上昇は、健常個体の 1.8 倍であつ

た。マウス実験同様に、免疫隔離カプセル移植後7日目にカプセルを回収し、3次元細胞スキャフォールドより前述のように細胞を回収した。回収細胞数の限界により発現タンパクの解析は困難であったため、RNAを抽出して網羅的遺伝子発現解析を上記同様に実施した。トランスクリプトーム解析およびパスウェイ解析結果より幹細胞機能との関連が示唆される候補遺伝子を抽出し、健常および糖尿病個体間での遺伝子発現量変化を比較検討した。

### (3) Galectin-3 依存性幹細胞障害因子の同定と機序解明

上記のマウス実験、カニクイザル実験の双方に共通して見出された幹細胞機能変化につながる候補遺伝子について、培養ヒト iPS 細胞を用いた候補遺伝子トランスフェクションによる過剰発現実験を実施し、Galectin-3 による幹細胞機能障害機序について細胞および分子レベルで同定することを試みた。

## 4. 研究成果

### (1) 高 Galectin-3 血症モデルマウスへの幹細胞移植実験

8週令雄性 C57BL/6 マウスにリコンビナント・ヒト Galectin-3 (0.8 mg/kg/day) あるいは生食対照の皮下投与を実施し、初回投与開始後3日目にマウス個体背部皮下にヒト iPS 細胞包埋免疫隔離カプセルを移植し、7日後に移植カプセルごと包埋3次元培養スキャフォールドを回収した。スキャフォールドより回収した細胞より RNA を抽出し、逆転写後に網羅的遺伝子発現解析を実施した。Galectin-3 負荷の有無による結果として、未分化マーカーおよび三胚葉分化マーカーを含め多数の遺伝子発現量が±50%以上の変動を示したため、トランスクリプトーム解析およびパスウェイ解析結果より幹細胞機能との関連が示唆される候補 227 遺伝子を同定した。本研究では後述のカニクイザル糖尿病個体への幹細胞移植実験結果と併せ、幹細胞分化能への関与が示唆された miR-494 について幹細胞機能障害機序の解明を進めた。

### (2) カニクイザル糖尿病個体への幹細胞移植実験

カニクイザル糖尿病個体4頭および健常個体4頭に対して免疫隔離カプセルを用いた幹細胞移植・回収実験を進めたが、うち1頭が突発性鼓腸により死亡したため高 Galectin-3 血症を有する糖尿病個体は3頭を用いた。カニクイザル個体肩甲骨下部皮下ポケットにヒト iPS 細胞包埋免疫隔離カプセルを移植し、7日後に移植カプセルごと包埋3次元培養スキャフォールドを回収した(図1)。上記同様にスキャフォールドより回収した細胞より RNA を抽出し、逆転写後に網羅的遺伝子発現解析を実施した。Galectin-3 負荷の有無による結果として、発現量が±50%以上の変動を示した184遺伝子は、上記マウスモデルで得られた結果と大きな相違があった。そこで、トランスクリプトーム解析およびパスウェイ解析により幹細胞機能との関連が示唆される候補遺伝子を抽出し、リアルタイムPCR法あるいはTaqMan PCR法により発現量を定量比較した。その結果、抽出された候補12遺伝子の中の1つである miR-494 発現量は、糖尿病個体由来移植幹細胞において有意ではないが増加傾向を認め、Galectin-3 負荷マウス個体由来幹細胞でも同様の変化を認めた。有意差が得られなかった点は、個体差および個体数不足が影響したと考えられた。

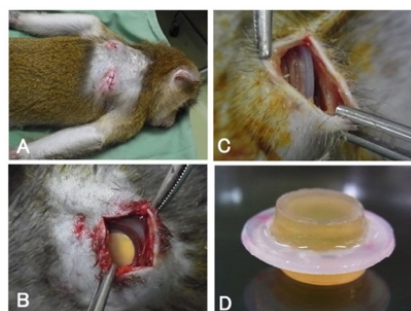


図1) 免疫隔離カプセルを用いたカニクイザル生体内への幹細胞移植

カニクイザル肩甲骨下部の皮下ポケットに幹細胞スキャフォールドを包埋したカプセルを移植し(A)、7日後に回収した(B-D)。

### (3) Galectin-3 依存性幹細胞障害因子の同定と機序解明

上述のように2種類の動物モデルへ移植した幹細胞に共通して、miR-494 発現量の増加傾向が認められた。そこで、miR-494 が幹細胞機能へ与える影響を同定するために、培養ヒト iPS 細胞(201B7 クローン)に miR-494 mimic をリポフェクション法を用いてトランスフェクションし、細胞生存活性および分化能を評価した。まず、miR-494 mimic トランスフェクション後72時間までの生存活性測定(CellTiter-Glo)では、miR-494 強制発現による有意な変化は検出されなかった。次に、201B7 クローン iPS 細胞に MyoD 遺伝子を導入した骨格筋細胞分化誘導実験系(hiPS-MyoD 細胞)を用いて、miR-494 による幹細胞分化能への影響を評価した。

図2に示すように、hiPS-MyoD 細胞に miR-494 を強制発現させた骨格筋細胞分化誘導後7日目における筋線維型構成について NADH 染色法により検討したところ、対照細胞に比して好氣的機能を有する筋線維数が有意に減少することが明らかとなった。この変化は、好氣的筋線維で

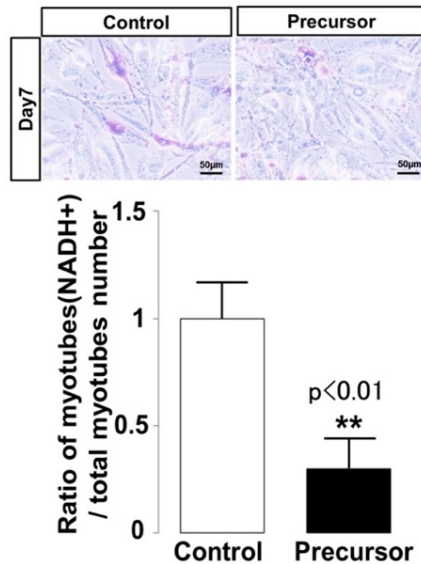


図2) 骨格筋細胞分化における筋線維型特異的 miR-494 作用

hiPS-MyoD 細胞に miR-494 mimic (Precursor)、あるいは対照 miR (Control) をトランスフェクション後 7 日目に、好氣的代謝能を有する筋線維を NADH 染色を用いて同定した (パネル上、赤色で示す)。20 視野画像より解析した好氣的筋線維数/全筋線維数比をグラフに示す (パネル下)。\*\* : p < 0.01

ある IIa 型筋線維マーカーである MYH2 タンパク発現量の有意な減少からも確認された (図 3 左)。上述のように、miR-494 を強制発現による細胞生存活性、生存細胞数に変化はなかったが、好氣的筋線維形成の低下により筋線維数/全細胞数比の有意な減少が認められた (図 3 右)。以上のように、培養ヒト iPS 細胞における miR-494 発現亢進は骨格筋細胞分化過程に影響を与えることが明らかとなった。

次に、miR-494 による好氣的筋線維形成低下の機序を解明するために、miR-494 標的遺伝子について前述の網羅的遺伝子発現解析結果と比較検討した。その結果として、転写因子制御に関わる p300 ヒストンアセチルトランスフェラーゼを miR-494 標的遺伝子として同定した。p300 が好氣的筋線維形成に関与するエビデンスとして、hiPS-MyoD 細胞に p300 に対する siRNA (si-p300) を強制発現させた骨格筋細胞分化誘導後 7 日目にタンパク発現解析を行ったところ、図 3 左に示すように miR-494 強制発現時と同様に、IIa 型筋線維マーカーである MYH2 タンパク発現量の有意な減少が認められた。さらに、miR-494 発現亢進による作用と同様に、好氣的筋線維形成の低下による筋線維数/全細胞数比の有意な減少が認められた (図 3 右)。

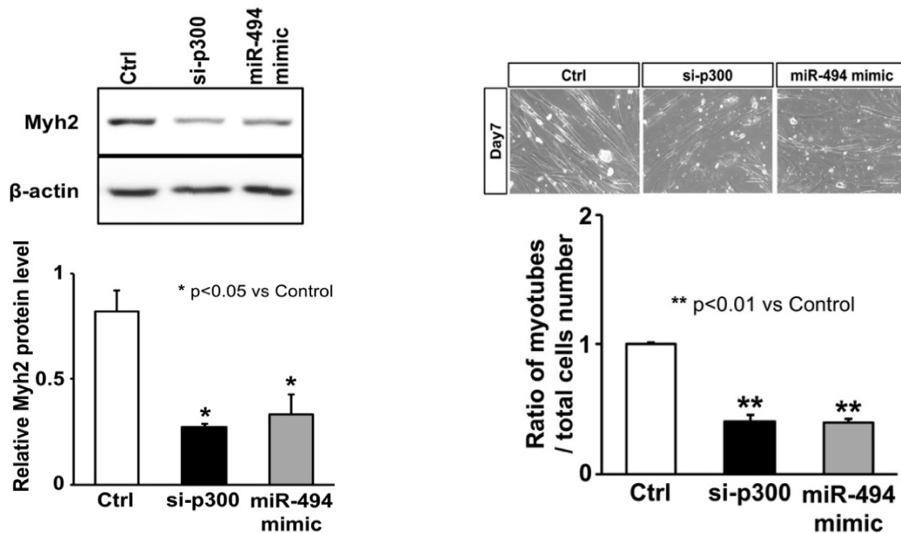
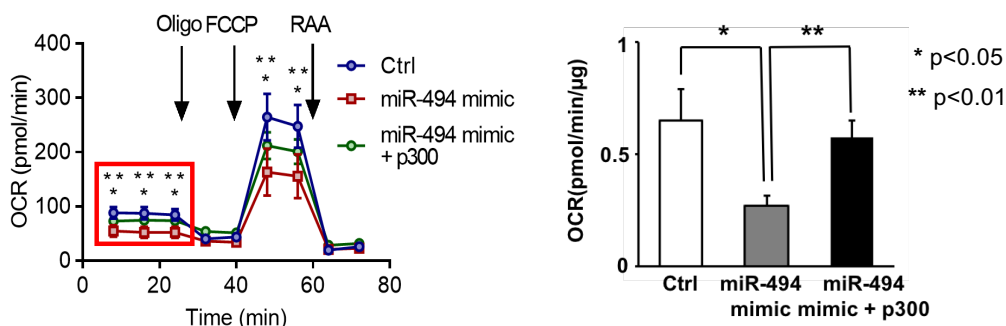


図3) 好氣的筋線維形成低下における miR-494 作用機序

hiPS-MyoD 細胞に miR-494 mimic (Precursor)、p300 に対する siRNA (si-p300)、あるいは対照 siRNA (Control) をトランスフェクション後 7 日目に、タンパク発現および筋管形成能を解析した。好氣的代謝能を有する IIa 型筋線維マーカーである Myh2 のタンパク発現 (左パネル)、筋線維数/全細胞数比をグラフに示す (右パネル) \* : p < 0.05、\*\* : p < 0.01

好氣的筋線維数の減少による酸素消費能変化を確認するため、フラックスアナライザーを用いた検討を実施した。hiPS-MyoD 細胞に miR-494 を強制発現させた骨格筋細胞分化誘導後 7 日目

において基礎酸素消費率を測定したところ、図4に示すように対照細胞に比して有意な低下が認められた。この変化は、miR-494 強制発現による好氣的筋線維形成の低下（図2）、好氣的筋線維である IIa 型筋線維マーカー・MYH2 タンパク発現量の有意な減少と一致するものであった（図3）。さらに、miR-494 による好氣的筋線維形成の低下作用が、標的遺伝子である p300 タンパク発現減少を介した作用であるのかを確認するため、p300 発現ベクターを miR-494 mimic と同時にトランスフェクションし、miR-494 作用がレスキューされるかについて検討した。図3に示すように、miR-494 による基礎酸素消費率低下作用は、p300 強制発現により部分的にはあるが有意に改善したことが確認された。



**図4) p300 発現量減少を介した miR-494 による酸素消費能低下作用**  
 hiPS-MyoD 細胞に miR-494 mimic、対照 siRNA (Ctrl)、あるいは miR-494 mimic に加えて p300 発現ベクター (miR-494 mimic +p300) をトランスフェクション後 7 日目に、細胞の酸素消費能をフラックスアナライザーを用いて解析した。基礎酸素消費率 (左パネル、赤枠) 測定結果をグラフ化して表示した (右パネル) \* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (n=6)

以上のように、miR-494 発現亢進が p300 タンパクの発現減少を介して骨格筋細胞分化過程に影響を与える機序が明らかとなり、Galectin-3 により生体内幹細胞機能障害が生じる可能性が示唆された。本研究の問題点の 1 つは、マウスおよびカンクイザル動物モデルに生体内移植した幹細胞の発現遺伝子解析結果において、両モデル間に大きな相違を認めたことである。機序解明研究において焦点を当てた miR-494 は、両モデルに共通して発現増大を認めた一方で有意差はなく、今後、ヒトに最も近い霊長類モデル動物であるカンクイザルの n 数を増やすなど、更なる検討を要すると考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 21件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 21件）

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Okura T, Nakamura R, Ito Y, Kitao S, Anno M, Endo S, Taneda N, Matsumoto K, Shoji K, Okura H, Matsuzawa K, Izawa S, Ueta E, Kato M, Imamura T, Taniguchi SI, Yamamoto K. | 4. 巻<br>10            |
| 2. 論文標題<br>Significance of pancreatic duodenal homeobox-1 (PDX-1) genetic polymorphism in insulin secretion in Japanese patients with type 2 diabetes.                             | 5. 発行年<br>2022年       |
| 3. 雑誌名<br>BMJ Open Diabetes Res Care.  | 6. 最初と最後の頁<br>-       |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1136/bmjdr-2022-002908.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |
| 1. 著者名<br>Wakimizu T, Morikawa K, Fukumura K, Yuki T, Adachi T, Kurata Y, Miake J, Hisatome I, Tsuneto M, Shirayoshi Y.  | 4. 巻<br>21            |
| 2. 論文標題<br>SHOX2 refines the identification of human sinoatrial nodal cell population in the in vitro cardiac differentiation.   | 5. 発行年<br>2022年       |
| 3. 雑誌名<br>Regen Ther.  | 6. 最初と最後の頁<br>239-249 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.reth.2022.07.012. eCollection 2022 Dec.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |
| 1. 著者名<br>Okura T, Fujioka Y, Nakamura R, Ito Y, Kitao S, Anno M, Matsumoto K, Shoji K, Okura H, Matsuzawa K, Izawa S, Ueta E, Kato M, Imamura T, Taniguchi SI, Yamamoto K.        | 4. 巻<br>14            |
| 2. 論文標題<br>Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor improves insulin resistance in Japanese patients with type 2 diabetes: a single-arm study, a brief report.                             | 5. 発行年<br>2022年       |
| 3. 雑誌名<br>Diabetol Metab Syndr.  | 6. 最初と最後の頁<br>78      |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1186/s13098-022-00850-9.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |
| 1. 著者名<br>Okura T, Fujioka Y, Nakamura R, Kitao S, Ito Y, Anno M, Matsumoto K, Shoji K, Matsuzawa K, Izawa S, Okura H, Ueta E, Kato M, Imamura T, Taniguchi SI, Yamamoto K.        | 4. 巻<br>12            |
| 2. 論文標題<br>The sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor ipragliflozin improves liver function and insulin resistance in Japanese patients with type 2 diabetes.                    | 5. 発行年<br>2022年       |
| 3. 雑誌名<br>Sci Rep.   | 6. 最初と最後の頁<br>1896    |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-022-05704-y.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Horie H, Hisatome I, Kurata Y, Yamamoto Y, Notsu T, Adachi M, Li P, Kuwabara M, Sakaguchi T, Kinugasa Y, Miake J, Koba S, Tsuneto M, Shirayoshi Y, Ninomiya H, Ito S, Kitakaze M, Yamamoto K, Yoshikawa Y, Nishimura M. | 4. 巻<br>45            |
| 2. 論文標題<br>1-Adrenergic receptor mediates adipose-derived stem cell sheet-induced protection against chronic heart failure after myocardial infarction in rats.   | 5. 発行年<br>2022年       |
| 3. 雑誌名<br>Hypertens Res.  | 6. 最初と最後の頁<br>283-291 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41440-021-00802-2. Epub 2021 Dec 1.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Okamura A, Miake J, Tomomori T, Takami A, Sawano T, Kato M, Ogura K, Tsujimoto D, Kawatani S, Agung KP, Notsu T, Hisatome I, Yamamoto K, Imamura T.   | 4. 巻<br>148           |
| 2. 論文標題<br>Thrombin induces a temporal biphasic vascular response through the differential phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase via protease-activated receptor-1 and protein kinase C. | 5. 発行年<br>2022年       |
| 3. 雑誌名<br>J Pharmacol Sci.  | 6. 最初と最後の頁<br>351-357 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jphs.2022.02.001.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Watanabe M, Horie H, Kurata Y, Inoue Y, Notsu T, Wakimizu T, Adachi M, Yamamoto K, Morikawa K, Kuwabara M, Sakaguchi T, Morisaki T, Miake J, Nishimura M, Tsuneto M, Shirayoshi Y, Ito S, Kitakaze M, Ninomiya H, Yamamoto K, Hisatome I. | 4. 巻<br>85            |
| 2. 論文標題<br>Esm1 and Stc1 as Angiogenic Factors Responsible for Protective Actions of Adipose-Derived Stem Cell Sheets on Chronic Heart Failure After Rat Myocardial Infarction.   | 5. 発行年<br>2021年       |
| 3. 雑誌名<br>Circ J.   | 6. 最初と最後の頁<br>657-666 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1253/circj.CJ-20-0877. Epub 2021 Mar 12.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Tawa M, Nagata R, Sumi Y, Nakagawa K, Sawano T, Ohkita M, Matsumura Y.  | 4. 巻<br>16      |
| 2. 論文標題<br>Preventive effects of nitrate-rich beetroot juice supplementation on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. | 5. 発行年<br>2021年 |
| 3. 雑誌名<br>PLoS One.   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1371/journal.pone.0249816. eCollection 2021.   | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

|  |                    |
|--|--------------------|
| 1. 著者名<br>Rahman A, Sawano T, Sen A, Hossain A, Jahan N, Kobara H, Masaki T, Kosaka S, Kitada K, Nakano D, Imamura T, Ohsaki H, Nishiyama A.     | 4. 巻<br>22         |
| 2. 論文標題<br>Cardioprotective Effects of a Nonsteroidal Mineralocorticoid Receptor Blocker, Esaxerenone, in Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats. | 5. 発行年<br>2021年    |
| 3. 雑誌名<br>Int J Mol Sci.   | 6. 最初と最後の頁<br>2069 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3390/ijms22042069.  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Hisatome I, Li P, Miake J, Taufiq F, Mahati E, Maharani N, Utami SB, Kuwabara M, Bahrudin U, Ninomiya H.  | 4. 巻<br>85            |
| 2. 論文標題<br>Uric Acid as a Risk Factor for Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Disease - Japanese Guideline on the Management of Asymptomatic Hyperuricemia. | 5. 発行年<br>2021年       |
| 3. 雑誌名<br>Circ J.   | 6. 最初と最後の頁<br>130-138 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1253/circj.CJ-20-0406.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Iwasaki Hiroataka, Ichihara Yoshinori, Morino Katsutarō, Lemecha Mengistu, Sugawara Lucia, Sawano Tatsuya, Miake Junichiro, Sakurai Hidetoshi, Nishi Eiichiro, Maegawa Hiroshi, Imamura Takeshi | 4. 巻<br>11      |
| 2. 論文標題<br>MicroRNA-494-3p inhibits formation of fast oxidative muscle fibres by targeting E1A-binding protein p300 in human-induced pluripotent stem cells   | 5. 発行年<br>2021年 |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports  | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-020-80742-y.   | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Nagata K, Hayashi K.  | 4. 巻<br>8          |
| 2. 論文標題<br>Epstein-Barr Virus Reactivation-Induced Immunoglobulin Production: Significance on Autoimmunity. | 5. 発行年<br>2020年    |
| 3. 雑誌名<br>Microorganisms.   | 6. 最初と最後の頁<br>1875 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3390/microorganisms8121875.  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |



|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Miake J.   | 4. 巻<br>63            |
| 2. 論文標題<br>A Novel Treatment for Arrhythmias via the Control of the Degradation of Ion Channel Proteins. | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Yonago Acta Med.   | 6. 最初と最後の頁<br>146-153 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.33160/yam.2020.08.002.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Otani N, Kurata Y, Maharani N, Kuwabara M, Ikeda N, Notsu T, Li P, Miake J, Yoshida A, Sakaguchi H, Higaki K, Nakasone N, Tsuneto M, Shirayoshi Y, Ouchi M, Ninomiya H, Yamamoto K, Anzai N, Hisatome I. | 4. 巻<br>2             |
| 2. 論文標題<br>Evidence for Urate Uptake Through Monocarboxylate Transporter 9 Expressed in Mammalian Cells and Its Enhancement by Heat Shock.   | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Circ Rep.  | 6. 最初と最後の頁<br>425-432 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1253/circrep.CR-20-0016.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Minato H, Hisatome I, Kurata Y, Notsu T, Nakasone N, Ninomiya H, Hamada T, Tomomori T, Okamura A, Miake J, Tsuneto M, Shirayoshi Y, Endo R, Otsuki A, Okada F and Inagaki Y. | 4. 巻<br>43            |
| 2. 論文標題<br>Pretreatment with cilnidipine attenuates hypoxia/reoxygenation injury in HL-1 cardiomyocytes through enhanced NO production and action potential shortening.                | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Hypertension Research  | 6. 最初と最後の頁<br>380-388 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41440-019-0391-7.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                 |
|--|-----------------|
| 1. 著者名<br>Okura T, Fujioka Y, Nakamura R, Anno M, Ito Y, Kitao S, Matsumoto K, Shoji K, Sumi K, Matsuzawa K, Izawa S, Okura H, Ueta E, Noma H, Kato M, Imamura T, Taniguchi S, Yamamoto K. | 4. 巻<br>8       |
| 2. 論文標題<br>Hepatic insulin clearance is increased in patients with high HbA1c type 2 diabetes.   | 5. 発行年<br>2020年 |
| 3. 雑誌名<br>BMJ Open Diabetes Research & Care  | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1136/bmjdr-2019-001149.   | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>Taufiq F, Li P, Kuwabara M, Kurata Y, Hamada T, Takami A, Miake J, Tsuneto M, Shirayoshi Y, Kimiyoshi I, Ninomiya H, Miyazaki S, Mizuta E, Ohtahara A, Sugihara S, Ogino K, Kato M, Yamamoto K, Yamamoto T and Hisatome I. | 4. 巻<br>3           |
| 2. 論文標題<br>Novel inhibitory effects of dotinurad, a selective urate reabsorption inhibitor, on urate crystal-induced activation of NLRP3 inflammasomes in macrophages Vascular Failure.  | 5. 発行年<br>2020年     |
| 3. 雑誌名<br>Vascular Failure   | 6. 最初と最後の頁<br>59-67 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.30548/vascfail.3.2_59   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Kato M, Miake J, Ogura K, Iitsuka K, Okamura A, Tomomori T, Tsujimoto D, Kato M, Yamamoto K.   | 4. 巻<br>60              |
| 2. 論文標題<br>Different Effects of Pulmonary Vein Isolation on Quality of Life Between Patients with Persistent and Paroxysmal Atrial Fibrillation. | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>International Heart Journal  | 6. 最初と最後の頁<br>1328-1333 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1536/ihj.19-201.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Takeshi Koyama, Akari Tsubota, Tatsuya Sawano, Masashi Tawa, Bunta Watanabe, Jun Hiratake, Keisuke Nakagawa, Yasuo Matsumura, Mamoru Ohkita. | 4. 巻<br>42              |
| 2. 論文標題<br>Involvement of -Glutamyl Transpeptidase in Ischemia/Reperfusion-Induced Cardiac Dysfunction in Isolated Rat Hearts.                         | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Biological and Pharmaceutical Bulletin.  | 6. 最初と最後の頁<br>1947-1952 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1248/bpb.b19-00434.   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Adachi M, Watanabe M, Kurata Y, Inoue Y, Notsu T, Yamamoto K, Horie H, Tanno S, Morita M, Miake J, Hamada M, Nakasone N, Ninomiya H, Tsuneto M, Shirayoshi Y, Yoshida A, Mishimura M, Yamamoto K, Hisatome I. | 4. 巻<br>83              |
| 2. 論文標題<br>-Adrenergic Blocker, Carvedilol, Abolishes Ameliorating Actions of Adipose-Derived Stem Cell Sheets on Cardiac Dysfunction and Remodeling After Myocardial Infarction.                                       | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Circulation Journal   | 6. 最初と最後の頁<br>2282-2291 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1253/circj.CJ-19-0261.   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Miyazaki T, Zhao Z, Ichihara Y, Yoshino D, Imamura T, Sawada K, Hayano S, Kamioka H, Mori S, Hirata H, Araki K, Kawauchi K, Shigemoto K, Tanaka S, Bonewald LF, Honda H, Shinohara M, Nagao M, Ogata T, Harada I, Sawada Y. | 4. 巻<br>5       |
| 2. 論文標題<br>Mechanical regulation of bone homeostasis through p130Cas-mediated alleviation of NF- B activity.  | 5. 発行年<br>2019年 |
| 3. 雑誌名<br>Science Advances  | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1126/sciadv.aau7802.   | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>澤野 達哉、三明 淳一郎、アグンクルニアワン プリヨノ、岡村 昌宏、友森 匠也、高見 亜以子、長田 佳子、今村 武史. |
| 2. 発表標題<br>SGLT2阻害薬は高脂肪食誘発肥満マウスモデルにおける 心房細動誘発性亢進を抑制する                  |
| 3. 学会等名<br>第32回日本循環薬理学会年会  |
| 4. 発表年<br>2022年 ~ 2023年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Keiko Nagata, Kazuhiko Hayashi, Takeshi Imamura.   |
| 2. 発表標題<br>Relevance of the TRAb-IgM induced by Epstein-Barr virus reactivation to Graves' disease. |
| 3. 学会等名<br>第51回日本免疫学会学術集会   |
| 4. 発表年<br>2022年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>澤野 達哉、三明 淳一郎、クルニアワン プリヨノ アグン、岡村 昌宏、友森 匠也、高見 亜衣子、長田 佳子、今村 武史. |
| 2. 発表標題<br>SGLT2阻害薬は肥満における心房細動誘発性および持続時間を低下させる。                         |
| 3. 学会等名<br>第96回日本薬理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2022年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>プリヨノ アグン、三明 淳一郎、市原 克則、澤野 達哉、長田 佳子、今村 武史.  |
| 2. 発表標題<br>CaMKII inhibition prevents the Dox-induced mitochondrial dysfunction without the involvement of Drp1 or MCU |
| 3. 学会等名<br>第96回日本薬理学会年会  |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>長田 佳子、林 一彦、市原 克則、澤野 達哉、プリヨノ アグン、三明 淳一郎、今村 武史.                 |
| 2. 発表標題<br>Epstein-Barr virus再活性化に誘導されるIgM型のTSHレセプター抗体はTSHのレセプター結合を阻害しない |
| 3. 学会等名<br>第96回日本薬理学会年会  |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>今村 武史、周 余航、市原 克則、森野 勝太郎、澤野 達哉、松澤 和彦、長田 佳子、櫻井 英俊、三明 淳一郎. |
| 2. 発表標題<br>骨格筋細胞分化における筋線維型決定機序の解明.                                 |
| 3. 学会等名<br>第75回日本薬理学会西南部会  |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>今村 武史.                      |
| 2. 発表標題<br>インスリン抵抗性に関わるインスリン受容体機能の新知見. |
| 3. 学会等名<br>第95回日本薬理学会年会                |
| 4. 発表年<br>2021年～2022年                  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>三明 淳一郎.                           |
| 2. 発表標題<br>腸管由来代謝産物の炎症への関与に着目した心房細動予防のための創薬. |
| 3. 学会等名<br>第95回日本薬理学会年会                      |
| 4. 発表年<br>2021年～2022年                        |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Asadur Rahman、 Tatsuya Sawano、 Kento Kitada、 Takeshi Imamura、 Daisuke Nakano、 Akira Nishiyama.  |
| 2. 発表標題<br>Cardioprotective Effects of a Nonsteroidal Mineralocorticoid Receptor Blocker, Esaxerenone, in Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats. |
| 3. 学会等名<br>第95回日本薬理学会年会  |
| 4. 発表年<br>2021年～2022年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Nagata Keiko、 Kazuhiko Hayashi、 Yukio Satoh、 Mitsuhiro Osaki、 Yoshinori Ichihara、 Tatsuya Sawano、 Agung Kurniawan Priyono、 Kazuhiko Matsuzawa、 Junichiro Miake、 Takeshi Imamura. |
| 2. 発表標題<br>TRAb-IgM induced by Epstein-Barr virus reactivation does not have thyroid stimulating effect, but injures the thyroid follicular epithelial cells and releases thyroid antigens. |
| 3. 学会等名<br>第95回日本薬理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2021年～2022年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Kurniawan Priyono Agung、 Junichiro Miake、 Yoshinori Ichihara、 Tatsuya Sawano、 Keiko Nagata、 Takeshi Imamura. |
| 2. 発表標題<br>CaMKII inhibition prevent Doxorubicin-induced mitochondrial dysfunction, independent from Drp1 and MCU.      |
| 3. 学会等名<br>第95回日本薬理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2021年～2022年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>長田佳子、林一彦、佐藤幸夫、尾崎充彦、三明淳一郎、市原克則、澤野達哉、Zhou Yuhang、Priyono Agung、松澤和彦、今村武史。  |
| 2. 発表標題<br>Thyrotropin receptor antibodies (TRAbs) induced by Epstein-Barr virus reactivation: Significance on Graves' disease. |
| 3. 学会等名<br>第94回日本薬理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2020年～2021年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kurniawan Priyono Agung, Junichiro Miake, Zhou Yuhang, Yoshinori Ichihara, Tatsuya Sawano, Keiko Nagata, Takeshi Imamura. |
| 2. 発表標題<br>CAMKII inhibitor as novel cardioprotective agent on doxorubicin cardiotoxicity..  |
| 3. 学会等名<br>第94回日本薬理学会年会  |
| 4. 発表年<br>2020年～2021年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Yuhang Zhou, Yoshinori Ichihara, Hirotaka Iwasaki, Agung Kumawan Priyono, Tatsuya Sawano, Keiko Nagata, Jun-ichiro Miake, Hidetoshi Sakurai, Takeshi Imamura |
| 2. 発表標題<br>Involvement of microRNA-133a-3p with the conversion of muscle fiber type in human skeletal myogenesis.   |
| 3. 学会等名<br>第94回日本薬理学会   |
| 4. 発表年<br>2020年～2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Agung Kurniawan Priyono、三明淳一郎、Zhou Yuhang、市原克則、澤野達哉、長田佳子、今村武史。 |
| 2. 発表標題<br>ドキシゾルピシンの心毒性を予防するための新しいアプローチとしてのCAMKII-ミトコンドリア経路。              |
| 3. 学会等名<br>第73回日本薬理学会西南部会   |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Zhou Yuhang、市原克則、岩崎広高、Agung Kurniawan Priyono、澤野達哉、長田佳子、三明淳一郎、今村武史. |
| 2. 発表標題<br>MicroRNA-133a-3pはヒト骨格筋細胞分化における筋繊維型構成制御に関与する.                        |
| 3. 学会等名<br>第73回日本薬理学会西南部会  |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>市原克則、澤野達哉、周余航、アグン プリヨノ、三明淳一郎、今村武史. |
| 2. 発表標題<br>銅キレート剤クプリゾンの脂肪分化へのin vitroでの効果.    |
| 3. 学会等名<br>第93回日本薬理学会年会                       |
| 4. 発表年<br>2019年～2020年                         |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>瀧川和子、広瀬彩、石田健太郎、市原克則、澤野達哉、周余航、プリヨノ アグン、三明淳一郎、今村武史 |
| 2. 発表標題<br>高脂肪食負荷マウスにおけるクプリゾンの抗肥満作用                         |
| 3. 学会等名<br>第93回日本薬理学会年会                                     |
| 4. 発表年<br>2019年～2020年                                       |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>澤野達哉、三明淳一郎、岡村昌宏、友森匠也、高見亜衣子、周余航、Agung Priyono、市原克則、山本一博、今村武史 |
| 2. 発表標題<br>食餌負荷肥満ラットにおける心房細動の検討  |
| 3. 学会等名<br>第93回日本薬理学会年会  |
| 4. 発表年<br>2019年～2020年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>三明淳一郎、岡村昌宏、澤野達哉、市原克則、周余航、友森匠也、高見亜衣子、山本一博、今村武史. |
| 2. 発表標題<br>トロンビンの血管生理作用とその分子機構の薬理的説明.                     |
| 3. 学会等名<br>第29回日本循環薬理学会                                   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>澤野達哉、三明淳一郎、岡村昌宏、友森匠也、高見亜衣子、周余航、市原克則、山本一博、今村武史. |
| 2. 発表標題<br>肥満による心房細動誘発性亢進モデルの開発.                          |
| 3. 学会等名<br>第72回日本薬理学会西南部会                                 |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>市原克則、澤野達哉、周余航、三明淳一郎、今村武史.             |
| 2. 発表標題<br>銅のキレート剤は高脂肪食による肥満に伴う体脂肪増加と耐糖能異常を抑制する. |
| 3. 学会等名<br>第72回日本薬理学会西南部会                        |
| 4. 発表年<br>2019年                                  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

|   |
|---|
| 鳥取大学医学部薬理学・薬物療法学ホームページ<br><a href="https://tottori-univ-medpharm.jp/">https://tottori-univ-medpharm.jp/</a> |
|---|



## 6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                 | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                     | 備考 |
|-------|---|---|----|
| 研究分担者 | 土屋 英明<br>(TSUCHIYA Hideaki)<br>(10378440) | 滋賀医科大学・動物生命科学研究センター・技術専門職員<br><br>(14202) |    |
| 研究分担者 | 上田 悦子<br>(UEDA Etsuko)<br>(40335526)      | 鳥取大学・医学部・講師<br><br>(15101)                |    |
| 研究分担者 | 三明 淳一郎<br>(MIAKE Junichiro)<br>(40372677) | 鳥取大学・医学部・准教授<br><br>(15101)               |    |
| 研究分担者 | 伊藤 靖<br>(ITO Yasushi)<br>(90324566)       | 滋賀医科大学・医学部・教授<br><br>(14202)              |    |

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)     | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|-------|-------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 市原 克則<br>(ICHIHARA Yoshinori) |                       |    |
| 研究協力者 | 澤野 達哉<br>(SAWANO Tatsuya)     |                       |    |

## 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 |
|---------|---------|
|         |         |