

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07105

研究課題名(和文) 不整脈治療薬としての2型リアノジン受容体阻害薬の有用性

研究課題名(英文) Effectiveness of RyR2 inhibitors as antiarrhythmic drugs

研究代表者

呉林 なごみ (Kurebayashi, Nagomi)

順天堂大学・医学部・客員准教授

研究者番号：50133335

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：2型リアノジン受容体(RyR2)の活性亢進に起因する悪性不整脈は、RyR2阻害薬によって抑制される事が予測されるが、そのような薬は未だ存在しないため、これを検証する必要がある。まず我々はRyR2疾患変異では、細胞質側Ca²⁺による制御機構(CICR)が亢進しこれが不整脈重症度を定める事を明らかにした。次に大規模スクリーニングによる探索と構造展開による最適化を行い、RyR2特異的かつ高親和性のCICR阻害薬を見出した。さらにRyR2変異不整脈モデルマウスを用いた抗不整脈薬効果の新たな検証方法を確立した。検証の結果、我々の新規RyR2阻害薬はモデルマウスの不整脈を効率的に抑制することが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の結果は、これまで不整脈治療薬として存在しなかったRyR2阻害薬が新たなカテゴリーの抗不整脈薬となる可能性を示す。RyR2阻害薬は遺伝性不整脈疾患の特効薬となる可能性があるため、社会的意義は大きい。また、RyR2は中枢神経系など心臓以外の様々な臓器に発現しており、てんかんやアルツハイマー病への関与が提唱されているが、その詳細を研究する手段が少なかった。特異的RyR2阻害薬を世に出すことは、これらの重要な疾患の機序解明にも貢献するため、学術的な意義も大きい。

研究成果の概要(英文)：Lethal arrhythmias caused by hyperactivation of the type 2 ryanodine receptor (RyR2) are predicted to be suppressed by RyR2 inhibitors. However, such RyR2-specific inhibitors do not yet exist, so this needs to be verified. First, we showed that disease-causing RyR2 mutations increase the cytoplasmic Ca²⁺ dependent RyR2 channel activity (i.e., CICR), which then determines the arrhythmia severity. We then performed high-throughput screening for RyR2 inhibitors followed by structural optimization, and finally found a RyR2-specific and high-affinity CICR inhibitor. In addition, we established validation procedures for antiarrhythmic effects using arrhythmia model mice harboring RyR2 mutations. Our novel RyR2 inhibitor efficiently suppressed arrhythmias in the model mice.

研究分野：薬理学

キーワード：リアノジン受容体 不整脈 心臓 カルシウム ドラッグスクリーニング

1. 研究開始当初の背景

生命を脅かす危険な疾患である心室性不整脈は、伝導異常によって起こるものと、歩調取り以外の部位からの刺激生成(異所性興奮)から起こるものとがある。前者は心臓の器質的な異常に基づく事が多いが、後者は慢性心不全や、遺伝性疾患であるカテコラミン誘発性多型性心室頻拍(CPVT)、QT延長症候群(LQTS)といったチャネル病など、心筋細胞機能の様々な変化によって起こる。特に、2型リアノジン受容体(RyR2)の遺伝子異常が原因で起こるCPVT1は、激しい運動や情動ストレスによって惹起され、若年者の突然死の原因となっている。次世代シーケンサーの発達によって、これまで300種類以上のRyR2疾患変異が同定され、以前は原因不明の突然死とされていたものがRyR2やRyR2調節蛋白の変異が原因だということが分かってきた。

異所性興奮による心室性不整脈の既存の治療薬としては、βブロッカー、Naチャネル阻害薬、Ca拮抗薬があるが、効果がない症例も多い(「不整脈薬物治療のガイドライン2009年版」日本循環器学会)。そのため、植込み型除細動器(ICD)がよく併用されるが、ICDは不整脈発作自体を抑えないので頻回作動すると身体にダメージが大きい。異所性興奮による不整脈を抑える新薬が望まれている。

正常な心筋細胞では活動電位発生時にL型Caチャネルを通りCa²⁺が細胞内に流入し、筋小胞体のCa²⁺遊離チャネル/2型リアノジン受容体(RyR2)を活性化してCa²⁺誘発性Ca²⁺遊離(CICR)を起こし筋収縮に至る。一方、心不全では長期的に交感神経の亢進状態が続くとリン酸化やCa²⁺過負荷によりRyR2活性が異常亢進し、Ca²⁺waveのような自発的なCa²⁺遊離が起こり易くなる(図1)。遊離されたCa²⁺が起電的NCX反応により細胞外に排出される際、膜の脱分極(EAD、DAD)が起こる。それが閾値を越えるとtriggered activity(撃発活動)、すなわち不整脈となる。心不全ではK電流の減少や線維化など他の要因もさらに易不整脈性を助長している。異所性興奮による不整脈に対する既存の治療薬の作用機序は、Naチャネル阻害薬はtriggered activityを抑制し、

Ca拮抗薬はL型CaチャネルからのCa²⁺流入を抑制し小胞体のCa²⁺過負荷を抑え、β遮断薬はβ受容体を介したL型CaチャネルやRyR2活性の亢進を抑えるが、RyR2からのCa²⁺遊離を直接抑える訳ではない。

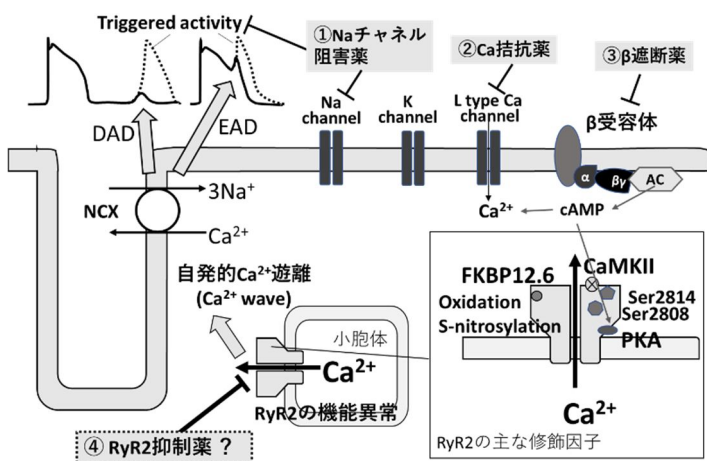


図1 心筋細胞における異所性興奮の発生機序と既存抗不整脈薬作用部位

2型リアノジン受容体(RyR2)活性が、遺伝性疾患や心不全における交感神経の緊張によって亢進すると、自発的なCa²⁺遊離が起こりやすくなる。遊離されたCa²⁺は起電性NCXにより細胞外に排出され、脱分極(EAD、DAD)が起こる。それが閾値を越えると新たな活動電位であるtriggered activityが発生する。

仮説: RyR2からの自発的Ca²⁺遊離を抑制したら不整脈は止まる。

EAD: 早期後脱分極、DAD: 後期後脱分極

我々は、これら既存の不整脈の治療薬が効きにくい理由として、どの薬も亢進状態にある小胞体のRyR2を直接に抑制しないので、自発的Ca²⁺遊離をすぐに抑えられず、不整脈発生を止め切ることが出来ないと考えた。この仮説では、起点である自発的Ca²⁺遊離の抑制、即ちRyR2の抑制が抗不整脈効果を示すと考えた。この仮説を検証するためには、まず、RyR2の活性亢進によって起こる様々な疾患、すなわちRyR2や関連蛋白の変異による遺伝性不整脈疾患および慢性心不全、の不整脈発生機序を理解した上で、RyR2阻害薬を開発し、実際に不整脈モデルでその効果を検証することが必要である。

2. 研究の目的

(1) まず、遺伝子疾患や心不全における心室性不整脈を解析し、発症機序を理解する。特にRyR2変異に伴う疾患では、Ca²⁺動態異常の原因に、細胞質Ca²⁺制御説と小胞体内Ca²⁺制御説が提唱されているので、まずこれを解明し、実際の患者さんの重症度との関連について明らかにする。

(2) 複数の不整脈モデルマウス(RyR2変異マウス、心不全モデルマウス)を入手し、実際の不整脈の発生パターンを解析し、薬物効果の検証をするための基盤を構築する。

(3) 大規模スクリーニングによってRyR2特異的な阻害薬を見出し、化合物最適化によりRyR2

親和性の高い RyR2 阻害薬を開発する。

(4) (3)で開発した高親和性 RyR2 阻害薬の効果を (2)の不整脈モデルマウスを用いて検証する。

3. 研究の方法

(1) RyR2 発現 HEK293 細胞を用いた疾患変異 RyR2 の機能解析: Ca^{2+} 動態測定による解析は、様々な疾患変異 RyR2 を発現する HEK293 細胞に、細胞質 Ca^{2+} インジケータ蛋白 G-GECO1.1 と小胞体 Ca^{2+} インジケータ蛋白 R-CEPIA1er を共発現させて、細胞質 Ca^{2+} のオシレーション頻度および小胞体 Ca^{2+} を定量的に測定した。RyR2 の細胞質 Ca^{2+} 依存性活性は、RyR2 発現 HEK293 細胞のミクロソーム分画を調整し、様々な Ca^{2+} 濃度における $[^3H]$ リアノジン結合を測定した。

(2) 大規模スクリーニングによる RyR2 特異的阻害薬の探索と構造展開による高親和性化合物の開発: RyR2 および小胞体 Ca^{2+} インジケータ蛋白を共発現する HEK293 細胞をマルチウェルプレートに撒き、小胞体 Ca^{2+} インジケータの蛍光強度を蛍光分光光度計により経時的に測定した。アッセイ用化合物の添加前後の蛍光強度比から、RyR2 阻害効果および活性化効果を評価した。スクリーニングで見出したヒット化合物を元に、分担者である東京医科歯科大学、森先生の研究室で構造展開を行った。

(3) モデルマウスの不整脈の定量的評価と、化合物の薬効判定法の確立: まず RyR2 変異を有する 4 系統のマウスを入手した。不整脈は、麻酔下誘発性不整脈(イソフルラン麻酔下においてエピネフリン単独、あるいはエピネフリン+カフェイン混合液を注射することによって誘発される不整脈の頻度を測定)に対する化合物前投与の効果の評価する方法と、自発不整脈(テレメトリ心電図装置を用い、マウスの日常活動の中で自発的に起こる不整脈の頻度を測定)に対する化合物投与の効果の評価する方法、により評価した。

4. 研究成果

(1) RyR2 発現 HEK293 細胞を用いた疾患変異 RyR2 の機能解析と Ca^{2+} 動態の関係: ヒト患者から見いだされた 10 種類の RyR2-CPVT 変異および様々な活性を有する人工的な 5 種類の変異 RyR2 を HEK293 細胞に発現させ解析を行った[1] (図 2)。その結果、CPVT 変異は HEK293 細胞の細胞質 Ca^{2+} オシレーション頻度を増し、小胞体 Ca^{2+} 濃度を減少させた(図 3)。これは CPVT 患者の心筋で起こりうる不整脈起源の Ca^{2+} wave および小胞体からの Ca 漏出とよく対応している。また CPVT 変異は細胞質 Ca^{2+} 依存性 RyR2 活性(A_{rest})を多かれ少なかれ増大させた(図 4)。そして Ca^{2+} オシレーション頻度と A_{rest} の間には正の相関関係が、小胞体 Ca^{2+} 濃度と A_{rest} の間には負の相関関係が見いだされた(図 5)。CPVT 患者の重症度との関係を調べると、 A_{rest} 亢進が小さめの変異は初発年齢に幅があり家族性疾患が多いが、 A_{rest} 亢進が大きな変異では初発年齢が低く孤発性が多い、すなわち機能解析から重症度が予測できることが分かった(図 6)。

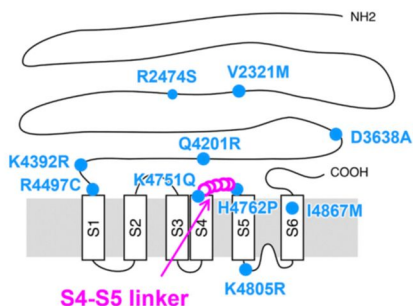


図 2 解析した RyR2 変異部位
青: 人 CPVT 変異、ピンク: 人工変異。
文献[1]

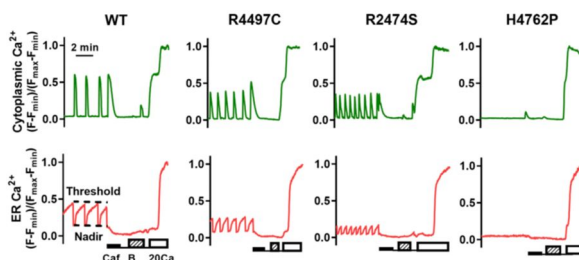


図 3 WT および CPVT 変異 RyR2 を発現する HEK293 細胞の細胞質(上)および小胞体(下)の Ca^{2+} 動態。CPVT 変異の部位によりオシレーション頻度および小胞体 Ca^{2+} レベルが異なっている。文献[1]

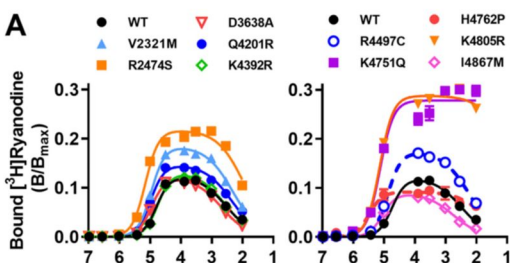


図 4 WT および CPVT-RyR2 変異体の Ca^{2+} 依存性 $[^3H]$ リアノジン結合。文献[1]

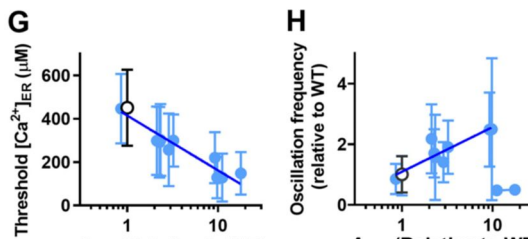


図 5 小胞体 ER Ca^{2+} レベルと A_{rest} の関係(左)および Ca^{2+} オシレーション頻度と A_{rest} の関係(右)。文献[1]

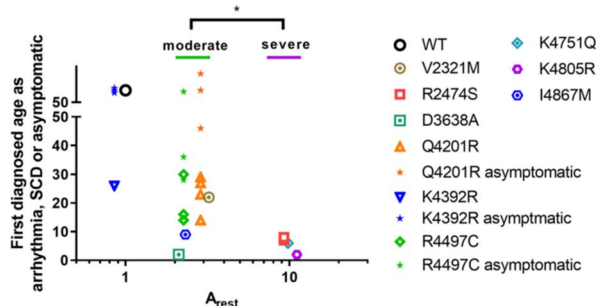


図6 CPVT患者の初発年齢と A_{rest} の関係
 A_{rest} がWTの2-3倍を示す変異では初発年齢が様々で家族性不整脈症候群もみられる。一方 A_{rest} が10倍かそれ以上の変異は、不整脈の初発年齢が低く孤発性であった。文献[1]

上述の研究に加え、遺伝子異常による不整脈の性質と Ca^{2+} 動態の関係について、循環器系の研究者との共同研究で、多くの解析を行った。RyR2の機能亢進型変異としては、CPVTに加えて左室緻密化障害という解剖学的な変性を併発するRyR2-p.R169Q [2]、埋込型除細動器(ICD)の作動により突然死が誘発されたRyR2-p.Q4936Kの症例 [3]を報告した。さらにRyR2を安定化する Ca^{2+} 結合蛋白カルモジュリンの変異で重篤な不整脈と精神遅滞が起こるCALM2-p.E46Kについて解析を行い、報告した [4]。

さらに我々は、機能喪失型変異についても解析を行った。徐脈やQT延長を示すが致死性ではない心電図異常を起こす変異であるRyR2-p.S4168P、RyR2-p.K4594Q、と、short coupled Torsades Pointes や心室細動などの重篤な不整脈を起こす変異RyR2-p.E4146D、RyR2-p.S4938F、については、HEK293細胞での解析に加え、株化心筋細胞であるHL-1細胞に変異体を発現し Ca^{2+} 動態を観測し、チャネル活性低下による不整脈発生機序を提唱した [5]。

最近我々は、RyR2作用薬の開発につながるため、RyR2チャネルの構造と開口調節機構の関係の研究にも着手している。すなわち、疾患変異RyR2のクライオ電子顕微鏡による微細構造解析を行っている [6, 7]。特に、チャネル開口調節のキーとなるアミノ酸の役割を確認しながらのRyR2のゲーティングに關与するコア部分の構造解析の手法は高く評価された[8]。

(2) 大規模スクリーニングによるRyR2特異的阻害薬の探索と構造展開による高親和性化合物の開発：

上述の小胞体 Ca 濃度がRyR2活性をよく反映するという結果 [1] (図5)に基づき、RyR2およびER Ca センサー蛋白を発現するHEK293細胞を用いた大規模スクリーニング系を確立した。実際に、東京医科歯科大学の機能既知化合物ライブラリ(約1500種類)を探索し、RyR2阻害作用のある3種類の化合物を見出した。これらの化合物は、単離心筋細胞において、活動電位による Ca^{2+} transientは抑制せずに、自発的 Ca^{2+} 遊離(Ca^{2+} wave)だけを抑制したので、RyR2化合物が新たな抗不整脈薬となる期待が高まった(Takenaka et al., 投稿中)。

さらに我々は、スクリーニング法を改良し、東大創薬機構のライブラリ、約30,000種類を探索し、複数のヒット化合物を見出した。そのうちの1つ、化合物A($IC_{50} = 3 \mu M$)についての構造展開を行い、高親和性の化合物E($IC_{50} = 15 nM$)を得た(図7)。これらの一連の化合物については、特許出願を行った(WO2021162054A1)。

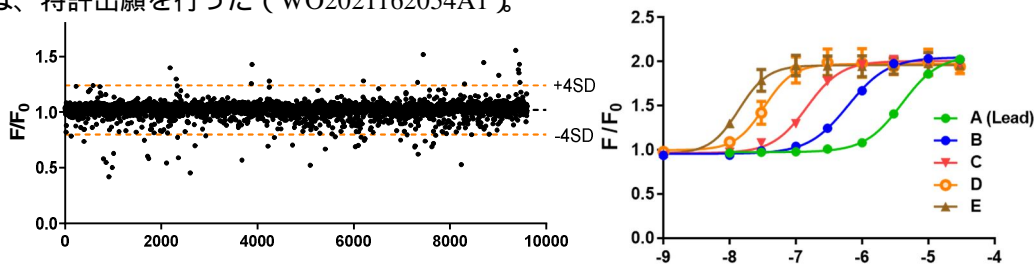


図7 RyR2発現細胞を用いたRyR2作用薬のスクリーニング結果(左)と化合物の構造展開の結果(右)。構造展開により IC_{50} が約1/200倍まで小さくなった(未公開データ)。

(3) モデルマウスも用いた不整脈の定量的評価法および化合物の薬効判定法の確立

RyR2変異マウスを用いた検討

再現性良く不整脈を出現させることが、マウスを用いた薬物効果の検証に重要である。そこで、我々はRyR2疾患変異を有するマウス4系統を譲渡および新規作製によって入手した。RyR2の変異は、上述の図6を参考にして、 A_{rest} がWTの3倍(変異W)、10倍(変異X)、90(変異Y)、100倍(変異Z)の変異を有するマウスを選択した。変異Wは、WTと同様に通常は全く不整脈を示さず、イソフルラン麻酔下でエピネフリンとカフェインの混合液(Epi/Caf)の注射により約8割強のマウスに不整脈が誘発された。変異Wのマウスでは日常生活上の不整脈を計測するテレメトリシステムでの心電図には全く不整脈はみられなかった。一方、変異Xは、変異Wより

も不整脈が誘発されやすく、イソフルラン麻酔下で、エピネフリン単独の注射で心室性不整脈が誘発された。また、テレメトリスシステムで心電図を測定すると、すべてのマウスに活動時に断続的な自発的な不整脈がみられた。変異 X と Z のマウスは、麻酔下でも自発的な不整脈が時折みられたが、繁殖率が悪くスムーズな実験が困難であった。よって、薬剤の抗不整脈効果の検証は、変異 W を用いた誘発不整脈と X のマウスを用いた自発的不整脈について検討を行うこととした。現在、変異マウス W と X を用いた化合物 E の効果検証は一通り終わり、良い結果が得られている。論文を準備中である。

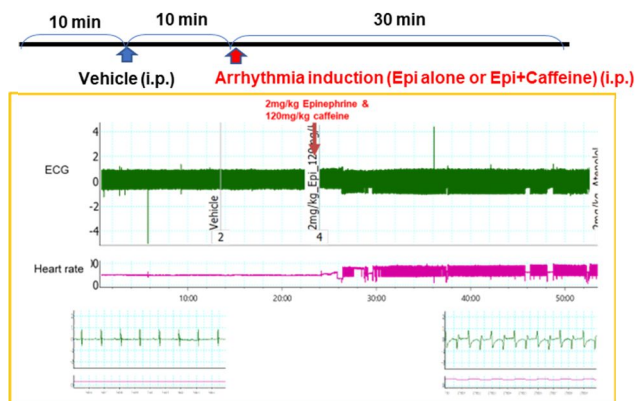


図 8 RyR2 変異マウス W を用いた抗不整脈薬スクリーニング法。

まず、ベースラインの記録をとった後、vehicle または薬を投与して 10 分後に Epi/Caf 混合液を投与する。Vehicle、化合物 E あるいは既存抗不整脈薬を前投与した場合の誘発性不整脈の割合を比較する。

心不全モデルマウス

心不全における不整脈も RyR2 阻害薬の適用対象となる可能性があるため、2 系統の心不全モデルマウス (*tnnt2* ΔK210 および、dnNRSF) を用いた検討も行っている。実際に、機能既知化合物ライブラリより見出した RyR2 阻害薬は *tnnt2* ΔK210 マウスの単離心筋細胞における Ca²⁺ wave を抑制した (Takenaka et al., 論文投稿中)。また、心不全モデル dnNRSF マウス心室筋の Ca²⁺ 動態解析では、EAD 様の Ca²⁺ 減衰遅延がみられたので [9]、今後この EAD 様 Ca²⁺ シグナルに対する化合物 E の作用も調べる予定である。

引用文献

1. Kurebayashi, N., et al., *Cytosolic Ca²⁺-dependent Ca²⁺ release activity primarily determines the ER Ca²⁺ level in cells expressing the CPVT-linked mutant RYR2*. J Gen Physiol, 2022. **154**: e202112869.
2. Nozaki, Y., et al., *Co-Phenotype of Left Ventricular Non-Compaction Cardiomyopathy and Atypical Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia in Association With R169Q, a Ryanodine Receptor Type 2 Missense Mutation*. Circ J, 2020. **84**: 226-234.
3. Itoh, H., et al., *Sudden death after inappropriate shocks of implantable cardioverter defibrillator in a catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia case with a novel RyR2 mutation*. J Electrocardiol, 2021. **69**: 111-118.
4. Gao, J., et al., *Novel Calmodulin Variant p.E46K Associated With Severe Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia Produces Robust Arrhythmogenicity in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes*. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2023. **16**: e011387.
5. Hirose, S., et al., *Loss-of-function mutations in cardiac ryanodine receptor channel cause various types of arrhythmias including long QT syndrome*. Europace, 2022. **24**: 497-510.
6. Iyer, K.A., et al., *Structural mechanism of two gain-of-function cardiac and skeletal RyR mutations at an equivalent site by cryo-EM*. Sci Adv, 2020. **6**: eabb2964.
7. Ogawa, H., et al., *Regulatory mechanisms of ryanodine receptor/Ca²⁺ release channel revealed by recent advancements in structural studies*. J Muscle Res Cell Motil, 2021. **42**: 291-304.
8. Kobayashi, T., et al., *Molecular basis for gating of cardiac ryanodine receptor explains the mechanisms for gain- and loss-of-function mutations*. Nat Commun, 2022. **13**: 2821.
9. Inazumi, H., et al., *NRSF-GNAO1 Pathway Contributes to the Regulation of Cardiac Ca²⁺ Homeostasis*. Circ Res, 2022. **130**: 234-248.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Kurebayashi Nagomi, Murayama Takashi, Ota Ryosaku, Suzuki Junji, Kanemaru Kazunori, Kobayashi Takuya, Ohno Seiko, Horie Minoru, Iino Masamitsu, Yamashita Fumiyoshi, Sakurai Takashi	4. 巻 154
2. 論文標題 Cytosolic Ca ²⁺ -dependent Ca ²⁺ release activity primarily determines the ER Ca ²⁺ level in cells expressing the CPVT-linked mutant RYR2	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of General Physiology	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) 10.1085/jgp.202112869	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 Gao Jingshan, Makiyama T, 22名省略, Kurebayashi N, Murayama T, Sakurai T, Horie M, Kimura T	4. 巻 16
2. 論文標題 Novel Calmodulin Variant p.E46K Associated With Severe Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia Produces Robust Arrhythmogenicity in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology	6. 最初と最後の頁 e011387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCEP.122.011387	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 Inazumi Hideaki, Kuwahara Koichiro, Nakagawa Yasuaki, Kuwabara Yoshihiro, Numaga-Tomita Takuro, Kashiwara Toshihide, Nakada Tsutomu, Kurebayashi Nagomi, Oya M, Nonaka M, Sugihara M, Kinoshita H, Moriuchi K, Yanagisawa H, Nishikimi T, Motoki H, Yamada M, Morimoto S, Otsu K, Mortensen R M., Nakao K, Kimura T	4. 巻 130
2. 論文標題 NRSF-GNAO1 Pathway Contributes to the Regulation of Cardiac Ca ²⁺ Homeostasis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Circulation Research	6. 最初と最後の頁 234 ~ 248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCRESAHA.121.318898	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 Hirose Sayako, Murayama Takashi, Tetsuo Naoyuki, Hoshiai Minako, Kise Hiroaki, Yoshinaga Masao, Aoki Hisaaki, Fukuyama Megumi, Wuriyanghai Yimin, Wada Yuko, Kato Koichi, Makiyama Takeru, Kimura Takeshi, Sakurai Takashi, Horie Minoru, Kurebayashi Nagomi, Ohno Seiko	4. 巻 24
2. 論文標題 Loss-of-function mutations in cardiac ryanodine receptor channel cause various types of arrhythmias including long QT syndrome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 EP Europace	6. 最初と最後の頁 497 ~ 510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/europace/euab250	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 Yamazawa Toshiko, Kobayashi Takuya, Kurebayashi Nagomi, Konishi Masato, Noguchi Satoru, Inoue Takayoshi, Inoue Yukiko-U, Nishino I, Mori S, Iinuma H, Manaka N, Kagechika H, Uryash A, Adams J, Lopez JR, Liu X, Diggle C, Allen PD, Kakizawa S, Ikeda K, Lin B, Ikemi Y, Nunomura K, Nakagawa S, Sakurai T, Murayama T	4. 巻 12
2. 論文標題 A novel RyR1-selective inhibitor prevents and rescues sudden death in mouse models of malignant hyperthermia and heat stroke	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4293
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-24644-1	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 該当する

1. 著者名 Sakata Koji, Matsuyama Sho, Kurebayashi Nagomi, Hayamizu Kengo, Murayama Takashi, Nakamura Kunihide, Kitamura Kazuo, Morimoto Sachio, Takeya Ryu	4. 巻 26
2. 論文標題 Differential effects of the formin inhibitor SMIFH2 on contractility and Ca ²⁺ handling in frog and mouse cardiomyocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 583 ~ 595
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12873	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 Kuroda Yui, Nonaka Miki, Kamikubo Yuji, Ogawa Haruo, Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi, Sakairi Hakushun, Miyano Kanako, Komatsu Akane, Dodo Tetsushi, Nakano-Ito Kyoko, Yamaguchi Keisuke, Sakurai Takashi, Iseki Masako, Hayashida Masakazu, Uezono Yasuhito	4. 巻 141
2. 論文標題 Inhibition of endothelin A receptor by a novel, selective receptor antagonist enhances morphine-induced analgesia: Possible functional interaction of dimerized endothelin A and μ -opioid receptors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedicine & Pharmacotherapy	6. 最初と最後の頁 111800 ~ 111800
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopha.2021.111800	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 Itoh Hideki, Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi, Ohno Seiko, Kobayashi Takuya, Fujii Yusuke, Watanabe Masaya, Ogawa Haruo, Anzai Toshihisa, Horie Minoru	4. 巻 69
2. 論文標題 Sudden death after inappropriate shocks of implantable cardioverter defibrillator in a catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia case with a novel RyR2 mutation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Electrocardiology	6. 最初と最後の頁 111 ~ 118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jelectrocard.2021.09.015	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 Hu Yifan, Iyer Kavita, Nayak Ashok, Kurebayashi Nagomi, Murayama Takashi, Samsó Montserrat	4. 巻 11
2. 論文標題 Purification of Recombinant Wild Type and Mutant Ryanodine Receptors Expressed in HEK293 Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIO-PROTOCOL	6. 最初と最後の頁 e4112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.4112	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 Iyer Kavita A., Hu Yifan, Nayak Ashok R., Kurebayashi Nagomi, Murayama Takashi, Samsó Montserrat	4. 巻 6
2. 論文標題 Structural mechanism of two gain-of-function cardiac and skeletal RyR mutations at an equivalent site by cryo-EM	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabb2964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abb2964	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 Kobayashi Takuya, Tsutsumi Akihisa, Kurebayashi Nagomi, Saito Kei, Kodama Masami, Sakurai Takashi, Kikkawa Masahide, Murayama Takashi, Ogawa Haruo	4. 巻 13
2. 論文標題 Molecular basis for gating of cardiac ryanodine receptor explains the mechanisms for gain- and loss-of function mutations	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2821
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-30429-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 Kurebayashi Nagomi, Murayama Takashi	4. 巻 155
2. 論文標題 RyR2 mutation-linked arrhythmogenic diseases and its therapeutic strategies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Folia Pharmacologica Japonica	6. 最初と最後の頁 225 ~ 229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1254/fpj.20017	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) 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 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) 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 Uzu Miaki, Nonaka Miki, Miyano Kanako, Sato Hiromi, Kurebayashi Nagomi, Yanagihara Kazuyoshi, Sakurai Takashi, Hisaka Akihiro, Uezono Yasuhito	4. 巻 140
2. 論文標題 A novel strategy for treatment of cancer cachexia targeting xanthine oxidase in the brain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 109 ~ 112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2019.04.005	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) 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 Ogawa Haruo, Kurebayashi Nagomi, Yamazawa Toshiko, Murayama Takashi	4. 巻 in press
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 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 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 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 2020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) 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 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Nagomi Kurebayashi, Takashi Murayama, Naoyuki Tetsuo, Sayako Hirose, Minoru Horie, Seiko Ohno, Takashi Sakurai
2. 発表標題 DIFFERENTIAL IMPACTS OF ARRHYTHMIA-LINKED LOSS-OF-FUNCTION RYR2 MUTATIONS ON CA ²⁺ SIGNALING IN CARDIAC CELLS.
3. 学会等名 66th Annual Meeting of the Biophysical Society (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 呉林 なごみ, 村山 尚, 哲翁 直之, 廣瀬 紗也子, 堀江 稔, 大野 聖子, 櫻井 隆
2. 発表標題 機能喪失型催不整脈性RyR2変異が引き起こす様々なCa ²⁺ 動態異常
3. 学会等名 第95回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 呉林 なごみ, 村山 尚, 太田亮 作, 山下 富義, 鈴木 純二, 金丸 和典, 飯野 正光, 櫻井 隆
2. 発表標題 RyR2発現細胞におけるCa ²⁺ オシレーションと小胞体Ca ²⁺ レベルの調節メカニズム
3. 学会等名 第99回 日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 呉林なごみ
2. 発表標題 不整脈疾患におけるRyR2の異常とCICR.
3. 学会等名 第93回 日本薬理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 呉林なごみ, 村山尚, 石井光一郎, 小西真人, 杉原匡美, 森修一, 飯沼大翔, 湯浅磨里, 村越伸行, 影近弘之, 櫻井隆
2. 発表標題 CPVTモデルマウスに対するRyR2特異的阻害薬の効果
3. 学会等名 第94回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 呉林なごみ
2. 発表標題 Search for RyR2 inhibitors and verification of their effects on arrhythmogenic myocardium
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会合同大会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nagomi Kurebayashi
2. 発表標題 Mechanism and therapeutic strategies for arrhythmogenic diseases caused by RyR2 mutations
3. 学会等名 9th FAOPS Congress, Symposium25 Calcium signaling in heart disease(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kurebayashi, N
2. 発表標題 Ryanodine receptor type 2 as a potential target for novel anti-arrhythmic drugs
3. 学会等名 The 71th Annual Meeting of the Korean Physiological Society(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nagomi Kurebayashi, Takashi Murayama, Masato Konishi, Shuichi Mori, Mari Ishigami-Yuasa, Hiroyuki Kagechika, Haruo Ogawa, Sachio Morimoto, Takashi Sakurai
2. 発表標題 Effects of novel RyR2 inhibitors on cardiac myocytes from diseased hearts
3. 学会等名 63th Annual Meeting of the Biophysical Society(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 呉林なごみ
2. 発表標題 不整脈疾患におけるRyR2の異常とCICR
3. 学会等名 第93回 日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2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 国広なごみ、村山尚、影近弘之、森修一、湯浅磨里、飯沼	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/005044	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

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 国広なごみ、村山尚、影近弘之、森修一、湯浅磨里、飯沼	権利者 順天堂大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-020656	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>順天堂大学大学院 細胞・分子薬理学 http://pharmacology.sakura.ne.jp/ 順天堂大学大学院 細胞・分子薬理学 業績 http://pharmacology.sakura.ne.jp/jp/publication.html リサーチマップ 呉林なごみ https://researchmap.jp/read0025294 順天堂大学大学院 細胞・分子薬理学 http://pharmacology.sakura.ne.jp/ResearchMap 呉林なごみ https://researchmap.jp/read0025294/ 順天堂大学大学院 細胞・分子薬理学 ホームページ http://pharmacology.sakura.ne.jp/</p>
--

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
研究分担者	森 修一 (Mori Shuichi) (00467630)	東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・助教 (12602)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	村山 尚 (Murayama Takashi) (10230012)	順天堂大学・医学部・先任准教授 (32620)	
研究分担者	村越 伸行 (Murakoshi Nobuyuki) (80447218)	筑波大学・医学医療系・准教授 (12102)	

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