

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04033

研究課題名(和文) 脂質二重膜での心筋小胞体Ca²⁺輸送調節装置の超微細構造解析と創薬への応用

研究課題名(英文) Ultrastructural analysis of calcium transport system of cardiac sarcoplasmic reticulum for drug development

研究代表者

乾 誠 (INUI, Makoto)

山口大学・その他部局等 ・名誉教授

研究者番号：70223237

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：心臓の収縮・弛緩の制御では、心筋小胞体のCa²⁺-ATPase (SERCA) によるCa²⁺輸送と膜蛋白質ホスホランパン (PLN) による調節が重要な役割を果たす。本研究では、脂質二重膜のナノディスク中に機能を保持したSERCA-PLN系を再構成することに成功した。新たな心不全治療薬のデザインのために、このナノディスクと低温電子顕微鏡を用いて超微細構造解析を行う方法論を確立した。また、PLNに結合するようデザインした化合物が、PLNのSERCAへの抑制を解除することを明らかにし、心拍数には影響せず、弛緩を促進し収縮力を増強する理想的な心不全治療薬となり得ることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心筋小胞体のホスホランパン (PLN) によるCa²⁺-ATPase (SERCA) の調節機構の解明は、心機能調節のメカニズムを理解する上で極めて重要である。その分子基盤の解明のためには、超微細構造の解析が必須である。これまでの結晶構造解析の研究に対し、本研究では、機能を保持したままでSERCA-PLN系の超微細構造を解析することが可能であることを示した。また、本研究は、SERCA-PLN系を標的とするようデザインした化合物が、心拍数には影響せず、弛緩を促進し収縮力を増強する理想的な心不全治療薬となり得ることを示した。有効な治療薬が望まれている心不全治療の臨床現場に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：The Ca²⁺-ATPase of sarcoplasmic reticulum (SERCA) and its regulatory membrane protein, phospholamban (PLN) play a pivotal role in regulation of heart muscle contraction and relaxation. To analyze the ultrastructure of the SERCA-PLN complex for drug design, we succeeded in reconstituting the functional SERCA-PLN system into lipid bilayers of nanodiscs. We established the methodology using these nanodiscs and cryo-electron microscopy to analyze the ultrastructure. We also examined the effects of a compound which is designed to bind PLN on the SERCA-PLN system. The compound promoted the activity of SERCA by relieving the inhibition by PLN, which enhanced the relaxation of heart muscle and then increased the contractility. It had no effect on the heart rate. The compound is thus potentially an ideal drug for treatment of heart failure.

研究分野：薬理学

キーワード：心不全治療薬 カルシウム輸送 ホスホランパン 心筋小胞体

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心臓の収縮・弛緩の制御は、心筋細胞内 Ca^{2+} の貯蔵部位である心筋小胞体による Ca^{2+} 輸送が主要な役割を果たしている。この心筋小胞体 Ca^{2+} 輸送は、 Ca^{2+} ポンプ ATPase (SERCA) による能動輸送で、心筋小胞体の膜蛋白質ホスホランパン (PLN) による調節系が存在する。本研究代表者らは、長年にわたり心筋小胞体の Ca^{2+} 輸送調節の解析を進めてきた。ホスホランパンの単離・精製 (①) を端緒に、PLN が SERCA に直接結合して抑制系として働き、PLN がリン酸化されると抑制が解除されて SERCA が活性化されるとの作用機序、並びに両者の機能部位を明らかにして来た (②,③)。これらの働きは、カテコラミンの強心作用、弛緩促進作用の分子メカニズムとして広く知られるようになっていく。

心不全など病的状態では、心筋小胞体の Ca^{2+} 輸送能が著しく低下し、細胞質の Ca^{2+} 濃度が上昇し、細胞機能不全を起こす。ところが、PLN による SERCA への抑制が無い PLN ノックアウト・マウスでは、心筋小胞体への Ca^{2+} 輸送が亢進し、心肥大や心不全も改善されることが報告された (④)。以降、SERCA-PLN 系が心不全治療の標的として大きな注目を集めるようになった。本研究代表者らは、PLN に結合する核酸アプタマーを開発し、医薬品としての可能性を示した (⑤,⑥)。また、欧米では、心不全患者に対し、アデノ随伴ウイルスで SERCA を発現させる遺伝子治療の臨床試験 (CUPID 試験) が実施された。第 IIa 相試験では極めて良好な成績が得られたが、大規模の第 IIb 相試験では効果なしとの結果が出た。SERCA の遺伝子発現が十分でなかったことが、その原因であるとされている (⑦)。このようなバイオ医薬品は、医療費が高額になるのみならず、細胞内の標的への到達や投与量の調節が難しいという大きな問題がある。これらを解決するには、SERCA-PLN 系を標的とする低分子化合物による心不全治療薬の開発が必要である。

世界中の研究室や製薬企業で、この様な低分子化合物を見出す試みがなされて来た。しかし、未だ成功に至っていない。この様な薬物を効率良く見出すためには、SERCA-PLN 系の超微細構造を明らかにし、薬物デザインから作り出す方法がある。SERCA-PLN 共結晶の X 線構造解析の結果が既に報告されているが (⑧)、肝心の細胞質部分の相互作用部位の構造は未だ明らかになっていない。また、結晶は界面活性剤存在下で作成されるため、脂質二重膜内に存在している状態とは異なることが指摘されている。これに対し、最近、進歩の著しい低温電子顕微鏡 (cryoEM) を用いると、脂質二重膜内にある膜蛋白質を X 線結晶構造解析と同等の解像度で解析することが可能になる。この様な超微細構造解析に基づく薬物デザインは、SERCA-PLN 系を標的とした新たな心不全治療薬開発の強力な手段になると思われる。

2. 研究の目的

本研究では、心筋小胞体 Ca^{2+} 輸送調節の SERCA-PLN 系を標的として、心筋小胞体 Ca^{2+} 輸送能を促進するような低分子化合物の新たな心不全治療薬を開発することを目的とした。

そのため、機能を保持したままの SERCA-PLN 融合蛋白質の精製法を確立し、脂質二重膜のナノディスクと cryoEM を用いて、薬物デザインへと応用可能な超微細構造解析を目指した。

また、PLN の微細構造を基にデザインされた薬物について、その作用を解析して、新たな心不全治療薬の開発につなげることを目指した。

3. 研究の方法

(1) SERCA-PLN 複合体のバキュロウイルスによる発現と精製

SERCA-PLN 系の超微細構造解析にあたり、両蛋白質が確実に相互作用している複合体を得る事が重要である。そのため、SERCA と PLN とを 20 個のグリシンで繋いだ融合蛋白質を用いることとした。SERCA と 5 量体を形成する野生型 PLN 或いは単量体となる変異型 (40 番目のロイシンをアラニンに置換) PLN とを 20 個のグリシンからなるリンカーで繋いだ融合蛋白質を設計した。この融合蛋白質をコードするバキュロウイルス・ベクターを作成し、High Five 昆虫細胞に発現させ、遠心法で microsomes (濾胞) 画分を回収した。融合蛋白質の精製は、この濾胞画分を 2 mM MgCl_2 , 10 μM Ca^{2+} , 150 mM KCl 存在下に、4°C、5 分間、0.2% dodecyl maltoside (DDM) で可溶化し、機能保持のために、直ちに Tween-20 と phosphatidylcholine (PC) を最終濃度 2% と 0.1% になるように加えた。可溶化した融合蛋白質は、遠心後、Tween-20 存在下で抗 PLN 抗体のアフィニティー・カラムにより精製した。溶出は、PLN の部分ペプチド (PLN₅₋₁₅) を用いて行った。さらに、Tween-20 存在下での Q-Sepharose カラムにて、さらなる精製と PLN₅₋₁₅ の除去を行い、精製された融合蛋白質を得た。

(2) SERCA-PLN 系の脂質二重膜への再構成と cryoEM による構造解析

SERCA-PLN 融合蛋白質の再構成は、膜骨格蛋白質 MSP-2N2 とリン脂質として dioleoyl phosphatidylcholine (DOPC) + dioleoyl phosphatidylethanolamine (DOPE) (4:1) を用いて、脂質二重膜のナノディスクへ融合蛋白質を挿入した。単量体を形成する変異型の融合蛋白質は、融合蛋白質、MSP-2N2、DOPC+DOPE を 1:1:200 の割合で、5 量体を形成する野生型の融合蛋白質は 4:1:137 の割合で混合し、Detergent Removal Spin Column で界面活性剤を除去することによりナノディスクへと再構成した。これを電子顕微鏡のネガティブ染色で確認後、大阪大学生命機能研究科にて cryoEM による超微細構造解析を行った。

(3) PLN の超微細構造を基にデザインされた薬物の機能解析

ピリドン誘導体である 5'-benzyl-1'-butyl- N-(naphthalen-2-ylsulfonyl)-6'-oxo-1',6'-dihydro-2,3'-bipyridine-4-carboxamide (化合物 A) は、武田薬品工業株式会社湘南研究所において PLN の構造解析をもとに合成された化合物である(10)。本化合物は、PLN の細胞質と膜貫通ドメインの連結部分に結合し、その可動性を制限するように設計されている。

化合物 A の SERCA-PLN 系への作用を見るため、イヌ心臓より調製した単離心筋小胞体濾胞を用いて、20 mM imidazole-HCl (pH 6.9), 100 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 5 mM NaN₃, 0.1 mM ATP, 0.567 μM free Ca²⁺, 5 μM ionomycin, 及び 2.5 mM phosphoenolpyruvate と pyruvate kinase (50 IU/ml) による ATP 再生系共存下での Ca²⁺-ATPase 活性を測定した。また、SERCA への直接作用を見るため、PLN を欠く骨格筋の筋小胞体濾胞を用いて同様の方法で Ca²⁺-ATPase 活性を測定した。SERCA と関係のない一般的な ATPase 酵素への作用は、ラット脳の細胞膜分画を用いて、ウバイン感受性の Na⁺, K⁺-ATPase 活性測定から評価した。

化合物 A の心筋細胞への効果を見るために、成獣ラットの心臓より心筋細胞を単離し、培養下に 0.5 Hz の電気刺激を与えて、Fura-2 蛍光測定による細胞内 Ca²⁺濃度とサルコメア長(収縮性)との同時測定を行った。この同時測定には、Ion Optix 社製の装置を用いた。

4. 研究成果

(1) 超微細構造解析に利用可能な機能を保持した SERCA-PLN 複合体の精製法の確立

本研究では SERCA と PLN とを 20 個のグリシンで繋いだ融合蛋白質を用いて構造解析を行うこととした。この融合蛋白質は、バキュロウイルスで昆虫細胞に発現させると、野生型 PLN と SERCA との融合蛋白質では 5 量体(分子量約 50 万)として、単量体となる変異型 PLN との融合蛋白質では単量体(分子量約 10 万)として存在した。さらに、昆虫細胞から調製した濾胞を用いた Ca²⁺-ATPase 活性の測定から、心筋小胞体の SERCA-PLN 系と同様の Ca²⁺親和性並びに抗 PLN 抗体による Ca²⁺-ATPase 活性促進効果が認められた(表1)。これらの結果は、心筋小胞体の Ca²⁺輸送調節機能が融合蛋白質のみで再現が可能であることを意味する。

表 1 融合蛋白質(SERCA-G20-野生型 PLN)を発現する microsomes における Ca²⁺-ATPase 活性

| | Ca ²⁺ -ATPase の Ca ²⁺ 親和性 (K _{Ca}) (μM) | |
|------------|---|---------|
| コントロール | 0.77 ± 0.02 | (n = 4) |
| + 抗 PLN 抗体 | 0.51 ± 0.02 *** | (n = 4) |

***p < 0.001

超微細構造解析のためには、この融合蛋白質の機能を保持した形で精製することが必要である。これまでの研究では、骨格筋の筋小胞体から精製した SERCA と別途精製した PLN を混ぜ合わせることで複合体が再現されてきた。しかし、筋小胞体から精製した SERCA は、サルコリピンという PLN 類似蛋白質が混入することが明らかになっている(9)。さらに、本研究代表者らの検討から、培養細胞に発現した SERCA は、筋小胞体から精製する方法で精製すると、完全に Ca²⁺-ATPase 活性を失うことが判明した。そこで、SERCA-PLN 融合蛋白質を昆虫細胞に発現し、機能を保持した形で精製する方法を確立することにした。まず、様々な界面活性剤での可溶化を検討した結果、図1に示すように Tween-20 を

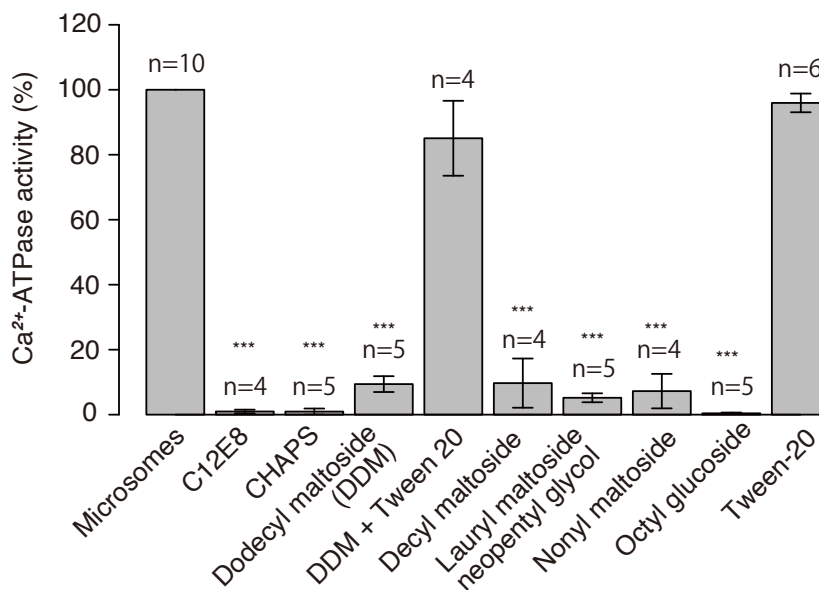


図 1 野生型 PLN を含む SERCA-PLN 融合蛋白質が発現している昆虫細胞の濾胞画分 (microsomes) (50 μg/ml) を 2 mM MgCl₂, 10 μM Ca²⁺, 150 mM KCl, 0.05% DOPC+DOPE 存在下で、1%の種々の界面活性剤で可溶化し、4°C、24 時間放置した後に Ca²⁺-ATPase 活性を測定した。Ca²⁺-ATPase 活性は、可溶化前の値(microsomes)の百分率で表している。

用いたときにのみ長時間に渡って Ca^{2+} -ATPase 活性が保たれることが分かった。しかしながら、Tween-20 のみでは SERCA や融合蛋白質を直接可溶化することが難しい。そのため、リン脂質存在下、DDM で短時間処理した後に過剰の Tween-20 を加えることにより、機能を保持しつつ SERCA 或いは融合蛋白質を可溶化することに成功した(図1)。さらに、融合蛋白質を発現した昆虫細胞の濾胞面分から「研究の方法」に記載した方法で、SERCA-PLN 系の機能を保持した野生型及び変異型 PLN を含む融合蛋白質を精製することに成功した。これまでに SERCA-PLN 複合体を機能保持したままで精製したとの報告はなく、本研究結果は、SERCA-PLN 系の超微細構造解析のための道を拓くものといえる。

(2) SERCA-PLN 複合体の脂質二重膜への再構成と cryoEM による構造解析

精製された融合蛋白質は、ナノディスクに再構成することにより脂質二重膜へ挿入した。このナノディスクは、心筋小胞体の Ca^{2+} -ATPase と同様の Ca^{2+} 濃度依存性と抗 PLN 抗体による活性促進が認められ、ナノディスク中の SERCA-PLN 系が機能を保持していることが示された。さらに、変異(単量体)型 PLN を含むナノディスクを電子顕微鏡のネガティブ染色で確認後、cryoEM による超微細構造解析を行った。25 種類に分類された2次元画像から3次元再構成を行い、単量体型 PLN を含む SERCA-PLN 系の微細構造を得た(図2)。しかしながら、解像度は 13\AA に留まり、両蛋白質の原子レベルでの相互作用解明には至らなかった。原因は、単量体型 PLN を含む融合蛋白質の大きさが分子量約 10 万と cryoEM による解析としては小さかったためと思われる。野生型 PLN を含む融合蛋白質は、分子量約 50 万と十分な大きさを持っており、今後、これを使っての解析が必要である。さらに、解析中のノイズを低減するためゲルろ過で均一な大きさのナノディスクを得ることで、高解像度での構造解析が可能になると思われる。

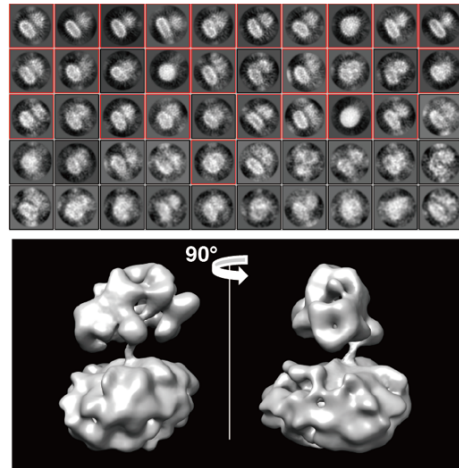


図 2 変異(単量体)型 PLN を含む SERCA-PLN 系の cryoEM による構造解析。上段は2次元画像で、この内の赤で囲った画像から3次元再構成を行った像を下段に示す。

このように本研究は、機能を保持した融合蛋白質を利用して、ナノディスクによる脂質二重膜の生理的条件下で SERCA-PLN 系の超微細構造解析が可能であることを示した。

(3) 新たにデザインされた化合物 A の心筋小胞体 Ca^{2+} 輸送系への作用とその作用機序

化合物 A は、単離心筋小胞体濾胞の Ca^{2+} -ATPase 活性を濃度依存性に促進し、 $30\ \mu\text{M}$ で抗 PLN 抗体(ポジティブ・コントロール)と同等の最大の促進効果を現した(図3)。これに対し、PLN を欠く骨格筋の筋小胞体濾胞の Ca^{2+} -ATPase 活性や他の P 型 ATPase であるラット脳のウワバイン感受性 Na^+ , K^+ -ATPase 活性に対しては、何の影響も与えなかった(図3)。これらの結果から、化合物 A が Ca^{2+} -ATPase 活性を持つ SERCA ではなく、直接的には PLN に作用して SERCA-PLN 系、即ち心筋小胞体 Ca^{2+} 輸送を促進していることが明らかになった。実際、化合物 A と PLN との直接結合は、Biacore センサー・チップを用いた実験でも確認された(10)。このように、化合物 A は、当初のデザイン通りの機能を発揮することが明らかとなった。

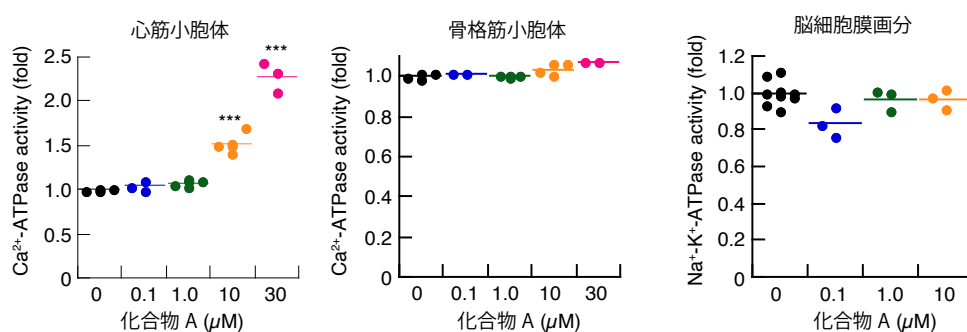


図 3 化合物 A の心筋小胞体、骨格筋小胞体の Ca^{2+} -ATPase 活性及びラット脳細胞膜画分のウワバイン感受性 Na^+ , K^+ -ATPase 活性への効果。*** $P < 0.001$

(4) 化合物 A の心筋細胞への作用と新たな心不全治療薬としての可能性

化合物 A の心臓への作用を詳しく見るために、まず単離心筋細胞を用いて、拍動毎の収縮・弛緩能と細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を解析した。化合物 A は、サルコメア長の短縮(収縮)を著明に促進すると共に、サルコメアの弛緩速度並びに時定数(Tau)をそれぞれ促進、短縮した(図4)。同時測定した細胞内 Ca^{2+} 濃度変化でも、化合物 A は、それに相当する細胞内最大 Ca^{2+} 濃度の増大と弛緩時の Ca^{2+} 濃度低下速度の促進並びに時定数の短縮をもたらした(図4)。これらの結果から、化合物 A が PLN を介して

SERCA-PLN 系に作用して、心筋細胞の弛緩を促進すると共に、収縮力を増強することが明らかとなった。さらに、ラットのランゲンドルフ灌流心を用いた臓器レベルでの実験やラットの個体レベルでの血行動態解析実験でも、化合物 A が弛緩の促進と収縮力の増強の両者をもたらすことが示された(⑩)。この時、化合物 A は、心拍数には何の影響も与えなかった。このことは、刺激伝導系に PLN が殆ど発現しないことと一致する。このように化合物 A は、心拍数には影響を与えず、PLN を介して心臓の弛緩能を促進し、さらに収縮力を増強するという Starling の心臓法則にも合致した、理想的な心不全治療薬となる可能性が示された。

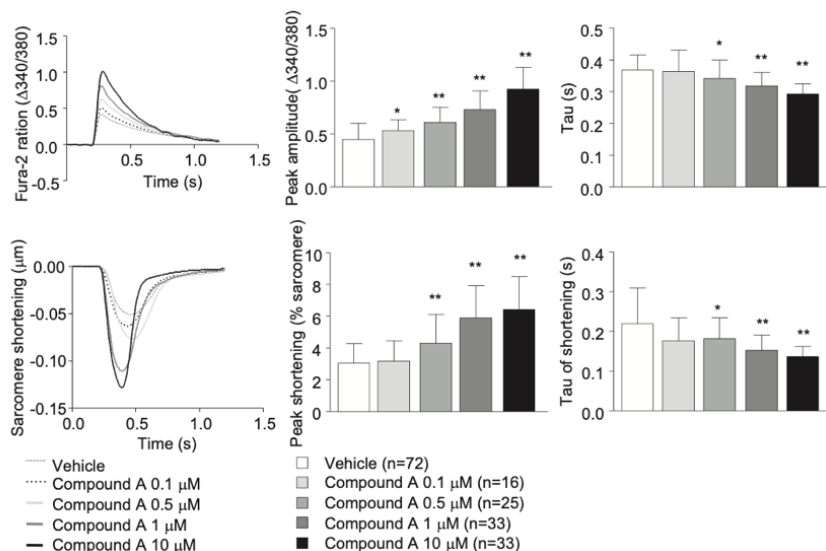


図 4 化合物 A の単离心筋細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度変化、並びにサルコメア長への効果。細胞内 Ca^{2+} 濃度は Fura-2 を用いて測定した。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

<引用文献>

- ① Inui, M., Kadoma, M., Tada, M. Purification and characterization of phospholamban from canine cardiac sarcoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* 260:3708-15, 1985
- ② James, P., Inui, M., Tada, M., Chiesi, M., Carafoli, E. Nature and site of phospholamban regulation of the Ca^{2+} pump of sarcoplasmic reticulum. *Nature* 342:90-92, 1989
- ③ Sasaki, T., Inui, M., Kimura, Y., Kuzuya, T., Tada, M. Molecular mechanism of regulation of Ca^{2+} pump ATPase by phospholamban in cardiac sarcoplasmic reticulum. Effects of synthetic phospholamban peptides on Ca^{2+} pump ATPase. *J. Biol. Chem.* 267:1674-79, 1992
- ④ Minamisawa S., Hoshijima, M., Chu, G., Ward, C., Frank, K., Gu, Y., Martone, M., Wang, Y., Ross, Jr., J., Kranias, K., Giles, W., Chien, K. Chronic phospholamban-sarcoplasmic reticulum calcium ATPase interaction is the critical calcium cycling defect in dilated cardiomyopathy. *Cell* 99:313-322, 1999
- ⑤ Tanaka, Y., Honda, T., Matsuura, K., Kimura, Y., Inui, M. In vitro selection and characterization of DNA aptamers specific for phospholamban. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 329, 57-63, 2009
- ⑥ Sakai, H., Ikeda, Y., Honda, T., Tanaka, Y., Shiraiishi, K., Inui, M. A cell-penetrating phospholamban-specific RNA aptamer enhances Ca^{2+} transients and contractile function in cardiomyocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 76, 177-185, 2014
- ⑦ Greenberg, B., Butler, J., Felker, G., Ponikowski, P., Voors, A., Desai, A., Barnard, D., Bouchard, A., Jaski, B., Lyon, A., Pogoda, J., Rudy, J., Zsebo, K. Calcium upregulation by percutaneous administration of gene therapy in patients with cardiac disease (CUPID 2): a randomised, multinational, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet* 387, 1178-1186, 2016
- ⑧ Akin, B., Hurley, T., Chen, Z., Jones, L. The structural basis for phospholamban inhibition of the calcium pump in sarcoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* 288, 30181-30191, 2013
- ⑨ Toyoshima, C., Iwasawa, S., Ogawa, H., Hirata, A., Tsueda, J., Inesi, G. Crystal structures of the calcium pump and sarcolipin in the Mg^{2+} -bound E1 state. *Nature* 405, 260-264, 2013
- ⑩ Kaneko, M., Yamamoto, H., Sakai, H., Kamada, Y., Tanaka, T., Fujiwara, S., Yamamoto, S., Takahagi, H., Igawa, H., Kasai, S., Noda, M., Inui, M., Nishimoto, T. A pyridone derivative activates SERCA2a by attenuating the inhibitory effect of phospholamban. *Eur. J. Pharmacol.* 814, 1-8, 2017

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Kaneko Manami, Yamamoto Hisato, Sakai Hiroki, Kamada Yusuke, Tanaka Toshiki, Fujiwara Shuji, Yamamoto Syunsuke, Takahagi Hiroki, Igawa Hideyuki, Kasai Shizuo, Noda Masakuni, Inui Makoto, Nishimoto Tomoyuki | 4. 巻 814 |
| 2. 論文標題 A pyridone derivative activates SERCA2a by attenuating the inhibitory effect of phospholamban | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology | 6. 最初と最後の頁 1~8 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2017.07.035 | 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 Kuramasu Atsuo, Wakabayashi Mie, Inui Makoto, Yanai Kazuhiko | 4. 巻 367 |
| 2. 論文標題 Distinct roles of small GTPases Rac1 and Rac2 in histamine H4 receptor-mediated chemotaxis of mast cells | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics | 6. 最初と最後の頁 9~19 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1124/jpet.118.249706 | 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 Honda Takeshi, Inui Makoto | 4. 巻 234 |
| 2. 論文標題 PDZRN3 regulates differentiation of myoblasts into myotubes through transcriptional and posttranslational control of Id2 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Cellular Physiology | 6. 最初と最後の頁 2963~2972 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcp.27113 | 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 Kuwabara Rei, Hamaguchi Masahide, Fukuda Takuya, Sakai Hiroki, Inui Makoto, Sakaguchi Shimon, Iwata Hiroo | 4. 巻 102 |
| 2. 論文標題 Long-term functioning of allogeneic islets in subcutaneous tissue pretreated with a novel cyclic peptide without immunosuppressive medication | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Transplantation | 6. 最初と最後の頁 417~425 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/TP.0000000000001923 | 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 Ishiguro Susumu, Kawabata Atsushi, Zulbaran-Rojas Alejandro, Monson Kelsey, Uppalapati Deepthi, Ohta Naomi, Inui Makoto, Pappas Charalampos G., Tzakos Andreas G., Tamura Masaaki | 4. 巻 495 |
| 2. 論文標題 Co-treatment with a C1B5 peptide of protein kinase C and a low dose of gemcitabine strongly attenuated pancreatic cancer growth in mice through T cell activation | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications | 6. 最初と最後の頁 962 ~ 968 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.11.102 | 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 Liu Shuang, Suzuki Yasuyuki, Inui Makoto | 4. 巻 1868 |
| 2. 論文標題 Generation of specific aptamers | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology | 6. 最初と最後の頁 113 ~ 121 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8802-0_11 | 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 Honda Takeshi, Inui Makoto | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 PDZRN3 protects against apoptosis in myoblasts by maintaining cyclin A2 expression | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 1140 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-58116-1 | 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 - |

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 乾 誠 |
| 2. 発表標題 心筋細胞内カルシウム輸送調節の分子機構と心不全治療標的 |
| 3. 学会等名 第70回病態生理学会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 本田 健、品川 右京、水野 優、横須賀 由季、乾 誠 |
| 2. 発表標題 PDZRN3蛋白質による筋芽細胞のアポトーシス制御 |
| 3. 学会等名 第71回日本薬理学会西南部会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Honda Takeshi, Nakada Narumi, Nagai Ryoto, Yokosuka Yuki, Inui Makoto |
| 2. 発表標題 PDZRN3 regulates the differentiation of myoblasts into myotubes through Id2-mediated pathway |
| 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 Kuramasu Atsuo, Inui Makoto |
| 2. 発表標題 Modulation of histamine H4 receptor signaling by transglutaminase in mouse bone marrow derived mast cells. |
| 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 本田 健、品川 右京、水野 優、横須賀 由季、乾 誠 |
| 2. 発表標題 筋芽細胞におけるPDZRN3蛋白質のアポトーシス制御 |
| 3. 学会等名 第92回日本薬理学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 倉増敦朗、乾 誠 |
| 2. 発表標題 トランスグルタミナーゼとヒスタミントランスポーターによるマスト細胞のヒスタミンH4受容体シグナル調節 |
| 3. 学会等名 第92回日本薬理学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 本田 健、品川 右京、水野 優、横須賀 由季、乾 誠 |
| 2. 発表標題 PDZRN3蛋白質はサイクリンA2を介して筋芽細胞のアポトーシスを制御する |
| 3. 学会等名 第72回日本薬理学会西南部会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 本田 健、品川 右京、水野 優、横須賀 由季、乾 誠 |
| 2. 発表標題 筋芽細胞におけるPDZRN3蛋白質の抗アポトーシス機能 |
| 3. 学会等名 第93回日本薬理学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 西尾 侑祐、乾 誠、倉増 敦朗 |
| 2. 発表標題 マスト細胞におけるヒスタミンによる低分子量G蛋白質Rac1及びRac2の活性化はカルシウム/カルモジュリンに依存する |
| 3. 学会等名 第93回日本薬理学会 |
| 4. 発表年 2020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 |
|-------|---|---------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 本田 健 (HONDA Takeshi) (30457311) | 山口大学・大学院医学系研究科・講師 (15501) | |
| 研究分担者 | 酒井 大樹 (SAKAI Hiroki) (40464367) | 山口大学・大学院医学系研究科・助教 (15501) | |
| 研究分担者 | 倉増 敦朗 (KURAMASU Atsuo) (90302091) | 山口大学・大学院医学系研究科・准教授 (15501) | |