

令和 5 年 6 月 29 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03426

研究課題名(和文) 循環代謝病におけるRNA時空間制御機構の解明

研究課題名(英文) Mechanistic insights into spatio-temporal regulation of RNA in cardio-metabolic disease

研究代表者

久場 敬司 (Kuba, Keiji)

秋田大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：10451915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,890,000円

研究成果の概要(和文)：肥満・脂肪肝や心不全におけるRNA制御について、細胞内オルガネラでの翻訳やmRNA分解の時空間的制御の分子機構に焦点を当てて研究を行った。脂肪や肝臓におけるCNOT4は核内RNA/エピゲノム制御に重要であり、CNOT4がRNA結合蛋白を介して脂肪細胞の分化や炎症応答を誘導することが分かった。心不全ではRNA poly(A)分解因子による線維化誘導因子のmRNA分解が心臓リモデリングの抑制に重要であることが分かった。エネルギー代謝におけるCCR4-NOT複合体の役割について新たにミトコンドリアが重要であることを見出した。さらに時系列的の心不全の翻訳解析により新たな治療標的因子の候補を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により心不全や肥満・脂肪肝における時空間的なRNA分解や翻訳制御の分子メカニズムが明らかになり合わせて新たな治療標的の候補因子を見出したことから、新しい治療法の開発に資することが考えられる。また、CCR4-NOT複合体やその関連因子を介したミトコンドリア機能や核内恒常性維持の制御機構が新たに見出され、RNAとオルガネラ制御という観点で学術的意義が高いと思われる。

研究成果の概要(英文)：Spatiotemporal regulation of RNA in obesity, fatty liver and heart failure was studied focusing on the molecular mechanisms of regulation of translation and mRNA degradation in intracellular organelles. The regulatory mechanism by CNOT4 in adipose and liver was found to be important for nuclear RNA/epigenome regulation, and CNOT4 was found to be involved in the pathogenesis of obesity and fatty liver by inducing adipocyte differentiation and enhancing inflammatory responses through binding to RNA binding proteins. In heart failure, mRNA degradation of fibrosis-inducing factors by RNA poly(A)-degrading factor CNOT6L was found to be important in suppressing cardiac remodeling. We also found that mitochondria are key organelles for the new role of the CCR4-NOT complex in energy metabolism. Furthermore, we identified new candidate therapeutic target factors by time-series analysis of the translation dynamics of heart failure.

研究分野：薬理学

キーワード：RNA分解 翻訳 ユビキチン修飾 CCR-NOT 心不全 肥満 脂肪細胞

### 1. 研究開始当初の背景

循環代謝病(Cardio-Metabolic disease)は、高血圧、高脂血症、高血糖、肥満などによってもたらされる循環器疾患、代謝性疾患であり、超高齢化社会を迎えつつある先進国ではその予防・治療法の確立は重要な課題である。循環代謝病の病態について、シグナル伝達・転写・エピゲノム制御に関する多くの研究成果が蓄積してきたが、RNA 制御(RNA 局在、翻訳、分解など)の果たす役割、意義については不明な点が多い。これまでに、応募者は、RNA 分解の実行因子である CCR4-NOT 複合体を心機能調節因子として見出し(*Cell* 2010)、CCR4-NOT 複合体が心筋細胞の生存や細胞の分化に寄与することを解明してきた(*Genes Dev.* 2016, *Science Signaling* 2018)。さらに、応募者は恒常的 RNA 分解が細胞内のヌクレオチドプールや細胞内のエネルギーセンサーである AMPK の活性化を介して細胞内 ATP レベルの調節に関与している可能性や、圧負荷心不全の刺激に対して RNA 脱アデニル化因子が抗線維化作用を發揮することを見出していた。また、肝臓や脂肪組織において CNOT3 や CNOT7 がエネルギー恒常性の維持に重要であることが報告されていたが(*EMBO J.* 2011; *Cell Rep* 2015)、CCR4-NOT 複合体関連因子である CNOT4 が SREBP シグナルの活性化を介してコレステロール合成に関与する予備的知見を新たに得ていた。いずれも、RNA の時空間的な制御が組織恒常性維持において極めて重要な役割を担うことを示唆するものであるが、分子制御機構の詳細やその制御不全と病態形成メカニズムとの関連性は不明であった。そこで、循環代謝病の疾患病態とエピトランスクリプトーム、翻訳、mRNA 分解を結びつける分子メカニズムの解明を通じて、RNA の時空間制御による循環代謝病の新しい予防・治療法につなげることを目標とし、本研究計画を立案した。

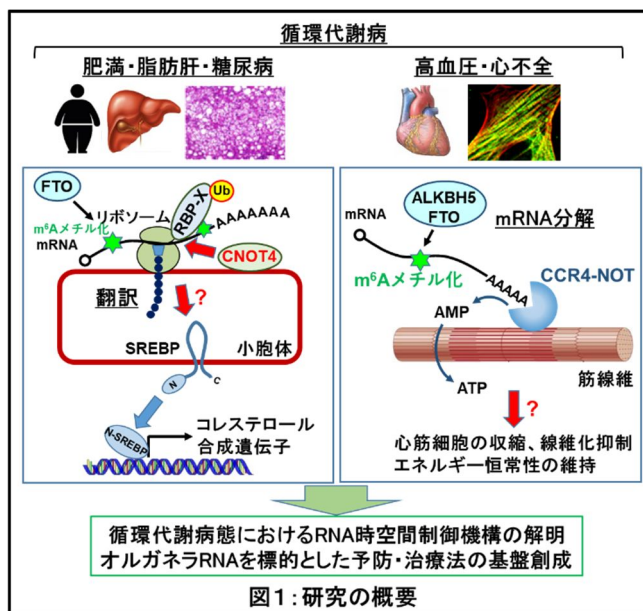


図1: 研究の概要

### 2. 研究の目的

循環代謝病における RNA 制御の役割の解明と同因子群を標的とした新たな治療戦略の開発を目指して、肥満・脂肪肝の脂肪組織・肝臓や心不全における心臓リモデリングにおいて、poly(A) などのエピトランスクリプトーム、翻訳、mRNA 分解に焦点を当てて細胞内オルガネラでの RNA 時空間制御の分子メカニズムを解明することを目的として本研究を行った。

### 3. 研究の方法

#### 1) 肥満・脂肪肝における RNA 制御の分子機構の解明

CNOT4 のヘテロ遺伝子欠損マウスは野生型マウスに比べやせ型の表現型を示す予備的な知見を得ていた。そこで、生後 8 週から 20 週まで高脂肪食を与えた野生型マウス及び CNOT4 ヘテロ遺伝子欠損マウスより、血液及び各臓器を採取し、血清成分の生化学分析、組織重量測定、および組織学的観察を行った。顕著に組織重量の差を認めた肝臓、白色脂肪組織、褐色脂肪組織から RNA を抽出後、RNA-seq により遺伝子発現変動を解析した。

HEK293T 細胞において CNOT4-Halo タグ融合タンパク質を強制発現後、pull-down 及び PAR-CLIP-seq 解析により、CNOT4 が結合する RNA を網羅的に探索した。また、受精後 13.5 日齢の野生型及び CNOT4 ヘテロ遺伝子欠損胎児マウスより線維芽細胞(MEF)を単離し、脂肪細胞分化誘導、TLRs 刺激を行い、分化過程の経時的観察や精製 RNA を用いた RT-qPCR による遺伝子発現解析を行った。

#### 2) CCR4-NOT 複合体を介した心臓リモデリングにおける RNA 制御の分子機構の解明

外科的横行大動脈絞扼手術による圧負荷モデル(TAC モデル)において、代償的心肥大が生じ始める TAC 後 1 週の野生型マウス的心臓では CNOT6L のタンパク質発現が増加し、TAC 後の CNOT6L 遺伝子欠損マウスでは心機能低下、心肥大、線維化が亢進することを見出していた。そこで、TAC 後の CNOT6L 遺伝子欠損マウス心臓の RNA-seq 解析、および CNOT3 抗体を用いた心臓の RIP-seq 解析により CNOT6L の標的遺伝子を網羅的に探索した。同定した CNOT6L 標的遺伝子について、アンジオテンシン II (AngII) 持続投与後の CNOT6L 遺伝子欠損マウス心臓から RNA を抽出し、遺伝子発現量及び mRNA poly(A)鎖長を解析した。

同定された線維化因子 Fsf の 3' UTR 配列とルシフェラーゼ遺伝子を連結したレポータープラ

スミドを構築し、CNOT6L の過剰発現下、もしくは CNOT6L を欠損した HEK293T に導入し、レポーターアッセイを行い、CNOT6L による発現調節に必要な cis-element の存在について検討を行った。また、コラゲナーゼ灌流法により、成体マウス心臓から心筋細胞及び心臓線維芽細胞を単離後、AngII 処理を行い、CNOT6L の非存在下における Fsf タンパク質の発現変動を解析することで、両細胞における CNOT6L の役割を解析した。

### 3) 心不全病態における RNA を介したエネルギー制御機構の解析

CNOT1 遺伝子欠損マウスの心臓のメタボローム解析及び AMP, ADP, および ATP の定量解析を行った。また、薬剤(タモキシフェン)誘導により CNOT1 遺伝子のヘテロ遺伝子欠損を誘導可能なマウスの胎児から MEF を単離し、フラックスアナライザーを用いることで、同細胞における解糖系、ミトコンドリア呼吸鎖の変化について解析した。さらに、同細胞から、ミトコンドリアを単離し、in vitro における cytochrome c oxidase の活性を測定した。

### 4) ヒトの循環器病態における RNA 時空間制御の解析

TAC 施術後 24 時間、48 時間、1 週間、8 週間のマウス心臓を採材し、シクロヘキシミド存在下での心臓の破碎、リボソームフットプリントの抽出、ライブラリ作製、および次世代シーケンズによる Ribosome profiling 解析を行った。また、それぞれの心臓溶解サンプルより RNA を抽出し、RNA-seq 解析を行った。リボソームフットプリントをトータル RNA のリード数でノーマライズすることで各 mRNA の翻訳効率の変化について解析した。心臓外科より入手した凍結検体での Ribosome profiling 解析を試みたが、サンプルの保存状態が悪くなかったため今回は解析を断念した。

## 4. 研究成果

### 1) 肥満・脂肪肝における RNA 制御の分子機構の解明

脂肪細胞における CNOT4 を介して SREBP シグナルを活性化させる分子機構について、上流因子の探索を行ったところクロマチン制御因子 Z が候補として見出されたことから、遺伝子 Z に焦点を当てて解析を進めた。RNA-seq などの解析から CNOT4 欠損による遺伝子 Z の発現変化は RNA の発現変動によるものではなく、蛋白質のレベルの変動であった。遺伝子 Z と CNOT4 の結合や CNOT4 によるユビキチン修飾について検討したが、直接の蛋白質間相互作用やユビキチン化は見られなかった。翻訳レベルでの制御の可能性を考え、Ribosome profiling による網羅的な翻訳動態の解析を行ったが、大きな変化はなかったことから、翻訳後の制御であると考えられた。

また、これまでに CNOT4 によるユビキチン化の標的として RNA 結合タンパク質 X(RBP-X)を同定していたが、HEK293T 細胞における CNOT4 結合 RNA について PAR-CLIP-seq 解析を行ったところ、その多くが既に報告のある RBP-X の標的 RNA と共通していることがわかった。以上の結果から、CNOT4 は RBP-X のユビキチン修飾による RNA 制御を介して、SREBP シグナルの調整に働いている可能性が示唆された。

CNOT4 ヘテロ遺伝子欠損マウスより単離した線維芽細胞(MEF)は、野生型の MEF に比べ増殖に差は認めない一方で、脂肪細胞への分化が顕著に抑制されることがわかった(図2)。また、高脂肪食負荷後の脂肪組織においては、CNOT4 のヘテロ遺伝子欠損によって TNF 等の炎症性サイトカインの産生が低下することがわかり、CNOT4 のヘテロ遺伝子欠損 MEF においても TLRs 活性化によるサイトカイン応答が顕著に抑制されていた。MEF の RNA-seq 解析により、CNOT4 非存在下では、エピゲノム制御の不全により DNA 傷害が亢進することが分かった。前述のクロマチン制御因子 X の発現変化と合わせて、核内 CNOT4 によるエピゲノム制御が脂肪細胞への分化、および脂肪細胞における炎症応答や肝臓細胞の SREBP シグナルにおける転写調節に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。さらに、炎症応答の観点からも解析を進め、インフルエンザウイルス感染において、CNOT4 が核内でのウイルス複製に対する制御作用を有することを見出した。

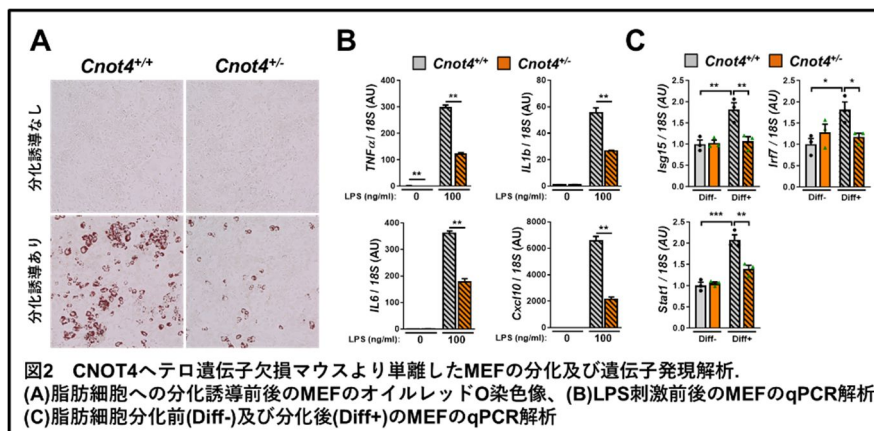


図2 CNOT4ヘテロ遺伝子欠損マウスより単離したMEFの分化及び遺伝子発現解析。(A)脂肪細胞への分化誘導前後のMEFのオイルレッドO染色像、(B)LPS刺激前後のMEFのqPCR解析、(C)脂肪細胞分化前(Diff-)及び分化後(Diff+)のMEFのqPCR解析

### 2) CCR4-NOT を介した心臓リモデリングにおける RNA 制御の分子機構の解明

線維化誘導遺伝子 Fsf と CNOT6L の二重欠損マウスは CNOT6L 欠損による TAC 誘導性のみならず AngII 誘導性の線維化亢進も顕著に抑制した。成体マウス心臓から単離した線維芽細胞を Ang II で刺激したところ、CNOT6L 遺伝子を欠損した心臓線維芽細胞において線維化誘導因子 Fsf の発現上昇を認め、CNOT6L は線維芽細胞における Fsf の発現調節により、心筋の脱落に伴う過剰な線維化を抑制することで心臓リモデリングの制御に重要な役割を果たすと考えられた。そこで、CRISPR/Cas9 で CNOT6L を欠損した HEK293T 細胞を作製し、Fsf 遺伝子の promoter 領域あるいは 3' UTR のレポーターアッセイを行ったところ、3' UTR のレポーター活性の上昇を認めた。また、poly(A) tail assay により、Fsf の poly(A) 鎖が CNOT6L 欠損により伸長していることが分かった。よって、CNOT6L は Fsf の 3' UTR に存在する cis-element を介した脱アデニル化を誘導し発現を抑制し抗線維化作用をもたらすことが分かった。

### 3) 心不全病態における RNA を介したエネルギー制御機構の解析

これまでに CCR4-NOT 複合体による恒常的 poly(A) 鎖分解が AMP 産生を介して細胞内 ATP レベルの維持に寄与することを見出しており、実際に筋肉特異的な CNOT1 欠損マウスの心臓組織中の ATP 量は野生型マウスに比べ優位に低下していることを見出していた。そこで、薬剤添加により CNOT1 ヘテロ欠損を誘導した MEF を用いて、CCR4-NOT 機能低下におけるミトコンドリア呼吸鎖並びに解糖系の変化を細胞外フラックスアナライザーで解析した。その結果、CNOT1 の機能不全によってミトコンドリア機能が有意に低下することがわかった (図 3)。さらに、単離ミトコンドリアの cytochrome c oxidase 活性を測定したところ、CNOT1 ヘテロ欠損により cytochrome c oxidase 活性が低下していることがわかった。心臓における CNOT1 及び CNOT3 の欠損はミトコンドリア生合成にも関与することで知られる AMPK のリン酸化の低下を誘導することを見出しており、おそらく mRNA poly(A) 鎖の脱アデニル化の不全によって引き起こされる細胞内 AMP 量の低下がその一因ではないかと考えている。また、近年 CNOT4 がミトコンドリア上でのタンパク質翻訳機構と連動してマイトファジーを制御することでミトコンドリアタンパク質の品質管理に寄与することが報告され、さらに酵母においては NOT5 (哺乳類の CNOT3) が NOT4 (哺乳類の CNOT4) とともにリボソーム上でのコドン監視により、コドン優先度に応じてダイナミックに翻訳速度の調整を行うことでタンパク質の持続的な品質管理機構に重要な役割を担うことが報告されている。したがって、CCR4-NOT 複合体が心筋ミトコンドリア上において翻訳と連動したミトコンドリアタンパク質の品質管理制御を介して、ATP 産生の恒常性に重要な役割を果たしている可能性が考えられることから、今後は、CCR4-NOT 脱アデニル化により制御される細胞内核酸プールとミトコンドリア量との関連性について解析を進めていくと共に、Ribosome profiling を活用し、心筋ミトコンドリア上における CCR4-NOT 複合体の翻訳制御の役割についても検討していく必要がある。

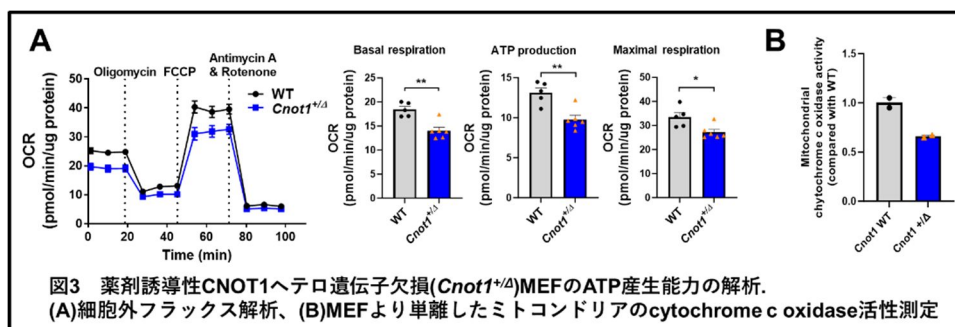
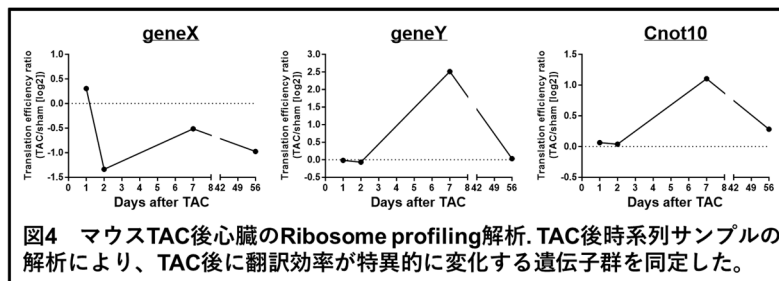


図3 薬剤誘導性CNOT1ヘテロ遺伝子欠損(*Cnot1*<sup>+/Δ</sup>)MEFのATP産生能力の解析。(A)細胞外フラックス解析、(B)MEFより単離したミトコンドリアのcytochrome c oxidase活性測定

### 4) ヒトの循環器病態における RNA 時空間制御の解析

マウス TAC 心不全モデルについて、施術後時系列の翻訳動態の変化を Ribosome profiling により解析した。mRNA の翻訳効率の変化について、リボソームフットプリントを細胞内 RNA のリード数でノーマライズすることで解析したところ、TAC 後 48h で翻訳効率の有意な減少を認めた遺伝子群の中に鉄代謝因子 geneX を同定した (図 4)。圧負荷刺激に対する急性的な適応反応として心筋細胞内における鉄代謝の変化の重要性が示唆された。また、TAC 後 1 週は心臓肥大により代償的に心機能が維持される時期であるが、この時有意に翻訳効率が上昇する遺伝子として geneY を同定した。同遺伝子はスプライシング及び RNA 分解に寄与することで知られているが、代償的心臓肥大における分子的役割はわかっていない。また CCR4-NOT 複合体の構成因子の中で CNOT10 はいまだに分子的役割がよくわかっていない因子であるが、TAC 後 1 週において翻訳効率が 2 倍以上増加していることが分かった。以上の結果から、圧負荷後の心臓において急性反応における geneX の翻訳抑制、および代償的心臓肥大における geneY 及び CNOT10 の翻訳亢進が心臓リモデリングの制御に何らかの役割を果たす可能性が示唆されたことにより、今後はこれらの

遺伝子の翻訳制御やその破綻による心不全発症の分子メカニズムについて解析を進めていく予定である。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計24件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 7件／うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 Minato Takafumi, Yamaguchi Tomokazu, Hoshizaki Midori, Nirasawa Satoru, An Jianbo, Takahashi Saori, Penninger Josef M., Imai Yumiko, Kuba Keiji	4. 巻 17
2. 論文標題 ACE2-like enzyme B38-CAP suppresses abdominal sepsis and severe acute lung injury	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0270920
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0270920	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 An Jianbo, Nagaki Yushi, Motoyama Satoru, Kuze Yuta, Hoshizaki Midori, Kemuriyama Kohei, Yamaguchi Tomokazu, Ebihara Takashi, Minamiya Yoshihiro, Suzuki Yutaka, Imai Yumiko, Kuba Keiji	4. 巻 41
2. 論文標題 Identification of Galectin-7 as a crucial metastatic enhancer of squamous cell carcinoma associated with immunosuppression	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 5319 ~ 5330
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41388-022-02525-1	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 Yamada D, Kojima Y, Hosoya A, Suzuki M, Watabe T, Inoue T, Tsugawa N, Asakawa T, Yonemoto Y, Onizawa M, Nemoto Y, Oshima S, Shimonaka M, Kuba K, Ishida J, Fukamizu A, Penninger J, Watanabe M, Okamoto R, Nagaishi T	4. 巻 647
2. 論文標題 Apelin expression is downregulated in T cells in a murine model of chronic colitis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 72 ~ 79
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2023.01.068	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 Yamada D, Kojima Y, Hosoya A, Suzuki M, Watabe T, Inoue T, Tsugawa N, Asakawa T, Yonemoto Y, Onizawa M, Nemoto Y, Oshima S, Shimonaka M, Kuba K, Ishida J, Fukamizu A, Penninger J, Watanabe M, Okamoto R, Nagaishi T	4. 巻 647
2. 論文標題 Apelin expression is downregulated in T cells in a murine model of chronic colitis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 72 ~ 79
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2023.01.068	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 An Jianbo, Nagaki Yushi, Motoyama Satoru, Kuze Yuta, Hoshizaki Midori, Kemuriyama Kohei, Yamaguchi Tomokazu, Ebihara Takashi, Minamiya Yoshihiro, Suzuki Yutaka, Imai Yumiko, Kuba Keiji	4. 巻 41
2. 論文標題 Identification of Galectin-7 as a crucial metastatic enhancer of squamous cell carcinoma associated with immunosuppression	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 5319 ~ 5330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-022-02525-1	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 Minato Takafumi, Yamaguchi Tomokazu, Hoshizaki Midori, Nirasawa Satoru, An Jianbo, Takahashi Saori, Penninger Josef M., Imai Yumiko, Kuba Keiji	4. 巻 17
2. 論文標題 ACE2-like enzyme B38-CAP suppresses abdominal sepsis and severe acute lung injury	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0270920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0270920	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 Kuba Keiji, Yamaguchi Tomokazu, Penninger Josef M.	4. 巻 12
2. 論文標題 Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) in the Pathogenesis of ARDS in COVID-19	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 732690
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.732690	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 Yamaguchi T, Hoshizaki M, Minato T, Nirasawa S, Asaka MN, Niiyama M, Imai M, Uda A, Chan JF, Takahashi S, An J, Saku A, Nukiwa R, Utsumi D, Kiso M, Yasuhara A, Poon VK, Chan CC, Fujino Y, Motoyama S, Nagata S, Penninger JM, Kamada H, Yuen KY, Kamitani W, Maeda K, Kawaoka Y, Yasutomi Y, Imai Y, Kuba Keiji	4. 巻 12
2. 論文標題 ACE2-like carboxypeptidase B38-CAP protects from SARS-CoV-2-induced lung injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 6791
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-27097-8	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 Fujita Hiromu, Motoyama Satoru, An Jianbo, Nagakai Yushi, Yamaguchi Tomokazu, Koyota Souichi, Sato Yusuke, Wakita Akiyuki, Imai Kazuhiro, Kuba Keiji, Minamiya Yoshihiro	4. 巻 S0039-6060
2. 論文標題 Peritumoral CD16b positive-neutrophil accumulation strongly correlates with regional lymph node metastasis in thoracic esophageal squamous cell cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgery	6. 最初と最後の頁 1170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.surg.2021.11.022	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 Asaka Masamitsu N., Utsumi Daichi, Kamada Haruhiko, Nagata Satoshi, Nakachi Yutaka, Yamaguchi Tomokazu, Kawaoka Yoshihiro, Kuba Keiji, Yasutomi Yasuhiro	4. 巻 6
2. 論文標題 Highly susceptible SARS-CoV-2 model in CAG promoter-driven hACE2-transgenic mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e152529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.152529	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 Kim Kwang Su, Iwanami Shoya, Oda Takafumi, Fujita Yasuhisa, Kuba Keiji, Miyazaki Taiga, Ejima Keisuke, Iwami Shingo	4. 巻 4
2. 論文標題 Incomplete antiviral treatment may induce longer durations of viral shedding during SARS-CoV-2 infection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 e202101049
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lisa.202101049	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 Shiimori Masami, Ichida Yu, Nukiwa Ryota, Sakuma Toshie, Abe Haruka, Kajitani Rei, Fujino Yuji, Kikuchi Akira, Kawamura Takeshi, Kodama Tatsuhiko, Toyooka Shinichi, Shirahige Katsuhiko, Schotta Gunnar, Kuba Keiji, Itoh Takehiko, Imai Yumiko	4. 巻 24
2. 論文標題 Suv4-20h2 protects against influenza virus infection by suppression of chromatin loop formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102660 ~ 102660
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102660	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 久場敬司	4. 巻 2
2. 論文標題 ACE2の循環器疾患および感染症における意義	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 CARDIAC PRACTICE	6. 最初と最後の頁 36～41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 久場敬司	4. 巻 11
2. 論文標題 SARS-CoV-2とRAS/ACE2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Thrombosis Medicine	6. 最初と最後の頁 32～36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 久場敬司	4. 巻 53
2. 論文標題 COVID-19の発症機序	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 月刊 心臓	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Fujishima N, Kohmaru J, Koyota S, Kuba K, Saga T, Omokawa A, Moritoki Y, Ueki S, Ishida F, Nakao S, Matsuda A, Ohta A, Tohyama K, Yamasaki H, Usuki K, Nakashima Y, Sato S, Miyazaki Y, Nannya Y, Ogawa S, Sawada K, Mitani K, Hirokawa M	4. 巻 11
2. 論文標題 Clonal hematopoiesis in adult pure red cell aplasia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-81890-5	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 Nakashima Akiko, Takeya Mitsue, Kuba Keiji, Takano Makoto, Nakashima Noriyuki	4. 巻 21
2. 論文標題 Virus database annotations assist in tracing information on patients infected with emerging pathogens	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Informatics in Medicine Unlocked	6. 最初と最後の頁 100442 ~ 100442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.imu.2020.100442	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 Mamoru, Ishihara Tomoaki, Isobe Yosuke, Kato Taiga, Kuba Keiji, Imai Yumiko, Uchino Yuichi, Tsubota Kazuo, Arita Makoto	4. 巻 34
2. 論文標題 Eosinophils promote corneal wound healing via the 12/15 lipoxygenase pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 12492 ~ 12501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202000483R	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 Takahashi Akinori, Suzuki Toru, Soeda Shou, Takaoka Shohei, Kobori Shungo, Yamaguchi Tomokazu, Mohamed Haytham Mohamed Aly, Yanagiya Akiko, Abe Takaya, Shigeta Mayo, Furuta Yasuhide, Kuba Keiji, Yamamoto Tadashi	4. 巻 3
2. 論文標題 The CCR4-NOT complex maintains liver homeostasis through mRNA deadenylation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 e201900494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lsa.201900494	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 Nagaki Yushi, Motoyama Satoru, Yamaguchi Tomokazu, Hoshizaki Midori, Sato Yusuke, Sato Teruki, Koizumi Yukio, Wakita Akiyuki, Kawakita Yuta, Imai Kazuhiro, Nanjo Hiroshi, Watanabe Hiroyuki, Imai Yumiko, Minamiya Yoshihiro, Kuba Keiji	4. 巻 25
2. 論文標題 m6A demethylase ALKBH5 promotes proliferation of esophageal squamous cell carcinoma associated with poor prognosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 547 ~ 561
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12792	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 Minato T, Hoshizaki M, Yamaguchi T, Nirasawa S, Asaka MN, Kamada H, Yuen KM, Kawaoka Y, Yasutomi Y, Imai Y, Kuba K, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 ACE2-like carboxypeptidase B38-CAP protects from SARS-CoV-2-induced lung injury	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 researchsquare.com/article/rs-124634/v1	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) 10.21203/rs.3.rs-124634/v1	査読の有無 無
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 湊隆文, 久場敬司	4. 巻 38
2. 論文標題 新規微生物由来酵素B38-CAPはACE2活性により高血圧と心不全を改善する	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2371-2374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 久場敬司, 蕪澤悟	4. 巻 78
2. 論文標題 微生物由来の新規ACE2様酵素による循環器疾患症状の改善	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BIOSCIENCE & INDUSTRY	6. 最初と最後の頁 512-513
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 久場敬司	4. 巻 36
2. 論文標題 種を超えて保存されたACE2様酵素B38-CAPの循環器疾患への治療応用	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 228-230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計20件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tomokazu Yamaguchi, Midori Hoshizaki, Jianbo An, Yukio Kawahara, Yutaka Suzuki, Yumiko Imai, Toshifumi Inada, Tadashi Yamamoto, Keiji Kuba
2. 発表標題 Dissecting the roles of CCR4-NOT complex and CNOT4 in maintaining tissue homeostasis
3. 学会等名 第23回 日本RNA学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomokazu Yamaguchi, Takafumi Minato, Midori Hoshizaki, Satoru Nirasawa, Jianbo An, Saori Takahashi, Josef M. Penninger, Yumiko Imai, Keiji Kuba
2. 発表標題 ACE2-like carboxypeptidase B38-CAP suppresses severe acute lung injury induced by aspiration pneumonia and abdominal sepsis as well as SARS-CoV-2 infection
3. 学会等名 第96回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomokazu Yamaguchi, Keiji Kuba
2. 発表標題 Physiological roles of CCR4-NOT complex and CNOT4 in neuronal homeostasis
3. 学会等名 The 9th CCR4-NOT Meeting
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 心不全におけるRNA制御メカニズム
3. 学会等名 第174回日本循環器学会東北地方会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 RNA 制御を介したストレス応答と生体恒常性維持機構
3. 学会等名 レドックスR&D戦略委員会・春のシンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 循環器疾患におけるCCR4-NOT複合体によるRNA制御ネットワークの解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会 ワークショップ3AW-07
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 COVID-19のARDS/急性肺傷害に対するACE2酵素活性の治療効果
3. 学会等名 第17回霊長類医科学フォーラム(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 ACE2酵素活性による COVID-19 急性肺傷害の治療
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会シンポジウム1S10e
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 心不全におけるmRNA代謝の制御機構
3. 学会等名 第25回 日本心不全学会学術集会 シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 Dissecting CCR4-NOT complex-mediated mRNA control in cardiac pathology/physiology and beyond
3. 学会等名 RIKEN IMS seminar(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 ACE2酵素B38-CAPの循環呼吸器疾患への治療応用
3. 学会等名 創薬薬理フォーラム 第69回談話会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口 智和, 鈴木 享, 佐藤 輝紀, 高橋 明格, 山本 雅, 今井 由美子, 久場 敬司
2. 発表標題 CCR4-NOT Deadenylation Complex Controls the Expression of Autophagy Genes and Prevents Atg7-Dependent Cell Death in the Heart
3. 学会等名 第85回 日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomokazu Yamaguchi, Takafumi Minato, Midori Hoshizaki, Masamitsu N Asaka, Satoru Nirasawa, Mayumi Niiyama, Masaki Imai, Saori Takahashi, Daichi Utsumi, Jianbo An, Satoshi Nagata, Haruhiko Kamada, Yoshihiro Kawaoka, Yasuhiro Yasutomi, Yumiko Imai, Keiji Kuba
2. 発表標題 Suppression of SARS-CoV-2-induced lung injury by ACE2-like carboxypeptidase B38-CAP in COVID-19 mouse model
3. 学会等名 第94回 日本薬理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 ACE2酵素活性によるCOVID-19急性肺傷害の治療
3. 学会等名 第5回 理論免疫学ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久場敬司
2. 発表標題 呼吸循環器疾患とRNA制御因子
3. 学会等名 Cardiology Research & Clinical seminar (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yushi Nagaki, Keiji Kuba
2. 発表標題 m6A demethylase ALKBH5 promotes proliferation of esophageal squamous cell carcinoma associated with poor prognosis.
3. 学会等名 第79回 日本癌学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 湊 隆文, 山口 智和, 佐藤 輝紀, 葦澤 悟, 今井 由美子, 高橋 砂織, 渡邊 博之, 久場 敬司
2. 発表標題 微生物由来のACE2様酵素B38-CAPはマウスにおける 心臓のリモデリングと機能不全を改善する
3. 学会等名 第71回 日本薬理学会北部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Teruki Sato, Takafumi Minato, Satoru Nirasawa, Tomokazu Yamaguchi, Hiroyuki Watanabe, Yumiko Imai, Saori Takahashi, Keiji Kuba
2. 発表標題 B38-CAP is a bacteria-derived carboxypeptidase which resembles SARS-CoV-2 receptor ACE2 enzyme activity and suppresses hypertension and cardiac dysfunction in mice
3. 学会等名 NIPS International meeting, HOLISTIC UNDERSTANDING OF CARDIOVASCULAR SYSTEM BY MECHANISTIC ANALYSIS OF PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安 健博, 成瀬 妙子, 日野原 邦彦, 副島 友莉恵, 沢辺 元司, 中川 靖章, 桑原 宏一郎, 久場 敬 司, 木村 彰方
2. 発表標題 MRTF-Aはマクロファージ機能を制御して動脈硬化形成に関わる
3. 学会等名 第71回 日本薬理学会北部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安健博、成瀬妙子、日野原邦彦、副島友莉恵、沢辺元司、中川靖章、桑原宏一郎、久場敬司、木村彰方
2. 発表標題 MRTF-Aはマクロファージ機能を制御して動脈硬化形成に関わる
3. 学会等名 日本生化学会東北支部第86回例会
4. 発表年 2020年



〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 原核微生物由来ポリペプチドを含有する肺損傷および障害を処置または予防するための医薬組成物	発明者 久場敬司、今井由美子	権利者 秋田大学
産業財産権の種類、番号 特許、270717	出願年 2020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
研究分担者	今井 由美子  (Imai Yumiko)  (50231163)	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研究所 ワクチン・アジュバント研究センター・プロジェクトリーダー    (84420)	

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
---------	---------