

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06892

研究課題名（和文）ホスホランパンを標的とした新たな環状ペプチド薬の創出と心不全治療薬への応用

研究課題名（英文）Development of Novel Cyclic Peptide Drugs Targeting Phospholamban for the Treatment of Heart Failure

研究代表者

本田 健（Honda, Takeshi）

山口大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：30457311

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）：心不全では、心筋小胞体膜にあるCa<sup>2+</sup>ポンプの機能が強く障害されている。このポンプを抑制している小胞体膜蛋白質ホスホランパン（PLN）の機能阻害により、ポンプ活性が向上し、心不全の改善が見られる。そのため、PLNは創薬標的として大変注目されてきたが、未だ有用な薬物はない。本研究では、PLN標的のバイオ医薬を開発するため環状ペプチドに着目し、分子進化法を基盤とする網羅的探索にてPLN機能を阻害する環状ペプチドを見出した。さらに、以前開発した心筋特異的に細胞内へ侵入するベクター分子を用いて心筋内送達システムを構築し、当該ペプチドが心機能を亢進しうる可能性を見出し、新たな心不全治療薬への端緒を拓いた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現行の強心薬は細胞外からのCa<sup>2+</sup>流入を増加するため、SERCA機能の低下した心不全では細胞質内Ca<sup>2+</sup>濃度の過剰増加（Ca<sup>2+</sup>過負荷）が起きやすく、毒性が生じやすい。一方、SERCA系のみを増強は、細胞外からのCa<sup>2+</sup>流入に依存せずに収縮力の増強をもたらす。また、PLNはSERCAと異なり刺激伝導系には発現せず、本研究のようにPLNを標的とすれば、心拍への影響も少ない理想的な心不全治療薬の開発が可能となる。実現すれば急性及び慢性心不全の両方に有効で、現状では移植以外に救命の手段が無い重症心不全の治療法の選択肢にもなり得るため、社会的貢献度は大きいと思われる。

研究成果の概要（英文）：The function of Ca<sup>2+</sup> pump (SERCA) expressed in the cardiac sarcoplasmic reticulum (CSR) is severely impaired in heart failure. Suppressing the function of phospholamban (PLN) that expressed in the CSR and inhibits SERCA activity, improves heart failure by increasing the SERCA activity. Targeting PLN-mediated inhibition of SERCA has been highlighted as a potential approach for the treatment of heart failure, but no useful drugs have been found. In this study, we found cyclic peptides that inhibit PLN function through a screening system based on molecular evolution. We have also developed a system to deliver PLN-binding cyclic peptides into cardiomyocytes using our vector molecule that specifically internalizes into cardiomyocytes. PLN-binding peptides internalized into cardiomyocytes by this delivery system enhanced cardiac function. These results indicate that PLN-targeted peptides could be a new model of therapeutic drugs for heart failure.

研究分野：薬理学

キーワード：心筋細胞 心不全 ペプチド医薬

## 1. 研究開始当初の背景

心筋の収縮・弛緩のシグナルとなる  $Ca^{2+}$  は、細胞内  $Ca^{2+}$  貯蔵部位である心筋小胞体 (SR) によって制御されている。ここで SR への  $Ca^{2+}$  取込みを担うのが  $Ca^{2+}$  ポンプ ATPase (SERCA) であり、そのポンプ機能を抑制的に調節している蛋白質がホスホランパン (PLN) である (図 1)。この PLN の抑制作用は、生理的には cAMP を介した PLN のリン酸化で解除される。当研究室では長年、この PLN の構造、機能、並びに PLN による SERCA 調節の分子メカニズムを明らかにしてきた [J.

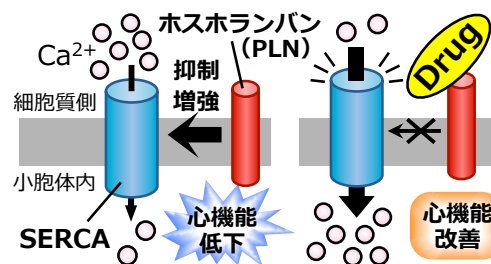


図 1. 心不全治療の創薬標的・ホスホランパン

Biol. Chem. 260, p3708, 1985, Nature 342, p90, 1989, J. Biol. Chem. 274, p32855, 1999]。心不全のよく知られた特徴として、SR における  $Ca^{2+}$  取込み障害がある。その一因は、PLN による SERCA 抑制が著しく増強されていることにある (図 1)。一方、PLN による抑制作用の解除や SERCA の過剰発現によって、SR への  $Ca^{2+}$  取込みを増強すると心不全が改善される。例えば、動物実験にて PLN の shRNA によるノックダウンや変異体の過剰発現が心不全に有効なことが示されている。SERCA 自体の過剰発現も心不全に有効とされ、ヒトでの心カテーテルを用いた遺伝子治療の臨床試験 (小規模の phase IIa) では極めて有効との結果が出た。ところが大規模の phase IIb では効果が認められず、その理由として SERCA の発現量が不十分だったと考えられており [Lancet 387, p1178, 2016]、遺伝子治療における発現量調節の困難さが浮き彫りにされた。そのような背景から、SERCA の活性亢進あるいは PLN 阻害など、蛋白質の機能制御に基づいた戦略が重要だと考えられる。しかしながら、臨床応用可能な薬物は未だ見出されていない。現行の強心薬は細胞外からの  $Ca^{2+}$  流入を増加するため、特に SERCA 機能の低下した心不全では細胞質内の  $Ca^{2+}$  濃度が過度に上昇し、 $Ca^{2+}$  過負荷が起きやすく、毒性が生じやすい。一方、SERCA 系のみを増強は、細胞外からの  $Ca^{2+}$  流入がないことに加え、 $Ca^{2+}$  ポンプ機能の改善による弛緩の促進から、収縮力の増強をもたらす。このため  $Ca^{2+}$  過負荷に陥りにくく、Frank-Starling の法則に基づく強心作用を発揮するというメリットがある。また、SERCA と比較して PLN の発現は心筋細胞に特異的であり、刺激伝導系では少ないため、PLN を標的として SERCA 活性を制御する薬物は心拍数への影響が軽微だと考えられる。このように PLN は理想的な心不全治療薬を創生する標的として大きく期待されており、実現すれば急性及び慢性心不全の両方に有効で、現状では移植以外に救命の手段が無い重症心不全の治療法の選択肢にもなり得るため、社会的貢献度は大きいと思われる。

本研究の目的は、PLN に結合して SERCA との相互作用を減弱させ、SERCA の活性化を引き出す薬物を創出することである。この発想は、我々がこれまで実施してきた PLN-SERCA 系の基礎研究を基盤にしたものだが、我々には PLN に特異的に結合してその機能を阻害する核酸アプタマーを開発してきた実績がある。核酸アプタマーは低分子と生体高分子の中間にあり、化学合成が可能以上に、抗体並みの結合親和性を持つ、優れた医薬マテリアルである。我々が開発した PLN 標的アプタマーも強力な作用を発揮した [J. Pharmacol. Exp. Ther., 329, p57, 2009, J Mol Cell Cardiol., 20, p177, 2014.]。しかしながら、血中での不安定さから、特殊な化学修飾によって分解耐性を持たせる必要があり、合成コストが大きくなる欠点がある。アプタマー開発の一方で、我々は従来の低分子医薬についても心不全治療薬としての PLN 阻害薬探索を続けており、製薬企業との共同研究において pyridone 誘導体を見出し、PLN 機能阻害による SERCA の活性化及び *in vivo* での心機能改善効果を報告した [Eur. J. Pharmacol., 814, p1, 2017]。しかしながら、リード化合物としての可能性を示すことはできたものの、先のアプタマーほどの親和性や PLN 阻害能は得られなかった。近年、蛋白質間相互作用 (PPI) の阻害を狙った創薬研究は新たなフロンティアとして注目を集めているが、PPI は一般的に作用面が広く、酵素活性部位や受容体結合部位などに比べて凹凸が少なくフラットな作用面であることが多いため、強く結合して PPI 阻害に至らしめるには、低分子化合物では不十分だと考えられている。そのような中、中分子サイズのペプチドが、生体内における安定性の高さや、PPI 阻害を可能とする作用面・結合力を持ちうること、さらに化学合成が可能のため、大きく注目されている。そこで我々は、mRNA/cDNA display 法に着目し、ライブラリーから PLN に結合する環状ペプチドをスクリーニングし、PLN 機能を阻害する新たな心不全治療薬の開発を目指した。

## 2. 研究の目的

本研究では、標的への高い結合力や特異性を生じうる構造と分解耐性を内包した分子として環状ペプチドに着目し、化学架橋と分子進化法を組み合わせた網羅的探索法によって PLN に結合する環状ペプチドを得て、心不全治療薬としての可能性を検討する。

### 3. 研究の方法

(1) 環状ペプチド-mRNA/cDNA display 法によるホスホランバン結合環状ペプチドの獲得

本研究では、ホスホランバン (PLN) に結合する環状ペプチドを得るため、まず化学架橋法と mRNA/cDNA display 法を組合せた網羅的探索法の開発に取り組んだ (図2)。mRNA/cDNA display 法では、ペプチドのランダム配列をコードした RNA ライブラリーから翻訳されたペプチドがピューロマイシンを介して化学結合し、すなわち翻訳産物であるペプチドと遺伝情報を持つ mRNA が“紐付け”された形となる。つまり、選別されたペプチドを容易に (DNA の形で) PCR 増幅および配列解析が可能となるスクリーニング法である。特に本研究では、配列中にシステインを固定配置し、ペプチドの環状化ステップを組み込んだ変法になるが、その条件最適化を含めた系の構築が本研究の要であり、詳細は研究成果にて述べる。

(2) ペプチドの特性解析

得られたホスホランバン (PLN) 結合ペプチドについて、PLN への結合能や PLN の SERCA 抑制機能を阻害する能力について調べた。ピューロマイシンリンカーを用いて DNA から転写/翻訳したペプチドにはリンカー部にビオチンが付加されており、グルタチオンビーズに固定化した PLN-GST 融合蛋白質に対して、合成したペプチドを作用させ、洗浄の後にアビジン-HRP を作用させ、HRP の発光基質によって結合したペプチド量を数値化し、検量線から結合能の定量化を行った。PLN の SERCA 抑制機能に対するペプチドの影響解析には、以前 PLN 結合核酸アプタマーの開発時に使用した心筋小胞体ベシクルによる評価システムを利用した。図3に示すように、SERCA が機能すると 490nm 吸光計測の可能な Hydrazone が産生される (PLN はそれを阻害する) 系において、テストペプチドによる Hydrazone 産生量の変動を測定することで、PLN 機能の阻害能を評価した。

(3) 心筋細胞内への送達システムの開発

ホスホランバン (PLN) 結合ペプチドが機能を発揮するには、心筋の細胞膜を通過して細胞内部へ送達される必要がある。また、PLN 結合核酸アプタマーを開発した際の経験上、非特異的な細胞内送達システムでは *in vivo* 解析への適用は極めて難しいと考えられたため、心筋細胞に特異的にホーミングしうる能力を PLN 結合ペプチドに付加することを試みた。細胞内透過能力および心筋細胞認識能力の付与については、各種機能性ペプチドを PLN 結合ペプチドに連結することで検討した。すなわち細胞内部への送達機能は細胞透過性ペプチドを、心筋細胞特異的な認識能については心筋細胞指向性ペプチドを利用した。その評価については蛍光蛋白質 GFP を積荷分子として利用し、心筋細胞特異的な細胞内送達が可能かを視覚的に解析した。また、非ペプチド性の送達ツールとして、以前我々が開発した核酸アプタマーの利用も検討した。

(4) 心筋機能に対する評価

心筋細胞内への送達能を付与したホスホランバン結合ペプチドについて、実際に心筋収縮力が改善されるか、心筋を用いて  $Ca^{2+}$ /収縮リアルタイム測定システム (Myocyte IONOPTIX System) にて解析した。収縮機能については、収縮速度、弛緩時定数、 $Ca^{2+}$ 変動速度等を測定することで評価した。

### 4. 研究成果

(1) 環状ペプチド-mRNA/cDNA display 法によるホスホランバン結合環状ペプチドのスクリーニング法の構築

本法では、3つのシステイン残基と10アミノ酸残基のランダム領域をコードする cDNA をデザインし、 $10^{13}$ 通りの配列多様性を含むライブラリーを構築し、これを転写して mRNA ライブラリーへと転換した。ピューロマイシンを介して mRNA と翻訳されたペプチドを連結するリンカー分子をピューロマイシンリンカーと表記する。これは mRNA と相補鎖を形成できる配列をもった DNA オリゴが母体となっており、mRNA と相補結合後に酵素的にライゲーションすることで、mRNA とピューロマイシンを連結させる (図4および図2ステップ1, 2)。しかしながら、mRNA とピューロマイシンリン

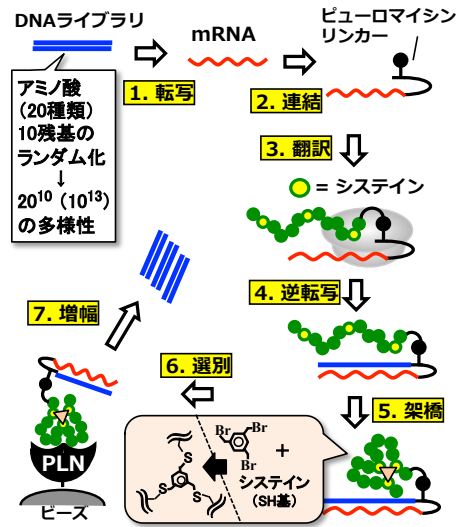


図2. 化学架橋法を組み込んだ環状ペプチドを基盤とする mRNA/cDNA display 法

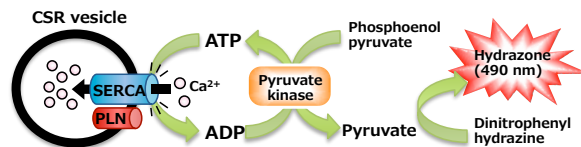


図3. PLN機能に対する阻害能の評価系

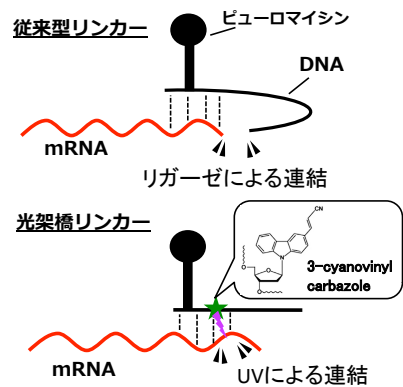


図4. 光架橋基を搭載したピューロマイシンリンカーによる mRNA との連結

カーの連結効率が低く、条件検討に時間を要した。このステップはスクリーニングの質（ライブラリープールの多様性）の低下に直結するため、改善が必須と考え、この分野の第一人者である埼玉大学理工学研究科の根本直人先生にご助言を頂きながら対策を講じた。図4に示すように相補鎖塩基と光架橋しうる Cyanovinylcarbazole 修飾オリゴを導入した光架橋性ピュロマイシンリンカー(J. Biotech., 212, p174, 2015)に変更し、酵素反応ではなく、光 (UV) 架橋反応による効率的反応によって、結合効率を大幅に改善することに成功した。図2のステップ3,4 (翻訳時の mRNA とペプチドの連結, mRNA から cDNA への逆転写) を経て、ペプチドと mRNA/cDNA 複合体のライブラリーを得た。図2のステップ5において、ランダム配列中の3箇所固定設置したシステイン (側鎖チオール基) を、三又架橋試薬によって共有結合させることで環状化を試みた。濃度の調節によって分子間ではなく分子内での架橋が優先的に起こるような条件を探索し、また反応効率の面も考慮して、幾つかの架橋試薬について検討を行った結果、tris(bromomethyl)benzene を採用するに至った。これにより環状ペプチドと mRNA/cDNA を併せ持ったライブラリーを構築することに成功した。また、ペプチドが標的に結合する際、紐付けされている mRNA による立体障害等の妨害を極力避けるため、RNase によって mRNA は除去しておくプロトコルに変更した (遺伝情報は cDNA で担保される)。次に、標的分子として PLN の細胞質ドメインと GST との融合蛋白質を大腸菌発現系により調製し、これをグルタチオン・ビーズに固定化したものを標的選別に用いた。すなわち、この PLN 細胞質ドメイン固定化ビーズに環状ペプチドライブラリーを作用させ、洗浄後に結合したペプチドのみをビーズから抽出した (図2ステップ6)。PLN 細胞外ドメインに関しては、以前 PLN 結合核酸アプタマーを獲得した際に用いた実績のあるドメインであり、PLN 全長を伴った系 (PLN 全長を発現させた細胞から調製した小胞体ベシクル) も保険として準備したが、本研究では PLN 細胞外ドメイン系でスクリーニングを進めた。選別された極微量ペプチドについては、紐付けされた cDNA を元に PCR にて増幅させ (図2ステップ7)、得られた DNA クローン群を再び図2の「転写」のステップに乗せ、これら一連の流れを10回繰り返した。ただし、PLN 結合過程における洗浄工程は回を重ねるごとに厳しい洗浄条件に変えていくことで、より強く PLN に結合する環状ペプチドの絞り込みを試みた。最終的に得られた候補の cDNA をクローニングし、DNA シーケンサによる塩基配列情報からペプチド配列を決定した (特許申請の関係上、配列情報は割愛させていただいた)。

### (2) ペプチドの特性解析

得られたペプチドについて、生合成したものを架橋試薬で環状化し、ホスホランバン (PLN) 細胞外ドメイン固定化ビーズによる結合能の評価を行った。実際に結合が確認されたもの (Kd 数十 nM から数 μM オーダー) について、心筋小胞体ベシクルを用いた SERCA 活性測定を行い (図3)、PLN 機能を阻害するペプチドを選別した。PLN に結合しうるペプチド群のほとんどは、SERCA 活性に影響を与えなかった。これは結合能が弱いことや、結合はするが PLN と SERCA の相互作用を阻害するような立体配置になかった、阻害しうるほどのサイズがなかった、など様々な理由が考えられる。その中において、PLN に結合し、SERCA のポンプ機能を亢進させたクローン (以降、

Phospholamban-targeting cyclic peptide; PTCP と表記) について、図5にその測定結果を示す。SERCA は  $Ca^{2+}$  濃度によって活性が増強されるが、その用量曲線が PTCP の添加 (10 μM) によって、低濃度側にシフトしており、SERCA の機能亢進が確認できた。

### (3) 心筋細胞内への送達システムの開発

ホスホランバン (PLN) は細胞内にあるため、PTCP が薬効を示すには細胞内への送達が必要となる。細胞内導入にはリポソーム法など様々な手法があるが、デリバリーツール (運び屋) を同種生体分子のペプチドに設定することで、PTCP との連結が容易になると考え、当初、細胞透過性ペプチドの代表的ツールである TAT ペプチドを用いた。しかしながら、心筋細胞への透過には不十分であったこと、また *in vivo* における作用解析も計画していたため、細胞膜透過能だけでなく心筋細胞への指向性も付与する必要があったことから、PTCP に心筋細胞指向性/細胞膜透過性の付与を試みた。まず、従来の膜透過性ペプチド (ここでは TAT ペプチド) に連結することで、その作用を増大させることが知られる細胞膜透過促進ペプチド (シンチシン1由来フラグメントペプチド: S19)、さらには心筋細胞指向性ペプチド (primary cardiomyocyte targeting peptide: PCM) の利用を試みた。各種ペプチドの組み合わせ配置や機能ペプチド間を結ぶリンカーの設計など、様々な条件検討を行い、ある程度の改善が見られたが、成獣ラットから単離した心筋細胞においては、予想外に細胞膜および (細胞培養に必要な) コーティング分子にも強く吸着し (S19 の寄与が大きいことが後に判明)、肝心の心筋収縮能の評価に支障をきたすことが分かった。そこで、デリバリーツールにペプチドを適用することを一旦断念し、

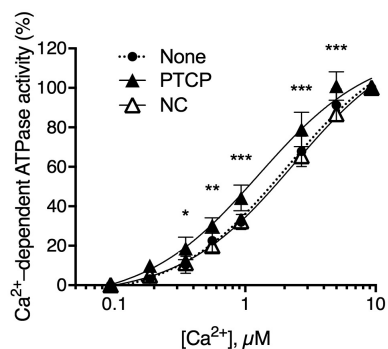


図5. PTCPによるSERCAポンプ機能の亢進  
各ペプチド10μMを添加して室温10分インキュベート後にアッセイを実施。NCはPLNに結合しない陰性対照ペプチド。各々の曲線から算出されたEC<sub>50</sub>値はNone = 2.4 μM, NC = 2.7 μM, PTCP = 1.5 μMであった。\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001



次善策として非ペプチド性のデリバリーツール、すなわち以前から我々が開発を進めている「心筋細胞特異的に細胞内へ侵入する RNA アプタマー」を利用した。ただし、開発中の当該アプタマーを本研究に用いるにあたり、心筋侵入活性の定量化や細胞特異性をより詳細に解析する必要があったため、ラット心臓から単離した心筋細胞を用いて、まずそれらの評価を行った。

RNA アプタマーとは一本鎖 RNA から成り、分子内相補結合により独自の立体構造を持ち、抗体並みの親和性で標的分子に結合することができる。すなわち、母体が RNA であるため、容易に PCR で増幅することができる。さらに細胞膜等に非特異的に吸着したアプタマーは特殊な RNase により完全に分解除去可能で、細胞内部に存在する RNA アプタマーのみを定量することが可能である。そこで、細胞内部に侵入した RNA アプタマーをリアルタイム RT-PCR で解析し、心筋細胞内送達ツールとして有用な候補クローン 3 種 (#1, #2, #16) を選別した。各々の心筋侵入活性における  $EC_{50}$  値は各々  $0.5 \mu\text{M}$ ,  $0.7 \mu\text{M}$ ,  $1.1 \mu\text{M}$  であり、一般的な細胞膜透過ペプチドに比べて同等あるいはそれ以上の活性を持つことが分かった。さらに心筋細胞への特異性を調べるため、心筋細胞以外の細胞でも同様に細胞内侵入アッセイを行った (図 6)。生体投与において、薬物クリアランスに関わる臓器 (肝臓、腎臓) や血管内皮等でのロスが問題になることを想定して、ラットからそれらの主要な初代培養細胞を調製した。またいくつかの細胞株も用いて、それらの細胞種における細胞内侵入量を心筋細胞と比較検討し、心筋細胞に特異性を持つことが確認できた。以降、特に良好な成績を示したクローン #1 を用いた。

PTCP の心筋細胞内送達を目的として心筋侵入アプタマー #1 を PTCP に化学的に結合した。架橋官能基としてマレイミドおよびチオール基をそれぞれの分子に導入してマイケル付加反応によって #1 と PTCP を連結した。このハイブリッド分子をラット心筋細胞に作用させ、心筋収縮力が向上するかを  $\text{Ca}^{2+}$ /収縮リアルタイム測定システム (MyoCyte IONOPTIX System) にて解析した。収縮機能の評価には収縮速度、弛緩時定数、 $\text{Ca}^{2+}$ 変動速度などいくつかの項目から評価したが、いずれも同様の結果であったため、ここでは代表として Peak shortening の結果を図 7 に示す。無添加、#1 あるいは PTCP のみの場合に比べて、#1 結合型 PTCP では、心筋収縮機能の向上が見られた。これは、#1 によって心筋細胞内へ送達された PTCP が薬効を発現した結果であることが示唆された。

薬物 (ペプチド) を用いた心筋細胞の機能制御を生物個体において解析する場合、いかにペプチドを心筋細胞特異的かつ効率的に細胞内部まで送達するか、といった Drug Delivery System (DDS) 技術が成否の鍵を握る。本研究では、その検討に予想以上の時間を費やし、最終年度で完了する予定であった *in vivo* 解析については現在検討中である。薬効を発揮する分子がペプチドであるため、DDS のためのベクター (運び屋) もペプチド素材を用いることで、合成面における容易さのメリットが大きいと考え、その条件検討に時間を費やしたが、候補として用いたベクターペプチド群と心筋細胞との相性が悪かったようで (非特異的結合が強い等)、最終的には以前我々が開発していた心筋 DDS 用の RNA アプタマーに落ち着いた。このような DDS 対策に難航した部分もあったが、本研究では PLN を標的とした新たなペプチド医薬の可能性を拓くことができたと考えられる。

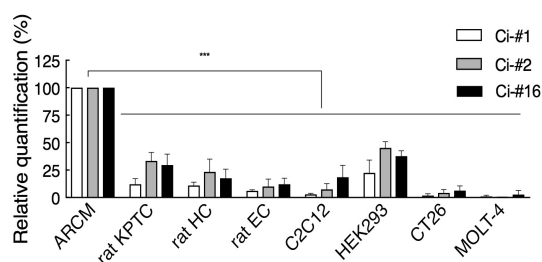


図6.各種細胞における細胞内侵入量比  
ラット心筋細胞への侵入量を100%とした時の相対値を縦軸に示す。ARCM; adult rat cardiomyocytes (primary), KPTC; rat kidney proximal tubular cells (primary), HC; rat hepatocytes (primary), EC; rat endothelial cells (primary), C2C12; mouse myoblast (cell line), HEK293; human embryonic kidney cells (cell line), CT26; mouse colon carcinoma (cell line), MOLT-4; Human Leukemia T-Lymphoblast (cell line)

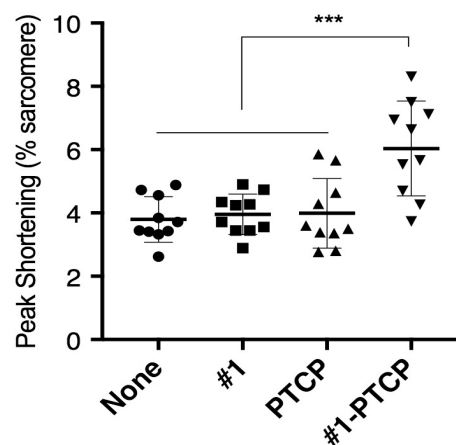


図7.心筋細胞に対する収縮能への影響  
心筋侵入アプタマー、PTCP、アプタマーとPTCPの結合体について各々をラット単離心筋細胞に  $10 \mu\text{M}$  で作用させた際の心筋収縮機能 (収縮率変動) を示す。

#### <引用文献>

本文中に記載した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

|   |                      |
|---|----------------------|
| 1. 著者名<br>Honda T, Nishio Y, Sakai H, Asagiri M, Yoshimura K, Inui M, Kuramasu A.                                       | 4. 巻<br>83           |
| 2. 論文標題<br>Calcium/calmodulin-dependent regulation of Rac GTPases and Akt in histamine-induced chemotaxis of mast cells | 5. 発行年<br>2021年      |
| 3. 雑誌名<br>Cellular Signalling   | 6. 最初と最後の頁<br>109973 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.cellsig.2021.109973  | 査読の有無<br>有           |
| オープンアクセス<br>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<br>-            |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Honda T, Inui M   | 4. 巻<br>10         |
| 2. 論文標題<br>PDZRN3 protects against apoptosis in myoblasts by maintaining cyclin A2 expression | 5. 発行年<br>2020年    |
| 3. 雑誌名<br>Scientific reports  | 6. 最初と最後の頁<br>1140 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41598-020-58116-1.  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-          |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Takeshi Honda, Makoto Inui  | 4. 巻<br>234        |
| 2. 論文標題<br>PDZRN3 regulates differentiation of myoblasts into myotubes through transcriptional and posttranslational control of Id2 | 5. 発行年<br>2019年    |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Cellular Physiology  | 6. 最初と最後の頁<br>2963 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1002/jcp.27113  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>本田 健、品川 右京、水野 優、横須賀 由季、乾 誠            |
| 2. 発表標題<br>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<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>Takeshi Honda, Ukyo Shinagawa, Yu Mizuno, Yuki Yokosuka, Makoto Inui |
| 2. 発表標題<br>Anti-apoptotic function of PDZRN3 protein in myoblasts               |
| 3. 学会等名<br>第93回日本薬理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Takeshi Honda, Hiroki Sakai, Makoto Inui   |
| 2. 発表標題<br>A novel intracellular drug-delivery system specific for cardiomyocytes using RNA aptamer |
| 3. 学会等名<br>第94回日本薬理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

|  |
|--|
| 山口大学医学部医学科薬理学講座<br><a href="http://www.med.yamaguchi-u.ac.jp/medicine/chair/basic_06.html">http://www.med.yamaguchi-u.ac.jp/medicine/chair/basic_06.html</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 | 酒井 大樹<br><br>(Sakai Hiroki)<br><br>(40464367) | 山口大学・大学院医学系研究科・助教<br><br><br><br>(15501) |    |

6. 研究組織（つづき）

|       | 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 | 乾 誠<br><br>(Inui Makoto)<br><br>(70223237) | 山口大学・大学院医学系研究科・教授<br><br><br><br>(15501) |    |

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 |
|---------|---------|
|         |         |