

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07370

研究課題名(和文)病態生理現象におけるmiRNA-lncRNA-mRNAのクロストークの解明

研究課題名(英文)Elucidation of crosstalk in miRNA-lncRNA-mRNA network on pathophysiological events

研究代表者

坂本 修士 (Sakamoto, Shuji)

高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・教授

研究者番号：80397546

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)：我々はこれまでにRNA結合タンパク質であるNF90とNF45の複合体(NF90-NF45)の過剰発現が骨格筋萎縮を引き起こすことを見出している。本研究により、当該萎縮の発症と骨格筋細胞融合のマスター因子であるMYMK/MYMXの恒常的発現との関連性が見出された。加えて、NF90-NF45を介して「lncRNA(pri-miR-378a)蓄積-miRNA(miR-378a-3p)産生低下-mRNA(MyoG mRNA)発現上昇」ネットワークと「筋分化マスター因子(MyoD)の転写活性能上昇」が協調し、病態生理現象の要因(MYMK/MYMXの恒常的発現)が生じる可能性を新たに見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NF90-NF45の発現上昇による骨格筋萎縮は筋繊維の中心に核が局在する「中心核化」を呈する。この「中心核化」は、筋力低下等の病態を呈する「筋強直性ジストロフィー1型(DM1)」や「中心核病」等でも確認される。近年、DM1の生検においてNF90-NF45の発現上昇が確認されている(Sabater-Arcis et al. Mol. Ther. Nucleic Acids 2020)。従って、本研究で見出された「NF90-NF45の高発現による中心核化を伴う筋萎縮の新規分子メカニズム」は、筋疾患DM1及び中心核病の発症機序解明や治療薬開発等において有益な情報になり得るものと考えている。

研究成果の概要(英文)：We previously found that overexpression of NF90-NF45 complex, a RNA-binding protein, induces skeletal muscle atrophy. This study demonstrated that the muscle atrophy is deeply correlated with constitutive expression of Myomaker (MYMK)/Myomixer (MYMX) which are responsible factors for myoblast fusion during myogenesis. It is known that the expression of MYMK/MYMX is controlled by MyoD and MyoG which are myogenic regulatory factors. Finally, we newly found that the constitutive expression of MYMK/MYMX is caused by coordination via NF90-NF45 between “a network of lncRNA(pri-miR-378a) accumulation-miRNA(miR-378a-3p) reduction-mRNA(MyoG mRNA) increment” and “an activation of transcriptional ability of MyoD”, resulting in the skeletal muscle atrophy.

研究分野：分子生物学

キーワード：RNA結合タンパク質 骨格筋萎縮 非翻訳RNA 細胞融合 NF90 NF45 Myomaker/Myomixer

1. 研究開始当初の背景

ヒトの遺伝子数は約2万2千個でゲノム全体を100%と考えた場合、遺伝子が占める割合は約2%にすぎない。従って、ヒトゲノムにおいては非コードDNA領域が約98%を占める。一方、転写産物の網羅的解析が行われ、ゲノム全体の約70%の領域が転写されRNAが産み出されることが分かった。従って、生体にはタンパク質に翻訳されないRNA(非翻訳RNA)が数多く存在することが知られるようになった。そのため生体に数多く存在する非翻訳RNAの機能解明は、現在の生命科学において重要な課題の一つである。

一般的に非翻訳RNAはRNA結合タンパク質(RBP)と複合体を形成し機能を発揮することが知られている(図1)。従って、非翻訳RNAの機能解明にはRBPの機能解析が欠かせない。我々はこれまでにRBPの一つであるNuclear Factor 90(NF90)とその結合パートナーであるNF45の複合体(NF90-NF45)の機能解析を通じ、非翻訳RNAの機能解明に取り組んできた。その結果我々は、NF90-NF45は非翻訳RNAであるmicroRNA(miRNA)の初期転写産物(primary-miRNA: pri-miRNA)に結合し、そのプロセッシングを阻害することでmiRNA生合成を負に制御することを見出した(Sakamoto *et al.* MCB 2009)。加えてNF90-NF45-pri-miRNA複合体形成が成熟型miRNAによる標的メッセンジャーRNAの翻訳抑制能の解除を引き起こし「がん」や「骨格筋の中心核化」等の病態生理現象を生じさせることを見出した(Higuchi, Sakamoto *et al.* JBC 2016)(Todaka, Sakamoto *et al.* MCB 2015)。

一方で、NF90-NF45はpri-miRNA以外に他の長鎖非翻訳RNA(lncRNA)やmRNAの非翻訳領域(UTR)にも結合することが知られており、NF90-NF45の発現の増減は、miRNAを介する系以外にもlncRNAの機能調節やmRNAの安定性制御とも協調しながら生体制御や病態発症に影響を及ぼすことが予測される。そのため、NF90-NF45の発現の増減による生体制御や病態発症においては、「miRNAによる作用」、「lncRNAの作用」、「mRNAの安定化・翻訳抑制」の3つのイベント間のクロストークを明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、NF90-NF45を介した「lncRNA」「miRNA」「mRNA」のクロストークによる病態生理現象の分子機構を解明することで、高次生命現象に影響する非翻訳RNAの作用の全体像の一端を掴むことを目的としている。

3. 研究の方法

項目2の「研究の目的」達成のために、特に本研究課題ではNF90-NF45の発現の増減による病態生理現象として、NF90-NF45の高発現による骨格筋萎縮に着目した。我々はこれまでに、NF90-NF45が全身性に過剰発現する遺伝子改変マウス(NF90-NF45 dbTg mice)を作製し、当該マウスの骨格筋が顕著な萎縮を引き起こすことを見出している(図2, X-ray CT)。加えて、既述のように、当該マウスの骨格筋は核が筋細胞の中心に局在する「中心核化」を呈することも分かっている(図2, HE染色)。通常、成熟した筋細胞の核は辺縁に局在する。従って、筋細胞の「中心核化」は筋未成熟の特徴の一つとなっている。我々の解析により、当該マウスの骨格筋における「中心核化」はNF90-NF45と筋分化miRNAの初期転写産物との複合体形成により生じることが分かっている(Todaka, Sakamoto *et al.* MCB 2015)。一方で、当該マウスの骨格筋における筋萎縮の分子機構に関しては不明な点が多い。そこで本研究ではこの点の解明を進めた。

解析に関しては主に下記の項目に取り組んだ。

- ① 筋分化・成熟化に関わるマーカー因子の発現解析
- ② 転写産物の網羅的発現解析
- ③ miRNAの網羅的発現解析
- ④ 筋分化マスター因子MyoDの転写活性化能への影響

図1 非翻訳RNAの多くは蛋白質と複合体を形成し、機能性を発揮する。

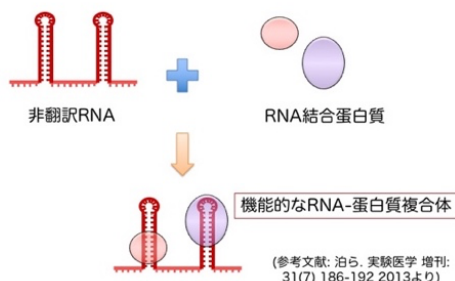
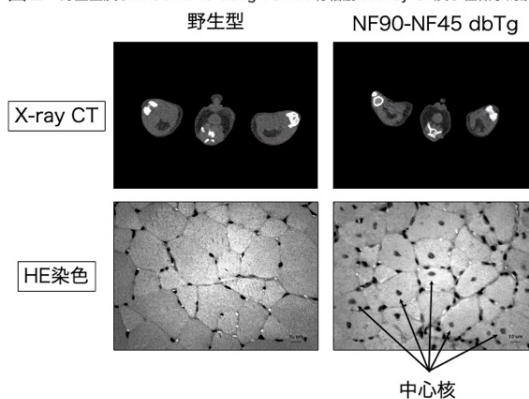


図2 野生型及びNF90-NF45 dbTgマウスの骨格筋のX-ray CT及び組織学的解析



4. 研究成果

① 筋分化・成熟化に関わるマーカー因子の発現解析

骨格筋の分化・成熟化は以下のように進む。

筋衛星細胞 → 筋前駆細胞 → 筋芽細胞 → (細胞融合) → 筋管細胞 → 筋繊維

各細胞において下記の特徴的な因子の発現が確認される。

筋衛星細胞: Pax3, Six1, Six4

筋前駆細胞/筋芽細胞: Myh5

筋芽細胞/筋管細胞: embryonic MyHC (eMyHC), MRF4

筋繊維: Myh4, MCK

そこで野生型マウス及びNF90-NF45 dbTg mice (13-17 週齢, Male/Female) の大腿四頭筋を用いて上記因子の発現を qRT-PCR 法により解析した。その結果、野生型マウスと比較し、NF90-NF45 dbTg mice の大腿四頭筋においては eMyHC の顕著な発現上昇と、Myh4 及び MCK の有意な発現低下が確認された。eMyHC の顕著な発現上昇は筋損傷後の筋再生においても観察される。加えて筋損傷時には、損傷筋から血中に漏れ出すクレアチンキナーゼ(CK)の量が上昇する。そこで野生型マウス及びNF90-NF45 dbTg mice の血中 CK 活性を測定したところ、両マウス間で CK 活性の差異は認められなかった。これらの結果より、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋は、筋破壊・再生を繰り返している状態ではなく、筋分化・成熟化過程において「筋芽細胞が細胞融合し筋管細胞を形成」する段階で止まった未成熟な状態にあるのではないかと考えられた。このことを検証するために、新生仔期、3 週齢、10 週齢の野生型マウスの大腿四頭筋における NF90-NF45 の発現を解析した結果、新生仔期マウスの未熟な大腿四頭筋においてのみ NF90-NF45 の発現が認められた。これらの知見より、NF90-NF45 の恒常的発現は骨格筋の未成熟化を引き起こすと考えられた。

② 転写産物の網羅的発現解析

本項目では、項目①の解析で見出された NF90-NF45 の高発現による骨格筋未成熟化の分子機構を解明することを目指し、我々が以前行った野生型マウス及び NF90-NF45 dbTg mice (16-18 週齢, Male/Female) の大腿四頭筋における転写産物の網羅的発現解析結果の再解析を行なった (Todaka, Sakamoto *et al.* MCB 2015, GSE67591) (図 3)。その結果、野生型マウスと比較し NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋において発現が 2 倍以上高い遺伝子数は 733 個 (図 3, 赤スポット)、発現が 1/2 以下に低下している遺伝子数は 126 個 (図 3, 緑スポット) であった。NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋において発現が 2 倍以上高い遺伝子群には NF90-NF45 及び eMyHC が含まれている (図 3, 矢印)。このことは項目①の qRT-PCR 解析でも確認されており、本解析の信頼性の高さが示されている。本解析により我々は、筋芽細胞融合のマスター因子である Tmem8C (Myomaker: MYMK) が NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋において発現が 2 倍以上高い遺伝子群に含まれることを新たに見出した (図 3, 矢印)。筋芽細胞融合のマスター因子としては Myomixer (MYMX) も知られている (Bi *et al.* Science 2017)。加えて、MYMK 及び MYMX は筋芽細胞融合を促進後、筋成熟化に伴い発現が顕著に低下することが知られている。一方で上述のように NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋では、MYMK の発現が高い状態にある。さらに我々は、qRT-PCR 法を用い、野生型マウス及び NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋における MYMK/MYMX の発現量を解析した。その結果、野生型マウスと比較し、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋において MYMK/MYMX の高発現が認められた。これらの知見より、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋の未成熟化は MYMK/MYMX の恒常的発現と関連する可能性が考えられた。

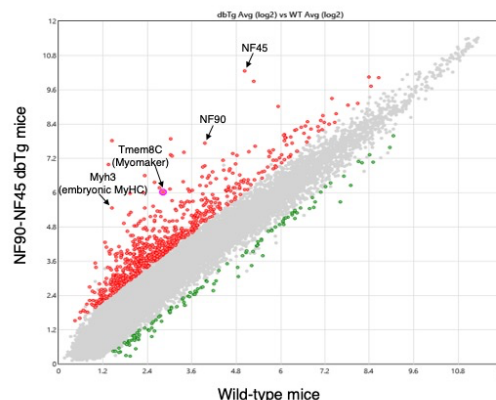


図 3 野生型及びNF90-NF45 dbTgマウスの大腿四頭筋における網羅的遺伝子発現解析
16-18週齢の野生型及びNF90-NF45 dbTgマウスの大腿四頭筋よりRNAを調整し、そのRNAを用いマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。各マウスの個体数は2で実施した。図の縦軸はNF90-NF45 dbTg マウス、横軸は野生型マウスのアレキススポットのシグナル強度を示す。野生型マウスと比較しNF90-NF45 dbTg マウスにおいて2倍以上高いシグナル強度を示すスポットを赤、2倍以下の低いシグナルを示すスポットを緑で示している。矢印のスポットは、それぞれNF90, NF45, embryonic MyHC, Myomakerを示す。

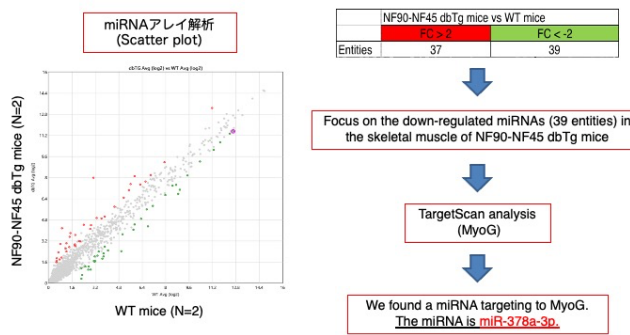
③ miRNA の網羅的発現解析

本項目においては、項目②で認められた NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋における MYMK/MYMX の恒常的発現の分子機構の解明を目指し、解析を進めた。これまでに、MYMK/MYMX 遺伝子は、筋分化マスター因子 MyoD とその標的因子の一つで筋分化制御因子である Myogenin (MyoG) により転写促進されることが示唆されている (Millary *et al.* Genes Dev 2014) (Bi *et al.* Science 2017)。我々はこれまでに、RNA レベルで、野生型マウスと比較し、NF90-NF45 dbTg mice の骨格

筋において MyoD の発現には差異が認められず、MyoG の発現は顕著に上昇していることを見出している (Todaka, Sakamoto *et al.* MCB 2015)。従って、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋における MYMK/MYMX の発現上昇は MyoG の発現増加に起因する可能性が想定された。そのため、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋における MyoG の発現上昇の分子機序に着目し、解析に取り組んだ。既述のように我々は以前、NF90-NF45 が miRNA の初期転写産物 (pri-miRNA) と複合体を形成し、当該 pri-miRNA のプロセッシングを抑制することで、miRNA 生合成を負に制御することを見出している (Sakamoto *et al.* MCB 2009)。そのため NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋における MyoG の発現上昇は miRNA の翻訳抑制解除に起因する可能性が考えられた。そこで、miRNA アレイ法を用いて、NF90-NF45 の高発現により産生が低下し且つ MyoG の翻訳を抑制する miRNA を探索した (図 4)。

miRNA アレイ解析の結果、野生型マウスと比較し、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋において発現が 2 倍以上に増加している miRNA が 37 個 (図 4, 赤スポット)、1/2 以下に低下している miRNA が 39 個 (図 4, 緑スポット) 存在することがわかった。次に miRNA の標的探索ソフトである「TargetScan」を用い MyoG を標的とする miRNAs 群を抽出した。さらに、抽出した miRNAs 群の中に、野生型マウスと比較し NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋において発現が 1/2 以下に低下している 39 個の miRNA と一致する miRNA を探索した。その結果、

図4 野生型マウス及びNF90-NF45 dbTg miceの骨格筋における MyoG標的miRNAの探索

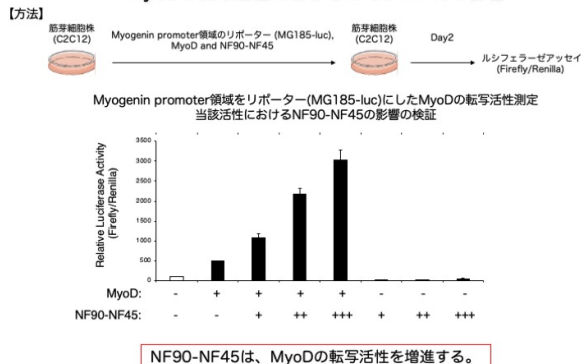


当該条件を満たす miRNA として「miR-378a-3p」を見出すことができた (図 4)。次に、野生型マウス及び NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋において「成熟型 miR-378a-3p」とその初期転写産物である「pri-miR-378a」の発現を解析した結果、野生型マウスと比較し、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋において「成熟型 miR-378a-3p」の産生は顕著に低下し、「pri-miR-378a」の発現は増加していることがわかった。このことより、高発現した NF90-NF45 は「pri-miR-378a」から「成熟型 miR-378a-3p」へのプロセッシングを抑制する可能性が考えられた。さらに、「miR-378a-3p」が MyoG mRNA を直接の標的とするか、否か、を検証するために、MyoG mRNA をルシフェラーゼ (Luc) 遺伝子の 3' 非翻訳領域 (UTR) に繋げたりポーター遺伝子 (pmiR-GLO-MyoG mRNA 3' UTR) を構築し、HEK293 細胞を用いて解析した。その結果、miR-378a-3p の高発現は pmiR-GLO-MyoG mRNA 3' UTR の Luc 活性を有意に低下させた。このことより、miR-378a-3p は MyoG mRNA の 3' UTR を直接の標的とするものと考えられた。これらの知見より、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋萎縮における MYMK/MYMX の発現上昇の分子機序としては「lncRNA (pri-miR-378a) 蓄積-miRNA (miR-378a-3p) 産生低下-mRNA (MyoG mRNA) 発現上昇」ネットワークの影響が考えられた。

④ 筋分化マスター因子 MyoD の転写活性化能への影響

既述のように、野生型マウスと比較し、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋においては MyoG 及び MYMK/MYMX の発現上昇が確認される。一方で、MyoD の発現に差異は認められない。このことを NF90-NF45 のノックダウン (KD) 状況下で検証するために、筋芽細胞株である C2C12 細胞を用いて解析を行った。C2C12 細胞は低血清 (馬血清 2%) 条件下で培養することで、細胞融合が促進され筋管細胞へと分化する。また当該分化に伴い、MyoD、MyoG、MYMK/MYMX の発現上昇が確認される。そこで C2C12 細胞において NF90-NF45 を KD し、qRT-PCR 法により MyoD、

図5 MyoDの転写活性におけるNF90-NF45の影響



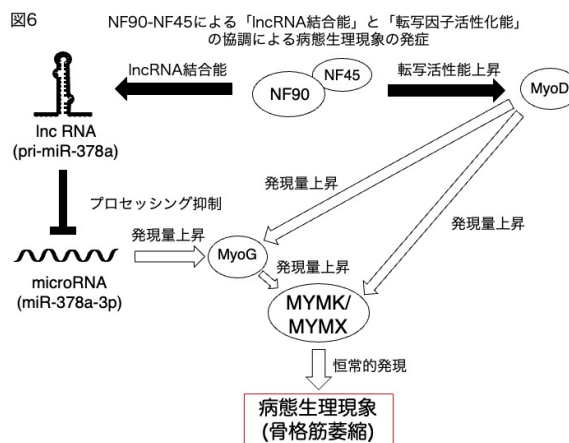
NF90-NF45は、MyoDの転写活性を増進する。

MyoG、MYMK/MYMX の発現を解析した。その結果、NF90-NF45 の KD により MyoG 及び MYMK/MYMX の発現は顕著に低下した。一方で MyoD に関しては、NF90-NF45 の KD による発現変動は確認されなかった。上述の NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋及び NF90-NF45 KD C2C12 細胞における MyoD、MyoG、MYMK/MYMX の発現解析により、NF90-NF45 は MyoG 及び MYMK/MYMX の発現量に関しては促進的に作用する一方、MyoD の量的変化には影響しないことが明らかとなった。

既述のように、MYMK/MYMX 遺伝子の転写は MyoD 及び MyoG によって正に制御されている。加えて MyoG の発現も MyoD によって制御されていることが知られている。そのため、NF90-NF45 の KD による MyoG 及び MYMK/MYMX の発現低下は、NF90-NF45 の KD による MyoD の質的変化(転写活性化能の変化)にも起因する可能性が想定された。そこで我々は、Luc 遺伝子の upstream に MyoG 遺伝子のプロモーター領域を連結させたりポーター遺伝子(MG185-luc)を用いて、NF90-NF45 が MyoD の転写活性化能に及ぼす影響を検証した(図 5)。その結果、MyoD による MG185-luc の活性上昇は、NF90-NF45 により増進することが明らかとなった(図 5)。一方で、MyoD 非存在下では NF90-NF45 による MG185-luc の活性上昇は確認されなかった(図 5)。これらの結果より、NF90-NF45 による MyoD の転写活性化能の増強が、MyoG 及び MYMK/MYMX の遺伝子群の転写を促進させ、当該因子群の恒常的発現を伴う筋萎縮を生じさせている可能性も考えられた。

項目①～④の解析を通じて、NF90-NF45 により引き起こされる病態生理現象(骨格筋萎縮)において「lncRNA (pri-miR-378a) 蓄積-miRNA (miR-378a-3p) 産生低下-mRNA (MyoG mRNA) 発現上昇」ネットワークと「転写因子(MyoD)の転写活性化能上昇」が NF90-NF45 を介して協調することで、病態生理現象の要因(MYMK/MYMX の恒常的発現)が生じる可能性を新たに見出すことができた(図 6)。

興味深い事に、他のグループの報告では miR-378a-3p と MyoD 間で下記の関係性が報告されている(Gagan *et al.* JBC 2011)。



MyoD → pri-miR-378a 遺伝子の転写活性化 → miR-378a-3p 産生増加 → miR-378a-3p 標的因子 MyoG (MyoD 転写活性化能抑制因子)産生低下 → MyoD 転写活性化能上昇

従って、NF90-NF45 による MyoD の転写活性化能上昇(図 5)は、miR-378a-3p を介した MyoD 転写活性化能の増強を引き起こす可能性も想定される。このことは、「miR-378a-3p 生合成経路」と「NF90-NF45 による MyoD 転写活性化能上昇」間の新たなクロストークの存在を示唆している。このクロストークもまた MYMK/MYMX の恒常的発現を引き起こし、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋の萎縮に繋がる可能性がある。

結論として、NF90-NF45 が有する「lncRNA 結合能」と「転写因子活性化能」が協調し、且つ「NF90-NF45 による転写因子活性化能」と「miRNA 生合成経路」がクロストークすることで病態生理現象(骨格筋萎縮)を引き起こす可能性が見出された。

一方、現時点では、当初のモデルである NF90-NF45 による「lncRNA 機能制御」「miRNA 生合成抑制」「mRNA 安定化・翻訳抑制」がクロストークし病態生理現象(骨格筋萎縮)を引き起こす分子メカニズムを見出すには至っていない。これらのクロストークを見出すために、現在着目している因子が長鎖非翻訳 RNA (lncRNA) である「linc-MD1」である。「linc-MD1」は筋分化 miRNA である miR-133 と結合し、miR-133 の翻訳抑制作用を阻害する機能(スポンジ機能)を介し筋分化を促進する(Cesana *et al.* Cell 2011)。我々はこれまでの解析で、NF90-NF45 dbTg mice の骨格筋において「linc-MD1 の発現上昇」(第 41 回 分子生物学会 一般演題発表)、「miR-133 生合成抑制」(Todaka, Sakamoto *et al.* MCB 2015)を見出している。加えて「linc-MD1」遺伝子は MyoD が転写活性化することが示唆されている(Cesana *et al.* Cell 2011)。さらに「linc-MD1」のエクソン領域には miR-133 の pri-miRNA が含まれており、NF90-NF45 が当該 pri-miRNA に結合する可能性は考えられる。我々は以前、mRNA 前駆体に存在する pri-miRNA に NF90 が結合し当該 pri-miRNA のプロセッシングを抑制することで当該 mRNA 前駆体のスプライシングが促進することを見出している(Barbier *et al.* Cell Research 2018)。そのため NF90-NF45 が linc-MD1 内の pri-miR-133 に結合し、miR-133 に対するスポンジ機能を有する linc-MD1 の産生を促進する可能性も考えられる。これらの知見より、「NF90-NF45 による MyoD の転写活性化能促進作用(図 5)及び NF90-NF45 の linc-MD1 への結合を介した linc-MD1 の産生促進」と「NF90-NF45 による miR-133 生合成抑制作用」がクロストークし、miR-133 の質と量が顕著に阻害されることで病態生理現象(骨格筋萎縮)が引き起こされる可能性は想定される。今後、これらの作業仮説に着目し解析を進めることで、NF90-NF45 による「lncRNA 機能制御作用」と「miRNA 生合成抑制作用」のクロストークによる病態生理現象(骨格筋萎縮)の一端を明らかにできないかと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Giuseppa Grasso, Takuma Higuchi, Victor Mac, Jerome Barbier, Marion Helmsmoortel, Claudio Lorenzi, Gabriel Sanchez, Maxime Bello, William Ritchie, Shuji Sakamoto, Rosemary Kiernan.	4. 巻 48
2. 論文標題 NF90 modulates processing of a subset of human pri-miRNAs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research.	6. 最初と最後の頁 6874-6888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkaa386	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 Takemura-Uchiyama Iyo, Tsurui Hiroki, Shimakura Hidekatsu, Nasukawa Tadahiro, Imanishi Ichiro, Uchiyama Jumpei, Fukuyama Tomoki, Sakamoto Shuji, Morisawa Keiko, Fujimura Masato, Murakami Hironobu, Kanamaru Shuji, Kurokawa Kenji, Kawamoto Keiko, Iyori Keita, Sakaguchi Masahiro	4. 巻 369
2. 論文標題 Heterogeneous IgE reactivities to Staphylococcus pseudintermedius strains in dogs with atopic dermatitis, and the identification of DM13-domain-containing protein as a bacterial IgE-reactive molecule	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Letters	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fnac019	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 Higuchi Takuma, Kiernan Rosemary, Sakamoto Shuji	4. 巻 65
2. 論文標題 Characteristic analysis of a secondary structure of primary microRNA bound to a double-strand RNA-binding protein, NF90	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Electrophoresis Letters	6. 最初と最後の頁 13~16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2198/electroph.65.13	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 Sugiyama Yasunori, Nakane Tatsuto, Sakamoto Shuji, Murao Koji	4. 巻 65
2. 論文標題 Novel signaling pathways that regulate suppression of insulin gene expression in type 2 diabetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Electrophoresis Letters	6. 最初と最後の頁 47~50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2198/electroph.65.47	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 -

〔学会発表〕 計22件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 樋口 琢磨、坂本 修士
2. 発表標題 二本鎖RNA結合タンパク質が結合するマイクロRNA初期転写産物の構造的特徴の解析
3. 学会等名 第70回日本電気泳動学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤田 浩志、樋口 琢磨、森澤 啓子、Sylvia Lai、山口 輝、坂本 修士
2. 発表標題 RNA結合タンパク質による腫瘍血管新生の新規分子メカニズムの探索
3. 学会等名 第61回 生化学会 中国・四国支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉山康憲，中根達人，坂本修士，村尾孝児.
2. 発表標題 2型糖尿病の糖毒性におけるインスリン発現抑制を制御する新規シグナル経路
3. 学会等名 第71回 日本電気泳動学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田実里，上里裕樹，森澤啓子，坂本修士，木下英司，木下恵美子，小池透，亀下勇，杉山康憲
2. 発表標題 STYK1を介した腫瘍形成に伴うがん悪性化機構の解析
3. 学会等名 第71回 日本電気泳動学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鶴井 大幹、島倉 秀勝、今西 市郎、坂本 修士、樋口 琢磨、伊従 慶太、下池 健太、阪口 雅弘、内山 淳平
2. 発表標題 taphylococcus pseudintermedius のイヌアトピー性皮膚炎増悪因子の探索
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 坂本 修士、山口 輝、森澤 啓子、樋口 琢磨、Lai Sylvia、池 恩燮、藤田 浩志、杉山 康憲、松川 和嗣、津田 雅之
2. 発表標題 マイクロRNAの機構を介した骨格筋の細胞融合及び成熟化の新規制御機構
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jerome Barbier, Gabriel Sanchez, Xin Chen, Shuji Sakamoto, Dan Xie Rosemary Kiernan.
2. 発表標題 NF90-Dependent Regulation of miRNA Expression in Cancer.
3. 学会等名 The 3rd International Symposium on Frontiers in Molecular Science - RNA Regulatory Networks (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本 修士、山口 輝、森澤 啓子、樋口 琢磨、戸高 寛、Sylvia Lai、池 恩燮、藤田 浩志、杉山 康憲、松川 和嗣、津田 雅之
2. 発表標題 骨格筋の細胞融合及び成熟化におけるRNA結合タンパク質の役割
3. 学会等名 第5回 日本筋学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本 修士, 山口 輝, 樋口 琢磨, 森澤 啓子, Sylvia Lai, 戸高 寛, 池 恩燮, 藤田 浩志, 杉山 康憲, 津田 雅之
2. 発表標題 筋分化過程の筋芽細胞融合における二本鎖RNA結合タンパク質の関与
3. 学会等名 第60回日本生化学会 中国・四国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 樋口琢磨, 宗景玄祐, 矢生健一, 森澤啓子, Sylvia Lai, 山口輝, 藤田浩志, 津田雅之, 小野正文, 坂本修士
2. 発表標題 非アルコール性脂肪肝炎モデルマウスの肝臓において発現増加する二本鎖RNA結合タンパク質NF90の機能解析
3. 学会等名 第60回日本生化学会 中国・四国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中根 達人, 井戸 彩詠, 樋口 琢磨, 戸高 寛, 坂本 修士, 村尾 孝児, 杉山 康憲
2. 発表標題 糖毒性状態の膵臓b細胞においてCPG16はJDP2を介してインスリン発現を抑制する
3. 学会等名 第60回日本生化学会 中国・四国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上 楓, 中根 達人, 飯田 悟史, 戸高 寛, 樋口 琢磨, 坂本 修士, 村尾 孝児, 杉山 康憲
2. 発表標題 神経関連因子Bri3は膵臓b細胞におけるアポトーシスを促進する
3. 学会等名 第60回日本生化学会 中国・四国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本 修士, 山口 輝, 森澤 啓子, 樋口 琢磨, Sylvia Lai, 戸高 寛, 池恩燮, 杉山 康憲, 松川 和嗣, 津田 雅之
2. 発表標題 骨格筋の分化・成熟化における細胞融合促進因子の新たな発現制御機構.
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sylvia Lai, 樋口 琢磨, 森澤 啓子, 片岡 佐誉, 山口 輝, 藤田 浩志, 坂本 修士
2. 発表標題 肝がん細胞の増殖に関与する新たなRBP/miRNAパスウェイの解明.
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栄枝真央, 土居俊房, 片岡佐誉, 坂本修士
2. 発表標題 浴槽水のオゾン処理における大腸菌の不活化モニタリングのためのフローサイトメトリーの評価.
3. 学会等名 日本防菌防黴学会第46回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡村早穂, 本郷新, 田村慎之介, 赤木悟史, 竹中由布, 樋口琢磨, 坂本修士, 枝重圭祐, 井上梓, 松川和嗣
2. 発表標題 ウシ凍結乾燥体細胞を用いて作出した核移植胚におけるヒストンH3のメチル化および遺伝子発現解析.
3. 学会等名 第112回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島倉秀勝、鶴井大幹、坂本修士、樋口琢磨、伊從慶太、下池健太、阪口雅弘、内山淳平.
2. 発表標題 イヌにおけるアトピー性皮膚炎病態に關与するStaphylococcus pseudintermedius分子の探索.
3. 学会等名 第93回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 島倉 秀勝、那須川 忠弥、鶴井 大幹、坂本 修士、樋口 琢磨、伊從 慶太、下池 健太、阪口 雅弘、内山 淳平.
2. 発表標題 イヌアトピー性皮膚炎におけるブドウ球菌のアレルゲンの探索.
3. 学会等名 MRSAフォーラム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 那須川 忠弥、内山 淳平、鶴井 大幹、坂本 修士、樋口 琢磨、伊從 慶太、島倉 秀勝、水上 圭二郎、松崎 茂展、阪口 雅弘.
2. 発表標題 イヌ食物アレルギーの皮膚症状を悪化させるStaphylococcus pseudintermedius分子の探索.
3. 学会等名 第92回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本 修士、樋口 琢磨、古株彰一郎、藤田 浩志、池 恩燮、森澤 啓子、絹川 勝晶、戸高 寛、松川 和嗣、杉山 康憲、津田 雅之
2. 発表標題 二本鎖RNA結合タンパク質(RBP)による筋分化制御因子MyoDの転写活性化
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中川悠紀、藤井修作、飯田悟史、坂本修士、村尾孝児、杉山康憲
2. 発表標題 2型糖尿病におけるコレステロール合成関連遺伝子の発現制御機構の解明
3. 学会等名 第94回 日本生化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 戸高 寛、有川 幹彦、野口 達哉、市川 厚、樋口 琢磨、坂本 修士、佐藤 隆幸
2. 発表標題 認知症治療薬ノベジルはSigma1受容体を介して筋再生を促進する
3. 学会等名 第30回 日本病態生理学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

高知大学 総合研究センター 生命・機能物質部門 生体機能解析分野 分子生物学教室 http://www.kochi-u.ac.jp/kms/ct_mrc/academic/Study.html

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
研究協力者	樋口 琢磨 (Higuchi Takuma)		

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
研究協力者	シルビア ライ (Sylvia Lai)		

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