

研究助成 2018 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	奈良県立医科大学 医学部
氏 名	森 英一郎
研 究 テーマ	Desmin 異常による心筋症の生化学的研究

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。（図表、写真などの添付を含む）

近年、生体分子が液-液相分離（liquid-liquid phase separation: LLPS）して細胞内の微小環境を構築していることが次々と明らかになってきている。転写・翻訳・DNA 修復に留まらず、細胞骨格や物質輸送など、様々な細胞内の機能が生物学的相分離によって制御されていることが認識されてきた。実際に代表者は、RNA 顆粒や中間径フィラメントや核膜孔の LC ドメインが生物学的相分離において重要であることを示してきた [Cell 2016; PNAS 2017; bioRxiv 2019]。

心筋症は、心臓の壁を構成する筋肉の構造と機能が障害される進行性の病気であり、その多くは原因が不明である。一部の遺伝性心筋症の患者の中に、Desmin 遺伝子に異常を有する場合がある。Desmin は、筋原線維の構造形成において重要な中間径フィラメントのタンパク質の 1 種である。中間径フィラメントは、3 つのドメイン（Head、Rod、Tail）に分類される。中央に位置する Rod ドメインは α ヘリックス構造を有し、Head ドメインと Tail ドメインは low complexity (LC) 配列（アミノ酸 20 種類のうち、わずか数種類だけを使って構成されたタンパク質の配列のこと）である。Desmin 遺伝子異常では、構造を持つ Rod ドメインのみならず、LC 配列である Head ドメインや Tail ドメインでも遺伝子変異の報告がある。

これまでの研究から、各種中間径フィラメントの Head ドメインが cross- β ポリマーを形成することを明らかになった [Cell 2016]。しかし、中間径フィラメントの Head ドメインのみで cross- β ポリマーを形成することが、必ずしも全長タンパク質が中間径フィラメントを形成している際に、Head ドメイン領域が cross- β ポリマーを形成しているということにはならない。代表者は、2 種のタンパク質を結合させるインテイン反応の技術を中間径フィラメントに適応し、Head ドメインのみを部分標識した上で ssNMR（固体核磁気共鳴）法を用いて Head ドメインの構造を明らかにすることを目指した。

中間径フィラメント Desmin の Head ドメインによってポリマーを形成させ、標識されたサンプルから得られる ssNMR シグナルを検出した。次に、Head ドメインのみを標識した後に、インテイン反応によって標識されていない Rod ドメインと Tail ドメインと結合し、Head ドメインのみが標識された全長の Desmin を得た。結果、Head ドメインによって形成されたポリマーと、Head ドメインのみを標識した中間径フィラメントから得られるシグナルが一致した。また、ランダムに凝集した凝集物とは異なる構造を、Head ドメインによるポリマーと中間径フィラメントが取っていることを示唆した。さらに、心筋症患者で同定されている変異を Desmin に導入し、それらの ssNMR シグナルを野生型と比較したところ、患者由来の変異が導入されると cross- β 構造がより安定的なものになるものの、凝集体のような別の構造状態を取っているというわけでは無いということが示唆された。

今回の研究成果では、中間径フィラメント Desmin の形成が、Head ドメインの cross- β 構造の形成によって制御されていることが明らかになった。さらに、心筋症患者が有する変異が、単に凝集しやすくなったからではなく、cross- β 構造が野生型よりも安定したためであることも明らかになった。このことは、今後、Desmin 変異によって生じる心筋症の病態や治療法を考える上で、重要な知見を与えることが期待される。

研究助成 2018 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

所	属	奈良県立医科大学 医学部
氏	名	森 英一郎

1. 論文発表実績

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- ・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- ・ 国内外雑誌を問わない。
- ・ 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。
- ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	Ozawa S, Matsubayashi M, Nanaura H, Yanagita M, Mori K, Asanuma K, Kajiwara N, Hayashi K, Ohashi H, Kasahara M, Yokoi H, Kataoka H, <u>Mori E</u> *, Nakagawa T*. (*corresponding authors) Proteolytic Cleavage of Podocin by Matriptase Exacerbates Podocyte Injury. J Biol Chem 2020; jbc.RA120.013721. 査読有
2	Smits LM, Magni S, Kinugawa K, Grzyb K, Luginbühl J, Sabate-Soler S, Bolognin S, Shin JW, <u>Mori E</u> , Skupin A, Schwamborn JC. Single-cell transcriptomics reveals multiple neuronal cell types in human midbrain-specific organoids. Cell Tissue Res 2020. doi: 10.1007/s00441-020-03249-y. 査読有
3	Ito SS, Nakagawa Y, Matsubayashi M, Sakaguchi YM, Kobashigawa S, Matsui TK, Nanaura H, Nakanishi M, Kitayoshi F, Kikuchi S, Kajihara A, Tamaki S, Sugie K, Kashino G, Takahashi A, Hasegawa M, <u>Mori E</u> *, Kirita T*. (*corresponding authors) Inhibition of the ATR kinase enhances 5-FU sensitivity independently of nonhomologous end-joining and homologous recombination repair pathways. J Biol Chem 2020; 295(37): 12946-12961. 査読有
4	Okamura K, Inagaki Y, Matsui TK, Matsubayashi M, Komeda T, Ogawa M, <u>Mori E</u> , Tanaka Y. RT-qPCR analyses on the osteogenic differentiation from human iPS cells: an investigation of reference genes. Sci Rep 2020; 10(1): 11748. 査読有
5	Eura N, Matsui TK, Luginbühl J, Matsubayashi M, Nanaura H, Shiota T, Kinugawa K, Iguchi N, Kiriya T, Zheng C, Kouno T, Lan YJ, Kongpracha P, Wiriyasermkul P, Sakaguchi YM, Nagata R, Komeda T, Morikawa N, Kitayoshi F, Jong M, Kobashigawa S, Nakanishi M, Hasegawa M, Saito Y, Shiromizu T, Nishimura Y, Kasai T, Takeda M, Kobayashi H, Inagaki Y, Tanaka Y, Makinodan M, Kishimoto T, Kuniyasu H, Nagamori S, Muotri AR, Shin JW*, Sugie K*, <u>Mori E</u> *. (*corresponding authors) Brainstem organoids from human pluripotent stem cells contain neural crest population. Front Neurosci 2020. doi: 10.3389/fnins.2020.00538. 査読有

6	吉澤 拓也, <u>森 英一朗</u> . 生物学的相分離の制御. 生物工学会誌 2020; 98(5): 229-231. 査読無
7	<u>森 英一朗</u> . 「相分離生物学」誕生秘話 : 私見. 化学工業 2020; 71(4): 247-252. 査読無
8	Yoshizawa T, Nozawa RS, Jia TZ, Saio T, <u>Mori E</u> *. (*corresponding author) Biological phase separation: cell biology meets biophysics. Biophys Rev 2020; 12(2): 519-539. doi: 10.1007/s12551-020-00680-x. 査読有
9	白木 賢太郎, <u>森 英一朗</u> , 吉澤 拓也. 相分離生物学の誕生. 現代化学 2019; 582: 18-24. 査読無
10	Kobashigawa S, Sakaguchi YM, Masunaga S, <u>Mori E</u> *. (*corresponding author) Stress-induced Cellular Senescence Contributes to Chronic Inflammation and Cancer Progression. Thermal Med 2019; 35(4): 41-58. doi: 10.3191/thermalmed.35.41. 査読有
11	<u>Mori E</u> , Asaithamby A. Nuclear Foci Assays in Live Cells. Methods Mol Biol 2019; 1984: 75-85. doi: 10.1007/978-1-4939-9432-8_9. 査読有
12	Matsui TK*, <u>Mori E</u> *. (*corresponding authors) Microglia support neural stem cell maintenance and growth. Biochem Biophys Res Commun 2018; 503(3): 1880-1884. 査読有

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020年2月7日	森 英一朗 . 液-液相分離からみたがん増感. 第22回菅原・大西記念 癌治療増感シンポジウム in 奈良, 国内. (口演)
2	2020年1月16日	森 英一朗 . 相分離生物学：制御と破綻. よこはま NMR 研究会第63回ワークショップ, 国内. (口演)
3	2019年9月25日	森 英一朗 . Phasing Biology: Low-Complexity Domains Phase-Separate through Cross- β Interaction. 第57回日本生物物理学会年会, 国内. (口演)
4	2019年9月21日	森 英一朗 . 生命誕生期のタンパク質世界：low-complexity ドメインと液-液相分離. 日本宇宙生物科学会第33回大会, 国内. (口演)
5	2019年9月12日	森 英一朗 . 相分離制御：からまる LC ドメイン. 第3回 LLPS 研究会（大阪大学蛋白質研究所セミナー）, 国内. (口演)
6	2019年6月25日	森 英一朗 . からまる相分離：LC ドメインのポリマー化. 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会, 国内. (口演)
7	2019年6月15日	森 英一朗 . Cross- β ポリマー形成による LC ドメインの相分離. 第16回 AMO 討論会, 国内. (口演)
8	2019年6月13日	Eiichiro Mori . LC domains phase separate into cross- β polymers. ASUKA Symposium 2019, 国内. (口演)
9	2019年5月25日	Eiichiro Mori , Tomo Shiota, Hitoki Nanaura, Kazuma Sugie. LC-domain misregulation leads to amyotrophic lateral sclerosis and related diseases. 第60回日本神経学会学術大会, 国内. (口演)
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	投稿中	Shiota T, Nagata R, Kikuchi S, Nanaura H, Matsubayashi M, Nakanishi M, Kobashigawa S, Nagayama K, Sugie K, Yoshito Yamashiro Y*, Mori E *. (*corresponding authors) C9orf72-derived proline:arginine poly-dipeptides disturb cytoskeletal architecture. (<i>J Cell Biochem</i> ; under review)

2	投稿中	Kinugawa K, Luginbühl J, Matsui TK, Eura N, Sakaguchi YM, Jay W Shin, Sugie K, Schwamborn JC, Mori E* . (*corresponding author) Comparative analysis of human brain organoids of brainstem and midbrain at single-cell resolution. <i>bioRxiv</i> 2020. doi: 10.1101/2020.09.02.279380 (<i>J Neurol Sci</i> ; under review)
3	投稿中	Iwasa N, Matsui TK, Morikawa N, Sakaguchi YM, Shiota T, Iguchi N, Nishimura Y, Mori E* , Sugie K*. (*corresponding authors) Oxygen-glucose deprivation and reoxygenation on human cerebral organoids alters expression related to lipid metabolism. <i>bioRxiv</i> 2020. doi: 10.1101/2020.03.31.017335. (<i>Front Cell Neurosci</i> ; under revision)
4	投稿中	Zhou X, Lin Y, Liszczak G, Sysoev V, Sutherland L, Mori E , Murray D, Kato M, Tycko R, McKnight SL. Transiently structured head domains control intermediate filament assembly. <i>bioRxiv</i> 2020. doi: 10.1101/2020.03.27.012112. (<i>Nat Struct Mol Biol</i> ; under review)
5	投稿中	Matsubayashi M, Sakaguchi YM, Sahara Y, Nanaura H, Kikuchi S, Ashari A, Bui L, Kobashigawa S, Nakanishi M, Nagata R, Matsui TK, Kashino G, Hasegawa M, Takasawa S, Eriguchi M, Tsuruya K, Nagamori S, Sugie K, Nakagawa T, Takasato M, Umetani M*, Mori E* . (*corresponding authors) Human URAT1/SLC22A12 gene promoter is regulated by 27-hydroxycholesterol through estrogen response elements. <i>bioRxiv</i> 2019. doi: 10.1101/827709. (<i>FASEB J</i> ; under revision)
6	投稿中	Nanaura H, Kawamukai H, Fujiwara A, Uehara T, Nakanishi M, Shiota T, Hibino M, Aiba Y, Wiriyasermkul P, Kikuchi S, Nagata R, Matsubayashi M, Nagamori S, Shoji O, Ishimori K, Matsumura H, Sugie K, Saio T*, Yoshizawa T*, Mori E* . (*corresponding authors) Toxic PR poly-dipeptides encoded by the <i>C9orf72</i> repeat expansion target Kap β 2 and dysregulate phase separation of low-complexity domains. <i>bioRxiv</i> 2019. doi: 10.1101/812099. (<i>Nat Commun</i> ; under review)