

平成22年 5月11日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：平成17年～平成21年

課題番号：17081007

研究課題名（和文） 心血管特異的トランスポートソーム：分子機構から病態発現まで

研究課題名（英文） Cardiovascular system-specific transportsorm:from molecular mechanism to pathogenesis

研究代表者 古川哲史

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授

研究者番号：80251552

研究成果の概要：

心血管系細胞において、一酸化窒素(NO)は重要なガス状シグナル伝達物質であり、虚血性心疾患・心不全・高血圧などの病態に密接に関与する。私達は性ホルモンが非ゲノム作用を介して心筋イオンチャネルを制御することを初めて明らかにしたが、これには内皮型NO合成酵素(eNOS)を介したNOが関与する。一方、神経型NO合成酵素(nNOS)に対して産生されたNOは心筋電位依存性Ca²⁺チャネルを制御し、その制御因子の遺伝子多型(SNP)が心臓突然死のリスク因子となる。これらの致死的な不整脈発現と関わるNOによる心筋イオンチャネル制御の基盤となるトランスポートソームの分子実態を明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
H17年度	5,900,000	0	5,900,000
18年度	23,400,000	0	23,400,000
19年度	13,700,000	0	13,700,000
20年度	8,600,000	0	8,600,000
21年度	8,300,000	0	8,300,000
総計	59,900,000	0	59,900,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

一酸化窒素(NO)は内皮弛緩物質として同定された経緯があり、心血管系では極めて重要なシグナル伝達分子であり、虚血性心疾患・心不全・動脈硬化に対して保護的に働くことが知られている。ところがNOの心血管系イオントランスポートへの関与

は不明な部分が多い。申請者は心筋イオンチャネルのCa²⁺応答(Circ. Res. 2005)・性ホルモンnon-genomic pathwayによる心筋・血管平滑筋イオンチャネル制御(Circulation 2005)に対するNOの関与を明らかにした。

2. 研究の目的

心血管系細胞におけるNO合成酵素を中心とするトランスポートソーム、特に性ホルモンnon-genomic pathwayに関するトランスポートソームの分子基盤を解明する。

3. 研究の方法

- (1) 単離モルモット心室筋に対するパッチクランプ法を用いた電位生理学的解析
- (2) Computer simulation を用いた性ホルモンの電気生理学的作用のモデル化
- (3) Western blotting や immunocytochemistry などの一般的な分子生物学的手法を用いた検討
- (3) Biotin-switch assay 法を用いたニトロシル化の検討
- (4) スクロース密度勾配分画法を用いた細胞膜内での局在の検討
- (5) PLA(proximity ligation assay)を用いたタンパク質の共局在の検討

4. 研究成果

(1) 性ホルモン非ゲノム経路による心筋イオンチャンネル制御

主な性ホルモンのテストステロン(DHT)、エストラジオール(E2)、プロゲステロン(P4)の心室筋活動電位に対する作用を見ると、DHT・P4は濃度依存性に活動電位幅(APD)を短縮する。E2の作用は複雑であり、低濃度(0.1 nM-1 nM)ではAPDを約10%程度延長し、逆に比較的高濃度(10 nM-100nM)では短縮する。低濃度E2によるAPD延長作用はQT延長症候群の男女差を理解する上で極めて重要となるが、NOを介さない反応であった。

DHT・P4、および高濃度E2によるAPD短縮は、性ホルモン投与開始5分以内から出現し、10分程度で定常状態に達することから、急性の効果すなわち非ゲノム作用と考えられる。NOスカベンジャーであるcarboxy-PTIO・L-NAC、eNOSの阻害剤L-NIOにより消失することから、

非ゲノム作用のうちeNOSを介する反応と考えられる。

APD短縮のイオンメカニズムを検討すると、緩徐活性型遅延整流性 K^+ チャンネル電流 I_{Ks} とL型 Ca^{2+} チャンネル電流 $I_{Ca,L}$ が性ホルモンの主要なターゲットであった。コントロール状態ではDHT、E2、P4は濃度依存性に I_{Ks} を活性化し、 EC_{50} は各性ホルモンにおいて5 nM前後であり、これら性ホルモンの臨床血中レベル内で作用する。一方、 $I_{Ca,L}$ に対してはコントロール状態ではほとんど作用が見られないが、cAMP刺激により増大した $I_{Ca,L}$ に対しては明らかな抑制作用を示す。その IC_{50} はP4において求められているが30 nM前後であり、これはP4濃度が上昇する黄体期の臨床血中濃度に相当する。つまり、臨床血中濃度あるいは性周期で変動する血中濃度範囲で性ホルモンは心筋再分極時間に影響することになる。

(2) NOによる I_{Ks} ・ $I_{Ca,L}$ 調節メカニズム

性ホルモンはコントロール状態では I_{Ks} を活性化し、cAMP刺激時には $I_{Ca,L}$ を抑制するが、これらの作用はいずれもNOスカベンジャーで消失することから、NOによるものと考えられる。

NO産生の上流経路と産生されたNOによる作用メカニズム、すなわちNO下流経路の2点が次の疑問点として浮かび上がってくる。まず下流経路であるNOの作用メカニズムを見ていくと、良く知られているのがsoluble guanylate cyclase (sGC)のヘム鉄にNOが結合しこれを活性化し、産生されるcGMPがcGMP-dependent protein kinase (PKG)やcGMP-dependent phosphodiesterase (PDE)を活性化するsGC/cGMP経路であ

る。Furchgott 博士が見つけたアセチルコリンによる血管弛緩反応も sGC/cGMP 経路を介する作用である。一方、最近注目されているのがタンパク Cys 残基のチオール基を直接ニトロ化する s-nitrosylation 経路である。sGC/cGMP 経路は sGC 阻害薬 ODQ により抑制することができる。一方、s-nitrosylation 経路は酵素反応を介さない経路であり特異的な阻害薬が存在しない。アルキル化剤 NEM や還元剤 DTT が非特異的ではあるがタンパクニトロ化反応を阻害する。性ホルモンの $I_{Ks} \cdot I_{Ca,L}$ に対する作用メカニズムを見てみると、 I_{Ks} 活性化は ODQ 非感受性であり NEM・DTT 感受性であることから s-nitrosylation 経路を介することが示唆される。一方 cAMP により増強された $I_{Ca,L}$ の抑制は、ODQ 感受性、NEM・DTT 非感受性であり、sGC/cGMP 経路を介するものと考えられる。

(3) KCNQ1 の s-nitrosylation

(2)に記載したように、NO による I_{Ks} チャネルは s-nitrosylation によることが示唆された。

I_{Ks} チャネルは α -subunit の KCNQ1 と β -subunit の KCNE1 のヘテロ複合体から構成される。このいずれがニトロシル化されるのかを、biotin-switch assay 法を用いて検討すると、KCNQ1 がニトロシル化され KCNE1 はニトロシル化されなかった。

KCNQ1 には 9 個の Cys 残基があるが Cys-Ala 変異を用いてニトロシル化のターゲットを探索すると、C 末端 445 番目の Cys がニトロシル化されることが判明した。同 Cys は前後に酸性および塩基性アミノ酸が存在することが他の Cys と違

う特徴であった。この酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸を中性アミノ酸に置換すると、Cys445 はそのままでもニトロシル化されなくなったことから、酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸に挟まれていることが洞アミノ酸が他のアミノ酸と違いニトロシル化の標的となる分子メカニズムであることが明らかとなった。

(4) $I_{Ca,L}$ 調節における cAMP と cGMP のクロストーク

(2)に記載したように、性ホルモンおよびその下流シグナル分子 NO による $I_{Ca,L}$ の調節は、cGMP 依存的事であること、cAMP により活性化されたときにのみ観察されることから、cAMP-cGMP のクロストークが重要となることが示唆された。

心筋細胞に存在する主要な cGMP 依存性シグナルには、protein kinase G (PKG) と phosphodiesterase (PDE)がありますが、PKG 阻害薬 KT-5823 存在下では性ホルモンによる $I_{Ca,L}$ 抑制作用は依然として観察されますが、PDE 阻害薬 IBMX 存在下では消失したことから、少なくともモルモット心室筋では PDE を介する cAMP 分解の亢進が cAMP/PKA 活性化 $I_{Ca,L}$ チャネルの抑制のメカニズムと考えられました。

PDE2 特異的阻害薬 EHNA 存在下では性ホルモンによる $I_{Ca,L}$ チャネル抑制作用は消失し、PDE3 特異的阻害薬 milrinone 存在下では $I_{Ca,L}$ チャネル抑制は依然として観察されることから PDE2 が $I_{Ca,L}$ チャネル抑制に関与することが示唆されました。PDE2・PDE3 の局在を検討するために行ったスクロース密度勾配分画法では、私たちの実験条件では分画 4-6 が lipid raft/caveolae 分画であり性ホ

ルモン非ゲノム経路に関わるシグナル分子は同 lipid raft/caveolae 分画に局在しました。I_{Ca,L} チャネル・サブユニット Ca_v1.2 も大部分は lipid raft/caveolae 分画(分画 4-6)に存在し、小部分がより高い密度の分画に存在しました。PDE2・PDE3 の検討では、PDE2 は大部分が lipid raft/caveolae 分画(分画 4-6)、PDE3 は大部分がより高い密度の分画あるいは細胞質に存在しました。

PLA(Proximity Ligation Assay)法は Olink Bioscience 社が開発したタンパク質間の近接性を検出する免疫細胞・組織染色システムです。オリゴヌクレオチド修飾を施した 2 次抗体を用い、これに PLA probe がハイブリダイズすることにより直径約 50 nm の環状構造が形成され、増幅反応でシグナルを増幅することにより 50 nm 以内に近接するタンパク質間の相互作用を感度良く検出できるシステムです。そこで、Ca_v1.2 と PDE2、PDE3 の相互作用を検討したところ、PDE2・PDE3 とともに Cav1.2 の 50 nm 以内の空間に位置することが示されました。電気生理学実験およびスクロース密度勾配分画法の結果と合わせると、PDE2 あるいは PDE3 と共存する 2 種類の Cav1.2 があり、lipid raft/caveolae 分画で PDE2 と相互作用する Cav1.2 が性ホルモン非ゲノム経路に関与するのではないかと現時点では考えられる。

(5) シグナル伝達経路

NO 産生の上流経路に目を向けると、性ホルモンにより I_{Ks} 増大作用・I_{Ca,L} 抑制作用は通常の性ホルモン受容体阻害薬、c-SRC 阻害薬、PI3-kinase 阻害薬、Akt 阻害薬、eNOS 阻害薬で消失すること、

性ホルモン投与により約 10 分程度で Akt・eNOS がリン酸化されることから、性ホルモン受容体 →c-Src→PI3-kinase→PIP₃(3,4,5) →Akt→eNOS→NO という経路で NO が産生させると考えられた。

次に、これらの分子の細胞内局在をスクロース密度勾配遠心分画法を用いて検討すると、我々の実験条件では fraction 5 に caveolae・lipid raft マーカーである caveolin-3・flotillin-1 が移動することから fraction 5 が lipid raft/caveolae 分画と考えられる。KCNQ1, eNOS も主として fraction 5 に移動することから lipid raft/caveolae 分画に局在することが分かる。KCNE1、I_{Ca,L} チャネル α-subunit Ca_v1.2、c-Src, PI3-kinase の調節サブユニット p85, Akt は fraction 4-11 および細胞質分画に比較的広く分布しているが、少なくともかなりの割合が fraction 5 に存在する。以上の電気生理学実験・生化学実験から、心筋細胞では lipid raft/caveolae に NO により心筋イオンチャネルを調節する “イオントランスポートソーム” が形成されていることが明らかとなった。

(6) 非ゲノム経路担当性ホルモン受容体

スクロース密度勾配遠心分画実験で得られた興味深い知見として、estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), progesterone receptor (PR)のいずれにおいても C 末端抗体では認識されるが N 末端抗体では認識されない、すなわち N 末端の短縮したアイソフォームが fraction 5 に局在している。ER に関してはまだ議論の余地は残されているものの、このアイソフォーム ER46 が血管内皮細胞にお

いて非ゲノム経路を担う受容体であることが報告されている。ところが AR・PR に関してはこのような報告はなされていない。そこで N 末端短縮型 AR(AR45)に対して検討を行った。

AR45 は、全長 AR(F-AR)の alternative splicing variant であり、エクソン 1 の代わりに短いエクソン 1b から翻訳が開始される。マウスやラットなどのげっ歯類ではエクソン 1b にストップコドンが存在するため AR45 は発現せず、一方ヒト、犬、牛などの大動物では AR45 が存在する。またヒト心臓では mRNA レベルの検討では F-AR はほとんど発現せず、一方 AR45 は極めて豊富に発現する。すなわち、AR45 は進化的に発現が制御される、ヒト心臓で優位に発現するアイソフォームである。F-AR と AR45 をクローン化して異所性発現系で機能解析を行うと、F-AR は DHT 刺激により核内移行するが AR45 は核内移行しなかった。レポーターアッセイでは、F-AR は ARE(androgen responsive element)の転写を促進したが、AR45 は転写を促進しなかった。一方、F-AR は非ゲノム経路のレポーター分子 ERK のリン酸化を誘導しなかったが、AR45 は誘導した。したがって、AR45 は心臓では非ゲノム経路作用を特異的に担当するアンドロゲン受容体であることが示唆された。

(7) NOS1AP KO マウスを用いた研究

NOS1AP(NOS1 adaptor protein)は、NOS1 に結合し機能調節を行う分子です。最近の GWAS(genome-wide association study)で、NOS1AP の SNPs が 2 型糖尿病・統合失調症などとともに心電図の QT 間隔・心臓突然死に極めて

強く関連することが明らかとなりました。研究室の笹野が留学中、in vitro 実験で NOS1AP をモルモット心室筋に過剰発現させると、 $I_{Ca,L}$ チャネルを抑制することを報告しています。そこで、今回は in vivo での作用を検討するために、NOS1AP KO マウスを国立国際医療センター加藤規弘博士から供与いただき解析を進めた。

基礎データとして、NOS1AP KO マウスは心拍数・QRS 間隔・QT 時間が有意に増加しており、自発性に心室期外収縮を頻発しました。これらの変化は NOS 阻害薬 L-NAME 投与により正常化しました。電位感受性色素を負荷したランゲンドルフ還流心から記録した活動電位は、NOS1AP KO マウスでその持続時間が有意に延長していました。また、電気刺激による伝導ブロック・頻脈性心室不整脈の誘発率が上昇していました。

以上から、NOS1AP が in vivo でも心筋再分極時間、ならびに不整脈発現に関与することが明らかになりつつあります。性ホルモン非ゲノム作用に関わる NOS3(eNOS)由来 NO と NOS1AP が関わる NOS1(nNOS)由来 NO はいずれも $I_{Ca,L}$ チャネルを抑制しましたが、NOS3(eNOS)由来 NO は cAMP/PKA により活性化された $I_{Ca,L}$ チャネルを主に抑制したのに対して、NOS1(nNOS)由来 NO は cAMP/PKA により活性化されないベースラインの $I_{Ca,L}$ チャネルも抑制したことから、同じ NO なのに作用に違いがあることが明らかとなった。また、性ホルモン非ゲノム経路は不整脈に対して保護的に作用するのに対して、NOS1AP の SNPs は突然死のリスクとなり、不整脈に対しても逆的作用をする

ことが知られている。NOS3(eNOS)のプロモーター領域には estrogen responsive element (ERE)が存在し、estrogen により up-regulation されるのに対して、NOS1(nNOS)はプロモーター領域に androgen responsive element (ARE) と progesterone responsive element (PRE)が存在し、androgen・progesterone により up-regulation されることから、心臓における性差の鍵を握る可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 19 件)

1. Bai C-X, Kurokawa J, Tamagawa M, Nakaya H, Furukawa T. (2005) Nongenomic regulation of cardiac repolarization currents by testosterone. **Circulation** **112**, 1701-1710.
2. Furukawa T, Bai CX, Kaihara A, Ozaki E, Kawano T, Nakaya Y, Awais M, Sato M, Umezawa Y, Kurokawa J. (2006). Ginsenoside Re, a main phytosterol of Panax ginseng, activates cardiac potassium channels via a non-genomic pathway of sex hormones. **Mol. Pharmacol.** **70**, 1916-1924
3. Furukawa T, Kurokawa J. (2006). Potassium channel remodeling in cardiac hypertrophy. **J. Mol. Cell. Cardiol.** **41**, 753-761
4. Tani Y, Miura D, Kurokawa J, Nakamura K, Ouchida M, Shimizu K, Ohe T, Furukawa T. (2007). T75M-KCNJ2 mutation causing Andersen-Tawil syndrome enhances inward rectification by changing Mg²⁺ sensitivity. **J. Mol. Cell. Cardiol.** **43**, 187-196.
5. Furukawa T, Kurokawa J. (2007). Regulation of cardiac ion channels via non-genomic action of sex steroid hormones: Implication for gender-difference in cardiac arrhythmias. **Pharmacol. Therapeut.** **115**, 106-115.
6. Nakamura K, Katayama Y, Kusano K, Haraoka K, Tani Y, Nagase S, Moritsa H, Miura D, Fujimoto Y, Furukawa T, Ueda K, Aizawa Y, Kimura A, Kurachi Y, Ohe T. (2007). Anti-KCNH2 antibody-induced long QT syndrome? Novel acquired form of LQT syndrome? **J. Am. Coll. Cardiol.** **50**, 1808-1809.
7. Nakamura H, Kurokawa J, Bai CX, Asada K, Xu J, Oren RV, Zhu ZI, Clancy CE, Isobe M, Furukawa T. (2007). Progesterone regulates cardiac repolarization through a nongenomic pathway: An in vitro patch-clamp and computational modeling study. **Circulation** **116**, 2913-2922.
8. Asaoka H, Kurokawa J, Furukawa T, Shimokado K. (2007). High glucose concentrations impair the activation of K⁺ channels and proteases in undifferentiated THP-1 monocytes. **J. Med. Dent. Sci.** **54**, 97-102.
9. Kaihawa A, Umezawa Y, Furukawa T. (2008). Bioluminescent indicators for Ca²⁺ based split *Renilla* Luciferase complementation in living cells. **Analyt. Sci.** **24**, 1405-1408.
10. Furukawa T, Kurokawa J. (2008).

- Non-genomic regulation of cardiac ion channels by sex hormones. **Cardiovasc. Drug. Ther. Rev.** **8**, 245-251.
11. Furukawa T, Kurokawa J, Clancy CE (2008). A combined approach using patch-clamp study and computer simulation study for understanding long QT syndrome and TdP in women. **Curr. Cardiovasc. Rev.**
 12. Kurokawa J, Tamagawa M, Harada N, Honda S, Bai CX, Nakaya H, Furukawa T (2008). Acute effects of estrogen on the guinea pig and human I_{Kr} channels and drug-induced prolongation of cardiac repolarization. **J. Physiol. (Lond.)** **586**, 2961-2973.
 13. Kakusaka S, Asayama M, Kaihara A, Sasano T, Suzuki T, Kurokawa J, Furukawa T. (2009). A receptor-independent effect of estrone sulfate on the hERG channel. **J. Pharmacol. Sci.** **109**, 152-156.
 14. Asada K, Kurokawa J, Furukawa T. (2009). Redox- and calmodulin-dependent S-nitrosylation of the KCNQ1 channel. **J. Biol. Chem.** **284**, 6014-6020.
 15. Kurokawa J, Bankston JR, Kaihara A, Chen L, Furukawa T, Kass RS. (2009). KCNE variants reveal a critical role of the beta subunit carboxyl terminus in PKA-dependent regulation of the I_{Ks} potassium channel. **Channels** **3**, 16-24.
 16. Kaihara A, Sunami A, Kurokawa J, Furukawa T. (2009). A genetically encoded bioluminescent indicator for the sodium channel activity in living cells. **J. Am. Chem. Soc.** **131**, 4188-4189.
 17. Kurokawa J, Suzuki T, Furukawa T. (2009). Acute effects of female hormones on cardiac ion channels and cardiac repolarization. **J. Pharmacol. Sci.** **109**, 334-340.
 18. Yang PC, Kurokawa J, Furukawa T, Clancy CE. (2010). Acute effects of sex steroid hormones on susceptibility to cardiac arrhythmias: a simulation study. **PLoS Comput. Biol.** **6**, e1000658.
 19. Uejima T, Koike A, Sawada H, Aizawa T, Ohtsuki S, Tanaka M, Furukawa T, Frase AG. (2010). A new echocardiographic method for identifying vortex flow in the left ventricle: Numerical validation. **Ultrasound Med. Biol.** in press.
- 〔学会発表〕(計 55 件)
1. 古川哲史、白長喜、黒川洵子. 第 69 回日本循環器学会年会、シンポジウム 2005 年 3 月、横浜.
 2. 黒川洵子、古川哲史. 「Protein modification of cardiac potassium channels and lethal arrhythmias」第 78 回日本薬理学会年会、シンポジウム、2005 年 3 月、横浜.
 3. Furukawa T, Bai C-X, Kurokawa J. 「Ion channel regulation by nitric oxide: role of dynamic protein-protein interaction in caveola and raft」第 82 回日本生理学会大会 IUPS 関連シンポジウム 2005 年 5 月、仙台.
 4. 古川哲史. QT 延長症候群の性差のメカ

- ニズム 第 113 回日本薬理学会関東部
会ミニシンポジウム「創薬における QT
延長の評価法と今後の展望」2005 年
10 月、千葉.
5. 古川哲史.「不整脈の性差医療の基礎
研究」第 42 回日本臨床生理学学会総
会シンポジウム 1「不整脈：from Cell
to Bedside」2005 年 10 月、東京 .
 6. Kurokawa J, Motoike HK, Rao J, Kass RS.
Phosphorylation-independent
modulation of a heart potassium
channel by the A kinase-anchoring
protein Yotiao. 第 78 回日本薬理学会
年会, 2005 年 3 月、横浜 .
 7. Bai CX, Kurokawa J, Furukawa T.
Non-genomic regulation of cardiac
ion currents by testosterone. 第 78
回日本薬理学会年会, 2005 年 3 月、横浜 .
 8. 黒川洵子、白長喜、古川哲史.「テス
トステロンのノンゲノミック作用に
よる心臓活動電位短縮のメカニズム」
第 241 回日本生理学会東京談話会 2005
年 11 月、東京 .
 9. Terrenoire C, Motoike HK, Glaaser IW,
Chen L, Kurokawa J, Kass RS :
Asymmetrical roles of N-terminal
serines in PKA-dependent regulation
of a heart potassium channel
revealed by a KCNQ1 tandem
tetramer. 第 49 回米国生物物理学
会 BIOPHYS J **88**: 464A
 10. Kurokawa J, Bankston JR, Kass
RS:Evidence for an allosteric role of
the carboxy-terminus of KCNE1 in
cAMP - dependent regulation of
KCNQ1/KCNE1 channels. 第 49 回
米国生物物理学会 BIOPHYS J **88**:
464A
 11. Wu LM, Ueda K, Yamanashi Y,
Yasunami M, Kimura A, Aizawa Y,
Furukawa T, Hiraoka M:
Modulation of the hERG channel
trafficking by protein tyrosine
kinase, c-Src. American Heart
Association Dallas, October, 2005.
 12. Furukawa T, Kurokawa J, Bai CX:
Testosterone regulates cardiac
potassium channels via a
non-genomic pathway. Keystone
symposium “Cardiac
arrhythmias: linking structural
biology to gene defects” Tahoe City,
California Jan 29 - Feb 3, 2006.
 13. Kurokawa J, Bai CX, Furukawa T.
Testosterone shortens ventricular
action potential duration via a
non-genomic pathway. 50th Annual
Meeting of Biophysical Society Fer.
18-22, 2006, Salt Lake City, Utah,
USA
 14. Kurokawa J, Bai CX, Furukawa T:Impact
of a non-genomic pathway on QT
intervals shortening by testosterone:
Mechanism of sex-related difference in
fatal arrhythmias. The 7th International
Conference on Systems Biology, October,
2006 Yokohama.
 15. Kurokawa J, Nakamura H, Bai CX,
Isobe M, Furukawa T: Mechanisms of
Gender-Related Differences in
Susceptibility to Torsades de
pointes: Reverse Effects of
Estrogen and Progesterone on
Cardiac Repolarization. American
Heart Association 2006 Scientific
Sessions. November 12-15, 2006,

- Chicago, IL, USA.
16. Kaihara A, Furukawa T, Umezawa Y: Genetically Encoded Bioluminescent Indicators via Split Luciferase Complementation for Spatio-Temporal Analysis of Cellular Signaling, 5th Annual meeting of Society for Molecular Imaging, September, 2006
 17. Tani Y, Miura D, Nakamura K, Kurokawa J, Ohe T, Furukawa T: Is enhanced inward rectification of KCNJ2 in Andersen-Tawil syndrome arrhythmogenic phenotype? The 23rd Annual Meeting of ISHR Japanese Section, November, 2006, Chiba.
 18. 黒川洵子, 白長喜, 角坂祥子, 玉川正次, 中谷晴昭, 古川哲史: 「エストロゲンによる QT 延長のメカニズム」第 79 回日本薬理学会年会、横浜 (2006 年 3 月)
 19. 白長喜, 黒川洵子, 古川哲史: 「性ホルモン受容体の作用特異的リガンドとして薬用人参の主成分ステロールサポニン (ジンセノシド)」第 79 回日本薬理学会年会、横浜 (2006 年 3 月)
 20. 浅田健, 黒川洵子, 古川哲史: 「NO による遅延整流性カリウムチャンネルへのニトロ化」第 79 回日本薬理学会年会、横浜 (2006 年 3 月)
 21. 中村浩章, 白長喜, 黒川洵子, 古川哲史, 磯部光章: 「Effect of progesterone on slow activating delayed rectifier K⁺ currents」第 70 回日本循環器学会総会・学術集会、名古屋 (2006 年 3 月)
 22. 谷義則, 三浦大志, 黒川洵子, 中村一文, 古川哲史, 大江透: 「A Novel Mechanism of Andersen's Syndrome: T75M-KCNJ2 Mutation Alters Inward Rectification by Changing Mg²⁺ Sensitivity」第 70 回日本循環器学会総会・学術集会、名古屋 (2006 年 3 月)
 23. 呉龍梅, 上田和雄, 黒川洵子, 安波道郎, 木村彰方, 平岡昌和, 古川哲史: 「Protein Tyrosine Kinase, c-Src, Regulates Gating Properties and Membrane Trafficking of the HERG Channel via Different Mechanisms」第 70 回日本循環器学会総会・学術集会、名古屋 (2006 年 3 月)
 24. 黒川洵子, 白長喜, 古川哲史: 「非ゲノム経路による NO 産生を介したテストステロンによる心電図 QT 間隔短縮: 致死性不整脈における性差のメカニズム」第 6 回日本 NO 学会学術集会、(2006 年 5 月)
 25. 古川哲史, 浅田健, 黒川洵子: 「植物エストロゲン, ジンセノシド, の心血管作用は一酸化窒素を介する」第 6 回日本 NO 学会学術集会 (2006 年 5 月)
 26. 黒川洵子, 中村浩章, 古川哲史: 心筋緩徐遅延整流 K⁺ チャンネルに対するプロゲステロンの作用. 第 118 回日本薬理学会関東部会、千葉 (2006 年 6 月)
 27. 黒川洵子, 中村浩章, 大石咲子, 白長喜, 古川哲史: 心筋イオンチャンネルに対するプロゲステロンの急性作用. 第 16 回日本循環薬理学会、東京 (2006 年 12 月)
 28. Kaihara A. Genetically encoded bioluminescent indicators via split luciferase complementation for spatio-temporal analysis of cellular signaling. The 2nd International

- Workshop on Approaches to Single-Cell Analysis (2007.9.6-7、東京)
29. Kurokawa J, Nakamura H, Bai C-X, Furukawa T. Effects of ovarian steroids on cardiac repolarization. 51st Annual Meeting of the Biophysical Society (2007.3.3-3.7, U.S.A.)
 30. Kurokawa J. Hormonal regulation of cardiac ion channels via a non-genomic pathway. International Symposium on "Principles of Calcium Signaling" (2007.6.28-6.30, U.S.A.)
 31. Kaijara A, Umezawa Y, Furukawa T. Genetically encoded bioluminescent indicators via split luciferase complementation for spatio-temporal analysis of cellular signaling. Joint Molecular Imaging Conference 2007 (2007.9.7-9.11, U.S.A.)
 32. Kurokawa J, Furukawa T. Receptor-independent effects of estrogen on the HERG channel predispose women to drug-induced arrhythmias. American Heart Association Scientific Sessions 2007 (2007.11.3-11.7, U.S.A.)
 33. 貝原麻美 古川哲史. 生体シグナルの in vivo 可視化検出法の開発. 第1回若手ワークショップ (2007.1.27-1.29、静岡)
 34. 古川哲史、黒川洵子、中村浩章、白長喜、浅田健、玉川正次、中谷晴昭、Ronit Vatkin, Jun Xu, Colleen E. Clancy, 磯部光章. 性ホルモン非ゲノム作用による心筋イオンチャネル制御機構. 第24回日本心電学会学術集会学術諮問委員会指定シンポジウム「不整脈受攻性因子としての性差と加齢」(2007.10.5-10.6、名古屋)
 35. 黒川洵子、古川哲史、ロバート・カス. Role of KCNE2 in functional regulation of the KCNQ1 channel by cAMP-stimulation. 第80回日本薬理学会 (2007.3.14-3.16、名古屋)
 36. 浅田 健、黒川洵子、古川哲史. レドックスモチーフに基づく遅延整流性カリウムチャネルのニトロ化. 第80回日本薬理学会 (2007.3.14-3.16、名古屋)
 37. Kurokawa J. Acute effects of female sex hormones on cardiac repolarization. International Symposium: Recent progress in cardiovascular research and drug-target discovery, Daejeon, South Korea. 2008 October
 38. Kurokawa J, Nakamura H, Furukawa T. Acute effects of female sex hormones on cardiac ion channels. Gordon Research Conference (Cardiac regulatory mechanism). NH, USA. 2008 July.
 39. Furukawa T, Kurokawa J. Site-specific S-nitrosylation acts as a novel regulatory mechanism of the cardiac I_{Ks} channel. Gordon Research Conference (Cardiac regulatory mechanism). NH, USA. 2008 July.
 40. Furukawa T. Hormonal control of I_{Ks} and I_{Kr} . Heart Rhythm 2008, 29th Annual Scientific Session. Symposium "Arrhythmias in women" San Francisco, USA, 2008, May.
 41. 古川哲史、黒川洵子、貝原麻美、浅田健、中村浩章、磯部光章. 性ホルモン非ゲノム作用による心筋イオンチャネル調節機構. 第8回日本抗加齢医学会総会、ワークショップ「メンズヘルスの最先端—テストステロンの医学」東京、2008年6月.
 42. 古川哲史、黒川洵子、白長喜、中村浩章、浅田健. カベオラを基盤とするホルモン受容体・NOシグナル・イオンチャネルの機能協同制御. 第81回日本薬理学会年会シンポジウム「創薬標的としてのイオン制御蛋白分子間機能協同と細胞膜マイクロドメイン集積機構」、横浜、2008年3月.

43. Kurokawa J, Furukawa T (2008). Regulation of cardiac ion channels by sex hormones. 81 回日本薬理学会年会, 横浜, J Pharmacol Sci, 106, 32P.
44. 黒川洵子, 浅田健, 中村浩章, 古川哲史. 性ホルモンによる I_{Ks} チャネル調節における S-ニトロシル化の関与. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2008 年 12 月.
45. 浅山真秀子, 玉川正次, 中谷晴昭, 古川哲史, 黒川洵子. Influence of estrogen on gender-difference in drug-induced QT prolongation. 第 35 回日本トキシコロジー学会, 東京, 2008 年 3 月.
46. 角坂祥子, 黒川洵子, 鈴木岳志, 古川哲史. Receptor-independent regulation of the HERG channel by estrogen. 第 81 回日本薬理学会年会, 横浜, 2008 年 3 月.
47. 笹野哲郎, 古川哲史. 局所ストレイン MRI 解析を用いた心筋梗塞後心室頻拍の起源同定の試み. 第 25 回日本心電学会学術集会, 新潟, 2008 年 11 月.
48. Kurokawa J. Acute effects of female sex hormones on cardiac repolarization. International Symposium: Recent progress in cardiovascular research and drug-target discovery, Daejeon, South Korea. 2008 October
49. Kurokawa J, Nakamura H, Furukawa T. Acute effects of female sex hormones on cardiac ion channels. Gordon Research Conference (Cardiac regulatory mechanism). NH, USA. 2008 July.
50. Furukawa T, Kurokawa J. Site-specific S-nitrosylation acts as a novel regulatory mechanism of the cardiac I_{Ks} channel. Gordon Research Conference (Cardiac regulatory mechanism). NH, USA. 2008 July.
51. Furukawa T. Hormonal control of I_{Ks} and I_{Kr} . Heart Rhythm 2008, 29th Annual Scientific Session. Symposium "Arrhythmias in women" San Francisco, USA, 2008, May.
52. 古川哲史, 黒川洵子, 貝原麻美, 浅田健, 中村浩章, 磯部光章. 性ホルモン非ゲノム作用による心筋イオンチャネル調節機構. 第 8 回日本抗加齢医学会総会, ワークショップ「メンズヘルスの最先端—テストステロンの医学」東京, 2008 年 6 月.
53. 古川哲史, 黒川洵子, 白長喜, 中村浩章, 浅田健. カベオラを基盤とするホルモン受容体・NO シグナル・イオンチャネルの機能協関制御. 第 81 回日本薬理学会年会シンポジウム「創薬標的としてのイオン制御蛋白分子間機能協関と細胞膜マイクロドメイン集積機構」, 横浜, 2008 年 3 月.
54. Kurokawa J, Furukawa T (2008). Regulation of cardiac ion channels by sex hormones. 81 回日本薬理学会年会, 横浜, J Pharmacol Sci, 106, 32P.
55. 黒川洵子, 浅田健, 中村浩章, 古川哲史. 性ホルモンによる I_{Ks} チャネル調節における S-ニトロシル化の関与. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2008 年 12 月.
56. 浅山真秀子, 玉川正次, 中谷晴昭, 古川哲史, 黒川洵子. Influence of estrogen on gender-difference in drug-induced QT prolongation. 第 35 回日本トキシコロジー学会, 東京, 2008 年 3 月.
57. 角坂祥子, 黒川洵子, 鈴木岳志, 古川哲史. Receptor-independent regulation of the HERG channel by

estrogen. 第 81 回日本薬理学会年会、
横浜、2008 年 3 月 .

58. 笹野哲郎、古川哲史 . 局所ストレイン
MRI 解析を用いた心筋梗塞後心室頻拍
の起源同定の試み . 第 25 回日本心電
学会学術集会、新潟、2008 年 11 月 .

〔図書〕(計 2 件)

1. 古川哲史 : 不整脈の遺伝子診断 . 予防
医学事典 pp246-248, 朝倉書店, 2005 .
2. Marx SO, Kurokawa J. AKAPs as
Antiarrhythmic Targets? In: Handbook of
Experimental Pharmacology. Clancy CE,
Kass RS (Eds): Springer-Verlag, Germany.
pp221-234

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特になし。

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

古川哲史

(東京医科歯科大学・難治疾患研究所)

(2) 研究分担者

黒川洵子

(東京医科歯科大学・難治疾患研究所)

貝原麻美

(東京医科歯科大学・難治疾患研究所)

(3) 連携研究者

なし