

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790519

研究課題名(和文) 脳細胞の興奮・活性化状態を制御するTRPVチャネルの新たな病態生理学的役割の解析

研究課題名(英文) Research on the new pathophysiological roles of TRPV channel that could regulate the activation of brain cells

研究代表者

白川 久志 (SHIRAKAWA HISASHI)

京都大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号：50402798

研究成果の概要(和文)：

脳の免疫担当細胞であるミクログリアは病的な刺激により異常活性化することで中枢神経変性疾患の病態形成に関与することが明らかになりつつある。そこでミクログリアの興奮・活性化状態を制御する目的で、浸透圧変化や機械伸展刺激等で活性化する TRPV4 チャネルに着目した。In vitro および in vivo 実験、電気生理学的検討による結果を多角的に評価した結果、TRPV4 開口刺激は細胞膜の脱分極を介してミクログリアの活性化に対して抑制的に働くことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：

Microglia are intrinsic immune cells in the brain. In response to neurodegenerative diseases, excessively activated microglia change their shapes and release various cytokines involved in the pathogenesis of CNS disease. This study focused on TRPV4 channel expressed in microglia. In vitro and in vivo experiments demonstrate that the depolarization in response to the opening of TRPV4 channel attenuates the driving force for extracellular Ca^{2+} and suppresses microglial activation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：ミクログリア、TRP チャネル、TRPV4、カリウムチャネル、電気生理学、細胞内カルシウム動態、TNF- α 、中枢神経変性疾患

1. 研究開始当初の背景

ミクログリアは中枢神経系に常在する免疫担当・貪食細胞であり(Eder, 2005)、中枢神経系の環境監視役として有害な環境変化に対して脳を保護している。活性化ミクログリアは神経保護的(Streit, 2002)または神経傷害的(Block et al., 2007; Hanisch and Kettenmann, 2007)な側面を有することが知られているが、中枢神経系疾患の病態時には神経炎症などに反応して活性化し、突起を退縮しアメーバ状に形態を変化させたり(Cho

et al., 2006)、サイトカイン/ケモカイン、活性酸素、一酸化窒素といった炎症性メディエーターを産生し、病態を増悪するとされている(Graeber and Streit, 2010)。

近年、ミクログリアの免疫応答にイオンチャネル活性が重要な役割を果たしている事が明らかとなってきた(Farber and Kettenmann, 2005)。ミクログリアに発現する様々なイオンチャネルは、膜電位、細胞容積、遊走、サイトカイン産生などを調節する(Eder, 2005)。例えば、培養ミクログリアに

おける細胞内 Ca^{2+} シグナリングは、P2X7 受容体を介するプラスミノーゲン放出に重要である(Inoue et al., 1998)。 Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネル KCNN4/KCa3.1 は、ミクログリアの活性化をもたらす神経傷害を増悪させる(Kaushal et al., 2007)。さらに、電位依存性 K^+ チャンネル KCNA3/Kv1.3 は中枢神経系の炎症応答を増悪し神経毒性を媒介する(Fordyce et al., 2005)。しかしながら、ミクログリアのイオンチャンネル動態については不明な点が多く残されているのが実情であった。

Transient receptor potential (TRP) チャンネルはショウジョウバエの光受容体の性質にちなんで名付けられた。ほ乳類においては、少なくとも 28 の遺伝子が同定され、TRPC、TRPM、TRPV、TRPA、TRPP、そして TRPML の 6 つのファミリーに分類されている(Wu et al., 2010)。培養ミクログリアにおいて TRPM2(Kraft et al., 2004) および TRPM7(Jiang et al., 2003) の発現を示す報告、または TRPV1(Kim et al., 2006) がカプサイシン誘発のミクログリア細胞死に関与する報告があるが、TRP チャンネルの病態生理的役割についてはほとんど明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

前記した背景を踏まえると、ミクログリアの病態生理学的な活性化に重要なイオンチャンネルを同定することはミクログリアの異常活性化が関与する中枢神経系疾患の治療介入の発展に貢献することが期待される。TRPV4 は非選択性カチオンチャンネルで、脳内で海馬神経(Shibasaki et al., 2007) やアストロサイト(Benfenati et al., 2007; Benfenati et al., 2011) における発現が報告されている他、多くの組織に発現しているが(Nilius et al., 2004)、ミクログリアにおける機能は不明であった。TRPV4 は温和な熱やアラキドン酸代謝物、低浸透圧や機械進展刺激など、環境変化のセンサーとして働くため(Vriens et al., 2004)、脳内ミクログリアにおいても、TRPV4 が化学センサー、機械センサーとして機能していることが十分考えられた。そのため、中枢神経変性疾患におけるミクログリア異常活性化制御の創薬標的となり得ると仮説を立て検討を行った。

3. 研究の方法

培養大脳皮質ミクログリアは生後 1-2 日齢の Wistar 系ラット新生仔から大脳皮質を摘出し、常法により調製した。免疫染色は蛍光標識抗体を用いて行い、ウェスタンブロット、RT-PCR、定量的 RT-PCR、ELISA はキット等を用いて常法により行った。細胞内 Ca^{2+} 濃度測定は蛍光 Ca^{2+} 指示薬である fura-2

AM を負荷した細胞を用いた。ホールセルパッチクランプ電流は HEKA 社の EPC-9 もしくは 10 を用いて測定した。In vivo 実験には 6-8 週齢の ICR マウスを用いた。

4. 研究成果

(1) マウス脳内への TRPV4 刺激薬注入による LPS 誘発ミクログリア活性化抑制作用

はじめに、成体マウス脳内ミクログリアにおける TRPV4 の局在を *in situ* ハイブリダイゼーションにより検討した。ミクログリアはミクログリアマーカー Iba-1 の免疫組織化学により検出した。多くの Iba-1 陰性細胞にて TRPV4 発現を検出したが、ほとんどの Iba-1 陽性細胞が TRPV4 陽性であることが明らかとなった(図 1A)。続いて、活性化ミクログリアにおける TRPV4 の役割を検証すべく、マウス脳室内に LPS と TRPV4 選択的刺激薬である 4α -PDD を注入した。コントロール群では、ミクログリアは小さな細胞体を示した(図 1B 左)。一方、LPS 注入群では大きな細胞体を示し(図 1B 右)、Iba-1 蛍光強度は劇的に増大した(図 1C)。LPS と 4α -PDD を同時注入した群では、細胞体の拡大が抑制され(図 1B 下)、蛍光強度は有意に減少した(図 1C)。この結果は、TRPV4 開口刺激が *in vivo* においてミクログリア活性化を抑制することを示唆している。

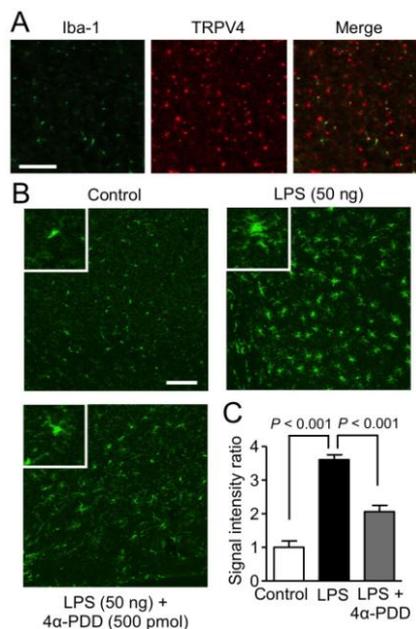


図 1 TRPV4 脳内発現と TRPV4 選択的刺激薬マウス脳室内注入による LPS 誘発ミクログリア活性化に対する抑制作用 (A) 成体マウス脳室内における Iba-1 (ミクログリアマーカー、緑) の免疫染色画像と TRPV4 (赤) の *in situ* ハイブリダイゼーション結果。スケールバーは 100 μm である。(B) 各薬物脳室内注入による Iba-1 陽性ミクログリアの形態変化。注入した薬物は生理食塩水 (5 μl)、LPS (50 ng/5 μl) 単独、LPS と 4α -PDD (500 pmol/5 μl) である。典型的なミクログリアの拡大図を挿入図に示す。20 μm のクリオスタット切片は薬物注入の 12 時間後に作成した。スケールバーは全体図では 100 μm 、挿入図では 10 μm である。(C) 各処置における Iba-1 蛍光強度の定量結果。各処置群の蛍光強度はコントロール群の蛍光強度の平均値を 1 とした相対的な値を示した。

(2) ラット大脳皮質由来培養ミクログリアにおける TRPV4 の機能的な発現

TRPV4 開口によるミクログリア活性化抑制機構を明らかにすべく、ラットの大脳皮質より単離培養したミクログリアを用いて詳細な検討を行った。全脳及び培養ミクログリアにおいて TRPV4 の mRNA 発現を RT-PCR 法により検出した。イムノブロットにより、培養ラットミクログリアにおいて、110 kDa 付近の主バンドと 90 kDa 付近の副バンドを検出した。蛍光染色により、ミクログリアマーカーである isolectin-IB4 陽性の細胞は、ほとんどが TRPV4 陽性であることが明らかとなった。イムノブロット及び蛍光染色において、コントロール IgG によるシグナルは観測されなかった。続いて、TRPV4 チャネル電流をホールセルパッチクランプ法により測定した。TRPV4 選択的刺激薬 4 α -PDD (10 μ M) の灌流は持続的な電流応答を引き起こした。電流電位関係を解析したところ、外向き整流性の強い HEK293 細胞を用いた再構成系の既報と一致する電流応答であった。4 α -PDD による電流応答は、TRPV4 の阻害作用を有する Gd³⁺及び ruthenium red により抑制された。また、TRPV4 チャネル開口作用が報告されているアラキドン酸 (30 μ M) 及び低浸透圧 (240 mOsm) (Vriens et al., 2004) もまた外向き整流性の電流応答を示し、TRPV4 阻害薬により抑制された。さらに、室温 22°C における 4 α -PDD 誘発電流は 28°C における電流応答より、電流応答の立ち上がりが有意に遅く、かつ有意に小さい電流応答を示した。これらの結果より、TRPV4 は培養ミクログリアにおいて機能的に発現していることが明らかとなった。

(3) ラット培養ミクログリアにおける TRPV4 開口刺激による LPS 誘発ミクログリア抑制作用

LPS によって活性化したミクログリアは、Ca²⁺シグナリングと共役して、TNF- α などの神経傷害性因子を放出することが報告されている (Eder, 2005; Farber and Kettenmann, 2005)。そこで、LPS (100 ng/ml) と同時に細胞膜透過性の Ca²⁺キレーター BAPTA-AM (10 μ M) を処置した。LPS 誘発 TNF- α 放出は、BAPTA-AM により有意に抑制されたことから、TNF- α 放出は部分的に Ca²⁺依存的事であることが示された。続いて、LPS と同時に 4 α -PDD (1-10 μ M) を処置すると、濃度依存的に TNF- α 放出を抑制した (図 2A)。一方で、4 α -PDD 単独では TNF- α 放出を引き起こさなかった。また MTT 法により、培養ミクログリアは、24 時間の培養または LPS 及び 4 α -PDD の処置によって、細胞数は変化しなかった。4 α -PDD による LPS 誘発 TNF- α 放出抑制作用が、TRPV4 チャネルを介するかを、TRPV4 の阻

害薬及び siRNA を用いたノックダウンにより検討した。4 α -PDD による LPS 誘発 TNF- α 放出に対する抑制作用は、ruthenium red (10 μ M) の共処置によって完全に消失した一方で、ruthenium red それ自体では TNF- α 放出に影響は無かった (図 2B)。siRNA による TRPV4 に対する特異的なノックダウンにより、TRPV4 mRNA 及びタンパク質はそれぞれ 90%、60%程度低下することが、定量的 RT-PCR 法及びイムノブロットで示され、この条件において、TRPV4 のノックダウンが 4 α -PDD (10 μ M) による TNF- α 放出抑制作用を完全に消失させることが明らかとなった (図 2C)。

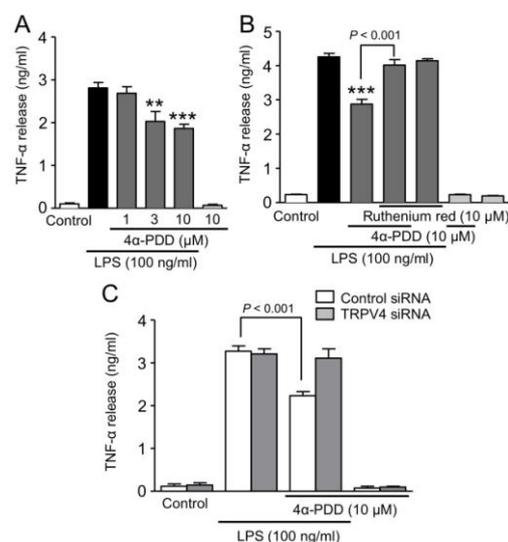


図2 培養ミクログリアにおける TRPV4 刺激薬による LPS 誘発 TNF- α 放出に対する抑制作用 (A) 4 α -PDD (1-10 μ M, B) による TNF- α に対する抑制作用。 (B) Ruthenium red (10 μ M) 及び 4 α -PDD (10 μ M) の同時処置による TNF- α 放出に対する影響。 (C) 4 α -PDD による TNF- α 放出抑制作用の TRPV4 選択的ノックダウンによる解除。各薬物は単独もしくは 100 ng/ml LPS と同時に 24 時間処置した。TNF- α 放出は ELISA で測定した。細胞生存率は MTT 法で解析した。*P < 0.05, **P < 0.01 and ***P < 0.001 vs. LPS alone or control siRNA.

続いて、レクチンファミリーの一種の galectin-3 発現に着目した (Huflejt et al., 1997)。Galectin-3 は脳虚血の病態時に脳内で発現が上昇する事が報告され、ミクログリア活性化マーカーとされている (Walther et al., 2000)。LPS24 時間処置によって galectin-3 の蛍光シグナルは増強したが、そのシグナルは 4 α -PDD (1-10 μ M) を同時に処置することによって濃度依存的に抑制された。また、4 α -PDD による galectin-3 の産生抑制は、TRPV4 阻害薬 ruthenium red の共処置によって消失した。ミクログリアの活性化には K⁺チャネル活性が重要な役割を果たすことが報告されている (Schilling et al., 2001)。In vitro において、LPS などの炎症メディエーターにより、外向き K⁺電流が増強される事から、外向き K⁺電流の増強はミクログリアの活性化マーカーとされている

(Fischer et al., 1995)。そこで、ミクログリアにおける K^+ チャネル活性を voltage step pulse によって測定した。未処置のミクログリアでは、 K^+ チャネル活性はほとんど見られなかったが、LPS を 24 時間処置したミクログリアでは、既報と同様に電位依存的に不活性化する外向きの K^+ 電流の増大が観測された。LPS と 4α -PDD (10 μ M) を同時に処置することにより、電位依存性 K^+ 電流の増大は完全に抑制された。電流電位関係を解析したところ、 4α -PDD により抑制された K^+ 電流の成分は、外向き整流性で、逆転電位が -30 mV 周辺であることが明らかとなった。以上の検討により、TRPV4 開口刺激は in vivo、in vitro 両実験系において LPS 誘発ミクログリア活性化を抑制することが明らかとなった。

(4) TRPV4 開口刺激による LPS 誘発ミクログリア活性化に対する抑制作用の機構

海馬神経細胞において、TRPV4 が膜電位維持に関与することが報告されている (Shibasaki et al., 2007)。そこで、TRPV4 が媒介する膜電位変化に着目した。まず、神経細胞において脱分極を引き起こすことが知られている高濃度 K^+ 溶液は、ミクログリアにおいて脱分極を引き起こした。続いて 4α -PDD の適用により、膜電位の脱分極が観察された。細胞外液の Na^+ を全て TRPV4 チャネル非透過性の 1 価カチオン NMDG⁺に置換したところ、膜電位の過分極が観測され、膜電位の脱分極は抑制された。

TRPV4 によるミクログリア活性化抑制作用における K^+ チャネル自体の発現変化の関与を検討するため、ミクログリアにおいて機能的な発現が報告されている K^+ チャネルの mRNA 発現変化を定量的 RT-PCR で検証した。培養ミクログリアにおいては、 Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル (SK) SK1-4 及び電位依存性チャネル Kv1.3 及び Kv1.5 の発現を検出した。SK チャネルに関してはコントロール群における発現量は同程度であったが、Kv チャネルに関しては Kv1.3 は Kv1.5 と比較して発現量が非常に高かった。LPS の処置により SK3 の mRNA 発現は上昇し、 4α -PDD を LPS と同時に処置することにより、SK3 の発現上昇は有意に抑制された。それ以外の K^+ チャネルの mRNA 発現は LPS あるいは 4α -PDD の処置で変化が見られなかった。LPS 誘発外向き K^+ チャネル増強に対する膜電位変化の影響を検討した。-70 mV に膜電位を保持した際と比較して、-20 mV に保持した際に K^+ 電流増強は抑制された。電流電位関係を解析したところ、逆転電位が -30 mV であった。これより、脱分極パルスにより K^+ 電流の増強は 4α -PDD 処置と同様に抑制されることが明らかとなった。

Ca^{2+} は様々な炎症性メディエーターの産生を含むミクログリアの活性化に重要な因子である (Farber and Kettenmann, 2006)。 Ca^{2+} 蛍光指示薬の Fura 2-AM を用いて、TRPV4 開口刺激が及ぼす Ca^{2+} シグナリングへの影響を検討した。 4α -PDD (10 μ M) または vehicle を 24 時間処置したミクログリアに対して、小胞体 Ca^{2+} ポンプ阻害薬 thapsigargin を適用したところ、 Ca^{2+} 非存在下では小胞体からの Ca^{2+} 放出に起因する一過性の Ca^{2+} 濃度上昇が観察され、その後 Ca^{2+} を再添加することにより細胞外からの Ca^{2+} 流入に起因する持続的な Ca^{2+} 濃度上昇が観察された。定量の結果、 4α -PDD の 24 時間処置によりストア作動性の Ca^{2+} 流入は有意に抑制された。また、 4α -PDD 処置による CRAC チャネル分子 (Orail1 及び STIM1) の発現量を定量的 RT-PCR 法で検討したが、LPS 処置を含むいずれの処置においても CRAC チャネル分子の発現量は有意な変化がなかった。続いて、 Ca^{2+} 存在下にて、高濃度 K^+ 溶液 (50 mM) を還流したところ、 Ca^{2+} 流入は同様に抑制された。脱分極が及ぼすミクログリア活性化に対する影響を検討した。 4α -PDD による TRPV4 刺激と同様に、高濃度 K^+ (30 もしくは 50 mM) を含む培地中で LPS を処置したところ、LPS 誘発 galectin-3 発現上昇及び TNF- α は抑制された。さらに、細胞膜の膜電位を脱分極することが報告されており、電位依存性 K^+ チャネルの阻害薬である 4-AP (Chung et al., 1998) (0.3-1 mM) もまた TNF- α 産生を有意に抑制した。

以上、本研究において、TRPV4 チャネルがマウス及びラットミクログリアにおいて機能的に発現していること、そして TRPV4 の阻害ではなく開口刺激が LPS によって引き起こされる TNF- α 放出、galectin-3 発現、並びに電位依存性外向き K^+ 電流増大といったミクログリア活性化に対して抑制的に働き、これらの抑制作用は TRPV4 チャネルを介する脱分極に起因する Ca^{2+} 流入の減少に起因する事が示された (図 3)。

マウスミクログリアにおける TRPV4 発現に関しては Iba-1 の免疫染色と in situ における TRPV4 mRNA の共発現により明らかにした。一方で、TRPV4 は脳内の他の細胞、すなわち海馬神経細胞 (Shibasaki et al., 2007) やアストロサイト (Benfenati et al., 2007; Benfenati et al., 2011) における発現が報告されている。LPS を脳室内に注入するモデル (Milatovic et al., 2003) は、神経細胞に影響なく、直接ミクログリアに発現する toll-like receptor 4 (TLR 4) に作用する事でミクログリアの異常活性化を引き起こす (Possel et al., 2000)。一方で、 4α -PDD の脳室内注入は、脳内に発現する他の細胞を活性化しうる。その為、in vivo における 4α -PDD

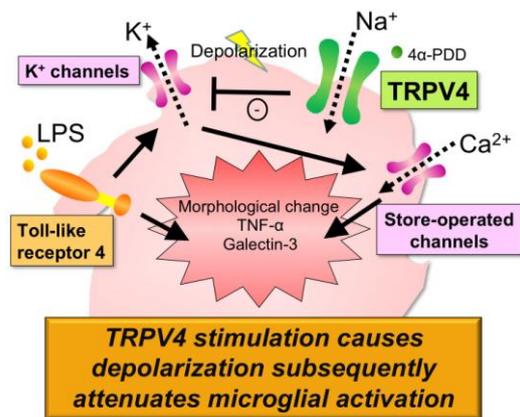


図3 TRPV4 開口によるミクログリア活性化抑制の模式図

による LPS 誘発ミクログリア活性化抑制作用は、ミクログリアに発現する TRPV4 のみに起因するとは限らない。それゆえに、培養ミクログリアを用いて詳細な検討を行った。培養ミクログリアにおいては、RT-PCR 法、免疫ブロット法、蛍光染色及び電気生理学的検討により、TRPV4 の機能的な発現を明らかにしているが、LPS 誘発ミクログリア活性化に対する TRPV4 による抑制作用は、in vivo と同様であった。以上の点を踏まえると、in vivo における 4α -PDD の主な作用点はミクログリアにおける TRPV4 であることが示唆される。

TRPV4 は非選択的のカチオンチャンネルで、 Na^+ と Ca^{2+} を透過させる(Watanabe et al., 2002)。TNF- α 放出は Ca^{2+} キレーター BAPTA-AM で抑制されたため、ミクログリア活性化抑制に TRPV4 を介する Ca^{2+} 流入は必ずしも重要ではないと考えた。 4α -PDD は、ミクログリアにおいて高濃度 K^+ 溶液と同様に膜電位の脱分極を引き起こしたが Na^+ を全て NMDG $^+$ に置換した灌流液中では脱分極が抑制されたことから、TRPV4 を透過する主に Na^+ が脱分極に関与することが示唆される。さらに 4α -PDD を 24 時間処置することによりストア作動性 Ca^{2+} 流入を減少させた。非興奮性細胞において Na^+ 流入は膜電位の脱分極を引き起こし、 Ca^{2+} 流入の駆動力を減弱させるといふ報告を踏まえると(Funabashi et al., 2009; Gao et al., 2010)、TRPV4 の開口が様々な経路を介した Ca^{2+} 流入を減少させる可能性がある。ミクログリアにおいて、CRAC チャンネル(Beck et al., 2008; Ohana et al., 2009)や P2 受容体、TRPC チャンネル(Kettenmann et al., 2011)といったストア作動性に Ca^{2+} を透過させるチャンネルの機能的な発現が報告されている。加えて、 K^+ チャンネル阻害薬である 4-AP は、ミクログリアにおいて膜電位の脱分極を引き起こし LPS 誘発の外向き K^+ 電流の増強を抑制し(Chung et al., 1998)、インターロイキン-1 β の産生を抑

制(Caggiano and Kraig, 1998)する事が報告されている。LPS 誘発 TNF- α 産生が高濃度 K^+ 溶液や 4-AP と同様に 4α -PDD によって抑制されたことを考慮すると、TRPV4 開口によるミクログリアの脱分極が、 Ca^{2+} 流入を減少しミクログリアの活性化を抑制することは十分に考えられる。

イオン動態に関して、NMDG $^+$ の灌流によって、膜電位はおおよそ -40 mV 過分極した。同様の反応が冠動脈細胞や肺動脈血管平滑筋細胞にて報告されている(Bae et al., 1999; Terasawa et al., 2002)。これらを踏まえると、NMDG $^+$ は透過しない非選択的のカチオンチャンネルであり、細胞膜を脱分極させ(Launay et al., 2002)、さらにミクログリアにおいて機能的な発現が示唆されている TRPM4 が(Beck et al., 2008)、この機構に関与するチャンネルである可能性が考えられるかもしれない。

本研究における検討では、TRPV4 チャンネルを開口させるために合成アゴニストである 4α -PDD を用いた。一方で、ミクログリアに発現する TRPV4 に対する内在性のリガンドは不明である。現段階ではミクログリア TRPV4 の内在的リガンドとして 3 つの可能性が考えられる。TRPV4 は温和な熱 (27-34 $^{\circ}\text{C}$) で活性化し、ニューロンにおいては体温で調節されている(Shibasaki et al., 2007)。しかし、37 $^{\circ}\text{C}$ の条件において、siRNA や阻害薬による TRPV4 の抑制を行っても、LPS 存在、非存在下共に TNF- α 放出の度合いに影響は無かったことから、ミクログリアにおいては体温がそれ自体のみで TRPV4 チャンネルを開口させるには不十分であることが示唆される。一方で、 4α -PDD 誘発電流は、温和な温度条件で測定した際の方が有意に活性化されたため、過去の報告と同様に(Gao et al., 2003)、熱は TRPV4 の活性化を協奏的に調節する因子であることが考えられる。機械進展刺激もまた TRPV4 を活性化する(Mochizuki et al., 2009)。LPS はミクログリアの形態を変化させ、細胞体を肥大させるため(Beck et al., 2008)、細胞の肥大は、ミクログリアの活性化過程において TRPV4 を開口し、自己調節因子としてミクログリア過剰活性化を調節しているのかもしれない。さらに、TRPV4 はアラキドン酸やエポキシエイコサトリエン酸といったアラキドン酸代謝物により活性化される(Watanabe et al., 2003)。脳虚血の病態時には、グリア細胞でホスホリパーゼ A2 の発現が上昇し、アラキドン酸産生が亢進することや(Bonventre et al., 1997; Stephenson et al., 1999)、アラキドン酸が外向き K^+ 電流を抑制することを踏まえると(Visentin and Levi, 1998)、ミクログリアの活性化過程でアラキドン酸代謝物の産生が亢進し、TRPV4 を活性化することで、外向き K^+ 電流を抑制し、ミクログリア活性化に対

して抑制的に働く可能性が考えられる。

結論として、本研究における成果は、TRPV4の選択的刺激薬4 α -PDDがミクログリアにおいて脱分極を介して活性化抑制的に働くことを報告するものであり、今後TRPV4 開口刺激によるミクログリア活性調節に関わる機構をさらに精査することにより、ミクログリアの活性化が原因となる中枢神経系疾患の新たな治療介入に一所見を与えるものである(Konno et al., *Glia*, 2012)。

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2件)

① Nakagawa T, Suzuki T, Nagayasu T, Kitaichi M, Shirakawa H, Kaneko S. “Repeated exposure to methamphetamine, cocaine or morphine induces augmentation of dopamine release in rat mesocorticolimbic slice co-culture” *PLoS One*, (査読有り) 6: e24865, 2011. DOI:10.1371/journal.pone.0024865.

② Shirakawa H, Sakimoto S, Nakao K, Sugishita A, Konno M, Iida S, Kusano A, Hashimoto E, Nakagawa T, Kaneko S. “TRPC3 mediates thrombin-induced astrocyte activation and upregulates its own expression in rat cortical astrocytes” *Journal of Neuroscience* (査読有り) 30:13116-13129, 2010. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1890-10.2010.

[学会発表] (計4件)

① Konno M, Shirakawa H, 他5名
「Stimulation of TRPV4 channel suppresses aberrant activation of microglia induced by lipopolysaccharide」The 6th SKO Symposium, 2011年6月2日 ソウル (韓国)

② 金野真和, 白川久志, 他4名「リポ多糖誘発ミクログリア異常活性化に対するTRPV4開口刺激による抑制作用」日本薬学会第131回年会、2011年3月29日、ツインメッセ静岡 (静岡県) 誌上開催

③ 白川久志, 他2名「TRPチャンネルによる脳内グリア細胞の新しい活性調節機構」日本薬学会第131回年会、2011年3月29日、ツインメッセ静岡 (静岡県) 誌上開催

④ 金野真和, 白川久志, 他4名「TRPV4開口によるミクログリア異常活性化抑制及びそのメカニズムの解析」薬理系薬学会次世代シンポジウム2010、2010年9月11日、京都大学薬学部 (京都府)

[その他]

ホームページ等

<http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/channel/ja/research/index.html>

http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news_data/h/h1/news6/2010/100930_1.htm

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白川 久志 (SHIRAKAWA HISASHI)

京都大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号：50402798

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

金子 周司 (KANEKO SHUJI)

京都大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：60177516

中川 貴之 (NAKAGAWA TAKAYUKI)

京都大学・大学院薬学研究科・准教授

研究者番号：30303845