

平成 30 年 6 月 23 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08184

研究課題名(和文)酸性環境におけるプロトンリーク機構の解明

研究課題名(英文)Proton leak mechanisms in acidic environments

研究代表者

久野 みゆき (Kuno, Miyuki)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：00145773

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：細胞内外に存在する局所的な酸性環境のpHは、それぞれの機能に直結する重要な要因であり、H⁺ポンプによる酸性化とそれを解消するH⁺リークのバランスで調節されているが、H⁺リークの実体の理解は進んでいない。私達は、骨吸収を担う破骨細胞膜に、酸性環境で活性化される新規のH⁺リーク機構の存在を証明した。また、リン酸刺激による電位依存性H⁺ channelの活性化や、食胞pHのオシレーションなどH⁺リークに関わる興味深い現象を発見した。これらの成果は、酸性環境のH⁺リークによる調節とその破綻のメカニズムの解明に貢献する。

研究成果の概要(英文)：There are many local acidic spots in both intracellular and extracellular spaces. The pH level, intimately related to each specific function, is maintained by balancing acidification by proton (H⁺) pumps and its elimination (alkalization) by H⁺ leak mechanisms. The molecular entity and the property of the H⁺ leak remain to be clarified. We demonstrated the acid-inducible H⁺ leak in the plasma membrane of osteoclasts which resorb bone tissues by secreting massive amounts of acids on the bone surface. We also revealed that inorganic phosphates stimulated voltage-gated H⁺ channels and that the pH in single phagosomes often oscillates, which might contribute to H⁺ leakages in the specific occasions. These findings help us to clarify physiological/pathological mechanisms of regulation of acidic environments by H⁺ leak mechanisms.

研究分野：生理学

キーワード：生体膜 チャネル トランスポーター 能動輸送 プロトン

1. 研究開始当初の背景

破骨細胞は、骨表面に接する細胞膜(波状縁 ruffled membrane)から酸(H^+)と酸性環境で活性化されるリソゾーム酵素(cathepsin Kなど)を分泌し骨基質を分解する。また、その結果として生じる骨分解産物を取り込み血中に排出するのも破骨細胞の役目である。骨吸収窩(pH 4-6.8)への H^+ 分泌を担うのは、ruffled membraneに高密度に発現する H^+ ポンプ、液胞型 H^+ -ATPase(vacuolar H^+ -ATPase, V-ATPase)である。V-ATPaseは細胞内のリソゾーム、ファゴソーム、シナプス小胞にも存在し小胞内を酸性化する。酸性小胞のpH(4-6)は、酵素活性、proton-motive force形成、物質輸送、エネルギー産生など様々な機能に関わっている。細胞内外の酸性環境のpHは、二つの相反する機構、酸性化と酸性化の解消のバランスで決定される。前者はエネルギーを使って H^+ 勾配を作り出すことのできるV-ATPaseであるが、後者の仕組みは古くから“ H^+ -leak”として仮定されているにも関わらず、実体はよくわかっていない。

破骨細胞膜にはV-ATPaseの他に、 H^+ 排出を担う電位依存性 H^+ channel(H_v channel)が共存する。では、 H^+ を細胞内に流入させる H^+ -leak機構はないのだろうか?もし存在すれば、これまで骨吸収の制御を新しい視点から見直すきっかけとなる。また、破骨細胞膜とリソゾーム・ファゴソーム膜は融合・離散を繰り返しており、共通の仕組みを備えている可能性もある。電気生理学的手法で起電性 H^+ 輸送機構が定量的に測定できる破骨細胞は H^+ -leak機構とその生理的・病理的意義を解明する上で魅力的なモデルである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、活発な H^+ fluxが生じる破骨細胞を主たるモデル細胞として、酸性環境における細胞膜およびphagosome/lysosome膜の H^+ -leak機構を同定し、その機能的意義を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 細胞.

マクロファージ系細胞株(RAW264)を継代培養し、適時、サイトカイン RANKL(receptor activator for nuclear factor κ B ligand)を添加し多核の破骨細胞様細胞(以下RAW-OCL)を分化させた。実験には破骨細胞の特性が認められる3核以上の細胞を用いた。一部の実験では、比較検討のため、RAW264およびCOS7細胞を用いた。

(2) パッチクランプ法による H^+ 電流測定.

個々のRAW-OCLの細胞膜全体を流れる H^+ 電流をwhole-cell clamp法を用いて記録した。 H^+ 電流を選択的に且つ安定して測定するため、細胞内外溶液の主要なイオン(Na^+ , K^+ ,

Cl^-)を不透過性の陽イオン(N-methyl-D-glucamine, NMDGまたはtetramethylammonium, TEA)および陰イオン

(aspartateまたはmethanesulfonate)で置換し、高濃度のpH buffer(100-120 mM HepesまたはMes)でpH濃度(3-7.8)を調整した。更に、細胞外液には陰イオンチャネルブロッカー(50 μ M DIDS)、細胞内液には5 mM ATPを添加した。リン酸添加実験は細胞外 Na^+ (80 mM)存在下で行い、 Na^+ - H^+ exchangerをブロックするためにamiloride(100 μ M)を添加した。実験は室温で行った。

(3) ファゴソーム pH (pH_v)の測定(real-time live-cell imaging)

蛍光色素(fluorescein, FITC)を結合したzymosan粒子を疑似餌として培養液に添加し約1時間、37度でインキュベーションしRAW-OCLに取り込ませた。共焦点顕微鏡でファゴソーム内の単一zymosan粒子を追跡し、2波長励起(514 nm/458 nm)による蛍光値(500-580 nm)からそれぞれのbackground値を差し引いた後、蛍光比(I_{514}/I_{458})を継時的に計算した。pH 5-7.3の範囲で、比の値とpHの間に直線関係が得られた。実験ごとに、高K液(pH 5.6とpH 7.3)中でのFITC zymosanの平均蛍光値から検量曲線を得、 pH_v を算出した。観察は室温で行った。

(4) 活性酸素(ROS)測定

RAW264 cell(2×10^5 cells/cm²)を96 well white-plateに撒きRANKLを加えてRAW-OCLを分化させた。測定直前に、培養液を活性酸素(reactive oxygen species, ROS)検出用発光色素L012(1 mM)を含むRinger液に置換し、3分後から10秒ごとに発光を測定し、3 wellの平均値をROS量とした。

4. 研究成果

(1) 破骨細胞膜に存在するacid-inducible H^+ leakの特性.

RAW-OCLを細胞外pH(pH_o)<5.5で刺激すると内向き整流性 H^+ 電流(acid-inducible H^+ influx current)が生じる。これを酸感受性 H^+ leakの実体とし、その特性を解析した。

内向き整流性、 pH_o 4.5で活性化される内向き H^+ 電流について、-90~-50 mV及び0-50 mVの電流電圧曲線の傾きの比、または電流電圧曲線を微分し、G(コンダクタンス)-V曲線から得られる-80 mVと0 mVの比

(G_{-80}/G_0)を整流性の指標(Rectification Index: RI)とした。 pH_i を7.3から5.5に低下させると H^+ 電流振幅は著しく減少したがRI値は2.5-4の間で pH_i による有意差は見られなかった。しかし pH_i が4.5では約1.5と減少した($p<0.05$)。一方、 pH_i を6.5に固定し、 pH_o を4.5から3.0と下げると、内向き H^+ 電流は顕著に増加し、RIは4から3へ

と次第に減少した。H⁺流入の駆動力が大きくなると整流性が減少するという結果は、一見上述の結果と矛盾するように見えるが、内向き整流性はH⁺の平衡電位 (E_H) から大きく過分極した電位 ($< E_H - 100-150$ mV)でのみ観察された。pH_o/pH_i 3.0/6.5 ($E_H = 174$ mV)では、RI計算の基準となるG_oが既に整流域にあり、見かけ上RI値が下がったと考えられる。acid-inducible H⁺ leakの内向き整流性は、膜電位だけでなくH⁺の駆動力にも依存することが示唆された。

薬理学的特性：acid-inducible H⁺-leakに影響を与える因子を探索した。Na⁺ (50 mM), Cl⁻ (~60 mM), HCO₃⁻ (10 mM)は、H⁺-leakの振幅に影響を与えなかった。Na⁺存在下で内向き整流性は小さかった (pH_o/pH_i 4.5/6.5でRI = ~1.2)が、その機序は検討中である。破骨細胞膜に存在しH⁺透過が可能な既知のイオン透過分子のブロッカーの効果調べた。陽イオンチャネル(ASIC, TRP, HCN channels)阻害剤(amiloride, ruthenium red, ZD7288), H⁺/Cl⁻チャネル(CIC7)阻害剤(DIDS), V-ATPase阻害剤(bafilomycin A₁, DCCD), Na⁺-K⁺ATPase阻害剤(ouabain), H⁺脱共役蛋白(UCP)阻害剤(ADP, GDP), NADPH oxidase阻害剤(DPI), 細胞外Ca²⁺ (10 mM)に電流振幅および内向き整流性に対する抑制効果は見られなかった。Hv channelの阻害剤、ZnCl₂は1 mMでacid-inducible H⁺-leakを約30%可逆的に抑制したが、Hv channelを有意にブロックする濃度(≤ 200 μM)では効果がなかった。現在のところ、acid-inducible H⁺-leakの有効なブロッカーやエンハンサーは見つかっていない。

FCCP電流との比較。ミトコンドリアで同定された内在性H⁺脱共役蛋白、UCPによるH⁺電流に整流性が報告されている。H⁺脱共役試薬(FCCP)によるH⁺電流とacid-inducible H⁺-leakを比較した。V-ATPase, Hv channel, acid-inducible H⁺などのH⁺電流が検出されないCOS7細胞でFCCP電流を解析した。FCCP (2 μM)を添加すると広いpH_o範囲(4.5 - 7.3)に渡ってH⁺電流が生じた。pH_o > pH_iでは脱分極側で外向き整流性、pH_o < pH_iでは過分極側で内向き整流性を示した。pH_oが6.5から4.5と低下するとRIは有意に上昇し、pH_o/pH_i 4.5/7.3でのRI値(5-6)は、acid-inducible H⁺ leakより有意に大きかった。今回誘導されたFCCP電流密度は破骨細胞のacid-inducible H⁺ leakの約5-10倍あり、高いS/N比がRI値を上昇させた可能性は否定できない。acid-inducible H⁺-leakとFCCPは共に整流性があるが、活性化機構や薬理学的特性が異なることが示唆された。

細胞内外pH動態。acid-inducible H⁺ leakの直接効果はpH_oの上昇とpH_iの低下である。pH 5.5に暴露されたハイドロキシアパタイト顆粒は3分で5%、3時間で約30%溶解した。pH_o < 5.5なら溶解はより速く起こる。

pH_o < 5.5で活性化されるH⁺ leakは酸性環境を和らげ過剰な骨吸収から保護する役目を担っていると推察された。また、H⁺ leakによって細胞膜直下のpH_iは著しく低下し様々な細胞内応答に影響を与えらる。

細胞依存性。acid-inducible H⁺ leak (pH_o/pH_i 4.5/6.5)は、RANKL非存在下で継代しているRAW264細胞では破骨細胞に比べ有意に小さく、COS7細胞では殆ど検出されなかった。ruffled membraneがリソゾームの細胞膜への融合で形成されることから、H⁺ leakを担う分子がリソゾーム膜に由来する可能性を検討中である。

(2) 細胞外無機リン酸(Pi)によるHv channel活性と活性酸素産生の増強。

PiによるHv channel活性増強。破骨細胞によってハイドロキシアパタイトが分解されると、骨吸収窩にはその分解産物、Ca²⁺と無機リン酸(inorganic phosphate, Pi)が蓄積する。その結果、破骨細胞は高濃度のPiに暴露される。RAW-OCLにPi (2.5 - 40 mM)を投与するとHv channel活性が増加した。主たる要因は開口過程(gating)の促進であったが、pH_i低下によるコンダクタンス増加および活性化電位の過分極シフトも加わりH⁺排出能が著明に増加した。Na-Pi cotransporterを介して細胞内に取り込まれたPiがHv channel活性増強の主因と考えられた。gating促進効果は酸性環境(pH_o 5.5)で有意に増強した。細胞内Mg²⁺濃度、細胞内ATP濃度、V-ATPase活性、PI3 kinaseやホスファターゼの阻害剤(LY294002, okadaic acid, CD13)では影響がなかったが、プロテインキナーゼC(PKC)の阻害剤(GFX, staurosporine)で部分的にブロックされた。これらの事実からPiによるHv channelのgating促進にPKCが関与すると考えられた。PiによるHv channel増強効果およびGFXによるその抑制は、生理的細胞内環境を温存したperforated-patchでも観察された。

PiによるROS産生増強。細胞外にPiを添加するとNADPH oxidase依存的にROS産生を増強した。構成的およびPi刺激によるROS産生はPKC阻害剤、GFXでブロックされ、PKCがROS産生増強に関与することが示唆された。また、PKCの強力なエンハンサーであるphorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)もROS産生を増強した。

Hv channelとROSの相互作用。マクロファージなど食細胞では、Hv channelが高濃度のROS産生を維持する役割を果たすこと、またNADPH oxidaseを介する電子の排出がHv channel活性に必要な条件(pH_iの低下と脱分極)を創出することが知られている。脱分極は、更なる電子の排出を抑制するが、Hv channelのH⁺排出によって脱分極が軽減するとROS産生は維持される。PMAによるROS産生の増強はZnCl₂で有意に抑制された。また、NADPH oxidaseの阻害剤

(diphenyleneiodonium, DPI) で Pi による Hv channel gating 促進効果が抑えられた。これらの結果から、マクロファージ由来の細胞である破骨細胞においても Hv channel と NADPH oxidase は相互に補強し合い ROS 産生を維持していると考えられた。

破骨細胞分化(osteoclastogenesis)における Hv channel と ROS の役割。破骨細胞において、ROS は RANKL で誘導される分化過程に必須の細胞内シグナルである。RAW264 の継代培養を反復すると次第に破骨細胞への分化能を失うことが知られている。継代培養の初期(1-2 か月)と後期(4-5 か月)を比較すると、Hv channel の電流密度、ROS 産生量、および Pi による両者の増強効果は、後期において有意に減少していた。これらの結果から、Pi は破骨細胞の Hv channel および ROS 産生を促進する内在性シグナルとして働き、破骨細胞の分化を促進することが明らかになった。酸性環境下では、Pi 効果が増加すると共に、acid-inducible H⁺ leak により細胞内に流入する H⁺ が H⁺ チャンネルの活性化を促し ROS 産生に貢献する可能性も推測される。

(3) ファゴゾーム pH のオシレーション。

FITC-zymosan の取り込みによって形成された単一ファゴゾーム pH(pH_v) は V-ATPase により徐々に低下し、4.8-5.3 で安定化した。この pH_v は細胞膜の acid-inducible H⁺ leak の活性化閾値に近く (<5.5) 細胞膜と同様の H⁺ leak 機構がファゴゾーム膜にも存在する可能性が示唆された。継続測定で pH_v のオシレーションがしばしば観察された。オシレーションには速い一過性の pH_v 上昇(peak pH_v > 6.5: pH spike と命名)と小さく緩やかな変動(small peak)があり、PMA や weak base (NH₄Cl) で頻度が増加したが、高 K 刺激では特に影響が見られなかった。pH spike は、ピーク pH_v が pH_o に依存し、細胞から単離したファゴゾームで見られなかったことから、再開口(re-open)によることが示唆された。small peak の pH_v は pH_o に依存しなかった。私達は先行研究で Weak base や高 Ca²⁺ がダイナミン依存性に破骨細胞の endocytosis を促進することを報告した。膜のダイナミクスにどのように pH_v が関わるかは今後追求したい課題である。

以上の結果より、破骨細胞に酸感受性 H⁺ leak 機構が存在することが明らかになった。H⁺ leak の分子実体はまだ解明されていないが、Pi 効果を含め酸性環境における破骨細胞の H⁺ シグナリングに関わる重要な手がかりである。また、内在性の刺激(Pi)によって Hv channel が NADPH oxidase 活性化状態で生じる pH 勾配を解消する H⁺-leak の役割を果たしていることも示された。本研究課題および先行研究の成果は、invited review

(Kuno, 2018)として発表した。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 11 件)

Kuno M. Cooperative electrogenic proton transport pathways in the plasma membrane of the proton-secreting osteoclast (invited review). *Pflügers Archives – European Journal of Physiology*, 査読有, Vol 470, 2018, 851-866.
DOI: 10.1007/s00424-018-2137-9

Tsujikawa S, Matsuura T, Hori K, Mori T, Kuno M, Nishikawa K. Letter to the Editor regarding Tsujikawa and lipid emulsion: In response. *Anesthesiology and Analgesia*, 査読無, 2018 (in press)

Tsujikawa S, Matsuura T, Hori K, Mori T, Kuno M, Nishikawa K. Superior efficacy of lipid emulsion infusion over serum alkalization in reversing amitriptyline-induced cardiotoxicity in guinea pig. *Anesthesiology and Analgesia*, 査読有, Vol 126, 2018, 1159-1169.
DOI: 10.1213/ANE.0000000000002707

Notomi T, Kuno M, Hiyama A, Ezura Y, Noda M. Role of lysosomal channel protein TPC2 in osteoclast differentiation and bone remodeling under normal and low-magnesium conditions. *Journal of Biological Chemistry*, 査読有, Vol 292, 2017, 20998-21010.
DOI: 10.1074/jbc.M117.780072.

Li G, Miura K, Kuno M. Extracellular phosphates enhance activities of voltage-gated proton channels and production of reactive oxygen species in murine osteoclast-like cells. *Pflügers Archives – European Journal of Physiology*, 査読有, Vol 469, 2017, 279-292.
DOI: 10.1007/s00424-016-1931-5

Liu S, Sahid MNA, Takemasa E, Kiyoi T, Kuno M, Oshima Y, Maeyama K. CRACM3 regulates the stability of non-excitatory exocytotic vesicle fusion pores in a Ca²⁺-independent manner via molecular interaction with syntaxin4. *Scientific Reports*, 査読有, Vol 6, 2016, 28133.
DOI: 10.1038/srep28133.

Kuno M, Li G, Moriura Y, Hino Y, Kawawaki J, Sakai H. Acid-inducible proton influx currents in the plasma membrane of murine osteoclast-like cells. *Pflügers Archives – European Journal of*

Physiology, 査読有, Vol 468, 2016, 837-847.

DOI 10.1007/s00424-016-1796-7.

久野みゆき, 電位依存性プロトンチャネル、腎と透析、査読無、80巻、2016、397-401.

Hori, K., Matsuura T, Tsujikawa S, Mori T, Kuno M, Nishikawa K. The significant contribution of the partitioning effect in lipid resuscitation for bupivacaine-induced cardiotoxicity: evaluation by using centrifuged solution in vivo and in isolated hearts. British Journal of Anaesthesiology, 査読有, Vol 115, 2015, 935-937.

DOI: 10.1093/bja/aev386

Notomi T, Kuno M, Hiyama A, Ezura Y, Honma M, Ishizuka T, Ohura K, Yao H, Noda M. Membrane depolarization regulates intracellular RANKL transport in non-excitabile osteoblasts. Bone, 査読有, Vol 81, 2015, 306-314.

DOI: 10.1016/j.bone.2015.07.031

Notomi T, Kuno M, Hiyama A, Ohura K, Noda M, Skerry TM. Zinc-induced effects on osteoclastogenesis involve activation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide modulated channels via changes in membrane potential. Journal of Bone and Mineral Research. 査読有, Vol 30, 2015, 1618 - 1626.

DOI: 10.1002/jbmr.2507

[学会発表](計 21 件)

久野みゆき、海住太郎、森浦芳枝、日野佳子、川脇順子、酒井啓. Rapid oscillations of phagosomal pH in RAW264-derived osteoclasts. 第 95 回日本生理学会大会. 2018 年.

Li G, Miura K, Hino Y, Moriura Y, Kawawaki, J, Sakai H, Kuno M. Extracellular phosphate is an endogenous regulator for voltage-gated proton channels and production of reactive oxygen species in osteoclasts. 第 62 回米国生物物理学会, 2018 年.

久野みゆき、海住太郎、森浦芳枝、日野佳子、川脇順子、酒井啓. RAW264 および RAW264 由来破骨細胞における phagosomal pH のオシレーション. 平成 29 年度生理研研究会「シグナル動態の可視化と操作に基づく多階層機能解析の新展開」2017 年.

Notomi T, Kuno M, Hiyama A, Ezura Y, Ohura K, Noda M. Role of the lysosomal channel, Two Pore Channel 2, in osteoclast differentiation and bone remodeling under normal and low-magnesium conditions. 第 39 回米国骨代謝学会. 2017 年.

Li G, Miura K, Hino Y, Moriura Y, Kawawaki J, Sakai H, Kuno M. Extracellular phosphate-sensing regulation of voltage-gated proton channels and reactive oxygen species in osteoclasts. 2nd Ion channel modulation symposium. 2017 年.

李光帥、三浦克之、日野佳子、森浦芳枝、川脇順子、酒井啓、久野みゆき.

Extracellular phosphate is a common regulator for voltage-gated proton channels and production of reactive oxygen species in osteoclasts. 第 94 回日本生理学会大会. 2017 年.

久野みゆき、李光帥、三浦克之、日野佳子、森浦芳枝、川脇順子、酒井啓. 破骨細胞の H⁺チャネルを介する細胞外リン酸濃度の感受・応答メカニズム. 平成 28 年度生理学研究所研究会「上皮膜輸送調節蛋白の異常と病態生理学の融合」. 2016 年.

李光帥、三浦克之、久野みゆき. RAW 細胞由来破骨細胞におけるリン酸による電位依存性 H⁺チャネル活性の増強. 第 109 回近畿生理学談話会, 2016 年.

Tsujikawa S, Matsuura T, Hori K, Mori T, Kuno M, Nishikawa K. Superiority of lipid infusion over serum alkalization in reversal of amitriptyline cardiotoxicity in guinea pigs. 2016 米国麻醉科学学会年会, 2016 年.

Notomi T, Kuno M, Hiyama A, Ezura Y, Ohura K, Noda M. Changes in membrane potential regulates RANKL intracellular transport via voltage-gated calcium channels in osteoblasts. 第 38 回米国骨代謝学会. 2016 年.

久野みゆき、李光帥、三浦克之、日野佳子、森浦芳枝、川脇順子、酒井啓. 破骨細胞における電位依存性 H⁺チャネルの内因性調節機構：無機リン酸の役割. 平成 28 年度生理学研究所研究会「生体多元システムダイナミクスの計測と操作」, 2016 年.

久野みゆき、酒井啓、李光帥、森浦芳枝、日野佳子、川脇順子. 破骨細胞のプロトン flux 機構. 平成 28 年度生理学研究所研究会「膜システムの機能的・構造的統合」, 2016 年.

李光帥、久野みゆき. RAW 細胞由来破骨細胞における電位依存性 H⁺チャネルの調節機構: 無機リン酸による H⁺排出の増強. 第 34 回日本骨代謝学会学術集会, 2016 年.

久野みゆき、李光帥、酒井啓. RAW264 由来破骨細胞膜における新規の酸感受性プロトン流入機構. 第 34 回日本骨代謝学会学術集会, 2016 年.

辻川翔吾、松浦正、堀耕太郎、森隆、久野みゆき、西川精宣. アミトリプチリン中毒に対する脂肪乳剤の有効性 アルカリ化療法との比較(最優秀演題). 日本麻酔科学会第 63 回学術集会, 2016 年.

久野みゆき. H⁺選択的膜輸送体の機能: プロトンポンプとプロトンチャネル(教育講演). 第 93 回日本生理学会大会, 2016 年.

久野みゆき. Behaviors of the voltage-gated H⁺ channels under pH disturbances in osteoclasts (招待講演) 第 93 回日本生理学会大会, 2016 年.

李光帥、三浦克之、久野みゆき. Type II Na-Pi transporters mediate extracellular phosphate-induced potentiation of the voltage-gated H⁺ channels in murine osteoclast-like cells. 第 93 回日本生理学会大会, 2016 年.

久野みゆき. Real-time analysis of V-ATPase (proton pump) currents in the plasma membrane of osteoclasts (招待講演). 第 53 回日本生物物理学会年会, 2015 年.

Notomi T, Kuno M, Hiyama A, Ohura K, Noda M, Skerry TM. Zinc-induced effects on osteoclastogenesis involves activation of HCN channels via changes in membrane potential. 第 37 回 米国骨代謝学会, 2015 年.

- ②1 久野みゆき、李光帥、森浦芳枝、日野佳子、川脇順子、酒井啓. 破骨細胞膜における酸感受性プロトンリーク機構の定量的検討. 平成 27 年度生理学研究所研究会, 2015 年.

〔図書〕(計 2 件)

久野みゆき. 骨ペディア/骨疾患・骨代謝キーワード事典. 羊土社 327 ページ、2015 年.

久野みゆき. 生理学問題集 (CBT 準拠) 文光堂 179 ページ、2015 年.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.osaka-cu.ac.jp/molcelphysiol/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久野 みゆき (KUNO, Miyuki)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 00145773

(2) 研究分担者

酒井 啓 (SAKAI, Hiromu)

大阪市立大学・大学院医学研究科・研究員
研究者番号: 90382192

(3) 連携研究者

納富拓也 (NOTOMI, Takuya)

大阪歯科大学・歯学研究科・講師
研究者番号: 70542249

(4) 研究協力者

李光帥 (LI, Gunagshuai) 大学院学生

海住太郎 (KAIJU, Taro) 学部学生

森浦芳枝 (MORIURA, Yoshie) 研究補佐

日野佳子 (HINO, Yoshiko) 研究補佐

川脇順子 (KAWAWAKI, Junko) 技術職員