

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06802

研究課題名(和文)炎症誘導性高貪食能ミクログリアサブセットの制御と炎症関連神経疾患治療への展開

研究課題名(英文) P2Y2 receptor mediates inflammatory function of TLR4-activated phagocytic microglia

研究代表者

秀 和泉 (Hide, Izumi)

広島大学・医系科学研究科(医)・講師

研究者番号：20253073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ミクログリアにはリポポリサッカライド(LPS)刺激により細胞死をおこす細胞と死を免れ活発に死細胞を貪食する細胞の異なるサブセットが存在する。これらLPS誘発細胞死と死細胞貪食はいずれもP2Y2受容体を介して引き起こされた。LPS刺激はP2Y2受容体を形質膜先端部の表面に発現させた。また、TLR4下流シグナルのERKやAKT活性化もP2Y2受容体に依存していた。さらに、LPS刺激はミトコンドリア活性を著しく上昇させ、大量にATPを産生し細胞外へと放出することでP2Y2受容体を刺激する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化に伴いアルツハイマー病などの神経変性疾患、脳梗塞などの脳血管障害などの増加が大きな社会問題として懸念されている。これらの病態には共通して過剰に活性化された炎症性ミクログリアが関与する。ミクログリアは異物や死細胞を貪食して神経保護に働く一方、炎症時には傷害性の高い炎症性サイトカインを放出するとともに弱った神経細胞も過剰に貪食し神経障害を引き起こす。本成果はこれまで不明であった炎症性ミクログリアの活性化のメカニズムを明らかにするものであり、学術的意義は大きい。また、炎症性ミクログリアの関わる疾患の治療標的の開発にも繋がることから社会的にも意義のあるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Brain microglia play a protective role, whereas inflammatory activated microglia can perform excessive phagocytosis, leading to neuronal death. Live imaging showed that a TLR4 ligand lipopolysaccharide (LPS) induced rapid death in primary rat microglia, and surviving microglia actively removed the dying cells. The P2Y2 receptor (P2Y2R) antagonists, suramin and AR-C118925, inhibited dying cell removal more potently for LPS-stimulated microglia than for nonstimulated microglia. P2Y2R antagonists also suppressed LPS-induced death, but not spontaneous death. LPS stimulation elicited the redistribution of the P2Y2R on the plasma membrane. LPS also activated ERK1/2 and AKT signaling in a P2Y2R-dependent manner. Mitochondria activity was markedly elevated in LPS-stimulated microglia, possibly contributing to ATP release into extracellular space to activate P2Y2R. Thus, the P2Y2 receptor may play an essential role in various inflammatory responses of TLR4-activated microglia.

研究分野：薬理学

キーワード：ミクログリア 炎症 貪食 P2Y2受容体 ATP リポポリサッカライド TLR4

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ミクログリアは、死細胞や異物、アミロイドなどの傷害性物質を貪食除去し脳の恒常性維持に重要な役割を果たす。しかし、刺激により著しく活性化されると傷害的な炎症性メディエーターを大量に放出し、また激しい貪食能を獲得し弱った生細胞まで貪食し死に至らしめる。近年、これらの過剰な反応がアルツハイマー病をはじめとする多くの神経疾患の原因に関与すると考えられるようになってきた。しかし、炎症刺激を受けた際の異常な貪食がどのようにして引き起こされるのかは明らかではない。研究代表者らは、これまでに、ATP や UTP により活性化される P2Y₂ 受容体がミクログリアの炎症刺激により著しく発現上昇すること、さらに、この受容体は炎症時の異常な死細胞貪食に重要な役割を果たすことを見出してきた(Hide *et al.*, 2023)。しかし、炎症時に P2Y₂ 受容体の活性化がどのような機序で引き起こされるのか、また、TLR4 シグナル伝達にも関与するのか、さらに、P2Y₂ 受容体を刺激する ATP/UTP の由来はどこなのか、などについては不明の点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、炎症刺激により誘導される高貪食能ミクログリアの反応を明らかにする目的で、以下の項目に焦点を当て検討を行った。

- (1) TLR4 リガンドであるリポポリサッカライド (LPS) 刺激によるミクログリアの死細胞貪食および細胞死における P2Y₂ 受容体の役割と P2Y₂ 受容体活性化メカニズムを明らかにする。
- (2) LPS による TLR4 刺激の下流シグナル(ERK/AKT)活性化における P2Y₂ 受容体の関与を調べる。
- (3) ミクログリアのミトコンドリア呼吸活性(ATP 産生)に及ぼす LPS 刺激の影響を検討する。

3. 研究の方法

(1) ミクログリアの初代培養

ラット新生児大脳から混合グリア初代培養細胞を作製し、10% FBS 含有 DMEM 中 37 °C 10%CO₂ 存在下で培養を行った。培養 9 日目からフラスコを振盪し浮遊する細胞を回収し、ディッシュに接着させた後洗浄によりミクログリアを調製した。ミクログリアの純度はマーカーである Iba-1 染色より確認した。

(2) タイムラプス観察

ミクログリアを 4 分割ガラスボトムディッシュに播種し、位相差顕微鏡(BIOREVO Bz-9000, Keyence)で 10 分ごとに 18 時間タイムラプス観察した。顕微鏡のステージ上には細胞培養装置(Tokai Hit)を取り付け、37 °C 5% CO₂ 存在下とした。ミクログリアの振る舞いから以下の 4 つのグループに分けた。I. 死ぬ細胞、II. 生存するが死細胞には接触しない細胞、III. 死細胞に接触し貪食した細胞、IV. 死細胞に接触し貪食しようとしたができなかった細胞。全細胞数に対するそれぞれの細胞数の割合(%)で示した。

(3) 細胞免疫染色

ミクログリアを 4%パラホルムアルデヒドで固定した後、0.03%Triton-X100 で膜透過処置を行ったのち 3%正常ヤギ血清でブロッキングを行った。一次抗体として P2Y₂ 受容体ポリクローナル抗体(5 µg/mL, ARP-010, Alomone)を用いて細胞を一晩処置し、抗ウサギ IgG-Alexa 488(1 µg/mL, Thermo Fisher Scientific)を作用させ洗浄後、共焦点レーザー顕微鏡(LSM 780, Carl Zeiss)で蛍光画像を観察した。生細胞イメージングでは、P2Y₂ 受容体の細胞外ドメインを認識する FITC 標識抗体(1:50, ARP-102-F, Alomone)をミクログリアに氷上で 30 分間処置し、その後 4%パラホルムアルデヒドで固定した。洗浄後、細胞膜上の P2Y₂ 受容体免疫染色を蛍光顕微鏡(BIOREVO Bz-9000, Keyence)で観察した。

(4) ERK1/2 および AKT の活性化の測定

ミクログリアの LPS 刺激による ERK1/2 および AKT の活性化は、ERK1/2 およびリン酸化 ERK1/2、AKT およびリン酸化 AKT を認識する抗体(Cell Signaling Technology)を用いてウェスタンブロットを行い、全 ERK1/2 および全 AKT に対するリン酸化 ERK1/2 およびリン酸化 AKT の比として算出した。

(5) ミトコンドリアの活性測定

ミクログリアのミトコンドリア呼吸鎖に存在する脱水素酵素の活性を測定した。ミクログリアに LPS 刺激を行い、テトラゾリウム塩である WST-1 を作用させ変換されたホルマザン色素の吸光度(450nm)をマイクロプレートリーダーで測定した。

4. 研究成果

(1) タイムラプス観察によるミクログリアの死細胞貪食および細胞死の解析と P2Y₂ 受容体の役割
ラット初代培養ミクログリアはアストロサイトに依存し、アストロサイトから単離すると徐々に細胞死をおこす。刺激がないと 24 時間以内のすべての細胞が死ぬが、炎症刺激であるリポポリサッカライド (LPS) 刺激を行うと 2 時間以内に速やかに細胞死が誘導される (Harada *et al.*, 2011)。全体のほぼ 2 割のミクログリアは生き残り、活発に隣接する死細胞を貪食する (Kamigaki *et al.*, 2016)。これまでに、P2Y₂ 受容体拮抗薬 (スラミンや AR-C118925) は無刺激時の死細胞貪食には有意な影響を及ぼすことなく、LPS 刺激時の死細胞貪食を著明に抑制したことから、P2Y₂ 受容体は炎症誘導性貪食を特異的に制御することを報告してきた (Hide *et al.*, 2023)。さらに、細胞死に対する P2Y₂ 受容体拮抗薬 (スラミンと AR-C118925) の効果を調べた結果、無刺激で自発的におきる細胞死に対しては影響を及ぼすことなく、LPS 刺激による細胞死を強く抑制した。したがって、LPS 刺激により引き起こされる細胞死もまた死細胞貪食と同様 P2Y₂ 受容体の活性化に依存することが示された。

(2) LPS 刺激による P2Y₂ 受容体活性化の仕組み

これまでに、LPS 刺激により P2Y₂ 受容体が活性化を受ける機序の一つとして、LPS 刺激が細胞内部の P2Y₂ 受容体を細胞膜付近に移行させる可能性を示してきた。しかし、形質膜の P2Y₂ 受容体が実際に細胞膜に組み込まれ細胞外の ATP/UTP と結合しうるのかは不明である。そこで、今回、P2Y₂ 受容体の細胞外ループを認識する特異的抗体を用いて LPS 刺激ミクログリアの形質膜付近の P2Y₂ 受容体が細胞外に表出しているかをライブイメージングで検討した。その結果、LPS 刺激を行うとミクログリアは形態を細長く変化させその端の形質膜上に P2Y₂ 受容体が表出することが示された。無刺激では先端に P2Y₂ 受容体の発現が認められないことから、LPS 刺激による P2Y₂ 受容体刺激のメカニズムとして、先端形質膜上への P2Y₂ 受容体の発現誘導とそこでの活性化を引き起こす可能性が確認された。

(3) LPS 刺激による ERK1/2 および AKT 活性化における P2Y₂ 受容体の関与

LPS 刺激によるミクログリアの反応の多くが P2Y₂ 受容体に依存することを示す知見が得られた。LPS が TLR4 を活性化し炎症関連遺伝子発現を誘導することはよく知られた事実である。TLR4 のシグナル伝達には MyD88 依存的経路と MyD88 非依存的経路があり、MyD88 経路は TRAF6 を介して NF- κ B の活性化を介して炎症性サイトカイン遺伝子を発現する一方、MyD88 非依存的経路ではエンドソームに内在化して TRAF3 を活性化し、転写因子 IRF3 を介して I 型 IFN を産生する。しかし、TLR4 から貪食や遺伝子発現に重要な ERK1/2 や PI3 キナーゼ/Akt へのシグナル経路には不明の点が多い。今回、LPS 刺激による ERK1/2 および AKT の活性化は P2Y₂ 受容体拮抗薬により抑制されたことから、これらのシグナル伝達も P2Y₂ 受容体を介して引き起こされる可能性が示された。

(4) ミクログリアのミトコンドリア呼吸活性に及ぼす炎症刺激の影響

ミトコンドリアにおける代謝を指標として生細胞数や細胞増殖能を測定する方法に MTT アッセイや WST-1 アッセイなどがある。これは、ミトコンドリアの呼吸鎖に存在する脱水素酵素の活性により生成されるホルマザン色素の測定により行われる。ミクログリアを LPS で刺激すると、ミクログリアの 8 割が死ぬにもかかわらず、WST-1 のホルマザン形成が著しい上昇を示した。さらに、ATP 処置を行うとこの上昇はさらに促進された。この結果は、LPS 刺激を受け生存する貪食ミクログリアはミトコンドリアの活性が著しく促進され、大量の ATP を産生する可能性を示している。したがって、P2Y₂ 受容体を刺激する ATP は少なくとも自ら産生する大量の ATP に由来する可能性が示唆された。さらに、ATP 刺激によりミトコンドリアの活性がさらに増大することから、ATP 受容体を介した正の調節機構の存在が考えられる。

(5) まとめ

本研究結果とあわせて、これまでの検討から明らかになった知見を以下にまとめる (図 1)。

ミクログリアには炎症性刺激 (LPS) に対して異なる反応を示すサブセットがある。一つは活性化により速やかに細胞死を引き起こすサブセットであり、もう一つは生存し続け活発に死細胞を貪食するサブセットである。この 2 つの反応は、いずれも炎症刺激で急激に発現上昇する P2Y₂ 受容体を介して引き起こされる。P2Y₂ 受容体は無刺激時の細胞死や貪食には関わらないことから、炎症時に誘導されるミクログリアの反応において特異的な働きを発揮すると考えられる。

炎症刺激により P2Y₂ 受容体が活性化される機序として細胞内部から形質膜上への移行を引き起こす可能性が示された。

これまでに、P2Y₂ 受容体が炎症時の死細胞貪食を仲介するメカニズムとして、PYK2 チロシンキナーゼを介して炎症性貪食受容体 AXL の発現を引き起こすことを明らかにしてきた。このとき生理的貪食受容体 MER の発現は低下することから死細胞貪食において AXL が中心的役割を果たすと考えられる。今回さらに、LPS 刺激による ERK および AKT 活性化にも P2Y₂ 受容体の関与が示され、TLR4 シグナル伝達には P2Y₂ 受容体を介したシグナルにより一連の炎症反応が引き起

こされる可能性が示された。

炎症刺激は ATP の細胞外への放出も引き起こすが、その機序の一つとしてミトコンドリアの活性を著しく高め、大量の ATP を産生することが関与すると考えられた。

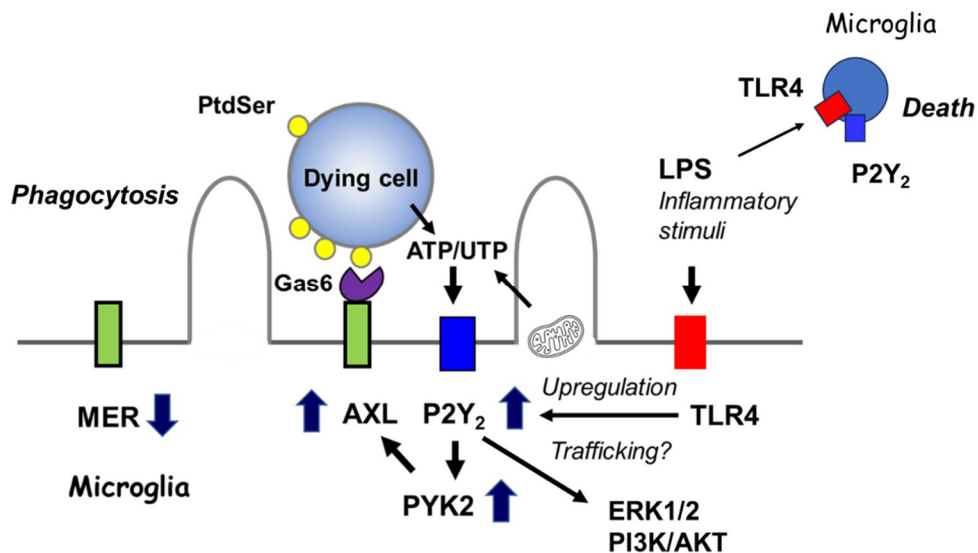


図 1. LPS 刺激によるミクログリアの細胞死と死細胞貪食における P2Y₂ 受容体を介した制御機構

以上の結果は、炎症時に誘導されるミクログリアの活性化メカニズムを明らかにするものであり、TLR4 活性化により引き起こされる幅広い反応に P2Y₂ 受容体が重要な役割を果たすことを示した。この研究成果から、炎症性ミクログリアが病態に關与する中枢炎症性疾患（アルツハイマー病など）の新しい治療標的の開発へと繋がる可能性が期待される。

引用文献

Hide I, Shiraki H, Masuda A, Maeda T, Kumagai M, Kunishige N, Yanase Y, Harada K, Tanaka S, Sakai N. P2Y₂ receptor mediates dying cell removal via inflammatory activated microglia. *J. Pharmacological Sci.* 153:55-67. doi: 10.1016/j.jphs.2023.06.004.

Harada K, Hide I, Seki T, Tanaka S, Nakata Y, Sakai N. Extracellular ATP differentially modulates Toll-like receptor 4-mediated cell survival and death of microglia. *J Neurochem.* 2011, 116:1138-47. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07170.x.

Kamigaki M, Hide I, Yanase Y, Shiraki H, Harada K, Tanaka Y, Seki T, Shirafuji T, Tanaka S, Hide M, Sakai N. The Toll-like receptor 4-activated neuroprotective microglia subpopulation survives via granulocyte macrophage colony-stimulating factor and JAK2/STAT5 signaling. *Neurochem Int.* 2016, 93:82-94. doi: 10.1016/j.neuint.2016.01.003.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 16件）

1. 著者名 Tanaka Shigeru, Shimada Naoto, Shiraki Hiroko, Miyagi Tatsuhiro, Harada Kana, Hide Izumi, Sakai Norio	4. 巻 118
2. 論文標題 GPR3 accelerates neurite outgrowth and neuronal polarity formation via PI3 kinase-mediating signaling pathway in cultured primary neurons	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 103691 ~ 103691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mcn.2021.103691	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 -
1. 著者名 Hirakawa Haruki, Taguchi Kei, Murakawa Seiya, Asano Masaya, Noguchi Soma, Kikkawa Satoshi, Harada Kana, Adachi Naoko, Ueyama Takehiko, Hide Izumi, Tanaka Shigeru, Sakai Norio	4. 巻 148
2. 論文標題 Effects of flurbiprofen on the functional regulation of serotonin transporter and its misfolded mutant	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 187 ~ 195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2021.11.006	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 -
1. 著者名 Shiraki Hiroko, Tanaka Shigeru, Guo Yun, Harada Kana, Hide Izumi, Yasuda Tomoharu, Sakai Norio	4. 巻 148
2. 論文標題 Potential role of inducible GPR3 expression under stimulated T cell conditions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 307 ~ 314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2022.01.005	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 -
1. 著者名 Masuda Shun, Tanaka Shigeru, Shiraki Hiroko, Sotomaru Yusuke, Harada Kana, Hide Izumi, Kiuchi Yoshiaki, Sakai Norio	4. 巻 172
2. 論文標題 GPR3 expression in retinal ganglion cells contributes to neuron survival and accelerates axonal regeneration after optic nerve crush in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurobiology of Disease	6. 最初と最後の頁 105811 ~ 105811
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbd.2022.105811	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 -

1. 著者名 Harada Kana, Sho Ryoma, Takakura Hironiki, Yokoyama Eri, Koyama Reika, Yamamoto Yuka, Adachi Naoko, Tanaka Shigeru, Hide Izumi, Sakai Norio	4. 巻 662
2. 論文標題 S-Palmitoylation of the serotonin transporter promotes its cell surface expression and serotonin uptake	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 58 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2023.04.028	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 -

1. 著者名 Shiraki H, Tanaka S, Guo Y, Harada K, Hide I, Yasuda T, Sakai N.	4. 巻 148
2. 論文標題 Potential role of inducible GPR3 expression under stimulated T cell conditions.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci.	6. 最初と最後の頁 307-314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2022.01.005.	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 -

1. 著者名 Hirakawa H, Taguchi K, Murakawa S, Asano M, Noguchi S, Kikkawa S, Harada K, Adachi N, Ueyama T, Hide I, Tanaka S, Sakai N.	4. 巻 148
2. 論文標題 Effects of flurbiprofen on the functional regulation of serotonin transporter and its misfolded mutant.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci.	6. 最初と最後の頁 187-195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2021.11.006.	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 -

1. 著者名 Tanaka S, Shimada N, Shiraki H, Miyagi T, Harada K, Hide I, Sakai N.	4. 巻 118
2. 論文標題 GPR3 accelerates neurite outgrowth and neuronal polarity formation via PI3 kinase-mediating signaling pathway in cultured primary neurons.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mol Cell Neurosci.	6. 最初と最後の頁 103691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mcn.2021.103691.	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 -

1. 著者名 Zengulyte G, Tanaka S, Hide I, Sakai N, Pampuscenko K, Borutaite V, Rastenyte D.	4. 巻 14
2. 論文標題 Evaluation of the Effectiveness of Post-Stroke Metformin Treatment Using Permanent Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals (Basel).	6. 最初と最後の頁 312
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph14040312.	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 -

1. 著者名 Motoike S, Taguchi K, Harada K, Asano M, Hide I, Tanaka S, Irifune M, Sakai N.	4. 巻 145
2. 論文標題 Syntaxin 3 interacts with serotonin transporter and regulates its function.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci.	6. 最初と最後の頁 297-307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2021.01.007.	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 -

1. 著者名 Taguchi K, Kaneko M, Motoike S, Harada K, Hide I, Tanaka S, Sakai N.	4. 巻 534
2. 論文標題 Role of the E3 ubiquitin ligase HRD1 in the regulation of serotonin transporter function.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 583-589
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.11.036.	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 -

1. 著者名 Ikawa F, Tanaka S, Harada K, Hide I, Maruyama H, Sakai N.	4. 巻 1750
2. 論文標題 Detailed neuronal distribution of GPR3 and its co-expression with EF-hand calcium-binding proteins in the mouse central nervous system.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Res.	6. 最初と最後の頁 147-166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainres.2020.147166.	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 -

1. 著者名 Hide I, Shiraki H, Masuda A, Maeda T, Kumagai M, Kunishige N, Yanase Y, Harada K, Tanaka S, Sakai N.	4. 巻 153
2. 論文標題 P2Y2 receptor mediates dying cell removal via inflammatory activated microglia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci	6. 最初と最後の頁 55-67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2023.06.004.	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 -

1. 著者名 Harada K, Sho R, Takakura H, Yokoyama E, Koyama R, Yamamoto Y, Adachi N, Tanaka S, Hide I, Sakai N.	4. 巻 662
2. 論文標題 S-Palmitoylation of the serotonin transporter promotes its cell surface expression and serotonin uptake	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 58-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2023.04.028.	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 -

1. 著者名 Narasaki, S, Noguchi, S., Urabe, T., Harada, K., Hide, I., Tanaka, S., Yanase, Y., Kajimoto, T., Uchida, K., Tsutsumi, M., Y. and Sakai, N.	4. 巻 955
2. 論文標題 Identification of protein kinase C domains involved in its translocation induced by propofol	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Eur. J. Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 175806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2023.175806.	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 -

1. 著者名 Noguchi, S., Kajimoto, T., Kumamoto, T., Shingai, M., Narasaki, S., Urabe, T., Imamura, S., Harada, K., Hide, I., Tanaka, S., Yanase, Y., Nakamura, S., Tsutsumi, Y. M., and Sakai, N.	4. 巻 14
2. 論文標題 Features and mechanisms of propofol-induced protein kinase C (PKC) translocation and activation in living cells.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1284586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2023.1284586.	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 -

〔学会発表〕 計29件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 酒井 規雄、平川 明樹、田口 慧、村川 青矢、浅野 昌也、野口 颯真、吉川 慧、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂
2. 発表標題 非ステロイド性抗炎症薬Flurbiprofenは、ケミカルシャペロン、分子シャペロン誘導剤として働き、セロトニントランスポーターおよびそのミスフォールド変異体の機能を制御する
3. 学会等名 第141回 日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川 慧、原田 佳奈、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 OpTER：オープンソースを用いた経上皮 / 内皮抵抗の測定手法
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中 茂、益田 俊、嶋田 直人、白榊 紘子、宮城 達博、原田 佳奈、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 神経細胞に発現するGタンパク質共役型受容体GPR3は神経突起伸長、極性形成、細胞生存、軸索再生など多様な機能に関与する
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川 慧、原田 佳奈、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 Arduino を基盤とした経上皮電気抵抗測定器の開発—特に電極素材の特性、及び測定回路と手法の基礎的な 検討について—
3. 学会等名 第61回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 酒井 規雄、新開 匡、野口 颯真、榑崎 壮志、石井 友美、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂
2. 発表標題 静脈麻酔薬 Propofol が誘発する PKC 分子種特異的のトランスロケーション PKC の場合
3. 学会等名 第142回 日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野口 颯真、梶本 武利、榑崎 壮志、卜部 智晶、石井 友美、原田 佳奈、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 静脈麻酔薬 Propofol による核内外のタンパク質の局在の変化
3. 学会等名 第142回 日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原田 佳奈、山本 有華、香山 怜佳、横山 英里、高倉 大幹、庄 亮真、足立 直子、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 セロトニントランスポーターのPALMITOYL化部位の解析
3. 学会等名 第142回 日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川 慧、原田 佳奈、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 OpTER: 低コストな上皮・内皮バリア機能評価法の開発 - 研究費削減, 及び研究者負担軽減を目指して -
3. 学会等名 第96回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野口 颯真、梶本 武利、卜部 智晶、柳瀬 雄輝、榎崎 壮志、原田 佳奈、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 静脈麻酔薬PropofolによるPKCトランスロケーションと細胞内局所におけるPKC活性化
3. 学会等名 第139回 日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 茂、白榊 紘子、原田 佳奈、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 リンパ球刺激に伴うGPR3発現上昇とNR4A2発現誘導に与える影響
3. 学会等名 第139回 日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 榎崎 壮志、野口 颯真、卜部 智晶、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂、柳瀬 雄輝、梶本 武利、酒井 規雄
2. 発表標題 プロボオール誘発性PKCトランスロケーションの発生機構に関するPKC領域の同定
3. 学会等名 第140回 日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 益田 俊、田中 茂、白榊 紘子、外丸 祐介、原田 佳奈、秀 和泉、木内 良明、酒井 規雄
2. 発表標題 マウス網膜神経細胞に発現するGPR3が神経障害後の軸索再生に与える影響
3. 学会等名 第140回 日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 茂、奈良井 浩太、猪川 文朗、原田 佳奈、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 神経細胞分化に伴い発現上昇するGPR3が神経分化関連遺伝子発現に与える影響
3. 学会等名 第140回 日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 益田 俊、田中 茂、白榊 紘子、外丸 祐介、原田 佳奈、秀 和泉、木内 良明、酒井 規雄
2. 発表標題 Gs活性化型受容体GPR3がマウス視神経障害後の軸索再生に与える影響
3. 学会等名 第95回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中 茂、白榊 紘子、郭 芸、柳瀬 雄輝、原田 佳奈、秀 和泉、保田 朋波流、酒井 規雄
2. 発表標題 非神経細胞におけるGタンパク質共役型受容体GPR3の多様性と機能的役割
3. 学会等名 第95回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 榎崎 壮志、野口 颯真、卜部 智晶、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂、柳瀬 雄輝、梶本 武利、酒井 規雄
2. 発表標題 プロポフォル誘発性PKCトランスロケーションに関与するPKCドメイン
3. 学会等名 第95回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野口 颯真、梶本 武利、卜部 智晶、柳瀬 雄輝、榑崎 壮志、原田 佳奈、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 Propofol誘発性PKC Translocationの時空間的解析～細胞内局所におけるPKC活性化
3. 学会等名 第95回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原田 佳奈、香山 怜佳、横山 英里、高倉 大幹、庄 亮真、足立 直子、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 パルミトイル化がセロトニントランスポーターの成熟に与える影響
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石井 友美、梶本 武利、榑崎 壮志、野口 颯真、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂、酒井 規雄
2. 発表標題 Protein kinase C (PKC) 阻害薬Calphostin Cは、高濃度で光照射依存性にPKCを活性化させる
3. 学会等名 第143回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 酒井 規雄、平川 明樹、田口 慧、村川 青矢、浅野 昌也、野口 颯真、吉川 慧、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂
2. 発表標題 非ステロイド性抗炎症薬 Flurbiprofen は、分子シャペロン誘導剤として働き、セロトニントランスポーターの機能を制御する
3. 学会等名 第66回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 野口 颯真、梶本 武利、卜部 智晶、榑崎 壮志、原田 佳奈、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 Propofol 誘発性 PKC Translocation の時空間的解析
3. 学会等名 第66回日本神経化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 酒井規雄 平川明樹 田口 慧 村川青矢 浅野昌也 野口颯真 吉川 慧 原田佳奈 秀 和泉 田中茂
2. 発表標題 非ステロイド性抗炎症薬Flurbiprofenは、ケミカルシャペロン、分子シャペロン誘導剤としてセロトニントランスポーターおよびそのミスフォールド変異体の機能を調節する
3. 学会等名 第25回活性アミンに関するワークショップ
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kikkawa, S., Imamura, S., Harada, K., Tanaka, S., Hide, I., Sakai, N.
2. 発表標題 Uncovering the influence of long-term coffee exposure on intestinal epithelial cells' serotonin uptake
3. 学会等名 Neuroscience 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Noguchi, S., Kajimoto, T., Kumamoto, T., Urabe, T., Narasaki, S., Harada, K., HIで、I., Tanaka, S. Sakai, N.
2. 発表標題 Detailed analysis of the mechanism underlying propofol-induced PKC translocation and activation
3. 学会等名 Neuroscience 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masuda, S., Shiraki, H., Sotomaru, Y., Harada, K., Hide, I., Kiuchi, Y., Sakai, N. Tanaka, S.
2. 発表標題 Involvement of G protein-coupled receptor 3 in retinal ganglion neuron survival and axonal regeneration following optic nerve crush in mice
3. 学会等名 Neuroscience 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中 茂、奈良井 浩太、猪川 文朗、白樺 紘子、原田 佳奈、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 PC12 細胞分化において急速に発現する GPR3 の調節メカニズム
3. 学会等名 第97回日本薬理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉川 慧、清田 恵美、原田 佳奈、田中 茂、秀 和泉、文東 美紀、岩本 和也、酒井 規雄
2. 発表標題 コーヒーの長期的な過剰摂取による DNA メチル化を介した腸上皮細胞セロトニントランスポーターの発現変動
3. 学会等名 第97回日本薬理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 野口 颯真、和田 花月、原田 佳奈、田中 茂、秀 和泉、酒井 規雄
2. 発表標題 Propofol とニコチンが誘発する細胞内カルシウム動態 細胞内小器官カルシウムインジケーターCEPIA を用いた観察
3. 学会等名 第97回日本薬理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 野口 颯真、和田 花月、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂、酒井 規雄
2. 発表標題 プロポフォルによる小胞体の形態変化と細胞内カルシウム動態
3. 学会等名 第144回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	酒井 規雄 (Sakai Norio) (70263407)	広島大学・医系科学研究科(医)・教授 (15401)	

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
---------	---------