

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 1 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659046

研究課題名（和文）1発の活動電位発生により細胞死に至る細胞の作製と新規創薬スクリーニング系の開発

研究課題名（英文）Development of recombinant cell lines dying upon single action potential occurrence and the new screening system for compounds acting on ion channels

研究代表者

今泉 祐治 (IMAIZUMI YUJI)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：60117794

研究成果の概要（和文）：

単純でありながら効率の高いイオンチャンネル標的創薬スクリーニング系を創成するため、遺伝子改変イオンチャンネルを発現させた1発の活動電位発生により細胞死が引き起こされる細胞を作成した。電位依存性 Na⁺チャンネル Kv1.5 の極めて遅い不活性化を示す点変異型 Na⁺チャンネルと内向き整流性 K⁺チャンネル (Kir2.1) を定常発現させた HEK293 細胞（基準細胞）を作成した。この細胞に電気刺激を加えると非常に長い活動電位が発生し細胞死をもたらした。さらに創薬標的となるイオンチャンネル、特に再分極電流を発生する K⁺イオンチャンネルもこの細胞に定常発現させると、活動電位幅が短縮され細胞死は抑制された。標的チャンネルの阻害薬存在下で刺激すると、阻害薬用量依存的に活動電位持続時間が延長され細胞死の確率が上昇した。本スクリーニング系は簡便な系であるにも関わらず、定量的なスクリーニングが可能であり、実用化が期待される。

研究成果の概要（英文）：

To provide a simple but high throughput screening method for compounds acting on ion channels, a new recombinant cell line, in which single action potential (AP) induced cell death, was produced by gene transfection. Mutated human cardiac Na⁺ channel Nav1.5 (IFM/Q3), which shows extremely slow inactivation, and wild type inward rectifier K⁺ channel, Kir2.1 were stably co-expressed in HEK293 cells (IFM/Q3+Kir2.1). In IFM/Q3+Kir2.1, application of single electrical stimulation (ES) elicited a long AP lasting over 30 s and led cells to die by over 70 %, while HEK293 co-transfected with wild type Nav1.5 and Kir2.1 fully survived.

The additional expression of hERG K⁺ channels in IFM/Q3+Kir2.1 shortened the duration of evoked AP and, thereby, markedly reduced the cell death. The treatment of the cells with nifekalant, E-4031, cisapride, terfenadine and verapamil, hERG channel inhibitors, recovered the prolonged AP and dose-dependently facilitated cell death upon ES. Results indicate the high utility of this cell system for hERG K⁺ channel safety assay.

Moreover, to develop a screening system for blockers of voltage-gated Kv1.3 and Kv1.5 channels, new cell lines co-expressing IFM/Q3, Kir2.1 and Kv1.3 or Kv1.5 were introduced as IFM/Q3+Kir+Kv1.3 and IFM/Q3+Kir+Kv1.5, respectively. Co-expression of Kv1.3 or Kv1.5 to IFM/Q3+Kir shortened the evoked APs and prevented the cell death. In the presence of margatoxin, a selective Kv1.3 blocker, ES induced the cell death in IFM/Q3+Kir+Kv1.3, but not in IFM/Q3+Kir+Kv1.5. In the presence of 4-aminopyridine, a non-selective Kv channel blocker, ES application elicited cell death in both cell lines. The IC₅₀s of acacetin, a Kv1.5 blocker, and citalopram, a 5-HT uptake-inhibitor, in IFM/Q3+Kir+Kv1.3 were almost identical to those in IFM/Q3+Kir+Kv1.5. It was, thereby, found that acacetin and citalopram block both Kv1.3 and Kv1.5 without significant selectivity.

The new cell lines for hERG, Kv1.3 or Kv1.5 channel inhibition assay fit to the high-throughput screening because of its simplicity, accuracy and high cost-performance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：生物系薬学

科研費の分科・細目：

キーワード：イオンチャンネル；活動電位；細胞死；創薬標的分子；高効率探索系

1. 研究開始当初の背景

活動電位を発生する興奮性細胞において、電位依存性 Na⁺チャンネルが細胞機能上、圧倒的な重要性を有していることは論を待たない。活動電位という高速シグナルの担い手の分子であり、活性化に続く極めて速やかな不活性化がその分子機能を可能にしている。一方、電位依存性 Na⁺チャンネルの過剰な活性は様々な疾患をもたらす。特に遺伝子異常を含む何らかの原因による不活性化の遅延は、極めて重篤な疾患、例えば、特定のてんかんや不整脈などをもたらす (Diss JK., *Eur Biophys J.* 2004)。また、トリカブト毒成分のアコニチンなどの数種の低分子化合物は、Na⁺チャンネル不活性化を遅延させ、活動電位幅の延長を引き起こすことにより毒性を発揮する。従って、電位依存性 Na⁺チャンネルの不活性化機構は非常に深く研究され、不活性化を担う複数部位のアミノ酸群の同定が行われており (図1参照)、これらの部位のアミノ酸を遺伝子の点変異で置換すると、不活性化が遅延されることも明らかとなっている (Grant AO. et al., *Biophys J.*, 2000)。さらにそのような変異を有する Na⁺チャンネル発現細胞は死に易いことも記述されている。

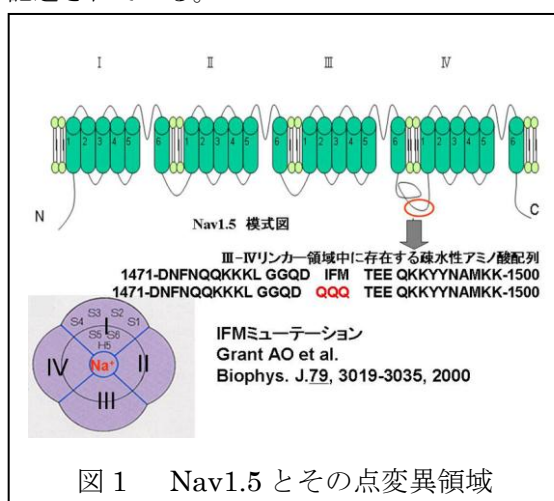


図1 Nav1.5 とその点変異領域

しかしながら過剰な Na⁺流入による Na⁺貯留の定量的解析や細胞障害発生機構の解明は充分なされておらず、中枢神経や心筋などそ

れぞれの細胞種で異なった議論が行われている。また、不活性化遅延性の変異型 Na⁺チャンネルを定常発現した細胞を作成し、これを用いて急速 Na⁺流入による細胞死の機序の解明などを行った報告は、本研究までなかった。

2. 研究の目的

高頻度の活動電位発生やウィンド（不活性化を受けない微弱な定常的）Na⁺電流など、電位依存性 Na⁺チャンネルの過剰な活性が、神経や筋細胞に障害、さらに細胞死をもたらすことはよく知られているが、その障害機構の解明は充分でなかった。その理由として、有用なモデル細胞が欠如していることが挙げられるため、本研究では下記の3点を目的とした。

- (1) 1 発の超持続性の活動電位発生により急速な Na⁺流入と確実な細胞死がもたらされるモデル細胞系を構築すること。
- (2) このユニークなモデル細胞を用いて急速な Na⁺流入による細胞障害発生機構と細胞死に至る過程を解明すること
- (3) イオンチャンネル標的創薬の画期的スクリーニング系の開発に結び付けること。

ただし、このモデル細胞に関するアイデア自体は既に、本申請以前に特許出願している。「イオンチャンネルに作用する化合物のスクリーニング用材料及びその利用」特願 2010-147255。

3. 研究の方法

(I) 電気刺激による 1 発の活動電位発生により細胞死が引き起こされ、かつ安定継代培養が可能な細胞（基準細胞）を作成するため、HEK293 細胞にまず Kir2.1 を定常発現させ、さらに変異型 Nav1.5 を定常発現させた。膜電流や活動電位はパッチクランプ法を用いて測定した。96 穴プレートに基準細胞を短期培養し、白金双極電極をそれぞれのウェルに挿入して電気刺激した。この電気刺激により生じた細胞死の割合を MTT 法により測定・定量化した。

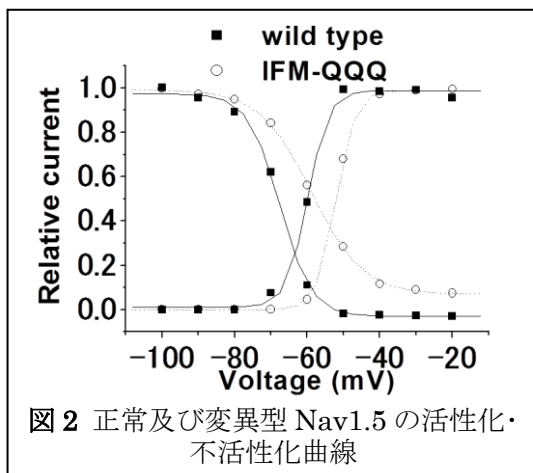
(II) (I)で作製する基準細胞において、持続的活動電位発生による急速な細胞内 Na^+ 濃度上昇や細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を画像解析により計測した。

(III) (I)で作製する基準細胞をイオンチャネル標的創薬の新規高効率スクリーニングシステムへと応用展開するため、「基準細胞」へ創薬標的候補となるイオンチャネルをさらに遺伝子導入により発現させ、候補化合物のスクリーニングが可能かを検証する。また hERG チャネル阻害の安全性試験への応用を、hERG も定常発現した「新規試験細胞」の作製、刺激電極付の 96 穴プレートの開発などを含めて実用化の展開を図る。

4. 研究成果

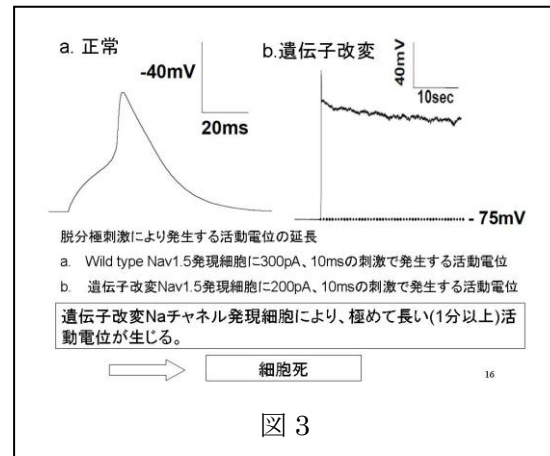
1. 変異型 Nav1.5 の電位依存性の精査

図 1 に示した変異を含む Nav1.5 (IFM-QQQ) を HEK293 細胞に一過性に発現させ、天然型 Nav1.5 と活性化・不活性化の電位依存性を精査したところ、図 2 に示すとおり、-55 mV より正の電位に於いて定常的に大きなチャネル活性が見られることが明らかとなった。

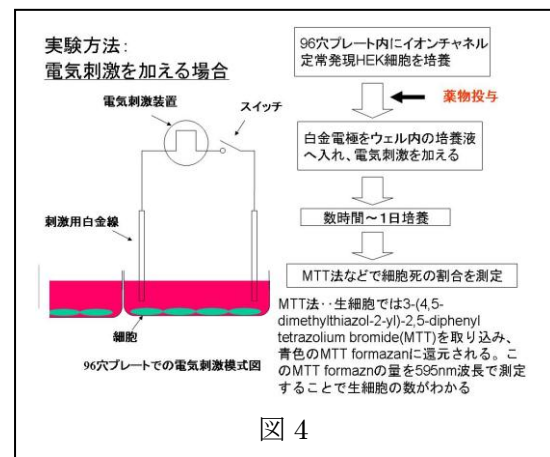


2. Kir2.1 と変異型 Nav1.5 を定常発現させた細胞における活動電位の解析

HEK293 細胞に Kir2.1 を定常発現させた細胞を作成したところ、-80 mV 程度の静止膜電位を保った。さらに変異型 Nav1.5 も加えて定常発現させた細胞を作成した。この細胞を電流固定下で短いパルスで脱分極刺激したところ、図 3 に示す 1 分近い持続時間を有する活動電位が記録された。 Na^+ チャネル阻害薬の 1 mM リドカイン存在下では、刺激による活動電位の発生が抑制されるか、もしくは持続時間は著しく短縮された。多細胞を同時に 1 発のフィールド刺激により活性化したところ、80%以上の細胞に於いて、5 分以内に細胞死が生じることが、トライパンブルー染色により明らかになり、速やかなネクロシスが生じた可能性が示唆された。



また、細胞内 Na^+ 濃度を CoroNa Gree を用いて測定したところ、細胞内 Na^+ 濃度が刺激後 5 分で 60 mM、10 分後に 100mM を超えた。さらに 96 穴プレートに短期培養した基準細胞を、電気刺激したところ 70%程度の細胞で細胞死が生じ、この細胞死は完全に抑制された。以上より、1 発の活動電位発生により、細胞死を生じる細胞の作成に成功した。



3. hERG 遺伝子の追加発現による hERG 安全性試験用細胞の作成

基準細胞にさらに hERG K^+ チャネルを遺伝子導入により定常発現させ、電気刺激したところ、活動電位持続時間は短く、細胞死は生じ難かった。hERG 抑制薬のニフェカントの存在下で電気刺激したところ、それらの hERG 抑制薬の濃度に依存して、活動電位持続時間が延長し (図 5)、細胞死が増加した。hERG 抑制作用が知られているシサプリド、E-4031、テルフェナジン、ベラパミル存在下の電気刺激により、同様に用量依存性の細胞死が誘発され、それらの EC_{50} はパッチクランプ法で測定した hERG に対する IC_{50} と非常に近かった。これらの結果から、本試験細胞が hERG 安全性試験に有用であると結論づけられた。

4. イオンチャネル標的創薬の高効率スクリ

ーニングシステムとしての可能性

電位依存性 K⁺チャンネルのうち、Kv1.3 は T リンパ球などの免疫細胞に、Kv1.5 は心房細胞に高発現しており、それぞれ自己免疫疾患、心房細動の治療標的分子として注目されている。そこでこれらのイオンチャンネルをそれぞれ定常発現した基準細胞を作成し、高効率スクリーニングへの有用性を検討した。

Kv1.3 あるいは Kv1.5 を定常発現した基準細胞では、電気刺激による活動電位の持続時間は短く (図 6)、細胞死の発生率は低かった。

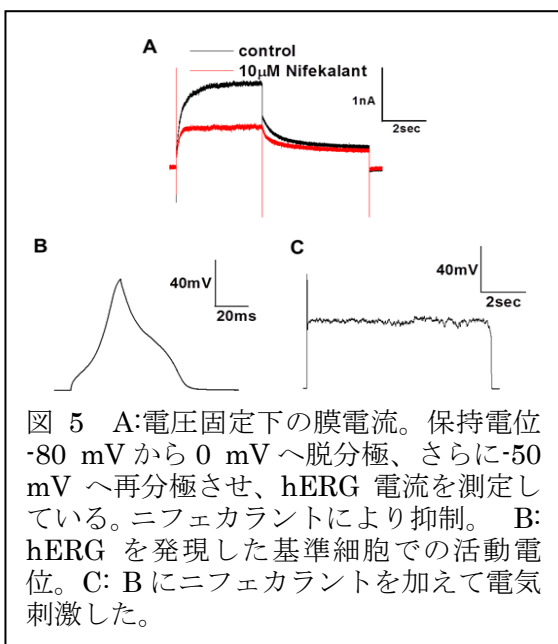


図 5 A: 電圧固定下の膜電流。保持電位 -80 mV から 0 mV へ脱分極、さらに -50 mV へ再分極させ、hERG 電流を測定している。ニフェカラントにより抑制。 B: hERG を発現した基準細胞での活動電位。 C: B にニフェカラントを加えて電気刺激した。

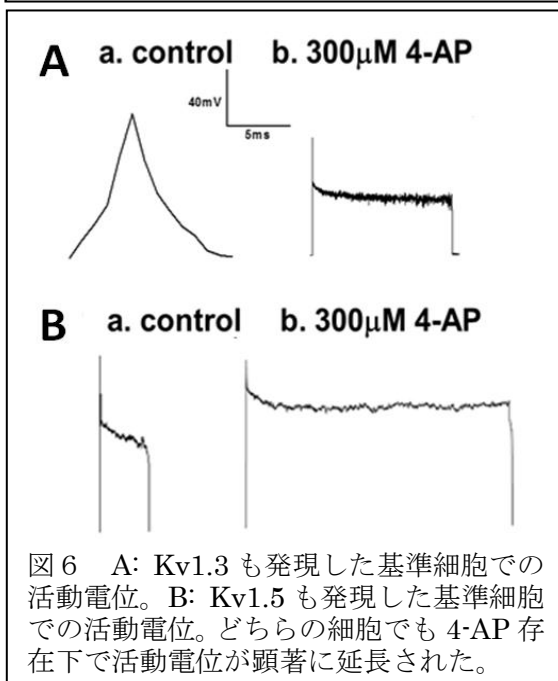


図 6 A: Kv1.3 も発現した基準細胞での活動電位。 B: Kv1.5 も発現した基準細胞での活動電位。どちらの細胞でも 4-AP 存在下で活動電位が顕著に延長された。

非選択的な電位依存性 K⁺チャンネル阻害薬である 0.3 mM 4-aminopyridine の存在下では、活動電位持続時間が大きく延長され、細胞死

が生じた。

Kv1.3 選択的なペプチド性阻害薬のマリガトキシン存在下では、刺激により Kv1.3 発現基準細胞でのみ、用量依存的に細胞死が生じた。これまで Kv1.5 に比較的に選択的な阻害薬として知られるアカセチン (天然物成分) やシタロプラム (5-HT 再取込阻害薬) は、Kv1.3 も抑止したところから、Kv1.5 に対する選択性は低いことが明らかとなった。

以上より、基準細胞にさらに創薬標的のイオンチャンネルを共発現させた細胞系は、当該イオンチャンネルの活性化が活動電位波形を短縮するならば、そのチャンネルに対する阻害薬の高効率スクリーニング系として用いることができると推測される (図 7)。

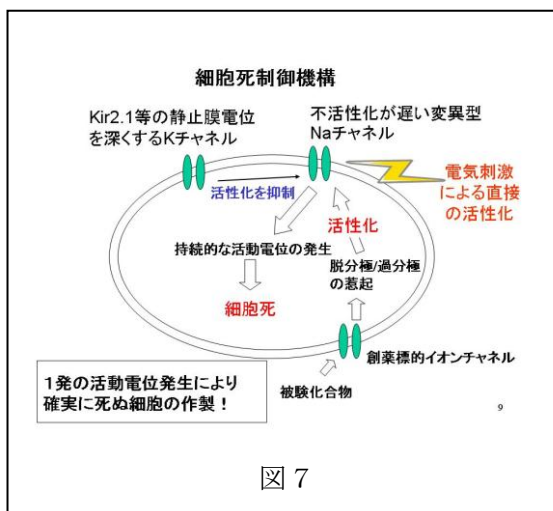


図 7

また、5-HT_{3A} 受容体やニコチン性アセチルコリン受容体のような、活性化により脱分極を引き起こすイオンチャンネル内蔵型受容体を共発現した基準細胞の場合は、アゴニストによる脱分極で持続時間の長い活動電位が発生することから、やはり高効率スクリーニング系として用いることができると推測される。

従って本法はイオンチャンネル標的創薬において汎用性のある簡便な新規アッセイ系として有用であることが示された。さらなる実用化が期待される。

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 11 件)

① Yamamura H, Imaizumi Y. Total internal reflection fluorescence imaging of Ca²⁺-induced Ca²⁺ release in mouse urinary bladder smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 査読有、427(1)、2012、54-9

DOI:10.1016/j.bbrc.2012.08.145

②Yamamura H, Ohya S, Muraki K, Imaizumi Y. Involvement of IP₃ formation in the voltage-dependent regulation of the Ca²⁺ concentration in porcine coronary arterial smooth muscle cells. 査読有、342(2)、2012、486-96

DOI: 10.1124/jpet.112.194233

③Niwa S, Ohya S, Kojima Y, Sasaki S, Yamamura H, Sakuragi M, Kohri K, Imaizumi Y. Down-regulation of the large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel, K_{Ca}1.1 in the prostatic stromal cells of benign prostate hyperplasia. 査読有、35(5)、2012、734-44

DOI:10.1248/bpb.35.737

④Fujii M, Ohya S, Yamamura H, Imaizumi Y. Development of recombinant cell line co-expressing mutated Nav1.5, Kir2.1, and hERG for the safety assay of drug candidates. J. Biomol. Screen. 査読有、17(6)、2012、773-83

DOI:10.1177/1087057112442102.

⑤Yamamura H, Ikeda C, Suzuki Y, Ohya S, Imaizumi Y. Molecular assembly and dynamics of fluorescent protein-tagged single K_{Ca}1.1 channel in expressionsystem and vascular smooth muscle cells. Am. J Physiol. Cell. Physiol. 査読有、302(8)、2012、C1257-68

DOI:10.1152/ajpcell.00191.2011.

⑥イオンチャネル標的創薬における HTS の現状と展望。

藤井将人, 大矢進, 山村寿男, 今泉祐治. 日薬理誌. 査読有、138(6)、2011、229-33【総説】

URL:http://www.jstage.jst.go.jp/browse/fpj/-char/ja

⑦Serotonin augments gut pacemaker activity via 5-HT₃ receptors.

Liu HN, Ohya S, Nishizawa Y, Sawamura K, Iino S, Syed MM, Goto K, Imaizumi Y, Nakayama S.

PLoS One. 査読有、6(9)、2011、e24928

DOI: 10.1371/journal.pone.0024928

⑧TRIC-A channels in vascular smooth muscle contribute to blood pressure maintenance.

Yamazaki D, Tabara Y, Kita S, Hanada H, Komazaki S, Naitou D, Mishima A, Nishi M, Yamamura H, Yamamoto S, Kakizawa S, Miyachi H, Yamamoto S, Miyata T, Kawano Y, Kamide K, Ogihara T, Hata A, Umemura S, Soma M, Takahashi N, Imaizumi Y, Miki T, Iwamoto T, Takeshima H.

Cell Metab. 査読有、14(2)、2011、231-41

DOI: 10.1016/j.cmet

⑨Intermediate-conductance Ca²⁺-activated

K⁺ channel, KCa3.1, as a novel therapeutic target for benign prostatic hyperplasia. Ohya S, Niwa S, Kojima Y, Sasaki S, Sakuragi M, Kohri K, Imaizumi Y.

J Pharmacol Exp Ther. 査読有、338(2)、2011、528-36

DOI: 10.1124/jpet.111.182782

⑩Up-regulation of K_{ir}2.1 by ER stress facilitates cell death of brain capillary endothelial cells.

Kito H, Yamazaki D, Ohya S, Yamamura H, Asai K, Imaizumi Y.

Biochem Biophys Res Commun. 査読有、411(2)、2011、293-8

DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.06.128

⑪Involvement of dominant-negative spliced variants of the intermediate conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel, K_{Ca}3.1, in immune function of lymphoid cells.

Ohya S, Niwa S, Yanagi A, Fukuyo Y, Yamamura H, Imaizumi Y.

J Biol Chem. 査読有、286(19)、2011、16940-52

DOI:10.1074/jbc.M110.184192

〔学会発表〕(計 54 件)

①山村寿男 膀胱平滑筋細胞における活動電位発生時のミトコンドリア Ca(2+)取り込み機構、日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月 30 日(横浜)

②鬼頭宏彰 脳血管内皮細胞の細胞周期進行における Ca(2+) release-activated Ca(2+) channel の発現変動、日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月 29 日(横浜)

③松木克仁 マウス妊娠・非妊娠子宮における細胞内 Ca(2+)動員機構機能解析、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 22 日(福岡)

④藤井将人 1 発の活動電位発生により細胞死を起こす遺伝子改変導入細胞を用いた選択的な Kv チャネル阻害薬の新規スクリーニング法の開発、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 22 日(福岡)

⑤鈴木良明 軟骨細胞モデル細胞株(OUMS-27)由来の新規 BK α スプライスバリエント体の解析、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 22 日(福岡)

⑥大羽輝弥 K(ATP)チャネル開口薬によって引き起こされる膜電位の変化による繊毛運動への影響、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 22 日(福岡)

⑦大城隼也 リアノジン受容体と Ca(2+)活性化 CI(-)チャネル TMEM16A の共発現 HEK293 細胞での Ca(2+)クロックの電気信号への変換、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 22 日(福岡)

⑧伊奈山宗典 軟骨細胞におけるヒスタミ

ン誘発性 Ca(2+) 流入に SOC チャネルが寄与する、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 22 日 (福岡)

⑨清田恵子 ラット松果体細胞における自発的電気活動と過分極活性化非選択的陽イオンチャネル、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 22 日 (福岡)

⑩鬼頭宏彰 脳血管内皮細胞における細胞周期進行と細胞増殖に対する CRAC チャネルの寄与の解明、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 22 日 (福岡)

⑪大城隼也 門脈平滑筋における Cacc 活性に対する TMEM16A の寄与、第 22 回日本循環薬理学会、2012 年 11 月 30 日 (富山)

⑫鈴木良明 腎動脈結紮高血圧モデルマウス(2K1C モデルマウス)由来抵抗血管における内向き整流性 K⁺チャネル(K_{ir}2.1)の機能変化 IP₃シグナルの電位依存性と Ca²⁺依存性、第 22 回日本循環薬理学会、2012 年 11 月 30 日 (富山)

⑬鈴木良明 平滑筋細胞における RyR2 及び RyR3 の機能解析、平成 24 年度 生理研研究会「イオンチャネル・トランスポーターと心血管機能：細胞機能の分子機序とその統合的理解」、2012 年 11 月 22 日 (岡崎)

⑭松木克仁 マウス非妊娠・妊娠子宮平滑筋における Ca(2+) 動員機構の機能、第 122 回日本薬理学会近畿部会、2012 年 11 月 16 日 (大阪)

⑮鈴木良明 軟骨細胞モデル細胞株(OUMS-27)由来の新規 BK α スプライズバリエーション体の機能解析、第 122 回日本薬理学会近畿部会、2012 年 11 月 16 日 (大阪)

⑯清田恵子 ラット松果体細胞における過分極活性化環状ヌクレオチド依存性チャネルの機能解析、第 11 回次世代を担う若手ファーマバイオフォーラム、2012 年 9 月 16 日 (福岡)

⑰藤井将人 長期持続性活動電位を発生する細胞を用いたイオンチャネル創薬における新規スクリーニング系の開発、第 11 回次世代を担う若手ファーマバイオフォーラム、2012 年 9 月 15 日 (福岡)

⑱大羽輝弥 マウス気道上皮繊毛運動の細胞内 Ca²⁺濃度及び膜電位への依存性と K⁺チャネル開口薬の作用、次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム、2012 年 9 月 1 日 (神戸)

⑲伊奈山宗典 軟骨細胞の小胞体 Ca²⁺枯渇による Orail/STIM1 の共局在と機能解析、次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム、2012 年 9 月 1 日 (神戸)

⑳Yoshiaki Suzuki Caveolin-1 Promotes Functional Coupling Between BK Channel And Cav1.2 And Regulates Excitability In Vascular Smooth Muscle Cells. 2012 International Ion Channel Conference(IICC), 2012.8.24-27. (Korea)

㉑Munenori Inayama Functional Coupling between Ca²⁺-activated K⁺ Channels and Store Operated Ca²⁺ Entry Channels in Chondrocytes. 2012 International Ion Channel Conference(IICC)、2012.8.24-27. (Korea)

㉒鈴木良明 腎動脈結紮高血圧モデルマウスにおける内向き整流性 K⁺チャネル(K_{ir}2.1)の機能変化 IP₃シグナルの電位依存性と Ca²⁺依存性、第 54 回日本平滑筋学会総会、2012 年 8 月 3 日 (東京)

㉓山村寿男 ブタ冠動脈平滑筋細胞における IP₃シグナルの電位依存性と Ca²⁺依存性、第 54 回日本平滑筋学会総会、2012 年 8 月 3 日 (東京)

㉔鬼頭宏彰 脳血管内皮細胞における CRAC チャネルを介した細胞増殖機構の解明、第 121 回日本薬理学会近畿部会、2012 年 6 月 29 日 (徳島)

㉕山村寿男 血管平滑筋細胞における電位依存のおよび Ca²⁺依存的 IP₃産生機構、第 121 回日本薬理学会近畿部会、2012 年 6 月 29 日 (徳島)

㉖鈴木良明 血管平滑筋細胞における RyR3 スプライズ変異体の役割、第 121 回日本薬理学会近畿部会、2012 年 6 月 29 日 (徳島)

㉗鬼頭宏彰 脳血管内皮細胞における Orail を介した store-operated Ca²⁺ entry の役割、第 8 回 TRP チャネル研究会、2012 年 6 月 14 日 (岡崎)

㉘藤井将人 細胞死測定を用いた電位依存性カリウムチャネル標的創薬スクリーニング法の開発
日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 30 日 (札幌)

㉙大矢進 炎症性大腸炎モデルにおける T リンパ球 Ca²⁺活性化 K⁺チャネル(K_{Ca}3.1)の役割
日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 30 日 (札幌)

㉚松木克仁 マウス子宮平滑筋における妊娠・非妊娠での Ca²⁺動員機構にかかわるイオンチャネルの発現と機能

日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 30 日 (札幌)

㉛今泉祐治【シンポジウム講演】
平滑筋臓器における Ca²⁺クロックとペースメーカー機能

Calcium clock and pacemaking activity in smooth muscle tissues

第 89 回日本生理学会大会、2012 年 3 月 29 日 (長野)

㉜大羽輝弥 気管上皮繊維細胞における膜電位と細胞内カルシウム濃度の関係

第 85 回日本薬理学会年会、2012 年 3 月 16 日 (京都)

㉝藤井将人 一発の活動電位発生により細胞死を起こす遺伝子改変導入細胞を用いた電

位依存性K⁺チャネルスクリーニング法の開発
第85回日本薬理学会年会、2012年3月15日
(京都)

③④丹羽里実 前立腺肥大モデルラットの移植
排尿生殖洞における大コンダクタンスカル
シウム活性化カリウムチャネル発現
第85回日本薬理学会年会、2012年3月15日
(京都)

③⑤鈴木良明 BK-Cav1.2 複合体形成と血管平
滑筋細胞機能に対するカベオラの寄与
第85回日本薬理学会年会、2012年3月15日
(京都)

③⑥大城隼也 平滑筋細胞における TMEM16
family の発現と Ca²⁺活性化 Cl⁻チャネル活性
第85回日本薬理学会年会、2012年3月15日
(京都)

③⑦大矢進 接触過敏症モデルマウスの耳介リ
ンパ節 T リンパ球における Ca²⁺活性化 K⁺チャ
ネル K_{Ca}3.1 の役割
第85回日本薬理学会年会、2012年3月15日
(京都)

③⑧丸山史登 腎動脈結紮高血圧モデルマウス
における血管径制御機構に対する内向き整
流性 K⁺チャネル(K_{ir}2.1)の寄与
第85回日本薬理学会年会、2012年3月15日
(京都)

③⑨鬼頭宏彰 脳血管内皮細胞の細胞増殖にお
ける CRAC チャネルの寄与
第85回日本薬理学会年会、2012年3月14日
(京都)

④⑩清田恵子 ラット松果体における過分極活
性化環状ヌクレオチド依存性チャネル発現
解析
第85回日本薬理学会年会、2012年3月14日
(京都)

④⑪Junya Ohshiro Calciumclock in smooth
muscle tissues and reconstituted model of
pacemaking activity
The1st HD Physiology International
Symposium: Integrative Multi-level
Systems Biology for *In silico* Cardiology
and Pharmacokinetics, 2012. 1. 21. (Tokyo);

④⑫鈴木良明 BK チャネル-Cav1.2 複合体形成
及び血管平滑筋細胞機能に対するカベオリ
ン1/カベオラの役割
第21回日本循環薬理学会、2011年12月2日
(岡山)

④⑬鬼頭宏彰 脳血管内皮細胞の細胞増殖・細
胞死を制御するカリウムチャネル
生理研研究会「心血管イオンチャネル・トラ
ンスポーター研究の新展開 - 基礎研究と臨
床研究の融合 -」、2011年11月29日(岡崎)

④⑭福与由香 炎症性腸疾患モデルの腸間膜リ
ンパ節 T リンパ球におけるカルシウム活性化
カリウムチャネル機能・発現解析
第120回日本薬理学会近畿部会、2011年11
月11日(京都)

④⑮伊奈山宗典 軟骨細胞における SOCE を介し
た Ca²⁺流入経路の解明
第120回日本薬理学会近畿部会、2011年11
月11日(京都);

④⑯鬼頭宏彰 脳血管内皮細胞における Kir2.1
チャネルを介した細胞死制御機構の解明
次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム
2011、2011年8月31日(東京);

④⑰大城隼也 Ca²⁺-clock から伝播型膜電位オ
シレーションへ:再構築系による末梢組織ペ
ースメーカーモデル細胞の作製
次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム
2011、2011年8月31日(東京);

④⑱松木克仁 マウス非妊娠・妊娠における 3
型リアノジン受容体の発現と機能変化
第53回日本平滑筋学会総会、2011年8月3
日(東京);

④⑲福与由香 炎症性腸疾患モデルにおけるカ
ルシウム活性化カリウムチャネル阻害薬の
効果
第57回日本薬学会東海支部大会、2011年7
月9日(名古屋)

④⑳藤井将人 長期持続性活動電位を発生する
細胞を用いたイオンチャネル創薬における
新規スクリーニング系の開発
第119回日本薬理学会近畿部会、2011年7月
8日(名古屋)

④㉑鈴木良明 血管平滑筋機能に対する BK チャ
ネル-VDCC 複合体とカベオラの寄与の解明
第119回日本薬理学会近畿部会、2011年7月
8日(名古屋)

④㉒鬼頭宏彰 脳血管内皮細胞における内向き
整流性 K⁺(K_{ir}2.1)チャネルを介した細胞死制
御機構の解明
第119回日本薬理学会近畿部会、2011年7月
8日(名古屋)

④㉓堀場さゆり 接触性皮膚炎モデルマウスに
おける T リンパ球カルシウム活性化カリウム
チャネル発現・活性調節
第119回日本薬理学会近畿部会、2011年7月
8日(名古屋)

④㉔今泉祐治
イオンチャネルをターゲットとした創薬
北里大学大学院薬学研究科大学院講義、2011
年5月19日(東京)

〔図書〕(計0件)

〔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.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/ysg/
index.html](http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/ysg/index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今泉 祐治 (IMAIZUMI YUJI)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授

研究番号：60117794

(2) 研究分担者

大矢 進 (OHYA SUSUMU)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：70275147

山村 寿男 (YAMAMURA TOSHIO)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・

准教授

研究者番号：80398362