

K⁺ チャネルとその機能制御因子の分子薬理学的研究

大矢 進

Molecular Pharmacological Studies on Potassium Channels and Their Regulatory Molecules

Susumu OHYA

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, 3-1 Tanabedori,
Mizuho-ku, Nagoya City 467-8603, Japan

(Received July 11, 2006)

K⁺ channels play important roles in the control of a large variety of physiological functions such as muscle contraction, neurotransmitter release, hormone secretion, and cell proliferation. Over 100 cloned K⁺ channel pore-forming α and accessory β subunits have been identified so far. Here, we introduce a series of molecular pharmacological and physiological studies on some types of voltage-dependent K⁺ channels and Ca²⁺-activated K⁺ channels. We examined molecular cloning and functional characterization of novel, fast-inactivating, A-type K⁺ channel α (Kv4.3L) and β (KChIP2S) subunits predominantly expressed in mammalian heart and found the sites in Kv4 channels for 1) the regulation of voltage dependency and 2) the CaMKII phosphorylation in the C-terminal cytoplasmic domain. Moreover, we found that delayed rectifier-type K⁺ channels (ERG1 and KCNQ) contribute to the resting membrane conductance in vascular and gastrointestinal smooth muscles. The large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ (BK) channel is ubiquitously expressed and contributes to diverse physiological processes. Recent reports have shown that a BK-like channel (mitoK_{Ca}) is expressed in cardiac mitochondria, suggesting that BK channel openers protect mammalian hearts against ischemic injury. Our studies revealed that BK β 1 interacts with cytochrome c oxidase I (Cco1) in cardiac mitochondria, and that the activation of BK channels by 17 β -estradiol results in a significant increase in the survival rate of ventricular myocytes. These findings suggest that BK β 1 may play an important role in the regulation of cell respiration in cardiac myocytes and be a target for the modulation by female gonadal hormones.

Key words—A-type K⁺ channel; Ca²⁺-activated K⁺ channel; mitochondria; smooth muscle; K⁺ channel opener

1. はじめに

イオンチャネルは、細胞膜を貫通し、イオンを選択的に透過する膜タンパク質である。イオンチャネル研究は、1950年代のHodgkin博士とHuxley博士の電位固定法に始まり(1963年にノーベル医学・生理学賞受賞)¹⁾ 1970年代にNeher博士とSakmann博士が開発したパッチクランプ法による単一チャネル記録法により飛躍的に発展した(1991年にノーベル医学・生理学賞受賞)²⁾ また、京都大学医学部の沼教授は、電気生理学的手法を用いた遺伝子発現産物のアッセイシステムを開発し、イオンチャネルの分子生物学研究を先導した。³⁾ 最近では、

米国ロックフェラー大学のMacKinnon教授が、イオンチャネルの立体構造解明によりノーベル化学賞(2003年)を受賞し、⁴⁾ イオンチャネル研究が医薬科学領域において脚光を浴び続けていることは言うまでもない。Na⁺、Ca²⁺、K⁺チャネルを始め、現在までに実に多くのイオンチャネル・トランスポーター遺伝子がクローニングされ、⁵⁾ 基本的な分子構造・生理機能・薬理特性が同定された。また、イオンチャネル機能制御分子群による複雑なシグナル伝達系の詳細やそれらの神経系、循環器系、免疫系疾患との関わりが明らかにされている。^{6,7)} 本総説では、1) K⁺チャネルの構造・生理学的意義、2) 平滑筋における電位依存性K⁺チャネルの分子基盤解明、3) ミトコンドリアCa²⁺活性化K⁺チャネルと心筋保護作用、4) K⁺チャネル研究の展望について概説する。

名古屋市立大学大学院薬学研究科(〒467-8603 名古屋市瑞穂区田辺通3-1)

e-mail: sohya@phar.nagoya-cu.ac.jp

本総説は、平成18年度日本薬学会奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

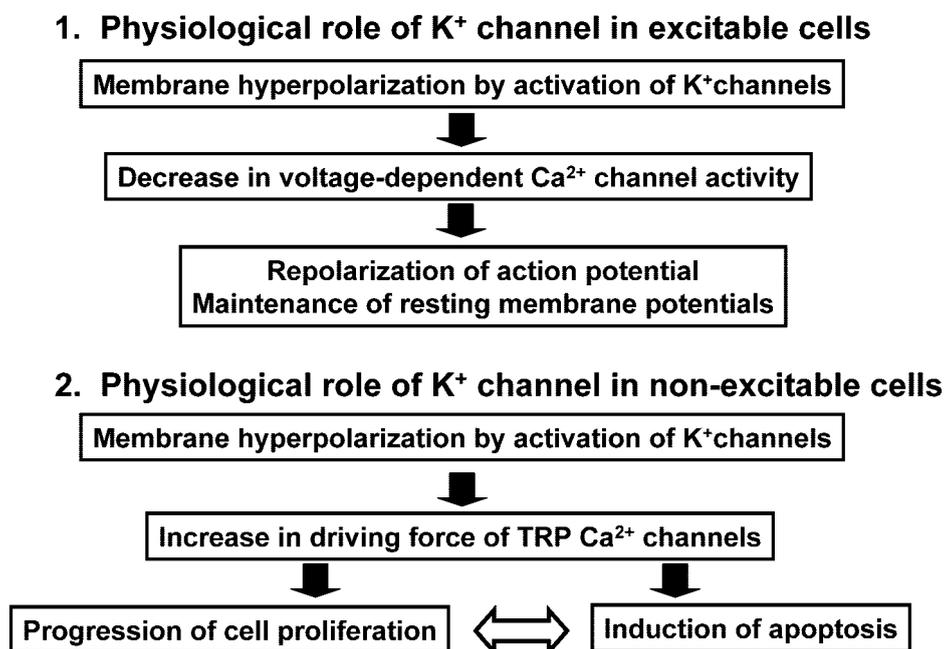


Fig. 1. Physiological Significance of K⁺ Channels in Excitable and Non-excitable Cells

2. K⁺ チャネルの構造と生理的役割

K⁺ チャネルは、神経細胞、筋細胞（心筋、平滑筋）等の興奮性細胞だけでなく、腎、膵、肝細胞等の非興奮性細胞にも広く分布し、筋収縮、神経伝達物質遊離、ホルモン分泌、細胞増殖などの多様な生理機能に重要な役割を果たしている。⁸⁾ 興奮性細胞では、K⁺ チャネル活性化による細胞膜の過分極が電位依存性 Ca²⁺ チャネル活性を抑制するため、膜電位を静止状態に維持し、発火頻度を減少させる (Fig. 1).⁹⁻¹³⁾ したがって、K⁺ チャネル開口薬は、高血圧症・気道過敏症・排尿困難・勃起不全・癲癇の治療薬として期待されている。一方、非興奮性細胞では、K⁺ チャネル活性化による細胞膜の過分極が電位非依存性 Ca²⁺ チャネル (Transient Receptor Potential, TRP チャネル) の駆動力を増大させるため、T リンパ球や癌細胞の細胞増殖を促進する (Fig. 1).^{14,15)} したがって、K⁺ チャネル阻害薬は、多発性硬化症や関節リウマチのような自己免疫疾患や大腸癌・乳癌を始めとする癌治療薬として期待されている。¹⁶⁾

K⁺ チャネルは、電気生理学特性や構造の違いにより、1) 膜 6 回貫通型の「電位依存性 K⁺ チャネル」及び「Ca²⁺ 活性化 K⁺ チャネル (ただし哺乳類の大コンダクタンス Ca²⁺ 活性化 K⁺ チャネルは膜 7 回貫通型)」、2) 膜 2 回貫通型の「内向き整流

性 K⁺ チャネル」(ATP 感受性 K⁺ チャネルを含む)、3) 膜 4 回貫通型の「電位非依存性 K⁺ チャネル」に分類され、イオン孔を構成する α サブユニットと電流特性を制御する β サブユニットを含めると 100 種類以上の遺伝子群から構成される。電位依存性 K⁺ チャネル、Ca²⁺ 活性化 K⁺ チャネル、及び内向き整流性 K⁺ チャネルは 4 量体を、電位非依存性 K⁺ チャネルは 2 量体を形成してそれぞれイオン孔として働くため、 α サブユニット遺伝子種の多様性に加えてヘテロ体形成がさらに機能多様性を生じさせる。¹⁷⁾ また、電位依存性 K⁺ チャネルは、脱分極刺激後すぐに不活性化される「早期不活性化 K⁺ チャネル」と活性化が持続する「遅延整流性 K⁺ チャネル」に細分類される。

平滑筋細胞では、臓器種により興奮性、収縮性、興奮-収縮連関の性質が著しく異なり、平滑筋細胞は細胞膜の電氣的興奮性の違いから次の 3 グループに分類される。¹⁸⁾ 平滑筋膜興奮性の多様性の一因と



大矢 進

名古屋市立大学大学院薬学研究科助教授。1968 年名古屋生まれ。名古屋市立大学薬学部卒業、同博士前期課程修了。1995 年名古屋市立大学助手。2005 年同助教授。米国ネバダ大学医学部に留学。イオンチャネルの分子薬理的・病態生理学的研究。趣味はクラシック・ジャズ音楽鑑賞。

して、各種 K^+ チャネル分布の差異が関与していると考えられる。^{18,19)}

グループ A: 自発性の活動電位を発生する平滑筋 (膀胱, 消化器, 門脈など)

グループ B: 自発性の活動電位を発生しないが, 自律神経刺激や筋直接の電気刺激等によって活動電位を発生する平滑筋 (輸精管, 尿管, 胃底部など)

グループ C: 生理条件下では刺激によっても活動電位を発生しない平滑筋 (気管, 大動脈, 虹彩括約筋など)

グループ A 及び B に分類される膜興奮性の高い平滑筋では, 大コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ 電流が最も重要な K^+ 電流成分であり, これが活動電位の脱分極相, 後再分極相の形成に深く関与している。²⁰⁾ 膀胱や精管平滑筋細胞では, 大コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル (BK チャネル) が平滑筋細胞膜において分子集積体 (クラスター) を形成しており, それが ' Ca^{2+} スパーク' と呼ばれる「細胞膜近傍における非伝搬性の局所 Ca^{2+} 濃度上昇」の発生部位と相関している。^{21,22)} 一方, グループ C に分類される比較的太い動脈や気管のような膜興奮性の低い平滑筋では, 遅延整流性 K^+ 電流成分が特に重要な役割を果たし, 低興奮性の維持に寄与している。^{20,23)} 電位依存性 K^+ 電流のうち早期不活性化 K^+ 電流は, 膜興奮性の比較的高い平滑筋に高密度に発現しており, 活動電位の立ち上がり部分で内向き電流と一部拮抗し, 活動電位の発生頻度を制御している。門脈, 尿管, 結腸, 腸間膜動脈, 精管などの平滑筋細胞において観察される。²⁴⁻²⁶⁾ BK チャネルタンパク質は, 膜興奮性に限らず多くの平滑筋に高発現しているが, 電位依存性 Ca^{2+} 電流密度の低い低興奮性の平滑筋では BK チャネル活性が低い。

3. 電位依存性 K^+ チャネルの分子基盤解明

3-1. 心筋・平滑筋・神経細胞における早期不活性化 K^+ チャネルの分子基盤 1990 年代中頃, 神経細胞の逆伝搬活動電位を調節する早期不活性化 K^+ チャネル, $Kv4$ チャネル ($Kv4.2$, $Kv4.3M$) が遺伝子クローニングされた。^{27,28)} $Kv4$ チャネルは, QT 延長症候群, Brugada 症候群, 癲癇といった心疾患や中枢神経系疾患に関与していると考えられている。しかしながら, 神経細胞, 心筋細胞, 平滑筋

細胞において観察される早期不活性化 K^+ 電流と哺乳類発現系に強制発現させた $Kv4$ チャネル電流とは不活性化速度を始めとする電流特性がかなり異なっており, β サブユニットの存在が不可欠であると予想された。平滑筋細胞, 心筋細胞, 神経細胞の早期不活性化 K^+ チャネルについては, 各総説を参考にしていきたい。²⁹⁻³³⁾

1997 年, 筆者らは, $Kv4.3M$ の C 末端細胞内領域に 19 アミノ酸の挿入配列を有する新規スプライズバリエーション ($Kv4.3L$) をクローニングし, ラット精管平滑筋の早期不活性化 K^+ 電流に $Kv4.3L$ が寄与することを報告した。³⁴⁾ 挿入配列 GLSYLVDDPLLSVRTSTIK には 2 個の C キナーゼ (PKC) 推定リン酸化アミノ酸が含まれているが, PKC 活性化剤の $Kv4.3L$ 電流に対する作用に有意な差は認められなかった。 $Kv4.3L$ は, 結腸, 胃, 膀胱平滑筋のほか, 興味深いことに心室筋や脳海馬にも優位に発現していた。^{34,35)} しかし, その電流特性は, $Kv4.3M$ の電流特性とほぼ一致していた (不活性化速度, 不活性化からの回復速度, 活性化・不活性化の電位依存性に関する各種パラメータの数値には有意な差はなかった)。³⁴⁾

2000 年に K^+ channel-activating protein (KChAP) と K^+ channel-interacting protein (KChIP: KChIP1-4) が, 翌年には, neuronal Ca^{2+} sensor (NCS1) が $Kv4$ チャネル β サブユニットとして報告された。³⁶⁻³⁸⁾ 最近, NCS1 は神経保護因子としても注目されている。³⁹⁾ また, KChIP と NCS1 はカルモジュリンと相同性が高く (>60%), 神経性 Ca^{2+} 結合タンパク質 (Neuronal Ca^{2+} -Binding Protein (NCBP)) スーパーファミリーに分類される。筆者らも, KChIP がクローニングされた翌年にはヒト心筋に特異的に発現する KChIP2S を世界に先駆けてクローニングし,⁴⁰⁾ α サブユニットである $Kv4.3L$ のクローニングと合わせて, 心筋の早期不活性化 K^+ チャネルに関する分子基盤解明に貢献した (Fig. 2)。遺伝子改変マウスを用いた研究により, KChIP2 と心疾患との関係が明らかにされている。⁴¹⁾

黒質のドパミン作動性神経では, KChIP3 による $Kv4.3$ 制御が, ペースメーカー頻度の調節に重要な役割を果たすことが報告されており,⁴²⁾ パーキンソン病における神経伝達物質調節の創薬標的分子とし

α subunit	<i>protein</i>	<i>gene</i>	<i>tissue distribution</i>
	Kv4.1	KCND1	brain, heart, lung, testis
	Kv4.2	KCND2	brain, heart
	Kv4.3M	KCND3	brain
	<u>Kv4.3L</u>	KCND3	heart, smooth muscle
β subunit			
	KChAP	PIAS3	
	KChIP1	KCNIP1	brain, smooth muscle
	<u>KChIP2S</u>	KCNIP2	heart
	KChIP2L	KCNIP2	brain
	KChIP2M	KCNIP2	brain
	KChIP3	KCNIP3	brain, smooth muscle
	KChIP4	KCNIP4	brain
	NCS1	FREQ	brain, heart, smooth muscle
	DPP6	DPP6/X	brain, heart
	DPP10	DPP10/Y	brain

Fig. 2. Molecular Classification of Kv4 Channel α and β Subunits

て KChIP3 が期待されている。また、脳皮質形成異常や家族性アルツハイマー病の発症に Kv4 チャネル活性制御が重要な役割を果たすことが示唆されている。^{43,44)} 筆者らは、東京大学大学院薬学系研究科の岩坪教授らが発見した家族性アルツハイマー病関連タンパク、プレセニリンと結合する KChIP4 が、他の KChIP と同様に Kv4 チャネルの細胞膜移行を促進し、電流特性を修飾することを見出した。⁴⁵⁾ このように、KChIP は Kv4 チャネル制御分子として一躍脚光を浴びた。筆者が KChIP 遺伝子を供与した米国ソーグ研究所の Choe 教授らにより立体構造も同定されている。⁴⁶⁾ しかしながら、KChIP 及び NCS1 は、ともに Kv4 チャネルの細胞膜移行を促進するものの、神経細胞、筋細胞の早期不活性化 K⁺ 電流と Kv4 チャネル電流との電流特性の乖離を解決する分子ではなかったため、さらに別の Kv4 チャネル制御 β サブユニットの探索が行われた。

最近になって、既にジペプチジルアミノペプチ

ダーゼのサブタイプとしてクローニングされていた DPP6 (DPPX) と DPP10 (DPPY) が Kv4 チャネルと細胞外で結合し、Kv4/DPP 複合体が神経細胞の早期不活性化 K⁺ 電流とよく相関した電流特性を示すことが報告された。^{47,48)} 現在では Kv4/KChIP (NCS1)/DPP 複合体が各種細胞における早期不活性化 K⁺ チャネルの分子実体であり、それらの組合せにより組織特異的な電流特性が生じると結論付けられている。例えば、神経細胞の逆伝搬活動電位に寄与する早期不活性化 K⁺ チャネルは、Kv4.2/KChIP3/DPP10 により再構成されることが報告されている。⁴⁹⁾ 一方、筆者らは、消化管、血管平滑筋の早期不活性化 K⁺ チャネルが、Kv4.3L/KChIP1, KChIP3, NCS1/DPP6 により構成されることを示唆する結果を得ている (論文未掲載データを含む)。⁵⁰⁾

3-2. 消化管・血管平滑筋における遅延整流性 K⁺ チャネルの分子基盤 前述のように、平滑筋細胞では、遅延整流性 K⁺ チャネルが膜興奮性に応

じて異なった機能発現を示し、それぞれ活動電位の再分極相の形成、低興奮性の維持に寄与している。筆者らは、平滑筋膜の興奮性を焦点として遅延整流性 K^+ チャネル遺伝子サブタイプの発現分布の解明を行った。定量的 PCR 法や細胞免疫染色法を用いた実験の結果、4-AP 感受性の遅延整流性 K^+ チャネルとして $Kv1.2$, $Kv1.5$ が、TEA 感受性の遅延整流性 K^+ チャネルとして $Kv2.1$ を同定した。⁵¹⁾ 本総説では、平滑筋の遅延整流性 K^+ チャネルの中でも、上記の古典的な Kv サブタイプではなく ERG, KCNQ サブタイプに焦点を当てて概説する。

ERG1 (HERG), KCNQ1 は、心筋活動電位の再分極相に寄与する 2 つの電流成分 I_{Kr} (早い成分) と I_{Ks} (遅い成分) の α サブユニットであり、 β サブユニットである KCNE (KCNE1-5) とともに複合体 ERG1/KCNE2 及び KCNQ1/KCNE1 をそれぞれ形成し、電流特性が修飾される。また、これら遺伝子群の遺伝子変異や機能異常により、QT 延長症候群、癲癇、難聴、嚢胞性線維症等の重篤な遺伝子疾患が誘発される。消化管運動機能改善薬シサプリドが I_{Kr} 抑制による重篤な不整脈を惹起することから販売中止となったことは有名であり、食道や空腸における遅延整流性 K^+ 電流成分として I_{Kr} が注目

された。⁵²⁾ 筆者らは、胃平滑筋において、ERG1/KCNE2 や KCNQ1/KCNE1 が発現することを Western ブロット法や細胞免疫染色法を用いて明らかにし、電気生理学実験により、 I_{Kr} や I_{Ks} が胃平滑筋における静止膜電位の維持に寄与している可能性を示した。⁵³⁾ この研究成果が契機となり、結腸や門脈 (肝臓に血液を送る静脈) 平滑筋における自発性収縮の頻度を I_{Kr} 阻害薬である E4031 が有意に減少させることや KCNQ1 阻害薬である linopirdine が門脈平滑筋細胞において活動電位の持続時間を延長することが明らかとなった (Fig. 3)。⁵⁴⁻⁵⁶⁾ 最近では、KCNQ4, KCNQ5 の発現分布、機能特性、疾患との関係が明らかとなり、消化管及び血管平滑筋におけるこれらの寄与について今後明らかにされることが期待される。

3-3. ミトコンドリア Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルと心筋保護作用 虚血時の心筋保護機構であるプレコンディショニング効果による梗塞壊死部の縮小は、虚血性心疾患に対する生体の防御機構であると考えられている。ミトコンドリアにおけるイオンチャンネル、イオントランスポーターの役割が最近注目されており、細胞保護、アポトーシスのイオン機構が明らかになりつつある。^{57,58)} ミトコンドリア K^+

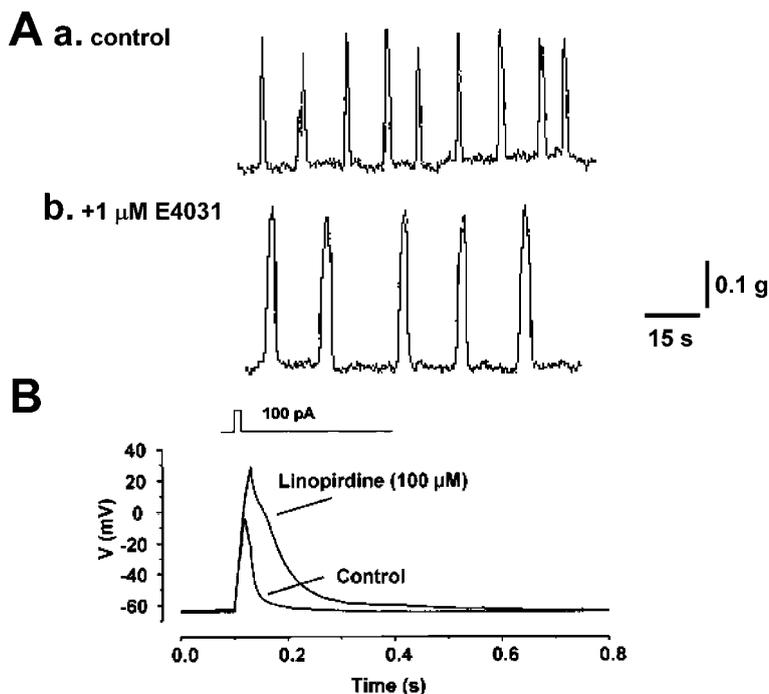


Fig. 3. Physiological Roles of ERG1 and KCNQ1 K^+ Channels in Murine Portal Vein Myocytes

A. Effects of E4031 ($1 \mu M$), an ERG1 channel inhibitor on spontaneous contraction in murine portal vein. a: control, b: +E4031. B. Effects of linopirdine ($100 \mu M$), a KCNQ1 channel inhibitor on action potential in murine portal vein myocytes (Refs. 55), 56).

チャンネルはミトコンドリア内への K^+ イオン透過を制御し、膜電位を調節することにより、ミトコンドリア体積の維持、ATP 産生の調節に働いている。ATP 感受性 K^+ チャンネル (K_{ATP} チャンネル) 開口薬は、ミトコンドリア K_{ATP} チャンネル (mito K_{ATP} チャンネル) の活性化を介してプレコンディショニング様作用を発揮する。しかし、 K_{ATP} チャンネルは心筋細胞膜にも機能発現するため、mito K_{ATP} チャンネルを特異的に作用する開口薬が心筋保護薬として開発されている。⁵⁹⁾ Mito K_{ATP} チャンネルは、これまで細胞膜 K_{ATP} チャンネルである内向き整流性 K^+ チャンネル α サブユニット (Kir6.x) とスルフォニル尿素受容体 (SUR) の複合体であると推定されていた。最近、ミトコンドリア ATP 結合タンパク 1 (mABC1)、リン酸輸送体 (PIC)、アデニンヌクレオチド輸送体 (ANT)、コハク酸デヒドロゲナーゼ (SDH)、ATPase などの複合体であるという報告もある。⁶⁰⁾

2002 年、John's Hopkins 大学の O'Rourke 教授の研究グループは、ミトコンドリア内膜に大コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネルと似た電気生理学的特性を有するミトコンドリア Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネル (mito K_{Ca} チャンネル) が機能発現し、BK

チャンネル開口薬が虚血に対して細胞保護作用を発揮することを Science 誌に報告した。⁶¹⁾

Mito K_{Ca} チャンネルは、ミトコンドリア膜電位や Ca^{2+} の上昇によって開口し、ミトコンドリア膜電位の脱分極により Ca^{2+} 過負荷が抑制されて細胞保護作用を発揮すると考えられている (Fig. 4)。ミトコンドリア膜電位の脱分極は、活性酸素種 (ROS) の産生を増大により細胞死を引き起こすことも知られているが、最近、ミトコンドリア K^+ チャンネル活性化により産生された ROS が逆に細胞保護的に働くという興味深い報告がある (Fig. 4)。^{62,63)} BK チャンネルは心筋細胞膜には存在しないため、BK 開口薬は心臓への負担の少ない心筋保護薬としての臨床応用が期待できる。しかしながら、mito K_{ATP} チャンネルと同様に mito K_{Ca} チャンネルの分子実体については明らかになっていなかった。

筆者らは、平滑筋において、BK チャンネル α サブユニット (BK α) の Ca^{2+} 感受性、電位依存性を制御する $\beta 1$ サブユニット (BK $\beta 1$) が哺乳類心筋に発現することに着目し、酵母 two-hybrid 法、免疫共沈法によりラット心筋ミトコンドリア内膜において BK $\beta 1$ がシトクロム c オキシダーゼと共存するこ

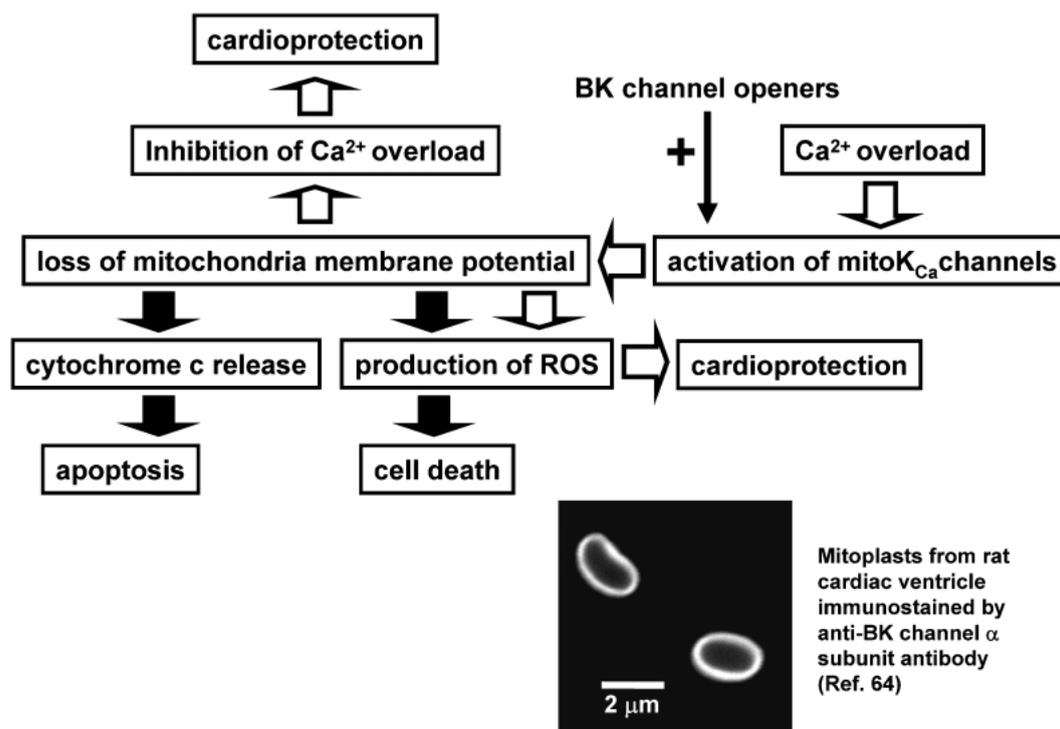


Fig. 4. Physiological Roles of Mitochondrial Ca^{2+} -activated K^+ Channels (Mito K_{Ca} Channels)

The loss of the mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$) results in cell death, apoptosis, and cardioprotection (open and closed arrows). The possible pathway through mito K_{Ca} channel activation is shown by open arrows.

とを見出した。⁶⁴⁾ また、BK チャネル $\beta 1$ サブユニット選択的開口薬 17- β エストラジオールが擬似的虚血心筋細胞に対して保護作用を示すことを明らかにした。⁶⁴⁾ 閉経後の女性において、虚血性心疾患の発症率が高くなる一因としてこの機構が考えられる。mitoK_{Ca} チャネル α サブユニットの分子実体が細胞膜 BK α のスプライズバリエーションであるか、mitoK_{ATP} チャネルにおいて推定されている (前述) 種々のミトコンドリアタンパク質の複合体であるのか現在のところ不明であるが、mitoK_{Ca} チャネル特異的開口薬を開発する上でもその同定が残された重要研究課題である。筆者の所属研究室でも、強力なBK チャネル開口薬の探索研究に成功しており、^{65,66)} 脳浮腫、過敏性膀胱、勃起障害、高血圧、喘息を始め、心筋保護薬としての適用が期待される。

4. K⁺ チャネル研究の展望

イオンチャネル創薬の市場は年々大幅に拡大しており、自己免疫疾患・炎症性疾患、代謝・内分泌疾患、骨関連疾患、神経性疾患の他に癌が特に大きな割合を占めている。K⁺ チャネルは、細胞容量調整や細胞増殖・分化・死の制御にも重要な役割を果たしており、特に多発性硬化症を始めとする自己免疫疾患の治療薬や免疫抑制剤の開発が既に進められている。¹⁴⁾ K⁺ チャネルは細胞増殖とアポトーシスとともに促進すると考えられ、癌の初期段階ではK⁺ チャネル阻害薬により細胞増殖を抑制し、一方、癌の後期段階ではK⁺ チャネル開口薬がアポトーシスを引き起こし、抗癌作用を発揮することが予想される (Fig. 1)。⁶⁷⁻⁶⁹⁾ したがって、癌の進行段階に応じて、K⁺ チャネル開口薬、阻害薬がともに癌治療薬として開発が期待される。⁷¹⁾ 筆者らは、消化器間質細胞腫⁷⁰⁾や前立腺癌を始めとする各種癌をイオンチャネル研究の新規標的として捉え、「免疫系細胞や癌細胞の細胞増殖、分化、死におけるK⁺ チャネル発現調節機構の解明と創薬研究」を展開していきたいと考えている。

謝辞 本研究を遂行するにあたり、ご指導を賜りました名古屋市立大学大学院薬学研究科今泉祐治教授、渡辺 稔名誉教授に深謝いたします。また、多大なご支援、ご協力を賜りました共同研究者の先生方、学生諸氏にお礼申し上げます。

文部科学省科学研究費補助金、財団法人武田科学

振興財団、財団法人臨床薬理研究振興財団による援助に深謝いたします。

REFERENCES

- 1) Hodgkin A. L., Huxley A. F., *J. Physiol. (Lond.)*, **116**, 449-472 (1952).
- 2) Neher E., Sakmann B., *Nature*, **260**, 799-802 (1976).
- 3) Noda M., Ikeda T., Suzuki H., Takeshima H., Takahashi T., Kuno M., Numa S., *Nature*, **295**, 202-206 (1986).
- 4) Long S. B., Campbell E. B., Mackinnon R., *Science*, **309**, 897-903 (2005).
- 5) Yu F. H., Yarov-Yarovoy V., Gutman G. A., Catterall W. A., *Pharmacol. Rev.*, **57**, 387-395 (2005).
- 6) "Ion Channels and Disease," ed. by Ashcroft F. M., Academic Press, San Diego, 2000.
- 7) Shieh C. C., Coghlan M., Sullivan J. P., Gopalakrishnan M., *Pharmacol. Rev.*, **52**, 557-594 (2000).
- 8) Chandy K. G., Gutman G. A., "Handbook of Receptors and Channels: Ligand and Voltage-Gated Channels," ed. by North R. A., CRC, Boca Raton, 1995, pp. 1-71.
- 9) Imaizumi Y., Henmi S., Nagano N., Muraki K., Watanabe M., "Smooth Muscle Excitation," eds. by Bolton T. B., Tomita T., Academic Press, UK, 1996, pp. 337-354.
- 10) Koh S. D., Ward S. M., Dick G. M., Epperson A., Bonner H. P., Sanders K. M., Horowitz B., Kenyon J. L., *J. Physiol. (Lond.)*, **515**, 475-487 (1999).
- 11) Nelson M. T., Quayle J. M., *Am. J. Physiol.*, **268**, C799-C822 (1995).
- 12) Wang H. S., MacKinnon D., *J. Physiol. (Lond.)*, **48**, 319-335 (1995).
- 13) Yuan X. J., *Circ. Res.*, **77**, 370-378 (1995).
- 14) Beeton C., Chandy K. G., *Neuroscientist*, **11**, 550-562 (2005).
- 15) Stuhmer W., Alves F., Hartung F., Zientkowska M., Pardo L. A., *FEBS Lett.*, **580**, 2850-2852 (2006).
- 16) Schönherr R., *J. Membr. Biol.*, **205**, 175-184 (2005).
- 17) Cho H.-C., Backx P. H., "Potassium Channels in Cardiovascular Biology," eds. by Archer S. L., Rusch N. J., Kluwer Academic,

- New York, 2001, pp. 17–34.
- 18) Imaizumi Y., *Folia Pharmacol. Japon*, **101**, 219–231 (1993).
 - 19) Kuriyama H., Kitamura K., Nabata H., *Pharmacol. Rev.*, **47**, 387–573 (1995).
 - 20) Kuriyama H., Kitamura K., Itoh H., Inoue R., *Physiol. Rev.*, **78**, 811–920 (1998).
 - 21) Imaizumi Y., Torii Y., Ohi Y., Nagano N., Atsuki K., Yamamura H., Muraki K., Watanabe M., Bolton T. B., *J. Physiol. (Lond.)*, **510**, 705–719 (1998).
 - 22) Ohya S., Yamamura H., Muraki K., Watanabe M., Imaizumi Y., *Pflügers Arch.*, **441**, 611–620 (2001).
 - 23) Muraki K., Imaizumi Y., Kojima T., Kawai T., Watanabe M., *Br. J. Pharmacol.*, **100**, 507–515 (1990).
 - 24) Beech D. J., Bolton T.B., *J. Physiol. (Lond.)*, **412**, 397–414 (1989).
 - 25) Imaizumi Y., Muraki K., Watanabe M., *J. Physiol. (Lond.)* **427**, 301–324 (1990).
 - 26) Nagano N., Imaizumi Y., Watanabe M., *Am. J. Physiol.*, **272**, C860–C869 (1997).
 - 27) Serodio P., Kentros C., Rudy B., *J. Neurophysiol.*, **72**, 1516–1529 (1994).
 - 28) Serodio P., Vega-Saenz de Miera E., Rudy B., *J. Neurophysiol.*, **75**, 2174–2179 (1996).
 - 29) Amberg G. C., Koh S. D., Imaizumi Y., Ohya S., Sanders K. M., *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **284**, C583–C595 (2003).
 - 30) Nerbonne J. M., Kass R. S., *Physiol. Rev.*, **85**, 1205–1253 (2005).
 - 31) Pourrier M., Schram G., Nattel S., *J. Membr. Biol.*, **194**, 141–152 (2003).
 - 32) Jerng H. H., Pfaffinger P. J., Covarrubias M., *Mol. Cell Neurosci.*, **27**, 343–369 (2004).
 - 33) Ohya S., Hatano N., Imaizumi Y., *Med. Sci. (Japanese)*, **53**, 268–275 (2002).
 - 34) Ohya S., Tanaka M., Oku T., Asai Y., Watanabe M., Giles W. R., Imaizumi Y., *FEBS Lett.*, **420**, 47–53 (1997).
 - 35) Ohya S., Tanaka M., Oku T., Furuyama T., Mori M., Giles W. R., Watanabe M., Imaizumi Y., *Life Sci.*, **68**, 1703–1716 (2001).
 - 36) An W. F., Bowlby M. R., Betty M., Cao J., Ling H. P., Mendoza G., Hinson J. W., Mattsson K. I., Strassle B. W., Trimmer J. S., Rhodes K. J., *Nature (Lond.)*, **403**, 553–556 (2000).
 - 37) Kuryshev Y. A., Gudz T. I., Brown A. M., Wible B. A., *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **278**, C931–C941 (2000).
 - 38) Nakamura T. Y., Pountney D. J., Ozaita A., Nandi S., Ueda S., Rudy B., Coetzee W. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **98**, 12808–12813 (2001).
 - 39) Nakamura T. Y., Jeromin A., Smith G., Kurushima H., Koga H., Nakabeppu Y., Wakabayashi S., Nabekura J., *J. Cell. Biol.*, **172**, 1081–1091 (2006).
 - 40) Ohya S., Morohashi Y., Muraki K., Tomita T., Watanabe M., Iwatsubo T., Imaizumi Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **282**, 96–102 (2001).
 - 41) Kuo H. C., Cheng C. F., Clark R. B., Lin J. J., Lin J. L., Hoshijima M., Nguyen-Tran V. T., Gu Y., Ikeda Y., Chu P. H., Ross J., Giles W. R., Chien K. R., *Cell*, **107**, 801–813 (2001).
 - 42) Liss B., Franz O., Sewing S., Bruns R., Neuhoff H., Roeper J., *EMBO J.*, **20**, 5715–5724 (2001).
 - 43) Castro P. A., Cooper E. C., Lowenstein D. H., Baraban S. C., *J. Neurosci.*, **21**, 6626–6634 (2001).
 - 44) Good T. A., Smith D. O., Murphy R. M., *Biophys. J.*, **70**, 296–304 (1996).
 - 45) Morohashi Y., Hatano N., Ohya S., Takikawa R., Warabiki T., Takasugi N., Imaizumi Y., Tomita T., Iwatsubo T., *J. Biol. Chem.*, **277**, 14965–14975 (2002).
 - 46) Zhou W., Qian Y., Kunjilwar K., Pfaffinger P. J., Choe S., *Neuron*, **41**, 573–586 (2004).
 - 47) Nadal M. S., Ozaita A., Amarillo Y., Vega-Saenz de Miera E., Ma Y., Mo W., Goldberg E. M., Misumi Y., Ikehara Y., Neubert T. A., Rudy B., *Neuron*, **37**, 370–372 (2003).
 - 48) Jerng H. H., Qian Y., Pfaffinger P. J., *Biophys. J.*, **87**, 2380–2396 (2004).
 - 49) Jerng H. H., Kunjilwar K., Pfaffinger P. J., *J. Physiol. (Lond.)*, **568**, 767–788 (2005).
 - 50) Ohya S., Horowitz B., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **283**, G1290–G1297 (2002).
 - 51) Ohya S., Tanaka M., Watanabe M., Imaizumi Y., *J. Smooth Muscle Res.*, **36**, 101–115 (2000).
 - 52) Akbarali H. I., Thatte H., He X. D., Giles W.

- R., Goyal R. K., *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **277**, C1284–C1290 (1999).
- 53) Ohya S., Asakura K., Muraki K., Watanabe M., Imaizumi Y., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **282**, G277–G287 (2002).
- 54) Farrelly A. M., Ro S., Callaghan B. P., Khoji M. A., Fleming N., Horowitz B., Sanders K. M., Keef K. D., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **284**, G883–G895 (2003).
- 55) Ohya S., Horowitz B., Greenwood I. A., *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, **283**, C866–C877 (2002).
- 56) Ohya S., Sergeant G.P., Greenwood I.A., Horowitz B., *Circ. Res.*, **92**, 1016–1023 (2003).
- 57) Burg E. D., Remillard C. V., Yuan J. X., *J. Membr. Biol.*, **209**, 3–20 (2006).
- 58) Ardehali H., *J. Bioenerg. Biomembr.*, **37**, 171–177 (2005).
- 59) O'Rourke B., *Circ. Res.*, **94**, 420–432 (2004).
- 60) Ardehali H., Chen Z., Ko Y., Mejía-Alvarez R., Marbán E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101**, 11880–11885 (2004).
- 61) Xu W., Liu Y., Wang S., McDonald T., Van Eyk J. E., Sidor A., O'Rourke B., *Science*, **298**, 1029–1038 (2002).
- 62) Stowe D. F., Aldakkak M., Camara A. K., Riess M. L., Heinen A., Varadarajan S. G., Jiang M. T., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **290**, H434–H440 (2006).
- 63) Liang H. W., Xia Q., Bruce I. C., *Brain Res.*, **1042**, 169–175 (2005).
- 64) Ohya S., Kuwata Y., Sakamoto K., Muraki K., Imaizumi Y., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **289**, H1635–H1642 (2005).
- 65) Imaizumi Y., Sakamoto K., Yamada A., Hotta A., Ohya S., Muraki K., Uchiyama M., Ohwada T., *Mol. Pharmacol.*, **62**, 836–846 (2002).
- 66) Sakamoto K., Nonomura T., Ohya S., Muraki K., Ohwada T., Imaizumi Y., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **316**, 144–153 (2006).
- 67) Wang Z., *Pflügers Archiv.*, **448**, 274–286 (2004).
- 68) Pardo L. A., Contreras-Jurado C., Zientkowska M., Stühmer W., *J. Membr. Biol.*, **205**, 115–124 (2005).
- 69) Lang F., Föller M., Lang K. S., Lang P. A., Ritter M., Gulbins E., Vereninov A., Huber S. M., *J. Membr. Biol.*, **205**, 147–157 (2005).
- 70) Jenkinson DH., *Br. J. Pharmacol.*, **147**, S63–S71 (2006).
- 71) Furuzono S., Ohya S., Inoue S., Nakao A., Imaizumi Y., Nakayama S., *Eur. J. Cancer*, **42**, 243–248 (2006).