

## 脳内グリア細胞における transient receptor potential channel の病態生理的役割

白川久志, 中川貴之, 金子周司\*

## Pathophysiological Roles of Transient Receptor Potential Channels in Glial Cells

Hisashi SHIRAKAWA, Takayuki NAKAGAWA, and Shuji KANEKO\*

*Department of Molecular Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, 46-29 Yoshida-shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan*

(Received August 31, 2009)

Glial cells are abundant in the CNS and play diverse roles in the regulation of neuronal activity, vascular function, and gliotransmitter release, whereas pathologically activated glial cells have been reported to disturb brain function in conjunction with  $\text{Ca}^{2+}$  signaling, however there is no enough explanation for a unique  $\text{Ca}^{2+}$  entry. Transient receptor potential (TRP) superfamily comprises a group of non-selective cation channels that open in response to divergent stimuli in their environment. Although TRP channels are widely distributed in the mammalian brain, their roles remain to be elucidated. Here we provide an overview of the roles of TRP channels in pathophysiological processes, especially focusing on TRPC3 and TRPV4 channels in glial cells. Using rat cortical astrocytes, we found that TRPC3 was upregulated by thrombin *via*  $\text{Ca}^{2+}$  signaling through TRPC3 itself. Thrombin also upregulated S100B, a marker of reactive astrocytes, and increased cell proliferation, both of which were inhibited by  $\text{Ca}^{2+}$  signaling blockers and specific knock-down of TRPC3 using siRNA, suggesting that TRPC3 contributes to the pathological activation of astrocytes in part through a feed-forward upregulation of its own expression. Moreover, we found that TRPV4 stimulation by its agonist  $4\alpha$ -PDD suppressed LPS-induced microglial activation while TRPV4 mRNA was downregulated in LPS-treated cultured rat microglia. These results suggest that TRP channels play pivotal roles in the process of astrocytic and microglial activation.

**Key words**—transient receptor potential (TRP) channel;  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization; astrocytes; thrombin; microglia; lipopolysaccharide

## 1. はじめに

アルツハイマー病, パーキンソン病や脳虚血傷害を始めとする難治性中枢神経変性疾患の多くは, 高齢化社会の著しい進行に伴い症例数が劇的に増加しつつあるが, その多くは有効かつ安全な根治療法がいまだ確立していないのが現状である。これらの疾患においては種々の原因により神経細胞の不可逆的な変性が進行するが, その変性過程においてアストロサイトやミクログリアといったグリア細胞の異常活性化が影響を及ぼすことが知られている。<sup>1,2)</sup> グリア細胞の活性化状態制御に関しては様々なアプローチからの研究が遂行されており, その1つにイオン

チャンネル研究をターゲットにしたものも挙げられるが,<sup>3,4)</sup> 脳細胞におけるイオンチャンネル研究は神経細胞を主な対象に行われてきた経緯もあり, あまり進んでいないのが実情である。本稿では, 機械的, 化学的及び受容体刺激等により開口する  $\text{Ca}^{2+}$  透過型カチオンチャンネルである transient receptor potential (TRP) channel<sup>5)</sup> に着目し, その開口がグリア細胞の病態生理学的機能に及ぼす影響について考察する。

## 2. 脳出血由来因子 thrombin によるアストロサイト活性化における TRPC3 の重要性

中枢神経系において最も豊富な細胞であるアストロサイトは, ニューロン活動を多彩に制御していることが知られている。近年, そのアストロサイトの活動過程においては細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) を変動させることで自己の活動状態を制御していることが明らかになりつつある。<sup>3,6)</sup> 脳障害後・中枢神経変性疾患後の脳内出血時において, 脳実質に浸潤

京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野(〒606-8501 京都市左京区吉田下阿達町 46-29)

\*e-mail: skaneko@pharm.kyoto-u.ac.jp

本総説は日本薬学会第129年会シンポジウムS18で発表したものを中心に記述したものである。

した血中由来因子はアストロサイトの病理的变化を引き起こすことが知られており、中でも最も重要な血中由来因子の1つである thrombin はアストロサイトに対して、細胞形態変化や異常増殖を伴ったグリオーシス（神経膠症）を引き起こすことが報告されている。<sup>7,8)</sup>しかし、病理的刺激後の  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスが果たす役割については、いまだ不明である。そこで本項では、アストロサイトが thrombin によって活性化される際の細胞応答に対し、 $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスの関与を  $\text{Ca}^{2+}$  透過型カチオンチャネルの一種である TRP チャネルに着目し解析した結果、TRPC3 が thrombin 応答に重要な役割を果たしていることを見出したため、TRPC3 に焦点を当て更なる解析を行った。

**2-1. 株化アストロサイト細胞における thrombin 誘発細胞形態変化に対する TRPC3 に関連する  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスの関与** はじめに、病態モデルとして細胞形態の変化を鋭敏に検出することができる株化アストロサイトを用いて、形態や  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の変化について薬理的解析を行った。その結果、thrombin による細胞突起の退縮運動が、thrombin 受容体の1つ proteinase-activated receptor 1 (PAR-1) を選択的に介して、素早く可逆的に制御されていることが明らかとなった。その一方で thrombin は PAR-1 を介して  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  のオシレーション反応を惹起したことから、薬理的解析を行ったところ細胞内ストアからの  $\text{Ca}^{2+}$  放出や、細胞外からストアへの  $\text{Ca}^{2+}$  補充が株化アストロサイトの運動に関与していることが示された。

Transient receptor potential canonical (TRPC) チャネルは生体内の幅広い組織に発現しており、受容体刺激に伴った細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  ストア枯渇後の  $\text{Ca}^{2+}$  流入を担っている分子であり、最近の研究により、細胞応答への関与はいまだ不明であるものの、一部の TRPC がアストロサイトに発現していることが示されている。<sup>9-11)</sup> TRPC サブタイプのうち、受容体刺激後の  $\text{Ca}^{2+}$  流入を担う有力な候補分子として知られる TRPC3 の mRNA 及びタンパク発現が株化アストロサイトにおいて確認されたことから、siRNA を用いて TRPC3 の発現を抑制した結果、thrombin による  $\text{Ca}^{2+}$  オシレーションの頻度と細胞形態変化がいずれも強く抑制された。さらに、TRPC3 阻害作用を示す新規薬物 pyrazole-3 を用い

て検証したところ、同様の抑制作用が観察されたことから、thrombin による  $\text{Ca}^{2+}$  オシレーションは主に TRPC3 を介していることが示された。次に、形態変化メカニズムにおける TRPC3 の位置づけを行った結果、TRPC3 は Rho やミオシン軽鎖に依存した細胞骨格制御経路を調整することで、細胞形態のダイナミクスに関与していることが判明した。以上の結果から、株化アストロサイトが病理的刺激により活性化し細胞骨格を制御する際に、TRPC3 を含む  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスが重要な役割を担っていることが明らかになった。<sup>12)</sup>

**2-2. Thrombin によるアストロサイト活性化過程における TRPC3 タンパク発現量増大の病態生理学的意義** TRPC チャネルは末梢組織におけるいくつかの病態時において、その発現量を動的に変化させることで様々な病態に関与していることが示唆されている。<sup>13,14)</sup> そこでアストロサイトが thrombin 刺激により活性化する際に TRPC3 タンパク発現量が変化するかについて培養ラット大脳皮質アストロサイトを用いて検討した。初代培養アストロサイトは生後 0-1 日齢のラット新生仔の大脳皮質より調製し、2-3 週間培養した後、エンリッチカルチャーを作成し実験に用いた。培養アストロサイトに thrombin 処置を行うことにより TRPC3 の 3-20 時間の経時的な発現上昇が確認された [Fig. 1(A)]。また選択的アゴニストペプチドを用いた結果より、この発現上昇は PAR-1 受容体及び新規タンパク合成を介していることが明らかになった [Fig. 1(B)]。さらに、 $\text{Ca}^{2+}$  imaging 実験を行った結果、thrombin 適用を施した際に培養アストロサイトにおいて TRPC3 を介した  $\text{Ca}^{2+}$  オシレーションが観察されること、及び thrombin を 20 時間処置することによりその後の thapsigargin 誘発  $\text{Ca}^{2+}$  流入反応が増大していることが明らかとなった。さらに発現増大の詳細な機序を解析したところ、細胞の増殖や分化に関係の深い Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路のうち extracellular signal-regulated kinase (ERK) 経路と c-Jun N-terminal kinase (JNK) 経路、及び NF- $\kappa$ B 経路を介して起こることが判明した [Figs. 1(D-F)]。さらに、この発現増大作用は TRPC3 を含む  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスの阻害薬である BAPTA-AM (細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  キレーター)、2-APB (IP<sub>3</sub> 受容体阻害作用他)、cyclopiazonic acid (CPA ;

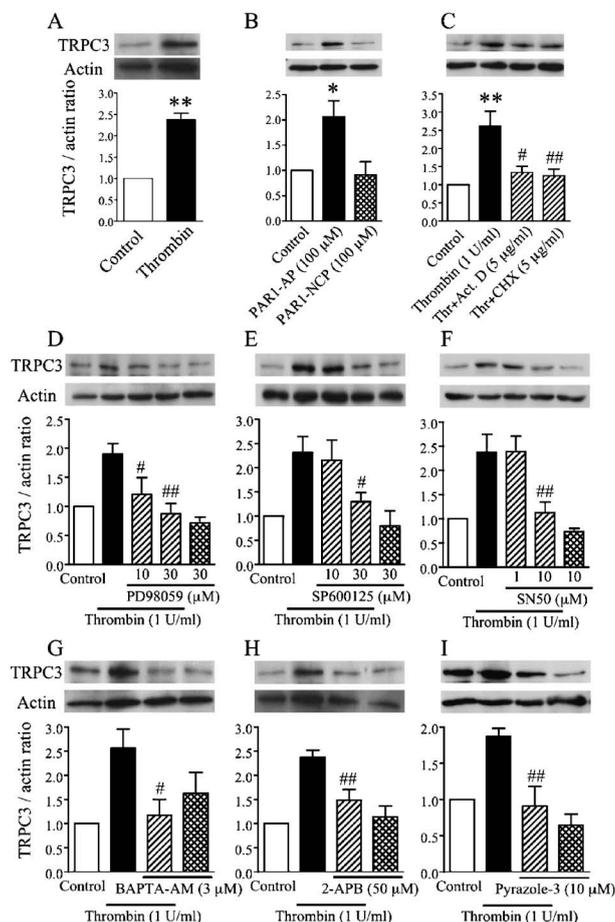


Fig. 1. Mechanisms Underlying Thrombin-induced Upregulation of TRPC3 Expression in Rat Cortical Astrocytes

A, Thrombin-induced upregulation of TRPC3 expression in rat cortical astrocytes. Typical bands for TRPC3 were detected in serum-starved rat cortical astrocytes with or without application of 1 U/ml thrombin for 20 h ( $n=3-5$ ,  $**p<0.01$  vs. control). B, Effects of synthetic agonist peptide for PAR-1 (PAR1-AP; SHLLR-NH<sub>2</sub>) and synthetic negative agonist peptide for PAR-1 (PAR1-NCP; FSLLR-NH<sub>2</sub>) on TRPC3 upregulation ( $n=4$ ,  $*p<0.05$  vs. control). C-I, Effects of 5 μg/ml actinomycin D (Act. D) and 5 μg/ml cycloheximide (CHX) (C), PD98059 (ERK pathway inhibitor, D), SP600125 (JNK pathway inhibitor, E), SN50 (NF-κB inhibitor, F), BAPTA-AM (G), 2-APB (H), and pyrazole-3 (I) on TRPC3 upregulation ( $n=3-7$ ,  $**p<0.01$  vs. control,  $*p<0.05$ ,  $**p<0.01$  vs. thrombin alone). Thrombin and each drug were applied together for 20 h. TRPC expression is represented as the ratio of the intensity of the TRPC band to that of the actin control band.

細胞内 Ca<sup>2+</sup> ストア枯渇薬), pyrazole-3 (新規 TRPC3 阻害薬) の添加により顕著に抑制されたことから [Figs. 1(G-I)], Ca<sup>2+</sup> ダイナミクスそのものに依存している, すなわち TRPC3 自己活性に依存した feed-forward な発現増幅機構の存在が示された。

次に, このアストロサイトにおける thrombin 誘発 TRPC3 タンパク発現量増大がアストロサイトの病態生理にどのように関連するか検討する目的で, アストロサイト活性化マーカーである S100B タン

パク発現量変化, 異常増殖, 形態変化に着目して更なる検討を行った。S100B はアストロサイトにおいて特異的に合成・遊離される Ca<sup>2+</sup> 結合型低分子量タンパクであり, その血中遊離量増大はアルツハイマー病・パーキンソン病及び脳虚血傷害といった中枢神経変性疾患の発症と関連があると考えられている。<sup>15)</sup> そこで免疫染色により S100B の発現を検討したところ, thrombin 適用によりアストロサイトにおいて発現量は増大することが明らかになった [Fig. 2(A)]. この発現増大作用は TRPC3 を含む Ca<sup>2+</sup> ダイナミクスの阻害薬である BAPTA-AM, 2-APB, CPA 及び pyrazole-3 の添加により顕著に抑制された [Fig. 2(A)]. さらに siRNA を用いて TRPC3 を特異的に knockdown したアストロサイトでは thrombin 誘発 S100B 発現増大がほとんど観察されなかったことから [Fig. 2(B)], TRPC3 は S100B 発現増大作用の上流で重要な働きを担っていることが示唆された。

Thrombin 誘発アストロサイト異常増殖は脳内グリオーシスに連関する事象と想定されている。<sup>8)</sup> 培養アストロサイトを無血清条件下で thrombin 刺激を行い 72 時間維持すると細胞数生存率が有意に増加した [Fig. 2(C)]. この系において TRPC3 を含む Ca<sup>2+</sup> ダイナミクスの阻害薬である BAPTA-AM, 2-APB, CPA, pyrazole-3 を同時に添加したところ増殖作用は顕著に抑制された [Fig. 2(C)]. さらに siRNA を用いて TRPC3 を特異的に knockdown したアストロサイトでは, 通常の 10% FBS 条件下における増殖が有意に抑制されており, また無血清条件下 thrombin 適用により誘発されるアストロサイト異常増殖も顕著に抑制された [Fig. 2(D)]. 以上の結果より, thrombin 誘発アストロサイト異常増殖は TRPC3 により feed-forward な機構を介して制御されていることを示唆している。

アストロサイトは活性化に伴い, その形態を扁平に変化させることが知られている。<sup>11)</sup> アストロサイトを無血清条件下で 2 時間培養すると突起を伸ばした静止型の形態を示すが, その後 3 時間 thrombin を適用すると actin の再構成により扁平な活性化型の形態を示した。その過程において TRPC3 を含む Ca<sup>2+</sup> ダイナミクスの阻害薬である BAPTA-AM, 2-APB, CPA, pyrazole-3 を添加すると, 活性化型への形態変化は顕著に抑制された。さらに siRNA を

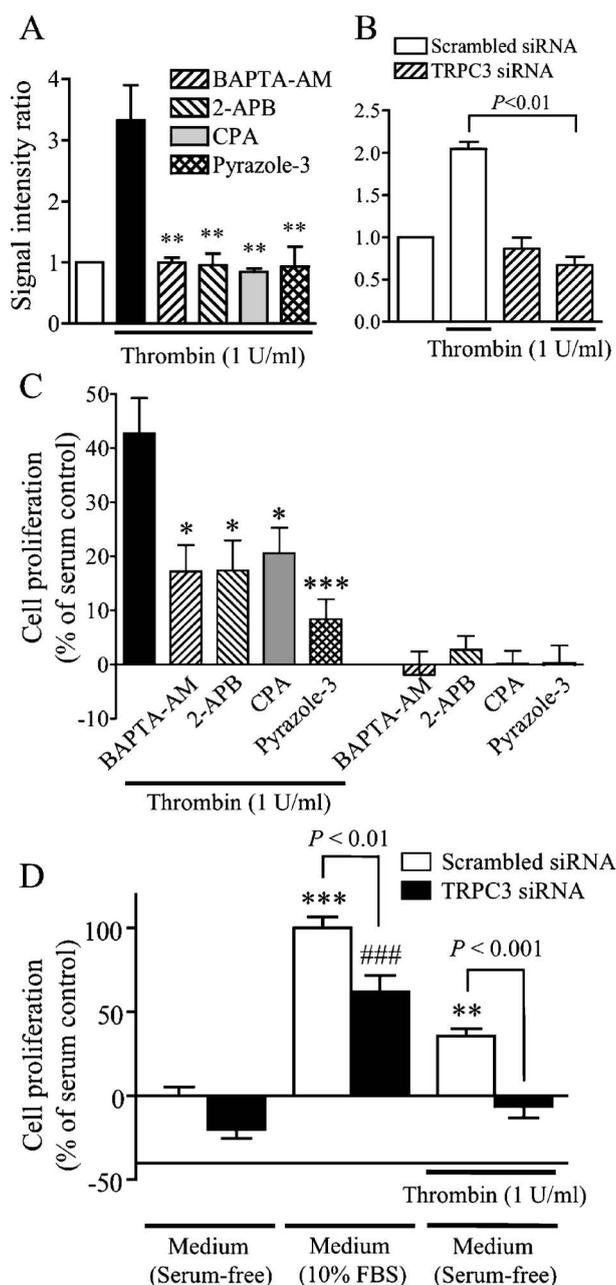


Fig. 2. TRPC3 Mediates Thrombin-induced Activation of Rat Cortical Astrocytes

A-B,  $Ca^{2+}$  signaling mediated by TRPC3 increases thrombin-induced S100B expression in rat cortical astrocytes. A, Effects of 1 U/ml thrombin, thrombin and 3  $\mu$ M BAPTA-AM, thrombin and 50  $\mu$ M 2-APB, thrombin and 30  $\mu$ M CPA and thrombin and 10  $\mu$ M pyrazole-3 on S100B expression ( $n=3-5$ , \*\* $p<0.01$  vs. thrombin alone). Thrombin and each drug were applied together for 20 h. B, Summarized data on S100B expression of astrocytes transfected with a scrambled siRNA or TRPC3 siRNA in the absence or presence of thrombin (1 U/ml) for 20 h ( $n=3-4$ ). C-D, Effects of inhibitors for TRPC3-mediated  $Ca^{2+}$  signaling (C) and specific knockdown of TRPC3 (D) in thrombin-induced cellular proliferation. Cell proliferation was calculated as a percentage of control by setting the value of untreated cells to 0% and the value of cells grown in EMEM containing 10% fetal bovine serum for 72 h to 100% in an MTT assay [ $n=5-8$ , \* $p<0.05$ , \*\*\* $p<0.001$  vs. thrombin alone (C), \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$  vs. scrambled siRNA control and \*\*\* $p<0.001$  vs. TRPC3 siRNA control (D)].

用いて TRPC3 を特異的に knockdown したアストロサイトでは, thrombin 誘発形態変化がほとんど惹起されなかったことから thrombin 誘発アストロサイト形態変化もまた TRPC3 により制御されていることが明らかになった。

以上の結果をまとめると, TRPC3 活性が自己の発現量を調節しながらアストロサイト活性化マーカーである S100B タンパク発現量増大, 異常増殖に強く関与していることが示された. 本結果は thrombin 刺激後のアストロサイトの細胞応答に,  $Ca^{2+}$  ダイナミクスが関与していること, 特に TRPC3 がアストロサイトにおいて機能的なチャネルを形成し, 病的活性化のスイッチ・増幅器として機能していることを示すものである (Fig. 3).

### 3. ミクログリア活性化における TRPV4 の病態生理的役割

脳を構成するグリア細胞の一種であるミクログリアは脳内の免疫担当細胞として神経細胞の生存維持・機能修復に働くことが知られている. しかしミクログリアは, 活性化に伴い一酸化窒素 (NO) やサイトカインを始めとする種々の因子を産生・放出するとともに, 異常増殖, 遊走, 形態変化を伴って神経傷害的にも働くことが報告されており, 中枢神経変性疾患の病態形成にも関与していると考えられる.<sup>2,4)</sup> 近年, このようなミクログリアの機能に  $K^+$  チャネルや  $Cl^-$  チャネルを含む細胞膜イオンチャネルが重要な役割を担うことが示されつつあるが,<sup>4)</sup> カチオン流入経路の 1 つと想定される TRP チャネルのミクログリアにおける発現や機能についてはほとんど報告されていない. そこで本項では, ラット新生仔由来大脳皮質培養ミクログリアを用いて, その活性化に伴い発現量が変化する TRP チャネルに関して探索した結果, TRPV4 応答がミクログリア活性化に伴い減弱することを見出したため, TRPV4 に焦点を当て更なる解析を行った。

#### 3-1. 活性化ミクログリアにおける TRPV4 応答の減弱

初代培養ミクログリアは生後 0-1 日齢のラット新生仔の大脳皮質より調製し, 2-3 週間培養した後, エンリッチカルチャーを作成し実験に用いた. はじめに, TRPV subfamily の発現について RT-PCR により検討した結果, TRPV1-4 の発現が確認されたが, TRPV5, 6 は発現していなかった. 次にミクログリア活性化作用を有するエンドトキシ

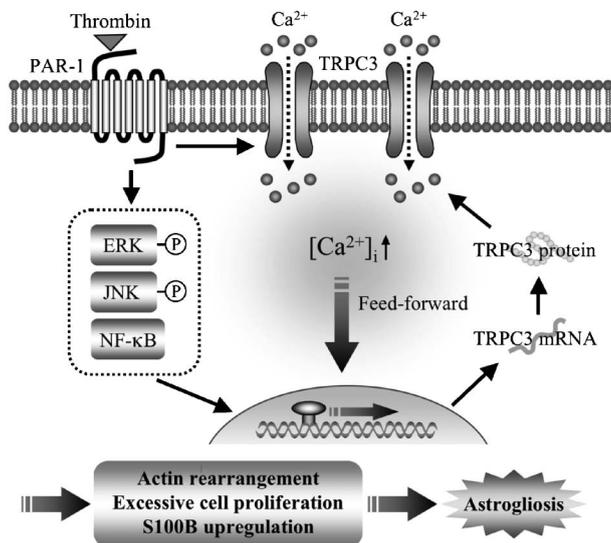


Fig. 3. Schematic of the Pathological Role of TRPC3 in Thrombin-activated Astrocytes

Stimulation of PAR-1 by thrombin induces the phosphorylation of ERK and JNK, the activation of NF- $\kappa$ B, and new synthesis of TRPC3 protein. Thrombin also activates TRPC3-mediated  $\text{Ca}^{2+}$  signaling, which could form a positive feedback loop for TRPC3 upregulation. Eventually, thrombin-induced, TRPC3-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  signaling induces quiescent astrocytes to become reactive astrocytes, which results in astrocytic actin rearrangement, excessive cell proliferation, S100B upregulation, and finally astrogliosis.

ンである lipopolysaccharide (LPS) を培養ミクログリアに 24 時間処置したところ, ramified 型のミクログリアが ameboid 型へと形態学的な変化を起こした [Figs. 4(A) and (B)]. また, その活性化の後に TRPV4 の mRNA 発現量が減少することが定量的 PCR 法により明らかになった [Fig. 4(C)]. そこで TRPV4 に着目して, その発現を免疫染色により確認した結果, 大部分の isolectin-B4 陽性ミクログリアに TRPV4 が発現していることが明らかになった. また whole-cell patch clamp 法により, PKC を活性化させないホルボールエステルで TRPV4 を選択的に開口させることが報告されている  $4\alpha$ -PDD<sup>16)</sup> による応答を測定したところ顕著な応答が確認され, その IVカーブは過去の強制発現系における報告と同様であった. さらに  $\text{Ca}^{2+}$  imaging 実験を行った結果,  $4\alpha$ -PDD 適用により遅延性の応答が確認されたが, 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  不含条件においてはそのような応答は全く観察されなかった. このことから, TRPV4 アゴニスト適用により惹起される細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇は細胞外からの流入に依存すると考えられる. また, TRPV4 阻害作用を有する  $\text{Gd}^{3+}$  及び ruthenium red (RuR) を適用することにより  $4\alpha$ -PDD 誘発細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇はほぼ完全

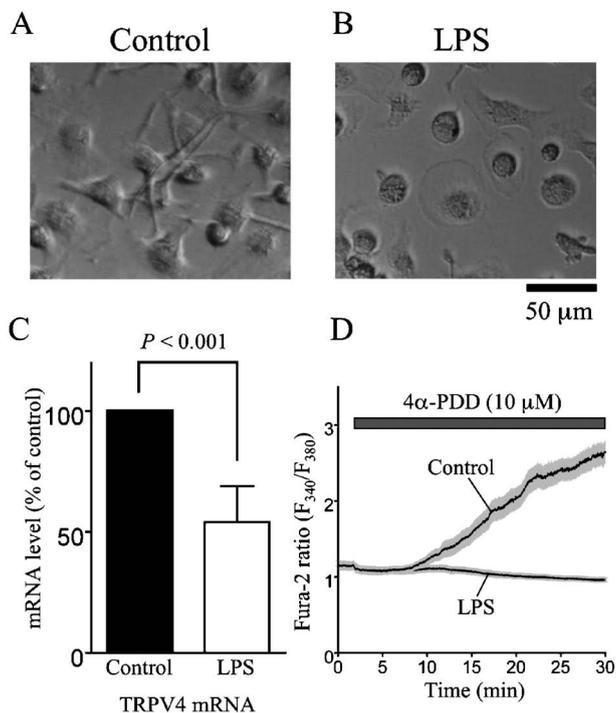


Fig. 4. Activation by Lipopolysaccharide (LPS) Results in the Down-regulation of TRPV4 Function in Rat Microglia

Morphological changes of vehicle-treated (control; A) and LPS-treated (LPS; B) cultured microglia. LPS (100 ng/ml) was applied for 24 h. C, LPS (24 h)-induced down-regulation of TRPV4 mRNA as assessed by quantitative RT-PCR. D,  $4\alpha$ -PDD, a selective agonist of TRPV4, fails to generate  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  responses in LPS-activated microglia while it evokes  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  responses in control microglia.

に阻害された. また, 無処置のミクログリアでは濃度依存的に  $4\alpha$ -PDD による応答が観察されたのに対して, LPS を 24 時間処置して活性化させたミクログリアでは  $4\alpha$ -PDD による応答が消失していた [Fig. 4(D)]. 以上の結果をまとめると, 培養ミクログリアには TRPV4 が機能的に発現しており, LPS 誘発活性化ミクログリアでは機能的に発現している TRPV4 量が顕著に減少していることが明らかとなった.

3-2. ミクログリアの活性化過程における TRPV4 刺激の病態生理学的意義 次にミクログリアの異常活性化過程における TRPV4 の病態生理的役割を検討するために, LPS により惹起されるミクログリア活性化の指標に対する TRPV4 アゴニスト  $4\alpha$ -PDD の作用について検討した. はじめに, LPS 誘発 TNF- $\alpha$  遊離量増大に対する  $4\alpha$ -PDD の作用を検討した結果,  $4\alpha$ -PDD は有意にその増大を抑制した [Fig. 5(A)]. その抑制作用は siRNA を用いた TRPV4 の特異的ノックダウンによりほぼ完全

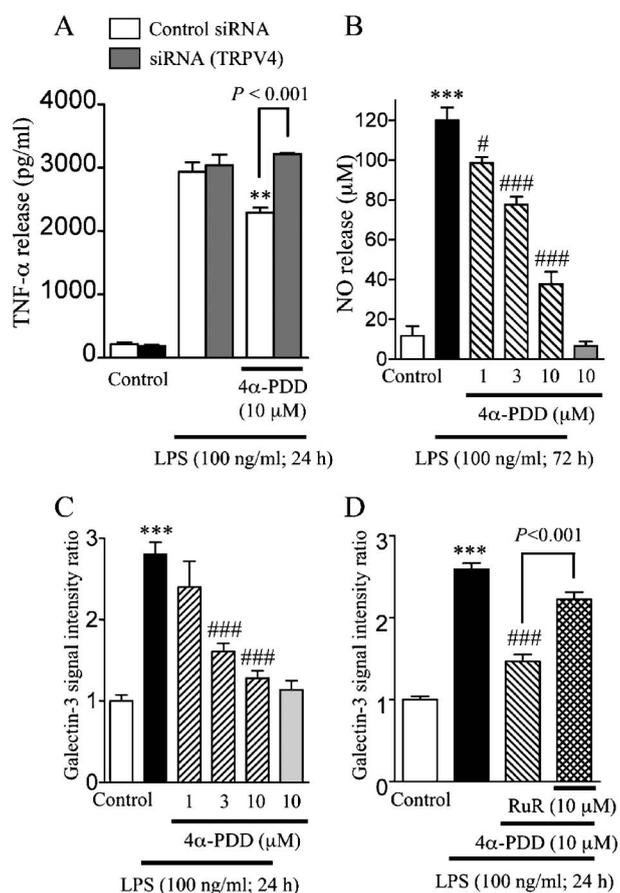


Fig. 5. Stimulation of TRPV4 Results in Inhibition of Microglial Activation

A, Inhibitory effect of TRPV4 selective agonist 4 $\alpha$ -PDD at 10  $\mu$ M on LPS-induced TNF- $\alpha$  release and its reverse by specific knockdown of TRPV4 in cultured microglia. Each drug was simultaneously applied with LPS (100 ng/ml) for 24 h. TNF- $\alpha$  release into the media was colorimetrically analyzed using the ELISA method. \*\* $p$ <0.01 vs. LPS alone (control siRNA). B, Concentration-dependent inhibitory effect of 4 $\alpha$ -PDD on LPS-induced NO accumulation in cultured microglia. Each drug was simultaneously applied with LPS (100 ng/ml) for 72 h. The nitrite accumulation was detected colorimetrically using the Griess reaction, \*\*\* $p$ <0.001 vs. control, \* $p$ <0.05, \*\*\* $p$ <0.001 vs. LPS alone,  $n$ =5. Concentration-dependent inhibitory effect of TRPV4 agonist 4 $\alpha$ -PDD (C) and its reverse by TRPV channels blocker ruthenium red (RuR; 10  $\mu$ M) (D) on galectin-3, a microglial activation marker, upregulation in LPS-induced microglia. \*\*\* $p$ <0.001 vs. control, \*\*\* $p$ <0.001 vs. LPS alone.

に解除されたことから [Fig. 5(A)], ミクログリア活性化過程における TRPV4 開口刺激は TNF- $\alpha$  遊離を抑制することが示された。次に、活性化したミクログリアが遊離する一酸化窒素 (NO) の蓄積に対する 4 $\alpha$ -PDD の作用について検討したところ、LPS 誘発 NO 蓄積量増大は 4 $\alpha$ -PDD の濃度依存的に抑制された [Fig. 5(B)]. 最後にミクログリア活性化マーカーである galectin-3/MAC-2 の発現増大に対する TRPV4 アゴニスト 4 $\alpha$ -PDD の作用について検討した。LPS と同時に 4 $\alpha$ -PDD を 24 時間処置すると、濃度依存的に galectin-3/MAC-2 の発現増

大が抑制された [Fig. 5(C)]. さらに TRPV 阻害薬である RuR を同時適用することにより 4 $\alpha$ -PDD による抑制作用が有意に解除された [Fig. 5(D)].

以上の結果は、培養ミクログリアの活性化過程において TRPV4 開口刺激がなんらかの機序を介して LPS 誘発ミクログリア活性化を抑制することを示しており、TRPV4 がミクログリアの病態生理的活性化のレベルを調節している可能性が考えられる。最近、TRPV4 は stretch 刺激により開口することが報告されており、<sup>17)</sup> またミクログリアは活性化に伴いその形態を劇的に変化させることを踏まえると、TRPV4 はミクログリアの過剰な活性化を抑制的に制御する機構を担っているのかもしれない。

#### 4. おわりに

グリア細胞の生理的役割としては、脳内環境の恒常性維持や神経細胞の機能発現における支持体といった受動的なものが強調されてきた。しかしながら、近年は神経系の情報処理や各種中枢神経変性疾患の病態形成に積極的に関与し、その過程に Ca<sup>2+</sup> 動態が関与していることが明らかになりつつあるが、グリア細胞のイオンチャネル研究はその実験手技の難度ゆえに敬遠されてきたことは否めない。本稿ではアストロサイト及びミクログリアの活性化過程における TRPC3 及び TRPV4 の制御的役割に関して紹介したが、これらのチャネルが次なる創薬ターゲットの候補になっていくことを期待したい。

#### REFERENCES

- 1) Rossi D. J., Brady J. D., Mohr C., *Nature Neurosci.*, **10**, 1377–1386 (2007).
- 2) Lobsiger C. S., Cleveland D. W., *Nature Neurosci.*, **10**, 1355–1360 (2007).
- 3) Fiacco T. A., McCarthy K. D., *Glia*, **54**, 676–690 (2006).
- 4) Eder C., *J. Neurosci. Res.*, **81**, 314–321 (2005).
- 5) Clapham D. E., *Nature*, **426**, 517–524 (2003).
- 6) Mulligan S. J., MacVicar B. A., *Nature*, **431**, 195–199 (2004).
- 7) Majumdar M., Seasholtz T. M., Goldstein D., de Lanerolle P., Brown J. H., Traynelis S. F., *J. Biol. Chem.*, **273**, 10099–10106 (1998).
- 8) Nicole O., Goldshmidt A., Hamill C. E., Sorensen S. D., Sastre A., Lyuboslavsky P., Hepler J. R., McKeon R. J., Traynelis S. F.,

- J. Neurosci.*, **25**, 4319–4329 (2005).
- 9) Grimaldi M., Maratos M., Verma A., *J. Neurosci.*, **23**, 4737–4745 (2003).
  - 10) Beskina O., Miller A., Mazzocco-Spezia A., Pulina M. V., Golovina V. A., *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **293**, 1103–1111 (2007).
  - 11) Malarkey E. B., Ni Y., Parpura V., *Glia*, **56**, 821–835 (2008).
  - 12) Nakao K., Shirakawa H., Sugishita A., Matsutani I., Niidome T., Nakagawa T., Kaneko S., *J. Neurosci. Res.*, **86**, 2722–2732 (2008).
  - 13) Pani B., Cornatzer E., Cornatzer W., Shin D. M., Pittelkow M. R., Hovnanian A., Ambudkar I. S., Singh B. B., *Mol. Biol. Cell*, **17**, 4446–4458 (2006).
  - 14) Kuwahara K., Wang Y., McAnally J., Richardson J. A., Bassel-Duby R., Hill J. A., Olson E. N., *J. Clin. Invest.*, **116**, 4446–4458 (2006).
  - 15) Donato R., *Microsc. Res. Tech.*, **60**, 540–551 (2003).
  - 16) Watanabe H., Vriens J., Prenen J., Droogmans G., Voets T., Nilius B., *Nature*, **424**, 434–438 (2003).
  - 17) Mochizuki T., Sokabe T., Araki I., Fujishita K., Shibasaki K., Uchida K., Naruse K., Koizumi S., Takeda M., Tominaga M., *J. Biol. Chem.*, **284**, 21257–21264 (2009).