総 説

非特異的陽イオンチャネル

九州大学医学部薬理学教室

井 上 隆 司, 伊 東 祐 之

NONSELECTIVE CATION CHANNELS OF THE PLASMA MEMBRANE

Ryuji INOUE and Yushi ITO

*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812-82, Japan*

Nonselective cation channels (NSCCs) are defined as the channel exhibiting better selectivity for cations over anions. This nomenclature is however confusing, because the channels which fall into this category show a high degree of heterogeneity in their biophysics, physiology and pharmacology. Since little molecular information is yet available for most types of NSCC (except for the fast extracellular ligand-gated NSCC), one useful criterion to sub-classify them is the mode of activation. Based on this, more than 10 subclasses of NSCC, including the G-protein-coupled NSCC as a newly emerging member, can be distinguished (Table 1). Furthermore, the biophysical and pharmacological profile of these subclasses of NSCC suggest that varying extents of structural similarities may exist. Such a duality, i.e. heterogeneity and similarity of NSCC is on one hand, the obstacle to exploiting selective drugs for NSCCs, but on the other hand, may account for a broad repertoire of functions that NSCCs subserve under various patho-physiological conditions. This short paper briefly overviews, from such an aspect, the physiology and pharmacology of NSCCs of the plasma membrane, which have rather poorly been elucidated so far.

Key words: nonselective cation channel, plasma membrane, G-protein, heterogeneity, similarity.

は じ め に

非特異的陽イオンチャネル (nonselective cation channels; NSCCs) は陰イオンより陽イオンに対し高い選択性を示すイオンチャネルの総称である。しかしこの定義によって NSCCs に分類されるチャネルの特性やその生理機能の多様性をみると (表 1), これらのチャネルが構造的類似性を持つ集合というより“非特異的陽イオン透過性”という実体のはっきりしない性質を共通項として寄せ集められた不均一 (heterogenous) な集合体であることが理解できる。イオンチャネル研究の歴史に於て最も古くからそ

の存在が予想され patch clamp 法の開発によって最初に記録されたのは、骨格筋終板のニコチン様 ACh 受容体活性化で開口する NSCCs であった (nACh-NSCC)¹⁻⁴⁾。このチャネルは Na^+ , Li^+ 等のイオン半径の小さなアルカリ金属イオンばかりでなく, Ca^{2+} , Ba^{2+} 等のアルカリ土類金属イオンや四級アミン (tetraethylammonium), 四級コリン (Tris^+) 等の大きな有機イオンも透過させる。さらにこれらの陽イオンの透過度は狭い円筒状の通過孔を自由拡散した場合に予測される理論値とよく一

表 1. 非特異的陽イオンチャネル (NSCCs) の分類

致することから⁵⁾, nACh-NSCC はイオン透過孔内にイオン選択性フィルター (selectivity filter) を有せず (後にこの考えは訂正された⁶⁾), 進化の過程で電位依存性チャネル (voltage-dependent ion channels; VDICs; 選択性フィルターの存在が様々な証拠によって支持されている) より先に現われたチャネル (ancestral channel) として位置づけられたこともあった。しかしその後, 分子生物学的研究の進展に伴い次々にチャネルの分子構造が明らかにされるにつれ, 少なくとも nACh を含む fast ligand-gated NSCC スーパーファミリーは VDIC スーパーファミリーと異なる進化の道筋を経て派生して来たと考えられるようになった⁷⁾。

一方その他の NSCCs に目を向けると, その

生理的・薬理的特性に, イオン選択性チャネル (例えば VDICs や Ca 依存性チャネル) との類似点が少なからず見いだされる。更に既にクローニングされた NSCC の中には, VDICs と驚くほど分子構造の似ているものが存在する (後述)。このことは NSCC の中にも selectivity filter を有すると考えるべきチャネルが存在することや (例えばイオン透過の 2-site, 1-barrier model で良く説明できる場合がある^{8,9)}), 透過孔内のアミノ酸配列の点変異によってイオン透過性が劇的に変化する例が報告されている^{9,10)} ことに鑑みて, イオン選択性チャネルからマイナーな遺伝子変異によって派生してきた NSCCs のグループが存在する可能性も否定できない。本稿ではこのような NSCCs の相反す

る二つの性質、多様性及び類似性を軸としてその生理的・薬理的特性について述べる。

NSCCs の 分 類

NSCCsのうち既に遺伝子クローニングが行われその一次構造が明らかになっているものは比較的少なく、分子構造の違いに基づいてこれを分類することは現時点で不可能である。そこで表1には試みとして、活性化機序に基づいた暫定的分類を示した。また、紙面の関係上、以下の記述は形質膜に存在する NSCCs に限定し(従って、筋小胞体膜の IP_3 受容体、リアノジン受容体、ミトコンドリア膜の porin、細胞間 gap junction channel については省略した)、更に、細胞外リガンドで直接活性化されるニコチン受容体、グルタミン酸受容体、セロトニン受容体等については、既に優れた総説が数多く出版されているので、ここでは簡単に触れるにとどめた。

Ia. 受容体活性化型 NSCC (直接活性化型 fast ligand-gated NSCC)

このグループに属する NSCCs にはニコチン受容体(骨格筋型、神経型)、グルタミン酸受容体(NMDA 受容体, AMPA 受容体), 5-HT₃ 受容体及びプリン受容体 ($\text{P}_{2\text{x}}$) がある。これらの受容体 ($\text{P}_{2\text{x}}$ を除く) はすべて4回膜貫通部を有し、互いに相同性の高い5つのサブユニットから構成される受容体-イオンチャネル複合体(macromolecular complex)である。5つのサブユニットは輪環状に会合することによってイオン透過孔を形成しており、それぞれのサブユニットの N 末端で形成されるリガンド結合部に伝達物質が結合すると複合体のコンフォメーション変化が生じ、イオン透過孔が開くと考えられている。このような伝達物質と受容体-イオンチャネル複合体の直接作用のキネティクスは極めて速く数 ms 以内に最大電流を発生し、また伝達物質が酵素的(アセチルコリンエステラーゼ; ACh)あるいは非酵素的(Na 依存性トランスポーター; グルタミン酸)に除去されると速やかに脱活性化が起こり電流が消失する。このような性質は末梢及び中枢神経の fast neurotransmitter として特に適した性質であ

ると言える。

一方、最近になって $\text{P}_{2\text{x}}$ 受容体がクローニングされると ($\text{P}_{2\text{x1}} \sim \text{P}_{2\text{x7}}$)^{11,12)}, いくつかの予期せぬ構造が明らかになった。この受容体には膜貫通部が2カ所しか存在せず、比較的短く細胞内に突き出た N, C 末端に対し、全アミノ酸配列の50%以上を占める巨大な細胞外グループ(ATP 結合部と考えられている)が2つの膜貫通部間に位置している。また、イオン透過孔に相当するアミノ酸配列(モチーフ)は、電位依存性 K チャネル、内向整流型 K チャネル、ATP 感受性 K チャネル、サイクリックヌクレオチド作動型 NSCC 等のそれと高い類似性を示す。 $\text{P}_{2\text{x}}$ 受容体は他の fast ligand-gated NSCC と異なり、単一のサブユニットを強制発現させるだけで本来のチャネルに近い機能を得られていることから、幾つかの単一サブユニットが会合して(用量作用曲線から得られた Hill 係数によれば2~3個)形成される受容体-イオンチャネル複合体であると考えられている。^{*}

以上の性質に基づいて予想される $\text{P}_{2\text{x}}$ 受容体の分子構造のトポロジーは、内向き整流型 K チャネル、アミロライド感受性上皮型 Na チャネル、線虫 *Caenorhabditis elegans* の触センサー (Mec 4, Mec 10; 後述)のそれと類似しており、nACh を含む4回膜貫通型の NSCC とは全く異なる fast ligand gated NSCC の遺伝子ファミリーが別に存在することを示唆している。

電気生理学的に検討された $\text{P}_{2\text{x}}$ NSCC の最初の報告は、ウサギ耳動脈平滑筋からであった¹⁴⁾。この筋肉の $\text{P}_{2\text{x}}$ NSCC (生理的イオン条件下で 20pS) は、 Na^+ より Ca^{2+} に対し数倍高い透過性を有し ($\text{P}_{\text{Ca}}/\text{P}_{\text{Na}} = 3.0$) 内向き整流型の電位依存性を示すため、静止膜電位付近で開口し Ca^{2+} 流入の直接の経路として働いている可

foot note* 最近, $\text{P}_{2\text{x}}$ 受容体の異なる subtype が heteromeric complex を形成している可能性が指摘されている¹³⁾。

能性が指摘された。実際、後に行われた Ca^{2+} 蛍光指示薬を用いた実験によって、 $\text{P}_{2\text{x}}$ -NSCC を介して流入した Ca^{2+} が細胞内遊離 Ca 濃度を数百 nM まで上昇させ得ることが示され、1980 年代始め頃から提唱されていた「受動体作働性 Ca^{2+} 流入」という概念に良く適合する Ca^{2+} 透過型チャネルとして脚光を浴びた¹⁵⁾。しかし現在では、この解釈については懐疑的な考えが多い⁹⁾。同様の性質を示す NSCC は種々の平滑筋、末梢及び中枢神経系、非興奮性細胞（上皮、血管内皮細胞等）でも記録され⁹⁾、すでにその多くがクローニングされている。 $\text{P}_{2\text{x}}$ 受容体の生理機能として (1) 自律神経や中枢神経終末に他の伝達物質と共存し、興奮性 NANC co-transmitter (脱分極を引き起こす) として神経-効果器の情報伝達に寄与する ($\text{P}_{2\text{x1}}$, $\text{P}_{2\text{x2}}$)^{11,13)}, (2) 電位に依存しない Ca^{2+} 流入経路として収縮・分泌等の細胞機能発現に関与する, (3) 組織障害で遊離した ATP で引き起こされる知覚神経 (主に C-fiber) の痛覚伝導に寄与する ($\text{P}_{2\text{x3}}$)¹³⁾, (4) 陽イオン (主に Na^+) の持続流入によって細胞を融解致死させる ($\text{P}_{2\text{x7}}$ あるいは $\text{P}_{2\text{z}}$)^{12)**}

等が挙げられており、これら多彩な機能の発現には様々な特性の違いを持つ $\text{P}_{2\text{x}}$ subtype が関与していることが示唆されている (上記括弧内)。 $\text{P}_{2\text{x}}$ -NSCC の特異的阻害薬はこれまで報告されていない。 P_2 受容体に比較的高い選択性を示す reactive blue 2, suramin, pyridoxal phosphate-6-azophenyl-2', 4'-disulphonic acid (PPADS) は、他の NSCCs と $\text{P}_{2\text{x}}$ -NSCC を区別するのには有用であるが、同時に $\text{P}_{2\text{y}}$ 受容体を介した細胞内情報伝達も遮断してしまうので選択的拮抗薬として用いることはできない。また Zn^{2+} , Cd^{2+} 及び Ca^{2+} , Gd^{3+} 等の無機陽イオンは $\text{P}_{2\text{x}}$ -NSCC を mM オーダーで抑制するが、これらの作用は他の多くの陽イオン透過型チャネル (例えば電位依存性 Ca チャネル) にも広く認められ、極めて非選択的である。有機化合物のなかにも $\text{P}_{2\text{x}}$ -NSCC の選択的阻害薬は見当たらない。むしろ Cl チャネル/輸送系

の阻害薬として知られる DIDS (4, 4'-diisothiocyano stilbene-2, 2' disulfonic acid) や furosemide が、 Cl 電流を抑制するのと同程度の効力で $\text{P}_{2\text{x}}$ -NSCC を非特異的に抑制することが報告されている¹⁷⁾。一方、電位依存性 Ca チャネルの選択的阻害薬とされる nifedipine が $\text{P}_{2\text{x}}$ -NSCC には殆ど効果がないという事実は、この薬物がこれら二つの興奮性チャネルの機能を分離する上で有用な薬理学的道具であることを示している。

以上述べて来たように $\text{P}_{2\text{x}}$ 受容体は機能的には fast neurotransmission に寄与する fast ligand-gated NSCC ファミリーに属しながら、その分子構造は内向き整流 K チャネルをはじめとする 2 回膜貫通型チャネルに高い類似性を示すことが判明した。このような二面性はこの範疇に属する NSCC の多様性を増すばかりか、これまで全く異なる遺伝子ファミリーに属していると考えられてきたイオン選択型チャネルとの違いが決定的なものではないことを意味しており、選択的作用薬、阻害薬の開発が如何に困難な課題であるかを示唆していると言えよう。

Ib. 受容体活性化型 NSCC (G 蛋白共役型, 膜限局型 ?)

G 蛋白共役型受容体活性化に伴って開口する NSCC の中には数百 ms 秒程度の潜時を経て活性化され、明らかなセカンドメッセンジャーの介在が証明されていないものがみられる。このような活性化様式を説明し得る機序としては、形質膜に限局した受容体-G 蛋白質-イオンチャネルの直接相互作用 (membrane-delimited channel regulation)¹⁸⁾ が知られており、細胞から切り取ったパッチ膜に精製した G 蛋白質の α , $\beta\gamma$ サブユニットを投与することによって、心筋のムスカリン受容体活性化 K チャネル, ATP 感受性 K チャネルで最も詳しく検討されている。以下に述べる NSCC についてはこのような厳密な証明が行われていないので、この分類はあくまで仮説的分類であることを強調しておきたい。

foot note** apoptosis 関連蛋白 RP-2 と $\text{P}_{2\text{x}}$ 受容体の類似性が指摘されている¹⁶⁾。

(1) ムスカリン受容体活性化 NSCC (muscarinic NSCC; mNSCC)

モルモットやウサギ小腸平滑筋のムスカリン受容体を刺激すると、 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} 透過性の増大が起こり、膜が脱分極して活動電位の頻度や持続時間の延長が起こることが古くより知られていた¹⁵⁾。その後 patch clamp 法による詳しい検討が行われ、この脱分極は百日咳毒素感受性 G 蛋白質を介して NSCC が活性化された結果であることが証明された¹⁹⁻²¹⁾。mNSCC は生理的イオン条件下で 20-25pS の単一コンダクタンスを示し、脱分極や細胞内遊離 Ca 濃度の上昇によって開口確率が増加する。このような性質は膜電位や $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を変動させる機構、すなわち活動電位に伴う Ca^{2+} 流入やアゴニストによる貯蔵 Ca 放出等と連動して mNSCC の活性を制御し、その結果、膜興奮性の精密な動的制御を可能にしていることが指摘されている^{9,21,22)}。さらに細胞容積の増加やずり応力などの機械刺激にも mNSCC の活性の増強作用がみられ、律動的自発運動を特徴とする消化管にあっては、この制御機構もまた重要な生理的役割を果たしている可能性がある²³⁾。mNSCC の活性は細胞内エネルギー代謝に強く依存していることが報告されている^{24,25)}。すなわち 2-deoxy glucose, シアン化合物等の代謝阻害薬の投与や、高エネルギー化合物 (ATP, creatine phosphate 等) を含まない電極内液の細胞内灌流によって、mNSCC の活性は急速に減少する。またパッチ膜を細胞から切り取っても mNSCC 活性は速やかに消失する。一方、細胞内 ATP 濃度が数 mM 以上になると mNSCC 活性に対する抑制作用が現われるという報告もある²⁴⁾。このような mNSCC の特性の多くが、後述する Ca^{2+} 依存性 NSCC のそれと酷似しており、従って二つの NSCCs 間には何らかの構造的類似性が存在するものと考えられる。一方 mNSCC を活性化するムスカリン受容体は m2 サブタイプ (m3 サブタイプも何らかの補助的な制御を行っているらしい) であることが最近明らかにされ²⁶⁾、m2 受容体-百日咳毒素感受性 G 蛋白質-イオンチャネルという一連の活性化

様式は、ムスカリン受容体活性化 K チャネルとの類似性も想起させる。小腸平滑筋の mNSCC に似た性質を示す NSCC は、他の自発能を有する平滑筋ばかりでなく^{9,27,28)}、気管平滑筋²⁹⁾、副腎髄質クロム親和性細胞³⁰⁾ や大脳皮質錐体細胞³¹⁾ でも記録されている。また、ウサギ門脈平滑筋から記録される α_1 -アドレナリン受容体作動性 NSCC にも mNSCC との共通点が多く見られ、互いに高い分子構造的類似性有しているものと考えられる (総説⁹⁾)

mNSCC の選択的作用薬・阻害薬は、m2 受容体 (クロム親和性細胞では m4³²⁾) に選択的な薬物以外、これまでのところ報告されていない。一方、種々の無機イオン (Cd^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+})^{33,34)}、標準的 K チャネル阻害薬 (キニン, TEA, 4-AP, プロカイン), Ca チャネル阻害薬 (ベラパミル, ニカルジピン), Ca 放出促進薬 (カフェイン)^{35,36)} がいずれも通常用いられる濃度で非特異的に mNSCC を抑制することが報告されている。他方、 Ca^{2+} 依存性 NSCC (CAN) の強力な抑制薬 diphenylamine-2-carboxylate (DPC) 誘導体 (メフェナム酸, フルフェナム酸, DC-DPC) に mNSCC の抑制作用がみられ、このうちフルフェナム酸が最も高い mNSCC 選択性を示すことが報告されている³⁵⁾。しかし、フルフェナム酸は、mNSCC との高い類似性が予想される α_1 -アドレナリン受容体作動性 NSCC に対して活性増加薬として作用することが最近示された³⁷⁾。このことは、DPC 誘導体がこのグループに属する NSCC の作用薬・拮抗薬の開発に於て prototype として有用であることを示唆するとともに、ヒト消化管平滑筋の電位依存性 K チャネル (Ca 依存性 K チャネル?; フルフェナム酸による活性増強作用が報告されている)³⁸⁾ と mNSCC に何らかの分子構造的類似性が存在することも暗示している。電位依存性・ $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 依存性を有する mNSCC の生理機能は主にその脱分極作用によって活動電位の頻度や持続時間を精密に制御することにあると考えられ、このチャネル自体を透過する Ca^{2+} の役割については不明である。このチャネルの分子構造については遺伝子

クローニングの成功を待たねばならないが、種々の電位依存性チャネル (Ca, K), Ca^{2+} 依存性チャネル (maxi K, CAN), ムスカリン受容体活性化 K チャネル, ATP 感受性 K チャネルとの類似点が数多くみられる事実は、 P_{2x} 受容体の場合と同様、選択的作用薬の開発をますます困難にしている言えよう。

(2) ペプチド受容体型 NSCC (peptidergic NSCCs)

エンドセリン、アンジオテンシン II、バゾプレッシン等の血管作働性ペプチドを単離した血管平滑筋に投与すると、緩徐な活性化と脱感作経過を特徴とする持続性 NSCC 電流が記録できる。この種の NSCC 電流は電位変化や $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化に殆ど影響されず、高い Ca^{2+} 透過性を示すことが一連の実験から予測されていた³⁹⁻⁴¹⁾。最近真崎らは、ヒト ET_A 受容体をマウスの線維芽細胞 (Ltk-) に過剰発現させ、エンドセリン-1 (ET-1) によって活性化される NSCC 電流とそれに随伴しておこる $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化の関係について詳しく検討した⁴²⁾。その結果、ごく低濃度の ET-1 ($<0.1\text{nM}$) 投与によっても、ジヒドロピリジン誘導体で抑制されない $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇と NSCC 電流の活性化が平行して誘発されること、またこれらの変化は NSCC の標準的阻害薬であるメフェナム酸 ($300\text{ }\mu\text{M}$) によってほぼ完全に抑制できることが明らかにされた。更にこれと同様の結果が、ウサギ大動脈から急性単離した平滑筋細胞を用いた場合にも生じることが確認された。以上のことから、血管作働性ペプチドで活性化される NSCC は、電位非依存性、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 非感受性、高 Ca^{2+} 透過性を特徴とする NSCC で、興奮膜に分布する mNSCC とは異なるチャネルファミリーに属していると考えられ、受容体刺激時に見られる血管平滑筋の持続性緊張を良く説明できるチャネルであると言えよう。血管ペプチドによる NSCC の活性化機序は依然不明だが、少なくとも A7r5 細胞のバゾプレッシンや ET-1 で誘発される NSCC では、百日咳毒素非感受性 G 蛋白の関与が示唆されている^{43,44)}。また最近ラット大動脈平滑筋に於いて、ET-1 で活性化され

る Ca^{2+} 透過型 NSCC が SNAP 等の一酸化窒素 (NO) 供与体によって抑制され、その結果、ET-1 による持続性の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇が有意に減少することが報告された⁴⁵⁾。この抑制には恐らく細胞内 cGMP の上昇が関わっており、自律神経や内皮依存性因子による血圧調節に於ける NO の新しい役割 (生理的及び臨床的) を示唆している点が大変興味深い。

血管ペプチドで活性化される NSCC もまた Cd^{2+} 等の二価の陽イオンや水素イオンによって強力に抑制されることが知られている^{44,45)}。また有機的に合成された阻害薬としては SK & F96365⁴⁵⁾、LOE908⁴³⁾ が知られ、特に後者は A7r5 細胞のバゾプレッシン誘発性 NSCC 電流に対し、電位依存性 Ca 電流に比較して 50 倍以上の選択性を有することが示されている。

最近、消化管ペプチドのモチリン⁴⁶⁾ やタキキニン (サブスタンス P, ニューロキニン A)⁴⁷⁾ にも NSCC を活性化する作用があることが知られるようになった。これらの NSCC は、一価の陽イオンを選択的に透過させ、電位や $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化によってその活性が影響されない。従って、直接の Ca^{2+} 流入経路として働くのではなく、 Na^+ 流入増加によって細胞膜の脱分極を引起し、二次的に電位依存性 Ca^{2+} 流入増加させることが、その主作用であると考えられている。

(3) その他の G 蛋白共役型 NSCC

プリン受容体の中には、G 蛋白質を介して NSCC を活性化するものがある。例えば、ウサギ門脈平滑筋やラットの肥満細胞には細胞外に投与した ATP や細胞内に灌流した $\text{GTP}\gamma\text{S}$ によって持続的な活性化を受け、 Ca^{2+} や Ba^{2+} に比較的高い透過性を有する NSCC の存在が確認されている^{48,49)}。また、これらの NSCC の活性化に P_{2z} 受容体が関与している可能性が示唆されている⁵⁰⁾。

II. Ca^{2+} 依存性 NSCC (Ca^{2+} -activated NSCC; CAN)

このグループに属する NSCC は脱分極や受容体刺激に伴う Ca^{2+} 流入や細胞内貯蔵部位から遊離した Ca^{2+} (例えば IP_3 産生に伴う Ca 放出) によって生じた $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇によって直接

活性化される Ca^{2+} 依存性チャネルである。このチャネルの遺伝子クローニングは未だ成功していないのでその分子構造は全く不明であるが、もう一つの Ca^{2+} 依存性チャネルである Ca^{2+} 依存性 K^+ チャネルと同様、筋肉(心筋、骨格筋、平滑筋)、上皮(内外分泌腺、腎尿細管)、神経組織(中枢神経、網膜神経芽細胞、Schwann 細胞)、血管内皮、脂肪細胞、血液細胞等、生体内における広範な分布が知られている(総説^{9,51)})。また2つのチャネルの類似性についても議論されている。大部分の CAN は生理的イオン条件下で約 30pS の単一コンダクタンスを示すが、大きなコンダクタンス(200~300pS)を有する CAN (maxi CAN) も報告されている⁵²⁾。また Na^+ と K^+ をほぼ同程度に透過させるが Ca^{2+} に対しては低い透過性を示す場合が多い***。

CAN は電位依存性を殆ど示さず(中に脱分極で活性の上昇するものがある)、持続する $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇に対して殆ど不活性化しないことが報告されている。一方、CAN の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ による活性化濃度は生理的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変動範囲とほぼ重なっていることが、cell-attached 法を用いた実験によって示されている(しかしパッチ膜を切り取ると CAN の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ に対する感受性は急速に減少する)。これらの性質は、CAN 活性化の initiator (例えば活動電位による Ca^{2+} 流入や貯蔵部位からの Ca^{2+} 放出) が不活性化した後にも、CAN の活性は維持され、その膜脱分極作用や直接 CAN を介した Ca^{2+} 流入が (Ca^{2+} 依存性 K^+ チャネルの活性化によって再分極が起こるまで) 持続することを意味している^{51,53)}。CAN の果たす生理的役割として (1) 活動電位のバースト放電の誘発、(2) 活動電位持続時間の延長、(3) ペースメーカー電位の生成、(4) 受容体活性化で発生する電位 (receptor potential) の修飾等が挙げられており、これらは神経における信号伝達、分泌細胞における分泌過程の調節ばかりでなく、一部の不整脈の成因(例えば delayed after-depolarization)、神経にお

ける細胞毒性などの病理的変化の基礎過程としても重要な意味をもつと考えられている。CAN 活性の制御因子として ATP (ADP) や cAMP が知られている。例えば、マウス膵腺細胞の CAN には ATP によって直接抑制される部位と ATP の加水分解エネルギーを利用して CAN の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 感受性を維持するのに必要な部位が細胞内面に存在していると考えられ、ATP 感受性 K^+ チャネルとの類似性が指摘されている⁵⁴⁾。cAMP に関しても、その直接作用によって CAN の活性が減少し、A-キナーゼを介した間接作用(リン酸化)によって上昇する (Helix neurone⁵⁵⁾) という二つの報告がなされている。また、CAN の gating には sulfhydryl 基 (SH 基) が必須で、これを酸化する物質 (Hg^{2+} , thimerosal, NO) を投与すると CAN の活性が消失すること、またこの抑制が SH 基還元作用のある dithiothreitol で回復することなどが報告されている⁵⁶⁾。更に興味深いことに、細胞内 Cl^- 濃度の減少に伴って CAN の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 感受性が増加し、その結果 CAN 活性が増強される可能性も報告されており⁵⁷⁾、ATP 感受性 K^+ チャネルにも同様の性質が見られることから⁵⁸⁾、上記の性質も含めて、共通の細胞内制御機構の存在を想起させる。

CAN の強力な阻害薬としてメフェナム酸、フルフェナム酸、DCDPC 等の DPC 誘導体(前述)が報告されているが (IC_{50} ; μM オーダー)、これらの阻害薬は Cl^- チャネル/輸送系にも抑制作用を示すことが知られており非選択的である⁵⁹⁾。また Cl^- チャネル/輸送系の標準的阻害薬 DIDS や SITS はパッチ膜の細胞質側から投与すると CAN の不可逆的活性化をおこすことがラット膵外分泌細胞で示されている⁶⁰⁾。その他、キニン、4-AP、 Gd^{3+} 、アミロライドといった他のチャネルにも有効な阻害薬が一部の CAN を抑制することが知られている^{61,62)}。

CAN の重要な性質、すなわち単一コンダクタンス、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 感受性、ATP による抑制作用と ATP 加水分解エネルギーを利用したチャネル活性維持作用、強力な阻害薬としての DPC 誘導体、推定される生理機能等、驚くほど多く

foot note*** ラット門脈の maxi CAN⁵²⁾、好中球の CAN は高い Ca^{2+} 透過性を示す。

の点に mNSCC との共通点を見いだすことができる。このことは CAN や mNSCC に代表され且つ生体内に広く分布する新しい NSCC ファミリーの存在を強く示唆しており、早急なクローニングの成功が期待される。

III. サイクリックヌクレオチド活性化 NSCC (Cyclic nucleotide-gated NSCCs; cNGC)

網膜の桿体や錐体といった光受容器、鼻粘膜纖毛上皮の嗅覚受容器、味蕾の味覚受容器には、G 蛋白質を介してヌクレオチドシクラーゼによって産生された cGMP (retinal rod) や cAMP (olfactory ciliary) で活性化され、感覚神経の信号伝達に関わる NSCCs (Cyclic nucleotide-gated NSCCs; cNGC) が存在している。クローニングされた cNGCs の構造は、N-, C-末端 (cyclic nucleotide 結合部) を細胞質側に配する 6 回膜貫通部 (S1~S6 セグメント) と、S4 に見られる規則的に配列した数個の塩基性アミノ酸 (電位依存性チャネルの電位センサーに似る) 及び K 選択性チャネルに似たイオン透過孔 ('p-region') のアミノ酸配列によって特徴づけられ、従ってこのチャネルは電位依存性 K チャネルに近い遺伝子ファミリーに属していると想像されている⁶³⁻⁶⁵⁾。一般に cNGCs は、数十 pS のコンダクタンス (cAMP gated NSCC; 12~45pS; cGMP gated; ~25pS) を有し、一価イオンのみならず二価イオンにも有意な透過性を示す。また cNGC は弱い外向き整流型の内因性の電位依存を示すが、細胞外の二価イオン (Ca^{2+} , Mg^{2+}) で強力な電位依存性ブロックを受けるので、生理的イオン条件下では顕著な外向き整流を示すようになる (cGMP gated NSCC)。cNGCs の阻害薬として dichlorobenzamil, pimozide (以上 cGMP-gated NSCC) や D600, amiloride (cAMP-gated NSCC) 等が知られている。また L-cis-Diltiazem は cNGCs の共通の阻害薬として報告されている⁶⁵⁾。cNGCs は、感覚器以外にも発現しており (神経、松果体、腎臓、精巣、心臓、一部の平滑筋から RT-PCR 法によって mRNA が検出されている)、その生理機能は感覚器信号

伝達に限らず、より広範に亘っていることが予想される⁶⁵⁾。

IV. 機械刺激感受性 NSCC (Mechanosensitive NSCCs; MSCs)

機械刺激は、細胞に対する牽引 (stretch), ずり応力 (shear stress), 体積増加による膨張 (swelling) などによって細胞膜に発生する力を指すが、このような多様な機械刺激によって活性化 (あるいは不活性化) される NSCCs の性質も多彩である。最も古くから研究されている MSC の例は内耳有毛細胞の MSC である。このチャネルは機械センサーである stereocilia に加えられた力を感知して速やかに (数 ms 以内) 活性化され、一価イオンだけではなく Ca^{2+} , Mn^{2+} 等の二価陽イオンを透過させ膜脱分極と細胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇によって聴覚伝導に寄与すると考えられている⁶⁶⁾。一方、骨格筋、平滑筋等の筋組織や種々の上皮細胞、内皮細胞、破骨細胞、アフリカツメガエルの卵細胞では、ギガシール形成後のパッチ電極内に陰圧 (陽圧の場合もある) を与え細胞膜にかかる張力を増加させると、NSCCs 活性が誘発される。この種の MSCs は、その活性化様式に因んで、特に stretch-activated NSCCs (SACs) と名付けられている⁶⁷⁾。SACs の多くは約 20~30pS の単一コンダクタンスを有し、概して電位依存性を示さず、一価陽イオンのみならず Ca^{2+} も透過させる。この特性は CAN の場合と同様に、膜脱分極作用や SACs 自体を介した Ca 流入²⁺によって $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を上昇させ、知覚伝導、筋収縮、分泌細胞容量調節、細胞の増殖性変化等の多彩な細胞機能を発現させるのに寄与していると考えられている。

MSCs を抑制する薬物として、アミロライド (IC₅₀: 数十~数百 μM), Gd^{3+} (IC₅₀: 10~50 μM) が知られているが、いずれもすでに述べたように非選択的な阻害薬である^{67,68)}。興味深いことに、最近、アミロライド感受性上皮型 Na^+ チャネル ((amiloride-sensitive) epithelial Na channel; ENAC) に対するポリクローナル抗体が、内耳有毛細胞 stereocilia の分子量 62~64kDa のタンパクを認識することが報告さ

れた^{68b)}。続いて、線虫 *Caenorhabditis elegans* の触センサーのクローニングによって得られた蛋白 (mec 遺伝子産物) のうち, Mec 4 と Mec 10 のアミノ酸配列とその一次構造が, ラットの上皮型 Na チャネル (rENAC) と類似していることが指摘された^{69,70)}。また極く最近の研究で, rENAC の α -サブユニットと同一のアミノ酸配列を持つクローンが UMR-106 破骨細胞様 cell line とヒト破骨細胞に発現しており, このクローンを SACs を有さない線維芽細胞 LM (TK⁻) に transfection させると, SACs 様の性質を有する NSCC, すなわちパッチ電極内に加えた陰圧によって活性化され, アミロライドで抑制される 24pS の陽イオンチャネル (74kDa) が発現することが明らかにされた⁷¹⁾。これらの実験結果は ENAC と MSCs の分子レベルにおける高い相同性を示すのみならず, ENAC/SACs/Mec で形成される新しい NSCC ファミリーが生物界の機械刺激に対するセンサーとして広く分布していることを示唆している。一方, 大腸菌の外套膜から記録される巨大コンダクタンスの MSCs が最近クローニングされ (mscL 遺伝子⁷²⁾; 136 個のアミノ酸からなり, かなり疎水性の高いコアをもつ), ENAC/SACs/Mec やその他の NSCCs とは全く類似性をもたない新しい MSC subfamily の存在が示されている。

SACs の中には過分極で開口確率の増加するものがあること (toad stomach;⁷³⁾), またこれとは逆に, 機械刺激以外の活性化因子で開口する NSCC 活性が機械刺激によって修飾される例がみられること (NMDA 受容体⁷⁴⁾, mNSCC²³⁾, 総説⁷⁵⁾) などを考えると, MSCs のレパートリーは今後益々拡大していくことが予想される。

V. 過分極活性化 NSCC (Hyperpolarization-activated NSCC; I_h , I_f)

心臓のプルキンエ線維や洞結節膜を過分極させると, 明らかな不活性化を示さない内向き電流が, ゆっくりと活性化される過程が観察される⁷⁶⁾。この電流は Na^+ より K^+ に対して高い透過性を示し (逆転電位; $-30 \sim -20$ mV), その

活性化範囲 (電位) が静止膜電位 (最大拡張期電位) 付近にあることから, 心筋のペースメーカー電位を生成する重要な電流の一つと考えられている⁷⁷⁾。 I_h を形成する NSCC (F-チャネル) は非常に小さなコンダクタンス (約 1pS) を有し, 細胞内 cAMP の上昇に伴ってリン酸化を介さない何らかの機序によってその活性が増加する (活性化曲線の右方偏位を起こす)⁷⁸⁾。このような cAMP によるイオンチャネルに対する直接作用は, cNGCs に特徴的な特性 (この場合は活性化) であることから, cNGCs と F-チャネルの分子構造上の類似性を指摘する向きもある。心臓と類似の I_h 電流は中枢神経, 平滑筋⁷⁹⁻⁸¹⁾ からも記録されており, その生理機能はペースメーカー電位を介した活動電位の発火頻度の調節にあると考えられている。 I_h は mM オーダーの Cs^+ によって非特異的に抑制されるが, 最近, Zeneca compound の ZD7288 が比較的選択的な I_h 阻害薬として報告されているのは注目に値する^{80,81)}。また, ごく最近になって, 通常より遅い心拍を示す熱帯魚 zebra fish, *Danio rerio*, の劣性遺伝変異体 (*mo* 遺伝子の変異したもの; *slow mo*: *smo*) の胎児心では I_h 活性が著しく減少していることが示された⁸²⁾。今後 *smo* を手がかりとした F-チャネル遺伝子クローニングの進展が期待される。

VI. 貯蔵部位に関連した NSCCs (store-related NSCCs)

(1) 貯蔵部位の枯渇によって活性化される NSCC (store depletion-activated NSCCs)

血液細胞, 腺細胞, 血管内皮細胞の Ca^{2+} 動員型受容体が刺激されると, IP_3 産生による貯蔵 Ca^{2+} 放出の後, 細胞外から持続性 Ca^{2+} 流入が起り, 貯蔵部位を再充填する。この現象は IP_3 産生を起こさない Ca^{2+} 放出 (遊離) 物質 (カフェイン, リアノジン, thapsigargin, シクロピアゾン酸) や Ca^{2+} キレート剤 (EGTA, BAPTA) によっても生じることから, 貯蔵部位の枯渇自体が何らかのシグナルになって生じていると考えられ, 容量性 Ca^{2+} 流入 (capacitative Ca^{2+} entry; CCE) と名付けられ

た⁸³⁻⁸⁵⁾。容量性 Ca^{2+} 流入に関与する経路は、形質膜に存在するある種の Ca^{2+} 透過型陽イオンチャネル (Ca^{2+} release activated channels: CRAC; store-operated channels: SOCs) であると考えられている。このチャネルの生理的イオン条件下におけるコンダクタンスは非常に小さく(ノイズ解析によって 20fs と推定)、その電流は内向き整流を示し、高度の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇によって不活化すると考えられている。また CRAC は Na^+ より Ca^{2+} に対し数十倍高い透過性を有し ($P_{\text{Ca}}/P_{\text{Na}} > 40$)、 Mn^{2+} も透過させるという報告が多い。これらの性質から予想される CRAC (or SOCs) を介した Ca^{2+} 流入量は、膜過分極 (例えば K チャネルの活性化) によって増加し(すなわち駆動電圧の増加による)、膜脱分極 (K チャネルの抑制) で減少することが実験的に確かめられている^{86,87)}。CRAC 活性化の分子機序に関して二つの説が提出されている。第一の conformational coupling 説^{88,89)} は、骨格筋のジヒドロピリジン受容体とリアノジン受容体の関係にみられるように、貯蔵部位の細胞膜面と CRAC 間に何らかの physical interaction があるとするものである。これに対して第2の説では、貯蔵部位が枯渇すると、可溶性セカンドメッセンジャー (Ca^{2+} -influx factor; CIF, 陰イオンを含む分子量 500 以下の因子^{90,91)}) が貯蔵部位から細胞質分画へ translocate し (細胞外から paracrine 的に作用する可能性もある)、CRAC の活性化因子として作動すると考えられている。CIF の不活化は、脱リン酸化酵素阻害薬 (オカダ酸、シクロスポリン) の投与や $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を減少させる処置によって抑制されることが報告されている⁹²⁾。後者の効果は、細胞内貯蔵部位の枯渇時に ($[\text{Ca}^{2+}]_i$ が次第に減少する)、CCE に対する正のフィードバックとして働いている可能性が指摘されている。また CCE に於ける、低分子量 GTP 結合蛋白質、チロシンリン酸化、チトクローム P_{450} 関連代謝産物の関与も示唆されており、更に CCE 類似の現象が非興奮性細胞以外 (例えば種々の平滑筋) でもみられることを考慮すると、CCE には、CRAC だけではなく性質の異なる幾つか

のチャネルが関与しているものと考えられる。

CCE (あるいは CRAC) の選択的阻害薬は未だ知られていない。 Ni^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , La^{3+} などの多価イオンは mM オーダーで抑制作用を示す。また SKF-96365 やチトクローム P_{450} の阻害薬 econazol などによっても強力に抑制されるが、VDCCs の阻害薬、ニフェジピン、ジルチアゼム、D600 などでは影響されないことが報告されている⁸⁶⁾。

(2) IP_3 (IP_4) 活性化 NSCCs (IP_3 or IP_4 -gated NSCCs)

受容体刺激時に産生された IP_3 や IP_4 によって直接活性化される NSCCs が形質膜に存在し、電位に依存しない Ca^{2+} 流入経路として働いているという報告がある (ヒト T リンパ球⁹³⁾, ウシ大動脈内皮⁹⁴⁾, ヒト癌細胞⁹⁵⁾, 小脳ブルキンエ細胞⁹⁶⁾, 嗅神経⁹⁷⁾, ウシ大動脈内皮培養細胞, ⁹⁸⁾海馬 CA1 神経⁹⁹⁾)。これらの NSCC の Ca^{2+} 選択性は CRAC に比べるかなり低いが、形質膜と粗面小胞体膜が極めて近接した部分に局在していることを示す組織免疫学的実験があり¹⁰⁰⁾, 細胞内貯蔵部位に細胞外から Ca^{2+} を供給する重要な経路として働いている可能性も考えられる。

最近、ショウジョウバエの光受容器 (光刺激で活性化されたフォスフォリパーゼ C が IP_3 産生を促進する) の受容体電位 (transient receptor potential; trp) を構成する異なる二種の NSCCs の cDNA が相次いでクローニングされ、それぞれ trp, trpl (trp-like) と名付けられた。その後の解析の結果、trp, trpl の遺伝子産物である Trp, Trpl がともに電位依存性 Ca チャネルに似た分子構造的トポロジーを示すのにもかかわらず、Trp は Ca^{2+} に対する選択性が比較的高く ($P_{\text{Ca}}/P_{\text{Cs}} = 3.5$) thapsigargin で活性化されるのに対し (IP_3 , IP_4 や Ca^{2+} では活性化されない), Trpl は IP_3 のみによって活性化され Ca^{2+} に対する選択性の低い NSCC であることが示された¹⁰¹⁻¹⁰³⁾。更に Trp と Trpl の C 末端を入れ替えたキメラを作成すると、thapsigargin 非感受性 Ca^{2+} 選択型チャネルと thapsigargin 感受性低 Ca^{2+} 透過型 NSCC を

得ることができることから, Trp の C 末端の構造が貯蔵部位枯渇のシグナルの受容体として重要であることが明らかにされた¹⁰⁴⁾. 最近 Trp の homolog がヒト細胞からも検出されており (Htrp1 & Htrp3¹⁰⁵⁾), 今後 Trp, Trp1 と CRAC, IP₃ 活性型 NSCC の関係が詳しく検討されるにつれ, 複雑な CCE 機構の実体も次第に明らかになるであろう*.

VII. その他の NSCCs (other unclassifiable NSCCs)

NSCCs の活性化を起こす機序として上に述べた以外にも幾つかの重要な因子をあげることができるが, 得られている情報は依然断片的である. 以下では活性化様式の類似性のみに着目して簡単に述べてみたい.

(1) 酸化ストレス及び関連代謝産物で活性化される NSCCs

虚血状態から血流が再開するとフリーラジカルが産生される. このようにして発生したフリーラジカルは, 膜脂質の過酸化によってリゾリン脂質の蓄積を引き起こし, その結果 NSCCs を含む細胞の様々な機能性蛋白質の活性に直接・間接的に影響を与えることが知られている. 例えば仔牛肺動脈内皮細胞に酸化剤 tert-butyl-hydroperoxide を投与すると, Ca²⁺ 透過型の NSCC (約 30pS) が活性化される¹⁰⁶⁾. このチャネルは酸化型グルタチオン (GSSG) の投与によっても活性化できることから, *in vivo* では虚血時に発生したフリーラジカルによって酸化型に変換された内因性のグルタチオンが, この NSCC を活性化し, 膜電位の減少や Ca²⁺ 流入を引き起こし, 細胞内 [Ca²⁺] を上昇させることによって内皮の機能に影響を与えている可能性が示唆されている¹⁰⁷⁾. またインシュリン分泌細胞 CRI-GI では, 過酸化水素そのものによっても 70pS の NSCC が¹⁰⁸⁾, また単離モルモット心筋細胞では, リゾフォスファチジン酸によって Ca²⁺ 透過型の NSCC が活性化されることが報

告されており¹⁰⁹⁾, それぞれ糖尿病や虚血時の心筋収縮・障害への関与が考えられている.

(2) 海洋毒素で活性化される NSCCs (Maitotoxin, Palytoxin-activated NSCCs)

歴史的にみると海洋生物が産生する毒素を利用してチャネルの電気生理的解析や単離精製を行った例が少なからず見いだされる. maitotoxin や palytoxin は海洋生物 Dinoflagellate Gambierdiscus, Palythoa tuberculosa からそれぞれ分離精製された毒素で細胞膜の脱分極や細胞外からの Ca²⁺ 流入を起こすことが知られていた. 最近になり, これらの海洋性毒素が Ca²⁺ 透過型 NSCCs を開口させることが patch clamp 法を用いた実験によって示された^{110,111)} が詳細は不明である. また, palytoxin による NSCC の活性化作用は ouabain や vanadate によって抑制され, ATP によって増強されることから, このチャネルが何らかの形で Na/K ATPase と連動 (あるいは Na/K ATPase の一部が NSCC のイオン透過孔を形成) している可能性が示唆されている¹¹²⁾.

(3) 細胞外 Ca²⁺ 受容体で制御される NSCCs (extracellular Ca²⁺ receptor-regulated NSCCs)

副甲状腺には細胞外 Ca²⁺ 濃度変化を感知する受容体が存在し, 生体の Ca 恒常性維持に重要な役割を果たしていると考えられていた. 最近この Ca²⁺ 受容体がウシ副甲状腺からクローニングされ, 分子量約 120kDa の 7 回膜貫通 G 蛋白共役型受容体であり, 代謝型グルタミン酸受容体にある程度の類似性をもつことが明らかになった¹¹³⁾. 更にこの受容体を HEK293 細胞に強制発現させ, 細胞外 Ca 濃度を 0.75mM から 3mM まで上昇させると, 約 48pS の Ca²⁺ 透過型 NSCC の活性化が観察された¹¹⁴⁾. 同様のチャネルの存在はラット海馬神経細胞でも観察され¹¹⁵⁾, 更に興味深いことに β -アミロイドが同じ NSCC を活性化することが報告されるにおよんで¹¹⁶⁾ この Ca²⁺ 受容体の病生理的重要性が注目されつつある. 一方, 細胞外 Ca²⁺ 濃度

foot note*; これまで報告のある I_{CRAC} の Ca²⁺ 透過性と単一コンダクタンスは, Trp のそれとかなり異なることに注意する必要がある (P_{Ca}/P_{CS} > 40 vs. 3.5; 20fS vs. 3pS).

の減少を感知して活性化する NSCC (36pS) もマウス海馬神経培養細胞から記録されており興味深い¹¹⁷⁾。

(4) アポトーシス抑制遺伝子 bcl-2 と NSCCs

アポトーシス (apoptosis) は組織・器官の発生・分化・成熟・老化等に於て、細胞がある予定されたプログラムに従って死にいたる過程 (programmed cell death) をいう。最近、この過程に抑制的に作用する癌遺伝子 bcl-2 が、ある種の NSCC を code している可能性が示唆された。Bcl-2 関連蛋白 Bcl-X_L の 3 次元構造が diphtheria toxin や colicin 等の細菌毒素の pore-forming domain に極めて良く似ていることは、X 線による構造解析による結果からよく知られていた¹¹⁸⁾。その後、人工膜に Bcl-X_L 蛋白を再構成すると、pH (酸性側で活性化) や電位に強く依存した、巨大なコンダクタンス (4 つの subconductive state; 80, 134, 179, 276pS) をもつ NSCC の開口がみとめられ (生理的 pH における開口確率は極めて低い¹¹⁹⁾)、続いて同様の結果が Bcl-2 についても確認さ

れた¹²⁰⁾。また興味深いことに、Bcl-2 と結合しその作用を抑制することが知られている Bcl-2 関連蛋白 Bax (癌抑制遺伝子) にも NSCC 活性 (生理的 pH で著しく高い開口確率を示し、陽イオンに対してより高い選択性: $P_{Na}/P_{Cl} \sim 2$ を有す) が認められた。更に、Bax による NSCC 活性は、過剰に加えた Bcl-2 によって著しく抑制されることから¹²¹⁾、生理的条件下では Bax と Bcl-2 の動的平衡 (すなわち heterodimer を形成する) によって最終的な NSCC 活性が決定されているのではないかと考えられている¹¹⁹⁾。Bcl-2, Bcl-X_L, Bax は、ミトコンドリア外膜、核外套膜、小胞体膜等の細胞内微小膜系に局在していることが知られている。また、これらの膜を介して様々な物質の輸送が行われ、この過程がこれらの膜のイオン透過性と深く関わっていることも知られている¹²²⁾。Bcl-2 関連蛋白のアポトーシスに果たす役割を知る鍵の一部は (adaptor/docking protein としての機能と共に)、この辺りの事実にあるのではないかと想像されている¹¹⁹⁾。

お わ り に

これまで繰り返し述べてきたように、NSCC の生理的・薬理的特性はじつに多種多彩である。対象とする動物種、臓器、組織や活性化物質 (機構) に対応する分だけ、その複雑さ・多様さも増加すると思われる。一方、一見異なるグループに属すると考えられてきた NSCC 間に多くの類似点が見られたり (例えば mNSCC と CAN)、一見類縁関係がないと思われるチャネル間に高度の構造的類似性が存在する場合も少なくない (例えば P_{2x} -NSCC, ENAC, MSCs,

inward rectifying K channel)。このような NSCC の多様性と類似性は、NSCC に関する論理的な分類を極めて困難なものとし、従って選択的作用薬・阻害薬の開発にとって大きな障碍になっていると考えられる。今後この領域における分子生物学的研究の発展と電気生理学的・薬理学的分類作業の進展が NSCC が関与していると考えられている様々な病態の解明や、その治療薬開発への糸口となることが期待される。

謝 辞

原稿をタイプして頂いた谷口百合江さんに心から感謝いたします。

References

1. Fatt, P. and Katz, B. (1951). An analysis of the endplate potential recorded with an intracel-

- lular electrode. *J. Physiol.* **115**: 320-370.
2. Katz, B. and Miledi, B. (1970). Membrane noise produced by acetylcholine. *Nature* **226**: 962-963.
 3. Magleby, K.L. and Stevens, C.F. (1972). A quantitative description of end-plate currents. *J. Physiol.* **223**: 173-197.
 4. Neher, E. and Sakmann, B. (1976). Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature* **260**: 779-802.
 5. Adams, D.J., Dwyer, T.M. and Hille, B. (1980). The permeability of endplate channels to monovalent and divalent metal cations. *J. Gen. Physiol.* **75**: 493-510.
 6. Dani, J.A. (1993). Structure, diversity, and ionic permeability of neuronal and muscle acetylcholine receptors. In: *Nonselective cation channels*, eds. D. Siemen and J. Hescheler, Birkhaeuser/Basel.
 7. Hille, B. (1992). In: *Ionic Channels of Excitable Membranes*. 2nd Edition, Sinauer/Sunderland, Massachusetts.
 8. Nilius, B. (1990). Permeation properties of a non-selective cation channels in human vascular endothelial cells. *Pflügers Archiv.* **416**: 609-611.
 9. Kuriyama, H., Kitamura, K., Itoh, T. and Inoue, R. (1998). Physiological features of visceral smooth muscle cells, with special reference to receptors and ion channels. *Physiological Review*. in press.
 10. Galzi, J.L., Devillers-Thiery, A., Husy, N., Bertrand, S., Changewx, J.P. and Bertrand, D. (1992). Mutations in the channel domain of a neuronal nicotinic receptor convert ion selectivity from cationic to anionic. *Nature* **359**: 500-505.
 11. Surprenant, A., Buell, G. and North, R.A. (1995). P_{2x} receptors bring new structure to ligand gated ion channels. *Trends in Neurosci.* **18**: 224-229.
 12. Surprenant, A., Rassendren, F., Kawashima, E., North, R.A. and Buell, G. (1996). The cytolytic P_{2z} receptor for extracellular ATP identified as a P_{2x} receptor (P_{2x7}). *Science* **272**: 735-738.
 13. Kennedy, C. and Leff, P. (1995). Painful connection for ATP. *Nature* **377**: 385.
 14. Benham, C.D. and Tsien, R.W. (1987). A novel receptor-operated Ca^{2+} -permeable channel activated by ATP in smooth muscle. *Nature* **328**: 275-278.
 15. Bolton, T.B. (1979). Mechanisms of actions of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiological Review.* **59**: 606-718.
 16. Brake, A.J., Wagenbach, M.J. and Julius, D. (1994). New structural motif for ligand-gated ion channels defined by an ionotropic ATP receptor. *Nature* **371**: 519-523.
 17. Amedee, T., Benham, C.D., Bolton, T.B., Byrne, N.G. and Large, W.A. (1990). Potassium, chloride and nonselective cation conductances opened by noradrenaline in rabbit ear artery cells. *J. Physiol.* **423**: 551-568.
 18. Wickmann, K. and Clapham, D.E. (1995). Ion channel regulation by G proteins. *Physiological Reviews* **75**: 865-885.
 19. Benham, C.d., Bolton, T.B. and Lang, R.J. (1985). Acetylcholine activates an inward current in single mammalian smooth muscle cells. *Nature* **316**: 345-347.
 20. Inoue, R. and Isenberg, G. (1990). Acetylcholine activates nonselective cation channels in guinea-pig ileum through a G-protein. *Am. J. Physiol.* **258**: C1173-C1178.
 21. Inoue, R. (1996). 受容体を介した Ca 動員と Ca 透過型陽イオンチャネル. *Fukuoka Acta Medica* **87**: 92-96.
 22. Inoue, R. and Chen, S. (1993). Physiology of muscarinic receptor-operated nonselective cation channels in guinea-pig ileal smooth muscle. In: *Nonselective cation channels*, eds. D. Siemen and J. Hescheler, Birkhaeuser/Basel, pp. 247-268.
 23. Waniishi, Y., Inoue, R. and Ito, Y. (1997). Preferential potentiation by hypotonic cell-swell-

- ing of muscarinic cation current in guinea-pig ileal smooth muscle. *Am. J. Physiol.* **272**: C240-C253.
24. Bakhramov, A. (1995). Effects of high-energy phosphates on carbachol-evoked cationic current in single smooth muscle cells from guinea-pig ileum. *J. Physiol.* **485**: 659-669.
 25. Inoue, R. and Waniishi, Y. (1995). Critical requirement of phosphorylation for the regulation of receptor-operated nonselective cation channels in smooth muscle. In: *Proceeding of the International Symposium Smooth Muscle*, Korean Society for Smooth Muscle Research, pp. 46-51.
 26. Bolton, T.B. and Zholos, A.V. (1997). Activation of M_2 muscarinic receptors in guinea-pig ileum opens cationic channels modulated by M_3 muscarinic receptors. *Life Sci.* **60**: 1121-1128.
 27. Lee, H.K., Bayguinov, O. and Sanders, K.M. (1993). Role of nonselective cation current in muscarinic responses of canine colonic muscle. *Am. J. Physiol.* **265**: C1463-C1471.
 28. Kim, S.J., Ahn, S.C., So, I. and Kim, K.M. (1995). Role of calmodulin in the activation of carbachol-activated cationic current in guinea-pig gastric astral myocytes. *Pflügers Archiv.* **430**: 757-762.
 29. Fleishmann, B.K., Wang, Y.-X. and Kotlikoff, M.I. (1997). Muscarinic activation and calcium permeation of nonselective cation currents in airway myocytes. *Am. J. Physiol.* **272**: C341-C349.
 30. Inoue, M. and Kuriyama, H. (1991). Muscarinic receptor is coupled with a cation channel through a GTP-binding protein in guinea-pig chromaffin cells. *J. Physiol.* **436**: 511-529.
 31. Haj-Dehmane, S. and Andrade, R. (1996). Muscarinic activation of a voltage-dependent cation nonselective current in rat association cortex. *J. Neurosci.* **16**: 3848-3861.
 32. Inoue, M. and Imanaga, I. (1996). Mechanism of activation of nonselective cation channels by putative M_4 muscarinic receptor in guinea-pig chromaffin cells. *Br. J. Pharmacol.* **114**: 419-427.
 33. Inoue, R. (1991). Effect of Cd^{2+} and other divalent cations on carbachol-activated non-selective cation channels in guinea-pig ileum. *J. Physiol.* **442**: 447-463.
 34. Zholos, A.V. and Bolton, T.B. (1995). Effects of divalent cations on muscarinic receptor cationic current in smooth muscle from guinea-pig small intestine. *J. Physiol.* **486**: 67-82.
 35. Chen, S., Inoue, R. and Ito, Y. (1993). Pharmacological characterization of muscarinic receptor-activated cation channels in guinea-pig ileum. *Br. J. Pharmacol.* **109**: 793-801.
 36. Kim, S.J., Ahn, S.C., So, I. and Kim, K.M. (1995). Quinidine blockade of the carbachol-activated nonselective cationic current in guinea-pig gastric myocytes. *Br. J. Pharmacol.* **115**: 1407-1414.
 37. Yamada, K., Waniishi, Y., Inoue, R. and Ito, Y. (1996). Fenamates potentiate the α_1 -adrenoceptor-activated nonselective cation channels in rabbit portal vein smooth muscle. *Jpn. J. Pharmacol.* **70**: 81-84.
 38. Farrugia, G., Rae, J.L., Sarr, M.G. and Szurszewski, J.H. (1993). Potassium current in circular smooth muscle of human jejunum activated by fenamates. *Am. J. Physiol.* **265**: G873-G879.
 39. Van Rentergem, C., Romey, G. and Lazdunski, M. (1988a). Vasopressin modulates the spontaneous electrical activity in aortic cells (line A7r5) by acting on three different types of ionic channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**: 9365-9369.
 40. Van Rentergem, C., Vigne, P., Berhanin, J., Schmid-Alliana, A., Frelin, C. and Lazdunski, M. (1988b). Molecular mechanism of action of the vasoconstrictor peptide endothelin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **157**: 977-985.
 41. Van Rentergem, C. and Lazdunski, M. (1994). Identification of the Ca^{2+} current activated by vasoconstrictors in vascular smooth muscle cells. *Pflügers Archiv.* **429**: 1-6.
 42. Enoki, T., Miwa, S., Sakamoto, A., Minowa, T., Komuro, T., Kobayashi, S., Ninomiya, H. and Masaki, T. (1995). Long-lasting activation of cation current by low concentration of endoth-

- elin-1 in mouse fibroblasts and smooth muscle cells of rabbit aorta. *Br. J. Pharmacol.* **115**: 479-485.
43. Krautwurst, D., Degtiar, V.E., Schultz, G. and Hescheler, J. (1994). The isoquinoline derivative CDE908 selectively blocks vasopressin-activated nonselective cation currents in A7r5 aortic smooth muscle cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **349**: 301-307.
 44. Iwasawa, K., Nakajima, H., Goto, A., Shin, W.S., Toyooka, T. and Omata, M. (1997). Effects of extracellular pH on receptor-mediated Ca^{2+} influx in A7r5 rat smooth muscle cells: involvement of two different types of channels. *J. Physiol.* **503**: 237-251.
 45. Minowa, T., Miwa, S., Kobayashi, S., Enoki, T., Zhang, X.-F., Komuro, T., Iwamuro, Y. and Masaki, T. (1997). Inhibitory effect of nitro vasodilators and cyclic GMP on ET-1-activated Ca^{2+} -permeable nonselective cation channel in rat aortic smooth muscle cells. *Br. J. Pharmacol.* **120**: 1536-1544.
 46. Yamada, K., Chen, S., Abdullah, N.A., Tanaka, M., Ito, Y. and Inoue, R. (1996). Electrophysiological characterization of a motilin agonist, GM611, on rabbit duodenal smooth muscle. *Am. J. Physiol.* **271**: G1003-G1016.
 47. Lee, H.K., Shuttleworth, C.W. and Sanders, K.M. (1995). Tachykinins activate nonselective cation currents in canine colonic myocytes. *Am. J. Physiol.* **269**: C1394-C1401.
 48. Xiong, Z., Kitamura, K. and Kuriyama, H. (1991). ATP activates cationic currents and modulates the calcium current through GTP-binding protein in rabbit portal vein. *J. Physiol.* **440**: 143-165.
 49. Naumov, A.P., Kiselyov, K.I., Mamin, A., Kaznacheyeva, E.V., Kuryshv, Y.A. and Mozhayeva, G.N. (1995). ATP-operated calcium-permeable channels activated via a guanine nucleotide-dependent mechanism in rat macrophages. *J. Physiol.* **486**: 339-347.
 50. Naumov, A.P., Kaznacheyeva, E.V., Kiselyov, K.I., Kuryshv, Y.A., Mamin, A. and Mozhayeva, G.N. (1995). ATP-activated inward current and calcium-permeable channels in rat macrophage plasma membranes. *J. Physiol.* **486**: 323-337.
 51. Siemen, D. (1993). Non selective cation channels. In: *Nonselective cation channels*, eds. D. Siemen and J. Hescheler, Birkhaeuser/Basel. pp. 3-25.
 52. Loirand, G., Pacaud, P., Baron, A., Mironneau, C. and Mironneau, J. (1991). Large conductance calcium-activated non-selective cation channel in smooth muscle cells isolated from rat portal vein. *J. Physiol.* **437**: 461-475, 1991.
 53. Partridge, L.D. and Swandulla, D. (1993). In: *Nonselective Cation Channels*, eds. D. Siemen and J. Hescheler, Birkhaeuser/ Basel, p. 175-183.
 54. Thorn, P. and Petersen, O.H. (1992). Activation of nonselective cation channels by physiological cholecystokinin concentrations in mouse pancreatic acinar cells. *J. Gen. Physiol.* **100**: 11-25.
 55. Partridge, L.D., Swandulla, D. and Mueller, T.H. (1990). Modulation of calcium-activated non-specific cation currents by cyclic AMP-dependent phosphorylation in neurones of Helix. *J. Physiol.* **429**: 131-145.
 56. Koivisto, A. and Nedergaard, J. (1995). Modulation of calcium-activated non-selective cation channel activated by nitric oxide in rat brown adipose tissue. *J. Physiol.* **486**: 59-65.
 57. Tohda, H., Foskett, J.K., Oibrodovich, H. and Marunaka, Y. (1994). Cl-regulation of a Ca^{2+} -activated nonselective cation channel in β -agonist-treated fetal distal lung epithelium. *Am. J. Physiol.* **266**: C104-C109.
 58. Takano, M. and Ashcroft, F.M. (1994). Effects of internal chloride on ATP-sensitive K-channels in mouse pancreatic β -cells. *Pflügers Arch.* **428**: 194-196.
 59. Popp, R., Englert, H.C., Lang, H.J. and Goegelein, H. (1993). Inhibitors of nonselective cation channels in cells of the blood-brain barrier. In: *Nonselective cation channels*, eds. D. Siemen and J. Hescheler, Birkhaeuser/Basel. pp. 213-218.

60. Gögelein, H. and Pfanmüller, B. (1989). The nonselective cat ion channel in the vasolateral membrane of rat exocrine pancreas. *Pflügers Archiv.* **413**: 287-298.
61. Gögelein, H. and Capek, K. (1990). Quinine inhibits chloride and nonselective cation channels in isolated rat distal cdon cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1027**: 191-198.
62. Sturgess, N.C., Hales, C.N. and Ashford, M.L.J. (1987). Calcium and ATP regulate the activity of a non-selective cation channel in a rat insulinoma cell line. *Pflügers Archiv.* **409**: 607-615.
63. Barnstable, C.J. (1993). Cyclic nucleotide-gated nonselective cation channels: A multifunctional gene family. In: *Nonselective cation channels*, eds. D. Siemen and J. Hescheler, Birkhauser/Basel, pp. 121-133.
64. Zufall, F. (1993). Cyclic AMP-gated cation channels of olfactory receptor neurons. In: *Nonselective cation channels*, eds. D. Siemen and J. Hescheler, Birkhaeuser/Basel, pp. 135-145.
65. Conley, E.C. (1996). The ion channel. In: *Facts Book II, Intracellular ligand-gated channels*, Academic Press, London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto.
66. Jorgensen, F. and Ohmori, H. (1988). Amiloride blocks the mechano-electrical transduction channel of hair cells of the chick. *J. Physiol.* **403**: 577-588.
67. Yang, X.-C. and Sachs, F. (1993). Mechanically sensitive, nonselective cation channels. In: *Nonselective cation channels*, eds. D. Siemen and J. Hescheler, Birkhaeuser/Basel. pp. 79-92.
68. Hamill, O.P. and McBridge, D.W.Jr. (1996). The pharmacology of mechanogated membrane ion channels. *Pharmacological Review.* **48**: 231-252.
- 68b. Hackney, C.M., Furness, D.N., Benos, D.J., Woodley, J.F. and Barratt, J. (1992). Putative immunolocalization of the mechanoelectrical transduction channels in mammalian cochlear hair cells. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* **248**: 215-221.
69. Canessa, C.M., Horisberger, J.-D. and Rossier, B.C. (1993). Epithelial sodium channel related to proteins involved in neurodegeneration. *Nature* **361**: 467-470.
70. Canessa, C.M., Schild, L., Buell, G., Thorens, B., Gautschi, I., Horisberger, J.-D. and Rossier, B.C. (1994). Amiloride-sensitive epithelial Na⁺ channel is made of three homologous subunits. *Nature* **367**: 463-467.
71. Kizer, N., Guo, X.-L. and Hruska, K. (1997). Reconstitution of stretch-activated cation channels by expression of the α -subunit of the epithelial sodium channel cloned from osteoclasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 1013-1018.
72. Sukharev, S.I., Blount, P., Martinac, B., Blattner, F.R. and Kung, C. (1994). A large-conductance mechanosensitive channels in E. coli encoded by mscL alone. *Nature* **368**: 265-268.
73. Hisada, T., Ordway, R.W., Kirber, M.T., Singer, J.J. and Walsh, J.V. (1991). Hyperpolarization-activated cationic channels in smooth muscle cells are stretch sensitive. *Pflügers Archiv.* **417**: 493-499.
74. Paoletti, P. and Ascher, P. (1994). Mechanosensitivity of NMDA receptors in cultured mouse central neurons. *Neuron* **13**: 645-655.
75. Morris, C.E. (1992). Are stretch-sensitive channels in molluscan cells and elsewhere physiological mechanotransducers? *Experientia* **48**: 852-858.
76. DiFrancesco, D. (1981). The contribution of the 'pacemaker' current (i_t) to generation of spontaneous activity in rabbit sino-atrial node myocytes. *J. Physiol.* **434**: 23-40.
77. DiFrancesco, D. and Noble, D. (1985). A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **307**: 353-398.
78. DiFrancesco, D. and Mangoni, M. (1994). Modulation of single hyperpolarization-activated channels (i_h) by cAMP in the rabbit sino-atrial node. *J. Physiol.* **474**: 473-482.
79. Benham, C.D., Bolton, T.B., Denbigh, J.S. and Lang, R.J. (1987). Inward rectification in freshly isolated single smooth muscle cells of the rabbit jejunum. *J. Physiol.* **383**: 461-476.
80. Maccaferri, G. and McBain, C.J. (1996). The hyperpolarization-activated current (I_h) and its

- contribution to pacemaker activity in rat CA1 hippocampal stratum oriens-alvens interneurons. *J. Physiol.* **497**: 119-130.
81. Green, M.E., Edwards, G., Kirkup, A.J., Miller, M. and Weston, A.H. (1996). Pharmacological characterization of the inwardly-rectifying current in the smooth muscle cells of the rat bladder. *Br. J. Pharmacol.* **119**: 1509-1518.
 82. Baker, K., Warren, K.S., Yellen, G. and Fishman, M.C. (1997). Defective pacemaker current (I_h) in a zebrafish mutant with a slow heart rate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 4554-4559.
 83. Putney, J.W.Jr. (1986). A model for receptor-regulated calcium entry. *Cell Calcium* **7**: 1-12.
 84. Putney, J.W.Jr. (1990). Capacitative calcium entry revisited. *Cell Calcium* **11**: 611-624.
 85. Putney, J.W.Jr. and Bird, G.St.J. (1993). The signal for capacitative calcium entry. *Cell* **75**: 199-201.
 86. Fasolato, C., Innocenti, B. and Pozzan, T. (1994). Receptor-activated Ca^{2+} influx: low many mechanisms for how many channels. *Trends in Pharmacol.* **15**: 77-83.
 87. Hoth, M., Fasolato, C. and Penner, R. (1993). Ion channels and calcium signaling in mast cells. *Annals N.Y. Acad. Sci.* **707**: 198-209.
 88. Irvine, R.F. (1990). "Quantal" Ca^{2+} release and the control of Ca^{2+} entry by inositol phosphates—a possible mechanism. *FEBS Lett.* **263**: 5-9.
 89. Berridge, M.J. (1995). Capacitative calcium entry. *Biochem. J.* **312**: 1-11.
 90. Randriamampita, C. and Tsien, R.Y. (1993). Emptying of intracellular Ca^{2+} stores releases a novel small messenger that stimulates Ca^{2+} influx. *Nature* **364**: 809-814.
 91. Parekh, A.B., Terlan, H. and Stuenkel, W. (1993). Depletion of InsP_3 stores activates a Ca^{2+} and K^+ current by means of a phosphates and a diffusible messenger. *Nature* **364**: 814-818.
 92. Randriamampita, C. and Tsien, R.Y. (1995). Degradation of a calcium influx factor (CIF) can be blocked by phosphatase inhibitors or chelation of Ca^{2+} . *J. Biol. Chem.* **270**: 29-32.
 93. Kuno, M. and Gardner, P. (1987). Ion channels activated by inositol 1,4,5-trisphosphate in plasma membrane of human T-lymphocytes. *Nature* **326**: 301-304.
 94. Vaca, L. and Kunze, D.L. (1995). IP_3 -activated Ca^{2+} channels in the plasma membrane of cultured vascular endothelial cells. *Am. J. Physiol.* **269**: C733-C738.
 95. Mozhayeva, G.N., Naumov, A.P. and Kuryshev, Y.A. (1990). Inositol 1,4,5-trisphosphate activates two types of Ca^{2+} -permeable channels in human carcinoma cells. *FEBS Lett.* **277**: 233-234.
 96. Kuno, M., Maeda, N. and Mikoshiba, K. (1994). IP_3 -activated calcium-permeable channels in the inside-out patches of cultured cerebellar purkinje cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **199**: 1128-1135.
 97. Restrepo, P., Miyamoto, T., Bryant, B.P. and Teeter, J.H. (1990). Odor stimuli trigger influx of calcium into olfactory neurons of the channel catfish. *Science* **249**: 1166-1168.
 98. Lueckhoff, A. and Clapham, D.E. (1992). Inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate activates an endothelial Ca^{2+} -permeable channel. *Nature* **355**: 356-358.
 99. Tsubokawa, H., Oguro, K., Robinson, H.P.C., Masuzawa, T. and Kawai, N. (1996). Intracellular inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate enhances the calcium current in hippocampal CA1 neurones of the gerbil after ischemia. *J. Physiol.* **497**: 67-78.
 100. Fujimoto, T., Nakade, S., Miyawaki, A., Mikoshiba, K. and Ogawa, K. (1992). Localization of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor-like protein in plasmalemmal caveolae. *J. Cell Biol.* **119**: 1507-1513.
 101. Hardie, R.C. and Minke, B. (1992). The trp gene is essential for a light-activated Ca^{2+} channel in *Drosophila* photoreceptors. *Neuron* **8**: 643-651.
 102. Phillips, A.M., Bull, A. and Kelly, L.E. (1992). Identification of a *Drosophila* gene encoding a calmodulin-binding protein with homology to the trp phototransduction gene. *Neuron* **8**: 631-

- 642.
103. Dong, Y., Kunze, D.L., Vaca, K. and Schilling, W.P. (1995). Ins (1,4,5)P₃ activates Drosophila cation channel Trp1 in recombinant baculovirus-infected Sf9 insect cells. *Am. J. Physiol.* **269**: C1332-C1339.
104. Sinkins, W.G., Vaca, L., Hu, Y., Kunze, D.L. and Schilling, W.P. (1996). The COOH-terminal domain of Drosophila TRP channels confers thapsigargin sensitivity. *J. Biol. Chem.* **271**: 2955-2960.
105. Zhu, X., Jiang, M., Peyton, M., Boulay, G., Hurst, R., Stefani, E. and Birnbaumer, L. (1996). trp a novel mammalian gene family essential for agonist-activated capacitative Ca²⁺ entry. *Cell* **85**: 661-671.
106. Koliwad, S.K., Kunze, D.L. and Elliott, S.J. (1996). Oxidant stress activates a non-selective cation channel responsible for membrane depolarization in calf vascular endothelial cells. *J. Physiol.* **491**: 1-12.
107. Koliwad, S.K., Elliott, S.J. and Kunze, D.L. (1996). Oxidized glutathione mediates cation channel activation in calf vascular endothelial cells during oxidant stress. *J. Physiol.* **495**: 37-49.
108. Herson, P.S. and Ashford, M.L.J. (1997). Activation of a novel non-selective cation channel by alloxan and H₂O₂ in the rat insulin-secreting cell line CRI-G1. *J. Physiol.* **501**: 59-66.
109. Magishi, K., Kimura, J., Kubo, Y. and Abiko, Y. (1996). Exogenous lysophosphatidylcholine increases non-selective cation current in guinea-pig ventricular myocytes. *Pflügers Archiv.* **432**: 345-350.
110. Dietl, P. and Voelkl, H. (1993). Maitotoxin activates a nonselective cation channel and stimulates Ca²⁺ entry in MDCK renal epithelial cells. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.* **45**: 300-305.
111. Ikeda, M., Mitani, K. and Ito, K. (1988). Palytoxin induces a nonselective cation channel in single ventricular cells of rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **335**: 591-593.
112. Kim, S.Y., Marx, K.A. and Wu, C.H. (1995). Involvement of the Na, K-ATPase in the induction of ion channels by palytoxin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **351**: 542-554.
113. Brown, E.M., Gamba, G., Riccardi, D., Lombardi, M., Butters, R., Kifor, O., Sun, A., Hediger, M.A., Lytton, J. and Hebert, S.C. (1993). Cloning and characterization of an extracellular Ca²⁺-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* **336**: 575-580.
114. Ye, C., Rogers, K., Bai, M., Quinn, S.J., Brown, E.M. and Vassilev, P.M. (1996). Agonists of the Ca²⁺-sensing receptor (CaR) activate nonselective cation channels in HEK 293 cells stably transfected with the human CaR. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **226**: 572-579.
115. Ye, C., Kanazirska, M., Quinn, S., Brown, E.M. and Vassilev, P.M. (1996). Modulation by polycationic Ca²⁺-sensing receptor agonists of nonselective cation channels in rat hippocampal neurones. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **224**: 271-280.
116. Ye, C., Ho-Pao, C.L., Kanazirska, M., Quinn, S., Rogers, K., Seidmann, C.E., Seidman, J.G., Brown, E.M. and Vassilev, P.M. (1997). Amyloid- β proteins activate Ca²⁺-permeable channels through calcium-sensing receptors. *J. Neurosci. Res.* **47**: 547-554.
117. Xiong, Z.G., Lu, W.-Y. and McDonald, J.F. (1997). Extracellular calcium sensed by a novel cation channel in hippocampal neurones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 7012-7017.
118. Reed, J.C. (1997). Double identity for proteins of the Bcl-2 family. *Nature* **387**: 773-776.
119. Minn, A.J., Velezi, P., Schendel, S.L., Liang, H., Muchmore, S.W., Fesik, S.W., Fill, M. and Thompson, C.B. (1997). Bcl-X_L forms an ion channel in synthetic lipid membranes. *Nature* **385**: 353-357.
120. Schendel, S.L., Xie, Z., Montal, M.O., Matsuyama, S., Montal, M. and Reed, J.C. (1997). Channel formation by antiapoptotic protein Bcl-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 5113-5118.

121. Antosson, B., Conti, F., Ciavatta, A., Montessuit, S., Lewis, S., Martinou, I., Bernasconi, L., Bernard, A., Mermod, J.-J., Mazzei, G., Maundrell, K., Gamballe, F., Sadoul, R. and Martinou, J.-C. (1997). Inhibition of Bax channel-forming activity by Bcl-2. *Science* **277**: 370-372.
122. Petit, P.X., Susin, S.-A., Zamzami, N., Mignotte, B. and Kroemer, G. (1996). Mitochondria and programmed cell death: back to the future. *FEBS Lett.* **396**: 7-13.

(受付日 平成 10 年 4 月 27 日: 受理日 平成 10 年 5 月 30 日)