●特集 細胞内膜系の諸相

核と Ca シグナル

川 野 誠 子

東京医科歯科大学難治疾患研究所 成人疾患部門 ☎ 113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45

Ca²⁺ Signaling In The Cell Nucleus

Seiko Kawano

Department of Cardiovascular Diseases, Medical Research Institute,
Tokyo Medical and Dental University,
1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8519, Japan

Ca²⁺ signals in the nucleus play important roles in various functions, such as gene transcription, protein transport, apoptosis, and diseased states. It has long been accepted that Ca²⁺ freely flows by diffusion through nuclear pore complex (NPC) between cytosol and nucleus. Recently, however, there are several evidences to support the existence of the independent regulation of nuclear Ca²⁺. The presence of Ca²⁺ signaling molecules in nuclear envelope (NE), Ca-ATPase Ca²⁺ pump, IP₃ receptor, IP₄ receptor and ryanodine receptor, and the existence of nucleo-cytoplasmic Ca²⁺ gradients are identified. It is indicated that nuclear envelope may serve as a barrier to cytosolic Ca²⁺ changes and function as the Ca²⁺ store to sustain the propagation of Ca²⁺ signals through the nucleoplasm. In this paper, I would like to introduce the recent studies about Ca²⁺ transporting systems of the NE, cross-talk between cytosolic and nuclear Ca²⁺ pools, and the regulation of NPC.

Key words : nucleus / Nuclear envelope / Ca²⁺ signals / Ca²⁺ store

1. はじめに

近年 Ca シグナルの研究は著しく進展し、細胞内 Ca のシグナル伝達系に関しては、その基本的なメカニズムの多くが解明されては始めている^{1, 2)}。そして今、新たに細胞の核の Ca シグナルが注目されてきた。核の機能のうち(1)遺伝子転写, (2)蛋白質輸送, (3)アポトーシスの3つのプロセスには Ca シグナルが深く関与していることが

知られている。従って、核の Ca シグナルとその核内での調節機構の詳細な解明は、これら核の機能を理解する上で、非常に重要であると考えられる。最近、核の Ca 供給システムとして、従来の「核膜孔複合体 nuclear pore complex (NPC) の中央の大きな孔を介して、細胞質の Ca が自由に核内に拡散していく」という考え方に対して、矛盾する事実が少しずつ明らかとなり、NPCを介する核 Ca の供給に疑問が投げかけられるよう

Fig. 1 Structure of Nuclear Envelope

核エンベロープは外膜、内膜より構成され、外膜は小胞体 (ER) へつながっている。(Molecular biology of The Cell より)

になってきた。本稿ではこの核の Ca の輸送システム, Ca プールの調節機構に関して最近の知見を考察する。

2. 核膜の構造と機能

核は細胞内で核膜によって細胞質と隔絶されいるが、その構造は通常の膜と異なり内膜と外膜の二重膜から構成されている。そして両膜の間には核周囲スペースが形成され、核全体を包み、核エンベロープ (Nuclear Envelope : NE) と呼ばれる。核の外膜は、小胞体膜と連続的に繋がっており、近年の研究で核周囲スペースは小胞体 (ER) の内腔と連続して交通し、小胞体と同様に Ca ストアーとしての役割を果たしていることが分ってきた。内膜と外膜は核膜孔複合体 (NPC) の部分で周期的に融合している (Fig. 1)³⁾。核膜孔複合体は約 120 kD の円柱状の構造を持つ蛋白質複合体であり、電子顕微鏡による観察ではその中央には約 10 nM の直径 100 nM の長さのチャンネルを有していることが示された⁴⁾。従来はこの NPC の孔を介して、RNA 等の核内物質や、細胞質の蛋白質等の輸送が行われていると考えられ、40

kD 以下の小物質や種々のイオンはこの NPC の孔を受動的に、自由に拡散によって移動していると考えられてきた。しかし、近年の研究では、NPC は単なる孔ではなくイオンチャンネル様の機能を持つこと、そして、核エンベロープには種々のイオンチャンネルやトランスポーターが存在することが明らかにされ、それらはセカンドメッセンジャーにより細胞質および核内から調節を受け活性化、不活性化が起こっている可能性が指摘されてきた。従って、核内と細胞質間との物質輸送システムは単に NPC のみでなく、核エンベロープが重要な役割を果たしていることが推測され、これらを解明する研究が現在脚光を浴びつつある。

3. 核と Ca シグナル

3.1 核エンベロープに存在する Ca シグナル分子

核内 Ca の自動制御説に対して最初に異論が出たのは、核膜に Ca ポンプ (nuclear Ca-ATPase : NCA) が存在することが分かってからである⁵⁾。1989 年にはこの存在が確認され⁶⁾、最近になって NCA は核の外膜に位置していることも分ってきた⁷⁾。すなわち、核エンベロープは Ca プールとしての役割を持っていることが確認されたことになる。この事は、自動制御に対する 1 つの確固たる反論となっている。そして、近年になって Ca signaling molecules の Receptors として inositol 1,4,5-tris-phosphate receptors (IP₃R)⁸⁾ や inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate (IP₄R) 等が核膜に存在することが相次いで分ってきた。さらに 1996 年には IP₃R とリアノジン受容体 (RyR) が核エンベロープの内膜に存在することが示され⁹⁾、また免疫電子顕微鏡によって RyR は核の内膜、外膜両方に存在することが判明した¹⁰⁾。Xenopus oocyte から単離した核を用いてパッチクランプを行った実験でも IP₃R のチャンネル電流の直接記録が成功し、核の外膜に IP₃R が存在していることが確認された¹¹⁾。さらに、核エンベロープや核内には phosphatidylinositol 4,5, bisphosphate (PIP₂) や Phospholipase C β 1

Fig. 2 Model for Calcium Signaling Pathways in the Cell Nucleus

Caは核Ca-ATPasesやIP₄Rによって核エンベロープへ輸送され、そして核の内膜に存在するIP₃Rを介して、核質へ遊離される。核質からのCaの排除は核膜孔複合体NPCを介して行われている。核内におけるCaに関連する主な機能をイラストとして描いてある。(19)より引用。

NE: nuclear envelope, ER: endoplasmic reticulum, NPC: nuclear pore complex, PMCA: plasma-membrane-Ca ATPase, SERCA: smooth endoplasmic reticulum CaATPase, NCA: Nuclear CaATPase, IP₃R: 1,4,5-trisphosphate receptor, IP₄R: 1,3,4,5-tetrakisphosphate receptor, RYR: ryanodien receptor, IP₃: 1,4,5-trisphosphate, IP₄: inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate, PIP₂: inositol 4,5-bisphosphate, cADP ribose: cyclic adenosine diphosphate ribose, PLCγ: phospholipase Cγ, PLCβ₁: phospholipase β₁, PLD: phospholipase D, CaM: Calmodulin, CDK: cyclin-dependent kinase, CaMK: Ca²⁺/Calmodulin-depednent protein kinase, CREB: CRE-binding protein, PKC: protein kinase C, DAG: Diacylglycerol, GPCR: G-protein coupled receptor, G: GTP-binding protein, Cat. PKA: catalytic subunit protein kinase A

が存在することが分っている¹²⁾。細胞質内ではPhospholipaseCβ1はPIP₂を水解してIP₃とDiacylglycerolを作ることが良く知られているが、このように、セカンドメッセンジャーを作り出す機構が核内部に存在するということは、核内でも細胞質と同様または類似のメッセンジャーが作られている可能性を示唆する。これらのことは、核内シグナルによってCaが核内へ供給される独立した機構が核エンベロープに存在することを強く支持すると考えられる。

3.2 細胞質と核内間のCa濃度差

核内Ca制御機構を指示するもう1つの強力な事実は細胞質と核内ではCaの濃度が異なることが挙げられる。もし、従来の説の“NPCを介する自由な無制限な拡散”が正しいならば、細胞質と核内のCa濃度は常に平衡であるはずである。しかし、細胞質と核内のCa濃度を検討した結果、両者は同一でなく濃度に差があることが観察されている。特に細胞を刺激した時に両者間の濃度差は著明になると報告されている。電気生理学的研究からは、既に、1963年にLoewensteinとKan-

no¹³⁾が核エンベロープを介して、細胞質と核内にはイオンの濃度差があることを示しており、これは両者間で無制限にCaが拡散するという考え方に対する確固たる反論になるといえる。Ca濃度の計測にはCa-sensitive fluorescent indicatorsを用いた通常の顕微鏡および共焦点顕微鏡が広く用いられ、細胞質のCa濃度に関してはほぼ研究者の間で見解は一致しているが、核内Ca濃度に関しては未だ正確な濃度は分っていない。研究者により核-細胞質間のCa濃度差は高かったり、低かったり、同じだったりと報告はまちまちである¹⁴⁻¹⁶⁾。これらの結果が一致しない理由として、用いている細胞のシステムや計測方法が異なったり、生理的条件が異なる為などが考えられている。また蛍光色素による標識では色素の反応が核内と細胞質内では異なる可能性、細胞内の複雑なコンパートメント、Ca結合蛋白の相違等多数の問題があると思われる。

3.3 Ca ストアーとしての核エンベロープ

現在では、核エンベロープは小胞体と同様にCa ストアーであり、かつ核内腔を細胞質から隔離するバリアの役割を果たしていることが広く支持されるようになってきたが、ERと核エンベロープの内腔が構造的にどのように連絡しているのか、それとも仕切りで隔絶されているのかは全く分っていなかった。ごく最近のSubramanianとMeyer¹⁷⁾の研究はこの疑問を解決し、さらに核エンベロープの重要な役割を明らかにした。彼らは分子生物学的手法を用いて、動物細胞にelastase green fluorescent protein (EI-GFP) 融合蛋白を特異的にERと核エンベロープの内腔に発現させ、核エンベロープとER間のつながりとCa ストアーのトポロジーの違いを共焦点顕微鏡で検討した。その結果、静止時の細胞ではER全体のネットワークと核エンベロープ内腔は管腔状に連絡する構造を形成しており、そこでは約60 kDのEI-GFPは自由に拡散し、また管腔内のCa濃度は細胞全体で容易に平衡になることが明らかにされた。さらに、ERは細胞質のCa濃度によりその構造が変化することがはじめ

て示された。細胞質のCa濃度を長時間(10分以上)上昇させるとEI-GFPの拡散は著明に抑制され、管腔状に繋がっていたERは個々のVesicle状に分画化した。しかも、このERの構造変化はCa濃度を減少させると再び管腔状の連絡を有する元の構造に戻る可逆的变化であった。ところが、ERと異なって、核エンベロープの方は細胞質のCaを上昇させてもEI-GFPの拡散は保たれ、その構造も特に影響を受けないことが示された。しかし、このようなERの構造変化は一過性Ca上昇や低頻度刺激によるCaスパイクでは起こらないことから、通常の条件下ではERと核エンベロープ内のCa濃度は細胞全体でほぼ等しいと推測される。

Meyerらのグループは、細胞質と核内腔それぞれに特異的に発現する蛍光標識のプロブの開発をし¹⁸⁾、これを用いて、細胞質と核内間の巨大分子の移動を検討した。これらの蛋白質のサイズは約70 kDであるが、細胞質のCa濃度を上昇させたとき、細胞質に発現させた標識蛋白質は核内へ移動せず、かつ、核内に発現させた標識蛋白質も核外へ移動することなく核内に留まっていることが確認された。このように核エンベロープは細胞質と核のバリアーとして機能しており、これは細胞質内Ca濃度が上昇しても、正常に働いていることを示しているといえる。

3.4 Ca ストアーのCa濃度

核エンベロープ内のCa濃度は、膵臓のacinar cellsでCa-sensitive dyesを用いた検討によると静止時には大体100~300 μ Mくらいであると推測されている¹⁹⁾。Petersenらによると、アセチルコリン(Ach)による刺激によりストアーのCaは速やかに減少し、Achを除去すると、再びCaの取りこみが始まることを示した。このCaの再取りこみの速度はストアーのCaの濃度に依存しており、Ca濃度が上昇すれば、Ca²⁺の取りこみ速度は減少し、negative feedbackにより核エンベロープのCa濃度は調節されているとして¹⁹⁾。

一方、ユニークな新しい分子生物学的手法を用

Fig. 3 Translocation of Natural Nuclear Protein Restricts Ion Flow. Recording by Patch Clamp. (A-C) の各々、下段がチャネル記録、上段が NPC のスキーム。A), 単一 NPC イオンチャネルの開閉。B), 活性化蛋白質: AP1 (c-Jun, 40 kD) が NPC を通過中で、孔を塞いで、イオン電流はブロックされている。C), 蛋白質が通過後再びチャネルの開口が見られる。(24) より引用)

いて開発された Ca の蛍光標識である“カメレオン (cameleons)”を用いた検討では小胞体の Ca 濃度は静止時では 60~400 μM , そして刺激により小胞体から Ca が放出されたときには 1~50 μM になると推測している²⁰⁾。新しい Ca の蛍光標識カメレオンは青または藍色光変異型の緑色蛍光蛋白質 (GFP), カルモジュリン, カルモジュリン結合ペプチド M13, そして、緑色または黄色光型の GFP が縦列配置した構造を持っている。これに Ca が結合するとカルモジュリンは M13 ドメインに巻き付き、構造変化し、側に位置する GFP 間の蛍光共鳴エネルギー (FRET) を増大させる。カメレオンを核内や小胞体等の目的とするオルガネラの特定位位に発現させ、またカルモジュリンを変異させて Ca の親和性を調整することにより、オルガネラの局所の Ca^{2+} 濃度を測定することができる。実際には 10^{-8} M から 10^{-2} M の範囲で Ca^{2+} 濃度の測定を可能にした。このカメレオンの応用は、核やオルガネラの限局した部位の Ca シグナルの研究の発展に大いに貢献すると期待されている。

核の外膜には Ca ポンプ (NCA) が存在することが確認されているが^{5~7)}、恐らくこの NCA が細胞質の Ca^{2+} を核エンベロープ内へ取り込んで

いると思われる。NCA は ER の Ca ポンプとは薬理学的性質に多少違いが認められるが、cAMP 依存性リン酸化によって活性化される。もう 1 つの経路として、核の Ca の取り込みに inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate (IP_4) が関与する経路があると報告されている²¹⁾。核の IP_4 受容体は 74 kD の蛋白質で、これは今までに報告された他の IP_4 受容体と全く異なるものであり、この機能についてもまた IP_4 の細胞質での役割についてもいまだ良く分かっていない。

4. NPC の機能調節と核膜

細胞質と核内間の物質輸送は核膜孔複合体 (NPC) を介して分子が自由に行き来するという考えに対する反論は以前からあった。例えば、ある種のイオンや分子は核内と細胞質ではその分布が異なることが知られていた²²⁾。最近の研究では NPC は単なる孔ではなく、孔の機能的構造が核エンベロープによって調節されていることが分ってきた。Xenopus Laevis oocytes から単離した Nucleus を用いた検討で、Ins (1,4,5) P_3 投与、低濃度の Ca 液への暴露または BAPTA を用いる等の方法で核の Ca ストアーを枯渇させる

Fig. 4 HEK Cells Transfected GFP into ER and NE.

東京大学御子柴研究室の古市貞一助教授との共同研究で ER を特異的に蛍光標識して顕微鏡下で観察できるような GFP 融合蛋白質を作製し、HEK293 細胞に発現させた。この蛋白質は GFP 部分が ER 内腔に位置した膜貫通トポロジーをとる。

A, 同一標本の顕微鏡像で, a は光顕と蛍光像の重ねたもの, b は蛍光像を示す。細胞内膜系が蛍光染色されているのが解る。

B, HEK293 細胞から核と ER を単離し顕微鏡下で観察した, a は光顕像, b は蛍光像。蛍光染色された ER と核エンベロープを認める。(著者未発表データ)

と, NPC の中央の孔がプラグされてしまうことが原子間力顕微鏡 (Atomic force microscopy) および電子顕微鏡で明確に示された²³⁾。このような NPC の構造変化は, ある程度の大きさの分子が通過するのをブロックしたり, または受動的拡散を中止させたりすると考えられる。従って, NPC のイオンや分子に対する透過性は Ca ストアーすなわち, ER と核エンベロープの Ca の枯渇レベルによって調節されているともいえる。

一方, パッチクランプ法を用いて核の NPC の機能を検討した結果では, NPC は単なる孔ではなくチャンネルとしての開口, 閉口状態を呈することが解ってきた²⁴⁾。そして, 巨大分子が通過するときは NPC の孔が塞がれて, チャンネルのコン

ダクタンスは低下し, 通過後はもとのコンダクタンスに戻ることが示された (Fig. 3)。同様のパッチクランプ法で核内と細胞質との分子の移動を検討した結果, 細胞質の蛋白質で遺伝子の発現に重要な役割を果たしている Transcription factors (TFs) である c-Jun (40 kD), NF-kB (50 kD), そして SP1 (100 kD) が核孔を通過するのが記録された。これらのトランスロケーションは ATP なしでは数時間~数十時間要するが, 2 mM ATP を加えると著明に加速され約 5 分以内で終了した。この他にも同様の方法で, mRNA が核の NPC を介して排出されることも示されている。これらの事実は NPC の核内と細胞質間の輸送システムとしての機能は, 細胞質または核内, 核エ

ンベロープにより調節されていることを示唆し、今後、その詳細な調節機構の解明が待たれる。

5. イオンチャネル電流による検討

現在、核の Ca のシグナル系の研究は Ca-sensitive dye や GFP などの Ca indicator を介して、Ca の動態を観察するのが主流であるが、詳細な機構の解明には Ca の動態を担っているイオンチャネルやトランスポーターの 1 分子の機能を直接測定して検討する必要があると思われる。細胞膜や小胞体の種々の Ca チャネルに関してはパッチクランプ法や人工膜再構成法により単一チャネル電流記録による研究が進んでいる。しかし、核膜の Ca シグナルを単一チャネルレベルで検討したものは未だ数少ない。核膜にイオンチャネルの存在を初めて証明したのは、Mazzanti ら²⁵⁾ であり、単離したねずみの前核にパッチクランプ法を適応し、最大 200 pS の K チャネルの存在を示したのが最初である。その後ラットの肝細胞から単離した核に Cl チャネルが存在すること²⁶⁾、膵臓の acinar cell から単離した核の外膜に Ca-activated K チャネル²⁷⁾、単離した *Xenopus* oocyte nucleus に IP₃ 受容体の単一チャネルが記録された^{11, 28)}。生理的な膜上で、これらのチャネル機能を検討することは核膜の機能を理解する上で重要であると思われ、今後の研究の発展が期待される。しかし、実際の実験において、顕微鏡下で特定のオルガネラ膜を識別するのは技術的に困難が多い。我々は、この困難を克服するために、GFP を ER 膜や核エンベロープに特異的に発現させ、蛍光識別しつつパッチクランプする系の確立を現在試みている。未だ、開発途中であるが、ER および核エンベロープの内膜に特異的に発現する GFP 融合蛋白を HEK293 細胞に発現させ、蛍光顕微鏡下で観察した (Fig. 4A)。これらの細胞から核を低浸透圧液に暴露させて、単離し、核膜に発現している蛍光発色を指標にパッチクランプで核膜上のイオンチャネルの動態や調節機構を直接検討できるものと考えて、現在研究を進めている (Fig. 4B)。

文 献

- 1) Berridge, M. J., Neuronal calcium Signaling (Review) *Neuron* **21** : 13-26, 1998.
- 2) Berridge, M. J. Inositol trisphosphate and calcium signalling. (Review) *Nature* **361** : 315-325, 1993.
- 3) Intracellular compartments and protein sorting. in Molecular biology of the cell ed by B. Alverts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, JD. Watson, 1994.
- 4) Pante N., Abei U. Towards understanding three-dimensional structure of the nuclear pore complex at the molecular level. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **4** : 299-338, 1994
- 5) Kulikova, O. G., Savostyanov, G. A., Belyavtseva, L. M. Razumovskaya, NI. Study of ATPase activity and ATP-dependent accumulation of ⁴⁵Ca²⁺ in skeletal muscle nuclei : effects of denervation and electrical stimulation. *Biokhima* **47** : 1216-1221, 1982.
- 6) Nicotera, P., McConkey, DJ., Jones DP Orrenius S. ATP stimulates Ca²⁺ uptake and increases the free Ca²⁺ concentration in isolated rat liver nuclei. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86** : 453-457, 1989
- 7) Humbert, JP., Matter N., Artault JC., Koppler P. Malviya, AN. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor is located to the inner nuclear membrane vindicating regulation of nuclear calcium signaling by inositol 1,4,5-trisphosphate. *J. Biol. Chem.* **271** : 478-485, 1996.
- 8) Malviya, AN., Rogue, P. Vincendon G. Stereospecific inositol 1,4,5-[³²P]trisphosphate receptor-mediated calcium release from the nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87** : 9270-9274, 1990
- 9) Gerasimenko OV., Gerasimenko JV., Tepikin AV., Petersen OH. ATP-dependent accumulation and inositol trisphosphate or cyclic ADP-ribose-mediated release of Ca²⁺ from the nuclear envelope. *Cell* **80** : 439-444, 1995
- 10) Santella, L. Kyozuka, K. Effects of 1-methyladenine on nuclear Ca²⁺ transients and meiosis resumption in starfish oocytes are mimicked by the nuclear injection of inositol 1,4,5-trisphosphate and cADP-ribose. *Cell Calcium*, **22** : 11-20, 1997

- 11) Mark, DO., Foskette, JK. Single-channel inositol 1,4,5-trisphosphate receptor currents revealed by patch clamp of isolated xenopus oocyte nuclei. *J. Biol. Chem.* **269** : 29375-29378, 1994
- 12) Divecha, N., Banfic H., Irvine RF. Inositides and the nucleus and inositides in the nucleus. *Cell* **74** : 405-407, 1991
- 13) Loewenstein, WR. Kanno, Y. The electrical conductance and potential across the membrane of some cell nuclei. *J. Cell. Biol.* **16** : 421-425, 1963
- 14) Brini, M. Murgia, M. Pasti, L. Picard, D., Pozzan, T. Rizzuto, R. Nuclear Ca^{2+} concentration measured with specifically targeted recombinant aequorin. *EMBO J.* **12** : 4813-4819, 1993.
- 15) Himpens, B., Smedt, H. Casteels, R. Relationship between $[\text{Ca}^{2+}]$ changes in nucleus and cytosol. *Cell Calcium* **16** : 239-246, 1994.
- 16) Badminton, MN., Campbell, AK., Bolsover SR. Differential regulation of nuclear and cytosolic Ca^{2+} in Hela cells. *J. Biol. Chem.* **271** : 31210-31214, 1996.
- 17) Subramanian, K., Meyer, T. Calcium-induced restructuring of nuclear envelope and endoplasmic reticulum calcium stores. *Cell* **89** : 963-971, 1997.
- 18) Albritton, NL. Oancea, E. Kuhn, M. Meyer, T. Source of nuclear calcium signals. *Proc. Natl. Aca. Sci. USA*, **91** : 12458-12462, 1994
- 19) Malviya AN., Rogue PJ. "Tell me where is calcium bred" : clarifying the roles of nuclear calcium. (Review) *Cell*, **92** : 17-23, 1998.
- 20) Miyawaki, A., Llopis J., Heim R., McCaffery JM., Adams JA., Ikura M., Tsien RY. Fluorescent indicators for Ca^{2+} based on green fluorescent proteins and calmodulin. *Nature*, **388** : 882-887, 1997
- 21) Koppler P., Matter N., Malviya AN. Evidence for stereospecific inositol 1,3,4,5-[^3H]tetra-kisphosphate binding sites on rat liver nuclei. *J. Biol. Chem.* **268** : 26248-26252, 1993.
- 22) Paine, P. L., and S., B., Horowitz, The movement of material between nucleus and cytoplasm. *Cell Biol.* **4** : 299-338, 1980.
- 23) Perez-Terzic C., Pyle, Jaconi, JM., Stehno-Bittel, L., Clapham, DE., Conformational States of the nuclear pore Complex induced by Depletion of Nuclear Ca^{2+} Stores. *Science* **273** : 1875-1877, 1996
- 24) J. O. Bustamante, J. A. Hanover, A. Liepins, The Ion Channel Behavior of the Nuclear Pore Complex. *J. Membrane Biol.* **146** : 239-251, 1995
- 25) Mazzanti M, DeFelice LJ., Cohn J., Malter H. Ion channels in the nuclear envelope. *Nature* **343** : 764-767, 1990
- 26) Tabares L. Mazzanti M. Clapham DE. Chloride channels in the nuclear membrane. *Journal of Membrane Biology.* **123** (1) : 49-54, 1991 Jul.
- 27) Maruyama Y., Shimada H., Taniguchi J. Ca^{2+} -activated channels in the nuclear envelope isolated from single acinar cells. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology.* **430** : 148-150, 1995
- 28) Stehno-Bittel L., Luckhoff A., Clapham DE., Calcium release from the nucleus by InsP_3 receptor channels. *Neuron* **14** : 163-167, 1995
(受付 1998年11月3日 掲載決定11月18日)