

神経障害性疼痛における免疫系細胞に発現する transient receptor potential melastatin 2 チャネルの役割

中川貴之,^{*,†} 勇 昂一, 原口佳代, 宗 可奈子,
朝倉佳代子, 白川久志, 金子周司

Roles of Transient Receptor Potential Melastatin 2 Expressed on Immune Cells in Neuropathic Pain

Takayuki Nakagawa,^{*,†} Koichi Isami, Kayo Haraguchi, Kanako So,
Kayoko Asakura, Hisashi Shirakawa, 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 September 10, 2013)

Neuropathic pain is a pathological pain condition that often results from peripheral nerve injury. Several lines of evidence suggest that neuroinflammation mediated by the interaction between immune cells and neurons plays an important role in the pathogenesis of neuropathic pain. Transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) is a nonselective Ca^{2+} -permeable cation channel that acts as a sensor for reactive oxygen species. Recent evidence suggests that TRPM2 expressed on immune cells plays an important role in immune and inflammatory responses. In this study, we examined the roles of TRPM2 expressed on immune and glial cells in neuropathic pain. TRPM2 deficiency attenuated pain behaviors (mechanical allodynia, thermal hyperalgesia and spontaneous pain behaviors) in various kinds of inflammatory and neuropathic pain, but not in nociceptive pain models. In peripheral nerve injury-induced neuropathic pain models, TRPM2 deficiency diminished infiltration of neutrophils mediated through CXCL2 production from macrophages around the injured peripheral nerve and activation of spinal microglia, suggesting that TRPM2 expressed on macrophages and microglia aggravates peripheral and spinal pronociceptive inflammatory responses. Furthermore, we examined the infiltration of peripheral immune cells into the injured nerve and spinal cord using bone marrow chimeric mice by crossing wildtype and TRPM2-knockout mice. The results suggest that TRPM2 plays an important role in the infiltration of peripheral immune cells, particularly macrophages, into the spinal cord, rather than into the injured nerves. The spinal infiltration of macrophages mediated by TRPM2 may contribute to the pathogenesis of neuropathic pain.

Key words—neuropathic pain; transient receptor potential melastatin 2; macrophage; microglia; central sensitization; spinal infiltration

1. はじめに

末梢神経の損傷、ウイルス等の感染、糖尿病などの代謝性疾患やある種の薬剤等により感覚神経が障害を受けると、自発痛や痛覚過敏、アロディニアと呼ばれる激しい痛みなどの症状を呈する難治性の末

梢神経障害性疼痛が惹起される。現在、神経障害性疼痛の治療には、 Ca^{2+} チャネルの $\alpha_2\text{-}\delta$ サブユニットのリガンドとして作用するプレギバリンや三環系抗うつ薬、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬、抗てんかん薬やオピオイドなどが用いられているが、¹⁾ 多くの場合、それらは対症療法に過ぎず、神経障害性疼痛を根本的に治療できる鎮痛薬は現在のところ存在しない。このような現状から、神経障害性疼痛を治療できる新たな「慢性疼痛治療薬」の開発が切望されており、そのためには痛みの慢性化、難治化機構の解明及び新規疼痛治療標的の探索が必須である。神経障害性疼痛の発症機序

The authors declare no conflict of interest.

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)

現所属：*京都大学医学部附属病院薬剤部 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54)

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

本総説は、日本薬学会第 133 年会シンポジウム S30-102 で発表した内容を中心に記述したものである。

として、末梢及び脊髄内での神経-免疫細胞間の相互作用による神経炎症応答が深く関与することが知られている。²⁻⁴⁾ 末梢神経に物理的な損傷や障害が加わると、一次感覚神経の反応閾値が低下し、その反応性が増強する末梢神経感作と呼ばれる現象が誘導されるが、その原因は、損傷部位へ浸潤した好中球、マクロファージやTリンパ球などの免疫系細胞から放出された炎症メディエーターによる一次感覚神経の神経炎症応答である。さらに、一次感覚神経の持続するあるいは反復する強い活動により、その入力先である脊髄後角においても、痛覚伝達を担う脊髄後角神経の機能的過敏化（中枢神経感作）が誘導されることで長期間持続する難治性の神経障害性疼痛が惹起されると考えられている。この中枢神経感作の誘導には、脊髄内のグリア細胞（ミクログリアやアストロサイト）が重要な役割を果たしている。²⁻⁴⁾

一方、1997年に、カプサイシンに応答する熱感受性イオンチャネル transient receptor potential (TRP) V1が単離されて以来、TRPV2-4, TRPA1, TRPM8といった温度や圧に感受性を示すTRPチャネル群が次々に発見され、これらは現在では、侵害受容の主要分子として大きな注目を集めている。^{5,6)} TRPスーパーファミリーは、6つのサブファミリーに分類され (TRPV, TRPC, TRPM, TRPA, TRPML, TRPP), ヒトでは28種類の遺伝子が同定されており、その多くはCa²⁺透過性カチオンチャネルを形成するが、その最大の特色は細胞内外の様々な環境要因によって開口が制御されていることである。また、免疫系/グリア細胞などの非興奮性細胞にも、複数のTRPチャネルが発現しており、それらの細胞応答に関与する可能性が非常に高い。TRP melastatin 2 (TRPM2) は、C末端にNudixモチーフを有するCa²⁺透過性の非選択的カチオンチャネルであり、過酸化水素などの活性酸素種 (ROS) により直接的あるいはADPリボースの産生を介して間接的に活性化される。^{7,8)} TRPM2は、中枢神経系や心臓、肺、脾臓、小腸など広範に発現するが、⁹⁾ 特に、単球/マクロファージ、¹⁰⁻¹²⁾ 好中球、¹³⁾ Tリンパ球、¹⁴⁾ 樹状細胞¹⁵⁾といった免疫系細胞、また、中枢神経系ではミクログリア¹⁶⁾で豊富に発現することが知られており、これらの細胞でROSセンサーとして機能していると考えられている。また、単球に

発現するTRPM2が、一部のサイトカイン・ケモカイン産生、好中球浸潤といった炎症反応過程の一部に関与し、炎症性疾患（潰瘍性大腸炎）の発症に重要な役割を果たしていること、¹⁷⁾ また、TRPM2が実験的自己免疫性脳脊髄炎モデル¹⁸⁾や細菌感染に対する免疫応答¹⁹⁾に関与することなども報告されており、TRPM2と炎症/免疫応答との関連に注目が集まっている。本稿では、TRPM2と様々な慢性疼痛、特に神経障害性疼痛との関連について、われわれの最近の知見^{20,21)}を中心に紹介したい。

2. 各種疼痛モデルにおけるTRPM2の関与

まず、TRPM2遺伝子欠損 (KO) マウスを用いて、正常時の侵害受容応答に変化が認められるかを検討した。TRPM2は温度感受性を有し、正常時には約47°Cの温度で開口すること、⁷⁾ また一次感覚神経にも機能的に発現していることが報告²²⁾されているが、筆者らが行った検討では、TRPM2-KOマウスにおいても、熱侵害刺激 (Hot plate テスト及びHargreaves テスト) 及び機械的刺激 (von Frey フィラメントテスト) に対する感受性に変化は認められなかった。さらに、ホルマリンテスト第1相 (ホルマリンによる直接的な化学侵害刺激)、また、カプサイシンやTRPM2刺激薬でもある過酸化水素の足底内注射による化学侵害受容応答にも影響は認められなかったことから、圧/熱/化学侵害刺激に対する正常時の応答 (侵害受容応答) に対するTRPM2の関与は少ないと考えられる。また、侵害受容性疼痛の側面が大きいと言われる術後痛モデルにおいても、影響は認められなかった。

一方、ホルマリンテスト第2相 (ホルマリンによる炎症性疼痛)、酢酸腹腔内投与によるライジング行動、カラゲニン足底内注射による機械的アロディニア及び熱痛覚過敏は、TRPM2-KOマウスにおいて有意に抑制された。また、モノヨード酢酸関節腔内投与による変形性関節症モデル、多発性硬化症の実験動物モデルと考えられているミエリンオリゴ糖



中川貴之

京都大学医学部附属病院薬剤部・准教授、博士 (薬学)。1994年京都大学薬学部卒業、'96年同薬学研究科修士課程修了、博士課程進学、日本学術振興会特別研究員。'97年同薬学研究科生体機能解析学分野助手。'00年、博士 (薬学) を取得し、'05より同准教授。'13年12月より現職。

タンパクの部分ペプチドの免疫による実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE) モデルにおける機械的アロディニアにおいても有意な減弱が認められた。なお、EAE モデルにおいては、機械的アロディニアのみならず、尾や後肢・前肢の麻痺、歩行障害などの臨床スコアも有意に抑制された。また、神経障害性疼痛モデルとして、L4 脊髄神経切断 (Chung モデル)、坐骨神経部分結紮 (Seltzer モデル) による末梢神経障害性疼痛モデル、また、1 型糖尿病モデルとして汎用されるストレプトゾトシンによる糖尿病性神経障害、抗がん剤の 1 つであるパクリタキセル反復投与による抗がん剤誘発末梢神経障害モデルにおいても有意な減弱が認められた (Table 1)。これらの結果から、TRPM2 は、正常な痛覚伝達によって媒介される侵害受容性疼痛への寄与は少ないが、

Table 1. Effectiveness of TRPM2 Deficiency in Various Pain Models

Pain models	Effectiveness in TRPM2-KO mice
Nociceptive pain	
Basal mechanical nociceptive sensitivity ²¹⁾	No
Basal thermal nociceptive sensitivity ²¹⁾	No
Capsaicin-evoked pain behavior [#]	No
H ₂ O ₂ -evoked pain behavior [#]	No
Formalin-induced chemonociceptive pain behavior (1st phase) ²¹⁾	No
Post-operative pain model [#]	No
Inflammatory pain	
Formalin-induced inflammatory pain behavior (2nd phase) ²¹⁾	Yes
Acetic acid-induced writhing behavior [#]	Yes
Carrageenan-induced inflammatory pain ²¹⁾	Yes
Monoiodoacetic acid (MIA)-induced osteoarthritis model [#]	Yes
Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model [#]	Yes
I.pl. macrophage- or neutrophil-induced pain ²¹⁾	Yes
Neuropathic pain	
Partial sciatic nerve ligation-induced neuropathic pain (Seltzer model) ²¹⁾	Yes
Spinal nerve transection-induced neuropathic pain (Chung model) ²¹⁾	Yes
Streptozotocin-induced painful diabetic neuropathy [#]	Yes
Paclitaxel-induced peripheral neuropathy [#]	Yes

No; TRPM2 deficiency had no effect. Yes; TRPM2 deficiency significantly attenuated the pain behaviors. #: data is unpublished.

侵害受容性の末梢神経や中枢神経の神経炎症応答が基盤となる炎症性疼痛や神経障害性疼痛に関与するものと考えられる。

3. マクロファージの TRPM2 と神経障害性疼痛

単球/マクロファージに発現する TRPM2 が、炎症応答の過程の一部に関与することが報告されている。^{11,12,17)} そこで、マクロファージに発現する TRPM2 と神経障害性疼痛との関連について検討を行った。坐骨神経部分結紮を施した神経損傷部位周辺において、TRPM2 mRNA 発現量が顕著に増加していたが、この TRPM2 mRNA 発現量増加は、磁気細胞分離 (magnetic-activated cell sorting; MACS) 法により、当該部位へ浸潤したマクロファージあるいは好中球での発現によるものであると推察された。また、当該部位において、TRPM2 の活性化刺激となり得る過酸化水素の産生も顕著に増加していた。坐骨神経結紮部位周辺には、多数の F4/80 陽性マクロファージ及び Gr-1 陽性好中球が浸潤する様子が免疫染色により確認できるが、結紮 8 時間-14 日後までの間に坐骨神経結紮部位周辺に浸潤する F4/80 陽性マクロファージの細胞数に野生型 (WT) マウス及び TRPM2-KO マウス間で差はないものの、Gr-1 陽性好中球の細胞数が結紮 8 時間後という比較的早い時間帯において有意に減少していた。さらに、主にマクロファージから産生され、強力な好中球走化作用を示す CXC ケモカイン CXCL2²³⁾ の結紮部位周辺での産生が、TRPM2-KO マウスでは部分的ではあるが有意に減少していた。一方、疼痛との関連が深い代表的な炎症性サイトカインである TNF- α や CC ケモカインの CCL2 (MCP-1) 産生に変化は認められなかった。同様に、TRPM2-KO マウスから調製した培養マクロファージにおいてもリポ多糖 (LPS) 刺激時の CXCL2 産生能低下、TNF- α 及び CCL2 産生能に変化は認められないことを確認している。さらに、LPS で刺激した WT マウス由来マクロファージを足底内に投与すると、顕著な機械的アロディニアが惹起されるが、TRPM2-KO マウス由来マクロファージでは、その効果は減弱していた。²⁰⁾ これらの結果から、マクロファージの TRPM2 は、活性化したマクロファージからの CXCL2 産生に関与しており、好中球の浸潤を介して、神経障害性疼痛発症の基盤となる一次感覚神経の神経炎症応答、すなわち末梢神経感作に関与する

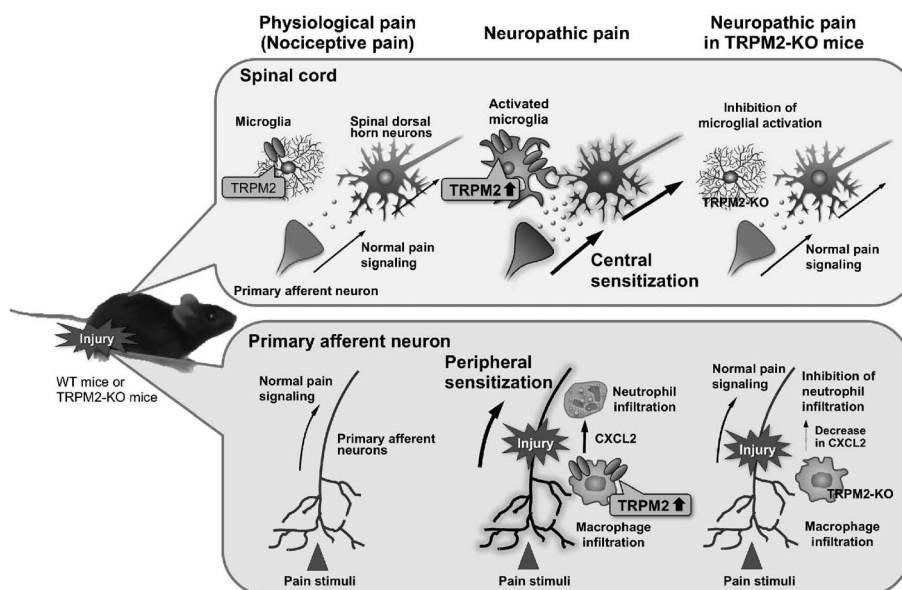


Fig. 1. Roles of TRPM2 in Neuropathic Pain

TRPM2 expressed in peripheral macrophages and spinal microglia contributes to the peripheral and central sensitization, respectively, through the aggravation of pronociceptive inflammatory responses.

と考えている (Fig. 1).

4. ミクログリアの TRPM2 と神経障害性疼痛

神経障害性疼痛に脊髄ミクログリアが関与していることはよく知られている.²⁻⁴⁾ TRPM2 はミクログリアにも発現していることが知られていることから,¹⁶⁾ 次に、ミクログリアに発現する TRPM2 と神経障害性疼痛との関連について検討を行った。坐骨神経部分結紮による末梢神経障害性疼痛モデルにおいて、抗 Iba1 抗体を用いた磁気細胞分離法により脊髄後角から Iba1 陽性ミクログリアを分離採取し、real-time PCR 法で TRPM2 mRNA 量を測定したところ、脊髄後角内ミクログリアでの TRPM2 mRNA 発現量が有意に増加していた。また、坐骨神経部分結紮あるいは L4 脊髄神経切断後にみられる脊髄後角内ミクログリアの活性化 (ミクログリアマーカーである Iba-1 及び OX-42 で免疫染色強度、及び p38 MAPK のリン酸化) が、TRPM2-KO マウスにおいて結紮 3-14 日後に顕著に抑制されていた。また、TRPM2-KO マウスから調製した培養ミクログリアにおいて、LPS/インターフェロン- γ 刺激による CXCL2 産生、一酸化窒素 (NO) 産生、誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) 誘導能が、いずれも有意に低下していた。²⁰⁾ これらの結果から、脊髄ミクログリアの活性化にも TRPM2 が関与し、CXCL2 産生、NO 産生等を介して脊髄後角神経の過敏化、すなわ

ち中枢神経感作に関与しているものと考えられる (Fig. 1)。

5. 免疫系細胞の脊髄内浸潤における TRPM2 の役割

これまでの検討で、神経障害性疼痛に対するマクロファージの TRPM2 を介した応答 (CXCL2 産生、好中球浸潤) の寄与は部分的であり、時間的にもごく初期 (1 日以内) に限られたものであったため、脊髄ミクログリアの TRPM2 がより大きく寄与しているのではないかと予測していた。そこで、緑色蛍光タンパク (green fluorescent protein; GFP) トランスジェニックと掛け合わせた WT マウス及び TRPM2-KO マウス間で骨髄キメラマウスを作製し、マクロファージ及び脊髄ミクログリアそれぞれの TRPM2 の寄与を検討した。WT/TRPM2-KO 骨髄キメラマウスを用いて、坐骨神経部分結紮による神経障害性疼痛を検討したところ、WT 骨髄細胞を WT レシピエントマウスに移植した TRPM2^{BM+/Rec+} キメラマウスでは、ほぼ WT マウスと同程度の機械的アロディニアが生じたのに対して、TRPM2-KO 骨髄細胞を WT レシピエントマウスに移植した TRPM2^{BM-/Rec+} キメラマウス、WT 骨髄細胞を TRPM2-KO レシピエントマウスに移植した TRPM2^{BM+/Rec-} キメラマウス、TRPM2-KO 骨髄細胞を TRPM2-KO レシピエントマウスに移植した

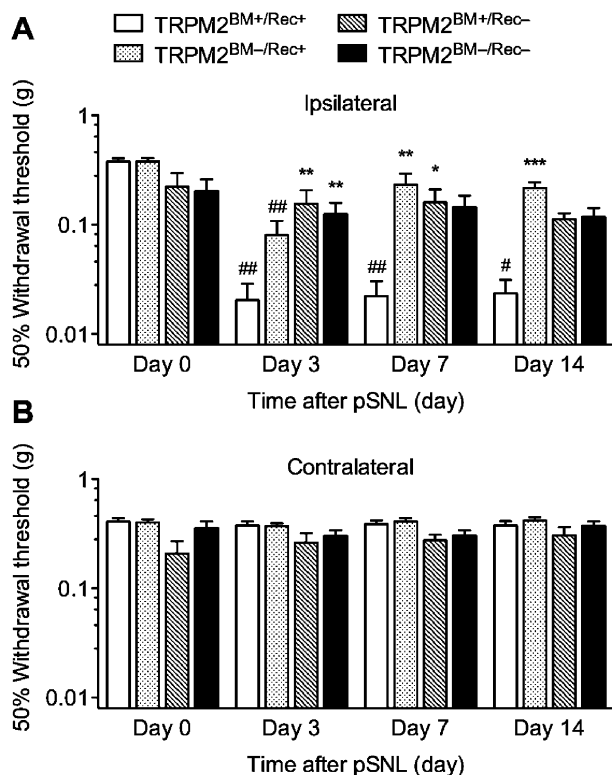


Fig. 2. Peripheral Nerve Injury-induced Mechanical Allodynia in WT/TRPM2-KO BM Chimeric Mice

In the partial sciatic nerve ligation model of neuropathic pain (Seltzer model), the 50% withdrawal threshold to mechanical stimuli was determined in the ipsilateral (A) and contralateral paws (B) of TRPM2^{BM+/Rec+}, TRPM2^{BM-/Rec+}, TRPM2^{BM+/Rec-}, and TRPM2^{BM-/Rec-} mice. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, compared with TRPM2^{BM+/Rec+} mice. # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$, compared with Day 0 in each BM chimeric mouse group. $n = 5-7$.²¹⁾

TRPM2^{BM-/Rec-} キメラマウス、いずれにおいても、機械的アロディニアの有意な減弱が認められた (Fig. 2). これらの結果は、マクロファージ及びミクログリアいずれの TRPM2 も神経障害性疼痛に寄与することを示唆するものである.²¹⁾

また、坐骨神経部分結紮 14 日後という比較的遅い時期において、坐骨神経の損傷部位周辺へ多数の GFP 陽性骨髄由来細胞、すなわち免疫系細胞の浸潤が認められ、その半数以上は Iba1 陽性マクロファージであった。しかしながら、作製した 4 種類の WT/TRPM2-KO 骨髄キメラマウス間、いずれにおいても差は認められなかった (Fig. 3). また、坐骨神経部分結紮 14 日後の脊髄後角において、TRPM2^{BM+/Rec+} キメラマウスにおいては、脊髄後角の処置側で Iba1 陽性細胞数が増加していたが、同時に、多数の GFP 陽性骨髄由来細胞、すなわち末梢由来の免疫系細胞が脊髄内に浸潤している様子

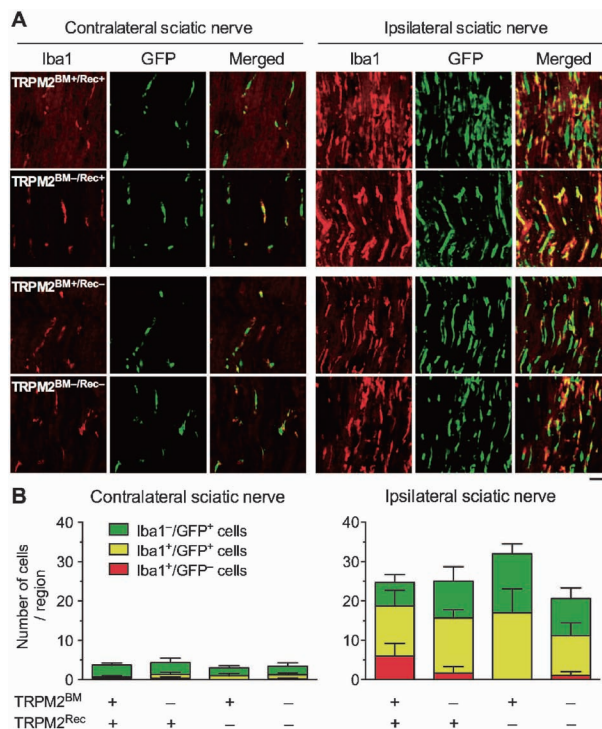


Fig. 3. Infiltration of GFP⁺ BM-derived Cells around the Injured Sciatic Nerve in WT/TRPM2-KO BM Chimeric Mice

(A) GFP⁺ cells and Iba1⁺ cells were visualized by GFP fluorescence (green) and immunostaining with Iba1 antibody (red), respectively, in the sciatic nerve sections around the ligation site 14 d after partial sciatic nerve ligation. Iba1⁺/GFP⁺ cells were visualized as a yellow signal in merged images. Representative microphotographs are shown (scale bars = 50 μ m). (B) The numbers of Iba1⁻/GFP⁺ cells, Iba1⁺/GFP⁻ cells, and Iba1⁺/GFP⁺ cells within the images were counted in the contralateral (left panel) and ipsilateral (right panel) sections. $n = 3-5$.²¹⁾

が確認された。結紮を施していない偽手術群や、神経部分結紮を施した反対側の脊髄においては、GFP 陽性はほとんど認められないことから、末梢神経損傷の結果、末梢由来の免疫系細胞が脊髄内に浸潤したものと考えられる。また、脊髄内に浸潤した GFP 陽性免疫系細胞の半数以上は Iba1 陽性マクロファージであり、結紮 14 日後という時点では、Iba1 陽性細胞の約半数が GFP 陽性免疫系細胞、すなわちマクロファージであった。本研究結果と同様、末梢神経損傷時に、マクロファージや T リンパ球などの末梢由来の免疫系細胞が脊髄内に浸潤することが報告されており、²⁴⁻²⁷⁾ 末梢神経損傷や炎症、C 線維の刺激などにより血液-脊髄関門が破綻し、脊髄内へ末梢血流を循環する免疫系細胞が浸潤したものと考えられている。^{28,29)} 一方、TRPM2^{BM+/Rec+} キメラマウスと比較して他の 3 種類の WT/TRPM2-KO 骨髄キメラマウス、いずれにおいても、Iba1 陽性の常在性ミクログリア/末梢由来マクロファージ

の細胞数及び脊髄内浸潤した GFP 陽性免疫系細胞数が減少していた。さらに、Iba1 陽性/GFP 陽性細胞、すなわち、脊髄内に浸潤したマクロファージの細胞数が、3 種類の TRPM2-KO 骨髄キメラマウスいずれにおいても有意に減少していたが、Iba1 陽性/GFP 陰性細胞、すなわち、常在性ミクログリアの細胞数に差は認められなかった (Fig. 4).²¹⁾ これらの結果は、坐骨神経部分結紮 14 日後という神経障害性疼痛の慢性期において、TRPM2 は脊髄常在性ミクログリアの活性化には影響を与えていないが、末梢由来の免疫系細胞、特にマクロファージの脊髄内浸潤に重要な役割を果たしていることを示唆している (Fig. 5).

6. おわりに

以上の筆者らの知見から、神経炎症応答を基盤とする神経障害性疼痛において TRPM2 が重要な役割を果たすこと、そのメカニズムとして、TRPM2 は末梢神経損傷初期 (1 日以内) に生じる損傷部位周辺でマクロファージから産生させる CXCL2 を介した好中球遊走に関与し、末梢神経感作の誘導に寄与すること、また、損傷 3 日後をピークとする脊髄後角内の常在性ミクログリアの活性化にも関与し、中枢神経感作の誘導にも重要な役割を果たしていると考えられる。さらに、TRPM2 は、末梢神経損傷 7-14 日後に生じる末梢由来免疫系細胞、特にマクロファージの脊髄内浸潤にも関与し、神経障害性疼痛の維持に対してもなんらかの役割を担っているものと考えられる。残念ながら、現在のところ TRPM2

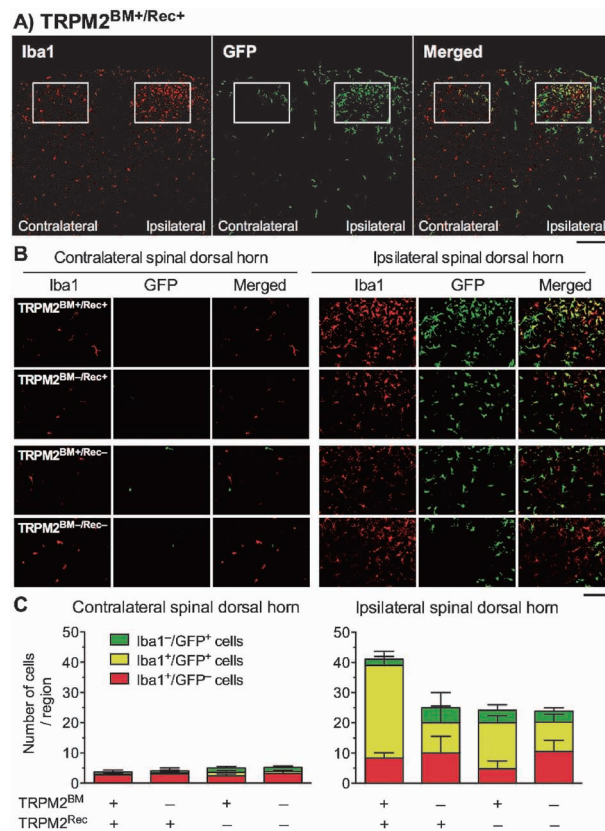


Fig. 4. Infiltration of GFP⁺ BM-derived Cells into the Spinal Cord in WT/TRPM2-KO BM Chimeric Mice

(A, B) GFP⁺ cells and Iba1⁺ cells were visualized by GFP fluorescence (green) and immunostaining with Iba1 antibody (red), respectively, in the spinal cord sections 14 days after partial sciatic nerve ligation. Iba1⁺/GFP⁺ cells were visualized as a yellow signal in merged images. (A) Representative microphotographs in WT-BM and WT chimeric mice are shown (scale bars = 200 μ m). (B) Representative microphotographs in selected regions of contralateral and ipsilateral spinal dorsal horn (defined by the rectangular area in A) are shown (scale bars = 100 μ m). (C) The numbers of Iba1⁺/GFP⁺ cells, Iba1⁺/GFP⁻ cells, and Iba1⁻/GFP⁺ cells within the selected regions were counted in the contralateral (left panel) and ipsilateral (right panel) spinal dorsal horn. $n=3-6$.²¹⁾

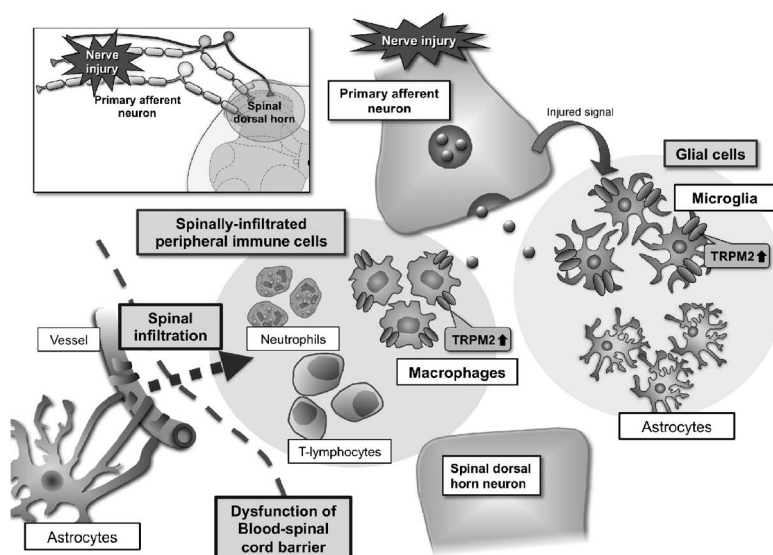


Fig. 5. Involvement of TRPM2 in Spinal Infiltration of Peripheral Immune Cells, Including Macrophages

に対する選択的阻害薬は存在せず、その創薬標的としての妥当性については今後検討を重ねていく必要があるが、TRPM2は新規作用機序を持った鎮痛薬創製の有望な標的分子となると考えている。

REFERENCES

- 1) Dworkin R. H., O'Connor A. B., Backonja M., Farrar J. T., Finnerup N. B., Jensen T. S., Kalso E. A., Loeser J. D., Miaskowski C., Nurmikko T. J., Portenoy R. K., Rice A. S., Stacey B. R., Treede R. D., Turk D. C., Wallace M. S., *Pain*, **132**, 237–251 (2007).
- 2) Ren K., Dubner R., *Nat. Med.*, **16**, 1267–1276 (2010).
- 3) Costigan M., Scholz J., Woolf C. J., *Annu. Rev. Neurosci.*, **32**, 1–32 (2009).
- 4) Calvo M., Dawes J. M., Bennett D. L., *Lancet Neurol.*, **11**, 629–642 (2012).
- 5) Vay L., Gu C., McNaughton P. A., *Br. J. Pharmacol.*, **165**, 787–801 (2012).
- 6) Moran M. M., McAlexander M. A., Bíró T., Szallasi A., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **10**, 601–620 (2011).
- 7) Kashio M., Sokabe T., Shintaku K., Uematsu T., Fukuta N., Kobayashi N., Mori Y., Tominaga M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 6745–6750 (2012).
- 8) Takahashi N., Kozai D., Kobayashi R., Ebert M., Mori Y., *Cell Calcium*, **50**, 279–287 (2011).
- 9) Nagamine K., Kudoh J., Minoshima S., Kawasaki K., Asakawa S., Ito F., Shimizu N., *Genomics*, **54**, 124–131 (1998).
- 10) Perraud A. L., Fleig A., Dunn C. A., Bagley L. A., Launay P., Schmitz C., Stokes A. J., Zhu Q., Bessman M. J., Penner R., Kinet J. P., Scharenberg A. M., *Nature*, **411**, 595–599 (2001).
- 11) Sano Y., Inamura K., Miyake A., Mochizuki S., Yokoi H., Matsushime H., Furuichi K., *Science*, **293**, 1327–1330 (2001).
- 12) Wehrhahn J., Kraft R., Harteneck C., Hauschildt S., *J. Immunol.*, **184**, 2386–2393 (2010).
- 13) Hiroi T., Wajima T., Negoro T., Ishii M., Nakano Y., Kiuchi Y., Mori Y., Shimizu S., *Cardiovasc. Res.*, **97**, 271–281 (2013).
- 14) Magnone M., Bauer I., Poggi A., Mannino E., Sturla L., Brini M., Zocchi E., De Flora A., Nencioni A., Bruzzone S., *J. Biol. Chem.*, **287**, 21067–21081 (2012).
- 15) Sumoza-Toledo A., Lange I., Cortado H., Bhagat H., Mori Y., Fleig A., Penner R., Partida-Sánchez S., *FASEB J.*, **25**, 3529–3542 (2011).
- 16) Kraft R., Grimm C., Grosse K., Hoffmann A., Sauerbruch S., Kettenmann H., Schultz G., Harteneck C., *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **286**, C129–C137 (2004).
- 17) Yamamoto S., Shimizu S., Kiyonaka S., Takahashi N., Wajima T., Hara Y., Negoro T., Hiroi T., Kiuchi Y., Okada T., Kaneko S., Lange I., Fleig A., Penner R., Nishi M., Takeshima H., Mori Y., *Nat. Med.*, **14**, 738–747 (2008).
- 18) Melzer N., Hicking G., Göbel K., Wiendl H., *PLoS One*, **7**, e47617 (2012).
- 19) Knowles H., Heizer J. W., Li Y., Chapman K., Ogden C. A., Andreasen K., Shapland E., Kucera G., Mogan J., Humann J., Lenz L. L., Morrison A. D., Perraud A. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 11578–11583 (2011).
- 20) Haraguchi K., Kawamoto A., Isami K., Maeda S., Kusano A., Asakura K., Shirakawa H., Mori Y., Nakagawa T., Kaneko S., *J. Neurosci.*, **32**, 3931–3941 (2012).
- 21) Isami K., Haraguchi K., So K., Maeda S., Asakura K., Shirakawa H., Mori Y., Nakagawa T., Kaneko S., *PLoS One*, **8**, e66410 (2013).
- 22) Nazıroğlu M., Özgül C., Çelik Ö., Çiğ B., Sözbir E., *J. Membr. Biol.*, **241**, 69–75 (2011).
- 23) Tekamp-Olson P., Gallegos C., Bauer D., McClain J., Sherry B., Fabre M., van Deventer S., Cerami A., *J. Exp. Med.*, **172**, 911–919 (1990).
- 24) Sweitzer S. M., Hickey W. F., Rutkowski M. D., Pahl J. L., DeLeo J. A., *Pain*, **100**, 163–170 (2002).
- 25) Zhang J., Shi X. Q., Echeverry S., Mogil J. S., De Koninck Y., Rivest S., *J. Neurosci.*, **27**, 12396–12406 (2007).
- 26) Cao L., DeLeo J. A., *Eur. J. Immunol.*, **38**, 448–458 (2008).
- 27) Costigan M., Moss A., Latremoliere A., Johnston C., Verma-Gandhu M., Herbert T. A.,

-
- Barrett L., Brenner G. J., Vardeh D., Woolf C. J., Fitzgerald M., *J. Neurosci.*, **29**, 14415–14422 (2009).
- 28) Beggs S., Liu X. J., Kwan C., Salter M. W., *Mol. Pain*, **6**, 74 (2010).
- 29) Echeverry S., Shi X. Q., Rivest S., Zhang J., *J. Neurosci.*, **31**, 10819–10828 (2011).