

養成技術者の研究・研修成果等

1．養成技術者氏名：小竹英一

2．養成カリキュラム名：エンドセリン発現制御に及ぼす機能性成分検索と生体機能研究

3．養成カリキュラムの達成状況

今年度のスケジュールでは、まず、はじめに、ET-1 及び VIC を発現している細胞株の検索を行う。次に、発現している細胞を用いて、ET-1 あるいは VIC の発現が増加あるいは減少する物質あるいは現象を見出す。

カリキュラム達成状況であるが、VIC が発現もしくは、検出するに十分な量の発現が認められる細胞をスクリーニングし、いくつかの細胞を見出した。また、それらの細胞を用いて、ET-1 及び VIC を発現に影響を及ぼす物質及び現象を見出した。さらに、2年目のスケジュールに組み込まれている、これら遺伝子発現と細胞生理機能との関連事項についても、知見が得られるに至った。

4．成果（A4版3枚程度）

目的：様々な生体機能調節に関与しているエンドセリン類の発現機構を解明し、発現を制御する。例えば、ET-1 は主に血管内皮細胞に発現して、血管の収縮に関与している。そのため、高血圧などの血管疾患との関連から注目されてきた。ノックアウトマウスも作成されており、顎の骨の形成に ET-1 が関与していることが明らかにされている。一方、受け入れ先研究室で発見された VIC については、マウスやラットの妊娠時に子宮で発現が高まる、腸管機能や免疫との関連が示唆されている、ガン細胞でサバイバル因子として作用するなどが報告されているが、ET-1 の生理作用と比較して、不明な点が多く、ノックアウトマウスの作成も成功していない。また、VIC は生体での発現量も ET-1 と比べて低量であることが多く、生体での必然性が今ひとつ理解されていない。そのため、どのような現象もしくはどのような物質の添加によって、VIC の発現が制御されるか、そして、生体機能との関連を調べることは極めて重要である。その生体機能と疾病との関係を解明すれば、VIC の発現を制御することで、疾病の予防や治療に役立つ。

概要：細胞レベルでの ET-1 あるいは VIC の発現を調べるため、まずは、様々な細胞を培養、RNA を抽出して、RT-PCR を行い、VIC が発現もしくは、検出するに十分な量の発現が認められる細胞をスクリーニングした。VIC の発現が確認できた細胞において、その発現が増加する物質・現象を探した。さらに、VIC の発現が増加もしくは減少した場合の細胞に対する影響について検討した。

結果：マウス及びラットの皮膚細胞株、脳下垂体細胞株、胃粘膜細胞株などを培養した他、マウス初代培養も試みた。ほとんどの細胞で VIC の発現は認められなかったが、実験に用いた細胞株 1 種類と初代培養細胞で ET-1、VIC、それらのレセプター遺伝子 ET-RA、ET-RB の発現を確認できた。その細胞株に薬剤 A を添加すると、濃度依存的に VIC の発現が増加したが、ET-1 の発現量は変化無かった。また、薬剤 A 添加により、細胞の形態は著しく変化し、未添加群の細胞と比較して、細胞の生存率が変化した。この現象には、ET-1 ではなく、VIC の発現増加が関与していることが示唆された。すなわち、VIC の発現の増加が、細胞の形態、生存率などに影響を与えることが明らかとなった。

生体の細胞にもよるが、VIC の発現をコントロールすることによって細胞機能に影響を与える場合は、VIC の発現を制御する物質の医薬品や健康食品としての可能性がある。

5 . 成果の対外的発表等

(1) 論文発表 (論文掲載済、または査読済を対象。)

Jiexia Quan, Tsuyoshi Uchide, Satoshi Takizawa, Javier Adur, Ei-ichi Nara, Kaname Saida, cDNA cloning and sequence analysis of *Xenopus laevis* preproendothelin-1 (PPET-1), J. Cardiovascular Pharmacol., 2004, **in press**.

Jiexia Quan, Satoshi Takizawa, Javier Adur, Ei-ichi Nara, Tsuyoshi Uchide, Kaname Saida, Structure of the precursor of *Xenopus laevis* endothelin-3 (PPET-3) and phylogenetic analysis, J. Cardiovascular Pharmacol., 2004, **in press**.

(2) 口頭発表 (発表済を対象。)

Jiexia Quan, Satoshi Takizawa, Javier Adur, Ei-ichi Nara, Tsuyoshi Uchide, Kaname Saida, Frog endothelins: cDNA cloning, sequence and evolutionary analysis of endothelins, 第 26 回日本分子生物学会年会、2003 年、12 月 10-13 日、神戸。

Jiexia Quan, Satoshi Takizawa, Javier Adur, Ei-ichi Nara, Tsuyoshi Uchide, Kaname Saida, Structure of the Precursor of *Xenopus Laevis* Endothelin-3 (PPET-3) and Phylogenetic Analysis, Eight International Conference on Endothelin, 2003, November 23-26, Tsukuba-City.

(3) 特許等 (出願番号を記載)

なし