

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論文題目

$G\alpha_{13}$ Induces PreproET-1 Gene Expression via JNK

($G\alpha_{13}$ は JNK を介して preproET-1 遺伝子発現を誘導する)

氏名 山 川 研 (研)

【目的】

G α 13 は三量体 GTP 結合蛋白の一つで全身の細胞に発現している。現在までにトロンピン、トロンボキサン、甲状腺刺激ホルモンおよびアンギオテンシン II の受容体によって活性化されることが報告されているが、細胞内での情報伝達機構は不明な点が多い。エンドセリン-1 (ET-1) 受容体には A 型 (ET_AR) および B 型 (ET_BR) の二種類がある。ET-1 の受容体を介する ET-1 の自己誘導が腎および心血管系の病態生理に関与する。細胞内で産生された ET 前駆体 (preproET-1) は変換酵素による処理を受け ET-1 となる。PreproET-1 遺伝子の転写は ET-1 遺伝子発現と同義である。G α 13 は ET_BR によって活性化される。ET-1 と G α 13 の細胞に対する作用には共通するものがある。G α 13 が ET_BR と共役して ET-1 の自己誘導に関与する可能性をみるために、ET_BR と G α 13 を介する ET-1 の遺伝子発現経路を検討した。

【方法】

ヒト ET-1 のプロモーター領域の断片を用いて

論文要旨 (2)

ET-1 遺伝子発現をルシフェラーゼ活性として計測できるプラスミドを作成した。また、 $G\alpha_{13}$ および他の GTP 結合蛋白の構成的活性化体、 $ET_B R$ 、c-jun N-terminal kinase (JNK) および MAPK/ERK kinase (MEK) の不活性型変異体を動物細胞に発現させるプラスミドを作成した。これらのプラスミドを COS-7 細胞に導入し、ルシフェラーゼ活性を測定することによって ET-1 遺伝子発現に与える影響を調べた。

【結果】

1. $ET_B R$ を介する ET-1 自己誘導経路

COS-7 細胞に $ET_B R$ を過剰発現させ培養液中に ET-1 を添加すると ET-1 遺伝子の発現が増加した。COS-7 においても $ET_B R$ を介する自己誘導経路の存在が確認された。

2. $ET_B R$ は $G\alpha_{13}$ 、 $G\alpha_q$ を介して ET-1 遺伝子を発現する

$G\alpha_{13}$ 、 $G\alpha_q$ 、 $G\alpha_s$ および $G\alpha_{i2}$ の構成的活性化体を発現させた場合、 $G\alpha_{13}$ と $G\alpha_q$ が ET-1 遺伝子発現を活性化させた。 $G\alpha_{13}$ および $G\alpha_q$ は $ET_B R$

論文要旨 (3)

によって活性化されることから、COS-7において $ET_B R$ は $G\alpha 13$ および $G\alpha q$ を介してET-1遺伝子発現を誘導している。

3. JNK、MEKの関与




$ET_B R$ とJNKおよびMEKの不活性型変異体を共発現させた場合、 $ET_B R$ を介するET-1遺伝子発現はそれぞれ部分的に抑制された。JNKおよびMEKはこの経路に少なくとも部分的に関与している。

4. $G\alpha 13$ によるET-1遺伝子発現はJNKを介する

$G\alpha 13$ の構成的活性化体とJNKの不活性型変異体を共発現させた場合、 $G\alpha 13$ によるET-1遺伝子発現はほぼ完全に抑制された。 $G\alpha 13$ によるET-1遺伝子発現はJNKを介する。

【結論】

COS-7には $ET_B R$ を介するET-1の自己誘導経路が存在する。 $ET_B R$ と相互作用する $G\alpha 13$ はET-1遺伝子発現をJNKを介する経路で誘導する。 $G\alpha 13$ を介する細胞内の情報伝達系路は腎および心血管系の病態形成に関与していると考えられる。

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	山川 研
		平成 14 年 12 月 24 日		
論文審査委員	主査教授	小杉 忠誠		印
	副査教授	瀧下 修一		印
	副査教授	植田 真一郎		印
(論文題目)				
Gα ₁₃ Induces PreproET-1 Gene Expression via JNK				
(論文審査結果の要旨)				
上記論文に関して、研究に至る背景と目的、論文の内容、研究の成果とその意義について慎重に審査し、以下のような審査結果を得た。				
1. 研究に至る背景と目的				
<p>三量体型GTP結合蛋白質の一つであるGα₁₃は全身性に発現している。しかしながら他の三量体型GTP結合蛋白質と比べてもその機能に未解明な部分が多い。エンドセリン (ET) は心血管系の病態生理において主要な役割を果たすが、その機構の一つにエンドセリンの自己誘導が関わっている。本研究はCOS-7細胞を用いた培養細胞の系においてエンドセリンのプロモーター活性を評価している。構成的活性型変異体および優性不活型変異体を共発現させることによって、Gα₁₃によるエンドセリンの遺伝子発現を誘導する経路について解明を図っている。</p>				
2. 論文の内容				
<p>本研究で示された結果は以下の通りである。</p> <p>(1) ET-1によるET_BRを介するpreproET-1遺伝子発現の誘導；COS-7においてB型ETレセプター (ET_BR) を発現させた場合、ET-1によって preproET-1遺伝子誘導が</p>				

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 3 *印は記入しないこと。

確認された。

- (2) $G\alpha_{13}$ と $G\alpha_q$ のpreproET-1遺伝子誘導経路への介在；三量体型GTP結合蛋白質の4群のファミリーにおける、主要な α サブユニットの構成的活性型変異体をCOS-7に発現させたところ、 $G\alpha_{13}$ と $G\alpha_q$ によってpreproET-1遺伝子発現が誘導された。
- (3) ET_B RによるpreproET-1遺伝子誘導経路におけるJNKとMEKの介在； ET_B RによるET-1遺伝子誘導モデルにc-jun N-terminal kinase (JNK) とMAPK/ERK kinase (MEK) の優性不活性型変異体を発現させたところ ET_B Rを介するET-1遺伝子誘導は、それぞれ部分的に抑制された。
- (4) $G\alpha_{13}$ によるpreproET-1遺伝子誘導へのJNKの介在； $G\alpha_{13}$ によるET-1遺伝子誘導モデルにおいて、JNKの優性不活性型変異体を共発現させると、 $G\alpha_{13}$ によるET-1遺伝子発現が抑制された。

3. 研究の成果と意義

ET_B Rを介するET-1の自己誘導は、これまで $G\alpha_q$ によるものが報告されていた。本研究の条件下では $G\alpha_q$ だけでなく $G\alpha_{13}$ も ET_B Rを介するET-1遺伝子発現に関わっていることが示された。このことから心血管系におけるET-1の作用に $G\alpha_{13}$ が関わっている可能性が示唆された。 $G\alpha_{13}$ の未知の機能を明らかにし、ET-1産生系への関与を初めて示したもので国際的水準にある研究と判断した。

以上により、本論文は学位授与に値するものであると判断した。