

## 東京女子医科大学学会第309回例会

日 時 平成9年2月20日(木)午後4時30分より

会 場 東京女子医科大学 中央校舎1階会議室

司会 幹事 久保長生

会長 高倉公朋

挨拶

## 第9回山川寿子研究奨励金授与式

選考経過

1. 視覚情報処理過程における網膜ニューロン Na<sup>+</sup>channels の役割
2. G 蛋白を介する情報伝達系の分子生物学的制御とその慢性糸球体腎炎治療への応用

選考委員 田村敦子

第一生理学 日高 聰

第四内科学 新田孝作

## 第5回佐竹高子研究奨励金授与式

選考経過

1. 細菌性毒素による血管透過性トランスの研究
2. 神経細胞サブセットに特異的に発現しているカルシウム結合タンパクの機能解析
3. 小児期発症筋ジストロフィーの原因解明の研究

選考委員 田村敦子

薬理学 藤井恵美子

生化学 山口知子

小児科学 池谷紀代子

## 第8回山川寿子研究奨励金受賞者研究発表

1. 洞結節細胞自動能の制御機構
2. 21番染色体ダウン症関連領域からの遺伝子単離とその解析

循環器内科学 萩原誠久

薬理学 塚原富士子

## 第4回佐竹高子研究奨励金受賞者研究発表

1. 胎生早期に血管内皮細胞に特異的に発現し、血管の分化、発生を調節する新しい遺伝子(Del-1)のクローニングと機能に関する研究
2. PEP 法による DNA 分析

循環器内科学 川名正敏

法医学 中村茂基

## 1. 洞結節細胞自動能の制御機構

(循環器内科学)

萩原誠久

洞結節細胞におけるペースメーカー電位の発現機序に関しては Ca 電流, 外向き K 電流および過分極誘発電流等の時間依存性電流の重要性が主に論じられていた。しかし, これらの電流系のみでは, 正常の活動電位をモデル的に再構築することは困難であり, 他の電流系の必要性が示唆されていた。我々は, ウサギ単一洞結節細胞にパッチクランプ法を応用して時間非依存性の内向き背景電流および外向きの Na-K ポンプ電流を測定した。内向きの背景電流は非特異的陽イオン電

流であり, 生理的条件下では, 細胞外の Na と細胞内の K を透過しえる電流であり, その逆転電位は約 -20mV であるため, 洞結節細胞のペースメーカー電位の領域では内向き電流として関与することが示唆された。一方, 生理的条件下での Na-K ポンプ電流は -50mV の電位において約 20 pA であるため, 内向きの背景電流に拮抗する時間非依存性の外向き電流としてペースメーカー電位の形成に重要な役割を果たしていることが確認された。

## 2. 21番染色体ダウン症関連領域からの遺伝子単離とその解析

(薬理学) 塚原富士子

[目的] 近年、部分トリソミー患者の解析から、ダウン症の原因遺伝子は21番染色体長腕 (21q22.2) 領域に座位する可能性が指摘されている。本研究では、この領域にマップされた P1クローンを用い、エクソントラッピング法 (ゲノム DNA から遺伝子のエクソン部分を単離する方法) にて、新規遺伝子 (*TPRD*) を単離し、その解析を行った。

[方法] エクソントラッピング法により 21q22.2 にマップされた P1クローンからエクソン様 DNA 断片を単離した。さらに、これらの DNA 断片をプローブとした cDNA ライブラリーのスクリーニングおよび PCR 法にて cDNA を単離し、解析した。

[結果] 塩基配列の解析から、新規 cDNA *TPRDI* (9078bp) とその isoforms (*TPRDII* (8992 bp), *TPRDIII* (7416bp)) の構造を決定した。*TPRDI* がコードする 2025aa は、蛋白質相互作用と関連している可能性のある tetratricopeptide repeat (34個のアミノ酸の繰り返し) 領域とマトリックス蛋白質に相同性の高い領域を持っていた。*TPRDII* は、alternative splicing 産物であり、2つの ORF (200aa と 1792aa) をコードし、*TPRDIII* は、転写開始点が異なり、1715aa をコードしていた。ノーザン解析から、*TPRD* 遺伝子はマウス胚、ヒト胎児および成人の脳、心臓等、実験に用いた全ての組織において発現していた。

[考察] *TPRD* 遺伝子は、形態形成異常を引き起こす原因遺伝子の一つである可能性が推察される。現在、ダウン症発症原因との関連性について検討中である。

[発表論文] J Biochem 120: 820-827, 1996

### 3. 胎生早期に血管内皮細胞に特異的に発現し、血管の分化、発生を調節する新しい遺伝子 (*Del-1*) のクローニングと機能に関する研究

(循環器内科学) 川名 正敏

心血管系の発生過程は極めて複雑で、血管の発生様式には vasculogenesis と angiogenesis の 2通りがあることが知られているが、何が発生様式を決定しどのような機序で成人の循環系が出来上がるのかについては未だ不明の点が多い。

我々はレポーター遺伝子 (*lac-Z* 遺伝子) の random insertion による enhancer trap 法を利用

し、胎児血管内皮細胞で発現する新しい遺伝子 "*del-1*" をクローニングした。この *del-1* の cDNA は 480 アミノ酸残基からなり、5' 末端にはシグナルペプチドを認め、N 末端の 3 つの上皮細胞増殖因子 (EGF) 繰り返し配列と C 末端の 2 つの dis-coidin 様ドメインから構成される新しい蛋白であった。さらに 2 番目の EGF 配列の中にインテグリン結合配列 (RGD) が認められた。

In situ hybridization では心内膜、血管内皮細胞に強い *del-1* mRNA の発現が見られ、抗 *del-1* 抗体を作製し免疫組織染色では、血管では内皮細胞下に、心臓では心内膜下層に *del-1* が検出された。即ち *del-1* は胎生期に内皮細胞で産生されたのち分泌されて細胞外基質に存在することが明らかになった。

血管由来の未分化内皮細胞の cell line である yolk sac cell (YS cell) を用いて in vitro での機能解析を行った。YS cell は通常 4~5 日でネットワーク・管腔形成を起こすのに対し、*del-1* 蛋白をコートした dish 上で YS cell を培養するとこれが全く起こらなかった。従って *del-1* は内皮から分泌された後に細胞外基質に存在して、RGD 配列を介して内皮細胞膜上の integrin  $\alpha V\beta 3$  と結合して細胞内に情報を伝達し、angiogenesis を抑制する蛋白質ではないかと考えられる。

このような分子は、心血管系の発生を理解する上で重要なばかりではなく、動脈硬化などの血管病変の進展のコントロールや悪性腫瘍での血管新生や糖尿病性網膜症の進展を抑制する効果も期待され、今後 *del-1* の機能解析の研究をさらに進めていく予定である。

### 4. PEP 法による DNA 分析

(法医学) 中村茂基

微量 DNA 試料から 10 種類以上のローカスを検査するための手段の一つとして、鋳型 DNA の全長を増幅する全ゲノム増幅法が知られている。その方法の一つに、15-mer のランダムプライマーを用いた primer extension preamplification (PEP) 法があり、single cell から 15 種類以上のローカスを検査して、出生前診断を行う方法として報告された。法医学領域においてしばしば遭遇する 1 本の毛髪のような微量試料を用いた DNA 鑑定では、抽出される DNA 量