

Possible participation of pICln in the regulation of angiogenesis through alternative splicing of vascular endothelial growth factor receptor mRNAs

著者	Li Hui
著者別名	李, 慧
journal or publication title	博士学位論文要旨 論文内容の要旨および論文審査結果の要旨 / 金沢大学大学院医学研究科
volume	平成17年7月
page range	3-3
year	2005-07-01
URL	http://hdl.handle.net/2297/15873

学位授与番号	甲第 1636 号
学位授与年月日	平成 16 年 6 月 30 日
氏 名	李 慧
学位論文題目	Possible participation of <i>pICln</i> in the regulation of angiogenesis through alternative splicing of Vascular Endothelial Growth Factor receptor mRNAs (VEGF 受容体 mRNA の選択的スプライシングを介する, <i>pICln</i> による血管新生系制御)
論文審査委員	主 査 教 授 多久和 陽 副 査 教 授 高 倉 伸 幸 教 授 吉 本 谷 博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

1999年, 筆者らの研究室で, antisense oligonucleotide を用いた新しい機能性遺伝子スクリーニング技術が考案, 開発され, Antisense Display 法と命名された(Nucleic Acids Res. 27, 2591-2600, 1999)。本法の原理は, Kozak 配列に対応し概ね全ての mRNA 分子種をカバーしうる antisense DNA レパートリーから任意の細胞形質変化をひきおこす配列を同定し, その配列を基に当該形質を担う遺伝子を分離することで, つぎの4ステップからなる: (1) Antisense DNA レパートリーの化学合成, (2) 細胞の表現形質変化を来す antisense 配列の同定, (3) 5' sense プライマーと 3' アンカー型プライマーを用いた RT-PCR クローニングと構造決定または核酸データベース検索, (4) 対応遺伝子の発現と機能の検定。本研究で筆者は, スクリーニングの感度と特異性に改良を加えつつ, Antisense Display 法をヒト血管内皮細胞に適用して新規血管新生抑制遺伝子の分離を試みた。得られた成績は以下の如くに要約される。

(1) 1 サブプールあたり 16 種の 10mer antisense を含む 512 のサブプールをスクリーニングした結果, 一次スクリーニングで17の増殖促進性サブプールと43の増殖抑制性サブプールが得られた。(2) 血管新生抑制遺伝子に対応すると考えられる前者に焦点をあて, 以後順次 antisense 鎖長を伸ばしつつスクリーニングした結果, 第4次スクリーニングで増殖促進性 14mer ユニーク配列を得た。(3) データベース検索の結果, 対応 sense 配列は5種の cDNA/EST と完全マッチし, このうち *pICln* とよばれる1種のみ血管内皮細胞で発現が認められた。(4) *pICln* mRNA の別領域に対する長鎖 antisense は内皮細胞の増殖と管腔形成を促進し, 逆に, cDNA 発現ベクターを移入して *pICln* を過剰発現させると内皮細胞増殖が抑制された。(5) オルタナティブ RNA スプライシングにより生成される血管新生抑制因子である可溶性 Flt-1 と可溶性 neuropilin-1 をコードする mRNA が, *pICln* antisense 投与細胞で減少し, *pICln* 過剰発現細胞で増加していた。

したがって, *pICln* は RNA スプライシングの段階で作用する新しいタイプの血管新生調節因子と推定され, また, Antisense Display 法は医学生物学上重要な機能性遺伝子を同定するうえで有用と考えられた。

以上, 本研究は, 新しい血管新生制御のメカニズムとそれを担うと推定される新規血管新生制御遺伝子を明らかにした点で, 血管生物学・医学に貢献し, 学位に値すると評価された。