

毛様体筋収縮調節メカニズムへの 分子生物学的アプローチ

(研究課題番号 13470365)

平成 13 年度～平成 14 年度科学研究費補助金 (基盤研究(B)(2))
研究成果報告書

平成 15 年 4 月

研究代表者 高井 章
(旭川医科大学生理学第一講座)

はしがき

本研究の目的は、毛様体筋の張力維持相に必要な Ca^{2+} イオン流入経路の本体を明らかにすることにあつた。われわれはまず、単離毛様体筋細胞における全細胞膜電位固定法による実験を行い、この平滑筋細胞に、ムスカリン受容体刺激に伴い開口する少なくとも2種類の非選択性陽イオンチャネル(NSCC)が存在することを明らかにした。各種陽イオンについての比透過性や開閉カINETIKSの違いにより明らかに区別されるこれらのNSCCは、いずれも Ca^{2+} をかなりよく透過するので、電位依存性 Ca^{2+} チャネルなど、他の多くの平滑筋組織に存在するタイプの Ca^{2+} チャネルをほとんど発現していないことで知られる毛様体筋において、主要な Ca^{2+} 流入経路を形成する可能性が十分に考えられる。

ところで近年、もともとショウジョウバエ複眼における光受容メカニズムの研究の過程で発見された trp 型陽イオンチャネルの類似体が哺乳動物でも続々と発見され、そのあるものは、ムスカリン受容体を介した調節を受ける NSCC を形成することが知られるようになった。そこでわれわれは、RT-PCR 法による mRNA の検索を行い、ウシやブタの毛様体筋においても複数の trp チャネル(trp1, trp3, trp4 および trp6)が発現していることを確認し、それらの全 cDNA 配列を決定することに成功した。目下、これらのtrp型陽イオンチャネルと上記のような電気生理学的実験によって捉えられた NSCC との関連を検討しているところである。

これらの成果の一部は、添付の原著論文別刷に記述してある。なお、本研究のもう一つの目的である NSCC に特異的に作用する天然毒素の探索は、本研究に先立つ5年間(1996-2000年)に代表者が日本学術振興会未来開拓プロジェクトのひとつ(RFTF96L00504)にコアメンバーとして参画した際に開始した研究内容の一部を敷衍した形になっている。本報告書の巻末に添付してあるのは、これらの研究全体の流れを通観する目的で代表者がしたための英文の報告書体の一文(抜粋)で、そこには trp 遺伝子関係の未発表データの一部も収録してある。

なお、研究代表者は平成13年10月1日付で名古屋大学から旭川医科大学に転勤した。そのため、第2年度のはじめに一部の共同研究者の交代があつたことを付記する。

研究組織

代表者	高井 章	(旭川医科大学医学部教授)	
分担者	三宅 養三	(名古屋大学大学院医学系研究科教授)	平成13年度のみ
"	吉田 晃敏	(名古屋大学大学院理学研究科教授)	平成14年度のみ
"	磯部 稔	(名古屋大学大学院生命農学研究科教授)	
"	上村 大輔	(名古屋大学大学院理学研究科教授)	
"	成瀬 恵治	(名古屋大学大学院医学系研究科助教授)	
"	大日向 浩	(旭川医医科大学医学部助手)	平成14年度のみ
"	内海 計	(旭川医医科大学医学部助手)	平成14年度のみ

研究経費

平成13年度	9,300千円
平成14年度	4,000千円
計	13,300千円

研究発表

1. 学会誌等 (いずれも別刷を本冊子に添付)

英文原著

ZHOU, S. S., TAKAI, A., & OKADA, Y. (2002). Regulation of cardiac CFTR Cl⁻ channel activity by a Mg²⁺-dependent protein phosphatase. *Pflügers Archiv* **444**, 327-334.

KITA, A., MATSUNAGA, S., TAKAI, A., KATAIWA, H., WAKIMOTO, T., FUSEYANI, N., ISOBE, M., & MIKI, K. (2002). Crystal structure of the complex between calyculin A and the catalytic subunit of protein phosphatase 1. *Structure (Camb.)* **10**, 715-724.

WAKIMOTO, T., MATSUNAGA, S., TAKAI, A., & FUSEYANI, N. (2002). Insight into binding of calyculin a to protein phosphatase 1. Isolation of hemicalyculin a and chemical transformation of calyculin a. *Chemistry & Biology* **9**, 309-319.

ITO, E., YASUMOTO, T., TAKAI, A., IMANISHI, S., & HARADA, K. (2002). Investigation of the distribution and excretion of okadaic acid in mice using immunostaining method. *Toxicon* **40**, 159-165.

ITO, E., TAKAI, A., KONDO, F., MASUI, H., IMANISHI, S., & HARADA, K. (2002). Comparison of protein phosphatase inhibitory activity and apparent toxicity of microcystins and related compounds. *Toxicon* **40**, 1017-1025.

2. 学会発表 (英文抄録)

Takai, A., Takai, Y. & Sugawara, Y. (2002). Non-selective cation channels activated by muscarinic stimulation: possible routes for Ca²⁺ entry in the bovine ciliary muscle. *Japanese Journal of Physiology*, in the Press

Takai, A., Takai, Y. & Miyake, Y. (2001). Non-selective cation channels activated by muscarinic stimulation as possible routes for Ca²⁺ entry in the bovine ciliary muscle. *Japanese Journal of Physiology* **51**, S178.

Takai, A. & Takai, Y. (2001). Non-selective cation channels activated by muscarinic stimulation in the bovine ciliary muscle: possible routes for calcium influx. *Proceedings of the 34th IUPS Congress (Christchurch, New Zealand)* A1756.

3. その他 (報告書など ; 本報告書に添付)

伊藤恵美子、高井章、今西進、藤井清永、原田研一 (2002). 淡水ラン藻が産生する肝臓毒microcystinの毒性発現(1). 名城大学総合研究所総合学術論文集 **1**, 1-13.