

3. 内分泌機能系

3-1) アルドステロン分泌に対するバソプレッシン受容体の機能解析

V1a バソプレッシン受容体欠損マウス、V1b バソプレッシン受容体欠損マウスおよびコントロールマウスから摘出した副腎皮質細胞を用いてアルドステロン分泌を調べた。その結果、V1a バソプレッシン受容体欠損マウスでは、バソプレッシン刺激によるアルドステロン分泌がコントロールに比べて低下していた (Birumachi et al., 2007)。

3-2) 副腎髄質機能におけるバソプレッシン受容体の機能解析

V1b バソプレッシン受容体欠損マウスおよびコントロールマウスを用いて安静時、バソプレッシン負荷時、ストレス負荷時 (急性、慢性) の血中カテコールアミン濃度を解析した。その結果、V1b バソプレッシン受容体欠損マウスではストレス負荷後のアドレナリン、ノルアドレナリンの分泌が低下していた (図18) (Ito et al, 2006)。

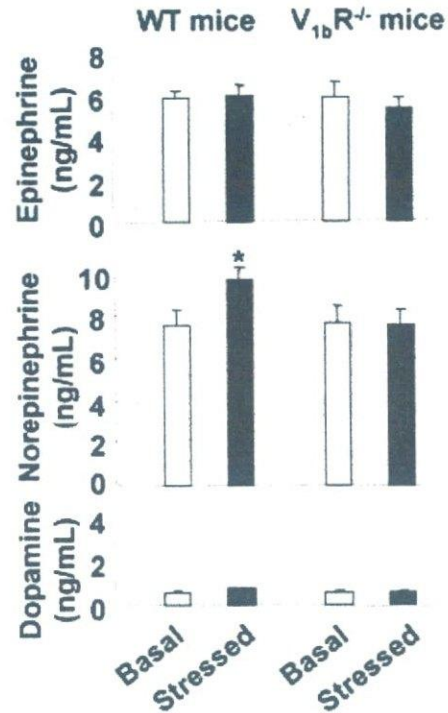


図18 安静時及びストレス負荷時の血中カテコールアミン値

3-3) 成長ホルモン分泌に対するバソプレッシン受容体の機能解析

V1b バソプレッシン受容体欠損マウスおよびコントロールマウスから摘出した下垂体細胞を用いて成長ホルモン分泌を調べた。その結果、V1b バソプレッシン受容体欠損マウスでは、バソプレッシン刺激に対する成長ホルモン分泌の反応性の低下が見られた。

3-4) ACTH分泌に対するバソプレッシン受容体の機能解析

神経ホルモンであるバソプレッシン、及びオキシトシンは、下垂体前葉において、バソプレッシンV1b受容体を介してACTHを分泌することが報告されている。V1b バソプレッシン受容体欠損マウスを用いた研究により、V1b バソプレッシン受容体欠損マウスでは

バソプレッシンが下垂体前葉からのACTH分泌を促進しないことがすでに明らかになっている。本研究では、V1bバソプレッシン受容体欠損マウスの下垂体前葉初代培養細胞を用いて、オキシトシン刺激によるACTH分泌に対する変化を調べた。

マウス下垂体前葉を採取後、0.4% コラゲナーゼで2時間処理し、 3.5×10^5 cells/well の濃度で24穴培養プレートに撒き込んだ。その後2日-3日おきに培地を交換し、培養5日目でオキシトシン刺激実験を行った。オキシトシンによる刺激は37°Cで3時間行った。受容体拮抗薬の処理は、オキシトシン刺激の5分前に行った。刺激後、培養上清を回収し、ACTH濃度をRIAで測定した。

コントロールマウス下垂体前葉細胞において、オキシトシンは濃度依存的にACTHを分泌し、10nMの濃度で有意にACTHを分泌した ($p < 0.05$)。一方、V1bバソプレッシン受容体欠損マウス下垂体前葉細胞においても、濃度依存的なOT刺激によるACTH分泌が観察され、100nMのオキシトシン刺激で有意にACTHを分泌した ($p < 0.01$)。そして、V1b受容体特異的拮抗薬であるSSR149415 (SSR)を用いた実験により、SSRで前処理したコントロールマウス下垂体前葉細胞では、100nMのオキシトシン刺激によるACTH分泌が阻害され、特に1mMのSSRで有意に阻害された ($p < 0.05$)。オキシトシン受容体拮抗薬CL-14-26 (1mM)ではオキシトシン刺激によるACTH分泌を阻害しなかった。これらの結果より、コントロールマウスにおいて、オキシトシンはオキシトシン受容体ではなく

V1b受容体を介してACTHを分泌すると考えられ、これはラットに見られた見解と一致した。また、V1bバソプレッシン受容体欠損マウスにおいてオキシトシン刺激によるACTH分泌が見られることから、V1bバソプレッシン受容体欠損マウスではオキシトシン受容体がACTHを分泌することに関与していると考えられた。

3-5) 副腎皮質内分泌機能に置けるV1a受容体の機能解析

・副腎由来細胞株におけるVasopressinの作用

Y1細胞をACTHとVasopressin (100nM)の存在化で刺激するとACTH単独よりもステロ

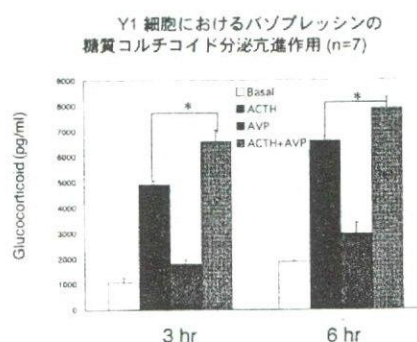


図19 AVPによる糖質コルチコイド分泌作用

イドホルモンの分泌が亢進することが示された。(図19参照)。

この亢進は3時間後には有意な上昇となり6時間まで持続した。発現解析によりこの細胞にはV1a受容体が発現し、他のバソプレッシンファミリー受容体であるV1b, V2, オキシトシン受容体は存在しないことが示された。

(図20)

図2 副腎皮質細胞由来Y1細胞における
バソプレッシン受容体ファミリーの発現

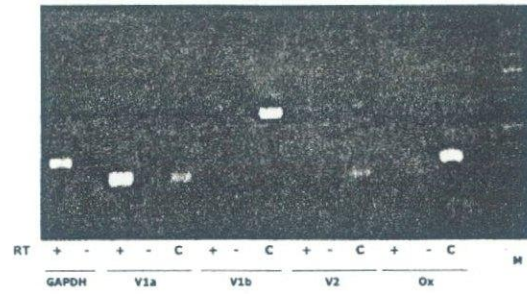


図20 Y1細胞におけるバソプレッシン受容体の発現

V1a^{-/-}マウスでは皮質に Lipofuscin 様蛍光物質の蓄積が観察された。

さらにパラフィン切片にて詳細に層構造を観察したところ、野生型マウスでは束状帯で淡明細胞がみられたが、V1a^{-/-}では減少していた。また V1a^{-/-}マウスでは、淡明細胞が少ないため束状帯と網状帯との境界が不明瞭であった。皮質 (P=0.75) と球状帯 (P=0.69) の厚さでは有意な差は認められなかった。

図21 V1a ノックアウトにおける血中ホルモンおよび副腎組織像

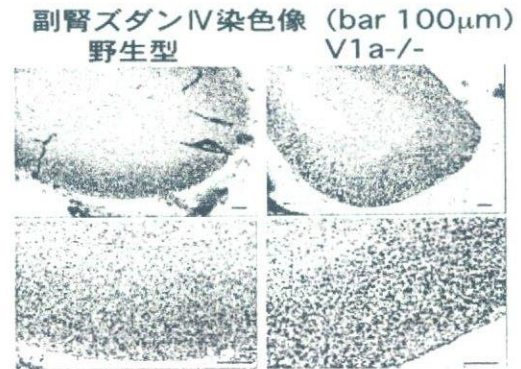


図22 副腎組織像

野生型、V1a^{-/-}とも副腎皮質束状帯に脂肪染

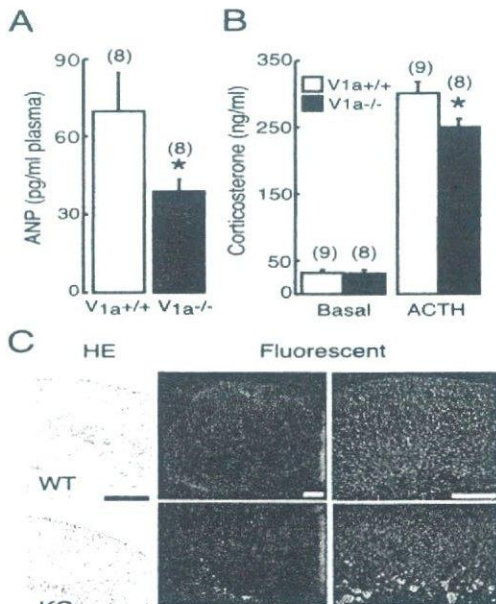
よって副腎皮質細胞に存在する V1a 受容体は単独で、或は MC2 メラノコルチン受容体と共同で糖質ステロイドの分泌を亢進させる能力を有することが明らかとなった。

・V1a 遺伝子ノックアウトによる副腎皮質ホルモン分泌能の変化

細胞レベルでの V1a の役割を個体レベルで評価するためノックアウトマウスの副腎皮質ホルモン分泌機能について解析したところ、有意にコルチコステロンの分泌が低下していた(図21)

血中 Atrial natriuretic polypeptide 濃度は、V1a^{-/-}マウスでは基礎値が有意に低下していた。血中 Corticosterone 濃度は、V1a^{-/-}マウスでは基礎値に変化がないものの、adrenocorticotropine, ACTH, で刺激した際の分泌反応が有意に低下していた。副腎皮質組織像。副腎皮質の3層構造(顆粒層、束状層、網状層)は、特に束状層と網状層の境界が不鮮明となり、糖質ステロイドホルモンの分泌は基礎値、ACTH 刺激時とも低下していた。しかし副腎髄質のカテコラミン分泌は保たれており V1a 遺伝子が皮質特異的な発達に重要であることを示している。さらに

図3 V1a 遺伝子改変マウスにおける血中ホルモン濃度、副腎組織像



色陽性像がみられ、両者に差は見られなかった (図 2 2)。

V1a の役割を個体レベルで評価するためノックアウトマウスの副腎皮質ホルモン分泌機能について解析したところ、有意にコルチコステロンの分泌が低下していた。V1a^{-/-}マウスでは基礎値に変化がないものの、adrenocorticotropine, ACTH, で刺激した際の分泌反応が有意に低下していた。さらに V1a^{-/-}マウスでは、副腎皮質組織像。副腎皮質の3層構造 (顆粒層、束状層、網状層)、特に束状層と網状層の境界が不鮮明となり、糖質ステロイドホルモンの分泌は基礎値、ACTH 刺激時とも低下する。しかし副腎髄質のカテコラミン分泌は保たれており V1a 遺伝子が皮質特異的な発達に重要であることを示している。特に 11 週令以降の V1a^{-/-}マウスでは皮質に Lipofuscin 様蛍光物質の蓄積が観察された。

週令を追って副腎皮質の自家蛍光物質沈着の変化を観察したところ、6 週令では野生型マウス、V1a^{-/-}共に沈着物質は観察されなかった。しかし 11 週令では明らかに V1a^{-/-}マウスにおいて自家蛍光物質が増加し、沈着の分布は主として網状層で一部束状層に観察された。40 週令になると野生型でも副腎皮質の蛍光沈着物が観察され始めたが、その数と量は V1a^{-/-}でははるかに多く観察された。(図 2 3)

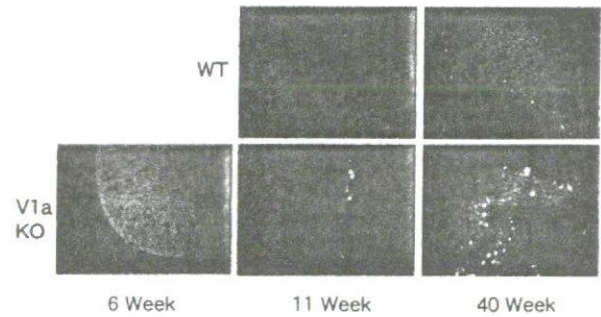


図 2 3 週齢による副腎皮質蛍光物質沈着の変化

よって V1a 受容体は副腎皮質に生後進む加齢変化に似た沈着物を低減させるために必要な機能を担うと考えられた。この組織変化を踏まえて遺伝子発現パターンの網羅的解析を進めることが有用であると判断された。

V1a^{-/-}の基礎血圧低下の原因を詳しく調べたところ、遺伝子欠損マウスでは循環血液量が減少し加えてこの減少を代償する機能を担う神経反射が減弱していることが示唆された。さらに循環血液量の減少は心臓に対する前負荷を低下させ、心房性ナトリウム利尿ペプチドの血中濃度は変異型マウスで低下していた。

4. 中枢神経系

4-1) アルコール嗜好性に対するバソプレッシンの作用

アルコール嗜好性に対するバソプレッシンの作用をバソプレッシン受容体欠損マウスを用いて検討した。その結果、V1a バソプレッシン受容体欠損マウスではアルコール嗜好性が亢進していることが明らかとなった (論文投稿中)。

4-2) 社会行動などの高次脳機能に対する
に対するバソプレッシンの作用

V1a バソプレッシン受容体欠損マウスでは、
不安行動が低下していることが明らかとなっ
た (Egashira et al., 2006)。

(1) Open-field 法を用いた自発運動量

V1aR KO および V1bR KO マウスは、WT マウ
スと比較して有意な差はみられなかった。

(2) Rota-rod 法を用いた協調運動

V1aR KO および V1bR KO マウスは、WT マウ
スと比較して有意な差はみられなかった。

(3) トラクションメーター法による筋力の
測定

V1aR KO および V1bR KO マウスは、WT マウ
スと比較して有意な差はみられなかった。

(4) 明暗箱課題を用いた不安行動

V1aR KO および V1bR KO マウスは、WT マウ
スと比較して明箱および暗箱での滞在時間
において有意な差はみられなかった。

(5) 高架式十字迷路課題を用いた不安行動

V1aR KO および V1bR KO マウスは、WT マウ
スと比較してそれぞれの arm での滞在時間
において有意な差はみられなかった。

(6) 強制水泳試験

V1aR KO および V1bR KO マウスは、WT マウ
スと比較して不動時間に有意な差は認められ
なかった。

(7) PPI

V1aR KO マウスは、WT マウスと比較して驚愕
反応および PPI において有意な差は見られな
かった。一方、V1bR KO マウスは、WT マウス
と比較して高い驚愕反応を伴った PPI の低下
が認められた。しかしながら、驚愕反応と PPI

の低下において相関性は認められなかった。

(8) 高架式十字迷路課題を用いた学習・記
憶の検討

V1aR KO および V1bR KO マウスは、WT マウ
スと比較して transfer latency に有意な差は
認められなかった。

(9) 水迷路課題を用いた学習・記憶の検討

V1aR KO および V1bR KO マウスは、WT マウ
スと比較して遊泳時間に有意な差は認められ
なかった。

(10) 8 方向放射状迷路課題を用いた学習・
記憶の検討

V1aR KO マウスは、WT マウスに比べて有意
な正選択数の減少と誤選択数の増加が認めら
れた。また、V1aR KO マウスは有意に走行時
間延長した。一方、V1bR KO マウスは、WT
マウスと比較して有意な差は認められなかつ
た。

(11) V1bR KO マウスにおける PPI の障害
に対する抗精神病薬の作用

V1bR KO マウスにおける PPI の障害に対し
て定型抗精神病薬である haloperidol は何ら
影響を及ぼさなかった。一方、非定型抗精
神病薬である risperidone は 1 mg/kg の用量
において有意に PPI の障害を改善した。さら
に、clozapine も 3 mg/kg の用量で有意に改
善した。しかしながら、clozapine は驚愕反
応も有意に低下した。

4-3) 疼痛・鎮痛モデル

(1) 一般行動観察

wild マウスと V1a および V1b 受容体欠損マウ
スの身体機能を調べるために、自発運動、協

調運動および筋力の測定を行った。身体機能ではそれぞれのマウスの間で有意な差は認められなかった。

(2) 痛覚機能の検討

wild マウスと V1a および V1b 受容体欠損マウスの痛覚機能について、熱刺激に対する反応性を、中枢を介する侵害刺激反応と考えられている hot-plate test、脊髄を介する反応と考えられている tail-flick test を用い、強さの異なる刺激条件で検討した。

hot-plate test において、wild マウスと V1a 受容体欠損マウスで反応潜時は同程度であった。しかし、V1b 受容体欠損マウスでは、反応潜時が wild マウスに比べは有意に延長した。一方、tail-flick test では、弱い刺激 (IR INTENSITY 34) において V1a 受容体欠損マウスは、有意に反応潜時が短縮した。一方、V1b 受容体欠損マウスは弱い刺激および強い刺激 (IR INTENSITY 38) でともに有意に反応潜時が延長した。

5. 副腎髄質機能におけるバソプレッシン受容体の機能解析

安静時、バソプレッシン負荷時、ストレス負荷時の血中カテコールアミン濃度を測定した。V1b ノックアウトマウスでは低下傾向が見られている。

6. 腎臓におけるバソプレッシン受容体の機能解析 (田上分担)

腎臓におけるバソプレッシンの生理作用について V1a, V1b 受容体の生理機能を中心に遺伝子改変動物を用いて解析を行った。腎臓にお

ける cAMP の測定を行った結果、V1a ノックアウトではコントロールと同程度の cAMP が測定された。

7. 肝機能の解析

7-1) 肝臓における AVP の生理作用解析
V1aR を欠損した細胞は予想と異なり、野生型に比べ高い増殖能を示した (図 2 4)。

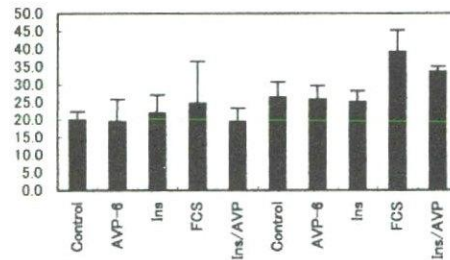


Figure 1

図 2 4 肝細胞増殖能

GOT と GPT レベルは正常であり肝障害は認められなかった (図 2 5)。

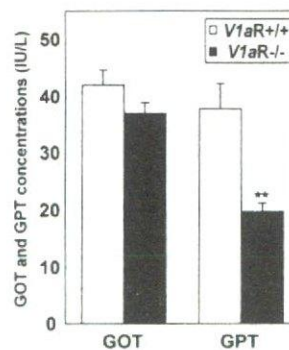


Figure 2

図 2 5 血中 GOT, GPT

しかし、アンモニア処理能力は有為に低下していた (図 2 6)。

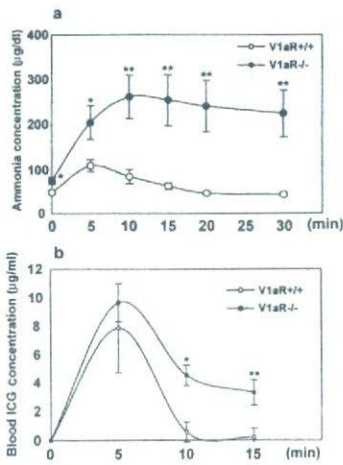


Figure 3

図 2 6 アンモニア負荷試験および ICG テスト

また、絶食時、V1aR-KO マウスの血清中ケトン体と肝臓中アシルカルニチンが増加していることから (表 4)、絶食時に肝臓での脂質代謝が V1aR-KO マウスで亢進していることが明らかになった。

Table 1 Measurement of tissue carnitine and C2-acylcarnitine

	Feeding condition							
	Liver		Heart		Kidney		Muscle	
	V1aR+/+	V1aR-/-	V1aR+/+	V1aR-/-	V1aR+/+	V1aR-/-	V1aR+/+	V1aR-/-
Carnitine	7.32±0.395	14.05±1.522	49.05±7.714	55.94±1.563	7.70±0.411	6.99±0.517	34.26±2.612	30.39±2.958
p value		0.0012		0.0593		0.7457		0.3734
Acylcarnitine(C2)	0.31±0.041	0.27±0.029	0.82±0.051	0.78±0.081	0.61±0.023	0.67±0.025	0.35±0.004	0.20±0.005
p value		0.4346		0.6416		0.0996		0.0004

	Fasting condition							
	Liver		Heart		Kidney		Muscle	
	V1aR+/+	V1aR-/-	V1aR+/+	V1aR-/-	V1aR+/+	V1aR-/-	V1aR+/+	V1aR-/-
Carnitine	12.26±0.924	17.10±1.881	43.01±2.627	54.56±1.188	9.36±0.845	11.01±0.635	29.14±1.500	24.84±2.411
p value		0.0715		0.1104		0.0657		0.1992
Acylcarnitine(C2)	0.29±0.014	0.24±0.016	0.86±0.070	0.78±0.076	0.57±0.040	0.48±0.014	0.18±0.023	0.20±0.013
p value		0.4249		0.4305		0.0473		0.5111

Values are the means±SE. These results were obtained from five mice. Unad. = unadvised.

表 4 組織アシルカルニチンの値

7-2) 肝臓再生モデルの作成
マウスの肝臓を部分切除 (65% 切除) を行った結果、コントロールに比べて V1a ノックアウトでは有意に死亡するケースが多く見られた。血中アンモニアの値もノックアウトで有意に上昇していた。

8. 泌尿生殖機能系の解析

8-1) 膀胱の生理機能の解析

コントロール及び $\alpha 1D$ ノックアウトマウスを用いて 24 時間排尿動態を独自に開発したメタボリックケージにて解析した。

(1) 体重および膀胱の重さ

Wild type (n=10) および $\alpha 1d$ -KO マウス (n=10) の平均体重はそれぞれ $24.3 \pm 0.9g$ と $23.6 \pm 0.5g$ 、平均膀胱重量はそれぞれ $22.2 \pm 0.3mg$ と $23.1 \pm 0.2mg$ であり、両者とも有意差を認めなかった。

(2) 24 時間排尿パターン

Wild type (n=10) および $\alpha 1d$ -KO マウス (n=10) の 48 時間排尿パターンを連続測定した。Wild type および $\alpha 1d$ -KO マウスの 1 日排尿量はそれぞれ $2.299 \pm 0.118ml$ と $2.107 \pm 0.148ml$ であり、両群間に有意な差を認めなかった。一方 1 日排尿回数は、Wild type および $\alpha 1d$ -KO マウスそれぞれ、 14.7 ± 3.2 回、 9.1 ± 1.2 回と $\alpha 1d$ -KO マウス群が有意に少なかった ($p < 0.01$)。また一回平均排尿量は、Wild type および $\alpha 1d$ -KO マウスそれぞれ、 $0.177 \pm 0.057ml$ 、 $0.238 \pm 0.076ml$ と $\alpha 1d$ -KO マウス群が有意に多かった ($p < 0.05$)。

(3) 膀胱内圧測定

Wild type (n=4) および $\alpha 1d$ -KO マウス (n=4) において測定した。Wild type マウスの膀胱容量および排尿量はそれぞれ $0.12 \pm 0.01ml$ 、 $0.11 \pm 0.01ml$ に対して、 $\alpha 1d$ -KO マウスはそれぞれ $0.21 \pm 0.02ml$ ($p < 0.01$)、 $0.18 \pm 0.02ml$ ($p < 0.01$) と有意に増加していた。一方、残尿量は両群とも $0.02 \pm 0.01ml$ で、有意差を認めなかった。最大排尿時膀胱内圧は、Wild

type マウス : 37.5 ± 2.1 mmHg に対して、 $\alpha 1d$ -KO マウスは 36.6 ± 2.4 mmHg であり、明らかな差異を認めなかった。

(4) マウス膀胱における $\alpha 1$ -adrenoceptor subtypes の mRNA 発現の定量的解析

Wild type マウス膀胱における $\alpha 1a$, $\alpha 1b$, $\alpha 1d$ -adrenoceptor subtypes mRNA の発現量はそれぞれ、 5.2 ± 0.7 , 1.0 ± 0.1 , and 6.3 ± 0.7 gene copies/ng total RNA であった。一方、 $\alpha 1d$ -KO マウスでは、 $\alpha 1d$ -adrenoceptor subtype の発現が消失していたが、 $\alpha 1a$, $\alpha 1b$ -adrenoceptor subtypes の発現量には明らかな変化を認めなかった。以上の結果より $\alpha 1d$ -KO マウスは Wild type マウスに比べて、著明な排尿回数の減少、膀胱容量の増加を認めた。

8-2) 泌尿器科疾患モデル

$\alpha 1$ アドレナリン受容体欠損マウスをもちいて解析を行った。

シストメトリーを用いて膀胱機能の測定を行い、膀胱知覚における $\alpha 1$ アドレナリン受容体の機能解析を行った結果、 $\alpha 1d$ アドレナリン受容体欠損マウスでは膀胱知覚が低下していた。

腎臓亜全的、腎動脈狭窄による高血圧腎不全モデルを作成した。 $\alpha 1d$ アドレナリン受容体ノックアウトマウスでは、コントロールマウス、 $\alpha 1b$ アドレナリン受容体ノックアウトマウス死亡率、高血圧の発症率が有意に低かった。

8-3) 泌尿生殖系の機能解析

雄性 1A KO の総排尿量および排尿回数は雄性 1A WT のそれらの値より有意に多かったが、一回排尿量は両群間で差を認めなかった。同様に雌性 1A KO の総排尿量および排尿回数は雌性 1A WT のそれらの値より有意に多かったが、一回排尿量は両群間で差を認めなかった。雄性 1D KO の総排尿量および一回排尿量が雄性 1D WT のそれらの値より有意に少なかったが、排尿回数は両群間で差を認めなかった。

8-3-1) 排尿機能

雄性 1A KO の総排尿量および排尿回数は雄性 1A WT のそれらの値より有意に多かったが、一回排尿量は両群間で差を認めなかった。同様に雌性 1A KO の総排尿量および排尿回数は雌性 1A WT のそれらの値より有意に多かったが、一回排尿量は両群間で差を認めなかった。雄性 1D KO の総排尿量および一回排尿量が雄性 1D WT のそれらの値より有意に少なかったが、排尿回数は両群間で差を認めなかった。

8-3-2) 生殖機能

精巣、輸精管、精子の組織所見に、ワイルドマウスおよび $\alpha 1$ アドレナリン受容体三重欠損マウスに差はみられなかった (図 27)。

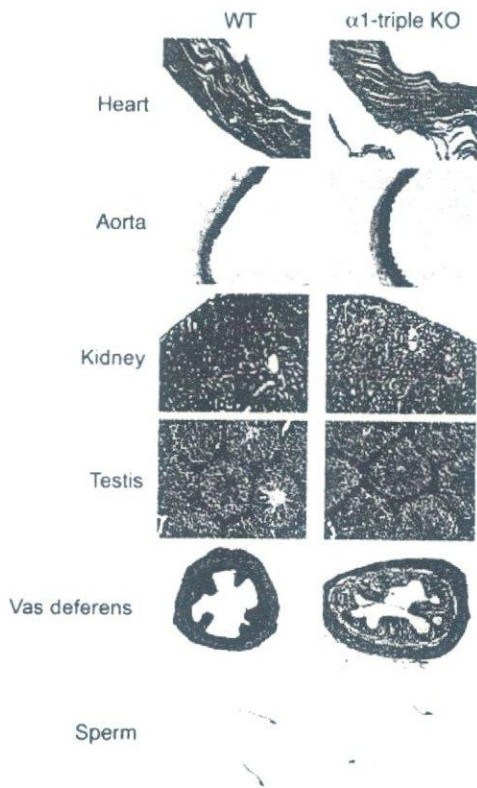


図 27 変異マウスの病理所見

変異マウスの交配成功率について検討を行った。その結果雄の三重欠損マウスでは、妊娠成功率が低下し、射精機能が低下していることが明らかとなった(図 28)。

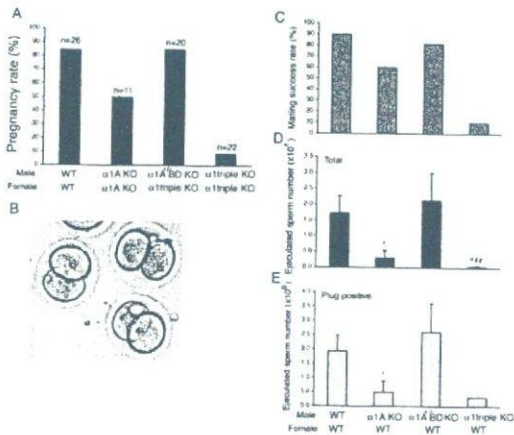


図 28 妊娠成功率及び精子数

精子機能については異常は見られなかった(表

5)。

	Mobile sperm (%)	Progressive sperm (%)	Path velocity (μ m/s)	Straight line velocity (μ m/s)	Curvilinear velocity (μ m/s)	Amplitude of lateral head displacement (μ m)
Wild type	73±8	22±5	121±7	100±5	220±8	14.5±0.6
α 1A-AR KO	78±1	15±2	119±3	92±2	210±5	14.5±0.4
α 1A ^{-/-} -BD-AR KO	82±1	22±2	127±2	106±2	225±2	14.6±0.3
α 1-AR triple KO	80±2	23±3	129±3	103±4	225±5	14.1±0.4

Values are expressed as the mean±SEM (n=6 in each group)

表 5 精子機能

さらに、輸精管の収縮反応について検討を行った。マウスの輸精管を摘出し、ノルエピネフリン、電気刺激、 α β -mATP刺激に対する収縮反応を調べた。その結果、三重欠損マウスでは、輸精管のノルエピネフリンに対する収縮反応は消失し、電気刺激に対する収縮反応は低下、 α β -mATP刺激に対する収縮反応は亢進していることが明らかとなった(図 29)。

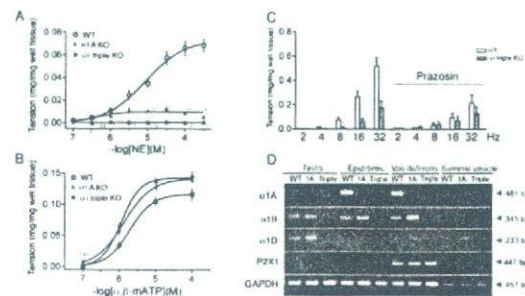


図 29 生殖系における α 1 受容体の解析

また、 α 1 受容体は精巣、精巣上体、輸精管、精囊線の各組織に発現がみられ、 α 1 A 欠損マウスでは α 1 B および α 1 D 受容体の発現が亢進しているのが明らかとなった(図 29)。

D. 考察

α 1 アドレナリン受容体について三重欠損マ

ウス ($\alpha 1$ ABD ノックアウト) を作成し、単独欠損マウス、二重欠損マウスと共に解析した。 $\alpha 1$ アドレナリン受容体拮抗薬は、降圧薬として用いられているが、何れも非選択的拮抗薬で各サブタイプの血管収縮・血圧調節機構における各サブタイプの生理機能は明らかでなかった。そこで作成した $\alpha 1$ アドレナリン受容体変異マウスを用いて血管内皮損傷モデルにおける各サブタイプの機能を解析したところ、動脈の血管損傷後の肥厚には $\alpha 1A$ および $\alpha 1B$ サブタイプが関与していることが明らかとなった。この結果より、 $\alpha 1$ 選択的拮抗薬は、PTCA後の冠動脈内皮の肥厚の予防に効果が期待される。また、 $\alpha 1$ 三重欠損マウスで輸精管の収縮障害によると考えられる射精障害が観察された。

バゾプレッシン受容体変異マウスについて各サブタイプ欠損マウス (V1a, V1b 欠損マウス) および及び V1ab 二重欠損マウスの作成に成功した。V1a バゾプレッシン受容体拮抗薬は、現在欧州にて開発が進められ血管拡張剤や月経困難症の治療薬として、V1b バゾプレッシン受容体拮抗薬は、抗不安薬として開発中であるが、長期投与・大量投与による副作用については明らかになっていない。そこで作成したバゾプレッシン受容体変異マウスについて解析を行った。

バゾプレッシンの心筋増殖に及ぼす効果については、V1a 受容体が関与していることが明らかとなった。このことは、この受容体拮抗薬の開発により、肥大を起こす心疾患の予防薬治療薬として開発されることが期待できる。実際にマウスで大動脈狭窄モデルを作成した

ところノックアウトマウスで心肥大が抑制されたことより V1a 受容体が関与しているものと考えられる。

免疫抑制剤投与における高血圧発症・腎障害の発症は、臨床上大きな問題とされる。この副作用のため、免疫抑制剤の投与の制限を余儀なくされることは、治療上大きな支障となる。そのため、免疫抑制剤 (サイクロスポリン、FK506) による高血圧や腎障害におけるバゾプレッシンの作用についてノックアウトマウスを用いて検討を行ったが、ノックアウトマウスでもコントロールと同様の副作用の出現が見られた。この結果より、免疫抑制剤による高血圧・腎障害の発症にはバゾプレッシン受容体拮抗薬は効果が期待できないものと考えられる。

バゾプレッシンがインスリン分泌に影響を及ぼすことについては、既に昨年度報告しているが、さらに、バゾプレッシンがグルカゴン分泌にも関与していることが明らかとなった。血糖調節においてバゾプレッシンは、V1b 受容体を介してインスリン分泌・グルカゴン分泌調節を行いその他の因子とともに血糖の調節を行っているものと考えられる。

内分泌系に及ぼすバゾプレッシンの影響としては、脳下垂体の ACTH やコルチコステロン以外にアルドステロン等の副腎皮質ホルモンや副腎髄質ホルモン分泌にも関与していることが明らかとなった。

これらの結果は、V1a や V1b バゾプレッシン受容体拮抗薬の薬物効果・副作用として薬物開発において重要な知見になるものと考えられる。以上のように遺伝子改変動物の解析によ

り、新たな受容体の機能・薬物の効果が解明でき、ゲノム創薬への応用につながるものと考えられる。

E. 結論

今回の種々の疾患モデル、病態モデルの作成により、 $\alpha 1$ アドレナリン受容体やバソプレッシン受容体を標的とする薬物効果・副作用が明らかとなり、受容体選択的薬物の臨床応用においてこれらの遺伝子改変動物は非常に有用と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

田上

1) Tanoue A, Ito S, Oshikawa S, Kitagawa Y, Koshimizu T, Mori T, Tsujimoto G. The Vasopressin V1b receptor critically regulates hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity under both stress and resting conditions. *J. Clin Invest.* 2004; **113**: 302-309.

2) Chu CP, Kunitake T, Kato K, Watanabe S, Qiu de L, Tanoue A, Kannan H. The alpha 1D-adrenergic receptor modulates cardiovascular and drinking responses to central salt loading in mice. *Neurosci Lett.* 2004; **356**: 33-36.

3) Egashira N, Tanoue A, Higashihara F, Mishima K, Takano Y, Tsujimoto G, Iwasaki K, Fujiwara M. V1a receptor knockout mice exhibit impairment of spatial memory in an eight-arm radial maze. *Neurosci Lett.* 2004; **356**: 195-198.

4) Oshikawa S, Tanoue A, Koshimizu T, Kitagawa Y, Tsujimoto G. Vasopressin stimulates insulin release from islet cells through V1b receptors: A combined pharmacological/knockout approach. *Mol Pharmacol.* 2004; **65**: 623-629.

5) Mishima K, Tanoue A, Tsuda M, Hasebe N, Egashira N, Takano Y, Kamiya H, Tsujimoto G, Iwasaki K, Fujiwara M. Characteristic of behavioral abnormalities in alpha 1D adrenoceptors deficient mice. *Behav. Brain. Res.* 2004; **152**: 365-373.

6) Zhang H, Thomas SA, Cotecchia S, Tanoue A, Tsujimoto G, Faber JE. Gene deletion of dopamine b-hydroxylase and $\alpha 1$ -adrenoceptors demonstrates involvement of catecholamines in vascular remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; **287**: H2106-H2114.

7) Koshimizu T, Tsujimoto G, Hirasawa A, Kitagawa Y, Tanoue A. Carvedilol Selectively Inhibits Oscillatory Intracellular Calcium Changes Evoked by Human $\alpha 1D$ - and $\alpha 1B$ -Adrenergic Receptors. *Cardiovascular Research* 2004; **63**: 662-72.

8) Deighan C, Naghadeh MM, Daly CJ, Tanoue A, Tsujimoto G and McGrath JC. Subtyping $\alpha 1$ -adrenoceptors: A combined pharmacological/knockout approach in rat and mouse carotid arteries. $\alpha 1$ -Adrenoceptors in rat and mouse carotid artery. *Br. J. Pharmacology.* 2005; **144**: 558-565.

9) Hosoda C, Koshimizu T, Tanoue A, Nasa Y, Oikawa R, Tomabechi T, Fukuda S, Shinoura

- H, Oshikawa S, Takeo S, Kitamura T, Cotecchia S, Tsujimoto G. Two α_1 -adrenergic receptor subtypes regulating the vasopressor response have differential roles in blood pressure regulation. *Mol. Pharmacol.* 2005; 67: 912-922.
- 10) Chen Q, Takahashi S, Zhong S, Hosoda C, Zheng H-Y, Ogushi T, Fujimura T, Ohta N, Tanoue A, Tsujimoto G, Kitamura T. Function of the Lower Urinary Tract in Mice Lacking α_{1D} -Adrenoceptor. *J. Urol.* 2005; 174 (1): 370-374.
- 11) Erami C, Zhang H, Tanoue A, Tsujimoto G, Thomas SA, Faber JE. Adrenergic catecholamine trophic activity contributes to flow-mediated arterial remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;289(2):H744-53.
- 12) Hosoda C, Tanoue A, Shibano M, Tanaka Y, Hiroyama M, Koshimizu T, Cotecchia S, Kitamura T, Tsujimoto G, Koike K. The correlation between each α_1 -adrenoceptor subtype's vasoconstrictor role and these mRNA expression in mouse vessels using genetically engineered mice. *Br. J. Pharmacology.* 2005; 146(3):456-66.
- 13) Lazaro-Suarez ML, Gomez-Zamudio JH, Gallardo-Ortiz IA, Tanoue A, Tsujimoto G, Farias-Rodriguez VM, Villalobos-Molina R. Chloroethylclonidine reveals that alpha-adrenoceptors mediate contraction in aorta of alpha-adrenoceptor knockout mice. *Auton Autacoid Pharmacol.* 2005; 25:179-183.
- 14) Egashira N, Tanoue A, Higashihara F, Fuchigami H, Sano K, Mishima K, Fukue Y, Nagai H, Takano Y, Tsujimoto G, Stemmelin J, Simiand J, Griebel G, Iwasaki K, Ikeda T, Nishimura R, Fujiwara M. Disruption of Prepulse Inhibition of Startle Reflex in V1b Receptor Knockout Mice: Reversal by Atypical Antipsychotic Drugs. *Neuropsychopharmacology.* 2005; 30:1996-2005.
- 15) Zacharia J, Hillier C, Tanoue A, Tsujimoto G, Daly CJ, McGrath JC, Macdonald A. Evidence for involvement of α_{1D} -adrenoceptors in contraction of femoral resistance arteries using knockout mice. *Br J Pharmacol.* 2005; 146: 942-951.
- 16) Koshimizu TA, He ML, Ueno S, Tanoue A, Yanagihara N, Stojilkovic SS, Tsujimoto G. Carboxy-terminal Splicing Enhances Physical Interactions between the Cytoplasmic Tails of Purinergic P2X Receptors. *Mol Pharmacol.* 2006; 69:1588-98.
- 17) Koshimizu TA, Nasa Y, Tanoue A, Oikawa R, Kawahara Y, Kiyono Y, Adachi T, Tanaka T, Kuwaki T, Mori T, Takeo S, Okamura H, Tsujimoto G. V1a vasopressin receptors maintain normal blood pressure by regulating circulating blood volume and baroreflex sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103:7807-12.
- 18) Itoh S, Yamada S, Mori T, Miwa T, Tottori K, Uwahodo Y, Yamamura Y, Fukuda M, Yamamoto K, Tanoue A, Tsujimoto G. Attenuated stress-induced catecholamine release in mice

- lacking the vasopressin V1b receptor. *AM J PHYSIOL-ENDOC M.* 2006; 291:E147-51.
- 19) Miyamoto Y, Yamauchi J, Tanoue A, Wu C, Mobley WC. TrkB binds and tyrosine-phosphorylates Tiam1, leading to activation of Rac1 and induction of changes in cellular morphology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103:10444-9.
- 20) Yamauchi J, Miyamoto Y, Sanbe A, Tanoue A. JNK phosphorylation of paxillin, acting through the Rac1 and Cdc42 signaling cascade, mediates neurite extension in N1E-115 cells. *Exp Cell Res.* 2006; 312:2954-61.
- 21) Tanaka Y, Nakamura K, Matsumoto S, Kimoto Y, Tanoue A, Tsujimoto G, Endo F. Gene expression profiles of homogentisate-treated Fah^{-/-} Hpd^{-/-} mice using DNA microarrays. *Mol Genet Metab.* 2006; 89: 203-209.
- 22) Hiroyama M, Aoyagi T, Fujiwara Y, Birumachi J, Shigematsu Y, Kiwaki K, Tasaki R, Endo F, Tanoue A. Hypermetabolism of fat in V1a vasopressin receptor knockout mice. *Mol Endocrinol.* 2007; 21:247-258.
- 23) Murabe M, Yamauchi Y, Fujiwara F, Hiroyama M, Sanbe A, Tanoue A. A novel embryotoxic estimation method of VPA using ES cells differentiation system. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007; 352:164-169.
- 24) Sanbe A, Yamauchi J, Miyamoto Y, Kitagawa Y, Murabe M, Tanoue A. Interruption of CryAB-amyloid oligomer formation by HSP22. *J Biol Chem.* 2007; 282: 555-563.
- 25) Fujiwara Y, Hiroyama M, Sanbe A, Yamauchi J, Tsujimoto G, Tanoue A. Mutual regulation of vasopressin- and oxytocin-induced glucagon secretion in V1b vasopressin receptor knockout mice. *Journal of Endocrinology.* 2007; 192(2):361-9.
- 26) Miyamoto Y, Yamauchi J, Sanbe A, Tanoue A. Dock6, a Dock-C subfamily guanine-nucleotide exchanger, has dual specificity for Rac1 and Cdc42 and regulates neurite outgrowth. *Exp Cell Res.* 2007; 313:791-804.
- 27) Oikawa R, Nasa Y, Ishii R, Kuwaki T, Tanoue A, Tsujimoto G, Takeo S. Vasopressin V1A receptor enhances baroreflex via the central component of the reflex arc. *European Journal of Pharmacology.* 2007; 558:144-150.
- 28) Hiroyama M, Wang S, Aoyagi T, Oikawa R, Sanbe A, Takeo S, Tanoue A. Vasopressin promotes cardiomyocyte hypertrophy via the vasopressin V1A receptor in neonatal mice. *European Journal of Pharmacology.* 2007; 559:89-97.
- 29) Koshimizu TA, Tanoue A, Tsujimoto G. Clinical implications from studies of alpha1 adrenergic receptor knockout mice. *Biochem Pharmacol.* 2007 in press.
- 30) Faber J, Szymeczek C, Cotecchia S, Thomas S, Tanoue A, Tsujimoto G, Zhang H. Alpha 1-Adrenoceptor-Dependent Vascular Hypertrophy and Remodeling in Murine Hypoxic Pulmonary Hypertension. *AM J PHYSIOL-HEART C.* 2007. In press.
- 31) Egashira N, Tanoue A, Matsuda T, Koushi E, Harada S, Takano Y, Tsujimoto G, Mishima K,

- Iwasaki K, Fujiwara M. Impaired social interaction and reduced anxiety-related behavior in vasopressin V1a receptor knockout mice. *Behav Brain Res*. 2007. In press.
- 32) Aoyagi T, Birumachi J, Hiroshima M, Fujiwara Y, Sanbe A, Yamauchi J, Tanoue A. Alteration of glucose homeostasis in V1a vasopressin receptor-deficient mice. *Endocrinology*. 2007. In press.
- 33) Yamauchi J, Miyamoto Y, Fujiwara Y, Fujita Y, Murabe M, Sanbe A, Tanoue A. Gadd45a, the gene induced by the mood stabilizer valproic acid, regulates neurite outgrowth through JNK and the substrate Paxillin in N1E-115 neuroblastoma cells. *Exp Cell Res*. 2007. In press.
- 34) Birumachi JI, Hiroshima M, Fujiwara Y, Aoyagi T, Sanbe A, Tanoue A. Impaired arginine-vasopressin-induced aldosterone release from adrenal gland cells in mice lacking the vasopressin V_{1A} receptor. *Eur J Pharmacol*. 2007. In press.
- 35) Murabe M, Yamauchi J, Fujiwara Y, Miyamoto Y, Hiroshima M, Sanbe A, Tanoue A. Estimation of the embryotoxic effect of CBZ using an ES cell differentiation system. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; in press.
- 36) Hiroshima H, Aoyagi T, Fujiwara Y, Oshikawa S, Sanbe A, Endo F, Tanoue A. Hyperammonemia in V1a vasopressin receptor knockout mice caused by the promoted proteolysis and reduced intrahepatic blood volume. *Journal of Physiology*. In press.
- 2007.
- 37) Hosoda C, Hiroshima M, Sanbe A, Birumachi J, Kitamura T, Cotecchia S, Simpson PC, Tsujimoto G, Tanoue A. Alpha 1-Adrenoceptor-Dependent Vascular Hypertrophy and Remodeling in Murine Hypoxic Pulmonary Hypertension. *AM J PHYSIOL-HEART C*. 2007. In revision.
- 38) Koshimizu TA, He ML, Ueno S, Tanoue A, Yanagihara N, Stojilkovic SS, Tsujimoto G. Carboxy-terminal Splicing Enhances Physical Interactions between the Cytoplasmic Tails of Purinergic P2X Receptors. *Mol Pharmacol*. 2006; 69:1588-98.
- 39) Koshimizu TA, Nasa Y, Tanoue A, Oikawa R, Kawahara Y, Kiyono Y, Adachi T, Tanaka T, Kuwaki T, Mori T, Takeo S, Okamura H, Tsujimoto G. V1a vasopressin receptors maintain normal blood pressure by regulating circulating blood volume and baroreflex sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103:7807-12.
- 40) Itoh S, Yamada S, Mori T, Miwa T, Tottori K, Uwahodo Y, Yamamura Y, Fukuda M, Yamamoto K, Tanoue A, Tsujimoto G. Attenuated stress-induced catecholamine release in mice lacking the vasopressin V1b receptor. *AM J PHYSIOL-ENDOC M*. 2006; 291:E147-51.
- 41) Miyamoto Y, Yamauchi J, Tanoue A, Wu C, Mobley WC. TrkB binds and tyrosine-phosphorylates Tiam1, leading to activation of Rac1 and induction of changes in cellular morphology. *Proc Natl Acad Sci U*

- S A. 2006; 103:10444-9.
- 42) Yamauchi J, Miyamoto Y, Sanbe A, Tanoue A. JNK phosphorylation of paxillin, acting through the Rac1 and Cdc42 signaling cascade, mediates neurite extension in N1E-115 cells. *Exp Cell Res*. 2006; 312:2954-61.
- 43) Tanaka Y, Nakamura K, Matsumoto S, Kimoto Y, Tanoue A, Tsujimoto G, Endo F. Gene expression profiles of homogentisate-treated Fah^{-/-} Hpd^{-/-} mice using DNA microarrays. *Mol Genet Metab*. 2006; 89: 203-209.
- 44) Hiroshima M, Aoyagi T, Fujiwara Y, Birumachi J, Shigematsu Y, Kiwaki K, Tasaki R, Endo F, Tanoue A. Hypermetabolism of fat in V1a vasopressin receptor knockout mice. *Mol Endocrinol*. 2007; 21:247-258.
- 45) Murabe M, Yamauchi Y, Fujiwara F, Hiroshima M, Sanbe A, Tanoue A. A novel embryotoxic estimation method of VPA using ES cells differentiation system. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 352:164-169.
- 46) Sanbe A, Yamauchi J, Miyamoto Y, Kitagawa Y, Murabe M, Tanoue A. Interruption of CryAB-amyloid oligomer formation by HSP22. *J Biol Chem*. 2007; 282: 555-563.
- 47) Fujiwara Y, Hiroshima M, Sanbe A, Yamauchi J, Tsujimoto G, Tanoue A. Mutual regulation of vasopressin- and oxytocin-induced glucagon secretion in V1b vasopressin receptor knockout mice. *Journal of Endocrinology*. 2007; 192(2):361-9.
- 48) Miyamoto Y, Yamauchi J, Sanbe A, Tanoue A. Dock6, a Dock-C subfamily guanine-nucleotide exchanger, has dual specificity for Rac1 and Cdc42 and regulates neurite outgrowth. *Exp Cell Res*. 2007. In press.
- 49) Koshimizu TA, Tanoue A, Tsujimoto G. Clinical implications from studies of alpha adrenergic receptor knockout mice. *Biochem Pharmacol*. 2007 in press.
- 50) Oikawa R, Nasa Y, Ishii R, Kuwaki T, Tanoue A, Tsujimoto G, Takeo S. Vasopressin V1A receptor enhances baroreflex via the central component of the reflex arc. *European Journal of Pharmacology*. 2007. In press.
- 51) Hiroshima M, Wang S, Aoyagi T, Oikawa R, Sanbe A, Takeo S, Tanoue A. Vasopressin promotes cardiomyocyte hypertrophy via the vasopressin V1A receptor in neonatal mice. *European Journal of Pharmacology*. 2007. In press.
- 52) Faber J, Szymeczek C, Cotecchia S, Thomas S, Tanoue A, Tsujimoto G, Zhang H. Alpha 1-Adrenoceptor-Dependent Vascular Hypertrophy and Remodeling in Murine Hypoxic Pulmonary Hypertension. *AM J PHYSIOL-HEART C*. 2007. In press.
- 53) Egashira N, Tanoue A, Matsuda T, Koushi E, Harada S, Takano Y, Tsujimoto G, Mishima K, Iwasaki K, Fujiwara M. Impaired social interaction and reduced anxiety-related behavior in vasopressin V1a receptor knockout mice. *Behav Brain Res*. 2007. In press.
- 54) Aoyagi T, Birumachi J, Hiroshima M, Fujiwara Y, Sanbe A, Yamauchi J, Tanoue A. Alteration of glucose homeostasis in V1a

vasopressin receptor-deficient mice. *Endocrinology*. 2007. In press.

55)Yamauchi J, Miyamoto Y, Fujiwara Y, Fujita Y, Murabe M, Sanbe A, Tanoue A. Gadd45a, the gene induced by the mood stabilizer valproic acid, regulates neurite outgrowth through JNK and the substrate Paxillin in N1E-115 neuroblastoma cells. *Exp Cell Res*. 2007. In press.

奥水

1)Adachi T, Tanaka T, Takemoto K, Koshimizu T, Hirasawa A and Tsujimoto G (2006) Free fatty acids administered into the colon promote the secretion of glucagon-like peptide-1 and insulin. *Biochem Biophys Res Commun* 340:332-7.

2)Koshimizu T, Kretschmannova K, He ML, Ueno S, Tanoue A, Yanagihara N, Stojilkovic SS and Tsujimoto G (2006) Carboxy-terminal Splicing Enhances Physical Interactions between the Cytoplasmic Tails of Purinergic P2X Receptors. *Mol Pharmacol* in press.

3)Yamada M, Katsuma S, Adachi T, Hirasawa A, Shiojima S, Kadowaki T, Okuno Y, Koshimizu T, Fujii S, Sekiya Y, Miyamoto Y, Tamura M, Yumura W, Nihei H, Kobayashi M and Tsujimoto G (2005) Inhibition of protein kinase CK2 prevents the progression of glomerulonephritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:7736-41.

4)Myoumoto, A, Nakatani, K, Koshimizu, T, Matsubara, H, Adachi, S, and Tsujimoto, G. Glucocorticoid-induced granzyme A expression can be used as a marker of glucocorticoid sensitivity for acute lymphoblastic leukemia

therapy. *J Hum Genet*, 2007. accepted.

5)Koshimizu, T and Tsujimoto, G. Functional Role of Spliced Cytoplasmic Tails in P2X(2)-Receptor-Mediated Cellular Signaling. *J Pharmacol Sci*, 2006. 101(4): p. 261-6.

6)Koshimizu, T, Tanoue, A, and Tsujimoto, G. Clinical implications from studies of alpha1 adrenergic receptor knockout mice. *Biochem Pharmacol*, 2006.

7)Koshimizu, T, Nasa, Y, Tanoue, A, Oikawa, R, Kawahara, Y, Kiyono, Y, Adachi, T, Tanaka, T, Kuwaki, T, Mori, T, Takeo, S, Okamura, H, and Tsujimoto, G. V1a vasopressin receptors maintain normal blood pressure by regulating circulating blood volume and baroreflex sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. 103(20): p. 7807-12.

8)Koshimizu, T, Kretschmannova, K, He, ML, Ueno, S, Tanoue, A, Yanagihara, N, Stojilkovic, SS, and Tsujimoto, G. Carboxyl-terminal splicing enhances physical interactions between the cytoplasmic tails of purinergic P2X receptors. *Mol Pharmacol*, 2006. 69(5): p. 1588-98.

9)Adachi, T, Tanaka, T, Takemoto, K, Koshimizu, T, Hirasawa, A, and Tsujimoto, G. Free fatty acids administered into the colon promote the secretion of glucagon-like peptide-1 and insulin. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006. 340(1): p. 332-7.

北村

Chen Q, Takahashi S, Zhong S, Hosoda C, Zheng H-Y, Ogushi T, Fujimura T, Ohta N, Tanoue A, Tsujimoto G, Kitamura T. Function o

f the Lower Urinary Tract in Mice Lacking α_{1d} -Adrenoceptor. *J. Urol.* 2005 (in press).

高野

1) A. Tanoue, S. Ito, K. Honda, S. Oshikawa, Y. Kitagawa., T. Koshimizu, T. Mori, G. Tsujimoto. The vasopressin V1b receptor critically regulates hypothamic-pituitary-adrenal axis activity under both stress and resting conditions. *J. Clin. Invest.* 113, 302-309 (2004).

2) N. Egashira, A. Tanoue, F. Higashihara, K. Mishima, Y. Fukue, Y. Takano, G. Tsujimoto, K. Iwasaki, M. Fujiwara. V1a receptor knockout mice exhibit impairment of spatial memory in an eight-arm radial maze. *Neurosci Lett* 356: 195-198 (2004).

3) K. Mishima, A. Tanoue, M. Tsuda, N. Hasebe, Y. Fukue, N. Egashira, Y. Takano, H. Kamiya, G. Tsujimoto, K. Iwasaki, M. Fujiwara. Characteristics of behavioral abnormalities in α_{1d} -adrenoceptors deficient mice.

Behav Brain Res 152. 365-373 (2004).

4) K. Honda, S. Ando, K. Koga, Y. Takano The spinal muscarinic receptor subtypes contribute to the morphine-induced antinociceptive effects in thermal stimulation in mice. *Neurosci Lett* 371: 235-238 (2004).

5) K. Koga, K. Honda, S. Ando, I. Harasawa, H. Kamiya, Y. Takano. Intrathecal clonidine inhibits mechanical allodynia via activation

of the spinal muscarinic M1 receptor in streptozotocin-induced diabetic mice. *Eur. J. Pharmacol.* 505: 75-82 (2004).

藤原

(1) Kenichi Mishima, Akito Tanoue, Masakazu Tsuda, Nobuyoshi Hasebe, Yoshihiko Fukue, Nobuaki Egashira, Yukio Takano, Hiro-o Kamiya, Gozoh Tsujimoto, Katsunori Iwasaki, Michihiro Fujiwara. Characteristics of behavioral abnormalities in α_{1d} -adrenoceptors deficient mice.

Behav. Brain Res. 第152巻 頁365-373 2004年6月

(2) Nobuaki Egashira, Akito Tanoue, Fumiori Higashihara, Kenichi Mishima, Yoshihiko Fukue, Yukio Takano, Gozoh Tsujimoto, Katsunori Iwasaki, Michihiro Fujiwara. V1a receptor knockout mice exhibit impairment of spatial memory in an eight-arm radial maze.

Neurosci Lett 第356巻 頁195-198 2004年2月

2. 学会発表

1) 国際学会

Sanbe A, Murabe M, Miyamoto Y, Yamauchi J, Tanoue A. Effect of small heat shock proteins on cardiotoxicity induced by CryAB R120G. The 13th Annual Weinstein Cardiovascular Development Conference, May 11-13, St. Petersburg, Florida, (U.S.A.), 2006.

Sanbe A, Miyamoto Y, Yamauchi J, Tanoue A.

Protective effects of HSP22 on CryAB R120G cardiotoxicity 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18-23, Kyoto (Japan), 2006.

Aoyagi T, Birumachi J, Hiroyama M, Fujiwara Y, Tanoue A. Study for mechanisms of central feeding regulation mediated by Vasopressin receptor type V1a. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18-23, Kyoto (Japan), 2006.

Miyamoto Y, Yamauchi J, Wu C, Sanbe A, Mobley W.C., Tanoue A, TrkB binds and tyrosine-phosphorylates Tiam1 leading to activation of Rac1 and induction of lamellipodia formation. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18-23, Kyoto (Japan), 2006.

Koshimizu T, Kretschmannova K, He M-L, Ueno S, Tanoue A, Yanagihara N, Stojilkovic S.S., Tsujimoto G. Carboxy-terminal splicing enhances physical interactions between the cytoplasmic tails of purinergic P2X receptors. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18-23, Kyoto (Japan), 2006.

Fujiwara Y, Hiroyama M, Birumachi J, Aoyagi T, Tanoue A. Mutual regulation of vasopressin- and oxytocin-induced glucagon secretion in V1b vasopressin receptor knockout

mice. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18-23, Kyoto (Japan), 2006.

Murabe M, Tanoue A. Analysis of embryotoxicity induced by antiepileptic drugs (AEDs) using mouse embryonic stem cells differentiation systems. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18-23, Kyoto (Japan), 2006.

Hiroyama M, Tanoue A. Hypermetabolism of fat in V1a vasopressin receptor knockout mice. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18-23, Kyoto (Japan), 2006.

Birumachi J, Tanoue A. Analysis for functional roles of vasopressin receptors in growth hormone and aldosterone release. The Endocrine Society's 88th Annual Meeting, June 24, Boston U.S.A. 2006.

Murabe M, Fujiwara Y, Yamauchi J, Sanbe A, Tanoue A. Analysis of embryotoxicity induced by antiepileptic drugs (AEDs) using mouse embryonic stem cells differentiation systems. EuroStemCell International Conference Advances in Stem Cell Research, September 8-10, Lausanne (Switzerland), 2006.

Yamauchi J, Miyamoto Y, Tanoue A, Sanbe A, Shooter E.M., Chan J.R. Ras activation of Rac1 exchange factor Tiam1 mediates neurotrophin-3-induced Schwann cell migration.

Society for Neuroscience 36th Annual Meeting. October 14-18, Atlanta, Georgia. (U.S.A.), 2006.

Miyamoto Y, Yamauchi J, Tanoue A, Sanbe A, Wu C, Mobley W.C. TrkB binds and tyrosine-phosphorylates Tiam1 leading to activation of Rac1 and induction of changes in cellular morphology. Society for Neuroscience 36th Annual Meeting. October 14-18, Atlanta, Georgia. (U.S.A.), 2006.

2) 国内学会

山内淳司、宮本幸、田上昭人 末梢神経脱ミエリン病の新規の標的と治療 第79回日本薬理学会年会、3月8日-10日、2006、横浜

三部篤、Jeffrey Robbins、田上昭人 CryAB R120G 心筋症の病態可逆性 第79回日本薬理学会年会、3月8日-10日、2006、横浜

美留町潤一、田上昭人 成長ホルモン分泌に及ぼすバソプレッシン受容体機能の解析 第79回日本薬理学会年会、3月8日-10日、2006、横浜
美留町潤一、藤原葉子、田上昭人 成長ホルモン分泌に及ぼすバソプレッシン受容体機能の解析 第141回日本獣医学会学術集会、3月19日-21日、2006、つくば

山内淳司、宮本幸、三部篤、Jonah R. Chan, Eric M. Shooter、田上昭人 The NT3 receptor TrkC directly phosphorylates and activates the nucleotide exchange factor Dbs to enhance Schwann cell migration. 第29回日本神経科学学会大会、7月19日-21日、2006、京都

青柳利紀、美留町潤一、廣山眞巳、藤原葉子、山内淳司、三部篤、田上昭人 Study for mechan-

isms of glucose homeostasis mediated by Vasopressin receptor type V1a. アディスポサイエンス研究会、8月19日、2006、大阪

山内淳司、宮本幸、藤原葉子、三部篤、村部麻由、田上昭人 バロプロ酸による新規誘導遺伝子 Gadd45aによる神経分化作用の解析 第33回日本小児臨床薬理学会、11月30日-12月1日、2006、東京

村部麻由、山内淳司、藤原葉子、三部篤、田上昭人 マウス胚性幹細胞分化誘導系を用いたバルプロ酸による発生毒性解析 第33回日本小児臨床薬理学会、11月30日-12月1日、2006、東京
藤原葉子、三部篤、田中芳夫、小池勝夫、辻本豪三、田上昭人 $\alpha 1$ アドレナリン受容体欠損 ($\alpha 1$ ARトリプルKO) マウスの薬物反応性 第16回日本循環薬理学会、12月1日、2006、東京

田上昭人 遺伝子改変動物を用いた循環調節の解明第30回心臓薬理研究会 7月7日 2006年 名古屋

藤原葉子、三部篤、田中芳夫、山内淳司、小池勝夫、辻本豪三、田上昭人 アルファー1A-、1B- および 1D- アドレナリン受容体トリプルノックアウトマウスの血管収縮反応 第80回日本薬理学会年会、3月14日-16日、2007、名古屋

青柳利紀、田上昭人 Alteration of glucose homeostasis in V1a vasopressin receptor-deficient mice. 第80回日本薬理学会年会、3月14日-16日、2007、名古屋

宮本幸、山内淳司、三部篤、田上昭人 TrkB binds and tyrosine-phosphorylates Tiam1 leading to activation induction of neurite outgrowth. 第80回日本薬理学会年会、3月14日-16日、2007、名古屋

三部篤、田中芳夫、藤原葉子、山内淳司、小池勝夫、辻本豪三、田上昭人 Alteration of male sexual function in alpha1A-, 1B- and 1D-adrenergic receptor triple knockout mouse.

第80回日本薬理学会年会、3月14日～16日、2007、名古屋

廣山眞巳、青柳利紀、藤原葉子、美留町潤一、Yosuke Shigematsu, Kohji Kiwaki, Ryuji Tasaki, 遠藤文夫、田上昭人 Hypermetabolism of fat in V1a vasopressin receptor knockout

mice. 第80回日本薬理学会年会、3月14日～16日、2007、名古屋

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし