遺伝子導入マウスと遺伝子欠損マウスが創られるまで

村上 和雄

筑波大学応用生物化学系

一般に研究の成果そのものより、その成果が生まれるプロセスのほうが興味深く、他の分野の研究者にとっても参考になる場合が多い。そのプロセスの中で、暗中模索、悪戦苦闘を繰り返し、時には不思議な出会いに導かれ、研究が進展することがしばしばある。ここでは、つくば高血圧マウスとつくば低血圧マウスという新しいマウスが、多くの研究者の協力により、試行錯誤を繰り返しながら創作されたプロセスについて紹介する。

最新の統計によると、高血圧症と見なされている人は、国内だけで2千万人を超える。さらに21世紀には、すべての国で、高血圧症などを危険因子とする循環器疾患が最大の死因になると、世界保健機構は推定している。長年にわたり、この高血圧症の発症・継続に関して、膨大な研究が積み重ねられてきた。その病因は、遺伝的背景と環境因子（食塩の過剰摂取やストレスなど）の複雑な相互作用の結果であると見なされているが、その詳細な

機構はほとんど不明である。

図1 ■ レニン・アンギオテンシン系の概略図

腎臓で産生されたレニンは、血中でその基質であるアンギオテンシノーゲンと出会い、デカペプチドのアンギオテンシン I (A I) をつくる。A I には生理作用がないが、変換酵素の作用によって A I から生じたアンギオテンシン II (A II) は、現在知られている最も強力な昇圧物質である。A II 受容体には1型と2型があり、1型には1a型と1b型がある。A II 受容体のサブタイプを使い分けることにより、A II は多彩な生理作用を営むものと推定されている。

図 2 ■ 高血圧マウスとつくば低血圧マウスの創作までのプロセス

この病因を明らかにするため、筆者らは、昇圧酵素であるヒト・レニンとヒト・レニン基質（アンギオテンシノーゲン）の遺伝子を持ち、高血圧症状を呈する遺伝子導入マウス（つくば高血圧マウス）を 1993 年に創作した。また、レニン基質遺伝子を欠損させた低血圧マウス（つくば低血圧マウス）も 1994 年に創作した。図 1 に示すレニン・アンギオテンシン系は、全高血圧症の 2/3 以上の発症・継続に関与していることが、最近の研究でわかってきている。本稿では、図 2 に示したように、2 種類のマウスが、分子や細胞レベルの研究を経て、どのようにして創作されたかを解説する。

不思議な縁

筆者は、1969 年から 1976 年まで、アメリカ・テネシー州のバンダービルト大学の稲上 正教授のもとで研究に従事した。この大学で、偶然の機会から、S. Cohen 教授らとともにマウス顎下腺のレニンの単離をすることができたので、この成功をバネにして、1972 年頃からレニン研究の中心である腎レニンの単離に全力をあげた。しかし、この研究は、多くの先人の失敗が示す通りそう簡単ではなく、筆者も悪戦苦闘してほぼ諦めかけていた。

ちょうどその頃、幸いにもタンパク質や酵素の単離法として、新しい方法が登場しつつあった。その原理は簡単で、筆者は“おとり”作戦と名づけていた。単離しようとするタンパク質（この場合レニン）と特別に親和性のあるリガンドと呼ばれる“おとり物質”を探してきて、このリガンドを不活性な担体に結合させ、この担体を詰めた容器（アフィニティー・カラム）を作ろうとした。

しかし、当時この方法はまだ新しく、筆者はくる日もくる日もリガンドを探し、その効果のテストに明け暮れていた。そして約半年後、一つの新しいリガンドに出会った。このリガンドは、梅沢浜夫博士や青柳高明博士らによって、微生物から発見・単離され、構造も決定していた酸性プロテアーゼの阻害剤の 1 つでペプスタチンと

呼ばれるペプチドであった。このペプスタチンをリガンドとするアフィニティー・カラムと、従来の酵素の単離法とを組み合わせ、腎臓からレニンを初めて純粋な形で取り出すことができた。この時、レニンが発見されてから 70 年あまりが経っていた。筆者は、約 20 年前、アメリカの稲上研究室で、レニンの最終標品が純粋であることの証明を手にした時の感激を、今でも鮮明に記憶している。

この研究は、Cohen 教授（1986 年ノーベル医学生理学賞受賞）との出会いや、日本で発見されたペプスタチンという新物質がなければ完成されていなかったと思う。一つの研究が、自分の才能や努力だけでなく、多くの人々によって支えられ、また不思議な出会いによって進展する一例である。この研究が突破口になり、レニンの生化学的な研究は、急激な展開を見せるようになる。その一つとして、当時稲上研究室に留学中の的場輝佳博士（現奈良女子大学）、横沢英良博士（現北海道大学薬学部）らとともに、筆者はラットやヒトの腎臓からレニンを単離した^(1,2)。

高血圧ラットとともにハイデルベルグへ

帰国後しばらくして、故岡本耕造博士を訪問し、有名な高血圧自然発症ラット（SHR）や脳卒中易発症ラット（SHRSP）を分与していただき、これらのラットのレニンの血中動態の研究を行なった。また、当時 SHRSP の脳卒中の発症率が日本とドイツで異なることから、岡本先生の依頼により、SHRSP を飛行機のシートの下に置き、ラットのご機嫌を伺いながら、ハイデルベルグの Ganten 教授に届けに行ったこともあった。

この SHR や SHRSP が創作されたお陰で、高血圧症や、それに伴う脳卒中の研究は素晴らしい成果をあげた。しかし、これらのラットは自然交配を重ねて創作されたもので、高血圧の発症・継続のメカニズムと遺伝子の関係は、創作以来 30 年を経過した現在でも不明である。こ

の SHR と SHRSP の研究にたずさわった経験が、後で述べるつくば高血圧マウスの創作の背景になった。

一方、レニンの研究は、腎臓だけでなく他の器官へと発展しつつあった。

ウシ 3 万 5 千頭作戦

1981 年、稲上研究室に留学していた広瀬茂久博士(現東京工業大学生命理工学部)らは、脳の下垂体などにもレニンが存在する決定的な証拠をつかんだ。幸いにも、広瀬博士が筑波大学の筆者らのグループに加わったのを機会に、ウシ脳下垂体からのレニンの単離に挑戦した。この研究で一番苦労したのは、できるだけ多くの脳下垂体を集めることであった。

東京の食肉センターから運んできた脳下垂体の殻を一つずつ取り除き、前葉と後葉に分ける作業を、ほとんど毎日朝早くから広瀬博士を中心に研究室総出で行なった。約 7 カ月後、3 万 5 千頭のウシ脳下垂体前葉(粉末で約 50 kg)から、レニンの単離を行なった。方法は、以前、腎臓から単離した方法と基本的には同じであるが、材料が限られていたため、幾度も予備実験を繰り返し、最適条件を決めた後、一気に純化を行なった。約 200 万倍と、当時としては記録的な精製倍率であったが、単離できた量は、わずかに 0.5 mg であった^(1,2)。この研究により、脳にもレニンが存在することが証明でき、脳下垂体のレニンと腎レニンとでは糖鎖が異なっていることを見いだした。これらの研究は、単調で根気のいる仕事であった。

このようにしてレニンは単離され、その性質の一部が明らかになった。しかし、純化された量はいずれもごくわずかであり、この量では、レニンの基本構造(アミノ酸配列)を明らかにすることは不可能であった。ここで、筆者らの研究は大きな壁にぶつかった。しかし、今から考えると、この実験の難しさが我々には幸いした。このレニンの単離の困難さが、遺伝子工学の早期導入を促すことになったのである。

遺伝子工学の導入

1970 年代の後半にかけて登場した遺伝子工学は多くの人々の注目を集めつつあった。しかし当時は、今と違って遺伝子工学は技術的にも、いろいろな困難を抱えていた。その中で、筆者らは次のような 3 つの目標を立てた。

- ① レニン遺伝子の暗号の解読とレニンの基本構造の解明

- ② 組換え型ヒト・レニンの大量生産

- ③ レニン遺伝子の調節機構の解明

最初の目標は、レニンの cDNA と核内遺伝子のクローニングであった。特にヒト・レニンは、その基質に対する酵素化学的性質や免疫化学的性質が、他の動物のレニンとは異なっていることから、cDNA と核内遺伝子構造解析は重要な意味があった。また、臨床的研究を行なうためには、どうしてもヒト・レニンが必要であった。しかし、最初からヒト・レニンでの cDNA のクローニングには、いろいろな理由で手が出なかった。

当時、マウス顎下腺レニンはレニンとしての生理的意味はまったく不明であったが、大量に得られるため、よく研究されていた。その cDNA のクローニングは、筆者らを含む世界各地の 5 つのグループによりほぼ同時に始められていたが、まず 1982 年にパスツール研究所のグループが完全な cDNA を得て、全塩基配列とそれより推定した全アミノ酸配列を発表した。また、その発表と同時に、稲上グループが大量のマウス顎下腺レニンを調製し、タンパク質の側から全アミノ酸配列を決定した。当時、筆者らもすでに約 700 塩基対からなるマウス顎下腺レニン cDNA を得ており、これが、ラット、ウシ、ヒトの核内遺伝子と相補的に結合することを見いだしていたが、この cDNA は、残念ながら完全長のもではなかった。緒戦で、筆者らはパスツール研究所に完敗したのである。しかし本命は、生理作用が明確な腎レニン、特にヒト・レニンの cDNA のクローニングであった。そこで、このマウス顎下腺レニン cDNA をプローブとして、ヒト・レニン cDNA のクローニングにとりかかった。

ヒト・レニン cDNA のクローニング

ヒト・レニン cDNA のクローニングは、マウス顎下腺レニンの場合に比べ、格段に困難なものであった。理由は、正常なヒト腎臓のレニンやその mRNA 含量は、マウス顎下腺レニンの場合の約 1/100 以下、全 mRNA のおよそ 0.01~0.001 % 程度と推定されたからである。目的物の mRNA の含量が低いほどクローニングは困難で、この数字は当時の技術で cDNA クローニングが可能か否かの限界であった。しかし、幸い正常の約 10 倍ものレニン mRNA を含む試料を入手することができた。ここから mRNA を抽出し、cDNA ライブラリーを作製した。

cDNA の合成には、1982 年に発表された Okayama-Berg 法を用い、京都大学医学部の中西重忠教授のグループの協力もあり、cDNA の全塩基配列と全アミノ酸配列を決定することができた。続いて、ヒト・レニンとヒト・

レニン基質の核内遺伝子のエキソン・イントロン構造を、その発現調節部位を含めて明らかにした^(1,2)。

個体レベルの研究

これまで述べてきた分子や細胞の *in vitro* レベルでの研究は、新技術の導入により目覚ましい進歩を遂げてきた。しかし、血圧が遺伝子によってどのように調節されているかについては、分子や細胞レベルの研究は直接には何も答えてくれない。しかし幸いにも、このような限界を突破する発生工学という新しい技術が登場しつつあった。筆者は、実験動物中央研究所の野村達次所長を訪ね、筆者らの実験計画を説明して、協力をお願いした。野村所長は快く協力を約束して下さい、当時、この研究所で活躍中の勝木元也博士らとともに実験がスタートした。以下、この技術について簡単に解説しよう。

1. 遺伝子導入 (トランスジェニック) マウスの作製 (図 3)

自然交配または過排卵処理によって得たマウス受精卵の胚前核に、目的とする DNA 断片を顕微鏡下で注入する。これを偽妊娠代理マウスの卵管に移植し、個体まで発生させ、得られた仔マウスの尻尾から DNA を抽出し、目的遺伝子の導入を確認する。このマウスを用いて、導入遺伝子の発現機構や遺伝子産物の機能を個体レベルで解析できる。

2. 遺伝子欠損 (ノックアウト) マウスの作製 (図 4)

すべての細胞に分化することが可能なマウス胚性幹細胞 (embryonic stem cell; ES 細胞) は、*in vitro* 継代培養が可能である。そこでまず、相同組換えにより ES 細胞レベルで目的の遺伝子に変異を導入する。変異が導入された ES 細胞をスクリーニングし、この細胞を 8 細胞期の宿主胚に注入し、偽妊娠動物の子宮に移植し個体まで発生させると、体の各組織が ES 細胞および宿主細胞由来の細胞からなるキメラマウスが得られる。これらのキメラマウスの中で、ES 細胞が生殖細胞へと分化した個体を野生型マウスと交配させることにより、全体の細胞で目的の遺伝子に変異が起こっている個体を作製できる。

ヒト・レニン遺伝子導入マウス

筆者らの最初の試みは、ヒト・レニン遺伝子のマウスへの導入である。遺伝子本来の機能をトランスジェニック

図 3 ■ トランスジェニックマウスの作製法

図 4 ■ 遺伝子欠損マウス (ノックアウトマウス) の作製法

ク個体においても正確に働かせるため、まず培養細胞を用い、ヒト・レニン遺伝子の発現調節に関与するプロモーター領域を同定した。この結果に基づき、3 kb の 5' 上流をプロモーター領域とした全長 15 kb のヒト・レニン遺伝子断片を調製し、この DNA を C57BL/6J 系統マウスの受精卵に導入した。これらヒト・レニン遺伝子を有するマウスは、メンデルの法則に従い次世代へ安定に伝達された。また、マウス腎臓においては、ヒト・レニン遺伝子が発現し、ヒト・レニンが産生されていることが確認された。しかも、ヒト・レニンは予想通り、マウス腎臓の傍糸球体細胞のみに産生していた。ヒト・レニン遺伝子導入マウスの腎臓におけるヒト・レニン量は、ヒトの腎臓におけるそれと比較し 7.5 倍に増加していたが、これらマウスの血圧は野生型マウスの血圧と同様であった。

ヒト・アンギオテンシノーゲン遺伝子導入マウス

筆者らの次の試みは、ヒト・アンギオテンシノーゲン遺伝子のマウスへの導入である。そこで、ヒト・アンギオテンシノーゲン遺伝子のプロモーター部位を細胞レベルで同定した。その結果に基づき、1.3 kb の 5' 上流領域をプロモーター領域とした全長 14 kb のヒト・アンギオテンシノーゲン遺伝子断片を C57BL/a6J 系統マウスの受精卵へ導入し、ヒト・アンギオテンシノーゲン遺伝子を有するマウスを作製した。このマウスでも、次世代に安定に外来遺伝子が伝達され、100 コピー前後の外来遺伝子が染色体の 1 個所に挿入されていた。このマウスの肝臓において、ヒト・アンギオテンシノーゲンが強く発現されていた。しかし、ヒト・レニン遺伝子導入マウスと同様に、このマウスにおいても、血圧は野生型マウスと同じであった。

つくば高血圧マウス^(3,4)

上記 2 種類のトランスジェニックマウスでは、内在性のレニン・アンギオテンシン (RA) 系構成タンパク質が存在するにもかかわらず、外来性のヒト RA 系の 1 つの遺伝子の導入のみでは血圧が上昇しなかった。これは、酵素レニンと基質アンギオテンシノーゲンの反応性に、驚くべき厳密な種特異性が存在するためと考えられた。

そこで筆者らは、次の試みとして、ヒト・レニン遺伝子導入マウスとヒト・アンギオテンシノーゲン遺伝子導入マウスとの交配により、両外来遺伝子を保有するトランスジェニックマウスの作出を行なった。その結果、両

表 1 ■ 各種マウスの血圧

	収縮期血圧 (mmHg)
つくば高血圧マウス	129.1±7.1
正常マウス	100.4±4.4
つくば低血圧マウス	66.9±4.1

遺伝子をもつトランスジェニックマウスは、通常の繁殖方式にて得られ、このマウスの血漿中にヒト・レニンおよびヒト・アンギオテンシノーゲンが存在することが明らかとなった。さらに、ヒト・レニンとヒト・アンギオテンシノーゲン間の反応がマウス個体の血中で起こっていることは、野生型マウスと比較し、両遺伝子保有マウスでは血漿アンギオテンシン I (A I) 量が 3~4 倍上昇していることから、実証された。

また、両遺伝子保有マウスにおける A I の上昇は、同様にアンギオテンシン II (A II) の上昇を導き、RA 系の最終活性ペプチド (A II) が循環中に過剰に生成されていることが明らかとなった (図 1)。そこで、血圧を非観血的に測定した結果、野生型マウス、ヒト・レニン遺伝子導入マウス、およびヒト・アンギオテンシノーゲン遺伝子導入マウスでは、収縮期血圧は、いずれのマウスにおいても平均 100 mmHg と差がみられないのに対し、両遺伝子を保有するトランスジェニックマウスでは、平均 130 mmHg と有意に血圧の上昇が起こっていることが明らかとなり、このマウスを“つくば高血圧マウス”と命名した (表 1)。

つくば高血圧マウスの血圧は、ヒト・レニンを特異的に抑制する薬剤の投与により顕著に低下したが、野生型マウスや、ヒトの 1 つの遺伝子のみを導入したマウスにおいては血圧の低下は認められなかった。これらの結果より、つくば高血圧マウスにおいては、ヒト・レニンとヒト・アンギオテンシノーゲンの特異的反応により産生した過剰な A I が、内在性のマウス・アンギオテンシノーゲン変換酵素により A II に変換され、高血圧をひき起こしていることが明らかとなった。

つくば低血圧マウス⁽⁵⁾

ES 細胞を用いた相同組換え法の可能性が Capecchi により考案され、遺伝子ターゲティングの技術により、ノックアウトマウスが誕生したのは、まだ数年前 (1989 年) のことである。筆者らはまず、RA 系唯一の基質であるアンギオテンシノーゲンの破壊を、この細胞を用いて行なった。その結果、野生型マウスおよびヘテロ変異型マウス (アンギオテンシノーゲンの 2 つの遺伝子の内 1 つの遺伝子が欠損したマウス、図 4) においては、アンギ

オテンシノーゲン遺伝子発現が検出されたが、ホモ変異型マウス（アンギオテンシノーゲンの2つの遺伝子とも欠損したマウス）においては、同遺伝子の発現は検出されなかった。このことにより、個体レベルにおいて、アンギオテンシノーゲン遺伝子の半分または完全な欠損に成功したことが示された。さらに、これらマウス血漿中のアンギオテンシノーゲンおよびA Iの産生は、ホモ変異マウスにおいては検出限界以下であり、本動物がアンギオテンシノーゲン欠損マウスであり、RA系が機能しないマウスであることが明らかとなった。そこで、このマウスの血圧を非観血式に測定したところ、野生型マウスとヘテロ変異型マウスとの間には血圧に有意な差が観察されなかった。これに対し、ホモ変異型マウスでは血圧が、野生型マウスに比べて収縮期血圧で34 mmHgも低く、このマウスを“つくば低血圧マウス”（表1）と命名した。これらのことから、血圧維持においてRA系を代償する昇圧系は存在せず、正常血圧制御においてもRA系が重要な役割を演じていることが明確に示された。

■ アンギオテンシン II 受容体遺伝子欠損マウス

アンギオテンシンII (A II) 受容体の精製およびその遺伝子のクローニングは、高血圧研究者の長年の夢であったが、20年以上にわたる多くの研究グループの試みにもかかわらず、不可能であった。しかし、1991年から1993年にかけて、以下に述べるように1型(AT1)と2型(AT2)の2つのA II受容体遺伝子(図1)のクローニングやその細胞生化学的研究において、稲上らは目覚ましい成果をあげた。

まず、動物培養細胞を用いた発現クローニングの方法により、受容体を精製することなく1a型受容体遺伝子のcDNAのクローニングに成功し、その全塩基配列と全アミノ酸配列が明らかにされた。

次いで1992年に、内分泌腺に特異的なA II受容体(1b型)をクローニングし、これが、副腎、脳下垂体などの組織で特異的に発現していることを見いだした。この結果、A IIが単に循環器系のみならず、脳、神経内分泌系に関連している機構が明らかになった。

さらに1993年になって、新しいA II受容体遺伝子(2型)のクローニングに成功した。この受容体は、脳、胎児、心臓、腎臓、副腎などに発現しているが、生理的意義に関しては定説がなかった。稲上らは、この2型受容体が、1型受容体とは反対に細胞増殖を阻害する作用をもつことを見いだした。

■ ブレーキとアクセル

これまで述べたように、A II受容体には、少なくとも2つの型(1型と2型)があり、1型には1aと1b型がある(図1)。従来知られていたA IIの作用は、そのほとんどが1型を介して伝達されると推定されていた。この推定を実証し、さらに1aおよび1b型の役割を明らかにするため、筆者らは、多くの臓器で発現している1a型の遺伝子が欠損しているマウスを1995年に創作した⁽⁶⁾。このマウスの最高血圧は、正常マウスに比べ、ヘテロ型では10 mmHg、ホモ型では22 mmHgそれぞれ低下していた。この結果は、RA系による血圧のコントロールには、1a型受容体が重要な役割を演じていることを示している。

ごく最近、稲上らは2型受容体の生理的意義を解明するため、この受容体遺伝子を欠損したマウスを作製することに成功した⁽⁷⁾。2型受容体は、胎児の皮膚に多く発現していることから、胎児発育などに重要な作用をもつ受容体であると考えられていた。しかし、予想に反し、2型受容体を欠損したマウスは、その血圧が顕著に上昇しており(25~30 mmHg)、さらに静脈に注入したA IIに対して過敏な血圧上昇作用を示した。

したがって、この2型A II受容体は、主として血圧上昇を抑える作用をもつことがわかった。つまり、A IIは血圧の調節に関して、まったく相反する作用を有するのである。すなわち、A IIは1型受容体(AT1)を経由して血圧を上昇させる一方、2型受容体(AT2)を経由して血圧を降下させるという、大変興味ある事実が判明したのである。この事実は、A IIが血圧上昇という生理作用に関して、アクセル(1型受容体)とブレーキ(2型受容体)を巧みに使い分けていたことを示している。

この事実を知った時、次のような京都大学満田研究室でなされた発見を思い出した。すなわち、ビタミンB₂がFMN(フラビンモノヌクレオチド)、さらにFAD(フラビンアデニンジヌクレオチド)と活性型になるのにATPを必要とするが、このATPのようなヌクレオチドおよび無機リン酸が、FADとFMNの分解を司るホスファターゼの強力なインヒビターとなるというまったく予想外の事実が、今から30年も前の1965年に発見されていたのである⁽⁸⁾。すなわち、ATPはFMNとFADの合成を促進するとともに、それらの分解を抑えるというアクセルとブレーキの二役をやっていることになる。植物内でのATPと、動物におけるアンギオテンシンII受容体が、それぞれ二役をこなしている点で同じだという、自然界の精巧な仕組みに改めて驚いている。

将来の展望

レニンとその遺伝子の単離から始まり、次いでそれら遺伝子の細胞内での発現調節機構の研究を経て、個体レベルにおける研究にたどり着いた。これらの結果を総合して、レニン・アンジオテンシン (RA) 系の主要な生理作用は、心臓・血管系の血圧調節作用であることが実体的に解明されたことになる。RA 系の研究は、多くの人々の努力により、一つのゴールに達したと思っている。しかし、このゴールは新しい研究の出発点でもある。なぜなら、多彩な働きをすると推定されている RA 系の生理作用については、まだまだ多くの謎が秘められているからである。この謎を、これら新しいモデル動物を使って解きたいと思っている。

まず、高血圧とそれに伴う、心臓、腎臓、脳などの臓器障害発症の機構に、組織の RA 系がどのように関与しているかを解明したい。この目的のため、RA 系の遺伝子導入“ラット”も準備しており、このラットも間もなく誕生する予定である。さらに、遺伝子の導入や欠損を

個体全体ではなく、臓器や発生時期に特異的に行なってもらいたいと思っている。それにより、RA 系の研究で残された最大の謎である、組織における RA 系の真の生理作用の解明が期待できるであろう。

そのためには、新しく創作された遺伝子導入動物や遺伝子欠損動物の品質の規格を確立し、計画生産システムを整備する必要がある (図 5)。この実験動物化は、実験動物中央研究所との協力により、すでに始まっている。実験動物研究者・技術者、生化学者、基礎および臨床の医学者らが協力できる、世界規模の研究会を発足させたいとの夢を描いている。

謝辞：私の恩師であり、今なお指導を賜っている京都大学名誉教授・満田久輝先生から、基礎的な研究を徹底的にやることにより、それを応用研究に結びつけるという研究態度を教えていただきました。先生の教えの一部を、この研究で実施することができたように思います。改めて、先生のご指導に対して心より御礼申し上げます。次に、筆者のアメリカでの師である稲上正教授はじめ、本文で名前をあげさせていただいた諸先生に対し、誌上を借りて感謝いたします。また、つくば高血圧マウスとつくば低血圧マウスの作製とその解析については、実験動物中央研究所長・野村達次博士はじめ同研究所の多くの方々と、筑波大学動物実験センター・八神健一博士、杉山文博博士の協力なしでは不可能でした。これらの諸先生方と、村上研究室の多くの共同研究者に対して御礼申し上げます。

文献

- 1) 村上和雄：生化学，65(4)，260 (1993)；“高血圧の基礎から臨床まで”，診断と治療社，1994，p. 12.
- 2) K. Tamura, S. Umemura, A. Fukamizu, M. Ishii & K. Murakami : *Hypertension Res.*, 18(1), 7 (1995).
- 3) A. Fukamizu, K. Sugimura, E. Takimoto, F. Sugiyama, M.-S. Seo, S. Takahashi, T. Hatae, N. Kajiwarra & K. Murakami : *J. Biol. Chem.*, 268, 11617 (1993).
- 4) K. Murakami & A. Fukamizu : *Proc. Jpn. Acad.*, 69(6), Ser.B, 129 (1993).
- 5) K. Tanimoto, F. Sugiyama, Y. Goto, J. Ishida, E. Takimoto, K. Yagami, A. Fukamizu & K. Murakami : *J. Biol. Chem.*, 269, 31334 (1994).
- 6) T. Sugaya, S. Nishimatsu, K. Tanimoto, K. Takimoto, E. Tanimoto, K. Imaizumi, Y. Hisada, A. Otsuka, H. Uchida, M. Sugiura, K. Fukuta, A. Fukamizu & K. Murakami : *J. Biol. Chem.*, 270, 18719 (1995).
- 7) T. Ichiki, P.A. Labosky, C. Shiota, S. Okuyama, Y. Imagawa, A. Fogo, F. Niimura, I. Ichikawa, B. Hogan & T. Inagami : *Nature*, 377, 748 (1995).
- 8) 満田久輝：学術月報，43(8)，22 (1990)；H. Mitsuda : *Proc. Jpn. Acad.*, 42, 940 (1966).

図 5 ■“つくばマウス” 研究の将来の展望

野村達次博士提供の図を一部変更したもの。