

29-0578 W49-3

ラット有機カチオントランスポータ rOCT2 のテストステロンによる転写制御に関与するシスエレメントの同定

○朝賀 純一¹, 寺田 智祐¹, 桂 敏也¹, 奥田 真弘², 乾 賢一¹ (¹京都大病院薬,
²三重大病院薬)

【目的】腎尿細管上皮細胞には有機カチオントランスポータが発現し、カチオン性薬物の尿細管分泌を媒介している。我々はこれまでに、ラット腎側底膜に発現する有機カチオントランスポータ rOCT2 (Slc22a2) の発現量に性差が存在し、その発現量はテストステロンにより制御されることを報告してきた。テストステロンはアンドロゲンレセプター (AR) を介して様々な遺伝子の転写を制御していることが知られている。そこで本研究では、テストステロンによる rOCT2 転写調節機構について解析し、rOCT2 プロモーター領域におけるアンドロゲンレセプター応答配列 (ARE) の同定を試みた。

【方法】ラットゲノムライブラリーをスクリーニングして得られた rOCT2 のプロモーター領域を、pGL3 ベクターに組み込みレポーターコンストラクトを作成した。培養腎上皮細胞 LLC-PK₁ に rOCT2 レポーターコンストラクトあるいはその変異体と AR を導入し、テストステロンで一定時間処理後、ルシフェラーゼ活性を測定した。

【結果・考察】テストステロンは濃度依存的に rOCT2 プロモーター活性を促進したが、10 nM 以上では促進効果が飽和に達した。プロモーター領域で ARE と推定される 5 箇所について変異体を作成し、プロモーター活性を測定した。その結果、-3,304 位と -1,583 位に存在する ARE を変異させた場合に、テストステロンによる転写活性が有意に減少した。また、この 2 箇所の ARE が存在しないデリションコンストラクトは、テストステロンによるプロモーター活性の促進が抑えられていた。以上より、これらの部位が AR による転写調節に重要な役割を果たしていることが示唆された。