

氏名・(本籍) 下池仁志(滋賀県)
学位の種類 博士(医学)
学位記番号 博士第245号
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日 平成9年3月24日
学位論文題目 Genetic analysis of renin gene expression in the central nervous system of spontaneously hypertensive rats.
(高血圧自然発症ラットの脳に於けるレニン発現の遺伝的解析)

審査委員 主査 教授 挾間章忠
副査 教授 戸田昇
副査 教授 木之下正彦

論文内容の要旨

【目的】

脳内においてレニン-アンジオテンシン系の各構成要素の存在が知られており、また、その最終活性化産物のアンジオテンシンIIの中樞作用(血圧・体液量・交感神経系・飲水行動の調節など)についてもよく知られている。一方、高血圧自然発症ラット(SHR)の脳内でのレニンの発現は正常血圧モデルである京都ウイスターラット(WKY)に比べて高く、高血圧の発症維持にレニンが関与すると考えられてきた。

そこで、F2ラットを用いて、SHRの脳幹部で発現増加しているレニンmRNAが血圧や飲水行動などの生理的作用調節に関与しているのかどうか、レニン遺伝子型と相関しているのかどうかを遺伝的解析を加えて検討した。

【方法】

SHRとWKYを掛け合わせ、F2ラットを69匹を作製し、10週齢(雄35匹)、24週齢(雌34匹)で体重測定した後、断頭採血し、血漿レニン活性、血漿アルドステロン値を測定した。また、それぞれの時期の2日前に24時間蓄尿を行い、24時間尿量、24時間尿中ナトリウム排泄量の測定を行った。収縮期血圧測定は23週時にtail-cuff法で行った。取り出した脳幹部組織でのレニンmRNA発現量をcompetitive reverse-transcription polymerase chain reaction(RT-PCR)法で定量し、また、レニン遺伝子及びその近傍の遺伝子の遺伝型は、肝臓組織から抽出したDNAを用いてPCR法と制限酵素で決定した。

【結果】

脳幹部のレニンmRNAの発現量は、10週齢、24週齢共にSHR型レニン遺伝型と相関(それぞれ $p=0.0004$ 、 $p=0.0001$)し、SHR型レニン遺伝型が高い発現を示した。また、ラット第13染色体上に位置するレニン遺伝子と、それをはさむ近傍の2つのDNAマーカー遺伝子(D13Mgh4, D13Mgh5)との比較においても、レニン遺伝型がレニンmRNAの発現量と高い相関を示し、脳幹部レニンの発現がレニンないし極めてレニン近傍の領域により遺伝的に決定されることを認めた。次に、脳幹部のレニンmRNA発現増加の生理的作用を、血圧、飲水行動について検討した。収縮期血圧との関係は、レニン遺伝型、脳幹部のレニンmRNA発現量のどちらも相関がみられず、レニン遺伝子が血圧上昇に関与していないことが示された。一方、飲水反応の指標としての24時間尿量においても、レニン遺伝型や脳幹部のレニンmRNA発現量と相関は見られなかった。

【考察】

SHRとWKYより作製したF2ラットに於いては、脳幹部レニンmRNAの発現量はSHR型レニン遺伝型を持つもので高かった。故に脳幹部レニンの発現が遺伝的に決定されていることが認められた。しかし、血圧とレニン遺伝型や脳幹部で発現しているレニンmRNA量との相関はみられなかった。この結果は、今回のSHRとWKYを用いた系では、レニン高発現遺伝型(SHR型遺伝型)が

高血圧につながる事を示すが、別の遺伝的背景ではどうなるかは今後の検討を要する。

血漿アルドステロン値はレニン遺伝型、副腎レニンmRNA発現量、レニン活性により規定されていたが、脳幹部のレニンmRNA発現増加には影響を及ぼしていなかった。さらに、脳幹部のレニンmRNA発現量は血漿レニン活性、24時間尿量、24時間尿中ナトリウム排泄量のどれとも相関はみられず、脳幹部でのレニン高発現の生理的意義は明らかではなかった。

これらの結果は、アンジオテンシンIIまたはその拮抗薬の脳室内投与で血圧、飲水行動、ナトリウム利尿が増強または抑制される事実と一見矛盾する。これは、脳幹部においてはレニンの発現量がアンジオテンシンII産生の律速でないのかもしれないし、あるいはSHRの脳幹部でレニン高発現の状態が続き、レニン-アンジオテンシン系の他の構成要素の生成が抑制されたのかもしれない。実際、SHRの脳内で発現しているアンジオテンシン変換酵素(ACE)がWKYよりも低いという報告や、脳卒中易発症型SHRでは、ACE遺伝子で低ACE活性が遺伝的に規定されているという報告がある。

今回、分子生物学的手法としてcompetitive RT-PCR法を用いることで、以前には測定不可能であった、脳や副腎で発現している微量のレニンの量を正確に測定することができた。そして、従来、血圧が高いSHRの脳内で高レニンを示し、血圧が低いWKYで低レニンを示すことから、高血圧は高レニンによると単純に考えられていたが、この分子生物学的手法と遺伝的解析を加えることでレニンの真の意義が分かり、高レニン発現が直接高血圧に結び付かないことが判明した。

【結 論】

脳幹部のレニンmRNAの発現量はレニン遺伝型により決定されているが、レニンmRNAの発現増加が血圧上昇や飲水反応に関与しないことが判明し、脳幹部のレニン高発現の生理的意義は明らかではなかった。

論文審査の結果の要旨

遺伝性高血圧モデルであるSHRの脳幹部でのレニンの発現は正常血圧ラットであるWKYに比べて高く、高血圧の発症維持にこの脳内高レニンが関与すると考えられてきた。本研究は、SHRとWKYを近親交配させて作製したF2ラットを用いて、レニン遺伝子の連鎖解析や、脳幹部で発現増加しているレニンmRNAの生理的意義について検討したものである。

実験は、F2ラットの脳幹部発現のレニンmRNAの定量をcompetitive reverse-transcription PCR(RT-PCR)法で行った。また、レニン遺伝子及びその近傍の遺伝子の遺伝型を決定し、測定した各パラメータとの解析より、以下の結果を得た。

脳幹部のレニンmRNAの発現量は、SHR型レニン遺伝型と相関し、SHR型レニン遺伝型で高発現を示した。また、レニン遺伝子と、それを挟む近傍の2つのDNAマーカー遺伝子との比較でも、レニン遺伝型でレニンmRNAの発現量と高い相関を示し、脳幹部レニンの発現がレニンないレニンに極めて近い領域で遺伝的に決定されることを認めた。脳幹部のレニン高発現の生理的作用の検討では、収縮期血圧、24時間尿量共にレニン遺伝型、レニンmRNA発現量と相関せず、レニン遺伝子が血圧上昇や飲水行動に関与しないことを示し、脳幹部のレニン高発現の生理的意義は明らかでなかった。

今回、分子生物学的手法としてcompetitive RT-PCR法を用いることで、以前には測定不可能であった脳で発現している微量のレニンを正確に定量した。さらに遺伝的解析を加えることで、従来、高血圧は脳内高レニンによるものと考えられていたが、高度のレニン発現が直接高血圧に結び付かないことが判明した。近年、高血圧の研究が分子生物学的立場からも行われ、遺伝子レベルで高血圧の予知、予防および治療に取り組まれる中、今回の結果は高血圧の病因、病態解明に寄与する新しい知見であり、博士(医学)を授与するに値するものと認められる。