



Title	Hypotensive effect associated with a phospholipase C- $\delta$ 1 gene mutation in the spontaneously hypertensive rat
Author(s)	Katsuya, T.
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3065822">https://doi.org/10.11501/3065822</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	かつやともひろ 勝谷友宏
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 10650 号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学位論文名	Hypotensive effect associated with a phospholipase C- $\delta$ 1 gene mutation in the spontaneously hypertensive rat (高血圧自然発症ラットにおけるホスホリパーゼ C- $\delta$ 1 遺伝子の変異と高血圧発症抑制効果に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男 (副査) 教授 鎌田 武信 教授 若杉 長英

### 論文内容の要旨

#### (目的)

高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rat:SHR) は本態性高血圧の疾患モデルとして、高血圧原因遺伝子の探求が行われている。最近八木沢らが報告した SHR, SHRSP (stroke-prone SHR) に特異的なホスホリパーゼ C- $\delta$ 1 (phosphoinositide-specific phospholipase C- $\delta$ 1 : PLC- $\delta$ 1) 遺伝子の変化は、正常血圧対象モデルとして広く用いられている WKY (Wistar-Kyoto rat) との遺伝子レベルの比較において、初めて報告されたアミノ酸置換を伴う点突然変異 (missense mutation) であること、PLC が細胞内 Ca 濃度調節の中心的な役割を果たしている酵素であることから、注目を集めた。本研究においては、SHR と WKY との交配により作製した F<sub>2</sub> ラットを用いて、この遺伝子変異の血圧に対する影響について検討した。さらに、Hilbert らが発表した高血圧遺伝子 (BP/SP-1) 近傍に位置するマーカーの NGFR (rat nerve growth factor receptor gene) を用いて、F<sub>2</sub> ラットにおける血圧との相関の検討も行なった。

#### (方法)

ミニサテライトプローブを用いた DNA 指紋法により、遺伝的に純系であることを確認した三共(株)安全性研究所の雄性 SHR (n=3) と雌性 WKY (n=3) の交配により F<sub>1</sub> ラットを作製し、次いで F<sub>1</sub> ラットを近親交配させ、雄性 F<sub>2</sub> ラット (n=106) を作製した。15週令の F<sub>2</sub> ラットに、エーテル麻酔下到大腿動脈より挿入したカテーテルを大動脈に留置し、24時間後に無麻酔、無拘束で安静を保持したラットの血圧、心拍数を、圧トランスデューサーを用いて3回計測した。その後、肝臓より高分子量 DNA を抽出し、PCR を行なった。PCR のプライマーは、PLC- $\delta$ 1 遺伝子については mutation 部位を含むように設定し、NGFR については Hilbert らの記述と同じものを用いた。

PLC- $\delta$ 1 においては SHR に特異的な mutation があれば XhoI 切断を受けることから、PCR 産物の XhoI 切断の有無を 2% agarose gel 電気泳動にて解析し、SHR/SHR, SHR/WKY, WKY/WKY の3群に F<sub>2</sub> ラットを分類し、NGFR については PCR 産物を 12% PAGE により同様の3群に分類した。これら各遺伝子型と血圧との相関について、ANOVA (analysis of variance) を用いて検討した。

(成績)

遺伝型により分類した各群の平均血圧 (mean±S.D.mmHg) 及び ANOVA

表現型	マーカー	SHR/SHR	SHR/WKY	WKY/WKY	ANOVA
収縮期 血圧	PLC- $\delta$ 1	153.8±11.8 n=33	158.9±11.4 n=51	164.3±13.1 n=22	$F_{2, 103} = 5.1$
	NGFR	157.3±12.8 n=32	159.9±12.0 n=41	157.6±12.5 n=33	$F_{2, 103} = 0.5$
拡張期 血圧	PLC- $\delta$ 1	112.5±9.5	113.9±7.2	117.8±9.3	$F_{2, 103} = 2.7$
	NGFR	113.6±8.8	116.0±8.4	112.8±9.3	$F_{2, 103} = 1.5$
平均 血圧	PLC- $\delta$ 1	126.3±9.8	128.9±7.9	133.3±10.1	$F_{2, 103} = 4.0$
	NGFR	128.2±9.6	130.6±9.2	127.7±9.1	$F_{2, 103} = 1.1$

以上の結果より

- 1) PLC- $\delta$  1 においては、収縮期血圧 ( $P < 0.01$ ), 平均血圧 ( $P < 0.05$ ) において、SHR/SHR 群は WKY/WKY 群に比し、有意に低値であった。
- 2) PLC- $\delta$  1 の遺伝形式は、共優性と考えられた。
- 3) NGFR においては、各群間に有意差を認めなかった。

(総括)

- 1) SHR に存在する PLC- $\delta$  1 の遺伝子の missense mutation, またはその近傍に位置する遺伝子が高血圧抑制に働く可能性が示唆された。この変異は SHR 作製過程で生じたと推定され、優位な個数の血圧上昇を起こす遺伝子変異が起きた際に、フィードバック的に生じた pseudo-revertant mutation とも考えられる。
- 2) 本実験においては、SHRSP×WKY 交配の  $F_2$  ラットで報告された高血圧遺伝子座位 (BP/SP-1) と血圧上昇の相違は認めず、BP/SP-1 はむしろ SHRSP に特異的な塩感受性血圧上昇に関連する遺伝子である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ヒト本態性高血圧症の遺伝性モデル動物である自然発症高血圧ラット (SH: spontaneously hypertensive rat) の血圧関連遺伝子同定を目的として行なわれている。特に、SHR と WKY (Wistar-Kyoto rat) を交配させて作製した  $F_2$  ラットを用いて、SHR 及び SHRSP (stroke-prone SHR) に特異的な phospholipase C- $\delta$  1 (PLC- $\delta$  1) 遺伝子のアミノ酸変異を伴う点突然変異 (missense mutation) と血圧の負の相関を認めたことは、血圧抑制と関連する初めての候補遺伝子として興味深い。この事実は、WKY から SHR を作製する過程において、数個の遺伝子が血圧上昇に働く一方で、反対に血圧抑制に変異をおこした (pseudo-revertant mutation) 遺伝子が存在する可能性を示唆する。さらに、最近報告された SHRSP の有する高血圧遺伝子 (BP-SP 1) が、SHR において血圧に及ぼす影響を検討する目的で、BP-SP 1 近傍の多型性 DNA マーカーの NGFR (nerve growth factor receptor) 遺伝子型と  $F_2$  ラットの血圧との相関を検討したが、有意な相関を認めなかった。即ち、BP-SP 1 は SHRSP に特異的な高血圧遺伝子であり、SHR の主要高血圧候補遺伝子ではないことが本研究によって示された。本研究は、高血圧の発症遺伝子解明に重要な所見であり、博士の学位授与に値すると認める。