

Title	Hypertensive Rats Produced by in vivo Introduction of the Human Renin Gene
Author(s)	富田, 奈留也
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/38911
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	富田奈留也
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11291 号
学位授与年月日	平成6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	Hypertensive Rats Produced by <i>in vivo</i> Introduction of the Human Renin Gene (生体へのヒトレニン遺伝子導入による高血圧モデルラットの作製)
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男 (副査) 教授 奥山 明彦 教授 田中亀代次

論文内容の要旨

【目的】

近年の分子生物学の進歩により外来の遺伝子を成熟体に導入することが可能となった。本研究においては効率がよく、宿主への毒性の少ない遺伝子導入法 HVJ-リボゾーム法を応用し、本法を用いたモデル動物の作製を試みた。血圧の調節に重要な役割をはたしているレニン-アンジオテンシン系の構成因子であるレニン(ヒトレニン)遺伝子の導入を本法を用いて成熟ラットに行い、肝臓でヒトレニン遺伝子を発現させヒト高血圧症のモデルラットの開発を行った。

【方法ならびに成績】

i) レニン-アンジオテンシン系は種特異性が強く、ヒトレニン-ラットアンジオテンシノーゲン間の反応は起こりにくいとされている。*In vivo* への遺伝子導入を行なう前に *in vitro* においてヒトレニン-ラットアンジオテンシノーゲンの反応性について検討した。最初にヒトレニン cDNA を有するベクターをエレクトロポレーションにより初代培養肝細胞に導入した。遺伝子導入48時間後に培養液を採取し培養液中のアンジオテンシン I, II (Ang I, II), ヒトレニン量を測定した結果、ヒトレニン遺伝子を導入した肝細胞の培養液中においてヒトレニン及び Ang I, Ang II の産生を認めた。

ii) 8週齢ウイスターラット肝臓にヒトレニン遺伝子を含む HVJ-リボゾーム 4 ml を投与した。対照としヒトレニン遺伝子を含まない HVJ-リボゾームを同量投与した。遺伝子導入4日前に右大腿動脈よりカテーテルを挿入しその日より導入後10日まで直接法にて連日血圧測定を行なった。ヒトレニン遺伝子導入ラット群は遺伝子導入後1日目より血圧上昇を認め導入後4日目でピークに達し、その後徐々に血圧は低下し、7日目で対照群と有意差を認めなくなった。対照群では血圧上昇を認めなかった。ヒトレニン遺伝子導入後2, 5, 10日目において採血を行ない、血中ヒトレニン濃度, Ang II 濃度を測定した。遺伝子導入群においては2日, 5日, 10日目に血中にヒトレニンを認め、Ang II 濃度は2日, 5日, 10日目において有意に上昇していた。対照群ではヒトレニンは全く検出しなかった。また Ang II 濃度は有意な上昇を認めなかった。血圧とヒトレニン濃度, Ang II 濃度の関係について検討を行なったところ、収縮期血圧と血中ヒトレニン濃度間及び血中 Ang II 濃度間には $r=0.95$ ($p < 0.001$) と共に有意な相関を認めた。ヒトレニン遺伝子導入ラット群(導入後血圧上昇を認めたラット群)に対してヒトレニンに特異的なレニン阻害薬 FK906 を投与したところ、投与直後より収縮期及び拡張期血圧は下降し約20分後には投与前値に復した。ヒトレニ

ン遺伝子を含まないHVJ-リポゾームを注入した対照群ではFK906により血圧は不変であった。

【総括】

遺伝子導入効率はその際に用いられる方法に大きく左右される。本研究で用いたHVJ-リポゾーム法はHVJの利用によりその効率を大きく上げることができる。本法で最も重要な役割をはたしているのが核蛋白 HMGI であり、HMGI の使用により 3~10 倍の効率で遺伝子導入が可能となった。また本研究においては血圧上昇は一過性のものではあったが、従来霊長類を用いてのみ可能であった高血圧の研究、特にヒトにおけるレニン-アンジオテンシン系の解明がラットを用いて可能になると思われる。さらに本法の応用によりヒトに特異的な薬剤の開発をラットを用いて行なえることにより、極めて有用な方法と考えられる。

論文審査の結果の要旨

近年の分子生物学的進歩により外来遺伝子を成熟動物の標的臓器に導入することが可能になった。これまでに数種類の方法が報告されているが、本研究は最も効率が良く宿主に対する毒性も低いとされている HVJ-リポゾーム法を応用し、レニン-アンジオテンシン系の構成要素であるヒトレニン遺伝子をラット肝臓に導入しヒトの高血圧のモデルラットの作製を目的としたものである。レニン-アンジオテンシン系は従来より最も重要な血圧調節系の一つとされているが、種特異性が強く、異種間ではその反応が起こりにくいとされている。本研究では培養細胞系を用いてヒトレニン-ラットアンジオテンシノーゲン間の反応についても研究している。また、導入したヒトレニン遺伝子発現による血圧上昇の機構を血中においてヒトレニン、アンジオテンシン II (Ang) 濃度の上昇を直接に確認するとともに、ヒトレニン阻害薬によるヒトレニン遺伝子導入ラットの降圧を確認することにより証明している。

本研究は世界で初めて直接遺伝子導入法を用いて、ヒトレニン遺伝子導入により高血圧のモデルラットの作製に成功したもので、今後のレニン-アンジオテンシン系の解明、新しいヒトレニン阻害薬の開発などにおいて大きな意義を有し、学位の授与に値するものと認める。