



Title	Hypertensive Rats Produced by <i>in vivo</i> Introduction of the Human Renin Gene
Author(s)	富田, 奈留也
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38911">https://hdl.handle.net/11094/38911</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

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	<b>Hypertensive Rats Produced by <i>in vivo</i> Introduction of the Human Renin Gene</b> (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 萩原 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-リポゾーム法を応用し、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ー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を行い、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なった。

#### 【方法ならびに成績】

i) レニンーアンジオテンシン系は種特異性が強く、ヒトレニンー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ー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ーレイ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-リポゾーム 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-リポ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あったが、従来靈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ー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、レニンー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。レニンー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ー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、今後のレニンー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。