



Title	ANGIOTENSINOGEN GENE-ACTIVATING ELEMENTS REGULATE BLOOD PRESSURE IN THE BRAIN
Author(s)	西居, 忠彦
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42985">https://hdl.handle.net/11094/42985</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	西居忠彦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15093 号
学位授与年月日	平成12年2月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	ANGIOTENSINOGEN GENE-ACTIVATING ELEMENTS REGULATE BLOOD PRESSURE IN THE BRAIN (アンジオテンシノージェン遺伝子活性化因子による脳内での血圧制御)
論文審査委員	(主査) 教授 萩原 俊男 (副査) 教授 金田 安史 教授 三木 直正

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

アンジオテンシノージェン(Aogen)遺伝子は高血圧の決定要因のひとつとして有力視されているが、組織内におけるAogen遺伝子による血圧制御の分子機構はいまだ明確ではなく、特に中枢神経系における研究は少ない。転写調節因子に対するおとり型核酸医薬であるデコイオリゴデオキシヌクレオチド(oligodeoxynucleotide, ODN)を用いた研究により、肝のAogen遺伝子発現に転写調節因子結合配列部位(angiotensinogen gene-activating element, AGE)が重要であることが報告されている。本研究ではさらに脳組織でもAogen遺伝子活性化因子(angiotensinogen gene-activating factor, AGF)であるAGE結合蛋白が存在することを明らかにし、脳内においてもAogen産生及びレニン-アンジオテンシン系を介する血圧調節ではAGEが重要な役割をしていることを明らかにした。

#### 〔方法ならびに成績〕

自然発症高血圧ラット(SHR)及び正常血圧Wistar Kyoto rat(WKY)それぞれの脳からの核蛋白抽出液を精製し、AGEを標識プローブとしてgel mobility shift assayを行った。また脳組織懸濁液からmRNAを抽出し、ラットAogen cDNAをプローブとしてnorthern blot法を行った。その結果、SHR及びWKYからの脳核蛋白抽出液にAGE結合蛋白(AGF)の存在することが明らかになった。さらに重要なことには、AGEの結合活性及びAogen mRNAのレベルはWKYよりSHRの脳内において有意に高いことが示された。そこで転写調節因子結合配列部位(目的遺伝子プロモーター領域)へこのAGE結合蛋白が結合するのを阻害するために、“デコイ(おとり)”の転写調節因子結合配列(cis-element)として合成二重鎖ODNをHVJ-リポソーム法を用いてSHR及びWKYの側脳室内へ導入した。AGFがAGEに結合してAogen遺伝子を活性されるのを阻害することで、SHRの血圧及び脳内のmRNAレベルひいてはAogen濃度、angiotensin(Ang)II濃度等は有意な低下を示した。しかし、ミスマッチODNを導入した群ではこれらの低下は認めなかった。血中のAogen及びAng IIの濃度に変化が認められなかつことより、デコイによるこれらの変化は中枢における効果であると考えられた。さらには、AGEデコイODNはWKYの血圧を低下させなかつたことより、Aogen遺伝子発現に重要な役割を持つAGEはSHRにおいてより活性化されていると考えられた。

## 〔総括〕

脳組織内にも Aogen 遺伝子活性化因子である AGE 結合蛋白の存在することが明らかとなった。特に SHR の脳内ではこれらの蛋白が多かった。中枢神経系における AGE 結合蛋白の異常発現は、遺伝的に高血圧を示すラットのモデルにおいて、その高い血圧に対し重要な役割を持つと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

アンジオテンシノージェン (Aogen) 遺伝子は高血圧決定要因のひとつとして有力視されているが、組織内での Aogen 遺伝子による血圧制御の分子機構は明確でなく、特に中枢神経系ではほとんどわかっていない。本研究は遺伝的高血圧モデルの自然発症高血圧ラット (SHR) 及び対照の Wistar Kyoto rat (WKY) を用いて脳からの核蛋白抽出液を精製し、転写調節因子結合配列部位 (angiotensinogen gene-activating element, AGE) を標識プローブとして gel mobility shift assay を、また脳組織懸濁液から mRNA を抽出し、ラット Aogen cDNA をプローブとして northern blot analysis を行った。その結果、双方の脳核蛋白抽出液に AGE 結合蛋白である Aogen 遺伝子活性化因子 (angiotensinogen gene-activating factor, AGF) の存在が初めて明らかになり、さらに AGE 結合活性及び Aogen mRNA レベルは SHR が WKY より高いことが示された。そこで Aogen 遺伝子プロモーター領域の AGE へ AGF が結合するのを阻害するために、“デコイ(おとり)型核酸”の二重鎖オリゴデオキシヌクレオチド (oligodeoxynucleotide, ODN) を合成、HVJ-リポソーム法で SHR 及び WKY の脳内へ導入したところ、SHR の血圧及び脳内 mRNA レベルひいては Aogen 濃度、angiotensin (Ang) II 濃度等は有意な低下を示したが、ミスマッチ ODN 導入群ではこれらの低下を認めなかった。血中 Aogen 及び Ang II 濃度に変化がなかったことより、デコイによるこれらの変化は中枢性の効果と考えられた。さらに AGE デコイ ODN は WKY の血圧を低下させなかったので、AGE は SHR においてより活性化されていると考えられた。

デコイ ODN を用いた研究により、肝 Aogen 遺伝子発現での AGE の重要性が既に報告されているが、本研究ではさらに脳組織にも AGF が存在し、Aogen 産生及びレニン-アンジオテンシン系を介する血圧調節では AGE が重要であることを明らかにした。これらは、中枢性血圧制御機構さらに高血圧の発症、維持における脳内のレニン-アンジオテンシン系の役割を明確にする上で重要かつ示唆に富み、学位授与に値するものと考えられる。