



Title	Activation of the Brain Angiotensin System by In Vivo Human Angiotensin-Converting Enzyme Gene Transfer in Rats
Author(s)	中村, 成史
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43141
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	なか むら しげ ふみ 中 村 成 史
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 6, 4 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 1 月 31 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	Activation of the Brain Angiotensin System by In Vivo Human Angiotensin-Converting Enzyme Gene Transfer in Rats. (ヒトアンジオテンシン変換酵素遺伝子導入によるラット脳内レニン-アンジオテンシン系の活性化)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 荻原 俊男 (副査) 教 授 金田 安史 教 授 網野 信行

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

脳内レニン-アンジオテンシン系 (RA系) は循環調節や水・電解質の調節に深く関与し、この系の異常と高血圧との関連が示唆されている。レニン、アンジオテンシン I、アンジオテンシン II の脳室内投与は飲水行動や、副腎刺激ホルモン、バゾプレッシン等の放出を刺激し、血圧上昇を促す。逆にアンジオテンシン変換酵素阻害薬やアンジオテンシン II 拮抗薬の投与は、これらの作用を阻害することが報告されている。一方、近年の細胞工学的、分子生物学的手法の進歩により外来遺伝子を直接生体組織中に導入することが可能となった。本研究では、脳内 RA 系の機能を評価する目的で、高効率遺伝子導入法である HVJ 法を用い、ヒトアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 遺伝子を中枢神経系に導入した疾患モデル動物の作成を試み、生化学的、生理学的影響を検討した。

【方法】

12週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットの側脳室内にカニューレを挿入後、CMV enhancer 及び β -actin promotor により発現されるヒト ACE 遺伝子 cDNA を封入した HVJ リポソーム、またはコントロール遺伝子を含む HVJ リポソームを注入した。注入後、tail-cuff 法により、血圧、脈拍を経時的 (0、1、3、5、7、10、14日) に測定した。また、遺伝子導入による変化が RA 系の活性化によることを確認するため、ACE 阻害薬、AT 1 拮抗薬を脳室内または大腿静脈より投与した。遺伝子導入したラットのうち一部は導入後 5 日と 14 日に脳組織と血液を採取し、アンジオテンシン II 濃度、ACE 活性、バゾプレッシン濃度を測定した。さらに、導入したヒト ACE 遺伝子の局在を、遺伝子導入後 1 日、5 日、14 日に脳を摘出し抗ヒト ACE 抗体による免疫組織染色法により調べた。

【成績】

1. ACE 遺伝子導入により、3 日後から 14 日後までの血圧の持続的な上昇を認め、(ピーク値; ACE 遺伝子導入群: $127 \pm 5 \rightarrow 150 \pm 4 \text{ mmHg}$ 、対照群: $127 \pm 9 \rightarrow 129 \pm 3 \text{ mmHg}$)、心拍数も ACE 遺伝子導入群において 3 ~ 5 日後をピークとし対照群に比し有位な上昇を認めた。
2. ACE 遺伝子導入群では、脳組織内の組織 Ang II 濃度、組織バゾプレッシン濃度、組織 ACE 活性が対照群に比較して、有意に上昇していた。一方、循環血中においては、ACE 活性、血漿 Ang II 濃度ともに両群で有意差が認められなかった。
3. ACE 阻害薬または AT 1 拮抗薬を脳室内投与すると、ACE 遺伝子導入群では有意に血圧および心拍数が低下し

たが、対照群では変化がみられなかった。一方、ACE 阻害薬の大腿静脈内投与では、ACE 遺伝子導入群に有意な血圧、心拍数の変化を生じなかった。

4. ACE 遺伝子導入群で、抗ヒト ACE 抗体を用いた免疫組織染色法にて確認された導入遺伝子は、投与直後から少なくとも14日まで大脳皮質、視床下部を中心に認められ、一部延髄にも導入されていた。一方、対照群では染色されなかった。また、導入後5日目で、ACE 遺伝子導入群では、RT-PCR 法によりヒト ACE mRNA の発現が確認されたが、対照群では認められなかった。

【総括】

ヒト ACE 遺伝子導入による脳内 ACE の発現亢進は、脳内アンジオテンシンⅡの産生亢進を促し、高血圧の発症に関与していると考えられる。また、HVJ-リボソーム法は中枢神経系においても高率に遺伝子を導入する方法であることが示された。今後このモデル動物を用いることにより、脳内レニン-アンジオテンシン系の生理機能や中枢性血圧調節機構のさらなる解明が期待される。

論文審査の結果の要旨

レニン-アンジオテンシン系 (RA系) は、その最終生理活性物質のアンジオテンシンⅡを介して血圧の調節あるいは体液量の恒常性維持に深く関わっている。循環血中以外にも組織 RA 系が存在し、脳、心臓、腎臓、副腎、血管壁などにおいて局所での循環調節や臓器保護に関与している。特に、脳内には独自の RA 系や他の多くの血圧調節物質が存在し、また圧受容体反射の調節も行っている。これらのことから中枢神経系による循環の制御機構は興味深い点が多く、脳内 RA 系の詳細な機能解明は中枢性血圧調節機構の解明のみならず、循環器病の発症、進展さらに治療においても重要な意味をもつと思われる。本研究では、脳組織内 RA 系の機能解明の第一歩として、ヒトアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 遺伝子をラットの脳内に導入し、脳内 RA 系のみが特異的に亢進したモデル動物の作成に成功した。さらにヒト ACE 遺伝子導入による脳内 ACE の発現亢進は、脳内アンジオテンシンⅡの産生亢進を促し、高血圧の発症に関与している可能性を示した。今後このモデル動物は、脳内 RA 系の生理機能や中枢性血圧調節機構の解明に貢献することが期待され、本研究は学位の授与に値すると考えられる。