

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43141">https://hdl.handle.net/11094/43141</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	中村 成史
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 166,46 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 $\beta$ -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、AT1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】

- 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。
- 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。
- ACE阻害薬またはAT1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。