

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
桐村和義	主査 教授 宮崎 瑞夫 副査 教授 北浦 泰章 副査 教授 清水 敬弘 副査 教授 勝間田 隆裕 副査 教授 窪田 隆裕
主論文題名 Role of chymase-dependent angiotensin II formation in regulating blood pressure in spontaneously hypertensive rats (自然発症高血圧ラットの血圧調節に対するキマーゼ依存性アンジオテンシンII産生の役割)	
学位論文内容の要旨	
<p>《目的》</p> <p>ラット肥満細胞由来キマーゼはヒト肥満細胞由来キマーゼと異なりアンジオテンシン(Ang)IIを産生しないことをこれまで報告してきた。しかし、最近、血管平滑筋培養細胞からクローニングされたラット血管キマーゼ(RVCH)が、Ang IIを産生するとの報告がなされた。また、自然発症高血圧ラット(SHR)から単離した血管平滑筋培養細胞では RVCH mRNA レベルが高いこと、血管平滑筋細胞に RVCH を過剰発現させたトランスジェニックマウスで高血圧を認めたとも報告されている。しかしながら、RVCH を介した Ang II 産生が SHR の血圧調節に <i>in vivo</i> で関係しているかは不明である。本研究では、SHR における血圧調節におけるキマーゼ依存性 Ang II 産生の役割の検証を正常血圧の Wistar-Kyoto(WKY)ラットと比較して試みた。</p> <p>《方法》</p> <p>16 週齢(雄性)の WKY ラット及び同週齢の SHR を用いた。胸部大動脈組織抽出液を用い、アンジオテンシン変換酵素(ACE)活性及びキマーゼ活性は合成基質 hippuryl-His-Leu 及び Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-4-methylcoumaryl-7-amide をそれぞれ基質に測定した。また、Ang II 産生能は Ang I を基質として Ang II 産生活性を測定した。なお、各阻害薬の効果を検討するため ACE 阻害薬(trandolaprilat)及びキマーゼ阻害薬(NK3201)を使用した。ラット肥満細胞プロテアーゼ(RMCP)I、RMCP II 及び RVCH mRNA 発現量は、RT-PCR 法により定量した。</p> <p>血管 Ang II 産生への影響を確認するため、頸動脈摘出標本を用い、マグヌス法により Ang I 誘発血管収縮反応に対する ACE 阻害薬またはキマーゼ阻害薬の影響を検討した。また、麻酔下ラットで Ang I によって誘発される昇圧反応に対する ACE 阻害薬またはキマーゼ阻害薬の影響を検討した。さらに、SHR に ACE 阻害薬、キマーゼ阻害薬あるいはアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)をそれぞれ経口投与し、投与後 24 時間の血圧変化を tail-cuff 法で測定した。</p> <p>《結果》</p> <p>今回使用した 16 週齢の収縮期血圧は、WKY ラット(113±9mmHg)に比し SHR(172±3mmHg)で明らかな高値を示していた。</p>	

ACE 活性は WKY ラット(12.8 ± 1.5 mU/mg protein)に比し SHR(17.8 ± 1.2 mU/mg protein)で明らかに高かった。また、キマーゼ活性も WKY ラット(0.13 ± 0.004 mU/mg protein)に比し SHR(0.16 ± 0.008 mU/mg protein)で明らかに高かった。Ang II 産生活性は、ACE 阻害薬では WKY ラット及び SHR 共に完全に抑制されたが、キマーゼ阻害薬では WKY ラット及び SHR 共に抑制されなかった。なお、Ang II 産生活性は、SHR(0.28 ± 0.02 mU/mg protein)に比し WKY ラット(0.23 ± 0.02 mU/mg protein)で低い傾向を示した。

RVCH mRNA 発現は、WKY ラット及び SHR の血管組織抽出液には検出できなかった。一方、従来から知られている RMCP I 及び RMCP II mRNA 発現は WKY ラットに比し SHR で明らかに高かった。

Ang I 誘発血管収縮反応は、WKY ラットに比し SHR で弱い傾向であった。また、その血管収縮反応は WKY ラット及び SHR 共に ACE 阻害薬処置により完全に抑制されたが、キマーゼ阻害薬処置では抑制されなかった。

Ang I 誘発の昇圧反応には、WKY ラット及び SHR 共にキマーゼ阻害薬処理による変化は見られなかった。一方、ACE 阻害薬処置後、Ang I 誘発の昇圧反応は、WKY ラット及び SHR で完全に抑制された。

SHR の血圧は、ACE 阻害薬及び ARB の経口投与後 4 時間で共に最大降圧反応を認め、投与後 24 時間でも降圧の持続を認めた。他方、キマーゼ阻害薬は全ての測定ポイントで降圧を示さなかった。

《 考 察 》

ラット血管組織肥満細胞は、RMCP I と RMCP II が混在していることが広く知られていたが、最近、血管平滑筋細胞に RVCH が発現する可能性が唱えられ、SHR の大動脈から単離した血管平滑筋培養細胞でも RVCH mRNA 発現が高いという報告にもかかわらず、本研究においては RMCP I 及び RMCP II mRNA 発現は WKY ラット及び SHR で検出されたが、RVCH mRNA は検出されなかった。この結果は、摘出した大動脈における Ang II 産生 RVCH 発現の可能性は WKY ラットだけでなく SHR でも非常に少ないことを示唆する。一方、RMCP I 及び RMCP II の mRNA 発現は、WKY ラットに比し SHR で高かった。したがって、SHR の血管組織抽出液での高キマーゼ活性は、RVCH ではなく、RMCP I と RMCP II の増加によると考えられる。

大動脈における Ang II 産生活性は WKY ラットに比し、SHR でより高い傾向があった。そして、Ang II 産生活性は、ACE 阻害薬により、ほとんど完全に抑制されが、キマーゼ阻害薬は無効であった。さらに、ACE 阻害薬は、WKY ラット及び SHR 共に Ang I 誘発の昇圧反応を完全に抑制した。ACE 阻害薬及び ARB は SHR で同程度の降圧効果を示したが、キマーゼ阻害薬による降圧効果は見られなかった。これらの結果は、キマーゼ活性の上昇を認めるものの、ラット由来のキマーゼが Ang II を介して血圧調節に関与する可能性を否定するものである。

本研究では、血管 ACE 活性に加えて Ang II 産生活性としても、WKY ラットより SHR で高く、SHR の高血圧が血管組織 ACE の増加により血管 Ang II 産生を高めていることに起因することが示された。RVCH は検出されなかったが、RMCP I 及び RMCP II が SHR の血管組織で増加しており、これらの過剰発現は、血圧調節ではなく血管組織構造のリモデリングに関連する可能性が考えられる。

これらの結果から、RVCH 依存性 Ang II 産生機序は、その存在の可能性はあるとしても、少なくとも in vivo における SHR の高血圧発症維持のメカニズムには関係していないことが確かめられた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	桐 村 和 義
論文審査担当者		主 査 教授 宮 崎 瑞 夫 副 査 教授 北 浦 泰 章 副 査 教授 清 水 章 副 査 教授 勝 間 田 敬 弘 副 査 教授 窪 田 隆 裕	
主論文題名 Role of chymase-dependent angiotensin II formation in regulating blood pressure in spontaneously hypertensive rats (自然発症高血圧ラットの血圧調節に対するキマーゼ依存性アンジオテンシン II 産生の役割)			
論文審査結果の要旨			
<p>本研究は、自然発症高血圧ラット(SHR)における血圧調節機構へのラット血管キマーゼ(RVCH)依存性アンジオテンシン(Ang) II 産生の関与について正常血圧の Wistar-Kyoto(WKY)ラットと比較検討したものである。</p> <p>申請者は 16 週齢(雄性)の WKY ラット及び同週齢の SHR を用いて、大動脈組織のキマーゼ活性、Ang II 産生活性及び Ang II 産生活性に対するキマーゼ阻害薬の影響の検討と、大動脈組織の RVCH mRNA 発現を検討している。更に、摘出頸動脈を用いマグヌス法により Ang I 誘発血管収縮反応に対するキマーゼ阻害薬の影響を検討している。in vivo の実験としては、Ang I によって誘発される昇圧反応及び SHR の血圧に対するキマーゼ阻害薬の作用効果を検討している。</p> <p>その結果、大動脈キマーゼ活性は SHR で明らかに高く、Ang II 産生活性も WKY ラットに比し、SHR でより高い事実を示している。しかし、この Ang II 産生活性に対してキマーゼ阻害薬は無効であり、また、大動脈組織には RVCH mRNA は検出されていない。加えて、キマーゼ阻害薬は WKY ラット及び SHR の Ang I 誘発による血圧上昇を抑制せず、SHR の高血圧に対してもキマーゼ阻害薬による降圧効果を認めていない。これらの結果は、SHR においてはキマーゼ活性の上昇を認めるものの、キマーゼが Ang II を介して血圧調節に関与する可能性を否定するものである。</p> <p>本研究は、RVCH 依存性 Ang II 産生機序は、少なくとも in vivo における SHR の高血圧発症維持のメカニズムには関係していないことが確かめたものであり、キマーゼの病態生理、SHR を用いた高血圧の研究に重要な知見を与えるものである。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第9条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Hypertension Research 28: 457-464, 2005</p>			