

氏名(本籍)	うえ はら さゆり 上原小百合(群馬県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第3099号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	Pathophysiological Analysis in Human Renin and Angiotensinogen Gene Transgenic Mice (ヒトレニン・アンジオテンシン系遺伝子導入動物の病態生理学的解析)
主査	筑波大学教授 農学博士 深水昭吉
副査	筑波大学教授 工学博士 松村正利
副査	筑波大学教授 農学博士 小林達彦
副査	筑波大学教授 獣医学博士 八神健一

### 論文の内容の要旨

ヒトレニン-アンジオテンシン系(RAS)遺伝子導入動物の2系統において、作製時に予想しえなかった病態を2つ見出し、その病態解析を行った。

#### 1) ヒトレニン遺伝子導入マウスに生じた肥満の病態解析

ヒトレニン遺伝子導入マウスが、遅発性の自然発症肥満を呈することを発見した。この肥満は雄にのみ認められ、30週齢以降に著明となった。

同一環境で飼育した、60週齢のヒトレニン遺伝子導入マウスとその背景系統である野生型マウス(C57BL/6j)の体重は、各々 $53.6 \pm 3.4\text{g}$ 及び $27.8 \pm 0.25\text{g}$ であった。肥満したヒトレニン遺伝子導入マウスは、正常マウスに比べて軽度であるが、摂取量が多かった。また、血圧は、C57BL/6jマウスとヒトレニン遺伝子導入マウスで同程度であった。

解剖所見では、体脂肪量の顕著な増加、高血糖、高脂血症、血漿インスリン、レプチン濃度の上昇、脂肪肝および膵臓のランゲルハンス島の過形成を示していた。肥満がヒトレニン遺伝子の量に依存しているのかどうかを検討するため、ヒトレニン遺伝子導入マウスとC57BL/6jマウスを掛け合わせ、レニン遺伝子をヘテロに持つマウスを作成し、体重変化を調べた。ヘテロマウスは、ヒトレニン遺伝子をホモに持つマウスに比べて肥満が軽度であった。

人間において、肥満は遺伝子と環境因子の両者に影響されていることが知られている。マウスでも、食事誘発性肥満(Diet induced obesity : DIO)への感受性に系統差があることが報告されており、C57BL/6jマウスはDIO易発症系統であった。そこで、ヒトレニン遺伝子がC57BL/6jマウスのDIO感受性に影響を与えたかどうかを検討するため、5週齢の雄性ヒトレニン遺伝子導入マウスとC57BL/6jマウスに対し高脂肪食を7週間負荷した。ヒトレニン遺伝子導入マウスはC57BL/6jマウスに比べて顕著な体重増加を示し、血中インスリン及びレプチン濃度の上昇も認められた。また、自然発症肥満と同様に脂肪肝やランゲルハンス氏島の肥大も認められた。更にレニン遺伝子の量がDIO感受性に影響を与えているかどうかを検討するために、ヘテロマウスにも高脂肪食負荷を行った。ヘテロマウスの体重増加はレニン遺伝子をホモにマウスに比べて軽度であった。このことは、レニン遺伝子がC57BL/6jマウスのDIO感受性に影響を及ぼしていることを示唆した。

近年、アンジオテンシンⅡが、前駆脂肪細胞の細胞周期の進行や脂肪細胞への分化促進、脂肪酸合成に関与す

る酵素の発現誘導などを行っていることが報告された。更に、アンジオテンシノーゲン遺伝子欠損マウスが脂肪の低形成を示し、脂肪特異的なマウスアンジオテンシノーゲン遺伝子の導入によってその脂肪組織の発達が正常化されたことも報告されている。そこでACE阻害剤及びアンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬を用い、ヒトレニン遺伝子導入マウスのDIO感受性亢進にRASが関与しているかどうかの検討を行った。高脂肪食負荷と同時に各薬剤を7週間投与したが、体重および体脂肪量に対する両薬剤の有意な影響は認められなかった。従って、ヒトレニン遺伝子はAⅡ以外の機序によってDIO感受性を亢進させていると考えられた。今後、当マウスの肥満のメカニズムを解明することにより、新しい肥満の発症機序を見出せる可能性が示された。

## 2) つくば高血圧マウスに生じた多尿の病態解析

つくば高血圧マウスは、ヒトレニン遺伝子とヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子の両方を持つ遺伝子導入マウスである。このマウスは体内のRASの亢進により、高血圧や臓器障害を発症する。アンジオテンシンⅡはアルドステロンを分泌させ、直接及び間接的に腎臓からの電解質と水の再呼吸を亢進させて体内の水分量を増加させることが知られているが、つくば高血圧マウスでは逆に多尿が認められた。この多尿の発症機序を調べるため、尿濃縮力を測定したところ、正常マウスに比べて低下が認められた。また、低カリウム血症、高アルドステロン血症、尿中アルドステロン、バソプレッシンの排泄の上昇も認められた。これらの結果から、このマウスの多尿は、高アルドステロン血症の持続によって生じた低カリウム血症により、尿濃縮機能が低下した結果生じたものと考えられた。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、遺伝的に作製した遺伝子導入マウスを用い、遅発性の肥満が自然発症することを見だし、また高血圧を発症する際に多尿になるメカニズムの一端を解明したものである。通常、遺伝子改変マウスを1年以上に渡り長期間飼育することはなく、本実験を遂行した洞察力は優れていると評価される。また、本高血圧マウスで認められた多尿は、尿濃縮力の低下をとめない、低カリウム血症、高アルドステロン血症、尿中アルドステロン、バソプレッシンの排泄の上昇も認められた。以上から、このマウスの多尿は、高アルドステロン血症の持続によって生じた低カリウム血症による尿濃縮機能の低下である可能性が世界で初めて示された。

以上のように、本研究は遺伝子改変マウスに生じる病的変化を捉えただけでなく、モデル動物の重要性を示唆するものであり、単に実験動物学的な見地のみならず、栄養生化学的側面から生活習慣と代謝制御の破綻の接点を明らかにした点でインパクトは大きいと判断する。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。