

| | |
|---------|---|
| 氏名(本籍) | 柿沼由彦(東京都) |
| 学位の種類 | 博士(医学) |
| 学位記番号 | 博甲第2388号 |
| 学位授与年月日 | 平成12年3月24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 | 医学研究科 |
| 学位論文題目 | Impaired blood-brain barrier function in angiotensinogen-deficient mice (アンジオテンシノーゲン遺伝子欠損マウスにおける脳血液脳関門の異常) |
| 主査 | 筑波大学教授 獣医学博士 八神健一 |
| 副査 | 筑波大学教授 医学博士 山口 巖 |
| 副査 | 筑波大学教授 医学博士 渡邊照男 |
| 副査 | 筑波大学教授 医学博士 松井 陽 |
| 副査 | 筑波大学助教授 医学博士 有波忠雄 |

論文の内容の要旨

(目的)

renin-angiotensin系(RAS)の役割には、古典的にはangiotensin II receptor(主にタイプ1受容体:AT1)を介する平滑筋収縮作用による血管tonusの維持・血圧上昇作用、腎臓におけるNa再吸収・K排泄・糸球体内圧の調節作用などが報告されてきた。さらにRASの中樞作用として飲水行動の惹起という作用も認められ、末梢RASとは独立した中枢神経系(CNS)のRASの存在が示唆されている。近年、RASの詳細な機能解析に遺伝子欠損マウス(angiotensinogen, ACE, AT1a/1b, AT2の遺伝子欠損マウス)が応用されつつあるが、中枢神経系におけるRASの詳細な機能解析は報告されていない。そこで、本研究ではangiotensinogen遺伝子欠損マウスを用いてCNSにおけるRASの新たな機能を明らかにすることを目的とした。

(対象と方法)

遺伝子欠損特有の表現型を著明にもつAgtマウス(AgtKO)のcongenic lineを作製し、angiotensinogenのCNSでの唯一の産生系であるastrocyteに注目し、脳の凍結損傷(cold injury, CI)モデルを用いて、astrocyteの損傷に対する修復機能を解析した。AgtKOにCI処置を施した後、astrocyteの増殖、遊走能、形態学的変化をastrocyteの同定に用いるGFAP(glial fibrillary acid protein)を指標にして、野生型マウスと比較した。また、AgtKO由来astrocyteの接着能、AIIおよびAIVに対する反応性(形態学的変化、GFAP産生能)を検討し、さらにAgtKOにおけるCI後のblood-brain barrier(BBB)の再構築の状況を野生型マウスのそれと比較、検討し、angiotensin II(AII)あるいはangiotensin IV(AIV)のBBB再構築過程への関与を調べた。

(結果)

1) 野生型では、CI後にastrocyteがparaventricular zone(PVZ)さらにはcorpus callosumより損傷部位に向かって増殖、遊走した。このastrocyteは形態学的にはhypertrophyとprocessの伸長を起し、GFAPの発現亢進や細胞外マトリックスの産生増加が認められ、いわゆるreactive astrocyteと呼ばれる特性を示していた。この現象は、

CIにより一時的に astrocyte の endfeet が血管から離脱し、その後 BBB を再構築していくプロセスの上で重要な変化であり、障害部位における局所的な脳内毛細血管内皮細胞と astrocyte の endfeet の接触に、astrocyte 由来の細胞外マトリックスが重要な関わりをもっていることを示唆している。

2) AgtKO および野生型マウスに対する脳損傷において、野生型では脳損傷後 BBB の一時的な破壊はおよそ 5 日間で回復し再構築されたが、AgtKO では astrocyte の活性化がみられず、BBB の再構築が不完全であった。野生型の astrocyte は hypertrophy を起こしたのに対して、AgtKO の astrocyte に顕著な変化はなく、process の伸長や hypertrophy も認められなかった。すなわち AgtKO には BBB の再構築という病態生理学的に重要な機能の異常が示唆された。

AgtKO の astrocyte では活性化時の細胞外マトリックス産生が野生型に比べて著しく少なく、AgtKO では特に laminin の産生が著明に低下し、血管に沿った laminin の染色がほとんど認められず、astrocyte において RAS が細胞外マトリックスの産生に促進的な効果をもたらす可能性が示唆された。さらに、AgtKO マウスから単離した初代培養 astrocyte の細胞接着能は野生型マウスと比較して低下していた。しかし、ngiontensin fragment (AII あるいは AIV) の存在下で接着能は改善された。さらに AgtKO 由来の astrocyte は AII あるいは AIV の添加により、GFAP 発現増加と astrocyte の形態変化を回復した。すなわち AgtKO では脳損傷時の BBB の回復に必要な astrocyte の GFAP の発現増加や process の伸長が欠失しているが、ngiontensin fragment により回復した。さらに CI 後の BBB の再構築において、AgtKO マウスでは野生型と比べて BBB の回復が著しく遅れ、この遅れも otensin fragments により改善されることが示された。このことは、CNS において astrocyte を介した BBB の再構築における RAS の直接的な役割を示唆するものである。

(考察)

本研究では、CNS における RAS が astrocyte の機能維持に重要な役割を持ち、特に RAS が astrocyte を介して BBB の再構築にも関与することを初めて明らかにした。しかし、今回の研究によってさらに以下の課題が生み出された。すなわち CNS における RAS はこれまで末梢で知られてきた古典的な経路と異なる別のプロセッシング経路をもつのか、また CNS の RAS がどのような別の新たなシステムと相互作用をもつのか、その責任分子は何かという点である。この AgtKO をひとつのモデルとして、今後のさらなる研究が必要とされる点である。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、アンジオテンシノーゲン遺伝子欠損マウスを用いて、中枢神経系における renin-angiotensin 系 (RAS) の機能を検討し、脳損傷時に RAS が astrocyte を介して blood brain barrier (BBB) の再構築に関与することを明らかにしたものである。これは RAS の新たな機能を発見したばかりでなく、臨床的にも重要な BBB 再構築の分子機構の解明につながる点で注目される研究であり、学位論文として高く評価できる。今後、中枢神経系において RAS の機能発現に介在する分子の探索や中枢神経系以外での組織修復に対する RAS の関与など、このモデルマウスを用いた研究の展開が期待される。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。