

| | | | |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|---------|
| 氏 名 (本籍) | もり 森 | たけ 建 | ふみ 文 |
| 学 位 の 種 類 | 博 | 士 | (医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 医 博 第 | 1 4 5 7 | 号 |
| 学位授与年月日 | 平 成 10 年 | 3 月 | 25 日 |
| 学位授与の条件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 | | |
| 研 究 科 専 攻 | 東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 内科学系専攻 | | |
| 学 位 論 文 題 目 | The role of glutamic acid decarboxylase in the hypothalamus of spontaneously hypertensive rat : Rapid quantitative analysis of the mRNA. (高血圧自然発症ラットにおける glutamic acid decarboxylase の役割 : mRNA の迅速な定量的 解析) | | |
| | (主 査) | | |
| 論 文 審 査 委 員 | 教授 伊 藤 貞 嘉 | 教授 矢 嶋 | 聰 |
| | 教授 柳 澤 輝 行 | | |

論文内容要旨

研究目的

高血圧自然発症ラット (SHR) は本態性高血圧の病態生理研究に用いられている。SHR では視床下部の GABA neuron の神経伝達能力が低下し、高血圧発症への関与が考えられている。GABA 産生酵素である glutamic acid decarboxylase (GAD) 活性も視床下部において正常血圧ラット, Wistar-Kyoto rat (WKY) に比し SHR で低下していることが知られている。SHR の高血圧発症における GABA や GAD の役割については未だ不明な点が多く、その産生に関して GADmRNA 量を SHR において検討した報告はない。従来、用いられてきた northern blot hybridization 法では個体間での GADmRNA の変化を脳の微量組織中からの比較は困難であった。そこで、GADmRNA に対する competitive PCR の系を確立し、SHR 視床下部における GAD の mRNA の変化を高血圧発症前と発症後で検討した。

研究方法

11 週齢の SHR と WKY を用いて血圧を測定し、血漿 AVP 濃度 (pAVP) を高感度 RIA 法で定量した。また、4 週齢の SHR と WKY の視床下部を摘出し、guanidine-CsCl 超遠心法により total RNA を精製した。Competitive PCR のための competitor を 67kDa GAD (GAD67) の mRNA に対しては Galea らの方法に準じて作製し、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) の mRNA に対しては Celi らの方法に準じて作製した。段階希釈した competitor を用いて GAD67mRNA および GAPDHmRNA 量の competitive PCR 法での定量性を検討した。4 週齢と 11 週齢の SHR と WKY を tailcuff 法で血圧を測定のもの、視床下部を摘出し guanidine-CsCl 超遠心法により totalRNA を精製した。これらに含まれる GAD67mRNA および GAPDHmRNA 量を一定量の competitor を用いた competitive PCR 法で比較した。

研究結果

11 週齢での血圧は WKY に比し、SHR で有意な上昇を認めた ($p < 0.01$) が、この週齢の p-AVP は WKY が $1.1 \pm 0.3 \text{ pg/ml}$ に対し、SHR では $6.4 \pm 4.5 \text{ pg/ml}$ であり、SHR では上昇傾向にあった。段階希釈の competitor を用いた competitive PCR 法で GAD67mRNA の Log_{10} (target/competitor) は 4 週齢の SHR と WKY の 2 検体間で直線性があり、最小二乗法を用いた回帰直線は SHR と WKY 間で互いに平行であった。GAPDHmRNA に対しては最小二乗法を用いた回帰直線は SHR と WKY 間に差がなかった。一定量の competitor を用いた

competitivePCR での GAD67mRNA 量は 4 週齢, 11 週齢とも SHR では WKY に比し有意に低下していた (4 週齢 ; $p < 0.05$, 11 週齢 ; $p < 0.01$) が, 4 週齢と 11 週齢間では SHR, WKY とも有意な差は認められなかった。

本研究では GAD67mRNA の competitive PCR による定量系を確立し, SHR の高血圧発症前後における視床下部での GAD67mRNA 量を同週齢の WKY と比較した。11 週齢の SHR では同週齢の WKY に比し pAVP は増加傾向で, 視床下部での GAD67mRNA 量は SHR において低下していた。高血圧発症前後の視床下部 GAD67mRNA 量は SHR では同週齢の WKY に比し低下していた。このことから SHR では視床下部の GAD67mRNA 量が低下し, このことが GABA 産生能を低下させ血圧上昇や pAVP の増加をもたらしている可能性が考えられた。SHR では視床下部の GABA の産生能の低下が, 少なくとも部分的に高血圧の発症もしくは維持に関与していると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

γ -aminobutyric acid (GABA) は脳内における抑制性神経伝達物質として知られ、血圧の調節や vasopressin (AVP) 分泌等に関与することが報告されている。GABA を脳室内投与すると血圧は低下することが知られている。本態性高血圧の病態生理研究に用いられている高血圧自然発症ラット (SHR) では、視床下部の GABAergic neuron の GABA 分泌低下があり、高血圧発症への関与が考えられている。GABA は神経細胞内で glutamic acid decarboxylase (GAD) によって産生されるが、SHR の視床下部では GABA の産生能が正常血圧ラットの Wistar-Kyoto rat に比し低下していることが報告されている。

本研究では、GABA を産生する酵素自体の産生が核酸レベルからの調節を受けているか否かを検討するために、視床下部での GADmRNA 量を検討している。微量組織中での mRNA の変化をとらえるために、GADmRNA の competitive PCR の系を確立し、SHR の視床下部の GADmRNA 量が低下していることを見出した。SHR の視床下部で GABA の分泌低下に対し遺伝子調節の存在を検討した報告はなく、加えて、GAD の産生について検討したものもない。

本論文は、高血圧の発症や維持に対する脳内 GABA の役割を理解する上で重要であり、博士論文に値する。