

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 大 橋 芳 雄

本研究は、中枢および末梢神経系において広範に存在する神経伝達物質の一つである α カルシトニン遺伝子関連ペプチド(α CGRP)の生体内、特に侵害受容、心血管、および呼吸調節における役割を明らかにするため、発生工学の手法を用いて遺伝子欠損マウスを作成し解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1.カルシトニン (CT) / α CGRP 共通遺伝子において、 α CGRP を特異的にコードする第5エクソンにネオマイシン耐性遺伝子を挿入したDNA コンストラクトを作成し、エレクトロポレーションによってES細胞に導入することにより遺伝子欠損マウスを樹立した。RT-PCR および免疫組織学的検討により α CGRP の欠損が確認された。また、 β CGRP の代償性の過剰発現の存在しないこと、およびCTの産生に影響がないことも確認された。

2.侵害刺激に対する反応性の検討では、hot plate test による温度刺激、および tail clip test による疼痛刺激いずれに対しても α CGRP 欠損マウスと野生型マウスで反応性に差を認めなかった。一方、カプサイシン足底内皮下注による化学刺激に対しては、有意に α CGRP 欠損マウスで lick frequency の低下が認められた。 α CGRP は、通常の温痛覚にはあまり関与していないが、急性炎症を伴う強い組織障害に際しては痛みの重要な伝達物質であることが示された。

3. α CGRP 欠損マウスは野生型マウスに比較して麻酔下、無麻酔・無拘束下ともに有意に高い平均血圧、心拍数を示した。末梢性 α_1 -blocker であるプラゾシンの腹腔内投与後も心拍数は α CGRP 欠損マウスで有意に上昇していたが、血圧の差は消失した。一方、心臓超音波法による検討では一回拍出量に差を認めず、 α CGRP 欠損マウスにおける血圧の上昇は、心拍数上昇の結果ではなく末梢血管抵抗の上昇によるものであることが示された。

4. α CGRP が心臓自律神経系に及ぼす影響を検討するために行った薬物投与実験では、アトロピン投与により野生型マウスの方が心拍数の上昇率の大きいこと、またアテノロール投与では逆に α CGRP 欠損マウスの方が心拍数の減少率が

大きいことが示された。さらに、動脈圧受容体反射の検討において、血圧一心拍数関係を示す曲線は α CGRP 欠損マウスと野生型の間で差はなかったが、アトロピン投与による心臓副交感神経系の抑制下での検討では α CGRP 欠損マウスにおいて曲線の右方偏位が認められた。一方アテノロールによる交感神経抑制下では差は認められず、これらのことから α CGRP 欠損マウスでは交感神経活性が亢進していることが示された。尿中カテコラミン代謝産物の増加および心拍変動の減少も α CGRP 欠損マウスで認められ、いずれも交感神経活性の亢進を支持するものであった。

5.呼吸調節における α CGRP の役割を明らかにするために行った tail pinch 刺激試験、フェニルビグアナイドを用いた pulmonary chemoreflex および NaCN を用いた arterial chemoreflex の検討では、 α CGRP 欠損マウスと野生型で呼吸数の変動に差は認められず、 α CGRP はこうした呼吸の反射の調節にはあまり関与していないことが示された。

以上、本論文は α CGRP 遺伝子を特異的に欠失する遺伝子改変マウスを作成し解析することで、生体における α CGRP の役割を、特に侵害受容、循環調節、呼吸調節の面から明らかにした。In vitro の系における α CGRP の多彩な生理作用が報告されているが、本研究は、実際の生体レベルでの α CGRP の生理的、病態生理的意義の解析に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。