

審査の結果の要旨

氏名 細田 千尋

本研究は血管収縮、血圧調整に重要な役割を演じている α_1 アドレナリン受容体(以下、 α_1 -AR; α_{1A} -AR、 α_{1B} -AR、 α_{1D} -ARの各サブタイプが存在)の組織における発現分布と機能的役割を明らかにするため、 α_{1B} -ARサブタイプ遺伝子欠損マウス(以下、 α_{1B} -Knoch Out mouse、 α_{1B} -KO)、 α_{1D} -ARサブタイプ遺伝子欠損マウス(以下、 α_{1D} -Knoch Out mouse、 α_{1D} -KO)から α_{1B} -AR、 α_{1D} -ARサブタイプ遺伝子2重欠損マウス(以下、 α_{1BD} -Double Knoch Out mouse、 α_{1BD} -KO)を作製しWild typeマウス(以下WT)と共に分子生物学的、薬理的機能解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

- (1) 各マウスの胸部大動脈、腸間膜動脈のmRNAから通常のRT-PCRで得られたDNA産物にTaqMan probeとリアルタイムPCR装置を使用してmRNA発現の定量的解析を行ったところ α_{1B} -KOマウス、 α_{1D} -ARマウス、 α_{1BD} -KOマウスにおいて残存する α_1 -ARサブタイプの統計学的に有意な代償性発現増加は認められずWTマウス胸部大動脈の α_1 -ARサブタイプmRNAの発現量は胸部大動脈では α_{1D} -AR \gt α_{1B} -AR \gt α_{1A} -ARの順位でありWTマウス腸管膜動脈では α_{1D} -AR \gt α_{1A} -AR \gt α_{1B} -ARであることが示された。
- (2) 次に摘出した各マウス胸部大動脈と腸管膜動脈に対してノルエピネフリン(以下NE)を投与した時の収縮反応を観察したところ、胸部大動脈のNE濃度反応曲線ではいずれの曲線も統計学的に有意差($p<0.05$)を有し、NEへの感受性はWTマウス、 α_{1B} -KOマウス、 α_{1D} -KOマウス、 α_{1BD} -KOマウスの曲線の順に低下し α_{1BD} -KOマウスではNEへの反応はほぼ消失していた。腸管膜動脈のNE濃度反応曲線ではWTマウスと α_{1B} -KOマウスの曲線間に統計学的有意差が無く、同様に α_{1D} -KOマウスと α_{1BD} -KOマウスの曲線の間にも有意差は無かった。しかしWTマウスと α_{1B} -KOマウスの曲線に対して α_{1D} -KOマウスと α_{1BD} -KOマウスの曲線は統計学的に有意差($p<0.05$)を有し、かつNEへの感受性、最大収縮反応のいずれに関してもWTマウスと α_{1B} -KOマウスに対して α_{1D} -KOマウスと α_{1BD} -KOマウスが有意($p<0.05$)に低い結果となった。ただし胸部大動脈と異なり α_{1BD} -KOマウスの曲線においても明らかな収縮反応が認められた。この各マウス胸部大動脈および腸管膜動脈の薬理的解析から推測したマウス胸部大動脈および腸管膜動脈のNE誘発収縮反応への各 α_1 -ARサブタイプの関与の順位は、胸部大動脈： α_{1D} -AR \gt α_{1B} -AR \gg α_{1A} -AR \approx 0、腸管膜動脈： α_{1D} -AR \gt α_{1A} -AR \gg α_{1B} -AR \approx 0であることが示された。またこれらの結果は α_1 -AR各サブタイプのmRNAの発現順位とも相関性が高いことが示

された。

- (3) 覚醒下、拘束状態でtail cuff 法にて測定された血圧を安静時血圧と定義し観察した。また、右頸動脈留置カテーテルを介して覚醒下、拘束下に平均動脈圧(mean arterial pressure; MAP)の測定を行い、さらに α_1 -ARの作動薬および拮抗薬の投与後の血圧反応を観察したところ、各マウス群の安静時SBPは、WTマウスと α_{1B} -KOマウスの安静時SBPに対して α_{1D} -KOマウスと α_{1BD} -KOマウスの安静時SBPが統計学的に有意($p < 0.05$)に低い結果となった。またWTマウスのMAPは α_{1D} -KOマウスと α_{1BD} -KOマウスと比較して統計学的有意に高く($p < 0.05$)、 α_{1B} -KOマウスのMAPは α_{1BD} -KOマウスのMAPにそれぞれ統計学的有意に高かった($p < 0.05$)。いずれの測定法においてもHRは各マウス間に有意差は認められなかった。NE投与時のMAPはNE濃度反応曲線が全マウス間で統計学的有意差($p < 0.05$)を示しWTと比較して α_{1B} -KO、 α_{1D} -KO、 α_{1BD} -KOの順に昇圧反応が低下した。またマウス大腿静脈から経静脈的に α_1 -AR選択的拮抗薬プラゾシン、 α_{1D} -AR選択的拮抗薬BMY7378 (以下BMY) を前処置した後、NEを投与しMAP測定を行ったところWTマウスの血圧反応と比較して α_{1B} -KOマウスは最大反応に有意差はなかったが、BMYによる拮抗作用が有意($p < 0.05$)に増強していた。 α_{1D} -KOマウスでは最大反応がWTマウスと比較して有意($p < 0.05$)に低下していた。 α_{1BD} -KOマウスでは有意なNE誘発血圧反応を認めなかった。以上のことからマウスの血圧調整にはすべての α_1 -ARサブタイプが関与することが示されたが α_{1B} -AR サブタイプと α_{1D} -AR サブタイプを比較した場合は α_{1D} -AR サブタイプが血圧維持により重要な役割を演じていることが示された。
- (4) 7週齢から9週齢、体重18.3g ~ 23.1gのWT マウス(16匹)、 α_{1B} -KOマウス(15匹)、 α_{1D} -KO マウス(16匹)、 α_{1BD} -KO マウス(15匹)にて左腎の部分切除、右腎全摘除、1%食塩水負荷を行う食塩水負荷高血圧モデルを作製しtail cuff 法にて収縮期血圧(SBP)と心拍数(HR)を処置後35日間測定したところ、非処置のコントロールの α_{1D} -KOマウスと α_{1BD} -KOマウスのSBP がコントロールのWTマウスと α_{1B} -KOマウスのSBPに対して有意($p < 0.05$)に低下していた。また1%食塩水負荷後21日目から α_{1D} -KOマウスと α_{1BD} -KOマウスの平均SBPはWTマウスと α_{1B} -KOマウスの平均SBPと比較して有意($p < 0.05$)に低値を示した。1%食塩水負荷後33、34、35日目の平均SBPはいずれのマウスもコントロールSBPより有意($p < 0.05$)に上昇していたが α_{1D} -KOマウス、 α_{1BD} -KOマウスの1%食塩水負荷後33、34、35日目の平均SBPはWTマウス、 α_{1B} -KOマウスのSBPに対して有意($p < 0.05$)に低い値であった。HRはコントロールにおいても1%食塩水負荷後33、34、35日目の平均値においても各マウス間において有意差なく、各マウス間毎のコントロールと1%食塩水負荷後33、34、35日目の平均値間においても有意差は認められなかった。以上のことからマウスの食塩水負荷高血圧発症には α_{1D} -ARは重要な役割を演じているが α_{1B} -ARはその関与は乏しいことが示された。

以上、本論文は α_1 -AR サブタイプ遺伝子欠損マウスを使用した解析から各 α_1 -AR サブタイプの血

圧維持、高血圧発症における機能的役割および血管系における α_1 -AR 各サブタイプの mRNA レベルの発現分布様式を明らかにした。本研究は詳細に関して今だ不明な部分の多い血圧維持、高血圧発症の解明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。