

論文の内容の要旨

論文題目 **Enhanced erythropoiesis mediated by activation of the renin-angiotensin system via angiotensin II type 1a receptor**

和訳 レニン-アンジオテンシン系の活性化は、アンジオテンシン II type 1a 受容体を介して赤血球産生を亢進させる

指導教官 藤田敏郎 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成14年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 加藤 秀樹

【背景】

レニン-アンジオテンシン系(RAS)は主にアンジオテンシン II (Ang II)を介して血圧コントロールや体液量を調節するのみならず、さまざまな臓器を標的として数多くの影響を及ぼしている。RAS活性化が赤血球産生に関与することが臨床的、または動物実験において古くから示唆されている。まずAng IIがヒト、または動物においてエリスロポイエチン(Epo)を上昇させることが知られている。また次に、Ang IIが骨髄の前期赤芽球性前駆細胞(BFU-E)に直接的に働きcolonyを増やすという報告と、逆にこれを減少させる、という報告がこれまでになされている。このような状況において①慢性的にRASが活性化すると、赤血球産生は個体において増加するのか、減少するのか、②Ang IIには3つの受容体subtype(AT1a, AT1b, AT2受容体)が存在するが、個体においていずれの受容体を介しているのか、③Epoの上昇と、骨髄細胞に対する直接刺激のどちらが

重要な役割を果たしているのか、が依然として不明である。本研究では、遺伝子改変マウス、骨髄移植実験を用いて、RAS活性化が赤血球産生に及ぼす経路をin vivoで明らかにすることを目的とした。

【方法】

当研究室では、ヒト・レニンとヒト・アンジオテンシノーゲン・トランスジェニックマウスの交配により、高血圧を呈するマウスを報告しているが(つくば高血圧マウス:THM)、今回このマウスが多血症を呈することを偶然見いだした。このAng II 過剰マウスの多血症原因受容体を遺伝学的に明らかにするため、Ang II のもっとも重要な受容体のsubtypeであるAT1a受容体ノックアウトマウス(AT1aKO)をTHMに導入した。

またTHMに骨髄移植実験を施行しwild-type (WT)またはAT1aKOの骨髄で置換する実験を行い、過剰なAng II が直接骨髄のAT1受容体を介して赤芽球を刺激する効果が個体内においてどの程度であるかを検討した。

さらに各マウス血中Epo濃度をELISAで測定した。また各マウスの腎臓のEpo mRNAをreal-time PCRを用いて定量した。

【結果】

THMはWTマウスと比べ約25%のヘマトクリットの増加が認められ、また網状赤血球の増加が認められた。また多血症による脾腫も認められた。このことは慢性的なRASの活性化は赤血球増多の方向に働くことを示している。次にTHMにAT1aKOを遺伝学的に導入すると(THM/AT1-KO)、多血症はほぼ正常レベルまで回復が認められた。また網状赤血球数、脾腫も正常レベルまで改善が認められた。

次にTHMに骨髄移植実験を施行し、THMにWTまたはAT1aKOの骨髄を移植した。仮に生体内においてAng II が骨髄細胞のAT1受容体を直接刺激して、多血症となっている影響が強いのであれば、THMにAT1aKOの骨髄を移植した群は(THM<-AT1-KO)、THMにWTの骨髄を移植した群(THM<-WT)よりもヘマトクリットの低下が認められると考えられる。またコントロールとしてWTにWTの骨髄移植をした群も施行した(WT<-WT)。結果としてはTHM<-AT1-KO、THM<-WTともにWT<-WT

と比べて多血症が認められたが、THM⁻AT1-KO、THM⁻WTの両群でヘマトクリットに有意な違いは認められなかった。以上のことから骨髄細胞中のAT1受容体はRAS活性化による多血症には影響は少ないと考えられた。

次にそれぞれのマウスで血清Epoの濃度をELISAを用いて測定したところ、THMでWTと比較して有意に上昇が認められ、またTHM/AT1-KOではTHMと比較して有意に減少が認められた。またEpoは成熟個体においては主に腎臓から産生されるが、血中Epo増加が腎臓からの産生増大に由来するか否かを、real-time PCRを用いてEpo mRNAの定量を行ったところ、THMではWTの腎臓と比べ、Epo発現の増加が認められた。以上からRASの活性化により、主に腎臓からの血中のEpo増加を介して赤血球増多が起こることが示された。

【結論】

1.慢性的なRASの活性化により個体内において赤血球が増加するのか、低下するのか、不明であったが、遺伝子改変動物を用いて増加することが示された。2.その主要な受容体はAT1a受容体であることが示された。3. Ang II が直接的にAT1受容体を介して骨髄の赤芽球に作用し赤血球を増加させているとの報告があるが、個体内においては必ずしも必要ではないことが示された。4. RASの活性化によりAT1a受容体を介して腎臓からのEpo産生増加が生理学的に重要であることが示された。