

氏名 眞下知士
 学位(専攻分野) 博士 (人間・環境学)
 学位記番号 人博第89号
 学位授与の日付 平成12年3月23日
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
 研究科・専攻 人間・環境学研究科文化・地域環境学専攻
 学位論文題目 高血圧, 脳卒中, 動脈硬化の遺伝的素因解明に向けて
 ——モデル動物を用いた遺伝学的解析——

論文調査委員 (主査) 教授 家森幸男 教授 津田謹輔 助教授 森谷敏夫

論文内容の要旨

本態性高血圧症や動脈硬化, 脳卒中などの成人病は, 多因子遺伝性疾患といわれ, 複数の遺伝因子と環境因子が複雑に相互作用して発症すると考えられている。これら疾患の遺伝素因を解明することは本質的治療法の開発に貢献するだけでなく, 疾患を発症する前に診断し, 遺伝素因を持つ人に対してのみ環境因子を制御することにより, 効率的な疾患の発症予防が可能となる。しかし, それら多因子遺伝性疾患の素因遺伝子を同定することはその病態発症機序, 作用機構の複雑さゆえ容易なことではない。その困難さを克服する一つのアプローチとして, モデル動物を用いた戦略が有効であると考えられる。理由は1) モデル動物は遺伝的に均一であり, 2) 環境因子を制御しやすく, 3) 実験的に巨大な家系を作製することが可能である点があげられる。本研究では, 本態性高血圧症および脳卒中のモデル動物である脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (SHRSP) を用いて, 本態性高血圧症 (第2章), 脳卒中 (第3章), 脂質代謝異常 (第4章) に関わる素因遺伝子を解明するために, 遺伝学的解析を行った。

SHRSPにおける高血圧遺伝子を同定するために, SHRSPコントロール系統であるWKYを交配して作製したF2世代を対象に, 血圧値とラット全染色体上の遺伝マーカーとの連鎖解析を行った。その結果, 高血圧遺伝子がラット第1, 3, 4, 10染色体上の4箇所の領域に存在することを見いだした。さらに, それら高血圧遺伝子座位の血圧に対する影響が年齢や食塩負荷のような環境因子により大きく変動することを明らかにした。

高血圧素因以外の脳卒中発症に関わる遺伝的素因 (脳卒中易発症遺伝子) の存在が, これまでヒトやモデル動物を用いた研究から示唆されている。本研究ではさらに, 高血圧遺伝子とは別の脳卒中の発症に関連する遺伝子を同定するために連鎖解析を行った。病理学的所見および脳浮腫に伴う脳重量増加とを脳卒中易発症性の2つの指標としてF2世代を対象にした連鎖解析を行い, ラット第4染色体上に脳卒中易発症性遺伝子が存在することを明らかにした。さらに位置候補遺伝子アプローチとして, 脳卒中易発症性遺伝子の候補となる遺伝子についての遺伝マーカーの開発, 染色体マッピングを行い, 3つの遺伝子 (Tumor necrosis factor receptor 遺伝子, GABA transporter-1 遺伝子, Glucose transporter-3 遺伝子) が第4染色体上の脳卒中連鎖領域に存在することを明らかにした。機能および生理学的研究からもSHRSPにおける脳卒中の発症機序に関与する重要な遺伝子である可能性がある。

高コレステロール血症が動脈硬化性疾患の重大なリスクファクターであることは明らかだが, いくつかの疫学的研究では低コレステロール血症と脳卒中発症との間にその関連性が示唆されている。SHRSPにおいては低コレステロール血症, 高トリグリセライド血症, 反応性高脂血症などの遺伝的な脂質代謝異常がみられ, これら脂質代謝異常が血管障害性および脳卒中易発症性に関連している可能性が考えられる。本研究ではそれら脂質代謝異常の原因遺伝子解明に向けて, 複数の脂質形質 (リポ蛋白, アポ蛋白, 脂肪重量) を測定し, F2世代を対象とした連鎖解析を行った。その結果, 低コレステロール血症の原因遺伝子がラット第5, 15染色体上に, 反応性高脂血症の原因遺伝子が第3, 7, 8, 16染色体上に存在する事を見いだした。さらに第8, 16染色体上の原因遺伝子領域は高トリグリセライド血症, 脂肪細胞の代謝異常とも関連しており, 複数の形質への遺伝的影響 (pleiotropy) が示唆された。

最後に連鎖解析により連鎖が認められた染色体領域において、その原因遺伝子の存在の確認および遺伝子そのものの同定に向けた研究として、コンジュニクラット作製を行った(第5章)。ラット第1染色体上の高血圧連鎖領域のみをSHRSPホモ型として有するコンジュニクラットは、90日齢でWKYよりも有意な血圧の上昇を示した。これによりラット第1染色体上の当該領域において高血圧遺伝子が存在することを証明しえた。このようにして確立されたコンジュニクラットは第1染色体上の高血圧遺伝子のみを有するため、このモデルによって高血圧原因遺伝子病態生理学的意義を明らかにし、原因遺伝子同定への研究をすすめることが可能となった。

論文審査の結果の要旨

本学位申請論文は本態性高血圧症、脳卒中、動脈硬化などの成人病における遺伝的素因を解明することを目的として、それら成人病疾患の遺伝的モデル動物であるSHRSPを用いて遺伝学的解析を行った成果を報告している。

第1章では、本態性高血圧症など成人病の原因遺伝子を同定するための戦略について概説している。本態性高血圧症などの生活習慣病とよばれる疾患は、1)多因子遺伝性疾患であること、2)家系により原因遺伝子が異なる可能性があること、3)食習慣などの環境因子に大きく影響されることなどから、ヒトを対象にした遺伝分析は困難であると考えられてきた。それに対し遺伝的モデル動物を利用することにより上述問題点が克服しうると考え、申請者らは慎重に広範な長期研究計画をたて実施した。

第2章ではSHRSPを用いて本態性高血圧症の遺伝解析をおこない、高血圧遺伝子がラット第1, 3, 4, 10染色体上の4箇所の領域に存在することを明らかにしている。これまでのヒト疫学的研究から多因子遺伝性疾患における個々の遺伝因子の関与の度合いが、年齢とともに変動するのではないかという仮説が考えられてきた。本研究ではそうした観点から研究を推し進め、年齢および環境因子にともない各高血圧遺伝子座位の血圧に対する影響が変動することをF2ラットを利用して初めて実験的に証明した。これら研究成果は今後の遺伝学における遺伝・環境相関の分析の新たな展開に寄与し、疾患遺伝子発現のメカニズムの解明から各ステージ別の疾患治療・予防法の開発にも貢献するものとして高く評価しうる。

ヒト高血圧症に合併する二次的血管障害と考えられる脳卒中、腎不全などの臓器障害に関して、血圧上昇とは独立した遺伝因子の存在が最近注目を集めている。第3章では、SHRSPを用いて高血圧遺伝子とは独立した脳卒中遺伝子を同定することを目的として遺伝解析を行い、ラット第4染色体上に脳卒中遺伝子が存在することを明らかにしている。さらに位置候補遺伝子アプローチによって、脳卒中遺伝子候補として3つの遺伝子が関与する可能性を示した。なかでもTNF(Tumor necrosis factor)は細胞の自然死(アポトーシス)を誘起するカスケードにおいて重要な役割を果たしており、本研究によって得られた結果およびこれまで申請者のグループで報告してきた虚血障害に対するSHRSP由来神経細胞の脆弱性との関連性から、最も有力な候補遺伝子であり、今後の研究の進展が非常に期待される。

第4章では脂質代謝異常を対象とした遺伝解析を行い、低コレステロール血症の原因遺伝子がラット第5, 15染色体上に、反応性高脂血症の原因遺伝子が第3, 7, 8, 16染色体上に存在することを明らかにした。さらに第8, 16染色体上の原因遺伝子が血中トリグリセライド・脂肪重量とも連鎖することから、一つの遺伝子が同時に複数の表現形質(高脂血症、高トリグリセライド血症、および脂肪細胞の異常)に影響する可能性を示した。このことは脂質代謝異常を伴う生活習慣病の病態生理的機序を理解する上で重要な知見といえる。

第5章では、コンジュニクラットを用いてラット第1染色体上の高血圧遺伝子の存在を確認している。このコンジュニクラットは第1染色体上の高血圧遺伝子のみを有するモデル動物として、生理生化学的な実験系においてきわめて有用であり、さらにこのラットを活用すれば遺伝子存在領域を狭め、ひいては原因遺伝子を同定しうると期待される。

申請者らはモデル動物を利用して代表的な生活習慣病である高血圧や脳卒中、さらに脂質代謝異常の遺伝的素因を明らかにすることを試みた。その結果、連鎖解析によって複数の原因遺伝子候補領域を同定し、高血圧についてはその候補領域のみを有するコンジュニクラットの作製に成功した。また病態や発症機序に対する遺伝因子の作用メカニズムに関してもいくつかの新たな知見を得た。申請者の研究がさらに進めばモデル動物における疾患の原因遺伝子が同定されるのみならず、ヒトの生活習慣病の病態生理学的機序を分子レベルで明らかにすることができ、高齢社会で最大の問題となる生活習慣病の予知・予防および治療法の確立に貢献すると期待される。本研究は人間の身体および遺伝と環境との関係の解明を目指す文化地域・環境学専攻、環境保全発展論講座、身体環境解析論の目的に沿ったものである。

よって本論文は(人間・環境学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成12年1月11日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。