

氏 名	ご とう まさ ひさ 後 藤 昌 久
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2354 号
学位授与の日付	平 成 13 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	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Growth-Dependent Induction of Angiotensin II Type 2 Receptor in Rat Mesangial Cells. (ラットメサンギウム細胞における2型アンジオテンシンII受容体の細胞増殖に依存した発現)
論文調査委員	(主 査) 教 授 篠 山 重 威 教 授 小 川 修 教 授 中 尾 一 和

論 文 内 容 の 要 旨

アンジオテンシンII (AII) 受容体には2種類のサブタイプ, 1型受容体(AT₁)と2型受容体(AT₂)が存在する。そのうち, 血管収縮, アルドステロン分泌, 細胞増殖などのAIIの生理作用のほとんどはAT₁受容体を介することが知られている。一方, AT₂受容体は細胞増殖抑制, 血管拡張やアポトーシスへの関与が示唆されているが, その機能的意義はほとんど不明である。AIIの標的臓器として腎臓は重要であり, その多様な構成成分の中で, 特にメサンギウム細胞は糸球体血流や濾過率の調整を介して体液量平衡に関与し, 血圧調節に重要な役割を果たしていると考えられる。また, メサンギウム細胞の増殖は, 進行性腎疾患に共通して認められる特徴である。

AT₂受容体は胎児期の腎臓の未分化間葉系組織に豊富に発現し, 出生後速やかにその発現は減少するが, AT₂受容体と高血圧発症との関連は明らかではない。本研究では, 腎臓, 特にメサンギウム細胞におけるAT₂受容体の発現の有無, さらに高血圧との関連について検討することを目的として, 脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)および対照正常血圧ラット(WKY)由来培養メサンギウム細胞を用いて, AT₂受容体の発現について比較検討した。

培養細胞には細胞密度が密になった状態(confluency)になると増殖速度が抑制される性質があるが, まず, 20週齢WKYおよびSHRSPの腎臓より調製した培養メサンギウム細胞を用いて, 細胞増殖性を検討した。また, 経時的なAT₂受容体の発現を調べるため, confluency 2日前, confluency 直後, confluency 後2, 4, 8日目の培養細胞に対して, AT₁, AT₂受容体に結合する¹²⁵I-[Sar¹, Ile⁸]-AIIおよびAT₂受容体に選択的な¹²⁵I-CGP42112Aを用いた受容体結合実験を行い, AT₁受容体とAT₂受容体の発現量を検討した。さらに, ノーザンブロット法およびRT-PCR法を用いて, confluency 2日前とconfluency 後1週目の培養細胞におけるAII受容体サブタイプの遺伝子発現を比較した。

WKYおよびSHRSPの腎臓組織におけるAT₂受容体発現は胎児期に多く, 成熟ラットでは検出感度以下であった。そこから調製したWKY由来培養細胞において, AT₂受容体発現は細胞増殖条件下ではわずかにしか認められなかったが, confluency 直後より細胞増殖が抑制されるとともに, 著しい受容体発現の亢進を認めた(2日目; $11.0 \pm 0.18 \text{ fmol}/10^6 \text{ cells}$, 8日目; $34.5 \pm 0.55 \text{ fmol}/10^6 \text{ cells}$)。ノーザンブロット法およびRT-PCR法においても同様に, 約20倍のmRNA発現の亢進を認め, 転写レベルでの誘導の可能性が考えられた。一方, SHRSP由来培養細胞では, 接触抑制がわずかで高度の増殖性を示したが, どの細胞密度の状態においても, AT₂受容体発現は著しく低下していた。また, AIIの昇圧活性を媒介するAT₁受容体の遺伝子発現をRT-PCR法を用いて検討したが, AT_{1A}, AT_{1B}受容体サブタイプのいずれも, WKY, SHRSP由来培養細胞ともに, 細胞増殖に依存した明らかな発現変化は認められなかった。

WKY由来培養細胞ではAT₂受容体がconfluency 後より発現し, 細胞増殖抑制的に作用することが考えられた。一方, SHRSP由来培養細胞においてはAT₂受容体発現がWKY由来培養細胞に比し明らかに少なく, このためメサンギウム細胞の増殖抑制をきたさない可能性が考えられた。メサンギウム細胞増殖は, 高血圧性腎障害を含む多くの腎疾患の進展を規定する因子として知られており, メサンギウム細胞におけるAT₂受容体の発現調節の異常は, 高血圧性腎障害の発症・進

展に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

高血圧の成因を解明する上で、糸球体血流・濾過を調節し血圧制御に関わる腎メサンギウム細胞の研究は重要である。本研究では、細胞増殖抑制や降圧に作用すると想定される受容体である2型アンジオテンシンⅡ(AⅡ)受容体(AT₂受容体)の高血圧発症への関与を解明するため、正常血圧ラット(WKY)および高血圧自然発症ラット(SHRSP)由来培養メサンギウム細胞を用いて、AT₂受容体の発現を比較検討した。

WKY由来細胞において、細胞増殖条件下ではAT₂受容体発現はごくわずかであったが、細胞が密(confluency)になり増殖が抑制されるとともに、著しい発現亢進を認めた。一方、SHRSP由来細胞では顕著な増殖亢進を示したが、どの細胞密度の状態においても、AT₂受容体発現は著しく低下していた。また、AⅡの昇圧活性を媒介すると考えられるAT₁受容体は、いずれの細胞でも増殖に依存した発現変化を認めなかった。

これらの結果より、WKY由来細胞では、confluency後に発現が亢進するAT₂受容体が細胞増殖抑制的に作用する可能性が考えられた。一方、SHRSP由来細胞においては明らかにAT₂受容体発現が少なく、このためメサンギウム細胞増殖は抑制されず、高血圧性腎障害をきたす可能性が示唆された。

以上の研究は、高血圧におけるAT₂受容体の関与を示唆し、高血圧発症機構の解明に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年2月7日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。