

P-196 Aminopeptidase A ノックアウトマウスにおける血圧と Angiotensin II 感受性の変化

名古屋大

三井 崇, 野村誠二, 小林穂波, 水谷栄彦

【目的】Aminopeptidase A (APA)は腎臓,胎盤を始め全身の多くの組織に発現しており,様々な生理作用を有する.特に Renin-Angiotensin 系(RAS)においては Angiotensin II(AngII)を Angiotensin IIIに変換し,全身及び局所での RASの調節において重要な役割を担っている.今回我々は APA ノックアウトマウスにおいて血圧を中心に検討を行った.【方法】APA ノックアウトマウスは他施設より譲渡されたものを当施設で継代して実験に利用した.ヘテロ同士で交配して得られたマウスを遺伝子型によりノックアウト型(KO),ヘテロ型(HT),野生型(WT)の3群に分類した.血圧測定は週齢8-10週の雄マウスを用いて tail-cuff methodで行い,同個間で比較検討した.さらに,♂/♀:KO/KO, WT/KO, WT/WTの3つの交配パターンで妊娠中の血圧の変化に差がないかどうか検討した.また浸透圧ポンプを利用して AngIIの持続投与を行い,各遺伝子型で血圧の変化に差があるかどうか検討した.今回の実験は当施設動物実験倫理委員会の承認のもと行った.【成績】収縮期血圧は WT:114.8±2.0mmHg(n=9), HT:117.4±2.0mmHg(n=15)であったのに対し KOでは136.3±2.4mmHg(n=10)と有意に高かった.平均血圧でも同様の傾向が見られた.さらに妊娠中の血圧は WT/KO, WT/WTと比較して KO/KOで高くなる傾向にあった.また AngII 持続腹腔内投与(750 µg/kg/day)に対し,WTと比較して KOの方が血圧上昇の変化が有意に大きかった.【結論】APAは AngIIの代謝に重要な役割を担っており,RASを介して全身の血圧の調節に影響を及ぼしている可能性が示唆された.また AngII 感受性や妊娠中の血圧に影響を及ぼすことから,妊娠中毒症の病態に関与していると考えられる.

P-197 アンジオテンシンレセプターサブタイプによる Na 利尿調節が妊娠時血圧調節に関与しているか~AT1受容体遺伝子欠損マウス, AT2受容体遺伝子欠損マウスを用いた検討~愛媛大¹, 同医化学第一²松原裕子¹, 奥村みどり¹, 堀内正嗣², 伊藤昌春¹

【目的】我々は妊娠時血圧調節に AT1,AT2両受容体(AT1R, AT2R)が関与していることを報告した.アンジオテンシン II(AII)は腎臓において AT1Rを介し,アルドステロンの分泌を促し,また直接作用して尿細管からの Naの再吸収を促進する.また,糸球体輸出入細動脈の血管収縮を起こして糸球体濾過値の調節に関与している.反対に AT2R 刺激は圧-Na利尿の傾きを低下させ利尿作用を減弱させ,また,輸入細動脈の拡張を起こすことが知られている.そこで,今回我々は, AII 受容体サブタイプが妊娠中の利尿調節に関与しているかどうか検討するため以下の実験を行った.【方法】AT1受容体遺伝子欠損マウス(AT1KO), AT2受容体遺伝子欠損マウス(AT2KO), および野生型マウス(WT)を用いて,妊娠中収縮期血圧変動, Na 摂取量,尿量,尿中 Na 量の測定を行った.また,妊娠時,胎盤臍帯,母体腎臓における AII 受容体サブタイプの発現を免疫組織化学的により検出した.【成績】AT1KOで妊娠中期に収縮期血圧変動の有意な低下が, AT2KOでは妊娠後期に有意な上昇が観察された. Na 摂取量,尿量,尿量尿中 Na 量は,妊娠中有意な変動はみられず,また,3群間での有意差も見られなかった.胎盤,臍帯の血管平滑筋細胞に, AT2Rの強い発現が観察され,母体腎臓において,両受容体の妊娠中有意な変化は見られなかった.【結論】以上の結果より, AT1R, AT2Rを介する Na利尿調節は妊娠時血圧に変動を与えないこと,胎盤,臍帯の血管における両受容体の発現バランスが妊娠時血圧に重要であることが確認された.

P-198 妊娠中毒症発症モデルである p57kip2 ノックアウトマウスにおける胎盤内 VEGF の発現

浜松医大

松浦俊樹, 尾松公平, 村上裕介, 大橋涼太, 大井豪一, 茂庭将彦, 西口富三, 杉村 基, 小林隆夫, 金山尚裕

【目的】我々は cyclin-dependent kinase inhibitor の一つである p57kip2 knockout(ko)mouse が妊娠中毒症を発症することを報告したが,その原因として絨毛の過剰増殖と胎盤内血栓が示唆された.そこで胎盤の増殖因子である VEGF(vascular endothelial growth factor)及び PlGF(placenta growth factor)の発現を調べ,妊娠中毒症との関連性を検討した.【方法】実験は当施設の動物実験倫理委員会の承認を得た.このマウスは以前の研究成績より paternal imprinting gene であることが判明しているため,p57kip2発現胎盤は p57kip2-/+ (ヘテロ)の♂と+/+(WT)の♀を,p57kip2非発現胎盤は WTの♂とヘテロの♀を掛け合わせて得た.麻酔下に屠殺後全ての胎盤を採取し,1.抗 VEGF 抗体免疫染色,2.Western blot 法による胎盤上清中 VEGF, PlGF 蛋白レベルの測定,3.PT-PCR 法によるそれぞれの isoform の同定,4.Real-time PCR 法によるそれぞれの mRNA の検出を行った.統計学的解析は Student's-t 検定を用いた.【成績】1.p57kip2Ko 胎盤は WT 胎盤に比し,絨毛の増殖,絨毛間腔の狭小化及び VEGF の発現が著明であった.2.VEGF 蛋白は ko 胎盤では WT 胎盤に比し約 9 倍多く発現していたが,PlGF 蛋白の発現には差はなかった.また,ko 胎盤では VEGF₁₆₅の発現が増強していた.3.VEGF₁₂₀, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₈のいずれの発現も両者の胎盤に認められたが, VEGF₁₈₈は低発現であった.また,PlGF に発現の差は認めなかった.4.Ko 胎盤の VEGF mRNA は,WT 胎盤より 2.4 倍多かったが,PlGF に差はなかった.【結論】胎盤内の VEGF,特に VEGF₁₆₅は胎盤の過剰増殖に関与し,妊娠中毒症の発症を来す可能性が示唆されたが,PlGF の関与は否定的であった.