

論文の内容の要旨

氏名：田 中 翔

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：高血圧自然発症ラットの副腎において血圧日内変動に関連する生体内時計関連遺伝子の探索

血圧日内変動の異常は高血圧治療の余剰リスクとして着目されており、その病態形成の把握は臨床的に重要な役割を持つ。多くの生物現象の概日リズムが時計遺伝子のフィードバックネットワークにより構築される生体内時計に制御されていることから、血圧日内変動の異常と生体内時計との関連も想定されるが詳細は未だ明らかではない。また、高血圧自然発症ラットは血圧日内変動の異常を伴う高血圧モデルであるとともにいくつかの臓器に生体内時計の異常を有することが報告され、血圧日内変動の異常と生体内時計に関する検討に有用なモデルであるが、同ラットの副腎における生体内時計については明らかになっていない。本研究では同ラットの副腎における時計遺伝子の発現を検討するとともに、遺伝子データベースを用いることで血圧制御に関連する時計遺伝子制御遺伝子の抽出を試みた。

SHR/Izm と WKY/Izm の副腎における遺伝子発現を DNA マイクロアレイ法で比較すると、時計遺伝子結合配列における機能毎に系統立てて遺伝子発現が変動しており、両ストレインの生体内時計が異なっていることが予想された。断続的なリアルタイム PCR 法によって各時計遺伝子の発現概日リズムを検討すると、SHR/Izm では複数の時計遺伝子で概日リズムにおける時相が約 4~8 時間程度前進していることと振幅が減弱していることが示され、さらに *E4bp4* の過剰発現とその結果と思われる *Ror* の低発現を認めた。また、全ゲノムシーケンスでは SHR/Izm と WKY/Izm の時計遺伝子領域における配列の差異も明らかとなり、これらの結果から SHR/Izm は副腎に異常な生体内時計を有していることが示された。

次に、Gene Set Enrichment Analysis の Molecular Signatures Database を用いて生体内時計の制御モチーフである E-box 配列を有する遺伝子を抽出すると、1032 個が該当することが明らかとなった。この 1032 個の遺伝子の副腎での発現についてマイクロアレイ法を用いて SHR 系ラットと WKY/Izm で比較すると、SHR 系ラットに共通して発現が変動している遺伝子は 15 個存在した。これらは日内変動に則って生体内時計に制御され血圧に関連する遺伝子であることが示唆されたが、うち 3 個はすでに血圧との関連が報告されていた。リアルタイム PCR 法を用いて、これら 3 つの遺伝子の副腎における発現概日リズムを検討すると SHR/Izm と WKY/Izm で異なっていることが示された。これらの結果から、SHR/Izm の副腎における生体内時計の異常が時計遺伝子制御遺伝子の発現に影響を及ぼしていることが示唆されるとともに、遺伝子データベースを用いた手法が時計遺伝子制御遺伝子の抽出に効果を発揮していることが示された。

今後、これらの遺伝子群の副腎における作用を明らかにしていくことは高血圧治療の余剰リスクである血圧日内変動異常の病態把握につながるものであり、高血圧治療の余剰リスク低減において臨床的に重要な意味を持つと考える。