

審査の結果の要旨

氏名 村瀬 修平

本研究は頭部への物理刺激による高血圧改善効果を確認し、その分子生物学的背景としてとして流体剪断力による **angiotensin II type1 receptor (AT1R)** の発現制御に着目し、その役割について解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 高血圧ラットに対して高血圧改善効果があると報告されている **15 m/min** の適切な速度でのトレッドミルランニング中の頭の動きを解析して、ラットの頭部は頻度 **2 Hz**、上下 **5mm** で動いていることがわかった。
2. 次に、頻度 **2 Hz**、上下 **5mm** でラットの頭部を受動的に上下する (**passive head motion; PHM**) ことができる台を作り、**12 週** 齢の高血圧モデルラットと正常血圧ラットに対して、麻酔下に **4 週間** 連続して頭部の上下動を行なったところ、麻酔のみのコントロール群に対して高血圧モデルラットにおいて高血圧進展抑制効果があることがわかった。コントロール群の高血圧モデルラットにおいて **24 時間** 尿中ノルエピネフリン排出量は、正常血圧ラットと比較し、増加していた。**4 週間** の **PHM** によって高血圧モデルラットの **24 時間** 尿中ノルエピネフリン排出量は、正常血圧ラットと有意な差がなくなるまで減少した。これは **PHM** によって交感神経系の活動が抑制されたことを示唆した。
3. 自律神経中枢は頭側延髄腹外側野 (**RVLM**) に存在する。**RVLM** のアストロサイトの **AT1R** の発現は、高血圧モデルラットは正常血圧ラットと比較し有意に高かったが、**PHM** を負荷した高血圧モデルラットでは減少し正常血圧ラットと有意差が消失した。一方で **RVLM** のニューロンにおいて正常血圧ラットと高血圧モデルラットの **AT1R** の発現に有意な差はなく、また **PHM** による影響もみられなかった。以上から、**PHM** は高血圧モデルラットの **RVLM** のアストロサイトの **AT1R** の過剰な発現を抑制する事が示された。
4. **PHM** によって高血圧モデルラットの **RVLM** で見られるアストロサイトの **AT1R** の発現抑制が実際に **AT1R** シグナルに関与し血圧調節に影響を与えているかを確認するために、**4 週間** の **PHM** の後に、**AT1R** のアゴニストである **angiotensin II** とアンタゴニストである **valsartan** を **RVLM** に直接注射して血圧の変動を確認した。注射によって、高血圧モデルラットでは正常血圧ラットと比較し有意に血圧が変動した。**4 週間** の **PHM** によって高血圧モデルラットの注射に対する反応は減少し、正常血圧ラットと有意な差がなくなった。このことによって、**PHM** によって高血圧モデルラットの **RVLM**

の Ang II に対する感受性の低下、すなわち AT1R シグナルの減少が得られる事がわかった。

5. 次に RVLM のアストロサイトに見られる細胞特異的な AT1R の発現減少が高血圧の進展抑制や交感神経を抑制しているか、PAAV を高血圧モデルラットの両側 RVLM に直接注射し AT1R シグナル抑制蛋白である angiotensin II receptor type-1-associated protein (AGTRAP) をアストロサイトまたはニューロン特異的に発現させた。アストロサイト特異的に AGTRAP を発現させると高血圧改善効果や交感神経抑制効果が見られたが、ニューロン特異的に AGTRAP を発現させても高血圧改善効果や交感神経抑制効果は見られなかった。以上の結果から、高血圧モデルラットにおいて、高血圧の進展や交感神経の過剰な興奮の原因として、RVLM のアストロサイトの AT1R の過剰な発現が関与している事が示された。また、ニューロンの AT1R 発現は大きな関与がない事が示された。これは、高血圧モデルラットに対する PHM の結果と合致した。
6. PHM 中の脳幹の内圧変化と造影剤の広がる速度を計測し、頻度 2 Hz、上下 5mm の受動的頭部上下動によって、脳の細胞に 0.7-3.2 Pa の流体剪断力が負荷される事を示した。
7. 初代培養アストロサイトに対して 0.7 Pa の流体剪断力を 30 分間負荷すると、6 時間後、24 時間後の AT1R の発現が抑制された。一方で、ニューロンにおいては AT1R の発現は抑制されなかった。これはラットに対する PHM の実験の結果を支持した。また、流体剪断力を負荷し 24 時間経過しても AT1R の発現抑制は続いており、PHM による高血圧モデルラットの高血圧進展抑制効果が 2 週間後から得られたという結果とも整合性がえられた。
8. 高血圧モデルラットの間質腔をゲル化し、PHM 中に生じる流体剪断力を減弱させた上で PHM を行なったところ、PHM で得られた高血圧進展抑制効果や交感神経抑制効果は消失した。このことから、PHM によって得られる AT1R の発現の抑制が流体剪断力を通して得られる事が確認できた。

以上、本論文は、頭部への物理刺激によって脳の間質液に流れが生じ脳神経系細胞に対して流体剪断力が付加されること、流体剪断力によってアストロサイトの AT1R の発現が抑制されることを明らかにした。本研究では、日常生活や運動の際に頭部に生じる物理的な刺激が、運動によって得られる交感神経の過剰なシグナルの抑制効果、さらには高血圧抑制効果の分子生物学的な背景の一部として存在することを示した。本研究の知見から、受動的な頭部の刺激によっても AT1R のシグナルが抑制され、高血圧進展抑制効果が得られる事が示された。本研究結果は、頭部への物理刺激によって脳の間質に生じる流体剪断力が高血圧を改善することを発見し、将来的に運動ができないような高齢者や障害者に対する新たな高血圧の治療方法となる可能性につながる点で重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。