

氏名	しみず ひでき 清水 秀 樹
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第459号
学位授与年月日	平成16年 3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	The effect of central injection of angiotensin-converting enzyme inhibitor and the AT ₁ -receptor antagonist on the induction by LPS of fever and brain interleukin-1 β response in rats (LPS 投与によるラットの発熱と脳でのインターロイ キン1 β 産生に及ぼすアンジオテンシン変換酵素阻害剤 と AT ₁ 受容体拮抗薬の脳室内投与の効果)
学位論文審査委員	(主査) 重政千秋 (副査) 河合康明 渡邊達生

学位論文の内容の要旨

最近、私達は LPS の静脈内投与によるラットの発熱や肝臓でのインターロイキン 1 β (IL-1 β) の産生が、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬と 1 型受容体拮抗薬により抑制される事実を発見した。この結果は末梢でのアンジオテンシン II (ANG II) とその 1 型受容体(AT₁ レセプター)が LPS による末梢での発熱性サイトカインの産生に関与している事を示唆している。一方、脳内にも ANG 系が存在し、末梢の ANG II とともに血圧・水分調節に関与している事が判っている。また、脳室内に LPS を投与すると発熱や IL-1 β 産生増加が生じる。しかし、脳内の ANG II が IL-1 β の産生に関与するかどうかは未だ明らかではない。本研究では、この可能性を追求する目的で、LPS の脳室内投与による発熱と脳内での IL-1 β の産生に及ぼす ACE 阻害薬と AT₁ 受容体拮抗薬の効果を検討した。また、発熱のどの段階に ANG II が作用しているのかについても検討した。

方 法

10 週齢の雄 Wistar ラットを使用した。実験の 2 週間前(8 週齢時)にステンレス製のカニューレ (0.8mm,O.D.) を側脳室に植え込み、その 1 週間後に体温を測定する為の transmitter (Data Science 社) を腹腔内に植え込んだ。ラットを Saline 群、LPS(0.2 μ g)群、LPS(2 μ g)群、Lisinopril(ACE 阻害剤;50 μ g)+LPS(2 μ g)群、Losartan(AT₁ 受容体拮抗薬;50 μ g)+LPS(2 μ g)群の 5 群に分けた。12:00 から 13:00 の間にそれぞれの薬品を脳室内にゆっくりと投与し、その後、体温測定あるいは組織内の IL-1 β 濃度の測定を行った。IL-1 β 濃度の測定のために薬品の脳室内投与 2 時間または 4 時間後に脳を速やかに摘出した。脳を視床下部・海馬・小脳に切り分け、液体窒素で凍結し-85 $^{\circ}$ C で保存した。IL-1 β 濃度は ELISA キットを用い、蛋白 100 μ g 当たりの量で表した。また、IL-1 β (20ng 群)、IL-1 β (200ng)

群、Lisinopril(50 μ g)+IL-1 β (200ng)群、Losartan(50 μ g)+IL-1 β (200ng)群も同様に体温測定を行った。尚、Losartan+IL-1 β 群と IL-1 β 群については発熱の最終メディエーターである PGE₂の脳内各部の濃度(蛋白 100 μ g 当たり)を ELISA キットで測定した。

結果

ラットの脳室内に LPS を投与すると、対照の Saline 投与群と比較して用量依存性に体温が上昇した。Lisinopril あるいは Losartan の併用によりこの反応は有意に抑制された。脳内各部の IL-1 β 濃度の上昇反応は、時間と LPS の投与量に依存して発現した。特に全ての脳部位で IL-1 β 増加反応が起こったのは、LPS の 2 μ g を脳室内に投与した 4 時間後であった。したがって Lisinopril あるいは Losartan の LPS との併用は 2 μ g の LPS 投与 4 時間後で検討した。その結果、視床下部と海馬では LPS 単独投与と比較し有意に IL-1 β 濃度は抑制された。小脳では抑制傾向は示したものの、有意差には至らなかった。一方、脳室内に IL-1 β を投与すると対照の Saline 投与群と比較して用量依存性に体温が上昇した。Lisinopril あるいは Losartan の併用によってもこの反応は抑制されず、むしろ losartan 併用群で投与 90 分後の体温は有意に上昇した。IL-1 β 投与 90 分後の脳内の PGE₂ 濃度を測定したが、Losartan+ IL-1 β 群と IL-1 β 群を比較しても有意差は認められなかった。

考察

近年、私達は ANG II とその 1 型受容体が LPS の静脈内投与による発熱と肝臓での発熱性サイトカイン産生に關与する事実を発見した。今回の結果は、脳内の ANG II とその 1 型受容体が LPS の脳室内投与による発熱と脳内の IL-1 β 産生に貢献していることを示唆している。また、IL-1 β による発熱が、ACE 阻害薬と AT₁ 受容体拮抗薬により抑制されなかった事実から、ANG II の発熱反応への作用点は LPS 投与から IL-1 β が誘導されるまでの間であり、それ以下ではない事が明らかになった。実際、AT₁ 受容体拮抗薬は IL-1 β による PGE₂ 産生に効果がなかった。私達はこれらの結果から、脳内の ANG II は 1 型受容体を介して脳内の発熱性サイトカインの産生に關与するものと推察する。今後は、ANG II がどの細胞においてサイトカイン産生を亢進させるのか、あるいはその機序について、組織学的・分子生物学的検討を行う必要があるものと考えている。

結論

脳内の ANG II とその 1 型受容体は、LPS の脳室内投与による発熱と脳内での IL-1 β の産生に關与しているものと推察される。

論文審査の結果の要旨

本研究は、LPS の脳室内投与によるラットの発熱と脳内での IL-1 β の産生に及ぼす ACE 阻害薬 (Lisinopril) あるいは AT₁ 受容体拮抗薬 (Losartan) の効果を検討したものである。その結果、LPS による IL-1 β 産生の亢進と発熱は、Lisinopril あるいは Losartan の併用により抑制される事がわかった。一方、IL-1 β の脳室内投与による発熱は Lisinopril により変化しなかったが、Losartan 併用により発熱がむしろ経過の一部で亢進した。脳内 PGE₂ 濃度については Losartan+IL-1 β 群と IL-1 β 群の間に差を認めなかった。以上の結果より、脳内 ANG II は IL-1 β の産生を促進して LPS 発熱に貢献する事

実が明らかになった。本研究は、水分・循環調節に重要な役割を果たす脳内の ANG II の発熱性サイトカイン産生への関与を解明したものであり、発熱・内分泌・循環の研究領域において明らかに学術水準を高めたものと認める。