



Immunohistochemical localization of angiotensin II receptor and local renin-angiotensin system in human colonic mucosa

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 平沢, 弘毅 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1212

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 359号	学位授与年月日	平成14年 3月26日
氏 名	平 沢 弘 毅		
論文題目	Immunohistochemical localization of angiotensin II receptor and local renin-angiotensin system in human colonic mucosa (ヒト大腸粘膜におけるアンジオテンシン II レセプターとレニン-アンジオテンシン系の免疫組織学的局在)		

博士(医学) 平 沢 弘 毅

論文題目

Immunohistochemical localization of angiotensin II receptor and local renin-angiotensin system in human colonic mucosa

(ヒト大腸粘膜におけるアンジオテンシンⅡレセプターとレニン-アンジオテンシン系の免疫組織学的局在)

論文の内容の要旨

〔目的〕

アンジオテンシンⅡは、強力な血管収縮物質であるだけでなく、腸管における水、電解質吸収、分泌にも関与し、体液量の調節も行っている。古典的にはレニン-アンジオテンシン系は、肝、腎、肺のアンジオテンシノーゲン、レニン、アンジオテンシン変換酵素(angiotensin converting enzyme: ACE)が、循環血液中のアンジオテンシンⅡの産生に使われることがわかっていたが、近年、心臓、腎臓では組織独自のレニン-アンジオテンシン系が存在し、局所でのアンジオテンシンⅡ産生が、なされていることがわかってきた。ヒト大腸においても組織独自のレニン-アンジオテンシン系の存在が示唆されているが、その存在、局在を明らかにした報告はみられていない。今回、我々は、ヒト大腸におけるアンジオテンシンⅡレセプターとレニン-アンジオテンシン系の局在につき検討を行った。

〔方法〕

便潜血陽性で大腸内視鏡を行った健常人を対象に、正常大腸粘膜から生検検体を得た。得られた検体を用いてアンジオテンシンⅡタイプ1 (AT₁)レセプター、アンジオテンシンⅡタイプ2 (AT₂)レセプター、アンジオテンシノーゲン、レニン、ACEのreverse transcription (RT)-PCR および免疫染色を行った。また、大腸粘膜層においてアンジオテンシンⅡレセプター陽性となった間質細胞の種類を同定するため、蛍光二重染色を行った。

〔結果〕

1. RT-PCR

上行結腸およびS状結腸でAT₁レセプター、AT₂レセプター、アンジオテンシノーゲン、レニン、ACEのmRNAの発現がみられた。

2. 免疫染色

AT₁レセプターは、大腸表層上皮細胞、腺窩細胞、粘膜の間質細胞、血管内皮に染色された。AT₂レセプターは、大腸表層上皮細胞の一部分と腺窩細胞、粘膜の間質細胞にわずかに染色された。レニン、ACEは、大腸表層上皮細胞、粘膜の間質細胞、血管内皮、粘膜筋板に陽性で、これらは、アンジオテンシンⅡレセプターの近傍に存在していた。上行結腸、S状結腸の部位による染色の違いは、みられなかった。

3. 蛍光二重染色

心筋、血管平滑筋組織においてAT₁レセプターはマクロファージと筋原線維芽細胞に発現していることがわかっているためマクロファージの表面マーカーであるCD68とAT₁レセプター、筋原線維芽細胞の表面マーカーである α -smooth muscle actinとAT₁レセプターとの二重染色を行った。AT₁レセプ

ターは、上皮下のマクロファージと筋原線維芽細胞の一部に存在していることがわかった。

〔結論〕

ヒト大腸においてもアンジオテンシンⅡレセプターおよびレニン-アンジオテンシン系の構成要素が存在し、大腸局所におけるアンジオテンシンⅡの産生、調節が行われている可能性があることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者らの研究はヒト腸管におけるレニン-アンジオテンシン系の種々の構成分子の局在を、実際のヒト臨床検体において明らかにし、興味ある新知見を得たものである。以下にその背景と方法、主たる結果を要約する。

〔はじめに〕

アンジオテンシンⅡは血管収縮物質であるばかりでなく、腸管における水、電解質吸収、分泌にも関与し、体液量の調節も行っている。その、生成には血中のアンジオテンシノーゲンやレニンが用いられることは知られているが、一方で、腸管壁など局所で、これらの生成にかかわる分子群がどのように存在したか産生される可能性について直接証明を試みた報告はない。

〔方法〕

申請者はまず、便潜血陽性で、大腸内視鏡検査をうけることになった、そのほかに症状のない患者5人に十分な説明をし、了承を得た上で、その健常粘膜部それぞれ2ヶ所について以下の免疫組織学的検討を行った。パラホルム固定、パラフィン包埋組織を作成し、抗体として、アンジオテンシンⅡタイプ1 (AT1) レセプター、アンジオテンシンⅡタイプ2 レセプター、アンジオテンシノーゲン、レニン、アンジオテンシン変換酵素(ACE)に対する抗体を用い、免疫組織学的に局在をしらべた。さらに同部より、RNAを抽出し、RT-PCR法によりこれらの分子のmessageを同定した。とくに、ATⅡレセプターに関しては、陽性間質細胞の同定のため平滑筋アクチン(SMA)に対する抗体などと二重染色を行うことにより、陽性細胞厳密に同定した。

〔結果〕

得られた所見としては、まずヒト結腸粘膜のRT-PCRで、AT1レセプター、AT2レセプター、アンジオテンシノーゲン、レニン、ACEのmRNAを予想されたサイズ、塩基配列をもって同定された。

さらにAT1レセプターは大腸表層上皮細胞、腺窩上皮(cryptal epithelium)、粘膜内の間質細胞、血管内皮に染色がみとめられた。AT2レセプターは大腸表層上皮細胞の一部分と腺窩細胞、粘膜の間質細胞にわずかに染色された。レニン、ACEは大腸表層上皮細胞、粘膜の間質細胞、血管内皮、粘膜筋板に陽性であり、これらは、組織学的に上記のATレセプターの近傍に存在していた。抗SMA抗体、抗CD68抗体とを用いた蛍光二重染色により、AT1レセプターは上皮直下のマクロファージと筋原線維芽細胞の一部に存在していることがわかった。

申請者はこれらの結果より以下のように考察し、結論した。

ヒト大腸局所において、レニン-アンジオテンシン系を構成する分子が存在し、アンジオテンシンⅡの産生や調節が行われており、この知見が、種々の大腸の病態を解釈する上での基盤に成りうるものであるとした。

以上の申請者の研究内容について審査委員会では以下のような質問および議論があった。

- 1) レニン-アンジオテンシン系と称される系に関わる分子にはどのようなものがあるのか
- 2) AT1レセプターと AT2レセプターの拮抗作用の程度について。
- 3) Jejunalloop を用いて、測定する方法の実際について
- 4) RT-PCR の条件について
- 5) 免疫染色の際のマイクロウェーブの効果について
- 6) 大腸の炎症の状態と、これら分子局在との相関について
- 7) 血管平滑筋細胞と間質にある myofibroblast と区別をどのようにおこなったか
- 8) AT1の細胞内局在と internalization について
- 9) 癌細胞などにおける AT1、AT2の変化について
- 10) レニン-アンジオテンシン系の種差について

これらの質問に対し、申請者の解答は適切であり、問題点も十分に理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	梶 村 春 彦	
	副査	梅 村 和 夫	副査 今 野 弘 之