

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2007-236350
(P2007-236350A)

(43) 公開日 平成19年9月20日(2007.9.20)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
AO1K 67/027 (2006.01)	AO1K 67/027	4B024
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00	A

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 7 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2006-66919 (P2006-66919)</p> <p>(22) 出願日 平成18年3月13日 (2006.3.13)</p>	<p>(71) 出願人 504155293 国立大学法人島根大学 島根県松江市西川津町1060</p> <p>(74) 代理人 100116861 弁理士 田邊 義博</p> <p>(72) 発明者 並河 徹 島根県出雲市塩冶町89-1 国立大学法人島根大学 医学部内</p> <p>(72) 発明者 崔 宗虎 島根県出雲市塩冶町89-1 国立大学法人島根大学 医学部内</p> <p>Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 CA03 HA11</p>
--	---

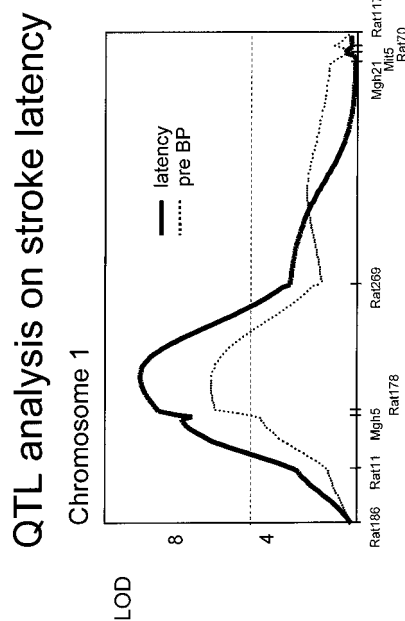
(54) 【発明の名称】 脳卒中を発症しにくいSHRSP系ラット

(57) 【要約】

【課題】 SHRSPラットと同程度の血圧を有する、SHRSPを基にしたコンジェニックラットであって脳卒中を発症しにくいコンジェニックラットを提供すること。また、脳卒中の研究ないし新薬開発に資するラットを提供することを目的とする。

【解決手段】 SHRSPラットの第18染色体中のD18Mit2とD18Mit4との間のいずれかの部位からD18Mgh3までの染色体領域をSHRラットと同領域と置換したコンジェニックラット。SHRSPラットの第1染色体中のD1Rat186とD1Rat93との間のいずれかの部位から、D1Rat269とD1Rat139との間のいずれかの部位までの染色体領域をSHRラットと同領域と置換したコンジェニックラット。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

S H R S P ラットの第 18 染色体中の D 1 8 M i t 2 と D 1 8 M i t 4 との間のいずれかの部位から D 1 8 M g h 3 と第 18 染色体遠位端との間のいずれかの部位までの染色体領域を S H R ラットの同領域と置換したコンジェニックラット。

【請求項 2】

S H R S P ラットの第 18 染色体中の少なくとも D 1 8 M i t 4 から D 1 8 M g h 3 までの染色体領域を S H R ラットの同領域と置換したコンジェニックラット。

【請求項 3】

S H R S P ラットの第 1 染色体中の D 1 R a t 1 8 6 と D 1 R a t 9 3 との間のいずれかの部位から、D 1 R a t 2 6 9 と D 1 R a t 1 3 9 との間のいずれかの部位までの染色体領域を S H R ラットの同領域と置換したコンジェニックラット。 10

【請求項 4】

S H R S P ラットの第 1 染色体中の少なくとも D 1 M g h 5 から D 1 R a t 2 6 9 までの染色体領域を S H R ラットの同領域と置換したコンジェニックラット。

【発明の詳細な説明】 20

【技術分野】

【0001】

本発明は、脳卒中を発症しにくい S H R S P 系ラットに関し、特に、S H R S P ラットと同程度の血圧を有する S H R S P を基にしたコンジェニックラットに関する。

【背景技術】

【0002】

従来、脳卒中を引き起こすメカニズムの解明ないし脳卒中に関する医薬の開発にラットが用いられている。脳卒中を引き起こすラットとしてはいくつかの種類ないし系統があるが、S H R S P ラット (Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat: 脳卒中易発症高血圧自然発症ラット) がよく用いられる。 30

【0003】

S H R S P ラットは、S H R ラット (Spontaneously Hypertensive Rat: 高血圧自然発症ラット) の形質固定をする過程で分離された脳卒中を発症するラットである。通常のラットは血圧が 120 ~ 140 mmHg であるが、S H R ラットの血圧は約 190 mmHg、S H R S P ラットの血圧は約 240 mmHg である。また、S H R ラットは、高血圧であるものの脳卒中を発症する確率は通常のラットと同程度であり極めて小さい (略 0 である)。

【0004】

一方、S H R S P ラットは、標準餌を与えても、ほとんどが 6 ヶ月以内に脳卒中を発症して死に、脳卒中で死ぬ確率は約 80% である (観察期間中他の原因で死亡することがある)。なお、実験においては、通常、与える水を塩水に変えて 1 ヶ月程度で脳卒中を発症させるようにしているが、この条件下では脳卒中発症率は 100% である。 40

【0005】

従って、脳卒中の研究ないし新薬開発においては、S H R ラットと S H R S P ラットを用いて比較がなされる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、従来の技術では以下の問題点があった。

従来から、高血圧と脳卒中の因果関係は古くから指摘されているところである。ここで 50

、SHRラットよりSHRSPラットの血圧が50mmHg高いことを考えると、SHRSPラットの脳卒中の発症原因がより高い血圧にあるのか、それとも発症を引き起こす遺伝子にあるのかなど、より詳細な実験ないし研究をおこなう場合には、SHRSPラットの血圧にできるだけ近いラットでありSHRSPラットもしくはSHRラットと遺伝的に大きく異ならないラットが不可欠である。またこの様なラットを用いることにより、より正確な脳卒中の研究ないし新薬開発が期待できる。

【0007】

本発明は上記に鑑みてなされたものであって、SHRSPラットと同程度の血圧を有する、SHRSPを基にしたコンジェニックラットであって脳卒中を発症しにくいコンジェニックラットを提供することを目的とする。

10

【0008】

また、脳卒中の研究ないし新薬開発に資するラットを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明(請求項1)は、SHRSPラットの第18染色体中のD18Mit2とD18Mit4との間のいずれかの部位からD18Mgh3と第18染色体遠位端との間のいずれかの部位までの染色体領域をSHRラットと同領域と置換したコンジェニックラットである。

【0010】

また、本発明(請求項2)は、SHRSPラットの第18染色体中の少なくともD18Mit4からD18Mgh3までの染色体領域をSHRラットと同領域と置換したコンジェニックラットである。

20

【0011】

また、本発明(請求項3)は、SHRSPラットの第1染色体中のD1Rat186とD1Rat93との間のいずれかの部位から、D1Rat269とD1Rat139との間のいずれかの部位までの染色体領域をSHRラットと同領域と置換したコンジェニックラットである。

【0012】

また、本発明(請求項4)は、SHRSPラットの第1染色体中の少なくともD1Mgh5からD1Rat269までの染色体領域をSHRラットと同領域と置換したコンジェニックラットである。

30

【0013】

なお、上記D18Mit2、D18Mit4、D18Mgh3、D1Rat186、D1Rat93、D1Rat139、D1Mgh5、または、D1Rat269はマーカ名である。

【発明の効果】

【0014】

本発明(請求項1,2)によれば、SHRSPラットと同程度の血圧を有するSHRSPを基にしたコンジェニックラットであって脳卒中を発症しにくいコンジェニックラットを提供することが可能となる。

40

【0015】

また、本発明(請求項3,4)によれば、脳卒中の研究ないし新薬開発に資するラットを提供することが可能となる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

以下、本発明を図面を参照しながら詳細に説明する。なお以下の実験では、SHRSP/Izm、SHR/Izm(日本エスエルシー委託生産)を出発個体としてコンジェニックラットを作成した。

【0017】

具体的には、SHRSP/IzmとSHR/Izm間で作成したF2を用い、食塩付与

50

後から脳卒中を発症するまでの期間 (stroke latency) を表現型に用いて連鎖解析をおこなった。図 1 は、第 1 染色体に関する染色体領域と LOD スコアの関係を示した図である。また、図 2 は、第 18 染色体に関する染色体領域と LOD スコアの関係を示した図である。いずれも横軸にはマーカー名が印してある。図示したように、第 1 染色体と第 18 染色体には、脳卒中に関する QTL (Quantitative trait locus: 量的形質座位) が同定できた。なお、図中、pre BP とは食塩負荷前の血圧を意味する。

【0018】

続いて、最も高い LOD スコアから 2 小さい (脳卒中遺伝子存在確率最大値の $1/100$ となる) スコアとなる領域をターゲットとして、スピードコンジェニック法により、相補的なコンジェニックラットを作成した。具体的には、SHRSP ラットと SHR ラットを交配した F1 を更に SHRSP と戻し交配し、BC5 (戻し交配五世代目) を兄妹交配してコンジェニックラット (ターゲット領域以外は SHRSP ラットの遺伝子を備えたラット) を作成した。この間、全ゲノム上に散在する遺伝マーカーのモニターを行い、ターゲット領域がヘテロ接合体になっていることとその他の領域が SHRSP ホモ接合体になっていることの確認を行った。なお、同様に、F1 を、更に SHR を用いて戻し交配し、BC5 を兄妹交配してコンジェニックラットを作成した (ターゲット領域以外は SHR ラットの遺伝子を備えたラット)。いずれもターゲットとした領域は全ゲノムの 1.5 ないし 2% の長さである。

10

【0019】

図 3 は、導入した染色体領域を示した説明図である。図 3 (a) は、SHR ラットの第 1 染色体のうち、ターゲット領域を含み少なくとも D1Rat93 から D1Rat269 までは SHRSP ラットと同領域の染色体に置換した様子 (なお、D1Rat186 より短腕遠位側、および、D1Rat139 より長腕遠位側は置換していない) と、SHRSP ラットの第 1 染色体のうち、ターゲット領域を含み少なくとも D1Rat93 から D1Rat269 までは SHR ラットと同領域の染色体に置換した様子 (なお、D1Rat186 より短腕遠位側、および、D1Rat139 より長腕遠位側は置換していない) を示している。なお、前者を SHRpch1、後者を Sprch1 として示している。

20

【0020】

同様に、図 3 (b) は、SHR ラットの第 18 染色体のうち、ターゲット領域を含み少なくとも D18Mit4 から D18Mgh3 までは SHRSP ラットと同領域の染色体に置換した様子 (なお、D18Mit2 より近位側は置換していない。D18Mgh3 より遠位については第 18 染色体遠位端まで置換している可能性がある) と、SHRSP ラットの第 18 染色体のうち、ターゲット領域を含み少なくとも D18Mit4 から D18Mgh3 までは SHR ラットと同領域の染色体に置換した様子 (なお、D18Mit2 より近位側は置換していない。D18Mgh3 より遠位については第 18 染色体遠位端まで置換している可能性がある) を示している。なお、前者を SHRpch18、後者を Sprch18 として示している。以降では、以上の SHRpch1、Sprch1、SHRpch18、Sprch18 の表記をそのままコンジェニックラットの名前として表記する。

30

【0021】

得られた 4 系統のコンジェニックラットの血圧を測定した。また、あわせて Dunnett 法による統計処理により有意な差があるか否かも検討した。図 4 は、得られた 4 系統のコンジェニックラットの血圧を測定した図である。図から明らかなように、Sprch18 ラットは、SHRSP ラットと血圧に有意な差がないことが確認できた。反対に Sprch1 ラットは、SHRSP ラットと血圧に有意な差が認められた。なお、図中、SPwch8 と示しているのは、SHRSP において、高血圧や脳卒中に関与しない第 8 染色体の一部を WKY (正常血圧ラット) の同領域に置換したコンジェニックラットであり、対照群として、コンジェニックラット作成過程そのものは血圧に影響しないこと示す意図で比較したものである。

40

【0022】

50

続いて、コンジェニックラットの脳卒中発症率を、食塩負荷開始後の日数を横軸として評価した。図5は、コンジェニックラットの脳卒中発症率を示した図である。縦軸は脳卒中に罹患していないラットが実験開始時の何%残っているかを示している。なお、各系統とも評価個体数は20匹以上である。図から明らかなように、SPrch1ラットおよびSPrch18ラットはターゲット領域以外はSHRSPラットであるにもかかわらず、脳卒中を起こす確率が低くなり、生存率が著しく高まっている。具体的には、脳卒中発症率が50%を越える日数を見ると、SHRSPラットは6日程度であるのに対し、SPrch1ラットおよびSPrch18ラットは、少なくとも32日以上となっている。

【0023】

特に、SPrch18ラットは血圧がSHRSPラットと同程度であるものの脳卒中の発症確率が著しく低減している。したがって、高血圧と独立した脳卒中発症要因特に遺伝因子の研究、ないし降圧剤とは別の作用機序により脳卒中を予防、治療するための創薬に用いることができる。他方、SPrch1ラットは、血圧がSHRSPラットより低いものの、脳卒中はSPrch18ラットと同程度に起こる。したがって、脳卒中と高血圧双方の発症に寄与する遺伝子の研究に役立てることができる。

10

【産業上の利用可能性】

【0024】

本発明によれば、少なくとも第1染色体と第18染色体に高血圧と脳卒中に関する遺伝子が存在することが示されたので、遺伝子の部位を特定する研究に資する。また、降圧薬とは異なる作用機序を持つ脳卒中予防薬の研究開発に資する。

20

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1】第1染色体に関する染色体領域とLODスコアの関係を示した図である。

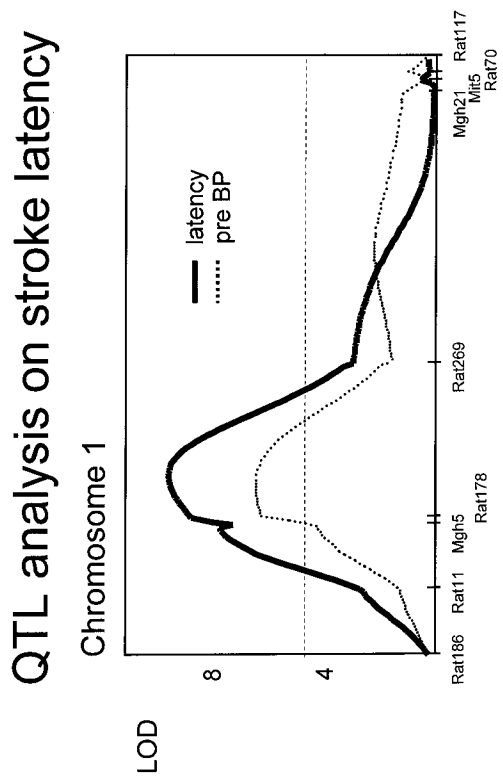
【図2】第18染色体に関する染色体領域とLODスコアの関係を示した図である。

【図3】導入した染色体領域を示した説明図である。

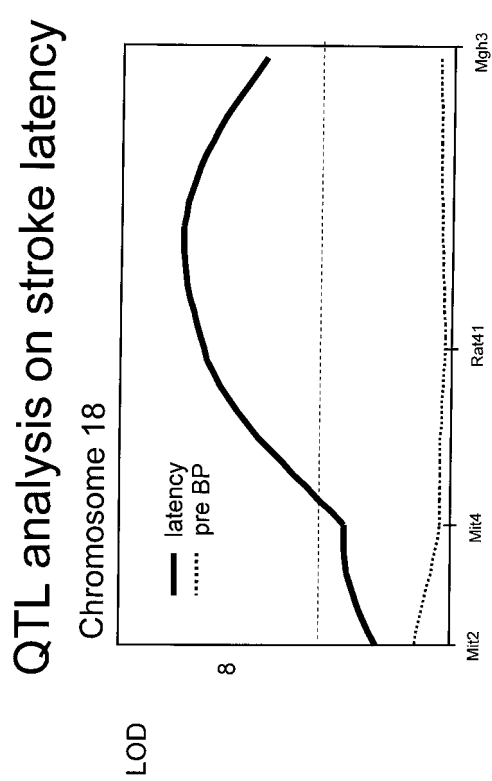
【図4】得られた4系統のコンジェニックラットの血圧を測定した図である。

【図5】コンジェニックラットの脳卒中発症率を示した図である。

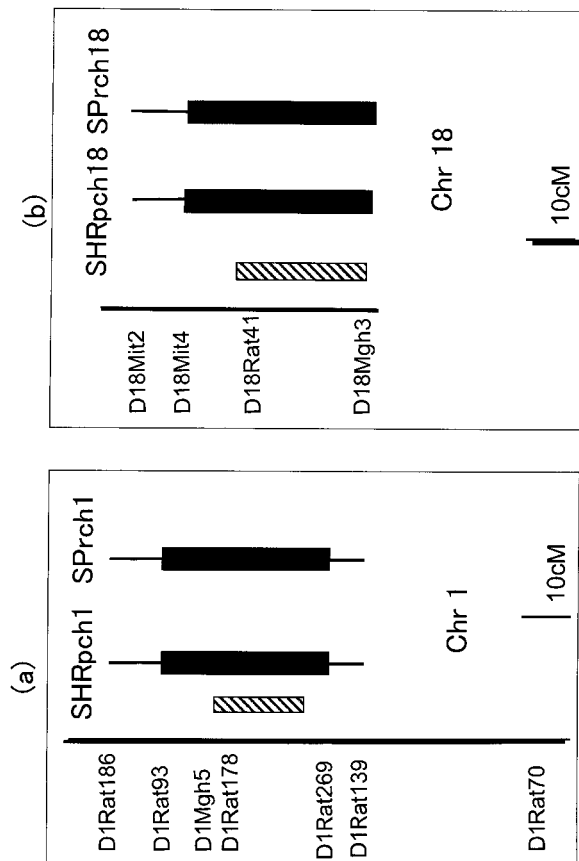
【 図 1 】



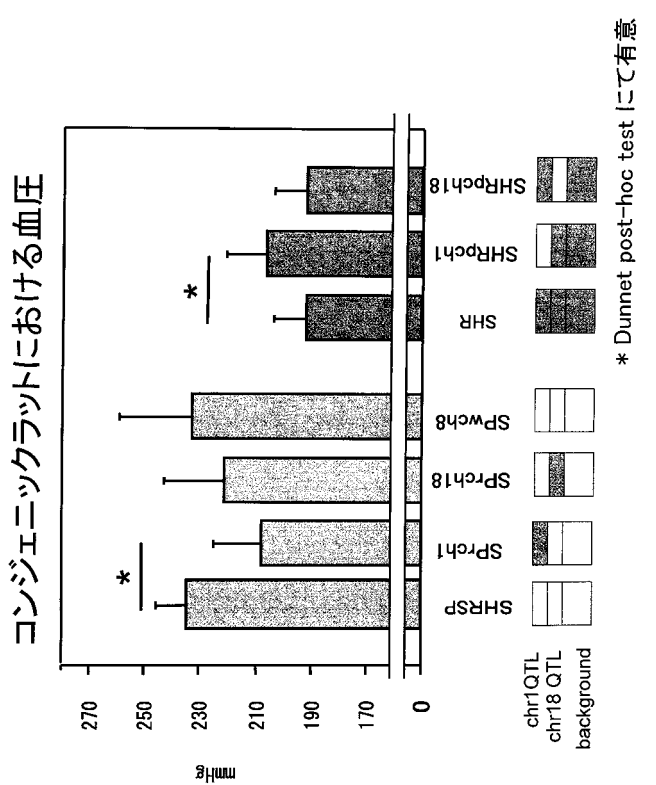
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】

