

氏 名	いまむらまさあき 今村正明
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3203号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Basic fibroblast growth factor modulates proliferation and collagen expression in urinary bladder smooth muscle cells (塩基性線維芽細胞増殖因子は膀胱平滑筋細胞における増殖とコラーゲンの発現を制御する)
論文調査委員	(主査) 教授 小西郁生 教授 伊達洋至 教授 開 祐司

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】膀胱の肥大化は前立腺肥大症などの下部尿路通過障害における特徴的な現象であり、平滑筋細胞の増殖、細胞外マトリクスの組成変化、そして膀胱収縮力の増大を認める。膀胱肥大時のこれらの所見には、いくつかの増殖因子の関与が示唆されているが、詳しい機序は解明されていない。そこで、本研究では、下部尿路通過障害時に発現が報告されている塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) に注目し、膀胱肥大化における役割を検討するため、*in vitro* での膀胱平滑筋刺激実験、および *in vivo* での bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルによる膀胱刺激実験を行った。さらに、ラット尿道狭窄モデルを作製し、bFGF および肥大時所見の発現について検討した。

【方法】(1) *in vitro* 膀胱平滑筋細胞刺激実験：培養ラット膀胱平滑筋細胞を bFGF で刺激し、細胞増殖を WST-8 法で、膀胱の主要細胞外マトリクスである I 型および III 型コラーゲンの発現変化を real time PCR により検討した。さらに、bFGF による細胞内シグナルの活性化を確認後、そのシグナルの抑制による、細胞増殖、コラーゲン発現への影響を検討した。

(2) *in vivo* 膀胱刺激実験：ラットの膀胱に bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルを貼付し刺激を加えた。細胞増殖を増殖マーカーである Ki67 免疫染色で、コラーゲンの発現を抽出コラーゲンのウェスタンブロットで検討した。さらに、膀胱の切片を organ bath 内でカリウム、カルバコールそして電気刺激、それぞれの条件で刺激し、収縮力の増大について検討した。

(3) ラット尿道狭窄モデル実験：膀胱の肥大化を重量で確認後、免疫染色にて、bFGF の発現を検討した。さらに細胞増殖、コラーゲンの発現についても、それぞれ Ki67 免疫染色、抽出コラーゲンのウェスタンブロットにより検討した。

【結果】平滑筋細胞の増殖については、*in vitro*、*in vivo* いずれにおいても有意な増殖を認めた。コラーゲンの発現変化については、*in vitro* では、I 型コラーゲンの発現抑制そして III 型コラーゲンの発現促進を認め、*in vivo* では III 型コラーゲンの発現促進を認めた。観察された細胞増殖およびコラーゲン発現変化はいずれも、bFGF による活性化シグナルである ERK1/2 を抑制することで、打ち消された。収縮力については、いずれの刺激法でも、有意な収縮力の増加を認めた。尿道狭窄モデルによる肥大化膀胱では、正常膀胱と比較して、bFGF は尿路上皮細胞に強発現しており、同時に平滑筋細胞の増殖そして III 型コラーゲンの発現促進も認めた。

【考察】下部尿路通過障害時の肥大膀胱では、尿路上皮細胞で発現した bFGF が平滑筋細胞への伝達シグナルとして機能し、ERK1/2 経路を介して細胞増殖および III 型コラーゲンの発現を促進し、結果的に膀胱の収縮力を増強させている機序が示唆された。これらの機序により、bFGF は膀胱を下部尿路通過障害に適応させている可能性が考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

膀胱の肥大化は前立腺肥大症などの下部尿路通過障害における特徴的な現象であるが、その詳しい発症機序は解明されていない。そこで、本論文では、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) に注目し、膀胱肥大化における役割を検討している。

まず、*in vitro* および *in vivo* における bFGF によるラット膀胱平滑筋刺激実験を行い、膀胱平滑筋細胞の増殖およびコラーゲンの発現の変化を評価した。その結果、bFGF が ERK1/2 経路を介して、膀胱平滑筋細胞の増殖、そして細胞外マトリクスとして III 型コラーゲンの発現増強を誘導することを見出した。さらに機能的な影響として、膀胱収縮力の評価も行ったところ、bFGF は膀胱収縮力を増大させていることも見出した。

次に、膀胱肥大化を示すラット尿道狭窄モデルを作製し、bFGF および肥大時所見の発現を評価した。その結果、肥大時に、bFGF は尿路上皮細胞に強発現し、さらには平滑筋細胞の増殖そして III 型コラーゲンの発現促進も認めることを見出した。

これらの結果から、尿路上皮細胞で発現した bFGF が、平滑筋細胞への伝達シグナルとして機能し、膀胱肥大時における平滑筋の変化を誘導している機序が示唆された。

以上の研究は下部尿路通過障害時における膀胱肥大化の発症機序の解明に貢献し、新たな下部尿路通過障害に対する治療方法の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものとみとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 1 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。