

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	西川信之
論文題目	PTHrP is endogenous relaxant for spontaneous smooth muscle contraction in urinary bladder of female rat (副甲状腺ホルモン類似タンパクはメスラット膀胱平滑筋における自発性収縮の内因性抑制因子である)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景と目的】膀胱壁の伸展による膀胱の形態および機能的変化は、臨床的には前立腺肥大に代表される下部尿路通過障害での様々な病態に影響を及ぼしている。遺伝子転写産物の発現変化はその一因であると考えられるが、これまで詳細な検討はなされていない。そこでラットの膀胱急性伸展モデルを作成し、遺伝子産物の網羅的解析により膀胱伸展に関連した機能的分子の探索を行った。その結果副甲状腺ホルモン類似タンパク(PTHrP)に着目し膀胱における機能的意義を検討した。</p> <p>【方法】まずラット膀胱急性伸展動物モデルを作製した。コントロール群は尿道カテーテル留置により膀胱を空虚に保ち、伸展群は尿道留置カテーテルから生理食塩水を注入して蓄尿、排尿サイクルを3時間再現した後に3時間の急性伸展を加えた。モデルの妥当性は膀胱平滑筋培養細胞の伸展により発現が亢進することが既報されている3遺伝子(HB-EGF, COX2, THBD)の発現変化を検討した。次に、本モデルの膀胱組織よりcDNAマイクロアレイによる発現解析を行ない、コントロール群に比べて伸展群で有意に発現亢進している分子をリストアップした。その結果PTHrPに着目し、膀胱におけるPTHrPおよびその特異的受容体であるPTH1受容体(PTH1R)の発現分布を、膀胱組織および膀胱からの培養細胞についてリアルタイムRT-PCRおよびウェスタンブロッティングを行ない検討した。さらに膀胱平滑筋におけるPTHrPの機能解析を、PTHrP(1-34)ペプチドを用い、培養膀胱平滑筋細胞内のcAMP濃度変化、膀胱平滑筋組織片を用いた張力測定、およびin vivoにおいて経静脈的投与による膀胱内圧への影響で検討した。</p> <p>【結果】培養細胞の伸展により発現亢進する3遺伝子すべてが、本モデルの伸展群でコントロール群と比較して発現亢進していた。マイクロアレイで伸展群においてコントロール群と比較して有意に発現亢進する分子の中で、PTHrPは22番目に発現変化比率が大きく、mRNAレベルと6時間の膀胱伸展後のタンパクレベルで、共に有意に発現亢進していた。PTHrP、PTH1RはmRNA、タンパクレベル共に上皮より平滑筋層で優位に発現しており、培養尿路上皮細胞よりも平滑筋細胞でも優位に発現していた。培養膀胱平滑筋細胞に対するPTHrP(1-34)ペプチドの投与により細胞内cAMP量は上昇し、競合阻害剤であるPTHrP(7-34)ペプチドおよびアデニルシクラーゼ阻害剤であるSQ22536により上昇は阻害された。筋張力測定において、PTHrP(1-34)ペプチドは膀胱平滑筋の自発性収縮に著明な抑制を示す一方、カルバコール誘発性収縮に対しては軽微な抑制効果を認めるのみであった。ラット膀胱内圧測定で、PTHrP(1-34)ペプチドの静脈内投与により排尿圧の低下および膀胱コンプライアンスの上昇を認めた。</p> <p>【結語】PTHrPは膀胱の急性伸展で発現亢進する平滑筋の自発性収縮に対す</p>			

る内因性弛緩因子である。PTHrP-PTH1R経路は生理的に有意な経路と考えられ、膀胱の伸展時にコンプライアンスを上昇させて膀胱壁の圧障害を防止している可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

膀胱は下部尿路閉塞による伸展に伴い形態的、機能的変化を来す。その一因とされる遺伝子発現の変化はこれまで詳細な検討がされていない。本論文ではラット膀胱急性伸展モデルについて網羅的遺伝子発現解析を行い、副甲状腺ホルモン類似タンパク(PTHrP)に着目して機能的意義を検討した。

申請者らはまず膀胱急性伸展モデルを作成し、培養膀胱平滑筋細胞の機械的伸展時と共通の遺伝子が発現亢進する事を確認した。本モデルについてcDNAマイクロアレイによる網羅的解析を行ったところ、PTHrPの有意な発現亢進をタンパクレベルの上昇とともに認めた。膀胱でPTHrP及びその受容体であるPTH1受容体は尿路上皮層より平滑筋層で優位に発現していた。PTHrPペプチドの投与で培養膀胱平滑筋細胞内のcAMP量が上昇し、膀胱平滑筋組織片の自発性収縮が抑制された。麻酔下ラットの膀胱内圧測定においてPTHrPペプチドの静脈内投与で排尿圧の一過性の低下及び膀胱コンプライアンスの上昇を認めた。

これらの結果から、PTHrPは膀胱の急性伸展で発現亢進し平滑筋の自発性収縮に対する内因性弛緩因子であることが示された。これにより膀胱伸展時の内圧上昇による膀胱平滑筋組織障害を防止している可能性が考えられた。

以上の研究は膀胱の伸展刺激による機能的変化の解明に貢献し、下部尿路通過障害の病態解明と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認める。

なお、本学位授与申請者は、平成25年7月16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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降