HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	下部尿路閉塞膀胱における膀胱の形態的および機能的変化の機序の解明［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	菅野, 由岐子
Description	配架番号：2081
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11209号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55825
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yukiko_Kanno_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　菅野　由岐子

学 位 論 文 題 名

下部尿路閉塞膀胱における膀胱の形態的および機能的変化の機序の解明

(The mechanisms of morphological and functional changes in the bladder with partial bladder outlet obstruction)

下部尿路閉塞膀胱における炎症性サイトカイン IL-1β の関与

～IGF-Ⅰを介したリモデリングの機序の解明～

（背景）前立腺肥大症などを伴う下部尿路閉塞膀胱では、膀胱壁の継続的な虚血状態および機械的伸展状態が膀胱の形態的・機能的な二次的変化をもたらし、これが下部尿路機能障害の原因となりうる。近年、いくつかの成長因子やサイトカインが膀胱の炎症や下部尿路閉塞膀胱のリモデリングに関与していることが報告されている。我々は、IL-1βが、下部尿路閉塞膀胱における膀胱の形態的・機能的リモデリングに関与しているのではないかと考え本研究を行った。

（対象と方法）8 週齢の雌性 C57/BL6 マウス（以下 WT）および IL-1β ノックアウトマウス（以下 KO）を用いた。下部尿路閉塞手術を施した群（WT-pBOO, KO-pBOO）と sham 手術を行った群（WT-sham）を作製した。術後 1,3,12 週で膀胱を採取した。膀胱重量測定、RT-PCR によるサイトカイン発現量（IL-1β, IGF-Ⅰ, TGF-β）を測定した。膀胱の組織学的変化を観察するために Hematoxylin and eosin（HE）染色を行った。また、機能的変化を見るために、術後３週で麻酔下に膀胱瘻を作製し、十分な覚醒下に下部尿路機能検査を施行した。パラメータとして、膀胱容量（BC）、排尿時膀胱内圧（MP）、non-voiding contraction の回数（NVC）、残尿量（RUV）を測定した。さらに、IGF-1 を投与した KO 群で下部尿路閉塞手術を行い（KO-IGFⅠ）、上記と同様の検討を行った。解析には non-parametric Mann-Whitney U-test を用い、P-value <0.05 を有意差ありとした。

（結果）WT-pBOO 群では術後 1 週で膀胱重量が最大となり、各週において WT-sham 群よりも膀胱重量が有意に大きかった。組織染色では術後 1 週で WT-pBOO 群で間質の浮腫性変化がみられ、術後３週では著明な平滑筋過形成がみられその後も継続した。KO-pBOO 群では、WT-pBOO 群で見られたような膀胱重量増加は有意に抑制され、平滑筋過形成も WT-pBOO 群に比べ軽度であった。KO-IGFⅠ群では WT-pBOO 群と各週の膀胱重量に有意差は無かった。WT-pBOO 群において、IL-1β は術後 1 週と 12 週において、WT-sham 群に比べ有意に高く発現していた。KO-pBOO 群では IL-1β 発現は見られなかった。WT-pBOO 群において、IGF-Ⅰは術後 1 週から継続して、TGF-β は術後 1 週から３週まで、WT-sham 群に比べ有意に高く発現していた。KO-pBOO 群では、いずれのサイトカインも WT-sham と有意差はなかった。UDS では、MP および BC は WT-pBOO 群において WT-sham より有意に高値であったが、KO-pBOO 群と WT-sham 群間で有意差はみられなかった。NVC, RUV については各群間で有意差は見られなかった。

（結論）IL-1β は下部尿路閉塞膀胱で高く発現し、IGF-Ⅰ及び TGF-β の発現を促進する。KO-pBOO 群では WT-pBOO 群と比し、形態的・機能的変化が抑制されていたが、KO-IGFⅠ群では WT-pBOO 群と同様の変化が見られた。

IL-1β は IGF-Ⅰを介して下部尿路閉塞膀胱での平滑筋過形成を主とした膀胱リモデリングに関与する。

下部尿路閉塞膀胱における骨髄由来間質細胞の膀胱再生への寄与

（背景）前立腺肥大症や神経因性膀胱に代表される下部尿路閉塞疾患では、膀胱に形態的および機能的異常が生じるが、その機序のひとつとして虚血障害が関与していることが広く知られている。ケモカインのひとつである Stromal cell-derived factor 1α（SDF1α）は、組織に虚血が起こった際に誘導される Hypoxia inducible factor 1α（HIF1α）により刺激されるが、虚血組織への骨髄由来細胞の遊走・接着を制御し、組織修復に関与することが知られている。我々は下部尿路閉塞膀胱のリモデリング過程において、虚血により誘導された SDF1α が膀胱組織への骨髄由来細胞の遊走・接着に関与していることを明らかにしてきた。しかし、それらの遊走・接着した骨髄由来細胞の役割については未だ不明のままである。そこで下部尿路閉塞膀胱における骨髄由来細胞の役割について検討を行った。

（対象と方法）前日に 12Gy の放射線照射を行った Wild type 雌ラットに対し、GFP 陽性トランスジェニックラットの大腿骨および脛骨から採取した骨髄細胞を尾静脈から投与した。骨髄細胞投与後、6 週間たった段階で末梢血を採取し、血球成分が GFP 陽性であることを共焦点蛍光顕微鏡で観察し、GFP 陽性の骨髄細胞が生着していることを確認した。GFP 陽性の骨髄細胞が生着していることを確認したラットに対し、麻酔下で下腹部の正中切開にて膀胱頚部から尿道を露出し近位尿道に直径 1.2mm の金属棒を置き、4-0 絹糸で縛ることによって作成した（pBOO 群）。Sham 手術では、尿道を剥離するのみで腹部創を閉創した（Sham 群）。pBOO または Sham 手術後 6 週目に還流固定の後、膀胱を摘出し、HE 染色および蛍光抗体法による免疫組織学的検討を行った。

（結果）pBOO 膀胱では、Sham 手術を行った膀胱に比べて膀胱上皮下の組織、膀胱平滑筋が厚くなっていた。前立腺肥大症など高度の下部尿路閉塞の際に見られる所見に矛盾しないものであり、下部尿路閉塞によって生じた変化と考えられた。pBOO 膀胱への骨髄由来細胞の遊走 PBOO 膀胱では、Sham 手術を行った膀胱に比べてより多くの GFP で標識された骨髄由来細胞が膀胱に遊走しており、その多くは膀胱上皮下層に存在していた。また、膀胱上皮内および膀胱筋層内にも骨髄由来細胞が存在した。Sham 手術を行った群では、膀胱組織内に骨髄由来細胞が見られるものの、膀胱組織に分化している細胞は見られなかった。pBOO 膀胱では基底膜（抗 Laminin 抗体陽性）を超えて膀胱上皮内に遊走している骨髄由来細胞が見られ、その一部は GFP に加えて膀胱上皮のマーカーである抗 AE1/AE3 抗体でも標識され骨髄由来細胞の膀胱上皮への分化が示唆された。膀胱上皮下層に存在する骨髄由来細胞の一部は、myofibroblasts のマーカーである抗 Vimentin 抗体にも標識され、膀胱に遊走した骨髄由来細胞が排尿筋過活動に関与していると考えられている myofibroblasts に分化している可能性が示唆された。膀胱筋層に存在する骨髄由来細胞の多くは他の部位に比べて紡錘形をしており形態の変化を認めた。膀胱筋層に存在する骨髄由来細胞の一部は抗

Actin 抗体、抗 SMA 抗体にも標識され、これらの細胞は膀胱平滑筋細胞に分化していると考えられた。

（結論）膀胱に遊走してきた骨髄由来細胞の一部は、膀胱組織に分化していた。PBOO による膀胱の障害からの修復過程に関与しているものと考えられた。