

森健一論文内容の要旨

主論文

Decrease Cellular Membrane Expression of Gap Junctional Protein, Connexin 43, in Rat
Detrusor Muscle with Chronic Partial Bladder Outlet Obstruction

慢性ラット下部尿路狭窄モデルにおける排尿筋のギャップ結合構成蛋白
(コネクシン 43 蛋白) の細胞膜発現低下

Ken-ichi Mori, Mitsuru Noguchi, Manabu Matsuo,
Koichiro Nomata, Takashi Suematsu and Hiroshi Kanetake

UROLOGY 65:1254 1258, 2005

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻
(指導教授： 金武 洋)

論文内容の要旨

(緒言) 前立腺肥大症は高齢男性の多くが罹患する疾患であり、慢性の排尿路閉塞による膀胱排尿筋の機能障害が更なる排尿障害の治療を複雑にする。さらに、上部尿路の障害をきたすとともに患者の QOL をも低下させる。現在、排尿障害に対する治療はいまだに十分でなく、その排尿障害の過程を解明することは重要である。排尿機能は神経伝達物質により排尿筋、尿道括約筋の収縮・弛緩が調整されている。このことから、細胞間シグナル伝達は排尿機能においてきわめて重要なものと思われる。ギャップ結合は細胞間結合の一つであり細胞膜に存在し、細胞間シグナル伝達に直接的に関与する。ギャップ結合を構成する半チャンネルをコネクソンといい、コネクソンはコネクシン蛋白によって構成されている。ギャップ結合の機能としては 1.2Kda 以下の細胞内シグナル伝達物質を隣り合う細胞へ直接輸送する機能を持ち、細胞分化・増殖やホメオスタシスの維持に役立つ。心筋においてはギャップ結合を介した細胞間コミュニケーションは心筋収縮に重要な役割を持つと報告されている。ギャップ結合を介した細胞間シグナル伝達は排尿機能においても重要な役割を持つものと考えられるが、排尿機能においてギャップ結合の役割は解明されておらず、排尿障害においてギャップ結合変化を解明することは排尿障害のあらたな治療開発に寄与するものと思われる。ヒト膀胱平滑筋においてもギャップ結合の存在は認められており、ヒト膀胱平滑筋においてはコネクシン 43(Cx-43)とコネクシン 45(Cx-45)の発現が報告されており、ラット膀胱平滑筋においても主に Cx-43 が発現していると報告されている。我々は慢性ラット下部尿路狭窄モデルを用いて、長期での膀胱平滑筋のギャップ結合およ

びその構成蛋白である Cx - 43 の発現変化の有無を検討した。

(対象と方法) 33 匹の 12 週令の Wistar 系メスラットを狭窄群: 2 週目(n=6)、4 週目(n=6)、8 週目(n=6)、Sham 群: 2 週目(n=5)、4 週目(n=5)、8 週目(n=5)の 6 群に分類した。下部尿路狭窄モデル作成は、ウレタン麻酔下にラット膀胱を露出し PE-50 カテーテルを経尿道的に膀胱内に挿入、膀胱頸部を 4-0 絹糸にて結紮した後、カテーテルを抜去し作成した。Sham モデルは 4-0 絹糸による膀胱頸部結紮以外は下部尿路狭窄モデル作成と同様の操作を行った。モデル作成後の 2,4,8 週目に、下部尿路狭窄群と Sham 群それぞれの膀胱内圧・膀胱容量を測定し膀胱を摘出、その後膀胱重量を測定した。さらに摘出膀胱の膀胱平滑筋を用いて、電子顕微鏡で freeze fracture 法によるギャップ結合解析、Cx-43 の免疫組織染色および Western blot 解析を行った。

(結果) 膀胱容量・重量共に sham 群に比し下部尿路狭窄群において有意な増加を認めた ($P<0.01$)。さらに、下部尿路狭窄群において 4 週目と 8 週目の膀胱容量は 2 週目に比べ有意に増加していた ($p<0.05$)。膀胱内圧測定においては、下部尿路狭窄群 2 週目では排尿筋収縮力が増強したが、4 週目では排尿筋収縮力が低下し、8 週目では排尿筋収縮を認めず溢流性尿失禁の状態であった。Sham 群はいずれも正常な排尿パターンであり変化は認めなかった。免疫組織染色による Cx-43 発現の検討では、排尿筋収縮が保たれている sham 群、下部尿路狭窄群の 2、4 週目では、Cx-43 は排尿筋の細胞膜に発現していた。しかし、排尿障害が進んだ下部尿路狭窄群 8 週目において Cx-43 は細胞質・核に発現を認め、局在変化 (internalization) が認められた。電子顕微鏡での freeze fracture 法によるギャップ結合解析においても排尿障害が進んだ下部尿路狭窄群 8 週目においてギャップ結合は観察されなかった。Western blot 解析による Cx-43 の検討においては、Sham 群に比べ下部尿路狭窄群において Cx-43 の発現増強が認められ、さらに 2 週目から 8 週目になるにつれ徐々に Cx-43 の発現が増強していた。

(考察) Sham 群では時間が経過しても Cx-43 の局在変化は認められなかったが、下部尿路狭窄群においては 4 週目、8 週目と時間が経つにつれギャップ結合およびギャップ結合の構成蛋白である Cx-43 の局在変化 (internalization) が認められた。また、このギャップ結合および Cx-43 の局在変化は排尿障害と平行して変化していた。ギャップ結合および Cx-43 の細胞膜発現低下はギャップ結合を介しての細胞間シグナル伝達の破綻を生じ、排尿機能に関する神経伝達物質がギャップ結合を介して輸送できない状態であると考えられた。このギャップ結合変化は下部尿路狭窄における排尿障害の原因の一つではないかと思われた。