

## 論 文 内 容 要 旨

しめい 氏名	あかい はた ひでのり 赤井畑 秀則
学位論文題名	慢性膀胱虚血に伴う膀胱過活動の RhoA/Rho-kinase 経路を介した発症メカニズムの解明に向けての基礎的研究
<p>【目的】慢性膀胱虚血は下部尿路障害発症の一つの要因である。我々は下部尿路閉塞を伴わない血管性要因による慢性膀胱虚血ラットモデルを開発し、慢性膀胱虚血が膀胱過活動を引き起こすことを証明した。しかし、その発症機序は明らかにされていない。そこで、我々は血管平滑筋の攣縮にカルシウム非依存性収縮機構が関与していることに着目し、慢性膀胱虚血における RhoA/Rho-kinase (ROK) 経路を介するカルシウム非依存性収縮の変化を検討した。【方法】16 週齢 Sprague-Dawley 系雄性ラットを 2 群に分けた。Arterial Endothelial Injury (AI) 群は両側総腸骨動脈の内皮内膜の擦過傷害後に高脂肪食で、Control 群は無処置・通常食で各々 8 週間飼育した。覚醒非拘束下での膀胱内圧測定後に膀胱と総腸骨動脈を摘出し、等尺性張力実験・タンパク質定量・組織学的検討に用いた。張力実験では摘出膀胱の平滑筋条片を用いて、(1)80 mM KCL、経壁電気刺激 (1 Hz~32 Hz)、カルバコール (Cch: 1 nM~1 mM)、1mM ATP に対する収縮反応性の測定、(2)1 <math>\mu</math> M Cch 刺激に対する一過性収縮反応 (刺激直後の最大収縮反応) と持続収縮反応 (刺激 30 分後の収縮反応) の振幅の比較、(3)その持続収縮反応への ROK 阻害剤 (Y-27632) による弛緩曲線の作成を行った。また、ウエスタンブロット分析にて摘出膀胱の RhoA/ROK 経路のシグナル伝達蛋白質を解析した。【結果】AI 群では、腸骨動脈硬化性閉塞性変化、および排尿間隔の短縮と膀胱容量の減少が確認された。張力実験では、各種刺激への平滑筋条片の収縮反応が AI 群で有意に低下していた。また、Cch 1 <math>\mu</math> M 刺激への一過性収縮反応も AI 群で有意に低下していた。Control 群では一過性収縮反応後に平滑筋条片は速やかに弛緩し、一過性収縮反応と持続収縮反応の間に有意差を認めた。一方、AI 群では一過性収縮反応後にその収縮反応が維持され、一過性収縮反応と持続収縮反応との間に有意差はなかった。(一過性収縮反応 vs 持続性収縮反応 Control 群: 175 <math>\pm</math> 93 vs 133 <math>\pm</math> 54 g/g tissue; <math>p=0.019</math>, AI 群: 78 <math>\pm</math> 45 vs 72 <math>\pm</math> 37 g/g tissue)。ROK 阻害剤による弛緩曲線では AI 群で有意に弛緩した。ウエスタンブロット分析では、AI 群でリン酸化ミオシンと RhoA/ROK 経路に関与する RhoA・ROK <math>\beta</math> の発現量の有意な増加を認めた。【考察】慢性虚血膀胱では、RhoA/ROK 経路を介したカルシウム非依存性収縮が変化する可能性が示唆された。その変化が引き起こす排尿筋収縮力の維持が膀胱過活動の一因であり、RhoA/ROK 経路が過活動膀胱治療の標的となりうる可能性が示唆された。</p>	

※日本語で記載すること。1200字以内にまとめること。

# 学位論文審査結果報告書

平成29年2月27日

大学院医学研究科長様

下記のとおり学位論文の審査を終了したので報告いたします。

## 【審査結果要旨】

氏名 赤井畑秀則

所属 福島県立医科大学大学院医学研究科泌尿器科学分野

### 学位論文題名

Pelvic arterial occlusive disease affects the RhoA/Rho-kinase pathway in bladder smooth muscle (慢性膀胱虚血に伴う膀胱過活動の RhoA/Rho-kinase 経路を介した発症メカニズムの解明に向けての基礎研究)

慢性膀胱虚血は下部尿路障害発症の一つの要因である。赤井畑秀則氏は、慢性膀胱虚血ラットモデルを用いて、慢性虚血によりカルバコール刺激による膀胱の一過性収縮がコントロール群より延長することを見出し、その延長した収縮が Rho-kinase 阻害剤により抑制されることを明らかにした。また、ウェスタンブロット解析を行い、慢性虚血によりリン酸化ミオシンと RhoA/Rho-kinase 経路に関与する RhoA・Rho-kinase  $\beta$  の発現の有意な増加が起こることを明らかにした。これらの結果は、慢性膀胱虚血において RhoA/Rho-kinase 経路を介したカルシウム非依存性平滑筋収縮が膀胱の収縮性の変化に関与することを示唆している。本研究により示された内容は、過活動膀胱治療戦略として、RhoA/Rho-kinase 経路の標的となりうることが明らかとなり、臨床的意義も極めて高い。また、本研究の内容は、すでに査読付き英文誌 Journal of Urology に掲載されており、本年2月15日に開催された学位審査会においても、研究内容が明確に示され、質疑応答においても的確に質問に対する回答を行なった。これらのことから本研究は本学医学博士授与に値するものと判断できる。

論文審査委員	主査	細胞統合生理学講座	挾間 章博
	副査	神経内科学講座	星 明彦
	副査	心臓血管外科学講座	高瀬 信弥