



Expression and functional role of β -adrenoceptors in the human urinary bladder urothelium

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2017-01-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大塚, 篤史 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/814

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 456号	学位授与年月日	平成20年 7月18日
氏名	大塚篤史		
論文題目	Expression and functional role of β -adrenoceptors in the human urinary bladder urothelium (ヒト膀胱上皮における β -アドレナリン受容体の発現と機能的役割)		

博士(医学) 大塚 篤 史

論文題目

Expression and functional role of β -adrenoceptors in the human urinary bladder urothelium
(ヒト膀胱上皮における β -アドレナリン受容体の発現と機能的役割)

論文内容の要旨

[はじめに]

膀胱上皮の機能は尿中成分や外界刺激から膀胱内部構造を保護するための防御機構であると元来考えられてきた。しかしながら、最近の研究により、膀胱上皮に存在する各種受容体が、機械的・化学的あるいはその他の刺激に対して様々な神経伝達物質を放出することにより膀胱平滑筋機能を間接的に調整していることが明らかとなった。一方、膀胱の弛緩に主として関与し膀胱平滑筋に豊富に存在する β -アドレナリン受容体は、現在 β_1 ~ β_3 の 3 つのサブタイプに分類されヒトにおいては β_3 -アドレナリン受容体が主たる役割を果たしていると報告されている。そのため、 β_3 -アドレナリン受容体作動薬が過活動膀胱に対する新規薬剤として期待されている。しかし、ヒト膀胱上皮の β -アドレナリン受容体の存在あるいは機能的役割に関しては十分に解明されていないのが現状である。

そこで、ヒト膀胱上皮における β -アドレナリン受容体の各サブタイプの存在、さらに膀胱平滑筋機能に対する役割について検討した。

[方法]

ヒト膀胱組織は、膀胱癌で膀胱全摘除術を施行された 13 例 (平均年齢 66.2 歳) の摘出標本の肉眼的正常部分から採取した。なお、本研究は本学倫理委員会の承認を得た上で患者から文書による同意を得て施行した。

膀胱標本を膀胱上皮と膀胱平滑筋に分離してそれぞれから total RNA を抽出し、reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて β_1 ~ β_3 -アドレナリン受容体の mRNA の発現を検討した。次いで、膀胱摘出標本のパラフィンブロックから膀胱全層切片を作製し、免疫組織化学染色を用いて β_1 ~ β_3 -アドレナリン受容体が膀胱上皮細胞に認められるか検討した。さらに、上皮の有無別に 2 種類の平滑筋条片を作製しオーガンバス内にこれを懸垂して β -アドレナリン受容体作動薬であるイソプロテレノールの累積投与による平滑筋弛緩反応を連続的に測定し、濃度-反応曲線を得た。これにより 50%有効濃度 (EC_{50}) の逆対数値である pEC_{50} ($-\log EC_{50}$) 値および最大弛緩率を算出して統計学的検討を行った。また、膀胱上皮由来の一酸化窒素 (NO) が平滑筋弛緩反応に影響を与えるかについて、NO 合成酵素阻害剤である N^G -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) を先行投与し上皮付き平滑筋条片を用いて同様に検討した。

[結果]

RT-PCR 法ならびに免疫組織化学染色により、ヒト膀胱上皮に β_1 ~ β_3 -アドレナリン受容体が発現していることを確認した。

膀胱上皮の存在はイソプロテレノールの濃度-反応曲線を右方移動させ、上皮付き平滑筋条片の pEC_{50} 値 (5.58 ± 0.30) は上皮なし平滑筋条片のそれ (6.31 ± 0.23) に比べ有意に低値であったが最大弛緩率には有意差を認めなかった ($80.4 \pm 3.2\%$ vs. $84.2 \pm 3.4\%$)。また、L-NAME 先行投与群の上皮付き平滑筋条片の pEC_{50} 値 (5.93 ± 0.40) と最大弛緩率 ($83.2 \pm 8.3\%$) は、非先行投与群のそれと有意差を認めなかった。

[考察]

本研究は、ヒト膀胱上皮に β -アドレナリン受容体の各サブタイプが発現し、間接的に膀胱平滑筋機能を調整していることを初めて明らかにした。最近、膀胱上皮に存在する各種受容体刺激により何らかの上皮由来因子 (unknown urothelium-derived factor) が膀胱平滑筋機能を間接的に調整していることが報告されている。膀胱平滑筋の収縮に主として関与しているムスカリン受容体も、ブタやヒトの膀胱上皮に多数発現し、ムスカリン受容体作動薬による収縮反応を部分的に抑制すると報告されている。本研究結果は、膀胱上皮に存在する β -アドレナリン受容体刺激により何らかの弛緩抑制因子が膀胱上皮から放出されている可能性を示唆している。一方で、最大弛緩率は膀胱上皮による影響を受けなかったことから、高濃度のイソプロテレノールの存在下では、この抑制反応が直接的なイソプロテレノールの作用にマスクされてしまった可能性が推察される。

ラットにおける膀胱上皮の β -アドレナリン受容体への刺激はアデニル酸シクラーゼ経路を活性化し NO の生成と放出を引き起こすと報告されている。しかしながら、今回の検討では L-NAME は膀胱上皮存在下において膀胱平滑筋条片のイソプロテレノールによる弛緩反応に有意な影響を認めなかった。このことより、膀胱上皮由来の NO は膀胱平滑筋の弛緩反応には関与していないと考えられた。

[結論]

ヒト膀胱上皮には β -アドレナリン受容体の各サブタイプが存在し、さらに膀胱上皮の β 受容体刺激により膀胱平滑筋の弛緩反応が抑制されることを示した。すなわち膀胱上皮への β -アドレナリン受容体刺激により何らかの膀胱平滑筋弛緩抑制因子が放出され、膀胱機能を調整している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

最近の研究により、膀胱上皮に存在する各種受容体が、機械的・化学的あるいはその他の刺激に対して様々な神経伝達物質を放出することにより膀胱平滑筋機能を間接的に調整していることが明らかとなった。一方、膀胱の弛緩に主として関与し膀胱平滑筋に豊富に存在する β -アドレナリン受容体は、現在 $\beta_1 \sim \beta_3$ の3つのサブタイプに分類され、ヒトにおいては β_3 -アドレナリン受容体が主たる役割を果たしていると報告されている。そのため、 β_3 -アドレナリン受容体作動薬が過活動膀胱に対する新規薬物として期待されている。しかし、ヒト膀胱上皮の β -アドレナリン受容体の存在あるいは機能的役割に関しては十分に解明されていないのが現状である。そこで、申請者はヒト膀胱上皮における β -アドレナリン受容体の各サブタイプの存在、さらに膀胱平滑筋機能に対する役割について以下の方法にて検討した。

ヒト膀胱組織は、膀胱癌で膀胱全摘除術を施行された 13 例 (平均年齢 66.2 歳) の摘出標本の肉眼的正常部分から採取した。なお、本研究は本学倫理委員会の承認を得た上で患者から文書による同意を得て施行した。

1. 膀胱標本を膀胱上皮と膀胱平滑筋に分離して、それぞれから total RNA を抽出し、reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)法を用いて $\beta_1 \sim \beta_3$ -アドレナリン受容体の mRNA の発現を検討した。
2. 膀胱摘出標本のパラフィンブロックから膀胱全層切片を作製し、免疫組織化学染色を用いて $\beta_1 \sim \beta_3$ -アドレナリン受容体が膀胱組織に認められるか検討した。
3. 上皮の有無別に 2 種類の平滑筋条片を作製し、オーガンバス内にこれを懸垂して β -アドレナリン

受容体作動薬であるイソプロテレノールの累積投与による平滑筋弛緩反応を連続的に測定し、濃度-反応曲線を得た。また、膀胱上皮由来の一酸化窒素(NO)が平滑筋弛緩反応に影響を与えるかについて、NO合成酵素阻害剤であるN^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)を先行投与し上皮付き平滑筋条片を用いて同様に検討した。

以下の結果を得た。

1. RT-PCR 法ならびに免疫組織化学染色により、ヒト膀胱上皮および膀胱平滑筋に β_1 ~ β_3 -アドレナリン受容体が発現していることを確認した。
2. 膀胱上皮の存在はイソプロテレノールの濃度-反応曲線を右方移動させ、上皮付き平滑筋条片の pEC₅₀ 値(5.58 ± 0.30)は上皮なし平滑筋条片のそれ(6.31 ± 0.23)に比べ有意に低値であったが最大弛緩率には有意差を認めなかった(80.4 ± 3.2 % vs. 84.2 ± 3.4 %)。また、L-NAME 先行投与群の上皮付き平滑筋条片の pEC₅₀ 値 (5.93 ± 0.40)と最大弛緩率(83.2 ± 8.3 %)は、非先行投与群のそれと有意差を認めなかった。

以上の結果から、ヒト膀胱上皮には β -アドレナリン受容体の各サブタイプが存在し、さらに膀胱上皮の β 受容体刺激により膀胱平滑筋の弛緩反応が抑制されることが示された。

審査委員会では、ヒト膀胱上皮における β -アドレナリン受容体の存在と機能を解明したことで、今後の新規治療薬の開発に結びつくものであることを高く評価した。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 上皮細胞と平滑筋細胞の分離の仕方と混在の可能性について
- 2) フェントラミンを添加した理由について
- 3) 膀胱平滑筋の自律収縮のメカニズムについて
- 4) 上皮細胞における NO 産生について
- 5) 非選択性の β -アドレナリン受容体作動薬を用いた理由について
- 6) 膀胱に存在する求心性神経について
- 7) 上皮細胞のターンオーバーについて
- 8) β_3 -アドレナリン受容体の発現レベルについて
- 9) 膀胱平滑筋伸展による神経伝達物質の放出について
- 10) 実験で設定した張力と膀胱充満時の張力との関係について
- 11) β_3 -アドレナリン受容体作動薬の治療薬としての可能性について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	梅村 和夫	
	副査	金山 尚裕	福田 敦夫