APP-085-PM 膀胱上皮の β_3 受容体が膀胱平滑筋の収縮抑制に関与している

熊本大学大学院医学薬学研究部泌尿器病態学分野¹⁾, 公立玉名中央病院泌尿器科²⁾, シェフィールドハーラム大学バイオメディカルリサーチセンター³⁾, ロイヤルハラムシャー病院泌尿器科⁴⁾

榊永 浩一¹⁾, 吉田 正貴¹⁾, 稲留 彰人¹⁾, 前田 喜寛¹⁾, 里地 葉¹⁾, 村上 滋孝²⁾, Donna J. Sellers³⁾, Christopher R. Chapple⁴⁾

【目的】近年では膀胱上皮の機能が注目されているが、 β 刺激剤が膀胱上皮に与える影響についての報告はほとんどない。上皮がある場合、非選択性 β 刺激剤である isoprenaline が carbachol (CCh) 反応を上皮なしに比べ、より抑制する事が報告されている (BJU Int. 99:669)。今回、我々はどの β 受容体サブタイプがこの抑制に関与しているかについて検討した。【対象および方法】ブタ膀胱体部より平滑筋条片を作成し、上皮ありと上皮なしの条片をそれぞれ筋浴槽内に懸垂固定した。CCh 累積投与前に 10^{-5} M の β 刺激剤 (isoprenaline: 非選択性; dobutamine: β_1 選択性; salbutamol: β_2 選択性; BRL37344: β_3 選択性) をそれぞれ投与し、上皮の有無で CCh (10^{-8} – 10^{-3} M) 収縮反応への抑制を比較した。更に、isoprenaline (10^{-5} M) 投与前に 10^{-6} M の β 抑制剤 (propranolol: 非選択性; CGP20712: β_1 選択性; ICI-118, 551: β_2 選択性; SRL 59230A: β_3 選択性) をそれぞれ投与し、上皮の有無で CCh (10^{-8} – 10^{-3} M) 収縮反応への抑制を比較した。【結果】上皮ありの条片では、上皮なしの条片に対して CCh での最大収縮が $44.6 \pm 2.7\%$ 抑制されており、その 50% 有効濃度の逆対数値 (pEC_{50}) も 5.45 ± 0.05 で上皮なし (5.70 ± 0.06) の条片との有意差が認められた ($n=94$)。また、isoprenaline および BRL 37344 が上皮ありの条片の CCh 反応曲線を上皮なしの条片に比べ有意に右方移動させたが、他の β 刺激剤では有意差が認められなかった。また、 β 抑制剤を使用した収縮抑制実験では、isoprenaline 投与前に propranolol, CGP20712 および ICI-118, 551 を投与した場合、上皮ありの条片の CCh 反応曲線を上皮なしの条片に比べ有意に右方移動させたが、SRL 59230A では有意差が認められなかった。【結論】上皮より CCh 反応を抑制する因子が放出されていることが示唆された。また、 β 刺激剤は CCh 反応曲線を右方移動させ、特に β_3 刺激剤は上皮ありの条片の場合、有意に CCh 反応曲線をより右方移動させることより、膀胱上皮の β_3 受容体が膀胱平滑筋の CCh 反応抑制に関与している可能性も示唆された。

APP-086-PM ラット尿道括約筋障害モデルの作成および自己骨髄細胞移植による尿道括約筋再生の検討

信州大学医学部泌尿器科学

杵渕 芳明, 相澤 直樹, 三村 裕次, 今村 哲也, 石塚 修, 井川 靖彦, 西澤 理

【目的】重度の内因性尿道括約筋障害による尿失禁に対しては、低侵襲で有効な治療法がないのが実状である。そこで、障害を与えたラット尿道括約筋部へ自己骨髄細胞移植を行い、括約筋の再生・機能の改善に寄与するかどうかを検証し、内因性尿道括約筋障害に対する治療法になりうるかを検討する。【方法】1. 雌の SD ラットを用いた。開腹後、尿道を全周性に機械的に剥離し、筋毒素である cardiotoxin を投与することにより、尿道括約筋障害モデルを作成した。2. 事前に大腿骨または腸骨から骨髄細胞を採取・遠心分離し、培養した。培養細胞の性質は、flowcytometry, 免疫染色により評価した。3. 括約筋障害術後 7 日目に、培養骨髄細胞 (2.0 – 5.0×10^5 cells) を、同一個体の尿道括約筋周囲へ注入・移植した。一部には green fluorescent protein (GFP) 標識細胞を移植した。4. コントロールとして、sham 群 (開腹のみ) および括約筋障害術後に培地のみ注入した群を設定した。5. 移植後 1–12 週まで、経時的に尿漏出圧 (leak point pressure, LPP), 膀胱容量を測定した。6. 12 週後に標本を採取し、免疫染色により組織学的評価を行った。尿道平滑筋については α smooth muscle actin (α SMA) 陽性領域、横紋筋については skeletal myosin 陽性領域を測定した。神経については protein gene product (PGP) 9.5 染色により評価した。【結果】1. 尿道括約筋障害を与えたラットの LPP は、術前に比べ有意に低下し、この状態は 12 週まで持続した。2. 培養骨髄細胞は、間葉系細胞マーカー (CD29, CD54, STRO-1) 陽性で、1–2 回継代後、desmin, α SMA 陽性細胞に分化した。3. 移植 14 日後、28 日後において、尿道周囲に GFP 陽性細胞を認め、この細胞は、desmin, skeletal myosin 陽性であった。4. LPP は、括約筋障害手術後低下したが、移植後、徐々に回復傾向を示した。しかし、非移植群と比べて有意差は認めなかった。5. 尿道平滑筋、横紋筋面積も、12 週後においては、各群間で有意差は認めなかった。6. 尿道上皮および括約筋内に、PGP9.5 陽性細胞を認めた。【結論】上述手技により、尿道括約筋障害モデルが作成できた。尿道周囲へ移植した骨髄細胞は、生着し、横紋筋細胞へ分化することが示された。しかし、非移植群に比べて明らかな機能的改善は得られなかった。移植手技や、移植細胞数について、更なる検討が必要と思われた。