

氏名(国籍)	おう 王	よう 楊	(中 国)
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 2403 号		
学位授与年月日	平成12年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	Functional and Immunohistochemical Analysis on Rat Obstructed Bladder Induced by Urethral Ligature (尿道結紮によるラット閉塞膀胱に対する機能的及び免疫組織化学的検討)		
主 査	筑波大学教授	理学博士	久 野 節 二
副 査	筑波大学教授	医学博士	野 口 雅 之
副 査	筑波大学助教授	医学博士	玉 岡 晃
副 査	筑波大学講師	獣医学博士	杉 山 文 博
副 査	筑波大学講師	医学博士	松 崎 靖 司

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

下部尿路閉塞による排尿障害は膀胱の機械的及び機能的変化をもたらす。その変化は経時的に肥大型、代償期、代償障害期に分けることができる。機能的な変化は循環障害、神経受容体と伝達物質の変化によるものと考えられている。下部尿路閉塞では膀胱重量が増加するが、形態的には膀胱壁の肥厚が認められ、筋細胞の肥大と増殖を伴うとされている。また、膀胱壁の肥厚と組織の損傷は閉塞の期間と程度に大きく影響される。本研究ではラットを用いて、下部尿路障害に伴う膀胱組織の損傷と再建の機構を解析するために、極度の膀胱閉塞モデルを作成し、主に膀胱平滑筋層の組織学的及び機能的変化を解析すると共に免疫組織化学的に検討した。

### (対象と方法)

膀胱閉塞モデル作成はSD系成熟雌ラット(8週齢, 200g)を用いて以下のように行った。ペントバルビタール麻酔下(0.025mg/g, 腹腔内投与)にポリエチレンカテーテル(外径0.6mm, 夏目)を経尿道的に膀胱内に挿入後、3-0silkでカテーテルの外径の沿って結紮した。対照群には腹部切開と膀胱剥離及び切開部縫合のみを行った。術後3, 5, 7及び28日目に同麻酔下に膀胱を露出し、23Gカニューレを膀胱内へ挿入、残尿を採取して尿培養(LB培地, 37℃, 24時間)を行い、感染尿でないことを確認した。組織学的解析のため尿管を膀胱壁側で結紮後、膀胱を摘出し、パラフォルムアルデヒド(PFA, pH7.4, 4℃)で6時間固定した。洗浄後、パラフィン包埋し、組織切片を作成した。尿力学的検査は術後3, 5, 7及び28日目のラットを用いて、ウレタン麻酔(1mg/g, 腹腔内投与)下に23Gカニューレを膀胱内へ挿入し、圧力記録装置に接続して行った。マイクロポンプ生理食塩水を0.05-0.1ml/minの流速で膀胱内へ注入し、排尿曲線、膀胱基線値、膀胱灌流時間、最大膀胱内圧及び排尿閾値を測定した。免疫組織化学的解析には術後5, 7及び28日の膀胱をパラフォルムアルデヒドで固定後、パラフィン切片を作成し、アピジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ法とPAP法により収縮性タンパク質であるSM-alphaアクチンとトロポミオシン、さらに接着タンパク質のピンキュリンの検出を行った。

## (結果)

閉塞後5日から膀胱重量が増し、28日後に3倍に達した。組織学的には術後3日の膀胱壁の全層に鬱血を、筋層に血球の浸潤と上皮細胞障害を認めたが、これらは以後消失した。一方、膀胱壁の肥厚、筋細胞の肥大と増生及び上皮細胞の増殖は7日から28日まで続き、28日目では漿膜層が増生し、漿膜内紡錘形細胞が出現した。機能的には5日後の膀胱は正常な排尿パターンを失い、無抑制収縮と尿漏れが観察された。7日後では排尿機能は回復傾向を示したが、蓄尿機能があまり回復しない個体 (Type I) と著しく回復した個体 (Type II) が区別された。Type II ではType I と比べ、最大膀胱容量が有意に増加し、コンプライアンスもほぼ正常を示したが、最大排尿圧と残尿量などの排尿機能に関わる指標に有意差は認められなかった。免疫組織化学的解析では、トロポミオシンが一過性の発現増加を示し、術後28日の膀胱漿膜側に出現した紡錘形細胞にSM-alphaアクチンとトロポミオシン陽性反応を認めた。

## (考察)

従来の動物実験では比較的軽度の閉塞を起こした膀胱の機能的変化が調べられてきたが、本研究では極度の閉塞モデルを作成し、機械的付加による膀胱の損傷と組織再建について組織学的及び機能的解析を行った。このモデルでは、急性期の膀胱体積の増加、筋組織と上皮の障害そして慢性期でのそれらの回復が観察された。機能的には閉塞の影響は5日目まで認められその後回復した。蓄尿機能については、回復の度合いに2型が区別され、回復度合いと平滑筋細胞の再生 (特にビンキュリンの発現) の相関が示唆された。また、漿膜内に収縮性タンパク質を発現する紡錘形細胞の出現を認めたが、平滑筋細胞の再生を示唆する所見として極めて重要と考えられる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、下部尿路閉塞の動物実験において膀胱の平滑筋層に関する組織学的及び機能的変化を解析し、尿路障害に伴う膀胱の損傷と再建過程に関する貴重な臨床的研究結果を提示している。特に、免疫組織化学による収縮性タンパク質の発現に焦点をあてた膀胱平滑筋層の再建過程の観察は、膀胱平滑筋の再生機序の解明において今後の進展が期待される優れた研究結果であり、学位論文として高く評価できる。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。