

機関番号：32713

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20791128

研究課題名 (和文) アンドロゲン環境が膀胱機能に及ぼす影響：平滑筋収縮に関わる因子を指標とした検討

研究課題名 (英文) Effects of low androgen environment on urinary bladder function: a study on the basis of factors related to smooth muscle contraction

研究代表者

中澤 龍斗 (NAKAZAWA RYUTO)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号：10465403

研究成果の概要 (和文)：

加齢男性や低アンドロゲン血症患者において膀胱機能が低下する機序を解明することを目的として研究を行った。モデルマウスの膀胱において去勢や加齢により平滑筋収縮関連因子 (Rho kinase, AT II 受容体) の発現量が低下し、テストステロンの補充によりその発現量が上昇したことから、アンドロゲンレベルの低下が平滑筋収縮関連因子の発現低下を引き起こし、ひいては膀胱機能低下の一因となることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

This study aimed to investigate the possible involvement of the altered androgen environment in urinary bladder dysfunction frequently seen in elder or hypoandrogenemic men by using castrated mice and aged mice as animal models with reduced androgen levels. Immunohistochemical observations of the bladder tissues revealed that the reduced expression of factors related to smooth muscle contraction including Rho kinase and angiotensin II receptor type 1 (AT1) in these models were up regulated by androgen supplementation. These results suggest that low androgen environment cause decreased expression of Rho kinase and AT1, thereby contributing to urinary bladder dysfunction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：ホルモン環境、男性ホルモン、膀胱平滑筋、生理活性、発現抑制

1. 研究開始当初の背景

近年、中高年層の人口比率増加に伴い、加齢による体内ホルモン環境の変化をもたらす健康影響への関心が高まり、男性においては男性更年期などの低アンドロゲン血症の病態が注目されている。加齢や内分泌機能異常に伴う精巣機能障害による男性ホルモン低下を基礎として性機能の低下、筋肉量・骨量の低下、不定愁訴の発現など身体的、精神的変化を生じる。また、加齢による下部尿路症状の出現がアンドロゲン環境の変化に影響を受けることが報告されている。しかし、膀胱に対するアンドロゲンの影響については殆ど明らかにされていないのが現状である。

現在まで申請者は、去勢および、それに対しアンドロゲン投与を行ったラットの膀胱におけるアンギオテンシン II (AT II) 受容体 mRNA 量の発現とアポトーシスの誘導について検討した。去勢群では膀胱において AT 2 受容体 mRNA 量、Caspase-3 蛋白、MKP-1 の発現が有意に増加し、アンドロゲン投与群では対照群レベルに戻る傾向を認めた。このことは、アンドロゲンの減少が膀胱におけるアポトーシス関連蛋白の発現、特に MAP kinase を介した経路に影響を与えることを示唆している。

一方、平滑筋組織において収縮に関与する因子に Rho kinase がある。Rho kinase は myosin-binding subunit of myosin phosphatase のリン酸化を促し、myosin

phosphatase 活性は阻害され、結果的にミオシン軽鎖のリン酸化レベルが亢進するため平滑筋収縮が誘導されると考えられている。腎血管組織においてアンドロゲン環境の変化に伴って Rho kinase の蛋白発現量が変化すると報告¹や、アンドロゲンは Rho kinase を介した AT II の作用により腎血管の収縮力を高めるとの報告がある。

そこで今回、今までの研究成果を更に発展させるため Rho kinase に着目し、アンドロゲン環境の変化に伴う膀胱組織における Rho kinase の発現量や活性の変化を明らかにすることで、加齢により膀胱機能が低下する機序を解明することを着想した。

2. 研究の目的

本研究では、アンドロゲンの産生・分泌器官である精巣を摘出した去勢ラットを低アンドロゲンモデルとして用い、低アンドロゲンレベルにおける膀胱機能の変化を Rho kinase をはじめとする平滑筋収縮関連因子の遺伝子発現の変化の面から捉える。また低アンドロゲンモデルラットにアンドロゲンを投与し、遺伝子発現の変化に対するアンドロゲン補充の効果を明らかにする。

3. 研究の方法

去勢マウスおよび加齢マウスにテストステロン(T)ペレットを2週間皮下挿入後、膀胱組織を摘出し、免疫組織染色によりT補充群および非補充群における平滑筋収縮関連因子の発現量、発現パターンを観察した。

実験動物：C57BL/6J オスマウス 8-9 週齢と13ヶ月齢（加齢群）

去勢手術：麻酔下で両側の精巣を摘除。去勢後、1、2、10 週後で実験に使用。

ホルモン補充：テストステロンペレット (0.5mg/pellet, 21-day release; Innovation Research, USA)を麻酔下でマウスの背部皮下に挿入し2週間後にサンプリング。

Sampling：麻酔下で下大静脈より全採血し、血清分離後、-80℃で凍結保存。

膀胱と前立腺を摘出し、それぞれ重量を測定。

使用動物匹数：

- 去勢後1週：3匹、対照：2匹
- 去勢後2週：3匹、対照：2匹
- 去勢後10週+T補充：3匹
- 去勢後10週未処置：2匹
- 加齢マウス+T補充：3匹、
- 加齢マウス未処置：3匹

免疫染色：膀胱は中性緩衝ホルマリンで固定

後、パラフィン切片を用いて、定法通り、免疫染色を行った。

使用抗体／ROCK2、AT1 受容体、AT2 受容体、MMP-9、Collagen I、Collagen III、TGF β 。

4. 研究成果

前立腺重量(g)の変化(平均 最低-最高)

対照	0.23	0.20-0.25
去勢後 1 週	0.15	<0.1-0.2
去勢後 2 週	0.06	0.05-0.08
去勢後 10 週	<0.01	<0.01-<0.01
去勢後 10 週+T	0.08	0.04-0.14
加齢	0.87	0.82-1.53
加齢+T	1.23	0.99-1.40

膀胱重量(g)の変化(膀胱/体重)

対照	0.02-0.02	/23.8-23.5
去勢後 1 週		/21.7-24.8
去勢後 2 週	0.01-0.02	/22.0-23.8
去勢後 10 週	0.02-0.02	/27.5-27.8
去勢後 10 週+T	0.02-0.03	/25.5-27.4
加齢	0.03-0.05	/37.4-43.7
加齢+T	0.03-0.06	/34.5-36.7

免疫染色の結果

去勢による変化としては、膀胱上皮細胞における Rho-kinase ならびに平滑筋における AT1 受容体の発現が低下し、T 補充により発現上

昇がみられた。加齢による変化としては、膀胱上皮細胞の Rho-kinase の染色性が低下し、また外層平滑筋の細胞質にも Rho-kinase の弱い染色性が観察されるようになり、T 補充によりこれらの染色性が増強した。

5. 主な発表論文等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中澤 龍斗 (NAKAZAWA RYUTO)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号：10465403

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし