

氏名	きむら しんご 木村 信吾
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	2023年3月24日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	ラット慢性骨盤虚血モデルにおける低出力衝撃波の有効性の確認と、過活動膀胱治療メカニズムの解明
論文審査委員	主査 教授 伊藤 明宏 教授 相澤 俊峰 教授 齋木 佳克

## 論文内容要旨

氏名：木村 信吾

本文：

【背景】過活動膀胱は蓄尿症状を呈する症状症候群であるが、その発症メカニズムとして生活習慣病による慢性骨盤虚血が一つの素因と考えられている。低出力衝撃波は血管新生など生体に様々な影響を与えることが知られており、近年多領域で臨床応用されている。低出力衝撃波の生物学的影響が、慢性骨盤虚血による過活動膀胱の治療的効果があるのではないかと仮説を立てた。

【目的】ラット慢性骨盤虚血モデルの過活動膀胱症状に対する低出力衝撃波治療の有効性を確認すること、治療メカニズムを解明することを目的とした。

【方法】16週雄性SDラットを3群に分けた(各n=8)。両側総腸骨動脈の内皮を擦過し血管内皮障害(arterial injury, AI)を生じさせ脂肪食を与えた群をAI群、AI施行後4週から週1回ずつ4週にわたり下腹部に低出力衝撃波(0.25 mJ/mm<sup>2</sup>、1800発、3Hz)を照射した群をAI-SW群とした。24週齢(AI施行後8週)に膀胱瘻を造設し、3日後に覚醒下膀胱内圧測定を行った。膀胱瘻造設を行わないラットの膀胱を採取し分子生物学的・組織学的評価を行った。

【結果】AI群ではControl群と比較して1回排尿量、排尿間隔が有意に減少した一方、AI-SWではAI群と比較して有意な増加を認めた。レーザー血流計を用いた膀胱血流/動脈圧比は膀胱に0, 0.5, 1.0 ml生食注入した3点でAI-SW群がAI群より高値であった。マイクロアレイ解析ではAI群に対してAI-SW群で可溶性グアニル酸シクラーゼ(soluble guanylate cyclase, sGC)  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$ の高発現を認めた。PCR・Western blottingでは、AI群に対しAI-SW群・Control群においてsGC $\alpha 1$ , sGC $\beta 1$ の有意な上昇を認めた。更に環状グアノシンリン酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)アッセイではAI群に対してAI-SW群で有意な上昇を認めた。またLESW照射24時間後(AI施行後4週)のPCRにてAI-SW群で血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)およびcluster of differentiation 31(CD31)の遺伝子高発現を認めた。膀胱の組織学的評価では、AI群の粘膜固有層においてCD31による血管密度の低下を認めた一方で、AI-SW群では同部位の血管密度の上昇を認めた。また、粘膜固有層上層にはsGC $\alpha 1$ ・sGC $\beta 1$ の発現を認めた。

【考察】低出力衝撃波は機械刺激センサーを刺激すると考えられており、VEGFやendothelial nitric oxide synthase(eNOS)を介して一酸化窒素(NO)を活性化することが知られている。一方でNOの細胞内受容体であるsGCは虚血下で減衰し、下部尿路症状に関与すると考えられている。本研究における治療メカニズムとして、①VEGFを介した血管新生やeNOS活性に伴うsGC-cGMPの上昇により膀胱血流が上昇し、治療モデルで血流が回復し慢性虚血による過活動膀胱に進行しなかった可能性、②cGMP活性による知覚神経刺激の抑制による頻尿症状の改善の可能性が考えられ

(書式12)

た。

【結論】本研究では低出力衝撃波が過活動膀胱の新たな治療選択肢となる可能性が示唆された。しかし、その治療メカニズムはまだ十分に解明されておらず、今後の更なる研究が望まれる。

## 審査結果の要旨

博士論文題目 ラット慢性骨盤虚血モデルにおける低出力衝撃波の有効性の確認と、過活動膀胱治療メカニズムの解明

所属専攻・分野名 医科学専攻・泌尿器科学分野

氏名 木村信吾

過活動膀胱は尿意切迫感を必須とした症状症候群であり、頻尿や夜間頻尿、切迫性尿失禁などを伴い、生活の質を著しく低下させる疾患である。発症メカニズムとして、解剖学的素因から、排尿筋由来、粘膜由来、尿道由来、中枢神経由来に分類されるが、病態学的素因として、メタボリック症候群に伴う動脈硬化が近年注目されている。動脈硬化は、慢性骨盤虚血をきたし、酸化ストレス、慢性炎症や内皮障害により、膀胱刺激因子の上昇や粘膜障害や筋層におけるコラーゲン沈着などの組織学的変化や神経障害が生じ、膀胱知覚神経の亢進、膀胱壁内の除神経により頻尿をきたすと考えられている。過活動膀胱の治療薬として、抗コリン剤や $\beta 3$ アゴニストが用いられているが、薬剤で十分に改善しない患者も多く存在しており、そのような難治性過活動膀胱に対する非侵襲的治療の開発が求められている。

低出力衝撃波は、生体への照射により、血管新生、抗炎症作用、神経再生促進、細胞増殖、細胞膜透過性変化などの生物学的変化をもたらすことが示されており、動物実験では血管内皮増殖因子や接着分子であるCD31を介した血管新生に伴う機能改善が報告されている。低出力衝撃波のもつ生物学的効果が、慢性骨盤虚血をもたらす素因に作用し過活動膀胱症状を改善させるのではないかと考えられたため、ラット慢性骨盤虚血モデルを作成し、過活動膀胱症状に対する低出力衝撃波の有効性を確認し、治療メカニズムを解明することを目的として本研究を行った。

その結果、ラット慢性骨盤虚血モデルの膀胱に低出力衝撃波を照射することにより、過活動膀胱症状の改善が認められた。レーザー血流計による計測では、低出力衝撃波の照射で膀胱の血流が改善していることが確認された。膀胱組織においては、膀胱粘膜固有層での血管密度の上昇が認められ、マイクロアレイ解析、Western blottingでは、可溶性グアニル酸シクラーゼ (soluble guanylate cyclase, sGC)  $\alpha 1 \cdot \beta 1$  の発現上昇が認められたことから、低出力衝撃波照射による治療メカニズムとして、膀胱血流の改善とsGC-cGMPの活性が関与していることが示唆された。

以上、本研究により、低出力衝撃波が過活動膀胱の新たな治療選択肢となり得る可能性が示されたことから、価値の高い研究と言える。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。