

令和 2年 2月

# 木村有佑 学位論文審査要旨

主 査 山 本 一 博  
副主査 山 崎 章  
同 武 中 篤

## 主論文

The circadian rhythm of bladder clock genes in the spontaneously hypertensive rat  
(高血圧自然発症ラットにおける膀胱時計遺伝子の概日リズム)

(著者：木村有佑、本田正史、佐々木諒、弓岡徹也、岩本秀人、Tsounapi Panagiota、  
森實修一、引田克弥、尾崎充彦、岡田太、武中篤)

令和元年 PLOS ONE DOI:10.1371/journal.pone.0220381

## 参考論文

1. Effect of intravesical bacilli Calmette-Guerin therapy after second transurethral  
resection in stage Ta T1 high-grade bladder cancer

(ステージTa T1高悪性度膀胱癌における2度目の経尿道的切除術後の膀胱内bacilli  
Calmette-Guerin療法の効果)

(著者：木村有佑、本田正史、森實修一、引田克弥、磯山忠広、小野孝司、小海力、  
高橋千寛、武中篤)

令和元年 Yonago Acta Medica 62巻 191頁～197頁

# 学位論文要旨

## The circadian rhythm of bladder clock genes in the spontaneously hypertensive rat (高血圧自然発症ラットにおける膀胱時計遺伝子の概日リズム)

生体の日内変動現象の多くが時計遺伝子による分子的現象として解明されてきており、膀胱の時計遺伝子が膀胱容量の日内変動を制御していることが知られている。しかしながら高血圧などの病態下において膀胱の時計遺伝子が排尿に与える影響については明らかではなく、その報告は認めない。本研究では、高血圧モデルラットにおける膀胱時計遺伝子の発現と膀胱機能障害との関連について検討を行った。

### 方法

6週齢雄Wistar rats (Control群、n=36) と雄spontaneously hypertensive rats (SHR) (SHR群、n=36) を用いた。実験動物は12時間毎の明期と暗期の条件下においた。ラットは夜行性のため、明期が休息期、暗期が活動期となる。18週齢となった時点で代謝ゲージを用いて排尿測定を行い、2群間の総排尿量、排尿回数、1回排尿量の比較検討を行った。1日を4時間毎の6つに分け膀胱を採取し (ZT 3、7、11、15、19、23、各n=6)、qRT-PCRにてTRPV1、TRPV4、VNUT、Piezo1、Rev-erb $\alpha$ 、Per2、Cry2、Bmal1、ClockのmRNA発現について検討を行った。

### 結果

Control群に比較してSHR群において体重、膀胱重量ともに有意に低下していた。全体、休息期、活動期においてControl群に比較してSHR群で排尿回数は有意に増加し、1回排尿量は有意に低下していた。Control群において1回排尿量は休息期に比較して活動期で有意に低下していたが、SHR群の1回排尿量は休息期と活動期で有意差を認めなかった。Control群に比較してSHR群においてRev-erb $\alpha$ 、Per2ではすべての時間、Cry2、Bmal1、Clockでは一部の時間で有意な遺伝子発現の上昇を認め、両群でRev-erb $\alpha$ 、Per2、Bmal1において各遺伝子発現の明瞭な概日リズムを認めた。Control群に比較してSHR群においてCry2とClockは活動期に有意に上昇していたが、休息期では有意差を認めなかった。さらに、SHR群においてTRPV1、TRPV4、VNUT、Piezo1はZT19 (活動期) に有意に上昇していた。

## 考 察

本研究において、SHR群はControl群に比較して排尿回数は増加し、1回排尿量の低下と日内変動の消失を認めた。さらにSHR群において、Control群に比較して活動期の2つの時計遺伝子（Cry2とClock）とTRPV1、TRPV4、VNUT、Piezo1の有意な上昇を認めた。先行研究では野生型マウスの膀胱ではClock、Per1、Per2、Cry1、Bmal1の発現の概日リズムを認めたが、Cry-nullマウスではPer2およびBmal1の概日発現リズムの乱れに伴って時計遺伝子の発現は低下していた。別の報告では、野生型マウスに比較してclockミュータントマウスにおいて膀胱粘膜におけるPer2、Cry1、Bmal1、Rev-erb $\alpha$ のmRNAの概日発現の消失が報告された。さらに、clockミュータントマウスの膀胱粘膜におけるTRPV4、VNUT、Piezo1は日内変動が消失しており、これらすべてが時計遺伝子によって調節されたとしている。活動期のSHRでのCry2およびClockの発現の増加は、TRPV1、TRPV4、Piezo1、VNUTの発現増加と関連している可能性があり、この増加により伸展刺激の閾値が低下すると考えられる。これにより、SHRの排尿回数の増加と膀胱容量の減少を引き起こしたと考えられる。以上より、SHRにおいて活動期のCry2とClockの上昇はTRPV1、TRPV4、VNUT、Piezo1の上昇を介して活動期の膀胱容量低下に関与していると考えられた。本研究では高血圧による膀胱機能障害と膀胱時計遺伝子の関連について明らかにした。

## 結 論

SHRにおいて活動期のCry2とClockの上昇はTRPV1、TRPV4、VNUT、Piezo1の上昇を介して活動期の膀胱容量低下に関与していると考えられた。さらなる機序の解明により、時計遺伝子を介した高血圧による膀胱機能障害の新たな治療の対象となる可能性が示唆された。