

氏名	きのうち しんいちろう 木内慎一郎
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第465号
学位授与年月日	平成16年 3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Changes in Apoptosis-Related Genes (Bcl-2, Bax) in the Urethras of Old Female Rats Following Estrogen Replacement (エストロゲン補充を行った老年雌ラットの尿道に於けるアポトーシス関連遺伝子の発現の変化についての検討)
学位論文審査委員	(主査) 宮川 征 男 (副査) 能勢 隆之 田中 吉紀

学位論文の内容の要旨

閉経に伴う血中エストロゲン濃度の低下は、膀胱や尿道に萎縮性の変化を引き起こし、頻尿、尿意切迫、尿失禁、排尿困難の原因となると推測されている。これに対し、下部尿路はエストロゲン依存組織であり、エストロゲンレセプターが存在するので、萎縮性変化を改善させ、排尿障害を改善させる目的で、エストロゲン補充が行われることがある。しかし、エストロゲン補充による下部尿路の変化の詳細については、まだ明らかではなく、その有効性については明確ではない。

これまでの研究では、エストロゲンはアポトーシス関連遺伝子に影響を及ぼし、細胞の生死を統制することが示唆されているが、尿道でのエストロゲンのアポトーシス関連遺伝子への影響については明らかにされていない。今回の研究では、閉経後の雌ラットに対してエストロゲン補充を行い、尿道でのアポトーシス関連遺伝子の発現の変化について検討した。

方 法

16ヶ月齢のウィスター系雌ラットを用い、8匹ずつの5群に分けた。胡麻油のみ充填されたシリコンチューブを2週間皮下に埋め込んだ、女性ホルモン補充を行わない群(対照群)、エストラジオールを20 $\mu\text{g/ml}$ の割合で溶かした胡麻油を充填したシリコンチューブを2週間皮下に埋め込んだ群(投与群:低用量2週群)、同様のチューブを4週間留置した群(投与群:低用量4週群)、エストラジオールを200 $\mu\text{g/ml}$ の割合で溶かした胡麻油を充填したシリコンチューブを2週間皮下に埋め込んだ群(投与群:高用量2週群)、同様のチューブを4週間留置した群(投与群:高用量4週群)、の5群にて実験を行った。各投与期間の終了した後、エーテル麻酔下に、体重、血中エストラジオール濃度を測定するとともに、尿道を摘出、重量測定を行った。尿道はさらにヘマトキシリン-エオジン染色(H-E)での組織学的検討、Bcl-2、Baxに対する免疫組織化学染色での免疫組織化学的検討および、mRNAを抽出し、*bcl-2*、*bax* 遺伝子の発現について RT-PCR を用いた遺伝子学的検討を行った。

結 果

血中エストラジオール濃度は低用量群、高用量群のいずれも、対照群より有意に高値を示し、さらには、高用量群は低用量群より有意に高値であった。体重はどの群間にも有意差を認めなかったが、尿道重量は対照群に比し投与群で有意に増加していた。組織学的所見では投与群、対照群間に明瞭な差は認められなかった。Bcl-2 に対する尿道の免疫染色では対照群で免疫反応性が認められなかったのに対し、投与群では弱いながら粘膜において免疫反応性を示した。Bax に対する免疫染色では尿道粘膜において投与群に比し対照群でより強い免疫反応性を示した。bcl 2 遺伝子の発現については対照群に比して高用量 4 週群で有意に増加していた。bax 遺伝子の発現については対照群に比して低・高用量 4 週群で有意に減少していた。bax/bcl 2 比に関しては対照群に比して低・高用量 4 週群で有意に低下していた。

考 察

今回の実験では、16ヶ月齢雌ラットにおいて、エストラジオールの2～4週間の投与にて尿道重量の有意な増加を認めた。膀胱では女性ホルモンの補充により、コラーゲン量が増加し、粘膜の菲薄化を改善させ、これらの変化により膀胱の重量が増加することが示唆されている。尿道でも女性ホルモンの補充により膀胱と同様の変化が起これ、尿道重量を増加させたと推測されるが、組織学的検討ではこれらの変化を確認できなかった。

Bcl-2 および Bax に対する検討では、エストラジオール投与は、尿道では主に粘膜の bcl 2 遺伝子の発現を増加させ、bax 遺伝子の発現を減少させた。bcl 2 遺伝子はアポトーシス抑制遺伝子、bax 遺伝子は促進遺伝子であり、両者のバランスにより細胞のアポトーシスが制御される。また、エストロゲン欠乏は bcl 2 遺伝子の発現を減少させ、bax/bcl 2 比が増加し、エストロゲン依存組織においてアポトーシスを引き起こすとされている。以上より、閉経後の16ヶ月齢雌ラットに対するエストラジオール投与は、尿道の上皮細胞のアポトーシスを抑制することが示唆された。

尿道粘膜の萎縮は、頻尿や腹圧性尿失禁の原因になると推測されている。今回の結果は、閉経後のエストロゲン投与は、尿道粘膜のアポトーシスを抑制し、頻尿や腹圧性尿失禁などの排尿障害を改善する可能性があることを示唆している。

結 論

16ヶ月齢ウイスター系雌ラットに対するエストラジオール投与は、尿道重量を増加させ、尿道粘膜において bcl 2 遺伝子の発現を増加させ、bax 遺伝子の発現を減少させた。これらの結果は、閉経後のエストラジオール投与は尿道粘膜のアポトーシスを抑制し、頻尿、尿失禁を改善する可能性があることを示唆している。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は16ヶ月齢ウイスター系雌ラットを用いて、閉経後のエストラジオール投与が尿道に与える影響について検討したものである。その結果、閉経後のエストラジオール投与は尿道、主に粘膜における bcl 2 遺伝子の発現を増加させ、bax 遺伝子の発現を減少させることが分った。本研究は排尿障害の研究分野で、女性ホルモン補充療法は尿道粘膜のアポトーシスを抑制し、頻尿、尿失禁を改善する可能性を示唆するものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認める。