

第21回実験動物セミナー研究成果発表会抄録

Abstracts of the 21th Seminar of Laboratory Animal Center

2010年12月16日 山形大学医学部視聴覚室

1. ラット行動学習への慢性アルコール投与効果

○藤原浩樹, 金子健也, 伊藤貴史, 上村雄太, 松木惇, 矢尾板亮, 藤井聡 (山形大学医学部生理学講座)

近年、アルコールは想起の過程で不安定になる記憶を安定化させ、再固定を強く促進させると報告された。しかし、慢性アルコール摂取ではいまだ不明な点が多い。そこで運動協調性と学習の形成に慢性アルコール投与がどのような影響をもたらすかを検討した。そこで、運動協調性は回転棒テストを用いて、運動学習を検討し、学習の形成には恐怖条件づけを用いて、記憶の獲得と想起のプロセスに重点をおいて検討した。本実験ではラットを用い、慢性アルコール投与群とコントロール群の2群で検討した。回転棒テストは、回転棒上に被験体を乗せてから落下するまでの時間や一定時間内に落下した回数を計測することにより運動協調性の障害の程度を評価した。また、恐怖条件づけでは、CSに音刺激と光刺激、USに電激を対呈示し、消去ではCSのみの呈示を行い、慢性アルコール投与と記憶への影響について検討した。回転棒テストでは、運動協調障害や運動学習の評価をした。2群とも変速回転実験と速度一定実験の両方で歩行時間に有意な差を見ることができなかった。また、恐怖条件づけでは、条件づけにおいて記憶の獲得に有意な差がみられず、消去時に慢性アルコール投与群に影響がみられた。よって、慢性アルコール投与は、条件づけで恐怖を獲得でき、消去時の想起に影響を与えた。

2. 遺伝性食後高トリグリセリド血症 (PHT) ウサギにおける脂質代謝関連遺伝子発現の解析

○福田直樹¹, 伊藤恒賢², 大和田一雄², 藤井順逸¹ (山形大学大学院医学系研究科生化学分子生物学講座, ²動物実験施設)

山形大学医学部附属動物実験施設で開発された食後高トリグリセリド血症 (PHT) ウサギは、食後にのみ高トリグリセリド血症を呈し、ヒトのメタボリックシンドロームのモデル動物として研究が進められてきたが、その病態発症機構は未だ明らかになっていない。本研究では、PHTウサギの脂質代謝異常に関わる原因遺伝子を明らかにすることを目的とし、関与が考えられる9種類の脂質代謝関連遺伝子について、それらのmRNAの発現レベルを調べ、PHTウサギと正常対照の間で比較解析した。その結果、PHTウサギでは食後にFAS mRNAの発現が増加し、HTGL mRNAの発現は低下することが分かった。血液中のHTGL活性を測定したところ、PHTウサギでは対照と比較して有意に低値を示した。またPHTウサギにおけるHTGL遺伝子のエクソン領域と、プロモーターを含む5'上流領域の約1 kbの塩基配列を比較したところ、HTGLの第5エクソン領域に1塩基置換を見出した。しかし、この1塩基置換はコードするタンパク質のアミノ酸置換を伴わない変異であった。5'上流領域については、両系統間で塩基配列に違いは認められなかった。

3. 胃のEstradiol-17β合成分泌は絶食により抑制される

○松田友美, 小林裕人, 吉田沙織, 孫英傑, 白澤信行, 内藤輝 (解剖学第一講座)

【目的】胃の壁細胞は胃酸分泌に加えて、Estradiol-17β (E₂) も合

成し門脈に分泌する。しかし、胃E₂合成分泌の制御機構や調節因子などについては不明な点が多い。本研究では胃のE₂合成分泌に及ぼす絶食の影響を調べた。【方法】実験動物には12週齢Wistar系雄ラットを用いた。飼料を与えた対照群 (C)、絶食1日群 (F1)、絶食7日間に栄養剤を皮下投与した群 (F7) の3群を用意した。ELISAにて門脈と動脈のE₂を測定し、免疫組織化学による胃粘膜上皮のAromatase等の抗体陽性細胞の画像解析とReal-Time PCR法による17β-Hydroxysteroid dehydrogenase (17β-HSD), 17α-Hydroxylase (17α-H) 等の遺伝子発現量の検討を行った。【結果】門脈E₂はF1群で27%、F7群で90%減少し、動脈E₂も絶食群で減少傾向を示した。回帰分析の結果、動脈E₂量の減少は門脈中E₂量に依存することが分かった。粘膜上皮のAromatase抗体陽性細胞の面積は絶食群で減少した。遺伝子発現量では、絶食群でAromataseと17β-HSDが減少し、17α-Hが増加した。【考察】絶食は胃のステロイド代謝系酵素の遺伝子発現に影響を与え、E₂合成を抑制するとともに、門脈に分泌するE₂量を減少させる。また、門脈E₂量が動脈E₂量に反映することから、絶食による胃E₂の合成分泌抑制は内分泌器官に影響を与えることが示唆された。

4. アルデヒド還元酵素 (ALR) 遺伝子改変マウスを用いたベンツバルビタール解毒障害機構の解明

○大槻倫之¹, 伊藤純一¹, 高橋素子², 西田隼人¹, 金野祐¹, 角田智志¹, 倉橋敏裕¹, 張旭紅¹, 宮田哲³, 藤井順逸¹

(¹山形大学大学院医学系研究科生化学分子生物学講座, ²札幌医科大学医学講座, ³神戸大学大学院医学系研究科内科学講座・大阪厚生年金病院内科)

Aldehyde reductase (ALR) は肝臓と腎臓に多く分布し、NADPH依存性にカルボニル化合物を還元・解毒する。最近ALRがアスコルビン酸 (ビタミンC) 合成に関与することが明らかになった。しかし、ALRの解毒作用については対象基質をはじめ不明な点が多い。

今回我々は、ALRの麻酔薬に対する解毒作用について、遺伝子改変マウスを用いて検討した。ケトン基を持つベンツバルビタール (PB) と持たないイソフルランを投与したところ、PBのみがALR欠損 (KO) マウスに対して持続的な麻酔効果を示した。アスコルビン酸欠乏食 (CL2群) で飼育したマウスにPBを腹腔内投与し麻酔時間を測定したところ、ALR-KOマウス (88分27秒±496秒) ではWtマウス (62分30秒±36秒) に比べて麻酔時間が有意に長く、ALR-Tg (42分43秒±298秒) では逆に有意に短かった。しかし、CL2群では普通食群に比べ麻酔時間が延長する傾向は見られたが、いずれの系統でも有意差を認めなかった。ALRはアスコルビン酸合成を調節していることが確認されたが、PBの解毒にアスコルビン酸を補因子とした酸化還元反応が関与するかどうかについては否定的であった。以上の結果より、PBは主に肝臓のALRの直接作用により解毒されていることが示唆された。

5. マウス盲腸部におけるNa⁺依存性モノカルボン酸輸送1 (SMCT1) の遺伝子発現に及ぼすカシューナッツ殻液給与の影響

○小笠原実咲, 遠藤翔子, 小酒井貴晴 (山形大学地域教育文

化学部生活総合学科食環境デザインコース)

【目的】カシューナッツはウルシ科の植物であり、その殻から得られるカシューナッツ殻液 (CNLS) は抗菌性を有することが知られている。最近、CNLS 給与が草食動物の消化管におけるメタンガス産生を抑制するとともに、プロピオン酸産生を促進するということが報告された。微生物発酵産物である酢酸、プロピオン酸および酪酸はモノカルボン酸の短鎖脂肪酸で、大腸内容物における主要な陰イオンである。これら短鎖脂肪酸の吸収にはナトリウム依存性モノカルボン酸輸送体 (SMCT1) が関わっていることが示唆されている。しかし、CNLS の給与が盲腸部 SMCT1 発現に及ぼす影響は不明である。そこで本研究では、28日間の CNLS 給与がマウスの体重及び盲腸部における SMCT1 の遺伝子発現率に及ぼす影響について検討した。

【方法】8週齢雄 ICR マウス (日本クレア社) 40匹 (1処理区10匹) を供試した。マウス用粉末飼料 (CE-2) を給与して2週間の馴致を行った後、①コントロール区、②0.03%区CNLS給与区 (0.03%区)、③0.06%CNLS給与区 (0.06%区)、④30ppmモネンシン区 (モネンシン区) を設定して、各処理とも28日間自由採食させた。CNLS は粘性の高い液体であるため、アルファルファ (マメ科植物) 乾草粉末に吸着させ、CE-2粉末に混合させて給与した。モネンシンは塩化モネンシンを用いた。なお、コントロール区には、CNLS を含まないアルファルファ乾草粉末を他の3処理区と同等量添加し、処理区間の給与成分の違いはCNLSのみとした。

体重は毎週1回測定した。実験日当日、頸椎脱臼で安楽死させ、盲腸を摘出し、遺伝子発現解析まで -80℃ で保管した。total RNA 抽出はRNAiso Plus (タカラバイオ株式会社) を使用し、AGPC法で行った。抽出したtotal RNA から逆転写酵素 (Applied Biosystems社 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit を使用) にてcDNA を合成し、real-time PCR にて盲腸部の SMCT1 遺伝子発現を解析した。real-time PCR で使用した各プライマー、プローブは表1に示す。SMCT1 の発現率は $\Delta \Delta Ct$ 法を用いて解析した。

Primer	realtime-mouse B-actin Forward	5'-TGACGGCCAGGTCATCACTAT-3'
	realtime-mouse B-actin Revse	5'-CCACAGGATTCCATACCCAAGA-3'
	realtime-mouse SMCT1 Forward	5'-CCCTGGCATCGCTGATG-3'
	realtime-mouse SMCT1 Revse	5'-CCAAGAAAACAAGCCAGAAG-3'
Probe	realtime-m-B-ACTIN	5'-FAM-CAACGAGCGGTTCGATGCC-BHQ-3'
	realtime-m-SMCT1	5'-FAM-TTACCATTTGCCCTTGAACCTATGGCT-BHQ-3'

【結果】

- ①4処理区とも体重は加齢に伴って増大したが、4処理区間に統計的有意差は認められなかった。
- ②盲腸部における SMCT1 遺伝子発現率は、モネンシン区、0.06%区、0.03%区、control区 の順で高値であった。特に、モネンシン区 の SMCT1 発現率は control区 のそれより統計的に有意に高値であった。

【まとめ】10-14週齢のマウスにおいて、28日間の CNLS 給与は盲腸部における SMCT1 発現率を増大させることが示唆された。しかしながら本研究ではモネンシン区が最も高い SMCT1 発現率を示した。CNLS と同様にモネンシンは消化管内の微生物に選択的に作用し、プロピオン酸産生を促進することが既に明らかとなっている。よってモネンシン区では、プロピオン酸産生が促進されたために、その

輸送体である SMCT1 の遺伝子発現が誘発されたと考えられた。今後の課題としては、腸内発酵産物の濃度の測定を検討したい。

6. マウス腸管部における Na⁺依存性グルコース輸送体 1 (SGLT1) の遺伝子発現に及ぼすカシューナッツ殻液給与の影響

○遠藤翔子, 小笠原実咲, 小酒井貴晴 (山形大学地域教育文 化学部生活総合学科食環境デザインコース)

【目的】食物中の炭水化物や食物繊維は消化管微生物により代謝され、酢酸やプロピオン酸などの短鎖脂肪酸が産生される。最近の研究で、カシューナッツの外殻から得られるカシューナッツ殻油 (CNLS) 給与が草食動物の消化管におけるメタンガス産生を抑制する上に、プロピオン酸産生を促進することが報告されている。つまり、食品中の栄養素、消化管微生物発酵及び消化管の栄養素吸収の3者間には相互関係が存在すると考えられる。上述のように、CNLS は消化酵素発酵パターンを変えると報告されていることから、グルコースなどの基質は微生物によって代謝され、動物腸管で吸収・利用されにくくなっていることが予想される。がしかし、CNLS 給与がグルコース代謝に及ぼす詳細な影響は不明である。そこで、CNLS を28日間マウスへ給与したときの、マウス血中グルコース濃度とグルコース能動輸送を担っている Na⁺依存性グルコース輸送体 1 (SGLT1) の遺伝子発現率に及ぼす影響を検討した。

【方法】8週齢雄の ICR マウス (日本クレア社) 40匹 (1処理10匹) を供試した。マウス用粉末飼料 (CE-2) を2週間給与して馴致した。処理区は、①コントロール区、②0.03%CNLS給与区 (0.03%区)、③0.06%CNLS給与区 (0.06%区) 及び④30 ppmモネンシン (モネンシン区) とし、各処理区とも28日間自由採食させた。CNLS は粘性の高い液体であるため、アルファルファ (マメ科植物) 乾草粉末に吸着させ、CE-2粉末に混合させて給与した。モネンシンは塩化モネンシンを用いた。なお、コントロール区には、CNLS を含まないアルファルファ乾草粉末を他の3処理区と同等量添加し、処理区間の給与成分の違いはCNLSのみとした。

採血は、1群につき供試マウス6匹から約400μLを心臓採血し、凝固させたのち、12000 rpm×20分、4℃で遠心分離し、血清を回収した。血液中のグルコース濃度は酵素法で測定した。心臓採血後、頸椎脱臼にて安楽死させ、空腸部と盲腸部を採取し、-80℃に保管した。RNAiso Plus (タカラバイオ株式会社) を用いた AGPC法により、組織からtotal RNAを抽出した。抽出したtotal RNAを逆転写反応 (RT法) によってcDNAを合成し、その後、real-time PCR で SGLT1 の遺伝子発現率を測定した。SGLT1 の遺伝子発現率は β -actin で補正し、 $\Delta \Delta Ct$ 法にて解析した。

【結果】4処理区間の血中グルコース濃度は98.3-109.7 ml/dlでほぼ同程度であった。空腸部 SGLT1 遺伝子発現率は、0.06%区で最も高値を示し、次いでモネンシン区、0.03%区、コントロール区 の順であった。一方、盲腸部 SGLT1 遺伝子発現率は、コントロール区で最も高値を示し、次いで0.03%区、0.06%区、モネンシン区 の順であった。CNLS 給与区での SGLT1 遺伝子発現率は空腸部で増大し、盲腸部で減少したものの、統計的有意差は認められなかった。

【まとめ】10-14週齢のマウスにおいて、0.03%および0.06%の CNLS 給与は血中グルコース濃度に影響しなかった。加えて、SGLT1 遺伝子発現の結果から、CNLS 給与はグルコース代謝には大きく影響しないことが示唆された。

7. Dominant negative (DN) MafBトランスジェニックマウスにおけるマクロファージの検討

○佐藤道子, 柴田陽光, 木村友美, 阿部修一, 會田康子,
岸宏幸, 小坂祐, 山内啓子, 井上純人, 久保田功
(内科学第一講座)

【背景】肺動脈マクロファージ (AM) はCOPDの病態に重要な役割を果たしている。我々は以前、喫煙暴露マウスのAMで転写因子MafBの発現が亢進し、MafBがAMのアポトーシスを抑制していることを報告した。また、重喫煙者でも同様に、AMのMafB発現が亢進していた。これまで遺伝子改変マウスを用いて、AMにおけるMafBの役割を検討した報告はない。【方法】Macrophage Scavenger Receptor Enhancer-Promoter DN MafBトランスジェニックマウス (MSR-DN MafB TG マウス) を作製し、マクロファージの表現型と食食能を解析した。【結果】MSR-DN MafB TGマウスでは、野生型マウスに比べて、気管支肺胞洗浄液中の細胞濃度が有意に減少していた。また、AMには偽足の形態変化があり、食食能は有意に低下していた。【考察】今回の解析から、MafBがAMの数、細胞形態、機能に影響を及ぼしていることが示された。当マウスを用いた検討が、COPDの病態を解明する契機になると考えられた。今後、生体内でのMafBの機能解析を進める方針である。

8. 妊娠期の止血における凝固ⅩⅢ因子陽性細胞の役割

張偉光, 岩田宏紀, ○惣宇利正善, 一瀬白帝
(分子病態学講座)

血漿トランスグルタミナーゼ前駆体である凝固ⅩⅢ因子 (FXIII) は、酵素部位であるAサブユニット (FXIII-A) とその安定化に働くBサブユニット (FXIII-B) から成る異種四量体として血中に存在し、止血と妊娠の維持および創傷治療に働く。FXIII-Aはまた、巨核球/血小板や単球/マクロファージなどの細胞内にもFXIII-Bとは独立して存在する。マウスにおけるFXIII-Aの完全欠損は、雌が妊娠した場合、子宮内に致死的な出血を引き起こす。本研究では、FXIII-Aが血中では著減しているものの細胞内では野生型と同等レベル存在するFXIII-B欠損マウスについて、妊娠期の出血の有無を検討した。FXIII-A欠損マウスでは、9割を超えるマウスで妊娠10日以降に臍からの出血を呈し、その6割が出血後1~2日後に死亡した。一方、FXIII-B欠損マウスにおいては、10匹中1匹のみ妊娠16日目に出血を認めたが、死亡することはなかった。妊娠10日目の子宮を組織化学的に観察したところ、床脱着膜内における顕著な出血がFXIII-A欠損マウスで確認され、FXIII-B欠損マウスにおいても軽微な出血が認められた。FXIII-B欠損マウスにおいて、妊娠10日目における血漿中のFXIII活性は検出されなかったが、床脱着膜における多数のFXIII-A陽性細胞が免疫組織染色により検出された。FXIII-B欠損マウスから調製した白血球を妊娠したFXIII-A欠損マウスに注入したところ、臍からの一時的な出血は認められたものの、死に至ることはなかった。加えて、野生型、FXIII-B欠損マウスおよび組織トランスグルタミナーゼ欠損マウスの腹腔マクロファージを試験管内でFXIII-A欠損マウスの血漿、トロンビン、カルシウムと反応させたところ、フィブリンの架橋結合が検出された。以上の結果から、妊娠時の出血において、FXIII-A陽性細胞が止血に働き得ることが強く示唆された。

9. PI3K/mTOR経路とMEK/ERK経路のクロストークがグリオブラストーマ幹細胞の自己複製能/造腫瘍能の制御に関与する

○砂山潤¹, 松田憲一郎^{1,2}, 佐藤篤^{1,2}, 立花研¹, 成田善孝³,
洪井壮一郎³, 櫻田香², 嘉山孝正², 富山新太¹, 北中千史¹
(¹山形大・医・腫瘍分子医学講座, ²山形大・医・脳神経外科, ³国立がんセンター中央病院脳神経外科)

グリオブラストーマを形成する腫瘍細胞は放射線や抗増殖剤に対する感受性が一般的に低く、予後は極めて不良であることが知られており、従来とは異なる画期的な治療法の開発が待たれる。これまでに、癌組織は自己複製能を持つ癌幹細胞とそこから分化した癌細胞から形成され、癌の形成はこの癌幹細胞に支配されていることが分かってきた。近年、グリオブラストーマにも癌幹細胞が存在することが報告されており、その性質及び機能解析が重要な課題となっている。本研究ではグリオブラストーマで活性に異常があることが多いPI3K/mTOR経路とMEK/ERK経路の役割について検討を行った。その結果、PI3K/mTOR経路とMEK/ERK経路の両経路を阻害すると一方の経路のみの阻害より分化度が増し、その背景として両経路間にクロストークが存在していることが分かった。また、両経路の阻害によって分化した細胞の造腫瘍能は未分化なグリオブラストーマ幹細胞と比較して顕著に低下することも明らかにした。このことから癌幹細胞は自身の未分化状態を様々な経路を用いて多重的に保障することで造腫瘍能を維持させているのではないかと考えられ、また、両経路の阻害がグリオブラストーマ幹細胞治療に有用である可能性が示唆された。

10. 新しい赤ワインポリフェノール成分の分離およびその血管弛緩作用機序の解析

○山崎理美, 片野由美, 石幡明 (山形大学医学部看護学科)

【背景・目的】赤ワインポリフェノール混合物は内皮細胞依存性の血管作用を示すが、それに比べ、レスバトロールやケルセチンなど赤ワインに含まれる既知のポリフェノールでは弱い血管弛緩作用しかみられない。そこで今回、赤ワインポリフェノール中の血管弛緩作用を惹起する主要成分を探索することを試みた。【方法】逆相HPLCにてポリフェノール成分を分離し、得られた各成分の内皮依存性弛緩作用を、ラット摘出血管を用いて測定した。強い弛緩作用の見られた成分について、弛緩反応の濃度反応曲線を作成し、また作用機序解析と成分の同定を試みた。

【結果】(1) 既知のポリフェノールよりも低濃度で血管弛緩反応を惹起する成分が分離された。(2) この弛緩反応は内皮細胞除去により消失した。また内皮細胞無傷標本において、L-NAMEを処置した場合に弛緩作用が抑制された。(3) 質量分析の結果、既知のポリフェノールとは異なる分子量が検出された。

【考察】今回得られた成分は、主にNOを介して血管弛緩反応をおこすことが示唆された。質量分析の結果、糖鎖を付加した配糖体であることが予測された。

11. パッションフルーツ種子に含まれるポリフェノール成分の冠循環改善作用

○松本裕¹, 佐野翔子², 片野由美¹, 石幡明¹ (¹山形大・医・看護・病態機能学, ²森永製菓株式会社栄養機能研究室)

【背景】Piceatannolは赤ワインやパッションフルーツなどに含まれているポリフェノールであり、抗酸化・抗炎症・血管平滑筋細胞

増殖抑制・再灌流不整脈抑制をはじめとする心血管保護的な生物活性や抗がん作用などを有する。

【目的】今回、我々はPiceatannolおよびパッションフルーツ種子抽出物中に存在する未同定のポリフェノール成分 (Polyphenol X) が虚血性心疾患の予防に有用であるかどうかを調べる目的で、ラット冠灌流量 (CF) に対する影響を検討した。

【方法】5-6ヶ月齢の雄性Fisher344ラットをエーテル麻酔後、速やかに心臓を摘出し、混合ガス(95%O₂、5%CO₂)で飽和したKrebs-Henseleit液(37℃)を用いてLangendorff式に定圧灌流(75 cmH₂O)した。Polyphenol XおよびPiceatannol(10、30、100 μM)を投与し、心機能、冠灌流量の変化を測定した。

【結果】PiceatannolはCF、HRおよび心機能に影響を及ぼさなかった。Polyphenol Xは濃度依存性にCFを増加させ、100 μMのPolyphenol X投与後、CFは速やかに約10%増加した。しかし、Polyphenol Xは、いずれの濃度(10、30、100 μM)においてもHR、LVP、dP/dtに影響を及ぼさなかった。

【結論】以上の結果から、Polyphenol Xは、心機能に影響することなく冠血管を拡張させる作用を持つことが示された。

12. 高トリグリセリド (TG) 血症が血管弛緩能に与える影響

○阿部陽平¹、菱沼早織¹、松本裕¹、伊藤恒賢²、片野由美³、石幡明³ (¹大学院医学系研究科、²動物実験施設、³基礎看護学講座)

【目的】最近の疫学研究で、食後高トリグリセリド (TG) 血症が高コレステロール血症と独立した心血管イベントの危険因子であることが示された。しかしながら、高TG血症が心血管イベント発生にどのような役割を演じているか一定の見解は得られていない。そこで、本研究では高TG血症が血管機能に与える影響について検討した。

【方法】1年齢(雄性)の食後高TG血症(PHT)家兎とその比較対照群として日本白色種(JW)家兎から摘出された胸部大動脈のリング標本を用いて、acetylcholine (Ach) および nitroprusside (NP) による血管弛緩反応を評価した。さらに、5-6ヶ月齢(雄性)のFischer 344 ラットの胸部大動脈から同様に作製されたリング標本に、TGを主成分とする脂肪乳剤 (Intrafat) を処置した後、同様に血管弛緩能を評価した。

【結果・考察】AchによるPHTの血管弛緩能はJWと比較して減弱しており、Intrafat曝露下の血管弛緩能も同様に減弱した。一方、PHTおよびIntrafat曝露下でのNPによる血管弛緩能には変化がなかった。以上より、高TG血症は血管内皮障害を引き起こし、血管弛緩能を減弱させることが示された。

13. 遺伝性食後高トリグリセリド血症 (PHT) 家兎の血小板凝集能、血漿NOおよびTGの経時的変化

○菱沼早織¹、阿部陽平¹、伊藤恒賢²、片野由美³、石幡明³ (¹大学院医学系研究科、²動物実験施設、³基礎看護学講座)

【目的】近年、高脂膳食や運動不足などの生活習慣を背景にメタボリックシンドローム (MS) を呈する患者が増加している。MSは心血管イベントのリスク因子であり、特に高脂血症との関連が注目されている。血小板凝集能の亢進は血栓形成を促進させるため、心筋梗塞をはじめとする虚血性心疾患の原因の一つである。しかしながら、高TG血症と血小板凝集能との関連について未だ明らかとなっていない。そこで、本研究では、高TG血症、高インスリン血症、中心性肥満などのMSの病態を呈するPHTの血小板凝集能、血漿NOおよびTG値の経時的変化について検討した。

【方法】1年齢(雄性)のPHTとその比較対象群として日本白色種 (JW) 家兎 (n=5 each) を使用した。制限食 (120gを12:30に給餌)、水分自由摂取環境下、6、12および18時に各個体から血液を採取した。

【結果・考察】PHTの血漿TG値は、JWと比較して高値を示し、特に朝(6時)から昼(12時)にかけて高値を示した。PHTの血小板凝集能は、朝から昼にかけて高値を示し、一方で血漿NO値は、朝から昼にかけて低値を示した。PHTの血小板凝集能は、血漿TG値と正の相関を示し、一方で血漿NO値と負の相関を示した。

14. ラット膀胱におけるアトロピン抵抗性収縮の加齢変化とその機序

○細田朋佳¹、菱沼早織¹、阿部陽平¹、山田晃子²、小林優子²、片野由美³、石幡明³ (¹大学院医学系研究科、²基礎看護学講座)

高齢化に伴い、頻尿や尿失禁などの生活の質を低下させる下部尿路症状を呈する過活動膀胱 (OAB) が大きな問題となっている。OABの治療薬である抗コリン薬は高齢者では、十分な効果を発揮しない場合もある。これには膀胱平滑筋におけるアトロピン抵抗性収縮の関与が考えられているが、その機序については不明点も多い。

本研究では若齢、成熟齢、老齢のF344ラットを用いて、1) 膀胱平滑筋におけるアトロピン抵抗性収縮の加齢変化、2) 膀胱平滑筋収縮に対するプロピペリンの効果、3) アトロピン抵抗性収縮へのプリン作動性成分の関与について検討した。

ラット膀胱において、加齢に伴いアトロピン抵抗性収縮は増加した。老齢ラットで増加するアトロピン抵抗性収縮をプロピペリンは有意に抑制した。膀胱収縮におけるプリン作動性成分に加齢変化はなかった。

以上より、加齢に伴うアトロピン抵抗性収縮の増加が高齢者の頻尿、尿失禁の一因となっている可能性、プロピペリンは加齢に伴い増加するアトロピン抵抗性収縮を効果的に抑制する可能性、プリン作動性成分はアトロピン抵抗性収縮の一部を担っているが、その加齢変化には他の不明なメカニズムが存在する可能性が示唆された。