

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成果報告書

平成22年9月21日

財団法人京都大学教育研究振興財団  
会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 医学研究科 泌尿器科

職名・学年 博士課程4年

氏名 根来 宏光

事業区分	平成22年度・短期派遣助成		
研究課題名	膀胱の機能的日内リズム形成におけるコネキシン43の役割について		
受入機関	Department of Neuroscience, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY Professor Dave C. Spray		
渡航期間	平成22年 8月 4日 ~ 平成22年 8月 28日		
成果の概要	タイトルは「成果の概要/報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 無 有( )		
会計報告	交付を受けた助成金額	310,000円	
	使用した助成金額	310,000円	
	返納すべき助成金額	0円	
	助成金の使途内訳 (使用旅費の内容)	移動費用	197,500
		宿泊費	112,500

平成22年度短期派遣 成果報告書

タイトル 膀胱の機能的日内リズム形成におけるコネキシン43の役割について

報告者 根来 宏光

### 【緒言】

哺乳類では、睡眠覚醒、体温調節、ホルモン分泌をはじめとして、数多くの24時間周期の生理機能が、時計遺伝子による生物時計システムにより制御されており、このシステムはほとんどすべての器官や組織に存在しているとされている。一方、膀胱の機能的容量は昼間に比べて夜間に増大し排尿回数が減少する日内排尿リズムをもっているが、それを生物時計システムという観点でとらえた研究の報告はこれまでにはない。

マウス、ラットの膀胱において各種時計遺伝子が発現し、24時間のリズムを形成しており、膀胱機能を制御する重要な遺伝子であるギャップジャンクションの構成タンパクであるコネキシン43の発現が24時間リズムで日内変動しており、時計遺伝子のひとつによって制御されている我々の実験結果を踏まえ、コネキシン43ヘテロKOマウス(Cx43<sup>+/-</sup>)の排尿解析を行った。

### 【方法】

マウスの排尿量は極少量であり24時間連続して正確に測定する装置はこれまで存在しなかったが、我々が報告したシステム(Sugino Y, Kanematsu A et al, *NeuroUrol Urodyn* 27:548-552 2008)をさらに改良して、24時間自動化することに成功した器械を用いた。この器械は無麻酔、無拘束で、餌、水の摂取にも制限はない。12時間12時間の明暗周期下(午前7時点灯、午後7時消灯)に適応させたCx43<sup>+/-</sup>雌5匹、そのlittermate雌5匹の排尿解析を4日間連続に行った。リズム性に関しては、一時間ごとのデータをフーリエ変換し、rPSD値を算出して比較した。測定したマウスの膀胱、心臓をサンプリングし、Cx43のmRNAの発現をリアルタイムPCRにて測定した。

### 【結果】

Cx43<sup>+/-</sup>はCx43<sup>-/-</sup>と比べ、

- 1) 膀胱におけるコネキシンのmRNA発現は、心臓と同様に60%減少していた。
- 2) 有意に一回排尿量の増大、排尿量の減少を認めたが、トータルの尿量は差がなかった。
- 3) リズム性に関しては、一回排尿量、排尿回数、尿量のすべてにおいて差が認められなかった。

### 【考察】

Cx43 の発現が 50% 低下している Cx43<sup>+/-</sup> マウスは、その littermate に比べ有意に一回排尿量の増大、排尿量の低下を認めるにも関わらず、トータル尿量には差がないことは、膀胱における Cx43 の発現低下が、ギャップジャンクションを介した周囲への刺激の伝播の低下をもたらしたためと考えられる。この結果は、我々が先行論文 (Imamura M, Negoro H, Kanematsu A et al, Basic fibroblast growth factor causes urinary bladder overactivity through gap junction generation in the smooth muscle. *Am J Physiol Renal Physiol* 297:F46-F54 2009) において、膀胱での Cx43 の発現上昇が膀胱過活動の原因となることを示したことと合致し、膀胱での Cx43 の重要性をさらに示すものである。

Cx43<sup>+/-</sup> も、Cx43<sup>+/+</sup> と同様に日内排尿リズムを有することは、Cx43<sup>+/-</sup> の膀胱における Cx43 が、低発現のまま日内変動リズムを有しているためと考えられ、Cx43 の発現と日内排尿リズムの直接的な関係は、時計遺伝子を改変したマウスの mRNA の発現、排尿行動解析の結果が重要となるであろう。