

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10620

研究課題名(和文) 脳梗塞に伴う過活動膀胱の発症予防を目指す非神経因性膀胱壁過緊張に関する研究

研究課題名(英文) What enhance the non-neurogenic detrusor contraction of the bladder induced by mechanical stretch and spontaneous contractions of the bladder in rats with cerebral infarction?

研究代表者

秋野 裕信 (AKINO, HIRONOBU)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・教授

研究者番号：90159335

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：脳梗塞ラットの摘出膀胱で、壁伸展による非神経因性の収縮ならびに自律収縮が亢進していることを発見したが、これらの脳梗塞に伴う非神経因性膀胱壁過緊張の発生機序について検討した。脳梗塞ラットで活動亢進が知られている知覚C線維は関与しなかった。知覚ならびに運動に関与する各種受容体の発現亢進が脳梗塞ラット膀胱で確認された。そして、脳梗塞に伴う非神経因性膀胱壁過緊張の発生に平滑筋収縮に関与するRho-kinase 1の発現亢進ならびに機能の亢進が関与することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Non-neurogenic detrusor hyperactivity, e.g., a greater pressure response of the in vitro whole bladder to a mechanical stretch and enhancement of spontaneous contractions (SCs) of the bladder, was induced by cerebral infarction (CI) in rats. The aim of the study was to examine the mechanism for the non-neurogenic detrusor hyperactivity in rats with CI. The sensory C-fiber of the bladder, that is upregulated in the CI rats, was not related with the non-neurogenic detrusor hyperactivity. The mRNAs of some receptors involved in afferent or efferent neural pathway and of rho-kinase 1 were upregulated in the bladder by CI. The inhibitory effects of a rho-kinase inhibitor, fasudil, on the detrusor were significantly greater in the CI rat than in the sham-operated rats. These results suggest the non-neurogenic detrusor hyperactivity induced by CI may be associated with enhanced activity of rho-kinase.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：脳梗塞 過活動膀胱 非神経因性 膀胱収縮

## 1. 研究開始当初の背景

本研究の申請者らは脳梗塞ラットにより発生する排尿筋過活動は抗コリン薬のトルテロジンやイミダフェナシンで抑制されるが、その抑制効果はレジニフェラトキシン (RTX) によるC線維の脱感作で抑制されることから、脳梗塞による排尿筋過活動で知覚C線維の活動性が亢進していることを明らかにしてきた (J Urol 2005. J Urol 2011)。このように脳梗塞によって知覚C線維活動性の亢進が認められるが、なぜ膀胱知覚が亢進するのか、その機序はまったく不明のままである。

私たちは中大脳動脈塞栓による脳梗塞作製後6時間経過した時点でラット膀胱を摘出し、*in vitro* で膀胱内にKrebs液を注入して伸展させた場合、膀胱拡張に伴う膀胱内圧の上昇が有意に亢進し、自発収縮も亢進することを報告した (日本排尿機能学会2013年・2014年、アメリカ泌尿器科学会2014年) (図)。

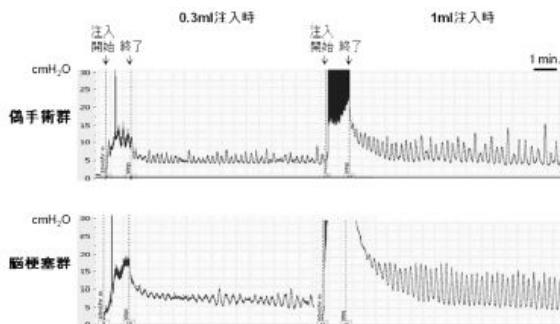


図. *In vitro*膀胱にKrebs液を注入した際の膀胱内圧の変化

*In vitro* 膀胱は中枢神経との連絡が断れている状態であり、これらの変化は脳梗塞によって引き起された膀胱自体の非神経因性的変化である。非神経因性的膀胱収縮亢進状態は膀胱平滑筋の筋緊張の亢進を示し、これが膀胱容量を減少させ、膀胱平滑筋の筋緊張は知覚求心路を活性化すると考えられる。

## 2. 研究の目的

脳梗塞による非神経因性膀胱収縮の亢進状態は過去に報告がない新しい知見であるが、

その発生機序を検討する。

## 3. 研究の方法

### ・神経系の関与に関する実験

中大脳動脈塞栓による脳梗塞の作製3日前に知覚C線維を脱感作する目的で、RTX (0.3 mg/kg) を皮下投与し、知覚C線維の脱感作が脳梗塞作製後6時間での非神経因性膀胱収縮亢進状態に及ぼす影響について検討。

運動神経の影響を調べる目的で、L6・S1 両側脊髄前根切断による膀胱副交感神経の遮断またはL1・L2 両側脊髄前根切断による交感神経の遮断が及ぼす影響について検討。

・*in vitro*膀胱内メディエーター放出量の検討: 偽手術ラット、脳梗塞ラットRTX投与なし、脳梗塞ラットRTX投与ありの3群での比較検討。

・脳梗塞による膀胱壁における遺伝子の発現の変化を脳梗塞作製後6時間でRT-PCRで検討。RT-PCR で検討する遺伝子以下の通りである: Cyclooxygenase 1 (COX1), COX2, TRPV1, ASIC1, ASIC2, ASIC3, M1, M2, M3, P2X3, rho-kinase 1である。

・脳梗塞による非神経因性的膀胱収縮亢進状態のrho-kinase阻害薬、fasudilによる抑制効果を組織バス内に懸垂した*in vitro*膀胱を用いて検討。

## 4. 研究成果

### (1)神経系の関与に関する検討結果

RTX皮下投与後3日目に脳梗塞を作製し、6時間後に摘出した*in vitro*膀胱にKrebs液を注入した際の内圧の変化、自律収縮の振幅・頻度は、RTXを皮下投与しなかった群と変化はなかった。すなわち、TRPV1陽性知覚C線維は脳梗塞による非神経因性膀胱収縮亢進に関係しない結果であった。L6・S1 両側脊髄前根切断、L1・L2 両側脊髄前根切断は手技的に困難であり、一定の結果を得ることはできなかった。

### (2)*in vitro*膀胱内メディエーター放出量の検討結果

アデノシン 3 リン酸 (ATP)、プロスタグランジン E2 (PGE2)、神経成長因子 (NGF) の膀胱内放出量を測定した。脳梗塞で ATP、NGF の膀胱内放出量は増加し、PGE2 放出量に変化は見られなかった。RTX で知覚 C 線維を脱感作すると ATP、NGF 放出量は減少した。これらの結果は、脳梗塞による膀胱の変化としては前脳の排尿反射抑制の破綻による排尿反射亢進 (神経因性の排尿筋過活動) や知覚 C 線維の機能亢進が知られているが、膀胱壁自体の変化が発生していることを示した。しかし、RTX 投与によって ATP、NGF の放出量は低下するが、非神経因性膀胱収縮亢進状態に変化はなかったことから、ATP、NGF といった求心路に関連するメディエーターは非神経因性膀胱収縮亢進には関係しないことが明らかになった。

### (3) 脳梗塞による膀胱壁の遺伝子発現の変化

脳梗塞によって膀胱壁における TRPV1, ASIC2, M2, M3, P2X3, rho-kinase 1 の mRNA 発現が亢進していた。mRNA 発現は偽手術群と比較して、TRPV1 で 1.77 倍、ASIC2 で 4.04 倍、M2 で 3.74 倍、M3 で 1.97 倍、P2X3 で 3.15 倍、rho-kinase 1 で 7.54 倍であり、rho-kinase 1 mRNA の発現亢進が顕著であった。この事実は、膀胱内メディエーター放出の結果と同様に、脳梗塞で膀胱壁自体の変化が起こっていることを示すものであり、M3、rho-kinase 1 といった膀胱平滑筋収縮に関係する遺伝子の発現亢進は脳梗塞による非神経因性膀胱収縮亢進に関連すると考えられた。

### (4) 脳梗塞による非神経因性膀胱収縮亢進に対する rho-kinase 阻害薬、fasudil の効果

In vitro 膀胱に Krebs 液を 1ml 注入後、膀胱内圧が安定した後に fasudil を累積投与した。膀胱内圧の基線圧、自律収縮の振幅、内圧曲線の曲線下面積 (AUC) は fasudil で抑制されたが、その抑制される程度は脳梗塞で有意に抑制効果が亢進していた。これは、非

神経因性膀胱収縮亢進に rho-kinase が関与していることを示した結果であった。Rho-kinase は膀胱平滑筋の筋緊張、収縮性を亢進させるが、その発現亢進が脳梗塞による非神経因性膀胱収縮亢進状態に関与することを初めて明らかにした。

### (5) まとめ

脳梗塞は中枢神経疾患であるが、知覚 C 線維の機能亢進が起こることを過去に明らかにしてきた。さらに本研究では脳梗塞の影響は膀胱壁自体にも及んでいることを示した。脳梗塞による非神経因性の膀胱収縮亢進の背景にはいくつかの遺伝子発現の亢進があり、特に rho-kinase 1 の発現亢進が深く関与していることを明らかにした。なぜ rho-kinase の発現亢進が脳梗塞で誘導されるのか、今後はその機序の解明が必要である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

R.Yokokawa, H.Akino, H.Ito, X.Zha, O.Yokoyama. Nerve growth factor release from the urothelium increases via activation of bladder C-fiber in rats with cerebral infarction. *NeuroUrol Urodyn*. 2017, 36:1448-1455 査読有.

doi:10.1002/nau.23142

秋野 裕信, 横山 修. 過活動膀胱 . 泌尿器外科. 2017, 30:243-253 査読無

O.Yokoyama, O.Nishizawa, Y.Homma, M.Takeda, M.Gotoh, H.Kakizaki, H.Akino, K.Hayashi, K.Yonemoto; OASIS project group. Nocturnal polyuria and hypertension in patients with lifestyle related diseases and overactive bladder. *J Urol*. 2017, 197:423-431 査読有.

doi:10.1016/j.juro.2016.08.087

H.Ishida, H.Yamauchi, H.Ito, H.Akino, O.Yokoyama. 1D-adrenoceptor blockade increases voiding efficiency by improving external urethral sphincter activity in rats with spinal cord injury. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2016, 311:R971-R978 査読有.

doi:10.1152/ajpregu.00030.2016

T.Kurokawa, X.Zha, H.Ito, Y.Aoki, H.Akino, M.Kobayashi, O.Yokoyama. Underlying mechanisms of urine storage dysfunction in rats with salt-loading hypertension. *Life Sci.*2015,141:8-12 査読有.  
doi: 10.1016/j.lfs.2015.09.010

〔学会発表〕(計 18 件)

糟野 健司, 横井 靖二, 伊藤 秀明, 多賀 峰克, 福島 佐知子, 森田 紗由, 小林 麻美子, 森川 幸恵, 三上 大輔, 高橋 直生, 木村 秀樹, 秋野 裕信, 横山 修, 岩野 正之: リツキシマブを用いた ABO 不適合腎移植と抗 HLA 抗体陽性腎移植の自験例, 第 16 回福井県血液浄化談話会, 2017.4.23, 福井  
横川 竜生, 秋野 裕信, 查 新民, 伊藤 秀明, 横山 修: 脳梗塞ラットにおける尿路上皮由来の神経成長因子は膀胱知覚 C 線維の活性化によって増加する, 第 21 回北陸泌尿器科 Basic Research Meeting, 2017.3.4, 金沢  
松田 陽介, 横井 聡始, 橋本 儀一, 青木 芳隆, 秋野 裕信, 横山 修: 難治性過活動膀胱患者における neuromodulation therapy の安全性と有用性についての検討 - 高齢者と非高齢者における比較 -, 第 104 回日本泌尿器科学会総会, 2016.4.24, 仙台  
横井 聡始, 松田 陽介, 長瀬 桂子, 青木 芳隆, 秋野 裕信, 横山 修: 自然発症高血圧ラットにおける排尿反射への 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗薬の作用についての検討, 第 8 回排尿障害モデル動物研究会, 2015.12.4, 静岡  
H.Akino, K.Nagase, H.Ito, R.Yokokawa, Y.Matsuta, Y.Aoki, O.Yokoyama: The inhibition of non-voiding contractions due to bladder outlet obstruction by alpha1-adrenoceptor blocker: what is the mechanism underlying this effect?, ICS2015, 2015.10.8, Montreal(Canada)  
S.Yokoi, Y.Matsuta, K.Nagase, Y.Aoki, H.Akino, O.Yokoyama: Ketanserin suppressed detrusor overactivity in spontaneously hypertensive rats, suggesting a pathogenic role of 5-HT<sub>2A</sub> receptor, ICS2015, 2015.10.8, Montreal(Canada)  
Y.Matsuta, S.Yokoi, N.Hashimoto, Y.Aoki, H.Akino, O.Yokoyama: Low-frequency transcutaneous electrical stimulation of foot ameliorates intractable OAB symptoms, ICS2015, 2015.10.8, Montreal(Canada)  
R.Yokokawa, H.Akino, K.Nagase, O.Yokoyama: Alterations of bladder functions in a rat model of cerebral

infarction: effect of the B3-agonists, mirabegron and BRL37344, 2015.10.7, Montreal(Canada)

松田 陽介, 横井 聡始, 青木 芳隆, 秋野 裕信, 横山 修: 女性難治性過活動膀胱患者に対する経皮的末梢神経電気刺激療法の性機能に対する影響, 第 26 回日本性機能学会, 2015.9.20, 福岡  
長瀬 桂子, 伊藤 秀明, 青木 芳隆, 松田 陽介, 山内 寛喜, 查 新民, 秋野 裕信, 横山 修: 脳梗塞ラット排尿筋過活動に対する fesoterodine の効果について, 第 22 回日本排尿機能学会, 2015.9.9, 札幌

Y.Matsuta, S.Yokoi, Y.Aoki, H.Akino, O.Yokoyama: Transcutaneous electrical foot stimulation can be a non-invasive treatment alternative for the refractory OAB, The 10th Pan-Pacific Continence Society Meeting, 2015.9.8, 札幌

堤内 真実, 青木 芳隆, 佐々木 喜久子, 高原 典子, 松田 陽介, 伊藤 秀明, 秋野 裕信, 横山 修: 分娩様式は尿失禁と関連しているか, 第 17 回日本女性骨盤底医学会, 2015.8.2, 東京

H.Akino, K.Nagase, X.Zha, Y.Aoki, H.Ito, N.Oyama, O.Yokoyama: Detrusor overactivity induced by cerebral infarction may be associated with enhanced activity of Rho-kinase in the bladder, AUA Annual Meeting 2015, 2015.5.15, New Orleans(USA)

関 雅也, 查 新民, 三輪 吉司, 秋野 裕信, 横山 修:

Constrictor-releasing factor の下部尿路機能に及ぼす影響について, 第 103 回日本泌尿器科学会総会, 2015.4.21, 金沢

伊藤 秀明, 関 雅也, 山内 寛喜, 秋野 裕信, 横山 修: 男性高血圧患者の下部尿路症状有病率はアンデキオテンシン受容体阻害薬を内服する患者で低い, 第 103 回日本泌尿器科学会総会, 2015.4.21, 金沢

青木 芳隆, 岡田 昌裕, 横井 聡始, 松田 陽介, 伊藤 秀明, 大山 伸幸, 秋野 裕信, 横山 修: 労働者を対象とした調査からわかった下部尿路症状と勃起障害の関連性, 第 103 回日本泌尿器科学会総会, 2015.4.19, 金沢

秋野 裕信, 長瀬 桂子, 横川 竜生, 查 新民, 青木 芳隆, 伊藤 秀明, 大山 伸幸, 横山 修: 下部尿路閉塞によるラット膀胱からの神経成長因子放出量の変化と 1 遮断薬の影響, 第 103 回日本泌尿器科学会総会, 2015.4.19, 金沢  
横川 竜生, 秋野 裕信, 長瀬 桂子, 横山 修: 脳梗塞に伴う排尿筋過活動に対する膀胱知覚 C 線維の関与-膀胱上皮

メディエータ放出および膀胱自律収縮からの考察-, 第 103 回日本泌尿器科学会総会, 2015.4.18, 金沢

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

秋野裕信 (AKINO HIRONOBU)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・教授

研究者番号: 90159335

### (2)研究分担者

横山修 (YOKOYAMA OSAMU)

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号: 90242552

松田陽介 (MATSUTA YOUSUKE)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師

研究者番号: 90345687

大江秀樹 (OHE HIDEKI)

福井大学・医学部附属病院・医員

研究者番号: 70760510

(平成 27 年度)