

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10621

研究課題名(和文) 低活動膀胱に対する 3 刺激薬の治療としての可能性の探求

研究課題名(英文) The ameliorative potential of tamsulosin on bladder function in an established rat model of chronic pelvic ischemia

研究代表者

澤田 智史 (SAWADA, Norifumi)

山梨大学・大学院総合研究部・講師

研究者番号：70402055

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：現在では過活動膀胱は動脈硬化が原因で、加齢とともに動脈硬化が強くなり、頻尿が出現、さらに虚血が長じると低活動膀胱となるとされている。この研究では低活動膀胱となるのを遅らせることが血流を改善する薬剤で可能かどうかを調べるものである。本研究では血流を増加させる作用が報告されている 1 阻害剤の塩酸タムスロシンを 3 刺激薬の代わりに使用した。頻尿を起こす慢性骨盤内虚血ラットを作成し、8週間待って、頻尿となっていることを確認してから、これを 2 群にわけて薬剤投与群と非投与群とし、コントロール群と 3 群で比較した。薬剤投与群では頻尿は改善しており、低活動膀胱に対して血流改善させる薬剤は有効である可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The atherosclerotic obstructive changes will have consequences for the distal vasculature and LUTS blood flow. Recently overactive bladder is supposed to advance to underactive bladder due to ischemic insult. To mimic the elder LUTS patient, we delayed administering tamsulosin for 8 weeks from the establishment of chronic pelvic ischemia (CPI) rat model and checked the improving effect for voiding dysfunction. The animals treated with tamsulosin showed an improved bladder function presumably due to the increased bladder flow. If these results are valid for the bladder dysfunction in humans, they support that the treatment of tamsulosin will improve the elderly LUTS patients.

研究分野：排尿機能、性機能、慢性虚血

キーワード：慢性虚血 低活動膀胱 1 阻害剤

## 1. 研究開始当初の背景

過活動膀胱の病因のひとつとして虚血があり、慢性的な虚血によって血管内皮障害および動脈硬化は加齢とともに増加すると一般的な病態である。腸骨動脈分岐部や腹部動脈分岐部は、動脈硬化の起こりやすい場所であることがすでに知られている。(Ponholzer A et al.;Eur Urol 2006, Pinggera GM et al.;BJU Int 2008)ヒトの尿生殖臓器(膀胱、前立腺、子宮、陰茎、尿道)への血流は主に腸骨動脈からの分岐によって栄養されており、腸骨動脈分岐部ならびに腸骨動脈分岐部の動脈硬化が末梢の血管や骨盤臓器の血流に影響を与えるのは明らかである。われわれは、膀胱の上流血管である両側腸骨動脈の内膜を 2 Fr Fogarty カテーテルで擦過傷害し、8 週間の高コレステロール食で飼育したラット慢性虚血モデルを作製し、コントロール群、疾患群、薬剤を長期投与した薬剤群の 3 群で比較する研究モデルを考案し、排尿機能、血管と膀胱の組織学的検討を行っている。(Nomiya M et al.;BJU Int 2013)モデル動物は傷害部位である腸骨動脈と膀胱微小血管に閉塞性変化が起きていた。この動脈閉塞性病変が慢性的な膀胱血流低下をもたらし、酸化ストレスおよび炎症性サイトカインの増加を導いたため、機能的には排尿筋過活動の状態を呈することが示されている。また Organ bath study によって膀胱平滑筋切片のコリン作動薬と経壁電気刺激に対する収縮反応の低下、組織学的には膀胱壁の線維化と微小血管の内皮機能障害を示唆する内皮型 NOS の低下も確認した。またミラベグロンが本モデル動物においては予防的に膀胱機能を保護することを報告している。(Sawada N et al.;Eur Urol 2013)

さて慢性虚血が持続することによって過活動膀胱から病態がさらに進展すると低活動膀胱に移行するということがすでに報告されている。(Nomiya M et al.;J Urol 2014)低活動膀胱の治療は一般的には自己導尿という手段によって排尿することになるが、これは非常に患者にとってはわずらわしく日常の活動度を低下させる。ミラベグロン投与にて慢性閉塞膀胱モデルの頻尿を予防的に保護したことから、こうした低活動膀胱の治療、または病態の進行の抑制に効果がある可能性があると考えられ、本研究では慢性的な虚血による傷害を受けてすでに膀胱機能が増悪している膀胱に対して膀胱血流を増加することによって改善する作用があるかどうかを検討するものであり、低活動膀胱の治療への新たな可能性を切り開くものであると考えている。本研究では実際には 3 刺激薬のミラベグロンではなく、血流増加作用が報告されている塩酸タムスロシンを投与薬とした。

## 2. 研究の目的

血流増加作用によって膀胱機能が改善するかどうか、慢性骨盤内虚血ラットを用いて調べ、低活動膀胱への進展を予防することができるかどうかを確かめる。

## 3. 研究の方法

平成 27 年度: 17 週令 Sprague-Dawley 系雄性ラットを 3 グループに分ける。(各グループはそれぞれ 20 匹のラットから成る。) 2 グループのラットに対して病態モデルを作製後に高コレステロール食で 8 週間飼育したのち、半数のラットに対して代謝ケージを用い

た study, 膀胱内圧測定 sacrifice 後、摘出した腸骨血管の組織学的検討と膀胱組織については organ bath での収縮力の検討を行った。

平成 28 年度：同様のグループを作製したのち、膀胱組織を Western blot による 3 種類の NOS(eNOS, nNOS, iNOS)と酸化ストレスマーカーの 8OHdG の検討を行う。平成 27 年度は 17 週令の Sprague-Dawley 雄性ラットを以下の 3 群にわけて排尿動態およびオーガンバスタディのパラメータを比較検討する。ミラベグロンにすでに傷害を受けた膀胱組織の改善作用があるかどうかをみるのは 16 週後で 2 群と比較して Group3 で排尿間隔、平均膀胱容量、平均排尿量の改善の有無を検討する。摘出したサンプルの組織学的生物学的検討もあわせて行う。

Group1 ; コントロール群 : 普通食 (0.09% コレステロール含有) 8 週間 + 8 週間

Group2; 腸骨動脈内皮傷害 (AI) + 2% コレステロール食 8 週間 + 2% コレステロール食 8 週間

Group3 ; 腸骨動脈内皮傷害 (AI) + 2% コレステロール食 16 週間 (後半 8 週間のみ多塩酸タムスロシン 10mg/kg 投与)

平成 28 年度以降は 17 週令の Sprague-Dawley 雄性ラットを同様のグループに分けて、摘出した組織のウエスタンブロットを行い、内皮型 NOS (eNOS)、神経型 NOS(nNOS)、炎症に伴って誘導される iNOS および酸化ストレスのマーカーとして 8OHdG を測定し、塩酸タムスロシン投与群で改善がみられるかどうかを検討した。

・評価項目

(1) 代謝ケージによる排尿パラメータ  
ラットを代謝ケージにいれ、自由飲水として、集められた尿を電子天秤で測定。このデータをパソコンに保存し、24 時間の正確な排尿記録が得られる。本手法は当教室において確立されている。代謝ケージにて採取した尿は酸化ストレスマーカー (8 OHdG) の測定に用いる。

(2) 膀胱内圧測定パラメーター (無麻酔非拘束下)  
内圧測定の 3 日前にセボフレン麻酔下に下腹部を切開し膀胱を露出、膀胱頂部からポリエチレンチューブを膀胱内に挿入留置する。チューブ断端は、皮下を通し後頭部に誘導固定しておく。3 日後にチューブを注入ライン、圧測定ラインに接続し、ケージ内で自由に動ける状態とし、無麻酔非拘束下で持続的膀胱内圧測定を行う。

(3) 摘出した腸骨動脈および膀胱組織の病理組織学的検討および特殊免疫組織化学染色  
ヘマトキシリン・エオジン染色および Masson-Trichrome 染色にて腸骨動脈の閉塞性変化と膀胱の炎症性変化ならびに線維化や平滑筋量の比較に用いる酸化ストレスマーカーとして使われる OHdG (DNAperoxidation), MDA(lipid peroxidation)の染色を行う予定であった。

#### 4. 研究成果

実際のプロジェクトは同じく膀胱内の血流増加作用が報告されている塩酸タムスロシンを完成された慢性骨盤内虚血モデルに 8 週間投与し、コントロール群と慢性骨盤内虚

血モデル群、8週間において完成した慢性骨盤内虚血モデル群に8週間タムスロシンを投与した群の3群で、シストメトリー、オーガンパス実感を施行し、膀胱組織片を免疫染色でeNOS, nNOS, iNOSの染色を施行した。

シストメトリーではタムスロシンを投与した群で改善を認めた。免疫染色ではeNOSが慢性骨盤内虚血群で低下し、タムスロシンを投与した群で増加していた。iNOS, nNOSについては免疫染色がうまくいかず、有意な所見ととらえることができなかった。上記の所見から塩酸タムスロシンの血流増加作用によって膀胱機能が改善することが示唆された。

#### 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 0 件) 投稿予定

[学会発表](計 1 件)

Norifumi Sawada "The ameliorative potential of tamsulosin on bladder function in a rat model of chronic pelvic ischemia"

American Urological Association 2017

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

澤田 智史(SAWADA, Norifumi)

山梨大学・大学院総合研究部・講師

研究者番号: 70402055

##### (3)連携研究者

吉良 聡(KIRA, Satoru)

山梨大学・大学院総合研究部・助教

研究者番号: 10530115

武田 正之(TAKEDA, Masayuki)

山梨大学・その他部局等・理事

研究者番号: 80197318