

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20135

研究課題名(和文)5-HT3受容体陽性細胞を標的とする過活動膀胱の新規治療法開発にむけた基礎的研究

研究課題名(英文)Basic study for development of overactive bladder treatment targeting 5-HT3 receptor-positive cells.

研究代表者

竹澤 健太郎 (Takezawa, Kentaro)

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号：90648015

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はセロトニン受容体の1つである5-HT3受容体の、膀胱機能における役割を明らかにすることを目的とした。発現解析により5-HT3受容体が排尿反射経路に豊富に存在することが分かった。この過程で膀胱筋層内に5-HT3受容体陽性細胞が散在することを発見したが、この細胞は副交感神経節後神経節の神経細胞と考えられた。これらの結果から5-HT3受容体は膀胱機能に何らかの役割を有していると考えられた。次に機能解析を行った。マウスに5-HT3受容体作動薬を投与すると頻尿状態となり、ヒトの過活動膀胱と類似した変化が認められることが分かった。5-HT3受容体は過活動膀胱の病態に関与している可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：In this study, I investigated the role of the 5-HT3 receptor in bladder function. First, I revealed that 5-HT3 receptors were expressed in the course of micturition reflex abundantly. In this process, I found 5-HT3 receptor-positive cells in bladder muscular layer. These cells were regarded as ganglionic neurons of parasympathetic nerves. These results suggested that the 5-HT3 receptor has significant roles for the bladder function. Next, I performed functional analysis. I revealed that 5-HT3 receptor agonist decreased mouse bladder volume. Therefore, the 5-HT3 receptor was suggested to be associated with the pathological condition of the overactive bladder.

研究分野：排尿障害

キーワード：5-HT3受容体 過活動膀胱

## 1. 研究開始当初の背景

(1) わが国における過活動膀胱の患者数は、高齢化にともない急増し、1000万人を超えていると推定されている。既存の治療法による過活動膀胱の治療成績は必ずしも満足できるものではなく、過活動膀胱の病態解明と新規治療法確立は喫緊の課題である。過敏性腸症候群は下痢や腹痛などの内臓知覚亢進を主症状とする疾患である。過活動膀胱と過敏性腸症候群はしばしば合併することから、両者が共通の病態を有している可能性が指摘されてきた。近年、過敏性腸症候群の病態において、セロトニン受容体の一つである5-HT3受容体が重要な役割を果たしており、治療ターゲットとなることがわかってきた。

(2) 研究者は、過活動膀胱の病態においても5-HT3受容体が重要な役割を果たしている可能性があると考え、膀胱機能における5-HT3受容体の役割に関する研究を行ってきた。そして以下の研究成果を得てきた。

5-HT3受容体陽性細胞がGFPを発現するよう遺伝子を改変したHtr3a-EGFP遺伝子改変マウスを用いた検討により、マウス膀胱筋層内に5-HT3受容体陽性細胞が存在する(図1)。

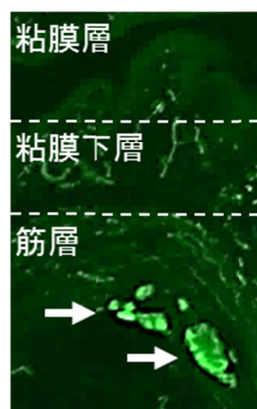


図1. 膀胱筋層に5-HT3受容体陽性細胞が存在

マウスにおいて5-HT3受容体作動薬が膀胱容量を減少させ、頻尿を引き起こす(図2、膀胱エコー)。

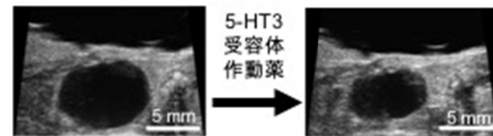


図2. 5-HT3受容体作動薬で膀胱容量が減少

これらの成果を踏まえ研究者は、膀胱5-HT3受容体陽性細胞が膀胱機能を調節しており、その調節異常が過活動膀胱の一因になるのではないかと考え、5-HT3受容体陽性細胞を標的とした過活動膀胱の新たな治療法開発にむけた基礎的研究を計画するに至った。

## 2. 研究の目的

過活動膀胱の病態は過敏性腸症候群との関連が指摘されている。近年、過敏性腸症候群の病態において、セロトニン受容体の一つである5-HT3受容体が重要な役割を果たすことが明らかとなった。研究者は、膀胱機能においても5-HT3受容体が重要な役割を果たしているとの考えのもと、マウス膀胱に5-HT3受容体陽性細胞が存在すること、5-HT3受容体の活性化が頻尿を引き起こすことを発見し、5-HT3受容体陽性細胞の機能異常が過活動膀胱の一因である可能性を見出した。

これらの成果を踏まえ本研究は膀胱5-HT3受容体陽性細胞の形態学的特徴、膀胱5-HT3受容体陽性細胞の膀胱機能調節作用および過活動膀胱との関連性を究明することにより、5-HT3受容体陽性細胞を標的とした過活動膀胱の新たな治療法の開発につなげることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 膀胱 5-HT3 受容体陽性細胞の特徴の解析

5-HT3 受容体を発現する細胞が GFP を発現するよう遺伝子を改変した Htr3a-EGFP 遺伝子改変マウスを用いて、膀胱 5-HT3 受容体陽性細胞の分布や特徴を調べた。マウス 5-HT3 受容体には適切な抗体が存在しないため、その発現分布については、in situ hybridization法を用いた mRNA レベルでの解析が必要であった。そこで今回、5-HT3 受容体のタンパクレベルでの発現解析を可能にするために、Htr3a-EGFP 遺伝子改変マウスを導入した。このマウスを用いて、膀胱や一次求心性神経、脊髄、遠心性神経における 5-HT3 受容体の発現分布を調べた。また、各種抗体を用いて免疫組織化学的に膀胱 5-HT3 受容体陽性細胞の特徴を調べた。

#### (2) 5-HT3 受容体の膀胱機能調節作用および過活動膀胱との関連性の検討

野生型マウスと 5-HT3 受容体ノックアウトマウスの正常状態および病的状態での膀胱機能を比較することで、5-HT3 受容体の膀胱機能における役割、過活動膀胱との関連性を調べた。病的状態としては、Lipopolysaccharide 膀胱内投与による細菌性膀胱炎モデルを作成した。

#### (3) 5-HT3 受容体を標的とした過活動膀胱の新たな治療法の可能性の検討

細菌性膀胱炎モデルに対する 5-HT3 受容体拮抗薬の効果を解析することで、5-HT3 受容体を標的とした過活動膀胱の新たな治療法の可能性を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 膀胱 5-HT3 受容体陽性細胞の特徴の解析

マウスにおいて、膀胱、後根神経節、脊髄後角、副交感神経説後神経節に 5-HT3 受容体が発現していた(図 3)。このように 5-HT3 受容体は排尿反射経路に豊富に存在していることから、膀胱機能に何らかの役割をになっていると考えられた。

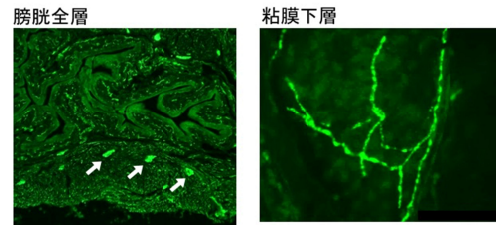


図 3. 膀胱における 5-HT3 受容体の発現

膀胱筋層の 5-HT3 受容体陽性細胞は、c-Kit 陰性、SMA 陰性、PGP9.5 陽性、ChAT 陽性であった。これらの結果から、膀胱 5-HT3 受容体陽性細胞は副交感神経節後神経節細胞の一種ではないかと考えられた(図 4)。

#### (2) 5-HT3 受容体の膀胱機能調節作用および過活動膀胱との関連性の検討

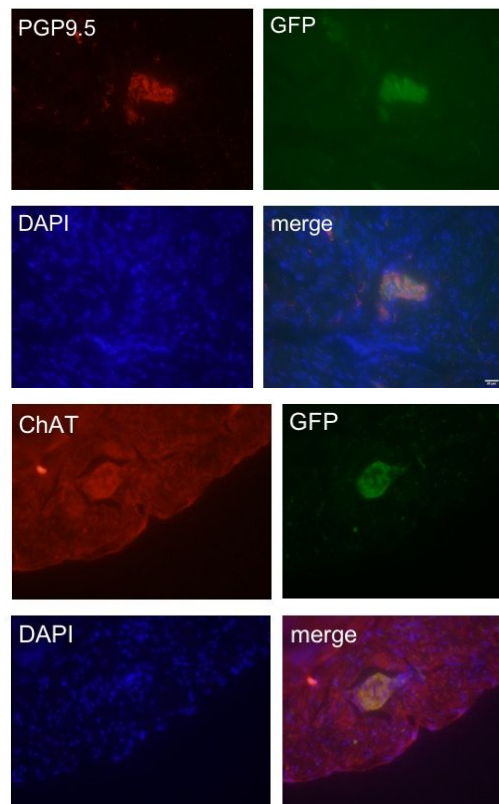


図 4. 膀胱 5-HT3 受容体陽性細胞の神経マーカー PGP9.5、コリン作動性神経マーカー ChAT による免疫染色

## び過活動膀胱との関連性の検討

正常状態では5-HT3 受容体ノックアウトマウスと野生型マウスの膀胱機能に明らかな差は認められなかったが、細菌性膀胱炎モデルでは、5-HT3 受容体ノックアウトマウスで頻尿状態が軽減されることが分かった。このことから、5-HT3 受容体は病的状態で頻尿となる病態に関与していると考えられた。

## (3) 5-HT3 受容体を標的とした過活動膀胱の新たな治療法の可能性の検討

細菌性膀胱炎モデルマウスにおいて、5-HT3 受容体拮抗薬を投与すると膀胱容量が増大し、頻尿が改善することが分かった。このことか状態の新規治療ターゲットとなる可能性が示唆された。

## 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)

[学会発表](計 1 件)

竹澤 健太郎、膀胱 5-HT3 受容体陽性細胞をターゲットとする過活動膀胱の新規治療法開発に向けた基礎的検討、日本泌尿器科学会総会、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:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

取得年:

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

竹澤 健太郎 (TAKEZAWA, Kentaro)  
大阪大学医学系研究科 招へい教員  
研究者番号: 90648015

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号:

### (4) 研究協力者

( )