

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K17752

研究課題名(和文) 糖尿病性膀胱機能障害への磁気刺激神経調整的新システムの確立 基礎・臨床的検討

研究課題名(英文) Establishment of a new magnetic stimulation neuromodulatory system for diabetic bladder dysfunction.

研究代表者

木村 隆 (Kimura, Ryu)

琉球大学・病院・助教

研究者番号：50748019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：SDメスラット(月齢3カ月)に、ストレプトゾトシンを腹腔内投与して糖尿病モデルを作成した。糖尿病作成後、3日、2週、4週、8週、12週時にコントロール及び糖尿病モデル8頭ずつ膀胱内圧測定を施行した。糖尿病モデルにおいて膀胱収縮間隔は2週目で約70%短縮し、頻尿の傾向を認めた。4週以降は時間経過に伴い膀胱収縮間隔は延長し、残尿量の増加がみられた。糖尿病発症後2週で過活動膀胱、4週目以降で低活動膀胱になることが示唆された。次に組織学的評価のため膀胱を摘出しマグナス装置を使用して評価した。8週以降でカルバコールに対する膀胱収縮力が低下しており、糖尿病による膀胱の器質的変化が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病に伴う膀胱機能障害の特徴は、初期には過活動膀胱、末期には残尿を伴う低活動膀胱という相反現象の併存である。腎不全に移行する助長因子となっているにも関わらず、網膜症、腎症、神経障害と比較して認知されていない。糖尿病性膀胱機能障害の薬物療法は治療抵抗性であることが多く、その経時的な膀胱機能の変化は複雑で十分に解明されていない。

本研究は糖尿病に伴う膀胱機能の経時的な変化を、機能学的、組織学的に解明した初めての研究である。糖尿病の各病期における膀胱機能障害の状態を把握することで薬物療法の適正な使用、さらには非薬物療法の応用につながり、国内の1000万人を超える糖尿病患者の予後改善が期待される。

研究成果の概要(英文)：We used SD female rats (3 months old) to induce diabetic models by intraperitoneal administration of streptozotocin (65mg/kg). After diabetes induction, intravesical bladder pressure measurements were performed in 8 control and 8 diabetic models at 3 days, 2 weeks, 4 weeks, 8 weeks, and 12 weeks. In the diabetic model, the bladder contraction interval shortened by about 70% at 2 weeks, resulting in frequent urination. After 4 weeks, the bladder contraction interval was prolonged and residual urine increased with time. It was suggested that the diabetic model developed overactive bladder at 2 weeks and hypoactive bladder after 4 weeks. We next performed a histological evaluation. The bladder was removed and evaluated using the Magnus device. Bladder contractility to carbachol was decreased after 8 weeks, suggesting organic changes in the bladder due to diabetes.

研究分野：排尿障害

キーワード：糖尿病 低活動膀胱 過活動膀胱 非薬物療法

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病に伴う膀胱機能障害の特徴は、初期には過活動膀胱、末期には低活動膀胱という相反現象の併存で、腎不全に移行する助長因子となっているにも拘わらず糖尿病性腎症と比較して一般的に認知されていない。過活動膀胱には抗コリン薬が一般的に用いられるが、低活動膀胱への抗コリン薬投与は逆に残尿、尿閉といった有害事象を引き起こす。そのため、糖尿病性膀胱機能障害の薬物療法は治療抵抗性である。糖尿病に伴う膀胱機能障害の経過は複雑で十分に解明されていない。

### 2. 研究の目的

膀胱は、自律神経支配を受けている臓器のなかで唯一随意調節ができる。しかし、糖尿病の進行に伴いその機能が失われる。過活動膀胱と低活動膀胱の相反減少の併存は、糖尿病に伴う膀胱機能障害の薬物治療抵抗の大きな要因となっている。糖尿病に伴う膀胱機能障害の経時的変化は十分に解明されておらず、薬物療法の選択を困難にしている。まず、糖尿病に伴う膀胱機能障害の経時的変化を明らかにすることを第一の目的とした。また上記の知見を踏まえて、糖尿病性膀胱機能障害の薬物療法、非薬物療法を構築することを最終的な目的とした。

### 3. 研究の方法

糖尿病モデル：Sprague-Dawley 系メスラット（月齢3カ月）に、ストレプトゾトシンを腹腔内投与（65 mg/kg）してモデルを作成した。随時血糖 200 mg/dL 以上を糖尿病ラットとした。

- (1) 糖尿病作成後、3日、2週、4週、8週、12週時にコントロール及び糖尿病モデル8頭ずつ膀胱内圧測定を施行した。

イソフルレン吸入麻酔（2%）下に内頸静脈カテーテル(Polyethylene catheter : PE-10)を挿入した。

下腹部正中切開にて両側尿管結紮後、膀胱頂部に膀胱瘻 (Polyethylene catheter : PE-50) を作成した。

吸入麻酔をウレタン麻酔に切り替えた（1.2 g/kg）

室温の生理食塩水を 3ml/hr で膀胱内に持続注入し、連続膀胱内圧測定を行った。

(Fig. 1)

各群において、膀胱収縮間隔、基線圧、閾値圧、最大排尿筋収縮圧、HF0s( Hight-frequency-oscillations ) 及び残尿量の変化を比較した (Fig. 2) 。

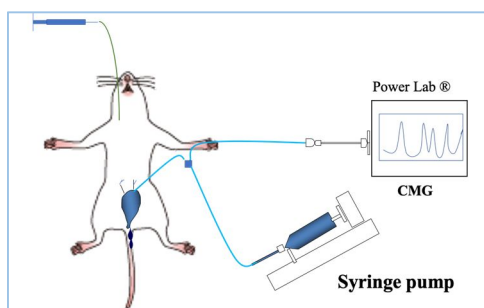


Fig.1

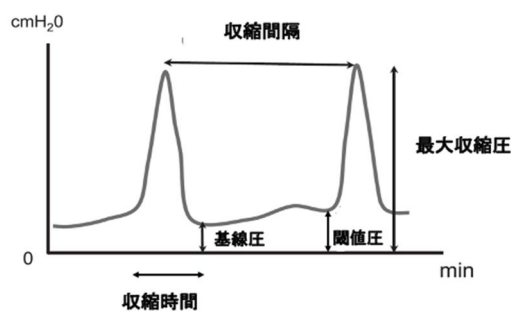


Fig.2

(2) 膀胱の組織学的変化を確認するためコントロール、糖尿病作成後3日、2週、4週、8週、12週群のラット各2頭から膀胱を摘出しマグヌス装置(マイクロティッシュオーガンバス)を使用してコントロール群と比較した。

コントロール、糖尿病作成3日、2週、4週、8週、12週群のラット各2頭から、イソフルラン麻酔下に膀胱を摘出した。  
 摘出膀胱を氷冷したクレブス緩衝液(K-H sol.)寒天培地の上におき、5×3 mm程度の柵状切片にした。  
 K-H sol.を満たしたマグヌス装置に膀胱切片をセット。  
 Carbacholを $1 \times 10^{-1}$ から $1 \times 10^{-5}$ Mの各希釈溶液を作成。  
 安定化の後、Carbacholの累積投与(各濃度5,10,15 $\mu$ lずつ  $1 \times 10^{-8}$  to  $3 \times 10^{-4}$  M)を行い、膀胱切片の収縮を記録した。

#### 4. 研究成果

(1)

ストレプトゾトシン投与後3日目には血糖はコントロールに比較して有意に増加しており糖尿病を発症していることが確認できた。(Table.1)  
 血糖は3日目以降12週まで高血糖が持続していた。  
 糖尿病モデルにおいて膀胱収縮間隔は2週目で約70%短縮し、頻尿の傾向を認めた。  
 4週以降は時間経過に伴い膀胱収縮間隔は延長し、残尿量の増加がみられた。(Table.2 Fig.3)  
 本研究により糖尿病発症後2週で過活動膀胱、4週目以降で低活動膀胱になることが示唆された。  
 一方、膀胱基線圧、閾値圧、最大収縮圧は、糖尿病の時間経過で明らかな変動を認めなかった。

Fig.3

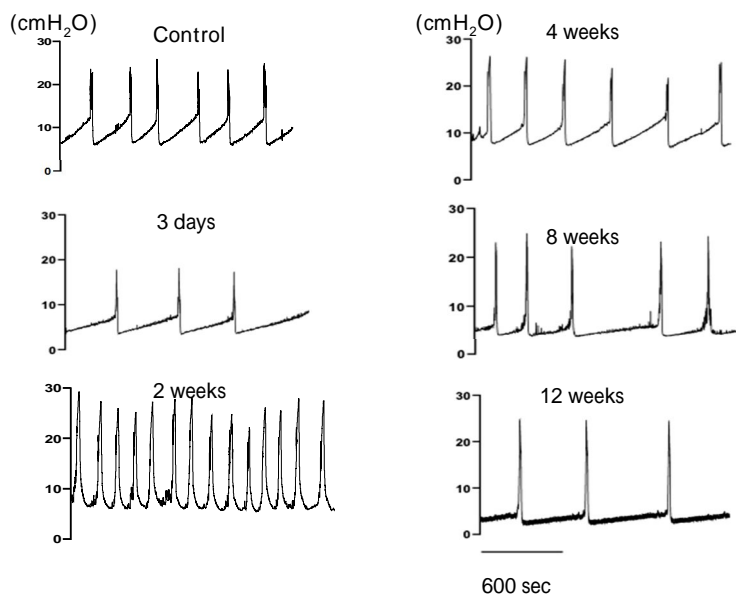


Table.1

	Control	3 days	2 weeks	4 weeks	8weeks	12 weeks
体重(g)	220.6±4.13	214.7±35.1†	240.5±25.7*	285.5±16.9*	299.6±16.9*	315.0±7.55*
血糖値(mg/dL)	254.8±58.1	650.8±231.8**	637.8±273.1**	548.2±256.5‡	618.7±239.1**	635.7±225.6*

† P=0.74, ‡ P=0.056, \*P<0.01, \*\*P<0.05, vs control

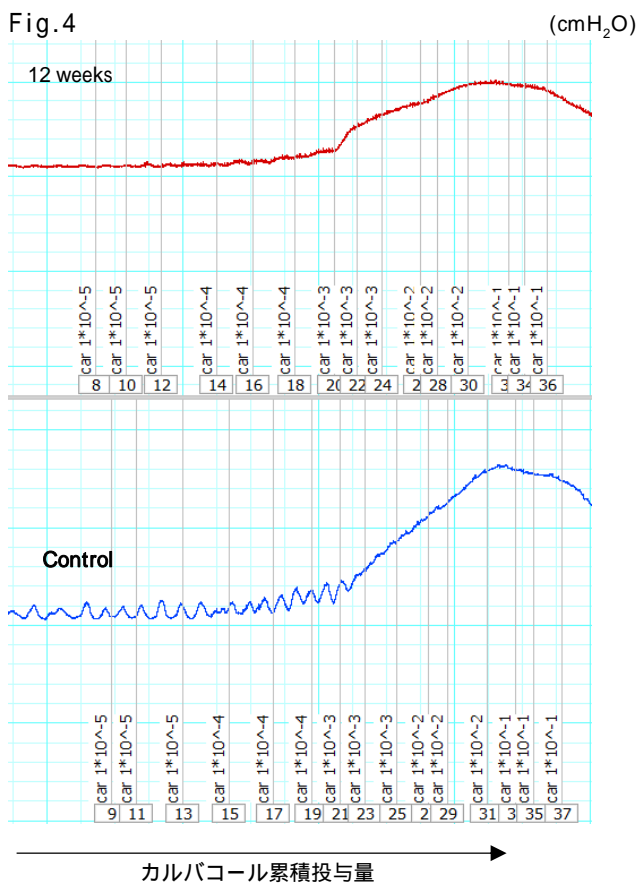
Table.2

	Control	3 days	2 weeks	4 weeks	8 weeks	12 weeks
基線圧 (cmH <sub>2</sub> O)	8.45±0.77	7.03±0.95	6.99±0.86	7.69±0.84	7.11±1.84	6.55±1.39
閾値圧 (cmH <sub>2</sub> O)	11.2±2.72	9.77±1.77	9.10±1.57	10.4±2.44	9.20±5.15	10.1±5.98
最大収縮圧 (cmH <sub>2</sub> O)	27.5±8.54	22.6±4.49	22.6±3.47	26.2±5.52	27.0±6.91	28.9±7.92
収縮間隔 (sec)	222±25.1	312.2±99.7	157.5±50.8	449.8±99.2	460.5±56.0*	653.2±73.5*
残尿量 (ml)	0.093±0.036	0.068±0.029	0.137±0.058	0.09±0.026	0.42±0.20	0.73±0.67

\*P&lt;0.05

(2)

糖尿病モデルにおいて 8 週以降でカルバコール投与に対する膀胱収縮力が低下しており、糖尿病による膀胱の器質的変化が示唆された。(Fig.4)



## 【まとめ】

糖尿病に伴う膀胱機能障害の経過は複雑で十分に解明されておらず、糖尿病の進行とともに糖尿病性膀胱機能障害を発症することが知られているが、その経時的な変化の詳細は不明であった。

本研究では糖尿病に伴う膀胱の機能変化を明らかにすることに成功した。糖尿病発症 2 週目で過活動膀胱となり、その後、8 週後以降には排尿間隔が延長し、残尿が増加する低活動膀胱の様相を呈する。生体内での膀胱収縮圧は変化しないものの摘出膀胱の膀胱収縮力は低下しており糖尿病に起因する低活動膀胱を発症していることを裏付けた。

これまで明らかになっていなかった糖尿病による膀胱への経時的な影響を解明したことにより各ステージにおける薬物療法の選択に大きな影響を与えると思われる。また、この知見を考慮した上で今後、糖尿病性膀胱機能障害に対する非薬物療法の構築に取り組む予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takuma Oshiro, Ryu Kimura, Keiichiro Izumi, Asuka Ashikari, Seiichi Saito, Minoru Miyazato	4. 巻 8
2. 論文標題 Changes in urethral smooth muscle and external urethral sphincter function with age in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14643
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.14643	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Asato OtsuboMinoru Miyazato, Takuma Oshiro, Ryu Kimura, Tomohiro Matsuo, Yasuyoshi Miyata, Hideki Sakai	4. 巻 15
2. 論文標題 Age-associated bladder and urethral coordination impairment and changes in urethral oxidative stress in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lfs.2021.119690	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木村隆
2. 発表標題 ワークショップ ハイリスク腎移植 糖尿病
3. 学会等名 西日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村隆
2. 発表標題 当院における糖尿病レシピエントの検討
3. 学会等名 日本臨床腎移植学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮里実
2. 発表標題 夜間頻尿の診断と治療
3. 学会等名 日本泌尿器科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮里実 大城琢磨
2. 発表標題 UABの実臨床上の治療と未来
3. 学会等名 日本泌尿器科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大城琢磨
2. 発表標題 ラットにおける加齢に伴う尿道平滑筋、括約筋機能変化
3. 学会等名 日本排尿機能学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮里実
2. 発表標題 夜間多尿の行動療法
3. 学会等名 日本排尿機能学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 泉恵一朗
2. 発表標題 ストレプトゾトシン誘発 型糖尿病ラットの経時的膀胱・尿道機能変化
3. 学会等名 日本排尿機能学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計8件

1. 著者名 木村隆 宮里実	4. 発行年 2021年
2. 出版社 メディカルレビュー社	5. 総ページ数 5
3. 書名 排尿障害プラクティス	

1. 著者名 木村隆 宮里実 大城琢磨	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学図書出版	5. 総ページ数 4
3. 書名 泌尿器外科	

1. 著者名 大城琢磨 宮里実	4. 発行年 2021年
2. 出版社 南山堂	5. 総ページ数 7
3. 書名 薬局	

1. 著者名 宮里実 芦刈明日香	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 4
3. 書名 臨床泌尿器科	

1. 著者名 宮里実 大城琢磨	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 4
3. 書名 臨床泌尿器科	

1. 著者名 宮里実 大城琢磨	4. 発行年 2019年
2. 出版社 メディカルレビュー社	5. 総ページ数 4
3. 書名 排尿障害プラクティス	

1. 著者名 宮里実 芦刈明日香 斎藤誠一	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医学図書出版	5. 総ページ数 4
3. 書名 泌尿器外科	



1. 著者名 宮里実 芦刈明日香	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 7
3. 書名 臨床泌尿器科	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------