

機関番号：34318

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591890

研究課題名(和文) 再生医療における Neuromodulation を応用した膀胱機能回復に関する研究

研究課題名(英文) Neuromodulation for impaired bladder function on regenerative medicine

研究代表者

本城久司 (HONJO HISASHI)

明治国際医療大学・鍼灸学部・講師

研究者番号：30351357

研究成果の概要(和文)：膀胱機能障害モデルラットを作成し、鍼刺激による Neuromodulation の効果について検討した。脊髄損傷モデルラットにおいて、仙骨部鍼刺激により、排尿に到らない膀胱収縮(Non-voiding contraction; NVC)の出現頻度が抑制された。尿道閉塞モデルラットにおいても鍼刺激は NVC を抑制した。仙骨部鍼刺激は排尿筋過活動の蓄尿期に抑制的に作用することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effects of neuromodulation by acupuncture stimulation for the impaired bladder function in rats. In this study we revealed that sacral acupuncture stimulation inhibited non-voiding bladder contraction (NVC) during storage phase in rats with spinal cord injury. Additionally, we clarified that that sacral acupuncture stimulation inhibited NVC during storage phase in rats with bladder outlet obstruction. We conclude that sacral acupuncture stimulation affect inhibition on bladder hyperactivity during storage phase.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	300,000	90,000	390,000
総計	3,700,000	1,100,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：膀胱機能障害、脊髄損傷、再生医療、Neuromodulation、鍼刺激

1. 研究開始当初の背景

本研究の学術的背景として、再生医療の中でも本邦において特に臨床応用が期待される脊髄損傷後の神経幹細胞移植は、損傷された神経組織の修復が行なわれることにより、損なわれた機能の回復がもたらされることが報告されている(Han SS, et al, *Glia*, 45: 1-16, 2004.)。しかしながら、その一方で、脊髄損傷の急性期に起こる二次的変性が神経再生の妨げになることが明らかになっており(Schwab JM, et al, *Prog Neurobiol*, 78: 91-116, 2006.)、神経幹細胞移植のみで

は十分な神経再生および機能回復が困難であり、最先端の生体組織工学による再生誘導治療などの集学的治療や、脊髄損傷による二次的変性の軽減を図ることなども現状においては再生医療の重要な課題である。脊髄損傷後の二次的変性抑制による機能回復については AMPA 受容体拮抗薬が有効である可能性が報告され(Warathall JR, et al, *J Neurosci*, 14: 6596-6607, 1994.)、近年、二次的変性によるグリア瘢痕形成に炎症性サイトカインである IL-6 が強く関与していることが明らかにされ、抗 IL-6 レセプター

抗体によるグリア瘢痕形成の抑制が報告されている(Okada S, et al, J Neurosci Res, 76: 265-276, 2004.)が、薬剤の安全性などにクリアすべき問題点も多く、臨床応用には相当の時間を要する。再生医療は今後の医療の発展において非常に重要な分野であることから、国際競争が激しく、非常に高度な生体組織工学技術を有する日本が国際的にいち早くしかも確実にリードするためには、安全で確実な再生医療の早急な実現が欠かせない。

私たちはこれまで排尿障害に対する Neuromodulation として鍼治療を応用し、その有用性を報告してきた。さらに、脊髄損傷後の排尿機能障害の治療および評価に対して臨床的・基礎的研究を行い、その成果を報告してきた(本城久司ほか、自律神経、36: 373-380, 1999. Honjo H, et al, Urol Int, 65: 190-195, 2000. Ukimura O, et al, Eur Urol, 45: 70-76, 2004.)。こうした研究によって、脊髄損傷後の膀胱機能の回復に鍼治療は有用であることを明らかにした。その機序として、脊髄損傷後の膀胱機能障害において中心的役割を果たす無髄知覚神経線維である C 線維活動の抑制および脊髄における神経成長因子の減少が考えられる。この成果によって、脊髄損傷によって完成された膀胱機能障害の治療として Neuromodulation を応用するだけでなく、脊髄損傷後早期の再生医療に十分応用可能であることが強く示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、脊髄損傷および尿道閉塞による膀胱機能障害モデルラット作成し、脊髄損傷後・尿道閉塞後の神経・機能回復と膀胱機能回復との関連性を検討し、続いて鍼刺激による Neuromodulation を施行してその影響を検討する。さらに薬物療法との効果を比較し膀胱機能回復を中心とした Neuromodulation の有用性を明らかにする。また、膀胱機能障害に対する Neuromodulation をヒトに応用する上で、その評価方法についても検討し、なかでも非侵襲的な評価方法である排尿日誌による過活動膀胱症状の評価についても検討する。

3. 研究の方法

脊髄損傷モデルラットの作成は、Th8/9 において椎弓切除(laminectomy)を行い、Gurnerの方法(J Neurotrauma, 9:123-126, 1992.)に従って挫傷損傷による脊髄損傷モデルを作成する。モデルラット作成後は代謝ケージにおいて全身状態観察するとともに、行動および排尿パターンの経過をモニタリングした。脊髄損傷後の機能回復について、損傷 28 日後に無麻酔下での排尿機能を評価し、コン

トロールデータを集積するとともに、鍼刺激あるいはアトロピン静脈注入を行い、膀胱機能への影響を検討した。

4. 研究成果

胸髄 8/9 レベルにおいて切断する脊髄損傷モデルラットを作成し、損傷作成 28 日後に仙骨部の鍼刺激による Neuromodulation を行い、覚醒下で膀胱内圧を測定し膀胱機能に対する影響を検討した。鍼刺激により、排尿収縮圧は変化しない状態で排尿に到らない膀胱収縮(Non-voiding contraction; NVC)の出現頻度が抑制され、排尿間隔の延長が観察された。脊髄損傷における排尿筋過活動の発現は、膀胱求心性知覚神経の C-fiber が関与していることが知られており(de Groat, 1975)、本研究における NVC 発現も C-fiber が関与していることが考えられ、仙骨部鍼刺激後に NVC が抑制されたことは、脊髄損傷後の C-fiber による過剰な求心性情報の抑制が得られたものと考えられた。アトロピン(0.5mg/kg)静脈投与では、排尿収縮圧が減少したものの、NVC の出現頻度に抑制的効果がみられず、鍼刺激はアトロピンの有する抗コリン作用とは異なる機序で作用していることが明らかとなった。他方、C-fiber に対する求心性情報の抑制効果を脊髄無傷ラットにおいて確認するために、膀胱内に酢酸を注入し頻尿を誘発した頻尿モデルラットを作成し、仙骨部鍼刺激を行った。その結果、頻尿モデルラットにおいて、仙骨部鍼刺激後に有意な排尿間隔の延長が得られた。カプサイシン脱感作によりこの反応が起こらなかったことから、膀胱 C-fiber の求心性情報が抑制されたことが示された。このことから、仙骨部鍼刺激による膀胱 C-fiber の抑制効果は、脊髄損傷モデルラット特有の反応ではない可能性が示唆された。

また、NVC を呈するモデルとして、尿道閉塞ラットモデルを用いて覚醒下で膀胱内圧を測定し、仙骨部鍼刺激による NVC の抑制機序について検討した。その結果、尿道閉塞ラットモデル作成 28 日後に施行した仙骨部鍼刺激によって、脊髄損傷モデルラットと同様に排尿収縮圧に影響を及ぼさず、NVC が抑制された。また、非選択的 $\alpha 1$ 受容体拮抗薬であるプラゾシン(0.3mg/kg)の静脈投与によっても NVC が抑制されたが、同時に排尿収縮圧も抑制された。このことから、NVC に対する仙骨部鍼刺激の抑制発現機序は、膀胱平滑筋に対する直接作用ではなく、過度な求心性情報を入力することに対する仙髄排尿中枢を介した抑制である可能性が示唆された。さらに、脊髄損傷モデルラットにおいても、尿道閉塞ラットモデルにおいても、仙骨部鍼刺激による抑制効果は刺激後 2-3 時間程度で消失してしまうため、これは Neuromodulation

による一過性の抑制作用であり、再生医療において膀胱機能回復に Neuromodulation を適用する際の刺激条件について、さらなる検討が必要であると考えられた。

ところで、本研究で検討した鍼刺激による Neuromodulation をヒトに応用する際、病態および治療効果の評価方法が重要であるが、我々は尿意を併記する排尿日誌を用いて過活動膀胱症状との関連性についても検討した。対象は北海道 Y 町の町民検診を受診した中高年女性のうち、調査に同意し、排尿日誌がすべて記載された 310 名 (平均 58 歳) であった。対象者は、各排尿の際の尿意・膀胱知覚に関する質問項目を併記する排尿日誌を 3 日間記録した。尿意・膀胱知覚に関する質問項目は、「grade 0 : 尿意がないのにいった、grade 1 : 軽く尿意があつてトイレにいった、grade 2 : 排尿したくなってトイレにいった、grade 3 : 強く尿意をもよおしてトイレにいった、grade 4 : 我慢ができないほど尿意をもよおしてトイレにいった、grade 5 : 我慢ができないほどの尿意がありトイレにいったが、間に合わずもれていった」という計 6 段階とした。本検討では 310 名の対象のうち、過活動膀胱症状を有する対象は 48 名 (15.5%) にみられ、このうち、切迫性尿失禁を有する群 (OAB-wet) は 37 名 (11.9%)、切迫性尿失禁を有さない群 (OAB-dry) は 11 名 (3.5%) であった。OAB-Wet 群の平均 1 回排尿量は、切迫性尿失禁を伴わない grade 1-4 の排尿時に、尿意切迫感・切迫性尿失禁を有しない正常群 (Normal without urgency) と比して有意に減少しており、強い尿意を感じて排尿する grade 3 において、OAB-dry 群の平均排尿量は Normal without urgency 群と比して有意に減少していた。このことから、過活動膀胱は「尿意切迫感」という症状のみならず、膀胱における尿の保持力が低下しているために、通常の排尿においても尿意が亢進しており、強い尿意を自覚した際は特に、少ない蓄尿量で排尿せざるを得ないことが明らかとなった。さらに、OAB-dry 群のみ、有意な 24 時間尿量の増大が認められ、飲水量の増加による急激な尿産生が尿意切迫感発症の原因の 1 つである可能性が示唆された。

さらに、尿意よりも時間的、社会的事由により排尿する convenience void (CV) と過活動膀胱症状との関連性についても検討した。

CV は上記の排尿日誌の尿意において grade 0 あるいは、grade 0-1 を示す排尿と定義した。その結果、対象者を尿意切迫感のない群と、尿意切迫感を有する群と比較すると、CV の発現頻度、ならびに CV の平均 1 回排尿量は尿意切迫感を有する群で有意に低かった。一方、尿意切迫感を有する群のうち、排尿回数を 8 回未満・8 回以上の 2 群で比較すると、その 2 群間には CV の発現頻度および平均 1 回排尿

量に有意差は認められなかった。以上より、排尿日誌における CV は、過活動膀胱の主症状である尿意切迫感を評価し得るパラメータの 1 つであり、重症度判定および治療評価に有用である可能性が示唆された。

ところで、排尿筋過活動を呈する膀胱に対する仙骨部鍼刺激の効果について検討するうえで、脊髄・脳よりの下降性抑制系を主とする作用機序の解明は重要であるが、近年、動脈硬化による排尿筋過活動のメカニズムが明らかにされている。循環障害がどの程度膀胱機能に影響を及ぼしているかについて、ヒト血清の一酸化窒素代謝産物 (NOx) と過活動膀胱症状との関連性についても検討した。その結果、切迫性尿失禁を伴わない過活動膀胱 (OAB-Dry) を呈する女性において、有意に低下しており、切迫性尿失禁を伴う過活動膀胱 (OAB-Wet) を呈する女性においては、有意に上昇していることを明らかにした。このことはつまり、過活動膀胱は循環機能障害とも関連性があり、その評価にバイオマーカーを利用した評価が可能である可能性を示唆するものである。これまでの研究によって、仙骨部鍼刺激は排尿に至らない膀胱収縮の頻度を減少させ、蓄尿期に抑制的に作用することが明らかとなったが、膀胱機能回復を来すためには尿水力学的な膀胱機能検査のみならず、尿や血液のバイオマーカーを利用した膀胱機能のアウトカムの確立が必要であり、その病態に対するアプローチと再生医療における神経再生の効果の両面から評価すべきである。この研究によって、再生医療において Neuromodulation を適用する際、膀胱機能回復には神経系のみならず、循環系の動態についてもアプローチすることが必要であると理解され、今後の再生医療の実現時においても有用な情報を与える成果を得た。

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 5 件)

1. Honjo H, Kawauchi A, Ukimura O, Nakao M, Kitakoji H, Miki T : Impact of convenience void in a bladder diary with urinary perception grade to assess overactive bladder symptoms: a Community-Based Study. *Neurourol Urodyn*, 29:1286-1289, 2010.
2. Hino K, Honjo H, Nakao M, Kitakoji H : The effects of sacral acupuncture on acetic acid-induced bladder irritation in conscious rats. *Urology*, 75: 730-734, 2010.
3. Udo Y, Nakao M, Honjo H, Kitakoji H, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T : Analysis

of nocturia with 24-h urine volume, nocturnal urine volume, nocturnal bladder capacity and length of sleep duration: concept for effective treatment modality. BJU Int, 107:791-798, 2010.

4. Honjo H, Kawauchi A, Ukimura O, Nakao M, Kitakoji H, Miki T: Analysis of bladder diary with urinary perception to assess overactive bladder symptoms in community-dwelling women. Neurourol Urodyn, 28: 982-985, 2009.
5. Udo Y, Nakao M, Honjo H, Ukimura O, Kitakoji H, Miki T: Sleep duration is an independent factor in nocturia: analysis of bladder diaries. BJU Int, 104: 75-79, 2009.

[学会発表] (計 7 件)

1. Honjo H, Nakao M, Ueyama J, Kondo T, Ukimura O, Kawauchi A, Kitakoji H, Hamajima N, Miki T: Serum NOx levels associated with the average voided volume in women with OAB. 25th Annual EAU Congress, Eur Urol Suppl 9(2), 251-252 (Abstract #782), 2010.
2. Honjo H, Nakao M, Ueyama J, Kondo T, Ukimura O, Kawauchi A, Kitakoji H, Hamajima N, Miki T: Serum NOx levels associated with the voided volume in community-dwelling women with overactive bladder. 105th AUA Annual Meeting, J Urol 183(4) Suppl, e588-589 (Abstract #1526), 2010.
3. Hino K, Honjo H, Nakao M, Kitakoji H: Effects of sacral acupuncture in a rat cystitis model induced by intravesical hydrochloric acid. ICS Meeting 2010, Abstracts of ICS 2010 (Abstract #566), 2010.
4. Honjo H, Nakao M, Suzuki K, Ukimura O, Kawauchi A, Kitakoji H, Hamajima N, Miki T: The correlation between OAB-wet and serum adiponectin level, serum marker of metabolic syndrome in middle-aged and elderly community-dwelling women. 24th Annual Congress of the European Association of Urology, European Urology Supplements, 8(4): 137, 2009.
5. Honjo H, Nakao M, Kitakoji H, Suzuki K, Hamajima N, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T: The correlation between metabolic syndrome and OAB-wet in middle-aged and elderly community-dwelling women. 2009 Annual Meeting of the American Urological Association, The Journal of

Urology, 181(4): 674-675, 2009.

6. Honjo H, Ukimura O, Kawauchi A, Kitakoji H, Nakao M, Miki T: Impact of convenience void in bladder diary which involves self-reported urinary perception to assess overactive bladder sensitivity. 39th Annual Meeting of the International Continence Society, Neurourol Urodyn, 28(7): 604-605, 2009.
7. 島莊徳, 本城久司, 日野こころ, 岡田晃一, 中尾昌宏, 北小路博司: 下部尿路閉塞モデルラットの膀胱機能に与える仙骨部鍼刺激の影響. 第16回日本排尿機能学会, 日本排尿機能学会抄録集, 144, 2009.

[図書] (計 1 件)

1. 本城久司(共著): よくわかる排尿トラブルの対処法 最新の診断と治療. 三木恒治, 中尾昌宏編. 昭和堂, 2008年.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等: なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本城 久司 (HONJO HISASHI)

明治国際医療大学・鍼灸学部・講師

研究者番号: 30351357

(2) 研究分担者

岡田 晃一 (OKADA KOICHI)

明治国際医療大学・医学教育研究センター
・講師

研究者番号: 10326233

北小路 博司 (KITAKOJI HIROSHI)

明治国際医療大学・鍼灸学部・教授

研究者番号: 70204881

中尾 昌宏 (NAKAO MASAHIRO)

明治国際医療大学・医学教育研究センター
・教授

研究者番号: 00188880