

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 23 日現在

器官番号：11401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21600001

研究課題名（和文）膀胱上皮細胞がおこす膀胱痛の発生機序

研究課題名（英文）MECHANISMS OF BLADDER EPITHELIUM INDUCE PAIN SENSATION

研究代表者 河谷 正仁（KAWATANI MASAHIRO）

秋田大学大学院医学系研究・教授

研究者番号：00177700

研究成果の概要（和文）：膀胱上皮の静水圧による伸展（5cmH₂O から 45cmH₂O）は圧比例的に ATP の分泌をおこした。膀胱上皮細胞にある TRPV1 チャンネル、EP1 受容体、ムスカリン受容体の刺激は細胞内小胞体からの Ca²⁺の放出による ATP の分泌をおこした。またアデニル酸シクラーゼにより産生された cAMP は ATP 分泌を増加させた。伸展や化学刺激で小胞体内の Ca²⁺は放出され、これが枯渇すると貯蔵量作動性 Ca²⁺チャンネルによる Ca²⁺流入がおき、先のアデニル酸シクラーゼ活性を阻害し ATP の分泌を抑制した。これは膀胱が伸展に応じて ATP が持続的に放出し続けるのに必要な機構と考えられた。

研究成果の概要（英文）：

ATP secretion from the urinary bladder was observed pressure dependently (from 5cmH₂O to 45cmH₂O). Stimulation of either TRPV1 channel, EP1 receptor (Prostaglandin E₂ receptor) or muscarinic receptor increased ATP secretion which releasing Ca²⁺ from endoplasmic reticulum. Activation of adenylate cyclase also increased ATP secretion which independent from previous mechanism. Store-operated Ca²⁺ entry suppressed distention-induced ATP release from urothelium. These could be important for continuous ATP release during the storage of the urine in the urinary bladder.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：疼痛学

キーワード：膀胱痛, TRPV1, ATP, 上皮細胞

1. 研究開始当初の背景

膀胱は腎臓で作られた尿を貯めて排出する臓器という考え方が一般的であった。膀胱上皮細胞には神経細胞様に受容体やチャンネルがあり、刺激により ATP やプロスタグランジン E_2 (PGE_2) を放出し、膀胱知覚神経終末を活性化し、排尿反射を引き起こすことがあきらかとなってきた。膀胱における異常な蓄尿知覚、特に尿意切迫感を主症状とする“過活動膀胱”や“間質性膀胱炎”による痛みは膀胱上皮細胞—間質細胞—神経終末の単独ないし相互の興奮刺激の活性化によると考えられた。この中でも上皮細胞からの伸展刺激や炎症関連化学物質による ATP 放出の機構の解明が急務とされていた。

2. 研究の目的

膀胱上皮細胞にはアドレナリン $\alpha 1$ 受容体、ムスカリン性アセチルコリン受容体、 PGE_2 の EP1 受容体、TRPV1 チャンネル、TRPV4 チャンネル、アミロライド感受性 Na^+ チャンネル、貯蔵量作動性 Ca^{2+} チャンネルなどが存在する。このうち TRPV1 チャンネルや TRPV4 チャンネルは膀胱伸展を感受する機械受容分子として考えられた。また、G 蛋白質共役型受容体による ATP 分泌が考えられ、また小胞体からの Ca^{2+} 分泌による細胞内 Ca^{2+} の上昇が大きな役割をしていると考えられた。

また、膀胱知覚神経終末の活性化は膀胱の排尿反射の促進となり、時間あたりの排尿回数増加を起す。これまでの体性痛の研究からダイオードレーザーの知覚神経直接照射は痛み信号を選択的にその伝導を抑制することが知られている。このレーザー照射が通常の膀胱伸展による排尿反射に影響を及ぼさず、炎症性化学物質による亢進した排尿反射を選択的に抑制すると、動物でも膀胱の異常知覚（痛み）による信号の抑制機構が明らかになると考えられた。

3. 研究の方法

①単離したマウス膀胱を用いウツシグチェンバーによる静水圧による ATP 分泌測定を実施した。挟み込んだ膀胱の漿膜側（平滑筋側）から伸展させるように静水圧を加え、粘膜側（反対側）に分泌される ATP の量をルシフェリン—ルシフェラーゼ法を用いて測定した。この実験では静水圧が $5\text{cmH}_2\text{O}$ から $45\text{cmH}_2\text{O}$ まで静水圧比例的に ATP の放出が行われている。②セボフルレン麻酔下で膀胱にポリエチレンチューブ (PE50) を挿入し、麻酔回復後拘束ケージにラットを固定し膀胱を灌流し安定した間隔の排尿を測定する。その後、膀胱灌流液を 0.1% 酢酸水か PGE_2 (10^{-5}M) 溶液に変更し、排尿間隔の短縮を測定する。ターオードレーザー (830nm、10W ただし 10% の間欠照射) を第 6 腰椎神経にむけて後背部より 3 分間照射し、その後の排尿間隔を検討する。

4. 研究成果

①カプサイシン、アセチルコリン、EP1 アゴニストにより ATP 分泌量の増加が認められた。この増加は緩徐で 10 分後より 30 分ないし 60 分後のほうが大きな値であった。また、小胞体からの Ca^{2+} 放出による ATP の分泌がかんがえられた。 Ca^{2+} イオノフォア A23187 やリアノジン受容体作動薬のカフェインで小胞体からの Ca^{2+} 放出を直接刺激すると、伸展刺激がなくても ATP 分泌がおきた。さらにイノシトール三リン酸受容体の拮抗薬のヘパリンで小胞体からの Ca^{2+} の放出を抑えると $45\text{cmH}_2\text{O}$ での伸展刺激による ATP 分泌が抑えられた。

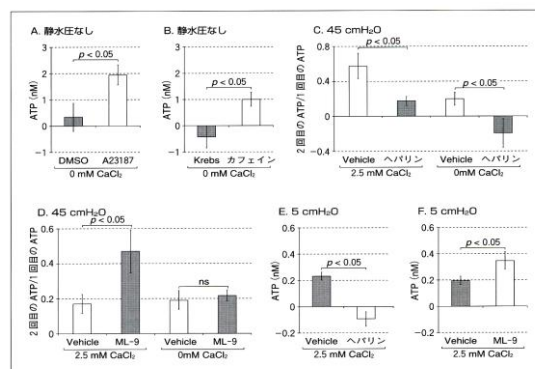
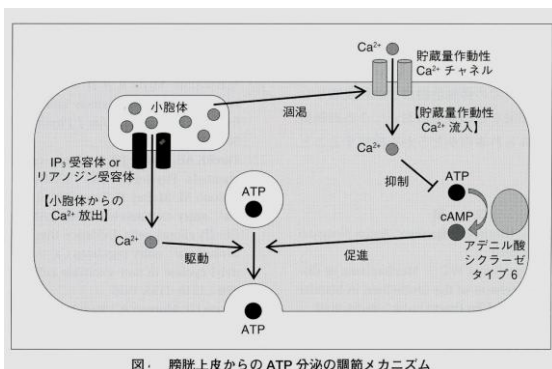


図 Ca^{2+} による膀胱上皮からの ATP 分泌調節

貯蔵量作動性 Ca^{2+} 流入の阻害薬 ML-9 投与下で $45\text{cmH}_2\text{O}$ の伸展刺激をすると ATP 分泌量は増加し、細胞外の Ca^{2+} を除去すると効果が消失した。従って、貯蔵量作動性 Ca^{2+} 流入には伸展刺激による ATP 分泌を抑制することが考えられた。小胞体からの Ca^{2+} の放出が ATP 分泌を駆動しアデニル酸シクラーゼによって産生された cAMP が ATP 分泌を増やすが、小胞体の Ca^{2+} の放出が枯渇するとこの貯蔵量作動性 Ca^{2+} 流入がおき、アデニル酸シクラーゼの活性がとまり ATP 分泌が抑制されることが明らかとなった。これは膀胱が伸展していくのに応じて持続的に ATP が放出し続けているのに大切な機構と考えられた。



②末梢神経の痛み信号を特異的に抑制するダイオードレーザー光 (830nm) を膀胱一次求心性神経に照射すると PGE_2 や酢酸によって起きた排尿間隔の短縮 (頻尿) を膀胱刺激前の排尿間隔に戻した。従って膀胱上皮細胞で起きた異常知覚 (痛み) は膀胱知覚神経活動を増加させていると考えられた。

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 10 件)

- 1) Wang X, Matsumoto-Miyai K, Yoshizumi M, Ito I, Yanase H, Momota Y, Tsujimoto G, Tanoue K, Nimura T, Kawatani M. (2009) Urothelial α_{1D} receptor is predominantly involved in the adrenergic facilitation of micturition reflex. LUTS 1, S10-S14.
- 2) Matsumoto-Miyai K, Kagase A, Murakawa Y, Momota Y, Kawatani M. (2009) Extracellular

Ca^{2+} regulates the stimulus-elicited ATP release from urothelium. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical, 150, 94-99.

3) Yoshizumi M, Matsumoto-Miyai K, Yonezawa A, Kawatani M. (2010) Role of supraspinal and spinal α_1 -adrenergic receptor subtypes in micturition reflex in conscious rats. Am J Physiol, 299, F785-791.

4) 河谷正仁. (2010) 排尿障害-排尿生理. 脳 21, 13, 230-232.

5) 松本一宮井和政, 河谷正仁. (2010) 排尿障害-膀胱上皮から分泌される ATP の排尿機能への役割. 脳 21, 13, 247-252.

6) 松本一宮井和政, 河谷正仁. (2010) カルシウムイオンによる膀胱上皮からの ATP 分泌の制御機構. 自律神経, 47, 432-435.

7) Matsumoto-Miyai K, Kagase A, Yamada E, Yoshizumi M, Murakami M, Ohba M, and Kawatani M. (2011) Store-operated Ca^{2+} entry suppresses distention-induced ATP release from urothelium. Am J Physiol, 300, F716-720.

8) Ito I, Ishikawa T, Matsumoto-Miyai K, Kawatani M. (2011) Pulse diode laser irradiation (830 nm) of lumbosacral spinal roots diminished hyperreflexia-induced by acetic acid or prostaglandin E2 infusion in rat urinary bladder. Luts, 3, 69-75.

9) Matsumoto-Miyai K, Kawatani M (2012)

The regulation of distention-induced ATP release from urothelium by the adenylyl cyclase-cyclic AMP pathway. Biomedical Res (in press)

10) 宮井-松本和政, 河谷正仁. (2012) 膀胱上皮からの ATP 分泌における貯蔵量作動性 Ca^{2+} 流入と Ca^{2+} 抑制性アデニル酸シクラーゼの役割. 排尿プラクティス, 20, 16-23.

[学会発表] (計 14 件)

1) Matsumoto-Miyai K, Kagase A, Murakawa Y, Yoshizumi M, Kawatani M. (2009) The

store-operated Ca^{2+} entry negatively regulates the distention-elicited ATP release from urothelium. International Continence Society 39th Annual Meeting, October San Francisco, USA

2) Yoshizumi M, Matsumoto-Miyai K, Yonezawa, A, Kawatani M. (2009) Role of supraspinal and spinal α_1 -adrenergic receptor subtypes in the micturition reflex in conscious rats. International Continence Society 39th Annual Meeting, October San Francisco, USA

3) Matsumoto-Miyai K, Yoshizumi M, Kagase A, Kawatani M. (2009) The Ca^{2+} -regulated mechanism of the distention-elicited ATP release from urothelium. Society for Neuroscience 39th Annual Meeting, October, Chicago, USA

4) Yoshizumi M, Matsumoto-Miyai K, Yonezawa A, Kawatani M. (2009) Role of supraspinal and spinal α_1 -adrenergic receptor subtypes in micturition reflex in conscious rats. Society for Neuroscience 39th Annual Meeting, October, Chicago, USA

5) 松本一宮井和政, 善積 克, 河谷正仁. (2009) 膀胱上皮細胞からの ATP 分泌機構における Ca^{2+} の関与. 第 16 回日本排尿機能学会, 9 月, 福岡

6) 善積 克, 松本一宮井和政, 米澤章彦, 河谷正仁. (2009) 覚醒ラットにおける排尿機能に対する中枢 α_1 -アドレナリン受容体サブタイプの役割. 第 16 回日本排尿機能学会, 9 月, 福岡

7) 松本一宮井和政, 善積 克, 加賀瀬 藍, 河谷正仁. (2009) カルシウムイオンによる膀胱上皮細胞からの ATP 分泌の制御機構. 第 62 回日本自律神経学会, 11 月, 和歌山

8) 松本一宮井和政, 善積 克, 河谷正仁. (2010) 膀胱上皮からの ATP 分泌を制御する Ca^{2+} の役割. (シンポジウム) 第 52 回日本平滑筋学会総会, 7 月, 仙台

9) 松本一宮井和政, 善積 克, 河谷正仁. (2010) 膀胱上皮からの ATP 分泌における Ca^{2+} 抑制性アデニル酸シクラーゼの役割. 第 17 回日本排尿機能学会, 9 月, 甲府

10) Matsumoto-Miyai K, Yoshizumi M, Yamada E, Kawatani M. (2010) The involvement of Ca^{2+} inhibitable adenylyl cyclase in the distention-elicited urothelial ATP release. Society for Neuroscience 40th Annual Meeting, November, San Diego, California, USA.

11) 松本一宮井和政, 善積 克, 河谷正仁. (2011) セロトニンによる膀胱上皮からの ATP 分泌の制御. 第 18 回日本排尿機能学会, 9 月, 福井

12) 河谷正仁. (2011) 低出力レーザーによる鎮痛発生メカニズム, 第 23 回秋田疼痛研究会, 6 月, 秋田

13) 松本一宮井和政, 善積 克, 加賀瀬 藍, 山田依里佳, 仁村俊枝, 畠山玲子, 河谷正仁. (2011) 膀胱壁過伸展による膀胱上皮からの ATP 分泌機構. 第 23 回秋田疼痛研究会, 6 月, 秋田

14) Matsumoto-Miyai K, Yoshizumi M, Yamada E, Kawatani M. (2011) Regulation of distention-elicited urothelial ATP release by 5-hydroxytryptamine. Society for Neuroscience Society for Neuroscience 41st Annual Meeting, November, Washington DC, USA

[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

河谷 正仁 (Kawatani Masahito)

秋田大学大学院医学系研究科 教授

研究者番号：00177700

(2) 研究分担者

宮井 和政 (Miyai Kazumasa)

秋田大学大学院医学系研究科 准教授

研究者番号：研究者番号：60283933

伊藤登茂子 (Ito Tomoko)

秋田大学大学院医学系研究科 教授

研究者番号：50241675

善積 克 (Yoshizumi Masaru)

秋田大学大学院医学系研究科 助教

研究者番号：70553379

(3) 連携研究者

()

研究者番号：