

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4月28日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21659370

研究課題名（和文）メタボリックドミノの予防はED/LUTSの改善につながるか

研究課題名（英文）Does prevention of metabolic syndrome lead to improvement of erectile dysfunction or lower urinary tract symptoms?

研究代表者

横山 修 (YOKOYAMA OSAMU)

福井大学・医学部・教授

研究者番号：90242552

研究成果の概要（和文）：高血圧症のような生活習慣病は一度ドミノ倒しが進んだ後に進展を抑制するのはなかなか困難とされており、より上流の時点で発症を抑制するのが望ましいと考えられている。「メタボリック症候群を予防することでED・LUTSの発生を抑えることができるのか」が、本研究の目的である。メタボリック症候群のモデルとしてOLETF(Otsuka-Evans Tokushima Fatty)ラット、高血圧モデルとして高血圧感受性ラットを使用し、下部尿路機能をモニターしてメタボリック症候群、特に高血圧と下部尿路症状との因果関係を解析した。

- (1) メタボリック症候群のモデルとしてOLETF(Otsuka-Evans Tokushima Fatty)を採用し、排尿回数や1日尿量をモニターした。その結果、24週齢から排尿筋過活動を認め、*ex vivo*での膀胱伸展による膀胱上皮由来ATP/PGE2の上昇がみられた。さらに56週齢では尿中の酸化ストレスマーカーである8-OHdGの有意な上昇も観察された。したがって、メタボリック症候群における膀胱局所の酸化ストレス（恐らく膀胱虚血による）が膀胱上皮からATP/PGE2などのメディエーター放出を介して知覚求心路を刺激し、下部尿路症状（LUTS）の蓄尿症状をもたらすものと推測された。
- (2) アンギオテンシン受容体拮抗薬（ARB）を適切なタイミングで（すなわちcritical period）一時的に投与して高血圧を予防した時、その後膀胱で生じる機能変化についても解析した。オルメサルタンを持続投与すると、膀胱上皮由来NGF/PGE2の放出抑制が認められた。このことはメタボリック症候群の改善がLUTSを予防できる可能性を示唆するものと考えられる。
- (3) 高血圧感受性ラットを高食塩食で飼育し、下部尿路機能をモニターしてメタボリック症候群、特に高血圧と下部尿路症状との因果関係を解析した。対照として食塩抵抗性ラットを使用した。その結果、2週の時点で対照に比べ20-30mmHgの血圧上昇がみられた。このラットに飲水制限して膀胱機能をモニターすると、10週後1回排尿量の減少が認められた。またinactive periodにおける尿量の増加がみられ、尿産生の日内リズムが変化していることが確認された。

研究成果の概要（英文）：We investigated whether the prevention of metabolic syndrome led to improvement of erectile dysfunction and lower urinary tract dysfunction. As animal models of metabolic syndrome, we used OLETF (Otsuka-Evans Tokushima Fatty) rats and Dahl salt-sensitive (DSs) rats, and investigated the function of the lower urinary tract.

1. The average body weight of male OLETF rats was significantly increased from the age of 24 weeks to 40 weeks, but significantly decreased from the age of 64 weeks. The systolic blood pressure was gradually increased from the age of 24 weeks. Plasma triglyceride, cholesterol, insulin and glucose were significantly higher in OLETF rats than in LETO rats both at the age of 24 and 56 weeks. These characteristics suggest that OLETF rat could be a model in evaluating the relationship between MetS and LUTS.
2. The urinary frequency for 24 h was significantly greater in OLETF rats from the

age of 24 weeks, and the mean voided volume was significantly greater from the age of 56 weeks. This suggests that the male OLETF rats have micturition characteristics of frequent micturition and polyuria from early stage to late stage.

3. On cystometry, non-voiding contractions (NVCs) was observed in OLETF rats at the age of 24 weeks, and markedly increased at the age of 56 weeks. The bladder weight, maximum bladder capacity and residual urine were significantly increased at the age of 56 weeks.
4. The amount of ATP, PGE2 and NGF released from 20 cm H₂O pressure-stretched bladder of OLETF rats was, respectively, significantly increased 3.87±0.46, 2.80±0.34, 1.37±0.22 times as much as those of LETO rats. The amount of 8-OHdG in the bladder of OLETF rats was 4.71±0.68 times higher than that of LETO rats.
5. The sympathetic nerve activity is augmented with salt loading in Dahl salt-sensitive rats (DSs), but not in Dahl salt-resistant rats (DRs). Six-week-old male DSs and DRs were fed with a normal (0.3%) or high- (8%) salt diet and 40ml water/day for 12 weeks. Blood pressure was measured through the tail artery under non-anesthetizing state. Urine volume and frequency were recorded all day long in metabolic cage. We calculated inactive period (sleeping) urine volume index (IUi), which was defined as urine volume during inactive period divided by 24-h urine output. Twenty to 30 mmHg increase in systolic and diastolic blood pressure was noted in DSs after 2 week-salt loading. Salt loading increased urine production during active (awake) period of the day both in DSs and DRs. In inactive period, mean voided volume gradually increased in DRs fed with normal or high salt diet, while did not change in DSs fed with high-salt diet. There were significant differences in mean voided volume after 10 week-salt loading between DRs and DSs fed with high-salt diet. In DSs fed with high-salt diet, IUi increased 2 weeks after salt loading, and remained normal range within 4 weeks.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	0	1,700,000
2010年度	800,000	0	800,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	150,000	3,150,000

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：メタボリック症候群、膀胱機能、下部尿路症状、高血圧、アンギオテンシン受容体拮抗薬、膀胱上皮、酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

内臓脂肪型肥満が引き起こす動脈硬化、糖尿病、心筋梗塞、脳卒中などの生活習慣病に対し、国民医療費の約3割がその治療に費やされている。このままでは保険機構の破綻は目に見えており、厚労省が危機感を募らせている。そんな中、医療制度改革の目玉ともいえるメタボ健診（特定健診・特定保健指導）が始まった。この健診が義務化されるのは40歳から74歳までの5600万人で、平成27年までに生活習慣病

有病者とその予備軍を25%削減させることを目標としている。メタボ予備軍の減少、すなわち「メタボリックドミノ」の予防が、泌尿器科領域のQOL疾患EDとLUTSを未然に防ぐことができるのか、が本研究のテーマである。高血圧、糖尿病、高脂血症などのメタボリック症候群の危険因子の数が多きほどLUTSスコアも高いと報告され（Eur Urol 50: 581, 2006）、それらの危険因子とLUTSとの相関が注目されている。自律神経、特に交感神経の活動亢進（血圧、

脈拍、尿・血清中のカテコラミンの上昇)は LUTS の重症度と相関し (J Urol 174: 1327, 2005)、 α ブロッカーなどの薬剤は、自律神経系に作用することで間接的に前立腺肥大症の症状を修飾している可能性もある。われわれも LUTS の発生に高血圧・糖尿病・心疾患などがどのように関与しているのか、さらに α_1 ブロッカーの効果はこれら自律神経系や糖尿病の有無によりどのように修飾されているのか、「前立腺肥大症に伴う排尿障害に対するハルナール®の有効性・安全性に関する大規模調査」のデータを再解析することで検討した (Ito H, et al LUTS 2012 in press)。すなわち前立腺肥大症によると思われる男性下部尿路症状 (male LUTS) の症状スコア (国際前立腺症状スコア) を合併症、年齢、タムロシンに対する効果より再解析した結果 (有効性解析対象症例 4,915 例)、排尿症状については高血圧との相関はみられなかったが、昼間頻尿・夜間頻尿の蓄尿 2 症状はスコアが高くなるにつれ高血圧の合併頻度が高くなり、蓄尿症状スコア (合計) でも高血圧の合併頻度と有意な相関がみられた。夜間頻尿に関しては糖尿病の合併頻度も相関した。平成 17 年度福井県前立腺検診受診者 (3,624 人) や平成 17 年度福井県住民健康診査を受けた女性 18,952 人に下部尿路症状の調査を行い、下部尿路症状と基礎疾患、血圧、肥満度 (BMI) などとの相関について解析した。その結果、下部尿路症状には心疾患・呼吸器疾患・糖尿病、蓄尿症状には高血圧・呼吸器疾患、夜間頻尿には肥満・高血圧・心疾患・不眠が独立した危険因子になることが解明された (Aoki Y et al LUTS 2012)。また、福井大学附属病院を受診した女性を中心に LUTS と性機能障害についてアンケート調査を施行した結果、蓄尿症状と性機能とは関係することが解明された (2008NBS、東京)。以上の臨床研究、疫学調査の結果より、メタボリック症候群の 1 つの帰結 (ドミノ牌) として ED・LUTS が存在する可能性が示唆される。

2. 研究の目的

これまでに高フルクトース食にて 11 ヶ月飼育したラットでは、高血圧・インスリン抵抗性が獲得され、排尿回数の増加とともに膀胱壁 cyclooxygenase (COX)-2 発現の上昇・尿中 prostaglandin E2 の増加がみられることを報告した (NBS 2009)。しかしこのモデルには体重増加や脂質異常が認められず、メタボリック症候群の病態モデルとは言い難い。そこで新規メタボリック症候

群モデルを採用し、以下の検討をおこなった。

(1) メタボリック症候群のモデルとして高血圧、高脂血症、耐糖能異常を認めるラットを作成し、この病態モデルにおける性機能と下部尿路機能をモニターしてメタボリック症候群との直接の因果関係を解析する。

(2) 生活習慣病は一度ドミノ倒しが進んだ後に進展を抑制するのはなかなか困難とされており、より上流の時点で発症を抑制するのが望ましいと考えられている。アンギオテンシン変換酵素阻害薬 (ACE1) またはアンギオテンシン受容体拮抗薬 (ARB) を適切なタイミングで (すなわち critical period で) 一時的に投与して高血圧を予防した時、その後膀胱あるいは尿道で生じる機能変化、遺伝子・蛋白レベルでの変化を解析する。

(3) 後天性高血圧ラットモデルを用いて高血圧に伴う蓄尿障害のメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

(1) メタボリック症候群の病態モデルである雄性 Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) ラットを用い、8 週毎の排尿モニタリング、24 週齢・56 週齢 2 時点の膀胱内圧、膀胱容量、および残尿量の測定、56 週齢の膀胱伸展による膀胱上皮 ATP・PGE2 放出量の測定、膀胱壁 AT1/2 受容体、(プロ) レニン受容体、酸化ストレスマーカー 8-OHdG 量の測定、増殖因子 (HB-EGF、TGF- β 1) の定量を行った。対照には LETO ラットを用いた。

(2) ARB である olmesartan (OLM: 1 mg/kg/day) を浸透圧ミニポンプで 4 週間皮下投与し、膀胱機能、膀胱上皮 mediator 等に対する影響についても検討した。

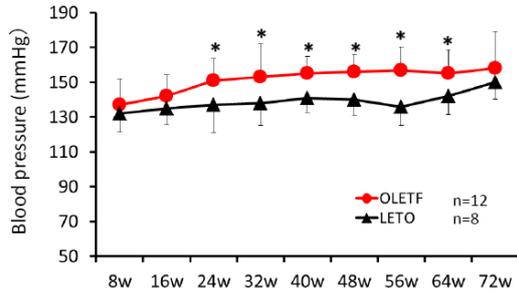
(3) 高食塩感受性高血圧ラット (DIS; Dahl salt-sensitive rats) と食塩抵抗性ラット (DIR; Dahl salt-resistant rats) に 8% 食塩含有飼料と通常飼料 (0.252% 食塩含有) をそれぞれ与えた。1 日飲水として与える水分量は 30ml とし、ラットの尿量をほぼ一定にした 2 週間毎に体重、血圧を測定し、また代謝ゲージを用いて排尿状態を記録した。

4. 研究成果

(1) OLETF ラットは LETO に比べて 24 週齢から体重の有意な増加、収縮期血圧の有意な高値とともに耐糖能異常、脂質異常もみられた (図 1)。

収縮期血圧の経齢変化

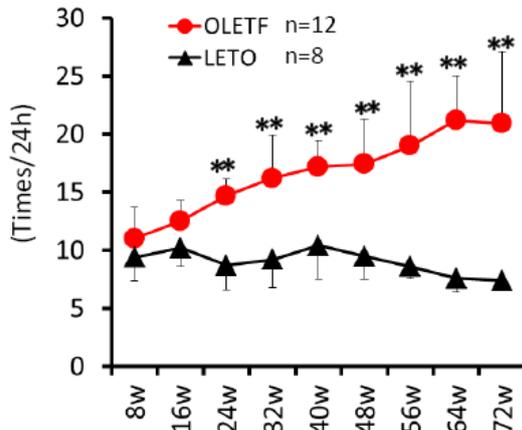
(図1)



排尿回数は 24 週齢から有意な増加が認められた (図2)。

排尿回数

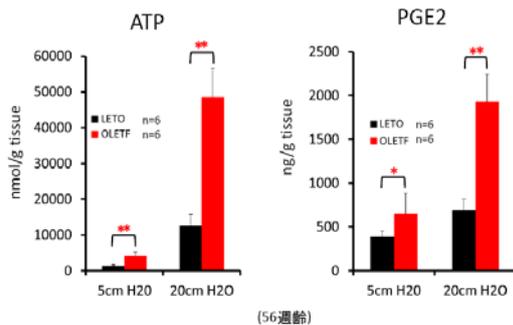
(図2)



CMG では、24 週齢・56 週齢で NVC (non-voiding contraction) がみられた。膀胱壁では 8-OHdG の増加、AT1 や増殖因子の発現も増加し、膀胱上皮由来の ATP・PGE2 放出量は LETO に比べ有意に増えていた (図3)。

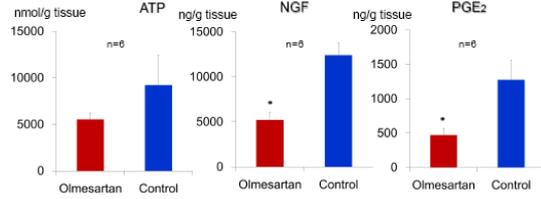
膀胱伸展によりATPとPGE2放出量

(図3)



OLM 4 週投与により収縮期血圧の有意な低下とともに、膀胱上皮由来 ATP、PGE₂ 及び NGF の放出量は抑制された (図4)。

(図4) OLM投与によるOLETFラット膀胱上皮におけるATP、NGF およびPGE₂ の放出量



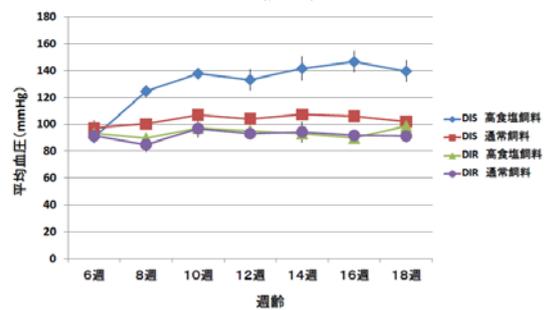
膀胱壁における AT₂ の発現量には有意差がみられなかったのに対して、AT₁ の発現量は投与前の 0.37±0.05 倍と有意な減少が認められた。

遺伝的な要因で発症する OLETF ラットには、普通の飼育条件でも MetS を呈する。本モデルはヒト MetS に近い病態モデルとされているが、排尿筋過活動を認めることより OAB の病態モデルとしても有用と考える。本研究の結果は膀胱組織での RAS の活性が蓄尿症状発生に関与し、ARB は膀胱上皮由来 mediator の放出を減少させる等の効果で LUTS を改善させたと推測される。

(2) 高食塩感受性高血圧ラット(DIS ; Dahl salt-sensitive rats)と食塩抵抗性ラット(DIR ; Dahl salt-resistant rats)に 8% 食塩含有飼料と通常飼料(0.252%食塩含有)をそれぞれ与えた。食塩感受性ラットでは高食塩飼料にて有意な血圧上昇が観察された (図5)。

平均血圧の変化

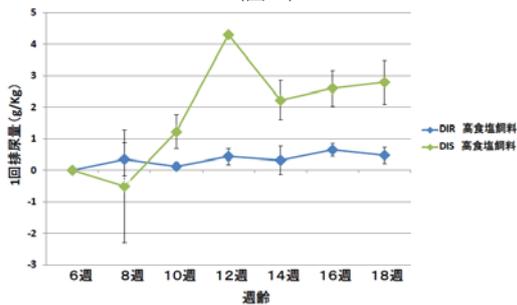
(図5)



高食塩飼料ラットでは週齢に伴う体重増加が小さかった。高血圧ラットでは週齢に伴う排尿回数の増加がみられた。高血圧ラットの体重換算した非活動期 1 回排尿量の変化は、食塩非感受性ラットと比較し有意に小さかった (図6)。

体重換算した非活動期1回排尿量の変化

(図6)



これまで自然発生高血圧ラット (SHR) では膀胱知覚神経の PGE2 の感受性増加が示されている。食塩過剰摂取により酸化ストレスが亢進し、高血圧を引き起こされていると考えられているが、高血圧により血管障害が生じ、膀胱に虚血性変化をもたらして蓄尿障害を発生するさせた可能性もある。酸化ストレスと膀胱上皮由来 ATP/PGE2/NGF の関連性、また膀胱血流障害に関して今後も検討する予定である。

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 21 件)

1. Aoki Y, Yokoyama O. Metabolic syndrome and nocturia. *LUTS* 2012, 4:11-15 査読有
doi: 10.1111/j.1757-5672.2011.00118.x
2. Ito H, Taga M, Tsuchiyama K, Akino H, Yokoyama O. IPSS is lower in hypertensive patients treated with angiotensin-II receptor blocker: posthoc analyses of a lower urinary tract symptoms population. *Neurourol Urodyn* 2012, in press 査読有
3. Ito H, Yoshiyasu T, Yamaguchi O, Yokoyama O. Male LUTS: hypertension as a risk factor for storage symptoms, but not voiding symptoms. *LUTS* 2012, in press 査読有 doi: 10.1111/j.1757-5672.2011.00115.x
4. Nagase K, Ito H, Aoki Y, Tanase K, Akino H, Yokoyama O. Co-administration of an $\alpha(1)$ -blocker improves the efficacy and safety of antimuscarinic agents in rats with detrusor overactivity. *Int J Urol*. 2011, 18:836-843 査読有
doi: 10.1111/j.1442-2042.2011.02868.x
5. Gotoh M, Homma Y, Yokoyama O, Nishizawa O. Responsiveness and minimal clinically important change in overactive bladder symptom score. *Urology*. 2011, 78:768-773 査読有
doi:10.1016/j.urology.2011.06.020
6. Homma Y, Gotoh M, Yokoyama O, Masumori N, Kawauchi A, Yamanishi T, Ishizuka O, Seki N, Kamoto T, Nagai A, Ozono S. Outline of JUA clinical guidelines for benign prostatic hyperplasia. *Int J Urol*. 2011, 18:741-756 査読有
doi: 10.1111/j.1442-2042.2011.02860.x
7. Yokoyama O, Yamaguchi O, Kakizaki H, Itoh N, Yokota T, Okada H, Ishizuka O, Ozono S, Gotoh M, Sugiyama T, Seki N, Yoshida M, Yamada S. Efficacy of solifenacin on nocturia in Japanese patients with overactive bladder: impact on sleep evaluated by bladder diary. *J Urol*. 2011, 186:170-174. 査読有
doi:10.1016/j.juro.2011.02.2700
8. Yamaguchi O, Kakizaki H, Homma Y, Takeda M, Nishizawa O, Gotoh M, Yokoyama O, Seki N, Yoshida M; ASSIST Study Group. Solifenacin as Add-on Therapy for Overactive Bladder Symptoms in Men Treated for Lower Urinary Tract Symptoms-ASSIST, Randomized Controlled Study. *Urology*. 2011, 78:126-133 査読有
doi:10.1016/j.urology.2011.02.055
9. Yokoyama O, Tanaka I, Kusakawa N, Yamauchi H, Ito H, Aoki Y, Oyama N, Miwa Y, Akino H. Antimuscarinics suppress adenosine triphosphate and prostaglandin E2 release from urothelium with potential improvement in detrusor overactivity in rats with cerebral infarction. *J Urol*. 2011, 185:2392-2397 査読有
doi: 10.1016/j.juro.2011.02.048
10. Yokoyama O, Aoki Y, Tsujimura A, Takao T, Namiki M, Okuyama. $\alpha(1)$ -Adrenoceptor blocker naftopidil improves sleep disturbance with reduction in nocturnal urine volume. *World J Urol* 2011, 29: 233-238 査読有
doi: 10.1007/s00345-010-0544-4
11. Tanaka I, Nagase K, Tanase K, Aoki Y, Akino H, Yokoyama O. Modulation of Stretch-evoked Adenosine Triphosphate Release from the Bladder Epithelium by Prostaglandin E₂ *J Urol* 2011; 185: 341 査読有
doi: 10.1016/j.juro.2010.09.042
12. Yokoyama O. Pharmacologic and Genetic Analysis of Mechanisms Underlying Detrusor overactivity in rats. *Neurourol Urodyn* 29: 107-111, 2010 査読有
doi: 10.1002/nau.20746
13. Yokoyama O, Ito H, Namiki M. Influence of Urethral Sphincter Incompetence on Bladder Shape and Function in

- Myelodysplastic Children. *LUTS* 2 : 27–30, 2010 査読有
doi: 10.1111/j.1757-5672.2010.00056.x
14. Yokoyama O, Ito H, Aoki Y, Oyama N, Miwa Y, Akino H. Selective α 1A-blocker improves bladder storage function in rats via suppression of C-fiber afferent activity. *World J Urol* 28:609-14, 2010 査読有
doi: 10.1007/s00345-009-0481-2
 15. Yokoyama O, Matsuta Y, Yanai-Inamura H, Watanabe M, Ohtake A., Suzuki M, Sasamata M. Zolpidem increases bladder capacity and decreases urine excretion in rats. *NeuroUrol Urodyn* 29:107-111, 2010 査読有
doi: 10.1002/nau.20797
 16. Yamauchi H, Akino H, Ito H, Aoki Y, Nomura T, Yokoyama O. Urinary Prostaglandin E(2) was increased in patients with suprapontine brain diseases, and associated with overactive bladder syndrome. *Urology*. 76(5):1267, 2010 査読有 doi:10.1016/j.urology.2010.06.012
 17. Matsuta Y, Yusup A, Tanase K, Ishida H, Akino H, Yokoyama O. Melatonin increases bladder capacity via GABAergic system and decreases urine volume in rats. *J Urol* 184: 386-91, 2010 査読有
doi: 10.1016/j.juro.2010.03.002
 18. Tanaka I, Nagase K, Tanase K, Aoki Y, Akino H, Yokoyama O. Improvement of non-inflammatory detrusor overactivity through suppression of peripheral C-fiber by cyclooxygenase inhibitors. *J Urol* 183: 786-792, 2010 査読有
doi: 10.1016/j.juro.2009.09.071
 19. Yokoyama O, Ishiura Y, Nakamura Y. Animal model with detrusor overactivity caused by cerebral infarction as a useful tool for pharmacological therapeutic approaches. *LUTS* 1: S98-S100, 2009 査読有
doi: 10.1111/j.1757-5672.2009.00042.x
 20. Yamaguchi O, Nishizawa O, Takeda M, Yokoyama O, Homma Y, Kakizaki H, Obara K, Gotoh M, Igawa Y, Seki N, Yoshida M; Neurogenic Bladder Society Clinical guidelines for overactive bladder. *Int J Urol* 16:126-42, 2009 査読有
doi: 10.1111/j.1442-2042.2008.02177.x
 21. Homma Y, Araki I, Igawa Y, Ozono S, Gotoh M, Yamanishi T, Yokoyama O, Yoshida M. Clinical guideline for male lower urinary tract symptoms. *Int J Urol* 16:775-790, 2009 査読有
doi: 10.1111/j.1442-2042.2009.02369.x

[学会発表] (計 9 件)

1. Yokoyama O: Treatment satisfaction with antimuscarinics in male patients with overactive bladder. 6th Japan-Asean Conference on Men's Health and Aging. 2011.7.1, Kamakura, Japan
2. Yokoyama O: Epidemiology in men's health. 5th Japan-Asean Conference on Men's Health and Aging. 2010.7.9, Kota Kinabalu, Malaysia
3. Yokoyama O: Understanding the Science, 30th Congress of the Societe Internationale d'Urologie, Counting the Cost of OAB and Its Burden on Society, 2009.11.3, Shanghai(CHN)
4. Aoki Y, Kusukawa N, Matsuta Y, Maegawa M, Tanase K, Ito H, Oyama N, Miwa Y, Akino H, Yokoyama O: Relationship between nocturia and metabolic syndrome, International Continence Society 39th Annual Meeting, 2009.10.3, San Francisco(USA)
5. 横山 修: 下部尿路症状とメタボリック症候群との関連について, 第 16 回 日本排尿機能学会, ランチョンセミナー 1, 2009.9.12, 福岡
6. Yokoyama O: Erectile dysfunction and lower urinary tract symptoms: possible pathophysiological relation to vascular function, 4th Japan and Korea Satellite Symposium, 2009.7.2, Toyama
7. Aoki Y, Takahara N, Tanase K, Ito H, Oyama N, Miwa Y, Akino H, Yokoyama O: Is female nocturia associated with metabolic syndrome?, 2009 Annual Meeting of American Urological Association, 2009.4.28, Chicago(USA)
8. Yamauchi H, Ito H, Aoki Y, Akino H, Yokoyama O, Nomura T: What is the most valuable mediator secreted from the urothelium of the urinary bladder in patients with neurogenic overactive bladder?, 2009 Annual Meeting of American Urological Association, 2009.4.7, Chicago(USA)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横山 修 (YOKOYAMA OSAMU)
福井大学・医学部・教授
研究者番号: 9 2 2 4 2 5 5 2

(2) 研究分担者

秋野 裕信 (AKINO HIRONOBU)
福井大学・医学部・准教授
研究者番号: 9 0 1 5 9 3 3 5
青木 芳隆 (AOKI YOSHITAKA)
福井大学・医学部・助教
研究者番号: 3 0 2 7 3 0 0 6