

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25年5月28日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591795

研究課題名（和文）β2 受容体遺伝子多型が女性骨盤底機能障害患者の骨盤底筋収縮に及ぼす影響

研究課題名（英文）Association between single nucleotide polymorphism of beta2-Adrenergic receptor gene and pelvic floor muscle function in POP and/or SUI patients

研究代表者

宍戸 啓一（SHISHIDO KEIICHI）

福島県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：30285035

研究成果の概要（和文）：本研究はアドレナリンβ2受容体遺伝子多型と女性骨盤底機能障害関連を解析する事を目的に施行された。女性骨盤底機能障害の代表的疾患である腹圧性尿失禁と骨盤内臓器脱の患者において我々が独自に開発した触覚アレイセンサーを用いて骨盤底筋収縮力や方向などを測定すると同時に、超音波により骨盤底筋、特に肛門挙筋群の運動を記録するシステムの開発に取り組んだ。現在臨床応用に向けて本システムの最終調整段階である。一方、アドレナリンβ2受容体遺伝子多型はTaqMan法によるReal Time PCRにて検出する方法を確立した。今後これらのシステムを女性骨盤底機能障害患者において臨床応用する予定である。

研究成果の概要（英文）：Patients with pelvic organ prolapse (POP) and/or stress urinary incontinence have lower pelvic floor muscle (PFM) function. We hypothesized that single nucleotide polymorphism of beta 2-Adrenergic receptor gene could be associated with pelvic floor muscle function. We have developed our original system which can record the intra-vaginal pressure by touch sensor array and PFM movement by evaluation using an intravaginal probe. We have also established the methods which can detect single nucleotide polymorphism of beta 2-Adrenergic receptor gene by TaqMan methods using real time PCR. Further studies with number of POP and/or SUI cases are required to confirm our hypothesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：β2受容体・女性骨盤底・遺伝子多型・骨盤底筋

1. 研究開始当初の背景

女性骨盤底機能障害の代表的疾患である腹圧性尿失禁 SUI と骨盤内臓器脱 POP は、女性の QOL を著しく損ねる疾患であり、特に 40 代以降の女性に好発する。したがって、人口の高齢化を迎えた昨今、わが国でも SUI と POP は女性 QOL 疾患の中で主要な位置を占めており、適切な診断と治療法の確立が求められている。これらの疾患の本態は、現在のところ、PF 組織の脆弱性あるいは機能不全であり、経腕分娩、肥満、加齢、性ホルモンの低下などさまざまな因子が関与していると考えられている。しかし、このような因子を有していても骨盤底機能の正常な者が少なからず存在し、一方で、これらの疾患は若年者や出産経験の無い者にもみられることから、遺伝的素因の関与も否定できない。

β 2-AR は、おもに骨格筋、心筋やリンパ球に発現している。特に骨格筋における β 2-AR は、筋組織の収縮、増殖、変性などに深く関わっているとされる。 β 2-AR の polymorphism を有する女性では、PF 組織を構成する主要な部位である骨盤底筋(PFM)においても骨格筋組織の形態的・機能的変化が生じ、SUI や POP の発症に関与している可能性が示唆される。

2. 研究の目的

本研究では、 β 2-adrenoceptor(β 2-AR)の多型が、腹圧性尿失禁(SUI)、骨盤内臓器脱(POP)患者において健常女性と比較しどの程度の頻度で起こっているのか分子生物学的手法を用いて検討するとともに、この3群間あるいは β 2-ARの多型の有無による骨盤底(PF)機能、特に骨盤底筋(PFM)収縮の差異を収縮力、タイミング、スピード、位置、方向を同時測定できる膣内触覚アレイセンサーおよび経会陰的超音波画像解析により検討する。

3. 研究の方法

①触覚アレイセンサーの基礎的研究：プレッシャー・プロファイル・システムズ社製フレキシブル型触覚アレイセンサーを使用して圧分布を測定する。圧を加える方向、強度、位置によりセンサーがどのように反応するのか検討する。

②超音波画像取り込み、解析システムの構築：通常外来診療で行っている PFM 収縮、Valsalva、咳をした時の経会陰

的正中矢状断 PF 超音波画像を動圃として PC に取り込み解析する。解析には操作の簡便性を向上させるため、DITECT 社製高精度運動解析ソフト DIPP-Motion Pro を用い、超音波画像上の膀胱頸部、ARA、恥骨結合の動きを自動追尾させるシステムを構築する。

③ β 2-AR の polymorphism 解析法の確立：PCR 用プライマー作成、制限酵素の選択を行い、予備実験で確認する。予備実験は研究者の末梢血を使用して行う。臨床試験から得られた末梢血標本から DNA を抽出し、PCR を行い β 2-AR の polymorphism (Arg16 → Gly16、Gln27 → Glu27、Thr164 → Ile164) を測定する。

4. 研究成果

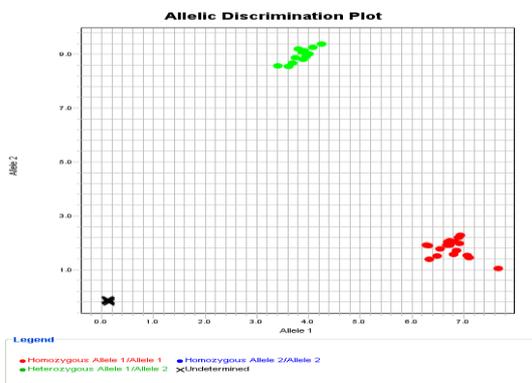
①腕内触覚アレイセンサーによる圧力測定、経会陰超音波画像測定を同時に行えるシステムを開発した。本システムは、(1) 圧カシートを用いた部分的な圧力を測定するための装置を備える。使用する圧カシートはアクティブエリアに加えられた力の増加に伴って、電氣的抵抗値が減少する特性があり、このため、ダイナミックな測定ができ、且つ安定的な結果が得られるのが特徴である。センサーは、秒間 10~10ms でサンプリング可能であり、1000 万回以上の繰り返し加圧が可能。力の感知範囲：1N ~ >100N、圧力感知範囲：0.1Kg/cm² ~ >10Kg/cm²、温度範囲：30℃ ~ +70℃。(2) また、圧力とともに測定したエコー画像を運動解析ソフトにより解析することができる。解析ソフトは DITECT 社製 DIPP・MotionPro を用い、エコーより取り込んだ画像 (BMP、JPG、TIFF、GIF、AVI 形式) 上の膀胱頸部、Ano-rectal angle の 2 点の動きを自動追尾し、恥骨結合の動きを利用して体動によるぶれの補正を行うことができる。

このシステムにより、腹圧上昇時や骨盤底収縮時の腕管全長に亘る圧力分布とその計時的変化、およびその周囲組織の位置関係と運動を同時に計測することが可能になった。

しかし臨床応用を試みたところ圧測定値の誤差が大きく、また測定される圧のレンジが大きいため、再現性に乏しいことが明らかとなった。したがってアレイセンサーの抜本的な改良が必要と考え、現在センサーの形態、感度、数、位置などを見直し調整中である。

②経会陰的超音波画像解析により骨盤底筋、特に肛門挙筋群の運動を解析している。超音波画像の取り込みは可能になったが、その解析において、肛門挙筋群の運動を代表する posterior ano-rectal angle 上のある定点の動きをトレースすることが困難で、現在測定法を変更して試行中である。また、使用する解析ソフトの変更、追加も検討している。

③ β 2-アドレナリン受容体の DNA におけるアミノ酸配列の Arg16→Gly16、Gln27→Glu27、Thr164→Ile164 の SNP を検討するために、各 polymorphism の発現している部位のプライマーを作成し、それぞれを使用して正しい部位を増幅できていることを制限酵素を使用して確認した。しかし、RFLP 法は手技が煩雑で、なおかつ安定した結果を得るのが容易ではなかったため、途中から TaqMan 法による RealTime PCR 法に変更した。プローベを作成し、研究室で日常的に用いられている癌細胞や血管内皮細胞などから抽出した DNA を用いて予備実験したところ、SNP が検出可能であることが示された。今後臨床検体に応用していく予定である。



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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[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

宍戸 啓一 (SHISHIDO KEIICHI)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：30285035

(2)研究分担者

石橋 啓 (ISHIBASHI KEI)
福島県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：90347211

(3)連携研究者

野宮 正範 (NOMIYA MASANORI)
福島県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：00398348

(4)連携研究者

高橋 則雄 (TAKAHASHI NORIO)
福島県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：50622312