

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592358

研究課題名(和文) 求心性神経伝達系を標的とする下部尿路機能障害の新規薬物療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel pharmacological treatment of lower urinary tract dysfunction by targeting bladder afferent transduction

研究代表者

井川 靖彦 (Igawa, Yasuhiko)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：40159588

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：膀胱蓄尿機能障害(過活動膀胱や過知覚膀胱)および排尿筋低活動による尿排出機能障害に対して特に求心性神経伝達系に關与する機構を標的とする新規治療法を探索するため、既存の治療薬である抗コリン薬、 α_1 阻害薬、 β_3 作動薬、PDE5薬の膀胱伸展受容求心性神経活動に対する作用機序を明らかにするとともに、病態モデル動物や間質性膀胱炎患者の膀胱粘膜標本を用いて、求心性神経伝達系に關与する受容体やTRPイオンチャネルの病態に伴う変化を解析した。その結果、TRPM2, A1, V4, T型 およびN型 Caチャンネル, FAAHなどが新規治療標的候補となりうることを示唆された。

研究成果の概要(英文)：To find out novel therapeutic targets for bladder storage dysfunction, such as overactive bladder and hypersensitive bladder, or voiding dysfunction due to detrusor underactivity, we evaluated the mechanisms of action of antimuscarinics, α_1 -adrenoceptor (AR) antagonists, β_3 -AR agonists and PDE-5 inhibitors to inhibit bladder mechanosensory afferent activities in the rat, and analyzed changes in receptors and ion channels in pathological animal models or bladder mucosa taken from patients with interstitial cystitis. The results suggest that TRPM2, A1, V4, N-type and t-type Ca^{2+} channels, and FAAH are promising novel targets for these bladder dysfunctions.

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：過活動膀胱 間質性膀胱炎 求心性神経伝達 TRPチャンネル 排尿筋低活動 ベータ3受容体 ムスカリン受容体

1. 研究開始当初の背景

過活動膀胱は、尿意切迫感、頻尿、切迫性尿失禁を主症状とする代表的な膀胱蓄尿機能障害で、極めて頻度が高く、加齢とともにその罹患率はさらに増加し、高齢化社会が進むわが国においてはこの病態の解明と治療法の確立は急務と考える。過活動膀胱に対して、今日まで抗ムスカリン薬による薬物療法が行われてきたが、口内乾燥、便秘、排尿困難、尿閉等の副作用があり、治療に反応しない難治性患者も約30%と少なくない。その一方で、加齢とともに膀胱排尿筋の収縮機能も低下し(排尿筋低活動と呼ぶ)、そのため尿排出障害が同時に起こることも少なくないが、排尿筋低活動に対する薬物療法で有効性が確認されているものは皆無である¹⁾。このような背景から、過活動膀胱ならびに排尿筋低活動に対して、より侵襲が少なく、効果的な治療法を開発することが強く望まれている。

最近の研究では、尿路上皮は膀胱の充満に伴う伸展刺激や酸などの化学的的刺激に対して、ATP、セチルコリンなどの伝達物質を遊離し、これらの伝達物質が、尿路上皮下に存在する求心性神経や間質細胞に作用することによって、膀胱尿路上皮・求心性神経伝達系を形成し、膀胱知覚伝達に重要な役割を演じていることが判ってきた²⁾。また、膀胱充満時の膀胱痛と主症状とする難治性蓄尿機能障害である間質性膀胱炎は、未だその病態生理が不明なところが多く、治療法も確立されていないが、過活動膀胱と同様に膀胱尿路上皮・求心性神経伝達系がその病因の首座を占め、治療の標的となりうる事が想定されている³⁾。

我々はこれまで、下部尿路機能障害、特に膀胱蓄尿機能障害に対してより侵襲が少なく、効果的な治療法を開発することを目的として、主に、1)膀胱知覚神経の解明とその臨床応用、ならびに2)膀胱求心性神経伝達系機構の解明とその応用に関する研究を行ってきた。その結果、ベータ3受容体作動薬が新たな過活動膀胱治療薬として有望であり、その薬効発現機序として膀胱求心性神経伝達系に対する直接作用も考えられること⁴⁾、ATPはP2X3受容体を介して膀胱求心性神経のうちカプサイシン非感受性C線維の活性化を介して排尿筋過活動を誘発しうること⁵⁾、潰瘍型間質性膀胱炎の膀胱粘膜ではCXCR3 binding chemokineとTNFSF14が過剰発現しており、これらをバイオマーカーとして利用できる可能性があること⁶⁾などを報告してきた。

文献

1. Andersson KE. Urol. 2010; 184:1829-30.
2. Fowler CJ, et al. Nat Rev Neurosci.

2008;9:453-66.

3. Andersson KE. Neurourol Urodyn. 2010;29:97-106.
4. Aizawa N, Igawa Y, et al. Neurourol Urodyn. 2010; 29:771-6.
5. Aizawa N, Igawa Y, et al. Neurourol Urodyn. 2011;30:163-8.
6. Ogawa T, et al. J Urol. 2010;183:1206-12.

2. 研究の目的

膀胱蓄尿機能障害(過活動膀胱・間質性膀胱炎)および排尿筋低活動による尿排出機能障害に対する新規薬物療法の開発を目指して、求心性神経伝達系を治療標的候補としてその可能性を探索した。具体的には、1)ラットを用いて、独自性の高い膀胱伸展受容求心性神経活動単離導出法、24時間精密排尿行動記録法、覚醒下膀胱内圧・排尿量同時測定法などの機能実験を用いて治療標的候補を探索するとともに、2)難治性膀胱蓄尿機能障害(過活動膀胱・間質性膀胱炎)患者の尿および膀胱生検標本を用いた分子生物学的検討・免疫組織化学的検討を通じて、治療標的を探索した。

3. 研究の方法

(1) Endocannabinoidの分解酵素である fatty acid amide hydrolase (FAAH) 阻害薬、L-arginine, PDE type5 阻害薬(tadalafil), beta3AR 作動薬(mirabegron)、TRPA1 阻害薬について、膀胱伸展刺激受容を担うA線維およびC線維の神経活動に与える直接効果を検証した。

(2) 5週齢の雄C57BL/6Jマウスに、20週間高脂肪食摂餌し、普通食を投与した対照群と比較することによって、その下部尿路機能を多角的に検討した。

(3) 2型糖尿病モデルラットであるGoto-Kakizaki(GK)ラットの下部尿路機能の変化を経時的に追跡した。

(4) 下部尿路閉塞モデルラットにおける膀胱機能障害におけるN-typeおよびT-type Ca²⁺ channelsの関与を膀胱内圧測定、膀胱排尿筋機能実験および定量的mRNA相対量実験を通じて検討した。

(5) 潰瘍型および非潰瘍型間質性膀胱炎(IC)患者の膀胱粘膜におけるTRP channelsの発現変化を膀胱癌患者の健常膀胱粘膜を対照として検討した。

(6) 潰瘍型 IC のバイオマーカーの候補として期待される CXCR3 binding chemokine (CXCL10) および TNFSF14 について、その尿中濃度を、潰瘍型 IC 患者群、非潰瘍型 IC 患者群、健常対照群で比較した

4. 研究成果

(1) FAAH 阻害薬は、CB1 および CB2 受容体を介して、膀胱伸展受容求心性神経のうち A δ 線維と C 線維の両者の神経活動を抑制しうることが示した。さらに、endocannabinoids は膀胱伸展受容求心性神経活動の生理的調節に関与していることが示唆された(論文)

(2) PDE-5 阻害薬である tadalafil は、ラット膀胱伸展刺激受容求心性神経活動を抑制し、さらに、acrolein によって誘発されるこれらの求心性神経活動の活性化をも抑制しうることが明らかにした(論文¹⁴)。

(3) 新規過活動膀胱治療薬の 3 アドレナリン受容体作動薬 Mirabegron は、ラット膀胱伸展刺激受容求心性神経のうち、特に A 線維の活動を抑制し、この抑制は、膀胱微小収縮の抑制と同期して起こることから、Mirabegron は、膀胱の微小収縮を抑制することにより、膀胱伸展刺激受容 A 線維の活動を抑制することが示唆された(論文¹³)。

(4) TRPA1 チャンネルはラット排尿反射の生理的な調節には直接関与しないが、膀胱伸展刺激受容一次求心性神経のうち、A 線維と C 線維の両者の活動を促進する作用があり、TRPA1 チャンネルが病的に活性化されると膀胱伸展刺激受容求心性機構が促進され、過活動膀胱や過知覚膀胱 (Hypersensitive bladder) を生じる要因となることが示唆された(論文)

(5) 高脂肪食摂餌マウスは、普通食を投与した対照群と比べて、体重増加・高血糖・高脂血症を誘発したが、下部尿路機能へ与える影響は軽微であった。メタボリックシンドロームの下部尿路機能への影響を評価するにはさらに長期間の検討が必要と考えられた(論文¹²)

(6) 2 型糖尿病モデルラットである GK ラットの下部尿路機能の変化を経時的に追跡した結果、10 週齢では機能的変化を認めなかったが、46 週齢では、膀胱求心性神経伝達速度の低下、膀胱容量の増大(膀胱知覚低下)、排尿時膀胱収縮圧の低下、膀胱排尿筋のカルバコールに

対する収縮反応の低下(排尿筋低活動)を認めた(論文¹⁰)

(7) 下部尿路閉塞モデルラットにおいては、では、T-type Ca²⁺ channels を阻害すると膀胱容量が増大し、N-type Ca²⁺ channels を阻害すると、非排尿性膀胱収縮を抑制しうることが示した。下部尿路閉塞モデルラットの膀胱においては、プリン作動性収縮が主に障害され、コリン作動性収縮は、おそらくは N-type Ca²⁺ channels の機能亢進によって、代償性にむしろ増強することが示唆された(論文⁵)

(8) 潰瘍型間質性膀胱炎患者の膀胱粘膜において、mRNA レベルで、TRP A1, TRPM2, TRPM8, TRPV1, TRPV2, ASIC1, NGF および CXCL9 の発現が増加していることを明らかにした(論文⁷)

(9) 尿中 CXCL10 は、潰瘍型 IC 群において、有意に増加しており、症状の重症度とも相関することが示された。他方、TNFSF14 は、IC 患者群(潰瘍型、非潰瘍型ともに)で有意に増加していたが、症状重症度とは相関を認めなかった。さらに、瘍型間質性膀胱炎患者を対象に、尿中 CXCL10 について、水圧拡張術やボツリヌス毒素注入療法の前後で測定し、臨床効果との相関の有無を検証したところ、尿中 CXCL10 濃度の変化と治療効果との間に有意な相関を見い出せなかった(学会発表²⁰)

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 22 件)

Aizawa N, Hedlund P, Fullhase C, Ito H, Homma Y, Igawa Y, Inhibition of Peripheral Fatty Acid Amide Hydrolase Depresses Activities of Bladder Mechanosensitive Nerve Fibers of the Rat, J Urol, 査読有, Vol. -, 2014, pp. -, doi: 10.1016/j.juro.2014.04.008

Aizawa N, Homma Y, Igawa Y, Effects of L-arginine, mirabegron, and oxybutynin on the primary bladder afferent nerve activities synchronized with reflexic, rhythmic bladder contractions in the rat, Neurourol Urodyn, 査読有, Vol. -, 2014, pp. -, doi: 10.1002/nau.22571

Minagawa T, Aizawa N, Igawa Y, Wyndaele JJ, The role of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) channel in activation of single unit mechanosensitive bladder afferent

activities in the rat, *Neurourol Urodyn*, 査読有、Vol.-、2014、pp.-、doi:10.1002/nau.22449

Aizawa N, Ogawa S, Sugiyama R, Homma Y, Igawa Y, Influence of urethane-anesthesia on the effect of resiniferatoxin treatment on bladder function in rats with spinal cord injury, *Neurourol Urodyn*, 査読有、Vol.-、2014、pp.-、doi: 10.1002/nau.22549

Igawa Y, Kumano S, Aizawa N, Saito Y, Ito H, Watanabe S, Takahashi N, Tajimi M, Nishimatsu H, Homma Y, Changes in the function and expression of T-type and N-type calcium channels in the rat bladder after bladder outlet obstruction, *Journal of Urology*, 査読有、Vol.191(4)、2014、pp.1159-1167、doi:10.1016/j.juro.2013.10.027

Igawa Y, Michel MC, Pharmacological profile of (3)-adrenoceptor agonists in clinical development for the treatment of overactive bladder syndrome, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 査読有、Vol.386(3)、2013、pp.177-183、doi: 10.1007/s00210-012-0824-1

Homma Y, Nomiya A, Tagaya M, Oyama T, Takagaki K, Nishimatsu H, Igawa Y, Increased mRNA expression of genes involved in pronociceptive inflammatory reactions in bladder tissue of interstitial cystitis, *J Urol*, 査読有、Vol.190(5)、2013、pp.1925-1931、doi:pii: S0022-5347(13)04414-5. 10.1016/j.juro.2013.05.049

Nomiya A, Naruse T, Niimi A, Nishimatsu H, Kume H, Igawa Y, Homma Y, On- and post-treatment symptom relief by repeated instillations of heparin and alkalized lidocaine in interstitial cystitis, *Int J Urol*, 査読有、Vol.20(11)、2013、pp.1118-1122、doi: 10.1111/iju.12120

Minagawa T, Wyndaele M, Aizawa N, Igawa Y, Wyndaele JJ, Mechanisms of Pelvic Organ Cross-Talk: 2. Impact of Colorectal Distension on Afferent Nerve Activity of the Rat Urinary Bladder, *J Urol*, 査読有、Vol.190(3)、2013、pp.1123-1130、doi: 10.1016/j.juro.2013.03.079

Aizawa N, Homma Y, Igawa Y, Characteristics of lower urinary tract dysfunction and bladder afferent nerve properties in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats, *J Urol*, 査読有、Vol.189(4)、2013、pp.1580-1587、doi: 10.1016/j.juro.2012.10.060

Igawa Y, Michel MC, Pharmacological profile of (3)-adrenoceptor agonists in clinical development for the treatment of overactive bladder syndrome, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 査読有、Vol.386(3)、2013、pp.177-183、doi: 10.1007/s00210-012-0824-1

Aizawa N, Homma Y, Igawa Y, Influence of High Fat Diet Feeding for 20 Weeks on Lower Urinary Tract Function in Mice, *LUTS*, 査読有、Vol.5(2)、2013、pp.101-108、doi:10.1111/j.1757-5672.2012.00172.x

Aizawa N, Homma Y, Igawa Y, Effects of Mirabegron, a Novel 3-Adrenoceptor Agonist, on Primary Bladder Afferent Activity and Bladder Microcontractions in Rats Compared With the Effects of Oxybutynin, *Eur Urol*, 査読有、Vol.62(6)、2012、pp.1165-1173、doi:10.1016/j.eururo.2012.08.056

Minagawa T, Aizawa N, Igawa Y, Wyndaele JJ, Inhibitory effects of phosphodiesterase 5 inhibitor, tadalafil, on mechanosensitive bladder afferent nerve activities of the rat, and on acrolein-induced hyperactivity of these nerves, *BJU Int*, 査読有、Vol.110(6 PTB)、2012、pp.E259-266、doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11255.x

Igawa Y, Schneider T, Yamazaki Y, Tatemichi S, Homma Y, Nishizawa O, Michel MC, Functional investigation of -adrenoceptors in human isolated detrusor focusing on the novel selective 3-adrenoceptor agonist KUC-7322, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 査読有、Vol.385(8)、2012、pp.759-767、doi:10.1007/s00210-012-0763-x

Aizawa N, Iijima K, Rosenbaum JS, Downs TR, Igawa Y, Andersson KE, Wyndaele JJ, Comparison of the effects of oestrogen deficiency and old age on primary bladder afferent activity and voiding behavior in the ageing female rat, *British Journal of Urology International*, 査読有、Vol.108(2 Pt2)、2011、pp.E10-16、doi:10.1111/j.1464-410X.2010.09689.x

Takeda M, Homma Y, Araki I, Kakizaki H, Yamanishi T, Yokota T, Gotoh M, Igawa Y, 以下5名、 Predictive factors for the effect of the 1-D/A adrenoceptor antagonist naftopidil on

subjective and objective criteria in patients with neurogenic lower urinary tract dysfunction. British Journal of Urology International, 査読有、Vol.108(1)、2011、pp.100-107、doi:10.1111/j.1464-410X.2010.09682.

Michel MC, Ochodnický P, Homma Y, Igawa Y. α -adrenoceptor agonist effects in experimental models of bladder dysfunction. Pharmacology & Therapeutics, 査読有、Vol.131(1)、2011、pp.40-49、doi:10.1016/j.pharmthera.2011.03.014

〔学会発表〕(計 20件)

井川靖彦、過活動膀胱に対する薬物療法の近未来予測、第65回西日本泌尿器科学会総会、2013年11月1日、佐賀市
井川靖彦、治療標的としての膀胱求心路を科学する、第20回日本排尿機能学会ランチョンセミナー7、2013年9月20日、静岡市

Ito H, Aizawa N, Fujita Y, Kojima T, Ito M, Homma Y, Kubota Y, Igawa Y. Age-related changes in detrusor properties and gene expression in the bladder and dorsal root ganglion of the rat and preventative effect of low caloric diet against these changes. 43rd Annual Meeting of the ICS 2013、2013年8月28日、Barcelona, Spain
Aizawa N, Wakamatsu D, Matsuya H, Homma Y, Igawa Y. Inhibitory effect of retigabine, a Kv7 channel activator, on rhythmic bladder contractions and mechanosensitive primary bladder afferent activities in rats. 43rd Annual Meeting of the ICS 2013、2013年8月28日、Barcelona, Spain

Ito H, Aizawa N, Sugiyama R, Watanabe S, Takahashi N, Tajimi M, Homma Y, Kubota Y, Igawa Y. Effects of TRPM8 channels' inhibition on conscious cystometry and single-unit mechanosensitive bladder afferent activities in novel ex vivo model of the rat. 43rd Annual Meeting of the ICS 2013、2013年8月28日、Barcelona, Spain

Sugiyama R, Aizawa N, Homma Y, Igawa Y. Synergic suppressive effect of the combination therapy with silodosin and imidafenacin on non-voiding contractions in male rats with sub-acute bladder outlet obstruction. 43rd Annual Meeting of the ICS 2013、

2013年8月28日、Barcelona, Spain
Aizawa N, Homma Y, Igawa Y. Effect of silodosin, a selective α 1A-adrenoceptor antagonist on primary bladder afferent activity and bladder microcontractions in rats. 43rd Annual Meeting of the ICS 2013、2013年8月28日、Barcelona, Spain
Igawa Y, Kumano S, Aizawa N, Ito H, Sugiyama R, Homma Y. Urothelium inhibits α -adrenoceptor-mediated relaxation in human detrusor smooth muscle via CAMP- and P2

purinoceptor-dependent mechanism. 43rd Annual Meeting of the ICS 2013、2013年8月28日、Barcelona, Spain
Igawa Y. Treatment targets for hypersensitive bladder disorders (overactive bladder and bladder pain syndromes). Neuroscience seminar. University of Bristol、2013年6月11日、Bristol, UK

Igawa Y. Pharmacology of the bladder beta3-adrenoceptors. Young Urology Meeting、2013年6月5日、Bristol, UK
Igawa Y. How to study bladder afferent effect. TRUST Workshop、2013年5月22日、Leiden, UK

Igawa Y. Similarities and Differences between OAB and BPS/IC. Joint Meeting of The 3rd International Consultation on Interstitial Cystitis Japan (ICICJ) and The ESSIC Annual Meeting 2013、2013年3月21日、京都

Aizawa N, Homma Y, Igawa Y. Effects of silodosin, a selective

1A-adrenoceptor antagonist, on the single primary bladder afferent activity of the rat. 28th Annual European Association of Urology (EAU) Congress、2013年3月16日、Milano, Italy

Igawa Y. Pharmacological and surgical treatments of neurogenic lower urinary tract dysfunction in patients with spinal cord injuries. Workshop 17: Spinal Cord Injuries and Neurogenic Bladder. A Continence Promotion Committee Initiative (Invited lecture). The 42th Annual Meeting of the International Continence Society、2012年10月15日、Beijing, China

Igawa Y. Beta3 Agonist: A Glimpse of the Future. Parallel Plenary 05: The Overactive Bladder. (Invited lecture)、

The 32nd Congress of the Société Internationale d'Urologie (SIU)、
2012年10月1日、福岡
井川靖彦、「過活動膀胱の薬物療法現状と将来」 「AR作動薬ミラベクロンの臨床」、第14回応用薬理シンポジウム、
2012年9月3日、甲府市
井川靖彦、過活動膀胱の新規治療標的を求めて：膀胱求心性神経伝達機構に関する最新知見、第19回日本排尿機能学会、
2012年8月30日、名古屋市
井川靖彦、JUAアップデート：下部尿路機能障害に対する薬物治療、第100回日本泌尿器科学会総会、2012年4月22日、横浜市
Igawa Y, Nomiya A, Homma T, Aizawa N, Nishimatsu H, Akahane S, Homma Y, Elevated urinary CXCL10 correlates with symptom severity in patients with ulcer type interstitial cystitis. (Poster) The 27th Annual European Association of Urology (EAU) Congress、2012年2月24日、Paris, France
Igawa Y、Bladder afferent activity: the treatment target for overactive bladder and bladder hypersensitivity syndrome、International Urology Conference 2011 (Invited lecture)、2011年8月31日、Glasgow, UK

〔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

東京大学大学院医学系研究科・コンチネンス
医学講座
<http://cont-med.umin.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井川 靖彦 (IGAWA, Yasuhiko)
東京大学・医学部附属病院・特任教授
研究者番号：40159588

(2) 研究分担者

相澤 直樹 (AIZAWA, Naoki)
東京大学・医学部附属病院・特任助教
研究者番号：80595257

本間 之夫 (HONMA, Yukio)
東京大学・医学部附属病院・教授
研究者番号：40165626

(3) 連携研究者

()

研究者番号：