

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592362

研究課題名(和文) 間質性膀胱炎の疼痛に対するボツリヌス毒素、トリカブト毒の作用機序

研究課題名(英文) The mechanism of action of aconite and botulinum toxin for interstitial cystitis pain

研究代表者

土田 孝之 (TSUCHIDA, Takayuki)

山梨大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30217327

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：間質性膀胱炎に対して、ブシ末(トリカブト)中心とした漢方を処方した。3年間継続治療をして、副作用なく効果は持続している。低侵襲性で患者への貢献度は高い。また、ボツリヌス毒素の膀胱筋層内注入療法は10回以上繰り返しても、副作用、効果の減弱は認めない。また膀胱上皮細胞の伸展刺激におけるATP放出の分子メカニズムを、細胞内小胞へのATPの蓄積ならびに開口放出の視点から捉え、ボツリヌス毒素はこのATP放出を抑制する。膀胱痛症候群(PBS)の動物モデルにおいて、脊髄神経膠星状細胞(アストロサイト)の顕著な活性化が示された。マウスの実験でアストロサイトの活性化を漢方のブシによって抑制することが可能。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to test whether the analgesic properties of Kampo medicine may provide long-term pain relief and satisfaction with a single hydrodistention for these patients. The 3-year efficacy of the treatment was evaluated using the visual analogue scale questionnaire, the real-time visual analogue scale, and the quality of life questionnaire. The present study demonstrates that Kampo medicine is a safe and effective analgesic for interstitial cystitis patients and results in a significant improvement in their quality of life.

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：間質性膀胱炎 漢方治療 ボツリヌストキシン 附子(トリカブト)

1. 研究開始当初の背景

間質性膀胱炎に対する治療法は膀胱水圧拡張法が 2010 年に健康保険適用となっているが、重症例の疼痛に対しては有効な治療法はない。2008 年に当施設では倫理委員会での承認を得て、間質性膀胱炎患者に対する漢方薬「ブシ」(トリカブト)による治療を開始し、膀胱痛に対して劇的な効果を得た。この結果は、2009 年の米国泌尿器科学会総会(AUA)で採択されて、大きな注目を受けた。これは我々のオリジナルな治療方法であるが、これまでの臨床結果からは将来の発展性が期待されている。また、欧米では、ボツリヌス毒素(BTX-A)治療が、臨床研究として行われている。我々の施設では、倫理委員会での承認を得て、2008 年以來 間質性膀胱炎患者に対するボツリヌス毒素の膀胱成分壁内注入療法を行っており、わが国では最も多くの臨床データを有している(2010 年日本排尿機能学会シンポジウム「ボツリヌス毒素治療の現況」)。しかしながら、この 2 種類の異なった治療法の作用機序は、解明されていない。ブシは古来から鎮痛作用を有することが実証されおり、華岡青洲も麻酔薬として利用していたことは有名である。トリカブト(ブシ)はアルカロイド系のアコニチンを成分としている。鎮痛効果に関しては最近研究が進行しつつあるが、膀胱痛に関する報告はない。アコニチンは左の化学構造を有するジテルペン系アルカロイドであり、テトロドトキシン(ふぐ毒)Na 感受性 Na チャネル(TTXsNa チャネル)の不活性化を抑制する。Na⁺チャネルのひとつである電位依存性 Na⁺チャネル(VDSC: voltage-dependent sodium channel)は、テトロドトキシン(ふぐ毒)感受性によって TTX-sensitive (TTX-s)、TTX 抵抗性 TTX-resistant (TTX-r) に大別される。侵害受容器は、TTXs と TTXr の両方を持ち、これらは痛みに関わっていると考えられる。BTX-A は、求心性神経における神経伝達物質の開口放出に対しても阻害作用を示すはずである(Eur Urol 49:704, 2006, J Urol 177:42, 2007)。排尿筋内 BTX-A 注射で自覚的に改善した過活動膀胱患者において、膀胱粘膜下の求心性神経数が有意に減少した。

2. 研究の目的

間質性膀胱炎患者の疼痛に対する新しい治療法の可能性として、漢方薬「ブシ」(トリカブト)の内服療法とボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法が期待されている。

ブシ内服療法とボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法の間質性膀胱炎患者の疼痛に対する作用機序を基礎的、臨床的に解明し、新たな治療法の開発の糸口とすることを目的とした。

3. 研究の方法

多方面からの検討状況

・基礎的研究:

対象:

- (1) ヒト膀胱粘膜、筋層(正常コントロール、間質性膀胱炎患者)
- (2) ラット・マウス膀胱粘膜、筋層および後根神経節(正常コントロール、間質性膀胱炎モデル)Viable な組織および初代培養細胞系を用いる。

方法: In vitro

- (1) 定量的 RT-PCR による各種 Na チャネル・サブユニット mRNA の発現
- (2) Western blotting による各種 Na チャネル・サブユニット蛋白質の発現
- (3) 免疫組織化学による各種 Na チャネル・サブユニット蛋白質の発現
- (4) 電気生理学的手法; アコニチン、BTX-A による各種 Na チャネル非活性化の有無
- (5) 遊離組織または細胞から放出される伝達物質(ATP、アセチルコリン、プロスタグランジン)を HPLC などで測定する。

アコニチン、BTX-A による刺激による効果の検討。

siRNA を用いたノックダウンによる効果の検討。

In vivo ラットマウス

- (1) 膀胱内圧測定
- (2) 代謝ケージによる排尿回数、排尿量の測定による行動評価
- (3) テレメトリーによる排尿行動の解析
- (4) 野生型動物、遺伝子組み換え動物、in vivo での siRNA 導入動物での検討。

・臨床的研究：

(1) ニューロメーターを用いた研究とその

意義；実験動物における疼痛閾値は、これまで機械的、化学的刺激法による侵害性行動の評価が用いられてきた。機械刺激は有髄線維 A 線維を、熱性刺激は無髄 C 線維を感作すると概括されているが、各繊維間の混合刺激となるのが常である。ニューロメーターは 3 種類の異なる周波数の電流の経皮的電気刺激により、無髄 C 線維応答（冷刺激に対応）、有髄 A 線維応答（針先の刺激に対応）、有髄 A 線維応答（触刺激に対応）をそれぞれに評価することが可能であり、それによって臨床的に知覚繊維の刺激状態を正確に診断できる（日薬理誌：131.367-371.2008）。

(2) トリカプト毒アコニチンは TTXNa 感受性チャンネルの不活性化を抑制するとされているが、臨床的にはブシ、BTX-A のそれぞれでどのような神経が選択的に遮断されているのかを、ニューロメーターを用いて調査する。我々はニューロメーターを現有しており、我々のオリジナルである漢方（ブシ：アコニチン）ならびにボツリヌス毒素の薬理学的特性が検討できる。人においても測定可能であり、また、実験動物に対しても刺激電極を工夫し、測定可能である。

4. 研究成果

(1) 膀胱（尿路）上皮は尿中侵害性物質などの膀胱壁内への侵入を阻止する防御機構としての働き以外に、伸展刺激や侵害刺激を感知して求心性伝達を担う役割を果たしていると考えられる。膀胱上皮細胞の伸展刺激における ATP 放出の分子メカニズムを、細胞内小胞への ATP の蓄積ならびに開口放出の視点から捉えた研究成果を発表する。ボツリヌス毒素はこの ATP 放出を抑制する。2011.7 Workshop on LUTS Supplemental issue 発表。2011.9 International continence society (国際尿禁制学会) 発表。2011.9 日本排尿機能学会にて、泌尿器科領域でのボツリヌス毒素の使用アンケート調査結果について発表した。5 年前から漢方のブシ末を中心にした治療を開始して、疼痛のコントロール（痛みが長く続かないという特徴がある。）が長期に得られ、

また慢性骨盤痛症候群にも処方することで患者の QOL はかなり改善している。この長期成績について 2012.4 第 100 回日本泌尿器科学会総会にて発表。また 2011 年当大学薬理学教室より、ブシ末の神経障害性疼痛に対する薬理学的研究の成果 (The astrocyte-targeted therapy by Bushi for the neuropathic pain in mice) が発表された。漢方の薬理学的効果はなかなか立証できないが、今回臨床的效果を実証する研究成果が発表された。2012.8 第 19 回日本排尿機能学会にて、間質性膀胱炎患者への附子末と新薬であるミラベグロン併用による頻尿の改善について発表。2013.4 第 101 回日本泌尿器科学会総会にて臨床成果発表。膀胱上皮細胞の伸展刺激における ATP 放出の分子メカニズムを、細胞内小胞への ATP の蓄積ならびに開口放出の視点から捉えた研究成果を発表しただけでなく、臨床の長期成績の発表も可能となった。膀胱粘膜組織も各疾患において相当数収集したことにより、今後実験の材料も豊富となったため。各疾患の膀胱粘膜組織を多く収集しており、今後の研究材料が豊富にある。・基礎的研究：対象：1) ヒト膀胱粘膜、筋層（正常コントロール、間質性膀胱炎患者）2) ラット・マウス膀胱粘膜、筋層および後根神経節（正常コントロール、間質性膀胱炎モデル）Viable な組織および初代培養細胞系を用いる。研究協力者に当大学薬理学教室で研究していた研究者を共同研究者として招き、基礎的研究をさらに推進していく。

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)

〔学会発表〕(計 4 件)

- (1) 東 慧、土田孝之、大竹裕子、井上千尋、吉良 聡、山岸 敬、宮本達也、羽根田破、神家満学、小林英樹、武田正之
間質性膀胱炎の頻尿と膀胱痛の長期改善、安定化に対する OAB 治療薬 mirabegron と漢方の併用療法
第 20 回日本排尿機能学会

2013/9

静岡市

- (2) 小林英樹、羽根田破、大竹裕子、工藤祥司、土田孝之、芳山充晴、荒木勇雄

Efficacy of the beta3-adrenoceptor agonist mirabegron in patients with stress urinary incontinence. The 43th Annual Meeting of International Continence Society 2013/8
Barcelona

- (3) 土田孝之、井上千尋、大竹裕子、羽根田破、小林英樹、宮本達也、武田正之

Beta3-adenoceptor agonist, Mirabegron: A Novel Medical Therapy for Lower Urinary Tract Systems in Patients with Interstitial Cystitis. The 43th Annual Meeting of International Continence Society 2013/8
Barcelona

- (4) 大竹裕子、土田孝之、羽根田破、小林英樹、井上千尋、宮本達也、吉良聡、武田正之

間質性膀胱炎症例の膀胱充満時痛・頻尿に対するミラベグロンの有用性の検討
第101回日本泌尿器科学会総会
2013/4
札幌市

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土田 孝之 (TSUCHIDA, Takayuki)
山梨大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：30217327

(2) 研究分担者

武田 正之 (TAKEDA, Masayuki)
山梨大学・医学工学総合研究部・教授
研究者番号：80197318

宮本 達也 (MIYAMOTO, Tatsuya)
山梨大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：80456459

小林 英樹 (KOBAYASHI, Hideki)
山梨大学・医学工学総合研究部・助教
研究者番号：50402053

中込 宙史 (NAKAGOMI, Hiroshi)
山梨大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80418714

芳山 充晴 (YOSHIYAMA, Mitsuharu)
山梨大学・医学工学総合研究部・教授
研究者番号：20422694
(平成25年度削除)