

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592373

研究課題名(和文) 過活動膀胱の発生と前立腺におけるニューロモデュレーションシステムの解析

研究課題名(英文) The effect of afferent activation from prostate on rat bladder overactivity

研究代表者

相川 健 (Aikawa, Ken)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80295419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：男性において突然のこらえられない強い尿意、頻尿など過活動膀胱を引き起こす原因として前立腺からの求心性刺激の関与が示唆された。前立腺の神経刺激によるノルアドレナリン放出量は生理活性物質アンジオテンシンII投与により増加した。また前立腺からの求心性刺激は脊髄(L6)のc-fos発現からアンジオテンシンII投与により増加した。さらに連続的膀胱内圧測定からアンジオテンシンII投与により膀胱収縮間隔は短縮し機能的にも蓄尿機能障害を認めた。アンジオテンシンIIタイプ1受容体遮断薬は前立腺からの求心性刺激を抑制し過活動膀胱の治療薬となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The present study tried to determine whether the increased afferent activation from prostate is the pathophysiology of overactive bladder in males. Angiotensin II increased the discharge of noradrenaline from prostate. In addition, angiotensin II increased the afferent activity of prostate as indicated by c-fos expression in L6. Furthermore, continuous cystometry demonstrated that angiotensin II shortened bladder contraction intervals. Taken together, this study suggests that the afferent activity of prostate involves overactive bladder and angiotensin II type 1 receptor antagonists may be therapeutic medicine.

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：前立腺 過活動膀胱 求心性刺激 c-fos アンジオテンシンII

1. 研究開始当初の背景

我々は閉塞膀胱ラットモデルで 1_{α} 遮断薬が下部尿路からの求心性刺激を抑制し膀胱内圧測定や排尿動態記録上、膀胱過活動や頻尿を改善させることを明らかにした。しかし臨床上 QOL を損なう前立腺肥大に伴う過活動膀胱 (OAB/BPH) の治療が、 1_{α} 遮断薬あるいは抗コリン薬併用で十分とは言えず泌尿器科専門医に新たな治療法の研究、開発が要求されている。そこで前立腺へ局所麻酔薬を注射することで恐らく前立腺からの求心性神経刺激を抑制し、膀胱過活動を消失させたという過去の臨床研究に注目し本研究を計画した。

(1) 前立腺にはヒトにもラットにもレニンアンジオテンシン系 (RAS) の存在が報告されており、ヒトでは前立腺肥大 (BPH) で正常前立腺よりも RAS の活性化が示唆されている。またラットではアンジオテンシン II (AII) は前立腺の交感神経終末からのノルアドレナリン (NA) 放出量を増加させることが報告されており、これまでは前立腺の収縮張力増強と増殖に関与するという考えから閉塞に寄与すると考えられていた。前述の我々の検討で 1_{α} 遮断薬が求心性刺激を抑制して膀胱蓄尿機能を改善させたことから、NA の増加が前立腺平滑筋の緊張を高め、求心性神経 (A 線維) の活性化により膀胱過活動も起こりうるのではないかと考えた。また AII は NADPH オキシダーゼを介した酸化ストレスの増大やサイトカインの誘導をもたらす炎症を引き起こすことが知られている。前立腺でも同様なことが起これば、これらはノルアドレナリンの増加とは別に求心性神経 (c 線維) を活性化し膀胱過活動をもたらすと考えた。

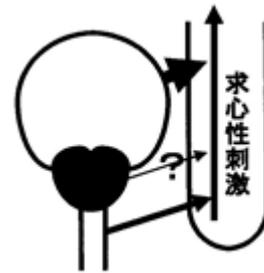
(2) 現在過活動膀胱 (OAB) の研究は膀胱を中心に様々な検討がされているが、前立腺からの求心性刺激による OAB 発生に関しては何もされていない。OAB は男女共に認められる症状であり共通の発生因子があると考えられる一方、臨床上 1_{α} 遮断薬が効く OAB は前立腺のある男性である。また前立腺による尿道閉塞のない多くの BPH 患者も OAB を訴えており、その点では今回使用するラットの前立腺は尿道を閉塞するような解剖学的位置にはないので閉塞の要因をとり除いた結果を導き出せる。

(3) AII による NA の放出量増加は、求心性刺激を増加させ膀胱過活動を引き起こすのではないかと考えている。これは臨床で認める 1_{α} 遮断薬の OAB/BPH に対する効果のメカニズムの一つで、より効果を強めるには 1_{α} 遮断薬の増量も良いが副作用が問題となるため AII タイプ 1 受容体遮断薬 (ARB) との併用が可能性として考えられる。また AII による酸化ストレス、炎症の増加は、求心性の刺激を増加させ膀胱過活動を引き起こすことも考えられる。ARB や NADPH オキシダーゼ阻害薬など新しい治療薬の候補が見つかる

可能性がある。前立腺の求心性刺激増加が OAB の重要な機序であるという本研究結果が明らかとなれば OAB の治療としてボツリヌストキシンの前立腺への投与も有用と考えられる。

2. 研究の目的

OAB/BPH は 1_{α} 遮断薬と抗コリン薬併用でも治療効果が十分とは言えず、その発生機序を解明することで治療のブレイクスルーとなるかもしれない。下図に示したように OAB/BPH 発生機序は、閉塞に伴う膀胱や一部尿道の求心性刺激の関与が研究されてきたが、前立腺については直接的な蓄尿障害に関しての研究はほとんどされておらずブラックボックスとなっている。



1982 年に局所麻酔薬リドカインを直接前立腺に注射したところ 5 分後から膀胱過活動が消失したという臨床研究もあり、前立腺による閉塞と無関係に前立腺からの求心性刺激が OAB 発生を引き起こしている可能性が推測される。本研究では BPH で関与の増強が報告されている前立腺局所 RAS による前立腺求心性知覚神経への影響と膀胱蓄尿機能障害を明らかにしたい。これらを明らかにすることで将来 OAB/BPH に対する新しい治療法を確立することが最終目標である。

3. 研究の方法

本研究ではラットを用い、まず摘出前立腺での organ bath による検討で経壁電気刺激時の NA 放出量が AII により増加するか、過去の報告と別な手法で明らかにする。さらに in vivo の検討でラット前立腺局所に AII を投与し麻酔下の連続膀胱内圧測定で膀胱過活動を引き起こすか、求心性刺激の増加がみられるか検討する。前立腺肥大症で活性化が報告されている前立腺局所 RAS に注目し、ラットを用い前立腺局所に AII を作用させ前立腺求心性神経刺激増加による過活動膀胱を明らかにする。

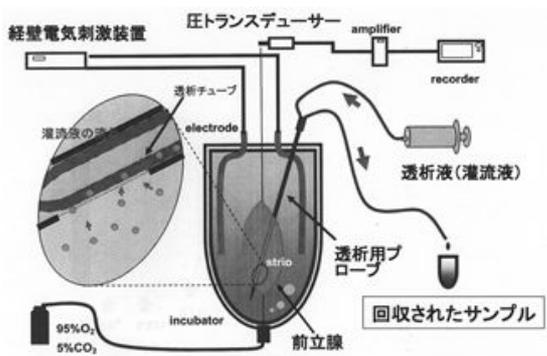
(1) 使用動物

12 週齢オス SD ラット。

(2) マイクロダイアリシス法と高速液体クロマトグラフィー法による摘出前立腺組織内ノルアドレナリン (NA) 量測定

摘出した前立腺を organ bath に懸垂し 1g の静止張力下に 5Hz の経壁電気刺激を 2 分間隔で 5 回与え、その間に回収したサンプル中のノルアドレナリンを高速液体クロマトグラ

フィーで定量する(下図)。AIIによるNA放出量の増加を検討するため過去の文献より 10^{-10}M 、 10^{-9}M のAIIを刺激20分前にorgan bath内に投与して上記と同様に測定し比較する。さらにAIIとARBロサルタン 10^{-7}M 同時投与での反応も比較する。



(3) 麻酔下膀胱内圧測定による膀胱過活動の評価

ウレタン麻酔下に膀胱頂部からポリエチレンチューブ(PE50)を挿入し、生食5ml/hrを注入しながら膀胱内圧測定をおこなう。 10^{-9}M AIIか生食を前立腺被膜下に30G針を使い注入する。120分経過後膀胱内圧測定を繰り返す。投与前後のパラメーターを比較する。

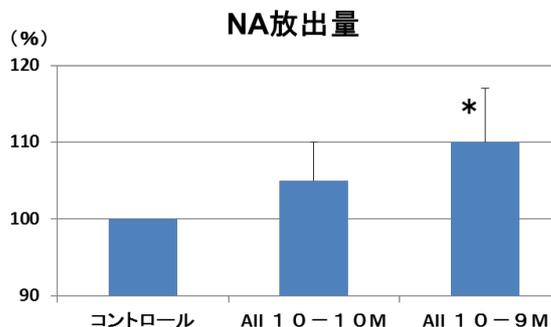
(4) 脊髄c-fos測定による求心性刺激の評価

求心性刺激の評価にはラット前立腺からの求心性刺激が脊髄のどのレベルに入力するか、FastBlue投与による逆行性神経トレーサーで確認後、脊髄でのc-fos発現を免疫組織染色で解析する。ウレタン麻酔下にAIIか生食を前立腺に注入し、120分経過したところで脊髄を摘出してc-fosを免疫組織染色する。

4. 研究成果

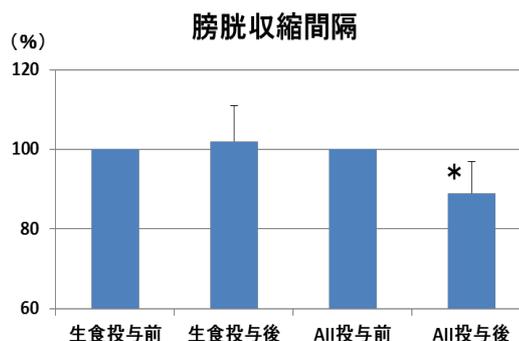
(1) 摘出前立腺組織内NA放出量に対するAIIの影響

organ bath内の前立腺組織に経壁神経電気刺激を与えるとNAが放出された。放出量はコントロールを100%とするとAII 10^{-10}M 、 10^{-9}M 曝露下で濃度依存性に増加した。 10^{-9}M ではコントロールに比べ統計学的に有意な増加であった(下図)。さらにARBロサルタンを同時に投与するとAIIによるNA放出量の増加はほぼ抑制され、これらの反応にはAIIタイプ1受容体が関与することが示唆された。



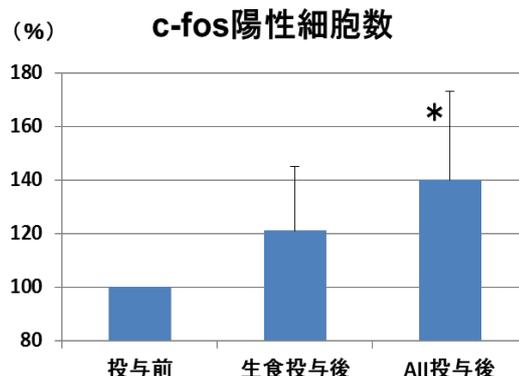
(2) 膀胱過活動に対するAIIの影響

AII前立腺投与による連続膀胱内圧測定結果の変化は最大膀胱収縮圧に関しては投与前 $46 \pm 7\text{cmH}_2\text{O}$ 、投与後 $42 \pm 5\text{cmH}_2\text{O}$ と有意な違いは認めなかった(平均 \pm 標準偏差)。一方、膀胱収縮間隔は下図のごとく生理食塩水、AIIそれぞれ投与前の間隔を100%として示すと生理食塩水投与は有意な変化を認めなかったが、AII投与は有意に収縮間隔が短縮した。AII前立腺投与は膀胱過活動を引き起こすことが示唆された。



(3) 前立腺からの求心性刺激に対するAIIの影響

まず前立腺からの求心性刺激が脊髄のどのレベルに入力されるかFast Blueを腹側前立腺に注入し主にL6の後根神経節に入力されることを確認した。前立腺に生理食塩水、AII投与前のラットの脊髄L6のc-fos陽性細胞数を顕微鏡下にカウントした。下図のごとく投与前のカウント数を100%として生理食塩水投与後は陽性細胞数が増加したが有意な増加ではなかった。一方、AII投与後はc-fos陽性細胞の有意な増加が認められた。AII前立腺投与は求心性刺激を増加させることが示唆された。



本研究結果より前立腺からの求心性刺激の増加は膀胱過活動を引き起こすことが示された。これは過活動膀胱の治療ターゲットとして膀胱から再び前立腺に目を向けることの重要性を示している。

さらに前立腺からのNA放出量増加も含め求心性刺激の増加や膀胱過活動を引き起こす生理活性物質として実際にヒト前立腺にも存在するAIIが示されたことはARBが過活動膀胱の新規治療薬として有用であることを

示唆する。

5 . 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 2 件)

Nomiya M, Aikawa K et al: Progression of vascular damage and bladder dysfunction in rats. The 43rd annual meeting of international continence society. 30th August 2013. Barcelona

Hata J, Aikawa K et al: Gene expression profiling and functional network analysis of benign prostatic hyperplasia model rat. The 43rd annual meeting of international continence society. 29th August 2013. Barcelona

6 . 研究組織

(1)研究代表者

相川 健 (AIKAWA, Ken)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：8 0 2 9 5 4 1 9