

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861258

研究課題名(和文) 蓄尿機能障害ラットモデルにおける求心性神経活動と膀胱微小収縮の病態機能解析

研究課題名(英文) Pathophysiological investigation for characteristics of the mechanosensitive bladder afferent activities in relation with microcontractions in rats with storage dysfunction

研究代表者

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ラット膀胱における伸展受容一次求心性神経活動測定を用いて、薬理的検討を行った結果、膀胱のアドレナリン 1Aおよび1D受容体はA線維の活動性を促進的に調節すること、内因性カンナビノイドは膀胱内PGE2刺激により亢進するC線維の活動性を抑制することが示された。膀胱出口部部分閉塞(BOO)における求心性神経活動変化を検討した結果、BOO群でA線維の活動性が減弱し、BOOによる有髄神経の除神経作用が考えられた。加えて、BOO群では高頻度に膀胱の筋原性微小収縮が観察され、この微小収縮の収縮前半期に同期して、AおよびC線維の両者の活動性が増大していることが示された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effect of several drugs on single-unit afferent activities (SAAs) of the bladder mechanosensitive primary afferent nerve fibers in rats. The study demonstrated that both 1A- and 1D adrenoceptors in the rat bladder are involved in the activation of the bladder A-fibers during bladder filling. In addition, we demonstrated that enhanced peripheral endocannabinoids reduces C-fiber hyperactivity in the rat bladder provoked by PGE2. We also evaluated the characteristics of mechanosensitive SAAs in the bladder in a male rat model of bladder outlet obstruction (BOO), and their relationship with microcontractions. The results indicate that the SAAs of A-fibers were attenuated, but the SAAs of both A- and C-fibers were intermittently enhanced by propagation of microcontractions during bladder filling in male rats with BOO. These findings support the view that microcontractions contribute to the development of urgency and/or detrusor overactivity associated with BOO.

研究分野：排尿生理・薬理学

キーワード：求心性神経 膀胱 下部尿路閉塞 ラット 内因性カンナビノイド 膀胱微小収縮

1. 研究開始当初の背景

過活動膀胱および間質性膀胱炎に代表される膀胱蓄尿機能障害の病態生理において、近年、膀胱知覚伝達を担っている求心性神経系の機能異常が注目されているが、膀胱の一次求心性神経活動を直接測定して検討した報告は少ない。我々の講座では、*in vivo*の健常あるいは急性炎症モデルラットを用いて、膀胱の伸展受容伝達に直接関与するA δ およびC線維の一次求心性神経活動の機能解析を行ってきた。

2. 研究の目的

既に確立したこの*in vivo*実験系を用いて更なる薬理的検討を行い、加えて本実験系を慢性蓄尿機能障害病態モデルラットに適用し、慢性蓄尿機能障害における膀胱求心性神経伝達路の変化を、膀胱の微小収縮の変化との関連に注目して多角的に解析すると同時に、新規治療標的を探索した。

3. 研究の方法

雌ラットをウレタン麻酔したのち、膀胱伸展に反応する一次求心性神経をL6後根神経から単離導出し、静脈内および膀胱内注入された薬剤投与前後の神経活動の変化を記録・解析した。また、膀胱内にPGE2を注入したときに亢進される神経活動に対しても、同様な検討を試みた。

さらに、膀胱蓄尿機能障害モデルとして、雄性Wistarラットを用いて膀胱出口部分閉塞(BOO)を作成し、上記神経活動の変化を偽手術群と比較・検討し、加えて、膀胱微小収縮との関連性も検討した。

4. 研究成果

アドレナリン 1A(1A-AR)選択的拮抗薬シロドシンおよび、1D-AR拮抗薬BMY7378の静脈内および膀胱内投与の検討から、膀胱の1A-および1D-ARsはA線維の活動を促進的に調節することで、膀胱伸展知覚受容に関与することが示唆された。この作用は、3-AR刺激薬のミラベグロンで見られるような、膀胱の筋原性微小収縮と関連した求心性神経活動の調節機構とは異なる機序が関与している可能性が示唆された。ムスカリン性アセチルコリン受容体(mAChR)刺激薬であるoxotremorineの膀胱内注入による検討から、C線維には膀胱のmAChR刺激に感受性のあるものと無いものの二種類が存在し、抗コリン薬のimidafenacinおよび5-HMTは膀胱mAChRを介してC線維の活動を抑制することが示された。末梢限局的に作用する内因性カンナビノイド分解酵素阻害薬のURB937は、膀胱内PGE2注入により惹起されるC線維の活動を抑制し、化学刺激物質により求心性神経活動が亢進している状態に対しても、内因性カンナビノイドが抑制作用を有することが示された。

BOO作成4日後および10日後に求心性神経活動を測定した結果、偽手術群に比べBOO群でA δ 線維の活動性が減弱するが、C線維の活動性は変化しておらず、BOOによる有髄神経の除神経作用が考えられ、この変化は10日後において顕著であった。加えて、BOO群では高頻度に膀胱の筋原性微小収縮が観察され、この微小収縮の収縮前半期(立ち上がり)に同期して、A δ およびC線維の両者の活動性が増大していた。このことは、BOOにおける膀胱微小収縮が、膀胱伸展受容一次求心性神経の活動性亢進と密接に関連していることを示唆し、BOOにおける過活動膀胱症状発現の病態生理を理解する上で重要な知見となると考えられた。

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9件)

1. Ito H, Aizawa N, Sugiyama R, Watanabe S, Takahashi N, Tajimi M, Fukuhara H, Homma Y, Kubota Y, Andersson KE, Igawa Y. Functional role of the transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8) ion channel in the urinary bladder assessed by conscious cystometry and ex vivo measurements of single-unit mechanosensitive bladder afferent activities in the rat. *BJU Int.* 2016 Mar;117(3):484-94.
2. Aizawa N, Wakamatsu D, Kida J, Otsuki T, Saito Y, Matsuya H, Homma Y, Igawa Y. Inhibitory effects of retigabine, a Kv7 channel activator, on mechanosensitive primary bladder afferent activities and nociceptive behaviors in rats. *NeuroUrol Urodyn.* 2015 Nov 4. doi: 10.1002/nau.22920. [Epub ahead of print]
3. Aizawa N, Sugiyama R, Ichihara K, Fujimura T, Fukuhara H, Homma Y, Igawa Y. Functional roles of bladder α 1-adrenoceptors in the activation of single-unit primary bladder afferent activity in rats. *BJU Int.* 2015 Aug 31. doi: 10.1111/bju.13313. [Epub ahead of print]
4. Aizawa N, Gandaglia G, Hedlund P, Fujimura T, Fukuhara H, Montorsi F, Homma Y, Igawa Y. URB937, a peripherally-restricted inhibitor for fatty acid amide hydrolase, reduces prostaglandin E2-induced bladder overactivity and hyperactivity of bladder mechano-afferent nerve fibers in rats.

BJU Int. 2015 Jul 18. doi: 10.1111/bju.13223. [Epub ahead of print]

5. Ito H, Aizawa N, Fujita Y, Suzuki M, Fukuhara H, Homma Y, Kubota Y, Ito M, Andersson KE, Igawa Y. Long-term caloric restriction in rats may prevent age related impairment of in vitro bladder function. J Urol. 2015 Jun;193(6):2123-30.
6. Aizawa N, Ito H, Sugiyama R, Fujimura T, Fukuhara H, Kume H, Homma Y, Igawa Y. Effects of Sildenafil, a Phosphodiesterase Type 5 Inhibitor, on the Primary Single Afferent Activity of the Rat Bladder. LUTS: Lower Urinary Tract Symptoms 2015 doi: 10.1111/luts.12095 [Epub ahead of print]
7. Aizawa N, Ito H, Sugiyama R, Fujimura T, Suzuki M, Fukuhara H, Homma Y, Igawa Y. Selective inhibitory effect of imidafenacin and 5-hydroxymethyl tolterodine on capsaicin-sensitive C-fibers of the primary bladder mechanosensitive afferent nerves in the rat. J Urol. 2014 doi: 10.1016/j.juro.2014.09.005. [Epub ahead of print]
8. Aizawa N, Petter Hedlund, Claudius Fullhase, 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. 2014 doi: 10.1016/j.juro.2014.04.008 [Epub ahead of print]
9. 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. 2014 doi: 10.1002/nau.22571. [Epub ahead of print]

[学会発表](計15件)

国際学会(一般演題)

1. Aizawa N, Ito H, Sugiyama R, Kamei J, Akiyama Y, Ichihara K, Homma Y, Igawa Y. Inhibitory effects of intravesical administration of silodosin, a selective α 1A-adrenoceptor antagonist, on single-unit primary bladder afferent activities of the rat. 45th Annual Meeting of the International Continence Society (ICS). Oct 7, 2015. Montreal, Canada

2. Aizawa N, Ito H, Sugiyama R, Kamei J, Akiyama Y, Ichihara K, Homma Y, Igawa Y. Direct influence of systemic desensitization by resiniferatoxin on the activities of A δ - and C-fibers in the rat primary mechanosensitive afferents. 45th Annual Meeting of the International Continence Society (ICS). Oct 7, 2015. Montreal, Canada
3. Aizawa N, Ito H, Sugiyama R, Kamei J, Akiyama Y, Fujimura T, Suzuki M, Homma Y, Igawa Y. Direct evidence for contribution of muscarinic receptors to the facilitation of primary bladder mechanosensitive c-fiber afferents in the rat. 44th Annual Meeting of the International Continence Society (ICS). Oct 22, 2014. Rio de Janeiro, Brazil
4. Aizawa N, Ito H, Sugiyama R, Kamei J, Akiyama Y, Fujimura T, Suzuki M, Homma Y, Igawa Y. Physiological role of the bladder Alpha1D- adrenoceptor in the activation of single-unit primary bladder afferent activity in rats. 44th Annual Meeting of the International Continence Society (ICS). Oct 22, 2014. Rio de Janeiro, Brazil
5. Aizawa N, Hedlund P, Homma Y, Igawa Y. Inhibitory effect of URB937, a peripherally-restricted inhibitor of fatty acid amide hydrolase, on prostaglandin E2-induced hyperactivity of bladder mechanoafferent nerve fibers in rats. The Annual Meeting of American Urological Association (AUA). May 17, 2014. Orlando, USA
6. Aizawa N, Hedlund P, Homma Y, Igawa Y. URB937, a peripherally-restricted inhibitor of fatty acid amide hydrolase, reduces prostaglandin E2-induced hyperactivity of bladder mechanoafferent nerve fibers in rats. 29th Annual European Association of Urology(EAU) Congress. April 13, 2014. Stockholm, Sweden
7. Aizawa N, Homma Y, Igawa Y. Selective inhibitory effect of 5-hydroxymethyl tolterodine (5-HMT), an active metabolite of fesoterodine, on capsaicin-sensitive C-fibers among the primary bladder mechanosensitive afferent nerves in the rat. 29th Annual European Association of Urology(EAU) Congress. April 13, 2014. Stockholm,

Sweden

国内学会（特別企画）

8. 相澤直樹. 膀胱求心性神経の生理学的・薬理的機能解析(ワークショップ). 第22回排尿機能学会. 2015/9/9. 京王プラザホテル札幌(札幌市)
9. 相澤直樹、井川靖彦. OABの新規治療薬の開発(フロンティアシンポジウム). 第103回日本泌尿器科学会総会. 2015/4/19. 石川県立音楽堂(金沢市)

国内学会（一般演題）

10. 相澤直樹、亀井潤、伊藤悠城、堀田晴美、藤田泰典、伊藤雅史、小島俊男、本間之夫、井川靖彦. 網羅的遺伝子解析を用いた、マウス膀胱における遺伝子発現の加齢性変化と性差の検討. 第8回排尿障害モデル動物研究会. 2015/12/4. グランディエールブケトーカイ(静岡市)
11. 相澤直樹、伊藤悠城、杉山梨乃、亀井潤、秋山佳之、市原浩司、本間之夫、井川靖彦. ラット膀胱伸展受容一次求心性神経のAδおよびC線維の活動性に及ぼすresiniferatoxin脱感作の直接作用. 第22回排尿機能学会. 2015/9/11. 京王プラザホテル札幌(札幌市)
12. 相澤直樹、伊藤悠城、杉山梨乃、藤村哲也、福原浩、久米春喜、本間之夫、井川靖彦. ラット膀胱伸展受容一次求心性神経活動に及ぼす選択的1Aアドレナリン受容体拮抗薬シロドシンの膀胱内投与による効果. 第103回日本泌尿器科学会総会. 2015/4/19. 金沢都ホテル(金沢市)
13. 相澤直樹、伊藤悠城、杉山梨乃、亀井潤、秋山佳之、市原浩司、藤村哲也、鈴木基文、福原浩、久米春喜、本間之夫、井川靖彦. ラット膀胱伸展受容一次求心性神経のC線維の活動性に対する膀胱ムスカリン受容体の促進的寄与. 第21回排尿機能学会. 2014/09/18. 岡山コンベンションセンター(岡山市)
14. 相澤直樹、伊藤悠城、杉山梨乃、亀井潤、秋山佳之、市原浩司、藤村哲也、鈴木基文、福原浩、久米春喜、本間之夫、井川靖彦. ラット膀胱伸展受容求心性神経活動制御における膀胱アドレナリン1D受容体の生理的役割. 第21回排尿機能学会. 2014/09/18. 岡山コンベンションセンター(岡山市)
15. 相澤直樹、本間之夫、井川靖彦. 新規抗コリン薬 fesoterodine の活性代謝物

5-hydroxymethyl tolterodine は、ラット膀胱伸展受容求心性神経において、capsaicin感受性C線維を選択的に抑制する. 第102回日本泌尿器科学会総会. 2014/04/26. 神戸国際会議場(神戸市)

〔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
<http://cont-med.umin.jp/>

6. 研究組織
(1)研究代表者
相澤直樹(AIZAWA Naoki)
東京大学・医学部付属病院・特任助教
研究者番号：80595257

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：