

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861267

研究課題名(和文)膀胱知覚における5-HT3受容体の機能解析

研究課題名(英文)The role of 5-HT3 receptor in bladder sensation

研究代表者

竹澤 健太郎 (Takezawa, Kentaro)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：90648015

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、膀胱知覚における5-HT3受容体の役割を検討した。申請者は、マウスにおいて5-HT3受容体が膀胱知覚神経に豊富に存在していること、5-HT3受容体の活性化が頻尿を引き起こすこと、5-HT3受容体の遮断が膀胱炎に伴う頻尿を軽減することを明らかにした。これらの結果から「膀胱知覚神経の5-HT3受容体の活性化が、膀胱炎に伴う頻尿を引き起こす」という5-HT3受容体を介した新しい膀胱知覚亢進機構が明らかとなり、5-HT3受容体が過活動膀胱の治療ターゲットとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the role of serotonin type 3 receptor (5-HT3 receptor) in bladder sensation. I found that 5-HT3 receptor is abundantly expressed on primary bladder afferent nerves, activation of 5-HT3 receptor causes bladder hyperactivity, and blockade of 5-HT3 receptor inhibits the cystitis-induced bladder hyperactivity in mice. These findings indicate the novel mechanisms of bladder hyperactivity mediated by 5-HT3 receptor, and suggest that 5-HT3 receptor may be a potential therapeutic target for overactive bladder syndrome.

研究分野：神経泌尿器科

キーワード：過活動膀胱 5-HT3受容体

### 1. 研究開始当初の背景

過活動膀胱は尿意切迫感を主症状とする疾患で、QOL を著しく低下させる。過活動膀胱の患者数は非常に多い。しかし既存の治療法による治療成績は満足できるものではなく、新たな治療法の開発が望まれている。

痛みのなどの知覚は、下行性調節系というシステムにより脊髄レベルで制御されていることが知られている。下行性調節系は脳から脊髄後角に投射し、脊髄における知覚の伝達を調節するシステムである。近年、下行性調節系において、セロトニン受容体の一つである 5-HT3 受容体が疼痛増強に作用することが報告され、5-HT3 受容体と痛覚過敏症の病態との関連が注目されている。

過活動膀胱は膀胱の知覚過敏ととらえることが可能であり、その病態に下行性調節系や 5-HT3 受容体が関与している可能性が考えられる。しかし、膀胱知覚における下行性調節系の役割はほとんど明らかにされていない。申請者は、膀胱知覚においても痛覚と同じように下行性調節系が機能しており、そのなかで 5-HT3 受容体が膀胱知覚亢進に重要な役割を果たしているとの仮説を立てた。

### 2. 研究の目的

本研究は、5-HT3 受容体ノックアウトマウスなどの遺伝子改変マウスを用いて、膀胱知覚における 5-HT3 受容体の役割を解明し、膀胱知覚亢進疾患である過活動膀胱の新規治療ターゲットとしての 5-HT3 受容体の可能性を検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 膀胱機能における 5-HT3 受容体の役割解析

野生型マウスおよび 5-HT3 受容体ノックアウトマウスを用いて、5-HT3 受容体作動薬投与にともなう膀胱機能の変化を解析した。マウスの膀胱機能は、エコー併用膀胱内圧測定法で解析した。これは従来の膀胱内圧測定法に膀胱エコーを併用することで、マウスの膀胱容量と残尿量の評価を可能にした評価法である (Takezawa et al., *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014) (図 1)。

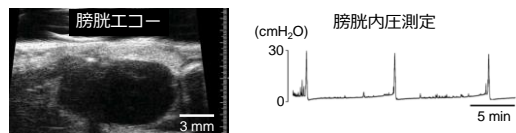


図 1. エコー併用膀胱内圧測定  
膀胱エコーで膀胱容量および残尿量を、膀胱内圧測定で排尿間隔を評価

#### (2) 膀胱知覚路における 5-HT3 受容体の発現解析

5-HT3 受容体を発現する細胞が EGFP を発現する遺伝子改変マウス (Htr3a-EGFP 遺伝子改

変マウス) を用いて、膀胱知覚路における 5-HT3 受容体の発現を解析した。膀胱知覚に関わる、膀胱一次求心性神経および脊髄神経は、神経トレーサー (CTB) を膀胱壁に注射することで同定した。さらに、Htr3a-EFRP 遺伝子改変マウスにおいて大腸菌由来の lipopolysaccharide (LPS) を用いた膀胱炎モデルを作成し、脊髄において神経活動マーカー (c-Fos) を発現する細胞と 5-HT3 受容体陽性神経との局在を解析した。

#### (3) 頻尿モデルマウスに対する 5-HT3 受容体拮抗薬の有効性の検討

野生型マウスで LPS 膀胱炎モデルを作成し、5-HT3 受容体拮抗薬投与に伴う膀胱機能の変化を解析した。

#### (4) 5-HT3 受容体ノックアウトマウスにおける膀胱炎に伴う膀胱機能変化の解析

セロトニン受容体には 14 種類ものサブタイプがあるために、各サブタイプに 100% 特異的な薬剤は存在しない。そこで 5-HT3 受容体ノックアウトマウスにおいて膀胱炎モデルを作成し、膀胱機能変化を解析することで、(3) の実験で示唆された 5-HT3 受容体拮抗薬の効果が、真に 5-HT3 受容体を介したものであるかを検証した。

### 4. 研究成果

#### (1) 膀胱機能における 5-HT3 受容体の役割解析

野生型マウスに 5-HT3 受容体作動薬を投与すると膀胱容量が減少し、激しい頻尿となった。この反応は 5-HT3 受容体拮抗薬の投与により阻害された (図 2)。一方、5-HT3 受容体ノックアウトマウスに 5-HT3 受容体と投与しても膀胱機能の変化はみられなかった。以上から、5-HT3 受容体の活性化は膀胱知覚の亢進を引き起こすと考えられた。

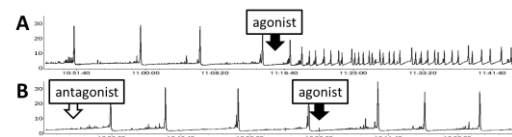


図 2. 5-HT3 受容体作動薬投与に伴う膀胱機能の変化

- A) 作動薬投与に伴い激しい頻尿となった
- B) 拮抗薬を投与しておくと作動薬を投与しても頻尿にならなかった

#### (2) 膀胱知覚路における 5-HT3 受容体の発現解析

膀胱壁に注射した神経トレーサーは、L6 後根神経節とりこまれていた。これらの細胞の多くは EGFP 陽性であった。このことから、膀胱一次求心性神経の多くが 5-HT3 受容体を発現していると考えられた (図 3)。

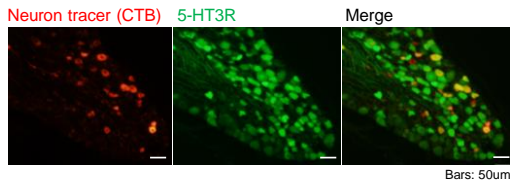


図 3. L6 後根神経節における神経トレーサーの取り込みと 5-HT3 受容体の発現  
神経トレーサー (CTB) 陽性 (赤) の膀胱一次求心性神経の多くが 5-HT3 受容体陽性 (緑) であった

また、膀胱には 5-HT3 受容体陽性の神経線維が豊富に認められ、脊髄 L6 にも 5-HT3 受容体陽性の神経線維が豊富に認められた。一方で、脊髄 L6 では 5-HT3 受容体陽性の神経細胞はあまり認められなかったが、膀胱炎頻尿モデルで脊髄 L6 に誘導された c-Fos 陽性細胞には、5-HT3 受容体陽性の神経線維が接合している像が確認された (図 4)。

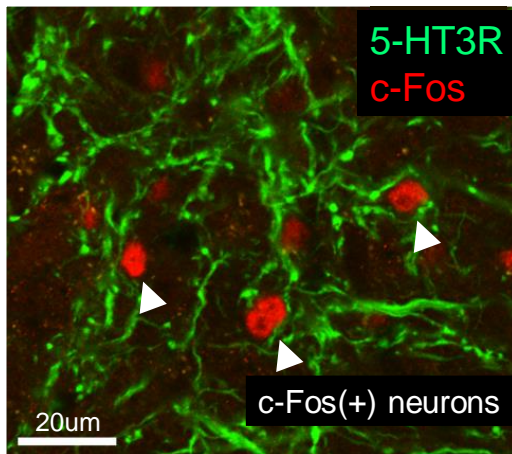


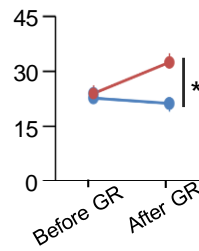
図 4. 膀胱炎で誘導される脊髄 c-Fos 陽性細胞 (赤) と 5-HT3 受容体陽性神経線維 (緑) の局在  
膀胱炎で誘導された脊髄 c-Fos 陽性細胞は 5-HT3 受容体陽性神経線維と接合していた (矢頭)

以上から、5-HT3 受容体は膀胱一次求心性神経に豊富に存在しており、膀胱炎にともなう膀胱知覚の脊髄への求心性入力増強に重要な役割を果たしていると考えられた。

### (3) 頻尿モデルマウスに対する 5-HT3 受容体拮抗薬の有効性の検討

膀胱炎頻尿モデルにおいて、5-HT3 受容体拮抗薬 (Granisetron (GR)) を投与すると、生理食塩水投与と比較し、膀胱容量が増大し頻尿が軽減した (図 5)。このことから、膀胱炎に伴う頻尿に 5-HT3 受容体の活性化が関与しており、5-HT3 受容体の遮断により膀胱炎に伴う頻尿が改善される可能性が示唆された。

### 膀胱容量



### 排尿間隔

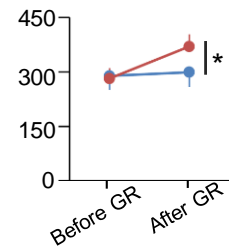


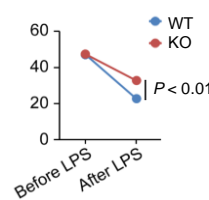
図 5. 5-HT3 受容体拮抗薬の効果

膀胱炎頻尿モデルに 5-HT3 受容体拮抗薬 (GR) (赤) を投与すると、生食投与 (青) と比較し、膀胱容量が増大し排尿間隔が延長した

### (4) 5-HT3 受容体ノックアウトマウスにおける膀胱炎に伴う膀胱機能変化の解析

5-HT3 受容体ノックアウトマウスでは、野生型マウスと比較し、LPS 膀胱炎に伴う膀胱容量の減少、排尿間隔の減少が抑制された (図 6)。このことから、(3) で示唆された膀胱炎に伴う頻尿と 5-HT3 受容体活性化の関連が確認された。

### 膀胱容量



### 排尿間隔

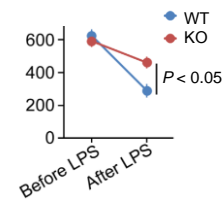


図 6. 野生型マウスと 5-HT3 受容体ノックアウトマウスの LPS 膀胱炎に伴う膀胱容量および排尿間隔の変化

5-HT3 受容体ノックアウトマウス (赤) は野生型マウス (青) と比較し、LPS 膀胱炎に伴う膀胱容量の減少、排尿間隔の減少が抑制された

以上の結果から、5-HT3 受容体は膀胱一次求心性神経に豊富に存在しており、膀胱炎にともなう膀胱知覚亢進および頻尿に重要な役割を果たしていることが示された。すなわち、膀胱炎にともなう膀胱セロトニン濃度の上昇により、5-HT3 受容体を介して膀胱一次求心性神経が活性化され、脊髄への求心性入力が増強される、という 5-HT3 受容体を介した新しい膀胱知覚亢進機構が明らかとなった。本研究の結果から、5-HT3 受容体が過活動膀胱などの膀胱知覚亢進疾患の新たな治療ターゲットとなる可能性が示唆された。

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)

[学会発表] (計1件)

Kentaro Takezawa

Serotonin type 3 receptor mediates  
cystitis-induced bladder hyperactivity

第104回日本泌尿器科学会総会

2016年4月23日

仙台

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹澤 健太郎 (TAKEZAWA KENTARO)

大阪大学医学部附属病院・医員

研究者番号：90648015