

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007 年～2008 年
 課題番号：19591860
 研究課題名（和文） ギャップ結合を介した過活動膀胱の発症メカニズム解析
 研究課題名（英文） Research of the Mechanism of Overactive Bladder
 via the Gap Junctions
 研究代表者
 野口 満（NOGUCHI MITSURU）
 長崎大学・大学病院・講師
 研究者番号：00325648

研究成果の概要：膀胱知覚に関与する神経と Gap 結合を介しコミュニケーションを持つ膀胱粘膜下層の myofibroblast は、過活動膀胱（OAB）発症メカニズムに深く関与している可能性がある。OAB モデルおよび間質性膀胱炎標本を用い、OAB 発症メカニズムを解析した。OAB モデルにおいて膀胱粘膜下層の myofibroblast 数は著明に増生し、Gap 結合タンパクである connexin、さらに AT1 の発現亢進が認められた。これらによる細胞間コミュニケーション亢進異常が OAB 発症メカニズムの 1 つと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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、ギャップ結合、膀胱粘膜下組織、myofibroblast、connexin

1. 研究開始当初の背景

- (1) 排尿障害は高齢社会において罹患数は膨大な数で、そのマネジメントは QOL 向上を重視した現在の医療において需要が高く、また医療経済面からも重要視されている。
- (2) 尿意切迫感、頻尿・尿失禁を呈する病態として過活動膀胱が提唱されているが、その病態はいまだ解明されたわけではない。
- (3) 過活動膀胱症状に関与する神経と膀胱粘膜下組織の myofibroblast とはギャップ結合を介した細胞間コミュニケーションを持っている。さらに、その myofibroblast にはペースメーカー的機能

がある可能性が示唆されている。

- (4) 心筋においてギャップ結合の責任タンパクである connexin が up regulate されることにより心臓での myofibroblast からのペーシング異常が起こり、心房細動が誘発されることが報告されている。さらに、Angiotensin II receptor blocker (ARB) によりこれが抑制されることが in vitro で報告されている。
- (5) これらのことから、過活動膀胱の病態の 1 つとして、膀胱粘膜下組織でのギャップ結合を介したシグナル伝達異常が考えられる。
- (6) 過活動膀胱ではないが、過活動膀胱と同様に頻尿、膀胱部痛など膀胱知覚異常によ

り症状を呈する間質性膀胱炎の病態は未だに解明されていない。この間質性膀胱炎においても、膀胱粘膜下組織でのシグナル伝達異常が病態の1つである可能性がある。

2. 研究の目的

- (1) ラット過活動膀胱モデルにおいて、膀胱粘膜下組織のギャップ結合を介したシグナル伝達の動態を解析し、過活動膀胱の発症メカニズムを探索する。
- (2) 心筋細胞での研究において、Angiotensin II receptor blocker (ARB) により心筋の付随収縮すなわち心房細胞が抑制されたことから、過活動膀胱モデルでの膀胱粘膜下組織組織、特に myofibroblast での Renin-Angiotensin (RAS) 系の発現状況を解析し、過活動膀胱において膀胱内での RAS 系の役割を解析する。
- (3) 頻尿・尿失禁、膀胱部痛を症状とする間質性膀胱炎患者での膀胱粘膜下組織の細胞間コミュニケーションの状態を解明する。

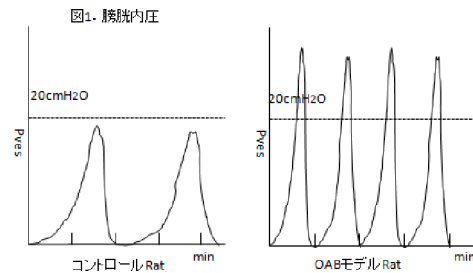
3. 研究の方法

- (1) 過活動膀胱動物モデルの作成
ラット使用し 0.2N-HCL を膀胱内注入し頻尿モデルを作成。膀胱内圧を測定しモデルが完成しているか確認。
- (2) 上記モデルにおいて、膀胱粘膜下組織での myofibroblast の発現状況、ギャップ結合の責任タンパクである Connexin (Cx) 26, 43 の発現変化、さらに Angiotensin II receptor type-1 (AT1) の発現変化を観察する。myofibroblast の同定には Vimentin, α -actin, C-kit に対する免疫組織染色を行い同定した。Cx, AT1 の同定にはそれぞれポリクローナル抗体にて免疫組織染色を行った。
- (3) ヒト間質性膀胱炎モデルでの膀胱粘膜下組織での細胞間コミュニケーションの解析を行う。
 - ① 間質性膀胱炎にて水圧拡張術を行った患者の生検標本を用い解析を行った。なお、用いた標本の患者には、研究使用の内容、患者個人が特定されないことなど説明し、承諾を得た。本邦の間質性膀胱炎診療ガイドラインに基づき診断された 24 症例と膀胱腫瘍患者 4 例から得られた正常膀胱部標本を用いて解析した。
 - ② 粘膜下組織での myofibroblast の発現状況、Cx43 の発現変化、さらに AT1 の発現変化を解析する
 - ③ 上記の細胞間コミュニケーションに関与するタンパクの発現と臨床症状との

関連を解析する。

4. 研究成果

- (1) 過活動膀胱動物モデル (頻尿モデル)
0.2N-HCL を rat の膀胱内注入にて作成。膀胱内圧測定すると膀胱内圧はコントロール rat と比較し、有意に上昇し、頻尿を呈していた (図 1)。摘出標本の H/E 染色では膀胱粘膜下層の増生と同部の炎症所見を認めた。膀胱内圧所見から、頻尿モデルが作成された。しかし、過活動膀胱の特徴である排尿筋付随収縮は認められなかった。臨床上からは、間質性膀胱炎モデルとなっていた。



- (2) rat 過活動膀胱モデルにおける膀胱粘膜下組織の細胞間コミュニケーション解析

① myofibroblast の発現変化

コントロール rat において、膀胱粘膜下組織で Vimentin 陽性、 α -actin 陽性、C-kit 陰性で同定された myofibroblast を確認した。次に myofibroblast の発現変化をみると rat 過活動膀胱モデルではコントロール rat に比べ、膀胱粘膜下組織で劇的に myofibroblast の増生を認めた。

② Cx26, Cx43 の発現変化

rat 過活動膀胱モデルで、Cx26, Cx43 の発現増強が膀胱粘膜および膀胱粘膜下組織で認められた。特に、Cx43 の発現増強は顕著であった。また、これら connexin は膀胱粘膜下組織の myofibroblast にも多く発現が認められた。

③ AT1 の発現変化

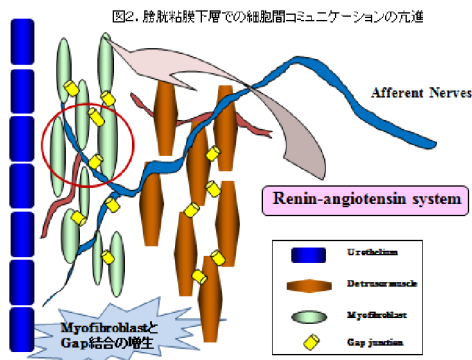
コントロール rat において、膀胱粘膜下組織の myofibroblast に AT1 の発現が認められた。rat 過活動膀胱モデルでは、膀胱粘膜下組織に劇的に AT1 発現の増強を認めた

(3) 間質性膀胱炎患者での膀胱粘膜下組織の細胞間コミュニケーション

- (1) コントロールとして用いた正常部膀胱では膀胱粘膜下層に myofibroblast の発現が確認された。
- (2) 間質性膀胱炎患者においては、正常膀胱と比較すると 24 例中 19 例 (79%) で膀胱粘膜下層の myofibroblast の著明な増生が認められた。
- (3) さらにその myofibroblast に Cx43 の発現が確認され、膀胱粘膜下層の Cx43 の発現増強が確認された。
- (4) AT1 についても Cx43 と同様で、間質性膀胱炎患者の膀胱粘膜下層で AT1 の発現増強を認めた。さらに AT1 の局在の大部分は myofibroblast であった。

(5) 間質性膀胱炎患者の症状スコア（膀胱部痛、頻尿、尿意切迫感等）と、膀胱粘膜下層の細胞間コミュニケーション発現増強との間に関連は見いだせなかった。

以上の解析結果から、過活動膀胱あるいは間質性膀胱炎でみられる頻尿・尿失禁、尿意亢進、尿意切迫感などは膀胱知覚路の亢進によることが考えられる。すなわち、膀胱の知覚に関わる膀胱粘膜下層の afferent nerve はギャップ結合を介して myofibroblast と細胞間コミュニケーションを持つ。今回の研究で、ラット過活動膀胱モデル、ヒト間質性膀胱炎標本にて、膀胱粘膜下層の myofibroblast の増生、さらに、その myofibroblast にギャップ結合の責任タンパクである Connexin の発現増強が解明された。仮に膀胱粘膜下層の myofibroblast に pacing cell 的役割があるならば、ギャップ結合を介して過剰なシグナル伝達が行われることになる。これはギャップ結合を介した細胞間コミュニケーションの亢進に基づく膀胱知覚路の亢進を意味するものと思われる（図 2）。



一方、心筋間質細胞で Connexin の up regulate により起こるを心房細胞を AT1 blocker (ARB) により抑制することから、このような細胞間コミュニケーションの異常亢進には RAS 系が深く関与しているものと思われる。今回の研究において、膀胱の知覚路亢進の病態においても AT1 の発現増強が確認された。このことは、過活動膀胱あるいは間質性膀胱炎のメカニズム解明だけでなく、ギャップ結合阻害薬や ARB を中心とした RAS 系抑制薬などによる、新規治療や予防へと展開され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)

[雑誌論文] (計 1 件)

野口 満。膀胱組織における細胞間コミュニケーション. 泌尿器外科 (7) : 925 - 929, 2007

[学会発表] (計 5 件)

- ① Hatada T, Noguchi M, Tobu S, Mori K, Matsuo M, Kanetake H : Differential expression of angiotensin II type-1 receptor in the rat detrusor muscle with partial bladder outlet obstruction and diabetes mellitus model. 37th Annual Meeting of the International Continence Society (2007. 8. 20~24 Rotterdam・Holland)
- ② Tobu S, Noguchi M, Hatada T, Matsuo T, Mori K, Matsuo M, Kanetake H : Expression of AT1 on the interstitial cells in suburothelial layer. 37th Annual Meeting of the International Continence Society (2007. 8. 20~24 Rotterdam・Holland)
- ③ 畑田鉄平, 野口 満, 東武昇平, 森 健一, 松尾 学, 金武 洋 : ラット間質性膀胱炎モデルにおける細胞間コミュニケーション解析. 第 14 回日本排尿機能学会 (2007. 10. 4~6 猪苗代町)
- ④ 野口 満, 金武 洋 : シンポジウム : OAB 薬物療法の New Targets : OAB における膀

膀胱粘膜下の細胞間コミュニケーション.
第 14 回日本排尿機能学会 (2007. 10. 4
～6 猪苗代町)

- ⑤ 畑田鉄平, 野口 満, 東武昇平, 森 健
一, 松尾 学, 本間之夫, 金武 洋: 間
質性膀胱炎における細胞間コミュニケー
ション解析. 第 15 回日本排尿機能学会
(2008. 9. 11～13 東京)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者: 野口 満
長崎大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号: 00325648

(2) 研究協力者: 東武昇平、畑田鉄平
長崎大学医歯薬学総合研究科・大学院生