

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670680

研究課題名(和文)慢性心理ストレスは脳由来CRFを介して膀胱知覚過敏・間質性膀胱炎を引き起こす？

研究課題名(英文)Chronic psychological stress might induce hypersensitive bladder and interstitial cystitis via corticotropin releasing factor driven from the brain

研究代表者

横山 修 (YOKOYAMA, OSAMU)

福井大学・医学部・教授

研究者番号：90242552

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)：ストレスと関連する膀胱機能障害においてCRF関与の可能性について検討した。慢性ストレスは1)闘争敗北ストレス2)水回避ストレス3)自然発生高血圧ラット(SHR)に対するコミュニケーションボックス法によるストレスとした。

1), 2)では排尿回数に変化はないが2)ではCRF protein低下がみられた。3)ではCRFとCRF receptor 1のmRNA発現増加がみられ、膀胱切片はCRF存在下でcarbachol投与により収縮反応の増加を認めた。しかしCRF単独、phenylephrine収縮後のCRF投与でも変化は認めなかった。CRFの膀胱に対する影響は高血圧などの病態で出やすいと推測された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the possibility of corticotropin releasing factor (CRF) as a causative factor for pathological bladder following chronic stress. Chronic stress was induced to rats by several methods; 1) repeated exposure to attack and defeat, 2) water avoidance stress, 3) communication box method in spontaneous hypertensive rat(SHR).

No changes in urinary frequency were found in rats with repeated exposure to attack and defeat and with water avoidance stress. CRF protein level of the bladder was significantly decreased after exposure to water avoidance stress. mRNA expression of CRF and CRF receptor 1 of the bladder significantly increased in SHR with chronic stress when compared to that without stress. Adding CRF to the bladder muscle strips from the stress rat, carbachol significantly increased contraction dose-dependently. In conclusion, stress plus CRF may be involved in enhancement of the bladder contractions to acetylcholine in some pathological condition such as hypertension.

研究分野：医歯薬学

キーワード：心理ストレス 間質性膀胱炎 慢性骨盤痛症候群 副腎皮質刺激ホルモン放出因子 HPA axis

1. 研究開始当初の背景

過活動膀胱(OAB)や間質性膀胱炎(interstitial cystitis; IC)では、心理ストレスが症状の増悪因子であり、特にICにおいてその背景に小児期の性的虐待が多く例で認められたという報告もある(Curr Urol Rep 10: 441,2009)。また、間質性膀胱炎・慢性骨盤痛症候群(chronic pelvic pain syndrome; CPPS)ではHypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axisの活性化が認められるが、過去に性的虐待を受けた成人でもHPA axisに変化がみられるという。一方、視床下部の室傍核(paraventricular nucleus; PVN)で合成される副腎皮質刺激ホルモン放出因子(corticotropin releasing factor; CRF)こそが個体レベルのストレス反応の中核をつかさどる伝達因子とされているが、最近になりその受容体が膀胱にも存在することが明らかとなった(Auton Neurosci 123: 26, 2008)。膀胱ではCRFR2受容体が存在し、cyclophosphamide cystitisでは発現の増加がみられるという。

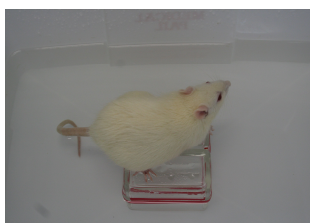
2. 研究の目的

IC/CPPSは難治性、原因不明の疾患で、わが国でも潜在的な患者は欧米並に存在するだろうと予想されている。成因として感染、神経原性、アレルギー、尿毒性物質、遺伝、粘膜障害などが想定されているが、中枢性内因性物質が原因との報告はまだない。CRFは脳内で自律神経中枢などを中心に神経伝達物質として作用したり、ドパミン、セロトニン作動性ニューロンを調節することも解っている。われわれは心理ストレス負荷により抑制された雄性性行動をCRF受容体拮抗薬が回復させることも報告した(J Sex Med 8:688, 2011)。したがってCRF投与は下部尿路機能だけでなく種々の生体機能に影響を及ぼす。この研究では「CRF上昇が蓄尿機能障害を引き起こすのか」に焦点を絞り明らかにした。

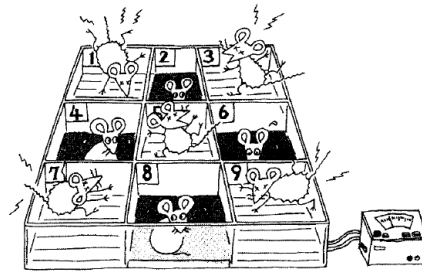
3. 研究の方法

(1) 闘争・敗北ストレス：強固な雄ラットに攻撃される雄ラットを作成し、30分間で1週間の連続するストレスがどのように排尿機能に影響を与えるか観察した。また膀胱瘻を作成し、覚醒下で膀胱内圧測定を行った。慢性心理ストレス負荷方法は以下の3つの方法を用いた。

(2) 水回避ストレス：水を張ったプールの中心に水面上に少し出る高さで1匹分の面積しかない台を置き、その上にラットを2時間置く。これを5-10日間連続させた。ラット膀胱機能の評価に関しては、ラットを代謝ケージに入れ、1回排尿量、排尿回数をモニターした。(図1)



(図1)



(図2)

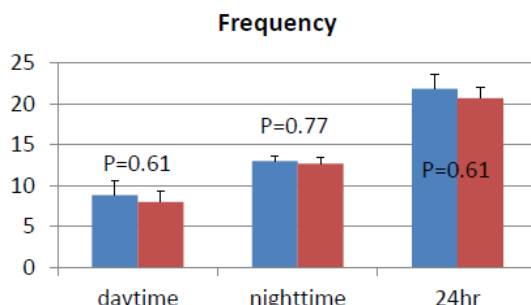
(3) コミュニケーションボックス法によるストレス負荷：透明なプラスチックで区切られた9x9の区画に1匹ずつラットを配置し、交互の床に電気刺激を加える。隣接する被電気刺激ラットの跳躍、悲鳴を観察させることにより心理ストレスを負荷する。ストレス負荷を1分間に10秒2時間加え、これを5-10日間連続する。このストレス負荷を1カ月に2クール施行。12週齢のSHR雄性ラットをコントロール群とストレス群に分けた。ストレス群にはコミュニケーションボックス法による心理的ストレスを負荷した。コントロール群とストレス群から膀胱を採取し、膀胱のCRF及びCRF受容体のmRNAをreal-time PCRで測定した。摘出膀胱から平滑筋切片を作成し、薬理的検討を行った。phenylephrine収縮、carbachol収縮、CRF投与後のcarbachol収縮などを観察した。(図2)

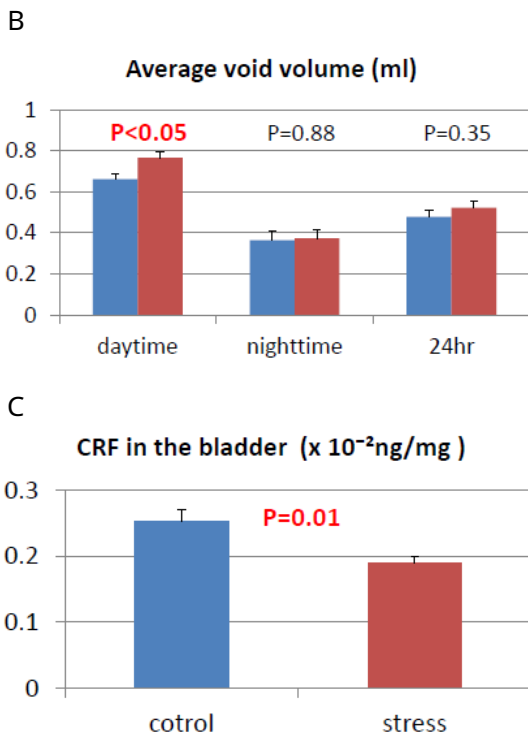
4. 研究成果

(1) 闘争・敗北ストレス：1日当たりの排尿量は有意に減少したが、1日当たりの排尿回数に有意な変化はみられなかった。ストレスが強いと排尿障害が生じてこないとの報告もあり、今後ストレスの種類を変えて再実験する必要があると考えられる。

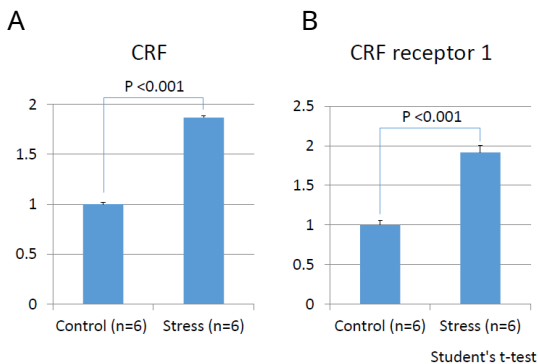
(2) 水回避ストレス：1日当たりの排尿回数は増加せず、逆に一回排尿量は有意に増加した。また膀胱組織由来のCRFは有意に減少していた。すなわち、ストレス負荷により膀胱CRF産生は抑制されたが、これと膀胱容量の増大とはどのような関係があるのかは不明である。(図3 A、B、C)

(図3) A



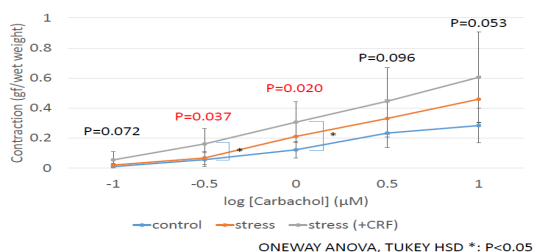


(3) コミュニケーションボックス法によるストレス負荷: ストレス群では CRF と CRF receptor1 の有意な発現増加が認められた (real-time PCR)。(図 4 A、B)



(図 4)

ストレス負荷していないラットの膀胱切片に CRF(2.5 μg/ml)を投与しても収縮反応を示さなかった。また、phenylephrine 収縮後の CRF 投与でも変化は認めなかった。しかし、carbachol 収縮後に CRF を投与すると膀胱切片のさらなる収縮を認めた。さらに ストレス群の膀胱切片は、CRF 存在下での carbachol 投与により収縮反応の増加を認めた。コントロール群との間に有意差を認めた。(図 5)



(図 5)

以上の結果より、CRF は膀胱アセチルコリン収縮の増強に参与する可能性がある。前回の報告では、SD ラットにストレス負荷しても膀胱 CRF の増加はみられなかったことより、ラットの病態により CRF の膀胱に対する影響が異なる可能性がある。高血圧は膀胱のストレス反応が出やすい病態と推測される。

以上より、CRF は膀胱アセチルコリン収縮の増強に参与する可能性がある。水回避ストレスでは SD ラットにストレス負荷しても膀胱 CRF の増加はみられなかった。ラットの病態により CRF の膀胱に対する影響が異なる可能性がある。高血圧は膀胱のストレス反応が出やすい病態と推測される。

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 8 件)

Ito H, Yokoyama O. Metabolic syndrome and lower urinary tract symptoms. World Journal of Clinical. World J Clin Urol 2014, 3:330-335 査読有.

doi: 10.5410/wjcu.v3.i3.330.

横山 修. 排尿障害の病態 - 全身疾患を含めて - . Geriatric Medicine 老年医学 2014, 52:1025-1030 査読無.

Yokoyama O, Hiro S, Hotta S, Mogami S, Yamagami H. Efficacy of fesoterodine on nocturia and quality of sleep in Asian patients with overactive bladder. Urology 2013, 83:750-755 査読有.

doi: 10.1016/j.urology.2013.12.008.

Akino H, Namiki M, Suzuki K, Fuse H, Kitagawa Y, Miyazawa K, Fujiuchi Y, Yokoyama O. Factors influencing patient satisfaction with antimuscarinic treatment of overactive bladder syndrome: results of a real-life clinical study. Int J Urol 2013, 21:389-394 査読有.

doi: 10.1111/iju.12298.

Yokoyama O, Homma Y, Yamaguchi O. Imidafenacin, an antimuscarinic agent, improves nocturia and reduces nocturnal urine volume. Urology 2013, 82:515-520 査読有.

doi: 10.1016/j.urology.2013.05.017.

Watanabe N, Akino H, Kurokawa T, Taga M, Yokokawa R, Tanase K, Nagase K, Yokoyama O. Antidiuretic effect of antimuscarinic agents in rat model depends on C-fibre afferent nerves in the bladder. BJU Int 2013, 112:131-136 査読有.

doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11747.x.

Ito H, Taga M, Tsuchiyama K, Akino H, Yokoyama O. IPSS is lower in hypertensive patients treated with angiotensin-II

receptor blocker: posthoc analyses of a lower urinary tract symptoms population. *Neurourol Urodyn* 2013, 32:70-74 査読有. doi: 10.1002/nau.22267.

Yokoyama O, Yoshida M, Kim SC, Wang CJ, Imaoka T, Morisaki Y, Viktrup L. Tadalafil once daily for lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: a randomized placebo- and tamsulosin-controlled 12-week study in Asian men. *Int J Urol* 2013, 20:193-201 査読有. doi: 10.1111/j.1442-2042.2012.03130.x.

〔学会発表〕(計 3 件)

M.Seki, H.Yamauchi, Y.Matsuta, Y.Aoki, H.Akino, O.Yokoyama: Relationship Between Lifestyle Diseases and The Frequency of Medical Therapies for Lower Urinary Tract Symptoms: Analysis of 60,000 Aging Males and Females, ICS2014, 2014.10.22, Rio de Janeiro (Brasil)

関 雅也, 三輪吉司, 茂原明子, 青木芳隆, 大山伸幸, 秋野裕信, 横山 修: 男性ラットにおける心理的ストレスの排尿への影響, 第 20 回日本排尿機能学会, 2013.9.20, グランシップ(静岡市)

関 雅也, 三輪吉司, 茂原明子, 青木芳隆, 大山伸幸, 秋野裕信, 横山 修: 男性ラットにおける心理的ストレスの排尿への影響, 第 101 回日本泌尿器科学会総会, 2013.4.25, さっぽろ芸術文化の館(札幌市)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.u-fukui.ac.jp/home/ufms/file/kenkyu/welcome.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横山 修 (YOKOYAMA, OSAMU)

福井大学・医学部・教授

研究者番号: 90242552

(2) 研究分担者

伊藤 秀明 (ITO, HIDEAKI)

福井大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 00345620

青木 芳隆 (AOKI, YOSHITAKA)

福井大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 30273006

関 雅也 (SEKI, MASAYA)

福井大学・医学部附属病院・医員

研究者番号: 70572444

横川 竜生 (YOKOKAWA, RYUSEI)

福井大学・医学部附属病院・医員
研究者番号: 60529353