

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15582

研究課題名(和文)慢性ストレスと肥満：なぜ下部尿路機能障害を起こすのか？

研究課題名(英文) Role of corticotropin-releasing factor on bladder function in rats with psychology stress

研究代表者

横山 修 (Yokoyama, Osamu)

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：90242552

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)：副腎皮質刺激ホルモン放出因子(CRF)の受容体が膀胱にも存在するが生理的意義について検討した。心理ストレス負荷に伴い1日尿量の増加と排尿回数の増加が認められた。ストレス群ではCRF、CRF受容体1、M3受容体のmRNAの発現が増加し、膀胱切片等尺性収縮実験ではカルバコール収縮が有意に増強していた。CRF receptor1拮抗薬antalarminを添加しても変化はみられなかった。さらにストレス群ではCRF、CRFR1の発現増加、ムスカリンM3受容体増加が認められ、M2、アドレナリン受容体には変化がみられなかった。心理ストレスが膀胱CRFを介して膀胱収縮に関与している可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Corticotropin-releasing factor (CRF) is one of the main factors of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis and known as stress-related peptide. As well as the nervous systems, the CRF and CRF-related peptides are distributed in the peripheral viscera such as bladder. In the present study, we investigated the contribution of psychological stress and CRF on the bladder function in rats. The data showed mRNA overexpression of CRF-R1 and M3 muscarinic receptor of the bladder were recognized in rats receiving psychological stress. Psychological stress increased the response of muscarinic contraction of the bladder strips however, the increase was not antagonized by CRF-R1 antagonist antalarmin. CRF did not influence bladder contraction in itself. In contrast, when rats did not receive the psychological stress, no increase in muscarinic contraction was found. These results support the hypothesis that psychological stress reinforces M3 receptor-mediated contractions.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：下部尿路機能障害 ムスカリン受容体 心理ストレス Corticotropin 膀胱 CRF ラット

1. 研究開始当初の背景

慢性ストレスはメタボリック症候群のリスク因子であるが、脂肪細胞自体にも作用し、機能障害から各種炎症性サイトカインを増加させる。慢性ストレスは視床下部の室傍核で合成される副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (CRF) を増加させ、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る。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。CRF 受容体には R1 と R2 のサブタイプが存在し、前者は下垂体前葉などに発現して ACTH 分泌促進、不安関連行動や抑うつを惹起などを引き起こす。後者は視床下部、扁桃核、縫線核、骨格筋、心筋、血管壁に存在する。膀胱では CRFR2 が存在し、cyclophosphamide 膀胱炎では発現は増加する。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認められたという報告もある (Curr Urol Rep 10: 441, 2009)。

2. 研究の目的

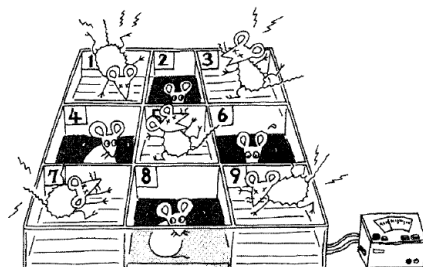
CRF は脳内で自律神経中枢などを中心に神経伝達物質として作用したり、ドパミン、セロトニン作動性ニューロンを調節することも解っている。われわれは心理ストレス負荷により抑制された雄性性行動を CRF 受容体拮抗薬が回復させることも報告した (J Sex Med 8:688, 2011)。したがって CRF 投与は下部尿路機能だけでなく種々の生体機能に影響を及ぼす。われわれはストレス負荷ラット膀胱に CRF が増加すると報告したが、肥満や高血圧のような生活習慣病に伴う各種メタボリック症候群が増悪因子になって機能障害を惹起しているという仮説をたてた。

3. 研究の方法

(1) 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 9 × 9 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。ストレス群ではコミュニケーションボックス法による心理ストレスを 1 日 2 時間 7 日間連続で負荷した。

(2) 代謝ケージを用い、1 回排尿量、24 時間排尿回数、24 時間尿量を測定した。

(3) コントロールとして Wister-Kyoto rat (WKY)、病態モデルとして



12 週齢の雄

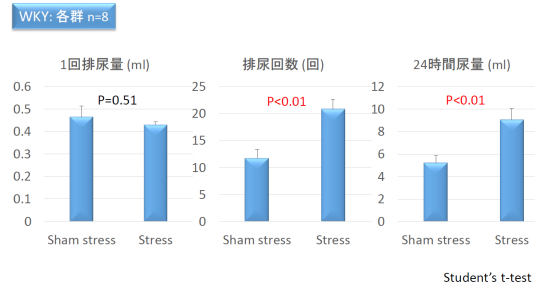
性 SHR (自然発生高血圧ラット) を用いた。

(4) 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。

(5) 摘出膀胱から平滑筋切片を作成し、マグヌス管内で懸垂、薬理的検討を行った。管内には KCL, carbachol, phenylephrine, CRF を投与した。また、CRFR1 antagonist である antalarmin 存在下での carbachol 収縮も測定した。

4. 研究成果

(1) 病態モデルとして SHR (自然発生高血圧ラット) を対象とし、心理ストレス負荷をかけても 1 日の排尿回数、1 回の排尿量には有意な差がないことが解った。



(2) WKY ラットではストレス負荷により 24 時間排尿量は有意に増加し、1 日の排尿回数は増えたが、1 回排尿量には変化が認められなかった。

(3) Real-time PCR を用いて摘出膀胱壁における CRF 発現と、CRF R1 の測定を行った。ストレス負荷により CRF 自体と CRFR1 発現の亢進を認めた。

表は膀胱壁における各種遺伝子の相対発現

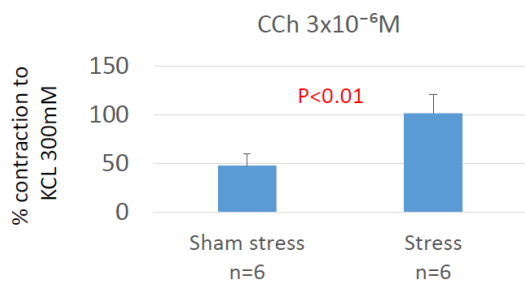
WKY	mRNAの相対発現量 (Stress n=6/sham stress n=6)	P value (arbitrary unit)
CRF	1.66	<0.01
CRF receptor 1	1.34	<0.05
CRF receptor 2	N.D.	
M2 muscarinic receptor	1.07	0.48
M3 muscarinic receptor	1.38	<0.01

N.D., not detect. Student's t-test

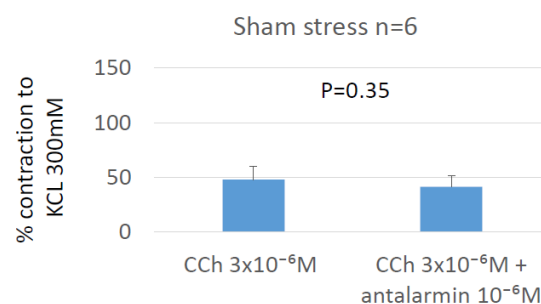
量を示す。ムスカリン受容体は M1 から M5 が存在するが、M3 発現が亢進しているデータが得られた。

SHR においてはストレス負荷により WKY ラットよりもさらに増幅された形でムスカリン受容体 M3、CRF、CRF R1 の発現亢進が認められた。

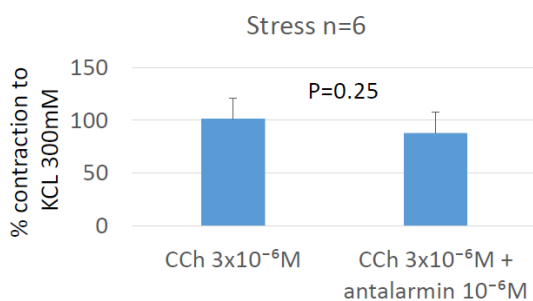
(4) WKY ラットを断頭して採取した膀胱から長軸が尿道口に向かう 2 × 5mm の切片 (上皮含む) を膀胱体部から作製した。各群の膀胱切片に対し、carbachol (CCh) 3 × 10⁻⁶M または carbachol (CCh) 3 × 10⁻⁶M + antalarmin (CRF receptor 1 antagonist) 10⁻⁶M を添加し、等尺性張力実験を行った。その結果、ストレス負荷により CCh 収縮は有意差を持って増強した。



Sham ストレスをかけた群においては CRF receptor 1 antagonist である antalarmin を投与してもその収縮には変化がみられなかった。



ストレスを負荷した群においても antalarmin は CCh 収縮を抑制しなかった。



Student's t-test

4. 考察

以上の結果より、心理ストレスに伴い飲水量の増加から1日の排尿回数が増加がみられたが1回排尿量に変化を与えなかった。また、心理ストレス群の膀胱平滑筋切片を用いた等尺性収縮実験で CCh 収縮が増強した。この増強作用は M3 受容体の mRNA の発現が増加により説明できるが、なぜ M3 が増加するのかは不明である。心理ストレス群では CRF、CRF R1 が増えていたが、CRF 自体は膀胱収縮には関与していない。したがって CRF が M3 受容体を upregulation して収縮を増強させた可能性が示唆される。膀胱における心理ストレスと CRF、M3 受容体の関連性を検討するためさらに実験が必要である。さらに高血圧のような生活習慣病が重なるとストレスに対する反応が増強される傾向が認められた。その背後に存在するメカニズムについてもさらなる検討が必要と思われる。

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 21 件)

- Inamura S, Ito H, Shinagawa T, Tsutsumiuchi M, Taga M, Kobayashi M, Yokoyama O. Prostatic stromal inflammation is associated with bladder outlet obstruction in patients with benign prostatic hyperplasia. *Prostate*. 2018 Apr 2. doi: 10.1002/pros.23518. [Epub ahead of print]
- Ito H, Wang D, Zha X, Inamura S, Seki M, Taga M, Yokoyama O. Castration increases PGE₂ release from the bladder epithelium in male rats. *Life Sci*. 2018, 193:252-256.
- Yokoyama O, Yamagami H, Hiro S, Hotta S, Yoshida M. Efficacy and Safety of Fesoterodine Treatment for Overactive Bladder Symptoms in Elderly Women With and Without Hypertension. *Int J Urol*. 2018, 25: 251-257
- Yokoyama O, Ozeki A, Suzuki N, Murakami M. Early improvement of storage or voiding symptoms by tadalafil predicts treatment outcomes in patients with lower urinary tract symptoms from benign prostatic hyperplasia. *Int J Urol*. 2018, 25: 240-245
- Inamura S, Shinagawa T, Hoshino H, Sakai Y, Imamura Y, Yokoyama O, Kobayashi M. Appearance of High Endothelial Venule-Like Vessels in Benign Prostatic Hyperplasia Is Associated with Lower Urinary Tract Symptoms. *Prostate* 2017, 77: 794-802
- Watanabe T, Yamamoto S, Gotoh M, Saitoh T, Yokoyama O, Murata T, Takeda M. Cost-Effectiveness Analysis of Long-Term Intermittent Self-Catheterization with Hydrophilic-Coated and Uncoated Catheters in Patients with Spinal Cord Injury in Japan. *Low Urin Tract Symptoms*. 2017 Sep;9(3):142-150. doi: 10.1111/luts.12122. Epub 2015 Nov 30.
- Homma Y, Gotoh M, Kawauchi A, Kojima Y, Masumori N, Nagai A, Saitoh T, Sakai H, Takahashi S, Ukimura O, Yamanishi T, Yokoyama O, Yoshida M, Maeda K. Clinical guidelines for male lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia. *Int J Urol*. 2017 Oct;24(10):716-729. doi: 10.1111/iju.13401. Epub 2017 Jul 26.
- Shinagawa T, Hoshino H, Taga M, Sakai Y, Imamura Y, Yokoyama O, Kobayashi M. Clinicopathological implications to micropapillary bladder urothelial carcinoma of the presence of sialyl Lewis X-decorated mucin 1 in stroma-facing membranes. *Urol Oncol*. 2017 Jun 27. pii: S1078-1439(17)30264-8. doi:

- 10.1016/j.urolonc.2017.06.004
9. Takeda M, Yokoyama O, Yoshida M, Nishizawa O, Hirata K, Nakaoka R, Takita Y, Murakami M. Safety and efficacy of the combination of once-daily tadalafil and alpha-1 blocker in Japanese men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: A randomized, placebo-controlled, cross-over study. *Int J Urol.* 2017 Jul;24(7):539-547. doi: 10.1111/iju.13357. Epub 2017 May 26.
 10. Yokokawa R, Akino H, Ito H, Zha X, Yokoyama O. Nerve growth factor release from the urothelium increases via activation of bladder C-fiber in rats with cerebral infarction. *Neurourol Urodyn.* 2017, 36:1448-1455.
 11. Yokoyama O, Nishizawa O, Homma Y, Takeda M, Gotoh M, Kakizaki H, Akino H, Hayashi K, Yonemoto K; OASIS project group. Nocturnal polyuria and hypertension in patients with lifestyle-related diseases and overactive bladder. *J Urol.* 2017, 197: 423-431
 12. Ishida H, Yamauchi H, Ito H, Akino H, Yokoyama O. α_{1D} -adrenoceptor blockade increases voiding efficiency by improving external urethral sphincter activity in rats with spinal cord injury. *Am J Physiol – Regulatory, Integrative and Comp* 2016, 311: R971-R978
 13. Takahashi S, Takei M, Nishizawa O, Yamaguchi O, Kato K, Gotoh M, Yoshimura Y, Takeyama M, Ozawa H, Shimada M, Yamanishi T, Yoshida M, Tomoe H, Yokoyama O, Koyama M. Clinical Guideline for Female Lower Urinary Tract Symptoms. *Low Urin Tract Symptoms.* 2016, 8: 5-29
 14. Watanabe T, Yamamoto S, Gotoh M, Saito T, Yokoyama O, Murata T, Takeda M. Cost-effectiveness analysis of long-term intermittent self-catheterization with hydrophilic-coated and uncoated catheters in patients with spinal cord injury in Japan. *Low Urin Tract Symptoms.* in press
 15. Kurokawa T, Zha X, Ito H, Aoki Y, Akino H, Kobayashi M, Yokoyama O. Underlying mechanisms of urine storage dysfunction in rats with salt-loading hypertension. *Life Sci.* 2015, 141:8-12
 16. Taga M, Hoshino H, Low S, Imamura Y, Ito H, Yokoyama O, Kobayashi M. A potential role for 6-sulfo sialyl Lewis X in metastasis of bladder urothelial carcinoma. *Urol Oncol.* 2015, 33:496.e1-9
 17. Yokoyama O, Igawa Y, Takeda M, Yamaguchi T, Murakami M, Viktrup L. Tadalafil for lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: a review of clinical data in Asian men and an update on the mechanism of action. *Ther Adv Urol.* 2015, 7: 249-264
 18. Wang D, Zha X, Nagase K, Akino H, Muramatsu I, Ito H, Yokoyama O. Effects of the 5 α -reductase Inhibitor Dutasteride on Rat Prostate α_{1A} -adrenergic Receptor and Its Mediated Contractility. *Urology.* 2015 Mar;85(3):704.e9-704.e14. doi: 10.1016/
 19. Yokoyama O, Yamaguchi A, Yoshida M, Yamanishi T, Ishizuka O, Seki N, Takahashi S, Yamaguchi O, Higo N, Minami H, Masegi Y. Once-daily oxybutynin patch improves nocturia and sleep quality in Japanese patients with overactive bladder: Post-hoc analysis of a phase III randomized clinical trial. *Int J Urol.* 2015, 22:684-688
 20. Nishizawa O, Yoshida M, Takeda M, Yokoyama O, Morisaki Y, Murakami M, Viktrup L. Tadalafil 5 mg once daily for the treatment of Asian men with lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: Analyses of data pooled from three randomized, double-blind, placebo-controlled studies. *Int J Urol.* 2015, 22: 378-384.
 21. Yamaguchi O, Kakizaki H, Homma Y, Igawa Y, Takeda M, Nishizawa O, Gotoh M, Yoshida M, Yokoyama O, Seki N, Okitsu A, Hamada T, Kobayashi A, Kuroishi K. Safety and efficacy of mirabegron as add-on therapy in patients with overactive bladder treated with solifenacin: a postmarketing, open-label study in Japan (MILAI study). *BJU Int.* 2015 Jan 30. doi: 10.1111/bju.13068.
- [学会発表](計 24 件)
1. Y.Matsuta, Y.Aoki, H.Ito, O.Yokoyama. Night-time frequency deteriorate sleep and quality of life: an analysis of international prostate symptom score and sleep questionnaire. International Continence Society 47th Annual Meeting (ICS2017) 20170915 Fortezza da Basso(Firenze(Italy))
 2. S.Inamura, T.Shinagawa, H.Hoshino, Y.Sakai, Y.Imamura, O.Yokoyama, M.Kobayashi. Appearance of high endothelial venule-like vessels in benign prostatic hyperplasia is associated with bladder outlet obstruction. International Continence Society 47th Annual Meeting (ICS2017) 20170915 Fortezza da Basso (Firenze(Italy))
 3. Y.Aoki, M.Okada, Y.Matsuta, H.Ito, C.Matsumoto, Y.Kusaka, O.Yokoyama. Is overactive bladder another facet of the metabolic syndrome?: a cross-sectional study among japanese men and women.

- International Continence Society 47th Annual Meeting (ICS2017) 20170915 Fortezza da Basso (Firenze(Italy))
4. Y.Aoki, E.Sasamura, C.Kimura, K.Fujita, A.Itoga, Y.Matsuta, H.Ito, O.Yokoyama. Accuracy of bladder volume determination using a new portable handheld ultrasound bladder scanner: a prospective study of 34 consecutive inpatients. International Continence Society 47th Annual Meeting (ICS2017) 20170915 Fortezza da Basso (Firenze(Italy))
 5. O.Yamaguchi, H.Kakizaki, Y.Homma, Y.Igawa, M.Takeda, O.Nishizawa, M.Gotoh, M.Yoshida, O.Yokoyama, N.Seki, T.Hamada, K.Kuroishi. Long-term anticholinergic add-on therapy in overactive bladder (OAB) patients refractory to mirabegron monotherapy: a multicentre, randomized study (MILAI II study) International Continence Society 47th Annual Meeting (ICS2017) 20170915 Fortezza da Basso (Firenze(Italy))
 6. Y.Aoki, C.Matsumoto, M.Okada, Y.Matsuta, H.Ito, Y.Kusaka, O.Yokoyama. Relationship between female overactive bladder and metabolic syndrome. The 12th Pan-Pacific Continence Society (PPCS) Annual Meeting. 20170901
 7. O.Yokoyama. Pharmacological treatment of urinary incontinence in Japan. The 12th Pan-Pacific Continence Society (PPCS) Annual Meeting. 20170901
 8. Y.Aoki, C.Matsumoto, Y.Matsuta, H.Ito, Y.Kusaka, O.Yokoyama. Relationship between overactive bladder and metabolic syndrome: A cross-sectional study among Japanese men and women. AUA Annual Meeting 2017. 20170515
 9. Y.Aoki, K.Sasaki, Y.Matsuta, H.Ito, C.Matsumoto, Y.Kusaka, O.Yokoyama. Overactive bladder is related to sexual well-being in Japanese women. AUA Annual Meeting 2017. 20170515
 10. O.Yokoyama, M.Takeda, M.Gotoh, M.Yoshida, H.Kakizaki, S.Takahashi, N.Masumori. Effects of imidafenacin on urine production, voided volume, and hours of undisturbed sleep in overactive bladder patients with nocturnal polyuria – post hoc analysis of two clinical trials. EAU2017. 20170326
 11. Y.Matsuta, N.Hashimoto, Y.Aoki, H.Akino, O.Yokoyama. Low-frequency transcutaneous electrical stimulation of foot can be a novel home-based treatment for refractory OAB. AUA Annual Meeting 2016. 20160509
 12. Y.Aoki, M.Tsutsumiuchi, A.Itoga, M.Seki, Y.Matsuta, H.Ito, C.Matsumoto, Y.Kusaka, O.Yokoyama. The association between urinary incontinence and delivery: a cross-sectional study among Japanese women. AUA Annual Meeting 2016. 20160509
 13. H.Ito. Metabolic syndrome and BPH. AUA Annual Meeting 2016. 20160509
 14. M.Taga, H.Hoshino, Shulin Low, Y.Imamura, H.Ito, M.Kobayashi, O.Yokoyama. A potential role for 6-sulfo sialyl LewisX in metastasis of bladder urothelial carcinoma. AUA Annual Meeting 2016. 20160509
 15. Y.Aoki, M.Tsutsumiuchi, A.Itoga, M.Okada, S.Yokoi, T.Kurokawa, Y.Matsuta, H.Ito, C.Matsumoto, Y.Kusaka, O.Yokoyama. Straining to void and IPSS-QOL score are independently associated with dyspareunia. AUA Annual Meeting 2016. 20160509
 16. H.Ito, Y.Matsuta, Y.Aoki, H.Yamauchi, M.Taga, O.Yokoyama. Lower urinary tract symptoms in patients after treatment for localized prostate cancer. A comparative study: Robot assisted laparoscopic radical prostatectomy vs brachytherapy. WCE2015. 20151004
 17. Y.Aoki, M.Tsutsumiuchi, S.Yokoi, Y.Matsuta, C.Matsumoto, Y.Kusaka, O.Yokoyama. Straining to void is associated with female dyspareunia. ICS2015. 20151007
 18. R.Yokokawa, H.Akino, K.Nagase, O.Yokoyama. Alterations of bladder functions in a rat model of cerebral infarction: effect of the B3-agonists, mirabegron and BRL37344. ICS2015. 20151007
 19. Y.Matsuta, S.Yokoi, N.Hashimoto, Y.Aoki, H.Akino, O.Yokoyama. Low-frequency transcutaneous electrical stimulation of foot ameliorates intractable OAB symptoms. ICS2015. 20151007
 20. T.Kurokawa, X.Zha, H.Yamauchi, Y.Aoki, H.Ito, O.Yokoyama. Urine storage dysfunction in rats with salt-loading hypertension depends on bladder blood flow. ICS2015. 20151007
 21. S.Yokoi, Y.Matsuta, K.Nagase, Y.Aoki, H.Akino, O.Yokoyama. Ketanserin suppressed detrusor overactivity in spontaneously hypertensive rats, suggesting a pathogenic role of 5-HT2A receptor. ICS2015. 20151007
 22. H.Akino, K.Nagase, H.Ito, R.Yokokawa, Y.Matsuta, Y.Aoki, O.Yokoyama. The inhibition of non-voiding contractions due to bladder outlet obstruction by alpha1-adrenoceptor blocker: what is the mechanism underlying this effect? ICS2015. 20151007
 23. O.Yokoyama. Beta-3 agonist. Taiwanese Continence Society. 20150920
 24. O.Yokoyama. Treatment options in OAB

cases refractory to pharmacotherapy. The
32nd KOREA-JAPAN Urological Congress.
20150919

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横山 修 Yokoyama, Osamu
福井大学・学術研究院医学系部門・教授
研究者番号：90242552

(2) 研究分担者

伊藤秀明 Ito, Hideaki
福井大学・学術研究院医学系部門・准教授
研究者番号：00345620

(3) 研究分担者

黒川哲之 Kurokawa, Tetsuyuki
福井大学・学術研究院医学系部門・助教
研究者番号：70529346
(平成 27 年、28 年)

(4) 研究分担者

関 雅也 Seki, Masaya
福井大学・学術研究院医学系部門・助教
研究者番号：70572444