

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20150

研究課題名(和文) 過活動膀胱発症に關与するシグナル伝達系の同定と新規治療薬・診断マーカーの開発

研究課題名(英文) changed folic acid metabolic pathway and apical membrane of urinary bladder is one cause of chronic ischemia related lower urinary tract dysfunction.

研究代表者

赤井畑 秀則 (Akaihata, Hidenori)

福島県立医科大学・医学部・病院助手

研究者番号：70644178

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、慢性膀胱虚血ラットモデルの膀胱を用いたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。そこから、骨盤内動脈硬化に伴う慢性虚血が引き起こす膀胱機能障害の発症メカニズムについて検討、慢性虚血に伴う過活動膀胱の発症メカニズムに促した新たな治療薬の可能性を探究した。その結果、慢性膀胱虚血ラットモデル群は無処置+通常食群、偽手術+通常食群と比べ葉酸代謝経路、脂質代謝、コレステロール合成、尿路上皮のバリアー機構に關連する遺伝子発現が変化していた。

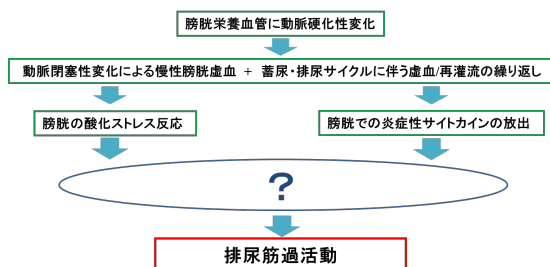
研究成果の概要(英文)：Epidemiological studies have shown that lower urinary tract symptoms (LUTS), such as nocturia, urinary incontinence and urgency, are common among both men and women, with age-related increases seen in both sexes. The pathophysiology of LUTS, particularly in the elderly, is multifactorial. Pelvic arterial occlusive disease, including atherosclerosis, has recently been suggested to cause chronic bladder ischemia, which may play a key role in the development of LUTS in men and women. This study suggested that chronic ischemia affected folic acid metabolic pathway and apical membrane of urinary bladder. It is possible that changed folic acid metabolic pathway and apical membrane of urinary bladder is one cause of chronic ischemia related lower urinary tract dysfunction.

研究分野：泌尿器科

キーワード：慢性膀胱虚血 動脈硬化

## 1. 研究開始当初の背景

動脈硬化に伴う膀胱血流障害が過活動膀胱の重要な病因であることがわかってきた。しかし、過活動膀胱を引き起こす疾患は多種多様であり、多くの患者に複数の要因を認めるため、臨床検体を用いた基礎研究では病態を正確に把握することができなかった。そこで私達の研究グループは世界に先駆けて動脈硬化による慢性虚血膀胱ラットモデルの開発に着手し、それに成功した。ラットに対して、両側腸骨動脈にバルーンによる内皮擦過障害を施し、高脂血症で飼育したモデルである。これによって骨盤内の動脈に閉塞性硬化性病変を引き起こし、膀胱を慢性虚血状態としている。この病態モデルの開発によって基礎研究を行うことが可能となった。このモデルを用いた基礎研究から、動脈硬化による慢性虚血膀胱では、排尿サイクルに従い虚血再還流障害を繰り返えされ、その虚血再還流障害が膀胱壁に酸化ストレス反応と cyclooxygenase-2(COX-2)の発現および炎症性サイトカインの増加を導くことを確認した。その結果として、機能的には過活動膀胱の状態を呈することも我々は証明した (Nomiya M, Neurourol Urodyn 2011)。また、動脈硬化による慢性虚血により膀胱平滑筋の RhoA/Rho-kinase 経路が亢進することを証明した。RhoA/Rho-kinase 経路はカルシウム非依存性収縮に関与している。亢進した RhoA/Rho-kinase 経路が慢性虚血膀胱に膀胱過活動を引き起こす可能性を指摘した (Akaiyata, J Urol. 2015)。しかしながら、動脈硬化に伴う膀胱血流障害が膀胱機能に及ぼす長期変化やその詳細なメカニズムについてはいまだ解明されてない。



過活動膀胱は QOL を低下させるものであり、より効果的な治療を展開させることが求められている。

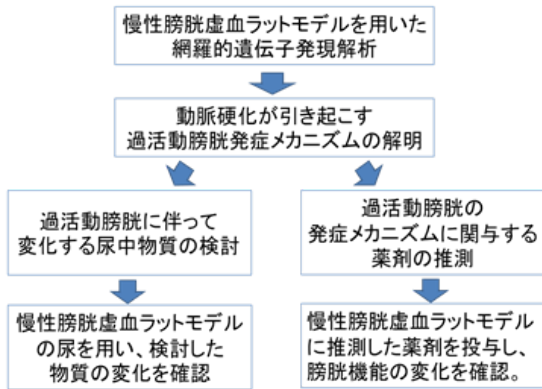
## 2. 研究の目的

一般に、高齢者の膀胱は排尿筋は過活動を呈するが膀胱全体としての収縮力は低下し残尿が増加する。この病態は detrusor hyperactivity impaired contractility (DHIC) と呼ばれる。加齢に伴う膀胱機能の変化には動脈硬化の進行に伴う慢性虚血

が関与する可能性が指摘されている。本研究では、慢性膀胱虚血ラットモデルの膀胱を用いたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析から、骨盤内動脈硬化に伴う慢性虚血が引き起こす膀胱機能障害の発症メカニズムについて検討する。その結果から、慢性虚血に伴う OAB の非侵襲的で簡便な新規診断マーカーや、発症メカニズムに促した新たな治療薬の可能性を探究する。

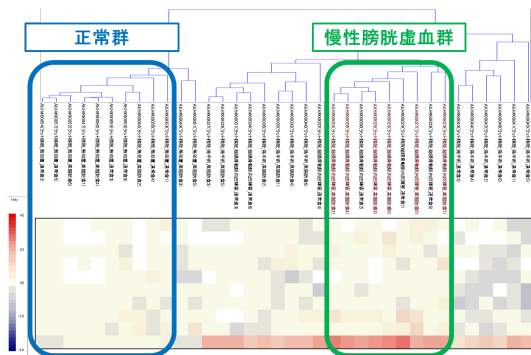
## 3. 研究の方法

16 週齢 Sprague-Dawley (SD) 系雄性ラットにバルーンによる両側総腸骨動脈の内皮傷害を施す。その後、高脂肪食で 8 週間飼育することで動脈硬化を引き起こし、膀胱を慢性虚血とする (慢性膀胱虚血群)。骨盤内動脈硬化に伴う慢性虚血以外の膀胱に影響を与える要因を除外するため、両側総腸骨動脈内皮障害後に通常食で飼育した群、両側偽手術後に高脂肪食で飼育した群、両側偽手術後に通常食で飼育した群、無処置・高脂肪食で飼育した群、無処置・通常食で飼育した群も作成する。この 6 群を 8 週間飼育する。その後、それぞれの群から膀胱を摘出し、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行う。慢性膀胱虚血群でのみ発現が変化している遺伝子群を他の 5 群と比較することから同定し、Functional network 解析を行う。そこから慢性虚血に伴う過活動膀胱の発症機序に関わる可能性があるシグナル伝達系を推測していく。そしてその結果から、慢性膀胱虚血において尿中で変化する物質を検討する。慢性膀胱虚血ラットモデルの尿中の、検討した物質の濃度を測定する。その濃度を正常群の尿中濃度と比べて、実際に慢性虚血により尿中でその物質が変化しているかを確認する。その結果から、その尿中の物質が慢性虚血による膀胱機能障害の重症度判定や治療効果判定マーカーとなり得るのかを検討する。また、尿を検体としたその物質の簡便な測定方法についても考察し、その測定法の確立を目指していく。加えて、網羅的遺伝子発現解析から推測された経路に影響を与える薬剤を適切な経路 (ゾンデを用いた経口投与・静脈注射・腹腔内投与など) で慢性膀胱虚血ラットモデルに投与する。投与後に膀胱内圧測定・等尺性張力実験・膀胱の組織組織学的評価を行い、投与していないラットモデルの膀胱機能と比較する。そこから、薬剤が慢性虚血膀胱の機能に与える影響について確認する。また、投与群と非投与群のラットの状態を比較することで、副作用の有無についても確認する。



#### 4. 研究成果

慢性膀胱虚血ラットモデル群は無処置+通常食群、偽手術+通常食群と比べ葉酸代謝経路、脂質代謝、コレステロール生合成、尿路上皮のバリアー機構に関連する遺伝子発現が変化していた。葉酸代謝経路において産生される物質は虚血再灌流障害への抵抗性や動脈硬化の進行抑制への関与が報告されている物質がある。本研究では、慢性膀胱虚血ラットモデルへの葉酸代謝経路の代謝産物の経口投与を行った。その結果、慢性膀胱虚血ラットモデルの下部尿路機能障害発症を予防することができた。葉酸代謝経路の代謝産物に虚血再灌流障害を予防する効果があると考えられ、膀胱においても虚血再灌流による平滑筋障害を予防すべく葉酸代謝経路を亢進させている可能性が考えられた。また、尿路上皮のバリアー機構は膀胱粘膜の恒常性の維持に関与している。このバリアー機構の障害が間質性膀胱炎発症に関与している可能性や、排尿筋過活動に関与しているとの報告は散見されている。本研究では免疫染色も施行したが、それにおいても尿路上皮のバリアー機構の障害を確認することができた。慢性虚血膀胱における下部尿路機能障害の発症機序に、尿路上皮のバリアー機構の障害が関与している可能性も考えられた。



葉酸代謝経路の代謝産物や尿路上皮のバリアー機構に関与する尿中物質のうち、尿中で安定している物質は少ないが、採取した尿を前処置することで測定可能な物質はある。そ

れらの物質の尿中濃度が膀胱の虚血再灌流による膀胱平滑筋や尿路上皮バリアー機構の障害の程度を反映していると考えられる。それらの物質を測定することが、過活動膀胱重症度評価や過活動膀胱へ治療を行った際の治療効果判定の一つに利用できる可能性があると考えられる。

#### 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 件)  
未定

〔学会発表〕(計 件)  
未定

〔図書〕(計 件)  
未定

〔産業財産権〕  
未定

出願状況(計 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 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

#### 6. 研究組織

福島県立医科大学医学部 泌尿器科学講座

(1)研究代表者 赤井畑 秀則  
(病院助手)

研究者番号：70644178

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：

(4)研究協力者  
( )