

令和 2 年 9 月 15 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16728

研究課題名(和文) 神経可塑性の阻害を目指した脊髄疾患由来排尿障害に対する新規治療ストラテジーの構築

研究課題名(英文) A novel therapeutic strategy for voiding dysfunction caused by spinal cord injury through inhibition of neural plasticity

研究代表者

山内 寛喜 (Yamauchi, Hiroki)

福井大学・学術研究院医学系部門・特別研究員

研究者番号：40464086

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：核上型脊髄損傷では排尿筋外尿道括約筋協調不全(DSD)がみられ、上部尿路機能障害から腎不全を惹起する。DSDの発生には、膀胱と尿道括約筋が脊髄を介して可塑性変化を生じグルタミン酸受容体が関与する可能性もある。8週齢SD系雌性ラットをTh8レベルで切断し、切断後様々な時期にNMDA受容体の拮抗薬であるDizocilpinを腹腔内へ投与しDSDに対する影響をみた。NMDA受容体はnon-voiding bladder contractionの発生に関与し、損傷後1週間以内のNMDA受容体遮断が脊髄損傷患者の治療に繋がる可能性がある。排尿効率も改善するのでDSDの発生にも関与していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊髄損傷では尿排出障害や尿失禁などの下部尿路機能障害は必発で、障害が継続すると腎不全を惹起する。下部尿路機能障害には排尿筋外尿道括約筋協調不全がみられるが、これを治療することはこれまで困難とされてきた。そこで雌性ラットに脊髄損傷由来の排尿筋外尿道括約筋協調不全を作成し、グルタミン酸受容体の1つNMDA(N-methyl-D-aspartate)受容体の役割について検討を行った。その結果、脊髄損傷受傷後1週間NMDA受容体を遮断する薬剤を投与すると膀胱の異常な収縮の発生が抑制され、残尿も少なくて排尿効率が良いことが確認された。NMDA受容体遮断は脊髄損傷患者の治療に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Detrusor-urethral sphincter dyssynergia (DSD) is observed in supranuclear spinal cord injury, causing renal failure from upper urinary tract dysfunction. It is possible that the lower urinary tract undergo neuro-plastic changes through the spinal cord via glutamate receptors NMDA (N-methyl-D-aspartate) in the development of DSD. The spinal cord was cut at the Th8 level in 8-week-old SD female rats, and Dizocilpin (an NMDA receptor antagonist) was intraperitoneally administered at various times after the cutting to see the influence on DSD. As a result, NMDA receptors are involved in the development of non-voiding bladder contraction. Inhibition of NMDA receptors for 1 week after spinal cord injury may become treatment strategy in patients with spinal cord injury. Since NMDA receptors antagonist also improves micturition efficiency, it is likely to be involved in the occurrence of DSD.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：脊髄損傷 排尿障害 グルタミン酸 NMDA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急速な高齢化に伴う脊髄疾患の増加は、脊髄障害由来の下部尿路機能障害(Lower Urinary Tract Dysfunction, LUTD)を増加させる。この LUTD は膀胱排尿筋と尿道括約筋の協調的な作用を喪失させ難治性排尿障害を生じ、難治で患者の生活の質を低下させることが多い。脊髄の完全損傷の場合に排尿反射は仙髄反射弓により行われる。脳幹部で制御された排尿筋と括約筋の協調性が失われるため排尿筋括約筋協調不全 (detrusor sphincter dyssynergia : DSD)となり、膀胱高圧のため膀胱壁の肉柱形成、膀胱尿管逆流が頻繁にみられる。これは脊髄における神経可塑性に基づく不可逆的な神経回路が完成してしまうからで、完成された回路の解除は容易ではない。Seki らは脊髄損傷ラットの席髄腔内に神経成長因子 NGF の抗体を注入し膀胱の不随意収縮 (non-voiding contraction; NVC) が抑制されることを報告した¹⁾。しかし臨床的に NGF の抗体を注入することは非現実的である。当研究室ではこれまで脊髄損傷モデルを雌性ラットに作成し、外尿道括約筋の筋協調不全を電気生理学的に解析してきた。それによると脊髄損傷作成後1か月でDSDが完成し、1サブタイプ選択性にその異常活動が経度改善することが解明された²⁾。しかしその活動を完全に抑制することは困難であり、その発生メカニズムを含めて新たな治療ストラテジーが必要であることが痛感された。

2. 研究の目的

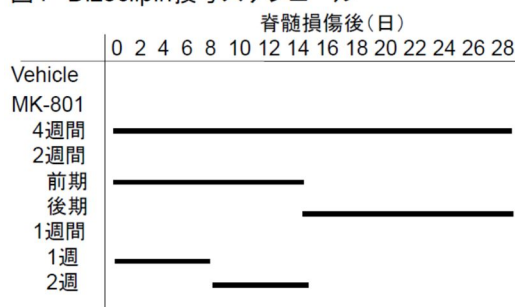
本研究は難解とされた脊髄損傷に起因する膀胱排尿筋・尿道括約筋障害 DSD の発生メカニズム解明を目指す。脊髄損傷ラットを使用し、求心性 c-fiber からの知覚刺激の異常伝達にはじまる神経可塑性に基づく不可逆的回路が構築される時期を明らかにする。また、薬剤に対する反応を解析することで、新規治療ストラテジーの開発に貢献することが期待される。

3. 研究の方法

(1) 脊髄損傷ラットの作成：8週齢 SD 雌性ラットを用い、ハロセン麻酔下に Th8 にて脊髄損傷ラットを作成する。その後、反射性排尿が完成する4週まで排尿補助を行い、4週でハロセン麻酔下に膀胱瘻作成手術を行う。下腹部正中切開により膀胱内圧測定用の膀胱カテーテルを設置する。外尿道口周囲より2本ウレタンコーティング0.05 mm 電極を尿道括約筋に挿入し、0.2 ml/min の速さで生理食塩水を膀胱内に注入し、膀胱内圧、外尿道括約筋電図を測定する。1回排尿量、残尿量、排尿効率、不随意収縮 (non-voiding contraction; NVC) をパラメーターとして、グルタミン酸受容体 NMDA (N-methyl-D-aspartate)の拮抗薬である Dizocilpin (MK-801)を連日4週間腹腔内へ投与した。NVC と baseline の差を NVC 圧とし、また、7cmH₂O 以上の圧波形の回数を NVC として測定した。

(2) 脊髄損傷後に脊髄における神経可塑性が完成するタイミングを解明する：DSD という可塑性発生時期を同定する目的で、脊髄切断直後から2週間 Dizocilpin 投与した群 (MK 前半2週)、後半2週間投与した群 (MK 後半2週)、脊髄切断直後から1週間 Dizocilpin 投与した群 (MK 直後1週)、脊髄切断1週間後から1週間 Dizocilpin 投与した群 (MK1 週後1週) 作成し、NVC の頻度、圧変化、排尿間隔、残尿量、排尿効率などのパラメータを vehicle 投与群との間で比較した (図1)。

図1 Dizocilpin投与スケジュール



4. 研究成果

(1) 脊髄損傷まで NMDA 受容体を遮断することで non-voiding bladder contraction (NVC) の発生を抑制し、排尿間隔は短縮することも確認した (図2、3、4、5)。

図2 Vehicle群の膀胱内圧曲線

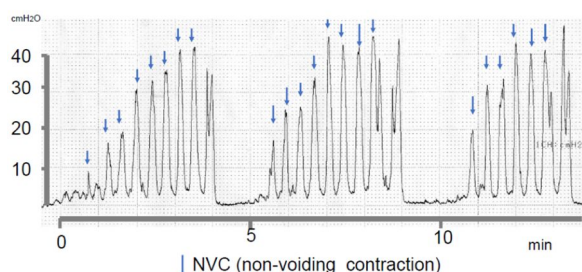


図3 MK-801群(4週投与群)

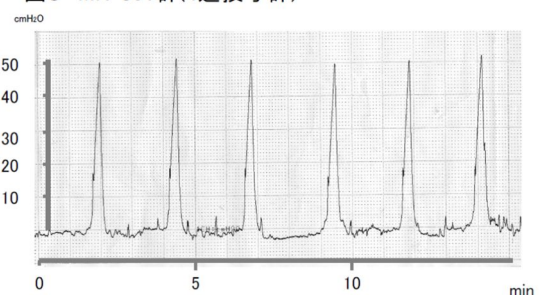


図4 MK-801投与4週先行群(NVC数)

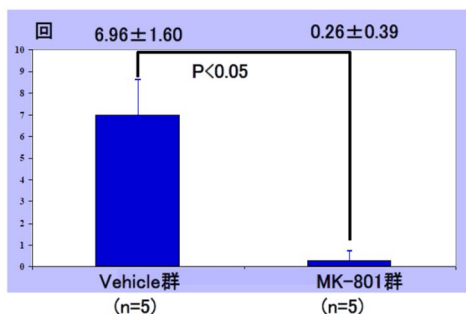
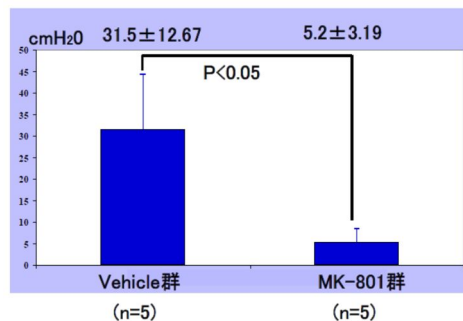


図5 MK-801投与4週先行群(NVC圧)



(2) MK前半2週群ではNVCの頻度、圧とも有意に抑制された(図6)。残尿量の減少とともに排尿間隔の短縮も認められた。MK後半2週群ではNVCの頻度、圧とも抑制はみられず残尿量も多かった(図7)。MK直後1週群ではNVC頻度・圧とも有意に抑制され、残尿量と排尿間隔も減少した。しかしMK1週後1週群ではNVC頻度・圧の増加、残尿量の増加、排尿間隔の増加がみられた。

図6 MK-801投与前期2週(MK前半2週)群

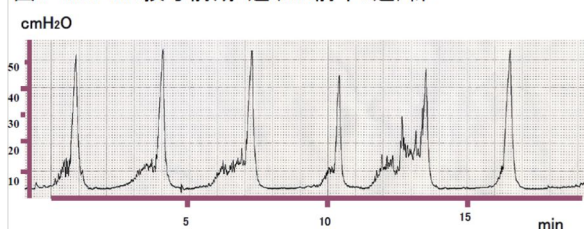
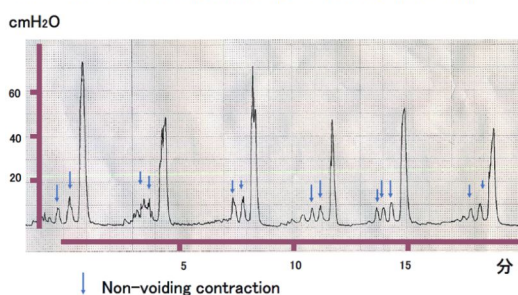


図7 MK-801投与後期2週投与(MK後半2週)群



以上の結果から、グルタミン酸 NMDA 受容体は脊髄損傷慢性期にみられる NVC の発生に関与していると示唆され、脊髄損傷後 1 週間以内に NMDA 受容体を遮断することで発生を抑制できる可能性がある。また残尿も減少させることより、dyssynergic な外尿道括約筋収縮の発生にも関与している可能性も考えられた。脊髄損傷では尿排出障害や尿失禁などの下部尿路機能障害は必発で、障害が継続すると腎不全を惹起する。下部尿路機能障害には排尿筋外尿道括約筋協調不全(DSD)がみられるが、これを治療することはこれまで困難とされてきた。雌性ラットに脊髄損傷由来の排尿筋外尿道括約筋協調不全を作成し、グルタミン酸受容体の1つ NMDA 受容体の役割について検討を行った。その結果、脊髄損傷受傷後 1 週間 NMDA 受容体を遮断する薬剤を投与すると膀胱の異常な収縮の発生が抑制され、残尿も少なくて排尿効率が良いことが確認された。脊髄損傷後早期に投与すれば NMDA 受容体遮断は脊髄損傷患者の排尿障害の治療に繋がる可能性がある。

引用文献

Seki S, Sasaki K, Fraser MO, Igawa Y, Nishizawa O, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N. Immunoneutralization of Nerve Growth Factor in Lumbosacral Spinal Cord Reduces Bladder Hyperreflexia in Spinal Cord Injured Rats. *J Urol.* 2002, 168: 2269-2274.

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

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----