

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月28日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21659371

研究課題名（和文） OABの発生：尿道上皮由来のATP/PG/NGFはkey mediatorか

研究課題名（英文） Are ATP, PG and NGF released from the urethral epithelium key mediator to develop overactive bladder ?

研究代表者

棚瀬 和弥 (TANASE KAZUYA)

福井大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00359720

研究成果の概要（和文）：女性混合性尿失禁、男性の前立腺肥大症といった病態において尿道はその蓄尿症状を発生、もしくは修飾している可能性がある。また蓄尿症状は尿道上皮由来 mediator を介している可能性もある。尿道上皮由来 mediator をモニターする目的で新しい実験系を構築した。雌性ラットに下部尿路閉塞（bladder outlet obstruction: BOO）を作成し、病態下における尿道の mediator 放出能と、COX-1/2 inhibitor、prostaglandin 受容体である EP1/3 antagonist、 $\alpha$  受容体遮断薬の効果について検討した。

尿道伸展により、尿道上皮より放出されるATP・PGE<sub>2</sub>は有意に増加した。BOOラットでは、sham手術ラットに比べその放出量は少なく有意差が認められた。また、 $\alpha$ 1A/Dの遮断薬のtamsulosinではATP、PGE<sub>2</sub>を抑制することはできなかった。また、tamsulosinは膀胱上皮由来のATP/PGE<sub>2</sub>の放出を抑制することはできなかったが、同じ $\alpha$ 1A/Dの遮断薬のnaftopidilはBOOラット膀胱伸展によるATP/NGFの放出を有意に抑制した。したがって $\alpha$ 1A/D遮断薬の蓄尿機能改善効果は尿道上皮由来mediatorを介しているとは考えにくく、膀胱上皮由来mediatorを介して求心性入力 of 遮断を行っている可能性がある。Non-selective COX inhibitorであるIndomethacinとKetoprofenはそれぞれ48%、70%の有意なPGE<sub>2</sub>放出量の減少を認めた。またIndomethacinはATP放出も有意に減少させた。しかし、EP antagonist (ONO-8711: EP1 antagonist、ONO-AE5-599: EP3 antagonist) はPGE<sub>2</sub>放出量を変化させなかった。EP3 antagonistはATP放出を減少させた。

以上の結果から尿道上皮からは膀胱上皮と同様にATPやPGE<sub>2</sub>のmediator放出がみられ、 $\alpha$ 遮断薬では抑制できなかったが、COX inhibitorではPGE<sub>2</sub>放出抑制と、ATPの抑制も観察された。今後新薬としての可能性が期待される。

研究成果の概要（英文）：Stretch-induced release of some mediators from the urethral epithelium may play an important role in the induction of detrusor overactivity in patients with mixed incontinence or bladder outlet obstruction. In the present study, we evaluated whether the urethral epithelium was capable of synthesizing and releasing mediators in response to urethral distension. The ATP releases elicited by urethral distension for three minutes increased significantly, reaching 13 times as much as those at baseline. The PGE<sub>2</sub> release also increased significantly, 7 times as much as those at baseline. The nonselective COX inhibitor ketoprofen significantly suppressed ATP release by 64% and PGE<sub>2</sub> release by 51%. Therefore, there is a possibility that mediators released from the urethra participate in the development of detrusor overactivity. PGE<sub>2</sub> release was not influenced by both of EP1 antagonist ONO-8711 or EP3 antagonist ONO-AE5-599. However they significantly suppressed ATP release. Intraurethral or intravenous administration of  $\alpha$ 1-blocker tamsulosin did not suppress ATP or PGE<sub>2</sub> release from the urethra.

In BOO rats; the ATP release elicited by urethral distension increased reaching 2 times as much as those at baseline. The PGE<sub>2</sub> release also increased reaching 6 times as much as those at baseline. As compared with the normal rats, the ATP release of BOO rats were decreased significantly. A similar trend was observed for the PGE<sub>2</sub> release, but not significantly. As compared with the normal rats, the ATP release of BOO rats were

significantly decreased. A similar trend was observed for the PGE<sub>2</sub> release, but without significance. Intraurethral administration of tamsulosin did not suppress the increase in ATP or PGE<sub>2</sub> release from the urethral epithelium.

Although  $\alpha$ 1-blocker has been reported to suppress detrusor overactivity via inhibition of urethral afferent nerves, the underlying mechanism did not depend on mediators from the urethral urothelium. COX inhibitors decreased ATP release from the urethelium, suggesting that there was an interaction between ATP and PGE<sub>2</sub>. COX inhibitors may become a new therapeutic strategy for patients with OAB caused by the incompetent urethra.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	0	1,800,000
2010年度	600,000	0	600,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	180,000	3,180,000

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：前立腺肥大症、混合性尿失禁、尿道上皮、ATP、Prostaglandin、 $\alpha$ 1遮断薬、COX inhibitor、EP遮断薬

#### 1. 研究開始当初の背景

伸展受容器としての膀胱上皮と膀胱知覚神経 C-fiber との関係に注目が集まっているが、尿意あるいは尿意切迫感がなぜ生じるのか、その細胞レベルでのメカニズムは十分に解明されているとは言えない。これまで膀胱上皮の伸展に伴って上皮自体から放出される ATP や、上皮の局所環境の変化（アシドーシスなど）により膀胱知覚神経（C線維）が刺激され、これが尿意切迫をもたらしている可能性が指摘されてきた。プリン受容体 P2X<sub>3</sub> のノックアウトマウス（Nature 2000; 407: 1011）やバニロイド受容体 TRPV1 のノックアウトマウス（Nature Neurosci 2002; 5: 856）では ATP やホルマリンの痛みに対する反応が低下するが、膀胱伸展刺激に対する反応性の減弱とともに膀胱容量の増大、排尿回数の減少もみられたとする報告は ATP や侵害刺激が知覚神経を介して排尿反射の発生に関与していることを示唆する。しかし下部尿路閉塞や前立腺腫大に伴う尿意切迫感は果たしてこのメカニズムで説明できるのか。これまでわれわれは前立腺腫大に伴う排尿筋過活動に対し、尿道粘膜麻酔を行うとその抑制がみられ、また prostaglandin(PG)E<sub>2</sub> でラット尿道を刺激すると排尿筋過活動が引き起こされることを報告してきた（J Urol 151: 1554, 1994; 177:771, 2007）。また前立腺腫大に伴う排尿筋過活動は膀胱麻酔では抑制できない（J Urol 164: 340, 2000）こと

より、下部尿路閉塞ないしは前立腺腫大に伴う過活動膀胱のメカニズムは膀胱由来でない可能性がある。われわれは尿道知覚神経に由来する過活動膀胱が存在するという仮説を立てた。

#### 2. 研究の目的

これまで尿道の知覚神経に注目し、これが前立腺腫大にみられる過活動膀胱の発生に直接関与していることを証明した論文はない。われわれの尿道麻酔を用いたヒトでの報告（J Urol 151: 1554, 1994）、ラット尿道を PGE<sub>2</sub> 刺激すると排尿筋過活動が生じるといった報告（J Urol 177:771, 2007）があるのみで、特に尿道上皮から放出される mediator についての報告は皆無である。現在まだ予備実験ではあるが、尿道上皮を伸展することで上皮から放出される ATP、PGE<sub>2</sub> は正常の 10 倍以上放出されることを確認しており、尿道上皮の伸展あるいは侵害刺激がこれら mediator を介して排尿反射を惹起する可能性は十分にあると考えている。現在、男性下部尿路症状の第一選択薬は  $\alpha$  遮断薬であるが、その作用機序として尿道の mediator の抑制効果もあるのではないかと考えている。さらに新規治療薬としての COX inhibitor や EP 遮断薬の尿道への作用の可能性についても検討したい。また、前立腺腫大以外の病態、たとえば女性の混合性尿失禁などでも、尿道への尿の溢流が、尿道-膀胱反射を介して尿

失禁を助長させている可能性もある。尿道と膀胱の、尿道上皮 mediator を介しての関連について以下の実験を行った。

### 3. 研究の方法

尿道上皮由来 mediator をモニターする目的で新しい実験系を構築した。

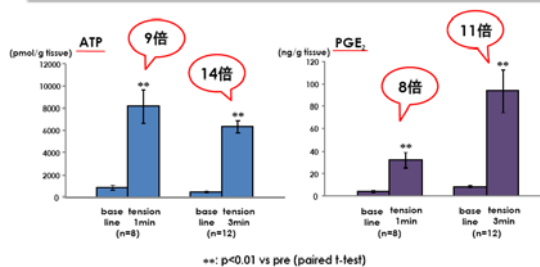
(1) 雌性ラットに下部尿路閉塞 (bladder outlet obstruction: BOO) を作成した。BOO 作成 1 カ月後、ハロセン麻酔下でラット下腹部正中切開を行い、膀胱を露出。三角部から尿道括約筋までを閉鎖腔として膀胱側と尿道側にカテーテルを装着した。膀胱側より Krebs 液 150 $\mu$ L で尿道を灌流した (control) 後、尿道側カテーテルを閉塞させ、再び 150 $\mu$ L 注入して尿道拡張を起こした。Krebs 液を回収し、ATP 濃度や PGE<sub>2</sub> 濃度を luciferin-luciferase 法ならびに ELISA 法にて測定した。

(2) 尿道の mediator 放出能と、COX-1/2 inhibitor (Indomethacin と Ketoprofen)、prostaglandin 受容体である EP1/3 の antagonist (ONO-8711: EP1 antagonist; ONO-AE5-599: EP3 antagonist)、 $\alpha$  受容体遮断薬 (tamsulosin、naftopidil) の効果について検討した。これらの薬剤を Krebs 液 150 $\mu$ L 中に添加し、同様に尿道腔内に注入して伸展、回収後、ATP 濃度や PGE<sub>2</sub> 濃度を luciferin-luciferase 法ならびに ELISA 法にて測定した。

### 4. 研究成果

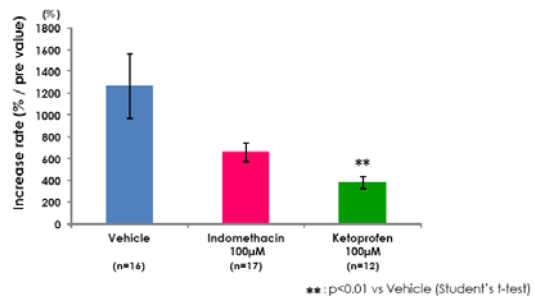
尿道伸展により、尿道上皮より放出される ATP・PGE<sub>2</sub> は有意に増加した (図 1)。

図1伸展刺激によりATPは9~14倍、PGE<sub>2</sub>は8~11倍に増加した



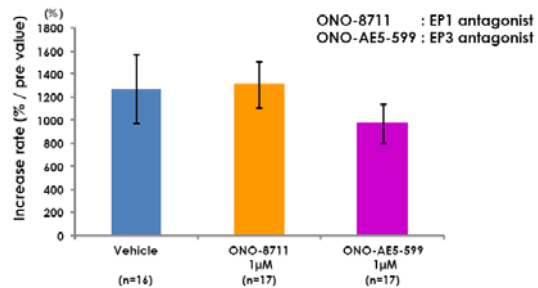
Non-selective COX inhibitor である Indomethacin と Ketoprofen はそれぞれ 48%、70%の有意な PGE<sub>2</sub> 放出量の減少を認めた (図 2)。

図2尿道伸展に伴うPGE<sub>2</sub>放出量に対するCOX inhibitorの効果



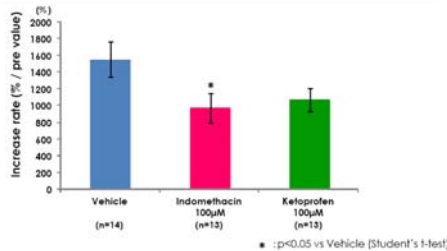
しかし、EP antagonist (ONO-8711: EP1 antagonist、ONO-AE5-599: EP3 antagonist) は PGE<sub>2</sub> 放出量を変化させなかった (図 3)。

図3尿道伸展に伴うPGE<sub>2</sub>放出量に対するEP antagonistの効果



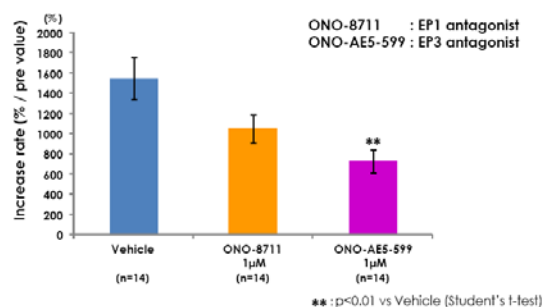
また Indomethacin は ATP 放出も有意に減少させた (図 4)。

図4尿道伸展に伴うATP放出量に対するCOX inhibitorの効果



EP3 antagonist は ATP 放出を減少させた (図 5)。

図5尿道伸展に伴うATP放出量に対するEP antagonistの効果



BOO ラットでは、sham 手術ラットに比べ ATP や PGE<sub>2</sub> の放出量は少なく有意差が認められた (図 6、7)。

図6 BOOでは尿道伸展刺激によるATP放出量が減少した

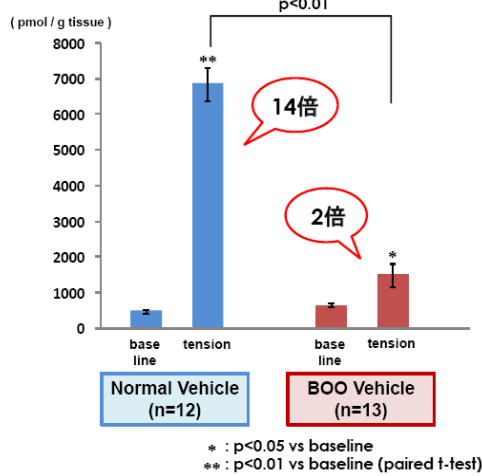
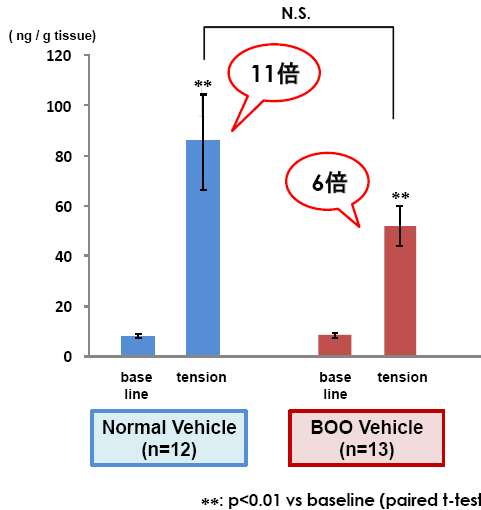


図7 BOOでは尿道伸展刺激によるPGE<sub>2</sub>放出量が減少した



また、 $\alpha$ 1A/Dの遮断薬の tamsulosin ではATP、PGE<sub>2</sub>を抑制することはできなかった (図8、9)。

図8 ATP放出量に対するTamsulosinの影響

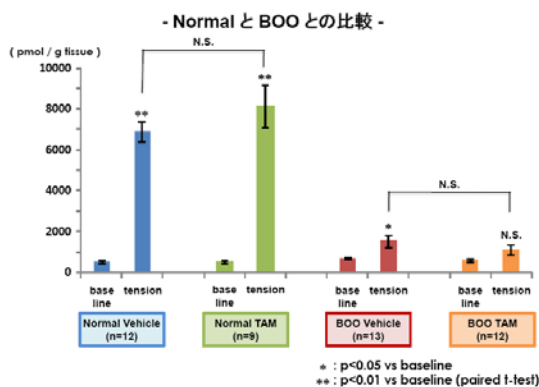
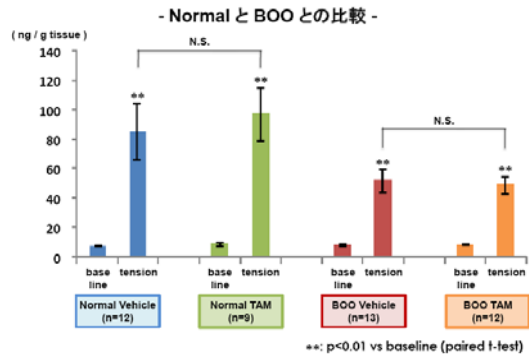


図9 PGE<sub>2</sub>放出量に対するTamsulosinの影響



tamsulosin は膀胱上皮由来の ATP/PGE<sub>2</sub> の放出を抑制することはできなかったが、同じ  $\alpha$ 1A/D の遮断薬の naftopidil は BOO ラット膀胱伸展による ATP/NGF の放出を有意に抑制した。

以上の結果より、 $\alpha$ 1A/D 遮断薬の蓄尿機能改善効果は尿道上皮由来 mediator を介しているとは考えにくく、膀胱上皮由来 mediator を介して求心性入力 of 遮断を行っている可能性がある。最近、naftopidil は 5-HT (セロトニン) 受容体のアンタゴニストとしての作用が報告されているが、 $\alpha$ 1A/D 遮断薬の BOO における蓄尿機能改善効果は、このような他の受容体遮断効果に由来している可能性もあると推察された。

尿道上皮からは膀胱上皮と同様に ATP や PGE<sub>2</sub> の mediator 放出がみられ、 $\alpha$  遮断薬では抑制できなかったが、COX inhibitor では PGE<sub>2</sub> 放出抑制と、ATP の抑制も観察された。今後新薬としての可能性が期待される。

## 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 2 1 件)

1. Aoki Y, Yokoyama O. Metabolic syndrome and nocturia. *LUTS* 2012, 4:11-15 査読有  
doi: 10.1111/j.1757-5672.2011.00118.x
2. 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* 2012, in press 査読有
3. Ito H, Yoshiyasu T, Yamaguchi O, Yokoyama O. Male LUTS: hypertension as a risk factor for storage symptoms, but not voiding symptoms. *LUTS* 2012, in press 査

- 読有 doi: 10.1111/j.1757-5672.2011.00115.x
4. Nagase K, Ito H, Aoki Y, Tanase K, Akino H, Yokoyama O. Co-administration of an  $\alpha(1)$ -blocker improves the efficacy and safety of antimuscarinic agents in rats with detrusor overactivity. *Int J Urol*. 2011, 18:836-843 査読有  
doi: 10.1111/j.1442-2042.2011.02868.x
  5. Gotoh M, Homma Y, Yokoyama O, Nishizawa O. Responsiveness and minimal clinically important change in overactive bladder symptom score. *Urology*. 2011, 78:768-773 査読有  
doi:10.1016/j.urology.2011.06.020
  6. Homma Y, Gotoh M, Yokoyama O, Masumori N, Kawauchi A, Yamanishi T, Ishizuka O, Seki N, Kamoto T, Nagai A, Ozono S. Outline of JUA clinical guidelines for benign prostatic hyperplasia. *Int J Urol*. 2011, 18:741-756 査読有.  
doi: 10.1111/j.1442-2042.2011.02860.x.
  7. Yokoyama O, Yamaguchi O, Kakizaki H, Itoh N, Yokota T, Okada H, Ishizuka O, Ozono S, Gotoh M, Sugiyama T, Seki N, Yoshida M, Yamada S. Efficacy of solifenacin on nocturia in Japanese patients with overactive bladder: impact on sleep evaluated by bladder diary. *J Urol*. 2011, 186:170-174. 査読有  
doi:10.1016/j.juro.2011.02.2700
  8. Yamaguchi O, Kakizaki H, Homma Y, Takeda M, Nishizawa O, Gotoh M, Yokoyama O, Seki N, Yoshida M; ASSIST Study Group. Solifenacin as Add-on Therapy for Overactive Bladder Symptoms in Men Treated for Lower Urinary Tract Symptoms-ASSIST, Randomized Controlled Study. *Urology*. 2011, 78:126-133 査読有.  
doi:10.1016/j.urology.2011.02.055
  9. Yokoyama O, Tanaka I, Kusukawa N, Yamauchi H, Ito H, Aoki Y, Oyama N, Miwa Y, Akino H. Antimuscarinics suppress adenosine triphosphate and prostaglandin E2 release from urothelium with potential improvement in detrusor overactivity in rats with cerebral infarction. *J Urol*. 2011, 185:2392-2397 査読有  
doi: 10.1016/j.juro.2011.02.048
  10. Yokoyama O, Aoki Y, Tsujimura A, Takao T, Namiki M, Okuyama.  $\alpha(1)$ -Adrenoceptor blocker naftopidil improves sleep disturbance with reduction in nocturnal urine volume. *World J Urol* 2011, 29: 233-238 査読有  
doi: 10.1007/s00345-010-0544-4
  11. Tanaka I, Nagase K, Tanase K, Aoki Y, Akino H, Yokoyama O. Modulation of Stretch-evoked Adenosine Triphosphate Release from the Bladder Epithelium by Prostaglandin E<sub>2</sub> *J Urol* 2011; 185: 341 査読有  
doi: 10.1016/j.juro.2010.09.042
  12. Yokoyama O. Pharmacologic and Genetic Analysis of Mechanisms Underlying Detrusor overactivity in rats. *NeuroUrol Urodyn* 29: 107-111, 2010 査読有  
doi: 10.1002/nau.20746
  13. Yokoyama O, Ito H, Namiki M. Influence of Urethral Sphincter Incompetence on Bladder Shape and Function in Myelodysplastic Children. *LUTS* 2 : 27–30, 2010 査読有  
doi: 10.1111/j.1757-5672.2010.00056.x
  14. Yokoyama O, Ito H, Aoki Y, Oyama N, Miwa Y, Akino H. Selective  $\alpha 1A$ -blocker improves bladder storage function in rats via suppression of C-fiber afferent activity. *World J Urol* 28:609-14, 2010 査読有  
doi: 10.1007/s00345-009-0481-2
  15. Yokoyama O, Matsuta Y, Yanai-Inamura H, Watanabe M, Ohtake A., Suzuki M, Sasamata M. Zolpidem increases bladder capacity and decreases urine excretion in rats. *NeuroUrol Urodyn* 29:107-111, 2010 査読有  
doi: 10.1002/nau.20797
  16. Yamauchi H, Akino H, Ito H, Aoki Y, Nomura T, Yokoyama O. Urinary Prostaglandin E(2) was increased in patients with suprapontine brain diseases, and associated with overactive bladder syndrome. *Urology*. 76(5):1267, 2010 査読有  
doi:10.1016/j.urology.2010.06.012
  17. Matsuta Y, Yusup A, Tanase K, Ishida H, Akino H, Yokoyama O. Melatonin increases bladder capacity via GABAergic system and decreases urine volume in rats. *J Urol* 184: 386-91, 2010 査読有  
doi: 10.1016/j.juro.2010.03.002
  18. Tanaka I, Nagase K, Tanase K, Aoki Y, Akino H, Yokoyama O. Improvement of non-inflammatory detrusor overactivity through suppression of peripheral C-fiber by cyclooxygenase inhibitors. *J Urol* 183: 786-792, 2010 査読有  
doi: 10.1016/j.juro.2009.09.071
  19. Yokoyama O, Ishiura Y, Nakamura Y. Animal model with detrusor overactivity caused by cerebral infarction as a useful tool for pharmacological therapeutic approaches. *LUTS* 1: S98-S100, 2009 査読有

- doi: 10.1111/j.1757-5672.2009.00042.x
20. Yamaguchi O, Nishizawa O, Takeda M, Yokoyama O, Homma Y, Kakizaki H, Obara K, Gotoh M, Igawa Y, Seki N, Yoshida M; Neurogenic Bladder Society Clinical guidelines for overactive bladder. *Int J Urol* 16:126-42, 2009 査読有  
doi: 10.1111/j.1442-2042.2008.02177.x
  21. Homma Y, Araki I, Igawa Y, Ozono S, Gotoh M, Yamanishi T, Yokoyama O, Yoshida M. Clinical guideline for male lower urinary tract symptoms. *Int J Urol* 16:775-790, 2009 査読有  
doi: 10.1111/j.1442-2042.2009.02369.x

[学会発表] (計9件)

1. Yokoyama O: Treatment satisfaction with antimuscarinics in male patients with overactive bladder. 6<sup>th</sup> Japan-Asean Conference on Men's Health and Aging. 2011.7.1, Kamakura, Japan
2. Yokoyama O: Epidemiology in men's health. 5<sup>th</sup> Japan-Asean Conference on Men's Health and Aging. 2010.7.9, Kota Kinabalu, Malaysia
3. Yokoyama O: Understanding the Science, 30th Congress of the Societe Internationale d'Urologie, Counting the Cost of OAB and Its Burden on Society, 2009.11.3, Shanghai(CHN)
4. Aoki Y, Kusukawa N, Matsuta Y, Maegawa M, Tanase K, Ito H, Oyama N, Miwa Y, Akino H, Yokoyama O: Relationship between nocturia and metabolic syndrome, International Continence Society 39th Annual Meeting, 2009.10.3, San Francisco(USA)
5. 横山 修: 下部尿路症状とメタボリック症候群との関連について, 第16回日本排尿機能学会, ランチョンセミナー1, 2009.9.12, 福岡
6. Yokoyama O: Erectile dysfunction and lower urinary tract symptoms: possible pathophysiological relation to vascular function, 4th Japan and Korea Satellite Symposium, 2009.7.2, Toyama
7. Aoki Y, Takahara N, Tanase K, Ito H, Oyama N, Miwa Y, Akino H, Yokoyama O: Is female nocturia associated with metabolic syndrome?, 2009 Annual Meeting of American Urological Association, 2009.4.28, Chicago(USA)
8. Yamauchi H, Ito H, Aoki Y, Akino H, Yokoyama O, Nomura T: What is the most valuable mediator secreted from the urothelium of the urinary bladder in

patients with neurogenic overactive bladder?, 2009 Annual Meeting of American Urological Association, 2009.4.7, Chicago(USA)

## 5. 研究組織

### (1) 研究代表者

棚瀬和弥 (TANASE KAZUYA)  
福井大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号: 00359720

### (2) 研究分担者

秋野 裕信 (AKINO HIRONOBU)  
福井大学・医学部・准教授  
研究者番号: 90159335  
横山 修 (YOKOYAMA OSAMU)  
福井大学・医学部・教授  
研究者番号: 90242552  
楠川直也 (KUSUKAWA NAOYA)  
福井大学・医学部・助教  
研究者番号: 80372499  
渡邊望 (WATANABE NOZOMU)  
福井大学・医学部附属病院・医員  
研究者番号: 80572429