

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：18001

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650321

研究課題名(和文) 加齢にともなう排尿障害への早期薬物リハビリテーション介入

研究課題名(英文) Age-related bladder dysfunction and early drug treatment

研究代表者

宮里 実 (MIYAZATO, Minoru)

琉球大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：70301398

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)：加齢に伴う膀胱平滑筋細胞間結合(ギャップ結合)の変化に着目して加齢にともなう排尿障害メカニズムの解明を行った。結果、若年ラットに比べ老齢ラットではギャップ結合蛋白濃度は減少し、膀胱の収縮圧も低下した。膀胱ギャップ結合は、平滑筋細胞の細胞間伝達に重要な役割を果たしていることが示唆された。したがって、ギャップ結合蛋白の減少は、加齢にともなう排尿障害を引き起こす原因の一つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：To confirm the mechanisms of age-associated detrusor underactivity (DU), we examined the differences in bladder activity and connexin-43 (Cx43)-derived gap junctions in the bladders of young and old rats. Cystometric evaluations revealed that compared with young rats, bladder contractility was reduced by 27% and residual urine volume was significantly increased in old rats. Under isovolumetric conditions, bladder contraction was suppressed after the intravesical application of carbenoxolone. In the bladders of old rats, increase of smooth muscle cell hypertrophy and fibrous tissue was observed compared with young rats. In association with these findings, immunostaining for smooth muscle Cx43 and its protein level were decreased by 28% compared with young rats. These results suggest that age-related DU might be caused by the downregulation of gap junctional intercellular communication in the bladder.

研究分野：神経泌尿器科

キーワード：加齢 低活動膀胱 過活動膀胱 ギャップ結合

1. 研究開始当初の背景

膀胱は、自律神経支配を受けている臓器のなかで唯一随意調節ができる。しかし、加齢にともないその機能は衰え、頻尿や尿失禁をともなういわゆる過活動膀胱の状態となる。40歳以上の12%にあたる約810万人が過活動膀胱と推計されている。一方で、加齢にともない膀胱の収縮力が低下し、低活動膀胱の状態も合併する。この相反する現象が加齢に伴う膀胱機能障害の特徴であるが、有効な治療法もない。私たちもこれまで排尿反射機構の解明を目指して研究を行ってきた。そのなかで過活動性膀胱の筋原生要因として、膀胱平滑筋細胞間結合(ギャップ結合)の増加が関与していることを見出している。閉塞膀胱などの病的状態では膀胱平滑筋細胞間結合が密となり、個々の平滑筋細胞が伸展刺激で同期して収縮しやすくなっている。一方、見方を変えると膀胱平滑筋細胞間ギャップ結合の低下は低活動膀胱の原因になる可能性があり、その点に着目した。

糖尿病やメタボリック症候群モデルラットの膀胱機能変化を経時的にみた報告によると、当初は過活動膀胱から、やがて低活動膀胱を呈するとしている。膀胱筋層内の変化では、当初は膀胱平滑筋が肥大、やがて酸化ストレスやアポトーシス関連蛋白が増加、膀胱平滑筋が線維化されることが報告されている。以上から私たちは、過活動膀胱と低活動膀胱は相反する現象ではなく、過活動膀胱を呈することによって排尿効率を上げようという代償性機転が、やがて低活動膀胱という不可逆的变化に陥る一連の経時的变化であるとの作業仮説を構築した。

2. 研究の目的

加齢に伴い頻尿や尿失禁を伴う過活動膀胱の状態と、一方で膀胱の収縮力が低下する低活動膀胱の状態を合併する。この相反する現象が加齢に伴う膀胱機能障害の特徴であ

る。そこで、加齢に伴う膀胱平滑筋細胞間結合(ギャップ結合)の変化に着目して、若年ラットと老齢ラットを用いて加齢にともなう排尿障害メカニズムの解明を行った。

3. 研究の方法

雌性ラット3か月齢(若年ラット)と12か月齢(老齢ラット)を使用した。

(1)ウレタン麻酔下に両群の連続膀胱内圧測定を行った。

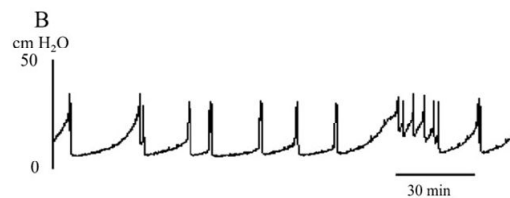
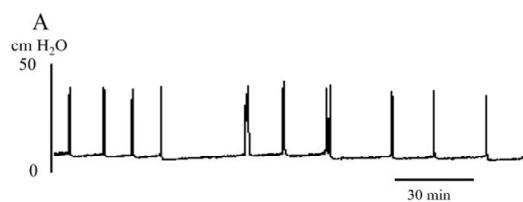
(2)ウレタン麻酔下に、若年ラットを用いギャップ結合乖離薬(Carbenoxolone 3×10^{-3} mol/L)を膀胱内注入して等容量性膀胱内圧測定を行った。

(3)膀胱内のギャップ結合蛋白(connexin 43)をwestern blot法を用いて2群間で比較した。

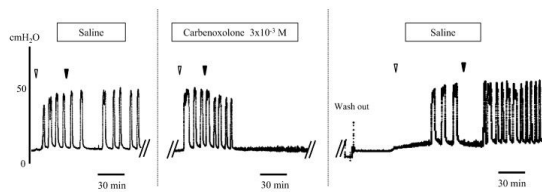
(4)Masson trichrome染色で膀胱の形態変化を2群間で比較した。膀胱Connexin43免疫染色を2群間で比較した。

4. 研究成果

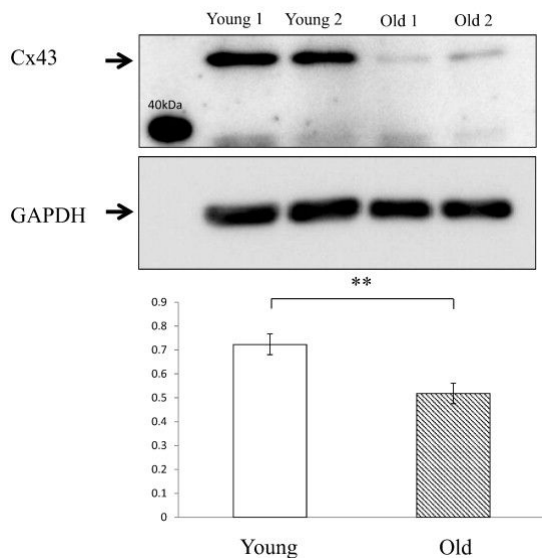
(1)連続膀胱内圧測定で、老齢ラットでは、若年ラットと比較して最大膀胱収縮圧が27%低下して残尿量の増加を認めた($p < 0.01$)。



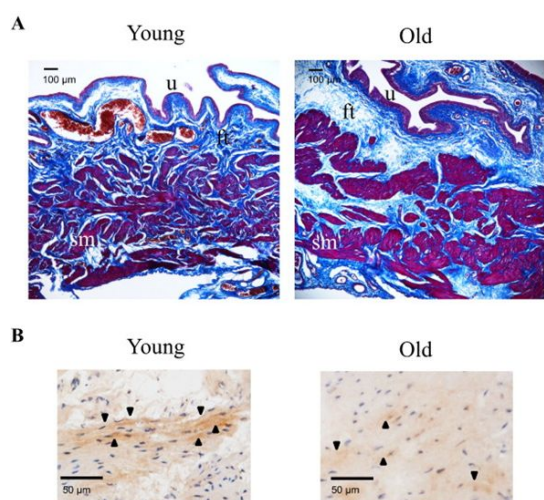
(2)若年ラットによる等容量性膀胱内圧測定で、ギャップ結合乖離薬膀胱内注入後、収縮圧は徐々に減弱し消失した。ギャップ結合乖離薬をWashoutすると、膀胱収縮は再開した。



(3)若年ラットに比べ、老齢ラットではギャップ結合(Connexin43)蛋白濃度が減少した。(p < 0.01)



(4)若年ラットに比べ、老齢ラットでは間質の線維化の増生を認め、膀胱平滑筋は肥大していた。老齢ラットでは、若年ラットと比較して Connexin43 免疫染色の発現が減少していた。



【考察】若年ラットに比べ老齢ラットではギャップ結合は減少し、膀胱の収縮圧も低下した。ギャップ結合拮抗薬の膀胱内投与は膀胱収縮を減弱させたことから、膀胱ギャップ結合は、平滑筋細胞の細胞間伝達に重要な役割

を果たしていることが示唆される。したがって、ギャップ結合蛋白の減少は、加齢にともない排尿障害(低活動膀胱)を引き起こす原因の一つと考えられる。

<引用文献>

Miyazato M, Sugaya K, Nishijima S, Kadekawa K, Machida N, Oshiro Y, Saito S. Changes of bladder activity and connexin 43-derived gap junctions after partial bladder-outlet obstruction in rats. *Int Urol Nephrol*. 2009 41:815-21.

Oshiro T, Miyazato M, Saito S. Relationship between connexin43-derived gap junction proteins in the bladder and age-related detrusor underactivity in rats. *Life Sci*. 2014 116:37-42.

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 17件)

宮里実. 排尿障害 Update 間質性膀胱炎の遺伝子治療. *Urology Today*.19 (4): 24-28, 2012. (査読なし)

宮里実. プライマリ・ケアコーナー 一般内科通院患者の中における夜間頻尿の点と線. *沖縄県医師会報*.49 (4): 102-3, 2013. (査読なし)

宮里実. 泌尿器科領域におけるヘルペスウイルス疾患の治療と今後の展望. *Facial N Res Jpn* 33:9-10, 2013. (査読あり)

宮里実, 斎藤誠一. 高齢者排尿障害の特徴と課題. *西日本泌尿器科*. 76 (7): 213-7, 2014. (査読あり)

Miyazato M. Editorial Comment to Involvement of angiotensin II type 1 receptor on pathological remodeling and dysfunction in obstructed bladder. *Int J Urol*.

2012 19(5):464. (査読なし)

Matsumoto Y, Miyazato M, Yokoyama H, Kita M, Hirao Y, Chancellor MB, Yoshimura N. Role of M2 and M3 Muscarinic Acetylcholine Receptor Subtypes in Activation of Bladder Afferent Pathways in Spinal Cord Injured Rats. *Urology* 2012 79(5):1184.e15-20. (査読あり)

Miyazato M. Editorial Comment to Platelet-derived growth factor-BB increases expression of connexin 43 in an extracellular-regulated protein kinase-dependent manner in bladder smooth muscle cells. *Int J Urol.* 2013 20(1):131. (査読あり)

Miyazato M, Oshiro T, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N, Saito S. An alpha1-adrenoceptor blocker terazosin improves urine storage function in the spinal cord in spinal cord injured rats. *Life Sci.* 2013 92(2):125-30. (査読あり)

Kadekawa K, Sugaya K, Nishijima S, Ashitomi K, Miyazato M, Ueda T, Yamamoto H. Effect of naftopidil, an alpha1D/A-adrenoceptor antagonist, on the urinary bladder in rats with spinal cord injury. *Life Sci.* 2013 92(20-21):1024-8. (査読あり)

Miyazato M, Kaiho Y, Mitsuzuka K, Yamada S, Namiki S, Saito H, Ito A, Nakagawa H, Ishidoya S, Saito S, Arai Y. Impact of prostate size on urinary quality of life scores after open radical prostatectomy: A single-center experience. *Scand J Urol* 2014 48(2):146-52. (査読あり)

Miyazato M, Tana T, Higa A, Oshiro T, Namitome R, Nezu U, Ueda S, Saito S. Prevalence and risk factors for nocturia in an outpatient clinic. *LUTS* 2014 6:167-71.

(査読あり)

Kawamorita N, Kaiho Y, Miyazato M, Arai Y, Yoshimura N. Roles of the spinal glutamatergic pathway activated through alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) receptors and its interactions with spinal noradrenergic and serotonergic pathways in the rat urethral continence mechanisms. *Neurourol Urodyn.* 2014 Mar 26. (査読あり)

Yoshikawa S, Kitta T, Miyazato M, Sumino Y, Yoshimura N. Inhibitory role of the spinal cholinergic system in the control of urethral continence reflex during sneezing in rats. *Neurourol Urodyn.* 2014 33(4):443-8. (査読あり)

Izumi H, Kaiho Y, Miyazato M, Kawamorita N, Nakagawa H, Arai Y. Effects of phosphodiesterase type 5 inhibitor, tadalafil, on continence reflex in rats. *Int Urogynecol J.* 2014 25(12):1721-7. (査読あり)

Oshiro T, Miyazato M, Saito S. Relationship between connexin43-derived gap junction proteins in the bladder and age-related detrusor underactivity in rats. *Life Sci.* 2014 116:37-42. (査読あり)

宮里実, 大城琢磨, 大湾知子, 松村英理, 町田典子, 呉屋真人, 大城吉則, 斎藤誠一. 長寿県沖縄における内科通院患者の中の夜間頻尿実態調査. *日本老年泌尿器科学会雑誌*. 25: 86, 2012. (査読なし)

波止亮, 宮里実, 大城琢磨, 仲西昌太郎, 宮城友香, 松村英理, 呉屋真人, 大城吉則, 斎藤誠一. セロトニン 5HT₄ 受容体作用薬シサブリドのウレタン麻酔下ラット下部尿路機能に及ぼす効果. *日本排尿機能学会雑誌*. 24(2): 349-53, 2014. (査読あり)

〔学会発表〕(計 16件)

宮里実,大城琢磨,大城吉則,斎藤誠一, 當山和代,名嘉村博,當山真人.閉塞型睡眠時無呼吸症候群患者を対象とした持続陽圧呼吸療法の夜間頻尿改善効果に関する前向き観察研究 第2報 第118回沖縄県医師会医学会総会.平成26年12月14日、沖縄県医師会館(南風原、沖縄).

宮里実. Take-Home Message 基礎領域 第21回日本排尿機能学会,平成26年9月20日、岡山コンベンションセンター(岡山、岡山).

宮里実,仲西昌太郎,波止亮,宮城友香,大城琢磨,松村英理,呉屋真人,大城吉則,斎藤誠一,當山和代,名嘉村博,當山真人.閉塞型睡眠時無呼吸症候群患者を対象とした持続陽圧呼吸療法の夜間頻尿改善効果に関する前向き観察研究.第102回日本泌尿器科学会総会.平成26年4月24日、神戸国際会議場・神戸国際展示場・神戸ポートピアホテル(神戸、兵庫).

Miyazato M, Kaiho Y, Mitsuzuka K, Yamada S, Namiki S, Saito H, Ito A, Nakagawa H, Ishidoya S, Arai Y, Saito S. Impact of Prostate Size on Urinary Quality of Life Scores after Open Radical Prostatectomy. The 4th Congress of Asian Pacific Prostate Society. Bankoku Shinryokan (Nago, Okinawa), March 21, 2014.

Miyazato M, Oshiro T, Namitome R, Saito S, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N. Failure of enhancement of the somatic and sympathetic nerve induced continence reflex after duloxetine, a norepinephrine and serotonin reuptake inhibitor, in rats with cerebral infarction. AUA Meeting in Orlando, May 18, 2014

宮里実.シンポジウム 1 高齢化社会における泌尿器科の役割: ~今、泌尿器科に求められているもの~ S1-2 高齢者排尿障害の特徴と課題 第65回西日本泌尿器科学会総会,平成25年11月1日、マリトピア・アバンセ(佐賀、佐賀).

宮里実.夜間頻尿の点と線 成因と治療 第78回日本泌尿器科学会東部総会,ランチョンセミナー,平成25年10月19日、朱鷺メッセ(新潟、新潟).

宮里実,大城琢磨,波止亮,大湾知子,仲西昌太郎,宮城友香,町田典子,呉屋真人,大城吉則,斎藤誠一.抗コリン薬抵抗性の夜間頻尿に対するフラボキサート塩酸塩就寝前アドオン効果の中間報告.第20回日本排尿機能学会,平成25年9月21日、グランシップ(静岡、静岡).

宮里実. イブニングセミナー1 Stress Urinary Incontinence (SUI)治療の現状と展望 ES1-2 薬物治療 第20回日本排尿機能学会,平成25年9月19日、グランシップ(静岡、静岡).

宮里実,波止亮,田名毅,比嘉啓,大城琢磨,町田典子,呉屋真人,大城吉則,斎藤誠一.一般内科通院患者の中における過活動膀胱実態調査.第116回沖縄県医師会医学会総会.平成25年6月9日、沖縄県医師会館(南風原、沖縄).

宮里実.泌尿器科領域におけるヘルペスウイルス疾患の治療と今後の展望.第36回日本顔面神経研究会,平成25年4月26日、ロワジュールホテル那覇(那覇、沖縄).

宮里実,田名毅,比嘉啓,大城琢磨,波止亮,池原在,町田典子,呉屋真人,大城吉則,斎藤誠一.一般内科通院患者の中における夜間頻尿実態調査-第2報.第115回沖縄県医師会医学会総会.平成24年12月9日、沖縄県医師会館(南風原、

沖縄).

宮里実 特別企画 下部尿路機能における基礎研究の展望 SP-2 腹圧性尿失禁の神経メカニズム 第 19 回日本排尿機能学会,平成 24 年 8 月 31 日、名古屋国際会議場(名古屋、愛知).

宮里実,田名毅,比嘉啓,大城琢磨,松村英理,町田典子,呉屋真人,大城吉則,斎藤誠一.一般内科通院患者の中における夜間頻尿実態調査.第 114 回沖縄県医師会医学学会総会.平成 24 年 6 月 10 日、沖縄県医師会館(南風原、沖縄).

宮里実,大城琢磨,大湾知子,松村英理,町田典子,呉屋真人,大城吉則,斎藤誠一.長寿県沖縄における内科通院患者の中の夜間頻尿実態調査.第 25 回日本老年泌尿器科学会.平成 24 年 6 月 2 日、あわぎんホール(徳島、徳島).

Miyazato M, Oshiro T, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N, Saito S. Alpha1-adrenoceptor stimulation in the spinal cord enhances the micturition reflex in spinal cord injured rats. 2012 AUA meeting in Atlanta, May 19, 2012.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 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 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

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

(1)研究代表者

宮里 実 (MIYAZATO, Minoru)
琉球大学医学部附属病院 准教授
研究者番号: 70301398

(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

大城 琢磨 (OSHIRO, Takuma)