

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：32713

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659774

研究課題名(和文)胎児尿路閉塞による委縮膀胱に胎児期ボツリヌス毒素を用いた効果

研究課題名(英文)Effect of Botox on the hypertrophied bladder wall in fetal lambs

研究代表者

長江 秀樹(NAGAE, Hideki)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号：90468942

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：羊胎仔を用い尿路閉塞を作成し解除すると膀胱壁は肥厚し出生後の排尿障害を起こす。臨床では後部尿道弁に相当し、出生後の排尿障害が問題となる。ボツリヌス毒素は筋収縮を抑制し過活動性膀胱などに応用されている。今回尿路閉塞モデルの膀胱にボツリヌス毒素を注入し、満期に膀胱容量、病理学的所見を調査した。羊胎仔の6匹にボツリヌス毒素を注射し生存率は2匹であった。一例で膀胱容量はcontrolの6.8mlと比べ25mlと確保でき、病理検査で正常膀胱に類似していた。ボツリヌス毒素の可能性を示唆する所見であった。しかし生存率は低かった。今後容量を低く設定し生存率を上げ、ボツリヌスが膀胱に及ぼす影響を明らかにする。

研究成果の概要(英文)：Posterior Urethral Valves (PUV) is a congenital anomaly almost entirely confined to boys. PUV often develop a specific bladder dysfunction that has become known as [PUV Bladder]. A recent development has been the use of Botulin Toxin (Botox) to treat bladder dysfunction, although this has not yet been tried in [Valve Bladder] patients. This study addresses the questions [will Botox modify the development of the hypertrophied fetal bladder?] and [what is the optimal dose of Botox in International Units/kg in the fetus?] We have shown that the placement of a non-valved shunt produces a hypertrophied bladder. This study is a pilot study to determine the feasibility of using Botox injected into the bladder wall to investigate whether the injection of Botox will improve the bladder development after the placement of a non-valved shunt and attempt to determine a possibly-effective dose.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：Botulin Toxin Fetal surgery

1. 研究開始当初の背景

我々の実験において胎仔期尿路閉塞では腎の低形成、尿腹水などを呈するため胎児期の膀胱羊水腔シャントが必要である(北川博昭, 長江秀樹ら. 実験的胎児治療: 新たな膀胱羊水腔シャントチューブの開発. 小児外科 2013; 45: 105-112) しかし、その結果として膀胱壁の肥厚による排尿障害が必発な為シャントチューブの改良が必要であるが、臨床応用には至っていない(Nagae H, Kitagawa H, Pringle KC, et al. Pressure-limited vesicoanatomic shunt tube for fetal obstructive uropathy. J Pediatr Surg 2006;41:2086-9. Aoba T, Kitagawa H, Pringle KC, et al. Can a pressure-limited vesicoamniotic shunt tube preserve normal bladder function? J Pediatr Surg 2008;43:2250-5.) そこで、胎児期に手術などを行わず、薬物の注入で膀胱機能の改善ができないか検討した。

2. 研究の目的

近年成人領域で収縮した筋肉にボツリヌス毒素を用いた治療が各分野で行われ、泌尿器科領域では難治性の過活動性膀胱に応用されている(藤村哲也, 過活動膀胱治療薬の特徴と使い方・使い分け. Prog Med 2012, 32, 841-845) そこで胎児期に膀胱壁の肥厚した羊モデルを作成し、胎児期にボツリヌス毒素を膀胱壁に胎児期から注入することにより膀胱収縮を和らげる事が出来、出生後良好な排尿サイクルを得る事が出来るのではないかと考え実験を行った。

3. 研究の方法

胎生 60 日に尿路閉塞モデルを作成する(図 1)。その 3 週間後に膀胱-羊水腔シャント手術(non-valve shunt tube 挿入)と膀胱壁 3 カ所に 0.05ml (total 1.5 単位/body) ずつボツリヌス毒素(ボトックスピスタ®アラガンジャパン株式会社)を注入する(図 2)。一方、胎生 60 日に尿路閉塞モデルを作成し 3 週間後に膀胱-羊水腔シャント手術のみを施行した症例を control 群とした。両者とも満期(145 日)まで子宮内で胎仔を発育させ膀胱容量(図 3)、膀胱壁のコンプライアンスの測定、病理学的検討を行った。



図 1)胎児尿路閉塞モデル



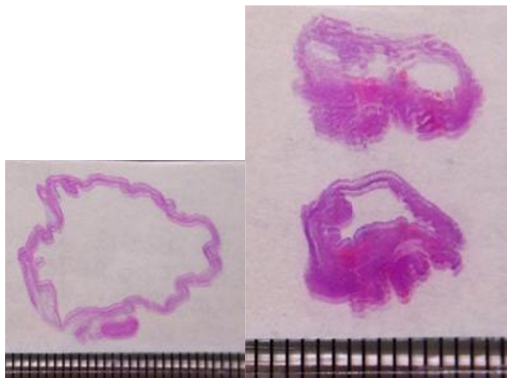
図 2)収縮した膀胱にボツリヌスを注射



図 3)満期で膀胱容量測定

4. 研究成果

6 匹の羊胎仔に尿路閉塞を作成し、non-valve shunt tube を挿入した結果、3 週間後全例膀胱壁の肥厚が認められた。ボツリヌス毒素を注射し満期まで生存していたのは 2 匹(33%)であった。生存のうち一例(sheepA)は腹壁破裂を起こし両足に強い癒着を認めた。膀胱容量は control の 6ml と比較し 25ml と確保できた。病理組織学的には control 群は筋層が乱れ収縮していた。一方ボツリヌス群は正常膀胱と比較すると壁は肥厚しているものの筋層は整っており、ボツリヌスの筋収縮抑制作用が効いている可能性が示唆された(写真 4)。コンプライアンスに関しては control と比較すると高かった。もう一例は shunt tube が妊娠継続中に外れてしまい、膀胱容量が確保できず結果からは除外した(sheepF)。生存率が 6 匹中 2 匹のみと生存率が 33%と低かった。下記に表を示す(表 1)



(写真4) sheep A 膀胱左, control 膀胱右

	A	B	C	D	E	F	control
容量	25ml	-	-	-	-	2	6.8ml
その他	腹壁破裂	-	-	-	-	Tube外れ	
生存		×	×	×	×		

表1) ポツリヌス毒素を注射した6匹まとめ

これまでラットにおいて 200 単位/kg まで副作用は認められなかったと報告されている(藤村哲也, 過活動膀胱治療薬の特徴と使い方・使い分け. Prog Med 2012, 32, 841-845) 羊胎仔にはこれまで使用された経験はなく上記を参考に 10 単位/kg より開始したが、毒性が強くなってしまった。容量を低く設定し生存率を上げ、ポツリヌスが膀胱収縮作用を抑制する事ができれば臨床応用に繋がると考える。

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 件)

北川博昭、長江秀樹、眞鍋周太郎、大山慧、關保二、小池淳樹、島秀樹、脇坂宗親、Kevin C. Pringle, 実験的胎児治療: 新たな膀胱羊水腔シャントチューブの開発: 小児外科 45 巻 105-112, 2013 査読無

Hiroaki Kitagawa, Yasuji Seki, Hideki Nagae, Takeshi Aoba, Shutaro Manabe, Kei Ooyama, Junki Koike, Masayuki Takagi, Jane Zuccollo, Shinobu Tatsunami, Kevin C. Pringle. Valved shunt as a treatment for obstructive uropathy: does pressure make a difference? *Pediatr Surg Int* (2013)

29:381-386 査読有

〔学会発表〕(計 1 件)

長江秀樹、北川博昭ら: 羊を用いた胎児尿路閉塞モデルの萎縮膀胱に胎児期ポツリヌス注射を用いた効果; 2014.5.9 日本小児外科学会総会 大阪国際会議場(大阪)

〔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:

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

長江 秀樹 (NAGAE, Hideki)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号; 90468942

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究

北川 博昭 (KITAGAWA, Hiroaki)

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号: 80153097

關 保二 (SEKI, Yasuji)

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号: 20309462

脇坂 宗親 (WAKISAKA, Munechika)
聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授
研究者番号：30267596