

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 12 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861433

研究課題名(和文) ヒト膀胱平滑筋弛緩メカニズムの解明と蓄尿障害に対する新規治療法への応用

研究課題名(英文) clarification of human bladder smooth muscle and application to new treatment of lower urinary tract dysfunction

研究代表者

小川 総一郎(Ogawa, Soichiro)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：50554200

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：過活動膀胱は尿意切迫感を主症状とする症状症候群で、切迫性尿失禁、頻尿などの症状を高頻度に合併する。これらの症状は、患者の生活の質を著しく低下させるため、病態生理の解明とそれに基づく治療法の確立は臨床泌尿器科医にとって急務である。本研究ではヒト膀胱標本を用い、過活動膀胱などの蓄尿障害に対する新規治療法開発の可能性も検討することとした。

本研究から、受容体を介するヒト膀胱平滑筋弛緩には、cAMP依存性経路、非依存性経路とも存在するが、ラット膀胱とは異なり、後者においてはKチャンネルは関与していない可能性がある。ヒト膀胱組織を用いてのさらに詳細な解析が必要であると考えている。

研究成果の概要(英文)：Overactive bladder decreases the patients' quality of life. Thus, it is important for us to elucidate the pathophysiology of overactive bladder.

We have demonstrated that human bladder smooth muscle does not always relax through cAMP-dependent pathway. Furthermore, we have shown that these pathway does not involved in K channels.

研究分野：下部尿路機能

キーワード：Kチャンネル 膀胱 弛緩

1. 研究開始当初の背景

過活動膀胱は切迫性尿失禁（尿意切迫感とほぼ同時に尿が漏れてしまうこと）主症状とする疾患で、患者の生活の質を著しく低下させる。その病態生理の解明とそれに基づく治療法の確立は臨床泌尿器科医にとって急務である。私たちの教室では、ヒト膀胱平滑筋の弛緩は主に交感神経 α_3 受容体が関与することを報告し（A quantitative analysis of mRNA expression of alpha 1 and beta-adrenoceptor subtypes and their functional roles in human normal and obstructed bladders. Nomiya M, et al. Journal of Urology. 2003）、この知見をもとに過活動膀胱治療剤・ α_3 受容体作動薬が開発された。しかし残念ながら現時点では、過活動膀胱の病態生理はまだ完全に明らかにされているとは言い難く、従来の治療法では効果の得られない難治性の過活動膀胱患者が多く存在する。

2. 研究の目的

過活動膀胱は尿失禁を主症状とし、患者の生活の質を著しく低下させるため、その病態生理の解明とそれに基づく治療法の確立は臨床泌尿器科医にとって急務である。しかし実際には、過活動膀胱の病態生理は完全に明らかにされているとは言い難い。過活動膀胱をはじめとする蓄尿障害に対し、私たちの教室では、ラット膀胱における、 α_3 受容体刺激による cyclic AMP 非依存性経路の関与を世界で初めて報告した。そこで本研究では、ヒト膀胱を用いて膀胱平滑筋弛緩のメカニ

ズムの詳細を明らかにし、過活動膀胱に対する新規治療薬の開発の可能性を探る。

3. 研究の方法

本研究では、ヒト膀胱平滑筋の弛緩メカニズム、特に α_3 受容体刺激によって生じる、cAMP 依存性、非依存性の経路と、K チャネルの関与について検討する。

膀胱癌または骨盤内腫瘍（後腹膜腫瘍）によって膀胱全摘術を受ける患者（男女を問わない）とする。手術摘出標本を使用することにより、研究のみを目的とした不必要な侵襲的な検査を回避出来るからである。目標症例数は 15 例とする。ただし長期間の膀胱カテーテル留置、慢性腎不全で透析療法を受けている患者さんの場合、高率に膀胱平滑筋組織の線維化が生じており、膀胱平滑筋機能の評価が困難であることが予想されるため除外する。また手術前の検査で膀胱上皮内癌、または広範な病変を有すると判断した場合も、正常部位の採取が困難なため除外する。ヒト膀胱を用いた研究は当教室でこれまでも行っており、技術的な問題はない。

当大学附属病院および、福島県内の協力病院で摘出された膀胱を使用する。全ての病院で各々の倫理委員会の承認を得る。ヒト膀胱を用いた研究は以前にも当教室で行っており、この時も当大学附属病院と福島県内の協力病院の倫理委員会から承認を得ている。したがって、標本

の回収についても障害はないと思われる。

等尺性張力実験

受容体サブタイプに選択性のある薬剤、アデニル酸シクラーゼ阻害剤、各種 K チャネル阻害剤を用いてヒト膀胱平滑筋の弛緩を担う 受容体サブタイプの確認、および cAMP 経路の関与について検討する。また、各種の K チャネル阻害剤を使用し、K チャネルと 受容体のリンクについても考察する。この手法は当教室で既に確立された技術である。

3 受容体刺激によって生じる cAMP 放出量の定量

の実験の際、マイクロダイアリシスプローブを挿入し、回収した灌流液中の cAMP 量を ELISA 法で定量する。この手法も当教室の Uchida がラット膀胱を用いて行っており、確立された手技である。

ヒト膀胱平滑筋の弛緩を担う 受容体サブタイプの確認

Nomiya らは、ヒト膀胱平滑筋に発現する 受容体のサブタイプを mRNA レベルで解析し、その 97%は β_3 であると報告した。また、等尺性張力実験を行い、機能的に弛緩を担う 受容体サブタイプも β_3 であることを確認した。本研究においても、弛緩に関与する 受容体サブタイプは β_3 であることを確認する必要がある。

受容体刺激によって起こる、cAMP 依存性、非依存性弛緩経路、K チャネルの関与の検討

Uchida らはラット膀胱平滑筋で等尺性張力実験を行った。この時、cAMP 産生量の定量も行って、cAMP 依存性、非依存性経路の存在を確認した。私たちも同様の手法を用いて、両経路および K チャネルの関与を検討する。

K チャネル発現量の変化

Uchida は、 受容体刺激で生じる弛緩反応において、K チャネルが関与することを報告している。ヒトでも K チャネルが関与するとすれば、その発現量の変化が蓄尿(膀胱平滑筋の弛緩) 障害につながっているのかもしれない。したがって、K チャネルの蛋白レベルでの発現も検討する。

4 . 研究成果

私たちの研究室ではこれまでに、ヒト膀胱組織を用いて平滑筋弛緩に関与する 受容体サブタイプを明らかにした。さらに、ラット膀胱が完全に収縮した状態では、 受容体刺激によって cAMP に依存しない弛緩経路が働き膀胱が弛緩すること、そしてこの経路には K チャネルが関与することも証明した。これらの実験手法をもとにして、ヒト膀胱における cAMP 非依存性経路の存在と K チャネルの関与を評価し、創薬の可能性を追求することとした。

その結果、本研究から、 受容体を介するヒト膀胱平滑筋弛緩には、cAMP 依存性経路、非依存性経路とも存在するが、ラット膀胱とは異なり、後者においては K チャネルは関与していない可能性がある。ヒト

膀胱組織を用いてのさらに詳細な解析が必要であると考えている。

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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

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

(1)研究代表者

小川総一郎(OGAWA Soichiro)

福島県立医科大学医学部泌尿器科学講座・助教

研究者番号: 50554200

(2)研究分担者

石橋啓(ISHIBASHI Kei)

福島県立医科大学医学部泌尿器科学講座・准教授

研究者番号: 90347211

矢部通弘(YABE Michihiro)

福島県立医科大学医学部泌尿器科学講座・助手

研究者番号: 30745782

赤井畑秀則(AKAIHATA Hidenori)

福島県立医科大学医学部泌尿器科学講座・助手

研究者番号: 70644178

秦淳也(HATA Junya)

福島県立医科大学医学部泌尿器科学講座・助手

研究者番号: 00769606

(3)連携研究者

()

研究者番号: