

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 15 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462449

研究課題名(和文)膀胱周囲脂肪組織を介する膀胱機能障害のメカニズム解明に立脚した新規治療の開発

研究課題名(英文)The effect of perivesical fat on bladder dysfunction and the application to new treatment strategy

研究代表者

相川 健(Aikawa, Ken)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80295419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：加齢とともに低下する膀胱機能は尿失禁や排尿困難などを引き起こし、超高齢社会を迎えているわが国ではますます大きな問題になる。加齢とともに増加する内臓脂肪はサイトカインを分泌して様々な病態に関与することがわかってきた。本研究では膀胱周囲の脂肪組織に着目した。中高年男性を想定してオスSDラットを使用し尿道部分閉塞下に高脂肪食の膀胱機能への影響と膀胱周囲脂肪への影響を検討した。尿道部分閉塞の存在は高脂肪食の影響を受け膀胱周囲脂肪の増加と炎症性サイトカインの発現増加を認めた。同時に膀胱収縮機能や蓄尿機能の低下をきたした。膀胱周囲脂肪は膀胱機能に関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Bladder dysfunction with aging induces urinary incontinence or dysuria, and that is big problem in Japan of super-aged society. On the other hand, it is known that visceral fat increases with aging and involves cytokine mediated diseases. Taken together, the present study attempted to determine whether the increase in perivesical fat induces bladder dysfunction via the inflammatory cytokine. Using male SD rats of bladder outlet obstruction, we found that high-fat diet induced the increase in perivesical fat and the inflammatory cytokine, and bladder dysfunction.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：膀胱 機能障害 脂肪組織 慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

加齢と共に進行する慢性疾患である膀胱機能障害の予防・治療は、超高齢社会を迎え解決すべき重要課題であるが未だその機序も不明である。私たちは症状の改善を目的としたこれまでの治療に限界を感じ、尿道部分閉塞後の膀胱収縮不全に膀胱局所のアンジオテンシン II の関与とその受容体遮断薬 (ARB) の有用性を示した。すなわち尿道部分閉塞による膀胱リモデリングにアンジオテンシン II を介する酸化ストレスが関与すること、ARB が病的な膀胱リモデリングを予防することを明らかにした。さらに興味深い所見として尿道部分閉塞後に膀胱周囲脂肪組織が増加すること、膀胱リモデリングは膀胱壁外側の漿膜側に炎症性細胞浸潤を伴い著明に肥厚すること、これらの異常が ARB で改善することも見出した。このような膀胱壁外側の特徴的な異常は原因やその意義が不明である。一方、加齢と共に増加する生活習慣病と下部尿路症状の関連も最近注目されている。脂肪組織は単なるエネルギー貯蔵庫と考えられていたが、アディポサイトカインと呼ばれる様々なサイトカインを分泌する内分泌器官と認識されるようになってきた。しかしながら生活習慣病の基盤である内臓脂肪、特に膀胱周囲局所の異所性脂肪増加に着目した研究はこれまでされていない。私たちは加齢と共に増加する生活習慣病と同様に異常な膀胱周囲の脂肪の増加が炎症性サイトカインを放出させ膀胱組織、機能に影響を及ぼすのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、加齢と共に増加する生活習慣病の基盤である内臓脂肪の蓄積に着目し、特に膀胱周囲脂肪組織の異常が膀胱の慢性炎症を誘導し機能障害をもたらすか明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では中高年男性の膀胱機能障害を想

定した。加齢に伴いごく軽度の尿道部分閉塞は多くの男性でありうる。また内臓脂肪の蓄積も一般的には多くなると考えられる。そこで 12 週齢オス SD ラットに軽度膀胱部分閉塞モデルを作成した。シャム手術群をコントロールとした。術後ただちに高脂肪食 (2% 高コレステロール食) あるいは普通食をそれぞれのラットに投与し 1) 膀胱部分閉塞 + 高脂肪食、2) 膀胱部分閉塞 + 普通食、3) シャム手術 + 高脂肪食、4) シャム手術 + 普通食、の 4 つの動物群に分けた。以下の評価項目に関して可能な項目は 6 週経過後 (18 週齢) で中間評価をし、12 週経過後 (24 週齢) で最終評価をした。

(1) 膀胱機能評価

オルガンバスでの膀胱収縮による *in vitro* 膀胱機能評価 (24 週齢)

純粋に膀胱組織の収縮機能を評価するため膀胱切片 (2 × 5mm) を作成しオルガンバス内に懸垂する。収縮機能は刺激因子として経壁神経電気刺激 (2 ~ 40Hz)、カルバコール (20 μM)、KCl (80mM) 投与で評価する。

排尿記録による膀胱蓄尿機能評価 (18 週齢、24 週齢)

膀胱蓄尿機能を評価するため代謝ケージの下に電子天秤を設置し 48 時間排尿時刻と排尿量をコンピューターに記録する。排尿間隔、平均 1 回排尿量などから膀胱蓄尿機能を評価する。

連続膀胱内圧・排尿量測定による膀胱排尿・蓄尿機能評価 (24 週齢)

膀胱排尿・蓄尿機能を評価するため無麻酔非拘束下に生理食塩水を持続注入 (10ml/h) して連続膀胱内圧・排尿量を 2 時間記録する。最後の排尿時に残尿量を測定する。排尿時膀胱内圧、排尿量、排尿間隔、残尿量などから膀胱排尿・蓄尿機能を評価する。

(2) 膀胱周囲脂肪組織の評価

CT での膀胱周囲脂肪の厚みの測定による脂肪量の評価 (18 週齢、24 週齢)

膀胱周囲脂肪量を評価するため本学実験動物室にある小動物用 CT で膀胱周囲の脂肪の厚みを計測する。

RT-PCR での炎症性サイトカイン、レニンアンジオテンシン系 mRNA 発現量による脂肪の質の評価 (24 週齢)

膀胱周囲脂肪の炎症を評価するためリアルタイム RT-PCR で炎症性サイトカイン(IL-6)、レニンアンジオテンシン系(ACE、アンジオテンシン II 受容体)の mRNA 発現を定量する。

(3) 治療介入による膀胱機能への効果

上記動物群とは別に 12 週齢オス SD ラットに麻酔下、軽度膀胱部分閉塞モデルを作成した。術後ただちに高脂肪食あるいは普通食をラットに投与し 1) 膀胱部分閉塞 + 高脂肪食、2) 膀胱部分閉塞 + 普通食の 2 つの動物群に分けた。6 週経過後(18 週齢)、すべてのラットに麻酔下、下腹部正中切開し膀胱周囲脂肪除去をおこなった。術後もそれぞれ高脂肪食、普通食を継続した。12 週経過後(24 週齢)に膀胱機能を評価し、膀胱周囲脂肪を除去していない、前述動物群の膀胱部分閉塞 + 高脂肪食、膀胱部分閉塞 + 普通食群の 12 週経過後(24 週齢)の結果と比較した。

4. 研究成果

(1) 膀胱機能に対する高脂肪食、尿道部分閉塞の影響

オルガンバス内での膀胱切片の収縮反応(24 週齢): 経壁神経電気刺激による収縮反応はすべての動物群で周波数依存的に増大した。膀胱部分閉塞ラットはシャム手術ラットに比べ収縮は低下していた。シャム手術ラット間では高脂肪食による膀胱収縮への影響は認められなかったが、膀胱部分閉塞ラット間では高脂肪食ラットで普通食に比べ収縮が低下していた。これらの反応はカルバコールや KCl に対しても同様であった。

排尿記録による膀胱蓄尿機能(18 週齢、24 週齢): 膀胱部分閉塞ラットはシャム手術ラットと 18 週齢では差を認めなかったが、24

週齢では排尿間隔が短縮し 1 回排尿量は減少していた。シャム手術ラット間では食事による違いは認められなかったが、膀胱部分閉塞ラット間では高脂肪食ラットで普通食に比べ排尿間隔が短縮し 1 回排尿量が減少していた。

連続膀胱内圧・排尿量測定による膀胱機能(24 週齢): 膀胱部分閉塞ラット、シャム手術ラットどちらも高脂肪食群で排尿時最大膀胱内圧の低下と残尿量の増加を認めた。

以上の結果から膀胱機能に関して尿道部分閉塞の存在は高脂肪食の影響を受けやすく、蓄尿機能、排尿機能ともに低下していた。閉塞のない場合は 12 週間では高脂肪食の影響を受けにくい、*in vitro* の膀胱収縮反応の低下と残尿の発生は認められた。

(2) 膀胱周囲脂肪組織に対する高脂肪食、尿道部分閉塞の影響

膀胱周囲脂肪量(18 週齢、24 週齢): 小動物用 CT で膀胱周囲の脂肪の厚みを計測した。処置 6 週後の 18 週齢では、膀胱部分閉塞ラットはシャム手術ラットに比べ有意に膀胱周囲の脂肪が厚かった。しかし普通食、高脂肪食間での違いは見られなかった。24 週齢では膀胱周囲の脂肪はさらに厚くなっていた。膀胱部分閉塞ラットでは普通食と比べ高脂肪食で膀胱周囲の脂肪が厚かった。一方、シャム手術ラットでは普通食と高脂肪食で膀胱周囲脂肪の厚さに差は見られなかった。

膀胱周囲脂肪の炎症(24 週齢): リアルタイム RT-PCR で炎症性サイトカイン(IL-6)、レニンアンジオテンシン系(ACE、アンジオテンシン II 受容体)の mRNA 発現を定量した。炎症性サイトカイン、レニンアンジオテンシン系の mRNA 発現は 18 週齢、24 週齢共に膀胱部分閉塞ラットでシャム手術ラットに比べ有意に増加していた。膀胱部分閉塞ラットでは、24 週齢で普通食に比べ高脂肪食で炎症性サイトカインの発現が増加していた。またシャム手術ラットでは食事の違いによる発現の

差は認められなかった。

以上の結果から膀胱周囲脂肪に関して尿道部分閉塞の存在は高脂肪食の影響を受けやすく、脂肪量の増加とともに炎症性サイトカインの増加という質的な変化も認めた。

膀胱機能の結果と合わせて考えると膀胱周囲脂肪の質的量的変化は膀胱機能に影響することが示唆された。

(3) 膀胱周囲脂肪除去による膀胱機能への影響

オルガンバスでの膀胱収縮による *in vitro* 膀胱機能評価 (24 週齢): 経壁神経電気刺激による収縮反応は両動物群で周波数依存性に増大した。両群間で膀胱収縮反応に差は認めなかった。また脂肪除去していない同処置群と比べても差は認めなかった。カルバコールや KCl に対する収縮反応も両群間で差はなく、脂肪除去していない同処置群と比べても差は認めなかった。

排尿記録による膀胱蓄尿機能評価 (18 週齢、24 週齢): 両群間で排尿間隔や 1 回排尿量に差を認めなかった。また脂肪除去していない同処置群と比べても排尿間隔や 1 回排尿量に差を認めなかった。

連続膀胱内圧・排尿量測定による膀胱機能 (24 週齢): 両群間で膀胱収縮力に差は認めず、収縮力の低下は見られなかった。また脂肪除去していない同処置群と比べても膀胱収縮力に差は見られなかった。両群ともに残尿を認めたが、残尿量や 1 回排尿量に差は認めなかった。また脂肪除去していない同処置群と比べても 1 回排尿量や残尿量に差は見られなかった。

以上の結果から膀胱周囲脂肪と膀胱機能に関して脂肪除去という外科的処置で十分な効果は認めなかった。しかしながら脂肪除去によって尿道部分閉塞下の高脂肪食による機能低下は抑制されており一部効果が示唆された。今後よりの確な処置と評価法が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

相川 健 (AIKAWA, Ken)
福島県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 80295419

(2) 研究分担者

柳田 知彦 (YANAGIDA, Tomohiko)
福島県立医科大学・医学部・講師
研究者番号: 20363765

櫛田 信博 (KUSHIDA, Nobuhiro)
福島県立医科大学・医学部・講師
研究者番号: 30381396

小島 祥敬 (KOJIMA, Yoshiyuki)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号: 60305539

石橋 啓 (ISHIBASHI, Kei)
福島県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 90347211