

論文の内容の要旨

論文題目:下部尿路閉塞雄性ラットにおける蓄尿障害の病態解析

氏名 杉山梨乃

【目的】

前立腺肥大症を代表とする下部尿路閉塞では、排尿障害のみならず、蓄尿障害が同時に生じることが知られているが、その発生機序については不明なところが多い。

本研究では、ヒトでの前立腺肥大症の病態を想定し、雄性ラットを用いた下部尿路閉塞モデル動物を作成し、その機能評価を行うことでヒト病態との相同性を検討した。加えて、下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害の背景因子の探索を行い、病態の発生機序の解明を目指すことを目的とした。具体的には以下に示す項目について、基礎的検討を行った。

1. 雄性ラットを用いて、尿道部分結紮による下部尿路閉塞(BOO)を作成し、経時的に排尿行動を観察し、蓄尿症状が最も顕著であった時期に、膀胱内圧測定、病理学的検討を行い、BOOに伴う蓄尿障害モデルとしての妥当性を検証した。さらにBOOに伴う蓄尿障害に対して臨床的に用いられている $\alpha 1$ 遮断薬および抗コリン薬を、それぞれ単独または両薬を併用投与して、同モデルの蓄尿障害に対する効果を、覚醒下膀胱内圧測定によって検討した。

2. 上記BOOモデルラットの膀胱およびその求心路であるL6後根神経節・脊髄後角における各種TRPチャネルの発現変化をmRNAレベルで検討し、BOOに伴って発現が増加していたTRPチャネルについて、その阻害薬を投与して、覚醒下膀胱内圧測定を行い、その機能的意義を検討した。

3. 上記BOOモデルラットの膀胱伸展受容一次求心性神経活動を測定し、その特性変化について検討した。

【方法】

1. 雄性下部尿路閉塞ラットの排尿行動変化、膀胱機能および組織学的検討

11週齢Wistar雄性ラットをBOO群と偽手術(Sham)群の2群に分けた。BOOは近位尿道に $\phi 1.2$ mmの金属棒を添えて結紮して作成した。BOO作成前と作成4, 8, 16, 32日後に精密代謝ケージを用いて排尿行動を24時間測定した。BOO作成後、排尿行動測定で、蓄尿症状(排尿回数の増加と一回排尿量の減少)が最も顕著であった時期に、別のラットを用いて覚醒・拘束下膀胱内圧測定と摘出膀胱の組織学的検討を行い、BOOに伴う蓄尿障害モデルとしての妥当性を検証した。さらに、膀胱内圧

測定パラメーターに対する、 $\alpha 1$ 遮断薬シロドシン(0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$)または抗コリン薬イミダフェナシン(1, 3, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)の静脈内単独累積投与の効果および単独投与では効果を示さない用量で両薬物を併用投与した場合の効果も検討した。

2. 下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害モデルラットの TRP チャンネルの発現変化とその機能的意義の検討

上記の Sham 群および BOO に伴う蓄尿障害モデルラット(BOO 群)の膀胱、L6 後根神経節および脊髄後角を摘出した。膀胱組織は膀胱全層・粘膜層・排尿筋層に分け、各種 TRP チャンネル(TRPV1, V2, V4, M2, M4, M8, A1, C1-7)の mRNA 発現量を RT-PCR 法にて測定し、Sham 群との 2 群間で比較・検討した。BOO 群で発現が増加していた TRP チャンネルについて、その選択的な阻害薬を投与して覚醒・拘束下膀胱内圧測定を行った。

3. 下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害モデルラットにおける膀胱伸展受容求心性神経活動の変化

上記の Sham 群および BOO 群を用いて、ウレタン麻酔下で両側 L6 後根神経を切断後、骨盤神経電気刺激および膀胱内生理食塩水注入に応答する膀胱伸展受容一次求心性神経活動を左 L6 後根神経から導出し、伝導速度により A δ と C 線維に分類した。膀胱内に生理食塩水を持続注入し、膀胱内圧が 30 cmH_2O に到達するまでの膀胱内圧および求心性神経活動を記録・解析した。膀胱微小収縮は、振幅が 2 cmH_2O 以上であり、かつ、膀胱内圧が 0.25 $\text{cmH}_2\text{O}/\text{s}$ 以上で上昇し、かつ -0.15 $\text{cmH}_2\text{O}/\text{s}$ 以下で下降する収縮と定義し、それぞれの膀胱微小収縮の間を静止期と定義した。

【結果】

1. 雄性下部尿路閉塞ラットの排尿行動変化、膀胱機能および組織学的検討

24 時間排尿行動測定では、BOO 群において、BOO 作成後観察期間を通して平均尿流率の低下を認め、8-16 日後において排尿回数増加および 1 回排尿量の減少が最も顕著であった。さらに、BOO 作成後 10 日に行った膀胱内圧測定では、BOO 群において、平均尿流率の低下、残尿量の増加、および非排尿性膀胱収縮(NVCs)の数および振幅の増加を認めた。同時期の BOO 群の膀胱壁は筋層の肥厚を認めた。Sham 群においてイミダフェナシン(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)単独投与は残尿量を増加させ、平均尿流率を低下させた。BOO 群においてシロドシン (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、イミダフェナシン (3, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)単独投与および併用投与(シロドシン:10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, イミダフェナシン:1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)は、投与前に比べ NVCs の数を減少させた。

2. 下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害モデルラットの TRP チャンネルの発現変化とその機能的意義の検討

Sham 群と比較して BOO 群の膀胱では、TRPA1 チャンネルの発現が粘膜層で、TRPV1 チャンネルの発現が粘膜層および排尿筋層で、TRPV2 チャンネルの発現が排尿筋層で、それぞれ増大していた。その他の TRP チャンネルについては有意な発現変化を認めなかった。TRPA1 チャンネル阻害薬の HC-030031(HC)の静脈内投与(10 mg/kg)は、BOO 群においてのみ膀胱容量を有意に増大し、膀胱内投与(500 μM)によっても BOO 群において同様の効果を認めた。TRPV1 阻害薬の SB-366791(SB)を BOO 群に静脈内投与(0.5 mg/kg)したが、膀胱内圧パラメーターに有意な効果を認めなかった。

3. 下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害モデルラットにおける膀胱伸展受容求心性神経活動の変化

Sham 群と比較して BOO 群では、膀胱微小収縮の数および振幅が有意に高値を示した。44 本の膀胱伸展受容一次求心性神経線維 (Sham 群: A δ 線維: n=10, C 線維: n=11, BOO 群: A δ 線維: n=10, C

線維: n=13) を単離した。その神経活動は、Sham 群に比べ BOO 群で、A δ 線維は有意に低値を示したが、C 線維には有意差はなかった。BOO 群では両線維の求心性神経活動は、膀胱微小収縮の内圧上昇期で高く、下降期および静止期で低値を示し、A δ 線維では有意差を認めた。他方、Sham 群では、両線維においてそのような反応性の違いはなかった。

【考察】

1. 雄性下部尿路閉塞ラットの排尿行動変化、膀胱機能および組織学的検討

排尿行動測定では、下部尿路閉塞作成後 8-16 日に、蓄尿症状(排尿回数の増加と 1 回排尿量の減少)を最も顕著に認め、作成後 10 日の膀胱内圧測定では残尿量および非排尿性膀胱収縮(NVCs)が増加しており、同時期の組織学的検討では膀胱筋層の肥厚を認めた。以上の所見から、術後 10 日の亜急性期に評価する本下部尿路閉塞雄性ラットモデルは、下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害のモデルとして妥当と考えられた。本モデルを用いて、シロドシンおよびイミダフェナシンの併用投与の効果を検討した結果、NVCs に対する相乗効果が認められた。この結果は、臨床での $\alpha 1$ 遮断薬と抗コリン薬の併用療法の効果発現機序の一部に、排尿筋過活動への相乗抑制作用があることを示唆するものと考えられた。

2. 下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害モデルラットの TRP チャンネルの発現変化とその機能的意義の検討

TRPA1 チャンネルは、本蓄尿障害モデルラットの膀胱粘膜において発現が増大しており、その選択的阻害薬の静脈内投与および膀胱内投与はいずれも BOO 群の膀胱容量を増大させたことから、下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害の発生に、膀胱における TRPA1 チャンネルを介する膀胱伸展受容知覚路の亢進が関与することが示唆された。

3. 下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害モデルラットにおける膀胱伸展受容求心性神経活動の変化

本蓄尿障害モデルラットでは、膀胱伸展受容求心性神経のうち、特に有髄の A δ 線維の活動性が低下していた。これは、下部尿路閉塞による膀胱の虚血に対して、有髄神経の方が障害を受けやすいためと思われた。また、この A δ 線維の活動性は、膀胱微小収縮の収縮期に同期して間歇的に増強しており、この膀胱微小収縮に同期した A δ 線維を介する膀胱伸展受容求心性神経活動の亢進は、下部尿路閉塞に伴う膀胱伸展知覚亢進の発生機序の一つである可能性が示唆された。

【結語】

尿道部分結紮による下部尿路閉塞雄性ラットは、閉塞作成後 10 日に、頻尿・一回排尿量の減少・NVCs の増強などの蓄尿障害を顕著に認め、下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害のモデルとして妥当と思われた。本モデルでは、TRPA1 の発現が膀胱粘膜において増大しており、TRPA1 阻害薬の投与によって膀胱容量が増大した。さらに、本モデルでは、膀胱伸展受容一次求心性神経のうち A δ 線維の活動性が低下していたが、膀胱伸展によって誘発される膀胱微小収縮は顕性化し、A δ 線維の活動は膀胱微小収縮に同期して増強した。以上の結果から、下部尿路閉塞に伴う蓄尿障害の発生には、膀胱粘膜における TRPA1 の発現増加や膀胱微小収縮の増強とそれに同期して起こる A δ 線維を介する膀胱伸展受容求心性神経活動の間歇的な亢進が関与することが示唆された。