

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592428

研究課題名(和文) 過活動膀胱発症におけるプロスタグランジン受容体サブタイプEP4の役割

研究課題名(英文) Roles of prostaglandin receptor subtype EP4 in the induction of overactive bladder

研究代表者

荒木 勇雄 (Araki, Isao)

滋賀医科大学・医学部・客員教授

研究者番号：50252424

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：正常膀胱にはほとんど発現していないEP4受容体が、閉塞膀胱の上皮および平滑筋に明瞭に発現する。閉塞膀胱によって頻尿を呈したラットの膀胱内にEP受容体刺激薬を還流することによって、排尿間隔が延長して膀胱容量が増大する。閉塞膀胱の切片の収縮はEP4受容体刺激薬によって弛緩する。の作用は正常膀胱においては認められなかった。

以上より、閉塞膀胱における過活動膀胱の発症にEP4受容体が関与することが示唆された。膀胱切片を弛緩させる濃度よりも低濃度の薬剤で膀胱容量が増大したことより、EP4受容体は主に上皮からの知覚神経伝達を抑制することによって過活動膀胱の発症に対して抑制的に作用すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：EP4 receptors were largely expressed in bladders with outlet obstruction (BOO) but absent in controls. Activation of the EP4 receptors in bladders with BOO suppressed detrusor contraction and afferent activity. EP4 receptors expressed in the bladder epithelium might regulate neuromodulator release from the epithelium. These results strongly suggest that EP4 receptor upregulation in the BOO bladder participates in a compensatory mechanism to counteract the storage dysfunction caused by BOO.

研究分野：排尿学

キーワード：プロスタグランジン 膀胱 排尿 知覚 求心路 平滑筋

1. 研究開始当初の背景

過活動膀胱の病因解明と治療法の開発は泌尿器科学分野における最も重要な課題の一つである。

PGE₂は生理的あるいは病的状況において膀胱機能の内因性調節因子として重要である (Andersson Ke & Wein AJ, 2004)。PGE₂の膀胱内注入により排尿筋過活動が発生し (Ishizuka O et al, 1995)、膀胱壁の伸展や下部尿路閉塞によって膀胱における COX2 発現や PGE₂ 放出が亢進する (Khan MA et al, 1998; Park JM et al, 1997)。これらの結果から、PGE₂は閉塞膀胱における過活動膀胱の発症に関与していると考えられている。PGE₂の効果は EP 受容体を介していると考えられるが、いずれのサブタイプ (EP1~4) が過活動膀胱の発症に関与しているかについては議論がある。EP1 は、PGE₂膀胱内注入や下部尿路閉塞による過活動膀胱発症に関与している可能性が示唆されている (Lee T et al, 2007)。また、EP3 を活性化すると排尿筋過活動を呈し、EP3 を阻害することにより膀胱容量が増加することが報告されている (Jugus MJ et al, 2009)。

これまで、膀胱における EP4 の役割については研究がなされていない。EP4 は、PGE₂による血管平滑筋の弛緩を担っている (Coleman RA et al, 1994)。また、PGE₂による知覚神経細胞の感作を担っているのも EP4 である (Southall MD & Vasko MR, 2001; Kopp UC et al, 2004)。したがって、PGE₂が EP4 受容体を介して膀胱機能に影響を与えている可能性は高いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、過活動膀胱発症における PGE₂受容体サブタイプ EP4 の関与を証明するとともに、その作用メカニズムを解明する。本研究の成果によって、新たな過活動膀胱治療薬の開発に道が開かれることが期待される。

具体的な検討課題は、以下の2点である。

(1) 正常膀胱および過活動膀胱の発症モデルとしての閉塞膀胱における EP4 受容体の発現変化の解析。膀胱 (上皮、平滑筋) における局在を同定するとともに、膀胱を支配する知覚神経における発現についても検討する。

(2) 正常および閉塞膀胱における EP4 受容体の膀胱機能 (排尿反射) における役割と作用メカニズムの解明。

3. 研究の方法

(1) 正常および部分尿道閉塞ラットの膀胱における EP 受容体サブユニットの発現。

EP 受容体各サブユニット遺伝子の発現変化。膀胱上皮と排尿平滑筋に分けて、EP4 受容体遺伝子の発現が下部尿路閉塞によってどのように変化するかを検討する。(real-time RT-PCR)

EP 受容体各サブユニットタンパクの発現変化。EP 受容体各サブユニットタンパクの局

在が下部尿路閉塞によってどのように変化するかを検討する (免疫組織化学)。

(2) 正常および部分尿道閉塞ラットの膀胱機能における EP4 受容体の機能的役割。

持続膀胱内圧測定

ウレタン麻酔下に膀胱瘻を作成し、生食を膀胱内に持続的に灌流することによって持続的に膀胱内圧測定を行う。誘発される排尿反射に対する特異的な EP4 受容体アゴニスト (ONO-AE1-329) の膀胱内灌流の効果を検討する。

膀胱切片の等尺性張力実験

EP4 は、PGE₂による血管平滑筋の弛緩を担っている (Coleman RA et al, 1994)。オーガンバス (Organ bath) を用いて、50mM KCl による膀胱切片の収縮が EP4 受容体アゴニスト (ONO-AE1-329) の灌流によって弛緩するかどうかを検討する。

(3) 正常および部分尿道閉塞ラットの膀胱上皮における伸展刺激による ATP 放出に対する EP4 受容体の役割。

オーガンバス (Organ bath) を用いて、膀胱切片を伸展した際の ATP 放出量を Luciferin-luciferase assay kit (Sigma) を用いて測定する。膀胱切片を伸展した場合に放出される ATP のほとんどは膀胱上皮由来であることが我々の実験からも証明されている (Du S, Araki I, et al, Urology 69:590-595, 2007)。オーガンバス内に灌流した EP4 受容体アゴニスト (ONO-AE1-329) による ATP 放出量の変化を検討する。

4. 研究成果

(1) 正常膀胱にはほとんど発現していない EP4 受容体 (遺伝子、蛋白) が、閉塞膀胱においては膀胱上皮および膀胱平滑筋に明瞭に発現する (ラット) (J Urol 186: 2463-2469, 2011)。

(2) 下部尿路閉塞によって頻尿を呈するラットの in vivo 膀胱内圧測定において、EP4 受容体アゴニストを膀胱内に還流することによって排尿間隔が延長し膀胱容量が増大する。この EP4 受容体アゴニストの作用は正常ラットでは認められなかった。(J Urol 186: 2463-2469, 2011; Eur Urol Suppl 11: e742, 2012)。

(3) invitro 等尺性張力実験において、下部尿路閉塞を伴う膀胱から取り出した膀胱切片の高カリウム溶液による収縮は EP4 受容体アゴニストによって弛緩する。この弛緩反応は正常膀胱切片では認められなかった。(J Urol 186: 2463-2469, 2011; 42nd Annual Meeting of International Continence Society, Beijing, China, 2012)。

これらの実験結果は、下部尿路閉塞に伴う活動膀胱の発症に EP4 受容体に関与していることを示唆している。膀胱切片を弛緩させる濃度よりも低濃度の EP4 アゴニストによって膀胱容量が増大したことより、EP4 受容体は主に上皮からの知覚神経伝達を抑制する

ことによって過活動膀胱の発症に対して抑制的に作用すると考えられる。

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34件)

1) Kobayashi H, Nomura T, Haneda Y, Sawada N, Araki I, Takeda M: Congenital prepubic sinus accompanied by prevesical abscess. Clinics and Practice 5(1): 17-19, 01/2015. doi: 10.4081/cp.2015.701. (査読あり)

2) Yoshida A, Kuraoka S, Ito Y, Okura T, Deguchi Y, Otsuka A, Ozono S, Takeda M, Masuyama K, Araki I, Yamada S: Muscarinic receptor binding of the novel radioligand, [³H]imidafenacin in the human bladder and parotid gland. J Pharmacol Sci 124(1): 40-46, 2014. doi: 10.1254/jphs.13193FP

3) 荒木勇雄: 脳の疾患に由来する下部尿路機能障害. 特集「高齢社会における下部尿路障害」日本医師会雑誌 142(11):2442, 2014. (査読なし)

4) 水流輝彦, 荒木勇雄, 河内明宏: 【自律神経系】排尿障害(診察の進め方と評価). 特集「神経診察 - そのポイントと次の一手」Medicina 51(7): 1282-1285, 2014. (査読なし)

5) 山下寛人, 荒木勇雄, 影山進, 馬場雅人, 中野悦次, 岡田裕作: 滋賀県内の診療所における男性尿道炎の診療実態調査. 泌尿器科紀要 60(1): 7-12, 2014. (査読あり)

6) Yoshida A, Fuchihata Y, Kuraoka S, Osano A, Otsuka A, Ozono S, Takeda M, Masuyama K, Araki I, Yamada S: Fesoterodine, its active metabolite and tolterodine bind selectively to muscarinic receptors in human bladder mucosa and detrusor muscle. Urology 81(4):920.e1-5, 2013. doi: 10.1016/j.urology.2013.01.012. (査読あり)

7) Zakoji H, Kobayashi H, Yoshiyama M, Takeda M, Araki I: Expression of large conductance, voltage- and Ca²⁺-activated K⁺ (BK) channels in human urinary bladder: alteration of subunit expression profile in association with bladder outlet obstruction. Open Journal of Urology 3(2): 47-52, 2013. doi: 10.4236/oju.2012.22012 (査読あり)

8) Li K, Yao J, Chi Y, Sawada N, Araki I, Kitamura M, Takeda M: Evioprostat activates cAMP signaling pathway and suppresses bladder smooth muscle cell proliferation. Int J Mol Sci 14: 12107-12122, 2013. doi: 10.3390/ijms140612107. (査読あり)

9) Kadota A, Miura K, Okamura T, Fujiyoshi A, Ohkubo T, Kadowaki T, Takashima N, Hisamatsu T, Nakamura Y, Kasagi F, Maegawa H, Kashiwagi A, Ueshima H; SESSA Research Group; NIPPON DATA80/90 Research Group: Carotid intima-media thickness and plaque in apparently healthy Japanese individuals with an estimated 10-year absolute risk of CAD death according to the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines 2012: the Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA). J Atheroscler Thromb 20(10):755-66, 2013. doi: 10.5551/jat.17244 (査読あり)

10) 藤原遼, 荒木勇雄, 小倉啓司, 樽本祥子, 七里泰正, 大西裕之, 村中幸二, 宮下浩明, 長谷行洋, 原田吉将, 金哲将, 神波照夫, 水流輝彦, 中野悦次, 青地秀樹, 村上節, 岡田裕作: 過活動膀胱診療における4年間の変遷: びわこ Voiding Dysfunction 研究会によるアンケート調査から. 日本排尿機能学会誌 24: 322-327, 2013. (査読あり)

11) 荒木勇雄, 水流輝彦: LUTS Lecture「過活動膀胱(OAB)のメカニズム」特集: 過活動膀胱(OAB). LUTS プライマリケア 下部尿路症状の診断と治療 14: 3-6, 2013. (査読なし)

12) 荒木勇雄: 排尿障害の頻度(疫学). 特集「パーキンソン病の排泄障害」排尿障害プラクティス 21(1): 11-14, 2013. (査読なし)

13) 荒木勇雄, 水流輝彦: 夜間頻尿の診療アルゴリズム. 特集「夜間頻尿の原因と治療 - 注意しなくてはならない多飲と睡眠時無呼吸 -」泌尿器外科 26(7):1041-1045, 2013. (査読なし)

14) 荒木勇雄, 水流輝彦: 診断(1)問診・質問票. 特集「女性骨盤底医学 up to date」排尿障害プラクティス 21(2): 18-27, 2013. (査読なし)

15) 荒木勇雄, 水流輝彦: 8. 今後期待される治療薬の候補. 特集「過活動膀胱診療を考える」Progress in Medicine 32(4): 879-882, 2012. (査読なし)

16) 武田正之, 中込宙史, 芳山充晴, 荒木勇雄: 2) 排尿障害における α_3 受容体作動薬. 特集「過活動膀胱診療を考える」5. 過活動膀胱治療薬の特徴と使い方・使い分け - エビデンスも踏まえて - . Progress in Medicine 32(4): 835-840, 2012. (査読なし)

17) 荒木勇雄, 水流輝彦, 吉田哲也, 影山進: 総説2. 高齢者における頻尿, 尿失禁の病態と診断. 特集「高齢者の頻尿と尿失禁」Geriatric Medicine (老年医学) 50(5): 551-554, 2012. (査読なし)

18) 荒木勇雄, 水流輝彦, 影山進, 岡田裕作: 3. 排尿困難・尿閉をきたす薬剤. 特集: 薬剤投与と泌尿器科的副作用 - 泌尿器科医の必須知識. 臨床泌尿器科 66(8): 561-565, 2012. (査読なし)

19) 荒木勇雄, 水流輝彦, 影山進, 岡田裕作: 排尿障害の検査・評価方法. 特集「排尿障害」診断と治療 100(8): 1323-1328, 2012. (査読なし)

20) 武田正之, 中込宙史, 芳山充晴, 荒木勇雄: 排尿障害における α_3 受容体刺激(作動)薬. 特集「排尿障害」診断と治療 100(8): 1379-1385, 2012. (査読なし)

21) 荒木勇雄, 水流輝彦: 男性下部尿路症状診療ガイドラインのポイント. 第二特集「泌尿器科のガイドライン フローチャートでわかる! 知っておきたいポイント」泌尿器ケア 17(11): 82-86, 2012. (査読なし)

22) 荒木勇雄, 水流輝彦, 影山進, 上仁数義, 成田充弘, 岡田裕作: 女性の尿流動態検査. 特集「尿流動態検査の現在」泌尿器外科 25(12): 2297-2301, 2012. (査読なし)

23) 窪田成寿, 影山進, 成田充弘, 前澤卓也, 荒木勇雄, 岡田裕作: 腎細胞癌小腸転移の1例. 泌尿器科紀要 58: 431-434, 2012. (査読あり)

24) Beppu M, Araki I, Yoshiyama M, Du S, Kobayashi H, Zakoji H, Takeda M: Bladder outlet obstruction induced expression of prostaglandin E₂ receptor subtype EP4 in the rat urinary bladder: a possible counteractive mechanism against detrusor overactivity. J Urol 186(6): 2463-2469, 2011. doi: 10.1016/j.juro.2011.07.087. (査読あり)

25) Wu Y, Miyamoto T, Li K, Nakagomi H, Sawada N, Kira S, Kobayashi H, Zakoji H, Tsuchida T, Fukazawa M, Araki I, Takeda M: Decreased expression of the epithelial Ca²⁺

channel TRPV5 and TRPV6 in human renal cell carcinoma associated with vitamin D receptor. J Urol 186(6): 2419-2425, 2011. doi: 10.1016/j.juro.2011.07.086. (査読あり)
doi: 10.1016/j.urology.2013.01.012. (査読あり)

〔学会発表〕(計90件)
招請講演(計14件)

1) 荒木勇雄: 特別講演「前立腺肥大症の治療戦略」草津栗東 Male LUTS 懇話会、大津、2014.2.22.

2) 荒木勇雄: 特別講演「排尿障害における女性骨盤底障害の立ち位置」Pfizer Urology Summit (トピエース発売1周年記念講演会) 奈良、2014.2.27.

3) 荒木勇雄: 特別講演「排尿障害における女性骨盤底障害の立ち位置」第8回沖縄排尿機能研究会、那覇、2014.6.6.

4) 荒木勇雄: 特別講演「OAB薬物治療の新たな戦略～3作動薬ミラベグロンの役割～」ベタニス発売一周年記念講演会、宇都宮、2013.2.20.

5) 荒木勇雄: 診断の要点と併用療法の工夫. 教育セミナー「低活動膀胱の治療戦略～泌尿器科医の次の一手～」第101回日本泌尿器科学会総会、札幌、2013.4.25-28.

6) 荒木勇雄: 女性骨盤底医学におけるこれからの研究～成果と目標～. シンポジウム「これからの診療・教育・研究～成果と目標～」第15回日本女性骨盤底医学会、東京、2013.7.27-28.

7) 荒木勇雄: 特別講演「女性骨盤底障害と下部尿路機能障害」静岡中部 LUTS 講演会、静岡、2013.8.21.

8) 荒木勇雄: 特別講演「排尿障害における女性骨盤底障害の立ち位置」第1回京滋 OAB 治療フォーラム、京都、2013.11.14.

9) 荒木勇雄: 臨床からみた排尿筋低活動へのアプローチ. 教育セミナー3-12「排尿筋低活動の治療をどう考える?」第100回日本泌尿器科学会総会、横浜、2012.4.21-24.

10) 荒木勇雄: 教育講演「POPとUDS (骨盤臓器脱とウロダイナミクス検査)」第6回下部尿路機能先端教育セミナー、東京、2012.7.15-16.

11) 荒木勇雄: 頻尿と尿失禁. 第28回滋賀医科大学公開講座「充実した中高年の生活を迎えるために」、草津、2012.10.03.

12) 荒木勇雄: プライマリケアにおける排尿障害(頻尿, 尿失禁, 排尿困難)の管理. 第6回琵琶湖プライマリケア・リフレシャークース、大津、2012.12.02.

一般演題(計76件)

13) Tsuru T, Araki I, Fujiwara R, Baba M, Hanada H, Yoshida T, Kageyama S, Narita M, Okada Y: Add-on effects of dutasteride

in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia resistant to alpha-blocker monotherapy, special focus on ultra-short term effect. 43rd Annual meeting of the International Continence Society, Barcelona, Spain. August 26-30, 2013.

1 4) Zakoji H, Beppu M, Kobayashi H, Yoshiyama M, Takeda M, Araki I: The functional role of EP4 receptors in the rat urinary bladder with outlet obstruction. European Association of Urology 27th Annual Congress, Paris, France, February 24-28, 2012.

1 5) Zakoji H, Araki I, Beppu M, Yoshiyama M, Kobayashi H, Du S, Takeda M: The functional role of EP4 receptors in the rat urinary bladder with outlet obstruction: a possible counteractive mechanism against detrusor overactivity. 42nd Annual Meeting of International Continence Society, Beijing, China, October 15-19, 2012.

1 6) Kobayashi H, Haneda Y, Kira S, Miyamoto M, Sawada N, Tsuchida T, Araki I, Takeda M: Tailor-made mesh for pelvic organ prolapsed patients is better than ready-made uniform mesh. 42nd Annual Meeting of International Continence Society, Beijing, China, October 15-19, 2012.

1 7) 中込宙史, 望月勉, 芳山充晴, 宮本達也, 吉良聡, 荒木勇雄, 小泉修一, 森山芳則, 武田正之: 伸展刺激時の膀胱上皮からの ATP 放出機構における VNUT/開口放出経路の解析. 第 100 回日本泌尿器科学会総会, 横浜, 2012.4.21-24.

1 8) 水流輝彦, 荒木勇雄, 影山進, 花田英紀, 吉田哲也, 成田充弘, 岡本圭生, 吉貴達寛, 岡田裕作: 過活動膀胱に対する塩酸プロピペリンの改善効果に関する検討. 第 100 回日本泌尿器科学会総会, 横浜, 2012.4.21-24.

1 9) 武井実根雄, 荒木勇雄, 石塚修, 河内明宏, 後藤百万, 柿崎秀宏, 鈴木康之, 関成人, 武田正之, 内藤誠二, 西澤理, 横山修: 排尿機能検査士資格認定制度の現状と問題点 - 排尿機能検査士に対するアンケート調査から -. 第 25 回日本老年泌尿器科学会, 徳島, 2012.6.1-2.

2 0) 水流輝彦, 荒木勇雄, 前澤卓也, 花田英紀, 影山進, 岡田裕作: 過活動膀胱治療における抗コリン薬交替療法の有用性についての検討: 副作用に不満を持つ患者でのトルテロジンへの変薬効果. 第 19 回日本排尿機能学会, 名古屋, 2012.8.28-31.

2 1) 吉田徳, 淵端勇佑, 大塚篤史, 大園誠一郎, 武田正之, 増山敬祐, 荒木勇雄, 山田静雄: 新規過活動膀胱治療薬フェソテロジンのヒト膀胱及び耳下腺ムスカリン性受容体結合. 第 19 回日本排尿機能学会, 名古屋,

2012.8.28-31.

2 2) 水流輝彦, 荒木勇雄, 吉田哲也, 影山進, 成田充弘, 岡田裕作: 前立腺肥大症に対するデュタステリドの超短期成績. 第 101 回日本泌尿器科学会総会, 札幌, 2013.4.25-28.

2 3) 中込宙史, 望月勉, 川原和也, 宮本達也, 吉良聡, 荒木勇雄, 森山芳則, 小泉修一, 武田正之: ヒト膀胱上皮における VNUT m-RNA 発現量と各種排尿パラメーターとの関連性. 第 101 回日本泌尿器科学会総会, 札幌, 2013.4.25-28.

2 4) 山下寛人, 藤原遼, 水流輝彦, 荒木勇雄: 排尿筋収縮不全患者に対するジスチグミン、プロッカー併用療法におけるベタネコールの追加効果. 第 20 回日本排尿機能学会, 静岡, 2013.9.18-21.

2 5) 水流輝彦, 荒木勇雄, 河内明宏, 門脇紗也佳, 久松隆史, 藤吉朗, 三浦克之, 上島弘嗣: 高齢男性における過活動膀胱と動脈硬化指標との関係: 滋賀動脈硬化疫学研究から. 第 102 回日本泌尿器科学会総会, 神戸, 2014.4.24-27.

2 6) 伊狩亮, 荒木勇雄, 水流輝彦, 前澤卓也, 坂野祐司, 河内明宏: 過活動膀胱に対するフェソテロジンの効果発現時期に関する検討. 第 21 回日本排尿機能学会, 岡山, 2014.9.17-20.

〔図書〕(計 2 件)

1) 荒木勇雄, 水流輝彦: 下部尿路症状(Lower Urinary Tract Symptoms). 治療各論: 泌尿器科疾患. 『腎疾患治療マニュアル 2012-13』腎と透析 第 72 巻 2012 臨時増刊号. 『腎と透析』編集委員会 編集, pp. 564-568. 東京医学社, 東京, 2012.5.31.

2) 水流輝彦, 松本綾, 荒木勇雄: 第 3 章-7 腹圧下漏出時圧測定. 『患者説明にそのまま使える! よくわかる泌尿器科検査の知識』泌尿器ケア第 198 巻 2012 年夏季増刊. 山口秋人 監修, pp. 292-297, メディカ出版, 大阪, 2012.6.1.

〔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
<http://sumsuro.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荒木 勇雄 (ARAKI ISAO)
滋賀医科大学・医学部・客員教授
研究者番号：50252424

(2) 研究分担者

水流 輝彦 (TSURU TERUHIKO)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号：90625675
影山 進 (KAGEYAMA SUSUMU)
滋賀医科大学・医学部・講師
研究者番号：50378452

(3) 連携研究者

武田 正之 (TAKEDA MASAYUKI)
山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授
研究者番号：80197318
小林 英樹 (KOBAYASHI HIDEKI)
山梨大学・医学部付属病院・助教
研究者番号：50402053