



## Effect of age on the responses of rat bladder detrusor strips to adenosine triphosphate

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 影山, 慎二 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1595">http://hdl.handle.net/10271/1595</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 318号	学位授与年月日	平成12年 2月14日
氏 名	影 山 慎 二		
論文題目	Effect of age on the responses of rat bladder detrusor strips to adenosine triphosphate (ATP によるラット膀胱筋切片の反応性の加齢による影響)		

博士(医学) 影 山 慎 二

## 論文題目

Effect of age on the responses of rat bladder detrusor strips to adenosine triphosphate.

(ATPによるラット膀胱筋切片の反応性の加齢による影響)

## 論文の内容の要旨

### [はじめに]

加齢によって生じる膀胱の種々の機能の変化は興味深い。多くの実験はラットを用いて行われている。その中で、ATPによる膀胱の反応性は加齢によって増加することが報告されている。内因性興奮性の神経伝達物質は、部分的なアトロピン抵抗性の物質と知られており、その中でATPは、非アドレナリン性非コリン性の伝達物質として代表的なものである。ヒト膀胱ではこのアトロピン抵抗性の部分は、少ないものの加齢により増加していると報告されている。我々は、ATP刺激の後、膀胱筋切片の懸垂してあるマグヌス管からATPを除去して時に生ずる、反応性の強い収縮 (post-washout contraction; PWC) をこれまで報告してきた。反応性の収縮は、生体内での膀胱内圧検査などでもしばしばみられ、これらの反応が加齢によって増加する不安定膀胱の一因とも考えられる。このPWCについて詳細な発生機序と、加齢による影響について検討した。

### [材料ならびに方法]

- 1) Wistar系ラット (9、24週齢および24月齢、male) をpentobarbital腹腔内注入により屠殺、可及的に膀胱を摘出。
- 2) 幅2 mm、長さ10 mmの膀胱標本作製。
- 3) 37℃、Krebs-Hensleit液 (NaCl 121.4、KCl 5.9、CaCl<sub>2</sub> 2.5、MgCl<sub>2</sub>、NaHCO<sub>3</sub> 10.0、Glucose 11.1) を満たしたorgan bath内に1 gの張力を加えて懸垂固定し、等尺性収縮力を記録した。
- 4) 標本はATPにより5分間刺激した時に見られる10秒程度の持続する収縮 (phasic contraction) およびATPを含んだ溶液を洗浄すると、phasic contractionの50%程度の収縮力ながら約15分程度続く緩徐な収縮 (PWC) が認められ、この収縮力を記録した。
- 5) PWCがみられた際のマグヌス管溶液は一部冷凍保存し、プロスタグランジン関連物質をEIA法にて測定した。
- 6) PWCを生じさせるagonistおよび各種antagonistの検討を行った。

### [結果]

- 1) 100  $\mu$  MATPによるphasic contractionは (9週齢0.46  $\pm$  0.05 g; 24週齢0.58  $\pm$  0.07 g; 24月齢0.52  $\pm$  0.06 g) と24週齢でもっとも強く、9週齢と24月齢では24月齢の方が強い反応を示した。
- 2) 100  $\mu$  MATPによるPWCは (9週齢0.21  $\pm$  0.05 g; 24週齢0.31  $\pm$  0.05 g; 24月齢0.35  $\pm$  0.07 g) 加齢とともに増加し、しかも反応持続時間も (9週齢820  $\pm$  170 sec; 24週齢1180  $\pm$  290 sec; 24月齢2520  $\pm$  380 sec) 加齢とともにない、延長する傾向が認められた。
- 3) KClやAcetylcholineでは、PWCは認められなかったが、 $\alpha$ 、 $\beta$ -methyleneATPによりPWC類似の反応は見られた。このためPWCはプリン受容体作動薬に特有の反応と考えられた。

- 4) PWCはカルシウム拮抗薬nicardipine、プリン受容体非選択的拮抗薬suramin、カルシウム流入阻害薬EGTAにより減弱した。しかしプリン受容体に選択的に作用する拮抗薬PPADSでは、逆に増強した。prostaglandin生成阻害剤のindomethacinにより、PWCは、ほぼ完全に阻害された。
- 5) 収縮時の溶液をEIA法で測定すると、prostaglandin E<sub>2</sub>が著明に上昇していた。

#### 〔結論〕

PWCは、カルシウム依存性であり、ATP刺激により産生されたprostaglandin物質(特にPGE<sub>2</sub>)により生じたものと考えられた。ラット膀胱筋では、この反応が加齢にともない増加した。この反応は、加齢にともない増加するヒトの過活動膀胱等にしばしばみられる異常反応の成因の一つと考えられ、ATP刺激でみられる二相性反応のうち後半部分の反応に相当する可能性がある。

### 論文審査の結果の要旨

申請者は加齢によって生じる膀胱の種々の機能の変化に興味を持っている。ATPによる膀胱の反応性は加齢によって変化し、それが高齢者で増加する過活動膀胱と関連している可能性がある。また、申請者は今までにラット膀胱標本においてATP刺激後に溶液中からATPを除去することで反応性の強い収縮(post-washout contraction; PWC)があることを、初めて見いだした。この反応は患者においても観察され、頻尿・尿失禁等の原因となる過活動膀胱の一因と考えられる。そこで、申請者はこのPWCの発生メカニズムを解析した。また加齢による影響についても検討した。

#### 〔材料ならびに方法〕

- 1) Wistar系ラット(9、24週齢および24月齢、male)の膀胱を摘出し、膀胱標本を作製した。
- 2) Krebs-Hensleit液を満たしたorgan bath内に懸垂固定し、等尺性収縮力を記録した。
- 3) ATP添加による一過性収縮(phasic contraction)とATPを含んだ溶液を洗浄することによってみられる緩徐な収縮(PWC)を記録した。
- 4) PWCがみられた際のorgan bath内の溶液の一部を冷凍保存し、プロスタグランジン代謝物をEIA法にて測定した。
- 5) PWCの発生メカニズムを解析するために平滑筋収縮物質およびその拮抗薬の影響を検討した。

#### 〔結果〕

- 1) 100  $\mu$ M ATPによるphasic contractionにおいては24週齢でもっとも強く収縮し、9週齢と24月齢では24月齢の方が強い反応を示した。
- 2) 100  $\mu$ M ATPによるPWCは加齢とともに増加し、さらに反応持続時間も加齢にともない延長した。
- 3) KClやAcetylcholineではphasic contractionはみられるもののPWCは認められなかった。一方、ATPのアナログである $\alpha$ 、 $\beta$ -methyleneATPはphasic contractionおよびPWCを生じさせた。
- 4) PWCはプリン受容体非選択的拮抗薬、suramin、細胞外カルシウムキレート薬EGTA、カルシウム拮抗薬、nicardipineにより減弱した。しかしプリン受容体(P2X)の選択的拮抗薬、PPADSでは逆に増強した。Cyclooxygenase阻害薬であるindomethacinよりPWCはほぼ完全に阻害された。
- 5) 収縮時の溶液をEIA法で測定すると、prostaglandin E<sub>2</sub>が著明に増加していた。

以上の結果から、PWCはプリン受容体を介した反応であり、prostaglandin E2により引き起こされたものと考えられた。また、ラット膀胱筋では、この反応が加齢にともない増加した。

今回の研究から、この反応が高齢者でみられる過活動膀胱の一つのメカニズムを示し、新規治療薬の開発に結びつく可能性を示すものと思われ、審査員はこれらのことを高く評価した。

#### 〔本論文の評価〕

本論文内容の説明の後、論文内容と関連の深い以下の点について申請者との間に質疑応答がなされた。

- 1) ATPの膀胱収縮のメカニズム
- 2) Phasicな収縮のメカニズム
- 3) Post-washout contractionのメカニズム
- 4) Post-washout contractionの臨床的意義
- 5) Washすることがプロスタグランジン産生を高める理由
- 6) Post-washout contractionが加齢とともに増強する理由
- 7) 加齢によるATP遊離増加のメカニズム
- 8) 今回の実験結果から過活動膀胱における新規治療薬の探索の可能性
- 9) 今回使用したプリン受容体拮抗薬の特徴
- 10) 過活動膀胱患者におけるインドメサシンの影響
- 11) 膀胱平滑筋収縮と細胞内カルシウムイオンの関係
- 12) 膀胱に存在するプロスタグランジンE受容体のサブタイプ
- 13) 排尿における交感神経と副交感神経の関係

以上の質問に対する申請者の解答は概ね適切であり、問題点も十分理解しており、本論文は博士(医学)の学位授与にふさわしい内容を備えていると審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 梅 村 和 夫

副査 大 橋 京 一 副査 上 里 忠 良