タムスロシン塩酸塩の

蓄尿症状改善メカニズムの解明

2020 年 1 月

奥津　紘子

タムスロシン塩酸塩の
蓄尿症状改善メカニズムの解明

筑波大学大学院

生命環境科学研究科

生命産業科学専攻

博士（生物科学）学位論文

奥津　紘子

目次

略号 iii

序論 1

本論 13

第一章尿道部分閉塞ラットモデルの膀胱血流および膀胱機能に対するタムスロシン塩酸塩の作用 14

第一節　背景 15

第二節　実験項 17

第三節　結果 22

第四節　考察 24

第二章膀胱過伸展解除誘発膀胱過活動モデルの膀胱血流および膀胱機能に対するタムスロシン塩酸塩の作用 34

第一節　背景 35

第二節　実験項 37

第三節　結果 42

第四節　考察 44

総括 60

参考文献 67

謝辞 77

発表論文目録 78

略号

AAALAC	the Association for assessment and accreditation of laboratory animal care
ATP	Adenosine triphosphate
AUCu	Area under the curve, unbound
BBF	Bladder blood flow
BOO	Bladder outlet obstruction
BPH	Benign prostatic hypertrophy
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid
G3PDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
ip	intra-peritoneal administration
IPSS	International prostate symptom score
LUTS	Lower urinary tract syndrome
MF	Micturition frequency
mRNA	Messenger ribonucleic acid
MVV	Mean voided volume
OABS	Overactive bladder score
PCR	Polymerase chain reaction
QOL	Quality of life

RNA	Ribonucleic acid
ROI	Region of interest
ROS	Reactive oxygen species
RT-PCR	Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
sc	subcutaneous administration
SEM	Standard error of the mean
TVV	Total voided volume

序論

前立腺肥大症（BPH）は、前立腺の肥大もしくは前立腺または前立腺部尿道の過収縮に伴い尿道抵抗が上昇し、下部尿路に様々な症状を呈する疾患である。前立腺肥大は男性の加齢に伴い発症する最も一般的な器質的変化の一つであり、50歳代で約40%、60歳代で約70%の男性において組織学的な前立腺肥大が認められることが報告されている（Berry et al., 1984）。組織学的に前立腺肥大の認められる人の一部は、治療が必要な症状を呈するBPHを発症する（Sagnier et al., 1996）。その有病率の報告にはばらつきがあるものの、加齢に伴って患者数が増加していくことはメタアナリシスの結果からも明らかとなっており（Lee et al., 2017）（Fig. 1）、そのため近年の高齢化に伴いBPHの患者数は年を追うごとに増加している（厚生労働省 平成26年 患者調査）（Fig. 2）。排尿に関連した症状は、例えば外出の制限が発生するなど社会生活への影響が大きく、また精神的な負担が非常に強いものである。したがって、その治療は高齢者の生活の質の向上、健康寿命の延長のためにも非常に重要である。

BPHの症状は下部尿路症状（LUTS）と呼ばれる症状に含まれ、排尿症状、蓄尿症状、排尿後症状の3種類に分類される（Abrams et al., 2002）（Table 1）。このうち、尿勢低下や尿線途絶などの排尿症状および残尿感に代表される排尿後症状は、前立腺や前立腺部尿道が排尿時に十分に開かないことによる尿道抵抗の上昇が直接的に関与し、排尿時に尿が出にくいことや尿道内の残存尿により発症する症状である。一方で頻尿や尿意切迫感などの蓄尿症状は膀胱の機能的・器質的変化に伴い発症する症状である（Fig. 3）。「男性下部尿路症状・前立腺肥大症診断ガイドライン」によると、BPHに

伴う下部尿路症状に対する治療としては、薬物療法を第一選択とし、各種薬物による治療効果が不十分な場合には、手術療法を前提に手術適応に対する評価を考慮することが推奨されている。

BPHの治療は、タムスロシン塩酸塩（ハルナール®、アステラス製薬）の上市により大きく変化した。それまでのBPHの治療概念は、前立腺のボリュームを小さくすることに主眼を置いたものであり、前立腺の切除またはホルモン療法が主に行われていた。しかし、これらの治療法にはその効果や効果発現期間に問題があった。実際、前立腺肥大症患者の三分の一から二分の一以上では、尿道閉塞に前立腺肥大は無関係であるという報告（Poulsen et al., 1994; Rollema and Mastrigt, 1992）や、女性の下部尿路症状患者は同世代の男性と同程度の症状スコアを示すという報告がある（Chancellor and Rivas, 1993; Lepor and Machi, 1993）ことから、尿道の閉塞には前立腺のボリューム以外の要因が大きいものと考えられる。そんな中、1993年に日本で、1997年に米国およびヨーロッパで、BPHの排尿障害治療薬としてα1受容体遮断薬であるタムスロシン塩酸塩が上市され、BPHの治療を前立腺のボリュームの低下から尿道抵抗の抑制へと一変させた。タムスロシン塩酸塩（Fig. 4）は山之内製薬にて1970年代より行われていた高血圧治療薬の研究開発過程で合成された化合物である。αおよびβ受容体遮断薬であるアモスラロール（Fig. 4）の創薬過程において見いだされたα1受容体選択的遮断薬であるが、降圧作用がアモスラロールより劣るため、高血圧治療薬としては選択されなかった（竹中、2015）。しかし、α遮断薬がBPH患者の排尿障害を改善するという報告（Caine et

al., 1975）に基づき、適応症をBPHの排尿障害として研究が継続され、開発が行われた。

ヒトにおけるα1受容体には、α1A、α1B、およびα1Dの3種類のサブタイプがあることが報告されている（Kenny et al., 1996）。組織によりそのサブタイプの発現量は異なり、前立腺および尿道ではα1A受容体が、血管では部位によって違いはあるものの、主にα1B受容体が多く発現することが知られている（Nasu et al., 1996）。さらに、α1A受容体刺激が前立腺の収縮に関与すること（Chess-Williams et al., 1996）、肥大した前立腺におけるα1A受容体mRNA発現量が、正常な前立腺に比して増加していること（Nasu et al., 1996）などから、前立腺および尿道のα1A受容体を遮断することにより、BPHに伴う尿道抵抗上昇を改善できることが示唆される。タムスロシン塩酸塩はα1A受容体に、次いでα1D受容体に選択性が高く、α1B受容体にはほとんど選択性がない（Sato et al., 2012）。そのため、タムスロシン塩酸塩は血圧に対する影響の少ないBPHの排尿障害治療薬として開発され、世界的規模でBPHの排尿障害の第一選択薬となった。

タムスロシン塩酸塩をはじめとするα1受容体遮断薬はBPHにおける排尿症状を適応としているが、一方で蓄尿症状に目を向けると、蓄尿症状は下部尿路症状の中でも患者に与えるインパクトが強い症状であることが各種調査から見て取れる。蓄尿症状から生命が脅かされるような器質的状態に発展することはほとんどないが、日本排尿機能学会により行われた下部尿路症状の疫学調査（Homma et al., 2006）にて、蓄尿症状はQOLの低下への影響が非常に大きいことが明らかとなった。下部尿路症状により日常生活に負の影響があったと答えた患者は約15%であり、症状別の影響評価では夜間

頻尿、昼間頻尿、腹圧性尿失禁、尿意切迫感、切迫性尿失禁、尿勢低下の順で影響ありとする割合が高かった。この結果から、一般的に排尿症状と比較して蓄尿症状の方が生活への支障度が高い傾向があることが明らかとなっている。また、アメリカ、イギリス、およびスウェーデンにおいて実施された調査（Coyne et al., 2009）にて、性別により違いはあるものの、全般的に蓄尿症状により不安や抑うつ状態が有意に上昇することが示唆されている。

タムスロシン塩酸塩の上市後、蓄尿症状に対するタムスロシン塩酸塩の有効性を報告する論文が数多く発表されてきた。例えば、タムスロシン塩酸塩 0.2 mgの8週間投与により、BPH患者の全般症状を表すInternational Prostate Symptom Score (IPSS) のみならず、蓄尿症状を表すIPSS storage symptom scoreや夜間排尿回数、およびOveractive bladder score (OABS) にも有意な改善が認められている（Kwon et al., 2018）。また、BPH患者のみならず、女性においても下部尿路症状を改善することが報告されている（Zhang et al., 2017）。前述のように、蓄尿症状はQOLに与える影響が大きい症状であることから、蓄尿症状の改善は臨床においても大きなインパクトを与える作用である。そのため、適切なα1受容体遮断薬を用い排尿症状のみならず蓄尿症状の改善効果を得るために、臨床現場からも製薬会社からもそのメカニズムの解明が求められていた。しかし、膀胱平滑筋におけるアドレナリン受容体サブタイプのmRNA発現解析とアゴニスト・アンタゴニストを用いた収縮実験より、α1受容体は膀胱平滑筋における収縮弛緩に対する関与は小さいことが報告されている（Nomiya et al., 2003）。すなわち、タムスロシン

塩酸塩の蓄尿症状改善作用は、膀胱平滑筋のα1受容体阻害による直接的なメカニズムによるものではないと推察される。そこで本研究では、タムスロシン塩酸塩の蓄尿症状の改善メカニズム探求を目的とし、膀胱血流量に着目して研究を行った。

蓄尿症状の発症には、様々なメカニズムが関与していることが報告されている。排尿筋の過活動、遠心性神経または求心性神経の過活動、中枢神経における禁制障害、膀胱上皮の伸展により放出される様々な神経伝達物質などがそれである（吉田ら、2009; Chapple, 2014）。また排尿筋や神経の過活動の発症要因としても様々なメカニズムが考えられ、膀胱血流量の低下もその一つである。実際、蓄尿症状を呈する患者や動物モデルにおける膀胱血流量の低下、末梢の虚血が蓄尿症状のリスクファクターとなること、また膀胱血流量低下モデルにおける排尿筋過活動といった報告が数多く発表されている（第一章以降にて詳細を記述する）。すなわち、膀胱血流量の低下が蓄尿症状の発症に深く関与していることは幅広い研究により強く示唆されている。

また、タムスロシン塩酸塩はα1受容体遮断薬であり、血管平滑筋に存在するα1受容体を遮断することによって血管収縮を抑制することが推察される。1981年に米国にてファイザー株式会社よりプラゾシンが上市されて以来、数多くのα1受容体遮断薬が血管収縮抑制による高血圧治療薬として開発され、タムスロシン塩酸塩発見の端緒となったアモスラロールは、α1受容体遮断作用により血管の緊張を緩和させ血圧を低下させる薬剤として1988年に日本で上市されている（ローガン®錠インタビューフォーム）。α1受容体阻害によるシステミックな降圧作用には主にα1B受容体が関与している

ことが報告されているが（Smith et al., 1997）、血管の部位によってα1受容体サブタイプの発現や収縮に対する関与には違いがあると考えられる。そのため、α1A受容体サブタイプが有意な血管においては、タムスロシンは血管収縮抑制作用を強く発現する可能性が高いと推察される。以上の理由より、本研究ではタムスロシン塩酸塩のBPH患者における蓄尿症状改善メカニズムとして、膀胱血流改善作用があるためという仮説を立て、検証実験を実施した。

Table 1 Classification of lower urinary tract symptoms by the International Continence Society (Including symptoms specific to women).

1. Storage symptoms
    - Increased daytime frequency
    - Nocturia
    - Urgency
    - Urinary incontinence
        - Stress urinary incontinence
        - Urgency urinary incontinence
        - Mixed urinary incontinence
        - Nocturnal enuresis
        - Continuous urinary incontinence
        - Other type of urinary incontinence
    - Bladder sensation
        - Normal
        - Increased
        - Reduced
        - Absent
        - Non-specific
2. Voiding symptoms
    - Slow stream
    - Splitting or spraying
    - Intermittent stream (Intermittency)
    - Hesitancy
    - Straining
    - Terminal dribble
3. Post micturition symptoms
    - Feeling of incomplete emptying
    - Post micturition dribble

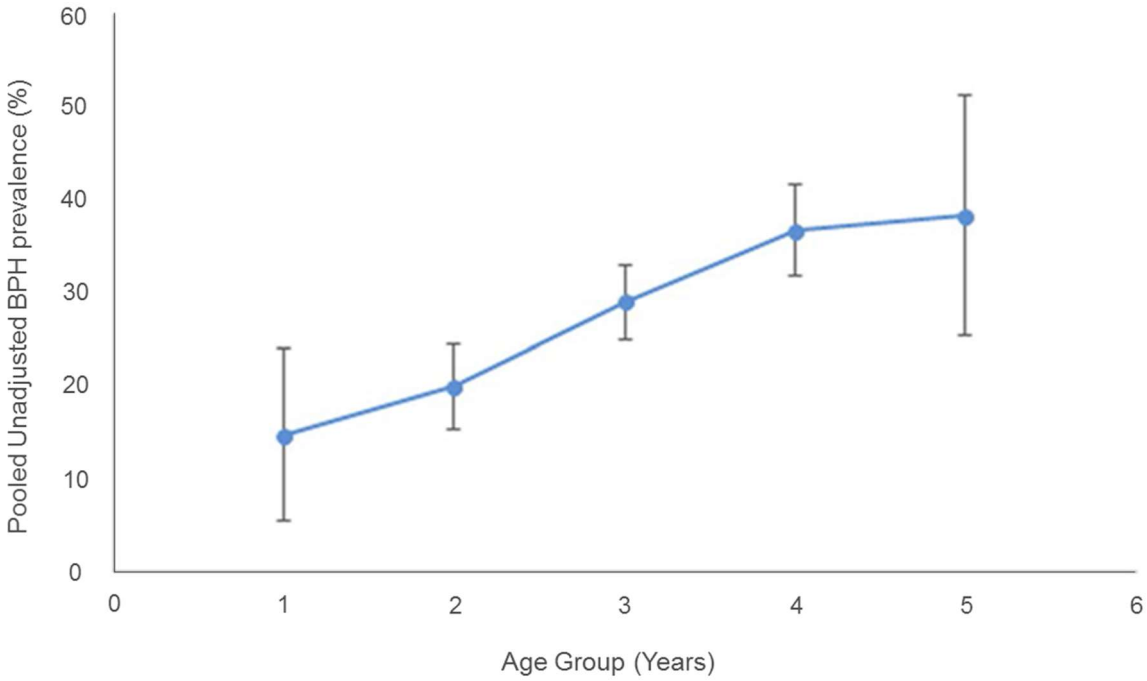


Fig. 1 Benign prostatic hyperplasia prevalence based across different age groups. Age group means 1: 40-49 years; 2: 50-59 years; 3: 60-69 years; 4: 70-79 years; 5: 80 years and above.

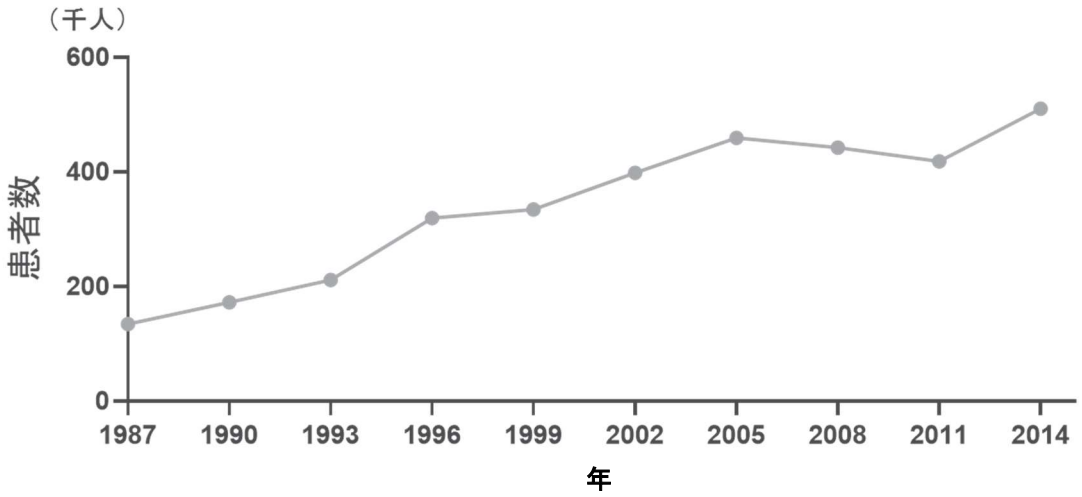


Fig. 2 Changes in the number of patients with benign prostatic hyperplasia in Japan (plotted based on patient survey data from the Ministry of Health, Labor and Welfare Minister's Secretariat Statistics Information Department).

Note: Data in 2011 exclude the Ishinomaki Medical Area and Kesen-numa Medical Area in Miyagi Prefecture, and Fukushima Prefecture.

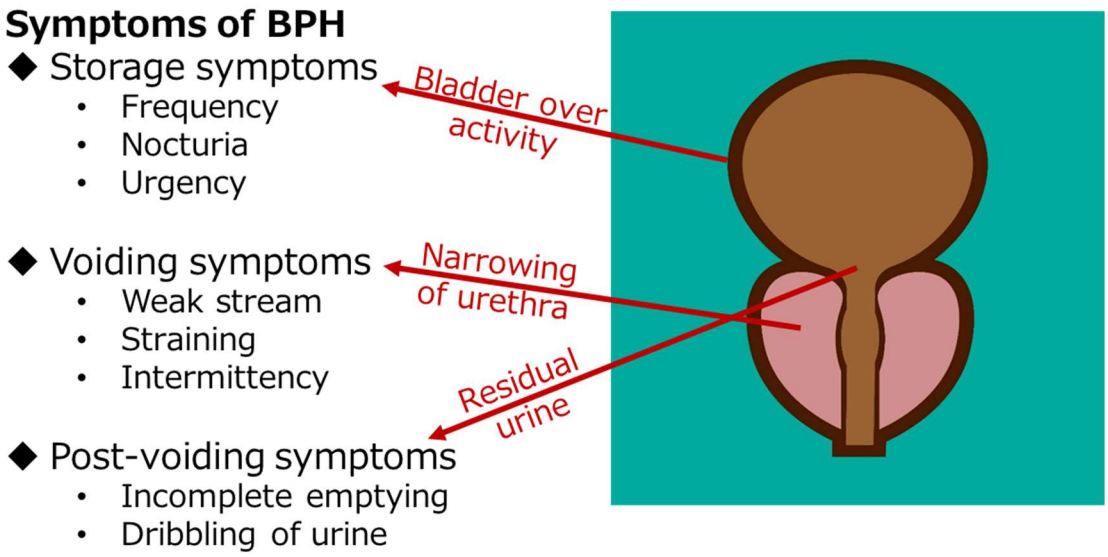
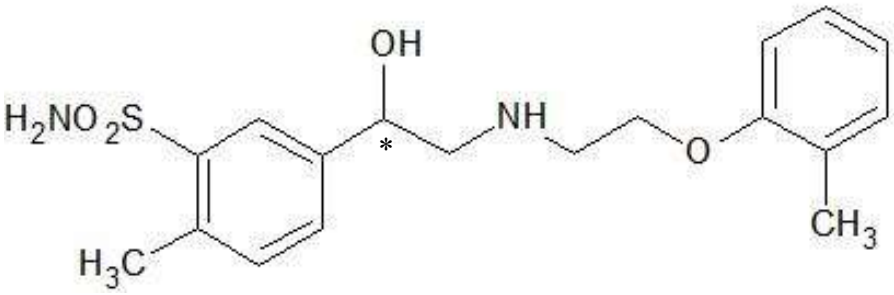
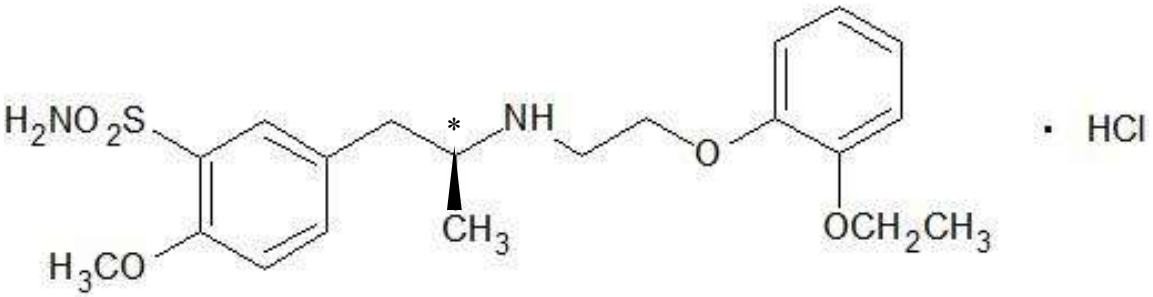


Fig. 3 Image of the symptoms in BPH and the region to be involved in each symptom in lower urinary tract.



Amosuralol



Tamsulosin HCl

Fig. 4 Structure of amosuralol and tamsulosin.

本論

第一章　尿道部分閉塞ラットモデルの膀胱血流および膀胱機能に対するタムスロシン塩酸塩の作用

第一節 背景

BPH 患者において、昼間頻尿、夜間頻尿、尿意切迫感などの蓄尿症状は、排尿遅延や尿勢低下などの排尿症状や、残尿感や排尿後滴下などの排尿後症状と比較してより一層日常生活に支障をきたし、生活の質を大きく低下させる症状であると言われている（Peters et al., 1997）。序論にて述べた通り、排尿症状および排尿後症状発症の主要因は尿道の部分閉塞による尿道内圧の上昇であると考えられているが、蓄尿症状には膀胱機能が主に関与しており、その膀胱機能障害には様々な要因があると考えられる。そこで本研究では、BPH 患者の膀胱機能障害を引き起こす要因の一つとして、膀胱血流の低下に着目した。前立腺の部分摘除術により尿道抵抗を改善した BPH 患者のうち、排尿筋過活動を呈する患者では、膀胱血流量が低下していることが報告されている（Mitterberger et al., 2007）。また、BPH の前臨床モデルとして、複数の動物種において尿道部分閉塞（BOO）モデルが汎用されているが、ラット（Das et al., 2002）、ウサギ（Lin et al., 1995）およびブタ（Greenland et al., 2000）における BOO モデルにて、膀胱血流量の低下が報告されている。これらの報告より、BPH 患者に認められる尿道部分閉塞は膀胱血流の低下を引き起こすことが示唆され、かつ膀胱血流低下が BPH 患者の排尿筋過活動に関与していることが推察される。排尿筋過活動は膀胱の収縮を過剰にし、蓄尿症状を惹起するため、BPH の蓄尿症状発症に膀胱血流低下の関与があると考えられる。

BOO モデルは、尿道周囲を部分的に結紮することにより排尿時の尿道弛緩を阻害し、尿道抵抗を高めた状態にする BPH の動物モデルである。本モデルは持続的に尿道抵抗の高い状態を作り出すことにより、排尿筋の過活動（Ohtake et al., 2006）や、蓄尿症状様の症状を呈する（Hashimoto et al., 2005）ことが報告されている。すなわち BOO モデルにおける膀胱過活動は BPH 患者の蓄尿症状と類似した症状であると考えられる。そこで本研究では BOO モデルを用い、タムスロシン塩酸塩の膀胱血流および膀胱機能に対する作用の検証を実施することとした。

第二節 実験項

試薬

タムスロシン塩酸塩はアステラス製薬にて合成し、生理食塩液に溶解後、アルゼット®浸透圧ポンプ（モデル 2002、DURECT Corporation, Cupertino, CA, USA）に充填して使用した。

方法

本試験は、アステラス製薬株式会社つくば研究所の動物実験委員会の承認のもとに実施した。なお、アステラス製薬筑波研究センターは、the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC) International から認定を受けている。

尿道部分閉塞ラット（BOO モデルラット）の作製

雌性Wisterラット（モデル作製時9-10週齢）は、日本チャールス・リバー株式会社（横浜市、日本）より購入し、使用した。BOOモデルラットの作製の模式図をFig. 5に示す。ラットをペントバルビタールナトリウム（50 mg/kg, ip）にて麻酔し、外形1.09 mmのポリエチレンカテーテル（イントラメディックポリエチレンチュービング、PE-20）を外尿道口より膀胱まで挿入した。下腹部の正中切開により膀胱および尿道を露出し、近位尿道を絹糸（5-0）にて2か所結紮後、カテーテルを抜去して尿道の部分閉塞を作製した。下腹部の切開創を縫合し、感染予防のためアンピシリンナトリウム（150 mg/kg, sc）

を投与した。また、偽手術群は膀胱および尿道の露出まで同様の操作を行い、尿道の結紮をせずに切開創を縫合した。術後のラットは覚醒を確認し、12時間の明暗周期、温度および湿度が管理された飼育室にて自由摂餌・自由飲水下で飼育した。

タムスロシン塩酸塩または溶媒は、浸透圧ポンプにて皮下持続投与を行った。モデル作製後、背部を剃毛し皮膚を小切開し、タムスロシン塩酸塩または生理食塩液を充填した浸透圧ポンプを背部皮下に埋め込んだ。切開創は絹糸にて縫合した。充填した液体は、0.5 μL/hのスピードで2週間持続的にポンプより排出された。充填したタムスロシン塩酸塩溶液の調整濃度（X mg/mL）は以下の計算式にて決定した。

$$X\ (\mathrm{mg/mL}) = \text{目的用量}\ (\mu\mathrm{g/kg{\cdot}h^{-1}}) \times 10^{-3} \times \text{平均体重}\ (\mathrm{kg}) / 0.5\ (\mu\mathrm{L/h}) \times 10^{-3}$$

膀胱血流量測定

膀胱血流量はマイクロスフェア法を用いて測定した。偽手術群、溶媒コントロール群、タムスロシン塩酸塩0.1 μg/kg投与群およびタムスロシン塩酸塩1 μg/kg投与群の4群にて評価を実施した。BOOモデル作製後2週間に、ラットをペントバルビタールナトリウムにて麻酔し、左総頚動脈および左大腿動脈にカテーテルを挿入した。膀胱から残尿を除去し、膀胱壁の伸展状態を統一するために偽手術群では0.5 mL、BOO群では膀胱容量の3分の1量の生理食塩液を膀胱内に注入した。

大腿動脈より0.6 mL/minのスピードで採血をしながら、総頚動脈より同スピードでマイクロスフェア懸濁液0.2 mL（1,000,000 microspheres/mL）を投与した。投与終了後、

ラットを安楽死し、膀胱を摘出・秤量した。

摘出膀胱および血液よりマイクロスフェアを回収し、マイクロプレートリーダーを用いて蛍光強度（Em; 膀胱：$FI_{bladder}$、血液：FI_{blood}）を測定した。膀胱血流量（Y mL/min/g）は以下の式を用いて算出した。

$$Y\ (\mathrm{mL/min/g}) = FI_{bladder} / \text{膀胱重量}\ (\mathrm{g}) \times 0.6\ (\mathrm{mL/min}) / FI_{blood}$$

排尿動態評価

偽手術群、溶媒コントロール群、およびタムスロシン塩酸塩1 μg/kg投与群の3群にて評価を実施した。BOOモデル作成後2週間に、ラットに20 mL/kgの蒸留水を経口投与し、直ちに個別に代謝ケージに入れた。ラットの尿は天秤上の容器に回収し、2時間にわたり1分ごとに秤量・記録した。尿は1 gを1 mLとして換算した。排尿動態評価の模式図をFig. 6に示す。

2時間の排尿測定後、ラットを安楽死し、膀胱を摘出・秤量した。排尿パラメータは2時間の総排尿量（TVV, mL）、排尿回数（MF）であり、平均一回排尿量（MVV）はMVV=TVV/MFの式を用いて算出した。なお、膀胱血流量測定とは別個体を用いて評価を行った。

膀胱動脈のα1受容体サブタイプの発現解析

膀胱動脈におけるα1受容体サブタイプmRNAの発現量を、RT-PCR法を用いて解析し

た。偽手術群およびBOOモデル群各3例を安楽死し、尿管に沿って走行する膀胱近位の動脈を摘出・凍結した。

RNeasy Micro Kit（Quiagen, Hilden, Germany）を用いて膀胱動脈よりトータルRNAを抽出し、ThermoScript RT-PCR System（Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA）を用いて逆転写によりcDNAを合成した。cDNAサンプルまたはラットゲノムDNAに5 μLのPower SYBER Green PCR Master Mix（Thermo Fisher Scientific）と0.0752 μLのプライマーを添加し、RNase-free水にて10 μLに調整した。そのサンプルを95℃ 10分間の条件で一本鎖に解離し、denature: 95℃、15秒、anneal/extension: 60℃、1分の条件で45サイクルのPCR反応を行った。Real-time PCRに用いたプライマーの配列はTable 2に示す。ハウスキーピング遺伝子として、G3PDHを用いた。RT-PCRによる発現解析はtriplicateで行った。

解析

膀胱血流評価結果および排尿パラメータは平均値±標準誤差にて表した。偽手術群とBOOモデルの溶媒コントロール群の有意差検定はStudent's *t*-testを用いて、膀胱血流評価における溶媒コントロール群とタムスロシン塩酸塩投与群の有意差検定はDunnett多重比較法を、排尿パラメータにおける溶媒コントロール群とタムスロシン塩酸塩投与群の有意差検定はStudent't *t*-testを用いて実施した。全ての検定において、$P<0.05$の場合に統計学的に有意差ありとみなした。RT-PCR結果は、G3PDH mRNAに対

する相対発現量にて表した。

第三節 結果

膀胱血流量

偽手術群およびBOOモデル溶媒コントロール群の膀胱血流量はそれぞれ1.90±0.42 mL/min·g^{-1} および 0.77±0.19 mL/min·g^{-1} であり、2 週間の BOO により有意に膀胱血流が低下することが確認された。タムスロシン塩酸塩（1 μg/kg·h^{-1}）の 2 週間投与により、BOO モデルラットの膀胱血流量が有意に改善した（1.97±0.51 mL/min·g^{-1}）（Fig. 7）。膀胱重量が 500 mg 未満の個体で評価すると、BOO モデルの溶媒投与群（n=7）、タムスロシン塩酸塩 0.1 μg/kg/h 投与群（n=11）、およびタムスロシン塩酸塩 1 μg/kg/h 投与群（n=6）の膀胱血流量はそれぞれ 0.52±0.09、1.05±0.22 および 2.84±0.65 mL/kg·h^{-1} であった。なお、血圧には群間の差は認められなかった。

排尿動態

排尿動態評価における偽手術群、BOO モデル溶媒コントロール群、およびタムスロシン塩酸塩 1 μg/kg/h 投与群の平均膀胱重量はそれぞれ 67±4.1、559±50、および 614±34 mg であった。MVV はそれぞれ 0.97、0.78、および 0.86 mL であり、群間で有意な差は認められなかった。しかし、BOO モデルラットを膀胱重量 500 mg 未満に限定して評価を行うと、溶媒コントロール群（n=8）の MVV は 0.61 mL、タムスロシン塩酸塩 1 μg/kg·h^{-1} 投与群（n=6）の MVV は 0.97 mL であり、タムスロシン塩酸塩投与により有意な MVV の上昇が確認された（Fig. 8A）。TVV は偽手術群（4.63 mL/2 h）と比

較して BOO モデル溶媒コントロール群（2.54 mL/2 h）で有意に低く、タムスロシン塩酸塩の投与により影響を受けなかった（Fig. 8B）。MF は偽手術群（5.25 回/2 h）と BOO モデル溶媒コントロール群（4.38 回/2 h）で有意差は認められなかったが、タムスロシン塩酸塩の投与により有意に減少した（3.00 回/2 h）（Fig. 8C）。

膀胱動脈における各サブタイプの発現

膀胱動脈における各α1 受容体サブタイプの mRNA 発現量（G3PDH にて補正）は、偽手術群（Fig. 9A）で α1a 受容体：0.7369、α1b 受容体：0.0029、α1d 受容体：0.1399、BOO モデル群（Fig. 9B）で α1a 受容体：0.3243、α1b 受容体：0.0056、α1d 受容体：0.0679 であった。発現比としては、偽手術群および BOO モデル群でそれぞれ α1a : α1b : α1d = 83.8% : 0.3% : 15.9%、81.5% : 1.4% : 17.1%であった。

第四節 考察

本研究より、BOO モデルラットにおいてタムスロシン塩酸塩の持続投与が膀胱血流量を増加させ（Fig. 7）、平均一回排尿量の低下を改善することが確認された（Fig. 8）。さらに、膀胱動脈における α1 受容体サブタイプの mRNA 発現量は、α1a ＞ α1d ≫ α1b であることが明らかとなった（Fig. 9）。これらの結果は、タムスロシン塩酸塩が膀胱動脈に発現する α1A および α1D 受容体の阻害を介して膀胱動脈の収縮を抑制し、膀胱血流量を上昇させ、MVV の上昇をもたらしている可能性を示唆するものである。

BOO 処置を行うことで、排尿時に膀胱に過剰に圧がかかることや、膀胱内の残尿量が増えることにより膀胱が物理的に伸展されることにより、膀胱の虚血が惹起されることが報告されている（Matsumoto et al., 2002）。また BOO ラットでは蓄尿症状様の症状（頻尿症状）を発現することが知られている（Ohtake et al., 2006）。そこで本研究では、BOO モデルラットを用いて膀胱虚血と蓄尿症状に対するタムスロシン塩酸塩の作用を確認した。

今回、タムスロシン塩酸塩を 0.1 または 1 $\mu g/kg \cdot h^{-1}$ の用量で 2 週間持続皮下投与した。本用量は事前の検討により 1 $\mu g/kg \cdot h^{-1}$ が血漿中濃度の AUCu レベルで臨床有効用量と同等であることを確認して決定したものである。すなわち、ヒトの臨床有効用量と同等の用量で、マウスにおいてもタムスロシン塩酸塩が膀胱血流を上昇させ（Fig. 7）、蓄尿症状を改善させる（Fig. 8）という結果を得た。

末梢血管系において、α1 アドレナリン受容体刺激は血管収縮を担う主要な経路であることが知られているが、そのサブタイプの発現は血管によって様々である（Martí et al., 2005）。序論にて記述したとおり、全身血圧には α1B 受容体の関与が大きいことが報告されているが、血管部位によって収縮に関与する α1 受容体サブタイプには差があると考えられ、イヌにおいて膀胱動脈の収縮には主に α1A 受容体が関与していると報告されている（Nakazawaet et al., 2002）。しかし、ラットにおける関与については不明である。本研究により、膀胱動脈における mRNA 発現が α1a ＞ α1d ≫ α1b であることが明らかとなり（Fig. 9）、タムスロシン塩酸塩のサブタイプ選択性の順序と一致した。実際に摘出血管の収縮に対する作用を検討していないためスペキュレーションではあるが、この発見よりタムスロシン塩酸塩はその α1A および α1D 受容体阻害作用により膀胱動脈の収縮を抑制しているものと推察され、そのことが膀胱血流低下抑制作用に関与している可能性が示唆された。ただし、今回の検討はラットの膀胱動脈における mRNA 発現のみであるため、実際の血管収縮に対する各サブタイプの関与、およびヒト膀胱動脈についてはさらなる検討が必要である。

本実験において、膀胱重量が 500 mg 未満の個体で平均一回排尿量の低下が認められたが、膀胱重量が 500 mg を超える個体においては認められなかった。なお、今回評価した BOO ラットの膀胱重量は 210-1,070 mg であった。BOO モデルの膀胱重量は膀胱壁の肥厚の状態に依存するが、その状態には非常に大きなばらつきが認められる。このばらつきの発生には術後の炎症の程度、手術部位の癒着、各個体の飲水量やそれに

伴う尿生成量、閉塞部位のばらつきなど様々な要因が複合的に関与していると考えられ、人為的に膀胱壁の肥厚状態を均一化することは不可能である。本検討は BOO モデルの作製と同時に薬剤の投与を開始するというプロトコールの試験であるため、膀胱の状態による群間の均一化を図ることができず、膀胱容量のばらつきに薬剤の作用がマスクされてしまうことが懸念される。膀胱容量と相関するパラメータである膀胱重量の範囲を制限して評価を行うことで、この懸念を払拭することが可能である。そのような評価方法は BOO モデルを用いた試験において既報でも用いられている方法であり、実際 BOO ラット（閉塞期間 6-8 日、膀胱重量 250 mg 未満）において膀胱の過活動が報告されている（Hashimoto et al., 2005）。また、BOO モデルにおいて膀胱が過度に肥厚している状態は非代償期であることが報告されており（Kato et al., 1990）、薬剤による治療効果の及ばない不可逆的な器質的変化に至っているため、本評価には適さない。これらの理由により、本実験においては平均一回排尿量の低下が認められる膀胱重量 500 mg 未満のラットを排尿機能の評価対象とした。臨床有効用量と同等の血漿中濃度を示す用量のタムスロシン塩酸塩は、BOO ラットの平均一回排尿量を増加させた。一方で、強制飲水後 2 時間における総排尿量は BOO 処置により低下した。総排尿量低下の詳細なメカニズムは不明であるが、BOO に伴う排尿困難および残尿の発現により恒常的に膀胱内圧が高い状態であるため、腎臓に持続的に負荷がかかっており、障害が発生している可能性が考えられる。今回の試験系では強制飲水後 2 時間での評価を行っているため、膀胱の過活動状態を最も反映しているパラメータは平均一回排

尿量（一回ごとの排尿量の平均値）と考えられる。すなわち、タムスロシン塩酸塩はBOO ラットの蓄尿症状を改善する可能性があることが確認された。今回の研究では排尿動態測定により頻尿症状に対する作用を確認したが、以前の研究でシストメトリー法を用いて BOO ラットの排尿前収縮をタムスロシン塩酸塩が抑制することが報告されている（Ohtake et al., 2006）。排尿前収縮は過活動膀胱に関与していると言われており、今回の結果と合わせて排尿動態および膀胱機能の両面からタムスロシン塩酸塩の蓄尿症状に対する有効性が裏付けられた。本研究から BOO ラットの膀胱血流量低下と頻尿症状の関連を直接考察することはできないが、今回の検討では絹糸による尿道の部分閉塞を解除することなく排尿動態評価を行っているため、タムスロシン塩酸塩が尿道収縮を抑制し尿道抵抗を低下させたことによる頻尿症状の改善とは考えられない。また、序論にて述べた通り、膀胱平滑筋における収縮弛緩に対する関与は小さいことが報告されている（Nomiya et al., 2003）ことから、膀胱平滑筋への直接作用である可能性も低い。膀胱血流量の低下が頻尿症状発症に関与していることを示唆する数々の研究結果を考え合わせると、タムスロシン塩酸塩が BOO ラットの膀胱血流量低下を抑制することにより蓄尿症状を改善させる可能性が示唆されたものと考える。

Table 2 Sequence of oligonucleotide primers used in this study.

Gene	Oligonucleotide Sequences	Size (bp)
α1a-Adrenoceptor	Sense: 5'-CGAATCCAGTGTCTTCGCAC-3'	100
	Antisense: 5'-ACCATGTCTCTGTGCTGTCCC-3'	
α1b-Adrenoceptor	Sense: 5'-GCTCCTTCTACATCCCGCTCG-3'	300
	Antisense: 5'-AGGGGAGCCAACATAAGATGA-3'	
α1d-Adrenoceptor	Sense: 5'-GAAGGTGATGGGTTATGGTG-3'	151
	Antisense: 5'-GAAGCCATAGCTGAAGCCT-3'	
G3PDH	Sense: 5'-AAGCAGGCGGCCGAG-3'	102
	Antisense: 5'-ATCAAAGGTGGAAGAATGGGA-3'	

The oligonucleotide sequences for the α1a-, α1b-, and α1d-adrenoceptors are referred by those of Martí et al., (2005).

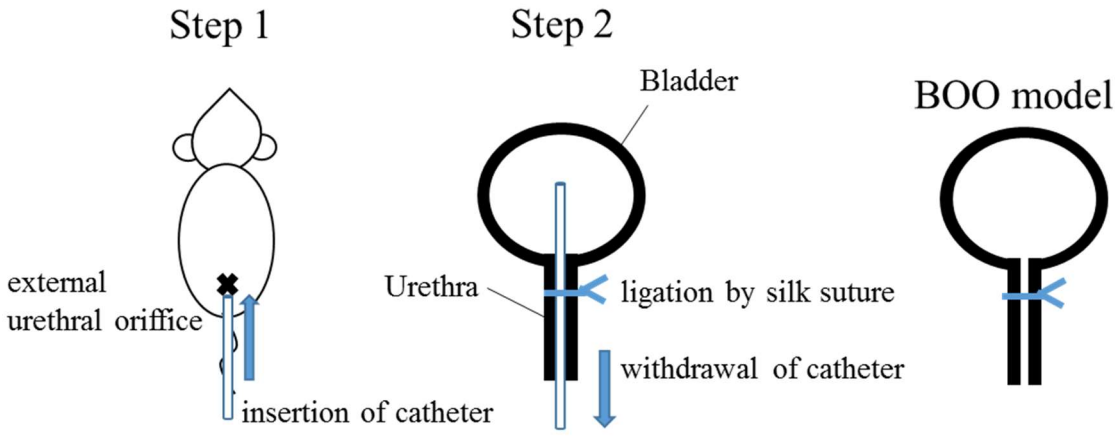


Fig. 5 Diagram of BOO surgery procedure.

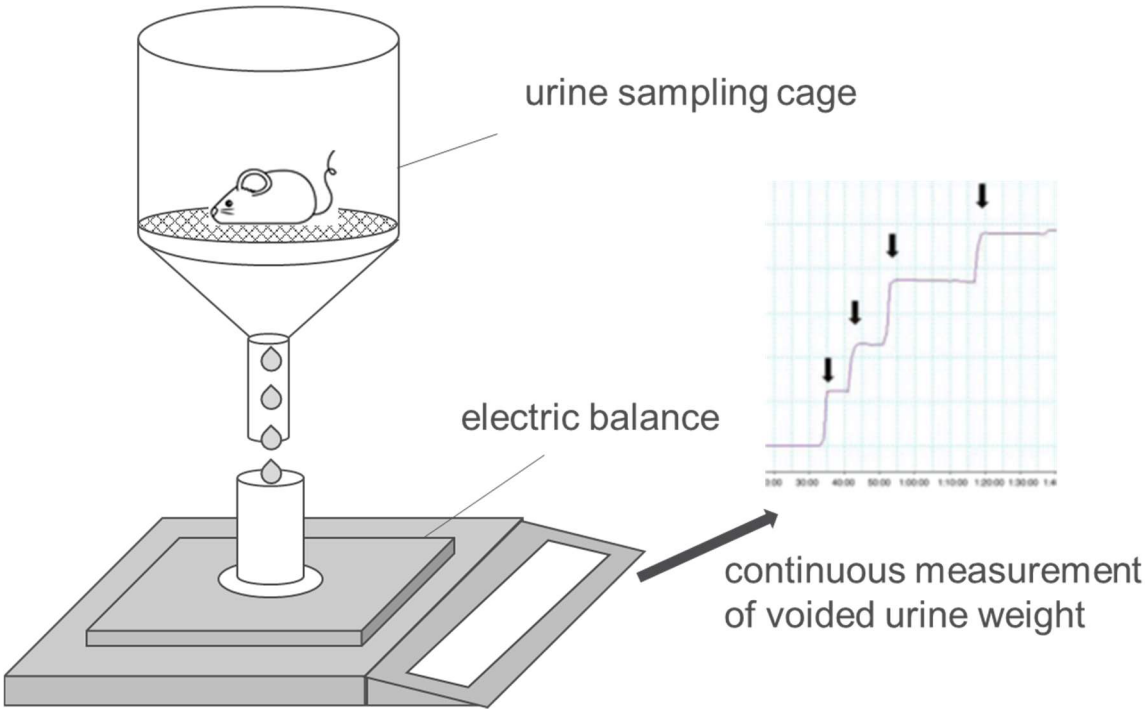


Fig. 6 Diagram of micturition recording.

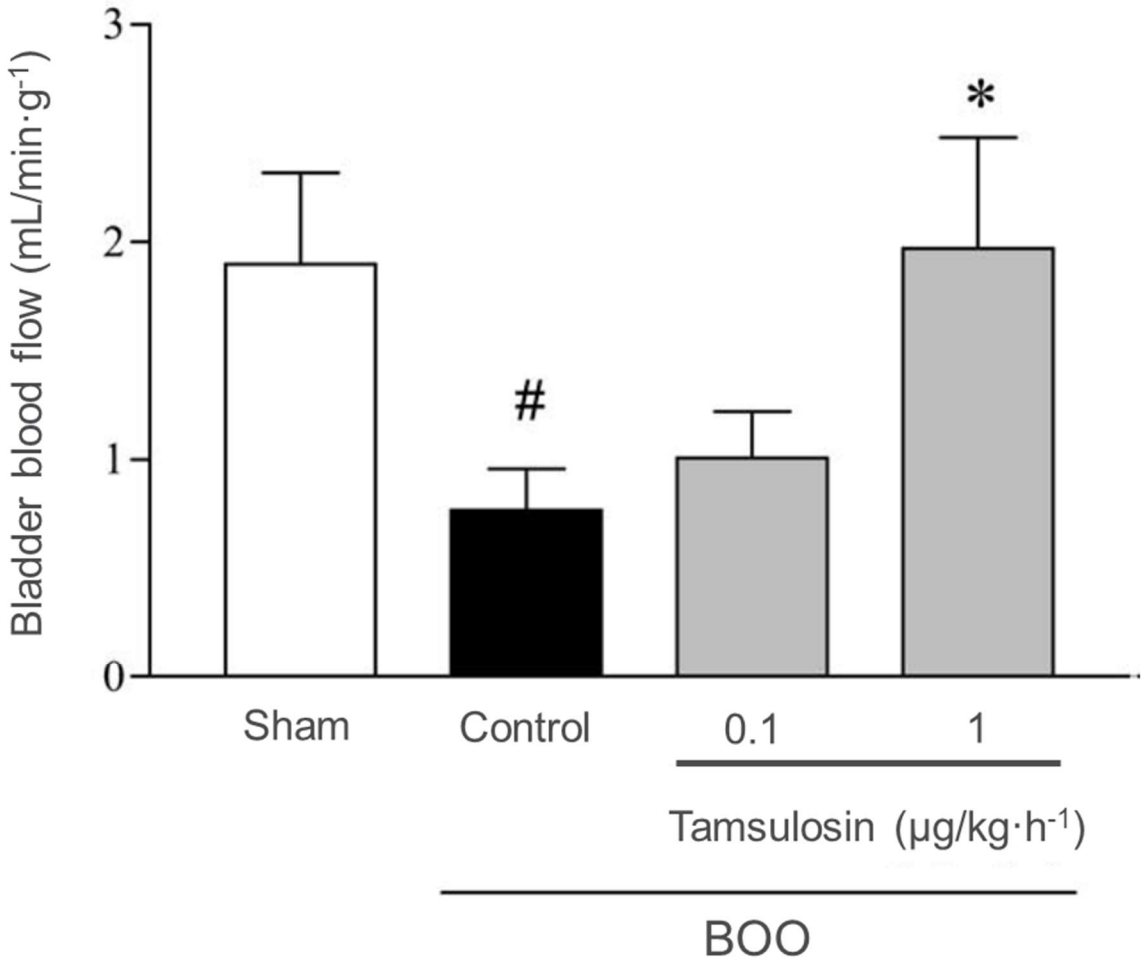


Fig. 7 Effect of tamsulosin HCl on BBF in BOO rats. BBF was measured using the fluorescent microsphere technique.

The proximal urethra was partially obstructed for 2 weeks in the control and tamsulosin HCl dosing groups. Tamsulosin HCl was subcutaneously administered for 2 weeks via an osmotic pump (n = 11, 11, and 12 and 11 in the sham, control, and tamsulosin HCl 0.1 and 1 μg/kg·h^{-1} groups, respectively).

#$P < 0.05$ vs. sham group (Student's *t*-test). *$P < 0.05$ vs. control group (Dunnett's multiple comparison test).

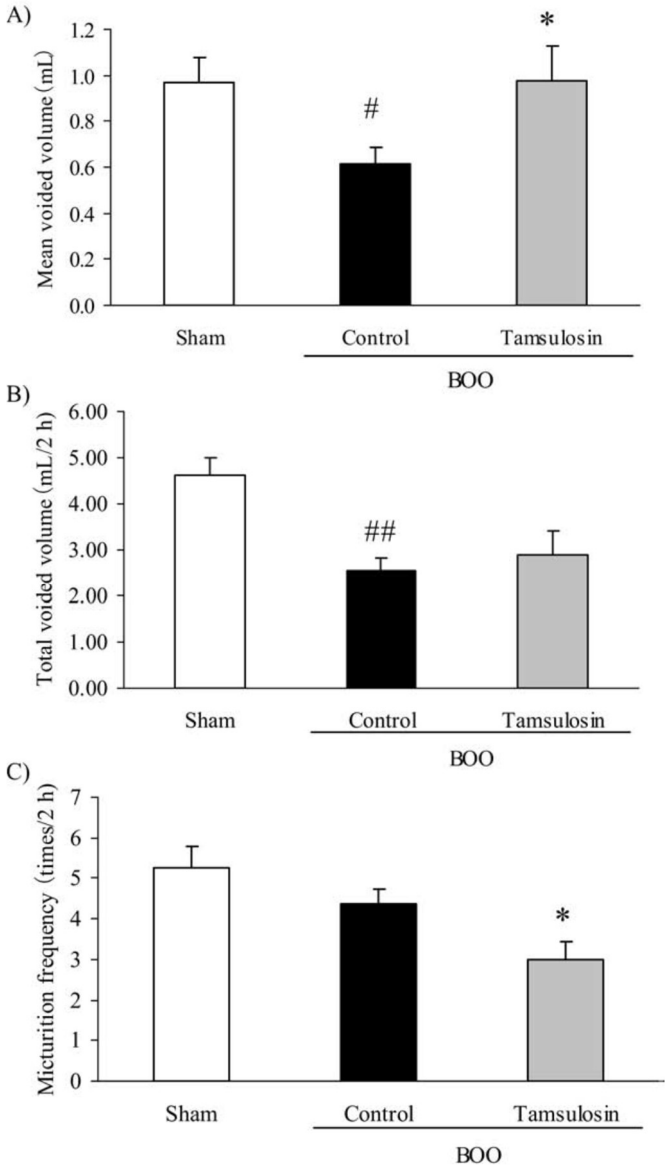


Fig. 8 Effects of tamsulosin HCl on the micturition parameters in BOO rats. A) Mean voided volume, B) total voided volume, and C) micturition frequency were measured in a metabolic cage. The proximal urethra was partially obstructed for 2 weeks in the control and tamsulosin HCl dosing groups. Tamsulosin HCl was subcutaneously administered for 2 weeks *via* an osmotic pump at a dose of 1 μg/kg·h^{-1}. Data obtained from the rats with bladder masses < 500 mg were adopted in this study (n = 12, 8, and 6 in the sham, control, and tamsulosin HCl groups, respectively). #$P < 0.05$, ##$P < 0.01$ vs. sham group (Student's *t*-test). *$P < 0.05$ vs. control group (Student's *t*-test).

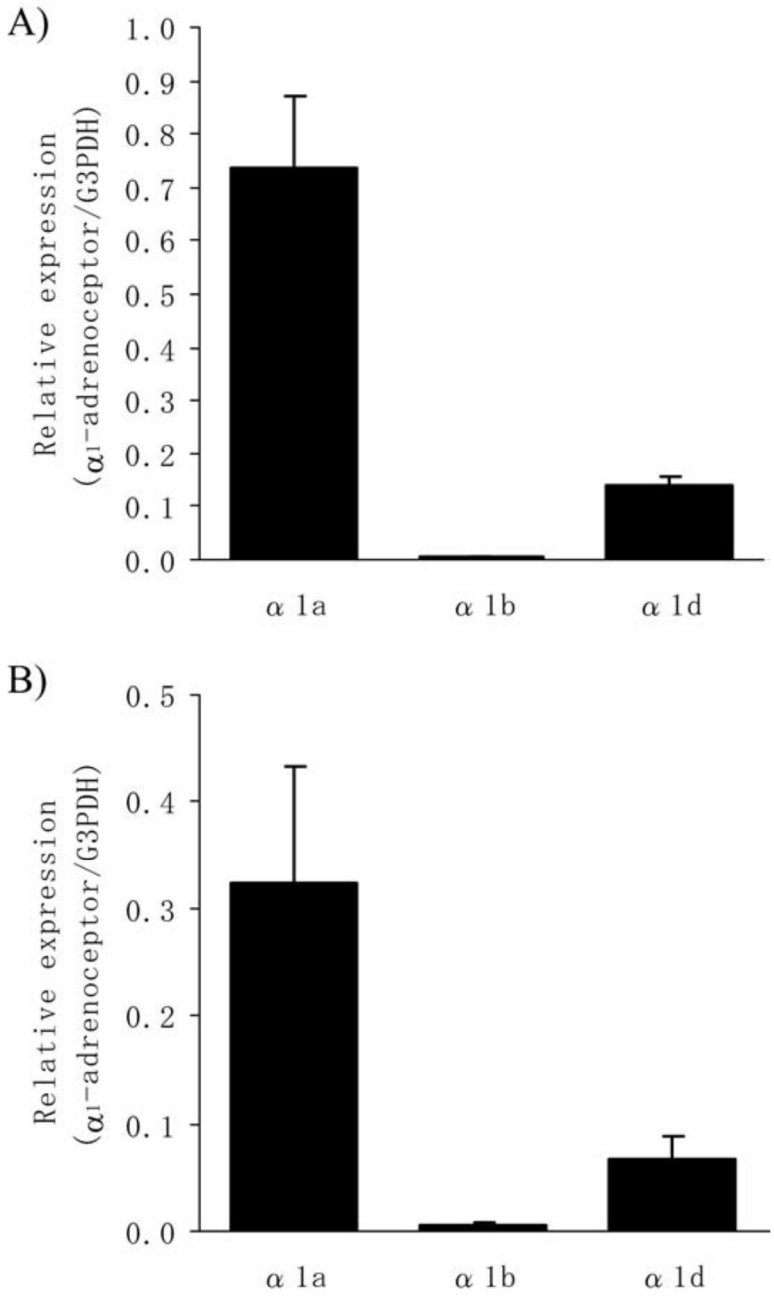


Fig. 9 Relative expression levels of α1-adrenoceptor subtype in vesical artery. Expression of α1-adrenoceptor subtype mRNA in the vesical artery in A) sham and B) BOO rats were measured using RT-PCR. The proximal urethra was partially obstructed for 2 weeks in BOO rats (n = 3).

第二章 膀胱過伸展解除誘発膀胱過活動モデルの膀胱血流および膀胱機能に対するタムスロシン塩酸塩の作用

第一節 背景

2000年頃より、膀胱血流の低下がLUTSに関与する可能性が注目されてきた。喫煙や高血圧といった血管系のリスクファクターがLUTSと相関があること（Ponholzer et al., 2006; Gibbons et al., 2007）、メタボリックシンドロームを背景に持つ女性の２型糖尿病患者で、LUTSおよび過活動膀胱が有意に増加すること（Tai et al., 2010）などが報告されており、末梢血流量の低下がLUTSのリスクファクターであることが明らかとなっている。また、LUTS患者では、無症状のコントロールと比較して膀胱頸部・前立腺（Pinggera et al., 2008a）や膀胱（Pinggera et al., 2008b）の血流の低下が認められている。第一章に記述した通り、手術により前立腺容積を縮小させたBPH患者や女性のLUTS患者、および各種BOOモデル動物における膀胱血流の低下も確認されている。これらの報告を考え合わせると、膀胱血流低下が蓄尿症状に何らかの関与をしていることが強く示唆されていると考えられる。

第一章にて、BOO モデルラットにおけるタムスロシン塩酸塩の膀胱血流量増加作用および平均一回排尿量増加作用を確認した。BOO モデルラットは BPH モデルとして汎用されているモデルであるが、尿道の部分閉塞により膀胱への負荷を長期間かけるために、非常に大きな膀胱の器質的変化を伴う動物モデルである。BOO 処置により経時的に膀胱重量の増加が認められ、その程度は BOO 作製後 2 週間で正常ラットの数倍にまで及ぶ（Ukai et al., 2006）。この変化は臨床症状と比較して非常に劇的なものである。すなわち、尿道抵抗の上昇という面において臨床症状をミミックした汎用モデ

ルではあるものの、劇的な膀胱平滑筋の器質的変化に伴う様々な要因により下部尿路に様々な変化が起こっているモデルでもあるという問題点がある。また、その器質的変化の均一化が不可能であることから評価方法に各種条件を付ける必要があることも、第一章で述べた通りである。そこで本章では、蓄尿症状様の頻尿症状を発症するメカニズムが BOO ラットと比較してより限定されたモデルを用いて評価を行うため、膀胱の器質的変化を伴わず膀胱血流の低下と蓄尿症状様の症状を呈する動物モデルの作製を試みた。さらに、上記プロフィールを持つモデルとして急性の膀胱過伸展解除モデルを確立し、その血流および排尿動態に対するタムスロシン塩酸塩の作用を確認した。

第二節 実験項

試薬

カプサイシンは Sigma-Aldrich 社（St. Louis, MO, USA）より購入し、10% エタノール、10% Tween 80、80% 生理食塩液にて溶解した。

タムスロシン塩酸塩はアステラス製薬にて合成し、生理食塩液にて溶解後、アルゼット®浸透圧ポンプ（モデル 2002）に充填して使用した。

方法

本試験は、アステラス製薬株式会社つくば研究所の動物実験委員会の承認のもとに実施した。なお、アステラス製薬筑波研究センターは、AAALAC International から認定を受けている。

使用動物および薬剤投与

12 週齢の雌性 SD ラットは日本チャールス・リバー株式会社より購入し、使用した。タムスロシン塩酸塩（1 μg/kg·h^{-1}）は、第一章と同様に背部皮下に埋め込んだ浸透圧ポンプよりモデル作製前 1 週間より持続的に投与した。タムスロシンの調整濃度、浸透圧ポンプの埋め込み方法は第一章と同様である。コントロールラットには生理食塩液を浸透圧ポンプに充填し、モデル作製前 1 週間より持続的に皮下投与した。

カプサイシンは 12 時間のインターバルを置いて、一日目には 25 および 50 mg/kg、二日目には 50 mg/kg の用量で計 125 mg/kg を皮下投与した。カプサイシンの最終投与後 4 日に試験を実施した。

膀胱過伸展解除モデルの作製および膀胱血流測定

ラットをペントバルビタールナトリウム（50 mg/kg, ip）にて麻酔し、下腹部を剃毛後正中切開し、膀胱を露出した。ポリエチレンカテーテル（イントラメディックポリエチレンチュービング、モデル PE-50、Becton Dickinson and company, Franklin Lakes, NJ, USA）を、外尿道口より膀胱まで挿入し、外尿道口周囲を強く結紮した。膀胱内にある尿を排出後、カテーテルの他端をインフュージョンポンプに設置したシリンジに接続し、0.1 mL/min の速度で膀胱内に 2 mL の生理食塩液を注入して膀胱を過進展させた。カテーテルを閉鎖し、膀胱内が 2 mL の生理食塩液で満たされた状態を 2 時間維持した。2 時間後、カテーテルを開放して膀胱内から生理食塩液を排出し、過伸展を解除した。偽手術群には同様の処置を施したが、生理食塩液の注入は行わなかった。

膀胱血流量はレーザードップラー血流測定装置（PeriScan PIM II、Perimed AB, Järfälla, Sweden）を用いて実施した。本機は走査部位の中の関心領域（ROI）の平均血流量を測定できるものである（Fig. 10 の B および D は走査領域の CCD カメラ撮影画像。走査領域全域の測定後、カメラ撮影画像をもとに実験者が ROI を設定する。B 及び D において白線で囲まれた部位が ROI である）。照射されたレーザー光は、組織内部で運動し

ている血球にあたるとドップラー効果により周波数が変化して反射される。一方、静止組織から反射されたレーザー光の周波数は変化しない。走査部位より反射した光の周波数はドップラー効果を受けた光と受けていない光の総和であり、変化した反射光量は血球の数に比例する。また、周波数の変化の大きさは血球の速度に比例する。本機では、この血球数および速度に比例した値を掛け合わせ、血流量が自動算出される。露出した膀胱の血流量は、膀胱過伸展直前、過伸展直後、過伸展後 120 分（解除直前）、過伸展解除直後、過伸展解除後 30、60 および 120 分に測定した。血流測定時以外は切開した腹壁を仮留めし、膀胱が乾燥しないようにした。

膀胱過伸展解除モデルの排尿動態測定およびシストメトリー

ラットは膀胱過伸展解除後すぐに覚醒させるためにハロタンの吸入（導入麻酔 4%、維持麻酔 1%）にて麻酔し、血流測定時と同様の方法で 2 時間の膀胱過伸展を行った。ただし、下腹部の正中切開は行わなかった。

排尿動態測定においては、過伸展後 2 時間に膀胱内の生理食塩液を排出し、直ちに蒸留水 20 mL/kg を強制経口投与した。蒸留水投与後、ラットを代謝ケージに入れた。ラットの尿は天秤上の容器に回収され、4 時間にわたり 1 分ごとに秤量・記録された。尿は 1 g を 1 mL として換算した。秤量チャートにて、階段状に重量が増加している場合を排尿とみなし排尿回数を、4 時間の重量変化から総排尿量を評価した（Fig. 11）。総排尿量を排尿回数で除した値を平均一回排尿量とした。

シストメトリーは、過伸展解除後 4 時間より開始した。膀胱過伸展解除後に下腹部を正中切開し膀胱を露出し、膀胱頂部を小切開しカテーテルを挿入して切開部を強く結紮することで固定した。カテーテルの他端が体外に出るように下腹部の切開創を縫合し、ラットを固定装置（ボールマンケージ、夏目製作所）にて保定した。膀胱頂部より挿入したカテーテルの他端をインフュージョンポンプに設置したシリンジに接続し、4.2 mL/h の速度で生理食塩液を膀胱内に持続的に注入した。カテーテルを分岐させ圧測定装置に接続し、膀胱内に生理食塩液を持続注入しながら同時に膀胱内圧を測定した。尿は固定装置直下に設置した受け皿にて回収し、排尿ごとに重量を測定した。4 回の排尿が認められるまで測定し、3 回目および 4 回目の測定値を平均して結果とした。評価パラメータは排尿間隔（分）、排尿圧（cmH_2O）、排尿閾値圧（cmH_2O）、排尿量（mL）、残尿量（mL）とした。なお、残尿量は直接測定ではなく、次の式により算出した。

残尿量 ＝ 膀胱注入量＋1 回前の排尿時の残尿量 - 排尿量

シストメトリー法による膀胱内圧測定手法の模式図を Fig. 12 に、偽手術群および膀胱過伸展解除モデルのシストメトリー典型チャートを Fig. 13 に示した。

解析

膀胱血流量、排尿パラメータおよびシストメトリーデータは平均値±標準誤差で示した。偽手術群とコントロール群、カプサイシン処置群と非処置群およびコントロー

ル群とタムスロシン塩酸塩投与群の群間比較は、それぞれ Student's *t*-test を用いて実施した。全ての検定において、$P<0.05$ の場合に統計学的に有意差ありとみなした。

第三節 結果

膀胱過伸展解除モデルのプロファイル確認

膀胱血流量

Fig. 10 に、膀胱過伸展前（A および B、膀胱内液量 0 mL）および膀胱過伸展中（C および D、膀胱内液量 2 mL）の血流測定時の典型画像イメージを示した。A および B と C および D の縮尺は同一である。膀胱内に生理食塩液を 2mL 注入することにより膀胱が大きく膨らんでいることが確認できる。

膀胱過伸展時は、過伸展前と比較して約 40%まで膀胱血流量が低下し、過伸展を維持している 120 分にわたってその膀胱血流低下は維持された。過伸展解除後に膀胱血流量は上昇するものの、過伸展前の約 70%までしか回復しないことが確認された。過伸展解除後の膀胱血流量は、120 分にわたって維持された（Fig. 14）。

排尿動態評価

膀胱過伸展解除により、解除直後から 2 時間にわたる排尿動態では、排尿回数の有意な増加および平均一回排尿量の有意な減少が認められた。総排尿量には変化は認められなかった（Fig. 15）。

カプサイシンの前処置により、偽手術群、膀胱過伸展解除モデル群ともに排尿回数・平均一回排尿量ともに影響を受けなかった（Fig. 16）。

シストメトリー

Fig. 13 に、偽手術群および膀胱過伸展解除モデルのシストメトリーの典型チャートを示した。膀胱過伸展解除により、排尿間隔の有意な短縮と平均一回排尿量の有意な減少が認められた。一方で、残尿量、排尿圧および排尿閾値圧には、膀胱過伸展解除は影響を与えなかった（Fig. 17）。

膀胱過伸展解除モデルに対するタムスロシン塩酸塩の作用

膀胱血流量

膀胱過伸展前および膀胱過伸展中の膀胱血流量は、コントロール群とタムスロシン塩酸塩投与群の間に有意な差は認められなかった。しかし、過伸展解除後の膀胱血流量は全ての測定ポイントにおいてタムスロシン塩酸塩投与群にて有意に増加していた（Fig. 18）。

排尿動態評価

排尿動態評価においては、コントロール群と比較してタムスロシン塩酸塩投与群において排尿回数の有意な低下と平均一回排尿量の有意な上昇が認められた（Fig. 19）。

第四節 考察

本研究において、急性膀胱過伸展解除により解除後の膀胱血流量が部分的にしか回復せず（Fig. 14）、排尿回数の増加および平均一回排尿量の減少という蓄尿症状様の症状（頻尿症状）が発現することが確認された（Fig. 15）。頻尿症状が発現する要因として、膀胱容量の低下により蓄尿量が低下すること、排尿時の膀胱収縮力の低下や尿道抵抗の上昇により排尿後の残尿量が増加することにより蓄尿の予備能が低下すること、排尿閾値圧が低下することなどが考えられる。本モデルでは、シストメトリー評価において排尿閾値圧および排尿圧の変化が認められなかったこと、ならびに残尿量の増加も認められなかったことから（Fig. 17）、この頻尿症状は膀胱容量の低下により惹起されているものと考えられる。タムスロシン塩酸塩（1 μg/kg·h^{-1}）の持続投与は過伸展解除後の膀胱血流量を上昇させ（Fig. 18）、かつ排尿回数の増加および平均一回排尿量の減少を改善することが明らかとなった（Fig. 19）。

本モデルは急性モデルであり、BPH の症状を反映したモデルではない。しかし、今回の検討の目的は膀胱の器質的変化を伴わず、膀胱の血流低下および蓄尿症状様の症状を呈するモデルにおけるタムスロシン塩酸塩の作用を確認することであるため、予備検討を繰り返し 2 mL の生理食塩液にて 2 時間膀胱を過進展させるというプロトコールを決定した。残尿量の増加が認められた場合は、膀胱容量には変化がなく排尿が不完全となっているために頻尿症状を呈すると考えられるが、今回の検討では残尿が認められなかったため、この条件では排尿筋の過活動により膀胱容量が低下しているこ

とが推察される。排尿筋過活動の発症メカニズムについてはさらなる検討が必要であるが、既報の情報よりいくつかの仮説が考えられる。一つ目は活性酸素種（ROS）の関与である。膀胱容量の 2 倍の生理食塩液で 2 時間膀胱を進展させたのちに生理食塩液を除去することにより、膀胱内で爆発的に ROS の産生が増加することが報告されている（Yu et al., 2004）。これまでの実験において正常ラットの膀胱容量は約 1.0 から 1.5 mL であったことから、この報告と条件が近く、おそらく今回の試験にて作製した膀胱過伸展解除モデルにおいても ROS の産生増加が起こっていることが考えられる。膀胱内への ROS（H_2O_2）の投与により排尿筋の過活動が惹起されるという報告（Masuda et al., 2008）から、ROS が膀胱過伸展解除モデルにおける膀胱過活動のメカニズムの一つであることが示唆される。

同論文において、Masuda et al.は膀胱における ROS の知覚にはカプサイシン感受性 C-fiber が重要であると述べている。今回の検討において、カプサイシンの前処置によりカプサイシン感受性 C-fiber の脱感作を起こした状態のラットを用い、同様に膀胱過伸展解除モデルを作製した。ROS の C-fiber を介した神経伝達により膀胱の過活動が起こっているとすれば、C-fiber 脱感作ラットでは膀胱過伸展解除により誘発される頻尿症状が抑制されるはずである。しかし、本実験では C-fiber 脱感作ラットにおける膀胱過伸展解除誘発頻尿症状はカプサイシン無処置ラットと差が認められなかった（Fig. 16）。すなわち、膀胱過伸展解除モデルにおける頻尿症状にはカプサイシン非感受性の求心性神経が関与していると考えられる。

ROS は膀胱の求心性および遠心性神経活性を傷害し（Masuda et al., 2008）、部分除神経を引き起こす（Azadzoi et al., 2007）ことが報告されている。部分除神経は残存神経の過敏性を引き起こし、膀胱過活動が惹起される（Abrams et al., 2007）。しかしながら、神経傷害から残存神経の過敏を発症するにはタイムラグがあり、今回の 2 時間過伸展の条件は部分除神経誘発膀胱過活動を惹起するには短すぎると考えられるため、本モデルのメカニズムとは考えにくい。

その他に膀胱の血流低下が膀胱過活動を誘発するメカニズムとして、K^+の関与が示唆されている。Azadzoi らは、膀胱血流の低下により排尿筋における K^+の排出が低下することを報告している（Azadzoi et al., 2003）。それにより膀胱の神経活性が高まり、膀胱平滑筋の筋緊張が上昇するとともに、間質の K^+濃度上昇が脱分極後も排尿筋の収縮を引き起こし、膀胱の過活動を惹起する。このメカニズムは急性の膀胱血流低下によっても起こり得る変化であり、今回実施した膀胱過伸展解除モデルの頻尿症状のメカニズムである可能性は高いと考えられる。タムスロシン塩酸塩により膀胱過伸展解除後の血流量が上昇することにより K^+の排出が亢進され、頻尿症状が改善したものと考えられる。

また、ATP の関与も考えられる。膀胱の虚血や過伸展は膀胱上皮より様々な物質を放出させることが知られており、その中には ATP も含まれる（Brading et al., 2004）。ATP の膀胱内投与が膀胱の過活動を引き起こすこと（Zhang et al., 2003）や、膀胱求心性神経を活性化すること（Aizawa et al., 2011）が報告されている。膀胱内 ATP 投与に

よる膀胱の過活動反応は、カプサイシンと同様に C-fiber の脱感作を引き起こすレジニフェラトキシンの前処置により抑制されないことが報告されており（Zhang et al., 2003; Aizawa et al., 2011）、今回実施した膀胱過伸展解除モデルにおける結果と同様である。さらに、膀胱血流とは独立した考察となるが、膀胱上皮に発現する α1D 受容体が膀胱の伸展に伴う ATP 産生に関与しており、α1D 受容体阻害薬のナフトピジルが膀胱伸展誘発 ATP 産生および膀胱過活動を抑制するという報告がある（Ishihama et al., 2006）。タムスロシン塩酸塩もナフトピジルと同様に α1D 受容体に対する阻害活性を有するため、膀胱伸展誘発 ATP 産生抑制の作用がある可能性が考えられ、それにより膀胱過活動を抑制しているかもしれない。

これらの報告より、今回作製した膀胱過伸展解除モデルにおける頻尿症状には、膀胱の虚血や伸展により増加する ROS、K^+および ATP などによりカプサイシン非感受性の膀胱求心性神経の刺激が関与している可能性が考えられる。しかし、本実験ではこれらの物質の測定や求心性神経活性測定は実施しておらず、メカニズムの解明にはさらなる検討が必要である。

第一章での検討と同様に、臨床用量と同程度の血漿中濃度を示す用量のタムスロシン塩酸塩が低下した膀胱血流量を増加させることが確認された。第一章の実験では、膀胱血流量の測定にマイクロスフェア法を用いたが、本実験ではレーザードップラー血流計を用いることで繰り返しの測定を可能とし、経時的な膀胱全体の血流変化をとらえた。Mizuno らは、本試験と同じく膀胱過伸展解除モデルにて、pencil lens charge

coupled device microscopy system を用いて膀胱の特定の毛細血管における血流を測定している（Mizuno et al., 2010）。膀胱全体のみならず、特定の毛細血管においても過伸展解除後の血流回復がタムスロシン塩酸塩の投与により改善しており、今回の膀胱全体の結果と同様の結果を得ている。すなわち、タムスロシン塩酸塩による膀胱の血流回復の改善は、膀胱の毛細血管の血流を上昇させたことによるものであると考えられる。第一章の実験において、ラットの膀胱動脈にはα1a およびα1d 受容体の mRNA 発現が多いことが確認された。タムスロシンは α1A 受容体に最も選択性が高く、次いで α1D 受容体に選択性が高いことから、この毛細血管の血流上昇はタムスロシン塩酸塩の α1A および α1D 受容体阻害により血管の収縮が抑制されたためと考えられる。しかしながら、膀胱過伸展状態ではタムスロシン塩酸塩による血流の上昇は認められなかった。ウサギを用いた研究において、膀胱容量の 25%の生理食塩液を膀胱内に注入すると、膀胱壁内の血管はほぼ完全につぶれてしまうことが報告されている（Matsumoto et al., 2003）。本実験におけるラットの膀胱では膀胱容量の約 2 倍の生理食塩液が注入されていることから、膀胱壁の血管は機械的に圧迫され、タムスロシン塩酸塩による血管収縮抑制での血流上昇は観察できなかったものと考えられる。しかし、Mizuno らの報告では、単一の毛細血管で見ると膀胱過伸展状態でもタムスロシン塩酸塩による血流の上昇が認められている（Mizuno et al., 2010）。よって、機械的圧迫の少ない部位では過伸展状態においても膀胱血流が上昇している可能性がある。また、過伸展解除後は機械的に圧迫されていたことにより血流が滞っている膀胱内の血管を α1A および

α1D 受容体の阻害を介して弛緩させるとともに、膀胱組織への血液流入部の血管を弛緩させることで、組織への流入血流量を増加させ、膀胱血流の回復を促進しているものと考えられる。

本実験の結果より、臨床有効用量と同程度の血漿中濃度を維持するタムスロシン塩酸塩は、膀胱の器質的変化を伴わない急性のモデルである膀胱過伸展解除モデルにおいても、膀胱血流の低下を抑制して膀胱の過活動を改善させることが明らかとなった。

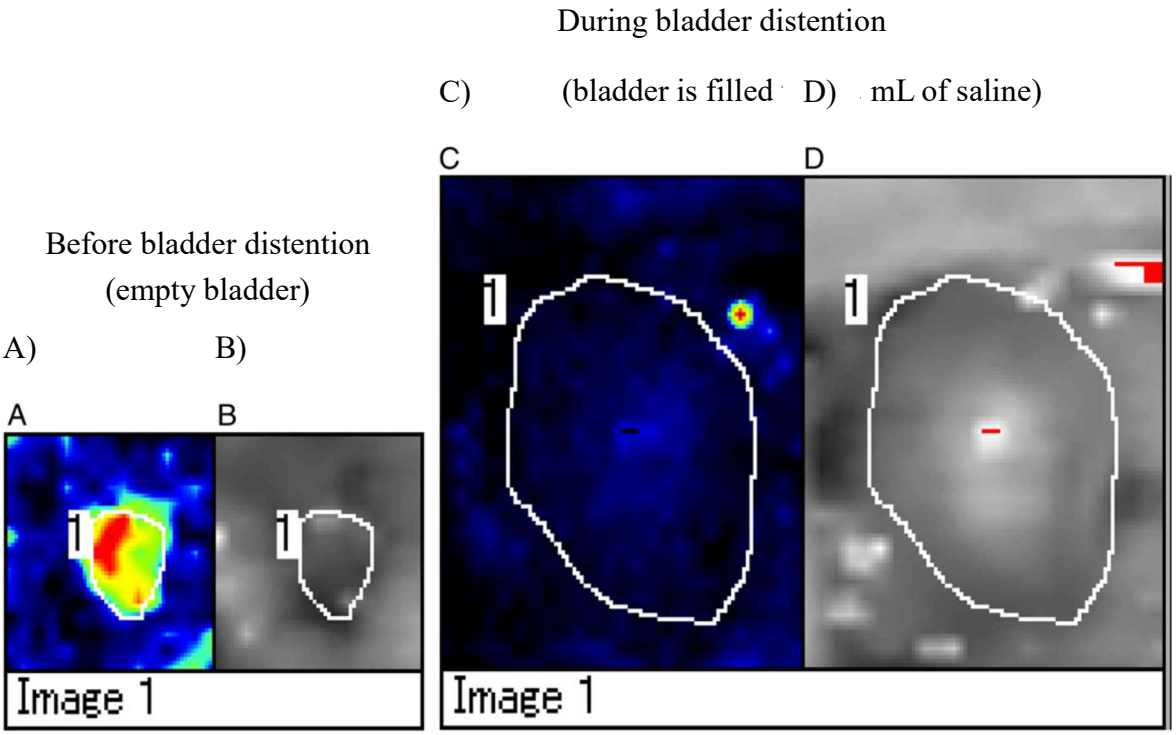


Fig. 10 Laser Doppler perfusion imager images of BBF. A) and B), before over distention; C) and D), during over distention, scale is equivalent. A) and C), color image of blood flow; B) and D), photograph that shows measurement field. White outline indicates bladder contour traced on photograph by experimenter. Mean blood flow inside outline was automatically calculated.

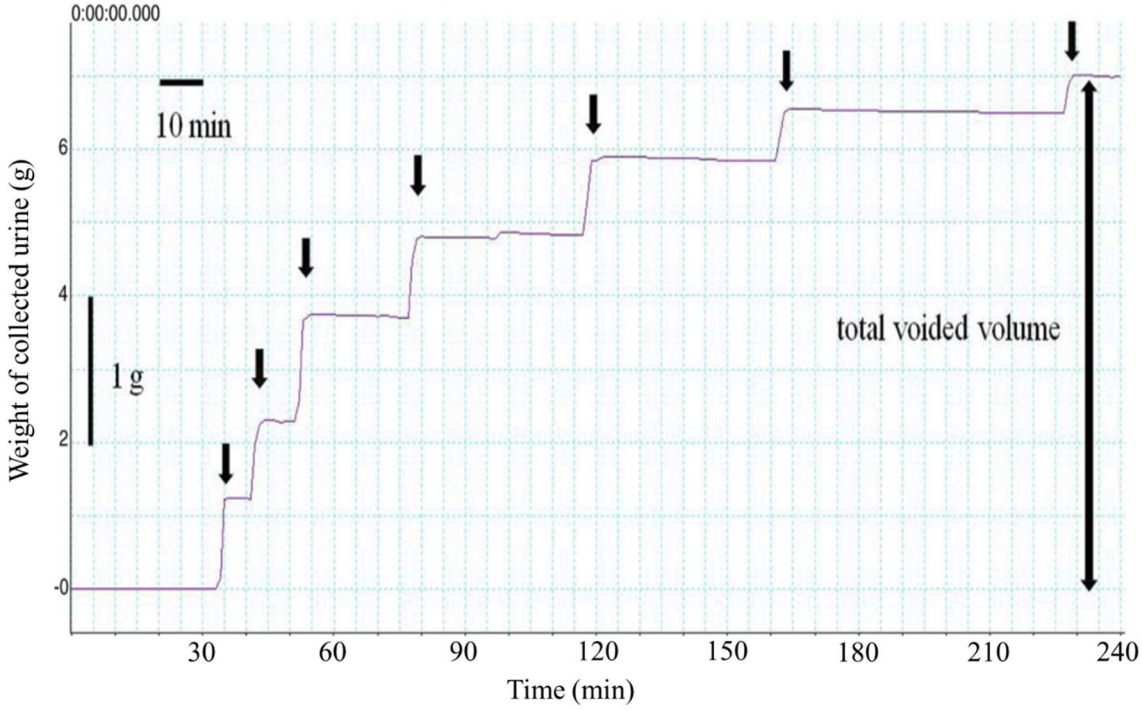


Fig. 11 Typical micturition recording chart. Urine was directed into collector on electric balance and weight was continuously recorded for 4 hours from immediately after 20 mL/kg water loading. Urine weight was converted to volume, assuming that 1 g = 1 mL. Stair-like weight changes (arrows) were considered micturitions.

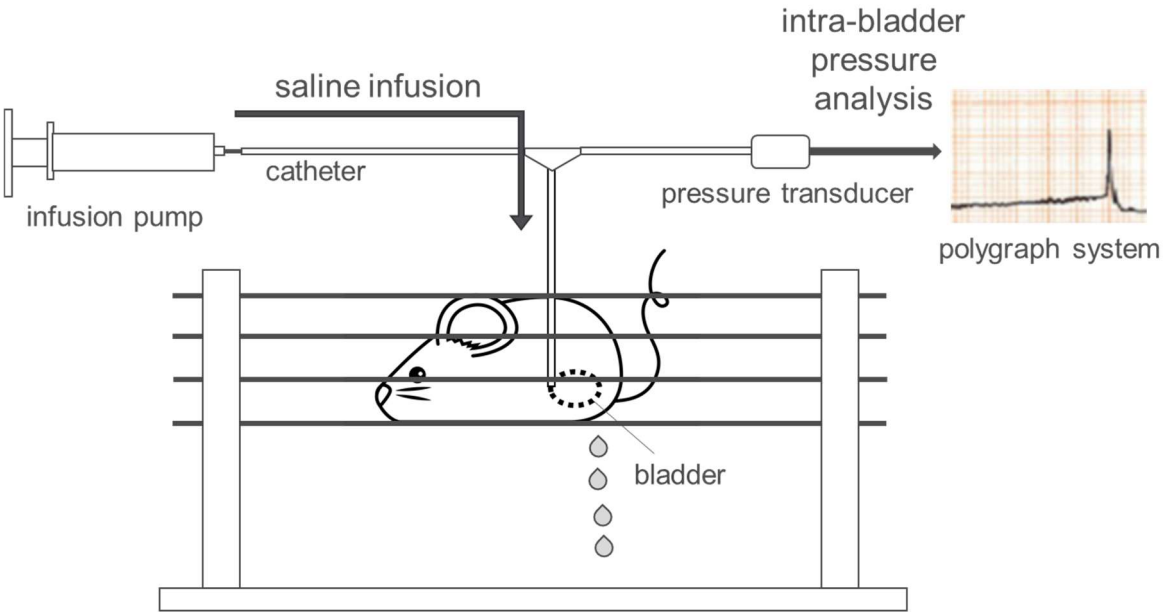


Fig. 12 Diagram of intra-bladder pressure analysis by concious cystometry.

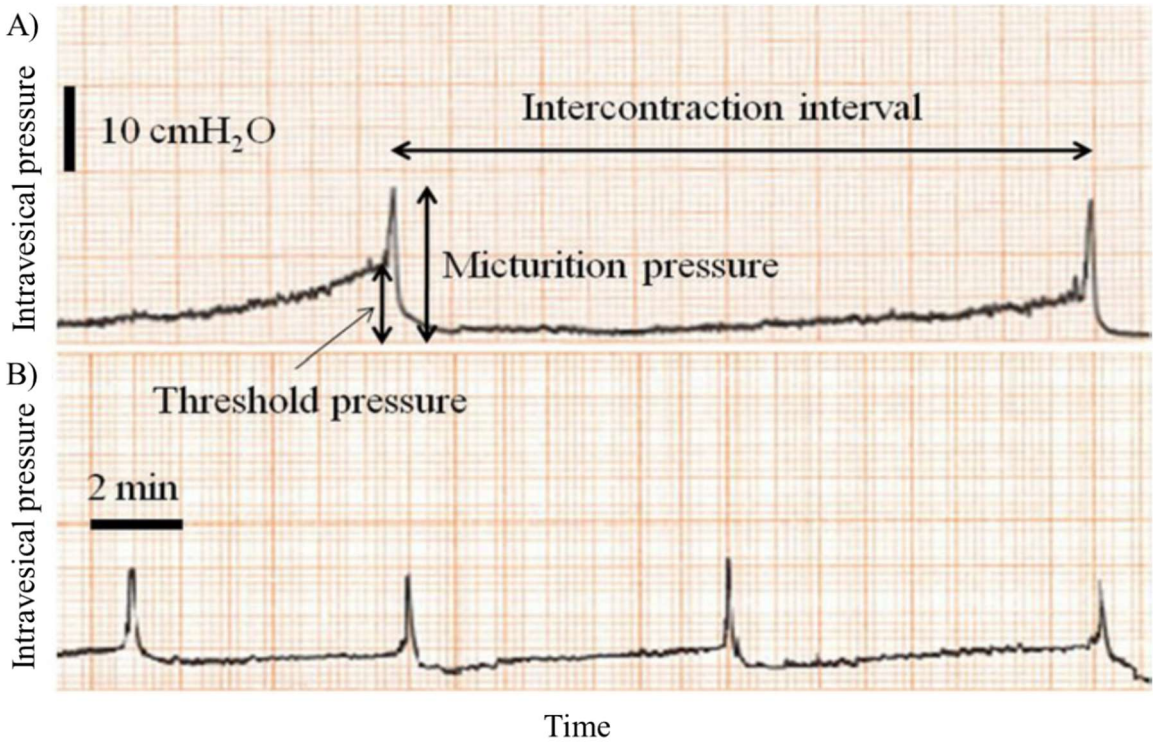


Fig. 13 Typical rat micturition cycle cystometry charts. Physiological saline was infused into bladder at 4.2 mL per hour. A) Rats with sham operation; B) Rats with bladder over distention.

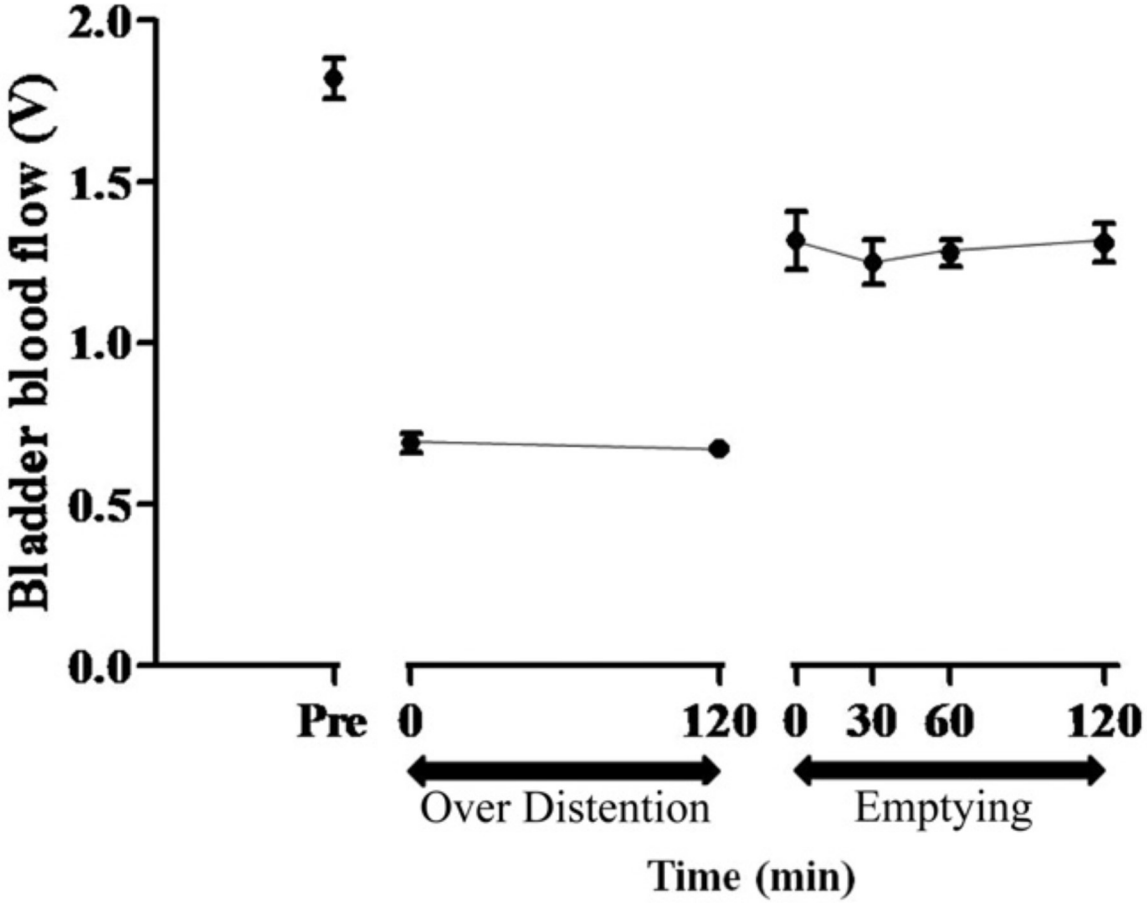


Fig. 14 BBF before and during bladder over distention, and after bladder emptying. BBF was measured using laser Doppler perfusion imager before over distention (Pre), immediately after and 120 min after over distention, immediately after emptying, and 30, 60 and 120 min after emptying. Data are shown as mean ± SEM of 7 rats.

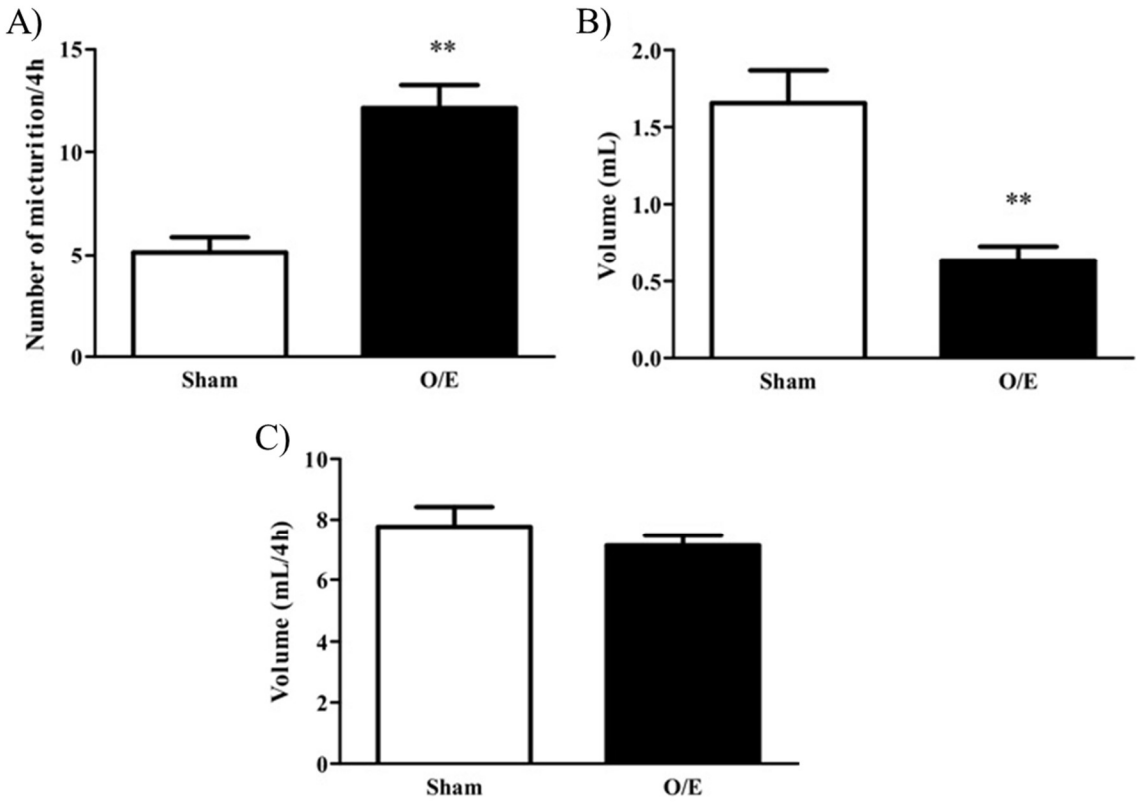


Fig. 15 Mean ± SEM of micturition behavior in 7 sham operated rats and 7 rats with bladder over distention/emptying (O/E). Voided urine was collected during 4 hours and weighed with electronic balance. A) MF; B) MVV; C) total voided volume. $^{**}P<0.01$ (Student's *t*-test).

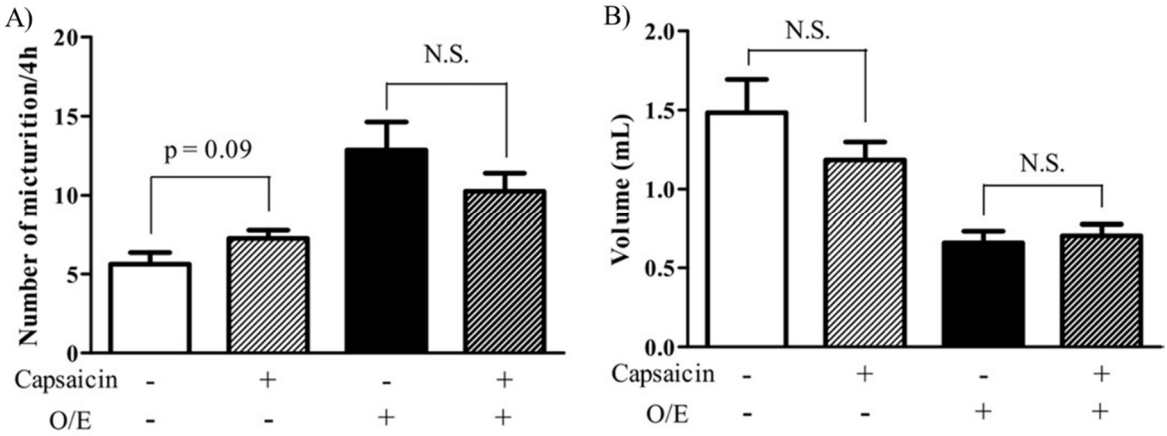


Fig. 16 Mean ± SEM micturition behavior in 8 normal and 8 capsaicin pretreated rats with or without bladder over distention. Capsaicin was subcutaneously administered in divided doses on 2 consecutive days, including 25 and 50 mg/kg with 12-hour interval on day 1 and 50 mg/kg on day 2 for total 125 mg/kg dose. Micturition behavior was recorded for 4 days after final capsaicin administration. Voided urine was collected and weighed using electronic balance for 4 h. A), MF; B), MVV.

N.S., not significant. O/E, over distention/emptying.

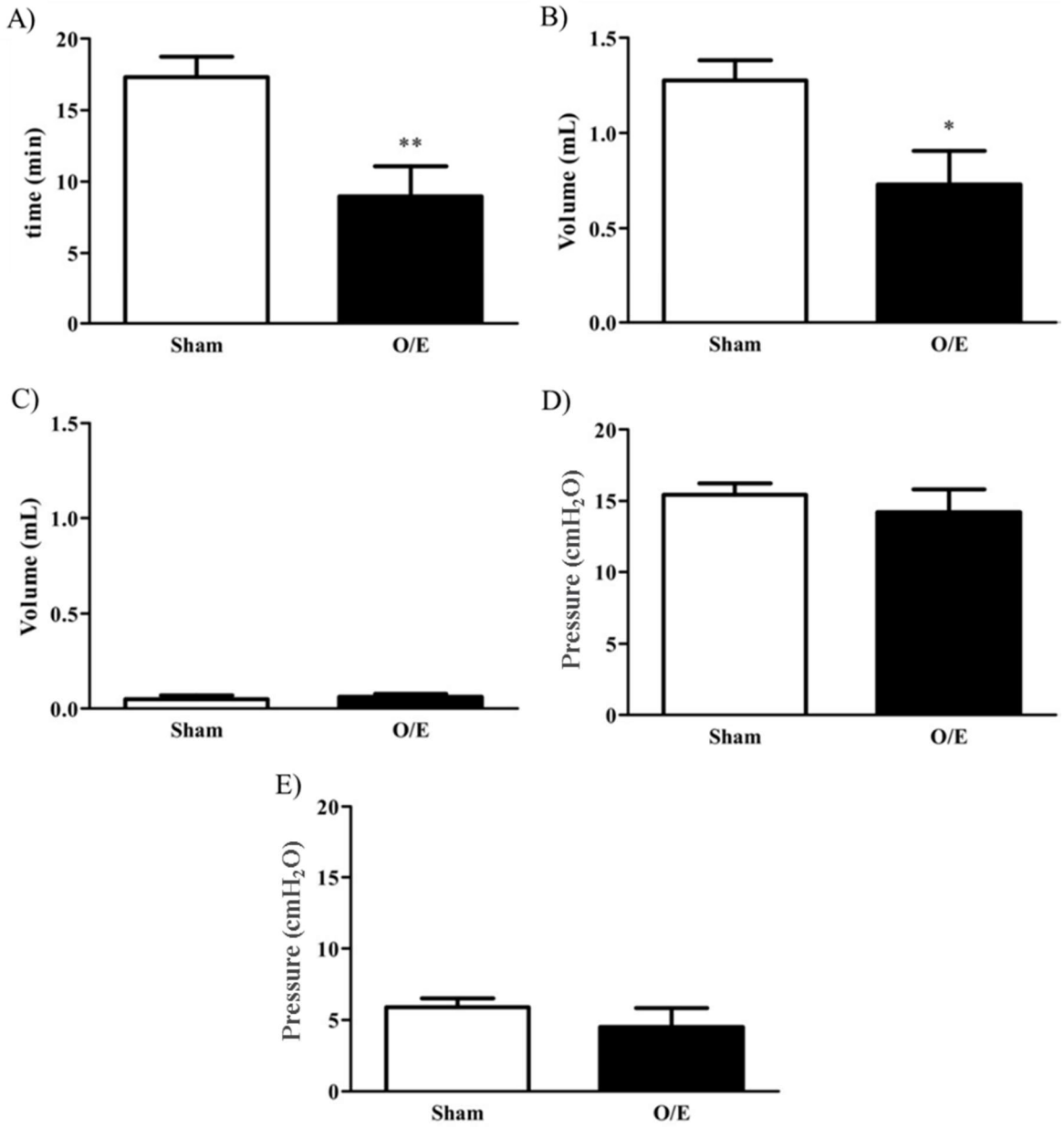


Fig. 17 Mean ± SEM micturition parameters on cystometry of 8 sham operated (Sham) and 6 over distention/emptying (O/E) rats. A) intercontraction interval; B) voided volume; C) residual volume; D) micturition pressure; E) threshold pressure. *P<0.05, **P<0.01 vs. sham operation (Student's t-test).

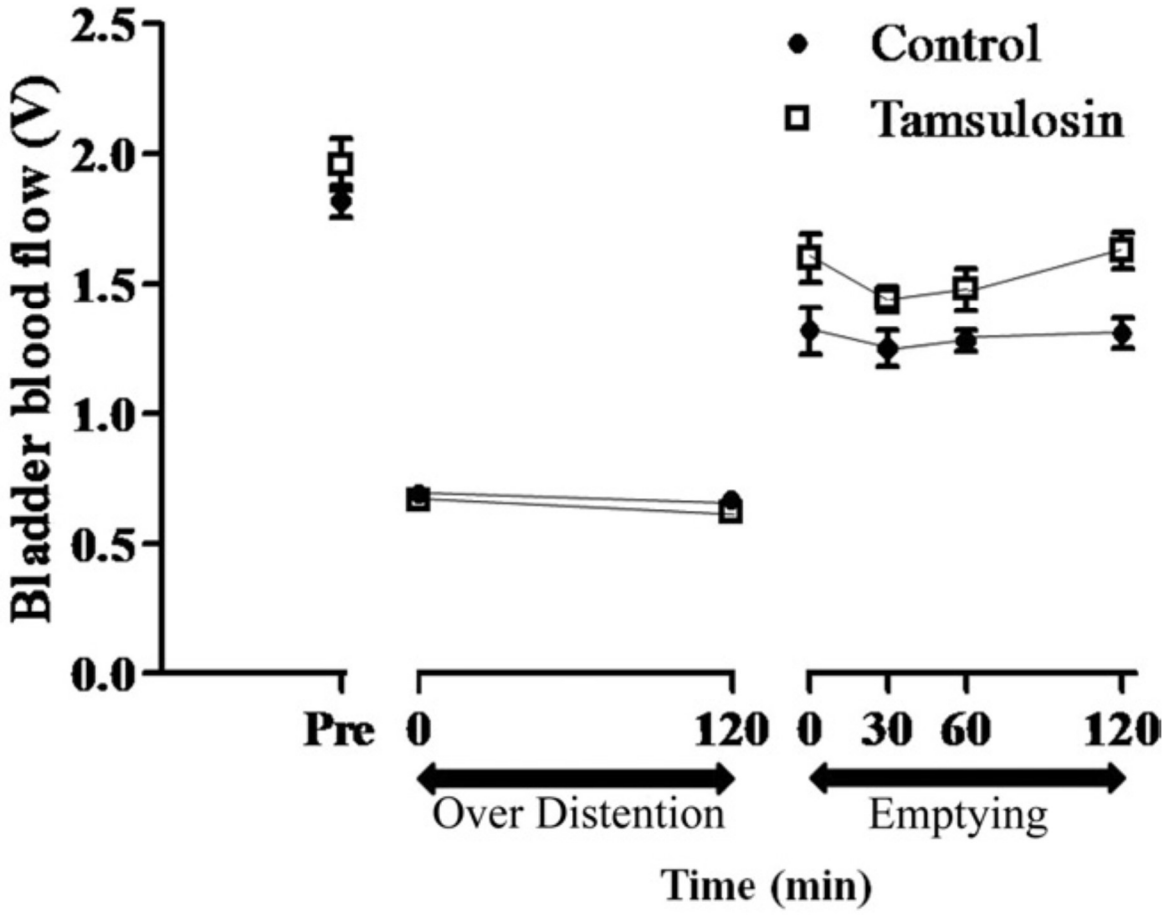


Fig. 18 Mean ± SEM BBF before and during bladder over distention, and after bladder emptying in 7 vehicle control rats and 8 rats treated with 1 μg/kg per hour tamsulosin HCl, continuously administered for 1 week before measurement using osmotic pump implanted under skin. BBF was measured using laser Doppler perfusion imager before over distention, immediately after and 120 min after over distention, immediately after emptying, and 30, 60 and 120 min after emptying.

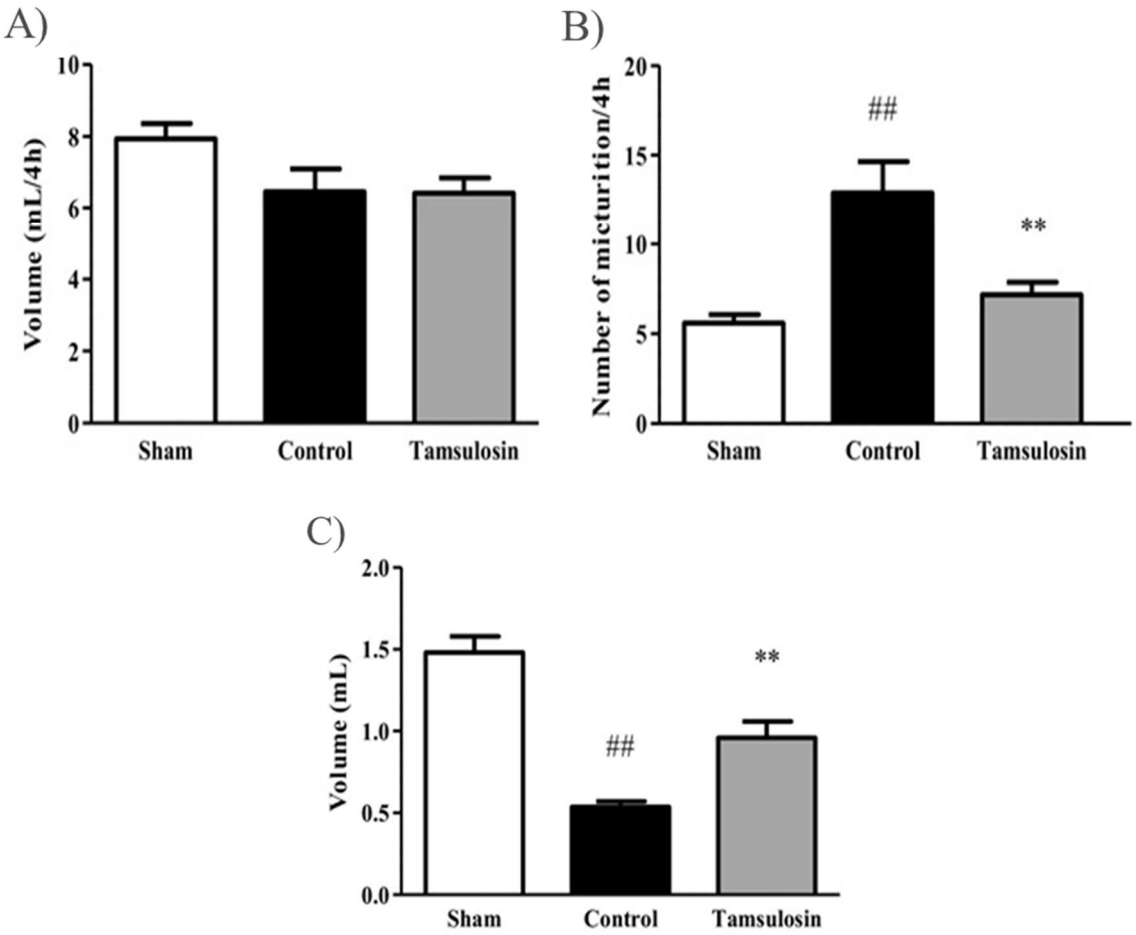


Fig. 19 Mean ± SEM micturition behavior in 10 sham operated and control rats, and 11 rats treated with 1 μg/kg per hour tamsulosin HCl and bladder over distention/emptying. Tamsulosin HCl was continuously administered for 1 week before bladder over distention using osmotic pump implanted under skin. Voided urine was collected and weighed using electronic balance for 4 h. A) total voided volume; B) MF; C) MVV. ##P<0.01 vs. sham operation (Student's t-test). **P<0.01 vs. control (Student's t-test).

総括

タムスロシン塩酸塩は、BPHの排尿症状を適応として世界的に第一選択薬として使用されているα1受容体阻害薬である。BPHにおいては、前立腺の肥大や前立腺・前立腺部尿道の過収縮に伴う尿道抵抗の上昇により惹起される排尿症状（排尿遅延・尿線途絶・腹圧排尿など）、尿道抵抗の上昇のために尿が完全に排出されずに膀胱および尿道に残存するために起こる排尿後症状（残尿感・排尿後滴下など）のほかに、膀胱の過活動が原因となって起こる蓄尿症状（昼間頻尿・夜間頻尿・尿意切迫感など）が発現することが知られている（Abrams et al., 2002）。前立腺の収縮には主にα1A受容体が関与しており（Chess-Williams et al., 1996）、タムスロシン塩酸塩はその阻害により前立腺の過収縮を抑制して排尿症状を改善する。一方で、タムスロシン塩酸塩がBPH患者やLUTS患者の蓄尿症状にも効果を示すという臨床報告が数多く発表されている（Kwon et al., 2018; Zhang et al., 2017）。しかし、膀胱の収縮にはα1受容体の関与は小さい（Nomiya et al., 2003）ことが報告されており、タムスロシン塩酸塩の蓄尿症状改善のメカニズムは不明であった。蓄尿症状は特に患者のQOLに強い影響を与える症状であり（Homma et al., 2006）、臨床現場からもタムスロシンの蓄尿症状改善メカニズムの解明が求められていた。そこで本研究では、膀胱血流に着目し、タムスロシン塩酸塩の蓄尿症状改善メカニズムの解明に関する研究を行った。

まず、BOOモデルラットおよび膀胱過伸展解除モデルラットの二つのモデルを用い、タムスロシン塩酸塩の膀胱血流および膀胱過活動に対する作用を検討した。その結果、いずれのモデルにおいても低下した膀胱血流量の上昇と、膀胱過活動の抑制が認めら

れ、タムスロシン塩酸塩が蓄尿症状を改善するメカニズムの一つに膀胱血流の上昇があることが示唆された。

第一章では、BPHの動物モデルとして汎用されているBOOモデルラットを用いて、BOOラットの膀胱血流量が低下していること、さらにタムスロシン塩酸塩1 μg/kg·h^{-1}の2週間皮下持続投与により、その膀胱血流量が偽手術群と同程度まで上昇することを確認した（Fig. 7）。このタムスロシン塩酸塩の用量は、AUCuベースでタムスロシン塩酸塩の臨床有効用量と同程度となる用量であることを確認している。さらに、タムスロシン塩酸塩 1 μg/kg·h^{-1}はBOOモデルラットにおける膀胱の過活動を改善することが確認された（Fig. 8）。今回の研究においてはBOOモデルラットで水の過負荷後2時間における総排尿量の低下が認められたため、排尿回数の有意な増加は観察されなかったが、平均一回排尿量は有意に低下していた。タムスロシン塩酸塩はBOOモデルラットの排尿回数を低下させ、平均一回排尿量を増加させた（Fig. 8）。すなわち、タムスロシン塩酸塩の持続投与によりBOOモデルラットの膀胱血流量増加と膀胱過活動の改善が認められた。また、偽手術群およびBOOモデルラットいずれにおいても、膀胱動脈におけるα1受容体サブタイプのmRNA発現量は、α1a＞α1d＞＞α1bであった（Fig. 9）ことから、タムスロシン塩酸塩は膀胱動脈のα1Aおよびα1d受容体阻害を介して血管収縮を抑制させることにより膀胱血流を上昇させる可能性が示唆された。

次に第二章では、膀胱の器質的変化を伴わないモデルとして膀胱過伸展解除モデルの作製を行った。膀胱の過進展により膀胱血流量が過伸展前の約40%まで低下し、過伸

展解除後も血流量は約70%までしか回復しないことが明らかとなった（Fig. 14）。その状態において、排尿回数の増加および平均一回排尿量の低下という膀胱の過活動が認められた（Fig. 15）。タムスロシン塩酸塩は膀胱過伸展解除後の膀胱血流量を上昇させ（Fig. 18）、かつ膀胱の過活動を改善することが確認された（Fig. 19）。

膀胱過伸展解除モデルは急性の膀胱虚血モデルであり、BPHにおける蓄尿症状とは違う発症要因を持つものである。BPHにおいては、尿道抵抗の過剰な上昇により急性の尿閉を起こすことがあり、膀胱過伸展解除モデルは急性尿閉に近いモデルと考えられる。急性尿閉の解除後、頻尿が発症する場合があるが、本実験結果からタムスロシン塩酸塩は急性尿閉後の頻尿にも有効である可能性が考えられる。

慢性の膀胱虚血モデルとしては、Nomiyaらが確立した総腸骨動脈の動脈硬化モデルが挙げられる（Nomiya et al., 2012）。総腸骨動脈の内皮をバルーンにて擦過し傷害を起こし、高脂肪餌を与えることにより総腸骨動脈に動脈硬化を惹起するモデルであり、膀胱付近に何らかの処置をすることなく膀胱の慢性虚血を引き起こしたモデルである。本モデルにおいて、膀胱の過活動が認められることから、膀胱虚血は蓄尿症状の発症メカニズムの一つであることが示唆されている。第二章において膀胱過伸展解除モデルの膀胱過活動の発現にROSの関与がある可能性を述べたが（Yu et al., 2004; Masuda et al., 2008）、この慢性の膀胱虚血モデルにおいても酸化ストレスの関与が示唆されている。総腸骨動脈動脈硬化モデルでは、生薬由来成分であるエビプロスタットの投与により、酸化ストレスマーカーおよび炎症マーカーの減少が認められ、膀胱

の過活動が改善されること、その時総腸骨動脈の動脈硬化の程度には差が認められないことから、酸化ストレスおよび炎症の改善により蓄尿症状が改善することが示唆されている（Matsui et al., 2012）。すなわち、膀胱の虚血により誘発される蓄尿症状様の症状に対し、ROSが関与している可能性が高いと考えられる。エビプロスタットはオオウメガサソウエキス、ハコヤナギエキス、セイヨウオキナグサエキス、スギナエキス、精製小麦胚芽油を有効成分とする生薬由来の薬剤である。その薬理作用は抗炎症作用および抗酸化作用と報告され、前立腺肥大症の排尿症状および頻尿の治療薬として2007年に本法にて製造販売承認を受けている（エビプロスタット®錠インタビューフォーム）。エビプロスタットが虚血により誘発される酸化ストレスを抑制することで頻尿症状を改善しているとすると、タムスロシン塩酸塩の蓄尿症状改善にもまた膀胱の血流改善による酸化ストレス抑制が関与している可能性は高いと考えられる。また、同じく第二章の考察にて膀胱過伸展解除モデルの蓄尿症状様の症状に対し、膀胱虚血や膀胱上皮の伸展により放出されるATPが関与する可能性について述べた（Brading et al., 2004; Zhang et al., 2003; Aizawa et al., 2011）。臨床においても、BPH患者では蓄尿時に膀胱上皮より放出されるATPなどが蓄尿症状を惹起するという報告がある（Mirone et al., 2007）。これらの既報を考え合わせると、第二章の研究において確立した急性の膀胱過伸展解除モデルと慢性虚血もしくは慢性尿道閉塞による蓄尿症状にはその発症メカニズムに共通点があることが推察され、膀胱過伸展解除モデルにおけるタムスロシン塩酸塩の有効性はBPH患者におけるタムスロシン塩酸塩の作用に

もつながるデータであると考えられる。

本研究により、タムスロシン塩酸塩が組織の血流量を上昇させる可能性が示唆された。タムスロシン塩酸塩のα1受容体サブタイプ選択性はα1A > α1D >> α1Bであるため（Sato et al., 2012）、動脈におけるサブタイプの発現がその選択性同様にα1A > α1D >> α1Bである膀胱で血流の上昇が認められたものと推察される。すなわち、その他の組織においても、動脈のα1Aおよびα1D受容体発現が多ければ、組織血流量を上昇させると考えられる。例えば、α1受容体遮断薬であるブナゾシンは、点眼により網膜の血流を上昇させることが知られている（Hara et al., 2005）。カルシウム拮抗薬やグアニル酸シクラーゼ阻害薬は血管を拡張させるが、高血圧治療薬として用いられていることからもわかるようにその強い血管拡張作用から血圧を低下させるため、臓器血流の上昇はマスクされてしまう。同様に、サブタイプ非選択的なα1受容体遮断薬は各サブタイプの発現量に寄らず各種臓器の動脈の収縮抑制を惹起すると考えられるが、α1B受容体サブタイプは全身血圧に影響を与えることが知られているため（Cavalli et al., 1997）、全身投与となる場合はα1B受容体の阻害に伴う血圧低下のために臓器血流の上昇が認められない可能性がある。タムスロシン塩酸塩はα1B受容体に対する選択性がほとんどなく、起立性低血圧等の血圧に関連した副作用がサブタイプ非選択的α1受容体遮断薬より少ない（de Mey et al., 1998）。そのため、タムスロシン塩酸塩をはじめとするサブタイプ選択的なα1受容体遮断薬は、血圧への影響が少なく、特定の臓器の血流を上昇させることができるかもしれない。各臓器における動脈のα1受容体サブタイプ発現

に関する詳細な研究はなされていないが、これからの研究課題として非常に興味深い。

本研究により、タムスロシン塩酸塩の蓄尿症状改善メカニズムの一つとして、膀胱血流量の上昇の可能性を見出した。膀胱血流の低下や膀胱の過進展に伴い、ROSやK^+、ATPなどの様々な因子を介して蓄尿症状が発症することが示唆されている。蓄尿症状は患者のQOLに対し大きなインパクトを与える症状であることが各種調査により明らかとなっており、また高齢化に伴いBPH患者は増加傾向にあることから、蓄尿症状の改善は医療界にとって今後も大きな課題となっている。よって、タムスロシン塩酸塩の蓄尿症状改善メカニズムの解明は患者のQOL向上のためにも非常に有益な情報となるであろう。タムスロシン塩酸塩は既にジェネリック医薬品となっており安価に使用でき、また、α1D受容体選択性の高いナフトピジルやα1A受容体選択性の高いシロドシンなど、タムスロシン塩酸塩の他にも様々なプロファイルをもったα1受容体遮断薬が上市されており、それぞれの薬剤で蓄尿症状に対する有効性が報告されている（Tanuma et al., 2017; Seki et al., 2015）。有効性のメカニズムを解明することにより、これらの多くの医薬品がそれぞれの患者の状態に合わせて適切に選択され、各種症状の治療に効果的に用いられることにより患者のベネフィットがより一層向上することを願う。

参考文献

Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, van Kerrebroeck P, Victor A, Wein A. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. Neurourol Urodyn 2002; 21: 167-178.

Abrams P, Andersson KE. Muscarinic receptor antagonists for overactive bladder. BJU Int 2007; 100: 987-1006.

Aizawa N, Igawa Y, Andersson KE, Iijima K, Nishizawa O, Wyndaele JJ. Effects of intravesical instillation of ATP on rat bladder primary afferent activity and its relationship with capsaicin-sensitivity. Neurourol Urodyn 2011; 30: 163-168.

Azadzoi KM. Effect of chronic ischemia on bladder structure and function. Adv Exp Med Biol 2003; 539: 271-280.

Azadzoi KM, Yalla SV, Siroky MB. Oxidative stress and neurodegeneration in the ischemic overactive bladder. J Urol 2007; 178: 710-715.

Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL The development of human benign prostatic hyperplasia with age. J Urol 1984; 132: 474-479.

Brading A, Pessina F, Esposito L, Symes S. Effects of metabolic stress and ischaemia on the bladder, and the relationship with bladder overactivity. Scand J Urol Nephrol Suppl 2004; 215: 84-92.

Caine M, Raz S, Zeigler M. Adrenergic and cholinergic receptors in the human prostate, prostatic capsule and bladder neck. Br J Urol. 1975; 47: 193-202.

Cavalli A, Lattion AL, Hummler E, Nenniger M, Pedrazzini T, Aubert JF, Michel MC, Yang M, Lembo G, Vecchione C, Mostardini M, Schmidt A, Beermann F, Cotecchia S. Decreased blood pressure response in mice deficient of the α1b-adrenergic receptor. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 11589-11594.

Chancellor MB, Rivas DA. American urological association symptom index for women with voiding symptoms: Lack of index specificity for benign prostatic hyperplasia. J Urol 1993; 150: 1706-1708.

Chapple C. Chapter 2: Pathophysiology of neurogenic detrusor overactivity and the symptom complex of "overactive bladder". Neurourol Urodyn 2014; 33: S6-S13.

Chess-Williams R, Chapple CR, Verfurth F, Noble AJ, Couldwell CJ, Michel MC. The effects of SB 216469, an antagonist which discriminates between the α1A-adrenoceptor and the human prostatic α1-adrenoceptor. Br J Pharmacol 1996; 119: 1093-1100.

Coyne KS, Wein AJ, Tubaro A, Sexton CC, Thompson CL, Kopp ZS, Aiyer LP. The burden of lower urinary tract symptoms: evaluating the effect of LUTS on health-related quality of life, anxiety and depression: EpiLUTS. BJU Int 2009; 103 Suppl 3: 4-11.

Das AK, Leggett RE, Whitbeck C, Eagen G, Levin RM. Effect of doxazosin on rat urinary

bladder function after partial outlet obstruction. Neurourol Urodyn 2002; 21: 160-166.

de Mey C, Michel MC, McEwen J, Moreland T. A double-blind comparison of terazosin and tamsulosin on their differential effects on ambulatory blood pressure and nocturnal orthostatic stress testing. Eur Urol 1998; 33: 481-488.

Gibbons, EP., Colen, J., Nelson, JB. Benoit, RM. Correlation between risk factors for vascular disease and the American Urological Association Symptom Score. BJU Int 2007; 99: 97–100.

Greenland JE, Hvistendahl JJ, Andersen H, Jörgensen TM, McMurray G, Cortina-Borja M, Brading AF, Frøkiaer J. The effect of bladder outlet obstruction on tissue oxygen tension and blood flow in the pig bladder. BJU Int 2000; 85: 1109-1114.

Hara H, Ichikawa M, Oku H, Shimazawa M, Araie M. Bunazosin, a selective α1-adrenoceptor antagonist, as an anti-glaucoma drug: effects on ocular circulation and retinal neuronal damage. Cardiovasc Drug Rev 2005; 23: 43-56.

Hashimoto T, Nagabukuro H, Doi T. Effects of the selective acetylcholinesterase inhibitor TAK-802 on the voiding behavior and bladder mass increase in rats with partial bladder outlet obstruction. J Urol 2005; 174: 1137-1141.

Homma Y, Yamaguchi O, Hayashi K, the Members of the Neurogenic Bladder Society Committee. Epidemiologic survey of lower urinary tract symptoms in Japan. Urology 2006; 68: 560-564.

Ishihama H, Momota Y, Yanase H, Wang X, de Groat WC, Kawatani M. Activation of alpha1D adrenergic receptors in the rat urothelium facilitates the micturition reflex. J Urol 2006; 175: 358-364.

Kato K, Monson FC, Longhurst PA, Wein AJ, Haugaard N, Levin RM. The functional effects of long-term outlet obstruction on the rabbit urinary bladder. J Urol 1990; 143: 600-606.

Kenny BA, Miller AM, Williamson IJ, O'Connell J, Chalmers DH, Naylor AM. Evaluation of the pharmacological selectivity profile of α1 adrenoceptor antagonists at prostatic α1 adrenoceptors: binding, functional and in vivo studies. Br J Pharmacol 1996; 118: 871-878.

Kwon SY, Lee KS, Yoo TK, Chung JI, Lee JY, Hong JH, Seo SI, Jung TY, Kwak C, Kang TW, Yun SJ. Comparison of the effect of naftopidil 75 mg and tamsulosin 0.2 mg on the bladder storage symptom with benign prostatic hyperplasia: Prospective, multi-institutional study. Urology 2018; 111: 145-150.

Lee SWH, Chan EMC, Lai YK. The global burden of lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: A systematic review and meta-analysis. Sci Rep 2017; 7: Article 7984.

Lepor H, Machi G. Comparison of AUA symptom index in unselected males and females between fifty-five and seventy-nine years of age. Urology 1993; 42: 36-40.

Lin AT, Chen MT, Yang CH, Chang LS. Blood flow of the urinary bladder: effects of outlet

obstruction and correlation with bioenergetic metabolism. Neurourol Urodyn 1995; 14: 285-292.

Martí D, Miquel R, Ziani K, Gisbert R, Ivorra MD, Anselmi E, Moreno L, Villagrasa V, Barettino D, D'Ocon P. Correlation between mRNA levels and functional role of α1-adrenoceptor subtypes in arteries: evidence of α1L as a functional isoform of the α1A-adrenoceptor. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005; 289: H1923-H1932.

Masuda H, Kihara K, Saito K, Matsuoka Y, Yoshida S, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N. Reactive oxygen species mediate detrusor overactivity via sensitization of afferent pathway in the bladder of anaesthetized rats. BJU Int. 2008; 101: 775-780.

Matsui T, Oka M, Fukui T, Tanaka M, Oyama T, Sagawa K, Nomiya M, Yamaguchi O. Suppression of bladder overactivity and oxidative stress by the phytotherapeutic agent, Eviprostat, in a rat model of atherosclerosis-induced chronic bladder ischemia. Int J Urol 2012; 19: 669–675.

Matsumoto S, Chichester P, Bratslavsky G, Kogan BA, Levin RM. The functional and structural response to distention of the rabbit whole bladder in vitro. J Urol 2002; 168: 2677-2681.

Matsumoto S, Chichester P, Kogan BA, Levin RM. Structural and vascular response of normal and obstructed rabbit whole bladders to distension. Urology 2003; 62: 1129-1133.

Mirone V, Imbimbo C, Longo N, Fusco F. The detrusor muscle: an innocent victim of bladder outlet obstruction. Eur Urol. 2007; 51: 57-66.

Mitterberger M, Pallwein L, Gradl J, Frauscher F, Neuwirt H, Leunhartsberger N, Strasser H, Bartsch G, Pinggera GM. Persistent detrusor overactivity after transurethral resection of the prostate is associated with reduced perfusion of the urinary bladder. BJU Int 2007; 99: 831-835.

Mizuno H, Yamamoto T, Okutsu H, Ohtake A, Sasamata M, Matsukawa Y, Funahashi Y, Kato M, Hattori R, Gotoh M. Effect of tamsulosin on bladder microcirculation in a rat ischemia-reperfusion model, evaluated by pencil lens charge-coupled device microscopy system. Urology 2010; 76: 1266.e1-1266.e5.

Nakazawa M, Taguchi Y, Yang XP, Chiba S. The functional alpha-adrenoceptor in dog caudal vesical arteries is mainly an α1A subtype. Auton Autacoid Pharmacol 2002; 22: 253-259.

Nasu K, Moriyama N, Kawabe K, Tsujimoto G, Murai M, Tanaka T, Yano J. Quantification and distribution of alpha 1-adrenoceptor subtype mRNAs in human prostate: comparison of benign hypertrophied tissue and non-hypertrophied tissue. Br J Pharmacol 1996; 119: 797-803.

Nomiya M, Yamaguchi O. A quantitative analysis of mRNA expression of α1 and β-adrenoceptor subtypes and their functional roles in human normal and obstructed bladders. J Urol 2003; 170: 649-653.

Nomiya M, Yamaguchi O, Andersson KE, Sagawa K, Aikawa K, Shishido K, Yanagida T, Kushida N, Yazaki J, Takahashi N. The effect of atherosclerosis-induced chronic bladder

ischemia on bladder function in the rat. Neurourol Urodyn 2012; 31: 195-200.

Ohtake A, Ukai M, Saitoh C, Sonoda R, Noguchi Y, Okutsu H, Yuyama H, Sato S, Sasamata M, Miyata K. Effect of tamsulosin on spontaneous bladder contraction in conscious rats with bladder outlet obstruction: comparison with effect on intraurethral pressure. Eur J Pharmacol 2006; 545: 185-191.

Peters TJ, Donovan JL, Kay HE, Abrams P, de la Rosette JJ, Porru D, Thüroff JW. The International Continence Society "Benign Prostatic Hyperplasia" Study: the bothersomeness of urinary symptoms. J Urol 1997; 157: 885-889.

Pinggera GM, Mitterberger M, Pallwein L, Schuster A, Herwig R, Frauscher F, Bartsch G, Strasser H. α-Blockers improve chronic ischaemia of the lower urinary tract in patients with lower urinary tract symptoms. BJU Int 2008a; 101: 319-324.

Pinggera GM, Mitterberger M, Steiner E, Pallwein L, Frauscher F, Aigner F, Bartsch G, Strasser H. Association of lower urinary tract symptoms and chronic ischaemia of the lower urinary tract in elderly women and men: assessment using colour Doppler ultrasonography. BJU Int 2008b; 102: 470-474.

Ponholzer A, Temml C, Wehrberger C, Marszalek M, Madersbacher S. The association between vascular risk factors and lower urinary tract symptoms in both sexes. Eur Urol 2006; 50: 581-586.

Poulsen AL, Schon J, Puggaard L, Torp-pedersen S, Nording J. Prostatic enlargement,

symptomatology and pressure/flow evaluation: interrelations in patients with symptomatic BPH. Scand J Urol Nephrol Suppl 1994; 157: 67-73.

Rollema HJ, Mastrigt RV. Improved indication and follow-up in transurethral resection of the prostate using the computer program CLIM: A prospective study. J Urol 1992; 148: 111-115.

Sagnier PP, Girman CJ, Garraway M, Kumamoto Y, Lieber MM, Richard F, MacFarlane G, Guess HA, Jacobsen SJ, Tsukamoto T, Boyle P. International comparison of the community prevalence of symptoms of prostatism in four countries. Eur Urol 1996; 29: 15-20.

Sato S, Hatanaka T, Yuyama H, Ukai M, Noguchi Y, Ohtake A, Taguchi K, Sasamata M, Miyata K. Tamsulosin potently and selectively antagonizes human recombinant α(1A/1D)-adrenoceptors: slow dissociation from the α(1A)-adrenoceptor may account for selectivity for α(1A)-adrenoceptor over α(1B)-adrenoceptor subtype. Biol Pharm Bull 2012; 35: 72-77.

Seki N, Takahashi R, Yamaguchi A, Ito K, Takayama K, Nanri K, Kamiryo Y, Yamashita H, Komine S, Miyazaki Y, Uozumi J, Naito S. Non-inferiority of silodosin 4 mg once daily to twice daily for storage symptoms score evaluated by the International Prostate Symptom Score in Japanese patients with benign prostatic hyperplasia: A multicenter, randomized, parallel-group study. Int J Urol 2015; 22: 311-316.

Smith KM, Macmillan JB, McGrath JC. Investigation of a1-adrenoceptor subtypes mediating vasoconstriction in rabbit cutaneous resistance arteries. Br J Pharmacol 1997; 122: 825-832.

Tai HC, Chung SD, Ho CH, Tai TY, Yang WS, Tseng CH, Wu HP, Yu HJ. Metabolic syndrome components worsen lower urinary tract symptoms in women with type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab 2010; 95: 1143-1150.

Tanuma Y, Tanaka Y, Takeyama K, Okamoto T. The predictive factors of α1-D/A adrenoceptor antagonist, naftopidil, dose increase therapy for male lower urinary tract symptoms caused by benign prostatic hyperplasia: INFORM study. Urol Ann 2017; 9: 261-267.

Ukai M, Yuyama H, Noguchi Y, Someya A, Okutsu H, Watanabe M, Yoshino T, Ohtake A, Suzuki M, Sato S, Sasamata M. Participation of endogenous endothelin and ETA receptor in premicturition contractions in rats with bladder outlet obstruction. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 2006; 373: 197-203.

Yu HJ, Chien CT, Lai YJ, Lai MK, Chen CF, Levin RM, Hsu SM. Hypoxia preconditioning attenuates bladder overdistension-induced oxidative injury by up-regulation of Bcl-2 in the rat. J Physiol 2004; 554: 815-828.

Zhang HL, Huang ZG, Qiu Y, Cheng X, Zou XQ, Liu TT. Tamsulosin for treatment of lowerurinary tract symptoms in women: a systematic review and meta-analysis. Int J Impot Res 2017; 29: 148-156.

Zhang X, Igawa Y, Ishizuka O, Nishizawa O, Andersson KE. Effects of resiniferatoxin desensitization of capsaicin-sensitive afferents on detrusor over-activity induced by intravesical capsaicin, acetic acid or ATP in conscious rats. Naunyn Schmiedebergs Arch

Pharmacol. 2003; 367: 473-479.

日本新薬株式会社 エビプロスタット®錠 医薬品インタビューフォーム

LTLファーマ株式会社 日本薬局方アモスラロール塩酸塩錠 ローガン錠®10 mg 医薬品インタビューフォーム

厚生労働省大臣官房統計情報部 平成26年 患者調査 (傷病分類編)

竹中登一、藤倉峻、本田一男、浅野雅晴、新形邦宏　新規α1受容体遮断薬、塩酸タムスロシン塩酸塩の研究開発　薬学雑誌、1995; 115: 773-789.

竹中登一　前立腺肥大症に伴う排尿障害治療薬タムスロシン塩酸塩（ハルナール®）の創薬　医学のあゆみ、2015; 252: 323-325.

日本泌尿器科学会編　男性下部尿路症状・前立腺肥大症診断ガイドライン

吉田正貴、永田卓士、桝永浩一、宮本豊、工藤惇三　過活動膀胱の病態と薬物治療　臨床薬理、2009; 40: 201-206.

謝辞

本論文の作成にあたり、終始御懇篤なるご指導とご鞭撻を賜りました筑波大学生命環境系 繁森英幸教授、臼井健郎教授、内海真生准教授、山田小須弥准教授に心より篤く御礼申し上げます。

本研究の機会を賜るとともに、過分のご鞭撻ご配慮を賜りました近畿大学医学部泌尿器科学講座 故 栗田孝前教授、近畿大学医学部泌尿器科学講座 植村天受教授、旭川医科大学 教育研究推進センター 松本成史センター長/教授、第二大阪警察病院泌尿器科 花井禎部長、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 笹又理央博士に謹んで感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり、暖かいご助言とご支援を賜りましたアステラス製薬株式会社 佐藤修一博士、鈴木雅徳博士、大竹昭良博士に深く感謝いたします。更に、本研究の遂行にあたり共同研究者として終始ご協力を賜りましたアステラス製薬株式会社藤安紀子氏、野口由紀子氏、並びに同僚諸氏に篤く御礼申し上げます。

本論文の作成の機会をお与えいただきましたアステラス製薬株式会社研究本部長岩井晃彦博士、キャンディデートディスカバリー研究所所長 戸村裕一博士、キャンディデートディスカバリー研究所第3研究室室長 棚橋正幸博士、VVU-muscleユニット長 島谷彰良博士に深謝致します。

最後に、本研究をまとめるにあたり暖かく見守ってくれた夫、子供達に深く感謝します。

発表論文目録

1. Okutsu H, Matsumoto S, Hanai T, Noguchi Y, Fujiyasu N, Ohtake A, Suzuki M, Sato S, Sasamata M, Uemura H, Kurita T. Effects of tamsulosin on bladder blood flow and bladder function in rats with bladder outlet obstruction. Urology 2010; 75: 235-240.

2. Okutsu H, Matsumoto S, Ohtake A, Suzuki M, Sato S, Samsamata M, Uemura H. Effect of tamsulosin on bladder blood flow and bladder function in a rat model of bladder over distension/emptying induced bladder overactivity. J Urol 2011; 186: 2470-2477.