

尿道狭窄ラットにおける Major pelvic ganglion ニューロンの形態および膀胱の組織学的構築の 変化についての検討

福井医科大学泌尿器科学教室（主任：岡田謙一郎 教授）

河原 優，秋野 裕信，塚 晴俊

高橋 雅彦，岡田 謙一郎

MORPHOLOGICAL CHANGE OF MAJOR PELVIC GANGLION NEURONS AND HISTOLOGICAL STRUCTURE OF BLADDER USING RAT MODEL OF PARTIAL URETHRAL LIGATION

Masaru Gobara, Hironobu Akino, Harutoshi Tsuka,

Masahiko Takahashi and Kenichiro Okada

From the Department of Urology, Fukui Medical School

Ninty six rats were divided into 4 groups (normal control group (N=4), ligation group (N=20), ligation-removed group (N=36), and sham surgery group (N=36)). The neuronal size of the 4-week ligated rats returned to normal 6 weeks after removal of the ligation. Rats ligated for 7, 11 and 20 weeks also exhibited a significant increase in the mean area but they could not make a complete recovery after removal of ligation for 6 weeks. Only the rats in the 1- and 4-week ligation groups could recover their neuronal size.

Area densities of smooth muscle: connective tissue (ADsc ratio) was calculated using Elastica van Gieson staining sections of bladder strips. When ligation was removed, the ratio dropped and became nearly equal to the value of the sham surgery group. Only the 7-week group showed a lower ADsc ratio than the sham surgery group after the ligation was removed.

These findings suggest that the reversibility of neuronal hypertrophy might become irreversible when the period of partial urethral ligation persisted beyond 7 weeks. Irreversible hypertrophy of major pelvic ganglion (MPG) neurons might be greatly related with the irreversibly enlarged fibrous bladder which could not show the same ADsc ratio as was seen in the sham surgery groups.

(Acta Urol. Jpn. 41: 259-267, 1995)

Key words: MPG (major pelvic ganglion), Partial urethral ligation, Rat, Neuronal hypertrophy

緒 言

下部尿路通過障害の術後も排尿の回復が不完全となる原因の究明を目的として、膀胱平滑筋を支配する末梢神経系の変化に注目した。そして尿道の狭窄期間が7週間を超えるとラットの骨盤神経叢である major pelvic ganglion（以下 MPG）ニューロンの形態の変化が不可逆になる可能性があることを前回報告した¹⁾。しかし尿道狭窄の解除期間が狭窄期間に比較して短かく（3週間）、形態の回復観察期間として十分とはいえなかった。また尿道狭窄期間の設定も間隔を広くし過ぎていた。したがって今回は尿道の狭窄解除

期間を6週間に延長するとともに、新たに4週間狭窄モデルを作製しその不可逆的变化のより詳細な時期の検討を行うことを目的とした。また20週間の尿道狭窄モデルの作製により、7～11週間狭窄モデルで認めたニューロン、膀胱重量の変化の再現性についての確認も行った。さらに摘出膀胱標本について平滑筋、結合組織の分布の経時的变化を観察し、ニューロン、膀胱重量の推移と比較し、ニューロンの形態学的不可逆性獲得との関係についての検討も加えた。

方 法

雌 Wistar 系ラット12週齢を対象に下部尿路狭窄モ

デルを作製した (Fig. 1). 1) 正常コントロール群 (N=4), 2) 狭窄群 (N=20), 3) 狭窄解除群 (3週間: N=20, 6週間: N=16), 4) Sham 手術群 (3週間: N=20, 6週間: N=16). 狭窄群は一定期間 (1週間 (N=4), 4週間 (N=4), 7週間 (N=4), 11週間 (N=4), 20週間 (N=4)) の狭窄後に MPG, 膀胱を摘出し, 狭窄解除群は前記期間後に狭窄を解除, さらに3週間および6週間経過後に検体を摘出している. sham 手術群は狭窄解除群の対照としてそれぞれの期間に設定した. 狭窄解除に伴う侵襲性の低さを考慮して, Sham 手術群は狭窄期にあたる手術のみ行い, 狭窄解除期に相当する手術は省略している. なお下部尿路通過障害のモデルとして雌ラットを用いた理由は, 精囊による尿道の延長, 圧排の問題がないこと, 雄よりもニューロン数が少なく検討がより正確で容易であること, 過去の豊富なデータの蓄積があることなどによる²⁻⁴⁾.

手術法, axonal tracer の注入法, 標本の採取, MPG ニューロンの染色法, ニューロンの解析法については前回¹⁾と同様であるが, 摘出膀胱の組織学的検討法については以下のように行った. まず摘出した膀胱を約 10 ml の Zamboni 液に内腔も充分満たされるように少なくとも5日間以上保存し固定した. その後近位 1/3, 中部中央 1/3, 遠位 1/3 の3箇所についてそれぞれ 4 μ m の切片を作製し, Elastic van Gieson 染色を行い, 切片はそれぞれの部位について10枚以上作成した. 同染色法は線維性結合組織を染めわけ, かつ筋線維との鑑別が可能であるという同時多目的染色法の代表とされる. 染色方法は Xyrol と 70~100% アルコールによる脱パラフィン後, ワイ

ゲルトのレゾルシン, フクシン液で染色し, 100% アルコールで分別し, 流水による洗浄後ワイゲルトの鉄ヘマトキシリン染色を行う (結合組織). さらに流水で洗浄後, ワンギーソン液による染色 (筋線維) を行っている. 以後70~90%アルコールによる分別, 脱水処理を行い, Xyrol で透徹し, 封入した. えられた標本の画像解析にはオリンパス社製カラー画像解析装置を使用し, おもに 100倍で観察を行い, 染色態度として線維成分 (結合組織) 赤色, 筋線維: 黄色となっていることを確認して解析を行った.

筋組織, 結合組織部分を同時に取り込み, 1視野ずつそれぞれの占有面積を算出し, 標本1枚につき10視野以上観察した. Lepor ら⁶⁾の方法に準じて1切片あたりの筋組織/結合組織の比 (area densities of smooth muscle: connective tissue, 以下 ADsc 値) を算出し, 近位1/3, 中部中央1/3, 遠位1/3の3箇所について平均値をまとめた. さらにその値を平均化し1検体の比とし, 最終的に1群4検体の平均値を算出した. なお細胞質部分が黄色に染色された筋組織の計測値に加算されやすいため, 粘膜は計測対象域に入れないようにした. また血管, 細胞核など計測値に影響を与えそうな構造物も可能なかぎり計測視野から外して解析を行った.

MPG ニューロンの平均面積 (mean area) の変化および膀胱平滑筋/結合組織の比に関する統計学的有意差の検定には, 各群4匹それぞれのデータの平均値をもとに算出し, t 検定で行った. 本文中の数値は膀胱, 体重, 神経面積については平均値 $\pm$ 標準偏差で, 筋組織/線維組織の比は平均値 $\pm$ 標準誤差で表示した.

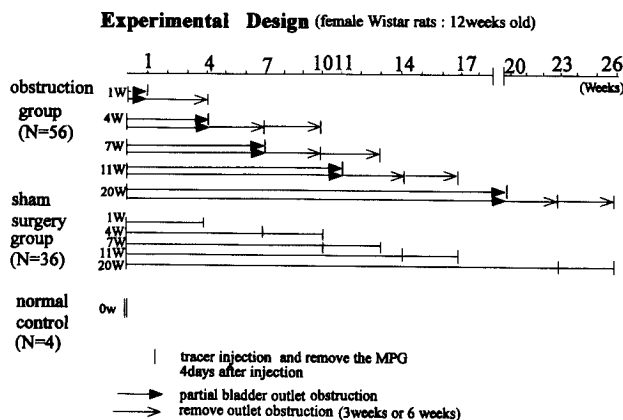


Fig. 1. Ninety six rats were divided into 3 groups and the obstruction groups were divided into two subgroups. In one group only the urinary outlet was obstructed. In the other group, the obstruction was removed 3 or 6 weeks after obstruction.

結 果

(1) MPG ニューロンについての検討

狭窄群における期間別の結果と、同時に行った sham 手術群との比較は以下のとおりであった。

I. ニューロンの mean area (Fig. 2, Table)

狭窄作製 1 週間後の mean area は有意に増大し、狭窄解除 3 週間で sham 手術群との間に有意差を認めず、狭窄解除によりほぼ正常に復することが示された。

狭窄作製 4 週間後も mean area は有意に増大し、狭窄解除 3 週間では sham 手術群との間に有意差を認めた ($p < 0.01$) が、狭窄解除 6 週間で mean area は sham 手術群とほぼ同等の値であった。したがってニューロンの mean area は狭窄解除期間を 6 週間にするとほぼ正常に復することが示された。

狭窄作製 7 週間後の mean area は狭窄解除 3 週間で縮小する傾向を示すものの、sham 手術群との間に有意差を認め ($p < 0.01$)、正常に復さなかった。狭窄解除 6 週間で sham 手術群との間に有意差を認めた ($p < 0.01$)。したがって mean area は狭窄解除によっても正常に復さないことが示された。

狭窄作製 11 週後の mean area は狭窄解除 3 週間、同 6 週間で sham 手術群より大きく ($p < 0.01$)、mean area は狭窄解除によっても正常に復さず、狭窄作製 20 週間後の mean area も同様に正常化しなかった。

II. 膀胱重量 (Fig. 3, Table)

狭窄作製 1 週間後に膀胱重量は約 2 倍に増加していた。しかし狭窄解除 3 週間後には sham 手術群と同等に復していた。

狭窄作製 4 週間後の膀胱重量は約 4 倍に増加してい

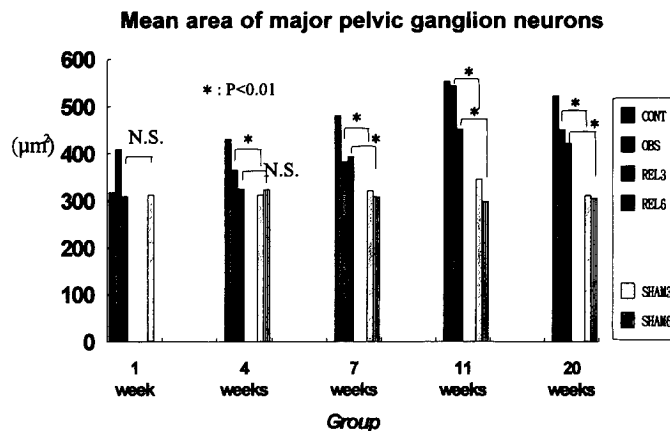


Fig. 2. Time courses of mean area of MPG neurons are shown. When the period of obstruction was beyond 7 weeks, the area of MPG neurons was not recovered. CONT; normal controls, OBS; obstruction models, REL 3; release obstruction for 3 weeks, REL 6; release obstruction for 6 weeks, SHAM 3; sham surgery groups at the same period of REL 3, SHAM 6; sham surgery groups at the same period of REL 6

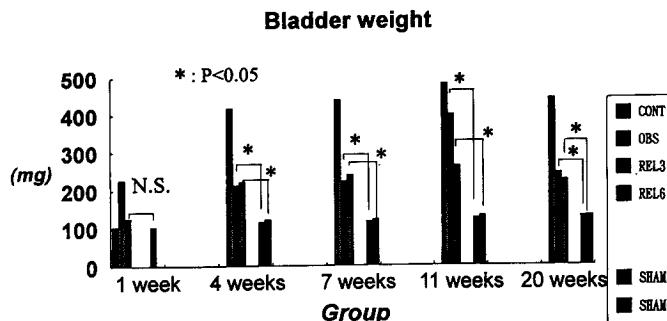


Fig. 3. Time courses of mean bladder weight are shown

Table 1. Summary of, data

		N number of rats	Mean Area±S.D. (μm^2)	Total Number of neurons per MPG	Area Density±S.E. Muscle/Fiber	Bladder Weight±S.D. (mg)	Body Weight±S.D. (g)
1 W.	CONTROL	4	317.5±119.7	845	1.587±0.096	103.0± 7.6	201.3± 4.8
	OBS	4	409.5±139.2	753	2.205±0.207	227.5± 30.1	191.3± 4.8
	REL 3 W.	4	309.3±120.7	955	1.573±0.082	125.5± 14.4	208.8± 16.0
	SHAM 3 W.	4	312.8±116.3	846	1.389±0.063	102.0± 2.7	207.5± 5.8
4 W.	OBS	4	432.8±168.3	779	2.912±0.415	418.3±118.4	212.5± 28.7
	REL 3 W.	4	365.5±147.8	790	1.587±0.119	211.8± 34.7	218.0± 10.9
	SHAM 3 W.	4	313.1± 96.5	893	1.369±0.141	114.0± 3.2	218.8± 2.5
	REL 6 W.	4	325.1±121.6	898	1.790±0.142	221.5± 21.1	227.5± 2.9
	SHAM 6 W.	4	324.5±108.3	807	1.574±0.212	120.3± 5.1	213.8± 12.5
7 W.	OBS	4	481.8±189.4	832	2.380±0.220	439.3± 37.8	225.0± 4.1
	REL 3 W.	4	383.1±158.4	821	1.958±0.146	222.8± 21.2	228.8± 17.0
	SHAM 3 W.	4	322.4±124.8	875	1.408±0.099	115.3± 7.9	220.0± 16.8
	REL 6 W.	4	394.6±171.8	996	1.140±0.081	238.8± 13.3	228.8± 7.5
	SHAM 6 W.	4	310.0±115.4	933	1.462±0.081	120.3± 5.1	231.8± 4.8
11 W.	OBS	4	553.7±202.8	993		481.8± 59.4	248.3± 22.6
	REL 3 W.	4	544.1±256.5	854		399.4±146.9	242.5± 21.2
	SHAM 3 W.	4	347.1±118.7	905		122.8± 4.8	240.0± 4.1
	REL 6 W.	4	453.2±177.8	940		261.8± 29.5	260.0± 12.2
	SHAM 6 W.	4	299.3± 99.0	834		128.8± 7.1	255.0± 7.1
20 W.	OBS	4	523.4±164.3	763		439.8± 58.2	233.8± 25.6
	REL 3 W.	4	451.5±181.5	886		241.7± 66.3	250.0± 7.1
	SHAM 3 W.	4	311.7±100.9	913		128.0± 2.9	265.0± 7.1
	REL 6 W.	4	422.3±157.4	996		223.0± 70.8	241.3± 6.3
	SHAM 6 W.	4	305.5±123.1	832		128.3± 4.5	267.5± 2.9

CONTROL : 12 weeks, Wistar rats
SHAM : sham surgery group

OBS : obstruction model for 1, 4, 7, 11, 20 weeks
REL : removal of obstruction for 3 or 6 weeks

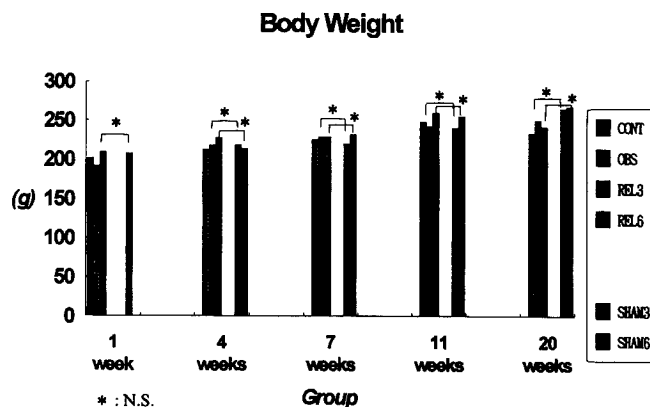


Fig. 4. Time courses of mean body weight are shown

たが、狭窄解除3週、同6週でも、sham 手術群との間に有意差を認めた。したがって平均膀胱重量は狭窄解除期間を6週間にしても正常化を認めなかった。

狭窄作製7週間後の膀胱重量は約4.4倍に増加しており、狭窄解除3週間、同6週間後も正常化していなかった。

狭窄作製11週間後、同20週間後の膀胱重量も正常には復さなかった。

Ⅲ. 体重 (Fig. 4, Table)

体重は経過とともに全群で徐々に増加していたが、各狭窄解除群と sham 手術群とのあいだに有意差を認めなかった。したがって生理的な体重増加は認めら

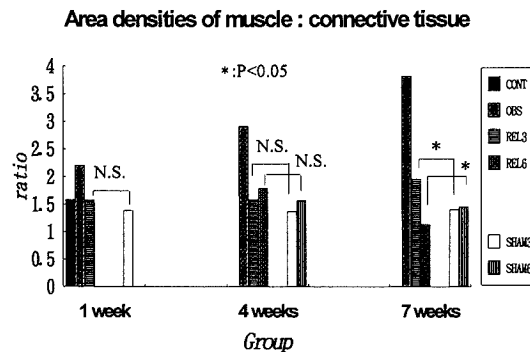


Fig. 5. The ratio of ADsc (area densities of smooth muscle: connective tissue) is shown. Only the 7 week group did not show the same ratio as was shown in the sham surgery groups.

れたが、尿道狭窄に伴う変化は認めなかった。

(2) 膀胱の組織学的検討 (Fig. 5, Table 1)

膀胱の遠位 1/3, 体部中央 1/3, 近位 1/3 の 3 箇所の ADsc 値の平均値については有意差を認めなかった。その値を平均化し 1 検体の比をだし、最後に 1 群 4 検体の平均値を算出し以下の結果をえた。なお解析の対象を 1, 4, 7 週間に限定したのは、MPG ニューロンの形態学的不可逆性獲得時期が 4 ~ 7 週間の間に生じている可能性が強く、この間の組織学的変化が重要と考えたためである。

I. 1 週間狭窄群

コントロール群の ADsc 値は 1.587 ± 0.096 であった。狭窄により ADsc 値の有意な増加を認めたが狭窄解除により正常化した。組織学的には狭窄による筋肥大像は著しくなく、狭窄解除後も若干の筋肥大の残存を認めるのみであった (Fig. 6)。

II. 4 週間狭窄群

狭窄により明らかな値の増加を認めたが狭窄解除によってほぼ正常の比率に回復した。組織学的には、狭窄により 1 週間狭窄よりも著しい筋肥大像が認められ、筋線維束間の線維の断裂も多く認められた。狭窄解除後は筋肥大の残存と筋線維束間の線維成分の増加が認められた (Fig. 7)。

III. 7 週間狭窄群

ADsc 値は狭窄により明らかな増加を認め、狭窄解除 3 週間を経過して減少傾向を認めるものの、正常化しなかった。しかし狭窄解除 6 週間では ADsc 値はコントロール値をむしろ下回っており、膀胱重量の動きから、狭窄解除期間が長くなるにつれて線維成分の増加が生じていた。組織学的には狭窄により 4 週間狭窄と同等以上の筋肥大像を認め、筋線維束間の線維の断裂も著しかった。また狭窄解除後の筋肥大の残存と筋

線維束を固く取り巻くように著しく発達した線維成分が認められた (Fig. 8)。

考 察

(1) MPG ニューロン

ラットの下部尿路狭窄モデルを作製し MPG ニューロンの mean area, 膀胱重量, 体重が狭窄解除後どのように変化するのか経時的に観察し, 検討した。前回の報告¹⁾では膀胱および神経の不可逆性獲得時期の推定を 2 週間から 6 週間と判断したが、狭窄期間、狭窄解除期間の問題から MPG ニューロン、膀胱重量の動向ともに不確定な部分を残していた。したがって、今回は不可逆性獲得時期のより詳細な検討、ニューロン、膀胱重量のより長期的な動向について調査することを目的とした。

その結果、4 週間の尿道狭窄期間まではニューロンの形態に可逆性を認めたが、7 週間以上では狭窄解除後も形態の正常化は認められず、膀胱重量に関しても同様で、4 ~ 7 週間の間に MPG ニューロン、膀胱壁が不可逆的な変化を受けると考えられた。これに関し Steers⁹⁾らは尿道狭窄期間 6 週間、狭窄解除期間 6 週間で正常化を認めなかったとし、Gabella⁴⁾は尿道狭窄期間 8 週間、狭窄解除期間 6 週間で正常化したとしている。膀胱支配神経細胞の同定における正確性については Gabella⁴⁾らも指摘するように、逆行性に tracer を用い同定を行う Steers⁹⁾らの方法が優れているとしているが、一定の見解はでない。われわれは Steers⁹⁾らの方法に準じて様々な狭窄期間を設定し検討した結果、狭窄期間が 7 週間におよぶとニューロンに不可逆的な形態変化が起こるという結果をえることができた。

前回、11 週間狭窄モデルに認められた狭窄解除後の

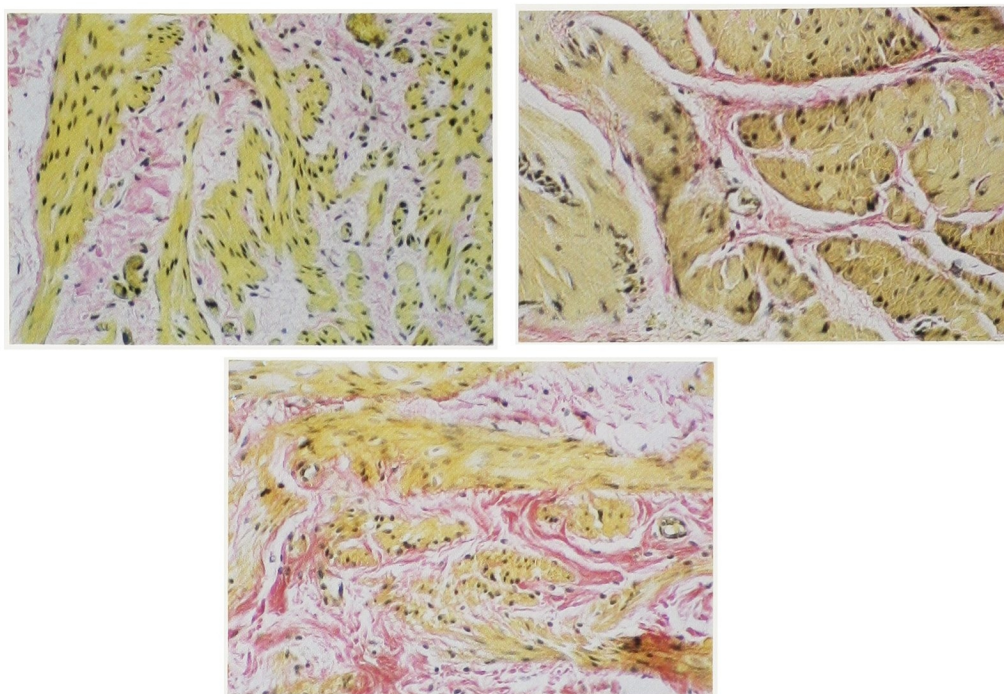


Fig. 6. Muscle hypertrophy is seen in the obstruction model. The distribution and state of smooth muscle or connective tissue of de-obstructed models showed almost no change as compared to the control.

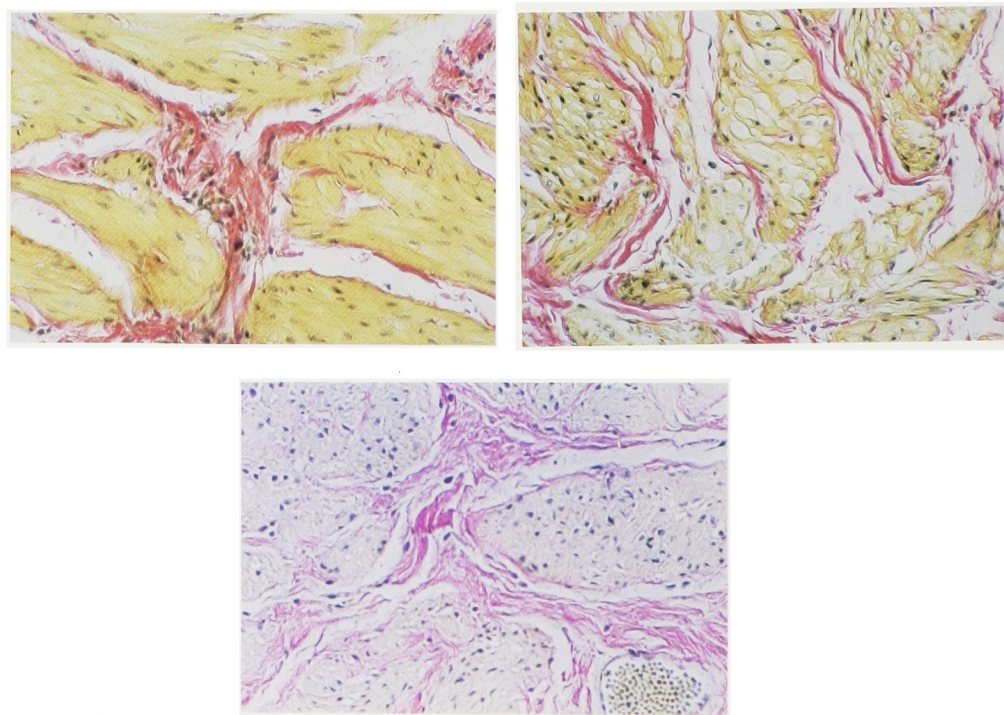


Fig. 7. More hypertrophied muscle was seen in the obstruction model. The hypertrophied muscle and loss of connective tissue were seen in the de-obstructed model (3 weeks). Recovery from muscle hypertrophy and regrowth of connective tissue were seen in the de-obstructed model (6 weeks).

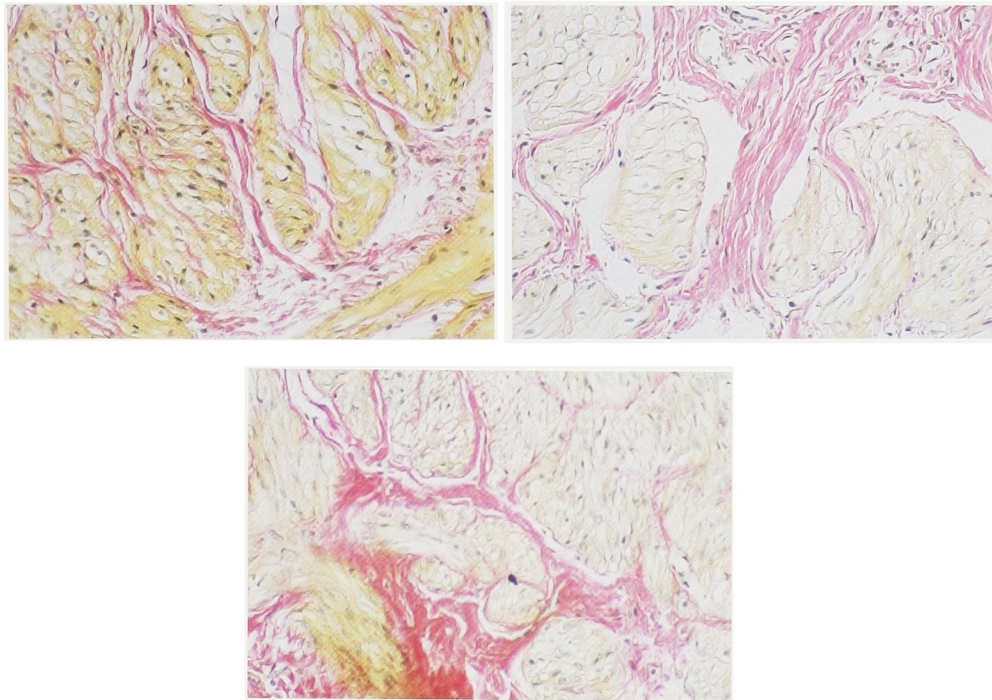


Fig. 8. Even after removal of obstruction, rapid growth of connective tissue was seen in the de-obstructed model. Recovery from muscle hypertrophy was not observed and an enlarged area of connective tissue appeared surrounding the smooth muscle stiffly.

膀胱重量と MPG ニューロンの mean area の変化が同調しなかった点についても、他の群と同様の傾向を示していることが判明し、尿道狭窄による経時的変化の様子が明らかになった。

(2) 摘出膀胱における組織学的検討

膀胱重量が増加した場合、ADsc 値が正常値と同等であれば、筋組織、結合組織成分の絶対量がともに増加していると解釈される。

今回の結果から、狭窄期間が1週間～4週間の場合はADsc値の変化は尿道狭窄による平滑筋の肥大により明らかに増大することが確認された。そして狭窄解除後は平滑筋の縮小、線維成分の増加を認め、量的には正常化しなかったものの質的な組織の分布では再び正常化が認められるようになると考えられる。しかし狭窄期間が7週間におよぶとADsc値は狭窄解除3週間後から徐々に筋成分の減少と線維成分の相対的増加を生じ、狭窄解除6週間後には、線維成分の明らかな増加を認め量的にも質的にも正常とは異なる様相を示すようになると考えられた。

これらの組織学的変化は膀胱機能とはどのような関係があるのであろうか。

平滑筋は腸管、血管、膀胱において通過障害が生ず

るとその機能的負荷量の増加に対しよく順応することが知られている^{4,6-8)}。Saito⁹⁾らの膀胱機能の早期変化についての研究でも収縮反応は代償的に強く維持されていたとされる。臨床で遭遇する著しい肉柱形成を伴う例はより後期的変化であると考えられるが¹⁰⁾、早期に維持されていた機能が低下する原因については不明である。しかし6週間の下部尿路通過障害で field stimulation test への感受性の低下⁹⁾や、今回の組織学的検討と同様な狭窄解除後の筋層の減少、筋細胞間 collagen fibril の増加¹¹⁾などが確認されており、これらと膀胱機能の低下とは強い関係があると考えられる。膀胱重量が狭窄期間を6～7週間以上にしてもさほど増加しなくなるという報告⁹⁾からも、膀胱の代償機能(筋肥大)の限界はやはり6～7週間前後と考えるべきであろう。

線維成分については、筋層内にまで増生した collagen は固有層の伸展を妨げ、低 compliance につながるとされており¹²⁾、狭窄解除後に急激、非生理的に増生した筋線維束周囲結合組織成分は膀胱機能低下と関係が深いと考えられる。

ほかに早期の膀胱機能の維持が困難になってくる理由として、筋組織ミトコンドリア内酵素活性の低下¹³⁾

や、毛細血管からの距離の増加による筋へのエネルギー供給の低下、単位筋細胞面積当りの筋層間内支配神経密度の減少による cell excitability の低下¹⁴⁾などがいわれている。

(3) ニューロンの不可逆性獲得について

ニューロンの肥大は、過伸展による神経細胞の変性脱落、壊死による細胞数の減少に伴う代償性肥大の可能性¹⁵⁾、膀胱平滑筋内の神経線維、軸索の増生などと関係があるとされている⁴⁾。今回、比較的短期間の狭窄では変化を認めても可逆的であったが、膀胱重量とともに MPG ニューロンの形態は7週間以上の長期の狭窄状態におかれると不可逆的な変化となった。ADsc 値の変化でも7週間狭窄群では正常化せず、狭窄解除後に新たに生じた平滑筋線維束周囲の非生理的結合組織の存在が神経の変化の不可逆性獲得と深く関与していると考えられた。

狭窄解除後も結合組織により負荷のかかっている膀胱では、平滑筋膜の脱分極とともに Ca の流入が活発化し持続していると考えられる^{16,17)}。このような状況では NGF のような growth factor が多く産生されやすく⁶⁾、これが神経系を介して MPG ニューロンの肥大化と不可逆性獲得に関与するとも考えられる。

上記を含むさまざまな機序で生じた不可逆的なニューロンの肥大化が、骨盤神経レベル以下での神経回路、神経反射に影響を与え、より低い域値での収縮反応をおこす異常膀胱機能⁹⁾と関係し、手術を行っても回復しない状況をつくりだしているのではないだろうか。

結 語

1. 下部尿路通過障害による MPG ニューロンの変化を明らかにする目的でラットの尿道狭窄モデルを作製し、ニューロンの形態学的変化、膀胱の組織学的変化を観察し比較検討した。

2. 膀胱重量は1週間狭窄群は解除後ほぼ正常化した。4, 7, 11, 20週間狭窄群は解除後、正常化しなかった。

3. 1~4週間の尿道狭窄で、MPG ニューロンの形態は狭窄解除6週間以内で可逆的であった。膀胱平滑筋/結合組織の比率 (ADsc 値) は狭窄後増大したが、狭窄解除後は平滑筋の縮小、線維成分の増加を認め、比率上は正常化を認めた。

4. 狭窄期間が7週間以上におよぶと、MPG ニューロンの形態は狭窄解除6週間後も不可逆的であった。ADsc 値も正常化を認めなかった。

5. MPG ニューロンの形態の不可逆的变化は膀胱の過度の伸展や断裂による線維化の進行や、新たに生じ

た平滑筋線維束周囲の非生理的結合組織の存在と深く関係しており、7週間以内に狭窄を解除しなければ、神経、膀胱の不可逆的变化が生じると考えられた。

この研究の一部は、文部省科学研究費奨励研究A (課題番号05771179) の助成を受けた。また本研究の要旨は、第81回日本泌尿器科学会総会において発表した。

文 献

- 1) 河原 優, 秋野裕信, 岡田謙一郎: 尿道狭窄ラットにおける Major Pelvic Ganglion (MPG) ニューロンの形態学的変化とその可逆性についての検討. 泌尿紀要 41: 1-7, 1995
- 2) Mattiasson AN, Ekstrom JO, Larsson BE, et al.: Change in the nervous control of the rat urinary bladder induced by outflow obstruction. *Neurology and Urodynamics* 6: 37-45, 1987
- 3) Malmgren A, Uvelius BE, Andersson KE, et al.: On the reversibility of functional bladder changes induced by infravesical outflow obstruction in the rat. *J Urol* 143: 1026-1031, 1990
- 4) Gabella GI, Berggren T and Uvelius BE: Hypertrophy and reversal of hypertrophy in rat pelvic ganglion neurons. *J Neurocytol* 21: 649-662, 1992
- 5) Repor HE, Sunaryadi IN, Hartanto VI, et al.: Quantitative morphometry of the adult human bladder. *J Urol* 148: 414-417, 1992
- 6) Steers WD, Kolbeck S, Creedon DJ, et al.: Nerve growth factor in the urinary bladder of the adult regulates neuronal form and function. *J Clin Invest* 88: 1709-1715, 1991
- 7) Gabella GI: Quantitative morphological study of smooth muscle cells of the Guinea-pig taenia coli. *Cell Tissue Res* 170: 161-186, 1976
- 8) Arner AN, Malmquist UL and Uvelius BE: Structural and mechanical adaptations in rat aorta in response to sustained changes in arterial pressure. *Acta Physiol Scand* 122: 119-126, 1983
- 9) Saito MA, Longhurst PE, Tammela TE, et al.: Effects of partial outlet obstruction of the rat urinary bladder on micturition characteristics. DNA synthesis and the contractile response. *J Urol* 150: 1045-1051, 1993
- 10) Gosling JA and Dixon JS: Structure of trabeculated detrusor smooth muscle in case of prostatic hypertrophy. *Urol Int* 35: 351, 1980
- 11) Linder P, Mattiasson A, Persson L, et al.: Reversibility of detrusor hypertrophy and hyperplasia after removal of infravesical outflow obstruction in the rat. *J Urol* 140: 642-646, 1988

- 12) Matsumura KI, Murakumo MA, Ushiki TA, et al.: Changes in collagen fibrils surrounding smooth muscle cells in the non compliant bladder. A scanning electron microscopic study. *J Urol* **149**: 267A, 1993
- 13) Haugaard NI, Potter LI, Wein AJ, et al.: Effect of partial obstruction of the rabbit urinary bladder on malate dehydrogenase and citrate synthase activity. *J Urol* **147**: 1391-1393, 1992
- 14) Arner A, Malmqvist U and Uvelius BE: Metabolism and force in hypertrophic smooth muscle from rat urinary bladder. *Am J Physiol* **c923-c932**, 1990
- 15) Gosling JA, Gilpin SA, Dixon JS, et al.: Decrease in the autonomic innervation of human detrusor muscle in outflow obstruction. *J Urol* **136**: 501-504, 1986
- 16) Moura RO, Mello RO and Aguinaga SE: Inhibitory effect of cromakalim in human detrusor muscle is mediated by glibenclamide-sensitive potassium channels. *J Urol* **149**: 1174-1177, 1993
- 17) Steers WD, Albo MI and Tuttle JB: Calcium channel antagonists prevent urinary bladder growth and neuroplasticity following mechanical stress. *Am J Physiol* **R20-R26**, 1994

(Received on September 13, 1994)

(Accepted on January 27, 1995)

(迅速掲載)