

過伸展膀胱の denervation supersensitivity について

—過大反応と結合組織の変化との関係を中心として—

金沢大学医学部泌尿器科学教室（主任：久住治男教授）

横 山 修
川 口 光 平*
久 住 治 男DENERVATION SUPERSENSITIVITY OF THE DETRUSOR
MUSCLE DUE TO BLADDER OVERDISTENSION, WITH
SPECIAL REFERENCE TO THE RELATIONSHIP BETWEEN
SUPERSENSITIVITY, AND CHANGE OF
THE CONNECTIVE TISSUE

Osamu YOKOYAMA, Kouhei KAWAGUCHI and Haruo HISAZUMI

*From the Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University**(Director: Prof. H. Hisazumi)*

To investigate denervation supersensitivity of the detrusor muscle due to prolonged bladder overdistension, overdistended bladders were produced in female mongrel dogs by bladder neck obstruction for 48 hours and the dogs were sacrificed 1, 2 and 4 weeks after overdistension. The sensitivity of the detrusor muscle to acetylcholine was measured using the isometric *in vitro* technique. The bladder wall tissues were examined with Masson's trichrome staining. The blood flow of the bladder wall was determined by the hydrogen gas clearance method. Sensitivity reached a maximum 2 weeks after overdistension, thereafter decreasing to a lower level 4 weeks after overdistension than that of the untreated detrusor muscle. A decrease of blood supply to the bladder wall, the rate being 63 % immediately after overdistension, may result in a degeneration of the axon which is more fragile to ischemic changes. Subsequently axonal degeneration may be followed by denervation supersensitivity of the detrusor muscle. Remarkable fibrotic changes of the bladder wall 4 weeks after overdistension suggested a decrease of the detrusor muscle contraction to acetylcholine.

Key words: Bladder overdistension, Denervation supersensitivity, Bladder blood flow

緒 言

下部尿路に器質的な通過障害を有する患者の膀胱壁にみられる変化の一部をあきらかにする目的で、われわれは前報にて下部尿路通過障害時にみられる過伸展膀胱のモデルとしてイス膀胱に短時間（1時間）、長

時間（48時間）の過伸展状態を作成し、過伸展解除後2週間経過した時点での利尿筋切片の acetylcholine（以下 ach と略す）に対する収縮反応を検討し denervation supersensitivity が認められることを報告した¹⁾。今回は過伸展解除後に認められる denervation supersensitivity の経時的变化、形態学的変化、および膀胱過伸展にともなう血流障害について若干の知見を得たので報告する。

*現：公立能登総合病院

実験方法

前報と同様に 7~10 kg の雌性雑種成犬を、塩酸 ketamine で麻酔し、仰臥位に固定した。麻酔の維持には thiopental sodium を使用した。下腹部正中切開にて膀胱頸部に達し、周囲の血管に注意しながら尿道を剥離した後、糸付きシリコンリング（前報参照）にて尿道を全周にわたり結紮し、完全尿閉状態を作成した。48時間後に再開腹してシリコンリングを取りはずして尿閉を解除し再び腹壁を縫合した。つぎに尿閉解除後より、1週、2週および4週を経過した時点で屠殺し、膀胱頂部より長軸が尿道に向う 10×3 mm の利尿筋切片を作成して、Magnus 法により Tyrode 液中で 10^{-10} から 10^{-4} g/ml の ach 濃度における収縮反応を観察した。今回は1週群 7頭、2週群 7頭、4週群 6頭を作成し、無処置群の7頭と比較検討した。また1週群、2週群、4週群および無処置群のそれぞ

れの膀胱壁標本を Masson 3 重染色 (Goldner 変法) を用いて染色し、粘膜層、筋層の変化を観察した。

膀胱過伸展にともなう膀胱壁血流障害を観察する目的で、Fig. 2 のような水素ガスクリアランス法²⁾を用いて尿閉作成前の膀胱空虚時、100 ml 生食注入時、

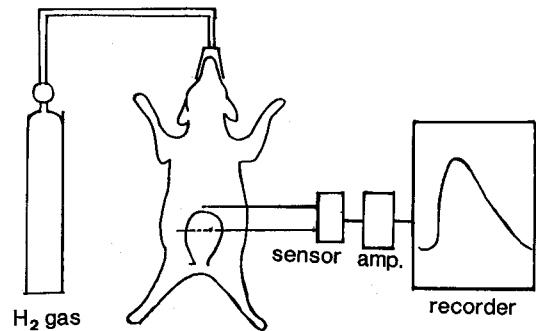


Fig. 1. Diagram of hydrogen gas clearance method

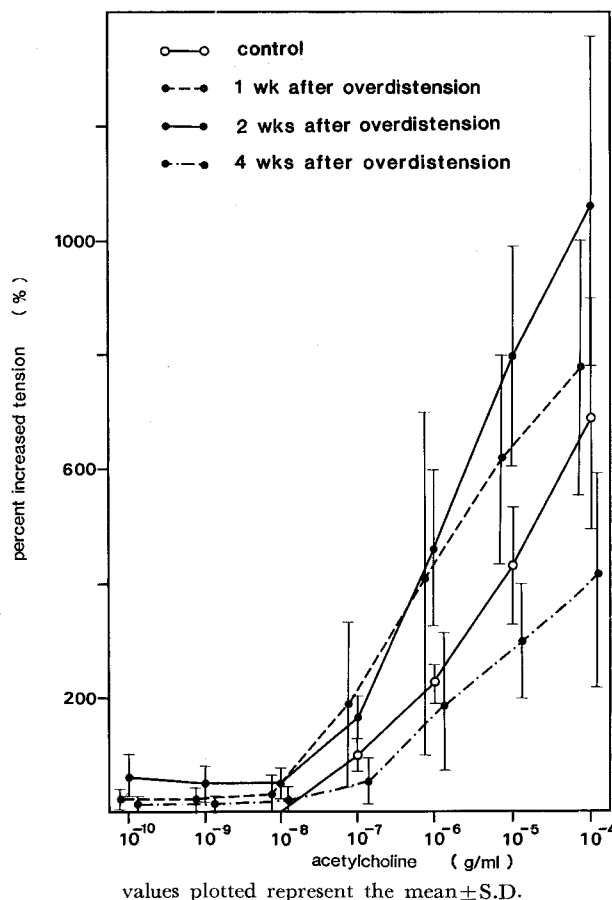


Fig. 2. Dose-response curve of the contraction of isolated detrusor preparations with acetylcholine

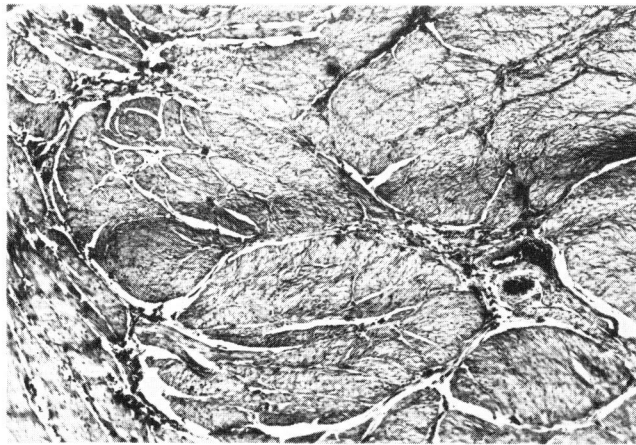


Fig. 3. Bladder wall of the untreated control group. Masson's trichrome stain $\times 40$

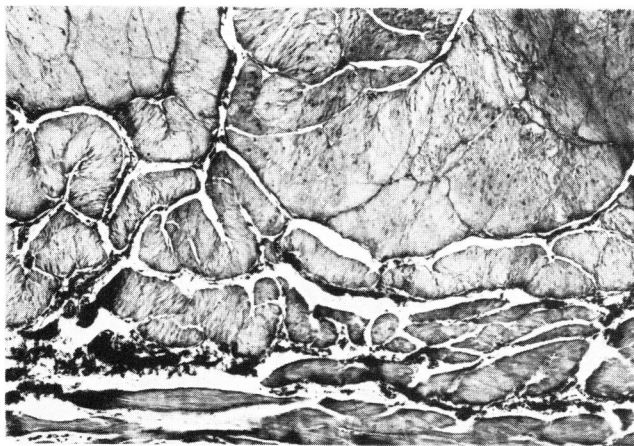


Fig. 4. Bladder wall 2 weeks after overdistension. Note intermuscular edema. Masson's trichrome stain $\times 40$

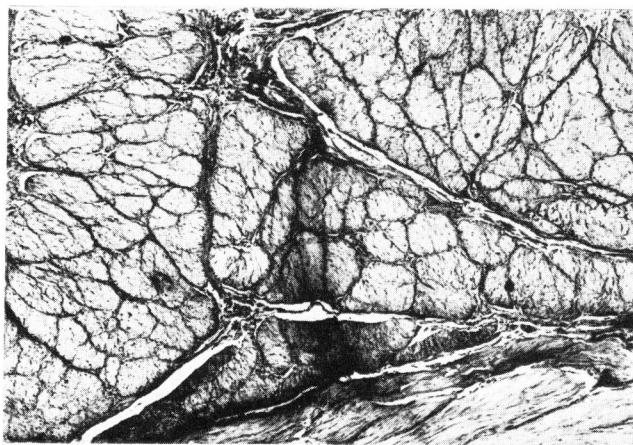


Fig. 5. Bladder wall 4 weeks after overdistension. Note increase of the fibrocollagenous connective tissue. Masson's trichrome stain $\times 40$

48時間尿閉解除直後、および解除後4日経過した時点での膀胱頂部の血流を測定した。本法は face mask により吸入された水素ガスが組織に加えられた電圧により電解され、組織の血流量に応じてその濃度を減少させるときに発生する拡散電流を測定するものである。尿閉作成のさいにもっとも伸展性を有する膀胱頂部の血流を測定するために、同部に白金電極を挿入し、腹腔内に不感電極を置いて、エム・ティ技研製 hydrogen monitor PHG 300 および autobalance recorder に接続した。100%水素ガスを約15秒間吸入させ、得られたクリアランスカーブは片対数グラフ上にプロットして半減期 $T_{1/2}$ を求め次式より膀胱壁 1g 1分間当りの血流量を算定した。

$$F = \frac{0.693}{T_{1/2}} \text{ ml/min/g}$$

また血流測定のさい femoral artery より iliac artery に挿入した catheter を血圧 transducer に接続し膀胱過伸展前後の血圧をモニターして血圧と膀胱血流との相関についても検討した。

結 果

Fig. 2 は尿閉解除後の1週群、2週群、4週群お

よび無処置群の利尿筋切片の ach に対する dose-response curve である。1週群の反応は無処置群 (control group) に比較すると大きな反応がみられているが、危険率5%では有意の上昇とは言えない。2週群の反応は無処置群と比較すると 10^{-10} から 10^{-4} までのすべての濃度減で危険率5%にて有意に大きな収縮反応が認められている。4週群は2週群に比べ、すべての濃度域で低反応を示し、さらに高濃度域では無処置群の収縮反応よりも小さい傾向にあった。したがって膀胱過伸展後の過大反応はほぼ2週経過時に peak を有するという結果が得られた。

Fig. 3 は Masson 3重染色 Goldner 変法を用いて染色した無処置群の膀胱壁筋層の組織像である。Fig. 4 は2週群の筋層標本である。無処置群に比較すると筋層間の浮腫が著明になっていることがわかるが、筋層間に炎症所見はみられていない。4週群の組織像は粘膜固有層深部と、Fig. 5 に示すように筋層間に著明な線維増生がみられ、さらに筋束間内への線維増生が観察される。2週群と同様に炎症所見は認められない。

水素ガスクリアランス法を用いた膀胱壁血流測定では (Fig. 6), 膀胱容量100 ml 程度の膀胱伸展状態で

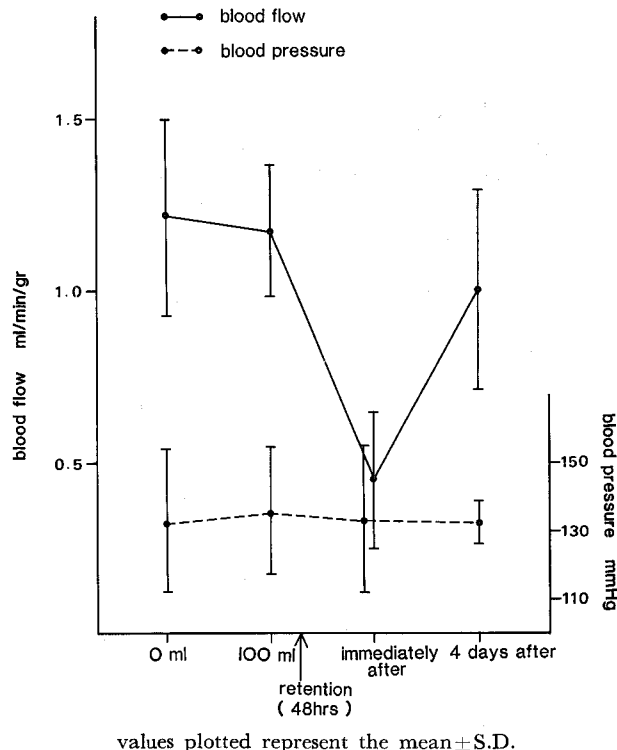


Fig. 6. Bladder blood flow and blood pressure before and after 48-hour urinary retention

はほとんど血流量の低下は認められないが、尿閉解除直後では膀胱空虚時に比べ63%の血流減少を認めた。しかし同時に測定した iliac artery 部の血圧は 100 ml 注入時、48時間尿閉解除直後で膀胱空虚時に比べ有意の増減が認められず、したがって尿閉時の膀胱血流の低下は血圧の影響を受けていないことが確かめられた。尿閉解除後4日経過した時点での膀胱壁血流量は膀胱空虚時の血流量の81%にまで回復していた。

考 察

ある臓器に対し一定の生物学的反応を引き起こしうる薬物が、なんらかの原因で通常より少ない量で同程度の反応を引き起こした場合、この現象を supersensitivity とよんでいる。すなわち dose-response curve は左方へ変位した形となる³⁾。化学物質、外科的操作により除神経 (denervation) がおこなわれたさいにみられる supersensitivity は Cannon⁴⁾ の a law of denervation として知られている。

膀胱は交感神経、副交感神経の二重支配を受けており、副交感神経成分である骨盤神経はその遠心性刺激により利尿筋の強い収縮をもたらす。副交感神経系の節後線維の細胞体は支配臓器のすぐ近傍、ときには臓器間 (筋層神経叢) に存在するため節後線維は短い。したがって骨盤内手術あるいは実験動物におこなう神経切断は decentralization (除中枢) というべきものである。いっぽうわれわれの実験系は膀胱に48時間の尿閉状態を作成し過伸展することで膀胱壁に血流障害をおこし、その結果、節後線維の変性を引き起こすものと考えられ、その意味では postsynaptic denervation supersensitivity の実験モデルということができると思われる。

今回の実験で膀胱過伸展後の利尿筋切片は ach に対しほぼ2週後に最大反応を示すという結果を得たが、これは Schn⁵⁾ の報告とよく相関すると思われる。すなわちラット膀胱を6時間の過伸展状態におき、経時的に膀胱壁内神経軸索の電顕的観察をおこなった結果、24時間後より観察された軸索の変性は2週後に最大に達したと報告している。しかし Schn は神経軸索の形態学的観察のみにとどまり、利尿筋の薬理学的検討はおこなっていない。除神経後の過大反応の発現時期に関して Fleming ら³⁾ はそれぞれの臓器によって、また種属によってさまざまであると述べている。泌尿器科領域、とくに膀胱利尿筋の denervation supersensitivity の経時的推移に関する報告は少ない。Glahn⁶⁾ は子宮全摘、椎間板ヘルニア手術、脊損受傷後の神経因性膀胱に対し denervation supersen-

sitivity test⁷⁾ をおこない、手術あるいは受傷後1～2週後に陽性化し、数カ月後に最大に達したと報告している。村山ら⁸⁾ は decentralization をおこなったラット膀胱が ach に対し7日後に peak を有する過大反応がみられたと報告している。Elmer⁹⁾ は副交感神経の除中枢および除神経をおこなったラット膀胱内圧を各種自律神経作動性薬剤投与下で検討し、神経切断後2週経過時の膀胱が ach に対し supersensitivity を示したと述べている。その経時変化については報告していない。今回われわれは膀胱過伸展直後の利尿筋の収縮反応については検討しなかったが、Levin ら¹⁰⁾ は家兎膀胱に1時間の過伸展状態を作成し、過伸展解除直後および1週間後の利尿筋切片の ach に対する収縮反応をわれわれと同様の Magnus 法を用い Tyrode 液中で測定した。膀胱過伸展直後の収縮反応はコントロール群に比較し著明に低いが、1週間後にコントロール群のレベルに回復したと述べている。また過伸展直後の平滑筋内の ATP 濃度を測定したが有意の低下はみられなかったと報告している。過伸展直後の利尿筋収縮反応の低下に関しては今後 myogenic factor だけでなく neurogenic factor についても検討する必要があると思われる。

本実験では尿閉解除後4週経過した時点での利尿筋切片の ach に対する収縮は無処置群に比較し有意に低い反応を示したが、その原因を検索する目的で利尿筋の3重染色をおこなった。その結果4週群の組織は線維増生が強く利尿筋間ばかりでなく利尿筋々束内へも線維増生が認められ ach に対する低反応性を説明するものと思われた。急性尿閉あるいは慢性下部尿路通過障害にみられる膀胱壁の結合組織の変化に関しては形態学的あるいは生化学的観点からの報告がみられる。Davies ら¹¹⁾ は家兎膀胱に過伸展状態を作成し、解除後の利尿筋の変化を電顕にて観察している。それによると平滑筋細胞自体は正常と変わらないが、細胞相互の nexus の破壊とともに collagen fiber の著明な増生がみられたと報告している。また Mayo ら^{12,13)} は膀胱過伸展を既往にもつ患者および慢性膀胱頸部閉塞を認める患者の膀胱の一部を電顕的に観察し、多量の collagen fiber の沈着を認めたと報告している。さらに慢性下部尿路閉塞を家兎に作成し、同様の結果を報告している。古くから平滑筋細胞間の collagen fiber の沈着は細胞の depolarization を障害し、膀胱収縮を抑制させる因子として考えられてきた。しかし Mayo らは慢性下部尿路閉塞状態においた家兎膀胱が多量の collagen fiber の沈着と nexus の破壊を認めるにもかかわらず、骨盤神経の刺激下に

測定した膀胱内圧の上昇がコントロール群に比較して高かったと報告しており、膀胱収縮にさいし別の刺激伝達系が存在するだろうと述べている。われわれの実験系は *in vitro* の利尿筋切片の収縮性を観察したものであり、Mayo らの報告と比較検討することは無理だと思われるが、4週群の低反応の原因として collagen fiber による depolarization の障害、collagen fiber 増加にともなう利尿筋切片あたりの収縮要素としての筋成分の相対的減少、あるいは denervation の4週後の再生修復などが考えられる。

臓器血流の測定法としては、電磁血流計、radioisotope で標識した microsphere を用いた washout technique、水素ガスクリアランス法、交叉熱電対法、超音波ドップラー法などが用いられている。膀胱壁の血流に関しては1953年 Mehrotra¹⁴⁾ がラットの尿道を結紮し膀胱に急激な過伸展状態を作成してその膀胱壁血管を mercury vapor lamp を用いた transillumination technique にて観察したのが最初である。尿道結紮後6時間で血流減少を認め、48時間後には膀胱壁血流はほとんど途絶したと述べている。組織学的には6時間で血液の血管外溢流が始まり24時間後には膀胱壁全層に出血と浮腫、そして粘膜層の部分的剝離がみられ、さらに48時間を経過すると部分的に壊死組織がみられ、急性炎症性変化が強かったと報告している。また今村¹⁵⁾は膀胱容量に対応する膀胱壁内血管の変化や膀胱支配神経切断時の膀胱壁内血管の変化を肉眼的および微細血管造影法を用いて観察した。いっぽう Dunn¹⁶⁾、Finkbeiner ら¹⁷⁾、Nemeth ら¹⁸⁾は radioisotope を用い膀胱伸展時の膀胱血流量を測定し、膀胱内圧の増大にともなう膀胱血流量の減少を認めたと報告している。また三浦¹⁹⁾は膀胱内圧上昇にともなう膀胱血流量の変化を電磁血流計を用いて測定した。膀胱支配血管4本のうちの1本について測定しているが、膀胱内圧 60~65 mmHg で平均39%の血流減少を認めたと報告している。今回われわれが用いた水素ガスクリアランス法は Kety²⁰⁾、Aukland ら²¹⁾により開発され、組織レベルでの血流測定を比較的簡便におこなうことができる。100 ml の膀胱容量では膀胱空虚時に比べ4%程度の血流減少を認めたのみにとどまり、生理的な膀胱伸展状態と思われる。また三浦¹⁹⁾も膀胱内圧 5 mmHg では血流の減少を認めなかったと報告している。今村¹⁵⁾によれば膀胱容量の増大にともなう大きく伸展する縦軸方向にはジグザグ状に走行する血管が存在し容量の増大に一致してジグザグ状態から延長し直線化したと報告しているが、これは生理的膀胱伸展状態では膀胱壁血流を一定

に保つ機構にはかならないと思われる。われわれの実験では48時間の尿閉解除直後の膀胱壁血流量が膀胱空虚時に比べ63%の減少を示したが、膀胱血流障害と膀胱壁支配神経の変性との因果関係について報告した論文は著者の検索しうる範囲では見あたらなかった。しかし他の疾患、すなわち動脈硬化症や糖尿病にともなう末梢神経障害は神経に分布する栄養血管が発症に重要な意味をもつことが示唆されており、膀胱に関しても局所の血流障害が神経変性を引き起こす可能性は十分にありと考えられる。

われわれは腸骨動脈部の血圧を膀胱空虚時、100 ml 注入時、48時間の尿閉解除直後、および解除4日後に測定し、血圧の膀胱壁血流におよぼす影響を検討した。1937年 Talbot²¹⁾は犬膀胱を伸展したさいにみられる血圧の上昇を初めて報告したが、その後この vesico-vascular reflex に関しては多くの報告がなされている²²⁻²⁶⁾。Mukherjee ら²³⁾は猫の両側迷走神経および頸動脈洞神経を切断してから、膀胱を 50~55 ml の生食にて伸展させ血圧の上昇を測定した。その結果、神経を切断した群は18~55%の血圧上昇を示したが、神経切断を施行しなかった群では0~12%の上昇を認めたにすぎなかったと述べている。また Guttman ら²⁴⁾は脊損患者 (C₈~T₅) に著明な血圧の上昇を認めたと報告している。われわれの実験では100 ml の膀胱伸展状態でわずかに 2.2 mmHg の血圧上昇を認めたにすぎなかったが、これは麻酔深度、測定装置などの問題とともに、神経反射そのものが他の神経要素により block されたとみなすことも可能かと思われる。48時間の尿閉時の血圧も予想したほどの変動は認められなかった。いずれにせよ膀胱壁血流に対する血圧の影響は除外できると思われた。

膀胱を過伸展したさいにみられる denervation が、過伸展にともなう膀胱壁血流障害に起因するものか否かは、過伸展によらず血流障害のみをおこさせた膀胱の ach に対する反応性を検討して解決される問題と思われ、現在検索中である。

結 語

膀胱過伸展のモデルとして雌性雑種成犬の膀胱頸部を糸付きシリコンリングにて結紮し、48時間の完全尿閉状態を作成した。尿閉解除後1週、2週、および4週を経過した時点で屠殺し、利尿筋切片と組織標本を作成した。利尿筋切片は ach に対する収縮反応を調べ、組織標本は Masson 3重染色 (Goldner 変法) を用いて染色し、それぞれ無処置膀胱利尿筋と比較検討した。

利尿筋切片の ach に対する収縮は2週群の反応が最大であり、4週群は無処置群より低い反応を示した。筋層組織像は4週群で筋束への線維増生がみられ ach に対する利尿筋の低反応の原因となる可能性が示唆された。また膀胱血流量を水素ガスクリアランス法を用いて測定し、48時間尿閉解除直後では膀胱空虚時に比較して63%の血流減少を認め、denervation の原因となりうる結果と思われた。

本論文の要旨は第18回日本バラプレジア医学会において発表した。

文 献

- 1) 横山 修・川口光平・久住治男：過伸展膀胱の denervation supersensitivity に関する実験的研究。泌尿紀要 **30**：1~7, 1984
- 2) Aukland K, Bower BF and Berliner RW: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circulat Res* **14**: 164~187, 1964
- 3) Fleming WW, McPhilips JJ and Westfall DP: Postjunctional supersensitivity and subsensitivity of excitable tissue to drugs. *Rev Physiol Biochem* **68**: 55~119, 1973
- 4) Cannon WB: A law of denervation. *Am J Med Sci* **198**: 737~750, 1939
- 5) Sehn JT: The ultrastructural effect of distension on the neuromuscular apparatus of the urinary bladder. *Invest Urol* **16**: 369~375, 1979
- 6) Glahn BE: Neurogenic bladder diagnosed pharmacologically on the basis of denervation supersensitivity. *Scand J Urol* **4**: 13~24, 1970
- 7) Lapides J, Friend CR, Ajemian EP and Reus WS: Denervation supersensitivity as a test for neurogenic bladder. *Surg Gynec Obstet* **114**: 241~244, 1962
- 8) 村山和夫・川口光平・勝見哲郎：除神経によるラット膀胱の acetylcholine および Prostaglandin に対する supersensitivity について。日泌尿会誌 **73**：1123~1131, 1981
- 9) Elmer M: Action of drugs on the innervated and denervated urinary bladder of the rat. *Acta Physiol Scand* **91**: 289~297, 1974
- 10) Levin RM, Staski DR and Wein AJ: The effects of acute overdilation of the rabbit urinary bladder. *Neurourol Urodyn* **2**: 63~67, 1983
- 11) Davies RWL, Clark AE, Prout WG, Shuttleworth KED and Tighe JR: The effects of stretching the rabbit bladder. *Invest Urol* **8**: 145~152, 1970
- 12) Mayo ME, Davies RWL, Shuttleworth KED and Tighe JR: The damaged human detrusor: functional and electron microscopic changes in disease. *Brit J Urol* **45**: 116~125, 1973
- 13) Mayo ME and Hinman F: Structure and function of the rabbit bladder altered by chronic obstruction or cystitis. *Invest Urol* **14**: 6~9, 1976
- 14) Mehrotra RML: An experimental study of the vesical circulation during distension and in cystitis. *J Path Bac* **66**: 79~89, 1953
- 15) 今村 巖：実験的神経因性膀胱における膀胱壁内血管の研究。福島医誌 **31**：13~29, 1981
- 16) Dunn M: A study of the blood flow during distension in rabbits. *Brit J Urol* **46**: 67~72, 1974
- 17) Finkbiner A and Lapides J: Effect of distension on blood flow in dog's urinary bladder. *Invest Urol* **12**: 210~212, 1974
- 18) Nemeth CJ, Khan RM, Kirchner P and Adam AR: Changes in canine bladder perfusion with distension. *Invest Urol* **15**: 149~150, 1977
- 19) 三浦邦夫・加藤哲郎：膀胱内圧上昇時の膀胱血流量に関する研究。西日泌尿 **39**：229~231, 1977
- 20) Ketty SS: The theory and application of the exchange of inert gas at the lung and tissues. *Pharmacol Rev* **3**: 1~41, 1951
- 21) Talaat M: Afferent impulses in the nerves supplying the urinary bladder. *J Physiol* **89**: 1~13, 1937
- 22) Watkins AL: Reflex response of the micturating membrane and the blood pressure to distension of the bladder and rectum. *Amer J Physiol* **121**: 32~39, 1938
- 23) Mukherjee SR: Effect of bladder distension on arterial blood pressure and renal circulation: role of splanchnic and nerves. *J Physiol* **138**: 307~325, 1957
- 24) Guttmann L and Whitteridge D: Effects of bladder distension on autonomic mecha-

- nisms after spinal cord injuries. Brain **70**: 361~404, 1951
- 25) Szasz JJG and Whyte HM: Effect of distension of the bladder and contraction of sphincters on blood pressure. Br Med J **2**: 208~210, 1967
- 26) Becopoulos T, Parashou E, Hadjiminis J and Dimopoulos C: Le retentissement de la debit sanguin et les resistances des vaisseaux peripheriques. J d' Urol **88**: 375~378, 1982
(1985年3月25日受付)