

## 実験的膀胱頸部通過障害

## 第2報：膀胱壁内 Acetylcholinesterase 活性の検討

金沢大学医学部泌尿器科学教室（主任：黒田恭一教授）

勝見哲郎・長野賢一

川口光平・高野学

村山和夫・黒田恭一

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE BLADDER  
NECK OBSTRUCTIONII. AN EVALUATION OF VESICAL FUNCTION AND  
ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY IN THE VESICAL WALLTetsuo KATSUMI, Kenichi NAGANO,  
Kōhei KAWAGUCHI, Manabu TAKANO,  
Kazuo MURAYAMA and Kyōichi KURODA*From the Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, Japan*  
(Director: Prof. K. Kuroda)

Activities of total cholinesterase and acetylcholinesterase in the vesical wall were measured biochemically in 26 female dogs. The obstruction was induced by a mild ligation of the proximal urethra in 16 dogs and these dogs were examined on the 7th, 21st, 90th and 180th day following operation.

Seven days after operation the values of both enzyme activity were slightly lower than those of control dogs. They were little different from the control values 3 weeks and 3 months after operation. Six months after operation, total cholinesterase activity was significantly higher than that of control dogs and acetylcholinesterase activity considerable higher.

According to our study, the sensitivity of the vesical muscle strips to acetylcholine was slightly low in these 6 months dogs.

These results may suggest a compensation mechanism of vesical function for the infravesical obstruction. Vesical capacity and maximum voiding pressure showed no significant relation with these enzyme activity.

私たちは実験的膀胱頸部通過障害による膀胱内圧と膀胱平滑筋の変化との関連について検討中で、すでに *in vitro* における膀胱平滑筋切片の acetylcholine に対する収縮反応について報告したが<sup>1)</sup>、今回は膀胱平滑筋内 acetylcholinesterase (以下 AChE と略す) 活性を定量的に検討したのでその成績を報告する。

## 対 象

成熟雌性犬（体重 10 kg 前後）を使用し、膀胱頸部通過障害は第1報<sup>1)</sup>に記したごとく作成し、経時的に

膀胱内圧測定を行なった後屠殺し、当日実験に供した。無処置の対照群10頭、術後1週目5頭、3週目3頭、3ヵ月目3頭、6ヵ月目5頭の合計26頭につき検討した。なお膀胱頸部通過障害は屠殺前に排尿時膀胱尿道造影を行ない確認した。

## 測定方法

測定方法は Boston ら<sup>2)</sup>、Dale ら<sup>3)</sup>が発表した単位重量当りの AChE 活性定量法を基に後藤ら<sup>4)</sup>が改良した蛋白重量当りの AChE 活性定量法を用い、total

cholinesterase (以下 ChE と略す) 活性および AChE 活性を測定した。蛋白定量は Lowry ら<sup>5)</sup>の方法に準じ、単位は  $\Delta O.D./min/mg$  protein (以下 R と略す) である。なお詳細はすでに報告したので省略する<sup>6)</sup>。

## 実験成績

### 1. 経時的变化

#### 1) total ChE 活性値

対照群 10頭の平均値ならびに標準偏差は、 $1.32 \pm 0.33 \times 10^{-5}$  R, 術後 1 週目では  $1.28 \pm 0.74 \times 10^{-5}$  R, 術後 3 週目では  $1.68 \pm 0.36 \times 10^{-5}$  R, 術後 3 カ月目では  $1.33 \pm 0.53 \times 10^{-5}$  R, 術後 6 カ月目では  $1.96 \pm 0.69 \times 10^{-5}$  R であり、対照群と術後 6 カ月群との間

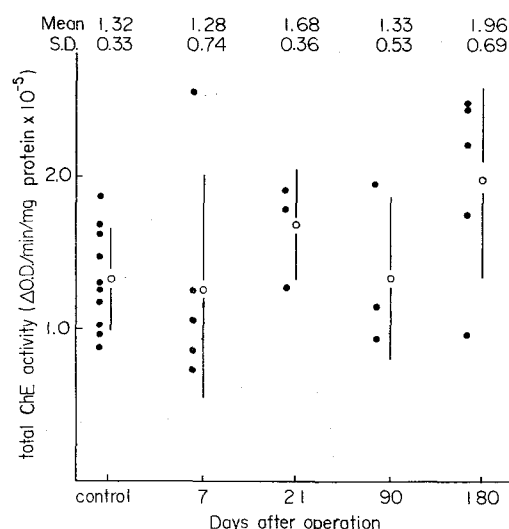


Fig. 1. Change in total ChE activity of the vesical wall at different times after operation

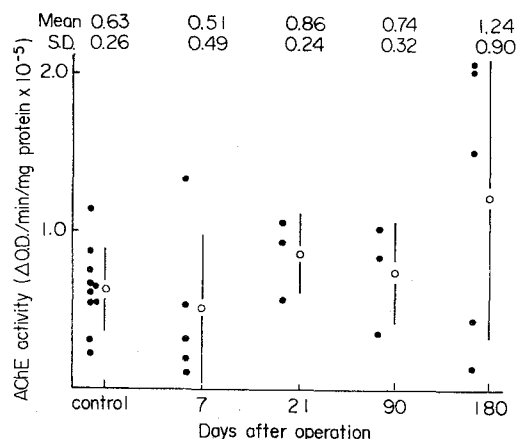


Fig. 2. Change in AChE activity of the vesical wall at different times after operation

に有意差が認められ、術後 6 カ月では total ChE 活性が有意の高値を示した (Fig. 1) ( $P < 0.025$ ).

#### 2) AChE 活性値

AChE 活性値は対照群では  $0.63 \pm 0.26 \times 10^{-5}$  R, 術後 1 週目では  $0.51 \pm 0.49 \times 10^{-5}$  R, 術後 3 週目では  $0.86 \pm 0.24 \times 10^{-5}$  R, 術後 3 カ月目では  $0.74 \pm 0.32 \times 10^{-5}$  R, 術後 6 カ月目では  $1.24 \pm 0.90 \times 10^{-5}$  R であり、対照群と術後 6 カ月群において有意差は認められないが、術後 6 カ月群に高い傾向が認められた (Fig. 2) ( $P < 0.1$ ).

#### 3) AChE 活性値と total ChE 活性値の比

成績は Fig. 3 のごとくで、術後 1 週目にやや低い傾向がみられたが、有意差は認められなかった。

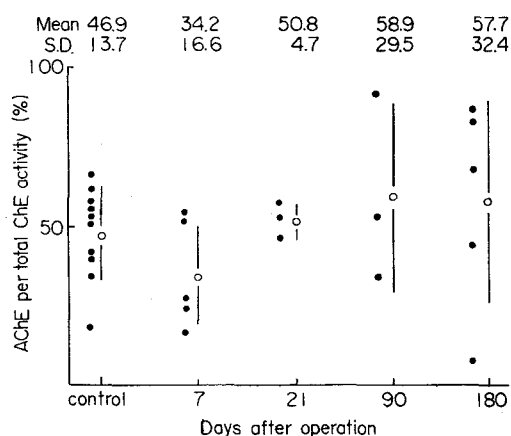


Fig. 3. Change in AChE per total ChE activity of the vesical wall at different times after operation

Table 1. Change in wet weight of the vesical muscle and average amount of protein in the samples assayed for each enzyme activity at different times after operation

|                        | control     | 7 days      | 21 days     | 90 days     | 180 days    |
|------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| protein per sample (%) | 1.67 ± 0.48 | 1.19 ± 0.27 | 1.52 ± 0.96 | 1.62 ± 0.30 | 1.53 ± 0.30 |

#### 4) 蛋白量

膀胱筋層重量当りの蛋白量は Table 1 のごとくで、術後 1 週目でやや低い傾向がみられたが、各群間に有意差は認められなかった。

#### 2. 尿路感染

尿路感染の有無と酵素活性につき検討したが、有意の関係は見出しえなかった (Table 2)。

## 3. 膀胱容量

術前の容量と屠殺時の容量の比を取り、1以上と以下の群で検討した。1以下の群（膀胱容量が減少した群）でやや両酵素活性が高い傾向が認められたが、有意差は認められなかった（Table 3）。

## 4. 最高排尿時圧

排尿時圧が術前に比し上昇した群に両酵素活性値が

Table 2. Relation between UTI and each enzyme activity

| UTI | No. | total ChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) | AChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) |
|-----|-----|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| +   | 6   | 1.77 $\pm$ 0.62                                                            | 1.01 $\pm$ 0.85                                                       |
| -   | 10  | 1.46 $\pm$ 0.63                                                            | 0.74 $\pm$ 0.43                                                       |

Table 3. Relation between the vesical capacity and each enzyme activity

| postoperative<br>vesical capacity<br>preoperative<br>vesical capacity | No. | total ChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) | AChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| $\leq 1.0$                                                            | 10  | 1.64 $\pm$ 0.73                                                            | 0.96 $\pm$ 0.73                                                       |
| 1.0 <                                                                 | 6   | 1.46 $\pm$ 0.44                                                            | 0.65 $\pm$ 0.37                                                       |

Table 4. Relation between MVP and each enzyme activity

| postoperative MVP<br>preoperative MVP | No. | total ChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) | AChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) |
|---------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| $\leq 1.0$                            | 4   | 1.28 $\pm$ 0.44                                                            | 0.68 $\pm$ 0.34                                                       |
| 1.0 <                                 | 12  | 1.67 $\pm$ 0.66                                                            | 0.90 $\pm$ 0.71                                                       |

高い傾向が認められたが、有意差は認められなかった（Table 4）。

## 考 察

骨格筋における ChE 活性定量は、1950年代から各種実験動物において神経切断後の ChE の変動をみるために測定されている。しかし平滑筋においては、Hirschsprung 病（以下H病と略す）において Boston ら、Dale らが同酵素活性を定量し臨床面に応用しているのみで、泌尿器科領域では穴戸<sup>7)</sup>が仙骨神経切断による膀胱壁の代謝系の活性を調べているが、ChE の意味に関する記載はない。私たちはすでに前立腺肥大症患者における同酵素活性を測定し、肥大症群において AChE 活性、AChE と total ChE の比が有意に上昇することを発表した。しかし臨床的には個々の排尿障害の程度、期間およびそれによる膀胱機能障害の程度を正確に把握できない面もあり、今回成熟犬を用いて膀胱頸部に狭窄性変化を作成し、それが膀胱壁に及ぼす変化を経時的に追求した。結果は前述したごとくであるが、顕著な変化は術後6カ月目に total ChE、AChE 活性が上昇することである。術後1週目には両酵素はやや低下し、術後3週目にはほぼ対照群と同程度に復し、術後6カ月目には対照群よりも明らかに高値を示すようになっていく。術後1週目の値は一見低下傾向が少ないようにみえるが、単位重量当り

の蛋白量が低下していることを考慮すると、実際にはもう少し低値を示すものと考えられる。しかし私たちが stable line として使用した蛋白量が術後1週目に低下傾向を示したことは、手術の影響によるものかもしれないが、Guth ら<sup>8)</sup>も除神経後蛋白量が変化し、stable line として使用できないと述べており、今後検討を要する問題と考えられる。Sawyer ら<sup>9)</sup>も除神経後早期に ChE が低下することをラット、モルモット、ウサギの骨格筋において組織学的に観察している。しかしこのような経時的変化は何を意味しているのだろうか。1つの考え方として、膀胱頸部通過障害に対し、強い膀胱壁張力を必要とし、術後1週目には ACh の作用をより強く出すために AChE が減少し、その後3週、3カ月経過すると次第に筋線維自体の肥大、増生により ACh に関係なく収縮力は増強するが、6カ月後には筋線維の肥大、増生のみでは収縮力の増強がえられず、大量の ACh 放出を必要とし、それに伴って AChE も上昇するものと考えられる。しかし AChE の増減と収縮力の関係についての文献は、除神経後の過感作と関連し、AChE の増減を調べた報告が見られるが<sup>10-13)</sup>、それらをまとめると AChE の量と過感作は関連なく、ACh に対する感受性が異なり過感作が生ずるとの報告が多い<sup>14-16)</sup>。また H 病における研究成績でも ACh 含有量が狭窄部に多く<sup>17)</sup>、AChE 活性も同部に高く、膨大部にゆく

Table 5. Relation between the wall tension and each enzyme activity

| postoperative<br>wall tension | No. | total ChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) | AChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) |
|-------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| preoperative<br>wall tension  |     |                                                                            |                                                                       |
| $\leq 1.0$                    | 6   | $1.42 \pm 0.38$                                                            | $0.63 \pm 0.28$                                                       |
| $1.0 <$                       | 10  | $1.67 \pm 0.74$                                                            | $0.97 \pm 0.75$                                                       |

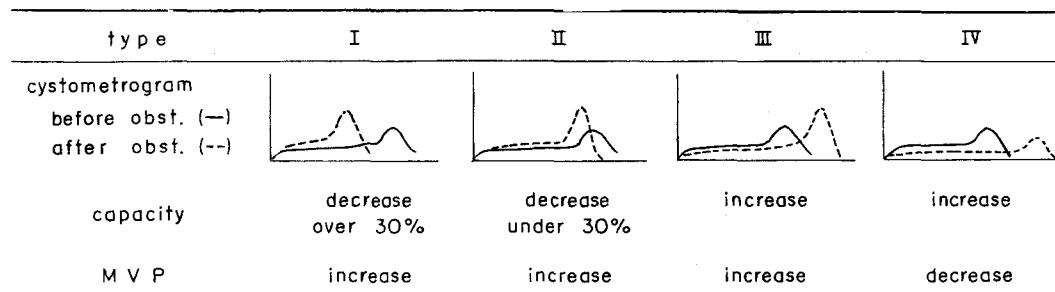


Fig. 4. Changes on cystometrogram

に従い減少する傾向にあるが<sup>19)</sup>, ACh に対する反応性は膨大部が狭窄部の約 10 倍の反応性を示すことから<sup>19)</sup>, 骨格筋, 平滑筋いずれにおいても神経を介する場合には AChE の量と筋収縮力は無関係なようである。しかし私たちの実験のような obstruction に対する AChE 活性を経時的に追求した報告は見当たらない。河野ら<sup>20)</sup>は実験的にモルモットにイレウスを作成し、イレウス状態時の小腸には ACh 感受性の変化が認められると述べているが、大室ら<sup>21)</sup>は成犬を用いた実験で、急性イレウス（完全閉塞群）時には神経線維の ChE 活性は組織化学的に低下し、慢性イレウス（不完全閉塞群）時には上昇すると述べている。この変化は慢性イレウスを解除することにより筋層の肥厚は経過とともに減少し、それに呼応するかのごとく ChE 活性の高い細胞の数が減少し、解除後 21 日目には対照腸管と等しい ChE 活性を示すようになったと述べている。また長谷川ら<sup>22)</sup>は大腸亜全切除後の残存小腸の AChE 活性の変動を雑種犬を用いて経時的に組織化学的に追求している。それによると回腸においては 1 週では活性低下を認め、4 週、12 週には活性の増強がみられ、48 週では正常以上の活性が認められることから、術後早期の活性低下は手術操作そのものによる影響も考えられるが、4 週以後の活性の増強は、活性の経時変化と下痢を始めとする全身状態の改善の時期とほぼ平衡関係にある点よりみても、残存小腸の大腸という臓器脱落に対する 1 つの合目的な適応作用を表わしていると述べている。私たちの結果もこれらの成績とよく似ており、膀胱内圧曲線より計算した膀胱壁張力 (wall tension)

Table 6. Relation between cystometrogram and each enzyme activity

| Type | No. | total ChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) | AChE activity<br>( $\Delta$ O.D./min/mg<br>protein $\times 10^{-5}$ ) |
|------|-----|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| I    | 6   | $1.40 \pm 0.69$                                                            | $0.59 \pm 0.47$                                                       |
| II   | 4   | $2.01 \pm 0.70$                                                            | $1.51 \pm 0.76$                                                       |
| III  | 2   | $1.82 \pm 0.11$                                                            | $0.72 \pm 0.48$                                                       |
| IV   | 4   | $1.28 \pm 0.40$                                                            | $0.68 \pm 0.30$                                                       |

$$T = k \cdot MVP \sqrt{\text{膀胱容量}} \quad (k: \text{定数})$$

において、Table 5 のごとく術前値より高いものは ChE, AChE 活性が高い傾向にあると同時に膀胱壁平滑筋切片の ACh に対する反応性も高いことから<sup>1)</sup>, obstruction 時の膀胱壁の変化は神経切断や H 病の時の変化とおのずから異なり、AChE 活性と ACh に対する反応性ならびに膀胱壁張力は一致するようである。一方私たちは、膀胱内圧曲線の変化から通過障害時の膀胱を Fig. 4 のごとく 4 型に分類した。I 型と II 型はいずれも排尿時圧の上昇、膀胱容量の減少を示すものであるが、AChE 活性は I 型より II 型が有意の高値を示した (Table 6) ( $P < 0.05$ )。I 型は比較的術後早期なものも多く、II 型はすべて術後 6 カ月群であり、ACh に対する反応性も低下していた<sup>1)</sup>。この事実が排尿時に膀胱壁張力に相応する平滑筋収縮力を発揮するために、より高い濃度の ACh が神経筋接合部で放出されている可能性を示唆するものであり、その結果平滑筋の ACh に対する感受性の低下が生じていると考えられる。すなわち下部尿路閉塞により膀胱壁は筋原性の変化のみならず神経因性の変化も伴っていると推論され、先に述べた考え方を支持する所見と

考えられる。もちろんこの裏付けには ACh の定量や膀胱壁の形態学的、組織化学的検索なども必要であり、今後さらに検討をすすめる予定である。

## 結 語

雑種雌性成犬を用い実験的に膀胱頸部通過障害を作成し、膀胱壁内 acetylcholinesterase 活性を定量的、経時的に検討した。通過障害作成後 1 週目には AChE 活性がやや低下し、術後 3 週、3 カ月と次第に正常化し、術後 6 カ月目には total ChE 活性の有意の上昇 ( $P<0.025$ ) および AChE 活性の上昇傾向 ( $P<0.1$ ) が認められた。この変動は通過障害に打ち勝つ膀胱平滑筋収縮力を得るため、術後 1 週目には手術の影響も考えられるが ACh の反応性を高めるために AChE 活性が減少し、術後 6 カ月目には筋組織の肥大、増生のみでは収縮力の増強が得られず大量の ACh の放出を必要とし、それに伴い AChE 活性が上昇する合目的変化であると推論した。なおこの推論に関して文献的検討を加えた。

## 文 献

- 1) 村山和夫・ほか：実験的膀胱頸部通過障害，第一報：膀胱内圧の変化と膀胱平滑筋の acetylcholine に対する収縮反応について。泌尿紀要 **27**: 659, 1981
- 2) Boston VE et al.: Diagnosis of Hirschsprung's disease by quantitative biochemical assay of acetylcholinesterase in rectal tissue. *Lancet* **15**: 951, 1975
- 3) Dale G et al.: An improved method for the determination of acetylcholinesterase activity in rectal biopsy tissue from patients with Hirschsprung's disease. *Clinica Chimica Acta* **77**: 407, 1977
- 4) 後藤誠一・ほか：Acetylcholinesterase 活性定量法を用いた Hirschsprung 病の検討。日小外誌 **14**: 951, 1978
- 5) Lowry OH et al.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 265, 1951
- 6) 勝見哲郎・ほか：前立腺肥大症患者における膀胱機能と Acetylcholinesterase 活性の検討。泌尿紀要 **27**: 17, 1981
- 7) Shishito S: Experimental studies on the innervation of the urinary bladder. *Urol int* **12**: 254, 1961
- 8) Guth L et al.: Quantitative changes in cholinesterase activity of denervated muscle fibers and sole plates. *Experi Neurol* **10**: 236, 1964
- 9) Sawyer CH et al.: Sites of cholinesterase activity in neuromuscular and ganglionic transmission. *Anat Rec* **106**: 287, 1950
- 10) Brooks VB and Myers DK: Cholinesterase content of normal and denervated skeletal muscle in the guinea-pig. *J Physiol* **116**: 158, 1952
- 11) Brooks VB and Chipman LM: Cholinesterase content of various skeletal muscles after denervation. *J Cell Comp Physiol* **40**: 164, 1952
- 12) Kövér A and Kovács T: Investigations on the physiological role of myosin cholinesterase in phylogenesis. *J Cell Comp Physiol* **57**: 63, 1961
- 13) Hall ZW: Multiple forms of acetylcholinesterase and their distribution in endplate and non-endplate regions of rat diaphragm muscle *J Neurobiology* **4**: 343, 1973
- 14) Miledi R: The acetylcholine sensitivity of frog muscle fibres after complete or partial denervation. *J Physiol* **151**: 1, 1960
- 15) Couteaux R and Nachmansohn D: Changes of choline esterase at end plates of voluntary muscle following section of sciatic nerve. *Proc Soc Exp Biol Med* **43**: 177, 1940
- 16) Thesleff S: Effects of motor innervation on the chemical sensitivity of skeletal muscle. *Physiol Rev* **40**: 734, 1960
- 17) 伊川広道・ほか：腸管内アセチル・コリンの定量 (第 3 報)。日平滑筋誌 **14**: 305, 1978
- 18) Kamijo K et al.: Congenital megacolon. A comparison of the spastic and hypertrophied segments with respect to cholinesterase activities and sensitivities to acetylcholine, DFP and the barium ion. *Gastroenterology* **24**: 173, 1953
- 19) Wright PG and Shepherd JJ: Response to drugs of isolated human colonic muscle from a case of Hirschsprung's disease. *Lancet* **4**: 1161, 1965
- 20) 河野勝驥・ほか：アセチルコリン濃度に対する小腸運動の発生頻度における部位別差異，特にイレウス状態についての検討。日平滑筋誌 **9**: 247,

1974

- 21) 大室 僞・ほか：イレウスと壁内神経—ChE 活性の組織化学的検索を中心として—。日平滑筋誌 **8**: 265, 1972
- 22) 長谷川 肇・ほか：大腸亜全剝後の残存小腸の特異的コリンエステラーゼ活性の変動。日平滑筋誌

**9**: 258, 1974

- 23) Hinman F Jr and Miller ER: Mural tension in vesical disorders and ureteral reflux. J Urol **91**: 33, 1964

(1981年2月16日受付)