

ヒト膀胱の Angiotensin に対する反応性： 神経因性膀胱とコントロール膀胱での比較

名古屋大学医学部泌尿器科学教室（主任：三宅弘治教授）

斉藤 政彦*, 加藤 隆範, 近藤 厚生, 三宅 弘治

RESPONSE OF HUMAN URINARY BLADDERS TO ANGIOTENSINS: COMPARISON BETWEEN NEUROGENIC AND CONTROL BLADDERS

Masahiko Saito, Takanori Kato, Atsuo Kondo
and Koji Miyake

From the Department of Urology, Nagoya University School of Medicine

The response of the human detrusor muscle to angiotensins and the difference in contractility between neurogenic and control bladders were examined.

Both angiotensin I and II induced potent contraction of the human detrusor muscle. In Ca-free Krebs' solution the contractile response to angiotensin II was abolished. However, verapamil and indomethacin suppressed it only slightly. Captopril blocked completely the response to angiotensin I, and saralasin inhibited completely the response to both angiotensin I and II. The contraction strength in response to both angiotensin I and II was significantly weaker in the neurogenic bladder than in the control. However, there was no difference in the value of ED₅₀ between the two groups.

These findings suggest that angiotensin I is converted to angiotensin II by angiotensin converting enzyme at the detrusor, and that angiotensin II subsequently contracts the detrusor muscle through angiotensin II receptors. The contractility of the neurogenic bladder in response to angiotensin was significantly lower compared to that of the control.

(Acta Urol. Jpn. 38: 525-530, 1992)

Key words: Human bladder, Angiotensins, Neurogenic bladder

緒 言

膀胱はその支配神経が障害された場合、神経損傷の早期から平滑筋細胞の肥大増殖が発生し、膀胱重量は有意に増大する¹⁻³⁾。また過伸展の影響から平滑筋の断裂や線維芽細胞が増生する⁴⁾。平滑筋細胞を含め、これらの細胞の肥大増殖は膀胱のコンプライアンスの低下など二次的な膀胱機能障害の原因になると考えられる。しかし現時点ではこの細胞の肥大増殖に関するメカニズムは解明されていない。最近、腎臓のメザンギウム細胞に関する実験から angiotensin II が腎炎の際に発生する細胞増殖に深く関与していることが確かめられている⁵⁾。その他にも各種平滑筋組織におい

て angiotensin II が細胞の肥大増殖因子であることが報告されている⁶⁻⁹⁾。膀胱における angiotensin の作用を報告した論文は少なく^{10,11)}、また膀胱平滑筋における angiotensin II の細胞増殖作用を報告した論文はわれわれの調べたかぎりではない。しかし膀胱においても、angiotensin II が神経因性膀胱に伴う細胞の肥大増殖に関与している可能性がある。われわれはヒト膀胱を用いて angiotensin に対する薬理学的効果を検討するとともに、神経因性膀胱とコントロール膀胱における反応性の差を比較検討した。

症 例 と 方 法

症例：二分脊椎による神経因性膀胱6例と膀胱腫瘍により根治的な膀胱全摘術を実施した4例である。神経因性膀胱は低コンプライアンスまたは高度の無抑制

* 現：愛知健康増進財団勤務

Table 1. 膀胱拡大術前の神経因性膀胱患者の背景

症例	性	年齢 (歳)	排尿方法	尿路 感染症	神経障害 レベル	肛門 緊張	膀胱内圧測定		
							Compliance (ml/cmH ₂ O)	UIC (cmH ₂ O)	膀胱容量 (ml)
1	女	4	CIC	—	S1	低下	2.0	—	60
2	女	4	努責排尿	+	L4	低下	2.7	—	200
3	男	6	努責排尿	+	L4	低下	3.0	—	120
4	女	15	CIC	+	L4	低下	6.2	—	300
5	男	16	CIC	+	S1	低下	1.3	—	80
6	女	20	CIC	+	L5	低下	20.0	30	250

CIC: clean intermittent catheterization. 清潔間欠導尿法.

UIC: uninhibited contraction of detrusor. 無抑制収縮の振幅.

+: 膿尿が常に持続していた.

+: 月に一度以上尿が混濁した.

—: 年に数回以下の尿路感染症に罹患.

収縮が原因で発生した尿失禁,あるいは膀胱尿管逆流の治療目的で膀胱拡大術を受けた症例である. 6例の膀胱内圧測定結果,および患者の背景を Table 1 に示した. 排尿方法は手術前1年間におけるおもな排尿方法とした. 尿路感染症の重症度は手術前1年間の状況に基づきつぎのように分類した. +:ほとんど常に尿が混濁していた. ++:月に1回以上尿が混濁し,抗生物質を内服した. —:尿路感染症は年に数回以下の頻度であった. 神経障害レベルは運動神経と感覚神経の両者の神経障害レベルを総合的に判断した. 膀胱内圧測定で,カテーテルの周囲より造影剤の漏出が認められた時の容量を最大膀胱容量とした. 膀胱のコンプライアンスは,最大膀胱容量をその時点の利尿筋圧で除した値とした (ml/cmH₂O). 無抑制収縮はその最大値から波形の開始圧を引いた値とし, 15 cmH₂O 以上を有意の無抑制収縮とした. 膀胱内圧測定の結果, 5例は低コンプライアンス膀胱, 他の1例は無抑制収縮を有する過活動型の膀胱であった.

標本採取: 神経因性膀胱では膀胱拡大術の際に膀胱頂部より電気メスを使用しないで 15×15×10 mm 大の膀胱組織を取り出し,ただちに Krebs 液に浸した. 一方コントロール膀胱は膀胱摘出後,できるだけすみやかに膀胱の頂部より 20×20×10 mm 大の組織を採取した. なお, コントロール膀胱は膀胱頂部に病変を有する症例や膀胱上皮内癌 (CIS) を合併する症例は除外した. また前立腺肥大症などの排尿困難を有する症例も除外した.

薬理学実験: まず粘膜と漿膜を切除して膀胱の筋層より 10×2×2 mm の筋切片を作成した. 各症例より 4 から 6 切片を取り出し, それぞれの実験に供した. 筋切片は 10 ml の Krebs 液 (NaCl 119 mM, KCl 4.7 mM, MgSO₄ 1.2 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM,

CaCl₂ 2.5 mM, NaHCO₃ 25 mM, glucose 11 mM) を満たした実験浴槽内に懸垂した. 筋切片の一端は絹糸にて force displacement transducer (三栄 type 45196) に接続し, 筋切片の等長張力変化を記録した (三栄 Biophysigraph 180 system and Rectigraph-8K). 浴槽内溶液は常時 37°C に保ち, pH を適正に保つために 95% O₂, 5% CO₂ の混合ガスにて通気した. 筋切片の静止張力が 1 g に安定していることを確認した後, さらに 30 分間 Krebs 液中で incubation して, 各種薬剤に対する反応性を実験した.

平滑筋の基本的な収縮力を求め, 各薬剤に対する反応性の基準とする目的で KCl に対する反応性を調べた. これには KCl Krebs 液を使用したのが pH の変化を避けるため, 通常の Krebs 液の NaCl を KCl で置き換えた溶液 (KCl 124 mM) を使用した. Angiotensin I, II に関しては dose-response curve を得る目的でそれぞれ 10⁻¹⁰~10⁻⁵ M を cumulative に投与して反応性を調べた.

さらに angiotensin II の収縮作用に対する saralasin: [Sar¹, Val⁵, Ala⁸]-angiotensin II (angiotensin II inhibitor), indomethacin (prostaglandin 合成阻害剤) verapamil (calcium entry blocker) の影響, また angiotensin I に対する captopril (angiotensin converting enzyme inhibitor) の影響を実験した. これらの薬剤をあらかじめ 10⁻⁶ M 投与して, その 10 分後に angiotensin I または angiotensin II を 10⁻⁷ M 添加し, その反応性を調べた.

つぎに angiotensin II の収縮反応における細胞外の Ca イオンの必要性を検討する目的で Ca-free Krebs 液中での反応性を検討した. これは 30 分間の incubation 後に Ca-free Krebs 液 (0.01 mM EG-

TA 含) で3回洗浄し, さらに30分間の incubation 後に angiotensin II を 10^{-7} M 添加した. なお, angiotensin II には脱感作作用 (desensitization or tachyphylaxis) があると報告されているため^{12,13)}, この影響を考慮して一旦 angiotensin I または angiotensin II に暴露された筋切片はそれ以後 angiotensin に対する実験には使用しなかった.

使用した薬剤は angiotensin I and II (SIGMA), saralasin: [Sar¹, Val⁵, Ala⁸]-angiotensin II (SI-

Table 2. Angiotensin I, II に対する ED_{50} 値の比較 (mean $\pm$ SE). いずれも有意差は認めなかった.

	ED_{50}	
	Angiotensin I ($-\log_{10}$ M)	Angiotensin II ($-\log_{10}$ M)
神経因性膀胱	7.62 ± 0.74 (n=27)	7.83 ± 1.00 (n=28)
コントロール膀胱	7.64 ± 0.39 (n=23)	7.96 ± 0.33 (n=17)

Table 3. Angiotensin I, II に対する反応性の個人比較 (平均値). 神経因性膀胱では angiotensin に対する反応性に個人差が大きかった. 手術前に腎臓排尿をしていた症例では特にその反応性が低下していた (下線).

		Angiotensin I		Angiotensin II	
		最大収縮 (% KCl 収縮)	ED_{50} 値 ($-\log_{10}$ M)	最大収縮 (% KCl 収縮)	ED_{50} 値 ($-\log_{10}$ M)
神経因性膀胱	1	45.6	7.09	36.9	7.88
	2	<u>15.8</u>	7.09	<u>3.0</u>	6.21
	3	<u>22.2</u>	7.69	<u>14.4</u>	7.73
	4	39.5	7.34	83.3	6.98
	5	60.4	7.98	60.4	8.01
	6	45.9	8.06	64.0	8.84
コントロール膀胱	54歳男	79.8	7.19	89.6	7.67
	67歳男	85.2	7.61	68.3	8.16
	68歳男	60.2	8.11	54.5	8.00
	74歳男	33.5	7.70	81.1	7.96

GMA), captopril (SIGMA), indomethacin (SIGMA), verapamil (エーザイ) である. angiotensin I と II に対しては ED_{50} 値を求めた (Table 2). 神経因性膀胱の各症例における反応性を検討するために angiotensin I と II の最大収縮と ED_{50} 値を症例別に比較し (Table 3), 各症例の反応性と術前の患者背景との相関関係を求めた. えられたデータは Wilcoxon の有意差検定を行った. なお, 本文中に示した濃度はすべて実験浴槽内における最終濃度で表示してある. angiotensin I, II の最大収縮値および dose-response curve は KCl-Krebs 液での収縮を 100 として計算した. また ED_{50} 値, および dose-response curve は平均 $\pm$ SE で表示した.

結 果

1. angiotensin I, II は, いずれも膀胱に対して収縮効果を有していた. その収縮反応は強く, 10^{-8} M ですでに明確な収縮を認めた. 神経因性膀胱の angiotensin I, II に対する反応性は, コントロール群に比較して減弱していた (Fig. 1, 2). ただし ED_{50} 値には有意差は認めなかった (Table 2).

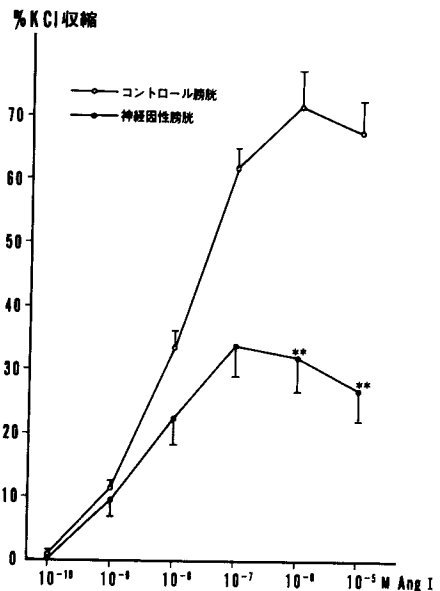


Fig. 1. Angiotensin I に対する dose-response curve. 神経因性膀胱ではコントロール膀胱に比較して収縮力が有意に低下していた. 神経因性膀胱 n=27, コントロール膀胱 n=23. **: $P < 0.01$.

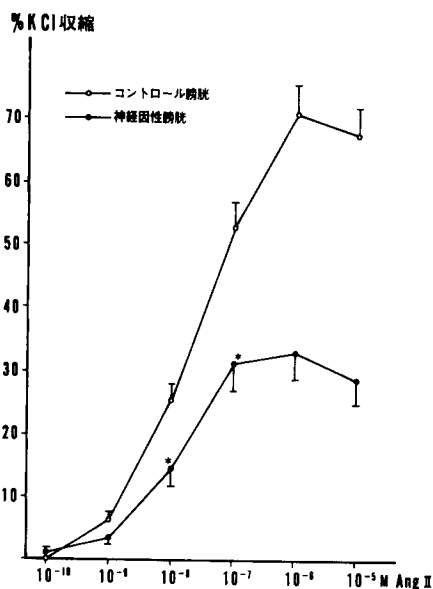


Fig. 2. Angiotensin II に対する dose-response curve. 神経因性膀胱ではコントロール膀胱に比較して有意に収縮力が低下していた。神経因性膀胱 $n=28$, コントロール膀胱 $n=17$. *: $P<0.05$.

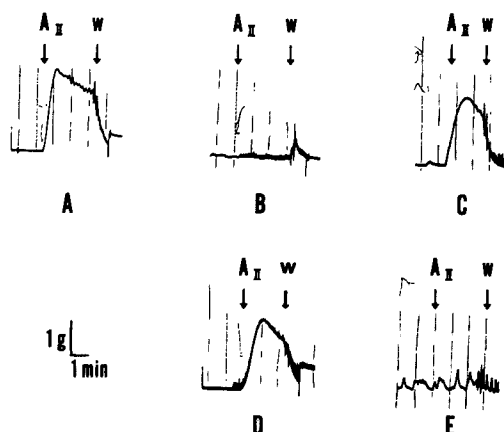


Fig. 3. コントロール膀胱における angiotensin II 10^{-7} M に対する反応. A II: angiotensin II, W: 洗浄. A: 正常 Krebs 液中, B: Ca-free Krebs 液中, C: indomethacin 10^{-6} M 添加時, D: verapamil 10^{-6} M 添加時, E: saralasin 10^{-6} M 添加時.

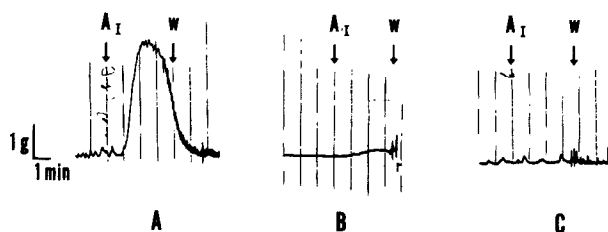


Fig. 4. コントロール膀胱における angiotensin I 10^{-7} M に対する反応. A I: angiotensin I, W: wash out (洗浄). A: 正常 Krebs 液中での反応. B: captopril 10^{-6} M 添加時. C: saralasin 10^{-6} M 添加時.

2. angiotensin II に対する収縮反応は Ca-free 溶液中ではほぼ完全に消失した。しかし、verapamil や indomethacin による収縮反応の抑制はわずかであった (Fig. 3)。これは神経因性膀胱、コントロール群ともに同様の結果であった。

3. angiotensin I の収縮作用は captopril によりほぼ完全に抑制された。また saralasin により angiotensin I, II いずれの収縮反応も完全に抑制された (Fig. 3, 4)。この結果は神経因性膀胱においても同様であった。

4. 神経因性膀胱における angiotensin I と II の反応性には個人差が大きく、特に angiotensin II に

対しては症例 2 のようにほとんど反応しないものから症例 4 のようにコントロールと同等の反応を示すものまでさまざまであった (Table 3)。angiotensin に対する反応性を Table 1 の症例別のデータと比較検討したところ、手術前に努責排尿をしていた症例において反応性が有意に低下していた。その他の因子との有意な相関関係は認められなかった。

考 察

神経因性膀胱では神経損傷の早期より排尿困難とともない平滑筋細胞の肥大増殖や線維芽細胞の増生などが発生する¹⁻⁴⁾。このような組織学的な変化が、膀胱

壁のコンプライアンスの低下など膀胱機能の二次的な異常に関与することが示唆されている。しかしこの排尿困難が原因で発生する膀胱利尿筋の組織学的な肥大増殖のメカニズムは不明である。angiotensin の膀胱に対する作用は薬理学的には収縮作用を示し^{10,11)}、この作用は膀胱に存在する angiotensin II に対する固有の receptor を介して行われている¹⁰⁾。今回の実験では angiotensin II はヒト膀胱に対して強い収縮作用を示し、その収縮力はコントロール膀胱では KCl によって引き起こされる収縮の70%に達する。しかも 10^{-8} M という低濃度で明確な収縮効果を示した。さらにこの収縮反応は angiotensin receptor 遮断剤である saralasin により完全に抑制された。しかし、Ca-entry blocker である verapamil や, prostaglandin 合成阻害剤である indomethacin の抑制効果はほとんど認めなかった。また、収縮反応は細胞外の Ca イオンを取り除いた状態では消失した。以上の結果よりヒト膀胱には angiotensin II の receptor が豊富に存在し、angiotensin II による利尿筋収縮作用はこの receptor を介する直接作用で、この収縮反応は細胞外の Ca イオンの細胞内流入が重要であると判明した。これらの結果はヒト膀胱における angiotensin II の収縮反応は、血管平滑筋における angiotensin II の作用と同様の機序で発生していると考えられた^{14,15)}。

angiotensin I は各臓器に存在する angiotensin 変換酵素により angiotensin II に変換された後に活性化する。今回の実験でも angiotensin I の作用は angiotensin 変換酵素阻害剤である captopril によってほぼ完全に遮断された。このことよりヒト膀胱においても angiotensin 変換酵素が存在し、しかも angiotensin II が膀胱利尿筋に対して強い収縮反応を示すことより、angiotensin II がヒト膀胱で重要な役割を担っていることが強く示唆された。

神経因性膀胱とコントロールの angiotensin I, II に対する反応性を比較したところ、いずれも神経因性膀胱では収縮反応が有意に低下していた。また神経因性膀胱ではコントロール膀胱に比較して収縮反応の強さに個人差が大きく、術前に努責排尿をしていた患者ではその反応性が低下していた。

結 語

ヒト膀胱に対する angiotensin の作用を薬理的に実験し、神経因性膀胱とコントロール膀胱における反応性の差を比較検討した。

1. ヒト膀胱は angiotensin I, II いずれに対して

も強い収縮反応を示した。

2. angiotensin II に対する収縮反応は Ca-free Krebs 中ではほぼ完全に消失した。しかし、verapamil や indomethacin による抑制効果はわずかであった。

3. captopril により angiotensin I の抑制作用は完全に抑制された。また saralasin により angiotensin I, II の収縮作用は完全に抑制された。

4. 神経因性膀胱の angiotensin I, II に対する収縮反応は、いずれもコントロールに比較して減弱していた。ただし、ED₅₀ 値には差を認めなかった。

以上よりヒト膀胱には angiotensin 変換酵素が存在し、angiotensin II 固有の receptor を介して強い収縮反応を引き起こすと考えられた。さらに神経因性膀胱ではコントロールに比較して angiotensin に対する反応性が低下していることが判明した。

文 献

- 1) Saito M, Gotoh M, Kato K, et al.: Denervation supersensitivity of the rabbit urinary bladder to calcium ion. *J Urol* **142**: 418-421, 1989
- 2) Ekstrom J, Henningsson AC, Henningsson S, et al.: Hyperplasia and hypertrophy in the denervated and distended rat urinary bladder. *Acta Physiol Scand* **122**: 45-48, 1984
- 3) Ekstrom J and Uvelius B: Length tension relations of smooth muscle from normal and denervated rat urinary bladder. *Acta Physiol Scand* **112**: 443-447, 1981
- 4) 相沢正俊: 神経因性膀胱に関する実験的研究。第8報。実験的脊損犬における尿路の組織像。日泌尿会誌 **55**: 1026-1048, 1964
- 5) 藤原芳廣, 伸性 孝, 高間俊郎, ほか: 腎糸球体メザンギウム細胞増殖機構の解明とその制御法開発。持田記念財団—研究成果報告集 **4**: 147-152, 1988
- 6) Ludtke F-E, Golenhofen K and Schubert F: Angiotensin II stimulates human gastric smooth muscle in vitro. *J Auton Pharmacol* **9**: 139-147, 1989
- 7) Szkudlinski M, Lewinski A, Sewerynek E, et al.: Hydrocortisone inhibits the basal and angiotensin II-stimulated proliferation of rat adrenocortical cells in organ culture. *Exp Clin Endocrinol* **95**: 197-202, 1990
- 8) Paquet JL, Baudouin-Legros M, Brunelle G, et al.: Angiotensin II-induced proliferation of aortic myocytes in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* **8**: 565-572, 1990
- 9) Bobik A, Grinpuke S, Little PJ, et al.: Angiotensin II and noradrenaline increase PDGF-BB receptors and potentiate PDGF-

- BB stimulated DNA synthesis in vascular smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* **166**: 580-588, 1990
- 10) Anderson GF, Barraco RA, Normile HJ, et al.: Evidence for angiotensin II receptors in the urinary bladder of the rabbit. *Can J Physiol Pharmacol* **62**: 390-395, 1984
- 11) 齊藤政彦, 後藤百万, 加藤久美子, ほか: 高齢ラット膀胱における薬理学的実験. 第二報: ATP, Prostaglandin $F_{2\alpha}$, Serotonin, Angiotensin II, VIP に対する反応. *日泌尿会誌* **81**: 31-36, 1990
- 12) Khairallah PA, Page IH, Bumpus FM, et al.: Angiotensin tachyphylaxis and its reversal. *Circ Res* **19**: 247-254, 1966
- 13) Shimuta SI, Kanashiro CA, Oshiro MEM, et al.: Angiotensin II desensitization and Ca^{++} and Na fluxes in cultured intestinal smooth muscle cells. *J Pharmacol Exp Ther* **253**: 1215-1221, 1990
- 14) Nabika T, Velletri PA, Lovenberg W, et al.: Increase in cytosolic calcium and phosphoinositide metabolism induced by angiotensin II and (Arg) vasopressin in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* **260**: 4661-4670, 1985
- 15) Smith JB, Smith L, Brown ER, et al.: Angiotensin II rapidly increases phosphatidate-phosphoinositide synthesis and phosphoinositide hydrolysis and mobilizes intracellular calcium in cultured arterial muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **81**: 7812-7816, 1984

(Received on June 26, 1991)

(Accepted on September 19, 1991)