

黄体形成ホルモンが尿禁制に与える影響

著者	江里口 智大
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第17914号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123812

博士論文

黄体形成ホルモンが尿禁制に与える影響

東北大学大学院医学系研究科医科学専攻

外科病態学講座・泌尿器科学分野

江里口 智大

目次

略語.....	3
1. 要約.....	5
2. 研究背景.....	10
3. 研究の目的.....	13
4. 研究の対象と方法.....	13
5. 結果.....	21
6. 考察.....	24
7. 結語.....	28
8. 謝辞.....	29
9. 参考文献.....	30
10. 図の説明.....	36
11. 表の説明.....	41
12. 図.....	42
13. 表.....	59

略語

AC (adenylate cyclase: アデニル酸シクラーゼ)

ANOVA (analysis of variance: 分散分析)

A-URS (amplitude of urethral pressure responses during sneezing: くしゃみ誘発尿禁制反射の振幅)

cAMP (cyclic adenosine monophosphate: 環状アデノシン一リン酸)

cDNA (complementary deoxyribonucleic acid: 相補的デオキシリボ核酸)

ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay: 酵素免疫測定法)

EP (type E prostanoid receptor: プロスタグランジン E2 の受容体)

GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素)

GnRH (gonadotropin releasing hormone: 性腺刺激ホルモン放出ホルモン)

IP₃ (inositol triphosphate: イノシトール三リン酸)

ISD (intrinsic sphincter deficiency: 内因性括約筋不全)

LH (luteinizing hormone: 黄体形成ホルモン)

LHR (luteinizing hormone receptor: 黄体形成ホルモン受容体)

LPP (leak point pressure: 漏出時圧)

mRNA (messenger ribonucleic acid: 伝令リボ核酸)

MUCP (maximum urethral closure pressure: 最大尿道閉鎖圧)

MUS (midurethral sling: 中部尿道スリング)

OVX (ovariectomy: 卵巣摘除術)

Pabd (pressure of abdomen: 腹圧)

PGE2 (prostaglandin E2: プロスタグランジン E2)

PLC (phospholipase C: ホスホリパーゼ C)

QOL (quality of life: 生活の質)

qPCR (quantitative polymerase chain reaction: ポリメラーゼ連鎖反応)

SEM (standard error of the mean: 平均値の標準誤差)

SUI (stress urinary incontinence: 腹圧性尿失禁)

UBP (urethral baseline pressure: 尿道基線圧)

1. 要約

【背景】

腹圧性尿失禁は咳やくしゃみをする、重い物を持ち上げる等、腹圧がかかる動作をした時に不意に尿が漏れる疾患である。若年女性から高齢者まで広く罹患する疾患で、生活の質を低下させ、経済的負担も大きい。世界的に罹患率が増加傾向にあり、日本国内では 860 万人が症状を有するとされている。病因としては産後や加齢に伴う骨盤底筋群の機能低下による尿道過可動や外尿道括約筋障害による内因性括約筋不全 (intrinsic sphincter deficiency, ISD) が考えられている。治療法としては内服治療と手術治療がある。手術治療は尿道過可動には良好な結果を示すが、ISD が原因の場合は効果が低いとされる。また内服治療に関しては、種類が少なく効果も限定的であることから新たな治療法が望まれている。

ISD の原因の一つにエストロゲン低下による尿道抵抗の減弱があるが、エストロゲン補充療法の有効性は乏しい。その理由の一つとして、ISD の原因が多様であり、病態の解明が進んでいないことが挙げられる。

男性の腹圧性尿失禁の最も多い原因が、前立腺癌に対する前立腺全摘除術である。我々は臨床データから、前立腺癌に対する前立腺全摘除術後の尿失禁の重症化のリスク因子として黄体形成ホルモン (luteinizing hormone, LH) の高値を報告した。卵巣摘除後のイヌでは尿失禁がしばしば観察され、ゴナドトロピン放出ホルモン刺激ホルモ

ン (gonadotropin releasing hormone, GnRH) アゴニストを投与することで改善すると報告されている。LH 受容体 (LH receptor, LHR) は下部尿路にも存在するが尿禁制との関連はいまだ解明されていない。これは LH が直接尿道機能に影響を与えるのではなく、他のメディエーターを介して、間接的に尿道機能を低下させる可能性を示唆する。

LH 高値は閉経後の女性に見られるホルモン環境である。そこで尿禁制に影響を与えるのはエストロゲンの減少ではなく、LH の上昇が尿道機能に関与するとの仮説を立てた。

【目的】

ラットの閉経モデルを用いて、LH が尿道機能に与える影響を明らかにすることを目的とする。

【方法】

i. モデル作成、体重測定、子宮重量の測定

8 週 (200 g 前後) のメス Sprague Dawley (SD) ラットを用いた。ラットは室温 23°C、湿度 49%、12 時間おきの明暗のある環境下で飼育した。ラット病態モデルは卵巣摘除 (ovariectomy, OVX) を行い LH を上昇させて擬似した (OVX 群)。病態モデルに GnRH アンタゴニストを投与し、LH を低下させたラットを治療モデルとした (OVX +

G 群)。開腹のみのラット (Sham 群) をコントロールとし、GnRH アンタゴニストの尿道への直接の作用を検討するため Sham ラットに GnRH アンタゴニストを投与したラット (Sham + G 群) をコントロールとした。

閉経モデル作成日を day 0 とし day 0, day 3, day 7, day 14, day 28, day 42 に体重測定を行なった。また day 42 における子宮重量の測定を行なった。

ii. くしゃみ誘発尿禁制反射モデルを用いたくしゃみ実験による尿道圧の評価

卵巣摘除後 42 日目 (day 42) にくしゃみ誘発尿禁制反射実験 (以下くしゃみ実験) を行った。マイクロチップ圧測定カテーテルを中部尿道に留置し、くしゃみ実験を行った。くしゃみの誘発はラットの whisker (ひげ) を用いて鼻腔内を刺激して誘発した。くしゃみと同期して尿道では尿禁制のため能動的な尿道括約筋収縮反射 (くしゃみ誘発尿禁制反射) が観察される。このくしゃみ誘発尿禁制反射の振幅 (amplitude of urethral pressure responses during sneezing, A-URS) と尿道基線圧 (urethral baseline pressure, UBP) を各群で測定し評価した。

iii. 血清 LH の測定、血清 PGE2 の測定

閉経モデル作成日を day 0 とし day 0, day 3, day 7, day 14, day 28, day 42 に外側尾静脈より約 1ml 採血した。遠心し、血清を採取後、酵素免疫測定法 (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA) にて各群の血清 LH を測定した。

子宮平滑筋において LH は LH 受容体に結合した後、アデニル酸シクラーゼ

(adenylate cyclase) やホスホリパーゼ C (phospholipase C) を介し、プロスタグランジン E2 (Prostaglandin E2, PGE2) を上昇させる。PGE2 が PGE2 レセプターに結合することで、平滑筋が収縮・弛緩することが報告されている。また膀胱・尿道においては PGE2 が平滑筋の収縮・弛緩に関与することも報告されている。そこで本研究では day 42 の血清 PGE2 を測定した。各群の day 42 に採血された血清を用い、ELISA 法にて血清 PGE2 を測定した。

【結果】

i. モデル作成、体重測定、子宮重量の測定

体重は Sham 群と比べ、OVX 群、OVX + G 群、Sham + G において有意に上昇していることが確認できた。day 42 における子宮重量は Sham 群に比べ、OVX 群、OVX + G 群、Sham + G 群において有意に低下していた。

ii. くしゃみ誘発尿禁制反射モデルを用いたくしゃみ実験による尿道圧の評価

UBP に関して、OVX 群において他の群に比べ、有意に低下していた。A-URS においては Sham 群と OVX 群を比べると OVX 群で有意に低かったが、OVX 群と OVX + G 群、Sham + G 群の間には有意差は認めなかった。

iii. 血清 LH の測定、血清 PGE2 の測定

血清 LH 値は OVX 群において他の群に比べ、day 14 以降、有意に上昇していた。

day 42 における血清 PGE2 は OVX 群において他の群に比べ、有意に上昇していた。

【結論】

LH を上昇させた病態モデルにおいて UBP が有意に低下し、また LH を低下させた治療モデルでは病態モデルに比べ UBP が有意に上昇していたことから、LH の上昇が尿禁制を悪化させる可能性が示唆された。その原因として LH の上昇により PGE2 が上昇し尿道を弛緩方向に作用させている可能性が考えられた。

2. 研究背景

腹圧性尿失禁（stress urinary incontinence, SUI）は、咳やくしゃみをする、重い物を持ち上げる等、腹圧がかかる動作をした時に不意に尿が漏れる疾患で、尿失禁の中でも最も頻度が高い。若年女性から高齢者まで広く罹患し、QOL を低下させ、経済的な負担も大きい。高齢化に伴い罹患率が世界的に増加傾向にあり、日本国内では 860 万人が症状を有するとされる^{1,2}。

病因としては尿道過可動や内尿道括約筋不全（intrinsic sphincter deficiency, ISD）が考えられている（図 1）。尿道過可動は妊娠・出産、加齢に伴う骨盤底筋の弛緩が原因であり、解剖学的に正常な位置に尿道を保持することができないため、腹圧がうまく尿道に伝播せずに尿禁制が保てず尿失禁が起こる。ISD は閉経後のエストロゲンの低下による尿道粘膜や括約筋の萎縮、婦人科手術、放射線治療など括約筋の障害が原因で尿道を閉鎖することができずに尿失禁が起こる^{3,4}。

治療法として内服治療と手術療法がある。保存的治療の第一選択であるべき内服治療は、本邦で適応があるのは 1 種類のみであり効果も限られていることから、新たな治療法が望まれている。閉経後のエストロゲン低下に伴う尿道抵抗減弱に対して、エストロゲン補充療法が試されたが、有効性は乏しい⁴。内服治療の効果がない場合、手術療法を考慮する。手術法は中部尿道スリング手術（Midurethral sling, MUS）が主流である（図 2）。尿道過可動に対しては成績も良好だが、ISD が原因の場合、尿道の

可動性が少ないため、スリング手術の効果が低いとされる³。肥満、ISD、最大尿道閉鎖圧（maximum urethral closure pressure, MUCP）の低下、などは術後の再発のリスクとされる³。

一方、男性の腹圧性尿失禁は主に前立腺の手術（前立腺全摘除術）により引き起こされる⁵。前立腺癌の根治的手術療法である前立腺全摘除術は、前立腺尖部では尿道括約筋を一部合併して摘出することから尿道機能が低下して、術後に種々の程度の腹圧性尿失禁を呈する。尿禁制は術後経時的に改善するが、個人差が大きい。我々は臨床データから、前立腺全摘除術後の尿失禁の重症化のリスク因子として黄体形成ホルモン（luteinizing hormone: LH）高値を同定し、LHが排尿機能に重要な役割を果たしていることが示唆された（図3）⁶。

動物実験において、メスのイヌでは去勢後（卵巣摘除後）には尿失禁がしばしば観察され、GnRH (gonadotropin releasing hormone) アゴニストを投与すると尿失禁が改善すると報告されている⁷。閉経後にはLHの上昇が認められており⁸、LH受容体（LH receptor, LHR）は犬の下部尿路に存在することがわかっているが尿禁制とLHの関連は解明されていない⁹。LHが直接尿道機能に影響を与えるのではなく、他のメディエーターを介して、間接的に尿道機能を低下させる可能性も示唆される。

LH高値は閉経後の女性にみられるホルモン環境であり、またヒト下部尿路にもLH受容体が存在する¹⁰。以上より我々は、閉経後の尿禁制に影響を与えるのはエストロ

ゲンの減少ではなく、LH が関連していると仮説を立てた（図 4）。

当教室ではこれまで、くしゃみ誘発尿禁制反射ラットモデルを開発して腹圧性尿失禁のメカニズム解明を行ってきた^{11, 12, 13, 14, 15}。くしゃみ誘発尿禁制反射とは、くしゃみなど急激な腹圧上昇時に対応する動的な尿道閉鎖機構の一つである¹¹。この生理現象は、体性神経である陰部神経に支配される外尿道括約筋及び骨盤底筋（ともに横紋筋）がくしゃみによる腹圧上昇の直前に反射的に収縮し、尿道内圧を上昇させて SUI を防ぐ尿禁制機構である¹¹。そこで本研究では、くしゃみ誘発尿禁制反射ラットモデルを用いることで尿道機能を評価し、尿禁制に LH が関連しているという仮説を検証する。腹圧性尿失禁の病態の一端が明らかになれば、新たな治療ターゲットの開発につながることを期待される。

3. 研究の目的

ラットの閉経モデルを用いて、くしゃみ誘発尿禁制反射実験を行い、LH が尿道機能に与える影響を明らかにすることを目的とする。

4. 研究の対象と方法

・モデル作成

本動物実験は、動物実験の適正な実施に向けたガイドライン（2006年6月1日日本学術会議）に従い、東北大学動物実験委員会の承認（2015医動-138）を得て行った。

8週（200g前後）のメス Sprague Dawley（SD）ラット、92匹（LHとPGE2測定4群×7匹、くしゃみ4群×10匹、qPCR4群×6匹）を用いた。ラットは室温23℃、湿度49%、12時間おきの明暗のある環境下で飼育した。LH高値の内分泌環境は閉経モデルラット（Ovariectomyラット, OVX群）を作成し、OVXと同時にGnRHアンタゴニストを投与しLH上昇を抑制した治療モデルラット（治療モデルラット, OVX+G群）、開腹のみのラット（コントロールラット, Sham群）およびGnRHアンタゴニストの尿道への直接の作用を検討するためShamラットにGnRHアンタゴニストを投与したラット（コントロールラット：Sham+G群）の4群のラットを作成した。

モデルのシェーマを図5に、研究全体の流れを図6に示す。

- **薬剤**

薬剤選択に関しては以下の2点を考慮した。1) ラットにおいては GnRH アゴニストの投与では十分に血清 LH 値が下がらない可能性があるが¹⁶、GnRH アンタゴニストの場合、確実に低下する¹⁷。2) GnRH アゴニストは GnRH と競合的に GnRH 受容体に結合することで受容体をダウンレギュレーションさせるという作用機序から、投与初期に LH サージと呼ばれる一過性の LH 上昇が見られるが、GnRH アンタゴニストには LH サージが見られない。以上より本研究においてはアンタゴニストである degarelix (Astellas Pharma Inc., Tokyo, Japan) を使用した。投与量に関しては 2 mg/kg の投与で約 50 日間効果が持続することがわかっており¹⁷、注射用水で溶解し 2 mg/kg を投与した。投与経路は皮下注射により行なった。

- **手術 (卵巣摘除術 ovariectomy, OVX)**

閉経モデルは OVX で疑似する。メス SD ラット (8 週 200g 前後) をイソフルラン (Pfizer Inc., New York, NY, USA) による全身麻酔下に伏臥位とし、両側側腹部に約 1 センチの切開を置いた。腹腔内より卵巣を体外に誘導し子宮との間で結紮し両側ともに摘出した。開腹のみをおこなったラットを Sham ラットとした。創部は 3-0 絹糸で縫合閉鎖し、抗生剤アンピシリン (Meiji Seika Pharma Co., Ltd., Tokyo, Japan) 10 mg/kg と消炎鎮痛薬カルプロフェン (Pfizer Inc., New York, NY, USA) 5 mg/kg を皮下注射した。

4.1 体重測定、子宮重量の測定

各群 7 匹、計 28 匹で測定した。子宮の萎縮（重量）と血清エストロゲン濃度が相関することが報告されており、子宮萎縮により、モデル作成の成否を判断した¹⁸。モデル作成日を day 0 とし、day 3, day 7, day 14, day 28, day 42 における体重を測定した。またくしゃみ実験を行う day 42 において閉経状態を確認するために子宮重量を測定した。

4.2 くしゃみ実験（図 7、図 8）

各群 10 匹、計 40 匹でくしゃみ実験を行なった。橘田らは 8 週のメス SD ラットの卵巣を摘除し閉経状態とすると、卵巣摘除後 42 日目にくしゃみ実験により尿道機能が低下することを発見し、尿失禁を起こすことを報告しており¹⁹、本実験も day 42 にくしゃみ実験を行なった。

4.2-1 くしゃみ実験の準備

くしゃみ実験に先立ち、ラットを仰臥位に固定し、イソフルラン吸入麻酔下 (2-5%) にウレタン (Sigma-Aldrich, Inc. St. Louis, MO, USA) の静脈投与経路確保のため、外頸静脈にカテーテル (PE-10) (Clay Adams, Parsippany, NJ, USA) 留置を行った。次に下腹部正中切開を行い開腹し、膀胱への尿の流入を防ぐために両側の尿管を同定し、これを結紮・切離した。次に膀胱の排尿反射を抑制するために両側の骨盤神経を同定し、膀胱枝を内腸骨静脈レベルで切断した。次に腹圧 (pressure of abdomen, Pabd) を

測定するために、直腸前面に小切開をおき、圧測定用カテーテルを肛門から直腸の切開創を通して腹腔内に留置した。最後に膀胱を空虚にした。麻酔をウレタン麻酔に切り替えるため、閉創時にイソフルラン麻酔を中止し、ウレタン (0.5 g/kg) を腹腔内投与し閉創した。以上の準備をしたラットを実験台に仰臥位に固定した。麻酔深度維持のため先に留置した外頸静脈のカテーテルよりウレタン(0.1 g/kg/injection)を静脈内に適宜追加投与した。

4.2-2 尿道の圧測定 (UBP, A-URS の測定) (図 7、図 8)

ウレタン麻酔に移行後、先端より 1mm の部位の側面に圧センサーを有する 3.5 Fr マイクロチップ圧測定カテーテル (SPR-524, Millar Instruments, Huston, TX, USA) をラットの外尿道口から挿入し尿道に留置した。尿道の圧を正確に測定するため、圧センサーは尿道の 3 時方向とした¹¹⁾。マイクロチップカテーテルはトランスデューサー (Transbridge 4M, World Precision Instruments, FL, USA) に接続し、ソフトウェア (sampling rate 400 Hz, Chart, AD Instruments, Castle Hill, Australia) とコンバーター (Power Lab, AD Instruments, Castle Hill, Australia) を介して解析した。モニターで圧を測定・確認しながら安静時尿道圧が最大となる中部尿道 (外尿道口から 10~15mm) に先端を留置した。この部位はくしゃみ誘発尿禁制反射がもっとも強く出る部位である¹¹⁾。中部尿道に留置したマイクロチップカテーテルの位置がずれてしまうと正確なデータが収集できなくなるので、実験中に動かないようにカテーテルを固定し、細心

の注意を払い実験を行なった。

くしゃみの誘発はラットのひげを1本切り、そのひげを用い鼻腔内をやさしく刺激することで誘発した。くしゃみと同期して尿道では尿禁制のため能動的な尿道括約筋収縮反射（くしゃみ誘発尿禁制反射）、が観察される。このくしゃみ誘発尿禁制反射の振幅（amplitude of urethral response during sneezing, A-URS）と尿道基線圧（urethral basement pressure, UBP）を測定し評価する。本実験では約30回のくしゃみを誘発し、UBPはくしゃみが出現する直前の尿道圧の平均値（cmH₂O）、A-URSはUBPからくしゃみ誘発時の圧力の最大値までの増幅を計測し、その平均値（cmH₂O）を計算した。また腹腔内に留置した圧測定用のカテーテルでは基線からくしゃみ誘発時の腹圧の最大値の増幅（pressure of abdomen, Pabd, cmH₂O）を測定した。Pabdはくしゃみの大きさとして評価した。図8にくしゃみ実験のシェーマを示す。

4.3 血清 LH 測定

各群7匹、計28匹で測定した。day 0, day 3, day 7, day 14, day 28, day 42に外側尾静脈より約1ml採血した。採血は血清LHが上昇しない午前中に行った。1200G・30分遠心し血清を-80°Cに凍結した後、ELISA（Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay）キットを用いて血清LH値を測定した（AKRLH-010S, Shibayagi Co. Ltd., Gunma, Japan）。吸光度測定はMultiskan™ GO spectrophotometer（Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA）を用い、主波長450nm、副波長620nmで測定した。

4.4 血清 PGE2 測定

子宮平滑筋では LH は子宮内膜や筋層に存在する LH 受容体に結合した後、アデニル酸シクラーゼ (adenylate cyclase) やホスホリパーゼ C (phospholipase C) を介し、プロスタグランジン E2 (Prostaglandin E2, PGE2) を上昇させる。PGE2 は子宮平滑筋に存在する PGE2 レセプターに結合することで、平滑筋が収縮・弛緩することが報告されている²⁰。下部尿路において PGE2 は膀胱を収縮させ、尿道を弛緩させると考えられている^{21, 22}。そこで本研究では血清 PGE2 を測定した。各群 6 匹、計 24 匹で測定した。血清 LH 測定のため採血していた day 42 の検体を用い、ELISA キット (E-EL-0034, Elabscience Biotechnology Co, Ltd., Wuhan, China) を用いて血清 PGE2 値を測定した。吸光度測定は Multiskan™ GO spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) を用い、主波長 450 nm で測定した。

4.5 quantitative PCR

各群 4 匹、計 16 匹につき評価した。LH レセプター (LH receptor, LHR) の分子生物学的評価のため、day 42 に尿道を摘出し、尿道圧の高い中部尿道のみ切除し RNAlater RNA stabilization Reagent (QIAGEN, Hilden, Germany) に保存した。TissueLyser II (QIAGEN, Hilden, Germany) で破碎後、RNeasy Lipid Tissue Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を使用し、RNA を抽出した。RNA 濃度は NanoDrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) で測定し、波長 260/280 比は 1.9 か

ら 2.1 を採用した。cDNA は抽出した RNA の 1 μ g を使い、iScript™ cDNA Synthesis Kit (BIO-RAD Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA) を用いて増幅した。内在性コントロールとして GAPDH を使い、LHR をターゲット遺伝子として SYBR Premix Ex Taq™ II (TAKARA Bio Inc., Shiga Japan) を使い、Thermal Cycler Dice Real Time System II (TAKARA Bio Inc., Shiga, Japan) で定量リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 法を行った。LHR の発現量を相対定量法である $\Delta\Delta C_t$ 法を用いて算出した。

用いたプライマーの塩基配列を示す。

GAPDH²³

Forward: 5'-AAGGTCATCCCAGAGCTGAA-3'

Reverse: 5'-ATGTAGGCCAGAGGTCCAC-3'

LHR²⁴

Forward: 5'-TTTCCATCTGAAGGCACATGCTGC-3'

Reverse: 5'-AACTGGCTAGGCATGCTTGCTGTG-3'

図 6 に全体のプロトコールを示す。

4.6 統計学的解析

結果は平均±標準誤差で示した。統計解析はソフトウェア GraphPad Prism ver.7®を用いて行なった。過度に大きなくしゃみに関しては腹圧の増幅が平均+2SD 以上のものを省き、小さなくしゃみは腹圧の増幅が 3cmH₂O 以下のものを省いた²⁵。UBP, A-URS, Pabd の増幅は各ラットの平均を取った。2 群間の比較には Unpaired t test を用いた。4 群間の解析は一元配置分散分析 (1-way ANOVA) を用いて有意差検定を行い、 $p < 0.05$ を統計学的有意差ありとした。

5. 結果

5.1 体重測定、子宮重量の測定

体重は sham 群と比べ、OVX 群、OVX + G 群、Sham + G 群において day 7 以降有意に上昇していた (Sham 群 vs OVX 群 : day 7: 226.1 ± 4.4 vs 253.3 ± 4.6 (g) $P=0.0031$, day 14 : 243.8 ± 3.2 vs 289.9 ± 3.8 $P<0.0001$, day 28 : 270.6 ± 5.2 vs 340.3 ± 5.7 $P<0.0001$, day 42 : 286.6 ± 2.9 vs 363.0 ± 6.3 $P<0.0001$ 、Sham 群 vs OVX + G 群 : day 7 : 226.1 ± 4.4 vs 247.7 ± 3.6 $P=0.0211$, day 14 : 243.8 ± 3.2 vs 285.3 ± 4.6 $P=0.0001$, day 28 : 270.6 ± 5.2 vs 324.3 ± 7.4 $P=0.0006$, day 42 : 286.6 ± 2.9 vs 350.0 ± 6.8 $P=0.0003$ 、Sham 群 vs Sham + G 群 : day 7: 226.1 ± 4.4 vs 250.1 ± 6.3 $P=0.0093$, day 14 : 243.8 ± 3.2 vs 287.4 ± 8.7 $P<0.0001$, day 28 : 270.6 ± 5.2 vs 327.0 ± 12.5 $P=0.0003$, day 42 : 286.6 ± 2.9 vs 351.9 ± 13.9 $P=0.0002$)

(図 9、表 1)。

day 42 における子宮重量は Sham 群に比べ、OVX 群、OVX + G 群、Sham + G 群で有意に低下していた (Sham 群 vs OVX 群 : 0.73 ± 0.03 vs 0.12 ± 0.01 (g) $P<0.0001$ 、Sham 群 vs OVX + G 群 : 0.73 ± 0.03 vs 0.13 ± 0.01 $P<0.0001$ 、Sham 群 vs Sham + G 群 : 0.73 ± 0.03 vs 0.14 ± 0.01 $P<0.0001$) (図 10、表 1)。

5.2 くしゃみ実験

UBP は sham 群に比べ、OVX 群で有意に低下していた (Sham 群 vs OVX 群: 30.3 ± 2.0 vs 18.7 ± 1.6 (cmH₂O) $P=0.0003$)。また OVX + G 群、Sham + G 群において OVX 群より有意に上昇していた (Sham 群 vs OVX + G 群: 18.7 ± 1.6 vs 31.3 ± 2.2 $P=0.0001$ 、Sham 群 vs Sham + G 群: 18.7 ± 1.6 vs 28.1 ± 1.2 $P=0.0038$) (図 11、表 2)。

A-URS は sham 群に比べ、OVX 群で有意に低下していた (Sham 群 vs OVX 群: 46.8 ± 5.4 vs 32.5 ± 4.0 (cmH₂O) $P=0.023$)。OVX + G 群、Sham + G 群においては OVX 群とは有意差は認めなかった (図 12、表 2)。

5.3 血清 LH 測定

血清 LH 値は Sham 群に比べ、OVX 群において day 14 以降有意に上昇していた (Sham 群 vs OVX 群: day 14: 4.7 ± 0.7 vs 8.1 ± 0.6 (ng/ml) $P=0.0018$, day 28: 5.2 ± 0.9 vs 10.6 ± 0.9 $P=0.0014$, day 42: 5.3 ± 0.8 vs 10.9 ± 0.6 $P<0.0001$)。また OVX + G 群、Sham + G 群においては day 14 以降、OVX 群と比べ有意に低下していた (OVX 群 vs OVX + G 群: day 14: 8.1 ± 0.6 vs 3.5 ± 0.3 $P<0.0001$, day 28: 10.6 ± 0.9 vs 3.6 ± 0.3 $P<0.0001$, day 42: 10.9 ± 0.6 vs 3.4 ± 0.3 $P<0.0001$ 、OVX 群 vs Sham + G 群: day 14: 8.1 ± 0.6 vs 3.7 ± 0.6 $P<0.0001$, day 28: 10.5 ± 0.9 vs 3.9 ± 0.5 $P<0.0001$, day 42: 10.9 ± 0.6 vs 3.9 ± 0.4 $P<0.0001$) (図 13、表 3)。

5.4 血清 PGE2 測定

day 42 における血清 PGE2 値は Sham 群に比べ、OVX 群で有意に上昇していた (Sham 群 vs OVX 群 : 159.2 ± 16.1 vs 236.7 ± 27.9 (pg/ml) $P=0.0047$)。OVX + G 群、Sham + G 群において、OVX 群と比較し有意に低下していた (OVX 群 vs OVX + G 群 : 236.7 ± 27.9 vs 181.3 ± 13.6 $P=0.0289$, OVX 群 vs Sham + G 群 : 236.7 ± 27.9 vs 172.3 ± 14.8 $P=0.0146$) (図 14、表 4)。

5.5 qPCR

day 42 における LHR mRNA の発現は sham 群に比べ、OVX 群で有意に低下していた ($P=0.013$)。OVX + G 群、Sham + G 群においては、OVX 群と比べ、有意差は認めなかった (図 15)。

6. 考察

本研究では以下の事が明らかとなった。1) くしゃみ実験において血清 LH を上昇させた OVX 群での UBP が他の群に比べて有意に低下していた、2) OVX 群に GnRH アンタゴニストを投与し血清 LH を低下させると (OVX + G 群 ; 治療モデル) UBP は Sham 群と Sham + G 群と同程度に改善した、3) OVX 群での血清 PGE2 が他の群に比べ有意に上昇した。これらの結果より、卵巣摘除による閉経状態において、血清 LH と血清 PGE2 が上昇すると中部尿道圧は減弱し、GnRH アンタゴニスト投与により血清 LH を低下させると中部尿道のトーンスは改善すると考えられた。以上より閉経ラットモデルにおいて LH が PGE2 を介して尿禁制に重要な役割を果たしていることが考えられた。

本研究において、LH 高値が尿禁制機構に影響を与えていることをラットモデルで証明した。その機序として、PGE2 の平滑筋弛緩作用の報告^{20,21,22}や、OVX 群のみで PGE2 が上昇していたことから、PGE2 を介して尿道平滑筋を弛緩させていると考えられた。LH 高値は女性の閉経後に起こるホルモン環境であり、高齢女性の SUI、特に ISD が原因の SUI の場合、新たな治療ターゲットになりうると考えられた。

これまで、ラットを用いて複雑な尿禁制機構が解明されてきている^{11,12,14}。尿禁制機構には大きく、動的禁制機構と静的禁制機構にわけられる。くしゃみ誘発尿禁制反射は動的な尿道閉鎖機能によるもので、横紋筋機能と考えられる外尿道括約筋と骨盤

底筋の反射収縮により引き起こされる¹¹。この反射は骨盤神経を切断しても変化しないことから、膀胱が充満された時に求心性の骨盤神経を介して起きる膀胱・尿道反射とは異なる¹¹。尿道平滑筋の緊張による安静時の尿道内圧は静的禁制機構である。

本研究では、OVXにより、子宮の萎縮（子宮の重量減少による）と体重増加を認め（図 8, 10）、閉経状態を確認するとともに UBP と A-URS が低下することが示された（図 11, 12）。過去の報告¹⁹では、42 日目はくしゃみ時の尿漏出圧（sneeze-leak point pressure, S-LPP）も低下することが報告されているため、本研究では S-LPP は評価しなかったが、本研究における病態モデルは過去の報告同様 SUI を引き起こすと考えられる。一方 GnRH アンタゴニストを投与した OVX + G 群では UBP は改善していたが、A-URS に関しては有意な改善が見られなかった（図 11, 12）。この一因として、OVX + G 群と Sham + G 群では体重が OVX 群と同様に増加していたことが挙げられる。SUI の原因は多因子であると考えられており、Body Mass Index 高値も原因の一つとされる³。OVX + G 群で A-URS が改善しなかったのは体重増加に伴う、膀胱・骨盤の虚血や神経伝達速度に対する影響も推察される。

また尿道機能低下には、LH の上昇が PGE2 を介して重要な役割を果たしていることが本研究の結果から示唆された。LH が受容体に結合後に起こる反応としては、ホスホリパーゼ C（phospholipase C, PLC）が活性化しイノシトール三リン酸（inositol triphosphate, IP₃）が上昇し PGE2 が上昇する経路と、アデニル酸シクラーゼ（adenylate

cyclase, AC) を活性化しサイクリック AMP (cyclic adenosine monophosphate, cAMP)が上昇し PGE2 が上昇する経路が報告されている²⁶。LH が上昇後に起きる変化として、ヒト子宮においては LH が LHR に結合後、PGE2 が上昇、それにより子宮の平滑筋が収縮することが報告されている²⁰。ラットの尿道において PGE2 は平滑筋を弛緩させ、尿道圧を下げると思われている²¹。またヒトの下部尿路において PGE2 により膀胱が収縮し、尿道が弛緩することがわかっている²¹。これらの報告は、本研究の結果からも推察されるように、PGE2 の上昇が尿禁制機構を低下させ、SUI を引き起こす病態と矛盾しない。以上より、OVX 群ではエストロゲンの低下により LH が上昇し、それにより PGE2 の上昇が起こり、平滑筋を弛緩すると考えられた (図 16, 17)。

OVX 群における LHR mRNA の発現低下は、LH 上昇に対するダウンレギュレーションと考えられる。LH 上昇に対する同様の変化はヒトやイヌで確認されている²⁷。

本研究の結果から LH を低下させることで OVX ラットの尿道機能を回復させることができる可能性があると考えている。メスのイヌにおける LH と尿禁制に関する報告では、卵巣摘除後に閉経状態となり尿失禁が出現するが、GnRH アゴニストの投与で尿失禁が改善することがわかっている⁷。GnRH アゴニストの投与で LH が低下するが LHR は膀胱・尿道に存在する⁹。GnRH アゴニストの投与の報告からも LH と尿禁制の関連が示唆されるが、その機序についてはわかっていない。今回 GnRH アンタゴニストを選択し確実に LH を低下させ^{16,17}、LH サージの影響を排除した。

Limitation としては S-LPP を測定していないという点がある。OVX 後 42 日目で S-LPP は UBP、A-URS と同様に低下することが報告されており¹⁹、今回は省略した。また PGE2 が尿道に作用するメカニズムのさらなる解明が必要である。PGE2 受容体には EP1, 2, 3, 4 があり、膀胱においては EP1、EP3 が収縮、EP2、EP4 が弛緩に働くとされる^{21, 22}。ラットの尿道における EP 受容体の報告は少ないが、EP2 に関しては弛緩に働くことがわかっている^{21, 28}。PGE2 から先の反応として、EP 受容体のサブタイプの違いにより、尿道の収縮・弛緩に差が出ている可能性がある。今後尿道の EP 受容体に焦点を当てた研究も必要である。本研究は臨床研究の結果から⁶、LH と尿禁制について研究を行っているが、閉経後には LH の他に卵胞刺激ホルモン (follicle stimulating hormone, FSH) も上昇していると考えられる²⁹。また GnRh アンタゴニストの投与で FSH も低下するという報告がある¹⁶。以上のことを考慮すると FSH も尿道括約筋に影響を及ぼしている可能性がある。今後、血清 FSH の測定、LH や FSH を個々にブロックした状況下でくしゃみ実験を行うことで尿道機能評価を行い、各々の関連を検証する必要がある。

今後も解明すべき問題はあるものの、本研究の結果から、GnRH アンタゴニストは SUI の治療の選択肢となる可能性がある。また今回の機序解明から LHR や EPs を標的とした新しい治療薬の開発の可能性もある。過活動膀胱においては既に EPs を標的とした治療薬の開発が進んでおり^{21, 30}、SUI への応用も期待される。

7. 結語

本研究により、閉経状態ではエストロゲン低下により血清 LH が上昇し、それにより血清 PGE2 の上昇が引き起こされて尿道平滑筋が弛緩傾向となり、腹圧性尿失禁が起こりやすくなる、という新たな病態メカニズムが提唱された。これは、ISD タイプの腹圧性尿失禁の病態の 1 つと考えられる。また GnRH アンタゴニスト投与により LH を低下させると、尿道内圧が上昇し尿道機能が改善するため、LH が腹圧性尿失禁の新たな治療標的になりうると考えられた。

8. 謝辞

本研究の着想とご指導・ご鞭撻賜りました東北大学大学院医学系研究科泌尿器科学分野 荒井 陽一教授、海法 康裕講師（現東北医科薬科大学泌尿器科准教授）、川守 田 直樹助教に深く感謝いたします。また実験のご指導・ご助言をいただきました阿部 夏恵研究助手、佐々木 梓研究助手に深く感謝いたします。

9. 参考文献

1. Chai TC, Asfaw TS, Baker JE, et al. Future Directions of Research and Care for Urinary Incontinence : Findings from the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Summit on Urinary Incontinence Clinical Research in Women. *J Urol.* 2017;198:22-28.
2. Homma Y, Kakizaki H, Gotoh M, et al: Epidemiologic survey on lower urinary tract symptoms in Japan (in Japanese). *J Neurogenic Bladder Soc* 2003;14:266-277.
3. Lo T, Pue LB, Tan YL, Wu P. Risk factors for failure of repeat midurethral sling surgery for recurrent or persistent stress urinary incontinence. *Int Urogynecol J.* 2016;27:923-931.
4. Robinson D. Estrogens and the Lower Urinary Tract. *Neurourol Urodyn.* 2011;30:754-757.
5. Suh YS, Ko KJ, Kim TH, Sung HH, Lee K. Long-term outcomes of primary implantation and revisions of artificial urinary sphincter in men with stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn.* 2017;36:1930-1937.
6. Namiki S, Mitsuzuka K, Kaiho Y, et al. Serum luteinizing hormone concentration is significantly associated with recovery of urinary function after radical prostatectomy. *BJU Int.* 2016;117:450-455.

7. Reichler IM, Hubler M, Jöchle W, Trigg TE, Piché CA., Arnold S. The effect of GnRH analogs on urinary incontinence after ablation of the ovaries in dogs. *Theriogenology*. 2003;60:1207-1216.
8. Reichler IM, Hung E, Jöchle W, et al. FSH and LH plasma levels in bitches with differences in risk for urinary incontinence. *Theriogenology*. 2005;63:2164-2180.
9. Reichler IM, Welle M, Sattler U, et al. Comparative quantitative assessment of GnRH- and LH-receptor mRNA expression in the urinary tract of sexually intact and spayed female dogs. *Theriogenology*. 2007;67(6):1134-1142.
10. Tao YX, Heit M, Lei ZM, Rao CV. The urinary bladder of a woman is a novel site of luteinizing hormone-human chorionic gonadotropin receptor gene expression. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179:1026-1031.
11. Kamo I, Torimoto K, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N. Urethral closure mechanisms under sneeze-induced stress condition in rats: A new animal model for evaluation of stress urinary incontinence. *Am J Physiol Regul Comp Physiol* 2003;285: R356–65.
12. Kaiho Y, Chancellor MB, et al. Role of nonadrenergic pathways in sneeze-induced urethral continence reflex in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;292:F639-46.

13. Miyazato M, Kaiho Y, Kamo I, et al. Effect of duloxetine, a norepinephrine and serotonin reuptake inhibitor, on sneeze-induced urethral continence reflex in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;295:F264-71.
14. Kawamorita N, Kaiho Y, Nakagawa H, et al. Novel rat model of stress urinary incontinence with a retroflexed bladder. *Int Urogynecol J*. 2010;21:595-601.
15. Izumi H, Kaiho Y, Miyazato M, et al. Effect of phosphodiesterase type 5 inhibitor, tadalafil, on continence reflex in rats. *Int Urogynecol J*. 2014;25:1721-1727.
16. Roth C, Schricker M, Lakomek M, et al. Autoregulation of the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) system during puberty: effects of antagonistic versus agonistic GnRH analogs in a female rat model. *J Endocrinol*. 2001;169:361-371.
17. Broqua P, Riviere PJ, Conn PM, Rivier JE, Aubert ML, Junien JL. Pharmacological profile of a new, potent, and long-acting gonadotropin-releasing hormone antagonist: degarelix. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;301:95-102.
18. Yoshida J, Aikawa K, Yoshimura Y, Shishido K, Yanagida T, Yamaguchi O. The Effects of Ovariectomy and Estrogen Replacement on Acetylcholine Release From Nerve Fibres and Passive Stretch-Induced Acetylcholine Release in Female Rat Bladder. *Neurourol Urodyn*. 2007;1055:1050-1055.

19. Kitta T, Haworth-Ward DJ, Miyazato M, et al. Effects of ovariectomy and estrogen replacement on the urethral continence reflex during sneezing in rats. *J Urol.* 2011;186:1517-1523.
20. Shemesh M. Actions of gonadotrophins on the uterus. *Reproduction.* 2001;121:835-842.
21. Sekido N, Kida J, Mashimo H, Wakamatsu D, Okada H, Matsuya H. Promising Effects of a Novel EP2 and EP3 Receptor Dual Agonist , ONO-8055 , on Neurogenic Underactive Bladder in a Rat Lumbar Canal Stenosis Model. *J Urol.* 2016;196:609-616.
22. Rahnama'i MS, van Kerrebroeck PE, de Wachter SG, van Koevinge GA. The Role of Prostanoids in Urinary Bladder Physiology. *Nat Rev Urol.* 2012;9:283-90.
23. Abtahi H, Shabani M, Jameie SB, et al. Regulation of luteinizing hormone receptor in hippocampal neurons following different long-lasting treatments of castrated adult rats. *Indian J Exp Biol.* 2013;51:218-227.
24. Wang L, Menon KMJ. Regulation of luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor messenger ribonucleic acid expression in the rat ovary: Relationship to cholesterol metabolism. *Endocrinology.* 2005;146:423-431.

25. Kawamorita N, Kaiho Y, Miyazato M, Arai Y, Yoshimura N. Roles of the Spinal Glutamatergic Pathway Activated through a α -Amino-3-Hydroxy-5-Methylisoxazole-4-Propionic Acid (AMPA) Receptors and its Interactions with Spinal Noradrenergic and Serotonergic Pathways in the Rat Urethral Continence Mechanisms. *Neurourol Urodyn.*2015;481:475-481.
26. Choi J, Smitz J. Molecular and Cellular Endocrinology Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin : Origins of difference. *Mol Cell Endocrinol.* 2014;383:203-213.
27. Ponglowhapan S, Church DB, Khalid M. Differences in the expression of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone receptors in the lower urinary tract between intact and gonadectomised male and female dogs. *Domest Anim Endocrinol.* 2008;34:339-351.
28. Kurihara R, Ishizu K, Takamatsu H, Yoshino T, Masuda N. Study on Physiological Roles of Stimulation of Prostaglandin E₂ Receptor Subtype EP2 in Urethral Function in Rats. *LUTS.* 2016;8:125-129.
29. Yamada K, Mimaki Y, and Sashida Y. Effects of Inhaling the Vapor of *Lavandula burnatii* super-Derived Essential Oil and Linalool on Plasma Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH), Catecholamine and Gonadotropin Levels in Experimental Menopausal Female Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2005;28:378-379.

30. Beppu M, Araki I, Yoshiyama M, et al. Bladder Outlet Obstruction Induced Expression of Prostaglandin E₂ Receptor Subtype EP4 in the Rat Bladder: A Possible Counteractive Mechanism Against Detrusor Overactivity. *J Urol.* 2011;186:2463–2469.

10. 図の説明

図 1. 尿道過可動と内因性括約筋不全の病態

正常：腹圧に対して尿道を閉鎖するように圧がかかる

尿道過可動：骨盤底筋群の弛緩により膀胱・尿道が下垂し、腹圧がうまく尿道に伝播されない

内因性括約筋不全：尿道括約筋そのものが衰弱し、尿道が開大する。軽度の膀胱圧の上昇でも尿失禁が起こる

図 2. 中部尿道スリング手術（midurethral sling）の原理

中部尿道の背側にテープをゆるく設置する。尿道過可動においては腹圧上昇時に尿道が後方に移動するが、テープにより尿道が解剖学的に正常な位置に保持されるので尿禁制が改善する。一方で ISD の場合、尿道が可動しないため尿道の圧迫閉鎖の効果が少なく、効果が少ない。

図 3. 前立腺全摘除術後の尿禁制の改善と LH の関係

LH 値が高値であった群は尿機能の改善が遅い。

図 4. 閉経後のホルモン環境と尿失禁との関係（仮説）

閉経後にエストロゲンが低下することにより性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）が分泌され、下垂体での黄体形成ホルモン（LH）の分泌が増加する。LH 上昇の影響により尿道基線圧の低下、くしゃみ反射振幅の減弱が見られ、尿道機能が低下し尿失禁が起こりやすくなる。

図 5. 実験モデルのシェーマ

病態モデルは卵巣を摘除し LH を上昇させた群（OVX 群）、治療モデルは病態モデルに GnRH アンタゴニストを投与し LH を低下させた群（OVX + G 群）とした。コントロールとして開腹のみの Sham 群と Sham 群に GnRH アンタゴニストを投与した群（Sham + G 群）を準備した。

図 6. 研究のプロトコールの概略

day 0 をモデル作成日とし、day 3, day 7, day 14, day 28, day 42 に体重測定、血清 LH 測定のための採血を行なった。day 42 の採血を用いて血清 PGE2 の測定を行なった。day 42 にくしゃみ実験を行なった。また day 42 に尿道の組織採取を行った。day 42 には子宮重量の測定も行った。

図 7. くしゃみ誘発尿禁制反射

UBP: Urethral Baseline Pressure 尿道基線圧

A-URS: Amplitude of Urethral Responses during sneezing くしゃみ反射振幅

Pabd: Pressure of Abdomen 腹圧

図 8. くしゃみ実験のシェーマ

ウレタン麻酔下のラットに先端に圧センサーのついたカテーテルを尿道に留置、腹腔に腹圧測定用のカテーテルを留置する。ひげを一本切り、それを用いて鼻腔内を優しく刺激してくしゃみを誘発し、圧を測定し解析する。

図 9. 体重の推移

Sham 群に比べて他の群では day 7 以降有意に体重が上昇していた (* : $P < 0.03$, 1-way ANOVA, ** : $P < 0.0006$ 1-way ANOVA)。

図 10. day 42 における子宮重量

Sham 群に比べて他の群では有意に低下していた (* : $P < 0.0001$ 1-way ANOVA)。

図 11. UBP

OVX 群では他の群に比べ有意に低かった (*: $P=0.0003$ 1-way ANOVA, **: $P<0.0001$ 1-way ANOVA, ***: $P<0.038$ 1-way ANOVA)。

図 12. A-URS

OVX 群は Sham 群に比べ有意に低かったが、他の群とは差がなかった (*: $P=0.023$ Unpaired t test)。

図 13. 血清 LH の推移

OVX 群は他の群に比べ有意に上昇していた (*: $P<0.002$ 1-way ANOVA, **: $P<0.02$ 1-way ANOVA, ***: $P<0.0001$ 1-way ANOVA)。

図 14. day 42 における血清 PGE2 値

OVX 群では他の群に比べ有意に上昇していた (*: $P=0.0047$ 1-way ANOVA, **: $P=0.0289$ 1-way ANOVA, ***: $P=0.0146$ 1-way ANOVA)。

図 15. day 42 における LHR mRNA の発現

OVX 群では Sham 群より有意に発現が低下していた。他の群とは有意差はなかった

(* : P=0.0013 1-way ANOVA)。

図 16. LH と尿禁制に関するメカニズム

エストロゲン低下により feedback が起こり、視床下部から GnRH が分泌され、それにより下垂体から LH が分泌される。LH 上昇により PGE2 が上昇、尿道平滑筋が弛緩傾向となり、尿道圧が低下し尿失禁が起こりやすくなる。治療モデルにおいては、GnRH アンタゴニストにより LH を低下させると PGE2 が低下し、尿道平滑筋が弛緩しにくくなり病態モデルと比べて尿道抵抗が上昇する。

図 17. 排尿の神経支配

排尿機能は膀胱のムスカリン受容体が刺激され膀胱が収縮、内尿道括約筋の α 受容体刺激が抑制され内尿道括約筋弛緩、仙髄オヌフ核の刺激が抑制され外尿道括約筋が弛緩し排尿できる。蓄尿機能は膀胱の β 刺激により膀胱が弛緩、内尿道括約筋の α 受容体が刺激され内尿道括約筋収縮、仙髄オヌフ核が刺激され外尿道括約筋が収縮され蓄尿できる。PGE2 は内尿道括約筋に働くと推測される。

11. 表のタイトル

表 1. 体重と子宮重量の平均値±標準誤差と P 値

表 2. 血清 PGE2 値の平均値±標準誤差と P 値

表 3. UBP と A-URS の平均値±標準誤差と P 値

表 4. 血清 PGE2 値の平均値±標準誤差と P 値

図1 尿道の状態と腹圧性尿失禁

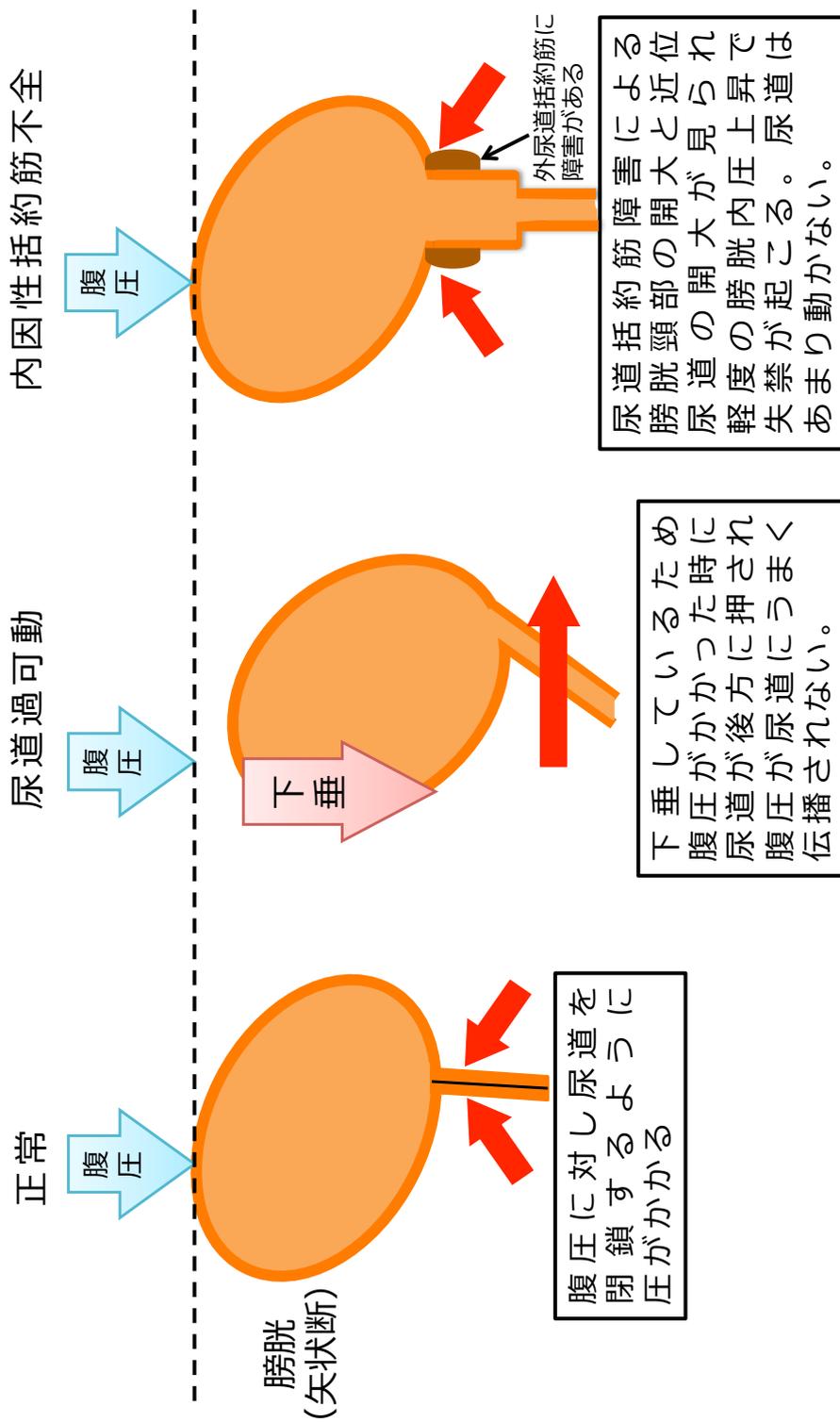
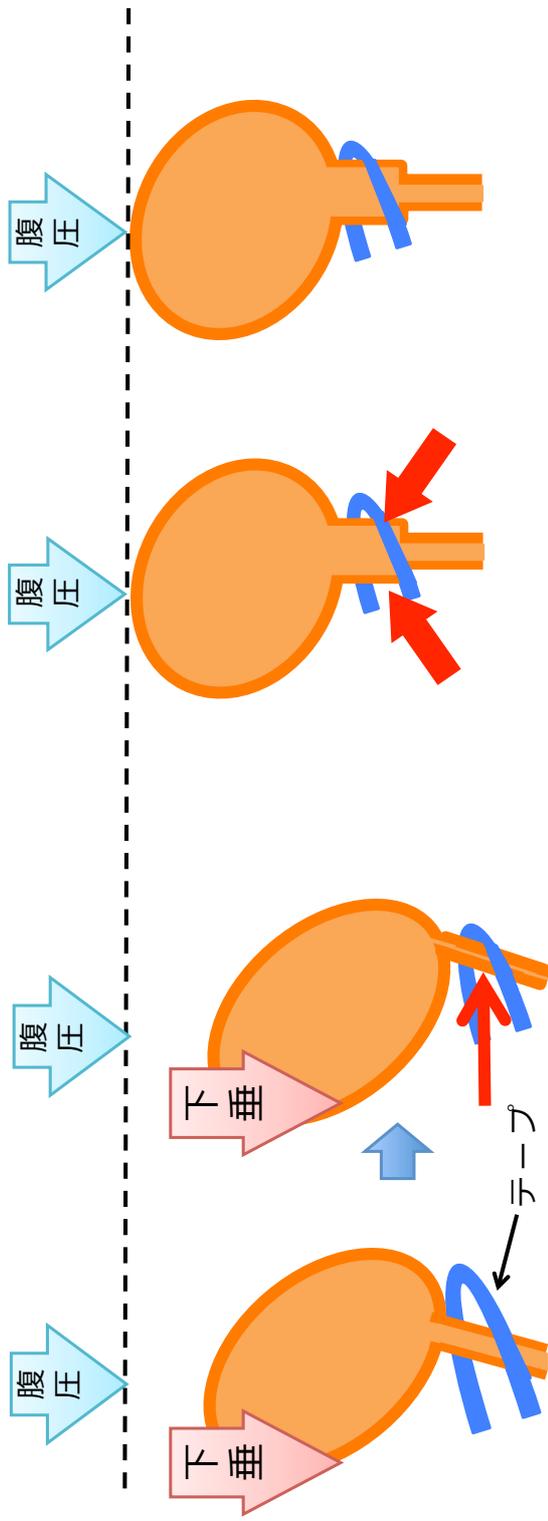


図2 midurethral sling 手術

尿道過可動

内因性括約筋不全



腹圧がかかった時に後方移動しようとする尿道がテープによって後方に移動せず、解剖学的位置を保つことにより、尿禁制が得られる。

腹圧がかかっても尿道が動かないので、テープで尿道が圧迫閉鎖されない。

図3 前立腺全摘除術後の尿機能の改善とLHの関係

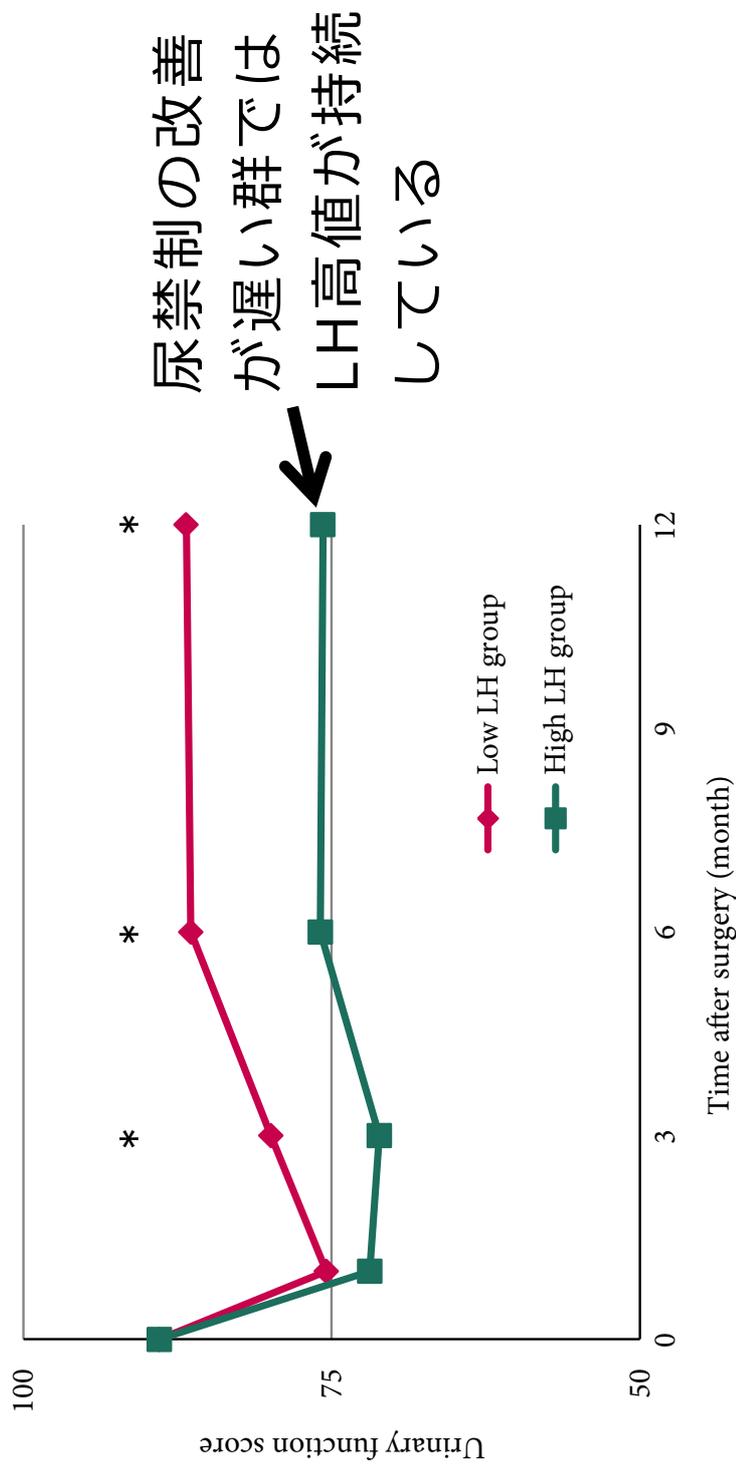


図4 閉経後のホルモン環境と尿失禁（予測）

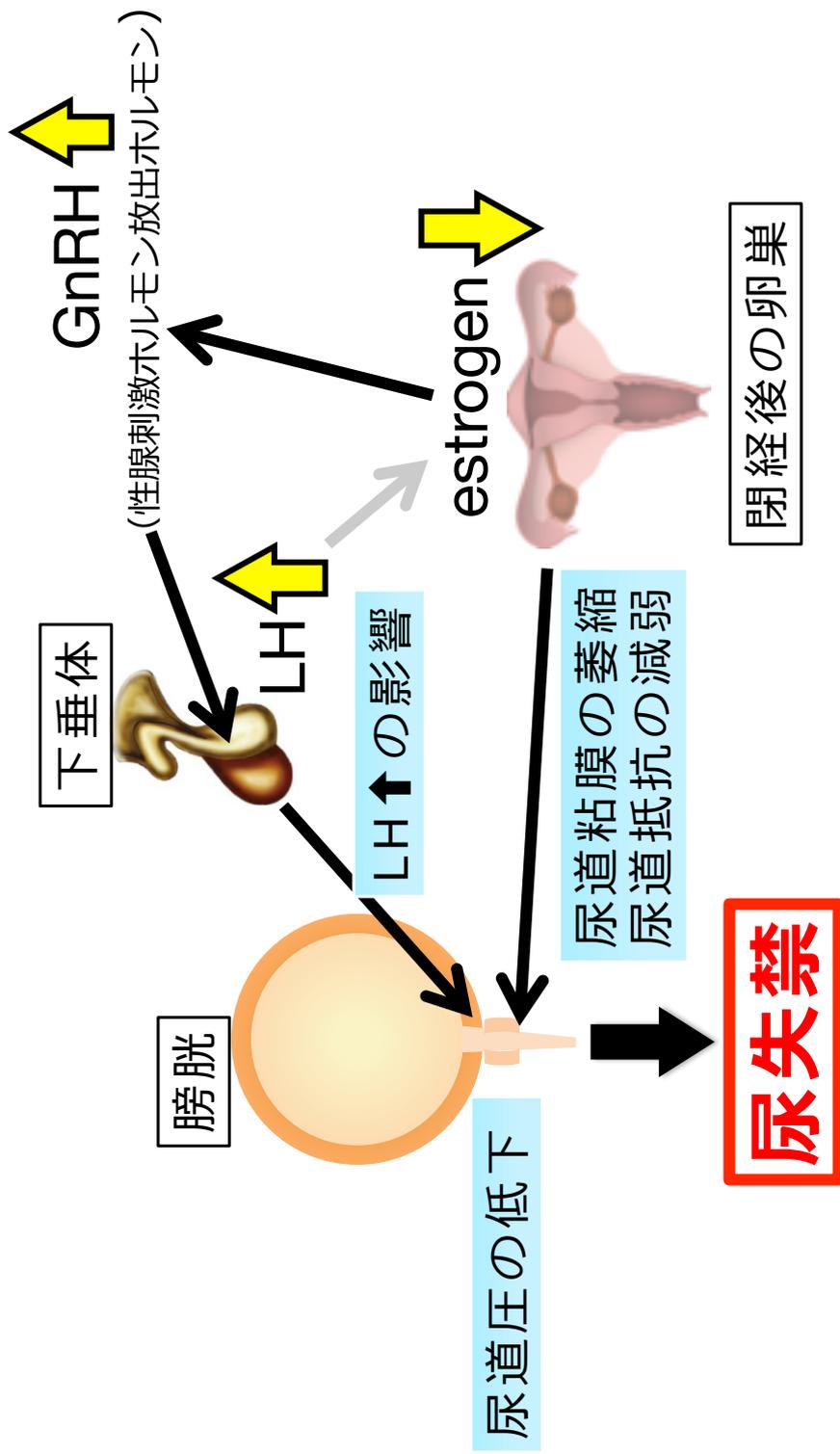


図5 モデルのシエーマ

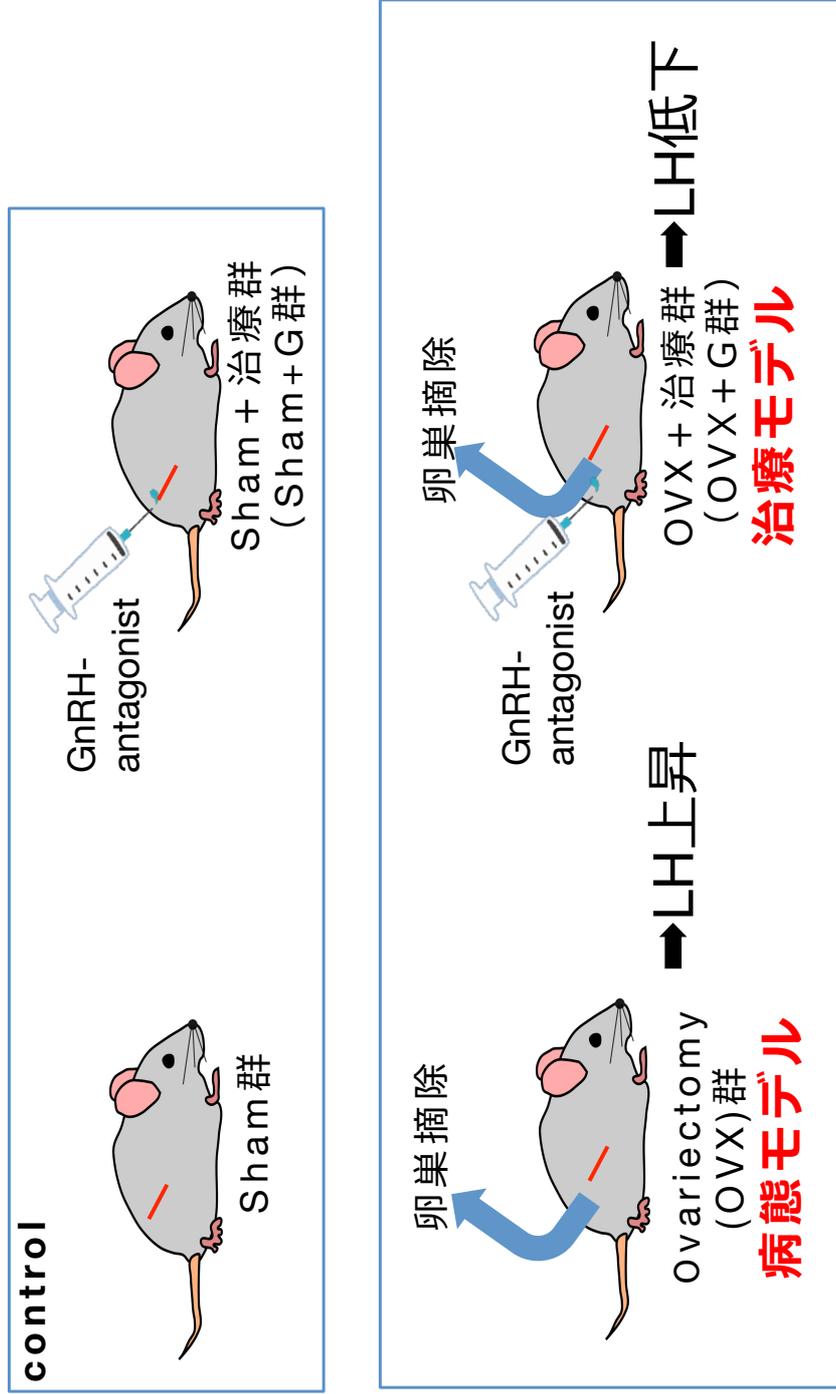


図6 研究プロトコール

	d0	d3	d7	d14	d28	d42
1. Sham						
2. Ovariectomy (OVX)						
3. OVX+GnRH-antagonist (OVX+G)						
4. Sham+GnRH-antagonist (Sham+G)						
採血 (LH n=7)	採血 (LH n=7)	採血 (LH n=7)	採血 (LH n=7)	採血 (LH n=7)	採血 (LH n=7, PGE2 n=5)	
体重測定 n=7	体重測定 n=7	体重測定 n=7	体重測定 n=7	体重測定 n=7	体重測定 n=7	子宮重量測定 n=7
						尿道機能検査 n=10
						組織採取

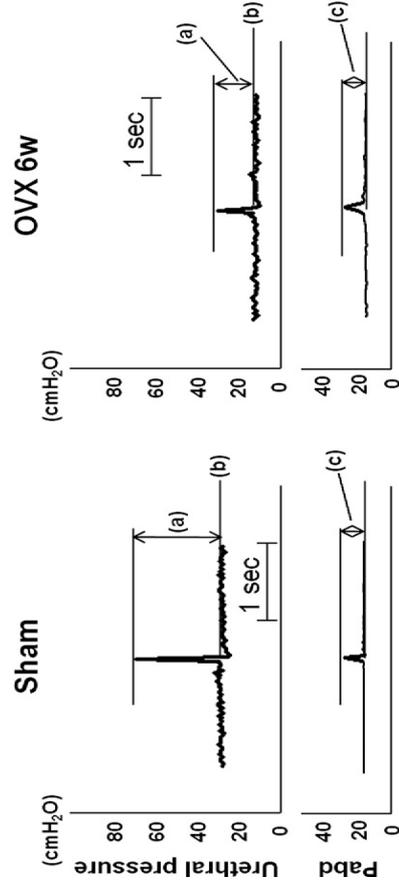
図7 尿道機能検査 (生理学的評価)

a) くしゃみ誘発尿禁制反射の振幅(A-URS)

→ **括約筋機能**

b) 尿道基線圧 (UBP) → **平滑筋機能**

c) 腹圧 (Pabd) → くしゃみの大きさ



Kitta T et al. J Urol 2011; 186: 1517-1523

図8 くしゃみ実験のシエーマ

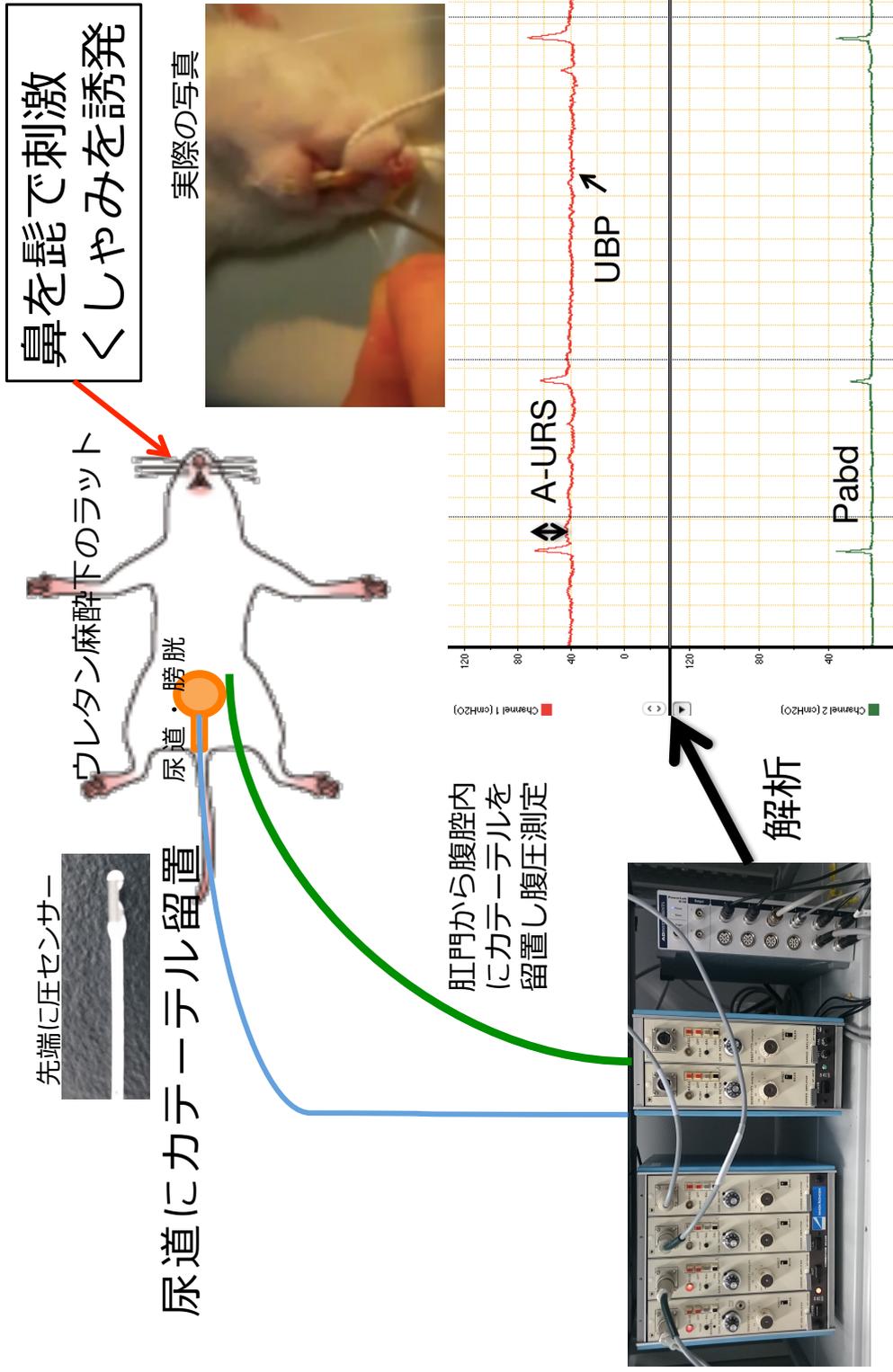
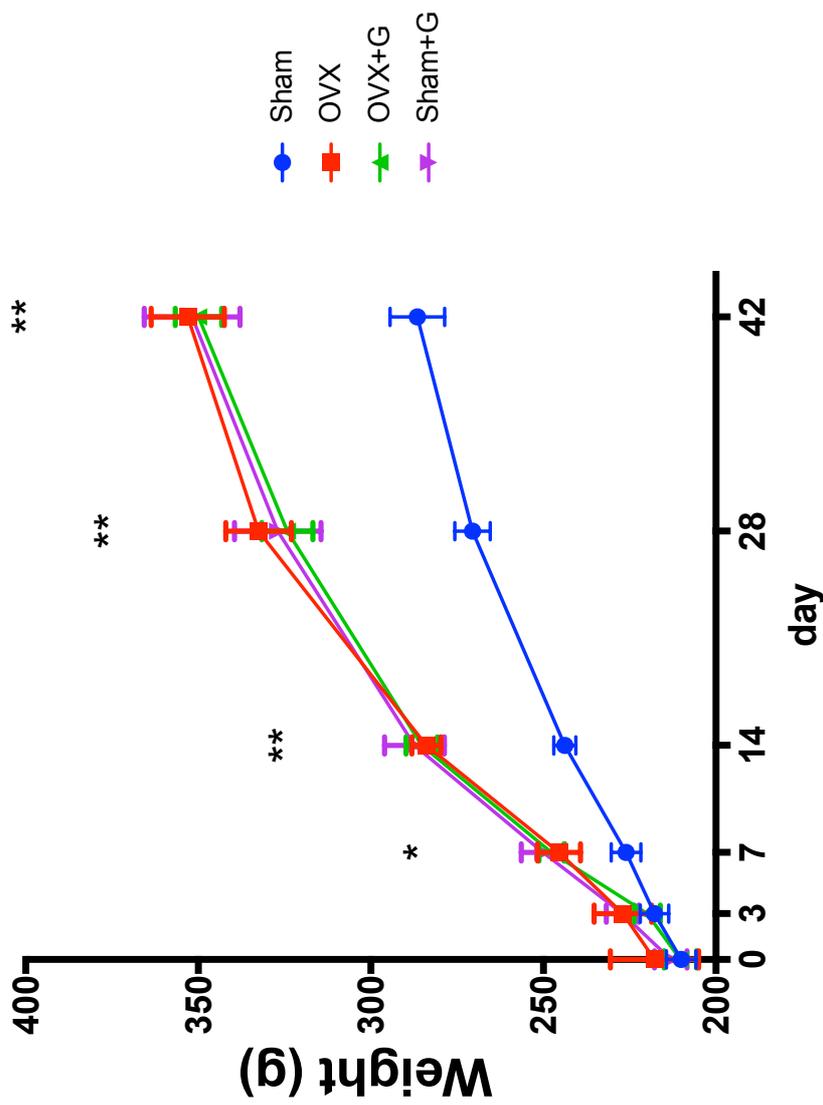
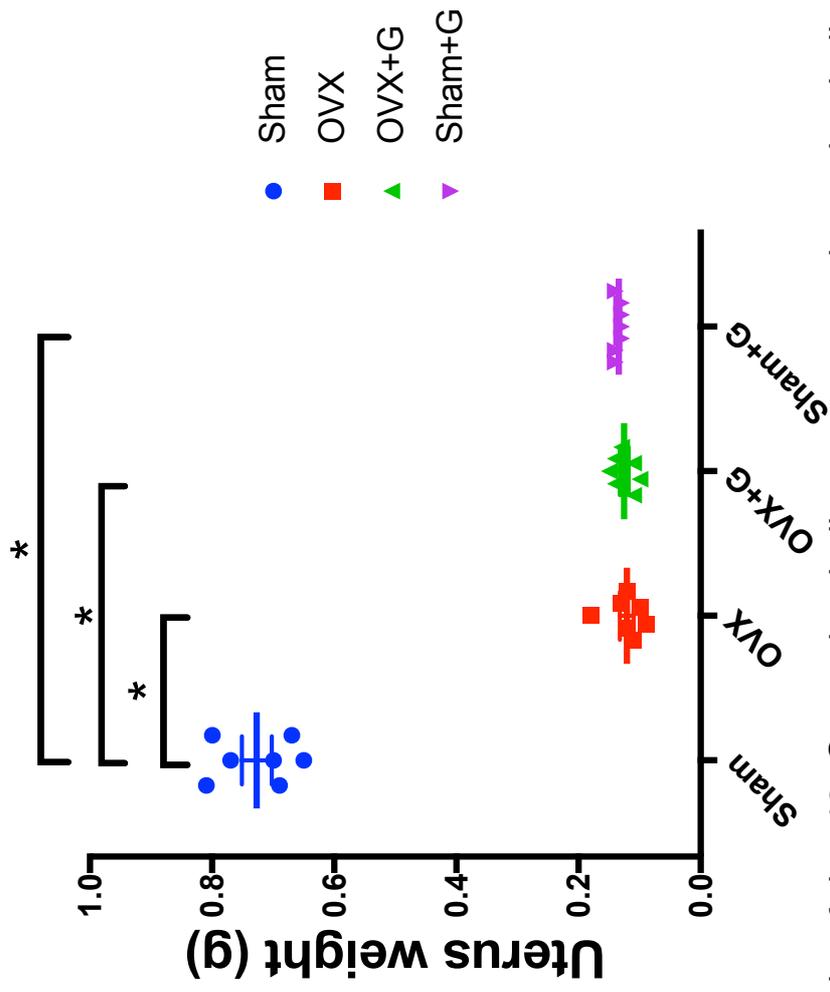


図9 体重の推移 (各群n=7)



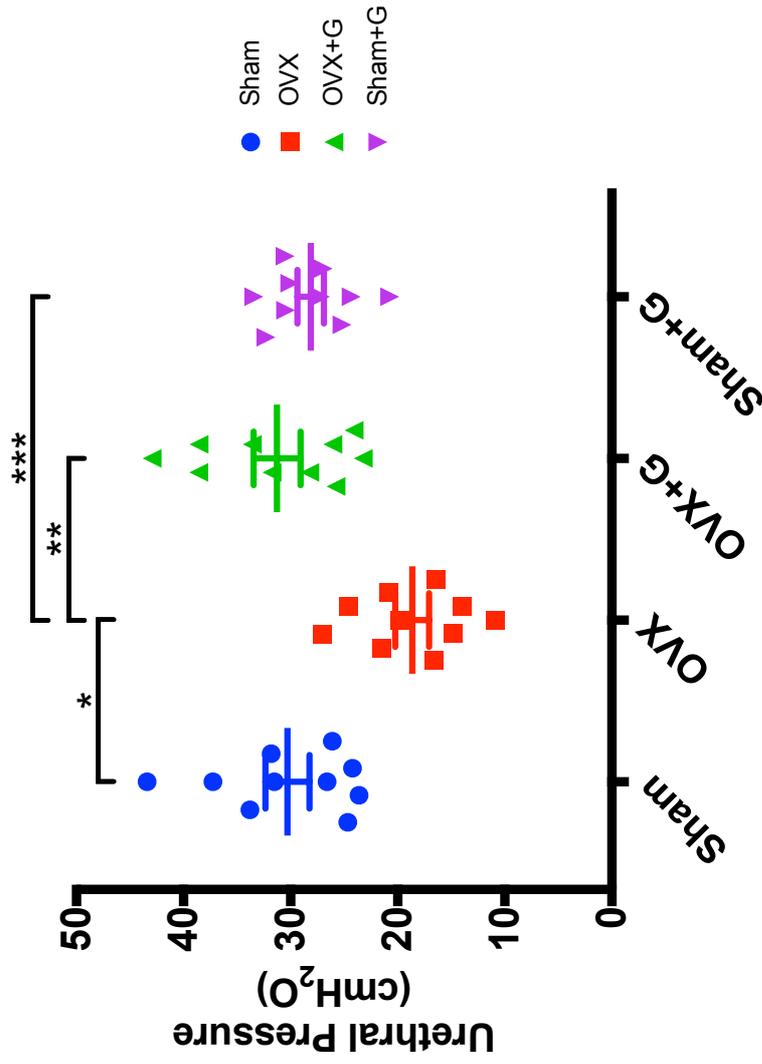
Time course of body weight on day 0, 3, 7, 14, 28, 42. Each point indicates the mean \pm SE. Single asterisk indicates $P < 0.05$ and double asterisk indicates $P < 0.0004$. Body weight of OVX, OVX + G and Sham + G groups was significantly higher than Sham after day 7.

図10 day 42における子宮重量 (各群n=7)



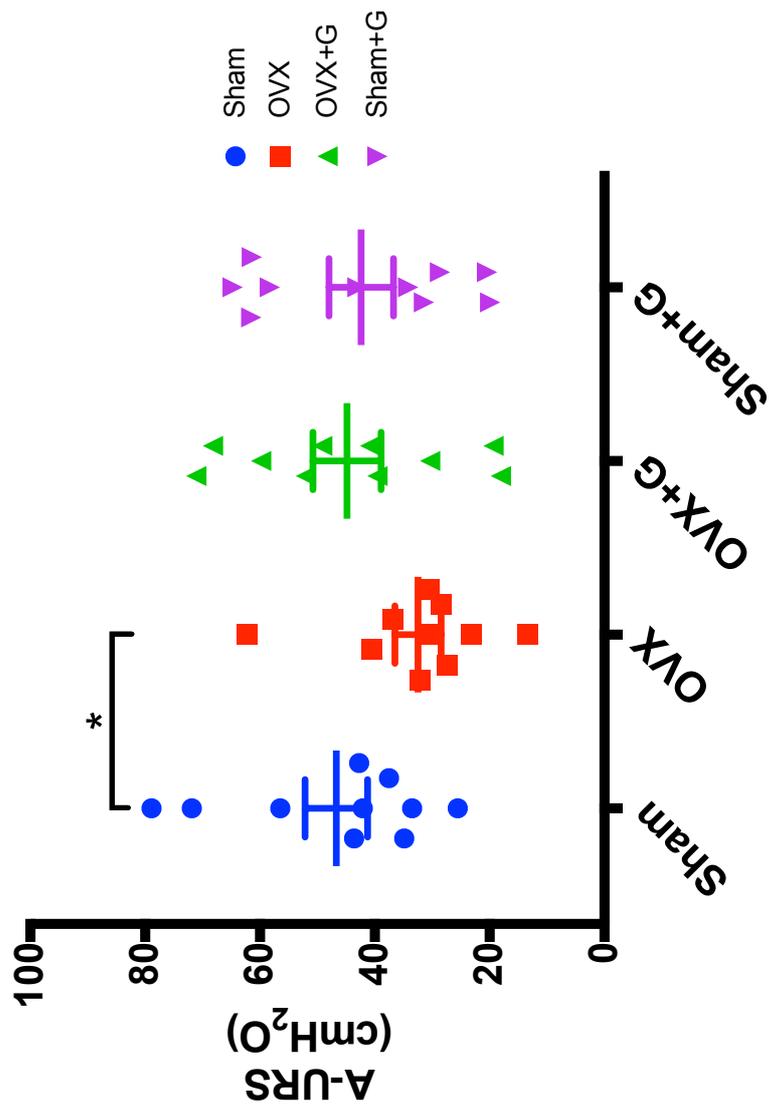
Uterus weight of day 42. Center bar indicates mean and error bar indicates SE. Asterisk indicates $P < 0.0001$. Uterus weight of OVX group, OVX+G group and Sham+G group was significantly lower than Sham group.

图11 UBP (各群n=10)



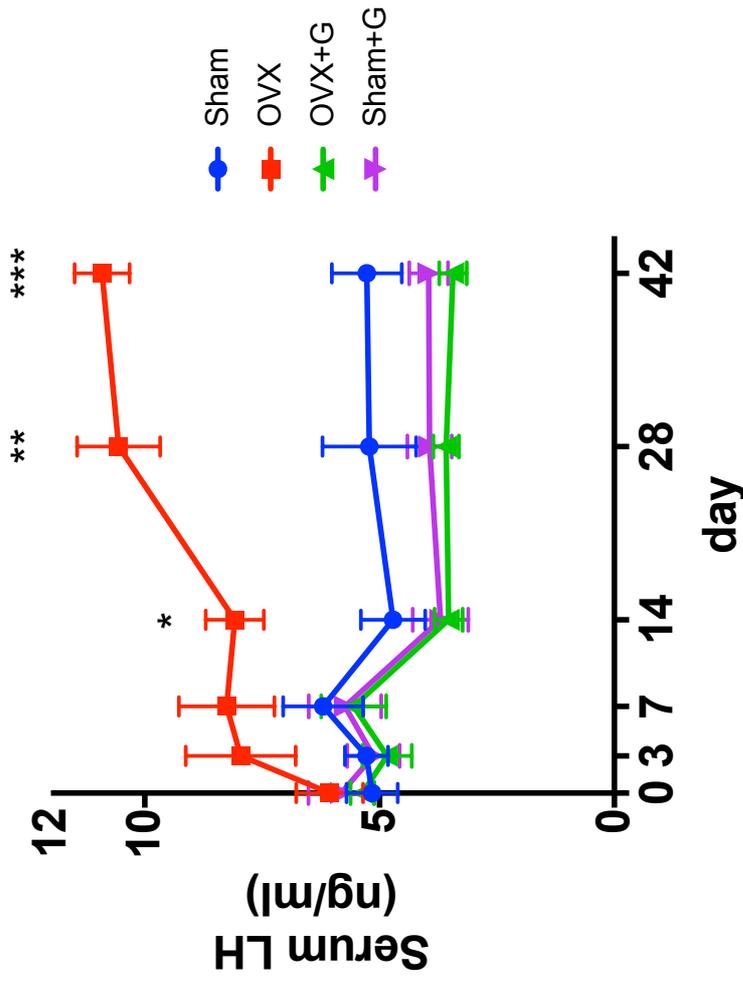
UBP of day 42. Center bar indicates mean and error bar indicates SE. Single asterisk indicates 1-way ANOVA $P=0.0003$ between Sham group and OVX group. Double asterisk indicates 1-way ANOVA $P<0.0001$ between Sham group and OVX+G group. Triple asterisk indicates 1-way ANOVA $P<0.0038$ between Sham group and Sham+G group.

图12 A-URS (各群n=10)



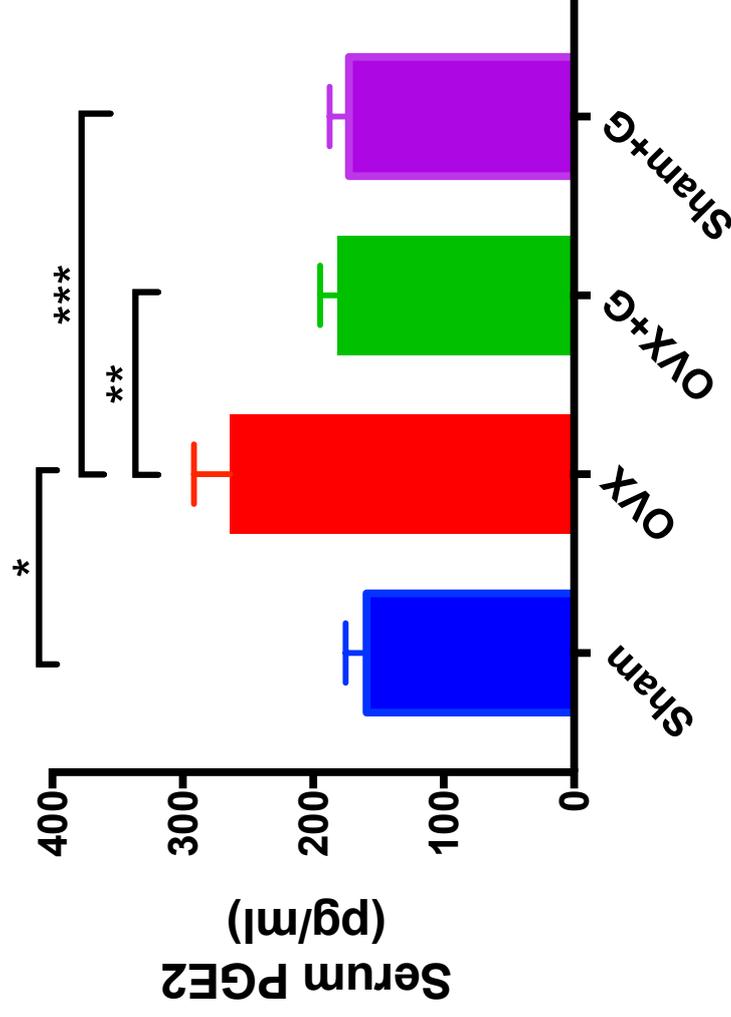
A-URS of day 42. Center bar indicates mean and error bar indicates SE. Asterisk indicates Unpaired t test $P=0.023$ between Sham group and OVX group.

図13 血清LH値の推移 (各群n=7)



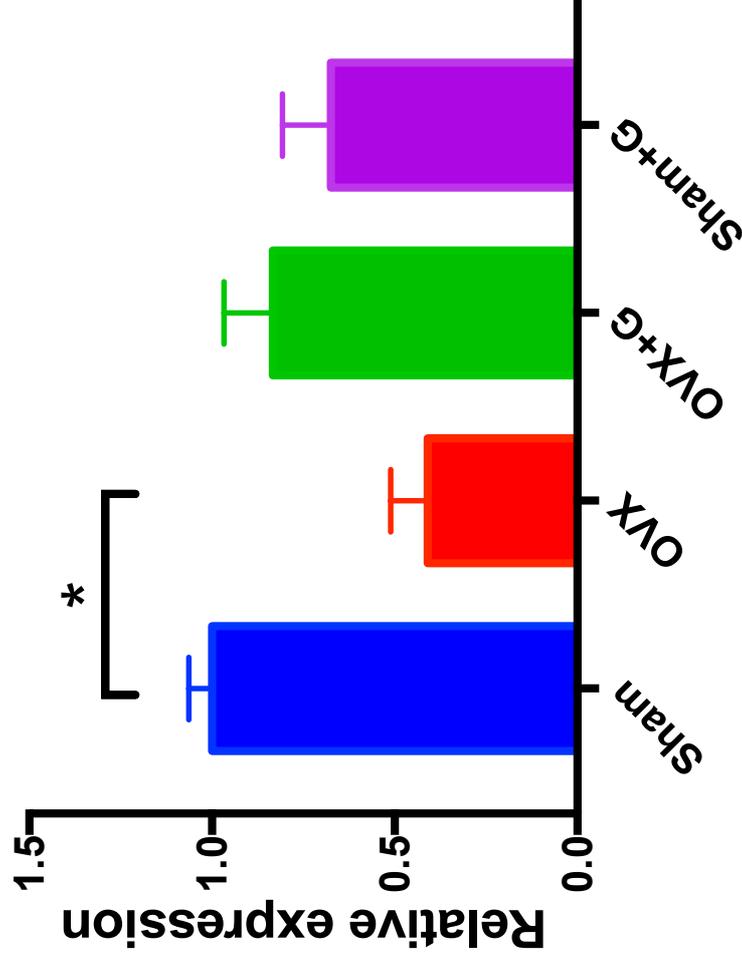
Time course of serum LH on day 0, 3, 7, 14, 28 and 42. Each point indicates the mean \pm SE. Single asterisk indicates 1-way ANOVA $P < 0.0002$ between OVX group and each group. Double asterisk indicates 1-way ANOVA $P < 0.02$ between OVX group and each group. Triple asterisk indicates 1-way ANOVA $P < 0.0001$ between OVX group and each group.

図14 day 42における血清PGE2
(各群n=5)



Serum PGE2 value of day 42. Error bar indicates SE. Single asterisk indicates 1-way ANOVA $P=0.0047$ between Sham and OVX group. Double asterisk indicates 1-way ANOVA $P=0.0289$ between OVX group and OVX+G group. Triple asterisk indicates $P=0.0146$ between OVX group and Sham+G group.

図15 day42におけるLHR mRNAの発現
(各群n=4)



Expression of LH receptor on day 42. Error bar indicates SE. Single asterisk indicates 1-way ANOVA $P=0.013$ between Sham group OVX group

図16 LHと尿禁制に関するメカニズム

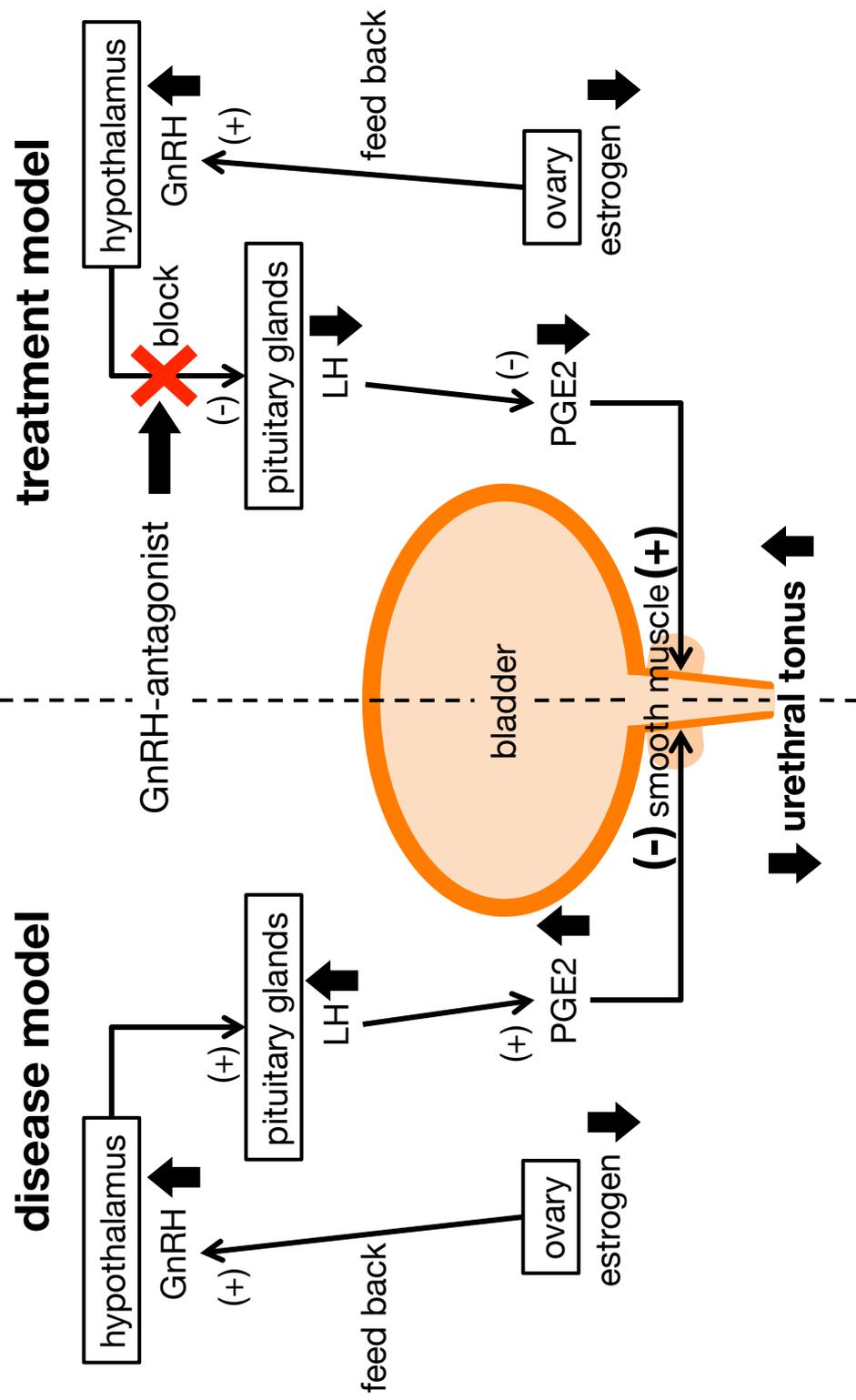
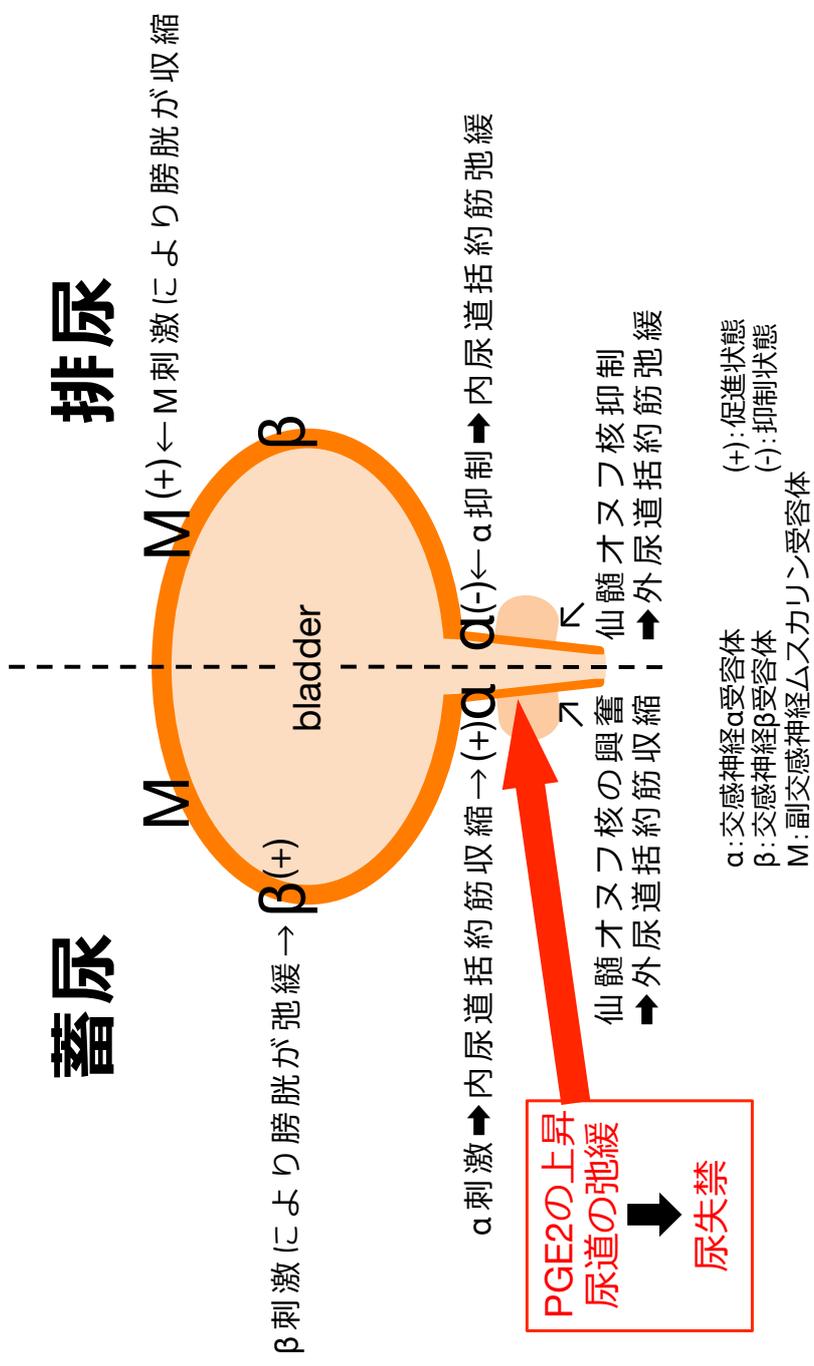


図17 排尿の神経支配



12. 表

表1 体重と子宮重量の 平均値±標準誤差とP値

day	0		3		7	
	body weight (g)	P value	body weight (g)	P value	body weight (g)	P value
Sham	210.1 ± 4.3	control	217.8 ± 4.1	control	226.1 ± 4.4	control
OVX	218.4 ± 3.7	0.59	232.7 ± 3.9	0.08	253.3 ± 4.6	0.0031
OVX+G	210.4 ± 4.7	0.99	220.0 ± 3.8	0.98	247.7 ± 3.6	0.0211
Sham+G	213.1 ± 4.7	0.99	227.1 ± 4.7	0.4	250.1 ± 6.3	0.0093

day	14		28		42	
	body weight (g)	P value	body weight (g)	P value	body weight (g)	P value
Sham	243.8 ± 3.2	control	270.6 ± 5.2	control	286.6 ± 2.9	control
OVX	289.9 ± 3.8	<0.0001	340.3 ± 5.7	<0.0001	363.0 ± 6.3	<0.0001
OVX+G	285.3 ± 4.6	0.0001	324.3 ± 7.4	0.0006	350.0 ± 6.8	0.0003
Sham+G	287.4 ± 8.7	<0.0001	327.0 ± 12.5	0.0003	351.9 ± 13.9	0.0002

day	42	
	uterus weight (g)	P value
Sham	0.73 ± 0.03	control
OVX	0.12 ± 0.01	<0.0001
OVX+G	0.13 ± 0.01	<0.0001
Sham+G	0.14 ± 0.01	<0.0001

表2 UBPとA-URSの平均値±標準誤差とP値

	day 42			
	UBP (cmH ₂ O)	P value	A-URS (cmH ₂ O)	P value
Sham	30.3 ± 2.0	0.0003	48.6 ± 5.4	0.023
OVX	18.7 ± 1.6	control	32.5 ± 4.0	control
OVX+G	31.3 ± 2.2	0.0001	44.7 ± 5.9	0.123
Sham+G	28.1 ± 1.2	0.0038	42.4 ± 5.6	0.2799

表3 血清LHの 平均値±標準誤差とP値

day	0		3		7	
	LH (ng/ml)	P value	LH (ng/ml)	P value	LH (ng/ml)	P value
Sham	5.2 ± 0.5	0.7	5.3 ± 0.5	0.07	6.2 ± 0.9	0.34
OVX	6.1 ± 0.7	control	7.9 ± 1.2	control	8.2 ± 1.0	control
OVX+G	5.3 ± 0.3	0.83	4.8 ± 0.5	0.0297	5.6 ± 0.7	0.13
Sham+G	5.8 ± 0.7	0.99	5.1 ± 0.6	0.054	5.7 ± 0.8	0.18

day	14		28		42	
	LH (ng/ml)	P value	LH (ng/ml)	P value	LH (ng/ml)	P value
Sham	4.7 ± 0.7	0.0018	5.2 ± 0.9	0.014	5.3 ± 0.7	<0.0001
OVX	8.1 ± 0.6	control	10.6 ± 0.9	control	10.9 ± 0.6	control
OVX+G	3.5 ± 0.3	<0.0001	3.6 ± 0.3	<0.0001	3.4 ± 0.3	<0.0001
Sham+G	3.7 ± 0.6	<0.0001	3.9 ± 0.5	<0.0001	3.9 ± 0.4	<0.0001

表4 血清PGE2の
平均値±標準誤差とP値

	day 42	
	PGE2 (pg/ml)	P value
Sham	159.2 ± 16.1	0.0047
OVX	236.7 ± 27.9	control
OVX+G	181.3 ± 13.6	0.0289
Sham+G	172.3 ± 14.8	0.0146