

シンポジウム 3: 排尿障害・女性泌尿器; Next 10 Years

脳から見た排尿制御～ガス状情報伝達物質を中心に～

高知大学医学部薬理学講座¹⁾ 高知大学医学部小児思春期医学講座²⁾齊藤源顕^{*1)}・山本雅樹²⁾・清水孝洋¹⁾

(受付日: 2022 年 12 月 15 日)

抄録:

1998 年に R. Furchgott, L. Ignarro, F. Murad の 3 氏に「循環器系における信号伝達物質としての一酸化窒素 (NO) の発見」という功績でノーベル医学・生理学賞が授与されてからすでに 20 年以上が経過した。NO は大気汚染で問題になる窒素酸化物の 1 つとして広く知られていたが、今日では血管平滑筋弛緩作用をはじめ NO の有する多彩な生理作用の作用機序が明らかにされた。現在ニトログリセリン等の NO ドナー、NO シグナルを増強するホスホジエステラーゼ (PDE) 5 阻害薬が臨床応用に至っている。また毒ガスとして有名な硫化水素 (H_2S) や一酸化炭素 (CO) も NO と同様のガス状情報伝達物質であることが明らかにされ、平滑筋、免疫系や神経系などにおける生理作用が報告されている。当教室ではこれらのガス状情報伝達物質の下部尿路組織における直接作用、さらに脳における排尿制御機能について研究している。脳内 NO は排尿反射を亢進させ、その下流にてグルタミン酸神経の活性化が関与する; 脳内 H_2S は排尿反射を抑制させ、その制御には GABA_A 及び GABA_B 受容体の活性化が関与する; 脳内 CO は H_2S と同様に排尿反射を抑制させる、ことを報告してきた。本論文ではこれらのガス状情報伝達物質が脳内で排尿にどのような作用を示すかについて、我々の最新のデータを提示し解説する。

(西日泌尿, 85: 284-291, 2023)

キーワード: 一酸化窒素, 硫化水素, 一酸化炭素

はじめに

1998 年に R. Furchgott, L. Ignarro, F. Murad の 3 氏に「循環器系における信号伝達物質としての NO の発見」という功績でノーベル医学・生理学賞が授与されてから既に 20 年以上が経過した。NO は大気汚染で問題になる窒素酸化物の 1 つとして広く知られていたが、今日では血管平滑筋弛緩作用をはじめ NO が有する多彩な生理作用の作用機序が明らかになり、NO の生態に対する研究は飛躍的に進歩した。ニトログリセリン等の NO ドナーや NO シグナル (NO-cGMP 系) を増強する PDE 5 阻害薬が臨床応用に至っている。泌尿器科領域では陰茎海綿体や前立腺部尿道を弛緩させるため、本邦において PDE5 阻害薬であるシルデナフィル、バルデナフィルとタダラフィルが勃起障害 (ED) 治療薬として、

またタダラフィルが前立腺肥大症治療薬として承認されている。一方、毒ガスとして有名な H_2S や CO も NO と同様のガス状情報伝達物質であることが最近明らかになっており、平滑筋、免疫系や神経系などにおける生理作用が報告されている。しかし、下部尿路機能制御における CO や H_2S の研究は NO に比して進んでいないのが現状である。

交感神経の賦活は排尿に
どのような影響を与えるのか?

筆頭著者が鳥取大学医学部分子薬理学分野から高知大学医学部薬理学講座に異動したのは平成 25 年であるが、私は下部尿路の血流障害と排尿機能の研究を中心に行ってきた。一方私が赴任するまでの高知大学医学部薬理学講座は主に神経系、特に交感神経系の研究を行っていたので、この全く異なる研究を融合させると新たな研究分野に発展できると考えて教室作りを行ってきた。以下、この融合研究の成果の一部を概説する。

脳内神経ペプチドの 1 つ・ボンベシンを外因性に投与

* 〒783-8505 高知県南国市岡豊町小蓮
TEL 088-880-2325, FAX 088-880-2328
E-mail saitomo@kochi-u.ac.jp

(脳室内) すると副腎髄質が賦活されアドレナリンとノルアドレナリンが血中に放出され、血圧が上昇することを当教室から報告している^{1,2)}。その頃 β_3 刺激薬が過活動膀胱治療薬として登場した時期であり、それでは交感神経の賦活は排尿間隔を短縮するのか延長するのか? という疑問が生じた。そこで「ボンベシン脳室内投与で惹起された交感神経系賦活は排尿反射を延長する」という研究仮説を立て以下の実験を行った。今までの交感神経-副腎髄質系の実験系に追加で膀胱瘻を作成し、麻酔下にボンベシンのラットの脳室内投与を行い、連続膀胱内圧測定を行った(図1)。結果は予想に反していたが非常に興味深いものであった。1) ボンベシンのラット脳室内投与は交感神経-副腎髄質系を賦活させるより遥かに低用量で排尿間隔(ICI)短縮や一回排尿量(VV)減少を惹起する(図2A, B), 2) このICIの短縮は副腎摘出の影響を受けない(図2B), 3) このICI短縮に脳内ボンベシン受容体(1型および2型)が関与する, 4) ボンベシンは残尿量(RV), 排尿効率(VE)や最大排尿筋圧(MVP)には影響を与えない, ことを見出した²⁾。この実験結果は, ボンベシンによるICI短縮は副腎由来のカテコラミンの影響を受けていないことを表している。同様に, 脳内のアンジオテンシンII受容体やニコチン受容体を刺激すると交感神経-副腎髄質系を賦活することを我々は報告している^{3,4)}。そこで, これら受容体のアゴニストと排尿反射の関係を調べると, 脳内アンジオテンシンII受容体刺激はボンベシン受容体刺激と同様に排

尿反射を促進させるが, 脳内ニコチン受容体刺激は逆に排尿反射を抑制させる事がわかった^{5,6)}。さらに, これらのアゴニストの脳室内投与では, 交感神経-副腎髄質系の賦活に比してより低用量で排尿反射の変化が観察された。この様に, 交感神経-副腎髄質系を賦活させるアゴニストが排尿反射を抑制させるのか促進させるのかは一定ではなく, 脳内は非常に複雑な排尿制御機構により制御されていることが示唆され, さらなる今後の研究成果が待たれる。

一酸化窒素(NO)と排尿

NOはNO合成酵素(NOS)によりアミノ酸であるアルギニンから生合成されることが知られている。NO合成酵素は内皮型NOS(eNOS), 神経型NOS(nNOS)および誘導型NOS(iNOS)の3種類が同定されており, これらの3種類が相補的に機能していると考えられている。NOの下部尿路における作用として最初に報告されたのは家兎尿道における弛緩作用であり^{7,8)}, 泌尿器科領域ではPDE5阻害薬がEDや前立腺肥大症治療薬として承認されている。NO作動性神経の終末および血管内皮から分泌されたNOは, グアニル酸シクラーゼを活性化することでcGMPを増加させ, このcGMPが前立腺や陰茎海綿体平滑筋弛緩作用を示す。このcGMPはPDE5で分解されることが知られており, PDE5を阻害することでcGMPの分解を抑制し, 平滑筋弛緩作用を増強させる(図3)。

中枢神経系では大脳皮質や小脳を中心に広くNOS(主にnNOS)が発現している事が知られており, NOは情

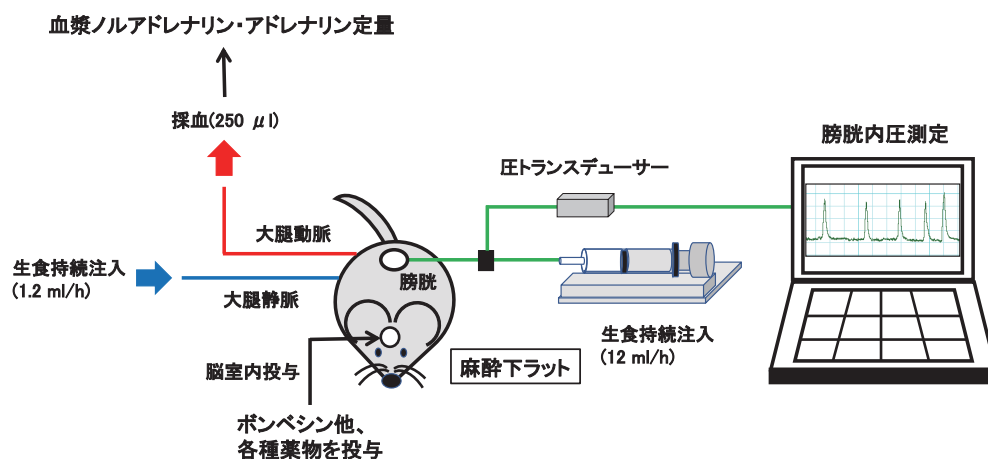


図1 実験方法の概略

麻酔下ラットに膀胱内圧測定用膀胱カテーテル, 採血用動脈カテーテル, および脱血防止のための補液用静脈カテーテルを挿入後, 脳室内へ薬物を投与し, 連続膀胱内圧測定および採血と血漿ノルアドレナリン・アドレナリン定量を行う。

報伝達物質として作用することが知られているが^{9,10)}, 排尿反射に対する脳内 NO の作用はあまり解明されていない。Masuda ら¹¹⁾ は麻酔下ラットに NOS 阻害薬である L-NAME を側脳室内投与すると ICI は延長するが, 意識化状態では ICI の短縮を惹起することを報告している。すなわち脳内 NO は麻酔下では排尿促進, 意識下では排尿抑制に関与すると考えられる。

我々は前述した実験系で脳内 NO がどのように排尿反射に影響するかを解明するため, 麻酔下ラットに NO ドナーである SIN-1 を側脳室内投与し排尿反射に対する影響を検討した¹²⁾。SIN-1 脳室内投与は ICI 短縮・VV 減少を引き起こしたが, RV, VE や MVP には影響を与えなかった (図 4 A, B)。これらの反応は NO 消去薬である Carboxy-PTIO の脳室内前処置で有意に抑制され

る事がわかった (図 4 C)。また脳内 NO はグルタミン酸神経系を活性化させる事が知られており¹³⁾, このグルタミン酸神経系は排尿反射を誘発する事が報告されている¹⁴⁾。そこで NMDA 型グルタミン酸受容体遮断薬である MK-801 を, 排尿反射には影響しない用量にて脳室内前処置した後に SIN-1 を脳室内投与すると, SIN-1 による ICI 短縮を有意に抑制する事がわかった。一方, AMPA/ カイニン酸受容体遮断薬である DNQX の前処置は SIN-1 による ICI 短縮に対して影響を与えなかった。これらの実験結果から脳室内 NO ドナーの投与は NMDA 型グルタミン酸受容体を介して排尿反射を促進する事が明らかとなった。

硫化水素 (H_2S) と排尿

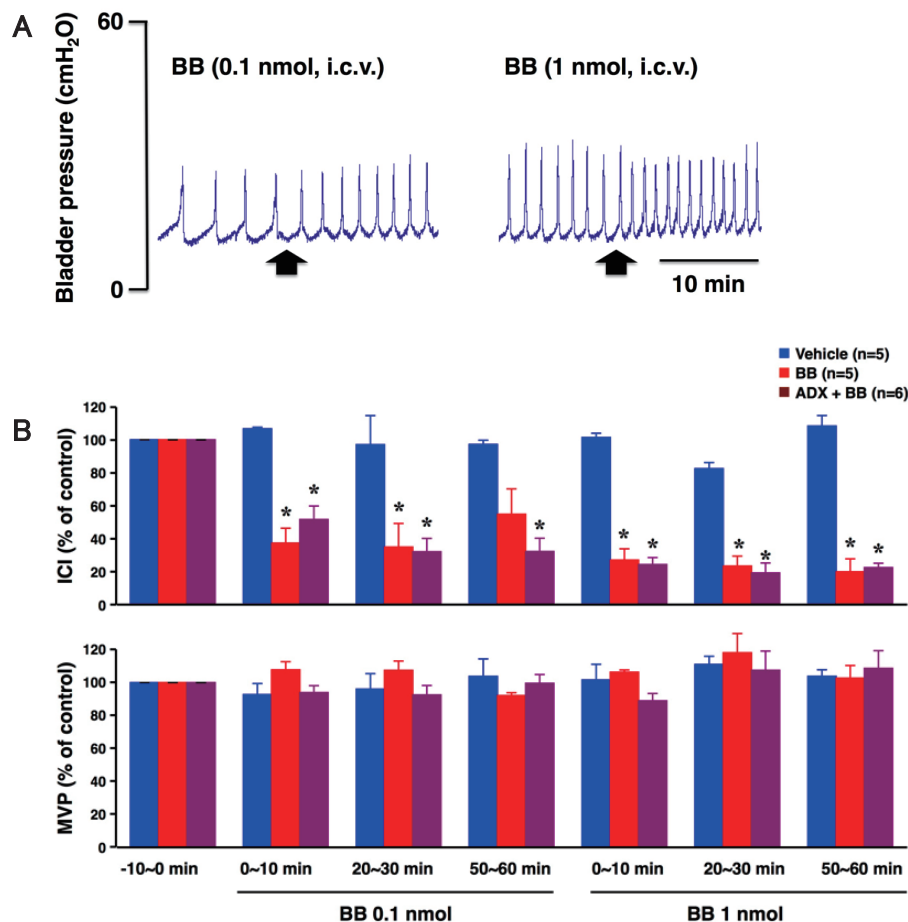


図2 ポンベシン (BB) 脳室内投与時の連続膀胱内圧測定の結果
 A. 典型的な連続膀胱内圧測定チャート。矢印: BB 投与のタイミング。
 B. ICI および MVP の定量データ。縦軸は BB 投与前 10 分間 (-10 ~ 0 min) の ICI および MVP の平均値を基準とした相対値を表す。ADX: 両側副腎摘出群。* $p < 0.05$ (vs. Vehicle). Values = means $\pm$ SEM.
 (文献 2 より改変引用)

H₂S はアミノ酸であるシステインから合成され、現在までに4種類の生合成経路が報告されている(図5)^{15,16)}。下部尿路組織におけるこれらの合成酵素の発現についてCBSは前立腺に、CATとMPSTは前立腺および膀胱(頂部と三角部)に発現しているが、CSEとDAOは前立腺および膀胱には発現していないこと、お

よびH₂Sは膀胱および前立腺における内因性弛緩因子の可能性のあることを我々はラットにて報告している¹⁷⁾。また下部尿路症状を呈する自然発症高血圧ラット(SHR)¹⁸⁾では対照の正常血圧ラットに比してH₂Sによる膀胱弛緩反応が減弱していること¹⁹⁾、このSHRにおける弛緩反応減弱と高血圧進展に伴う下部尿路症状出現がパラレルであること²⁰⁾も我々は報告しており、H₂Sによる膀胱弛緩反応の減弱がSHRにおける下部尿路症状出現の一因である可能性が示唆される。また最近、H₂Sがシクロホスファミド誘発性出血性膀胱炎に伴う下部尿路症状に対する予防作用を有することも我々は明らかにした²¹⁾。

脳内では主にCBSおよびCAT/MPSTによりH₂Sが生成される(図5)が、脳内H₂Sがどのように排尿反射に影響するかについては明らかでなかったため、脳内H₂Sの排尿反射に対する作用を検討した²²⁾。麻酔下ラットにH₂SドナーであるGYY4137を脳室内投与し排尿反射に対する影響を調べた。GYY4137脳室内投与でICIを延長したが、MVPには影響を与えなかった(図6A, B)。一方、非特異的CBS/CAT阻害薬であるAOAAの脳室内投与はICI短縮・VV減少を引き起こしたが、

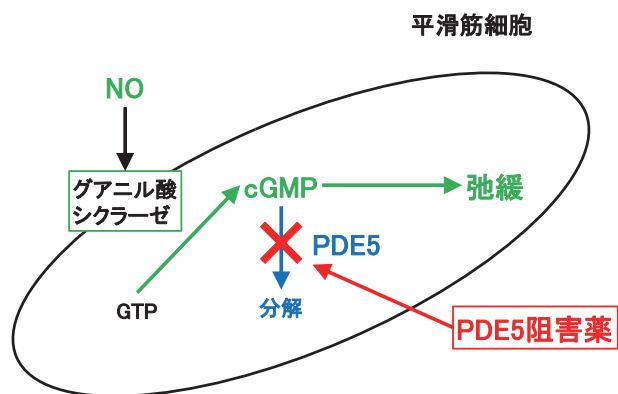


図3 PDE5阻害薬による平滑筋弛緩作用
PDE5阻害薬はPDE5によるcGMP分解を抑制し、NO/cGMPによる平滑筋弛緩作用を増強する。

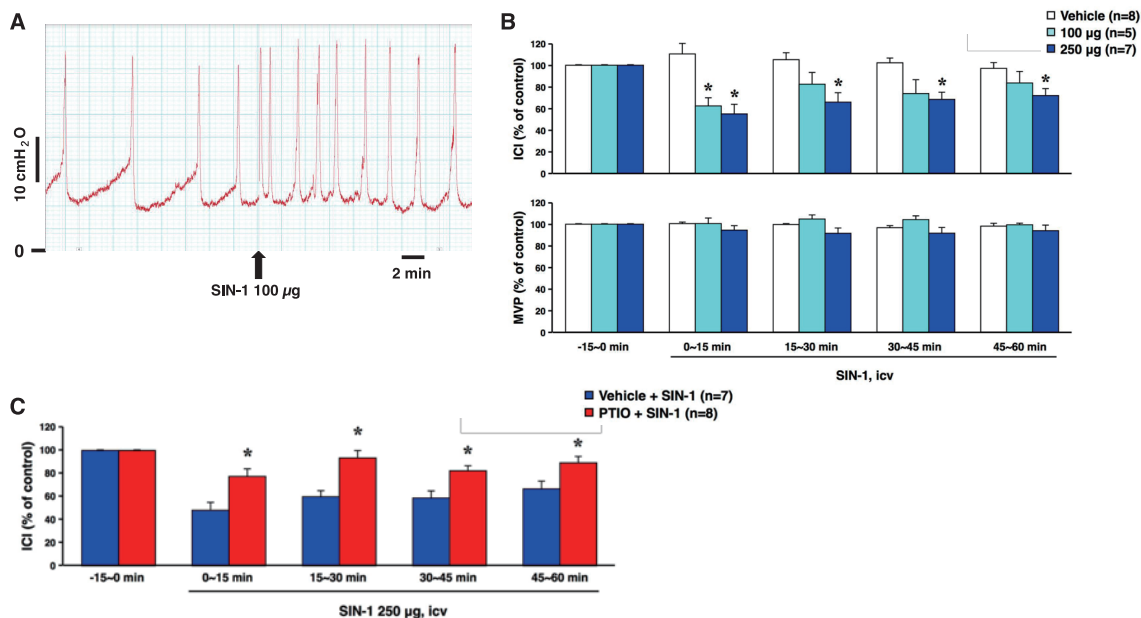


図4 NOドナー SIN-1脳室内投与時の連続膀胱内圧測定の結果

A. 典型的な連続膀胱内圧測定チャート。矢印: SIN-1投与のタイミング。

B. ICIおよびMVPの定量データ。縦軸はSIN-1投与前15分間(-15~0 min)のICIおよびMVPの平均値を基準とした相対値を表す。* $p < 0.05$ (vs. Vehicle). Values=means $\pm$ SEM.

C. NO消去薬のCarboxy-PTIO (PTIO, 750 µg/rat)の脳室内前処置がSIN-1によるICI短縮におよぼす影響。PTIOはSIN-1投与30分前に前処置。縦軸の相対値は図Bと同様に算出。* $p < 0.05$ (vs. Vehicle + SIN-1). Values=means $\pm$ SEM. (文献12より改変引用)

RV, VE や MVP には影響を与えなかった (図 6 C)。この AOAA による ICI 短縮は GYY4137 脳室内前処置

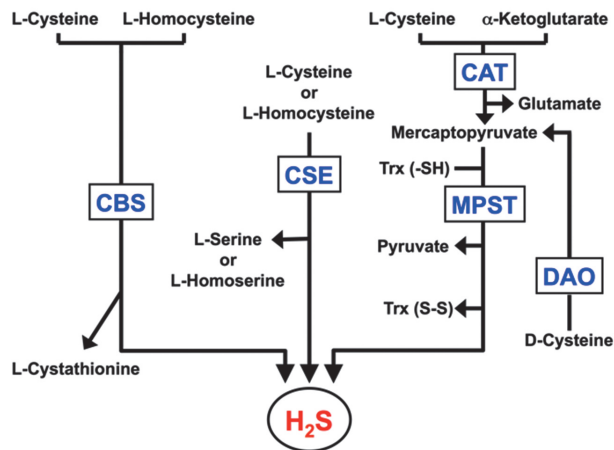


図 5 H₂S 生成経路

L-システインから cystathionine β -synthase (CBS) あるいは cystathionine γ -lyase (CSE) を介して H₂S が産生される経路、L-システインと α -ケトグルタル酸から cysteine aminotransferase (CAT) により産生された mercaptopyruvate がさらに mercaptopyruvate sulfurtransferase (MPST) により代謝されて H₂S が産生される経路、および D-システインから D-amino acid oxidase (DAO) により mercaptopyruvate が産生され、さらに MPST により H₂S が産生される経路、の 4 経路が知られている。

による H₂S 供与により抑制された。これら結果は内因性の脳内 H₂S が排尿抑制に関与していることを示唆している。H₂S は抑制性神経伝達物である γ アミノ酪酸 (GABA) の機能を修飾する事が報告されており^{23,24)}, GABA 神経系は排尿反射を抑制する事が知られている¹⁴⁾。そこで GABA_A 受容体遮断薬である SR95531 または GABA_B 受容体遮断薬である SCH50911 を、単独では排尿反射に影響しない用量にて脳室内前処置した後に GYY4137 を脳室内投与すると、GYY4137 による ICI 延長を有意に抑制する事がわかった。以上の研究結果から、脳室内 H₂S ドナーの投与は GABA_{A/B} 両受容体を介して排尿反射を抑制する事が判明した。

一酸化炭素 (CO) と排尿

CO シグナルに作用する特異的な薬物が少ないため前述した NO や H₂S の研究に比べ CO 研究は進んでいないのが現状である。CO はヘムがヘムオキシゲナーゼ (HO) により分解される際に産生され、HO は種々の刺激により誘導される HO-1 と構成型の HO-2 に大別される²⁵⁾。CO の下部尿路組織に対する作用の報告は少なく、ブタ尿道を弛緩すると報告されているのみである²⁶⁾。また我々の予備実験では CO はラット下部尿路平滑筋 (膀胱頂部、膀胱三角部および前立腺) に対してごく弱

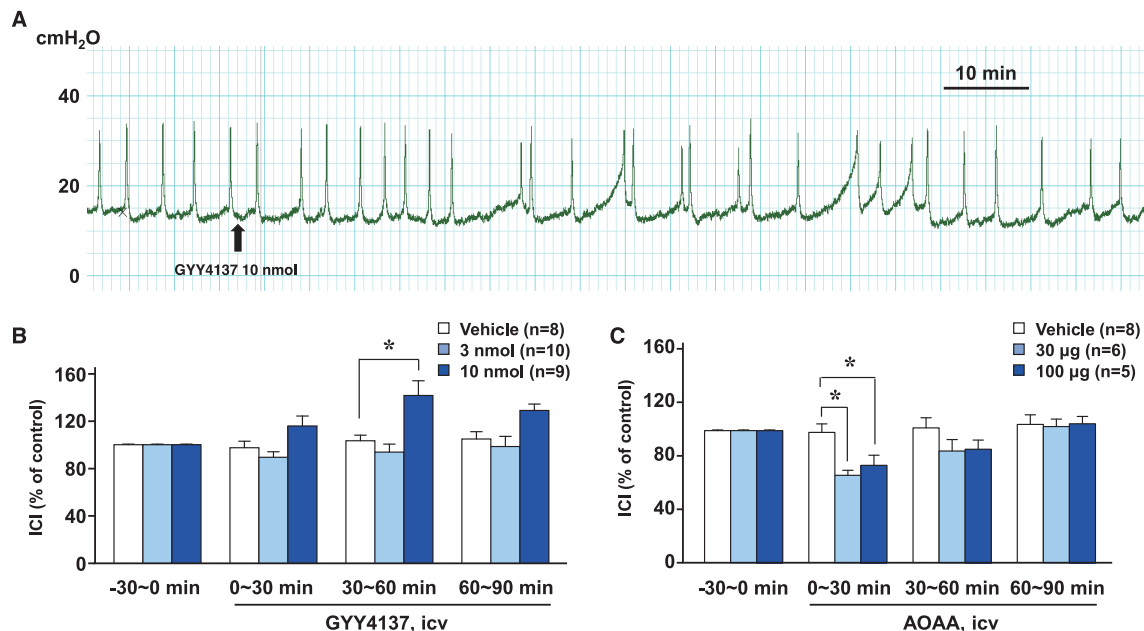


図 6. H₂S ドナー GYY4137 および非選択的 CBS/CAT 阻害薬 AOAA 脳室内投与時の連続膀胱内圧測定の結果

A. 典型的な連続膀胱内圧測定チャート。矢印: GYY4137 投与のタイミング。

B and C. ICI の定量データ。縦軸は GYY4137 (B) あるいは AOAA (C) 投与前 30 分間 (-30 ~ 0 min) の ICI の平均値を基準とした相対値を表す。* $p < 0.05$ (vs. Vehicle). Values = means $\pm$ SEM.

(文献 22 より改変引用)

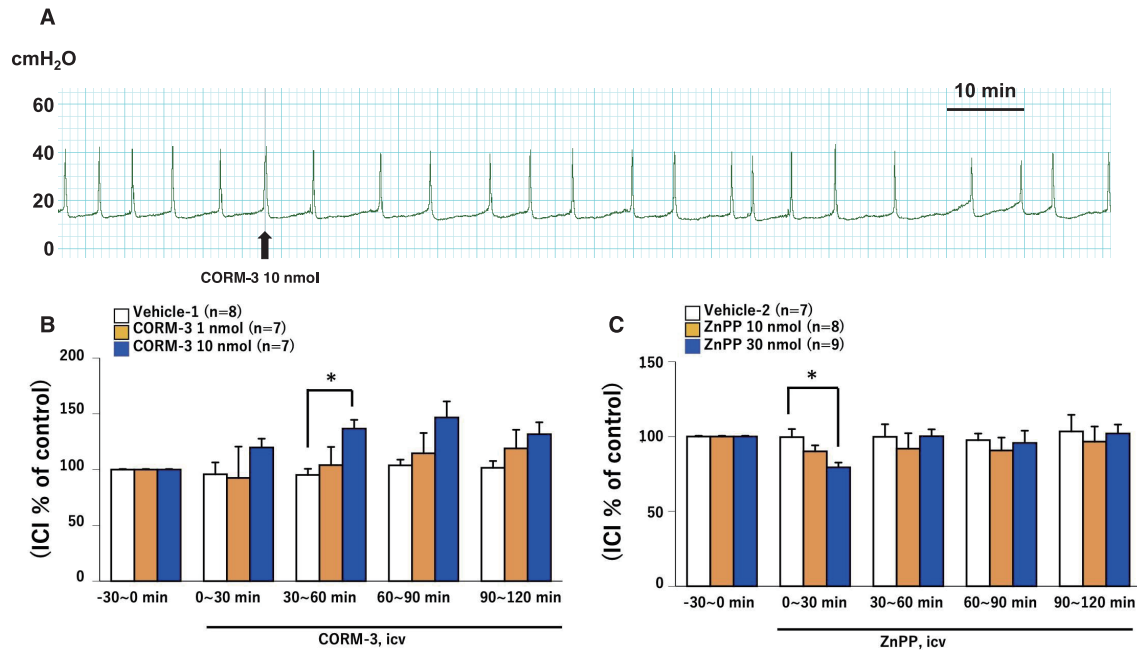


図7 CO ドナー CORM-3 および非選択的 HO 阻害薬 ZnPP 脳室内投与時の連続膀胱内圧測定の結果

A. 典型的な連続膀胱内圧測定チャート。矢印：CORM-3 投与のタイミング。

B and C. ICI の定量データ。縦軸は CORM-3 (B) あるいは ZnPP (C) 投与前 30 分間 (-30 ~ 0 min) の ICI の平均値を基準とした相対値を表す。* $p < 0.05$ (vs. Vehicle). Values = means $\pm$ SEM.

(文献 27 より改変引用)

い弛緩作用を示す事がわかった (unpublished data)。しかし、CO の排尿機能に関する知見はほとんど報告されていない。そこで我々は、前述した実験系で CO の排尿反射に対する影響を調べた。麻酔下のラットに CO ドナーである CORM-3 を脳室内投与すると ICI は延長し、非選択的 HO 阻害薬である ZnPP を脳室内投与すると ICI 延長・VV 減少が観察されたが (図 7)、両薬物とも MVP には影響を与えず、ZnPP は RV・VE に対し有意な影響を与えなかった²⁷⁾。以上の結果は、H₂S 同様に内因性の脳内 CO は排尿抑制に関与する事を示唆している。

おわりに

今回の総説では、ガス状情報伝達物質である NO、H₂S や CO は下部尿路の末梢組織のみならず、中枢神経系においても排尿制御に重要な役割を果たしている事が判明してきた。その一方で選択性の高い試薬などの研究ツールや本領域における基礎研究者数は少なく、排尿制御における脳内ガス状情報伝達物質の研究は始まったばかりだと言える。さらに下部尿路組織における NO、H₂S と CO の相補的な作用はほとんど解明されていない。本稿を機会により多くの研究者がガス状情報伝達物質研究に興味を持っていただき、この分野が発展することを

期待している。

謝 辞

本稿で紹介した研究内容は主に科研費 (挑戦的萌芽研究 (15K15583), 基盤研究 C (16K09243, 17K09303, 20K07827, 21K09428)), GSK ジャパン研究助成 2017, 成茂神経科学研究助成基金, 武田科学振興財団医学系研究助成, (公財) 喫煙科学研究財団研究助成, の助成を受けて実施したものである。

文 献

- 1) Yokotani, K. et al.: Brain prostanoid TP receptor-mediated adrenal noradrenaline secretion and EP3 receptor-mediated sympathetic noradrenaline release in rats. *Eur. J. Pharmacol.* **512**: 29-35, 2005.
- 2) Shimizu, T. et al.: A stress-related peptide bombesin centrally induces frequent urination through brain bombesin receptor types 1 and 2 in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **356**: 693-701, 2016.
- 3) Shimizu, T. and Yokotani, K.: Brain cyclooxygenase and prostanoid TP receptors are involved in centrally administered epibatidine-induced se-

- cretion of noradrenaline and adrenaline from the adrenal medulla in rats. *Eur. J. Pharmacol.* **606**: 77-83, 2009.
- 4) Nakamura, K. et al.: Angiotensin II acting on brain AT1 receptors induces adrenaline secretion and pressor responses in the rat. *Sci. Rep.* **4**: 7248, 2014.
 - 5) Kawamoto, B. et al.: Angiotensin II centrally induces frequent detrusor contractility of the bladder by acting on brain angiotensin II type 1 receptors in rats. *Sci. Rep.* **6**: 22213, 2016.
 - 6) Shimizu, Y. et al.: Stimulation of brain $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptors suppresses the rat micturition through brain GABAergic receptors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **548**: 84-90, 2021.
 - 7) Andersson, K. E. et al.: Non-adrenergic, non-cholinergic nerve-mediated relaxation of rabbit urethra is caused by nitric oxide. *Acta Physiol. Scand.* **141**: 133-134, 1991.
 - 8) Dokita, S. et al.: N^G -nitro-L-arginine inhibits non-adrenergic, non-cholinergic relaxation in rabbit urethral smooth muscle. *Life Sci.* **48**: 2429-2436, 1991.
 - 9) Bredt, D. S. and Snyder, S. H.: Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron.* **8**: 3-11, 1992.
 - 10) Chong, P. S. et al.: Distribution of neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity in adult male Sprague-Dawley rat brain. *Acta Histochem.* **121**: 151437, 2019.
 - 11) Masuda, H. et al.: Effects of anaesthesia on the nitrergic pathway during the micturition reflex in rats. *BJU. Int.* **100**: 175-180, 2007.
 - 12) Ono, H. et al.: Brain nitric oxide induces facilitation of the micturition reflex through brain glutamatergic receptors in rats. *Neurourol. Urodyn.* **39**: 1687-1699, 2020.
 - 13) Neitz, A. et al.: Postsynaptic NO/cGMP increases NMDA receptor currents via hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels in the hippocampus. *Cereb. Cortex.* **24**: 1923-1936, 2014.
 - 14) de Groat, W. C. et al.: Neural control of the lower urinary tract. *Compr. Physiol.* **5**: 327-396, 2015.
 - 15) Kimura, H.: Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system. *Neurochem. Int.* **63**: 492-497, 2013.
 - 16) Shibuya, N. et al.: A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nat. Commun.* **4**: 1366, 2013.
 - 17) Zou, S. et al.: Possible role of hydrogen sulfide as an endogenous relaxation factor in the rat bladder and prostate. *Neurourol. Urodyn.* **37**: 2519-2526, 2018.
 - 18) Saito, M. et al.: Prostatic ischemia induces ventral prostatic hyperplasia in the SHR; possible mechanism of development of BPH. *Sci. Rep.* **4**: 3822, 2014.
 - 19) Zou, S. et al.: Hydrogen sulfide-induced relaxation of the bladder is attenuated in spontaneously hypertensive rats. *Int. Urol. Nephrol.* **51**: 1507-1515, 2019.
 - 20) Zou, S. et al.: Age-related differences in responses to hydrogen sulfide in the bladder of spontaneously hypertensive rats. *Int. J. Urol.* **28**: 459-465, 2021.
 - 21) Zou, S. et al.: Protective effects of hydrogen sulfide pretreatment on cyclophosphamide-induced bladder dysfunction in rats via suppression of bladder afferent nerves. *Nitric. Oxide.* **127**: 54-63, 2022.
 - 22) Yamamoto, M. et al.: Brain hydrogen sulfide suppresses the micturition reflex via brain GABA receptors in rats. *Nitric. Oxide.* **104-105**: 44-50, 2020.
 - 23) Han, Y. et al.: Modulating effect of hydrogen sulfide on gamma-aminobutyric acid B receptor in recurrent febrile seizures in rats. *Neurosci. Res.* **53**: 216-219, 2005.
 - 24) Teng, X. et al.: GABA_A receptor, K_{ATP} channel and L-type Ca²⁺ channel is associated with facilitation effect of H₂S on the baroreceptor reflex in spontaneous hypertensive rats. *Pharmacol. Rep.* **71**: 968-975, 2019.
 - 25) Queiroga, C. S. F. et al.: Carbon monoxide and the CNS: challenges and achievements. *Br. J. Pharmacol.* **172**: 1533-1545, 2015.
 - 26) Werkström, V. et al.: Carbon monoxide-induced relaxation and distribution of haem oxygenase isoenzymes in the pig urethra and lower oesophago-gastric junction. *Br. J. Pharmacol.* **120**: 312-318, 1997.

- 27) Yamamoto, M. et al.: Carbon monoxide in the brain suppresses the micturition reflex in rats. *Continence*. **2S2**: 100209, 2022.

CENTRAL REGULATION MECHANISMS FOR MICTURITION FOCUSING ON GASOTRANSMITTERS

MOTOAKI SAITO AND TAKAHIRO SHIMIZU

Department of Pharmacology, Kochi Medical School, Kochi University, Nankoku, Japan

MASAKI YAMAMOTO

Department of Pediatrics, Kochi Medical School, Kochi University, Nankoku, Japan

Abstract :

More than 20 years have already passed since R. Furchgott, L. Ignarro, and F. Murad were awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine "for their discovery of nitric oxide (NO) as a signaling substance in the circulatory system" in 1998. NO is widely known as one of the nitrogen oxides that cause problems in air pollution, but today, the mechanism of various physiological effects of NO, including vascular smooth muscle relaxation, has been elucidated. Currently, NO donors such as nitroglycerin and phosphodiesterase 5 inhibitors that enhance NO signaling have reached clinical application. Hydrogen sulfide (H₂S) and carbon monoxide (CO), which are well-known poison gases, have also been shown to be gasotransmitters similar to NO, and their physiological effects have been reported such as on smooth muscle, the immune system and the nervous system. We have studied the direct action of these gasotransmitters on lower urinary tract tissues, as well as the regulation mechanisms of brain gasotransmitters for urinary function. We found that brain NO enhances the micturition reflex via the brain glutamatergic nervous system; brain H₂S suppresses the micturition reflex via brain GABA_A and GABA_B receptors; and that brain CO suppresses the micturition reflex in the same way as H₂S. In this article, we discuss how these gasotransmitters affect urinary function in the brain based on our recent data.

(Nishinohon J. Urol. **85**: 284-291, 2023)

key words: Nitric oxide, Hydrogen sulfide, Carbon monoxide
