

低出力体外衝撃波による膀胱血流促進が  
下部尿路機能障害に与える影響についての研究 (30-28)

主任研究者 野宮 正範 国立長寿医療研究センター 泌尿器外科 (医長)

研究要旨

下部尿路機能障害は高齢者にとって大きな問題であり、治療介入の意義は高い。現在、下部尿路機能障害治療の中心は抗コリン薬をはじめとする薬物療法であるが、奏効率は 60-70%程度とあまり高くなく、服薬継続率も低いことも知られている。また、高齢者が抱える様々な要因による治療継続の困難な症例、薬物療法には適さない症例（抗コリン系薬剤の付加や認知症への影響など）や薬物療法が奏功しない難治症例については未だ有効で確立された治療法はない。

近年、高齢者の下部尿路機能障害（過活動膀胱など）の病因として、血流障害が注目されており、下部尿路の血流改善は下部尿路機能障害治療のターゲットと考えられている。一方、体外衝撃波は尿路結石や胆石破砕治療として広く用いられる治療法であり、最近の研究では、低出力体外衝撃波には、臓器の血流障害改善作用が示されている。我々は、この低出力体外衝撃波が下部尿路の血流を増加させることにより、下部尿路機能障害を改善させる可能性があると考えている。

本研究課題では、低出力体外衝撃波発生装置の下部尿路における血流改善作用を動物実験で検証し、この装置の照射条件を設定するとともに、健常成人に対して本装置により膀胱に照射を行い、その安全性を確認することを目的とした。

主任研究者

野宮 正範 国立長寿医療研究センター 泌尿器外科 (医長)

分担研究者

吉田 正貴 国立長寿医療研究センター 副院長、手術・集中治療部 (部長)

庵原 耕一郎 国立長寿医療研究センター 歯科口腔先進医療開発センター・再生歯科医療研究室 (室長)

渡辺 秀人 愛知医科大学 分子医科学研究所 (所長・教授)

## A. 研究目的

本研究の目的は、実験動物を用いて低出力体外衝撃波照射による膀胱血流促進作用と安全性について基礎的検討を行った後、健常成人に対する安全性を検証することである。我々は、低出力体外衝撃波が下部尿路の血流を増加させることにより、下部尿路機能障害を改善させる可能性があると考えており、今後、過活動膀胱を含む下部尿路機能障害患者に対する低出力体外衝撃波治療の医師主導治験を予定している。本研究の知見は、今後予定している本機器の先進医療、医師主導治験における安全性と有効性試験の基礎的根拠となる。

## B. 研究方法

### (1) 全体計画

過活動膀胱を含む下部尿路機能障害患者に対する低出力体外衝撃波治療の先進医療、医師主導治験などを予定している。そのため、H30年度は、動物実験にて、低出力体外衝撃波の下部尿路における効果発生機序を検証する。また、泌尿器科の日常診療で行われている膀胱内視鏡検査の保存映像を用いて、次年度に予定している臨床試験の評価項目となる所見を探索する。

H31年度は、健常成人における低出力体外衝撃波治療の安全性試験を予定している。

### (2) 年度別計画

平成30年度：

1. ビーグル犬を用いた低出力体外衝撃波 (ESWT) による膀胱血流促進作用と安全性に関する基礎試験。動物実験は、愛知医科大学動物実験施設で施行する。

平成30年度は、ビーグル犬を用いた膀胱に対する低出力体外衝撃波 (ESWT) の影響に関する基礎的検討を実施する。ビーグル犬を衝撃波照射群と対照群に分ける。ESWT群は、全身麻酔後、下腹部に超音波プローブをあて、膀胱を確認した後、衝撃波(2Hz 0.09mj/mm<sup>2</sup>)を膀胱壁の異なる3~5スポットに各々300発ずつ照射し、7週間で計8回の照射を行う。対照群は、ESWT群同様に麻酔を施すが、衝撃波を照射しない。8週後麻酔下にレーザー2次元血流画像化装置にて膀胱血流を測定した後に、犬を屠殺し、膀胱・尿道・前立腺、子宮、直腸を摘出し、膀胱・尿道・前立腺については血管新生および血流増加に関連する因子について組織学的・生物学的検討を加える。また、照射条件を代えて同様の実験を行う。安全性の検討のために膀胱・尿道・前立腺、子宮、直腸組織の組織障害性についても検討する。本研究結果から、平成31年度に施行する健常成人を用いた安全性試験の照射条件を設定する。

評価項目：

①膀胱血流測定：レーザー2次元血流画像化装置 (OMAGzone OZ-1) を用いて膀胱壁の血流を測定する。

②組織学的検討：ヘマトキシリン・エオジン染色とマッソン・トリクローム染色を行い、

ESWTによる膀胱壁のダメージの有無（出血の有無や炎症・線維化の程度など）について解析する。

③特殊免疫組織化学染色：血管形成メディエーター【HIF1- $\alpha$ とその標的因子である血管内皮成長因子（VEGF）、血管内皮型NOS染色など】の発現と局在を検討する。

④生物学的検討：これまでの研究論文からESWTの効果発現の機序として、Angiogenesis、Growth Factor、Oxidative Stress、Hypoxia、Healingなどに関わる遺伝子発現変化が予想される。本研究では、HIF 1- $\alpha$ 、VEGF、血小板由来成長因子 B（PDGFB）、胎盤成長因子（PGF）、アンジオポエチン（Ang）1、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）2およびMMP3などの遺伝子発現とタンパク質定量実験を実施する。

## 2. 膀胱内視鏡検査映像の観察

泌尿器科の日常診療では、下部尿路症状や血尿などの自覚症状を有する患者、前立腺肥大症患者、尿路上皮癌術後の定期フォロー患者に対して膀胱内視鏡検査および症状評価のため問診票を用いた下部尿路症状のスコア化が行われる。また膀胱内視鏡検査は動画映像として保存されている。この保存映像についての観察を行う。

平成31年度：

### 1. 健常成人に対する低出力体外衝撃波（ESWT）の安全性試験

平成31年度は健常成人に対して、動物実験と同様の条件でESWTを照射し、照射前後で膀胱鏡下にレーザー2次元血流画像化装置にて膀胱血流を測定するとともに、各種質問票や排尿機能検査により、本治療法の安全性を確認する。安全性試験の例数設定の統計学的根拠はないが、当機器がすでに尿路結石などの治療に汎用されていること、虚血性心疾患の改善や糖尿病性腎障害の進展予防を目的とした先進的臨床研究が進行しており、問題となる副作用報告がないことを踏まえると、照射群20例、偽照射群10例の設定は妥当であると考えられる。

対象は下部尿路症状を有する40歳以上男女：30名

膀胱内には100-250mlの尿量の存在を超音波で確認後に低出力衝撃波（約0.09mJ/mm<sup>2</sup>）を膀胱あたりの1スポットにつき約300発照射、合計で、5-8スポット照射する。1週間当たり1日間隔で2日照射し、これを8週間継続する。対照として偽処置を行った群を置く。照射開始前と照射開始後1週間おきに下記の内容を調査し、最終照射から1、3か月後にも同様の内容を調査する。

具体的な調査項目は以下のとおりである。

①基本属性：年齢、性別、合併症の種類と数、服用薬剤の種類と数

排尿障害についての質問票：過活動膀胱症状質問票(OABSS)、国際前立腺症状スコア(IPSS)、尿失禁症状質問票(ICIQ-SF)、QOL評価、排尿日誌(3日間)

- ②尿流測定（最大、平均尿流量）、残尿測定
- ③有害事象および合併症
- ④疼痛と不快感に関する質問票
- ⑤膀胱鏡検査（ESWTによる膀胱粘膜微小循環の変化の観察）

（倫理面への配慮）

動物の生命又は身体の犠牲を強いる手段であることを念頭におき、適正な動物実験等の実施に努める。また、実験動物の使用については、動物実験委員会の審議を経て、施設長の承認を得る。可能な限り、動物に与えるストレスを軽減するよう努力する。統計学的有意差を導くための最小限の動物数とし、適正なスタディデザインを計画する。実験に際し、適切に維持管理された設備において動物実験等を実施し、動物実験に関して優れた見識を有する者と積極的に意見を交換し、動物愛護に配慮しつつ、科学的観点に基づく動物実験等を適正に実施する。

また、健常者を用いた安全性の検討においては、個人の人権擁護のために、本研究のすべての担当者は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に従い、本試験実施計画書を遵守して実施する。同意説明文書を被験者に渡し、文書および口頭による十分な説明を行い、被験者の自由意思による同意を文書で取得する。

研究が実施又は継続されることに同意した場合であっても随時これを撤回でき、撤回により不利益を受けることはない。同意書の署名によって拘束を受けることもない。本研究の機器により発生した有害事象についてはすべて研究開発代表者に報告され、特に重篤な有害事象が生じた際には速やかに書面にて機関の長へ報告する。健康被害に対する補償についても適切な対応が行われるよう、整備する予定である。

## C. 研究結果

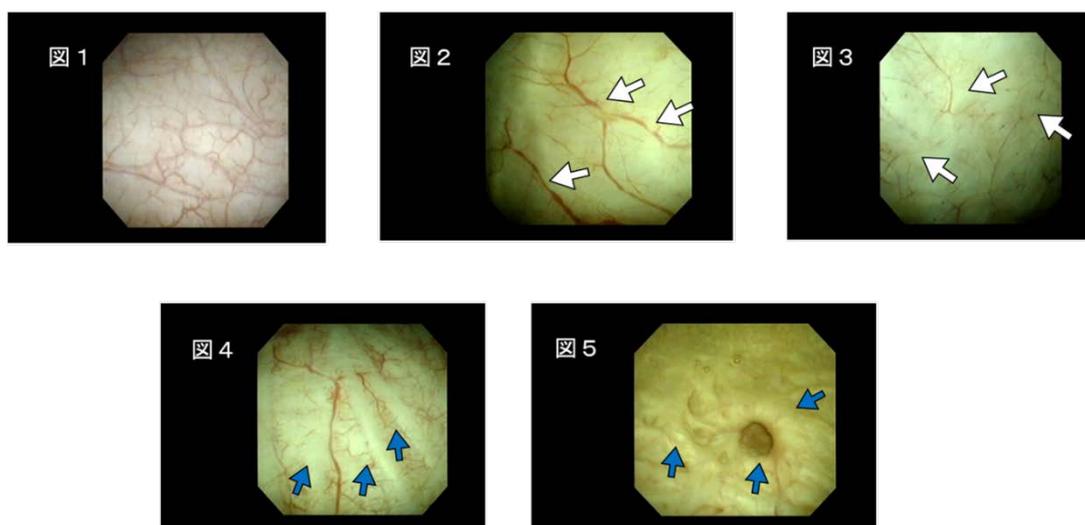
### 1. ビーグル犬を用いた低出力体外衝撃波（ESWT）による膀胱血流促進作用と安全性に関する基礎試験

高齢者下部尿路機障害の新規治療法としての発展性が期待される研究であるが、当初、提携会社からの無償提供予定であった低出力体外衝撃波発生装置一式の使用が、同社の破産手続きにより不可能となり、現在研究の継続が困難となっている。実験動物は既に購入し飼育維持されている。研究継続のために同一の治療効果が予想される別会社の機器の購入もしくはレンタルなどを模索している。

### 2. 膀胱内視鏡保存映像の検討

泌尿器科診療の一般的検査法として膀胱内視鏡検査が行われる。この検査の際に保存されていた画像にて膀胱内を再観察すると、下図1のような膀胱粘膜を多方向に分岐走

行する膀胱粘膜微小血管を確認できる。ところが、前立腺肥大症を有する患者や高齢で生活習慣病併存患者では、下図 2, 3 の白矢印で示す膀胱粘膜血管の狭小化、断裂像、不明瞭な微小血管、粘膜色調の蒼白化などの所見があることがわかった。また、排尿障害を訴える高齢者では、下図 4, 5 の青矢印で示す膀胱線維化、肉柱形成を認める症例も存在した。



#### D. 考察と結論

下部尿路機能障害は、頻尿、尿失禁、尿勢低下などの下部尿路症状を呈し、男女とも加齢に伴い増加し、QOL を著しく低下させる。本邦における疫学調査では、60 歳以上の高齢者の約 78%が何らかの下部尿路症状を有している。近年、メタボリック症候群や動脈硬化と下部尿路症状との関連性が注目されるようになり、加齢に伴う血管内皮機能低下、生活習慣病の重積と動脈硬化、前立腺腫大による下部尿路閉塞による高圧排尿は、いずれの病態も膀胱血流障害（慢性膀胱虚血）を引き起こし、膀胱壁に酸化ストレス反応と **pro-inflammatory cytokines** の放出を導き、下部尿路機能障害発現ならびに過活動膀胱を含む下部尿路症状の発症に関与すると推察されている。

一方、ESWT は、細胞内に多数のマイクロバブルが生じては消える「キャビテーション（空砲）効果」が生じることによって、血管新生を促す種々のサイトカインを産生増加させ、血流改善作用に寄与すると考えられており、現在、虚血性心疾患の改善や糖尿病性腎障害の進展予防を目的とした先進的臨床研究が進行している。我々は、この ESWT が下部尿路の血流を増加させることにより、下部尿路機能障害を改善させる可能性があると考えている。

これまで、下部尿路における ESWT の影響に関して、ラット間質性膀胱炎モデルやラット糖尿病性膀胱機能障害モデルを用いた報告を散見する。ESWT は、下部尿路に対し組織障害を起こすことなく、血管新生促進に関わるサイトカインの生成促進ならびに血流増加作

用を発揮すると予想される。しかしながら、ESWT 発生装置の規格や照射条件が異なることから、ビーグル犬を用いて効果発現機序と侵襲性の検証を行う予定である。

現在、代理店破産により ESWT 装置一式の供給が停止され代替機を検討しているが、ビーグル犬を用いた動物実験を基盤として、健常人を対象に ESWT 発生装置の安全性の検証をおこない、安全性を確立できれば、ESWT 装置を用いた医師主導治験への移行が可能となる。将来的には、高齢者下部尿路機能障害への低侵襲治療の応用が期待される。本治療法は、麻酔や手術を必要とせず非薬物的で低侵襲的治療であることから、高齢者の抱える薬物多剤併用による諸問題の改善、治療難治例では薬物療法と併用による相乗効果が見込まれる。

また、今回観察した膀胱内視鏡検査で認められる膀胱粘膜微小血管の変化、粘膜色調の蒼白化、膀胱線維化や肉柱形成などの構造的変化は、膀胱血流障害の影響を示唆する所見の可能性があると思われ、ESWT による下部尿路血流改善作用を評価する上で重要な評価指標となると考えられる。これらの本年度の結果を踏まえて、次年度での健常成人に対する ESWT の安全性試験においても、膀胱血流の変化を観察するために、膀胱鏡による膀胱内の観察を行うことも考慮される。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Akaihata H, Nomiya M, Matsuoka K, Koguchi T, Hata J, Haga N, Kushida N, Ishibashi K, Aikawa K, Kojima Y. Protective Effect of a Rho-kinase Inhibitor on Bladder Dysfunction in a Rat Model of Chronic Bladder Ischemia. *Urology*, 111, 238.e7-238.e12, 2018.
- 2) 野宮正範、西井久枝、吉田正貴 慢性虚血モデルにおける前立腺の病態生理学的変化について 排尿障害プラクティス 26(2):26-32, 2018
- 3) 野宮正範 西井久枝 吉田正貴 フレイル要因としての加齢による下部尿路機能の変化—高齢者尿失禁とフレイルの関連性— 日本排尿機能学会雑誌 In press

##### 2. 学会発表

- 1) 野宮正範 西井久枝 吉田正貴 フレイル要因としての加齢による下部尿路機能の変化 第 25 回日本排尿機能学会 2018.9.29
- 2) 野宮正範 西井久枝 吉田正貴 下部尿路症状と膀胱粘膜微小血管の変化 第 25 回日本排尿機能学会 2018.9.29
- 3) 慢性膀胱虚血ラットモデルにおけるメラトニンの抗酸化作用 第 104 回 日本泌尿器科学会総会 2018.4.21

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし