

膀胱細菌叢をターゲットとした過活動膀胱の新規治療法探索

大阪大学大学院医学系研究科 泌尿器科

竹澤 健太郎

1. 緒言

過活動膀胱は膀胱の知覚過敏により尿意切迫感や尿失禁をきたす疾患である。我が国の患者数は1,000万人以上とされ、高齢化にともないさらなる増加が予想されている。現在、過活動膀胱の治療として抗コリン薬や $\beta 3$ アドレナリン受容体作動薬が用いられているが、有効率は60%と低く、1年継続率も20%と低い。過活動膀胱の新しい治療法開発が求められている。

これまで健常人の尿は無菌であると考えられてきた。しかし近年、次世代シーケンサーなどの最新技術を用いた研究により、尿が無菌ではないこと、すなわち膀胱細菌叢の存在が明らかとなった¹⁾。次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析では、膀胱細菌叢の構成細菌としてFirmicutes門やBacteroides門などが同定された。これらの細菌の多くは従来の培養法で同定が難しい難培養菌であった。膀胱細菌叢の役割はまだ良くわかっていないものの、膀胱機能に何らかの影響は有していると考えられる。膀胱細菌叢と膀胱機能障害の関連については、特定の細菌と尿失禁の関連、細菌叢の多様性と尿失禁に対する薬物治療の反応性の関連、などがすでに研究され報告されている²⁾。しかし研究間で結果が一致しておらず、現状では膀胱細菌叢と膀胱機能障害の関連に定まった見解はない。申請者はこれまでに、マウス膀胱内に大腸菌の内毒素であるリポポリサッカライドを注入すると組織学的な炎症とは無関係に頻尿になること、その機序に膀胱上皮から放出されるATPが関与することを報告してきた³⁻⁵⁾。この現象は膀胱に組織学的な炎症が起こらなくても、膀胱内に細菌が侵入し膀胱細菌叢が変化することで膀胱機能に変化することを示唆している。申請者はこれらの知見から、膀胱機能に影響する因子として膀胱細菌叢の変化に注目した。そして膀胱細菌叢の変化と膀胱機能の関連を検討することで、膀胱細菌叢と膀胱機能の関連を明らかにできるのではないかと考えた。本研究では同一個人の膀胱細菌叢と膀胱機能を縦断的に調べることで膀胱細菌叢の変化と過活動膀胱の関連を明らかにし、膀胱細菌叢をターゲットとした過活動膀胱の新規治療法を探索することを目的とした。

2. 方法

以下の2つの検討を行った。

2-1) 膀胱細菌叢の検討に適切な尿のサンプリング方法の検討

膀胱細菌叢の検討を行うにあたり、適切な尿のサンプリング方法を検討した。生体腎移植ドナーである健常な成人女性 18 例を対象とし、カテーテルによる導尿で得られた尿（カテーテル尿）、自然排尿で得られた尿（自然尿）、外尿道口のスワブ（外尿道口）の 3 検体を採取し、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA の遺伝子解析により各々の細菌叢を解析し、比較した。

2-2) 過活動膀胱患者の膀胱細菌叢の検討

大阪大学医学部附属病院に通院中の女性の過活動膀胱患者 6 例を対象とし、カテーテル尿を採取し、次世代シーケンサーを用いた 16SrRNA の遺伝子解析により膀胱細菌叢を解析した。膀胱機能の評価は過活動膀胱症状質問表で行った。また対照群として、膀胱がん術後で再発なく通院中の健常女性 3 例を対象とし同様の方法で細菌叢と膀胱機能を評価した。本研究は大阪大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を得て実施した。

3.結果

3-1) 膀胱細菌叢の検討に適切な尿のサンプリング方法の検討

16S rRNA 遺伝子の解析によりカテーテル尿、自然尿、外尿道口の細菌叢が同定された。典型例を図 1 に示す。各症例のカテーテル尿、自然尿、外尿道口の細菌叢の類似性について、主座標分析により分析した結果を図 2 に示す。

図 1. カテーテル尿、自然尿、外尿道口の細菌叢の比較

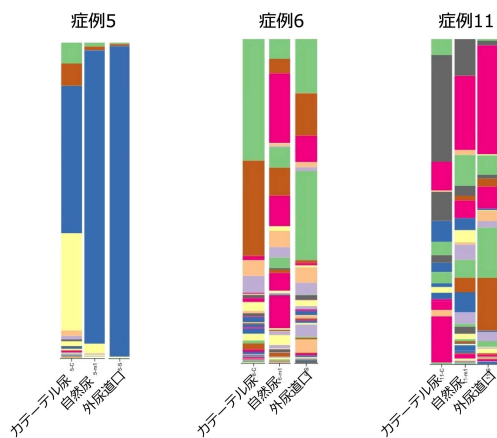
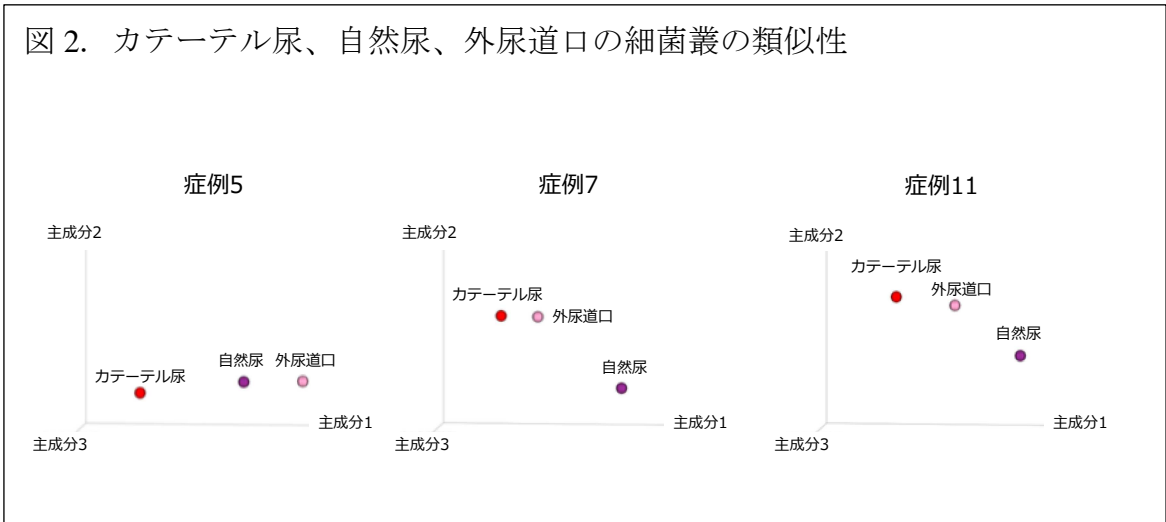


図 2. カテーテル尿、自然尿、外尿道口の細菌叢の類似性

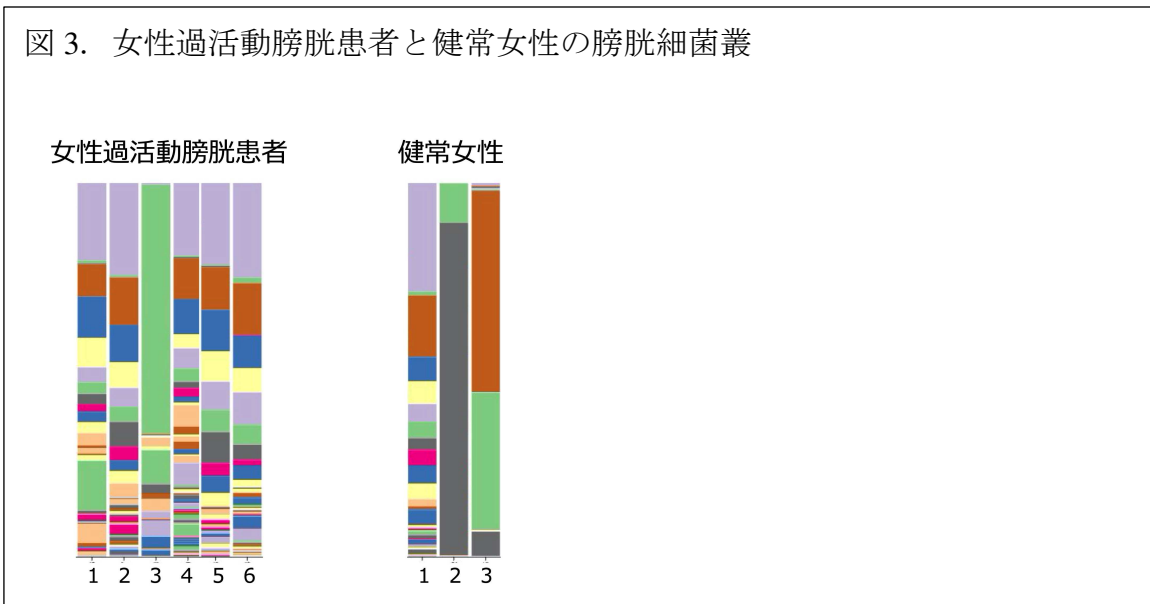


カテーテル尿と自然尿の細菌叢はやや異なっていた。また、自然尿の細菌叢はカテーテル尿の細菌叢よりも外尿道口の細菌叢に似ていた。以上から、膀胱細菌叢の検討にはカテーテル尿が必要であることが分かった。

3-2) 過活動膀胱患者の膀胱細菌叢の検討

過活動膀胱患者と対照群のカテーテル尿から検出された細菌叢を図 3 に示す。

図 3. 女性過活動膀胱患者と健常女性の膀胱細菌叢



まだ症例数が少なく統計解析はできないものの、女性過活動膀胱患者は健常女性と比較し膀胱細菌叢が多様性に富む傾向が認められた。

4. 考察

近年、膀胱細菌叢の存在が明らかとなり、その機能的役割が注目されるようになった。膀胱細菌叢は過活動膀胱などの膀胱機能障害の原因となっている可能性がある。しかし膀胱細菌

叢と過活動膀胱の関連を調べたこれまでの研究では、過活動膀胱患者は尿中の *Gardnerella* 属が多い⁶⁾、*Proteus* 属が多い⁷⁾、細菌叢の多様性に富む⁸⁾、多様性に乏しい⁹⁾など、研究ごとに異なる結果が報告されており、見解は定まっていない。申請者はこの原因が個体間差にあるのではないかと考え、膀胱細菌叢と過活動膀胱の関連を明らかにするには同一個人における経時変化を調べる必要があると考えた。

まず、膀胱細菌叢の検討に適切な尿の採取方法を検討した。カテーテル尿は既存の報告で膀胱細菌叢を反映すると報告されているが、採取に導尿が必要なため侵襲がある。逆に自然尿は採取が容易であるが、外陰部や外尿道口付近の細菌混入の可能性があり、膀胱細菌叢の解析に適切であるか不明であった。カテーテル尿、自然尿、外尿道口の細菌叢を調べた結果、自然尿の細菌叢はカテーテル尿の細菌叢とはやや異なっており、外尿道口の細菌叢に近いことが分かった。採取の容易な自然尿は細菌混入の影響で膀胱細菌叢の評価には適さないことが明らかとなった。これまでカテーテル尿と自然尿の細菌叢を比較した報告はなく、膀胱細菌叢の研究を進める上で重要な知見であると考えられる。

次に過活動膀胱患者の膀胱細菌叢と症状の経時変化を解析し、膀胱細菌叢と過活動膀胱の関連を明らかにしようと、まだ研究途中である。今後3ヶ月毎に膀胱細菌叢と過活動膀胱症状を調べ、経時変化から膀胱細菌叢と過活動膀胱の関連を解析する予定である。経時変化の評価は本検討の特徴である。これまでのヒトを対象とした膀胱細菌叢の研究はすべて横断研究であり個体間差が考慮されていないが、図3に示すように膀胱細菌叢にはかなり個体差がある。この個体差は膀胱細菌叢と過活動膀胱の関連が研究により異なる原因の1つと考えられる。経時変化を評価する本研究により膀胱細菌叢と過活動膀胱の関連を明らかにできると考えている。

5.結語

膀胱細菌叢はカテーテル尿で評価する必要があることが分かった。症例を蓄積し膀胱細菌叢と過活動膀胱の関連を明らかにし、膀胱細菌叢をターゲットとした過活動膀胱の新規治療法を探索したい。

6.文献

- 1) Siddiqui H, et al., Assessing Diversity of the Female Urine Microbiota by High Throughput Sequencing of 16S rDNA Amplicons, *BMC Microbiol*, 2011
- 2) Antunes-Lopes T, et al., The Role of Urinary Microbiota in Lower Urinary Tract Dysfunction: A Systematic Review, *Eur Urol Focus*, 2018
- 3) Takezawa K, et al., Combination of Bladder Ultrasonography and Novel Cystometry Method in Mice Reveals Rapid Decrease in Bladder Capacity and Compliance in LPS-induced Cystitis, *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014

- 4) Takezawa K, et al., Authentic Role of ATP Signaling in Micturition Reflex, *Sci Rep*, 2016
- 5) Takezawa K, et al., Urothelial ATP Signaling: What Is Its Role in Bladder Sensation?, 2017
- 6) Pearce M, et al., The Female Urinary Microbiome: A Comparison of Women With and Without Urgency Urinary Incontinence, *mBio*, 2014
- 7) Curtiss N, et al., A Case Controlled Study Examining the Bladder Microbiome in Women With Overactive Bladder (OAB) and Healthy Controls, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2017
- 8) Thomas-White K, et al., Incontinence Medication Response Relates to the Female Urinary Microbiota, *Int Urogynecol J*, 2016
- 9) Wu P, et al., Urinary Microbiome and Psychological Factors in Women With Overactive Bladder, *Front Cell Infect Microbiol*, 2017