ラットの尿道部分閉塞時の等容量性律動性膀胱収縮における ATP 依存性収縮の亢進について

秋田大学医学部泌尿器科

和田 仁 小友 良 下田 直威
佐藤 滋 佐藤 一成 加藤 哲郎

ACCELERATION OF ATP-INDUCED CONTRACTION IN THE OBSTRUCTED BLADDER OF THE RAT

Hitoshi Wada, Ryo Otomo, Naotake Shimoda, Shigeru Sato, Kazunari Sato and Tetsuro Kato
Department of Urology, Akita University School of Medicine

(Background) Detrusor instability is one of the most common problems in patients with lower urinary tract obstructive diseases, such as benign prostatic hyperplasia.

Adenosine triphosphate (ATP) has been associated as a neuronal component in the detrusor instability.

(Materials and Methods) Ninety-six female Sprague-Dawley rats were studied. Outflow obstructions were created by ligation of the urethra over which a catheter was placed. Changes in the bladder capacity, and an isovolumetric contractile response to pharmacologic antagonists were studied in the obstructed rats for a period of from one day to four weeks.

(Results) The bladder capacity of rats obstructed for four weeks increased significantly. Maximum bladder contraction pressure with the use of atropine medication was inhibited in 60 percent and, 30 percent of in the control group, respectively. The inhibitory effect of the maximum bladder contraction pressure by the pyridoxalphosphate-6-azophenyl-2', 4' -disulphonate (PPADS) dosage after the atropine dosage was not recognized in the control group, but the effect was recognized powerfully in the obstructed group.

(Conclusion) In the obstructed bladder rat, strong rise of the bladder contraction by P2X receptor with a lower urinary obstruction was accepted, and that result reflects positively. Therefore, it was guessed that the result was an end of the compensatory mechanism of unstable bladder.

Key words: Unstable bladder, ATP, P2X-purinoreceptor

要旨: (目的) 下部尿路閉塞に伴う二次性不安定膀胱において, ATP 性神経伝達の検討をするために, ラットの部分的尿道閉塞による不安定膀胱モデルで排尿反射に対する ATP 受容体拮抗薬の効果を検討した.

(方法) ラットの尿道の部分閉塞を作製したモデルを用いて, 麻酔下に等容量性律動性膀胱収縮を起こした. 非閉塞群, 閉塞 2 週群ならびに 4 週群において atropine と PPADS (P2X antagonist) を動脈内投与し, 最大膀胱収縮圧, 膀胱収縮持続時間, 静止時膀胱内圧, 膀胱容量の変化を検討した.

(結果) 尿道閉塞後, 最大膀胱収縮圧の増加が認められた. atropine 投与により最大膀胱収縮圧は非閉塞群ならびに閉塞膀胱群において 60%, 30% に抑制された. PPADS を加えると最大膀胱収縮圧は対照群では 0.1% とほとんど抑制されなかったが, 閉塞膀胱群では約 60% に抑制された.

(結論) 正常ラットでは ATP 性神経伝達はほとんど発現しないが部分的尿道閉塞により最大膀胱収縮圧は増強するとともに ATP 性神経伝達が亢進すると考えられた.

キーワード: 不安定膀胱, ATP, P2X 受容体

緒 言

不安定膀胱は、明らかな神経障害が認められないにも関わらず膀胱排尿筋の不随意収縮を生ずる状態を総称し、頻尿と尿失禁の原因となる。これには原発性不安定膀胱と、下部尿路閉塞に伴う二次性不安定膀胱とがあるが、いずれにおいてもその発症機序は十分に解明されていない。

骨盤神経電気刺激実験における排尿筋収縮には、atropine を投与しても抑制されない成分がある¹⁾。この atropine 抵抗性の収縮反応は、交感神経遮断薬でも抑制されないことから、NANC (non-adrenergic non-cholinergic) 収縮と称される²⁾。ヒトの下部尿路閉塞に伴う不安定膀胱でも、NANC 神経伝達が亢進しているという報告がある³⁾。

現在、膀胱平滑筋に受容体の存在が確認されている興奮性 NANC 神経伝達物質として、ATP⁴⁾、prostaglandin⁵⁾、angiotensin II⁶⁾ならびに serotonin⁷⁾があげられる。遊離膀胱平滑筋切片の電気刺激による NANC 収縮は、ATP 投与による収縮反応に類似し、さらに ATP 受容体 (P2X 受容体) を脱感作する α , β methylethyleneATP によって抑制される。このことから、膀胱収縮には P2X 受容体を介する ATP 依存性成分があるとみなされている^{8)~10)}。

以上のように、不安定膀胱の発症には ATP を介した神経伝達が強く関与していることが想定される。本研究では下部尿路閉塞に伴う膀胱壁収縮機構の変化を調べるために、従来から多用されているラットの尿道を部分的に閉塞した閉塞膀胱モデル (以下、閉塞膀胱) を用いて、排尿反射に対する P2X 受容体拮抗薬の効果から ATP 依存性収縮の関与を検討した。

対象と方法

生後 8~10 週の Sprague-Dawley 系雌ラット 96 頭を使用した。実験群は手術操作を施さない対照群 (n=20) と閉塞膀胱群 (n=76) に大別し、閉塞群は閉塞期間により 1 日群 (n=15)、2 日群 (n=15)、1 週群 (n=15)、2 週群 (n=15)、4 週群 (n=16) に分けた。

1. 閉塞膀胱の作成¹¹⁾

3% sevoflurane 吸入麻酔下にラットを仰臥位に固定し、下腹部正中切開を加えて膀胱頸部前面を露出した。尿道外周を剥離し、尿道前面に外径 1.22mm のポリエチレンカテーテル (Clay-Adams PE-60) を添わせ、その上から 4-0 ナイロン糸で膀胱頸部を緩く結紮した。その後カテーテルを抜去、創を縫合した。以上はすべて無菌的に操作し、術後感染予防のため piperacil-

lin sodium (50mg/kg, i.m.) を投与した。

2. 排尿反射の測定

排尿反射モデルとして、膀胱内圧が尿道抵抗に関わらずに膀胱収縮力を反映できる等容量性律動性膀胱収縮を用いた¹²⁾¹³⁾。

20% urethane (1.0g/kg) 腹腔内投与による麻酔下でラットを仰臥位に固定し、下腹部正中切開を加えて尿管、膀胱ならびに尿道を露出した。両側尿管を膀胱近傍で切断して、膀胱側断端は結紮し、腎側断端は開放とした。同時に膀胱頸部を絹糸で結紮した。ついで膀胱頂部からポリエチレンカテーテル (Clay-Adams PE-50) を膀胱内に挿入固定し、三方活栓を介して生理食塩水の注入路と膀胱内圧測定路とした。下腹部切開創は生理食塩水を浸したガーゼで覆って、乾燥を防ぐことでラットへの体液補給とした。微量注入ポンプ (JMS SP-100s) を使用し、カテーテルから膀胱内に 0.1ml/min の速度で生理食塩水を注入した。急峻な膀胱内圧上昇が認められた時点で注入を止め、等容量性律動性膀胱収縮を引き起こした。

膀胱内圧は圧トランスデューサー (Statham p-50) を圧アンプ (日本光電 AP-601G) に接続し、サーマルアイレコーダー (日本光電 RTA-1200) で記録した (図 1A)。

3. 薬剤の投与

右単徑部切開創で露出した右大腿動脈からポリエチレンカテーテル (Clay-Adams PE10) を大動脈分岐部まで挿入し、薬剤投与経路とした。薬剤には、効果器におけるアセチルコリン受容体の拮抗薬として atropine sulfate (以下、atropine) (SIGMA) を、P2X 受容体拮抗薬として pyridoxal-phosphate-6-azophenil-2'-4-disulphonic acid tetrasodium salt (以下、PPADS) (SIGMA)¹⁴⁾を使用した。

薬剤投与量は、atropine は 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 μ M, PPADS は 0.3, 1.0, 3.0, 10.0 μ M とし、それぞれ蒸留水 0.2ml に溶解し、安定した等容量性律動性膀胱収縮を確認した後に、低濃度から高濃度へ段階的に投与した。なお蒸留水のみ 0.2ml の投与では、等容量性律動性膀胱収縮に変化を認めなかった。

4. 膀胱機能の判定

検討したパラメーターは最大膀胱収縮圧、静止時膀胱内圧、膀胱収縮持続時間ならびに等容量性律動性膀胱収縮発生時の膀胱容量とした (図 1B)。各パラメーターは薬剤投与直後から 5 分間の連続した等容量性律動性収縮波について測定した (図 1C)。測定値は平均値 $\pm$

図1 実験方法のシェーマ

A：膀胱内圧測定法の模式図，B：排尿パラメーターの模式図（a：最大膀胱収縮圧，b：膀胱収縮持続時間，c：静止時膀胱内圧），C：薬剤効果判定の模式図

標準誤差で表記し、薬剤投与前 10 分間の測定値と比較した。また最大膀胱収縮圧については、atropine と PPADS 投与によって抑制された内圧成分を、それぞれコリン依存性分画と ATP 依存性分画とした。これによって閉塞膀胱における内圧の各分画の変化を検討した。実験終了時に、膀胱内の生理食塩水量が注入生理食塩水量と等量であることを確認し、また薬剤投与用カテーテルが大動脈分岐部まで挿入されていることも確認した。

統計学的検討には 2 群間の比較は non paired t-test を用い、3 群間の比較は一元配置分散分析および多重比較検定を用いた。いずれの検定にも、 $p < 0.05$ を有意とした。

なお本実験は、秋田大学医学部動物実験委員会の承認（第 98-16 号）を得て行った。

表 1 尿道部分閉塞における体重と膀胱重量

実験群 (n)	体重 (g)	膀胱重量 (g)
対照 (20)	243.0 ± 5.5	0.107 ± 0.008
閉塞 1 日 (15)	243.7 ± 7.1	0.113 ± 0.033
閉塞 2 日 (15)	245.3 ± 8.6	0.160 ± 0.074*
閉塞 1 週 (15)	254.0 ± 7.1	0.179 ± 0.038*
閉塞 2 週 (15)	249.3 ± 9.5	0.161 ± 0.028*
閉塞 4 週 (16)	257.5 ± 3.1	0.235 ± 0.068*

平均値 ± 標準誤差, * $p < 0.05$

結 果

1. 閉塞の影響（不安定膀胱モデル）

(1) 体重ならびに膀胱重量

膀胱重量は閉塞 2 日以降から増加し、4 週後には対照群の 2.2 倍に達した。なお各群において体重と膀胱重量との間に相関はなかった（表 1）。

図2 尿道部分閉塞によるパラメーターの変動

尿道部分閉塞によるパラメーターの変動をそれぞれ対照群と比較した。最大膀胱収縮圧、静止時膀胱内圧ならびに膀胱容量は尿道閉塞期間とともに増加傾向を示した。膀胱収縮持続時間は閉塞2日目に対照群の1/2まで減少するが、その後上昇し、閉塞4週目には対照群のレベルまで回復した。

(2) 等容量性律動性膀胱収縮

膀胱収縮持続時間は、閉塞2日後に対照群の1/2まで減少したが、その後徐々に回復し、閉塞4週後には対照群のレベルに回復した(図2B)。いっぽう最大膀胱収縮圧、静止時膀胱内圧ならびに膀胱容量は尿道閉塞期間とともに漸増し、閉塞4週後には対照群のそれぞれ1.4倍、1.4倍ならびに1.8倍に達した(図2A, C, D)。

2. 薬剤の単独効果

(1) atropine の効果

対照群ならびに閉塞2週群の双方において最大膀胱収縮圧と膀胱収縮持続時間はatropine投与により減少するが、0.5μM以上の投与量ではプラトーに達し、それぞれ投与前の約50%と70%に抑制された(図3A, B)。最大膀胱収縮圧と膀胱収縮持続時間に対するatropineの効果は、対照群ならびに閉塞2週群との間に差を認めなかった。したがって以下の実験では、atropine投与量を0.5μMに定めて実験を行った。

(2) PPADS の効果

対照群ならびに尿道閉塞2週群において、PPADSを単独投与した。最大膀胱収縮圧と膀胱収縮持続時間はPPADS投与により減少するが、3.0μM以上の投与量ではプラトーに達した(図4A, B)。3.0μM以上投与時の最大膀胱収縮圧と膀胱収縮持続時間は投与前値に比較して、対照群ではそれぞれ約55%と60%に、2週群ではそれぞれ約45%と50%に抑制された。

3. NANC 収縮に対する PPADS の効果

atropine 0.5μMを投与して、等容量性律動性膀胱収縮における最大膀胱収縮圧が抑制されたことを確認したのち、PPADS投与の効果を検討した(図5)。

最大膀胱収縮圧は、対照群ではatropine投与により約50%に抑制されたが、PPADSを加えてもほとんど変化がなかった。これに対して閉塞2週群ではPPADS 1.0μM以上、閉塞4週群ではPPADS 3.0μM以上で収縮圧がさらに抑制された。PPADS 3.0μMでは閉塞2週ならびに4週群でatropine投与前収縮の

図3 atropine 単独投与後の容量反応曲線(対照群, 閉塞2週群)

atropine 投与前と投与後各濃度における最大膀胱収縮圧ならびに膀胱収縮持続時間の比較を行った。最大膀胱収縮圧ならびに膀胱収縮持続時間は atropine 用量依存性に減少し, 0.5 μ M 以上の投与量でプラトーに達した。

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

それぞれ 21%, 32% に抑制された。

静止時膀胱内圧は, 各群において薬剤投与による変化を認めなかった。しかし膀胱収縮持続時間は, 対照群, 閉塞2週群ならびに閉塞4週群において PPADS 3.0 μ M 投与で抑制された (表2)。

4. 最大膀胱収縮圧におけるコリン依存性分画と ATP 依存性分画の変化

図5に示した atropine と PPADS 併用投与の結果より, それぞれ 0.5 μ M, 3.0 μ M 投与で抑制された最大膀胱収縮圧の成分をコリン依存性成分ならびに ATP 依存性成分と設定し, 薬剤投与前の最大膀胱収縮圧に対する百分率で表した。

最大膀胱収縮圧は, 閉塞2週ならびに4週でそれぞ

図4 PPADS 単独投与後の容量反応曲線(対照群, 閉塞2週群)

PPADS 投与前と投与後各濃度における最大膀胱収縮圧ならびに膀胱収縮持続時間の比較を行った。最大膀胱収縮圧ならびに膀胱収縮持続時間は PPADS 用量依存性に減少し, 3.0 μ M 以上の投与量でプラトーに達した。

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

れ対照群の 1.5 倍, 1.4 倍に増加した (図2A)。この最大膀胱収縮圧に占めるコリン依存性成分の百分率は, 対照群では 43.5%, 閉塞2週では 43.7% と変化を認めなかったが, 閉塞4週では 26.7% に減少した。いっぽう ATP 依存性成分は, 対照群では 0.1% であったのに対し, 閉塞2週で 35.3%, 閉塞4週では 41.4% と著明な増加を示した (図6)。

考 察

前立腺肥大症患者の 45~58% には無抑制膀胱収縮がみられ¹⁵⁾, 前立腺肥大症は二次性不安定膀胱の代表的な原因疾患とされる。このような下部尿路通過障害に伴う無抑制収縮には atropine 抵抗性成分があり, これは phentolamine などの交感神経遮断薬でも抑制されない²⁾。その理由として NANC 神経の関与が考えられ, ex vivo の実験成績では神経伝達物質として

図5 最大膀胱収縮圧に対する atropine + PPADS の効果

投与前と atropine 単独ならびに atropine 投与下 PPADS 各濃度の最大膀胱収縮圧との間で比較を行った。対照群では、PPADS 投与により最大膀胱収縮圧はほとんど抑制されなかった。閉塞2週ならびに4週では atropine 投与前のそれぞれ 21%, 32% に抑制された。

表2 静止時膀胱内圧と膀胱収縮持続時間

実験群	投与前		atropine 0.5 μ M		PPADS 3.0 μ M	
	静止時内圧 (cmH ₂ O)	収縮持続時間 (sec)	静止時内圧 (cmH ₂ O)	収縮持続時間 (sec)	静止時内圧 (cmH ₂ O)	収縮持続時間 (sec)
対照	4.750 ± 0.235	37.450 ± 2.348	4.608 ± 0.279	30.133 ± 2.778	4.417 ± 0.281	23.467 ± 1.988 *
閉塞 1 日	6.067 ± 0.167	34.933 ± 1.809	6.000 ± 0.218	37.633 ± 1.903	5.933 ± 0.194	36.200 ± 1.665
閉塞 2 日	7.140 ± 0.401	21.400 ± 1.120	7.120 ± 0.409	23.660 ± 1.538	6.920 ± 0.322	27.220 ± 2.729
閉塞 1 週	7.525 ± 0.425	26.425 ± 1.800	7.225 ± 0.442	28.650 ± 1.930	6.725 ± 0.764	33.425 ± 2.172
閉塞 2 週	6.500 ± 0.202	29.040 ± 0.686	6.160 ± 0.548	26.700 ± 0.796	5.640 ± 0.465	26.480 ± 0.674 *
閉塞 4 週	6.400 ± 0.519	35.780 ± 1.673	6.040 ± 0.423	34.180 ± 1.547	5.960 ± 0.408	30.500 ± 1.210 *

平均値 ± 標準誤差, * p < 0.05

ATP が有力視されている¹⁰⁾。しかし in vivo で不安定膀胱における ATP 性伝達の関与は未だ確認されていなかった。そこで本研究では不安定膀胱のモデルとしてラットの閉塞膀胱を作成し、atropine 投与下の NANC 性収縮に対する ATP 受容体拮抗薬の効果を、経時的に検討した。

閉塞膀胱モデルは、尿道の閉塞条件によってその態様が異なる。高度閉塞モデルでは膀胱容量の増大を伴って膀胱重量が7~9 倍に増加し、電気刺激や be-

thanechol に対する収縮力の低下あるいは残尿量の増加が起きる^{16)~18)}。このような場合には高度かつ急激な尿道閉塞により、膀胱が過伸展された影響が無視できない。これに対して尿道閉塞の程度をより軽度にした実験モデルは、膀胱重量の増大が少なく、bethanechol に対する収縮力はむしろ増強し、前立腺肥大症などによる慢性閉塞性排尿障害に近似した病態を呈するとされている¹⁷⁾。本研究では、尿道に一定した軽度閉塞状態を作製するために、尿道の外側にスパーサー

図6 atropine + PPADS 投与による最大膀胱収縮圧からみたコリン性分画と ATP 性分画の相対比
各分画の比較は対照群との間で行った。コリン性分画は対照群では40%であったが、閉塞4週群では30%まで減少した。ATP 性分画は対照群では0.1%であったが、閉塞4週群では35%まで増加した。

となるカテーテルを添わせて結紮する方法をとった。その結果、閉塞4週後の膀胱重量の増大は2倍程度であり、最大膀胱収縮圧は閉塞4週後で約1.4倍に増加した。このような本実験モデルの閉塞条件は、Katoら²⁰⁾が称する軽度閉塞に合致する。また本実験で得られた静止時膀胱内圧の上昇は、膀胱コンプライアンスの低下と思われ、慢性閉塞膀胱に伴う不安定膀胱の特性を示しているのではないかと考えられた。なお本研究においてSham群としての手術症例群は設定していないため、手術操作のみ影響も無視出来ない。この点は今後の課題としたい。しかし閉塞膀胱モデルの報告は過去数多くの報告がされており、上述の本研究モデルの結果は閉塞モデルとしての特性を表現しているものとする。

現在P2X受容体は7種類のサブタイプ(P2X1-7)に細分化されているが、平滑筋細胞にはP2X1受容体のみが確認されている²⁰⁾。各受容体サブタイプに特異的な拮抗薬はないが、最近P2X1受容体に強い阻害作用をもつ選択的P2受容体拮抗薬としてPPADSが用いられるようになった¹⁴⁾。PPADSは知覚ニューロンの発現が確認されるP2X3受容体への感受性も強く他のATP受容体サブタイプへの感受性も弱いながらも存在するといわれている。しかし現時点において膀胱機能に関しPPADSを用いたin vivo実験はこれま

でなされておらず正常な膀胱収縮に対するPPADSの効果は不明である。そこで本研究ではPPADSを用いて、正常ならびに閉塞膀胱の排尿反射におけるP2X受容体を介したATP依存性膀胱収縮について検討した。detrusor instabilityの評価は、測定方法が閉鎖系ではないCMGでは膀胱内圧から収縮力を評価することが難しいため、等容量性律動性膀胱収縮における収縮反射時の最大圧の増加がinstabilityを反映するものとあつかった。

本研究において膀胱収縮持続時間は対照群、閉塞2、4週群においてPPADS投与により減少を示した。これはPPADS単独の膀胱の蓄尿機能への効果と考えたが、今回の結果では閉塞1日、2日、1週においては収縮持続時間に有為な減少を見せなかった。この現象はPPADSの膀胱の蓄尿機能に対する効果が、非閉塞状態では発現するが、閉塞急性期には発現しずらく、閉塞がある程度持続することで再び効果を回復するのではないかと想定される。

さらにatropine最大効果時のNANC収縮圧に対するPPADSの効果から、以下の所見が得られた。すなわち最大膀胱収縮圧に対するATP依存性収縮の発現は、非閉塞状態では0.1%に過ぎず、極めて微弱であった。これに対して尿道閉塞後には最大膀胱収縮圧が約1.4倍に増強したが、その増加分のほぼ全てがATP

依存性収縮であった(図6)。このようなATP依存性収縮の増強は、アセチルコリンのco-transmitterとされるATP¹⁹⁾に対して閉塞膀胱ではP2X受容体を介する収縮反応が亢進しているためと解釈できる。いっぽうKatoらは、閉塞膀胱では遊離膀胱平滑筋切片の電気刺激に対する収縮反応は減弱するが、bethanecolに対する収縮反応が増強すると報告し、この反応を末梢神経障害時の膀胱平滑筋のsupersensitivityであると説明している²¹⁾。

しかし、本研究ではコリン依存性成分の増加傾向が顕著ではない。これは膀胱収縮には持続時間が短く急峻なATP性収縮と持続時間が長く緩やかなコリン依存性収縮よりなる^{22)~24)}ことより、最大膀胱収縮圧がコリン依存性収縮よりもATP依存性収縮を反映しやすいためと考えられる。少なくとも、閉塞膀胱ではATP性収縮を含む収縮機序が亢進して閉塞状態に適応することが示唆される。

いっぽうPPADSの単独投与は、対照群において最大膀胱収縮圧を約40%減弱させる著明な収縮抑制作用を示しatropine存在下の場合とは異なった。最近、仙髄副交感神経節においてもATPがシナプス前性にアセチルコリン放出を調節する²⁵⁾という成績が報告されている。これに基づけば、本研究で上述の現象はATP受容体遮断薬が膀胱平滑筋のみならず副交換神経節にも同時に作用した結果を反映しているものと解釈できる。しかしながら本研究ではatropineを用いてアセチルコリンによる副交感神経性伝達を遮断したNANC収縮に対し、PPADSが膀胱収縮抑制効果を示した結果から、尿道閉塞によりP2X受容体を介するATP性収縮が亢進することは確かなこととみなされる。

以上に述べた本研究の結果から、下部尿路閉塞はP2X受容体を介するATP依存性収縮を亢進させ、これによって膀胱収縮力増強に反映される不安定膀胱が生じることが示された。この知見は、将来前立腺肥大症に代表される下部尿路通過障害に伴う不安定膀胱の治療に、ATP受容体関連薬剤が適用される可能性を示すものと考えられる。

文 献

- 1) Chesher, G.B. and Thorp, R.H.: The atropine resistance of the response to intrinsic nerve stimulation of the guinea-pig bladder. *Br. J. Pharmacol.*, **25**, 288—294, 1965.
- 2) Ambache, N. and Zar, M.A.: Non-cholinergic

- transmission by post-ganglionic motor neurons in the mammalian bladder. *J. Physiol.*, **210**, 761—783, 1970.
- 3) Sjogren, C., Andersson, K.E., Husted, S., Mattiasson, A. and Moller-Madsen, B.: Atropine resistance of transmurally stimulated isolated human bladder muscle. *J. Urol.*, **128**, 1368—1371, 1982.
- 4) Anderson, K.E., Husted, S. and Sjogren, C.: Contribution of prostaglandins to the adenosine triphosphate-induced contraction of rabbit urinary bladder. *Br. J. Pharmacol.*, **70**, 443—452, 1980.
- 5) Morita, T., Wheeler, M.A. and Weiss, R.M.: Age-related changes in contractile force of rabbit detrusor muscle to prostaglandin E1, E2 and F2 α . *Urol. Int.*, **42**, 44—48, 1987.
- 6) Anderson, G.F., Barraco, R.A., Normile, H.J. and Rosen, T.N.: Evidence for angiotensin II receptors in the urinary bladder of the rabbit. *J. Physiol. Pharmacol.*, **62**, 390—395, 1984.
- 7) Klarskov, P. and Petersen, J.H.: Influence of serotonin on lower urinary tract smooth muscle in vitro. *Br. J. Urol.*, **58**, 507—513, 1986.
- 8) Burnstock, G., Drumsday, B. and Smythe, A.: Atropine resistant excitation of the urinary bladder: the possibility of transmission via nerves releasing a purinenucleotide. *Br. J. Pharmacol.*, **44**, 451—461, 1972.
- 9) Burnstock, G., Cocks, T., Crowe, R. and Kasakov, L.: Purinergic innervation of the guinea-pig urinary bladder. *Br. J. Pharmacol.*, **63**, 125—138, 1978.
- 10) Burnstock, G., Cocks, T., Kasakov, L. and Wong, A.: Direct evidence for ATP release From non-adrenergic, non-cholinergic (purinergic) nerves in the guinea-pig taenia coli and bladder. *Eur. J. Pharmacol.*, **49**, 145—149, 1978.
- 11) 工藤貴正, 西沢 理, 菅谷公男, 宮形 滋, 下田直威, 立木 裕, 加藤哲郎, 河谷正仁, 岩下万彰: 尿道閉塞ラットにおける膀胱機能と膀胱で産生される神経成長因子の検討. *日泌尿会誌*, **87**, 176, 1996.
- 12) Nishizawa, O., Kawahara, T., Shimoda, N., Noto, H., Harada, T. and Tsuchida, S.: Effect of the methylene blue on the vesicourethral function in rats. *Tohoku J. Exp. Med.*, **168**, 621—622, 1992.
- 13) 立木 裕, 西沢 理, 下田直威, 佐藤智哉: 脊髄損傷ラットにおける下部尿路機能の変化と膀胱で産生される神経成長因子に関する実験的研究. *日本パラプレジア学会誌*, **8**, 68—69, 1995.
- 14) Lambrecht, G.: Design and pharmacology of selective P2-purinoreceptor antagonists. *J. Auton. Pharmacol.*, **16**, 341—344, 1996.
- 15) Anderson, J.T.: Detrusor hyperreflexia in benign

- infravesical obstruction ; a cystmetric study. *J. Urol.*, **115**, 532—534, 1976.
- 16) Levin, R.M., High, J. and Wein, A.J. : The effect of short-term obstruction on urinary bladder function in the rabbit. *J. Urol.*, **132**, 789—791, 1984.
 - 17) Malkowicz, S.B., Wein, A.J., Elbadawi, A., Van Arsdalen, K., Ruggieri, M.R. and Levin, R.M. : Acute biochemical and functional alterations in the partially obstructed rabbit urinary bladder. *J. Urol.*, **136**, 1324—1329, 1986.
 - 18) Malmgren, M., Sjogren, C., Uvelius, B., Mattiasson, A., Anderson, K. -E. and Anderson P.O. : Cystmetrical evaluation of bladder instability in rats with infravesical outflow obstruction. *J. Urol.*, **137**, 1291—1294, 1987.
 - 19) Burnstock, G. : The past, present and future of purine nucleotides as signaling molecules. *Neuropharmacol.*, **36**, 1127—1139, 1997.
 - 20) Kato, K., Wein, A.J., Kitada, S., Haugaard, N. and Levin, R.M. : The functional effect of mild outlet obstruction on the rabbit urinary bladder. *J. Urol.*, **140**, 880—884, 1988.
 - 21) Vulchanova, L., Arvidsson, U., Riedl, M., Wang, J., Buell, G., Surprenant, A., North, R.A. and Elde, R. : Differential distribution of two ATP-gated ion channels (P2X-receptors) determined by immunohistochemistry. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.*, **93**, 8063—8067, 1996.
 - 22) Chancellor, M.B., Kaplan, S.A. and Blaivas, J.G. : The cholinergic and purinergic components of detrusor contractility in a whole rabbit bladder model. *J. Urol.*, **148**, 906—909, 1992.
 - 23) Creed, K.E., Ishikawa, S. and Ito, Y. : Electrical and mechanical activity recorded from rabbit urinary bladder in response to nerve stimulation. *J. Physiol.*, **338**, 149—164, 1983.
 - 24) 小友 良, 下田直威, 佐藤 滋, 佐藤一成, 小川修, 加藤哲郎 : ラット膀胱ならびに尿道機能制御における ATP 受容体の役割. *日泌尿会誌*, **90**, 618—687, 1999.
 - 25) Nishimura, T. : Purinergic cation channels in neurons of rabbit vesical parasympathetic ganglia. *Neurosci. Lett.*, **212**, 215—217, 1996.
(2001 年 12 月 11 日受付, 2002 年 10 月 5 日受理)
-