



腹圧性尿失禁モデルラットに対する 八味地黄丸の骨盤底筋修復作用と 尿漏れ改善効果

菅谷公男¹⁾²⁾ / 西島さおり²⁾ / 稲木萌翔³⁾ / 松下哲也³⁾ / 赤木淳二³⁾

● 要約

八味地黄丸は泌尿器疾患へ頻用される漢方薬である。今回、雌ラットの腔内にバルーンを挿入して拡張させ（Vaginal distension：VD）、骨盤底筋群に障害を与えた腹圧性尿失禁モデルラットを用いて、八味地黄丸の尿漏れ改善効果および骨盤底筋群に及ぼす影響について検討した。八味地黄丸エキス（以下、HE）を2週間混餌投与した後に腹壁への電気刺激を行い、膀胱内に注入した生理食塩水が排出した時の腹圧下漏出時圧（Abdominal leak point pressure：ALPP）を測定したところ、VDにより低下したALPPはHE投与により有意に改善し、尿漏れ改善効果が確認された。次に、骨盤底筋群を標的とした作用機序を明らかにするため、HEもしくは八味地黄丸末（以下、HP）の投与から1週間後に外尿道括約筋を含む尿道全体を摘出し、筋転写調節因子のmRNA発現量を解析した。その結果、VDによって上昇したmyogeninおよびMyf6の発現量は、HEもしくはHPの投与により低下傾向を示し、筋損傷状態からの早期回復の様子がうかがえた。またこの時の外尿道括約筋深部より漏出した尿道灌流液中のカテコラミン量は、VDで高値を示したのに対し、HEもしくはHPの投与では正常レベルへ改善していた。このことから八味地黄丸は障害を受けた骨盤底筋群の修復を促進することで外尿道括約筋の収縮反応を正常化し、尿道閉鎖圧を高めて腹圧性尿失禁を改善するものと考えられた。

Key words：八味地黄丸，腹圧性尿失禁，骨盤底筋群

はじめに

骨盤底は、骨盤内の内臓を支えるとともに、尿や便を貯めたり出したりする排泄の機能を担っている。一方、妊娠・出産、荷重労働、加齢などにより骨盤底筋群や膀胱・尿道周囲の靭帯が障害を受けると、膀胱や尿道が骨盤内で不安定になり、腹圧性尿失禁を引き起こすことが知られている。

八味地黄丸は8種の生薬から構成される漢方薬であり、主に体力中等度以下のものの頻尿、残尿感、排尿困難などの慢性泌尿器疾患に用いられている。

その剤形の多くはエキス製剤であるが、古くから生薬末を蜂蜜で練り合わせた丸剤としても用いられている。八味地黄丸についてはこれまでに、頻尿や排尿障害、前立腺肥大などを中心に臨床効果に関する報告がいくつかあるが^{1)~4)}、作用機序に関する薬理研究は限定的である⁵⁾⁶⁾。そこで本研究では八味地黄丸の薬理評価研究の一環として、八味地黄丸の一般用医薬品の効能・効果「軽い尿漏れ」に着目し、腹圧性尿失禁モデルラット⁷⁾を用いた尿漏れ改善効果およびその作用機序について検討した。

1) 北上中央病院 泌尿器科，2) 株式会社サザンナイトラボラトリー，3) 小林製薬株式会社 中央研究所

連絡先：北上中央病院 泌尿器科 菅谷公男

〒904-0101 沖縄県中頭郡北谷町字上勢頭 631-9

TEL：098-936-5111 FAX：098-936-9225 E-mail：sugaya@sklabo.co.jp

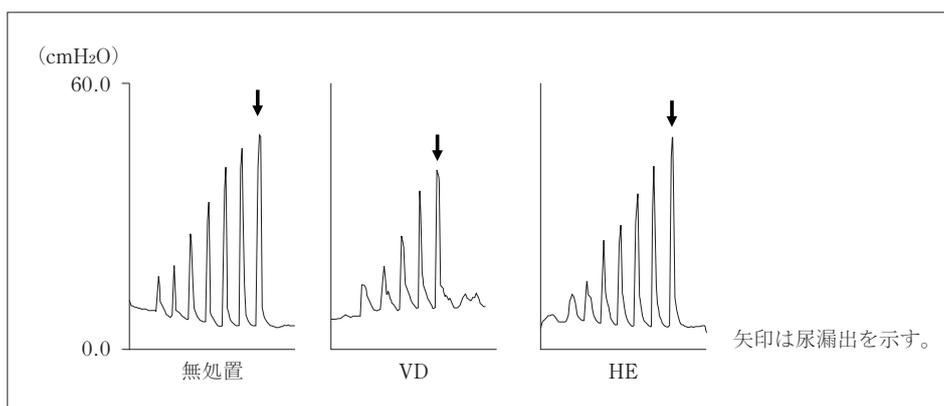


図1 ALPP測定の典型例

I. 材料および実験方法

1. 使用薬物

八味地黄丸エキス末（以下、HE）は、第十八改正日本薬局方⁸⁾に従い、ジオウ（5）、サンシュユ（3）、サンヤク（3）、タクシャ（3）、ブクリョウ（3）、ボタンピ（3）、ケイヒ（1）、ブシ末（1）を括弧内の重量比で混合した生薬を熱水抽出し、乾燥させたものを使用した。また、各生薬を粉砕し、生薬末として同様の重量比で混合したものを八味地黄丸末（以下、HP）として使用した。それぞれ粉末含量が1.0% HE および1.6% HP（w/w）となるように粉末飼料（CE-2、日本クレア株式会社）に混合して試験飼料を調製した。なお、使用薬物は小林製薬株式会社より提供されたものを使用した。

2. 実験動物

8週齢のSprague Dawley 雌性ラット（56頭、日本エスエルシー株式会社）を購入し、1週間予備飼育後、実験に使用した。飼育期間中、飼料および水道水は自由に摂取させた。なお、動物実験は、沖縄動物実験委員会（承認番号2022007）にて承認された内容にて実施した。

3. 腔バルーン拡張

イソフルレン吸入麻酔下に腔内に挿入した10Fバルーンカテーテルのバルーン内に4mLの水を注入し、腔口を閉じて3時間放置して骨盤底筋群を損傷した（40頭）（Vaginal distension：VD）。VD後は抗生物質（セファゾリンナトリウム30mg、ニプロ株式会社）を皮下投与した。

4. 尿漏出最小膀胱内圧測定

VDラット16頭を2群に分け、対照群（VD群、

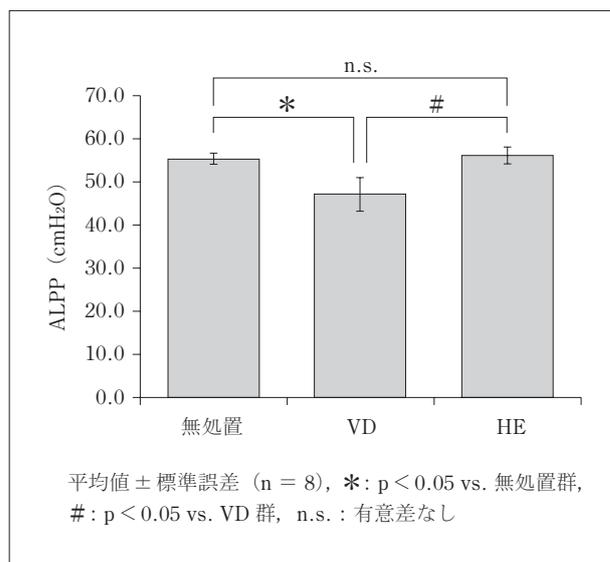


図2 ALPPに対するHEの影響

8頭）およびHEを投与する群（HE群、8頭）とした。また、VDを施していない正常ラットを無処置群（8頭）とした。無処置群およびVD群は通常飼料、HE群は試験飼料で2週間飼育した後、ウレタン麻酔（1.2 g/kg、1/3腹腔内、2/3皮下投与）下に左右の骨盤神経と下腹神経を尿管とともに結紮して膀胱収縮が出現しないようにし、膀胱頂部より膀胱瘻を造設した。左右腹壁に刺激電極を設置して10秒毎に1秒間の電気刺激（duration：0.2 ms、50 Hz、最大35 V）を行い、刺激強度を徐々に強めて、膀胱内に入れた赤色の食紅生食（0.2 mL）が外尿道口から排出されるときALPPを測定した⁹⁾。

5. 外尿道括約筋および尿道灌流液評価

VDラット24頭を3群に分け、VD群（8頭）、

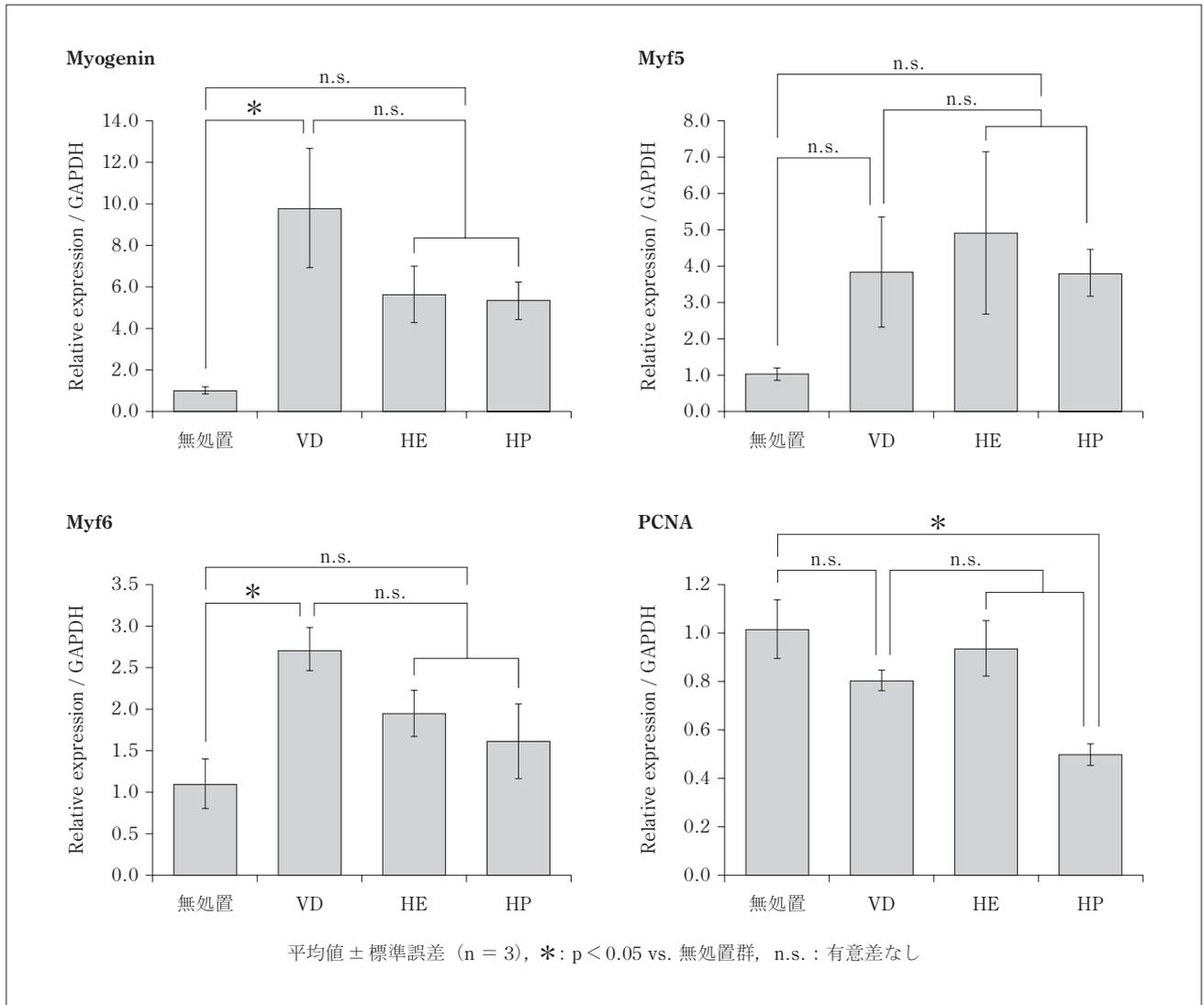


図3 mRNA発現に対するHEおよびHPの影響

HE群(8頭)およびHP群(8頭)とした。また、VDを施していない正常ラットを無処置群(8頭)とした。無処置群およびVD群は通常飼料、HE群およびHP群は試験飼料で1週間飼育した後、以下のとおり外尿道括約筋および尿道灌流液を採取し、評価した。

外尿道括約筋採取: 各群の3頭について、イソフルレン吸入麻酔下に膀胱頸部で膀胱と尿道を切断し、尿道と一体化している腔前壁を付けて尿道を摘出し、凍結保存した。その後、RT-qPCR法にて筋組織中の筋転写調節因子(myogenin, myogenic factor 5: Myf5, myogenic factor 6: Myf6, myoblast determination protein 1: MyoD), 筋増殖抑制因子(myostatin), 増殖細胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen: PCNA), アド

レナリン受容体(A1a, A1d), インターロイキンIL-6の発現レベルを調べた。

尿道灌流液採取¹⁰⁾: 各群の5頭について、ウレタン麻酔(1.2 g/kg, 1/3腹腔内, 2/3皮下投与)下に尿道右側の外尿道括約筋深部(内外尿道括約筋境界部)に24Gのサーフロー針(SROT2419C; テルモ)を挿入し、内針をぬいて、その内針(27G)を尿道左側の外尿道括約筋深部に刺入し、そこから約2時間にわたって生理食塩水を緩徐(2 mL/h)に注入した。サーフロー外針に流入する生理食塩水や尿道周囲に漏れ出てくる生理食塩水(尿道灌流液)を採取して凍結保存し、カテコラミン量(アドレナリン, ノルアドレナリンおよびドパミン)を株式会社ビー・エム・エルにて委託して測定した。

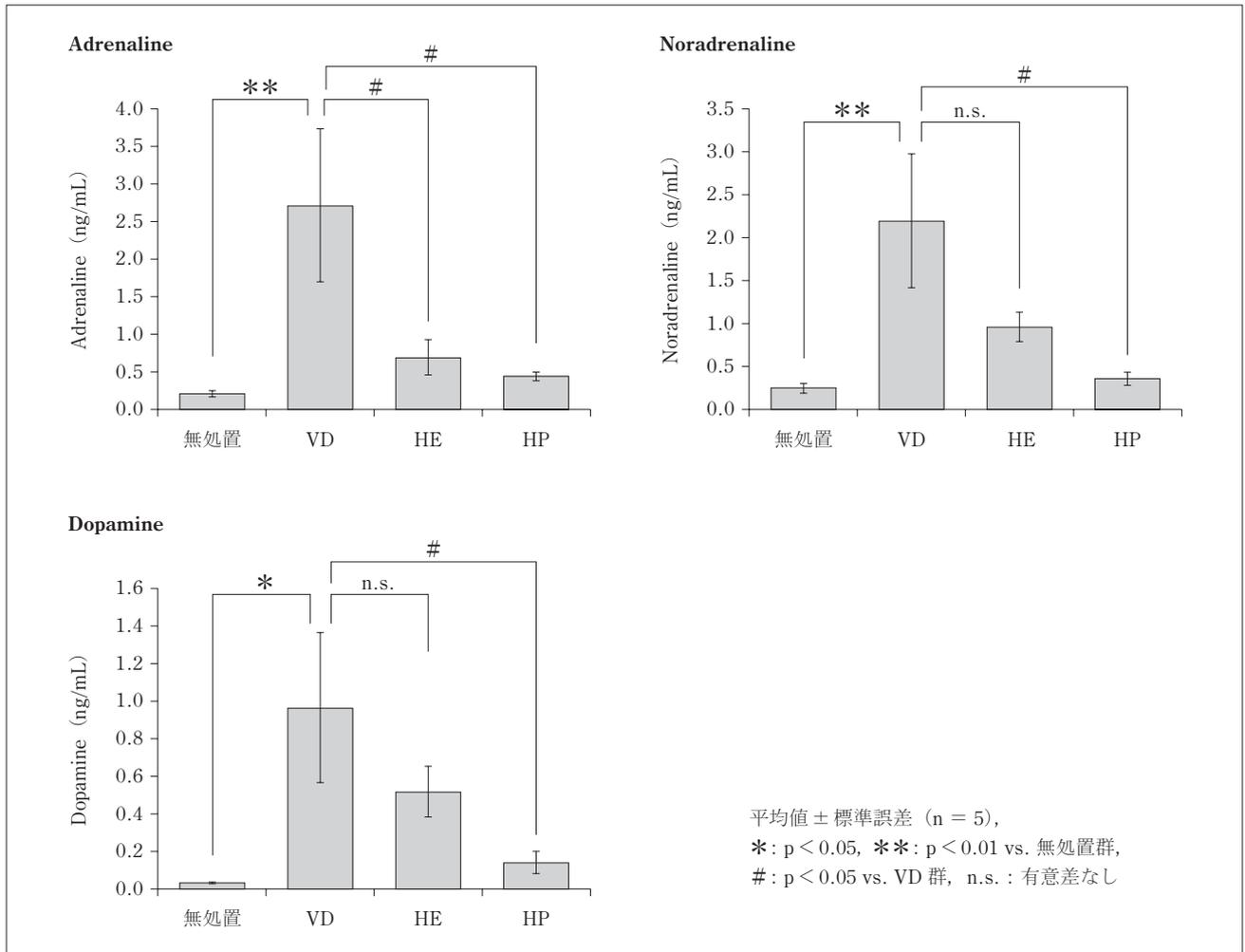


図4 カテコラミン量に対するHEおよびHPの影響

6. 統計解析

結果はすべて平均値および標準誤差で示した。統計解析は、一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合、3群間の比較はFisher's LSD、4群間の比較はTukeyで多重比較検定を行った。いずれの検定においても有意水準は5%とした。統計解析にはExcel統計Ver.3.21を使用した。

II. 結果

ALPPの結果を図1および図2に示した。VD群のALPPは無処置群に対して有意に低下した。一方、HE群のALPPはVD群よりも有意に高く、無処置群と同程度まで回復した。

mRNA発現解析の結果を図3に示した。MyogeninおよびMyf6のVD群の発現量は無処置群に対して有意に増加した。一方、HE群およびHP群は、VD群に対して有意差はないものの低下

傾向を示し、また無処置群との間に有意差は認めなかった。Myf5は無処置群に対して有意差はないものの、VD群、HE群およびHP群のいずれも増加傾向にあった。増殖細胞核抗原であるPCNAの発現量は、無処置群に対してHP群でのみ有意に低値を示した。なお、MyoD, myostatin, A1a, A1d, IL-6は測定限界値以下であった。

尿道灌流液内アドレナリン、ノルアドレナリンおよびドパミンはいずれも無処置群に対してVD群で有意に増加した(図4)。これに対してHE群のアドレナリンはVD群に対して有意に低下し、またHP群においてはアドレナリン、ノルアドレナリン、ドパミンのいずれにおいても有意に低下した。

III. 考察

八味地黄丸は泌尿器疾患に頻用される処方であり、特に老人の泌尿器トラブルに利用される機会が

多い。今回、骨盤底筋群に弛緩・損傷の障害を加えた腹圧性尿失禁モデルラットを用いて八味地黄丸の評価を行った結果、2週間のHEの投与によりALPPは有意に改善し、尿漏れに対する効果が確認された。VDによって損傷を受けた骨盤底筋群は、その後1週間でmyogeninなどの筋転写調節因子のmRNA発現がピークとなり、修復に伴い発現が減少していくことが報告されている¹¹⁾。そこで骨盤底筋群の治癒過程に対する八味地黄丸の影響を明らかにする目的で、HEもしくはHPの投与から1週間後に外尿道括約筋を含む尿道を摘出し、筋転写調節因子について評価した結果、VDによって上昇したmyogeninやMyf6のmRNA発現は、HEやHPの投与群では低下傾向にあり、VD群で認められた無処置群との有意差もHE群やHP群では消失した。Myogeninは骨格筋の損傷に反応して速やかに上昇するものの、温熱療法などの治癒促進療法では自然経過での治癒過程よりも数日のうちに早期に低下することが報告されており¹²⁾、今回の結果も八味地黄丸がVDに伴う外尿道括約筋損傷を自然経過よりも早期に回復させることで筋転写調節因子が低下傾向にあったものと考えられた。織部らは、子宮脱に対する術後の八味地黄丸の投与が、膀胱機能を早期に回復させ、膀胱周囲組織の修復を助けている可能性を報告しており¹³⁾、また、Takedaらはマウス骨格筋筋芽細胞株C2C12細胞を用いた評価で、八味地黄丸は分化プロセスに影響せず、未分化の筋芽細胞の増殖を促進し、筋組織の損傷修復を誘導するのに役立つ可能性を報告している¹⁴⁾。つまり、八味地黄丸は、骨盤底筋群の障害に対して組織修復を誘導し、筋損傷状態を早期に回復させることにより尿漏れ改善作用を発揮するものと考えられた。

VD群における尿道灌流液内カテコラミン濃度の上昇はVDによる組織損傷に伴う何らかの機序によるものと考えられる。外尿道括約筋には速筋の収縮に関わる $\beta 2$ アドレナリン受容体が発現しており¹⁵⁾、単純に考えればカテコラミン濃度が高いほど外尿道括約筋が収縮しALPPは高くなると考えられる。しかし、実際はVDはALPPを低下させたことから(図2)、VD群はカテコラミンによる外尿道括約筋の収縮能が一部破綻していると推察される。つまり、VD群は損傷に伴いカテコラミン濃度が上昇するがそのカテコラミンの効果は尿道収縮に

十分に反映されず、一方で、八味地黄丸の投与によって損傷からの回復が早まることでカテコラミン効果が発揮され易くなり、尿漏れの改善作用をもたらすと考えられた。

通常、八味地黄丸は、エキス末として1日3.3g～4.4g、生薬末として1日6gが満量処方として服用されており¹⁶⁾、生薬末のほうが1日服用量が1.3～1.8倍多い。今回、このヒト用量比をもとに飼料配合量を1.0% HEならびに1.6% HP (w/w)に設定し、試験を行った。その結果、myogeninやMyf6のmRNA発現についてはHE群およびHP群で同様の挙動を示したが、増殖細胞核抗原のPCNAはHP群のみ有意に低下し、また、ノルアドレナリンおよびドパミンはHP群でのみ有意に低下したことから、骨盤底筋群の回復はHEよりHPの方が早い可能性が推測された。

以上、本研究の結果から、八味地黄丸は障害をうけた骨盤底筋群の修復を促進することで外尿道括約筋反応を正常化し、尿道閉鎖圧を高めて腹圧性尿失禁の改善に役立つものと考えられた。

IV. 引用文献

- 鎌田正晴, 安井敏之, 苛原 稔, 青野敏博, 山本晶弘, 香川 征, 桜井紀嗣, 浜尾 巧: 中高年婦人の排尿障害に対する八味地黄丸の効果. 日本更年期医学会雑誌 1993; 1: 172-177.
- 有馬正明, 佐川史郎, 園田孝夫: 排尿障害に対する保存的治療—八味地黄丸の使用経験について—. 泌尿紀要 1979; 25: 1231-1234.
- 八木 宏, 西尾浩二郎, 佐藤 両, 川口真琴, 小堀善友, 芦沢好夫, 宋 成浩, 新井 学, 岡田 弘, 土佐寛順: 男性下部尿路疾患に対する八味地黄丸の効果の検討. 日東医誌 2015; 66: 49-53.
- 浦田英男, 浜野耕一郎, 多田 茂, 森 幸夫, 波部英夫, 森 脩, 大串典雅, 永野道夫: 前立腺肥大症における八味地黄丸の使用による排尿動態の観察. 泌尿紀要 1979; 25: 983-990.
- 洲加本孝幸, 伊藤敬三, 能勢尚志: 八味地黄丸エキスの膀胱に対する作用. 基礎と臨床 1982; 16: 179-185.
- 鈴木孝憲, 岡崎 浩, 鈴木光一, 黒川公平, 東 洋臣, 鈴木和浩, 山中英壽: 麻酔下イヌ生体位膀胱機能に対する八味地黄丸の作用. 北関東医学 2000; 50: 15-19.
- Kamo I, Kaiho Y, Canon TW, Chancellor MB, de groat WC, Prantil RL, Vorp DA, Yoshimura N: Functional analysis of active urethral closure mechanism under sneeze-induced stress condition in a rat model of birth trauma. J Urol 2006; 176: 2711-2715.

- 8) 第十八改正日本薬局方, 令和3年6月7日厚生労働省
公示第220号.
 - 9) Kamo I, Hashimoto T: Involvement of reflex urethral
closure mechanisms in urethral resistance under
momentary stress condition induced by electrical
stimulation of rat abdomen. *Am J Physiol Renal Physiol*
2007; **293**: F920-F926.
 - 10) Nishijima S, Sugaya K, Kadekawa K, Ashitomi K, Ueda
T, Yamamoto H: Propiverine increases urethral wall
catecholamine levels and bladder leak point pressure in
rats. *Int J Urol* 2016; **23**: 93-99.
 - 11) Salerno GRF, Bortolini MAT, Gomes RCT, Feitosa SM,
Simões MJ, Zanoteli E, Castanho FL, Castro RA: The
molecular effects of electrical stimulation on the muscle
components of the urethra of female rats after trauma
by vaginal distention. *Neurourol Urodyn.* 2020; **39**: 576-
585.
 - 12) Hatade T, Takeuchi K, Fujita N, Arakawa T, Miki A:
Effect of heat stress soon after muscle injury on the
expression of MyoD and myogenin during regeneration
process. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2014; **14**:
325-333.
 - 13) 織部和宏, 西田欣広: 子宮脱の術後不快感に対する八
味地黄丸の効用. *月刊漢方療法* 2006; **10**: 50-56.
 - 14) Takeda T, Tsuiji K, Li B, Tadakawa M, Yaegashi N:
Proliferative effect of Hachimijiogan, a Japanese herbal
medicine, in C2C12 skeletal muscle cells. *Clin Interv
Aging* 2015; **10**: 445-451.
 - 15) 関 成人: 排尿障害治療薬の現用と問題点. *日薬理誌*
2007; **129**: 368-373.
 - 16) 西岡五夫, 大塚恭男, 菊谷豊彦: 漢方の基礎と応用,
株式会社薬事新報社, 東京, 1984.
-