综述

文章编号:1000-5404(2006)10-1128-03

逼尿肌过度活动的研究进展

卢根生,宋 波 (第三军医大学西南医院全军泌尿外科中心,重庆 400038)

正常膀胱在储尿期处于一种舒张状态,这有利于维持较低的膀胱内压,如果由于某种病因在储尿期出现了非自主性的膀胱收缩就称之为逼尿肌过度活动(detrusor overactivity, DO),常见于良性前列腺增生、后尿道狭窄等疾病。曾使用过的名称较多,如不稳定膀胱,逼尿肌不稳定等,现在国际尿控协会(ICS)统一规定使用逼尿肌过度活动这一名称,以便于临床诊治和学术交流。DO可以引起尿急、尿频、夜尿增多甚至尿失禁等下尿路症状,严重影响患者的生活质量。流行病学调查显示其发病率很高,是最为常见的排尿功能障碍之一。目前DO在临床上缺乏有效的治疗手段,主要依靠抗胆碱能神经药物缓解症状,但疗效不甚理想且由于较为严重的副作用使得患者治疗的依从性很差,所以加强DO发病机制的研究从而寻找有效的治疗方法已成为当务之急。现对国内外近年来相关研究进展综述如下。

1 逼尿肌兴奋性与逼尿肌过度活动

逼尿肌在体内和体外均表现出自发性的兴奋、收缩,这种自发收缩不受神经因素的调节控制,是逼尿肌本身固有的一种内在特性,逼尿肌通过兴奋收缩耦联机制介导收缩的产生。目前已经明确这种自发兴奋的增强与DO的发病有着密切的联系[1,2],因此针对自发兴奋的研究已成为该领域的一个"焦点",研究且较为活跃。

1.1 逼尿肌自发兴奋的起源研究

一直以来均将逼尿肌自发兴奋的起源归于逼尿肌细胞本身,但最近在膀胱组织中发现的一类形态和胃肠道起搏细胞Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)极为相似的间质细胞(ICC样细胞)对这种传统观点提出了挑战。膀胱中的ICC样细胞主要分布于尿路上皮下的固有层内以及逼尿肌束之间。在光镜和电镜下其形态与一般的逼尿肌细胞具有很大的差异。典型的逼尿肌细胞呈纺锤形,没有分支,c-kit免疫染色阴性;而ICC样细胞则具有较多的分支,细胞核大,胞内具有较多的线粒体,特异性标志物c-kit免疫组化阳性;从功能上看,逼尿肌给予去极化刺激以后会产生收缩,而ICC样细胞则由于缺乏收缩蛋白不会产生收缩。在胃肠道中ICC细胞已经被证实为产生自发兴奋的起搏点(pacemaker)。这就提出了一种有趣的可能:膀胱中的ICC样细胞是否为自发兴奋的起搏点?c-kit是一种受体酪氨酸激酶,其介导的信号通路对于胃肠起搏细胞的发育、增殖和产生自发兴奋的特性都具有关键性的影响,因而其不仅是形态上鉴定ICC类细胞的特异性分子标志,更成为研究其功能的突破口;在c-kit基因突变,受体酪氨酸激酶功能严重削弱的小鼠W/W^{v}上观察到:该小鼠平滑肌层的ICC细胞发育障碍,细胞网络破坏严重,胃肠慢波消失,从而确切地证实了ICC细胞是胃肠的起搏细胞[3]。受到这种思路的启发,最近Kubota等[4]利用c-kit特异性阻断剂格列卫(Glivec)观察抑制ICC样细胞后对逼尿肌功能的影响,发现ICC样细胞受抑后自发兴奋消失,提示ICC样细胞有可能作为逼尿肌的起搏点,该作者随后观察到在DO大鼠逼尿肌组织中的ICC样细胞密度明显增加,提示可能参与了DO兴奋性增加的调节[5];与此类似,最近Brading[6]在DO患者的逼尿肌组织中也发现和动物模型相似的ICC样细胞数目增多,这为DO逼尿肌兴奋性增加的调节机制提供了新的有趣的研究线索;Hashitani等[7]在豚鼠的离体肌条中发现自发兴奋和胞浆钙瞬变首先产生于逼尿肌束的边界然后通过缝隙连接传递给周围的平滑肌,而免疫组织学显示ICC样细胞正好位于肌束的边界。但McCloskey[8]在急性分离的ICC样细胞中利用膜片钳技术却未能记录到自发性的电位变化,但作者并未否定ICC样细胞具有自发电活动的可能,并分析可能只是部分具有ICC样形态的分支细胞具有自发电活动,实验结果和取材可能有关;而Montgomery等[9]在急性分离的少数逼尿肌细胞上曾记录到自发性的动作电位。目前关于ICC样细胞在膀胱中扮演的功能以及其是否是膀胱的起博点还存在争议,尚未有定论,有待进一步的深入研究予以揭示。但不管怎样,ICC样细胞的发现和鉴定是近年来逼尿肌生理和病理生理研究上令人瞩目和振奋的一项进展。随着研究的深入,相信一定会为理解逼尿肌兴奋的产生甚至逼尿肌过度活动的发病机制带来全新的认识。

1.2 逼尿肌自发兴奋产生的离子基础

逼尿肌兴奋的实质是产生动作电位,所以了解其兴奋性必然需要较为透彻地研究构成动作电位活动的各种离子通道活动。现已经明确逼尿肌膜去极化主要由T型和L型钙离子通道介导的钙内流引起。T型钙离子通道具有低电压激活的特性,其阈电位位于静息电位附近,很容易被微小的膜去极化激活,Chow等[10]使用T型钙通道阻断剂$NiCl_2$作用于逼尿肌条后发现,自发兴奋频率显著下降,推测T型钙通道对于自发兴奋起着重要的正性调节作用;L型钙通道则构成了动作电位去极化的主要部分,其在比T型钙通道高20~30 mV的电位下被完全激活,药物阻断或是敲除L型钙通道后逼尿肌自发兴奋完全消失[11],其在自发兴奋产生中的重要作用不言而喻;逼尿肌动作电位复极化主要由大电导的钙激活钾通道(large conductance Ca^{2+}-activated K^+ channel, BK)介导,同时小电导的钙激活钾通道(small conductance Ca^{2+}-activated K^+ channels, SK)以及

作者简介:卢根生(1965-),男,湖北省黄冈市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事小儿泌尿外科、膀胱癌、膀胱功能障碍性疾病方面的研究,发表论文30余篇。电话:(023) 68754265, E-mail: lugeng@hotmail.com

收稿日期:2005-12-16;修回日期:2006-03-15

电压依赖性钾通道(voltage-sensitive K^+ channel，KV)在复极化后电位形成中发挥重要作用。这 3 种钾离子通道对于稳定逼尿肌的膜电位均发挥显著的作用，使用相应的离子通道特异性抑制剂后发现，其中任何一种 K^+ 通道被阻断后均导致逼尿肌兴奋性升高[12]。Thorneloe 等[13]观察了 BK 基因敲除小鼠的膀胱功能改变，发现缺失该基因的小鼠体外肌条实验逼尿肌收缩频率明显增快，行为实验显示排尿次数增加，尿流动力学检查发现膀胱内压增加，在储尿期膀胱内压发生明显波动等逼尿肌过度活动表现；同样，SK 基因抑制小鼠也出现了明显的逼尿肌过度活动表现[14]。在逼尿肌细胞中 BK 活性主要受细胞内钙火花的调节，两者构成了逼尿肌兴奋性的负反馈调节回路。钙火花是由表达在逼尿肌肌质网膜上的 ryanodine 受体开放钙离子由胞内钙库释放到细胞质时形成的一种局部一过性钙瞬变，与激动剂引起的整个胞浆钙升高不同，钙火花的发生范围和持续时间都非常短暂，其发生对于整个胞浆钙浓度没有显著影响，属于所谓的局部钙信号(elementary calcium signaling)的一种。在逼尿肌中有不少肌质网非常靠近细胞膜上的 BK 通道，静息时肌质网上的 ryanodine 受体会自发开放形成钙火花，这种钙火花随后激活了临近的细胞膜上的 BK 通道从而形成一过性外向电流(spontaneous transient outward currents，STOCs)使得膜电位超极化，细胞兴奋性降低。这种负反馈机制对于逼尿肌兴奋性的调控发挥着重要的作用。最近笔者所在的研究小组实验发现在 DO 状态下，ryanodine 受体对于 BK 通道的负反馈调节作用严重削弱，进一步的分子生物学实验表明 ryanodine 通道蛋白表达的下调可能是其产生的机制[15]，这进一步证实了 BK 通道功能的完整性对逼尿肌兴奋性调节具有重要的作用。

1.3　自发兴奋在逼尿肌中的传递

在可兴奋组织中，细胞和细胞之间的兴奋传递是通过缝隙连接进行的。缝隙连接是由表达在相邻细胞膜上的各 6 个连接蛋白(connexin，Cx)组装而成的一种特殊结构，connexin 是一个蛋白超家族，在膀胱逼尿肌中以 Cx43 为主要类型。由于缝隙连接在细胞之间提供了国个低电阻区域，从而使得兴奋可以较为容易的在此处通过，同时，缝隙连接也是目前发现的细胞间兴奋传递的唯一结构。缝隙连接使得可兴奋组织细胞之间形成了同步化的活动，较为典型的例子就是我们熟知的心脏“闰盘”结构。在正常膀胱，逼尿肌之间的缝隙连接很少，细胞之间处于一种电活动的分散状态，这使得某个部位起源的兴奋只能局限在周围有限的几个细胞，不能形成同步活动，这有利于维持膀胱充盈期的舒张和低压状态。最近研究表明在 DO 状态下逼尿肌细胞间的缝隙连接蛋白 Cx43 表达大量增加，扫描电镜提示细胞间缝隙连接结构显著增多，荧光光漂白恢复实验表明细胞之间通讯加强。这充分说明在 DO 状态下，逼尿肌细胞之间形成了丰富的兴奋传递网络，对 DO 的发病起到了重要的作用[16,17]。在 DO 状态下，某个部位起源的逼尿肌自发兴奋就不止局限在局部，而且可以通过增加的缝隙连接网络向周围广泛扩步，造成较大范围的逼尿肌收缩和膀胱内压升高引起逼尿肌过度活动。当然，并不是所有的兴奋均能扩散，这还涉及到缝隙连接的开关状态(gating)。

2　Rho 激酶与逼尿肌过度活动

平滑肌收缩分为钙依赖和钙不依赖 2 条途径。钙依赖途径是指当平滑肌胞浆内钙升高时，钙与钙调蛋白结合形成复合体，该复合体激活 MLCK 活性使得平滑肌肌球蛋白轻链磷酸化导致收缩的发生。当平滑肌肌球蛋白轻链去磷酸化时就使得其舒张。Rho 激酶又名 Rho 蛋白相关卷曲螺旋激酶，是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员。Rho 激酶抑制平滑肌肌球蛋白磷酸酶活性，减少肌球蛋白轻链的去磷酸化水平，间接引起肌球蛋白轻链磷酸化增加进而导致所谓的非钙离子依赖性收缩。Rho 激酶活性升高与一些平滑肌异常收缩疾病的关系近年来受到重视，例如高血压、哮喘等。我们最近的研究发现，Rho 激酶在梗阻性 DO 逼尿肌组织中其两种亚型 ROCK Ⅰ和 ROCK Ⅱ的 mRNA 表达升高并以 ROCK Ⅰ升高最为明显。进一步的功能实验观察 Rho 激酶特异性抑制剂 Y-27632 对于离体逼尿肌条自发收缩的影响。结果表明 Y-27632 对正常大鼠逼尿肌条自发收缩无明显影响，而对 DO 逼尿肌组织自发收缩的频率和收缩强度具有较为显著的抑制，提示 Rho 活性增加介导的非钙依赖性收缩可能参与 DO 的发病[18]。自发性高血压大鼠也表现出某种程度的逼尿肌过度活动。Rajasekaran 等[19]最近在自发性高血压大鼠上利用 Y-27632 灌注膀胱腔发现该大鼠排尿次数明显减少，膀胱自发性非排尿收缩受到抑制，而且与正常对照大鼠相比 Rho 蛋白表达升高，说明 Rho 激酶活性增高也参与了自发性高血压大鼠逼尿肌过度活动的发病。

3　膀胱尿路上皮功能改变与逼尿肌过度活动

一直以来被覆在膀胱内腔的尿路上皮仅仅被视为阻挡尿液中的成分向膀胱组织渗透的一层被动屏障，对其功能的研究重视不够。但近年研究表明，除了屏障作用，尿路上皮还在多种生理和病理状态下发挥重要作用。尿路上皮依靠其细胞之间丰富的紧密连接有效地阻挡尿液成分的渗透，但其同时也能够分泌多种生物活性物质，并通过这些物质调节逼尿肌张力和膀胱感觉神经的功能。现已明确，尿路上皮细胞在膀胱感觉中实际上起到“容量感受器”的作用，当膀胱充盈时，尿路上皮被动牵张，通过目前还未明确的某种机制，ATP 从上皮细胞分泌到黏膜下以及固有层中，与位于此处的膀胱感觉神经末梢上的嘌呤能神经受体 P2X2/3 结合产生尿液充盈的感觉，其强弱与膀胱充盈程度以及伴随的 ATP 分泌量成正相关[20,21]。在膀胱过度充盈时，ATP 被大量分泌到黏膜下和固有层内，从而产生强烈的尿意甚至不可抑制的膀胱收缩导致尿失禁。Khera 等[22]发现在 DO 大鼠模型，尿路上皮基础 ATP 的分泌量是正常尿路上皮分泌量的 9 倍左右，牵张刺激引起的 ATP 分泌量也有显著升高，过高的 ATP 分泌量导致感觉神经过敏，进而激活脊髓排尿反射引起非自主性膀胱收缩造成 DO。这种尿路上皮功能的改变参与了某些类型 DO 的发病，这为临床治疗 DO 提供了新的靶点和思路。

4　C 类传入纤维敏化与逼尿肌过度活动

正常膀胱存在的感觉纤维主要分为 Aδ 类和 C 类，Aδ 类为有髓鞘快传输纤维而 C 类传入纤维为无髓鞘的慢传输型神经纤维。膀胱的传入神经(健康脊髓)的兴奋主要由 Aδ 类纤维介导，Aδ 纤维通过脊髓将信息传到脑干，然后传递至中脑水管周围的灰质，最后将膀胱充盈情况传递到脑桥排尿中枢[23]。C 类纤维在正常生理情况下只在膀胱高度充盈时被激活，传导痛

觉感受，除此之外，C 类纤维还介导了一种不受意识控制的脊髓排尿反射，这种反射在正常成人是“安静”的，并不发挥作用。但最近研究表明在 DO 状态下，由 C 类纤维介导的该排尿反射异常激活，从而出现不受意识控制的逼尿肌过度活动。Silva 等[24]发现，当给予 DO 患者膀胱腔内灌注 resiniferatoxin 后 30 d 和 90 d，行充盈性膀胱测压和排尿日记检查，发现患者的最大膀胱容量显著增大，非排尿收缩明显减少，每日平均尿失禁次数和每日平均排尿次数均显著减少，逼尿肌过度活动受到明显抑制，膀胱功能得到明显改善。Resiniferatoxin 是从大戟属生树脂橡胶提取的一种辣椒辣素类似物，经膀胱腔内灌注后可以选择性结合在 C 类纤维的辣椒辣素受体 VR1 上，使 C 类纤维“脱敏”。Resiniferatoxin 应用能够有效抑制逼尿肌过度活动表明 C 类纤维参与了某些类型 DO 的发病。目前关于 C 类纤维“敏化”的具体机制还未明确，现有实验结果表明可能与神经生长因子（nerve growth factor, NGF）在膀胱局部的过高表达有关[25]。

5 展望

逼尿肌过度活动由于发病率高，缺乏有效治疗措施，所以一直是泌尿外科领域的 1 个研究“热点”问题。以往的研究主要集中在对逼尿肌的认识上，近年来对于 Rho 激酶膀胱尿路上皮以及 C 类传入纤维作用的研究丰富了我们对于膀胱生理和病理生理的认识，带来了许多新的观念。应该看到，DO 的发病机制是非常复杂的，可能涉及到多个作用位点和多种因素的参与，而且不同的病因可能其发病机制也不尽相同。但不管怎样，只有关于发病机制的基础研究进行得越深入和充分，我们对于其本质的认识才会越深刻。相信相关基础研究的成果会为临床治疗带来新的思路和策略，我们热切期望有着更多更快的突破，为患者造福。

关键词：逼尿肌过度活动；逼尿肌兴奋性；Rho 激酶；膀胱尿路上皮；C 类传入纤维

中图法分类号：R694　　**文献标识码**：A

参考文献：

[1] FRY C H, SUI G P, SEVERS N J, *et al*. Spontaneous activity and electrical coupling in human detrusor smooth muscle: implications for detrusor overactivity? [J]. Urology, 2004, 63(3 Suppl 1): 3 - 10.

[2] 宋　波. 逼尿肌兴奋性及逼尿肌不稳定[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(22): 1969 - 1971. .

[3] HUIZINGA J D, THUNEBERG L, KLUPPEL M, *et al*. W/kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity[J]. Nature, 1995, 373(6512): 347 - 9.

[4] KUBOTA Y, KAJIOKA S, BIERS S M, *et al*. Investigation of the effect of the c-kit inhibitor Glivec on isolated guinea-pig detrusor preparations[J]. Auton Neurosci, 2004, 115(1 - 2): 64 - 73.

[5] KUBOTA Y, BIERS S M, KOHRI K, *et al*. Effects of imatinib mesylate (Glivec(R)) as a c-kit tyrosine kinase inhibitor in the guinea - pig urinary bladder[J]. Neurourol Urodyn, 2006.

[6] BRADING A F. Spontaneous activity of lower urinary tract smooth muscles: correlation between ion channels and tissue function[J]. J Physiol, 2006, 570(Pt 1): 13 - 22.

[7] HASHITANI H, FUKUTA H, TAKANO H, *et al*. Origin and propagation of spontaneous excitation in smooth muscle of the guinea-pig urinary bladder[J]. J Physiol, 2001, 530(Pt 2): 273 - 286.

[8] MCCLOSKEY K D. Characterization of outward currents in interstitial cells from the guinea pig bladder[J]. J Urol, 2005, 173(1): 296 - 301.

[9] MONTGOMERY B S, FRY C H. The action potential and net membrane currents in isolated human detrusor smooth muscle cells[J]. J Urol, 1992, 147(1): 176 - 184.

[10] CHOW K Y, WU C, SUI G P, *et al*. Role of the T-type Ca^{2+} current on the contractile performance of guinea pig detrusor smooth muscle [J]. Neurourol Urodyn, 2003, 22(1): 77 - 82.

[11] WEGENER J W, SCHULLA V, LEE T S, *et al*. An essential role of Cav1. 2 L-type calcium channel for urinary bladder function[J]. FASEB J, 2004, 18(10): 1159 - 1161.

[12] HASHITANI H, BRADING A F. Ionic basis for the regulation of spontaneous excitation in detrusor smooth muscle cells of the guinea-pig urinary bladder[J]. Br J Pharmacol, 2003, 140(1): 159 - 169.

[13] THORNELOE K S, MEREDITH A L, KNORN A M, *et al*. Urodynamic properties and neurotransmitter dependence of urinary bladder contractility in the BK channel deletion model of overactive bladder [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2005, 289(3): F604 - F610.

[14] HERRERA G M, POZO M J, ZVARA P, *et al*. Urinary bladder instability induced by selective suppression of the murine small conductance calcium-activated potassium (SK3) channel[J]. J Physiol, 2003, 551(Pt 3): 893 - 903.

[15] JIANG H H, SONG B, LU G S, *et al*. Loss of ryanodine receptor calcium - release channel expression associated with overactive urinary bladder smooth muscle contractions in a detrusor instability model [J]. BJU Int, 2005, 96(3): 428 - 33.

[16] 周逢海，宋　波，金锡御. 逼尿肌不稳定缝隙连接蛋白基因及其蛋白的表达意义[J]. 中华实验外科杂志, 2003, 20(10): 928 - 929.

[17] 卢根生，金锡御，宋　波，等. 逼尿肌不稳定超微结构改变的实验研究[J]. 解放军医学杂志, 2002, 37(3): 219 - 220.

[18] 贾卓敏，卢根生，宋　波，等. Rho 激酶与大鼠不稳定膀胱关系的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(10): 978 - 980.

[19] RAJASEKARAN M, WILKES N, KUNTZ S, *et al*. Rho - kinase inhibition suppresses bladder hyperactivity in spontaneously hypertensive rats[J]. Neurourol Urodyn, 2005, 24(3): 295 - 300.

[20] COCKAYNE D A, HAMILTON S G, ZHU Q M, *et al*. Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X3-deficient mice[J]. Nature, 2000, 407(6807): 1011 - 1015.

[21] VLASKOVSKA M, KASAKOV L, RONG W, *et al*. P2X3 knock-out mice reveal a major sensory role for urothelially released ATP[J]. J Neurosci, 2001, 21(15): 5670 - 5677.

[22] KHERA M, SOMOGYI G T, KISS S, *et al*. Botulinum toxin A inhibits ATP release from bladder urothelium after chronic spinal cord injury[J]. Neurochem Int, 2004, 45(7): 987 - 993.

[23] BLOK B F. Central pathways controlling micturition and urinary continence[J]. Urology, 2002, 59(5 Suppl 1): 13 - 17.

[24] SILVA C, RIBEIRO M J, CRUZ F. The effect of intravesical resiniferatoxin in patients with idiopathic detrusor instability suggests that involuntary detrusor contractions are triggered by C-fiber input[J]. J Urol, 2002, 168(2): 575 - 579.

[25] CRUZ F. Mechanisms involved in new therapies for overactive bladder [J]. Urology, 2004, 63(3 Suppl 1): 65 - 73.

（编辑　张大春）