

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18582

研究課題名(和文)新規動物モデルを用いた夜間多尿の治療戦略の探索

研究課題名(英文) Exploration of therapeutic strategies for nocturnal polyuria using a novel animal model

研究代表者

関井 洋輔 (Sekii, Yosuke)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：70824770

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：夜間頻尿は下部尿路症状の中で最もQOLを低下させるばかりでなく、生命予後を悪化させるといわれている。夜間頻尿患者の50-80%は夜間多尿であり、夜間多尿の既存の治療効果は限定的であった。夜間多尿の発症機序は十分に解明されておらず、機序解明に適切な動物モデルが切望されてきた。我々は夜間多尿に影響を与える塩分摂取量と老化の要因であるNitric oxide(NO)に着目し世界に先駆けて夜間多尿動物モデルの作成に成功した。さらにこの夜間多尿動物モデルにおいて腎局所のNaトランスポーターが過剰活性化し、ナトリウム排泄の変化により夜間多尿が引き起こされるという機序を解明し報告してきた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

夜間多尿の原因に塩分が関係しているかもしれないことは、近年注目されていた。しかし、その機序は動物モデルが存在せず腎臓内で何が起きているかは全く分かっていなかった。そこで我々はマウスを用いて、夜間多尿の動物モデルを確立し、腎臓を検討することでNaを再吸収するナトリウムトランスポーターが不適切に活性化しており、Naを再吸収してしまいますことで、非活動期にNaを排泄せざるを得なくなり夜間多尿に至ることを見出してきた。今後、この経路を阻害する物質を投与することで、夜間多尿を改善させることが可能になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Nocturia is the most common lower urinary tract symptom, which not only reduces quality of life but also worsens life expectancy. Between 50-80% of patients with nocturia have nocturnal polyuria, and existing treatments for nocturia have had limited efficacy. The pathogenesis of nocturnal polyuria has not been fully elucidated and appropriate animal models are desperately needed to elucidate the mechanism. We focused on salt intake and nitric oxide (NO), a factor in ageing, which influence nocturnal polyuria, and were the first in the world to successfully create an animal model of nocturnal polyuria. We have also elucidated and reported the mechanism of nocturnal polyuria caused by the over-activation of renal Na transporters and changes in sodium excretion in this animal model of nocturnal polyuria.

研究分野：夜間多尿

キーワード：夜間多尿 動物モデル マウス 塩分 Naトランスポーター nitric oxide

## 1. 研究開始当初の背景

夜間頻尿は下部尿路症状 (LUTS ; Lower Urinary Tract Symptoms) の中で最も QOL を低下させる症状であり、泌尿器科外来受診の LUTS 関連の主訴で最も多い。さらに夜間頻尿患者はそうでない患者と比較して、循環器系の合併症が多く、骨折率も高い。夜間頻尿患者のうち夜間多尿の割合は多く、75%にのぼる。夜間多尿に対する治療として飲水制限や抗コリン剤、 $\beta$ 3 アドレナリン受容体作動薬などの治療が行われているが、それらの効果は低く、満足できるものではない。現在もなお「なぜ夜間多尿を来すのか」というメカニズムがほとんどわかっていない。そのような背景の中、最近では夜間多尿と水、Na 制御の関連が注目されており、塩分摂取が夜間尿量の上昇を引き起こすことが報告されている。しかし、これらの夜間多尿の研究はヒトを対象とした臨床研究のみである。さらなる夜間多尿の治療やその原因を考える上でモデル動物による基礎実験が欠かせないが、未だ夜間多尿動物モデルは確立されていない。

## 2. 研究の目的

夜間多尿の病態解明、治療法開発には動物モデルを用いた基礎研究が必須である。しかしヒトの夜間多尿を模した夜間多尿動物モデルは確立されていない。近年、塩分摂取に伴い夜間多尿指数が増加することが注目されている。しかし、塩分摂取量は近大で差を認めないが夜間多尿指数は老化とともに悪化することから、我々は老化が塩分摂取量と夜間多尿の関係に影響を与えると考えた。老化に伴う NO (nitric oxide) 欠乏と高塩分食の組合せが夜間多尿を引き起こすとの仮説を立て、動物モデルの確立と病態解明を目指した。

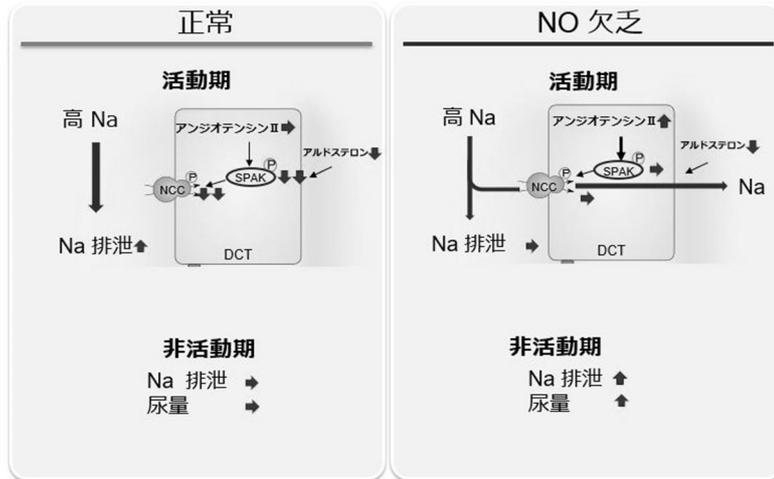
## 3. 研究の方法

19 週齢 C57BL6/J 雄マウスを L-NAME (NO 合成酵素阻害剤) 投与の有無と標準食 (NSD, normal salt diet) もしくは 1%高塩分食 (HSD, High salt diet) で NSD 群、HSD 群、L-NAME 群、L-NAME + HSD 群の 4 群に分類し、以下の項目を検討した。1. マウスの排尿記録を元に、ヒトの夜間多尿指数に相当する非活動期尿指数 (DPI, Diurnal polyuria index = 非活動期尿量 / 1 日尿量) を算出した。2. 尿中 Na 排泄量を代謝ケージで蓄尿し測定した。3. 遠位尿細管の NCC (Na<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>-共輸送体)、NCC の上流に存在する SPAK、集合管 ENaC のタンパク量を western blot で評価した。4. 全身 RAS 系 (レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系) の活性を血清アルドステロンで評価した。腎臓の尿細管間質には SPAK-NCC 経路を制御する一因子であるアンジオテンシン を生成するのに必要な要素が存在し、その基質であるアンジオテンシノーゲンが腎局所の RAS 系活性を表すため、アンジオテンシノーゲルを western blot で評価した。

## 4. 研究成果

1. DPI は 0.12, 0.13, 0.23, 0.29 (NSD, HSD, L-NAME, L-NAME + HSD) で L-NAME + HSD 群で L-NAME 群と比較して有意に増加した ( $P < 0.01$ )。2. 活動期尿中 Na 排泄量 (mEq) は 0.11, 0.20, 0.10, 0.16 であり L-NAME 投与により塩分負荷時の尿中 Na 排泄の増加は抑制された ( $P < 0.05$ )。3. 尿中 Na 排泄の制御に重要な働きをする腎 NCC の活性型であるリン酸化 NCC は L-NAME 投与により塩分負荷時の発現の低下を認めなかった。リン酸化 SPAK も同様の変化であり、L-NAME 投与により SPAK-NCC 経

路が過剰活性化することが示唆された。ENaCは4群で差を認めなかった。4.血清アルドステロン値はL-NAME投与の有無に関わらず塩分負荷すると抑制されるのに対し、アンジオテンシノーゲンはL-NAME投与下で抑制されないことが示唆された。NO欠乏と高塩分食を組み合わせることで新規夜間多尿動物モデルの確立に成功した。本モデルの夜間多尿の病態は腎臓内RAS系-SPAK-NCC経路の過剰活性化による活動期尿中Na排泄の低下と考えられた。腎臓内RAS系-SPAK-NCC経路は夜間多尿の有望な治療ターゲットと考えられる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Y. Sekii, H. Kiuchi, K. Takezawa, T. Imanaka, S. Kuribayashi, K. Okada, Y. Inagaki, N. Ueda, S. Fukuhara, R. Imamura, H. Negoro & N. Nonomura	4. 巻 5
2. 論文標題 Dietary salt with nitric oxide deficiency induces nocturnal polyuria in mice via hyperactivation of intrarenal angiotensin II-SPAK-NCC pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 175
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-022-03104-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Norichika Ueda, Makoto Kondo, Kentaro Takezawa, Hiroshi Kiuchi, Yosuke Sekii, Yusuke Inagaki, Tetsuji Soda, Shinichiro Fukuhara, Kazutoshi Fujita, Motohide Uemura, Ryoichi Imamura, Yasushi Miyagawa, Norio Nonomura & Shoichi Shimada	4. 巻 10
2. 論文標題 Bladder urothelium converts bacterial lipopolysaccharide information into neural signaling via an ATP-mediated pathway to enhance the micturition reflex for rapid defense	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 21167
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-78398-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kentaro Takezawa, Sohei Kuribayashi, Koichi Okada, Yosuke Sekii, Yusuke Inagaki, Shinichiro Fukuhara, Hiroshi Kiuchi, Toyofumi Abe, Kazutoshi Fujita, Motohide Uemura, Ryoichi Imamura & Norio Nonomura	4. 巻 11
2. 論文標題 Decreased renal function increases the nighttime urine volume rate by carryover of salt excretion to the nighttime	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11587
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-90166-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 関井洋輔	
2. 発表標題 塩分摂取が夜間多尿に与える影響は高血圧患者と正常血圧患者で異なる	
3. 学会等名 日本泌尿器科学会総会	
4. 発表年 2020年	

1. 発表者名 関井洋輔
2. 発表標題 アルドステロン過剰状態が下部尿路症状へ与える影響
3. 学会等名 日本排尿機能学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関