

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19576

研究課題名（和文）光応答性NOドナーを用いた下部尿路機能障害への応用

研究課題名（英文）Application of light-controllable nitric oxide donor for lower urinary tract symptom

研究代表者

木村 和哲（KIMURA, KAZUNORI）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・教授

研究者番号：00423848

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：下部尿路機能障害、特に膀胱頸部や尿道の弛緩不全による尿排出障害は患者の生死に関わるため治療介入が必須となる。膀胱頸部、尿道を弛緩させる主な因子として一酸化窒素（NO）があげられる。しかし、これまでのNO製剤ではNOが標的臓器以外の全身へ作用してしまうこと、排尿の時以外にも作用してしまい薬効の開始と終了をコントロールできないことから、実用化に至っていない。本研究では光応答性NOドナー「NORD-1」を用いて下部尿路機能障害治療への応用が可能か検討した。神経損傷を行ったラットの尿道ではNOに対する弛緩反応が低下し、NORD-1と光照射により弛緩機能を補うことができることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

尿道弛緩不全による尿排出障害は患者の生死に関わることがある。本研究では、骨盤内手術時の神経損傷を模倣した両側accessory nerveを損傷したラットの内尿道組織において1週間後、4週間後にNOに対する弛緩反応性が減弱すること、またフェニレフリンに対する収縮反応が増強することを明らかにした。また同モデルの組織に対してNORD-1と赤色光照射により弛緩反応を補うことができる程度可能であることも明らかにした。このことから尿道のNOによる弛緩反応が低下している尿道弛緩不全の病態に対してNORD-1と赤色光照射は有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Lower urinary tract dysfunction, especially voiding dysfunction due to inadequate relaxation of the bladder neck and urethra, is life-threatening to the patient and requires therapeutic intervention. Nitric oxide (NO) is one of the main factors that relaxes the bladder neck and urethra. However, conventional systemic NO supplementation has not been put to practical use for lower urinary tract because NO acts on the whole body other than the target organs and because the onset and termination of the drug effect cannot be controlled. In this study, we examined the possibility of using NORD-1, a red-light-controllable NO donor, for the treatment of lower urinary tract dysfunction. The urethra of rats with nerve injury showed a decreased relaxation response to NO, and it was found that NORD-1 and light irradiation could compensate for the relaxation function.

研究分野：薬理学、泌尿器科学、医療薬学

キーワード：光応答性NOドナー 下部尿路機能障害 赤色光

## 1. 研究開始当初の背景

下部尿路機能障害は、患者の生活の質を著しく低下させる。特に膀胱頸部や尿道の弛緩不全による尿排出障害は患者の生死に関わるため治療介入が必須となる。膀胱頸部、尿道を弛緩させる主な因子として一酸化窒素 (NO) があげられる。しかし、これまでの NO 製剤では NO が標的臓器以外の全身へ作用してしまうこと、排尿の時以外にも作用してしまい薬効の開始と終了をコントロールできないことから、実用化に至っていない。

これらの点を解決するため、我々は、光応答性 NO ドナーに着目し研究を進めてきた。光応答性 NO ドナーは、光照射を利用することで NO の放出を空間的制御 (3次元) と時間軸での制御 (1次元) が可能という特徴を有する (図1)。これまでに我々は独自に光応答性 NO ドナーの開発に取り組み、最近では組織透過性がより高い赤色光 (630-690 nm) に応答する「NORD-1」の開発に成功した (図1)。NORD-1 と赤色光を用いた一連の研究からは、摘出した膀胱頸部組織における弛緩反応の制御が可能であることを見出した。さらに、赤色光は厚さ数cmの肉片を透過することも確認した。これらのことから、さまざまな疾患への治療応用が期待される。

本研究では、これまでに我々が確立した溢流性尿失禁モデルである両側 accessory nerve を損傷 (BAI) モデルラットを用いて、光応答性 NO ドナーの治療応用が可能か検討した。

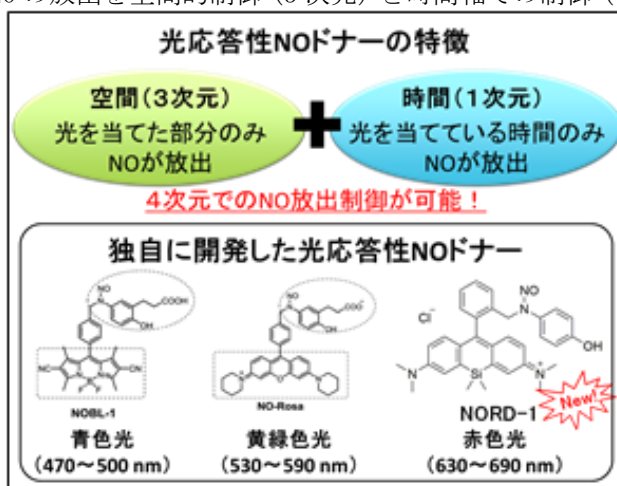


図1. 光応答性 NO ドナーの特徴とこれまでに開発した化合物

## 2. 研究の目的

本研究では、NORD-1 と赤色光を用いて下部尿路機能障害の治療へ応用が可能か明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) NORD-1 と光照射がラット排尿に与える効果についての検討

イソフルラン麻酔下で、ラットの骨盤神経叢から膀胱の方へ走っている accessory nerve (ACN) を同定し、逆作動性ピンセットで両側共に障害し BAI モデルラットを作成した。モデル作成から1週間後に検討を実施した。ラットにウレタン麻酔をかけ、膀胱頂部にカニューレを留置し NORD-1 を投与した。その後膀胱内圧を測定しつつ、光照射の有無による内圧の変化を測定した。

### (2) BAI モデルラット摘出組織を用いた等尺性収縮弛緩実験

前述の方法により、両側共に ACN を損傷し BAI モデルラットを作成した。モデル作成から1週間後と4週間後に膀胱頸部 (内尿道) 組織を摘出した。 Krebs 溶液内で不要な膜や脂肪を丁寧に剥離して標本作製し、マグナス装置に設置した。標本は、フェニレフリンで前収縮させ、その後 SNP 累積投与に対する反応性を評価した。1週間後の群ではフェニレフリン累積投与に対する反応性も評価した。対照群には神経損傷を行わない sham 群の個体を作製し用いた。標本の張力は圧トランスデューサーを介して PowerLab4/26 で記録し LabChart8 を用いて解析した。

### (3) BAI モデルラットの摘出組織に対する NORD-1 と光照射による反応の検討

上記と同様に両側の ACN 損傷群と sham 群の2群を作製した。手術の1週間後に同様に内尿道のリング標本作製し、NORD-1 を満たしたチューブに浸漬した後、マグナス装置に固定した。1時間以上静置させたのちにフェニレフリンによる前収縮を行い、赤色光照射による弛緩反応を評価した。(図2) 標本の張力は前述と同様に圧トランスデューサーを介して PowerLab4/26 で記録し LabChart8 を用いて解析した。

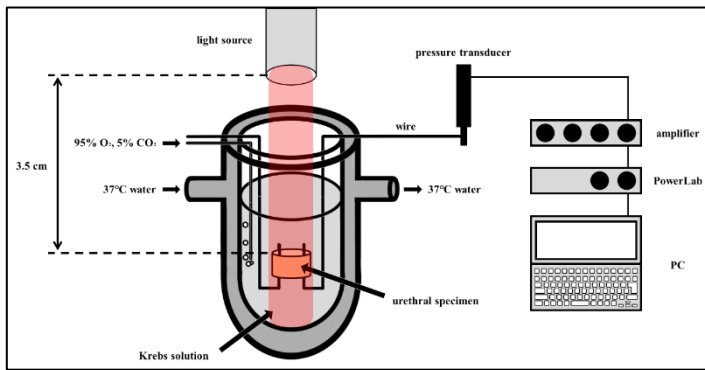


図 2. 内尿道組織を用いた等尺性収縮弛緩実験の模式図

#### 4. 研究成果

##### (1) NORD-1 と光照射がラット排尿に与える効果についての検討

光照射により少数例で膀胱内圧の減圧が見られた (図 3)。特に内尿道側である B 部位への照射時に膀胱内圧の減圧が認められた。しかしながら、その他の個体では光照射による変化は見られず再現性の取得には至らなかった。そこで、摘出した組織標本を用いて NO に対する反応性を確認することにした。

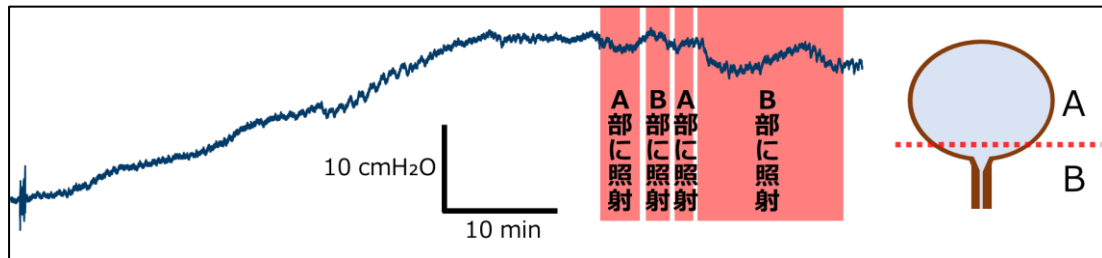


図 3. in vivo で NORD-1 と光照射により膀胱内圧の減圧が見られた 1 例

##### (2) BAI モデルラット摘出組織を用いた等尺性収縮弛緩実験

手術から 1 週間後の結果から、フェニレフリン累積投与に対する収縮応答は、Sham-1w 群と比較して BAI-1w 群で有意に増強していた。また、用量反応曲線より算出した  $E_{max}$  に有意な差は見られなかったが、 $EC_{50}$  は Sham-1w 群と比較して BAI-1w 群で有意に低値となった。BAI-1w 群のラット内尿道組織は、sham-1w 群の組織と比べて SNP 累積投与に対する弛緩反応曲線が右にシフトしていた。 $E_{max}$  に差は見られなかったが、BAI-1w 群における  $EC_{50}$  は有意に高値を示した。また手術から 4 週間後の結果から、フェニレフリン誘発性の前収縮条件下における SNP 累積投与に対する弛緩応答は、Sham-4w 群と比較して BAI-4w 群で有意に減弱していた。また、BAI-4w 群では、Sham-4w 群と比較して用量反応曲線より算出した  $E_{max}$  が有意に低下し、 $EC_{50}$  は BAI-4w 群で有意に高値を示した。

##### (3) BAI モデルラットの摘出組織に対する NORD-1 と光照射による反応の検討

NORD-1 に浸した Sham-1w 群と BAI-1w 群の内尿道組織は、共に赤色光照射による弛緩反応が観察された。この弛緩反応は、光照射を  $16\text{mW}/\text{cm}^2$ 、 $39\text{mW}/\text{cm}^2$ 、 $78\text{mW}/\text{cm}^2$ 、 $149\text{mW}/\text{cm}^2$  まで 4 段階で光照射を行った際、光の強度に応じて弛緩強度も変化した。しかしながら、群間で比較を行うと、sham-1w 群の方が BAI-1w 群よりも強く弛緩する傾向にあり、BAI-1w 群では減弱が見られた。統計解析結果から、光照射条件ごとの尿道の弛緩応答は、光強度 16, 78  $\text{mW}/\text{cm}^2$  の条件で Sham-1w 群と比較して BAI-1w 群で有意に減弱し、光強度 39, 149  $\text{mW}/\text{cm}^2$  の条件で Sham-1w 群と比較して BAI-1w 群で減弱傾向を示すことを明らかにした。

本研究では、当初予定していた NORD-1 の排尿機能への効果が in vivo での研究で上手く見られなかったことから、摘出組織での評価を実施した。骨盤内手術時の神経損傷を模倣し BAI モデル群の内尿道組織において 1 週間後、4 週間後に SNP に対する弛緩反応性が減弱すること、またフェニレフリンに対する収縮反応が増強することを明らかにした。また同モデルの組織に対して NORD-1 と赤色光照射により弛緩反応を補うことがある程度可能であることも明らかにした。このことから尿道の NO による弛緩反応が低下している尿道弛緩不全の病態に対して NORD-1 と赤色光照射は有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Ieda N, Yoshikawa Y, Tomita N, Ohkubo K, Hotta Y, Kawaguchi M, Kimura K, Nakagawa H.  | 4. 巻<br>58              |
| 2. 論文標題<br>Ascorbate-assisted Nitric Oxide Release from Photocontrollable Nitrosonium Ion Releasers for Potent Ex Vivo Photovasodilation. | 5. 発行年<br>2022年         |
| 3. 雑誌名<br>Chem Commun.  | 6. 最初と最後の頁<br>8420-8423 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1039/d2cc03193k.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Hotta Yuji, Oyama Kyoya, Yoshida Takuma, Ieda Naoya, Mori Taiki, Horita Yasuhiro, Kataoka Tomoya, Furukawa-Hibi Yoko, Ohya Susumu, Nakagawa Hidehiko, Kimura Kazunori | 4. 巻<br>42      |
| 2. 論文標題<br>The Effects of a Red-Light Controllable Nitric Oxide Donor, NORD-1, on Erectile Dysfunction in Rats with Streptozotocin Induced Diabetes Mellitus                    | 5. 発行年<br>2024年 |
| 3. 雑誌名<br>The World Journal of Men's Health   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.5534/wjmh.230362  | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Mori T, Hotta Y, Ieda N, Kataoka T, Nakagawa H, Kimura K.   |
| 2. 発表標題<br>The Light-Controlled Nitric Oxide Donor “NORD-1” may Improve Erectile Function Without Hypotension and Tissue Damage in Rats With Neurogenic Erectile Dysfunction |
| 3. 学会等名<br>23rd Annual Fall Scientific Meeting of SMSNA/23rd ISSM Scientific Meeting（国際学会）   |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>齋藤大介、家田直弥、大山享也、堀田祐志、川口充康、木村和哲、中川秀彦. |
| 2. 発表標題<br>光増感色素をアンテナとする高効率な光制御NOドナーの開発        |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会第143年会                         |
| 4. 発表年<br>2023年                                |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>吉田拓磨、大山享也、森泰毅、堀田祐志、片岡智哉、家田直弥、日比陽子、中川秀彦、大矢進、木村和哲. |
| 2. 発表標題<br>赤色光応答性NOドナーの糖尿病性勃起不全への応用～ラットモデルでの検討～             |
| 3. 学会等名<br>日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部 合同学術大会2022              |
| 4. 発表年<br>2022年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>齋藤大介、家田直弥、大山享也、堀田祐志、川口充康、木村和哲、中川秀彦.    |
| 2. 発表標題<br>テルロローダミンをアンテナとする光制御NOドナーの開発と血管弛緩制御への応用 |
| 3. 学会等名<br>2022年光化学討論会                            |
| 4. 発表年<br>2022年                                   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>森泰毅、堀田祐志、家田直弥、片岡智哉、中川秀彦、木村和哲.          |
| 2. 発表標題<br>赤色光応答性NOドナー「NORD-1」の神経性EDモデルに対する有効性の検討 |
| 3. 学会等名<br>日本性機能学会第32回学術総会                        |
| 4. 発表年<br>2022年                                   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>中川秀彦, 家田直弥                      |
| 2. 発表標題<br>分子内電子移動反応に基づくNO放出剤の開発と生物応用への展開  |
| 3. 学会等名<br>第74回日本酸化ストレス学会 第21回日本NO学会合同学術集会 |
| 4. 発表年<br>2021年                            |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>北村紗枝、家田直弥、川口充康、中川秀彦              |
| 2. 発表標題<br>PeT駆動型光制御NOドナーにおける光吸収部位の構造活性相関研究 |
| 3. 学会等名<br>第74回日本酸化ストレス学会 第21回日本NO学会合同学術集会, |
| 4. 発表年<br>2021年                             |

|                                      |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>吉川侑佳、家田直弥、川口充康、中川秀彦       |
| 2. 発表標題<br>光応答性NO+ドナーの合成とそのNO+放出能の評価 |
| 3. 学会等名<br>日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部  |
| 4. 発表年<br>2021年                      |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                          | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                      | 備考 |
|-------|--|--|----|
| 研究分担者 | 家田 直弥<br><br>(Ieda Naoya)<br><br>(00642026)        | 北海道大学・薬学研究院・准教授<br><br><br>(10101)         |    |
| 研究分担者 | 片岡 智哉<br><br>(Kataoka Tomoya)<br><br>(20737928)    | 千葉科学大学・薬学部・准教授<br><br><br>(32525)          |    |
| 研究分担者 | 中川 秀彦<br><br>(Nakagawa Hidehiko)<br><br>(80281674) | 名古屋市立大学・医薬学総合研究院(薬学)・教授<br><br><br>(23903) |    |

6. 研究組織（つづき）

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                   | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                          | 備考 |
|-------|---|--|----|
| 研究分担者 | 堀田 祐志<br><br>(Hotta Yuji)<br><br>(90637563) | 名古屋市立大学・医薬学総合研究院(薬学)・講師<br><br><br><br>(23903) |    |

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 |
|---------|---------|
|         |         |