

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04326

研究課題名(和文)膀胱からの水再吸収、アкваポリン分子は夜間多尿の解決策と成り得るか

研究課題名(英文) Does water channel protein aquaporin play key roles in water reabsorption from the bladder?

研究代表者

横山 修 (Yokoyama, Osamu)

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：90242552

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：これまで臨床と基礎実験の結果から抗コリン薬が夜間尿量を減少させると報告した。ではなぜ抗コリン薬が尿量を減少させるのか。膀胱上皮を介して尿吸収される機序は存在するが高々注入量の10%程度で、膀胱内圧や注入量に依存しており、抗コリン薬は関与しなかった。次にラットに対し経静脈的に水負荷を行い利尿状態にし、尿管から直接尿量を測定する実験系を構築した。抗コリン薬は腎尿産生を抑制し、高用量であるほど抗利尿効果は強かった。尿中ナトリウム濃度は上昇し、AQP2分子による水再吸収が亢進している可能性がある。またAQP2に対する抗体を用い腎集合管の免疫染色を行い、確かにAQP2が発現していることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

夜間1回以上トイレに行く人は全国で4500万人を越える。夜間頻尿の原因で難治とされるのが夜間多尿であるが、過活動膀胱治療薬である抗コリン薬や睡眠薬が多尿を改善させることを報告してきた。ではその機序は何か。近年、尿は膀胱から吸収されるとの報告があるが、今回の実験では吸収量は注入量の高々10%程度であり、注入圧や量に依存して抗コリン薬は関与しなかった。膀胱吸収の影響を除外するため尿管から直接尿量を測定すると抗コリン薬は腎尿量を減少させることが解った。尿中のNa濃度は上昇しており、腎アкваポリン分子を介して尿量減少させる可能性が示唆された。この結果は夜間多尿の新たな治療戦略を提供すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Clinical research and basic experiments in our laboratory have revealed that anticholinergics reduce urine output at night. Recent reports suggested a mechanism of urine absorption through the bladder epithelium, but at most about 10% of the infused volume. In the present study, bladder absorption rate depended on the intravesical pressure and the infused volume, furthermore, the anticholinergics was not involved in bladder absorption mechanisms. Next, an experimental system was constructed to measure the amount of urine directly from the ureter after intravenous administration of physiological saline to make rats a diuretic state. The anticholinergics suppressed renal urine production, and the higher the dose, the stronger the antidiuretic effect. Water reabsorption by AQP2 molecules was speculated by elevated urinary sodium concentration. Immunostaining of the renal collecting duct was performed using an antibody against AQP2, and it was confirmed that AQP2 was indeed expressed.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：夜間頻尿 多尿 抗コリン薬 アкваポリン 膀胱 腎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

下部尿路症状 (LUTS) の中で最も生活に支障をきたすのが夜間頻尿で、その数 4500 万人、特に難治である要因が夜間多尿である。夜間 2 回以上トイレへ行く患者の実に 7 割以上が多尿である (Neurourol Urodyn 2004, 23:466)。当研究室はこれまで、抗コリン薬開発の第 III 相試験の結果を再解析することで、短時間作用型の薬剤が夜間尿量を減少させる可能性があることを発見した (Urology 2013 82:515)。また 受容体遮断薬が尿量を減少させる効果があること (World J Urol 29:233, 2011)、動物実験でもラット利尿モデルに対し抗コリン薬を静脈内投与すると明らかに尿量を減少させることも報告した (図 1、BJU Int. 2013 112: 131)。さらに非ベンゾジアゼピン系睡眠薬であるゾルピデムが脳内の抑制性神経伝達物質である GABA を介しラット膀胱容量を増大させ、また尿量を減少させること (Neurourol Urodyn 29:107, 2010)、松果体ホルモンであるメラトニンがやはり GABA を介して膀胱容量を増大させ、さらに尿量も減少させる可能性があることを報告してきた (図 2、J Urol 184: 386, 2010)。

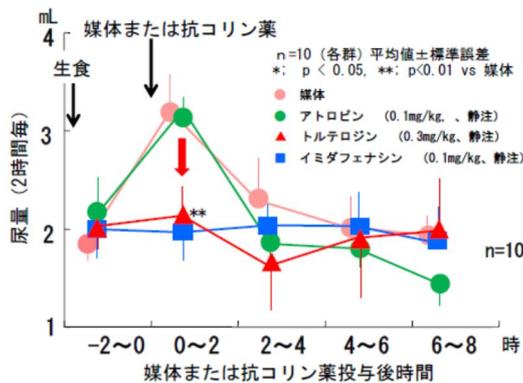


図 1 利尿ラットに対する各種抗コリン薬の効果

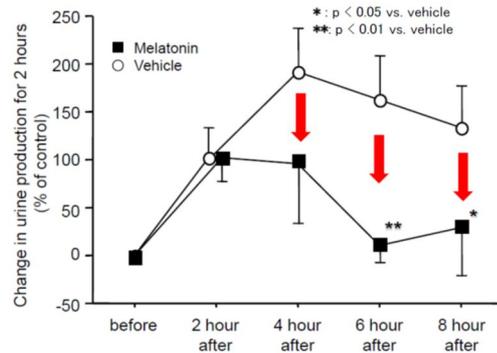


図 2 Melatoninは利尿状態のラットで尿量を減少させる

ではいったいなぜ抗コリン薬、受容体遮断薬、睡眠薬、メラトニンが尿量を減少させるのか。近年は膀胱からの水分子の吸収があることが報告されている。膀胱吸収が抗コリン薬投与によって促進される可能性もある。また、腎に直接作用して尿産生を抑制していることも考えられる。

### 2. 研究の目的

2019 年 9 月デスマプレシン製剤が上市され、夜間多尿の治療選択肢が広がったが、適応が男性のみであり、高齢者では低ナトリウム血症やうっ血性心不全のリスクも高い。われわれは基礎・臨床研究を通じて眠前投与の睡眠薬・抗コリン薬、受容体遮断薬が夜間多尿を改善し、尿産生リズムを夜型から昼型へ戻す可能性を報告した。アクアポリン(AQP)は約 270 アミノ酸残基から成る水チャンネル分子で細胞膜を通して水分子を移動させる。膀胱と腎にも存在するが、AQP2 あるいは AQP6 が抗利尿の責任分子ではないかと仮説を立てた。以上の疑問を解き明かすことを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1)膀胱において尿の再吸収があり、抗コリン薬によりその作用が増強されているとの仮説を立て実験を行った。ウレタン麻酔下ラット膀胱を露出、両側尿管を結紮した後、経尿道的にカテーテルを留置する。生食を注入し、一定圧 (20 または 30 cmH<sub>2</sub>O) に達してから 1 時間経過させ、その後膀胱内生食を回収して量を測定した。抗コリン薬 imidafenacin 投与して膀胱から再吸収は亢進するか検討する。低浸透圧、低 pH 環境下で水吸収は亢進するのか検討する。

(2)抗コリン薬による抗利尿効果は膀胱 C 線維を抑制することでその効果を発揮する。逆に C 線維刺激は利尿になると考えられる。C 線維上に発現している Vanilloid receptor TRPV1 (transient receptor potential vanilloid-type channel)は、体液浸透圧の上昇をより良く感知する性質を持つ。また、アクアポリン (水チャンネル) を阻害して、浸透圧変化による細胞容積の変化を抑えると、その応答が減弱したことから、TRPV1 は浸透圧の変動に伴う細胞膜の張力の変化を感知して開口している可能性が示唆されている (PLoS One.2011 6:e22246)。TRPV1 の特異的リガンドである capsaicin や resiniferatoxin にて TRPV1 刺激を行い、膀胱内での水の移動を解析する。

#### (3)腎での尿吸収に関する実験

6-8 週齢 SD 雌性ラットを使用し、ウレタン麻酔下両側尿管にカニューレションした。経静脈的に生理食塩水を持続投与 (-1~0 時間は 5ml/hr、0 時間以降は 3ml/hr) して利尿状態作成し、2 時間後に経静脈的に薬剤 (vehicle, imidafenacin (0.001mg/kg, 0.01mg/kg, 0.1mg/kg, 0.3mg/kg), atropine (0.1mg/kg, 1mg/kg) tolterodine 0.3mg/kg) を投与し、1 時間ごとに腎由来の尿量を測定した。またレジニフェラトキシン (RTX) により C 線維を脱感作し、同様の実験を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) ラット膀胱上皮からの水吸収実験

膀胱内に注入した生理食塩水は上皮を介して吸収されることが確認された。高浸透圧より低浸透圧の方が吸収率が高いこと、すなわち 0.3%生理食塩水の方が 0.9%より吸収量が多い(図3)、膀胱内圧依存性に水の吸収が生じること(図4)、膀胱内の貯留時間に影響されないこと(図5)などが観察された。

図3 ラット膀胱における各種溶液の吸収率



図4 膀胱における生食、soy bean oilの吸収率と圧の関係



図5 時間経過に伴う吸収率への影響



この吸収は抗コリン薬であるイミダフェナシン、トルテロジン、アトロピンにより増強されず、膀胱知覚神経であるC線維の神経毒であるレジニフェラトキシンの投与によっても影響されなかった(図6、7、8)。

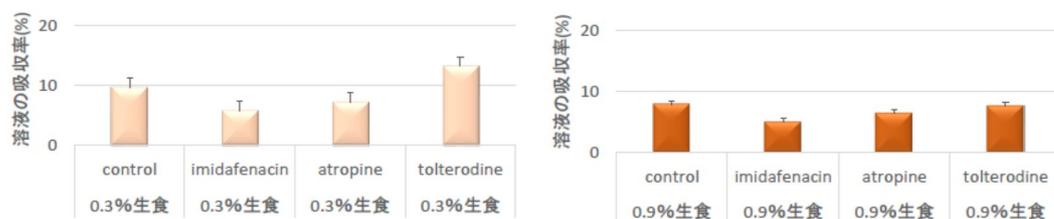
図6 ラット膀胱の溶液吸収に対するimidafenacin投与の影響



図7 RTX処置ラットにおけるimidafenacin投与の影響



図8 各種抗コリン薬での溶液吸収率への影響

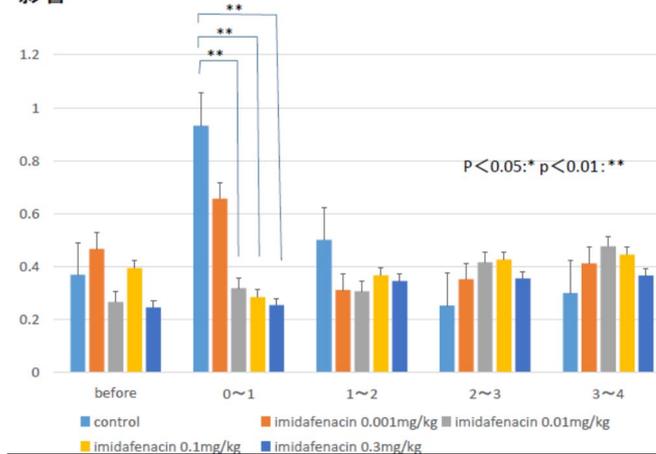


10%ブドウ糖を除いて、他の溶液では浸透圧は上昇した。実験前の溶液の浸透圧が低いほど濃縮効果は高かった。注入液の電解質、浸透圧、pHの注入前後の変化を認めたが、これらの群間の有意差はなかった。H<sub>2</sub>OとともにNa、Clのような電解質も吸収された。

##### (2) 腎での尿吸収に関する実験

図9に示すように、腎尿量を直接測定する実験系を確立することで、抗コリン薬が直接腎に作用して尿産生を抑制することが解明された。しかし RTXによりC線維を脱感作した腎臓でも抗コリン薬による尿産生のピークは抑えられた。

図9 利尿ラットの腎臓尿にimidafenacinが与える影響



本研究の成果によれば、膀胱自体から尿が再吸収される可能性が示唆される結果が得られたが、その吸収は膀胱内圧や注入量に依存しており、高々注入量の 10%程度であった。これではアクアポリン(AQP)分子を介しているのか拡散によって壁を浸透しているだけなのか不明であり、また抗コリン薬や各種薬剤を用いてもこの吸収率は一定であった。したがって膀胱上皮を介するメカニズムは存在するが、抗コリン薬による尿吸収の促進は否定的であった。抗コリン薬はバソプレシン存在下で AQP2 の internalization を阻害することで抗利尿効果を発揮する可能性もある。今後腎集合管における AQP2 の動態やムスカリン受容体サブタイプの同定が必要と考えられ、研究を進めていく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoshida M, Takeda M, Gotoh M, Yokoyama O, Kakizaki H, Takahashi S, Masumori N, Nagai S, Hashimoto K, Minemura K	4. 巻 26
2. 論文標題 Efficacy of novel 3-adrenoreceptor agonist vibegron on nocturia in patients with overactive bladder: A post-hoc analysis of a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 3 study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Urol	6. 最初と最後の頁 369-375
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iju.13877.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamaguchi O, Kakizaki H, Homma Y, Igawa Y, Takeda M, Nishizawa O, Gotoh M, Yoshida M, Yokoyama O, Seki N, Okitsu A, Hamada T, Kobayashi A, Kuroishi K.	4. 巻 26
2. 論文標題 Long-term safety and efficacy of antimuscarinic add-on therapy in patients with overactive bladder who had a suboptimal response to mirabegron monotherapy: A multicenter, randomized study in Japan (MILAI II study).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Urol	6. 最初と最後の頁 342-352
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iju.13868.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 3.Minagawa T, Gotoh M, Yokoyama O, Sugaya K, Yamanishi T, Kawahara K, Kaga K, Kikuchi T, Nishizawa O	4. 巻 25
2. 論文標題 Therapeutic effect of propiverine hydrochloride on mixed-type urinary incontinence in women: The Female Urgency and Stress Urinary Incontinence Study of Propiverine Hydrochloride trial.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Urol.	6. 最初と最後の頁 486-491
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iju.13553	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 .Inamura S, Ito H, Shinagawa T, Tsutsumiuchi M, Taga M, Kobayashi M, Yokoyama O	4. 巻 78
2. 論文標題 Prostatic stromal inflammation is associated with bladder outlet obstruction in patients with benign prostatic hyperplasia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Prostate	6. 最初と最後の頁 743-752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pros.23518	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito H, Wang D, Zha X, Inamura S, Seki M, Taga M, Yokoyama O	4. 巻 193
2. 論文標題 Castration increases PGE2 release from the bladder epithelium in male rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Life Sci	6. 最初と最後の頁 252-256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-018-1309-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 R.Yokokawa, H.Akino, H.Ito, X.Zha, O.Yokoyama	4. 巻 36
2. 論文標題 Nerve growth factor release from the urothelium increases via activation of bladder C-fiber in rats with cerebral infarction	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neurourol Urodyn	6. 最初と最後の頁 1448-1455
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/nau.23142	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 M.Takeda, O.Yokoyama, M.Yoshida, O.Nishizawa, K.Hirata, R.Nakaoka, Y.Takita, M.Murakami	4. 巻 24
2. 論文標題 Safety and efficacy of the combination of once-daily tadalafil and alpha-1 blocker in Japanese men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: A randomized, placebo-controlled, cross-over study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Urol	6. 最初と最後の頁 539-547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/iju.13357	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 S.Inamura, T.Shinagawa, H.Hoshino, Y.Sakai, Y.Imamura, O.Yokoyama, M.Kobayashi	4. 巻 77
2. 論文標題 Appearance of high endothelial venule-like vessels in benign prostatic hyperplasia is associated with lower urinary tract symptoms	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Prostate	6. 最初と最後の頁 794-802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pros.23319	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 O.Yokoyama, O.Nishizawa, Y.Homma, M.Takeda, M.Gotoh, H.Kakizaki, H.Akino, K.Hayashi, K.Yonemoto; OASIS project group.	4. 巻 197
2. 論文標題 Nocturnal polyuria and hypertension in patients with lifestyle related diseases and overactive bladder	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Urol	6. 最初と最後の頁 423-431
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.juro.2016.08.087	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 長瀬桂子、伊藤秀明、青木芳隆、福島正人、土山克樹、多賀峰克、関雅也、稲村聡、横山 修
2. 発表標題 非ベンゾジアゼピン系睡眠薬は膀胱知覚神経を介し利尿モデルラットの尿量を減少させる
3. 学会等名 第107回日本泌尿器科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大江秀樹、吉木はつみ、査新民、小林久人、福島正人、青木芳隆、伊藤秀明、横山修
2. 発表標題 ラット腎臓における抗コリン薬を介した尿再吸収に関する検討
3. 学会等名 第26回日本排尿機能学会
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Y.Matsuta, Y.Aoki, H.Ito, O.Yokoyama
2 . 発表標題 Night-time frequency deteriorate sleep and quality of life: an analysis of international prostate symptom score and sleep questionnaire
3 . 学会等名 International Continence Society 47th Annual Meeting ( ICS2017 ) ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 S.Inamura, T.Shinagawa, H.Hoshino, Y.Sakai, Y.Imamura, O.Yokoyama, M.Kobayashi
2 . 発表標題 Appearance of high endothelial venule-like vessels in benign prostatic hyperplasia is associated with bladder outlet obstruction
3 . 学会等名 International Continence Society 47th Annual Meeting ( ICS2017 ) ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Y.Aoki, M.Okada, Y.Matsuta, H.Ito, C.Matsumoto, Y.Kusaka, O.Yokoyama
2 . 発表標題 Is overactive bladder another facet of the metabolic syndrome? : a cross-sectional study among japanese men and women
3 . 学会等名 International Continence Society 47th Annual Meeting ( ICS2017 ) ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Y.Aoki, E.Sasamura, C.Kimura, K.Fujita, A.Itoga, Y.Matsuta, H.Ito, O.Yokoyama
2 . 発表標題 Accuracy of bladder volume determination using a new portable handheld ultrasound bladder scanner: a prospective study of 34 consecutive inpatients
3 . 学会等名 International Continence Society 47th Annual Meeting ( ICS2017 ) ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1. 発表者名 O.Yamaguchi, H.Kakizaki, Y.Homma, Y.Igawa, M.Takeda, O.Nishizawa, M.Gotoh, M.Yoshida, O.Yokoyama, N.Seki, T.Hamada, K.Kuroishi
2. 発表標題 Long-term anticholinergic add-on therapy in overactive bladder (OAB) patients refractory to mirabegron monotherapy: a multicentre, randomized study (MILAI II study)
3. 学会等名 International Continence Society 47th Annual Meeting (ICS2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 O.Yokoyama
2. 発表標題 Pharmacological treatment of urinary incontinence in Japan
3. 学会等名 2017 TUA Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y.Aoki, C.Matsumoto, Y.Matsuta, H.Ito, Y.Kusaka, O.Yokoyama
2. 発表標題 Relationship between overactive bladder and metabolic syndrome: A cross-sectional study among Japanese men and women
3. 学会等名 AUA Annual Meeting 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y.Aoki, K.Sasaki, Y.Matsuta, H.Ito, C.Matsumoto, Y.Kusaka, O.Yokoyama
2. 発表標題 Overactive bladder is related to sexual well-being in japanese women
3. 学会等名 AUA Annual Meeting 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 O.Yokoyama, M.Takeda, M.Gotoh, M.Yoshida, H.Kakizaki, S.Takahashi, N.Masumori
2. 発表標題 Effects of imidafenacin on urine production, voided volume, and hours of undisturbed sleep in overactive bladder patients with nocturnal polyuria; post hoc analysis of two clinical trials
3. 学会等名 EAU2017 (国際学会)
4. 発表年 2017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
研究分担者	伊藤 秀明 (Ito Hideaki)  (00345620)	福井大学・学術研究院医学系部門・准教授  (13401)	
研究分担者	小林 基弘 (Kobayashi Motohiro)  (00362137)	福井大学・学術研究院医学系部門・教授  (13401)	
研究分担者	青木 芳隆 (Aoki Yoshitaka)  (30273006)	福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師  (13401)	
研究分担者	山内 寛喜 (Yamauchi Hiroki)  (40464086)	福井大学・学術研究院医学系部門・特別研究員  (13401)	
研究分担者	松田 陽介 (Matsuta Yosuke)  (90345687)	福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師  (13401)	