

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18607

研究課題名（和文）夜間多尿の新戦略：膀胱における知覚C線維を介した尿吸収を目指して

研究課題名（英文）New strategy for nocturnal polyuria: Aiming for urine absorption through sensory C fibers in the bladder

研究代表者

大江 秀樹（OE, HIDEKI）

福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・医員

研究者番号：70760510

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：本邦の下部尿路症状を有する患者の中で夜間頻尿は最も多い症状である。過活動膀胱治療薬である抗コリン薬は夜間頻尿にも有効であるが、中でも短時間作用型抗コリン薬である imidafenacin は、第3相試験のサブ解析でプラセボ群と比較して夜間尿量を有意に減少させる可能性が示唆された。そこで抗コリン薬が尿量を減少させる機序を解明するためにラットも用いた動物実験を行った。その結果ラット腎皮質において、cAMP増加とAQP2分子の管腔測への移動により、imidafenacin、atropine、tolterodine、desmopressin は用量依存性に尿産生を抑制することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦の下部尿路症状を有する患者の中で夜間頻尿は最も多い症状であり、日中の眠気をもたらすADLを低下させる。短時間作用型抗コリン薬である imidafenacin が尿量を減少させることはこれまでも報告があったがその機序は不明であった。本研究により抗コリン薬が尿量を減少させるのは腎皮質におけるcAMP増加とAQP2分子の集合管管腔側への移動によることが判明した。本研究の結果は今後の夜間頻尿治療に対する新薬開発や新たな治療戦略を考える上で役立つ研究成果であったと考える。

研究成果の概要（英文）：Nocturia is the most common symptom among patients with lower urinary tract symptoms in Japan. Anticholinergic drugs for the treatment of overactive bladder are also effective for nocturia, but among them, imidafenacin, a short-acting anticholinergic drug, was compared with the nocturia group in the sub-analysis of the phase 3 study. It was suggested that the amount could be significantly reduced. Therefore, in order to elucidate the mechanism by which anticholinergic drugs reduce urine output, we conducted animal experiments using rats as well. As a result, it was found that imidafenacin, atropine, tolterodine, and desmopressin suppress urine production in a dose-dependent manner by increasing cAMP and transferring the AQP2 molecule to luminal measurement in the rat renal cortex.

研究分野：排尿

キーワード：夜間頻尿 アクアポリン 抗コリン薬

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

下部尿路症状の中で最も生活に支障をきたす症状が夜間頻尿で、高齢者の多くにその症状がある。膀胱はこれまで尿の代謝に影響を与えないと考えられていたが、夜間頻尿を避けるために機能的膀胱容量に達すると、一時的な膀胱内容量の減少が起こり朝までその容量が維持され、これによりヒトの膀胱で水吸収が起こっている可能性を示唆する報告がある。またこれまでの報告で両生類や一部の哺乳類で、細胞膜を通して水分子を移動させる水チャネル分子であるアキュアポリン(AQP)を介して膀胱から水吸収を行っていることは知られている。以上から膀胱におけるAQPを介した水吸収機構を解明し、夜間頻尿の新たな治療に役立てることが目的である。

### 2. 研究の目的

本邦で下部尿路症状を訴える患者は多く、その中でも夜間頻尿は男女ともに最も多い症状とされており、不眠から日中の倦怠感をきたすなどQOL低下を招く。夜間頻尿の病因として膀胱容量減少、睡眠障害、夜間多尿など複数の要因が関わっているが、高齢者の夜間頻尿は夜間多尿が最も大きな比重を占めている。

尿意切迫感を主症状とする過活動膀胱の第一選択薬である抗コリン薬は夜間頻尿にも有効であるが、その中でも短時間作用型の抗コリン薬であるimidafenacin(IM)は、第3相試験のサブ解析においてプラセボ群と比較して夜間尿量を有意に減少させる可能性が示唆された。その検証として施行した動物実験では、ラット利尿モデルに対し投与した抗コリン薬(IM、tolterodine(TO))が尿量を減少させることを確認した。一方、ヒトにおいて就寝中100ml以上の尿が膀胱上皮から吸収されることも報告されている。そこで抗コリン薬が尿量を減少させるのは(1)膀胱における尿再吸収、(2)腎での再吸収、このどちらのメカニズムに起因するのかを解明するために動物実験を行った。

### 3. 研究の方法

(1)膀胱吸収: 10-12週齢SD雌性ラットを使用し、ウレタン麻酔下両側尿管を結紮、経尿道的にカテーテルを膀胱に留置し、膀胱内圧をモニターしながら30cmH<sub>2</sub>Oに達するまで0.3%、0.9%生理食塩水を注入した。30cmH<sub>2</sub>Oに達した1分後に薬剤(Vehicle(VE)、atropine(AT)、IM、TO)を経静脈的に投与し、2時間後に膀胱内容物を回収し量を測定した。回収液の電解質濃度、浸透圧、比重も測定した。

(2)腎吸収: 0-12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、経静脈的に0.9%生理食塩水を持続投与して利尿状態を作成した。最初の1時間は5ml/hr、続いて3ml/hrの速度で5時間投与した。開始2時間後経静脈的にVE、IM、AT、TO、desmopressin(dDAVP)を用量依存性に投与し、2時間ごとに腎由来の尿量、尿中Na<sup>+</sup>濃度を測定した。また尿中Aquaporin-2(AQP2)蛋白濃度をELISA法で測定した。最後に腎を摘出し皮質と髄質に分け、AQP2の蛍光免疫染色を行い、またcAMP量をELISA法にて測定した。

### 4. 研究成果

(1)膀胱吸収: 膀胱注入した生理食塩水は膀胱から吸収されたが、吸収率は注入量の10%程度であった。0.3%生理食塩水を注入した時、Na<sup>+</sup>とCl<sup>-</sup>濃度は上昇したが、0.9%生理食塩水を注入すると共に減少した。各種抗コリン薬を用いても吸収率は一定であり、また電解質濃度、浸透圧の変化は抗コリン薬投与に関わらず一定であった。

(2)腎吸収: 0.9%生理食塩水を持続投与して2時間後、VE群では尿産生のピークが出現したが、IM、AT、TO、dDAVPでは用量依存性に尿産生が抑制された。またIMとdDAVPにより腎皮質cAMPは有意に増加した。免疫組織染色において、利尿状態ではAQP2分子は腎皮質集合管の細胞質内に分布したが、IMとdDAVP投与により管腔測へ移動が認められた。さらに尿中AQP2排泄量はIMとdDAVP投与により増加がみられた。尿中のNa<sup>+</sup>排泄量を測定するとIM高用量で尿Na<sup>+</sup>は低下した。すなわち、IMにより腎でのNa<sup>+</sup>の再吸収が起こっている可能性が示唆された。

膀胱上皮を介する尿吸収メカニズムは存在し、またNa<sup>+</sup>やCl<sup>-</sup>も吸収されることが解明されたが、抗コリン薬による尿吸収促進に関しては否定的であった。腎集合管での尿再吸収には主にAQP2が関与している。dDAVPが基底側壁部細胞膜に分布するvasopressin V<sub>2</sub>受容体に結合すると、adenylate cyclaseを介してcAMPが上昇し、protein kinase AによってAQP2がリン酸化される。リン酸化されたAQP2は細胞内から管腔測細胞膜上

へ trafficking され、その結果 AQP2 を介して水の透過性が上昇し尿量は減少する。本研究においても dDAVP 投与により cAMP の上昇がみられ、AQP2 の trafficking から尿量減少が観察された。また、本研究では 0.9%生理食塩水投与により na 利尿を惹起しているが、皮質集合管からは  $\text{Na}^+$ 過剰に反応して acetylcholine(Ach)が放出され Ach が epithelial sodium channel (ENaC) の  $\text{Na}^+$ 吸収を阻害して利尿に作用するとの報告がある。さらにムスカリン受容体からのシグナルは AQP2 の細胞質内への移動(internalization)を促進することで利尿に働くと考えられている。この生理食塩水負荷の状況下で本実験のように抗コリン薬を投与するとムスカリン受容体遮断から cAMP を増加させ、AQP2 の管腔側細胞膜上への移動を促進した結果、抗利尿作用が発揮された可能性がある。抗コリン薬投与により尿  $\text{Na}^+$ の排泄量が低下したのは、ENaC の  $\text{Na}^+$ 吸収を促進した可能性もあると推測された。

以上から膀胱上皮を介する尿吸収メカニズムは存在するが抗コリン薬による尿吸収促進は否定的で、抗コリン薬は腎皮質集合管の cAMP 上昇、AQP2 分子の管腔側への移動を介して抗利尿に働く可能性がある。また  $\text{Na}^+$ などの電解質も再吸収される可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>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<br>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<br>第24回北陸BRM研究会                           |
| 4. 発表年<br>2021年                                   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>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<br>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<br>第27回排尿機能学会                             |
| 4. 発表年<br>2020年                                   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>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<br>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<br>第108回日本泌尿器科学会総会                        |
| 4. 発表年<br>2020年                                   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>大江秀樹                         |
| 2. 発表標題<br>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<br>第26回排尿機能学会                   |
| 4. 発表年<br>2019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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

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