

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09521

研究課題名(和文)腎アкваポリン分子をターゲットとした夜間多尿対策：有効かつ安全な治療を目指して

研究課題名(英文)rCountermeasures for nocturnal polyuria targeting renal aquaporin molecule

研究代表者

横山 修 (Yokoyama, Osamu)

福井大学・学術研究院医学系部門・名誉教授

研究者番号：90242552

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)：抗コリン薬の尿量減少効果が膀胱と腎のどちらに起因するか実験した。ラット膀胱では食塩水とブドウ糖が吸収されたが抗コリン薬による差はなかった。腎での吸収は生食を静脈投与して利尿状態を作成し抗コリン薬とdDAVPを投与した。尿中AQP2濃度、腎を皮質と髄質に分けてAQP2蛍光免疫染色、腎cAMP量測定を行った。利尿状態ではAQP2分子は皮質集合管細胞質内に分布、抗コリン薬で尿産生が抑制、AQP2分子は集合管管腔側へ移動、抗コリン薬とdDAVPにより腎皮質cAMPは有意に増加、尿中AQP2排泄量は増加した。抗コリン薬は腎集合管でのAQP2を介した尿再吸収を促進する。ムスカリンM1受容体が関与する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

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、機能的膀胱容量に達するとヒトの膀胱で水吸収が生じる。本研究でも膀胱上皮を介する尿吸収メカニズムが存在することを示した。しかし、抗コリン薬による膀胱での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利尿に働く可能性があること、Na⁺などの電解質も再吸収される可能性があることを初めて報告した。臨床的にも短時間作用型抗コリン薬が夜間尿量を減少させることが報告されているが、抗コリン薬が尿量減少をもたらす機序として腎皮質集合管でAQP2が関与していることを初めて証明した。

研究成果の概要(英文)：Experiments were conducted to determine whether the decrease in urine volume by anticholinergics is due to reabsorption in the bladder or kidney. Saline and glucose solutions were absorbed from the rat bladder, however, there was no difference in reabsorption between with or without anticholinergics. For renal absorption, urinary AQP2 protein measurement, fluorescence immunostaining of AQP2 and cAMP measurement of the kidney were performed. Under diuretic conditions, AQP2 molecules were distributed within the collecting duct cytoplasm in the renal cortex. Anticholinergics and desmopressin suppressed urine production, increased the intracellular cAMP levels and caused the AQP2 molecule to localize to the collecting duct cells' luminal side. The urinary reabsorption mechanism through the bladder epithelium was not activated by anticholinergics. Thus, anticholinergics suppress urine production via an increase in urine reabsorption in the kidneys' collecting duct cells via AQP2.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：夜間多尿 夜間頻尿 抗コリン薬 アクアポリン分子 デスモプレシン cAMP 腎皮質集合管

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。夜間多尿に対する薬物治療にはデスマプレッシン製剤が有効であるが、男性のみの適応であり、また低ナトリウム血症などの副作用も懸念される。したがって女性でも使用できて低ナトリウム血症を生じさせない新薬の開発がアンメットニーズとなっている。臨床的には短時間作用型の抗コリン薬が夜間尿量を減少させることが報告されているが、抗コリン薬が尿量減少をもたらす機序は解明されていない。

2. 研究の目的

過活動膀胱の治療薬である抗コリン薬は夜間頻尿にも有効であり、特に短時間作用型の抗コリン薬はプラセボ群と比較して夜間尿量を有意に減少させることが報告されている¹⁾。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抗コリン薬 (imidafenacin (IM)、tolterodine (T0)) を投与すると尿量が減少することが確認された²⁾。一方、ヒトは就寝中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³⁾。そこで抗コリン薬の尿量減少が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ラットを用いた動物実験を行った。

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30cmH₂Oに達するまで0.3%、0.9%生理食塩水を注入した。30cmH₂Oに達した1分後に薬剤(vehicle (VE)、atropine (AT)、IM、T0)を経静脈的に投与し、2時間後に膀胱内溶液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: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5 ml/hr、続いて3 ml/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、T0、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⁺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

膀胱内注入した0.3%あるいは0.9%食塩水、5%ブドウ糖液は吸収されたが、吸収率は注入量の約10%程度であり、水とともにNa⁺やCl⁻などの電解質も吸収された。各種抗コリン薬を用いても吸収率は変化がなく、抗コリン薬による膀胱での尿吸収促進に関しては否定された(図1)。

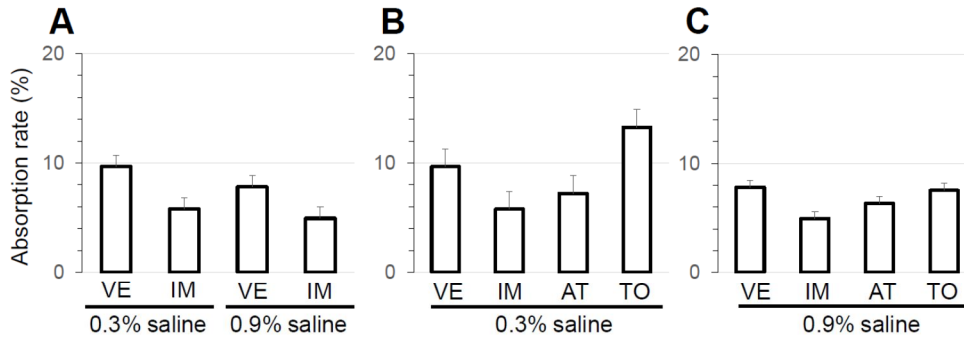


図1 各種抗コリン薬の膀胱吸収に対する影響

ラット膀胱壁における吸収率を、3種類の抗コリン薬を投与することによって比較。(A)膀胱が0.3%または0.9%生理食塩水で満たされている場合の、静脈内vehicle (VE) とimidafenacin(IM) (0.1 mg/kg) 投与の比較。(B)膀胱が0.3%生理食塩水で満たされている場合の静脈内VE、IM (0.1 mg/kg)、atropine (AT) (0.1 mg/kg)、およびtolterodine (TO) (0.3 mg/kg) 投与の比較。(C)膀胱が0.9%生理食塩水で満たされている場合の静脈内VE、IM (0.1 mg/kg)、atropine (AT) (0.1 mg/kg)、およびtolterodine (TO) (0.3 mg/kg) 投与の比較。8匹のラットの測定値の平均 ± SEM。

腎での吸収に関して、vehicle(VE)投与群では尿産生のピークが出現したが、IM、atropine(AT)、TO、dDAVP投与群では用量依存性に尿産生が抑制された(図2)。

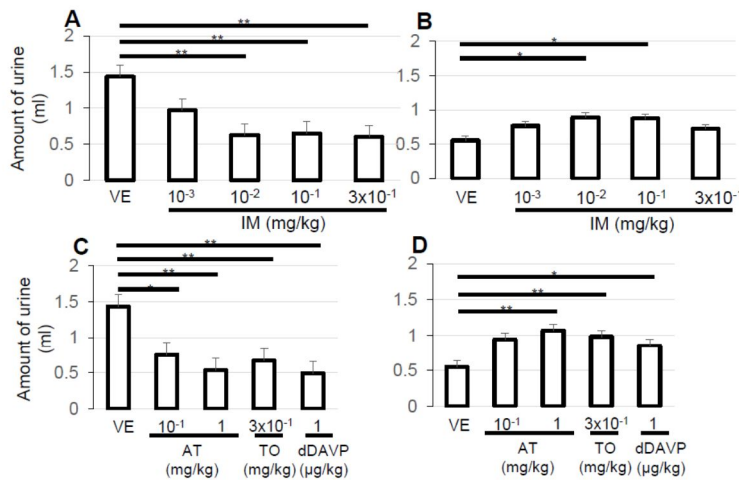


図2 imidafenacin (IM)、tolterodine (TO)、atropine (AT)投与によるラット腎由来尿量の変化。腎由来の2時間あたりの尿量を、vehicle (VE) と3種類の抗コリン薬の投与後に比較。VEと比較して、IM (A) および AT (C)の投与では、最初の2時間で用量依存的な尿産生の抑制が観察された。TOとdDAVPによっても抑制された(C)。次の2時間で、VEと比較して尿産生が増加した(B、D)。8匹のラットの測定値の平均 ± SEM。*p < 0.05、**p < 0.01。

摘出腎の皮質では、IMとdDAVPによりcAMPは有意に増加した(図3)。

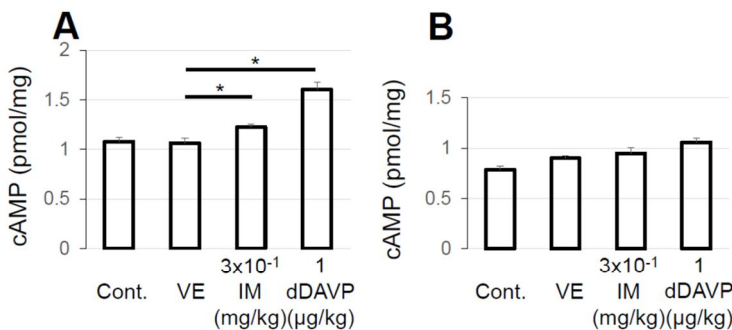


図3 imidafenacin (IM)により腎皮質のcAMPは増加。

腎皮質(A)および髄質(B)におけるvehicle (VE)、IM、またはdDAVPの静脈内投与によって誘導される細胞内cAMP量を測定。生理食塩水投与前(非利尿状態)のcAMP量を対照。生理食塩水投与開始の2時間後にVE、IM、またはdDAVPを静脈内注射し、1時間後にサンプルの腎臓を採取した。8匹のラットの測定値の平均 ± SEM。*p < 0.05。

AQP2免疫染色において、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投与により集合管管腔側へ移動traffickingが認められた(図4)。

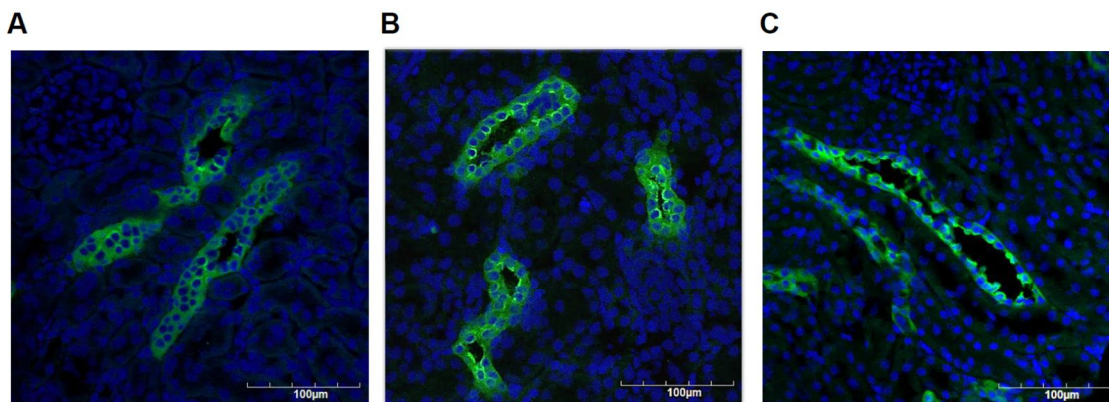


図4 imidafenacin (IM9)による腎皮質集合管管腔側におけるAQP2の集積
ラットに生理食塩水を2時間静脈内投与して水負荷を加え、その後 Vehicle、IM、または dDAVP を投与してから1時間後にサンプルの腎臓を採取した。AQP2は、VE投与ラットの皮質集合管細胞の細胞質に分布(A)。IMを投与したラットでは、AQP2は集合管細胞の細胞質より管腔側に多く集積(B)。dDAVPは、AQP2分子を集合管細胞の管腔側に移動させた(C)。

さらに尿中AQP2蛋白の排泄量はIMとdDAVP投与により増加がみられた。また、尿中Na⁺排泄量はIM高用量で低下した。すなわち、抗コリン薬により腎集合管でのAQP2を介した尿再吸収が生じていることが解明された。腎集合管にはムスカリン受容体(M1サブタイプ)が存在すると報告されているが、選択的ムスカリンM1受容体阻害薬であるpirenzepineを用いて同様の実験を行ったところ、他の抗コリン薬と同様の抗利尿作用が認められた。このことからM1サブタイプに親和性のある抗コリン薬は腎皮質cAMPの上昇をきたし、集合管AQP2のtraffickingから尿量を減少させると考えられる。M1選択的阻害薬は低Na血症をきたすことなく夜間尿量を減少させる可能性もある。

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、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惹起され、ヒト膀胱でも水吸収が生じる。本研究でも膀胱上皮を介する尿吸収メカニズムが存在することが示された。しかし、抗コリン薬による膀胱での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分子の管腔測への移動を介して抗利尿に働く可能性があること、Na⁺などの電解質も再吸収される可能性があることを示した。

これまで、塩分と水の過剰摂取に伴って生じる多尿のメカニズムには、ナトリウム負荷が腎皮質から内因性のacetylcholine (ACh)を放出させ、このAChがepithelial sodium channel (ENaC)のナトリウム吸収を阻害しナトリウム利尿に働くと報告されている4)。また、ムスカリン受容体作動薬carbacholがProtein kinase Cを介してラビット集合管Na⁺/K⁺-ATPase活性を阻害しナトリウム利尿に働くという報告もある5)。これら報告は抗コリン薬が抗利尿に作用する可能性を示唆するものと考えられる。また、抗コリン薬がENaCを介してナトリウム吸収を促進し、低ナトリウム血症を起すことなく抗利尿に作用する可能性も示唆された。

引用文献

- 1) Yokoyama, O., Homma, Y. & Yamaguchi, O. Imidafenacin, an antimuscarinic agent, improves nocturia and reduces nocturnal urine volume. *Urology* **82**, 515-520 (2013).
- 2) Watanabe, N. *et al.* Antidiuretic effect of antimuscarinic agents in rat model depends on C-fibre afferent nerves in the bladder. *BJU Int.* **112**, 131-136 (2013).
- 3) Watanabe, H., Azuma, Y. Periodical measurement of urine volume in the bladder during sleep: Temporary volume reduction suggestive of absorption. *Int J Urol.* **23**, 182-187

(2016).

4) Shimizu, S. *et al.* Sodium ion transport participates in the non-neuronal acetylcholine release in the renal cortex of anesthetized rabbits. *J. Physiol. Soc.* **67**, 587-593 (2017).

5) Garg, L. C., Saha, P. K. & Mohuczy-Dominiak, D. Cholinergic inhibition of Na-K-ATPase via activation of protein kinase C in Madin-Darby Canine kidney cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* **4**, 195-205 (1993).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Oe H, Yoshiki H, Zha X, Kobayashi H, Aoki Y, Ito H, Yokoyama O.	4. 巻 11
2. 論文標題 Urinary reabsorption in the rat kidney by anticholinergics.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 9191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-88738-y	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 Tanio M, Muramoto A, Hoshino H, Murahashi M, Imamura Y, Yokoyama O, Kobayashi M.	4. 巻 39
2. 論文標題 Expression of functional E-selectin ligands on the plasma membrane of carcinoma cells correlates with poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Urol Oncol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.urolonc.2021.02.013.	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 Takahashi S, Takei M, Asakura H, Gotoh M, Ishizuka O, Kato K, Koyama M, Takeyama M, Tomoe H, Yamanishi T, Yokoyama O, Yoshida M, Yoshimura Y, Yoshizawa T.	4. 巻 28
2. 論文標題 Clinical Guidelines for Female Lower Urinary Tract Symptoms (second edition).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Urol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iju.14492.	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 Kako Y, Ueki R, Yamamoto S, Takaki H, Aoki Y, Yokoyama O, Yamakado K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Adrenal pheochromocytoma treated by combination of adrenal arterial embolization and radiofrequency ablation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin Case Rep.	6. 最初と最後の頁 1261-1265
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ccr3.3745.	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 Hasegawa K, Ito H, Kaseno K, Miyazaki S, Shiomi Y, Tama N, Ikeda H, Ishida K, Uzui H, Ohno S, Horie M, Yokoyama O, Tada H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Impact of Medical Castration on Malignant Arrhythmias in Patients With Prostate Cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc.	6. 最初と最後の頁 e017267
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.120.017267.	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 Takahashi S, Kato K, Takei M, Yokoyama O, Gotoh M.	4. 巻 28
2. 論文標題 Efficacy and safety of the noradrenaline reuptake inhibitor, TAS-303, in women with stress urinary incontinence: Results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, early phase II trial.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Urol.	6. 最初と最後の頁 82-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/iju.14411.	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 Inamura S, Ito H, Oe H, Seki M, Taga M, Kobayashi M, Yokoyama O.	4. 巻 27
2. 論文標題 Duration of smoking cessation is negatively associated with the magnitude of chronic prostatic inflammation and storage dysfunction in patients with benign prostatic hyperplasia.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Urol.	6. 最初と最後の頁 874-881
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/iju.14320.	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 Itoga A, Zha X, Nagase K, Aoki Y, Ito H and Osamu Yokoyama.	4. 巻 8
2. 論文標題 Correcting imbalance of sex hormones by a phosphodiesterase 5 inhibitor improves copulatory dysfunction in male rats with type 2 diabetes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Res Care.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjdr-2019-001111	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 Yoshida M, Takeda M, Gotoh M, Yokoyama O, Kakizaki H, Takahashi S, Masumori N, Nagai S, Minemura K.	4. 巻 125
2. 論文標題 Efficacy of vibegron, a novel 3-adrenoreceptor agonist, on severe urgency urinary incontinence related to overactive bladder: post hoc analysis of a randomized, placebo-controlled, double-blind, comparative phase 3 study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BJU Int.	6. 最初と最後の頁 709-717
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bju.15020.	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 Yokoyama O, Honda M, Yamanishi T, Sekiguchi Y, Fujii K, Nakayama T, Mogi T.	4. 巻 27
2. 論文標題 OnabotulinumtoxinA (botulinum toxin type A) for the treatment of Japanese patients with overactive bladder and urinary incontinence: Results of single-dose treatment from a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled trial (interim analysis).	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Urol.	6. 最初と最後の頁 227-234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/iju.14176.	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 大江秀樹	4. 巻 30
2. 論文標題 Urinary reabsorption in the rat kidney by anticholinergics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 排尿障害ブラクテイス	6. 最初と最後の頁 162-166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 横山 修	4. 巻 36
2. 論文標題 安眠のための秘訣－睡眠障害と夜間多尿を中心に－	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 北陸神経精神医学雑誌	6. 最初と最後の頁 3-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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6件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 横山修
2. 発表標題 夜間多尿を中心とした夜間頻尿の診断と治療
3. 学会等名 第86回日本泌尿器科学会東部総会（招待講演）
4. 発表年 2021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108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020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
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24回北陸BRM研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横山修
2. 発表標題 Nocturia協奏曲～夜間頻尿・多尿を多面的に考える～
3. 学会等名 第27回日本排尿機能学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横山修
2. 発表標題 フレイル高齢者のOAB治療を考える
3. 学会等名 第35回老年泌尿器科学会ランチョンセミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横山修
2. 発表標題 加齢に伴うLUTSの変化
3. 学会等名 第72回日本泌尿器科学会中部総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 吉田正貴、横山修 他	4. 発行年 2020年
2. 出版社 リッチヒルメディカル	5. 総ページ数 178
3. 書名 夜間頻尿診療ガイドライン（第2版）	

1. 著者名 高橋悟、近藤幸尋、戸山友香、横山修、関口由紀、皆川倫範	4. 発行年 2020年
2. 出版社 文響社	5. 総ページ数 207
3. 書名 頻尿尿もれ最高の治し方大全	

〔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	多賀 峰克 (Taga Minekatsu) (00529349)	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	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	大江 秀樹 (Ooe Hideki) (70760510)	福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・医員 (13401)	

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