

令和 3 年 5 月 11 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09165

研究課題名（和文）夜間多尿動物モデルの確立と塩分負荷による膀胱求心性神経亢進の機構解明

研究課題名（英文）Establishment of a new animal model for nocturnal polyuria and elucidation of the mechanisms of bladder hypersensitivity induced by salt loading

研究代表者

竹澤 健太郎（Takezawa, Kentaro）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90648015

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：夜間の尿量が多くなる夜間多尿は夜間頻尿の最も多い原因である。夜間多尿は原因がよく分かっておらず、既存の治療の効果はそれほど高くない。夜間多尿の新規治療法開発には夜間多尿の病態解明が不可欠であり、そのためには夜間多尿モデル動物を用いた基礎研究が必要である。われわれは老齢マウスを用いた研究とヒトの臨床研究の結果をもとに、新規夜間多尿モデルマウスの樹立に成功した。さらにこの新規夜間多尿モデルマウスを詳しく解析することで、腎遠位尿細管におけるNa吸収に関わるチャネル（NCC）の過剰活性化が夜間多尿の原因となっていることを発見した。NCCの過剰活性化は夜間多尿の新規治療標的となることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

夜間多尿は夜間頻尿の最も多い原因であり夜間頻尿の原因の60～80%をしめる。夜間頻尿患者は循環器系の疾患や骨折率が高く、死亡率も高い。夜間頻尿の改善はQOLだけでなく生命予後の改善につながると考えられるが、そのためには夜間多尿の病態解明と治療法開発が課題である。しかし、これまで夜間多尿の疾患モデル動物が樹立されておらず、夜間多尿の基礎研究は困難であった。本研究でわれわれは新規夜間多尿モデル動物を樹立した。さらにこのモデル動物を用いて、腎臓のNa吸収に関わるチャネルであるNCCの過剰活性化が夜間多尿を引き起こすことを発見した。NCCの過剰活性化は夜間多尿の新しい治療ターゲットとなると期待される。

研究成果の概要（英文）：Nocturnal polyuria is the most common cause of nocturia. The cause of nocturnal polyuria is not well understood, and existing treatments are not highly effective. To develop a new treatment for nocturnal polyuria, it is essential to elucidate the pathogenesis of nocturnal polyuria, which requires basic research using animal models of nocturnal polyuria. However, a nocturnal polyuria disease model animal that mimics human nocturnal polyuria has not yet been established. In this study, we have succeeded in establishing a new nocturnal polyuria model mouse based on the results of research using aged mice and clinical studies in humans. By analyzing this disease model mouse in detail, we found that the cause of nocturnal polyuria is over-activation of NCC, which is a channel involved in sodium absorption in distal renal tubules. The over-activation of NCC is expected to be a novel therapeutic target for nocturnal polyuria.

研究分野：排尿障害

キーワード：夜間頻尿 夜間多尿 排尿障害

## 1. 研究開始当初の背景

夜間頻尿は下部尿路症状の中で最も頻度が高く、QOL を低下させる症状である。夜間頻尿の患者は循環器系の合併症が多く、骨折率や死亡率が高い。夜間排尿回数が 2 回以上あると生命予後が悪化すると報告されている。夜間頻尿の改善は、QOL だけでなく生命予後の改善につながると考えられる。

夜間頻尿の原因には夜間の尿量が増加する夜間多尿、膀胱容量が低下する蓄尿障害、睡眠が浅くなる睡眠障害があり、この中で最も頻度が高いのは夜間多尿である。夜間多尿は夜間頻尿の 60 - 80% をしめるとされる。現在、夜間多尿に対して行われている治療は、飲水制限や塩分制限などの生活指導、抗利尿ホルモン剤や利尿剤、抗コリン剤などの薬物治療であるが、いずれの治療も効果はそれほど高くなく満足できるものではない。夜間多尿の治療法開発が進まない原因の一つに、夜間多尿の病態が未解明であることが挙げられる。疾患の病態解明、治療法開発には疾患モデル動物を用いた基礎研究が不可欠であるが、夜間多尿にはモデル動物がない。

ヒトの臨床研究では、夜間多尿と関連する因子として、加齢、高血圧、腎機能障害、塩分過剰摂取などが報告されている。そこで我々はこれらの因子を組み合わせることで夜間多尿モデル動物を確立できるのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ヒトの夜間多尿を模倣した新規夜間多尿モデル動物を確立すること、さらにそのモデル動物を用いて夜間多尿の病態を解明し新規治療ターゲットを探索することであった。

## 3. 研究の方法

以下の 4 つの項目を検討した。

### (1) 老齢マウスを用いた夜間多尿モデルマウスの作成

若齢マウスと老齢マウスに通常食と高塩分食を摂取させ、非活動期尿指数 (ヒトの夜間多尿指数に相当) の変化を測定した。

### (2) ヒトの排尿記録データ解析

大阪大学医学部附属病院泌尿器科に下部尿路症状で通院中の患者の、尿中の物質 X と塩分排泄量と夜間多尿指数の関連を解析した。

### (3) 新規夜間多尿モデルマウスの作成

(1), (2) の結果をもとに、尿中物質 X を制御する物質 Y の投与と塩分過剰摂取により夜間多尿モデルマウスの確立を試みた。若齢マウスを物質 Y 投与の有無、高塩分食の有無で 4 群に分け非活動期尿量を比較した。

### (4) 夜間多尿の機序解明

(3) で確立した夜間多尿モデルマウスを用いて夜間多尿の機序解明を目指し以下の 3 つの項目を検討した。

非活動期塩分排泄率の変化

代謝ケージを用いて、物質 Y 投与、高塩分食摂取による活動期塩分排泄 (ヒト日中の塩分排泄に相当) の変化を測定した。

腎遠位尿細管の SPAK-NCC 経路の活性化

尿中 Na 排泄の制御に関与する腎遠位尿細管における NCC の活性化 (リン酸化 NCC) に着目し、活動期の NCC 活性化 (リン酸化 NCC/NCC) を western blot 法で測定した。さらに、NCC の上流の SPAK の活性化 (リン酸化 SPAK/SPAK) を western blot 法で測定した。

NCC 阻害剤の効果

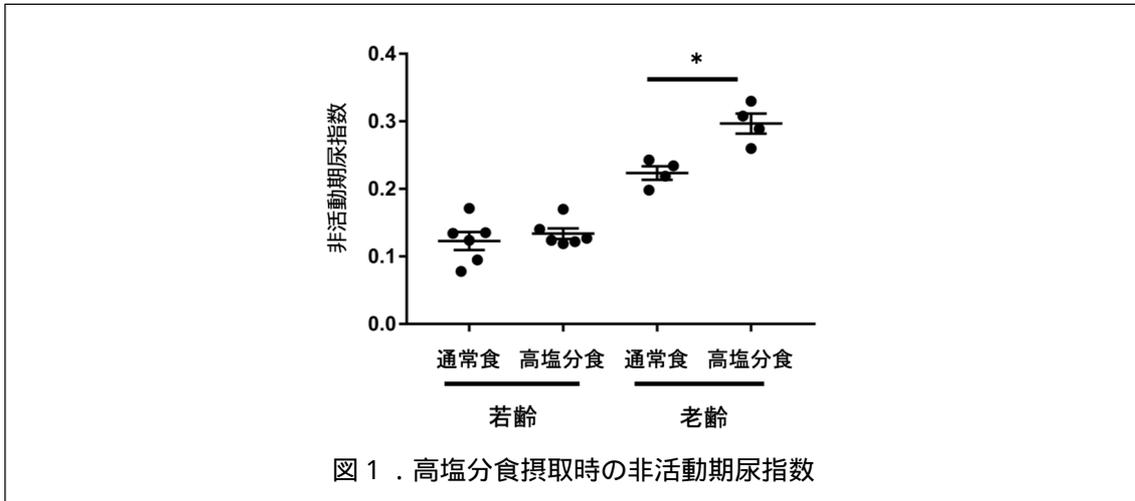
夜間多尿モデルマウスに NCC 阻害剤である HCTZ を投与し、非活動期尿率の変化を測定した。

## 4. 研究成果

### (1) 老齢マウスを用いた夜間多尿モデルマウスの作成

若齢マウスに高塩分食を摂取させても非活動期尿指数は変化しなかったが、老齢マウスに高塩分食を摂取させると非活動期尿指数が増加した (図 1)。

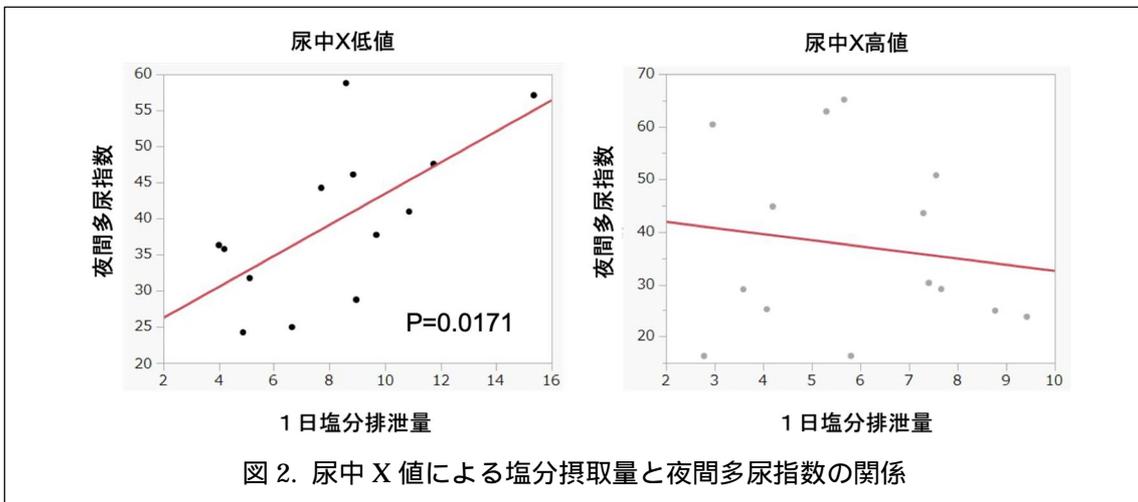
このことから、加齢にともなう何らかの変化が塩分過剰摂取時の夜間尿量増加に寄与していると考えられた。



### (2)ヒトの排尿記録データ解析

尿中の物質 X が高値の患者では塩分排泄量と夜間多尿指数に相関を認めなかったが、尿中の物質 X が低値の患者では塩分摂取量と夜間多尿指数に正の相関を認めた (図 2)。

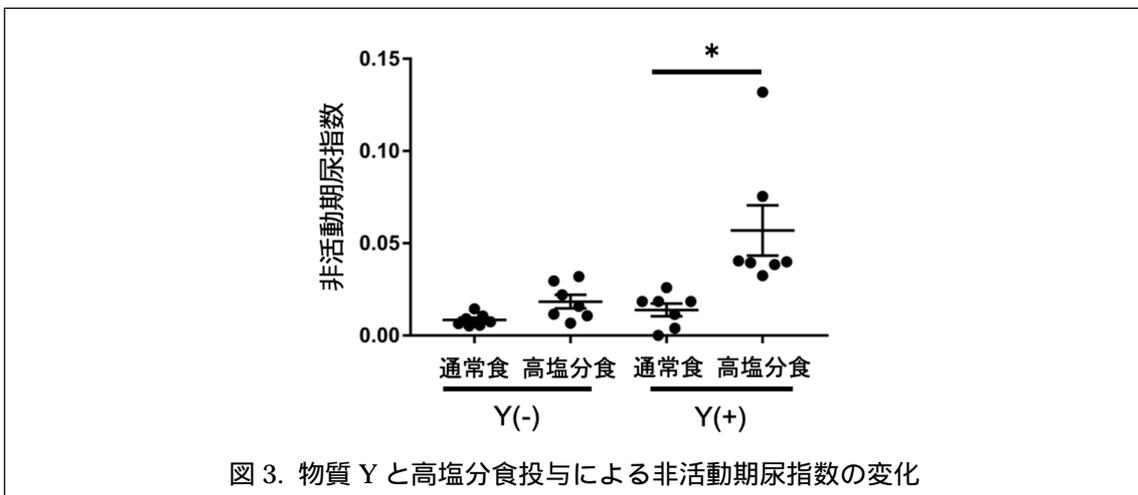
(1), (2)の結果から、加齢に伴う物質 X の低下が、塩分過剰摂取時の夜間多尿に関連していると考えられた。



### (3)新規夜間多尿モデルマウスの作成

物質 Y を投与しなければ高塩分食を摂取させても非活動期尿指数は変化しなかったが、物質 Y の投与下に高塩分食を摂取させると非活動期尿指数が増加した (図 3)。物質 Y の投与のみでは非活動期尿指数に変化は認められなかった。

物質 Y 投与と高塩分食の併用は、ヒトの夜間多尿を模倣した新規夜間多尿モデルマウスになりうると考えられた。



#### (4)夜間多尿の機序解明

非活動期塩分排泄率の変化

物質 Y を投与すると高塩分食摂取時の活動期塩分排泄が抑制された (図 4-1)。

このことから、本モデルの夜間多尿の病態は活動期の塩分排泄低下にともなう非活動期の塩分排泄増加であると考えられた。

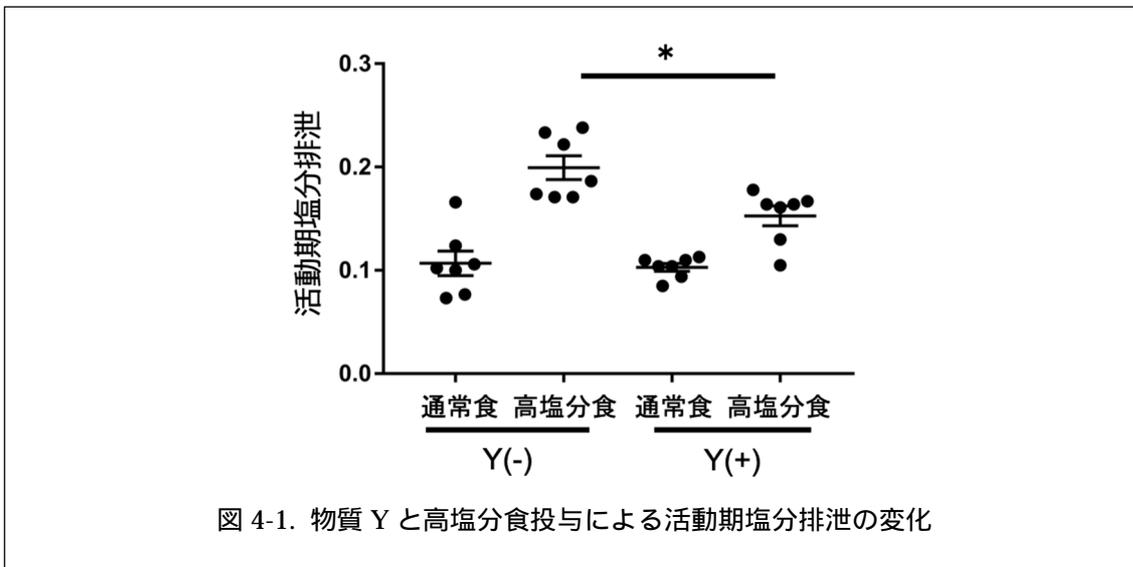


図 4-1. 物質 Y と高塩分食投与による活動期塩分排泄の変化

腎遠位尿細管の SPAK-NCC 経路の活性化

物質 Y を投与しなければ高塩分食時に活動期の NCC 活性化は有意に低下したが、物質 Y の投与下では高塩分を摂取させても NCC 活性化が低下しなかった。また NCC の上流の SPAK も同様の挙動を示した (図 4-2)。

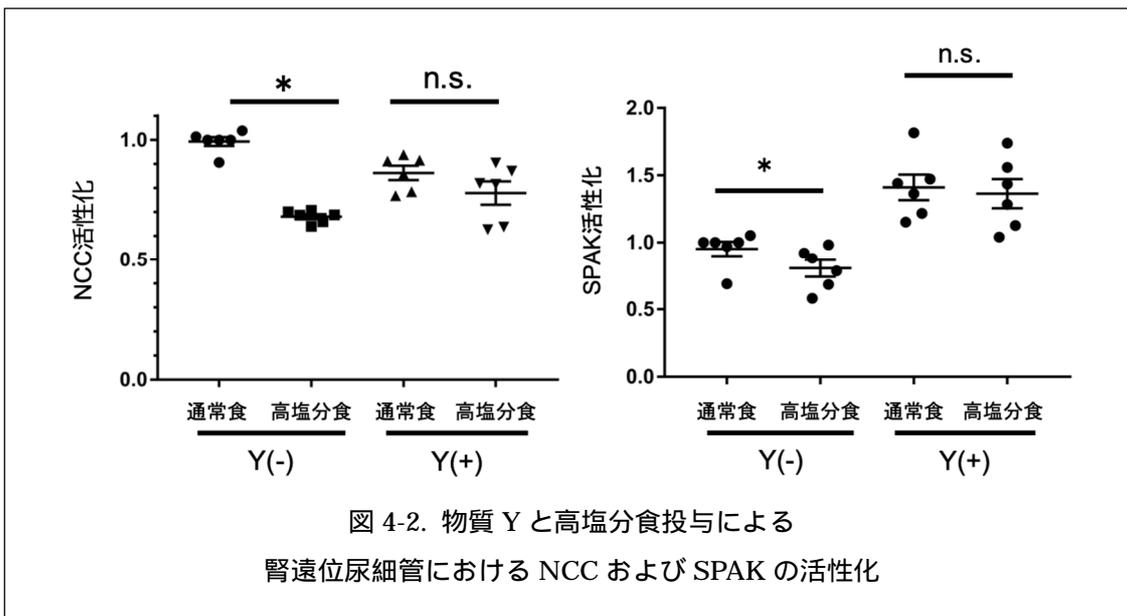


図 4-2. 物質 Y と高塩分食投与による腎遠位尿細管における NCC および SPAK の活性化

NCC 阻害剤の効果

コントロール群に HCTZ を投与しても非活動期尿率は変化しなかったが、夜間多尿モデル群に HCTZ を投与すると非活動期尿率が減少した (図 4-3)。

このことから、活動期の腎遠位尿細管 NCC の過剰活性化が夜間多尿の原因であると考えられた。

以上から、本新規夜間多尿モデルマウスにおいて非活動期の尿量が増加する機序は、腎遠位尿細管の SPAK-NCC 経路過剰活性化による活動期の塩分排泄低下と、それに伴う非活動期の塩分排泄増加であることが分かった。腎遠位尿細管の 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。

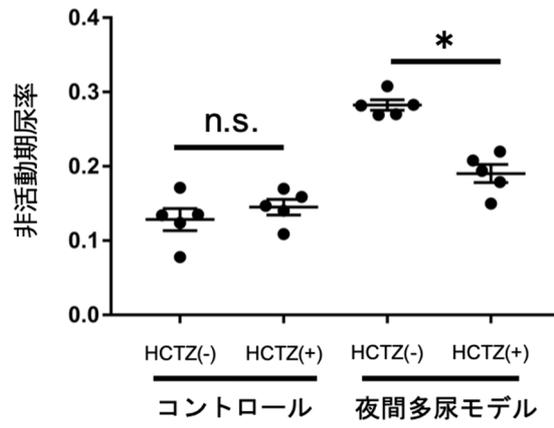


図 4-3. 夜間多尿モデルに対する HCTZ の効果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	木内 寛  (Kiuchi Hiroshi)  (70403053)	大阪大学・医学系研究科・講師   (14401)	
研究分担者	上田 倫央  (Ueda Norichika)  (40759528)	大阪大学・医学系研究科・招へい教員   (14401)	
研究分担者	福原 慎一郎  (Fukuhara Shinichiro)  (20609870)	大阪大学・医学系研究科・講師   (14401)	
研究分担者	稲垣 裕介  (Inagaki Yusuke)  (80804400)	大阪大学・医学部附属病院・医員   (14401)	

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