

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16743

研究課題名（和文）3アドレナリン受容体作動薬のcarry-over effectの研究

研究課題名（英文）The study of carry-over effect of beta3 adrenergic receptor agonist

研究代表者

京田 有樹 (Kyohda, Yuki)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：90718024

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、頻尿モデルラットに 3アドレナリン受容体作動薬は投与終了後も治療効果が継続してみられる、すなわちcarry-overするという仮説を立てた。頻尿モデルとして、腸骨動脈内皮障害ラット(AIラット)を用いたが、まずモデル作成に非常に難渋し、また、投与後および休薬後に 3アドレナリン受容体作動薬が抗コリン薬に比較して治療効果が継続してみられることは証明することができなかった。モデル選択が失敗した可能性を考え、過活動膀胱モデルとして知られる高血圧自然発症ラットでも投与実験を行ったが、carry-over effectを証明することはできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸骨内皮障害ラットを、抗コリン薬投与群、3アドレナリン受容体作動薬投与群にわけて、それぞれ8週間の薬剤投与後、8週間の休薬期間を設けて排尿機能を評価した。残念ながら、3アドレナリン受容体作動薬の効果が休薬後も引き継がれることは証明されなかった。高血圧自然発症ラットでも実験を行ったが、同様の結果であった。仮説が間違っていた可能性もあるが、そもそも過活動膀胱ラットモデルについて定まったものがなく、その作成や選択という点において、検討の余地があると思われる。とはいえ、現時点では、3アドレナリン受容体作動薬の効果が休薬後も継続するとはいえず、休薬は推奨はされないと考えられた。

研究成果の概要（英文）：In clinical practice, it has been reported that 3-adrenergic receptor agonists for overactive bladder are often discontinued due to symptom improvement compared to anticholinergics. Therefore, we hypothesized that the therapeutic effects of 3-adrenergic receptor agonists would continue after the end of administration in pollakiuria model rats, that is, carry-over. Iliac artery endothelial injury rats (AI rats) were used as a pollakisuria model, but it was very difficult to create the model. It was not possible to prove that the treatment effect of 3-adrenergic receptor agonists was sustained. Considering the possibility of model selection failure, administration experiments were also conducted in rats with spontaneous hypertensive rat, known as an overactive bladder model, but the carry-over effect could not be proved.

研究分野：urinary function

キーワード：3アドレナリン受容体作動薬 抗コリン薬 過活動膀胱 carry over effect 排尿機能

1. 研究開始当初の背景

過活動膀胱は高齢者において有病率が高く、今後も増加が予測される疾患である。一方、高齢者の polypharmacy は近年の大きな問題であり、不要な薬剤投与は控えるべきである。従来過活動膀胱に対する治療薬は抗コリン薬が主体であったが、近年 β_3 アドレナリン受容体作動薬の開発が進んでおり、治療の選択肢が広がっている。

エビデンスグレードの高い研究はないが、 β_3 アドレナリン受容体作動薬投与により症状が改善したため休薬をする割合が、抗コリン薬と比較して高かったという報告がある。また、基礎実験では、 β_3 アドレナリン受容体作動薬を慢性膀胱虚血ラットに投与することで、頻尿を予防でき組織学的にも線維化を予防できたという研究がある。

そこで我々は、 β_3 アドレナリン受容体作動薬は一定期間の薬剤投与後に中止しても、組織学的改善を維持できている期間は過活動膀胱症状の改善効果も残存 (carry-over) するという仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、この β_3 アドレナリン受容体作動薬の carry-over effect を、抗コリン薬と比較することも含めて検証することであり、carry-over effect が明らかになれば日常診療においても β_3 アドレナリン受容体作動薬を一旦休薬することを通じて polypharmacy を防ぐことが可能となる可能性がある。

3. 研究の方法

16-18 週齢の SD ラットを用いて、腸骨動脈内皮障害 (Arterial-endothelial injury, AI) による頻尿モデルラットを作成する。AI 手術は、両側の腸骨動脈を 2Fr Forgaty カテーテルで 10-15 回の擦過を行う。その後 2% コレステロール食を与え、内皮肥厚を促す。AI 手術 8 週間後から抗コリン薬 Solifenacin 3mg/kg/day および β_3 アドレナリン受容体作動薬 Mirabegron 10mg/kg/day を 8 週間投薬し、その後中止する。投与前と投与中止時、投薬中止後 8 週間で膀胱機能評価を行う。膀胱機能評価は、排尿記録装置および膀胱内圧測定 (cystography, CMG) で行う。膀胱内圧測定は、検査の 2 日前に

SD ラットによる腸骨動脈内皮障害ラットの作成が難しく再現性が担保できない可能性を念頭に、内皮障害モデルよりはモデルとしての信頼性は低下するものの再現性の高いことで知られる高血圧自然発症ラット (spontaneous hypertensive rat, SHR) も過活動膀胱モデルとして使用する。SHR においては、薬剤投与は 6 週間として、開放時投与 6 週間 休薬 8 週での評価を行うこととした。

4. 研究成果

まず AI ラットの作成に取り組んだ。初期 30 例のうち 7 例が術中死を来し、非常に難易度の高いモデルであった。

右図に示す通り腸骨動脈内皮の肥厚が見られ、内皮障害に成功していると考えられた (図 1)。しかしながら、膀胱内圧測定では control と比較し、頻尿とならないラットが見られ (表 1)

、薬剤投与でも有意な排尿量の増加はなく (AI 2.2g vs AI+Mirabegron 3.2g vs AI+Solifenacin 1.9g, $P=0.237$) や排尿間隔の延長 (AI 761.3s vs AI+mirabegron 1078.9s vs AI+Solifenacin 703.7s, $P=0.237$) はみられなかった (表 2)。

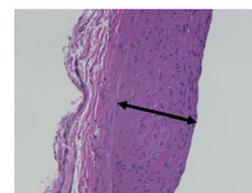


図1 腸骨動脈内皮

AI作成8週 (25-26週齢)	排尿量 (g)	排尿間隔 (S)
AI rat①	1.0	371
AI rat②	2.49	920
Control (n=6)	2.1	761.4

表1 膀胱内圧測定 (AI手術後)

AI作成16週 (投薬8週間)	排尿量 (g)	排尿間隔 (S)
AI (n=4)	2.2	761.3
AI + Mirabegron (n=3)	3.2	1078.9
AI + Solifenacin (n=6)	1.9	703.7
P	0.237	0.353

表2 膀胱内圧測定 (投薬後)

モデル作成に失敗していると考えられた。頻尿ラットが完成されていることを確認してから、投薬する必要があると考えられ、まず AI 手術 8 週間後に排尿記録装置で排尿量が低下していることを確認することとした。AI 作成 8 週間後の排尿記録で、一回排尿量が < 1g の症例を対象とした。

これにより AI 手術 8 週間後の膀胱内圧測定では、一回排尿量が control と比較して AI ラットで有意に低下した (AI 1.55g vs Control 2.34g、表 3)。

さらに AI 手術 8 週後 (薬物投与前) の排尿記録装置でも当然ではあるが一回排尿量の低下と排尿回数の増加が見られた (表 4)。

AI作成8週CMG	排尿量 (g)	排尿間隔 (S)
AI rat (n=6)	1.55	611.4
Control (n=6)	2.34	854.8
P	0.049	

表3 AI作成8週後の膀胱内圧測定

投与前 (AI手術後8週)	一日排尿回数	一日排尿量(g)	平均1回排尿量(g)
AI(n=19)	12.8	9.7	0.76
AI + Mirabegron (n=12)	12.3	8.5	0.68
AI + Solifenacin (n=8)	15.5	12.0	0.79
Control	9.6	9.7	1.09
P	0.0299	0.177	0.00586

表4 AI作成8週後の排尿記録

しかしながら、薬剤投与 8 週後の排尿記録を確認すると、排尿回数に有意な差はなく (AI 11.9 回 vs AI+Mirabegron 11.2g vs AI+Solifenacin 13g, P=0.648) 一回排尿量はむしろ薬剤投与前で低下が見られた (AI 1.04g vs AI+Mirabegron 0.7g vs AI+Solifenacin 0.65g, P=0.0232) (表 5)。さらに、休薬後 8 週での排尿記録では、一回排尿量 (AI 1.32g vs AI+Mirabegron 1.38g vs AI+Solifenacin 0.83g, P=0.141)、排尿回数 (AI 7 回 vs AI+Mirabegron 11 回 vs AI+Solifenacin 9 回, P=0.0658) に有意な差はみられなかった (表 6)。

投与8週後 (AI後16週)	一日排尿回数	一日排尿量(g)	平均1回排尿量(g)	飲水量 (g)
AI(n=11)	11.9	10.3	1.04	32.7
AI + Mirabegron (n=6)	11.2	7.8	0.70	24.4
AI + Solifenacin (n=6)	13.0	8.5	0.65	28.4
P	0.648	0.292	0.0232	0.203

表5 薬剤投与8週後の排尿記録

休薬8週後 (AI後24週)	一日排尿回数	一日排尿量(g)	平均1回排尿量(g)
AI(n=6)	7	8.7	1.32
AI + Mirabegron (n=6)	11	15.0	1.38
AI + Solifenacin (n=6)	9	8.0	0.83
P	0.0658	0.467	0.141

表6 AI作成24週後の排尿記録

さらに、休薬 8 週後の Mirabegron 投与前群と比較したが、排尿量の有意の増加が見られず (表 7) 研究の目的は達成することはできなかった。

休薬8週後 CMG (AI作成24週)	排尿量 (g)	残尿 (g)
AI (n=6)	2.69	0.37
AI + Mirabegron (n=6)	3.08	0.21
	<i>P=0.405</i>	

表7 AI作成24週後の膀胱内圧測定

研究の目的が達せられなかった理由として、そもそもモデル作成手技の難易度が非常に高いため、ばらつきが大きく、作成に成功していない可能性がまず考えられた。また、AI ラットについては作成同時に薬剤投与前を行うことによって、頻尿の予防効果があることが示されている。今回我々が行ったように、AI 手術後に時間を置いて頻尿が完成された状態に対しては、ミラベグロンを投与前としても効果が得られない可能性を考えた。

AI ラットでの研究目的の達成は困難と考えられたため、続いて SHR を用いて実験を行った。薬剤投与前の baseline では、一回排尿量や排尿回数に有意差はなかった (表 8)。

さらに、投与 6 週間後の排尿記録装置での評価を示す (表 9)。

一回排尿量 (control 0.62g vs Mirabegron 0.65g vs Solifenacin 0.58g, P=0.732) 排尿回数 (control 18.7 回 vs Mirabegron 12.4 回 vs Solifenacin 15.4 回, P=0.267) と各群に有意差はみられなかった。

残念ながら、AI モデルでの実験に難渋したため、SHR での休薬後の評価ができていないが、投薬後の排尿量や回数に変化が見られておらず、実験の前提を達することができていない状態である。

投与前 (12週齢)	一日排尿回数	一日排尿量(g)	平均1回排尿量(g)	飲水量 (g)
SHR(n=6)	18.3	11.1	0.62	31.4
SHR + Mirabegron (n=6)	15.5	8.5	0.55	29.8
SHR + Solifenacin (n=6)	21.5	12.4	0.55	32.1
P	0.105	0.229	0.636	0.388

表8 薬剤投与前の排尿記録

投与6週後 (12週齢)	一日排尿回数	一日排尿量(g)	平均1回排尿量(g)
SHR(n=6)	18.7	11.1	0.62
SHR + Mirabegron (n=5)	12.4	7.7	0.65
SHR + Solifenacin (n=5)	15.4	8.5	0.58
P	0.267	0.0672	0.732

表9 薬剤投与前の排尿記録

残念ながら今回の実験では、目的を達することができなかった。過活動膀胱ラットにおいては、

定まったモデルがなく、遺伝子モデルなどを除くといずれも難易度が高い。さらに、投薬および休薬の長期間の実験に耐えうるモデルが必要となる。今後、追加で実験を行うには、簡便で長期検査に耐えうるモデルの検索・開発が必要と考えられた。

今回の実験では、 β_3 アドレナリン受容体作動薬の carry-over effect は証明できなかった。さらなる研究が必要である。

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
研究協力者	野藤 誓亮 (Nofuji Seisuke)	札幌医科大学・泌尿器科・大学院生 (20101)	

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