

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月 1日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791470

研究課題名（和文） GABA 作動薬は夜間頻尿を改善させるか？—睡眠深度と膀胱機能に関する基礎研究

研究課題名（英文） Can GABA agonist improve nocturia symptoms? -basic research to elucidate the relationship between sleep and bladder function

研究代表者

松田 陽介（MATSUTA YOSUKE）

福井大学・医学部・助教

研究者番号：90345687

研究成果の概要（和文）：メラトニン経静脈投与は24か月齢ラットの排尿間隔を有意に延長させたが、基礎圧、排尿閾値圧、最大膀胱収縮圧および脳波所見に有意な影響を示さなかった。10週齢ラットにおいては、膀胱内圧測定上の各パラメーター、脳波所見に有意な変化を認めなかった。老齢ラットにおいて膀胱内圧に影響せずに膀胱容量を増大させることから、メラトニンは高齢者の夜間頻尿治療に有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Intravenous melatonin administration was found to significantly increase intercontraction interval in 24-month-old rats, however, it did not affect micturition voiding pressure, basal pressure, pressure threshold. It showed no significant changes in 10-week-old rats. Electroencephalographic findings showed that melatonin did not influence relative power values in either group. Melatonin increased bladder capacity without affecting bladder pressure in 24-month-old rats and can therefore be expected to be beneficial for treating nocturia in the elderly.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2100千円	630千円	2730千円
2011年度	1000千円	300千円	1300千円
年度			
年度			
年度			
総計	3100千円	930千円	4030千円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：泌尿器科学

キーワード：メラトニン、ゾルピデム、脳波、膀胱、睡眠

## 1. 研究開始当初の背景

加齢とともに夜間頻尿の頻度は増加し、睡眠障害も増加する。夜間頻尿の発生機序は多々の要因が複雑に組み合わさっているが、メラトニンや抗利尿ホルモンの分泌量減少といった加齢に伴う内分泌環境の変化が指摘されている。夜間頻尿は夜間覚醒を生じることで睡眠障害を引き起こし、日常生活の

QOLを低下させる。そのみならず、転倒による骨折や死亡のリスク増加にも関与している<sup>1)</sup>。さらなる高齢化社会が予測される本邦において、夜間頻尿改善の重要性はますます増している。また、併存疾患や併用薬が多く治療に制限が伴いやすいという高齢者のプロフィールに配慮した治療法の確立が望まれる。

夜間頻尿の主因として機能的膀胱容量の

減少、夜間多尿に加え、睡眠障害が考えられる。我々は睡眠障害を改善することで夜間頻尿が改善しうると仮定して動物実験を行い、メラトニンやゾルピデム等の GABA<sub>A</sub> 作用薬が膀胱容量を増加させ尿量を減少させる作用も有することを報告してきた。これらの薬剤は実際にヒトにおいても使用され、夜間頻尿の症状を改善させることが報告されている。しかしながら、睡眠導入作用のあるこれらの薬剤が尿路へのみの作用で夜間頻尿症状を改善させているのか、それとも睡眠深度にまで作用しているのかについては不明であった。また、脳波と膀胱機能の関連性について検討した報告も未だなく、そこに加齢が及ぼす影響も解明されておらず、今後の検討課題となっている。

## 2. 研究の目的

加齢、睡眠障害とともに夜間頻尿の頻度は増加する。夜間頻尿は QOL を低下させるのみならず、高齢者の死亡リスクの増加にも関与しうる。さらなる高齢化社会が予測される本邦において、夜間頻尿の治療の重要性はますます増しているが、既存の治療方法（飲水制限、デスマプレッシン使用、抗ムスカリン薬使用等）では十分な治療効果を得ることが困難であった。本研究の目的は、睡眠と膀胱機能の関連性、そこに加齢が及ぼす影響を解明することであり、睡眠障害の改善を通じて夜間頻尿の治療を行い得るかどうか、新たな治療方法の可能性を探ることにある。

## 3. 研究の方法

本研究は福井大学の実験動物使用ガイドラインに則り施行された。実験動物は 12 時間明環境-12 時間暗環境、20±2°C の環境で飼育された。

以下の項目について、24 か月齢および 10 週齢の雌性 Sprague-Dawley ラットを用いて実験を行い、メラトニンの作用について比較を行った。

ハロセン麻酔下にラット膀胱頂部よりポリエチレン・カテーテル (size 3、外径 1.0 mm) を膀胱内に留置し、膀胱内圧測定に用いた。ラット頭蓋骨を歯科ドリルを用いて穿孔し、慢性脳波電極 (ユニークメディカル社製 OK 209-031) を留置、歯科セメントで頭蓋骨に固定し脳波測定に用いた。慢性脳波電極の設置位置はデルタ波を効率的に検出するために以下の配置とした； bregma の 1 mm 後方 2.5 mm 外側、同側で lambda の 1 mm 前方 3.5 mm 外側。ラット頸部に筋電電極を留置し、脳波評価時の覚醒・睡眠の鑑別に用いた。グラウンド電極は筋電電極の対側頸筋内に設置した。

5-7 日の回復期間後に再度ハロセンでラットを麻酔し、頸部に小切開を加えて右頸静脈を露出、ポリエチレンカテーテル (内径 0.28 mm、外径 0.61 mm) を留置し、投薬に用いた。手術後、ラットは Ballman cage に固定され、麻酔よりの覚醒を待って実験を開始した。

(1) メラトニンが膀胱に及ぼす作用についての検討：膀胱内圧カテーテルは T チューブを用いてシリンジポンプ (テルモ社製 TE-311T) と圧トランスデューサー (日本光電製 TP-200T) と接続した。データはアンプリファイアー (日本光電社製 AB-621G) で増幅され、PowerLab<sup>®</sup> 4/25 (AD-Instruments 社) を介してパーソナルコンピュータに保存した。生理食塩水の注入スピードは 0.04 ml/min に設定し、膀胱内圧測定を施行し、メラトニン ( $1.0 \times 10^{-2}$ -1.0 mg/kg) 静脈内投与後の排尿間隔 (intercontraction interval; ICI)、基礎圧 (basal pressure; BP)、排尿閾値圧 (pressure threshold; PT)、最大排尿収縮圧 (micturition contraction pressure; MVP) の変化を検討した。

(2) メラトニンが脳波に及ぼす作用についての検討：膀胱内圧測定と同時に脳波測定を行った。測定に当たり、1k/秒のサンプリングレート、60 Hz のハイパスフィルターを採用した。データはアンプリファイアー (日本光電社製 AB-621G) で増幅され、PowerLab<sup>®</sup> 4/25 (AD-Instruments 社) を介してパーソナルコンピュータに保存した。深睡眠ではデルタ波が増加することから、蓄尿相、排尿相におけるデルタ波パワー値を算出し、メラトニン ( $1.0 \times 10^{-2}$ -1.0 mg/kg) 静脈内投与後の変化を調べた。脳波スペクトラムの解析に当たっては、LabChart<sup>®</sup> (バージョン 7.31、AD-Instruments 社) を使用し、高速フーリエ変換後の 0.5 から 30 Hz までの周波数帯域を測定対象とした。このうち 0.5 から 3.5 Hz の周波数帯域をデルタ波と定義し、総パワー値に対するデルタ波パワー値の占める双胎値を評価した。

試薬は Wako Pure Chemical Industries, Ltd. から購入した。メラトニンはまずエタノールに溶解してより、生理食塩水で 10 倍に希釈した。その後、生理食塩水による希釈により  $1.0 \times 10^{-2}$ -1.0 mg/kg の濃度に調整を行った。経静脈投与量は 0.1 ml とし、投薬ごとに 0.05 ml の生理食塩水でフラッシュを行った。

得られたデータは平均値±標準誤差 (S. E. M.) で表示した。統計学的有意差の検定には IBM<sup>®</sup> SPSS<sup>®</sup> (バージョン 19、IBM 社) を使用し、 $p < 0.05$  を有意とした。

#### 4. 研究成果

(1) メラトニンが膀胱に及ぼす作用についての検討:

10 週齢ラット (A) と 24 か月齢ラット (B) における、メラトニン投与前後の膀胱内圧測定結果を示す (図 1)。24 か月齢ラットでは 10 週齢ラットと比較し、排尿間隔が延長していることがわかる。

10 週齢ラット群では 10 匹のラットがそれぞれビークル群 (n=5) とメラトニン群 (n=5) に分けられた。投薬前のビークル群の ICI、MVP、BP、PT はそれぞれ  $32.0 \pm 5.3$  分、 $26.3 \pm 2.6$  cmH<sub>2</sub>O、 $4.8 \pm 1.2$  cmH<sub>2</sub>O、 $9.8 \pm 1.5$  cmH<sub>2</sub>O であった。メラトニン群におけるそれらは、それぞれ  $32.0 \pm 5.3$  分、 $24.5 \pm 2.1$  cmH<sub>2</sub>O、 $4.8 \pm 1.2$  cmH<sub>2</sub>O、 $9.8 \pm 1.5$  cmH<sub>2</sub>O であった。

10 週齢ラットの ICI、BP、PT、MVP の各パラメータにおいて、メラトニン投与による有意な変化を認めなかった (図 2A~D)。

24 か月齢ラット群では 9 匹のラットがそれぞれビークル群 (n=4) とメラトニン群 (n=5) に分けられた。投薬前のビークル群の ICI、MVP、BP、PT はそれぞれ  $42.8 \pm 5.3$  分、 $41.4 \pm 4.6$  cmH<sub>2</sub>O、 $4.9 \pm 1.9$  cmH<sub>2</sub>O、 $10.4 \pm 0.5$  cmH<sub>2</sub>O であった。メラトニン群におけるそれらは、それぞれ  $42.4 \pm 5.8$  分、 $41.4 \pm 5.1$  cmH<sub>2</sub>O、 $4.8 \pm 0.6$  cmH<sub>2</sub>O、 $10.6 \pm 0.5$  cmH<sub>2</sub>O であった。

24 か月齢ラットの BP、PT、MVP の各パラメータにおいて、メラトニン投与による有意な変化を認めなかった (図 3B~D)。しかしながら、ICI においてはメラトニン  $1.0 \times 10^{-2}$  mg/kg 投与時に 1.8 倍 ( $p < 0.05$ )、 $1.0 \times 10^{-1}$  mg/kg 投与時に 2.3 倍 ( $p < 0.01$ ) と、対照群と比較して排尿間隔を有意に延長させた (図 3A)。

(2) メラトニンが脳波に及ぼす作用についての検討:

10 週齢ラットにおける蓄尿相 (A)、排尿相 (B) および、24 か月齢のラットに同相 (C および D) のデルタ波パワー値を比較した (図 4)。

投薬前の 10 週齢群の蓄尿相と排尿相の相対パワー値はそれぞれ  $861.0 \pm 282.6$ 、 $926.7 \pm 343.9$  %  $\mu V^2$ 、24 か月齢群の蓄尿相と排尿相の平均パワー値はそれぞれ  $1249.7 \pm 166.8$ 、 $1368.3 \pm 254.7$  % であった。

対照群と比較し、10 週齢ラットではメラトニン投与群でデルタ波が少なく、24 か月齢群では多い傾向にあったが、統計学的な有意差

は認めなかった。

今回の検討において、メラトニンは両群のデルタ波パワー値および若年ラット群の膀胱内圧測定パラメータに有意な影響を示さなかったが、老齢ラットにおいてのみ排尿間隔を延長させた。

我々の以前の検討においても同様の所見であったが、メラトニンは膀胱内圧への影響が少ないことから、現在、過活動膀胱だけでなく夜間頻尿にも使用される機会が多い抗ムスカリン薬と比較して、尿閉発生のリスクは少ないと考えられる。これまでの報告によれば、メラトニンの生体への毒性は低く、安全性が高いと考えられる。この性質は薬剤代謝能力が低下していると考えられる高齢者においても、夜間頻尿に対する治療薬として期待できるのではないであろうか。しかしながら、今回の検討において膀胱内圧測定上の排尿効率の評価を施行できておらず、真に排尿効率を障害するか否かは今後解明すべき課題である。また、脳波の測定環境について、ラットをフリームービングではなくケージに拘束した状態で測定し生理的状态とはかけ離れていることから、今後、より生理的な評価を行えるよう実験環境の工夫を要すると考えられる。最近では脳波解析専用ソフトが販売されており、より緻密な評価を行えるよう、その導入も検討したいところである。

メラトニンはこれまでジェットラグに対する治療薬として北米では薬局で販売されてきた経緯がある。近年はサーカディアンリズムの調整以外にも、その抗酸化作用など多方面において注目されている物質であるが、その長期使用による有害事象はよく検討されておらず、生体内での半減期が短い (30 分前後) こともあり、ヒトへの応用を考える場合、今後の更なる知見の蓄積が必要と考えられる。

図 1A

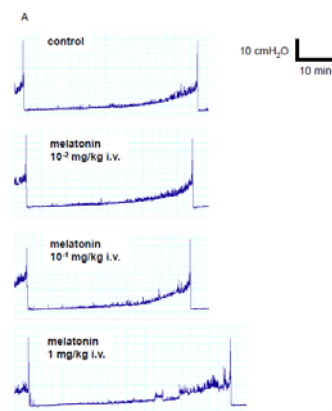


图 1B

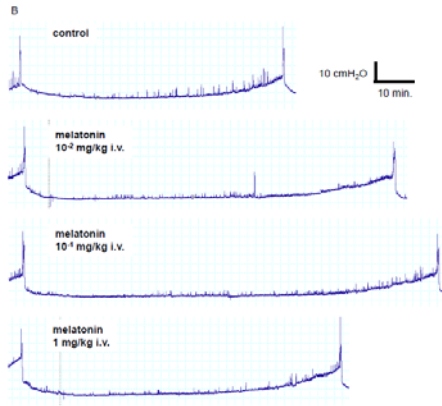


图 2

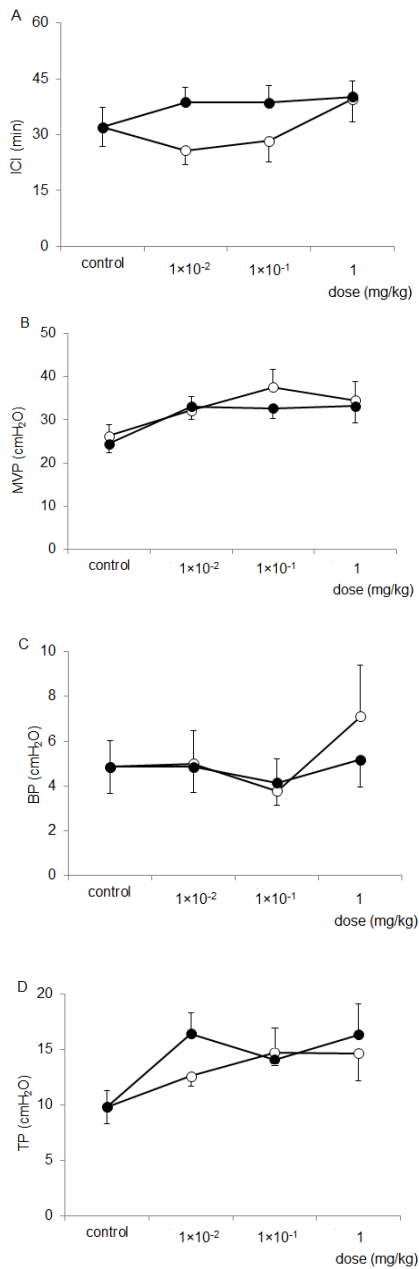


图 3

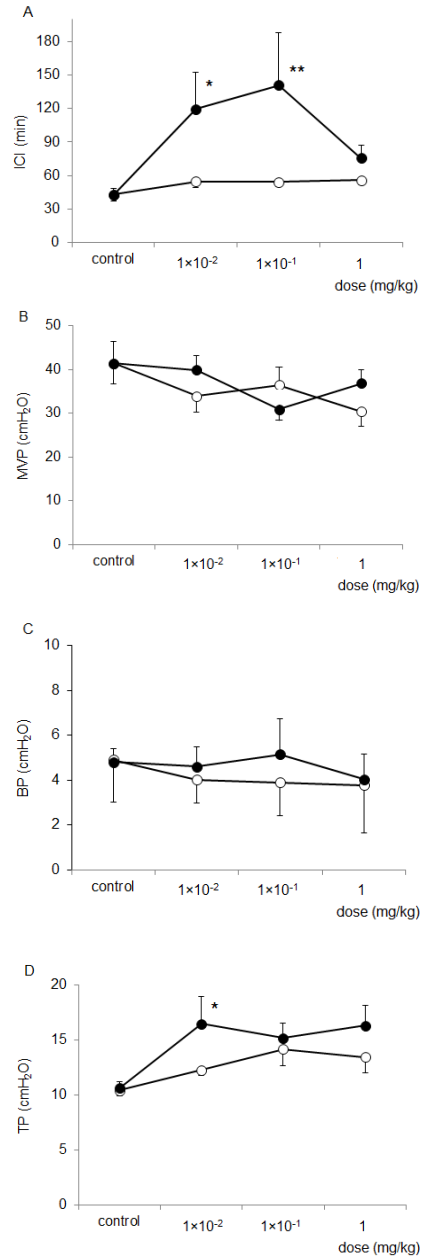
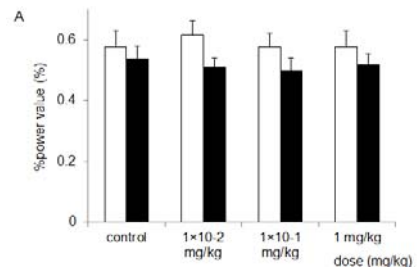
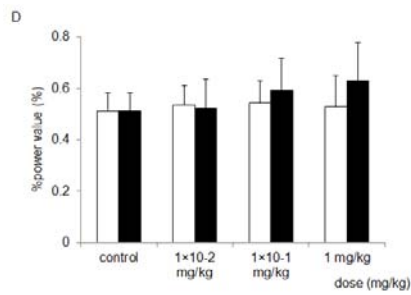
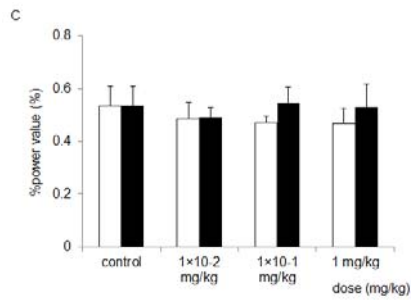
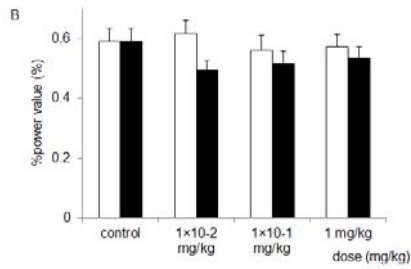


图 4





## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計2件)

○松田 陽介, 長瀬 桂子, 青木 芳隆, 秋野 裕信, 横山 修

メラトニンが脳波と膀胱機能に及ぼす作用の解析

第17回日本排尿機能学会

平成22年10月1日

山梨県甲府市

○松田 陽介

睡眠障害と夜間頻尿

第18回日本排尿機能学会

平成23年9月15日

福井県福井市

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

なし

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田 陽介 (MATSUTA YOSUKE)

福井大学・医学部・助教

研究者番号: 90345687