

氏名（本籍）	<small>あわか さおり</small> 阿波加 沙織（長野県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	論博第 379 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 17 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	アドレナリン $\alpha_{1A}$ 受容体遮断薬シロドシンの糖尿病性低活動膀胱への効果
論文審査委員	（主査）教授 市田 公美 教授 田野中 浩一 教授 山田 純司 教授 田村 和広

## 論文内容の要旨

糖尿病治療薬は多くの選択肢があるが、三大合併症（神経症、網膜症、腎症）を代表とする様々な合併症の治療選択肢は十分でない。糖尿病による排尿障害の有病率は 25%～83%と推定されている。低活動膀胱の原因は糖尿病以外にも認められるものの、尿流動態検査によれば女性の 2 型糖尿病患者の約 1/3 が低活動膀胱を示すとされている。低活動膀胱では一般的に、膀胱の知覚低下、膀胱容量の増加、膀胱排尿筋の収縮力の低下及び残尿量の増加が見られる。症状が重篤化すると失禁、尿崩症、水腎症に移行することもある。2018 年に国際禁制学会は低活動膀胱を「尿勢低下、遷延性排尿（排尿遅延）および腹圧排尿で特徴づけられ、残尿感はある場合とない場合があり、ときに蓄尿症状を伴う」と定義づけている。

低活動膀胱の標準的な薬物療法としては、膀胱収縮力を増強するベタネコール（ムスカリン性アセチルコリン受容体作動薬）やジスチグミン（コリンエステラーゼ阻害薬）が用いられている。両薬物は何十年にもわたって広く用いられてきたが、ジスチグミンはコリン作動性クリーゼのため、2010 年に排尿障害に使用できる最大用量が 10 mg から 5 mg に限定された。尿道弛緩作用を有するアドレナリン受容体  $\alpha_1$  ( $A\alpha_1R$ ) 遮断薬も低活動膀胱に用いられている。特に、ウラピジル（非選択的  $A\alpha_1R$  遮断薬）は「神経因性膀胱に伴う排尿困難」の適応を持つ、女性に使用できる唯一の  $A\alpha_1R$  遮断薬である。しかし、ウラピジルは血管平滑筋に豊富に分布している  $A\alpha_{1B}R$  に作用することにより高血圧治療薬としても用いられており、尿道弛緩作用を示す用量で血圧低下作用を示す。

シロドシンは第 2 世代の  $A\alpha_1R$  遮断薬であり「前立腺肥大症に伴う排尿障害」に用いられている。シロドシンは下部尿路（前立腺、尿道及び膀胱頸部）に豊富に分布する  $A\alpha_{1A}R$  に選択的に作用し、循環器への作用が少ないのが特徴である。シロドシンの低活動膀胱への効果については、これまでに検討がない。本研究では、糖尿病性低活動膀胱モデルを用いて排尿動態に対する単独作用、ジスチグミンとの併用効果、またその作用機序解析を行い、選択的

$\text{A}\alpha_{1\text{A}}\text{R}$  遮断薬であるシロドシンの低活動膀胱への効果を検証した。

### 第 1 章. 自然発症糖尿病モデル (ZDF ラット) におけるシロドシンとジスチグミンの治療効果

第 1 章では、自然発症糖尿病モデルである Zucker Diabetic Fatty (ZDF) ラットの排尿機能障害に対するシロドシンとジスチグミンの単独または併用効果を排尿動態測定により検討した。ZDF ラットでは、低活動膀胱症状と考えられる膀胱容量、残尿量、尿道抵抗の増加、最大排尿筋収縮速度及び尿流量の低下が観察された。シロドシンとジスチグミンは共に排尿機能障害を改善し、両薬物の併用投与は単独投与よりも効果的であった。以上の結果から、 $\text{A}\alpha_{1\text{A}}\text{R}$  遮断薬は、尿道弛緩作用により糖尿病性低活動膀胱の排尿障害に有効であることが示唆された。また、ジスチグミンは実臨床で用量制限があることから  $\text{A}\alpha_{1\text{A}}\text{R}$  遮断薬との併用は、臨床的に有用であると考えられる。

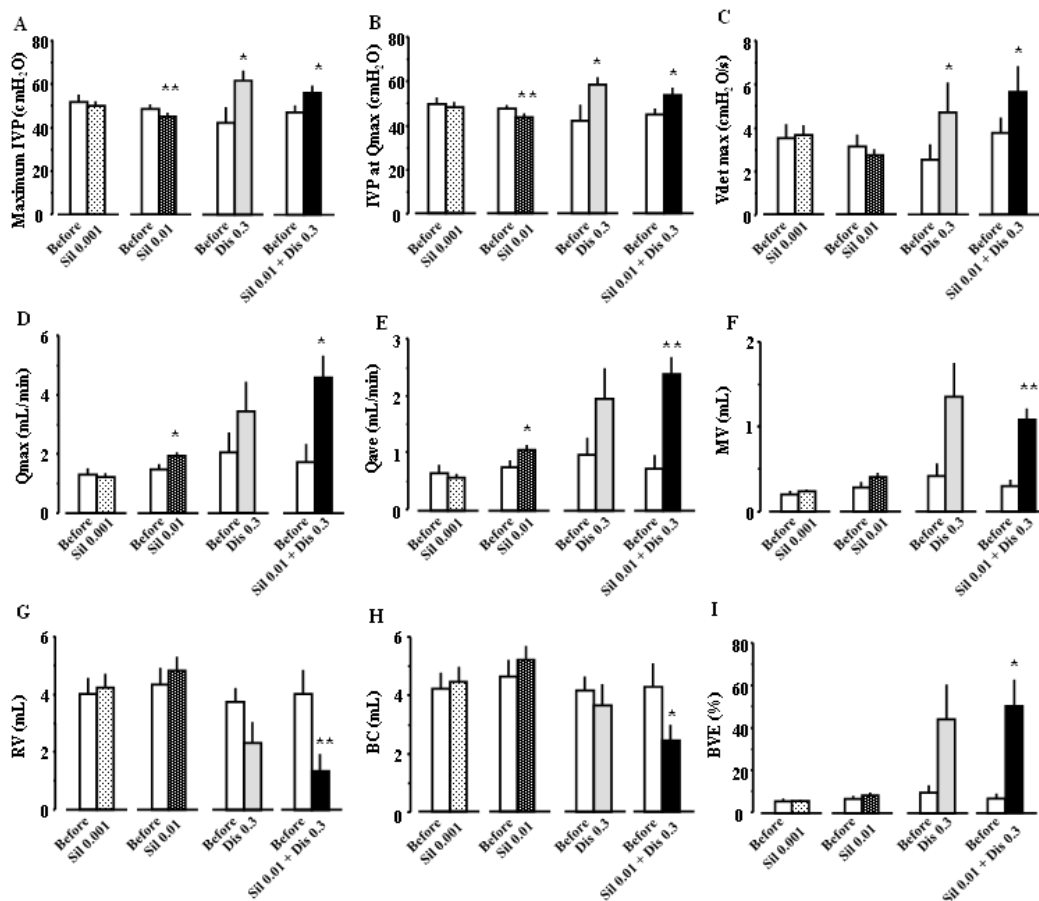


Fig.1 Effects of silodosin and distigmine and combined effects of these drugs on urodynamic parameters in ZDF rats.

Data in the table represent the means  $\pm$  S.E. of 4 -7 animals. \*, \*\* Significantly different from the before value at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively (Student's  $t$ -test). Each parameter before and after drug administration was estimated from the average of three repetitive series of micturition for silodosin and from a single micturition for distigmine and combined of these drugs. Urethral resistance was calculated using the following formula:  $\text{IVP at Qmax}/(\text{Qmax}^2)$ . BC, bladder capacity, BVE, bladder voiding efficiency, Dis 0.3, distigmine 0.3 mg/kg, IVP, intravesical pressure, MV, micturition volume, Qave, average flow rate, Qmax, maximum flow rate, RV, residual volume, Sil 0.01, silodosin 0.01 mg/kg, Vdet, detrusor contraction velocity, ZDF, Zucker diabetic fatty

第2章. 雌性正常ラットにおけるシロドシン及びウラピジルのプロファイルと薬物誘発糖尿病モデル (STZ ラット) における両薬物の治療効果

第2章では、雌性正常ラットにおける尿道弛緩作用と薬物誘発糖尿病モデルであるストレプトゾシン (STZ) 誘発ラットにおけるシロドシンとウラピジルの治療効果を検証した。はじめに、雌性正常ラットにおける両薬物の尿道弛緩作用と血圧測定を行った。シロドシンとウラピジルは共に用量依存的にミドドリン ( $\text{A}\alpha_1\text{R}$  刺激薬) による尿道内圧上昇を抑制し、平均血圧を低下させた。シロドシンは血圧よりも下部尿路に対して選択性が高かった。続いて、STZ ラットにおけるシロドシンとウラピジルの排尿動態に対する治療効果を検討した。STZ 投与後 12 週目の STZ ラットは残尿量の増加、膀胱菲薄化 (膀胱容量/膀胱重量比の増加) 及び排尿効率の減少といった低活動膀胱の排尿障害を示した。両薬物は、残尿量の増加及び膀胱菲薄化に対して抑制作用を示した。シロドシンは循環動態への影響の少ない低活動膀胱の治療選択肢となり得ることが示された。

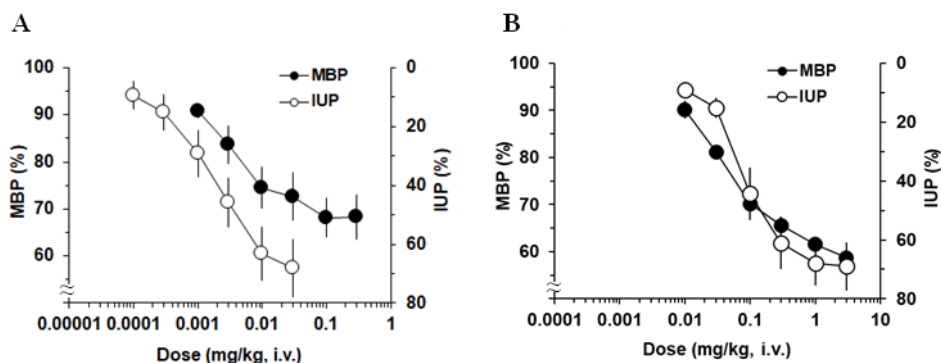


Fig. 2 Comparison of the effects of intravenous doses of silodosin (A) and urapidil (B) on MBP (●) and IUP (○) in anesthetized female rats. IUP before the administration of silodosin and urapidil (after midodrine administration) was 0% and that after phentolamine administration was 100%. The decrease in IUP after drugs administration was expressed as the percentage of the respective maximum decrease in IUP. MBP before silodosin and urapidil administration was taken as 100%, and the values after drugs administration were expressed as percentages of the respective baseline values. Data are presented as the means  $\pm$  S.E. of 5-8 animals. IUP, intraurethral pressure, MBP, mean blood pressure

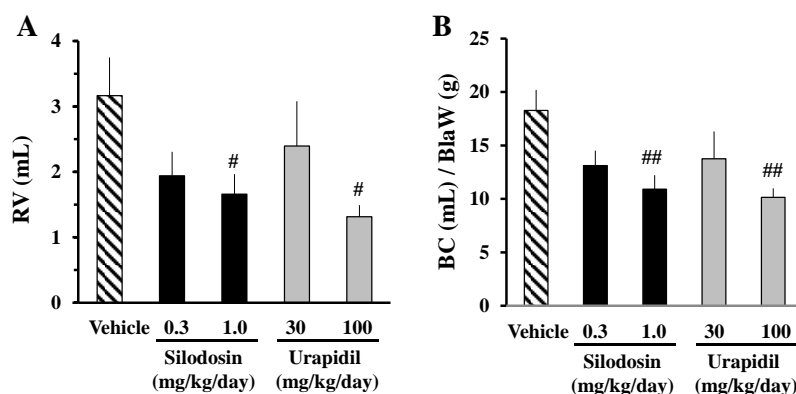


Fig.3 Effects of silodosin and urapidil on cystometrograms in DM rats. Effects of silodosin and urapidil on RV (A) and BC/BlaW (B) in DM rats, as observed using cystometrograms. Data are presented as the means  $\pm$  S.E. of 4 -13 animals. #, ## Significantly different from the Vehicle group at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively (Dunnett's test). BC, bladder capacity, BlaW, bladder weight, DM, diabetes mellitus, RV, residual volume

第3章. 薬物誘発糖尿病モデル (STZ ラット) におけるシロドシンの予防効果と作用機序解析  
 第1章及び第2章では、糖尿病性低活動膀胱におけるシロドシンの有効性を検証したが、詳細な作用機序は解析できていない。第3章では、尿道弛緩作用に加えて膀胱へ与える影響について、シロドシンの予防効果を検討した。第2章と同様に、STZ ラットは、排尿動態測定により残尿量の増加及び膀胱菲薄化を示し、シロドシンはそれらを抑制した。同時に、シロドシンは膀胱血流改善作用を示した。次に、膀胱の網羅的遺伝子発現解析を行った。糖尿病により膀胱組織では炎症反応が亢進しシロドシンにより抑制されていることが示された。また、RT-PCR法、免疫組織学的検討により、糖尿病病態では神経マーカーの発現量が低下し、シロドシンにより改善傾向が見られた。シロドシンは膀胱組織に対して血流障害改善、炎症抑制、神経脱落抑制といった作用を示すことが示唆された。

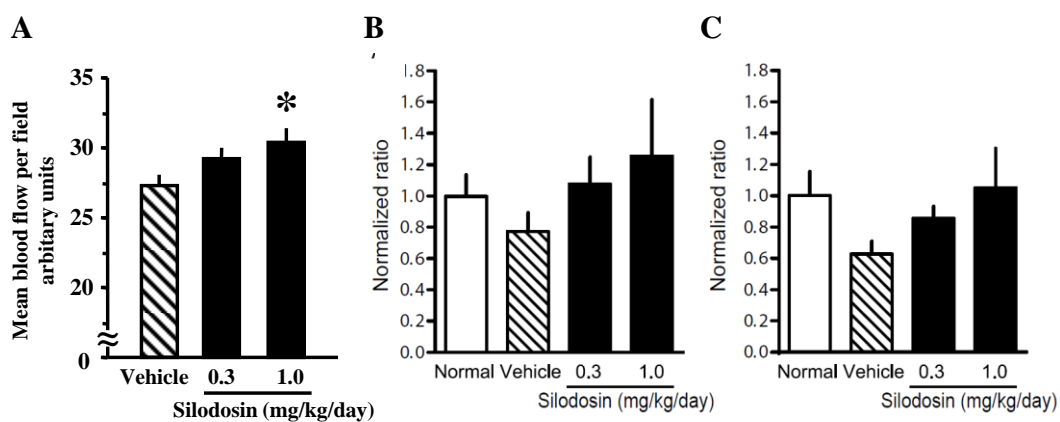


Fig.4 Effects of silodosin (0.3 and 1.0 mg/kg/day, s.c.) on Bladder blood flow in empty DM rat bladders (A). Data are presented as the means ± S.E. of 12-13 animals. \* Significantly different from the Vehicle group at  $p < 0.05$ , respectively (Dunnett's test). Immunohistochemical analysis of the effects of silodosin on neurofilament-M (B) and peripherin (C) in the bladder. The whole bladder was photographed and tiled with high accuracy using cellSens software. WinROOF was used to measure the total area of the photographed bladder and immunopositive bundles. Values are shown as the ratio to the normal rats. Data are presented as the means ± S.E. of 7-8 animals.

### 総括

本研究では、シロドシンが自然発症糖尿病モデルである ZDF ラットと薬物誘発糖尿病モデルである STZ ラットにおいて、低活動膀胱症状の改善効果を示すことを初めて検証した。また、シロドシンとジスチグミンとの併用は、単独効果よりも効果的であった。ウラピジルとの比較においては、シロドシンは尿道選択性が高く、ウラピジルと同等の排尿機能改善作用を示した。その作用機序として尿道弛緩に加えて、膀胱に対しても血流障害改善、炎症抑制、神経脱落抑制といった作用を示すことが示唆された。

本研究により、選択的  $A\alpha_{1A}R$  遮断薬シロドシンが糖尿病性低活動膀胱の薬物治療の選択肢の一つとなる可能性が示唆された。

## 【論文審査の結果の要旨】

本申請論文は、第 2 世代アドレナリン  $\alpha_1$  受容体 ( $A\alpha_1R$ ) 遮断薬シロドシンの低活動膀胱への効果について検討したものである。低活動膀胱は、尿勢低下、遷延性排尿（排尿遅延）及び腹圧排尿を特徴的な所見とする。糖尿病では、低活動膀胱による排尿障害が、患者の QOL を低下させる誘因となっている。シロドシンは「前立腺肥大症に伴う排尿障害」に用いられており、下部尿路（前立腺、尿道及び膀胱頸部）に豊富に分布する  $A\alpha_1R$  に選択的に作用し、循環動態（血圧）への作用が少ないことを特徴とする。

第 1 章では、糖尿病モデルである雄性 Zucker Diabetic Fatty (ZDF) ラットの排尿機能に及ぼすシロドシン単独あるいはコリンエステラーゼ阻害薬ジスチグミンとの併用効果について内圧尿流を指標に評価した。Lean ラットに比し、ZDF ラットでは、低活動膀胱モデルの指標となる膀胱容量・残尿量・尿道抵抗の増加及び最大排尿筋収縮速度と尿流量の低下が観察された。シロドシンの投与により、最大尿流率及び平均尿流率が上昇し、最大膀胱内圧及び最大尿流率時膀胱内圧が低下した。また、シロドシンとジスチグミンの併用投与はシロドシンの単独投与よりも改善効果を認めた。これらの結果から、シロドシンは ZDF ラットの糖尿病での膀胱機能を改善することが示された。

第 2 章では雌性ストレプトゾシン (STZ) 誘発糖尿病ラットでのシロドシンの膀胱機能に及ぼす効果について検討した。雄性動物では、前立腺を介した排尿障害があり、かつ ZDF ラットの雌は顕性糖尿病を発症しない。さらに、ZDF ラットでは低活動膀胱の発症が遅く、持続投与の検討が制限される。これらの理由から、本章では正常雌ラットにおける尿道弛緩作用とストレプトゾシン誘発糖尿病(STZ)ラットにおけるシロドシンと既存の  $A\alpha_1R$  遮断薬であるウラピジルの治療効果について検証した。シロドシンとウラピジルは共に用量依存的に  $A\alpha_1R$  刺激薬であるミドドリンによる尿道内圧上昇を抑制した。ウラピジルよりも、シロドシンは下部尿路に対する選択性が高かった。STZ ラットにおいて、STZ 投与 12 週後に残尿量の増加、膀胱過伸展（膀胱容量/膀胱重量比の増加）、排尿効率の減少を指標とする低活動膀胱での排尿機能障害を示した。両薬物投与により、残尿量の増加及び膀胱過伸展（膀胱容量/膀胱重量比の増加）を抑制し、低活動膀胱が改善されたことを示した。

第 3 章では、雌性 STZ ラットでのシロドシンによる低活動膀胱への予防効果について検討した。本実験では STZ 投与時に、シロドシン投与も開始した。シロドシン投与により、残尿量の増加及び膀胱過伸展（膀胱容量/膀胱重量の増加）が抑制されると同時に、膀胱血流が改善された。さらに、遺伝子発現を Gene Ontology 解析した結果、STZ 投与後の膀胱で、炎症反応に関わる遺伝子群の発現レベルが上昇し、シロドシンにより、その上昇は抑制された。RT-PCR 法、免疫組織学的検討では、STZ 投与後の神経マーカーの発現量亢進がシロドシン

投与により改善される傾向が観察された。シロドシンは低活動状態に陥った膀胱組織において、血流障害改善、炎症抑制及び神経脱落抑制作用を示すことが示唆された。

以上、阿波加沙織氏の論文は、選択的  $A\alpha_1R$  遮断薬であるシロドシンが糖尿病モデルである ZDF ラットと STZ ラットにおいて、低活動膀胱症状の改善効果を発揮することを示したもので、 $A\alpha_1R$  選択的遮断薬シロドシンが低活動膀胱の薬物治療の選択肢のひとつとなる可能性を提示した。よって、本論文は博士（薬学）の学位論文として十分な価値を有するものと認める。