HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	パーキンソン病モデル動物を用いた下部尿路機能障害に関する研究
Author(s)	東郷, 未緒
Description	配架番号：2841
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15907号
Issue Date	2024-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k15907
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92958
Type	doctoral thesis
File Information	TOGO_Mio.pdf, この論文の全文

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学　位　論　文

パーキンソン病モデル動物を用いた

下部尿路機能障害に関する研究

（Study on the lower urinary tract dysfunction using animal models of Parkinson’s disease）

2024 年 3 月

北海道大学

東郷　未緒

Mio Togo

学　位　論　文

パーキンソン病モデル動物を用いた

下部尿路機能障害に関する研究

（Study on the lower urinary tract dysfunction using animal models of Parkinson’s disease）

2024 年 3 月

北海道大学

東郷　未緒

Mio Togo

目　次

発表論文目録及び学会発表目録・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1 頁

要旨・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・2 頁

略語表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・5 頁

緒言・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・6 頁

第 1 章
　緒言・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・14 頁
　実験方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・16 頁
　結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・19 頁
　考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・21 頁

第 2 章
　緒言・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・24 頁
　実験方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・27 頁
　結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・30 頁
　考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・33 頁

結論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・35 頁

謝辞・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・36 頁

利益相反・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・36 頁

引用文献・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・37 頁

発表論文目録及び学会発表目録

本研究の一部は以下の雑誌に発表した。

Mio Togo, Takeya Kitta, Hiroki Chiba, Madoka Higuchi, Naohisa Kusakabe, Mifuka Ouchi, Yui Abe-Takahashi, Hidehiro Kakizaki, Nobuo Shinohara
Effects of a new selective β_3-adrenoceptor agonist, vibegron, on bladder and urethral function in a rat model of Parkinson's disease.
投稿先：Lower Urinary Tract Symptoms, 15・265-270, (2023)

本研究の一部は以下の学会に発表した。

東郷未緒、橘田岳也、千葉博基、樋口まどか、日下部直久、大内みふか、阿部由依、篠原信雄,
パーキンソン病モデルラットに対するモノアミン酸化酵素 B 阻害剤の有効性についての検討
第 30 回日本排尿機能学会 2023 年 9 月 7 日－9 日 千葉県

要旨

【背景と目的】パーキンソン病（PD）は、炎症、ウイルス感染、薬物など複数の環境因子や遺伝性因子の影響によって引き起こされる多因子疾患である。中脳黒質のドーパミン神経細胞の変性を主体とする進行性変性疾患であり、ドーパミンの減少により運動症状及び非運動症状を呈する。非運動症状として自律神経症状があり、下部尿路機能障害が広く知られている。PD 患者の訴える下部尿路症状の多くは頻尿や尿意切迫感などの過活動膀胱症状である。PD による過活動膀胱症状に対して抗コリン薬は第一選択薬であるが、口乾、便秘、霧視などの副作用が起こる患者も多く、高齢者では認知機能の低下が問題となっている。一方、新たに開発されたβ_3受容体作動薬ビベグロンは、十分な薬効を持ち副作用が少ないことから、下部尿路障害を有する PD 患者の治療にも有効である可能性が考えられた。

続いて、抗 PD 治療薬 L-ドーパやドーパミン受容体アゴニストでは過活動膀胱症状の改善と憎悪の両方の報告があり、PD における下部尿路症状に対する抗 PD 治療薬の影響については結論が出ていない。早期・進行期の PD 患者の運動症状を改善し、従来の抗 PD 薬よりも副作用が少ないとの報告があることからモノアミン酸化酵素（MAO）B ラサギリンに着目した。本研究では PD の下部尿路機能障害に対して過活動膀胱治療薬ビベグロンと、抗 PD 治療薬ラサギリンの薬理効果を検討した。

【対象と方法】雌性 Sprague-Dawley ラットに対して 6-OHDA（6-hydroxydopamine）10 μL を頭蓋内黒質部位に投与して 4 週間おき、PD モデルラットを作成した。膀胱機能を調べるため、PD モデルラットに対して膀胱瘻を作成した。続いて薬物を投与するために頸部静脈に PE10 サイズのポリエチレンチューブを挿入した。生理食塩水を 3 ml/h の速度で持続注入しながら膀胱内圧を測定した。
また、尿道機能を調べるため、別の PD モデルラットに対して尿道に Millar Mikro-Tip®シングル圧力カテーテルを挿入し尿道内圧を測定した。
１章では膀胱に作用する過活動膀胱治療薬ビベグロンを静脈投与して膀胱機能及び尿道機能への影響を確認した。2 章では抗 PD 薬ラサギリンを静脈投与して膀胱機能及び尿道機能への影響を検討した。膀胱機能のパラメーターは排尿頻度を示す排尿間隔 ICI（Inter contraction interval）と排尿時の膀胱

内圧を示す排尿時圧 VP（Voiding pressure)、排尿開始時の圧力を示す TP（Threshold pressure)、残尿量 PVR（Post-voided residual volume）とし、尿道機能のパラメーターは尿道内圧とした。さらに別の個体に対してラサギリン 0.5 mg/kg を投与し、ICI が延長されることを確認してから続いてドーパミン D_1 受容体拮抗薬（SCH 23390）を投与して ICI が短縮されるか実験を行った。

【結果】１章では膀胱内圧測定においてビベグロン 3 mg/kg 投与したところ、生理食塩水投与時と比較して ICI の有意な延長を認めたが、0.3 mg/kg、1 mg/kg 投与時は有意な差を認めなかった。また、VP はビベグロン 3 mg/kg 投与時に生理食塩水投与時と比較して有意な低下を認めた。TP はいずれの用量においても有意な差を認めず、PVR も有意な変化を認めなかった。尿道内圧測定においては生理食塩水投与時と比較して全ての用量で尿道機能への影響を認めなかった。
２章では膀胱内圧測定においてラサギリン 0.1 mg/kg と 0.5 mg/kg 投与したところ、ICI の有意な延長を認めたが、0.01 mg/kg 投与時は有意な差を認めなかった。また、生理食塩水投与時と比較して全ての用量で VP への影響は認めなかった。TP はいずれの用量においても有意な差を認めず、PVR も有意な変化を認めなかった。尿道内圧測定においては生理食塩水投与時と比較して全ての用量で尿道機能に影響は認めなかった。ラサギリンにより ICI が延長したので、別の個体に対してラサギリン 0.5 mg/kg を投与し、続いて SCH 23390 を投与して D_1 受容体が作用するか実験を行ったところ、ICI がさらに延長する結果となった。

【考察】本研究は PD モデルラットに対し、過活動膀胱治療薬ビベグロン及び抗 PD 治療薬ラサギリンが過活動膀胱症状へ及ぼす影響について調べたものである。今回、ビベグロン 3 mg/kg 投与した際に蓄尿時の ICI の有意な延長と VP が有意に低下する結果となった。β_3 アドレナリン受容体作動薬は蓄尿相において排尿筋を弛緩させ、それにより排尿相における膀胱収縮力や残尿量に影響を与えずに膀胱容量を増加させることが報告されている。しかしながら今回の結果では VP が低下した。残尿を認めなかったため排尿効率を大きく低下させてはいないものの、ラットに対しての実験において 3 mg/kg のビベグロン投与で VP が低下したと報告されている。また、過活動膀胱患者の副作用を調査した研究では、ビベグロンにより排尿時の膀胱収縮が低下することによる尿閉が報告されている。β_3 アドレナリン受容体作動

薬の標的は排尿筋平滑筋細胞と報告があるが、膀胱求心性神経などの異なる細胞とする報告もある。尿閉の原因が排尿反射の低下によるものか、尿道抵抗の亢進によるものかはわかっていない。
ラサギリンにおいては、今回、MAO 阻害薬により ICI の延長を認めた。ラサギリンによってドーパミン濃度が回復したことにより膀胱収縮の抑制が生じたと考える。続いて別個体にラサギリンを投与してから SCH 23390 を投与し再び排尿反射の亢進が生じるか確認したが、予想に反しさらに ICI が延長し TP が上昇する結果となった。ICI がさらに延長したことにより蓄尿量が増え、膀胱内が高圧になったため TP が上昇した可能性がある。ドーパミンが D_1 受容体や D_2 受容体を介して下部尿路機能にどの様に作用するか、さらに解明されれば PD 患者の下部尿路機能障害治療の新たな可能性につながるかもしれない。今回の研究により PD モデルラットに抗 PD 治療薬ラサギリンを投与することにより過活動膀胱症状が有意に改善する可能性が示された。

【結論】本研究は PD モデルラットに対し、過活動膀胱治療薬ビベグロン及び抗 PD 治療薬ラサギリンが下部尿路症状へ及ぼす影響について調べたものである。それぞれ作用機序は異なるものの、過活動膀胱症状が改善することを示した。ビベグロンは PD に伴う過活動膀胱症状にも有効である可能性が示された。PD 治療薬は運動症状が改善することが広く知られているが、非運動症状である下部尿路症状への効果を調べた研究は少なく、今回の結果は MAOB 阻害薬が過活動膀胱症状を改善することを示唆するデータとなった。

略語表

本文中及び図中で使用した略語は以下のとおりである。

DBS	deep brain stimulation
GABA	γ-aminobutyric acid
ICI	Inter contraction interval
LPS	Lipopolysaccharide
MAO	Monoamine oxidase
MPTP	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine
PAG	periaqueductal gray
PD	Parkinson’s disease
PMC	Pontine micturition center
PVR	Post-voided residual volume
QOL	Quality of life
SNM	Sacral Neuromodulation
TP	Threshold pressure
VP	Voiding pressure
6-OHDA	6-hydroxydopamine

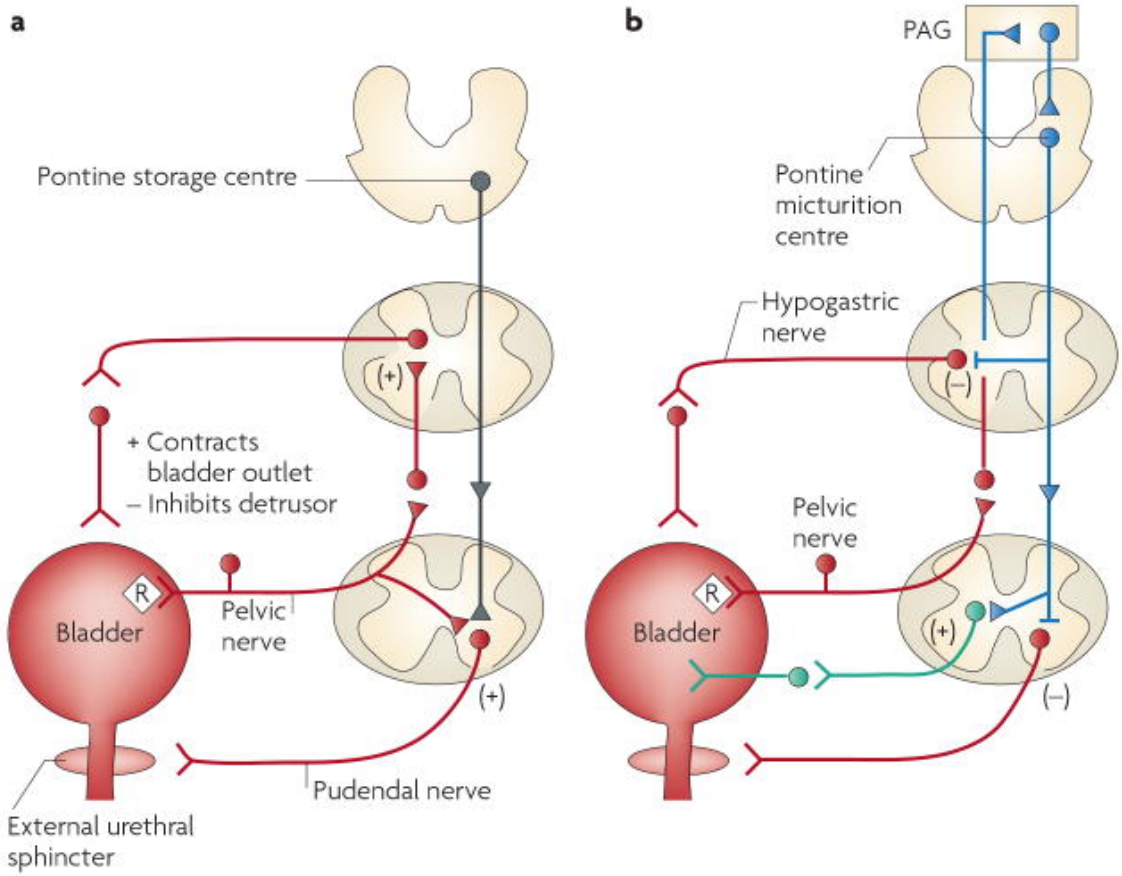
緒言

パーキンソン病（PD: Parkinson’s disease）は、炎症、ウイルス感染、薬物など複数の環境因子や遺伝性因子の影響によって引き起こされる多因子疾患である(Betarbet et al., 2000; Johnson and Bobrovskaya, 2015)。発症率は人口 10 万人当たり 8–18 人/年とされ、65 歳以上では 10 万人当たり 160 人/年と大きく増大する(Yamawaki et al., 2009)。PD は厚生労働省の指定難病であり 2021 年度には難病医療費助成制度を 14 万人が利用し、利用者の半数以上にあたる 8 万 5 千人が 75 歳以上の高齢者である。本邦の高齢化率は今後も増加することが予想されており、PD への対応は社会的に更に重要性を増すと考えられる。

PD は中脳黒質のドーパミン神経細胞の変性を主体とする進行性変性疾患であり、ドーパミンの減少により運動症状及び非運動症状を呈する(Kalia and Lang, 2015; Carroll et al., 2021)。非運動症状として睡眠障害や認知・精神障害、自律神経症状などがあげられるが、自律神経症状の一つである下部尿路機能障害は PD 患者の病初期から認められ、QOL (Quality of life) を著しく低下させる(Sakakibara et al., 2016; Kalia and Lang, 2015; Uchiyama et al., 2011)。下部尿路症状は蓄尿症状、排尿症状、排尿後症状の 3 つに大別される。蓄尿症状とは、膀胱に尿をためる段階で起こる症状であり、昼間頻尿、夜間頻尿、尿意切迫感（急に生じる抑えられない強い尿意)、尿失禁、尿意知覚の異常（尿意の亢進、低下、膀胱痛）などが挙げられる。排尿症状とは排尿時にみられる症状で、尿勢低下、尿線途絶、排尿遅延、腹圧排尿、終末滴下などがあり、重症例では尿が全く排出できない尿閉となる。排尿後症状は、排尿後も膀胱に尿が残っていると感じる残尿感や排尿後尿滴下がある。PD 患者での蓄尿症状は 27%～64%に見られ、健常対照群より有意に多い(Sakakibara et al., 2012)。また、蓄尿症状の中でも夜間頻尿の割合が 60%以上、尿意切迫感が 33～54%、昼間頻尿が 16～36%にみられる。(Sakakibara et al., 2011; Tsunoyama et al., 2011)。排尿症状は 28～64%の患者に認められ、その中でも排尿困難感を訴える患者の割合が 43.8%と多く、他に排尿遅延、残尿感などが排尿症状としてあげられる(Uchiyama et al., 2011)。このように非常に多くの PD 患者が下部尿路症状に悩まされている現状を鑑みると、PD における下部尿路障害のメカニズムを解明し、新たな治療法を模索することは喫緊の課題であると言える。

これまでに下部尿路機能のメカニズムは下記のように考えられている。蓄

尿による膀胱の進展刺激や侵害刺激により、膀胱上皮から ATP やプロスタグランジンが放出され、求心性神経が活性化する。この情報は仙随の Onuf 核、胸腰髄交感神経を興奮させ、更に上行して脳内に達し中脳水道周辺灰白質（PAG: periaqueductal gray）および大脳皮質に伝達され尿意を感じる。蓄尿相では Onuf 核の興奮により外尿道括約筋に投射する陰部神経(体性神経)が活性化し、軸索終末から放出されたアセチルコリンがニコチン受容体を介して外尿道括約筋を収縮させる。また胸腰髄交感神経の興奮により下腹神経（交感神経）が活性化されノルエピネフリンの放出が生じ、β_3 受容体を介した膀胱平滑筋の弛緩および α_1 受容体を介した内尿道括約筋の収縮が生じる。また大脳皮質は PAG を介して橋排尿中枢（PMC、pontine micturition center）を抑制し蓄尿が継続される。排尿相では大脳皮質による PMC の抑制が解除され、PMC によって Onuf 核と胸腰髄交感神経が抑制され、内・外尿道括約筋が弛緩する。また PMC は仙随の副交感神経中枢を興奮させ、活性化した骨盤神経（副交感神経）から放出されたアセチルコリンが、ムスカリン M_3 受容体を介して膀胱平滑筋を収縮させる（Fowler et al., 2008）(図 1)。

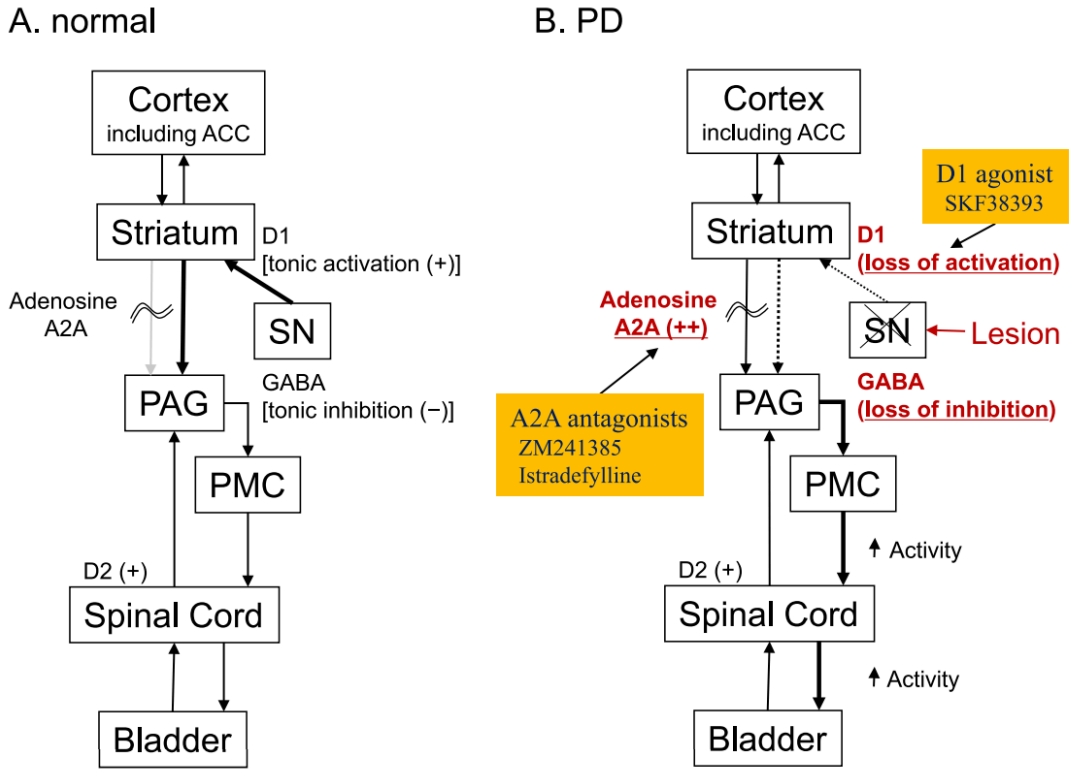


（Fowler CL, et al. Nat Rev Neurosci. 2008 より）

図 1 正常の蓄尿と排尿

（a：蓄尿反射）膀胱に尿が溜まると膀胱壁が伸展し、膀胱求心性刺激が生じる。下腹神経を介して仙髄オヌフ核、胸腰髄交感神経に伝わり、膀胱平滑筋の弛緩と陰部神経の働きにより外括約筋が収縮することで蓄尿を維持する。
（b：排尿反射）膀胱が充満すると膀胱求心性刺激が生じる。骨盤神経から仙髄を介して PAG を経て橋排尿中枢に信号が伝わる。橋排尿中枢から仙髄の副交感神経を刺激して膀胱を収縮させ、仙髄オヌフ核と胸腰髄交感神経中枢を抑制することで尿道括約筋を弛緩させ排尿に至る。　排尿時、骨盤神経の強い膀胱求心性刺激が橋排尿中枢を通る（青色で示す）。これにより、膀胱が副交感神経を介して刺激され（緑で示す）、尿道平滑筋が抑制される（赤で示す）。

脳による排尿調節については機能的脳画像を用いた研究により PAG や PMC に加えて、黒質緻密部や線条体、前頭前野、前部帯状回、島、大脳基底核などが高位排尿中枢として働いていると考えられている（Fowler et al., 2010）。またこれらの脳部位の機能調節にはグルタミン酸や GABA（γ-aminobutyric acid）、セロトニン、ノルエピネフリンなどの神経伝達物質が関与しており、PD において減少するドーパミンも排尿に関わる脳部位の機能制御を行っている。健常時には黒質緻密部から線条体に投射しているドーパミン神経は、ドーパミン D_1 受容体を介して線条体の GABA 作動性神経を活性化している。活性化した線条体の GABA 神経は、PAG を抑制することにより排尿反射を低下させる。PD 患者においては黒質緻密部に細胞体を有するドーパミン神経が脱落することにより、D_1 受容体の活性レベルが低下し、結果的に PAG が活性化することで排尿反射が通常よりも亢進する（永井将弘ら, 2020）（図 2）。



（吉村ら，日薬理誌. 2020 より）

図 2 正常と PD のワーキングモデル

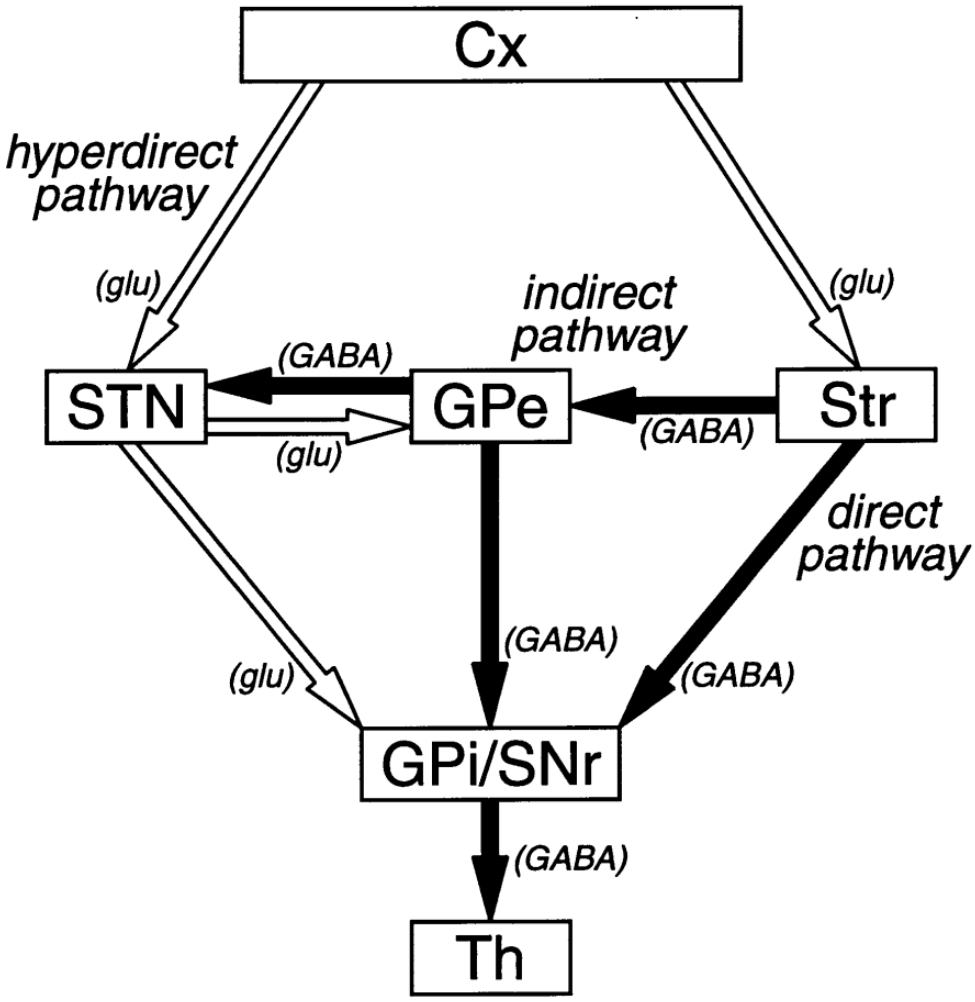
（A: 正常）正常では前帯状皮質（ACC）からの持続的な刺激により排尿反射が抑制される。黒質緻密部（SN）におけるドーパミン作動性神経の持続的な刺激は、線条体の GABA 作動性ニューロンのドーパミン D_1 受容体を活性化し、GABA 作動性ニューロンにより PAG にて排尿反射が持続的に抑制される。同時にドーパミン D_1 受容体刺激はアデノシン作動性ニューロンの活性化を抑制する。

（B: PD）PD では SN のドーパミン作動性神経の脱落によりドーパミン D_1 受容体が失活し、線条体の GABA 作動性ニューロンによる抑制が減弱する。同時にドーパミン D_1 受容体刺激の減弱はアデノシン作動性ニューロンの活性化を増強し、アデノシン A2A 受容体刺激を介して spinobulbospinal pathway を促進し排尿反射を制御する。

GABA：γ-アミノ酪酸，PAG：中脳水道周囲灰白質，PMC：橋排尿中枢，SN：黒質緻密部.

事実、PD 患者の尿流動体検査において排尿筋の過活動が報告されている（Ogawa et al., 2017）。更に PD 患者の高位排尿中枢では大脳基底核や前頭前野、中脳水道周囲灰白質の異常なども生じるとされている（Fowler et al.,

2008; Sakakibara et al., 2012)。しかしながら、高位排尿中枢のネットワークについてはまだ未解明の点が多く残されており、更なる詳細な解明が必要である。(図 3)



(Nambu A, et al. Neurosci Res 2002 より)

図 3 高位排尿中枢のネットワーク

白い矢印はグルタミン酸作動性の興奮性投射を表し、黒い矢印は GABA 作動性の抑制性投射を表す。黒質緻密部はドーパミン作動性ニューロンにより構成されており、主に線条体に投射している。ドーパミンは、線条体の直接路に対してはドーパミン D_1 受容体を介して興奮性に、間接路に対しては D_2 受容体を介して抑制性に働く。

Cx: 大脳皮質、GPe: 淡蒼球外節、GPi: 淡蒼球内節、SNr:黒質網様体、STN: 視床下核、Str: 線条体、Th: 視床

パーキンソン病診断ガイドラインによると、PD における排尿障害に対して

高いエビデンスのある治療方法はない、とされているが、非薬物療法とドーパミン補充療法を適宜行うことが記されている。非薬物療法は膀胱訓練や骨盤底訓練、前立腺肥大症を伴う場合に前立腺切除術、ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法、仙骨神経刺激療法 SNM (Sacral Neuromodulation)が挙げられる。前立腺切除術は手術適応である患者であれば推奨されるが、多系統萎縮症との鑑別がされていること、手術によって過活動膀胱症状が改善しない可能性もあることに対して術前に十分なインフォームドコンセントが求められる。ボツリヌス毒素膀胱壁内注入療法は 2019 年に保険収載され、原疾患の種類は効果に依存しないことが報告されている（Ginsberg et al., 2012)。効果は永続的ではないため、繰り返し行う必要がある。仙骨神経刺激療法 SNM は体内にデバイスを埋め込むため侵襲性が高い。また、PD に伴う過活動膀胱症状に対しても有効であるという報告もあるが、一方で効果を認めない患者もいるため十分なインフォームドコンセントが必要である(Martin et al., 2022)。

薬物療法ではドーパミン補充療法、抗コリン薬、β_3受容体作動薬が挙げられる。PD は黒質のドーパミン神経が脱落することが原因であるが、L-ドーパによるドーパミン補充療法の下部尿路症状に対する有効性については不定である。抗コリン薬は過活動膀胱に古くから使用されてきた薬物であるが、高齢者において副作用が問題となることが多い。そのため、十分な治療効果を有し、かつ副作用が少ない薬物療法を確立することは極めて重要である。そこで私は 2018 年に新たに上市された β_3 受容体作動薬であるビベグロンおよび同じく 2018 年に上市されたモノアミン酸化酵素阻害薬であるラサギリンの薬理作用について PD モデルラットを用いて評価した。

PD に伴う下部尿路症状に対する有効な薬物の探索や治療法の開発には、PD の動物モデルが不可欠である。現在広く利用されている PD 動物モデルには神経毒を用いて作成する方法と、PD 関連遺伝子を改変する方法と大きく 2 種類ある。神経毒モデル作成には MPTP（1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine） や 6-OHDA （6-hydroxydopamine）、 Rotenone 、 LPS (Lipopolysaccharide)を用いる方法がある。MPTP は、1983 年に合成麻薬生成の際に発見された副産物であり、ヒトで PD 症状を引き起こす神経毒である(William et al., 1983)。MPTP は揮発性の神経毒であり投与後の尿及び便から排泄されるため、動物は陰圧アイソレーター内での飼育や使い捨てケージの使用が求められている。6-OHDA はドーパミン作動性ニューロン及びノルアドレナリン作動性ニューロンを選択的に変性させる神経毒である。行動障害

に関しては臨床的表現型と一致し、PD の非運動症状を発症する（Ungerstedt, 1968）。Rotenone は農薬や有害魚駆除に用いられる自然由来の毒物であり、ミトコンドリアの電子伝達系を阻害する（Betarbet et al., 2000）。皮膚への曝露や粉末の吸入で毒性を発揮するため、取扱には注意が必要である。LPS はグラム陰性菌の細胞壁構成成分であり、強力な炎症誘発物質である（Hunter RL et al., 2007）。ミクログリアの活性化を介して選択的にドーパミン神経細胞を傷害する。遺伝子改変型モデルには SNCA、LRRK2、Parkin、DJ-1、PINK-1 などがある（Abdelmotilib et al., 2017; Ahmad et al., 2021）。いずれの遺伝子も、作成したモデル動物の中にはドーパミン作動性ニューロンの著しい減少が見られない、あるいは臨床表現型と一致しない個体があり、再現性が課題である。神経毒を用いた動物モデルは表現型が比較的一定で、実験期間も短いことから様々な動物実験に利用されてきた（Schapira et al., 1990; Simola et al., 2007）。そこで本研究では、臨床症状の再現性と安全性、管理の点からこれまでに用いた経験のある 6-OHDA を使用して動物モデルの作製を行い、ビベグロン及びラサギリンの薬効について評価した。

以上のように、PD における下部尿路症状は患者の QOL を大きく低下させることが明らかになっているものの有効な治療法がないのが現状である。従って本研究において私は PD モデルラットを用いて新規に承認された 2 種類の薬物について薬理学的評価を行った。いずれの薬物においても蓄尿量の有意な増加が認められたことから、本研究成果は今後臨床において新たな治療法を確立するための基盤となるものと考えている。

第 1 章

パーキンソン病モデルラットの下部尿路症状に対する選択的 β_3 アドレナリン受容体作動薬ビベグロンの有効性についての検討

(Efficacy of selective β_3-adrenoceptor agonist For Lower Urinary Tract Symptoms Due to Parkinson's Disease)

緒言

PD 患者の下部尿路症状の多くは頻尿、切迫性尿失禁、夜間頻尿などの蓄尿症状である。過活動膀胱症状への主な治療法としては薬物療法と非薬物療法がある。薬物療法ではドパミン補充療法、抗コリン薬、β_3 受容体作動薬が挙げられる。

抗コリン薬は過活動膀胱治療として古くから使われてきたため、その有効性と安全性が確立されている。膀胱のムスカリン受容体 M_3 に対する拮抗作用を有し、膀胱の過剰な収縮を抑え、過活動膀胱などによる尿意切迫感や頻尿などを改善する。しかし、ムスカリン M_3 受容体が膀胱以外にも唾液腺、腸管及び毛様体などにも発現していることから、口乾、便秘、霧視などの副作用が起こる患者も多く、これらの副作用のために内服を中断する場合もある(Katzenschlager et al., 2002; Sakakibara et al., 2008; Madhuvrata et al., 2012)。また、脳移行性のある抗コリン薬では認知機能低下などの中枢性の副作用も大きな問題となる(Katzenschlager et al., 2003)。高齢者の安全な薬物療法ガイドライン（秋下雅弘ら, 2015）においても、可能な限り使用しないよう記載されており、PD 患者において高齢者が非常に多いことを考えると抗コリン薬を積極的に推奨することは困難な場合が多い。ミラベグロンは選択的 β_3 アドレナリン受容体作動性の過活動膀胱治療薬として、本邦で開発された薬物である。膀胱平滑筋の β_3 アドレナリン受容体に選択的に作用し、膀胱弛緩作用を示す薬物である(Michel and Korstanje, 2016)。ミラベグロンは、ヒト、ラット、イヌ、カニクイザルの β_3 アドレナリン受容体に対して低濃度でアゴニスト活性を示し、 *in vitro* 実験において、ヒトおよびラットの摘出膀胱を用量依存的に弛緩させる。また、*in vivo* 実験において、ラット蓄尿期の膀胱内圧を用量依存的に低下させ、かつ、収縮時膀胱内圧及び残尿量に影響を与えないことが示されている。さらにカニクイザルへの経口投与により平均１回排尿量を有意に増加し、排尿回数を有意に減少させる。これらの基礎的な試験結果などに基づき、ミラベグロンは過活動膀胱に対する first-in-class の薬物として承認され、世界中で使われてきた。しかしながら動物実験では精嚢・前立腺・子宮の重量低下あるいは萎縮などの生殖器系への影響が認められていること、そして CYP3A4 で代謝されることから薬物相互作用に留意する必要があることなどが問題点としてあげられる。ビベグロンは 2018 年にミラベグロンに次ぐ選択的 β_3 アドレナリン受容体作動薬として承認された薬物である(Yoshida et al., 2018a; Yoshida et al., 2018b)。ミラベグロンと比較して、動物実験において生殖器系への影響が認められておらず、シトク

ローム p450 で代謝されずほぼ未変化体のまま排泄されることから併用禁忌薬がないという利点がある。神経因性、非神経因性過活動膀胱患者を対象にビベグロンとミラベグロンの 1 年間の薬物継続率を調査した報告ではミラベグロン 58.2％、ビベグロン 83.8％とビベグロン群で有意に継続率が高かった。服薬中止の理由として最も多かったものは効果不十分と副作用であるが、これはミラベグロンで 29.1％、ビベグロンで 8.7％であり、ビベグロンはミラベグロンよりも薬効および忍容性が優れていると考えられる（$p<0.001$）（Mukai et al., 2021）。

PD 患者に対してミラベグロンを投与した研究において、過活動膀胱症状質問票のスコアの改善や排尿回数の減少など、過活動膀胱症状に有用だったとする報告があり（Moussa et al., 2022; Peyronnetet al., 2018; Cho et al., 2021）、薬効及び忍容性に優れたビベグロンは PD 患者の下部尿路症状に対して極めて有効であると予想される。しかしながら、PD モデル動物や PD 患者における下部尿路症状に対してビベグロンの有効性を検討した報告はなされていない。

また PD 患者では切迫性尿失禁や腹圧性尿失禁を有するとの報告(Sakakibara et al., 2001b)があり、6-OHDA を用いた PD モデルラットで尿道内圧の低下を認めたとの報告がなされている(Ouchi et al., 2019)。このことから、PD では尿道機能の悪化が疑われる。尿道機能における β_3 受容体の役割については十分に検討されておらず、Takeda らは正常のラット及びイヌの尿道内圧に対して β_3 受容体は関与しない報告しているが（Takeda et al., 2003）、Alexandre らは *in vitro* の実験で正常雄マウスの尿道平滑筋にミラベグロンを投与したところ尿道弛緩作用を認めたと報告しており（Alexandre et al., 2015）、尿道機能における β_3 受容体の役割については結果が不定のままである。

以上のような背景から、第一章では PD モデルラットにおける膀胱機能および尿道機能へ、ビベグロンがどのような影響を与えるのかについて検討を行った。

方法

1.　実験動物

週数 14-20 週齢の雌性 Sprague-Dawley ラット（体重 292.0–348.5 g）（Sankyo Labo Service Corporation, INC., Tokyo, Japan）を使用した。明暗期のサイクルは 12 時間毎とし、19 時に自動消灯、7 時に自動点灯する。全てのラットは自由に飲食可の状態とした。飼育および実験に関しては、「北海道大学動物実験に関する規定」に準拠した。なお、この研究は動物実験委員会（21-0104）より承認を受けている。

2.　PD モデルラット

PD モデルラットは既報に従い作製した(Yoshimura et al., 2003)。本手法は 6-OHDA によりドーパミン神経の変性を誘導するものであり、6-OHDA を投与した脳切片の病変側でドーパミン神経細胞数の著明な減少を認め、排尿間隔が短縮し膀胱容量が低下することが示されている。具体的には SD ラットにイソフルラン（Pfizer, New York, USA）で吸入麻酔をかけ、その後ウレタン（1.1 g / kg）　（FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan）を腹腔内に投与した。頭蓋部の皮膚を切開し、頭蓋骨を露出させた。ブレグマを基点に後方に 5.3 mm、外側に 2.2 mm の位置にドリルで穴を開け、深さ 8.0 mm の位置まで針先を刺入し右側黒質部にアスコルビン酸添加生理食塩水を溶媒とした 0.1%6-OHDA 溶液（6-hydroxydopamine）（FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan）を 10 μL 投与した。頭部を縫合し、4 週間おいた(Ungerstedt, 1968)（図 4）。

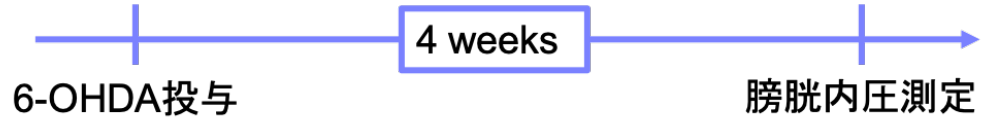


図 4 PD ラット作成から膀胱内圧測定までの流れ

膀胱内圧測定と尿道内圧測定はそれぞれ別の個体を使用した。（図 5）

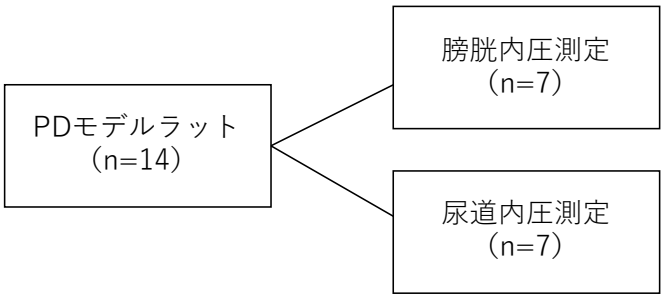


図 5 実験に使用した PD ラット数

3. 膀胱内圧測定

膀胱内圧測定の手順として、まずラットにイソフルランで吸入麻酔をかけ、その後ウレタン（1.1 g / kg）を腹腔内投与した。下腹部を正中切開し、両側尿管を 6-0 絹糸で結紮して切断した。続いて膀胱瘻作成のため、膀胱を露出し 18G 針で膀胱頂部に穴を開け、膀胱頂部にポリエチレンチューブ（PE-50, Clay-Adams, Parsippany, NJ）を挿入し 6-0 絹糸で結紮固定した。結紮部から脇漏れしないことを確認し、腹部を縫合した。続いて右あるいは左頸部を切開し静脈を露出した。静脈にポリエチレンチューブ（PE-10, Clay-Adams, Parsippany, NJ）を挿入して 6-0 絹糸で結紮固定した。膀胱体外側のチューブは三方活栓を用いてシリンジポンプ（STC-523 , Terumo, Tokyo, Japan）とトランスデューサに接続し生理食塩水（以下生食）を 3 ml/h の速度で持続注入しながら膀胱内圧を測定した。測定した圧力はトランスデューサを介して PowerLab システム（AD Instruments, Dunedin, New Zealand）に出力した。測定項目は ICI（Inter contraction interval）と VP（Voiding pressure）、TP（Threshold pressure）、PVR（Post-voided residual volume）で、ICI は排尿反射が生じてから次の排尿反射が生じるまでにかかる時間とし、TP は排尿反射開始時の膀胱内圧、VP は排尿反射時の最大膀胱内圧、PVR は排尿反射が生じた時点で注入を止め、排尿反射終了後に空のシリンジを用いて膀胱体側のチューブから残尿を引いてシリンジの重さから求めた。ICI と TP は蓄尿機能、VP と PVR は排尿機能の評価とした。

4. 尿道内圧測定

ラットにイソフルランで吸入麻酔をかけ、その後ウレタン（1.1 g / kg）を腹腔内投与した。下腹部を正中切開し、両側尿管を 6-0 絹糸で結紮して切断した後、腹部を縫合した。続いて右あるいは左頸部を切開し静脈を露出した。静脈にポリエチレンチューブ（PE-10, Clay-Adams, Parsippany, NJ）を挿入して 6-0 絹糸で結紮固定した。尿道に Millar Mikro-Tip®シングル圧力カテーテ

ルを挿入し、尿道内圧が最も高値となる部位を確認してカテーテルを固定した。PowerLab システムに接続し尿道内圧を測定した。

5. β_3 アドレナリン受容体作動薬

ビベグロン（Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd, Tokyo, Japan）は、ポリエチレングリコール 400 を 60 vol%、100%エタノールを 20 vol%、生理食塩水を 20 vol%からなる溶媒を用いて溶解した。既報を参考に 0.3, 1, 3 mg/kg の用量投与用の溶液を作成し（Yamazaki et al., 2019）、投与容量は 0.2 ml/kg とした。頸静脈に留置したポリエチレンチューブから静脈投与した。膀胱内圧測定および尿道内圧測定は手術直後から開始し、開始 2 時間後からの測定結果を解析に用いた（図 6）。膀胱内圧測定と尿道内圧測定はそれぞれ別の個体を使用し、同様のタイミングで計測した。薬物投与後 1 時間分のデータを収集、解析した。

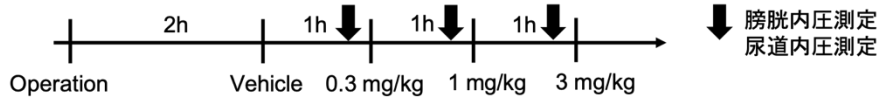


図 6 薬物投与タイミング

6. 統計学的解析

膀内圧測定及び尿道内圧測定について、安定した 3 回分の波形を計測し、平均を取った。平均値の算出・有意差検定には統計ソフト JMP® バージョン 16（SAS Institute Inc., Cary, NC）を使用して Tukey's test を用いた。データは mean±SE で示した。有意水準は $p < 0.05$ とした。

結果

膀胱内圧測定の代表例の結果を図 7 に示す。ICI は vehicle 投与時と比較して、0.3 mg/kg、1 mg/kg では有意な差を認めなかったが、3 mg/kg において有意に延長した。VP は vehicle 投与時と比較して 0.3 mg/kg、1 mg/kg では有意な変化を認めなかったが、3 mg/kg において有意に低下した。TP と PVR に有意な変化は認めなかった（表 1)。

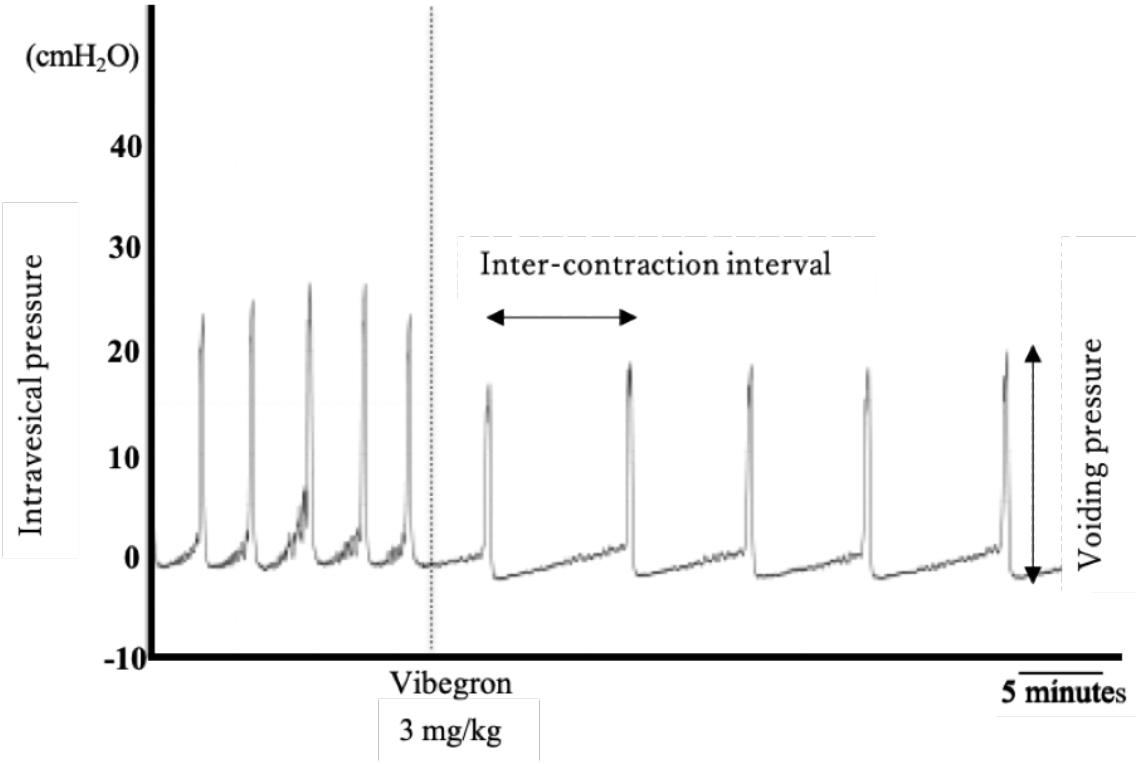


図 7 膀胱内圧測定の結果。対照との比較を示す。

（表 1）膀胱内圧測定の結果

n=7	Mean (SE) ICI, sec	Mean (SE) VP, cmH2O	Mean (SE) TP, cmH2O	Mean (SE) PVR, mL
Vehicle	292 (48.1)	24.4 (1.77)	4.49 (4.31)	0.000 (0.00)
Vibegron 0.3 mg	394 (51.6)	21.8 (1.76)	4.34 (3.89)	
Vibegron 1 mg	335 (20.2)	21.3 (1.50)	3.81 (4.11)	
Vibegron 3 mg	464 (48.6)*	16.2 (0.61)**	3.71 (4.08)	0.004 (0.07)

ICI intercontraction interval, VP voiding pressure, TP threshold pressure, PVR post-voided residual volume
* P < 0.05 vs vehicle
** P < 0.01 vs vehicle

尿道内圧測定の代表例の結果を図 8 に示す。尿道内圧では、vehicle 投与時と比較していずれの用量においても有意な差を認めなかった(表 2)。

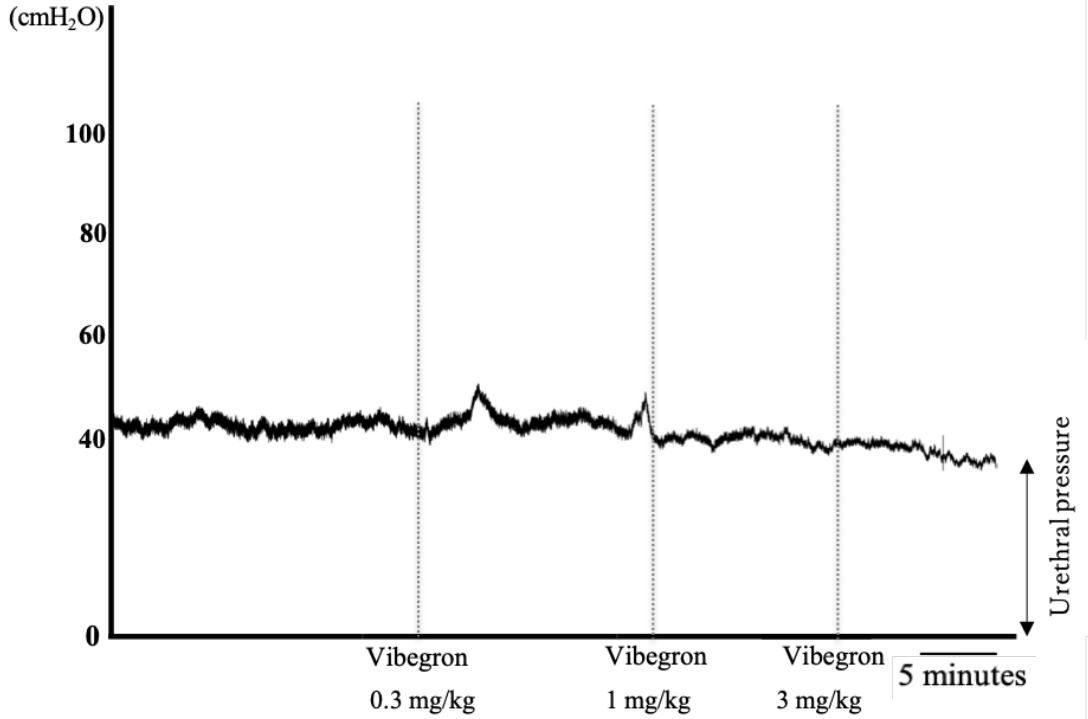


図 8 尿道内圧測定の結果。対照と累積投与後の尿道内圧の変化を示す。

(表 2)尿道内圧の変化

n=7	Mean (SE) UP, cmH2O
Vehicle	31.3 (4.11)
Vibegron 0.3 mg	30.8 (3.77)
Vibegron 1 mg	29.6 (3.93)
Vibegron 3 mg	25.5 (3.46)

UP urethral pressure

考察

本実験は、ビベグロン投与により膀胱機能では ICI の延長と VP の低下を認め、TP 及び PVR では有意な差を認めなかった。また、尿道機能においては尿道内圧の変化は認めなかった。

β_3 アドレナリン受容体作動薬は蓄尿相において排尿筋を弛緩させるが、排尿相における膀胱収縮力や残尿量に影響を与えずに膀胱容量を増加させることが報告されている(Takasu et al., 2007; Yamaguchi and Chapple, 2007)。これまでの研究では、PD 患者に対してミラベグロンを投与したところ過活動膀胱症状スコアを改善し 1 日排尿回数を減少させ、過活動膀胱症状に有用だったとされている(Moussa et al., 2022)。しかし、ビベグロンを用いた PD 患者への治療効果を調べた研究は報告されてない。本実験の結果により、3 mg/kg のビベグロンを投与した際に PD モデルラットの ICI が延長することが明らかとなった。蓄尿相において、ビベグロンが膀胱平滑筋の β_3 受容体に作用し膀胱の過剰な収縮が抑えられたことで、ICI が延長し 1 回排尿量が増加したと思われる。また、TP はビベグロン投与による有意な変化はなく、蓄尿時における膀胱壁の伸展が阻害されず、低圧のまま蓄尿ができたと考えられる。従って、ビベグロンは PD モデルラットの蓄尿相に対して有効に作用することが明らかとなった。

排尿相においては 3 mg/kg のビベグロン投与時に PVR は認められなかったが、VP の有意な低下が認められた。ラットを用いた実験において 3 mg/kg のビベグロン投与で排尿時の膀胱内圧を抑制したとする報告があり(Di Salvo et al., 2017)、本研究成果はこの既報の結果と類似していた。β_3 アドレナリン受容体作動薬の主標的は排尿筋平滑筋細胞であるが(Eastham et al., 2015)、求心性神経(Coelho et al., 2017)などの異なる細胞にも発現しているとの報告もある(Okeke et al., 2017)。膀胱平滑筋以外に作用することによって排尿時の収縮を抑制した可能性も考えられるが、今後さらなる検証が必要である。また β_3 アドレナリン受容体作動薬は非常に特異性が高いと考えられていたが、Yamada らはミラベグロンとビベグロンがそれぞれムスカリン受容体にも結合することを報告している（Yamada et al., 2021a; Yamada et al., 2021b)。ビベグロンの膀胱ムスカリン受容体に対する親和性（IC_{50}）は 479 μM と報告されており、β_3 受容体への親和性と比較すると 1000 倍以上低いものの、本研究ではビベグロンを静脈投与しており、一過性に高濃度となったビベグロンがムスカリン受容体を介して膀胱平滑筋の収縮作用を惹起し

た可能性も考えられる。ビベグロンを点滴投与するなどして血中濃度をコントロールした際に VP を測定するなどの追加実験が今後必要であると思われた。なお、過活動膀胱患者にビベグロンを投与した際の副作用を調査した研究では尿閉が認められたことが報告されているが（Kawazoe et al., 2023）、尿閉の原因が排尿反射の低下によるものか、尿道抵抗の亢進によるものかは明らかにされていない。

本研究では膀胱機能に加えて尿道機能についても検討を行い、ビベグロンは尿道機能に影響を与えないことが示された。正常のラット及びイヌの尿道内圧に β_3 アドレナリン受容体作動薬が影響を与えなかったとする Takeda らの報告と同様の結果を得られており、ビベグロン投与により尿道機能が変化する可能性は低いと考えられる。しかし、Ouchi らは、6-OHDA を用いた PD モデルラットにおいて、ドパミンの枯渇が尿道閉鎖機構を損なわせることを報告していることから(Ouchi et al., 2019)、尿道機能障害に関しては β_3 受容体とは異なる薬物標的を探索する必要があると思われる。

第一章では PD モデルラットを用いてビベグロンの下部尿路症状に対する効果を薬理学的に検証した。その結果、TP に変化を与えずに ICI を有意に延長したことから、PD 患者の過活動膀胱症状に対してビベグロンが有効である可能性を示すことができ、今後 PD 患者の下部尿路症状にビベグロンを臨床応用する際に必要な重要な知見を初めて得ることが出来た。一方で、VP が有意に低下することが認められ、ビベグロンによる排尿症状への影響については更なる研究が必要であると考えられた。

第 2 章

パーキンソン病モデルラットの下部尿路症状に対する モノアミン酸化酵素 B 阻害薬ラサギリンの 有効性についての検討

（Efficacy of Monoamine oxidase B inhibitor Rasagiline for Lower Urinary Tract Symptoms Due to Parkinson's Disease）

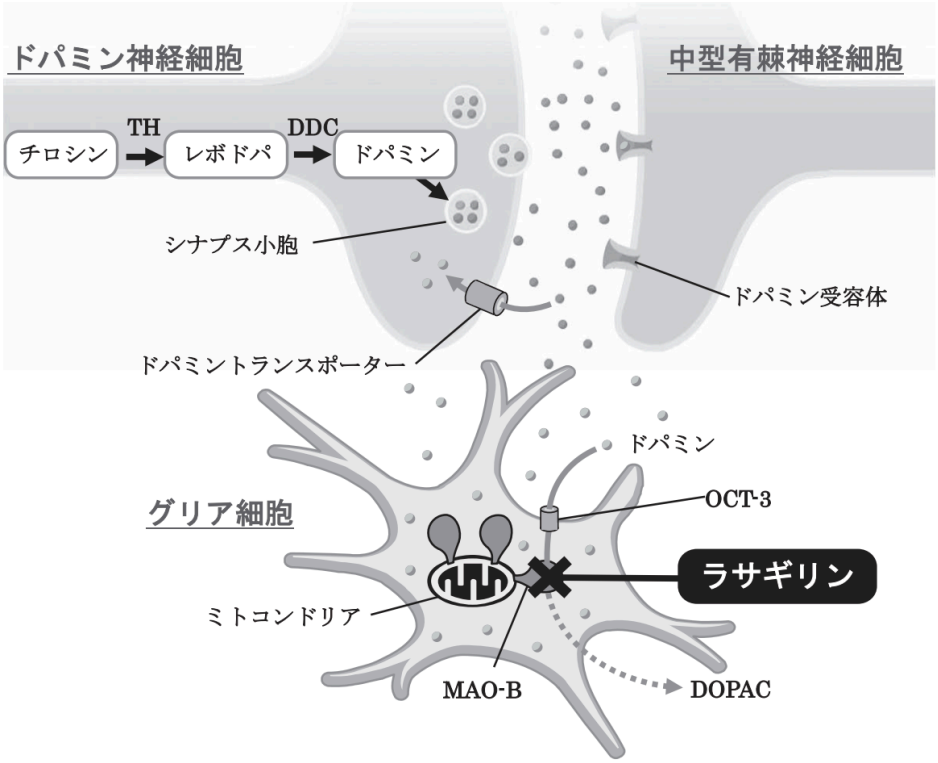
緒言

PD 患者は多彩な症状を呈するため、多剤服用が必要となることが多い。実際に、後藤らは PD 患者と非 PD 患者の処方薬の薬剤数を比較したところ、6.5±3.6 剤（平均±SD）、非 PD 患者は 4.1±2.7 剤患者であり、PD 患者が有意に多く薬物を処方されていることを報告している（後藤ほか, 2019）。運動障害に対して使用されている抗 PD 治療薬が下部尿路症状に対しても十分な薬効があることが示された場合、下部尿路症状に対して使用されていた内服薬を減量あるいは中止できる可能性が考えられる。第 2 章では、抗 PD 治療薬と使用され、モノアミン酸化酵素（monoamine oxidase, MAO）阻害作用を有するラサギリンが下部尿路機能症状の改善に寄与するかどうかについて調べることとした。

PD はドーパミンの減少により運動症状及び非運動症状を呈する(Kalia and Lang, 2015)。非運動症状として自律神経症状があり、下部尿路機能障害が広く知られている(Sakakibara et al., 2016)。運動症状に対しては、ドーパミンの用量を増やす、あるいはドーパミンの受容体を直接刺激するなど、薬物による様々な治療法によって良好に管理することが可能だが、非運動症状に対しては効果的な治療法に乏しく、患者の QOL を著しく損なっているのが現状である(Nagatsua and Sawadab, 2009)。ドーパミン補充療法に使用される L-ドーパは PD による過活動膀胱症状に対して軽快と憎悪の両方が報告されている（Winge et al., 2004）。また、D_2 受容体アゴニストであるペルゴリドも運動症状の改善と憎悪の両方が報告されており（Kuno et al., 2004）、ドーパミン神経系を直接刺激する薬物の下部尿路症状に対する効果は不定である

MAOB はドーパミン代謝に極めて重要であることから、MAOB 阻害薬はシナプス間隙におけるドーパミン量の低下を抑制して線条体における細胞外ドーパミン濃度を増加させ、PD 患者の運動機能障害を改善する（図 9）。これまでにセレギリン、ラサギリン、サフィナミドの 3 種類の MAO 阻害薬が上市されており広く使用されている。PD 患者の下部尿路症状に対する MAO 阻害薬の効果については、いくつかの臨床研究で検証されている（Micco et al., 2022，Biglan et al., 2006; Brusa et al., 2014、Gómez-López, A. et al. 2021; García, D. et al., 2021)。一部の報告において有効であったとされているものの、Tsuboi らによるシステマティックレビューではデータ数が少ないため自律神経症状に対する効果については明確に示されていないと記載されている（Tsuboi et al., 2022）。従って PD モデル動物を用いて MAO

阻害薬の効果を検証することによって得られる基礎的な知見は、今後 PD 患者の新たな下部尿路症状治療を考える上で極めて重要であると考えられた。セレギリンは高用量では MAOA を阻害することがわかっており、またサフィナミドは電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用も有することから、本研究では特異性の高いラサギリンを用いて、PD モデルラットにおける MAO 阻害薬の薬効について薬理学的に検討を行った



永井将弘ら (2020)より

図 9 MAO 阻害薬の作用機序を図示化。ラサギリンは MAOB を阻害してシナプス間隙におけるドーパミン量の低下を抑制する。

さらに、MAO 阻害によって増加したドーパミンがどの受容体を介してその薬効を発揮しているかを確認するため、D_1 受容体拮抗薬を用いた実験も合わせて実施した。ドパミン受容体は D_1、D_5 を含む D_1 様ドーパミン受容体と、D_2、D_3、D_4 を含む D_2 様受容体に分類される。正常ネコと PD モデルカニクイザルを用いた研究では D_1 受容体機能の低下により排尿反射の亢進を起こす可能性が示唆されている(Yoshimura et al., 1992, 1993, 1998)。D_1 受容体は膀胱収縮の抑制に働き、D_2 受容体は膀胱収縮を促進させる

（Yoshimura et al., 2003）。また、正常ラットを使用した実験では D_1 拮抗作用を有する SCH 23390 を静脈投与したところ、1.0 mg/kg と 3.0 mg/kg において排尿間隔の短縮及び排尿時圧が上昇したとの報告(Seki et al., 2001)や、D_1 および D_5 受容体作動薬が排尿反射を抑制し、D_2 および D_4 受容体作動薬は排尿間隔を短縮する役割を有し、D_2 系が尿道機能を悪化させるという報告もなされている(Ouchi et al., 2022)。

第二章では MAO 阻害薬であるラサギリンを PD モデルラットに投与し、下部尿路症状に及ぼす影響について検討することで、今後の臨床応用に重要な基礎的知見を得ることを目的として実施した。

方法

1. 実験動物

週数 14-18 週齢の雌性 Sprague-Dawley ラット（体重 318.1-381.7 g）を使用した。明暗期のサイクルは 12 時間毎とし、19 時に自動消灯、7 時に自動点灯する。全てのラットは自由に飲食可の状態とした。飼育および実験に関しては、「北海道大学動物実験に関する規定」に準拠した。なお、この研究は動物実験委員会（21-0104）より承認を受けて実施した。

2. PD モデルラット

第一章と同様に SD ラットにイソフルラン（Pfizer, New York, USA）で吸入麻酔をかけ、その後ウレタン（1.1 g / kg）（FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan）を腹腔内に投与した。頭蓋部の皮膚を切開し、頭蓋骨を露出させた。ブレグマの後方に 5.3 mm、外側に 2.2 mm の位置にドリルで穴を開け、深さ 8.0 mm の位置まで針先を刺入し右側黒質部にアスコルビン酸添加生理食塩水を溶媒とした 0.1%6-OHDA 溶液を 10 μL 投与した。頭部を縫合し、4 週間おいた(Ungerstedt, 1968)。
膀胱内圧測定と尿道内圧測定はそれぞれ別の個体を使用した。（図 10）

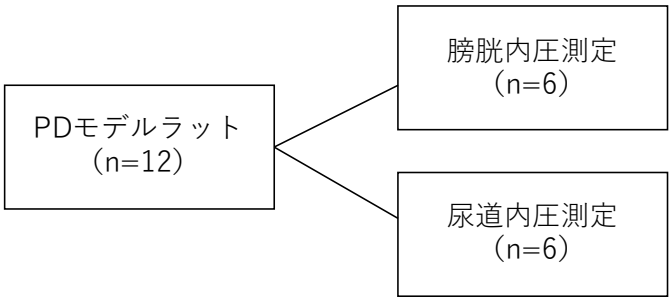


図 10 実験に使用した PD ラット数

3. 膀胱内圧測定

膀胱内圧測定の手順として、まずラットにイソフルランで吸入麻酔をかけ、その後ウレタン（1.1 g / kg）を腹腔内投与した。下腹部を正中切開し、両側尿管を 6-0 絹糸で結紮して切断した。続いて膀胱瘻作成のため、膀胱を露出し 18G 針で膀胱頂部に穴を開け、膀胱頂部にポリエチレンチューブ（PE-50, Clay-Adams, Parsippany, NJ）を挿入し 6-0 絹糸で結紮固定した。結紮部から脇漏れしないことを確認し、腹部を縫合した。続いて右あるいは左頸部を切

開し静脈を露出した。静脈にポリエチレンチューブ（PE-10, Clay-Adams, Parsippany, NJ）を挿入して 6-0 絹糸で結紮固定した。膀胱体外側のチューブは三方活栓を用いてシリンジポンプ（STC-523 , Terumo, Tokyo, Japan）とトランスデューサに接続し生食を 3 mL/h の速度で持続注入しながら膀胱内圧を測定した。測定した圧力はトランスデューサを介して PowerLab システム（AD Instruments, Dunedin, New Zealand）に出力した。測定項目は ICI と VP、TP、PVR で、ICI は排尿反射が生じてから次の排尿反射が生じるまでにかかる時間とし、TP は排尿反射開始時の膀胱内圧、VP は排尿反射時の最大膀胱内圧、PVR は排尿反射が生じた時点で注入を止め、排尿反射終了後に空のシリンジを用いて膀胱体側のチューブから残尿を引いてシリンジの重さから求めた。ICI と TP は蓄尿機能、VP と PVR は排尿機能の評価とした。

4. 尿道内圧測定

ラットにイソフルランで吸入麻酔をかけ、その後ウレタン（1.1 g / kg）を腹腔内投与した。下腹部を正中切開し、両側尿管を 6-0 絹糸で結紮して切断した後、腹部を縫合した。続いて右あるいは左頸部を切開し静脈を露出した。静脈にポリエチレンチューブ（PE-10, Clay-Adams, Parsippany, NJ）を挿入して 6-0 絹糸で結紮固定した。尿道に Millar Mikro-Tip®シングル圧力カテーテルを挿入し、尿道内圧が一番高いところを確認してカテーテルを固定した。PowerLab システムに接続し尿道内圧を測定した。

5. ラサギリン

ラサギリン （FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan）を生理食塩水で溶解し、0.01, 0.1, 0.5 mg/kg の用量投与用の溶液を作成し、投与容量は 0.2 mL/kg とした。頸静脈に留置したポリエチレンチューブから静脈投与した。膀胱内圧測定と尿道内圧測定はそれぞれ別の個体を使用し、同様のタイミングで計測した。膀胱内圧測定および尿道内圧測定は手術直後から開始し、開始 2 時間後からの測定結果を解析に用いた（図 11）。薬物投与後 1 時間分のデータを収集、解析した。

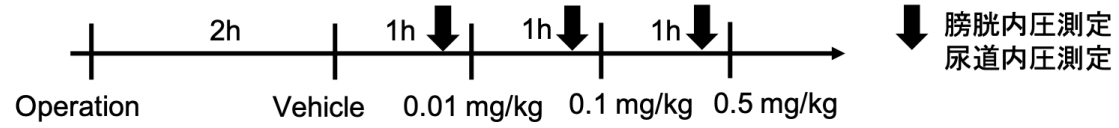


図 11 薬物投与のタイミング

6. D_1 受容体拮抗薬

D_1 受容体拮抗薬として SCH 23390 （Abcam, Bristol, United Kingdom）を生食で溶解し、既報(Ouchi et al., 2022) を参考に 1.0 mg/kg の用量投与用の溶液を作成して投与容量は 0.2 mL/kg とした。Vehicle 投与後にラサギリン 0.5 mg/kg 投与し、さらに SCH 23390 を頸静脈から投与して、その都度膀胱内圧測定を行った。（図 12）
Vehicle の結果と、ラサギリン投与後、SCH 23390 投与後の結果を比較した。

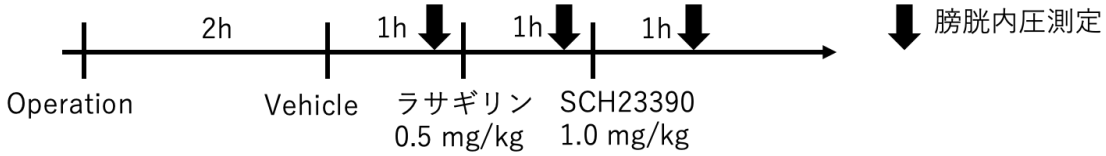


図 12 矢印の位置で膀胱内圧測定の記録を行った。

7. 統計学的解析
膀胱内圧測定及び尿道内圧測定について、安定した 3 回分の波形を計測し、平均を取った。平均値の算出・有意差検定には統計ソフト JMP® バージョン 16（SAS Institute Inc., Cary, NC）を使用して Tukey's test を用いた。データは mean±SE で示した。有意水準は $p < 0.05$ とした。

結果

膀胱内圧測定の代表例の結果を図 13 に示す。ICI は vehicle 投与時と比較して、0.1 mg/kg 及び 0.5 mg/kg において有意に延長した。VP、TP、PVR は有意な変化を認めなかった（表 3)。

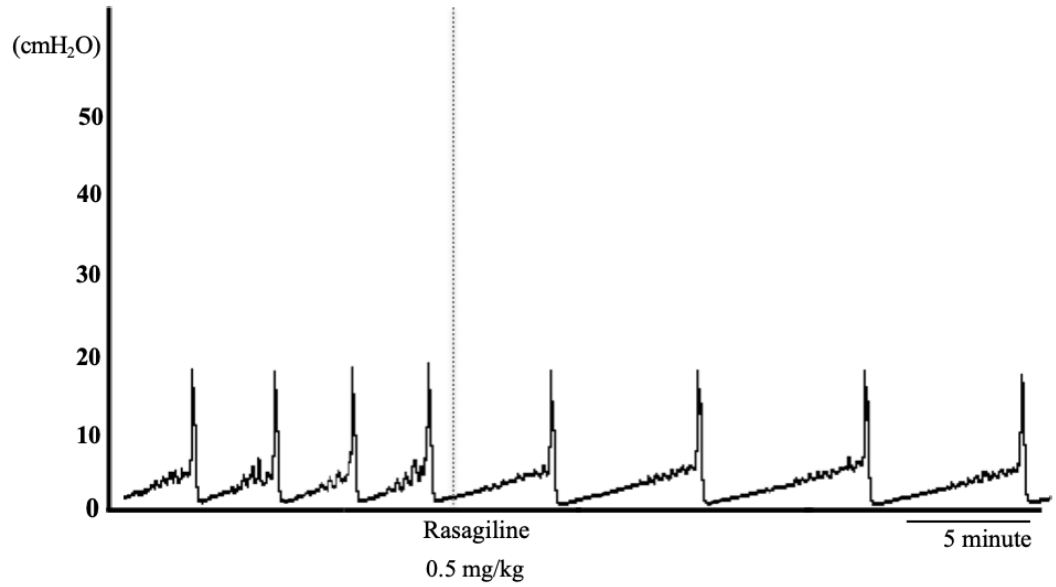


図 13 対照とラサギリン投与後の膀胱内圧測定の代表例

（表 3）膀胱内圧の結果

n=6	Mean (SE) ICI, sec	Mean (SE) VP, cmH2O	Mean (SE) TP, cmH2O	Mean (SE) PVR, mL
Vehicle	297 (32.6)	19.6 (1.22)	4.12 (0.50)	0.000 (0.00)
Rasagiline 0.01 mg	367 (47.8)	18.8 (1.27)	4.02 (0.58)	
Rasagiline 0.1 mg	534 (59.5)**	18.2 (1.52)	3.77 (0.49)	
Rasagiline 0.5 mg	554 (64.3)**	17.0 (1.82)	3.71 (0.46)	0.000 (0.00)

ICI intercontraction interval, VP voiding pressure, TP threshold pressure, PVR post-voided residual volume
* P < 0.05 vs vehicle
** P < 0.01 vs vehicle

尿道内圧測定の結果を図 14 に示す。尿道内圧では、いずれのラサギリンの用量において有意な差を認めなかった（表 4)。

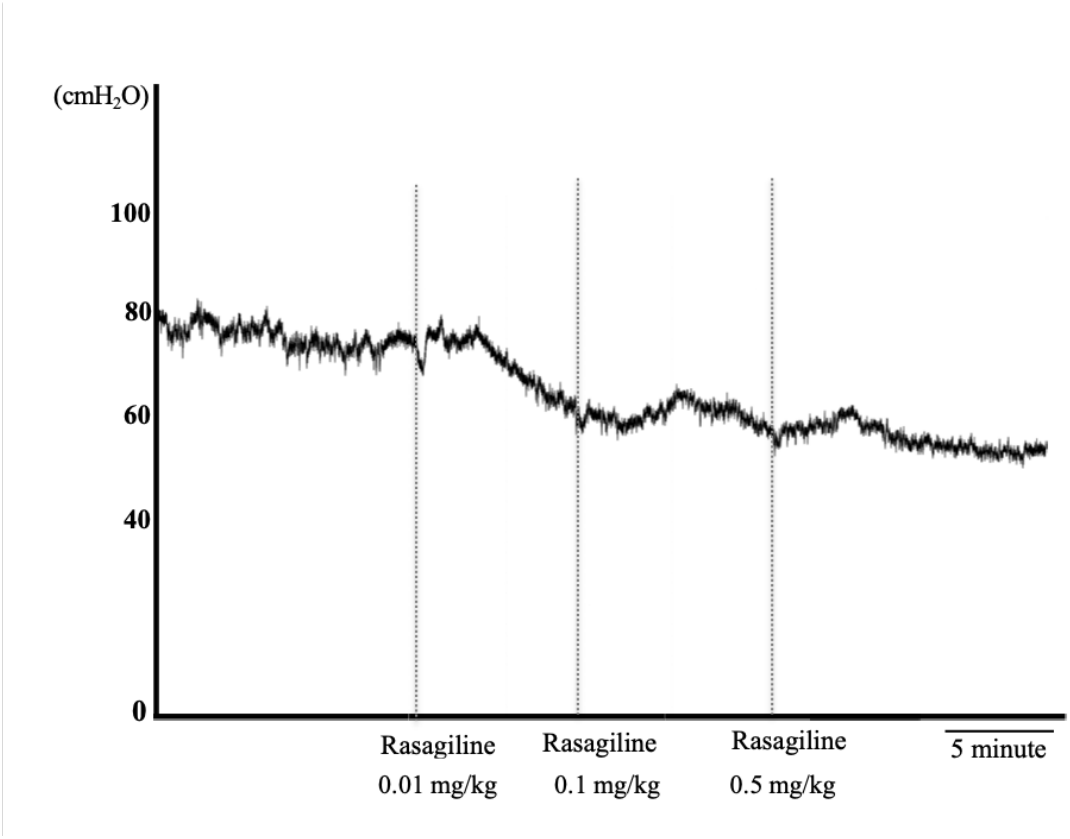


図 14 ラサギリン累積投与後の尿道内圧測定の代表例

表 4 尿道内圧の変化

n=6	Mean (SE) UP, cmH2O
Vehicle	47.1 (10.4)
Rasagiline 0.01 mg	46.3 (8.98)
Rasagiline 0.1 mg	43.2 (8.77)
Rasagiline 0.5 mg	38.1 (7.74)

UP urethral pressure

ラサギリンにより排尿反射が抑制されたので、新たな実験として別の個体に対してラサギリン 0.5 mg/kg を投与し、ICI が延長することを確認してから続いて SCH23390 を投与した実験結果を図 15 に示す。SCH23390 の投与により ICI が 581 秒から 983 秒と延長したことから、ICI がさらに延長することが示された。（表 5）

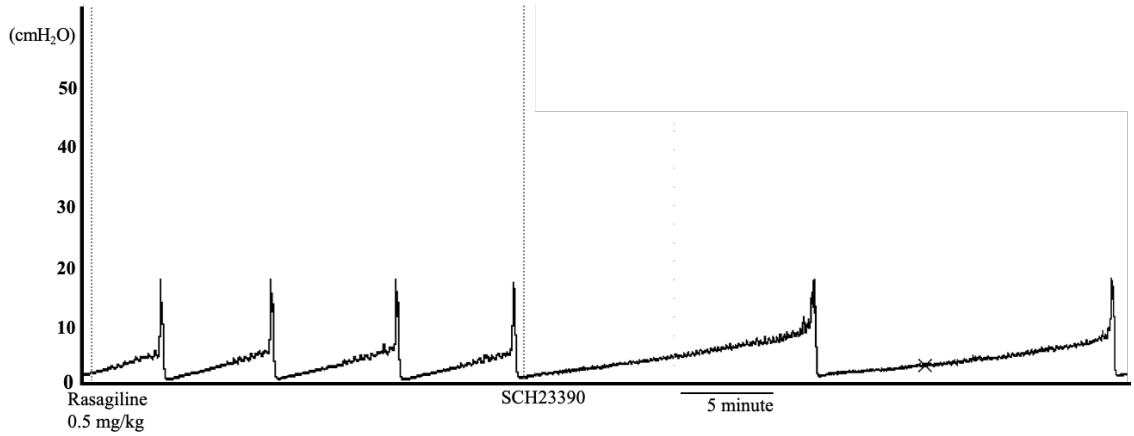


図 15 膀胱内圧測定（SCH23390 投与後）の代表例

表 5 Vehicle に対してラサギリン、SCH 23390 を比較した

n=6	Mean (SE) ICI, sec	Mean (SE) VP, cmH2O	Mean (SE) TP, cmH2O
Vehicle	297 (32.6)	19.6 (1.22)	4.12 (0.50)
rasagiline injection (0.5mg/kg)	581 (74.0)**	20.1 (2.89)	11.4 (0.70)**
SCH23390 injection	983 (73.7)**	18.4 (2.77)	11.8 (0.50)**

ICI intercontraction interval, VP voiding pressure, TP threshold pressure
* P < 0.05 vs vehicle
** P < 0.01 vs vehicle

Vehicle 投与後にラサギリンを投与し、排尿反射の抑制を確認してから続けて SCH23390 を投与して ICI の変化を調べた。

考察

本実験はMAOB阻害薬ラサギリンによりPDモデルラットの下部尿路症状の変化を評価した。ラサギリンによりICIが大きく延長したことから、MAO阻害薬が蓄尿相に作用して下部尿路症状を改善する可能性が示唆された。またラサギリンとSCH23390を併用したところICIが更に延長することが示された。

今回、ラサギリン投与により蓄尿機能ではICIの延長を認めた。既報では中枢神経系に存在するドーパミンは排尿反射を抑制することが報告されており、ラサギリンによるドーパミン濃度の増加により高位排尿中枢での排尿の抑制が働き、排尿間隔の延長を示した可能性が考えられる。しかしMAOは末梢組織にも発現していることから末梢での作用も影響を与えている可能性は否定できず(Yoshimura et al., 1993, 1998, 2003)、ラサギリンの脳室内投与などにより中枢神経系へ選択的に作用させた場合の表現型を解析するなどの追加実験が今後必要であると考えられた。なおTPには有意な変化を認めていないことから、ICIの延長により膀胱容量は増えたが、低圧で蓄尿できていると考えられた。排尿機能においてはVPに有意な差はなく、ラサギリンによって排尿時の収縮へ影響を及ぼさないことが示された。また、PVRも変化がなかったためICIの延長により蓄尿量が増えても残尿なく排尿できることが明らかとなった。

また、ラサギリンを投与してICIの延長を確認した後にSCH23390を投与した。D_1受容体の活性化は排尿反射を抑制するという報告が多くなされていることから（Yoshimura et al., 2003）、D_1受容体拮抗薬によりラサギリンにより生じたICI延長作用がキャンセルされることを予想したが、ICIがさらに延長する結果となった。しかし、Yoshimuraらは6-OHDAによるPDモデルラットとMPTPによるPDモデルラットでは病態によって結果が一律ではないことを報告している(Yoshimura et al., 1993, 1998)。また同じ薬物を使用しても投与経路の違いにより異なる結果を示すことが確認されている(Kitta et al., 2018; Ouchi et al., 2022)（表6）。本研究では6-OHDAを片側の黒質に投与しており、対側のドーパミン神経は正常のまま機能していると考えられることから、PD患者の病態を完全に模しているとは言い難く、ドーパミン神経系の活性に左右差が生じていることが既報と異なる結果となった可能性も考えられる。またpositron emission tomographyを用いた研究でヒトのMAOBは線条体に多く発現していることが報告されており、ラサギリン投与後のドーパミン濃度の増加は脳部位によって異なる可能性も考えられ

る。D_1 受容体の排尿作用における役割はまだ十分に解明されておらず、ラサギリンによる D_1 受容体の活性化レベルが脳部位によって異なっていたこともSCH23390が更にICIを延長させたことに寄与していた可能性も考えられる。排尿機能における D_1 および D_2 の作用については、アデノ随伴ウイルスを用いた脳局所的な遺伝子操作などを用いることにより更に詳細に検討していくことが今後必要であると考えられた。

表 6 各種薬物と膀胱・尿道機能への結果

正常ラット

種類	薬剤	投与方法	投与量	膀胱への影響	尿道への影響
D_1 agonist	SKF 38393	静脈注射	0.01～3.0 mg/kg	なし	なし
		脳脊髄腔内	5 μg (2 μL, 3 min)	容量増加	
		髄膜腔内注入	5 μg (6 μL,)	なし	
D_1 antagonist	SCH 23390	静脈注射	0.1～3.0 mg/kg	容量減少	内圧低下
D_2 agonist	quinpirole	静脈注射	0.01～0.4 mg/kg	容量減少	内圧低下
		脳脊髄腔内	2 μg (2 μL, 3 min)	容量減少	内圧低下
		髄膜腔内注入	1 μg (6 μL,)	容量減少	
D_2 antagonist	remoxipride	静脈注射	0.1～1.0 mg/kg	なし	

PDモデルラット

種類	薬剤	投与方法	投与量	膀胱への影響	尿道への影響
D_1 agonist	SKF 38393	静脈注射	0.5～1.0 mg/kg	容量増加	内圧上昇
		脳脊髄腔内	2 μg (2 μL, 3 min)	容量増加	
		髄膜腔内注入	5 μg (6 μL,)	なし	
D_2 agonist	quinpirole	静脈注射	0.2～0.4 mg/kg	容量減少	内圧低下
		脳脊髄腔内	2 μg (2 μL, 3 min)	容量減少	
		髄膜腔内注入	1 μg (6 μL,)	容量減少	

第二章ではラサギリンはTPを変化させることなくICIを延長させ、更には排尿機能､尿道機能に対しても影響がないことが本研究により初めて示された。PD患者の下部尿路症状に対してラサギリンが有効である可能性を示す重要な知見であり､更に研究を重ねていくことでPDの下部尿路症状の病態解明や新たな治療法開発につながることが期待できる。また D_1 受容体拮抗薬を用いて責任受容体の同定を試みたが､予想と反する結果が得られ､今後更なる検討が必要であると思われた。

総括及び結論

1. 本研究から得られた新知見

第 1 章：過活動膀胱治療薬ビベグロンが PD モデルラットの排尿間隔を延長させることを示した。尿道内圧への影響は認めなかった。

第 2 章：抗 PD 治療薬ラサギリンにより PD モデルラットの過活動膀胱症状を改善することが示された。尿道内圧への影響は認めなかった。

2. 結論

本研究は PD モデルラットに対し、過活動膀胱治療薬ビベグロン及び抗 PD 治療薬ラサギリンが下部尿路症状へ及ぼす影響について調べたものである。それぞれ作用機序は異なるものの、過活動膀胱症状が改善することを初めて明らかにすることができた。この 2 つの結果は、難渋することの多い PD による過活動膀胱症状の治療に新たな選択肢が増える可能性を示唆するものであり、既に承認済みの薬物であることを考えると臨床的意義が高いと考える。ただし、ビベグロンによって VP が低下した原因やラサギリンと SCH23390 を同時投与した際に ICI が更に延長した理由については、本研究では明らかにすることができておらず、今後更なる基礎研究の積み重ねが必要であると考えられた。

謝辞

稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えて下さった北海道大学大学院医学研究科腎泌尿器外科学分野 篠原信雄教授に深く感謝いたします。また、実験の遂行にあたり、実験方針や方法、論文作成の御指導をいただきました北海道大学大学院医学研究科腎泌尿器外科学分野 橘田岳也特任准教授（現旭川医科大学泌尿器科准教授）、千葉博基助教、高知大学医学部薬理学講座齊藤源顕教授、清水孝洋准教授、高知大学医学部附属病院骨盤機能センター清水信貴講師に感謝申し上げます。

最後に、研究を進める上で教室の方々には多くのご協力をいただきました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

利益相反

本研究で使用した β_3 アドレナリン受容体作動薬（ビベグロン）は杏林製薬から提供を受けたものである。

引用文献

Abdelmotilib H, Maltbie T, Delic V, Liu Z, Hu X, Fraser KB, Moehle MS, Stoyka L, Anabtawi N, Krendelchtchikova V, Volpicelli-Daley LA, West A (2017). α-Synuclein fibril-induced inclusion spread in rats and mice correlates with dopaminergic Neurodegeneration: Neurobiol Dis 105, 84-98.

Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, Van Kerrebroeck P, Victor A and Wein A (2003) The standardisation of terminology in lower urinary tract function: Report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society. In Urology 61, 37-49.

Ahmad MH, Fatima M, Ali M, Rizvi MA, Mondal AC (2021) Naringenin alleviates paraquat-induced dopaminergic neuronal loss in SH-SY5Y cells and a rat model of Parkinson's disease. Neuropharmacology, 15.

Alexandre EC, Kiguti LR, Calmasini FB, Silva FH, da Silva KP, Ferreira R, Ribeiro CA, Mónica FZ, Pupo AS and Antunes E (2015) Mirabegron relaxes urethralsmooth muscle by a dualmechanism involvingβ3-adrenoceptor activation andα1-adrenoceptor blockade. Br J Pharmacol 173, 415-428.

Andrew J and Nathan P W (1964) Lesions of the anterior frontal lobes and disturbances of micturition and defaecation. Brain 87, 233-262.

Betarbet R, Sherer T B, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov A V and Greenamyre J T (2000) Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson’s disease. Nat Neurosci 3, 1301-1306.

Blair HA, Dhillon S (2017) Safinamide: a review in Parkinson’s disease. CNS Drugs 2, 169–176.

Biglan KM, Schwid S, Eberly S, Blindauer K, Fahn S, Goren T, Kieburtz K, Oakes D, Plumb S, Siderowf A, Stern M, Shoulson I (2006) Rasagiline improves quality of life in patients with early Parkinson's disease. Mov Disord 21, 616-623.

Brucker BM, King J, Mudd Jr, McHale K (2022) Selectivity and Maximum Response of Vibegron and Mirabegron for β3-Adrenergic Receptors. Curr Ther Res Clin Exp, 96.

Brusa L, Musco S, Bernardi G, Iani C, Pierantozzi M, Stanzione P, Stefani A, Finazzi Agro' E (2014) Rasagiline effect on bladder disturbances in early mild Parkinson's disease patients. Parkinsonism Relat Disord 20, 931-932.

Carroll V, Rossiter R and Blanchard D (2021) Non-motor symptoms of Parkinson's disease. Aust J Gen Pract 50, 812-817.

Cho SY, Jeong SJ, Lee S, Kim J, Lee SH, Choo MS, Oh SJ (2021). Mirabegron for treatment of overactive bladder symptoms in patients with Parkinson's disease: A double-blind, randomized placebo-controlled trial (Parkinson's Disease Overactive bladder Mirabegron, PaDoMi Study). Neurourol Urodyn 40, 286-294.

Coelho A, Antunes-Lopes T, Gillespie J and Cruz F (2017) Beta-3 adrenergic receptor is expressed in acetylcholine-containing nerve fibers of the human urinary bladder: An immunohistochemical study. Neurourol Urodyn 36, 1972-1980.

Di Salvo J, Nagabukuro H, Wickham L A, Abbadie C, DeMartino J A, Fitzmaurice A, Gichuru L, Kulick A, Donnelly M J, Jochnowitz N, et al (2017). Pharmacological characterization of a novel beta 3 adrenergic agonist, vibegron: Evaluation of antimuscarinic receptor selectivity for combination therapy for overactive bladder. J Pharmacol Exp Ther 360, 346-355.

Eastham J, Stephenson C, Korstanje K and Gillespie J I (2015). The expression of β3-adrenoceptor and muscarinic type 3 receptor immuno-reactivity in the major pelvic ganglion of the rat. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 388, 695-708.

Fowler CJ, Griffiths D, de Groat WC (2008). The neural control of micturition. Nat Rev Neurosci 9, 453-466.

Fowler CJ, Griffiths DJ (2010). A decade of functional brain imaging applied to bladder control. Neurourol Urodyn 29, 49-55.

García DS, Guerra CL, Baña RY, Hernando MI, López IC, Gonález JM, Losada MG, Palmás MJ, Miró CM (2021). Safinamide Improves Non-Motor Symptoms Burden in Parkinson's Disease: An Open-Label Prospective Study. Brain Sci 11.

Ginsberg D, Gousse A, Keppenne V, Sievert KD, Thompson C, Lam W, Brin MF, Jenkins B, Molkenteller CH (2012). Phase 3 efficacy and tolerability study of onabotulinumtoxinA for urinary incontinence from neurogenic detrusor overactivity. J Urol 187, 2131-9.

Gómez-López A, Sánchez-Sánchez A, Natera-Villalba E, Ros-Castelló V, Beltrán-Corbellini Á, Fanjul-Arbós S, Pareés Moreno I, López-Sendon Moreno JS, Castrillo JCS, Alonso-Canovas A(2021). SURINPARK: Safinamide for Urinary Symptoms in Parkinson's Disease. Brain Sci 11.

Gray R, Ives N, Rick C, Patel S, Gray A, Jenkinson C, McIntosh E, Wheatley K, Williams A, Clarke C E, et al (2014). Long-term effectiveness of dopamine agonists and monoamine oxidase B inhibitors compared with levodopa as initial treatment for Parkinson's disease (PD MED): A large, open-label, pragmatic randomised trial. JAMA Neurol 79, 131-140.

Herzog J, Weiss P H, Assmus A, Wefer B, Seif C, Braun P M, Pinsker M O, Herzog H, Volkmann J, Deuschl G, et al (2008). Improved sensory gating of urinary bladder afferents in Parkinson's disease following subthalamic stimulation. Brain 131, 132-145.

Hunter RL, Dragicevic N, Seifert K. (2007). Inflammation induces mitochondrial dysfunction and dopaminergic neurodegeneration in the nigrostriatal system. J Neurochem 100, 1375-1386.

Ishibashi K (2023). Clinical application of MAO-B PET using 18 F-THK5351 in neurological disorders. Review Geriatr Gerontol Int.

Johnson M E and Bobrovskaya L (2015). An update on the rotenone models of Parkinson's disease: Their ability to reproduce the features of clinical disease and

model gene-environment interactions. Neurotoxicology 46, 101-16.

Kalia L V and Lang A E (2015). Parkinson's disease. Lancet 386, 896–912.

Katzenschlager R, Sampaio C, Costa J and Lees A (2002). Anticholinergics for symptomatic management of Parkinson´s disease. Cochrane Database Syst Rev 200.

Katzenschlager R, Sampaio C, Costa J, Lees A (2003). Anticholinergics for symptomatic management of parkinson's disease.Chochrane Database Syst Rev.

Kawazoe T, Ishida T, Jobu K, Kawada K, Yoshioka S, Miyamura S (2023). Analysis of urinary retention caused by selective β3-adrenoceptor agonists using the Japanese Adverse Drug Event Report database (JADER). Pharmazie 78, 56-62.

Kelleher C, Hakimi Z, Zur R, Siddiqui E, Maman K, Aballéa S, Nazir J, and Chapple C (2018). Efficacy and tolerability of mirabegron compared with antimuscarinic monotherapy or combination therapies for overactive bladder: a systematic review and network meta-analysis. Eur Urol 74, 324–333.

Kitta T, Chiba H, Kanno Y, Hattori T, Higuchi M, Ouchi M, Togo M, Takahashi Y, Michishita M, Kitano T, et al (2020). Bladder outlet obstruction disrupts circadian bladder function in mice. Sci Rep 10, 11578.

Kitta T, Tanaka H, Mitsui T, Moriya K and Nonomura K (2008). Type 4 phosphodiesterase inhibitor suppresses experimental bladder inflammation. BJU Int 102, 1472-1476.

Kitta T, Mitsui T, Kanno Y, Chiba H, Moriya K and Shinohara N (2015). Brain-bladder control network: The unsolved 21st century urological mystery. Int J Urol 22, 342-348.

Kitta T, Yabe I, Kanno Y, Higuchi M, Ouchi M, Togo M, Moriya K, Takahashi I, Matsushima M, Sasaki H, et al (2018). Long-Term Outcome of Adenosine A2A Receptor Antagonist on Lower Urinary Tract Symptoms in Male Parkinson Disease Patients. Clin Neuropharmacol 41, 98-102.

Kitta T, Ouchi M, Chiba H, Higuchi M, Togo M, Abe-Takahashi Y, Kusakabe N and Shinohara N (2020). Animal model for lower urinary tract dysfunction in parkinson's disease. Int J Mol Sci 2, 6520.

Kuno S, Mizuta E, Yamasaki S, Araki I (2004). Effects of pergolide on nocturia in Parkinson's disease: three female cases selected from over 400 patients. Parkinsonism Relat Disord 10, 181-187.

Madhuvrata P, Singh M, Hasafa Z and Abdel-Fattah M (2012). Anticholinergic drugs for adult neurogenic detrusor overactivity: A systematic review and meta-analysis. Eur Urol 62, 816-830.

Martin S, Zillioux J, Goldman HB (2022). Is sacral neuromodulation effective in patients with Parkinson's disease? A retrospective review. Neurourol Urodyn 41, 955-961.

Micco RD, Satolli S, Siciliano M, Mase AD, Giordano A, Tedeschi G, Tessitore A (2022). Effects of safinamide on non-motor, cognitive, and behavioral symptoms in fluctuating Parkinson's disease patients: a prospective longitudinal study. Neurol Sci 43, 357-364.

Michel M C and Korstanje C (2016). β3-Adrenoceptor agonists for overactive bladder syndrome: Role of translational pharmacology in a repositioning clinical drug development project. Pharmacol Ther 159, 66-82.

Moussaa M, Chakrab MA, Dabboucyc B, Faresd Y, Dellise A, Papatsorisf A (2022). The safety and effectiveness of mirabegron in Parkinson's disease patients with overactive bladder: a randomized controlled trial. Scand J Urol 56, 66-72.

Mukai S, Nomi M, Yamada S, Yanagiuchi A, Sengoku A (2021). The 1-year continuation rate and discontinuation factors of vibegron and mirabegron: A retrospective comparative study in a rehabilitation hospital in Japan. Low Urin Tract Symptoms 13, 448-455.

Nagatsua T and Sawadab M (2009). l-dopa therapy for Parkinson’s disease: Past, present, and future. Parkinsonism Relat Disord 15, S3-8.

Nambu A, Tokuno H, Takada M (2002). Functional significance of the cortico-subthalamo-pallidal 'hyperdirect' pathway. Neurosci Res 43, 111-117.

Naoi M, Maruyama W and Shamoto-Nagai M (2022). Neuroprotective Function of Rasagiline and Selegiline, Inhibitors of Type B Monoamine Oxidase, and Role of Monoamine Oxidases in Synucleinopathies. Int J Mol Sci 19,

Ogawa T, Sakakibara R, Kuno S, Ishizuka O, Kitta T and Yoshimura N (2017). Prevalence and treatment of LUTS in patients with Parkinson disease or multiple system atrophy. Nat Rev Urol 14, 79-89.

Okeke K, Gravas S and Michel M C (2017). Do β3-adrenoceptor agonists cause urinary bladder smooth muscle relaxation by inhibiting acetylcholine release? Am J Physiol Renal Physiol 313, F859-F861.

Ouchi M, Kitta T, Kanno Y, Higuchi M, Togo M, Takahashi Y, Moriya K and Shinohara N (2019). Dopaminergic urethral closure mechanisms in a rat model of Parkinson’s disease. Neurourol Urodyn 38, 1203-1211.

Ouchi M, Kitta T, Chiba H, Higuchi M, Togo M, Abe-Takahashi Y and Shinohara N (2022). Mechanisms of D1/D2-like dopaminergic agonist, rotigotine, on lower urinary tract function in rat model of Parkinson’s disease. Sci Rep 12, 4540.

Peyronnet B, Vurture G, Palma JA, Malacarne DR, Feigin A, Sussman RD, Biagioni MC, Palmerola R, Gilbert R, Rosenblum N, Frucht S, Kaufmann H, Nitti VW, Brucker BM (2018). Mirabegron in patients with Parkinson disease and overactive bladder symptoms: A retrospective cohort. Parkinsonism Relat Disord 57, 22-26.

Sakakibara R, Hattori T, Uchiyama T and Yamanishi T (2001a). Videourodynamic and sphincter motor unit potential analyses in Parkinson’s disease and multiple system atrophy. J Neurol Neurosurg Psychiatry 71, 600-606.

Sakakibara R, Shinotoh H, Uchiyama T, Yoshiyama M, Hattori T and Yamanishi T (2001b). SPECT imaging of the dopamine transporter with [123I]-β-CIT reveals marked decline of nigrostriatal dopaminergic function in Parkinson's disease with urinary dysfunction. J Neurol Sci 187, 55-59.

Sakakibara R, Uchiyama T, Yamanishi T and Kishi M (2008). Dementia and lower urinary dysfunction: With a reference to anticholinergic use in elderly population. Int J Urol 15, 778-788.

Sakakibara R, Kishi M, Ogawa E, Tateno F, Uchiyama T, Yamamoto T and Yamanishi T (2011). Bladder, bowel, and sexual dysfunction in Parkinson's disease. Parkinsons Dis

Sakakibara R, Tateno F, Kishi M, Tsuyuzaki Y, Uchiyama T and Yamamoto T (2012). Pathophysiology of bladder dysfunction in Parkinson's disease. Neurobiol Dis 46, 565-571.

Sakakibara R, Panicker J, Finazzi-Agro E, Iacovelli V and Bruschini H (2016). A guideline for the management of bladder dysfunction in Parkinson's disease and other gait disorders. Neurourol Urodyn 35, 551-563.

Schapira A H V, Cooper J M, Dexter D, Clark J B, Jenner P and Marsden C D (1990). Mitochondrial Complex I Deficiency in Parkinson's Disease. J Neurochem 54, 823-827.

Seif C, Herzog J, van der Horst, Schrader B, Volkmann J, Deuschl G, Juenemann KP, Braun PM (2004). Effect of subthalamic deep brain stimulation on the function of the urinary bladder. Ann Neurol 55, 118-120.

Seki S, Igawa Y, Kaidoh K, Ishizuka O, Nishizawa O and Andersson K E (2001). Role of dopamine D1 and D2 receptors in the micturition reflex in conscious rats. Neurourol Urodyn 20, 105-113.

Simola N, Morelli M and Carta A R (2007). The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. Neurotox Res 11, 151-167.

Takasu T, Ukai M, Sato S, Matsui T, Nagase I, Maruyama T, Sasamata M, Miyata K, Uchida H and Yamaguchi O (2007). Effect of (R)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-4′-{2-[(2-hydroxy-2- phenylethyl)amino]ethyl} acetanilide (YM178), a novel selective β3-adrenoceptor agonist, on bladder function. J Pharmacol Exp Ther 321, 642-647.

Tsuboi T, Satake Y, Hiraga K, Yokoi K, Hattori M, Suzuki M, Hara K, Ramirez-Zamora A, Okun MS, Katsuno M (2022). Effects of MAO-B inhibitors on non-motor symptoms and quality of life in Parkinson's disease: A systematic review. Nature NPJ Parkinsons Dis 13.

Tsunoyama K, Sakakibara R, Yamaguchi C, Uchiyama T, Yamamoto T, Yamanishi T, Takahashi O, Sugiyama M, Kishi M and Ogawa E (2011). Pathogenesis of reduced or increased bladder sensation. Neurourol Urodyn 30, 339-343.

Uchiyama T, Sakakibara R, Yamamoto T, Ito T, Yamaguchi C, Awa Y, Yanagisawa M, Higuchi Y, Sato Y, Ichikawa T, et al (2011). Urinary dysfunction in early and untreated Parkinson's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry 82, 1382-1386.

Ungerstedt U (1968). 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. Eur J Pharmacol 5, 107-110.

William Langston J, Ballard P, Tetrud J W, and Irwin I (1983). Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. Science 219, 979-980.

Yamada S, Chimoto J, Shiho M, Okura T, Morikawa K, Wakuda H, Shinozuka K (2021a). Possible Involvement of Muscarinic Receptor Blockade in Mirabegron Therapy for Patients with Overactive Bladder. J Pharmacol Exp Ther 2021 377, 201-206.

Yamada S, Chimoto J, Shiho M, Okura T, Morikawa K, Kagota S, Shinozuka K (2021b). Muscarinic receptor binding activity in rat tissues by vibegron and prediction of its receptor occupancy levels in the human bladder. Int J Urol 28, 1298-1303.

Yamaguchi O and Chapple C R (2007). β3-Adrenoceptors in urinary bladder. Neurourol Urodyn 26, 752-756.

Yamawaki M, Kusumi M, Kowa H, Nakashima K (2009). Changes in prevalence and incidence of Parkinson's disease in Japan during a quarter of a century. Neuroepidemiology 32, 263-269.

Yamazaki T, Maruyama I, (2019). Effects of the combination of vibegron and imidafenacin on bladder function in urethane-anesthetized rats. Eur J Pharmacol 1.

Yeo L, Singh R, Gundeti M, Barua J M and Masood J (2012). Urinary tract dysfunction in Parkinson's disease: A review. Int Urol Nephrol 44, 415-424.

Yoshida M, Kakizaki H, Takahashi S, Nagai S and Kurose T (2018a). Long-term safety and efficacy of the novel β3-adrenoreceptor agonist vibegron in Japanese patients with overactive bladder: A phase III prospective study. Int J Urol 25, 668-675.

Yoshida M, Takeda M, Gotoh M, Nagai S and Kurose T (2018b). Vibegron, a Novel Potent and Selective β3-Adrenoreceptor Agonist, for the Treatment of Patients with Overactive Bladder: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Phase 3 Study. Eur Urol 73, 783-790.

Yoshimura N, Yoshida O, Sasa M and Takaori S (1992). Dopamine D-1 receptor-mediated inhibition of micturition reflex by central dopamine from the substantia nigra. Neurourol Urodyn 11

Yoshimura N, Mizuta E, Kuno S, Sasa M and Yoshida O (1993). The dopamine D1 receptor agonist SKF 38393 suppresses detrusor hyperreflexia in the monkey with parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Neuropharmacology 32, 315-321.

Yoshimura N, Mizuta E, Yoshida O and Kuno S (1998). Therapeutic effects of dopamine D1/D2 receptor agonists on detrusor hyperreflexia in 1-methyl-4-phenyl-

1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned Parkinsonian cynomolgus monkeys. J Pharmacol Exp Ther 286, 228-233.

Yoshimura N, Kuno S, Chancellor M B, Groat W C and Seki S (2003). Dopaminergic mechanisms underlying bladder hyperactivity in rats with a unilateral 6-hydroxydopamine (6-OHDA) lesion of the nigrostriatal pathway. Br J Pharmacol 139, 1425-1432

Winge K, Werdelin LM, Nielsen KK, Stimpel H (2004). Effects of dopaminergic treatment on bladder function in Parkinson's disease. Neurourol Urodyn 23, 689-696

秋下雅弘, 荒井秀典, 荒井啓行, 石井伸弥, 岩﨑　鋼, 江頭正人, 大類　孝, 小島太郎, 鈴木裕介, 須藤紀子　他. （2015）高齢者の安全な薬物療法ガイドライン 2015. （東京都新宿区：メジカルビュー社）.

後藤浩志, 池田俊也, 武藤正樹（2019）保険薬局調剤データベースを用いたパーキンソン病患者における多剤服用の実態調査. 日本老年薬学会雑誌 2, 1-8.

永井将弘, 服部信孝（2020）新規パーキンソン病治療薬ラサギリンメシル酸塩（アジレクト®錠）の薬理学的特徴と臨床効果. 日本薬理学会誌 155, 198-194.

服部信孝ほか(2018)パーキンソン病診療ガイドライン(医学書院: 東京都)

本間之夫, 西沢 理, 山口 脩（2003）下部尿路機能に関する用語基準:国際禁制学会標準化部会報告. 日排尿機能会誌 14, 278 – 289.

吉村 直樹, 橘田 岳也, 嘉手川 豪心, 宮里 実, 清水 孝洋（2020）中枢神経系における排尿薬理機構の概説. 日薬理誌 155, 4-9.