

## 学 位 論 文 の 要 旨

学 位 の 種 類	博 士	氏 名	沼 田 篤
学 位 論 文 題 目			
Micturition-suppressing region in the periaqueductal gray of the mesencephalon of the cat (ネコ中脳中心灰白質の排尿抑制部位に関する検討)			
岩田 達哉, 井内 裕満, 谷口 成実, 北 雅史, 和田 直樹, 加藤 祐司, 柿崎 秀宏			
American Journal of Physiology, Regulatory, Integrated and Comparative Physiology 294; R1996-R2000, 2008			
研 究 目 的			
<p>近年, ネコや, ラットにおいて中脳の中心灰白質 (Periaqueductal gray; PAG) に興奮性アミノ酸を微量注入する化学的刺激や微小電気刺激によって, 膀胱の収縮を誘発することが確認されており, 中脳における排尿の調節機構の解明が進められている。中脳には循環, 呼吸, 発声, 疼痛, 防御反応, 性行動等の統合・調節部位があり, 排尿抑制部位の存在も予想された。また, 仙髄のニューロンは橋ではなく主に中脳に投射することが報告されている。さらに, ヒトのPETによる検討でも蓄尿時に中脳のPAGは脳血流が増加しており, 中脳に蓄尿を調節する部位が存在する可能性が示唆されている。われわれはヒトの排尿パターンに近いネコを用いて中脳の排尿抑制部位につき探索し, その伝達物質について検討した。</p>			
材 料 ・ 方 法			
1. 電気刺激実験			
成ネコをハロセン吸入麻酔下に気道を確保後, 開腹下に尿道を露出して経尿道的に8Fr double lumenカテーテルを膀胱に挿入し, 膀胱内圧をモニタリングした。腹部切開創より外尿道括約筋に			

ワイヤー電極を刺入し、筋電図を測定した。頭頂骨を除去し硬膜を切開して、中脳上丘で脳幹を切断し大脳を除去した。小脳を露出後、動物を脳定位固定装置に固定した。

麻酔から覚醒した後、膀胱内に15から20mlの生理食塩水を注入し、膀胱の自発的な律動収縮が生じるのを確認した。先端直径50  $\mu$  mの電極をstereotaxicに中脳に刺入して微少電気刺激を行った。刺激部位の同定には、直流通電による微少組織破壊を用いた。実験後脳幹を取り出し、ホルマリンで固定後40  $\mu$  mの連続切片として刺激部位を観察した。

## 2. 神経伝達物質の検討

中枢の抑制性神経伝達物質としてもっとも高濃度に存在するGABAについて検討した。微小電気刺激により中脳の排尿抑制部位を求めた後、先端のみ露出した絶縁ステンレス線を貼り合わせたガラス電極を小脳背側より刺入し、微小電気刺激で膀胱収縮を認める部位（橋排尿中枢 Pontine micturition center; PMC）を同定した。中脳の排尿抑制部位とPMCに同時電気刺激を加え、膀胱内圧の変化を測定した。また、GABA<sub>A</sub>阻害剤であるbicucullineをPMCに微量注入した後に、中脳抑制部位とPMCの同時電気刺激を行い、bicuculline注入前後の膀胱内圧の変化を観察した。電気刺激実験と同様に刺激部位を同定した。

## 成 績

### 1. 電気刺激実験

膀胱自発収縮は中脳中心灰白質の微小電気刺激により収縮圧が低下し、膀胱収縮は抑制された。同時に血圧の上昇が認められるが、刺激時に明らかな外尿道括約筋の増強は認められなかった。80  $\mu$  Aの刺激で排尿抑制部位の検索を開始し、刺激強度を変化させ閾値を検索した。40  $\mu$  Aで膀胱内圧の下降が認められたが、20  $\mu$  Aでは抑制効果が見られず、閾値は40  $\mu$  Aと考えられた。40  $\mu$  Aの刺激で膀胱内圧の下降が認められた部位を中脳排尿抑制部位とした。排尿抑制部位は吻側中脳のPAGの背外側に分布する傾向があった。

### 2. 神経伝達物質の検討

PMCの微小電気刺激により膀胱収縮が誘発され、中脳排尿抑制部位とPMCの同時電気刺激により膀胱収縮は完全に抑制された。PMCにbicucullineを注入した後に同時刺激を行うと、弱い膀胱収縮が再び出現した。

## 考 案

橋における排尿抑制部位についての報告はこれまでに散見されるが、今回検討した中脳の排尿抑制部位は、電気刺激にて外尿道括約筋活動の増強を認めなかつ

たことより、これまでの橋排尿抑制部位とは異なる抑制系路と考えられる。また、Taniguchiらの報告した中脳排尿誘発部位が主に尾側PAGの腹側に分布しているのに対し、排尿抑制部位は吻側PAGの背外側に分布しており、両者の局在が異なることが示された。

今回の研究では、中脳からの排尿抑制経路に関与する神経伝達物質についても検討した。GABAは中枢に広く分布する抑制性の神経伝達物質であり、PMCの周囲にもGABAの分布が確認されている。中脳排尿抑制部位とPMCを同時に電気刺激することにより膀胱収縮は完全に抑制されるが、GABA<sub>A</sub>阻害剤であるbicucullineをPMCに注入すると、膀胱収縮は一部回復した。このことより、GABAは中脳の排尿抑制部位からPMCへの抑制性の伝達物質の1つであることが示唆された。

今回の検討では、電気刺激により中脳排尿抑制部位を同定した。電気刺激は神経細胞体のみならず、通過している神経線維も刺激するため、今回の研究は神経線維の通過路のみ検討している可能性が懸念される。論文のデータには示していないが、神経細胞体の存在を確認するために、電気刺激にて排尿を抑制した部位にN-methyl-D-aspartate (NMDA) を注入し、化学的刺激により膀胱収縮が抑制されないかの検討も行っている。われわれは2匹のネコにおいて化学的刺激においても膀胱収縮が完全に抑制されたことから、PAGの排尿抑制部位には神経細胞体も存在すると考えている。

尿意切迫感、切迫性尿失禁を主症状とする過活動膀胱という疾患が存在する。過活動膀胱の病態として、膀胱の興奮性の昂進の機序が推測されているが、中脳に存在する排尿抑制部位の機能不全として理解することも可能であろう。過活動膀胱のある患者では尿意切迫感が生じてても排尿を抑制することが可能だが、他の患者では切迫性尿失禁を起こしてしまうことがある。このような過活動膀胱の症状の程度は、中脳排尿抑制部位の障害の程度と相関するのかもしれない。過活動膀胱の発生機序としての中脳の機能的障害、特に中脳排尿抑制部位の関与の様式を明らかにするためには、さらなる動物実験やヒトでの機能的脳画像の解析が必要である。

## 結 論

今回の検討では中脳吻側の中心灰白質背外側に電気刺激で膀胱収縮を抑制する部位が存在し、その部位は外尿道括約筋の活動には影響しないことが示唆された。また、神経伝達物質の検討では、中脳の排尿抑制部位からのPMCの抑制においてGABAが神経伝達物質の1つであることが示唆された。

## 引 用 文 献

1 ) Blok BF, De Weerd H and Holstege G. Ultrastructural evidence for a paucity of projections from the lumbosacral cord to the pontine micturition center or M-region in the cat: a new concept for the organization of the micturition reflex with the periaqueductal gray as central relay.

J Comp Neurol, 359: 300—309, 1995.

2 ) Matsuura S, Kakizaki H, Mitsui T, Shiga T, Tamaki N and Koyanagi T. Human brain region response to distention or cold stimulation of the bladder: a positron emission tomography study.

J Urol, 168: 2035—2039, 2002.

3 ) Holstege G, Griffiths D, de Wall H and Dalm E. Anatomical and physiological observations on supraspinal control of bladder and urethral sphincter muscles in the cat. J Comp Neurol, 250: 449—461, 1986.

## 参 考 论 文

1 ) Taniguchi N, Miyata M, Yachiku S, Kaneko S, Yamaguchi S and Numata A. A study of micturition inducing sites in the periaqueductal gray of the mesencephalon.

J Urol, 168: 1626—1631, 2002.

# 学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏名	沼田 篤
<u>審査委員長 田中 達也</u> <u>審査委員 高草木 薫</u> <u>審査委員 坂本 尚志</u> <u>審査委員 柿崎 秀宏</u>			
学位論文題目			
Micturition-suppressing region in the periaqueductal gray of the mesencephalon of the cat (ネコ中脳中心灰白質の排尿抑制部位に関する検討)			
<p>これまで橋には排尿中枢と排尿抑制部位があることが報告されているが、橋より上位の排尿に仕組みは不明であった。本論文は中脳排尿抑制部位を報告した数少ない論文の一つとしてAmerican Journal of Physiologyに既に掲載されている。</p> <p>本研究は、排尿がヒトに近いネコを用い、除脳することにより無麻酔の状態で行われた。まず、中脳を微小電気刺激し、吻側中脳の中心灰白質背外側に排尿を抑制する部位が存在し、この抑制部位は外尿道括約筋の活動性に影響しないことより、橋排尿抑制部位とは異なる抑制経路であることを明らかにしている。さらに、中脳排尿抑制部位と橋排尿中枢を同時に電気刺激し、中脳排尿抑制部位は橋排尿中枢から発生する排尿の開始を完全に抑制可能であることを明らかにしている。</p>			

さらに、中脳排尿抑制部位を電気刺激した時に橋排尿中枢の神経細胞に放出される抑制性神経伝達物質についても検討している。中脳排尿抑制部位と橋排尿中枢の同時電気刺激により膀胱収縮が完全に抑制されるが、橋排尿中枢に GABA-A の阻害剤であるビククリンを微量注入すると膀胱収縮が再開することを明らかにした。本研究は、このように排尿抑制部位に化学物質注入による抑制をかける特徴的な方法で、GABA が中脳排尿抑制部位から橋排尿中枢への抑制性の神経伝達物質であることを明らかにしている。

中脳には循環，呼吸，発声等の統合・調節部位が存在するが，この研究は，排尿に関しても中脳は統合的に調節する部位であることを示した独創的な研究である。この研究結果は，排尿に関係した中枢神経系の疾患の病態解明や，排尿を含めた自律神経系や体性神経系のより高次の神経機構の解明にも役立っていくものと考えられる。

なお、各審査委員より、本論文とその関連領域に関して試問が行われた結果、適切な回答が得られた。以上より、本論文を博士（医学）の学位論文に値するものと判定した。