

## 学位論文題名

## 排尿反射路の調節機構に関する研究

—代謝型グルタミン酸受容体による調節機構と  
下部尿路閉塞ラット排尿反射求心路の可塑性変化—

## 学位論文内容の要旨

排尿反射は膀胱の伸展刺激が中枢に伝達され、脳幹部橋排尿中枢の興奮が起こり、副交感神経（骨盤神経）の興奮を介する膀胱の収縮と体性神経の抑制を介する尿道の弛緩を起こすと考えられている。

これら下部尿路支配神経の調節機構を明らかにすることは、下部尿路機能障害の新たな治療の開発につながる可能性がある。前立腺肥大症に代表される下部尿路閉塞性疾患では、尿意切迫感や頻尿などを主症状とする過活動膀胱がしばしば合併し、この過活動膀胱の発生機序として、排尿反射路の機能的変化が関与することが想定されている。排尿神経機能の解明と下部尿路閉塞に伴う過活動膀胱の発生機序の解明を目的として、以下の2つの研究を行った。

**研究 I：ウレタン麻酔ラットにおける代謝型グルタミン酸受容体を介した排尿調節機構**

骨盤神経を介する膀胱伸展刺激の求心性神経伝達と橋排尿中枢より副交感神経核への遠心性神経伝達の両者において、腰仙髄に存在するイオンチャンネル型グルタミン酸受容体が主要な役割を果たしていることが知られているが、代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) が排尿反射にどのように関与するかは不明であった。そこで選択的 mGluR 作動薬である *trans*-(±)1-amino1,3-cyclopentanedicarboxylic acid (*trans*-ACPD) を腰仙髄レベルのクモ膜下に投与し、その効果を検討した。膀胱伸展により誘発される膀胱の律動性収縮は、*trans*-ACPD 3-10  $\mu$ g のクモ膜下投与により完全に抑制され、その抑制時間は容量依存性に延長した。また、膀胱の収縮に一致して起こる尿道内圧の低下と排尿促進効果を有する外尿道括約筋の高頻度な収縮—弛緩運動は *trans*-ACPD (10  $\mu$ g) 投与により消失した。さらに橋排尿中枢の電気刺激による膀胱の収縮圧も *trans*-ACPD (10  $\mu$ g) 投与により著明に低下した。以上の結果より代謝型グルタミン酸受容体は排尿反射に対し抑制性調節を行っているものと考えられた。また、その作用点は少なくとも橋排尿中枢から腰仙髄への遠心路にあることが示唆された。

**研究 II：下部尿路閉塞に伴う過活動膀胱の発生メカニズムに関する研究****(1) ラット下部尿路閉塞モデルの確立**

近位部尿道の周囲にポリエチレンチューブを巻き尿道の部分的閉塞を作製、6週後に膀胱内圧測定を行った。この処置により急性尿閉による死亡例もなく、また均一な下部尿路閉塞が作製可能であった。閉塞

ラットでは偽手術ラットと比較し、膀胱容量の増加と排尿圧の上昇がみられた。閉塞ラットでは、ヒトの排尿筋過活動に相当すると考えられる排尿を伴わない排尿筋収縮 (pre-micturition contraction) の出現が認められた。膀胱重量の有意な増加も認められた。これらの結果から、本研究で使用した尿道部分閉塞ラットが下部尿路閉塞に伴う特徴的な組織学的、機能的変化を有していることが確認された。

### (2) 下部尿路閉塞ラットでの過活動膀胱発生における膀胱求心性 C-fiber の機能的亢進に関する検討

下部尿路閉塞に合併する過活動膀胱の発生に膀胱求心性 C-fiber の機能的亢進が関与しているとの報告がある。本研究では capsaicin (CAPS) あるいは resiniferatoxin (RTX) の前治療により C-fiber を脱感作したラットを用いて下部尿路閉塞を作製し、自然排尿行動の観察と覚醒下膀胱内圧測定を行い、コントロールと比較検討した。その結果、CAPS 群あるいは RTX 群とコントロール群との間に自然排尿行動において明らかな違いはみられなかった。覚醒下膀胱内圧測定では、コントロールと比較し、CAPS 群では膀胱容量、排尿量、排尿閾値圧の有意な増加を認め、RTX 群においても統計的有意差はないものの同様の傾向であった。両群ともコントロールと比較し、最大排尿圧、排尿効率に差を認めず、また pre-micturition contraction の頻度と振幅にも差がみられなかった。

### (3) 下部尿路閉塞ラットにおける NMDA 型グルタミン酸受容体の慢性阻害効果の検討

イオンチャンネル型グルタミン酸受容体の一型である NMDA 型受容体は、強い侵害刺激後に生じる末梢神経から脊髄への入力亢進、いわゆる中枢性感作の形成と維持に関与することが報告されている。本研究では閉塞ラットと偽手術ラットそれぞれに NMDA 型受容体拮抗剤である MK-801 または生食を反復投与し、各群の覚醒下膀胱内圧測定の結果を比較検討した。NMDA 型受容体を慢性阻害するため、MK-801 1.0mg/kg を週 1 回筋注した。その結果、閉塞ラットでは MK-801 投与により膀胱容量、排尿量の有意な増加を認めたが、閉塞のない偽手術ラットにはこの作用を認めなかった。また MK-801 は閉塞、非閉塞ラットの最大排尿圧、排尿効率には影響せず、閉塞ラットに認められる pre-micturition contraction も MK-801 投与により変化を認めなかった。

### 結語

以上の結果より、ラットの排尿反射路においては、腰仙髄レベルに存在する代謝型グルタミン酸受容体を介した抑制性調節機構が存在することが明らかとなった。膀胱求心性 C-fiber は下部尿路閉塞に伴う排尿筋過活動の発生には関与しないことが示唆されたが、生理的な排尿反射と無関係と考えられていた膀胱求心性 C-fiber が下部尿路閉塞状態下では膀胱の圧や容量変化の情報伝達に関与していることが明らかになった。さらに下部尿路閉塞後の排尿反射求心路の可塑的变化に NMDA 型受容体が関与していることが明らかとなった。これらの結果から、下部尿路閉塞などの病的状態では排尿反射を制御する機構に変化が起これ、これが過活動膀胱などの病的状態を引き起こすことが示唆された。今後の研究により排尿反射路の調節機構をより詳細に解明していくことは、下部尿路疾患の新たな治療方法を探る上で重要な糸口をもたらすものと考えられる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 野々村 克 也  
副 査 教 授 吉 岡 充 弘  
副 査 教 授 渡 辺 雅 彦

学 位 論 文 題 名

## 排尿反射路の調節機構に関する研究

—代謝型グルタミン酸受容体による調節機構と  
下部尿路閉塞ラット排尿反射求心路の可塑性変化—

排尿反射は神経伝達の各段階において複雑な制御を受け、これらの制御機構は下部尿路機能を正常に維持する上で重要な働きをしている。排尿反射の調節機構を明らかにし、また病的状態における変化を解明することは、様々な疾患における下部尿路機能障害の病態究明や新たな治療方法の開発につながる可能性がある。

ウレタン麻酔ラットにおける代謝型グルタミン酸受容体を介した排尿調節機構の研究では選択的代謝型グルタミン酸受容体作動薬を用いて排尿反射に対する効果を検討した結果、腰仙髄に存在する代謝型グルタミン酸受容体は排尿反射に対し抑制性調節を行っていること、また、その作用点は少なくとも橋排尿中枢から腰仙髄への遠心路にあることが判明した。下部尿路閉塞に合併する膀胱機能の変化に排尿反射求心性路の機能的亢進が関与しているのか検討した実験では、カプサイシンあるいはレジニフェラトキシンの前治療により C-fiber を介した膀胱求心路の末梢性感作の形成を予防したラットと NMDA 型グルタミン酸受容体拮抗剤の反復投与により NMDA 型受容体を介した中枢性感作の形成を予防した条件において下部尿路閉塞ラットの膀胱機能を検討した。結果、これらの処置により膀胱容量や排尿閾値圧の有意な増加を認め、閉塞ラットにおいては膀胱求心路の末梢性及び中枢性感作が起こることが判明した。この結果は下部尿路閉塞に伴う過活動膀胱の発生に排尿反射求心性路の機能的亢進が関与していることを示唆するものであった。

質疑応答では副査の吉岡充弘教授から、等容量性膀胱収縮が連続して起こる機序と下部尿路閉塞ラットにおける膀胱機能の変化に膀胱求心性線維の C-fiber と A $\delta$ -fiber のどちらがより強く関与するのか質問があった。これらの質問に対し申請者は、膀胱内容量を等容量とした状態で膀胱を生食で充満することにより橋排尿中枢を介する排尿反射が繰り返し起こり、これにより周期的な膀胱収縮が起こる機序であること、また、過去の実験の報告から閉塞ラットにおいては NGF の分泌が増加すること、NGF により神経線維の興奮性増強が起こるが、NGF に対する感受性は C-fiber の方が高いことから、膀胱機能の変化には C-fiber の機能的亢進がより強く影響しているものと考えられると回答した。

次いで副査の渡辺雅彦教授から、代謝型グルタミン酸受容体による排尿反射路の抑制機構に関与するサブグループと、それに関連して抑制作用のメカニズムが抑制性シナプスの興奮を介したシナプス後性か、あるいはシナプス前性に伝達物質の放出を抑制した結果なのかに関する質問、また下部尿路閉塞ラットにおける排尿反射に対しカプサイシン投与と NMDA 型受容体拮抗剤投与の両者が同様の影響を与えた機序に関する質問があった。申請者は用いた代謝型グルタミン酸受容体作動薬が postsynaptic に存在する Group I 受容体と presynaptic に存在する Group II 受容体の両者に作用するが、作用強度から Group II のサブグループを介したものと考えられること、また未発表であるが代謝型グルタミン酸受容体拮抗剤を用いた実験では明らかな作用を認めなかったことから、非生理的にグルタミン酸のシナプス間隙への放出が亢進した状況においてのみこの抑制機構が働くと考えられることから、この抑制作用はやはり presynaptic に存在する Group II 受容体を介したものであること、またこの仮説をより明らかにするためにはサブグループ選択的薬剤を使用した検討が必要であると回答した。カプサイシン投与と NMDA 型受容体拮抗剤投与の両者が下部尿路機能へ同様の影響を与えた機序に関しては、NGF などの神経栄養因子が C-fiber の機能亢進を起し、一方、脊髄後角神経における NMDA 型グルタミン酸受容体の発現亢進とリン酸化による機能増強にも関与する可能性があり、これら末梢性及び中枢性の感作が神経栄養因子の過剰分泌に端を発した一連の現象と考えられ、今回の実験はこの一連の機序を異なる部分で抑制した結果であると回答した。

次いで主査の野々村克也教授から臨床的下部尿路閉塞疾患の治療に際し持続的な C-fiber の脱感作が望まれるが、有望な方法としてどの様なものが考えられるのか質問があった。申請者は、現時点で臨床応用されているカプサイシンあるいはレジニフェラトキシンの膀胱内注入による膀胱 C-fiber の脱感作誘導は一過性の刺激症状を起こすこと、有効期間に限られることから、今後はこれらの薬剤が作用するパニロイド受容体の拮抗剤が内服薬として開発されるとより副作用の少ない状況で C-fiber の持続的脱感作が誘導可能となるであろうと回答した。

この論文は、排尿反射の調節機構に関する新たな知見を示すものとして高く評価され、下部尿路機能異常に基づく疾患に対する新たな治療方法の開発へと発展することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判断した。