

学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	谷口 成実
<h3>学位論文題目</h3> <p>A STUDY OF MICTURITION INDUCING SITES IN THE PERIAQUEDUCTAL GRAY OF THE MESENCEPHALON (中脳中心灰白質における排尿誘発部位の検討)</p> <p>宮田 昌伸、八竹 直、金子茂男、山口 聡、沼田 篤</p> <p>THE JOURNAL OF UROLOGY VOL168, 1626-1631, October 2002</p> <h3>研究目的</h3> <p>微小刺激実験の研究から、中脳は主に中心灰白質で体性神経系ならびに自律神経系の特定の運動パターンを統合しているとされている。また、ニューロトレーサーを用いて、中脳中心灰白質と橋排尿中枢に線維連絡があることや、膀胱知覚などの仙髄からの上行する神経線維が中脳に多く投射する事が解明され、中脳が排尿調節に関与している可能性が示唆されている。これまでの研究では、橋の青斑核アルファーに排尿中枢があることが知られている。中脳と橋の排尿中枢の関係を明らかにするために、ネコに微小電気刺激法ならびに微量薬液注入法を用い、実際に中脳の刺激で排尿を誘発することができるかどうか、また、その誘発部位が、橋に注入したニューロトレーサーにより標識された神経細胞の分布と一致するかどうか検討した。</p> <h3>材料・方法</h3> <p>1. 電気刺激実験</p> <p>成ネコをハロタン吸入麻酔下に気道を確保後、尿道を露出し経尿道的に膀胱内に 6Fr カテーテルを挿入した。頭頂骨を除去後、硬膜を切開して中脳上丘前縁と乳頭体後縁を結ぶ面で脳幹を切断し大脳を除去した。小脳を露出後、脳定位固定装置に固定し、麻酔の覚醒を待ってから、先端直径 50 μm の電極を stereotaxic に中脳および橋に刺入して微小電気刺激を行なった。呼吸と血圧及び外尿道括約筋筋電図を同時測定。刺激部位の同定には、直流通電による微小组織破壊を用いた。実験後脳幹を取り出し、ホルマリンで固定後 30-50 μm の連続切片として刺激部位を観察。</p> <p>2. 化学的刺激実験</p> <p>微小電気刺激で反応のある部位に薬物を注入するため、先端のみ露出した絶縁ステンレス線を、先端径 50-100 μm の微量注入ガラス管に張り合わせた電極を使用した。興奮性アミノ酸である DL-ホモシス테인酸 (200mM, 0.2 μl) を注入し、膀胱収縮の誘発が細胞体の興奮によるものかどうか検討した。注入薬剤に色素の混入を行い、実験後脳幹を取り出し、ホルマリンで固定後 30-50 μm の連続切片として、刺激部位を同定した。</p>			

3. ニューロトレーサーを用いた検討

ネコを、ペントバルビタール麻酔下気道を確保後、大脳を露出し後頭葉を左右に圧排して小脳越しに電極を穿刺し、橋の排尿誘発部位を検索後、その部位に5%Fluoro-Gold $0.5\mu\text{l}$ を注入した。10時間以上生存させた後、左心室経由に4%パラフォルムアルデヒドで灌流固定し、脳幹を取り出して、 $30\text{--}50\mu\text{m}$ の凍結切片とし注入部位の確認と標識された神経細胞を蛍光顕微鏡で観察した。

成 績

1. 微小電気刺激実験

電気刺激により、中脳の中心灰白質の腹外側に前後に連なって膀胱収縮を認める部位が認められた。膀胱内圧の上昇と外尿道括約筋の筋電図の減弱といった協調運動が認められた。さらに、膀胱収縮に伴って血圧の上昇が認められた。刺激の強度を変えていくと、中心灰白質では膀胱収縮を生じる閾値よりも低い刺激で血圧上昇の反応が認められた。橋排尿中枢では、電気刺激で膀胱内圧の収縮及び括約筋の減弱と血圧の上昇を認めたが、血圧上昇よりも膀胱収縮の閾値が低かった。

2. 化学的刺激実験

微小電気刺激で、膀胱収縮および血圧の上昇した部位に、DL-ホモシステイン酸を微量注入すると膀胱の収縮と同時に強い血圧の上昇が認められた部位が存在した。橋の青斑核では、同様に膀胱収縮と血圧の上昇を認めたが、膀胱収縮の反応が強い傾向を示した。

3. ニューロトレーサーを用いた検討

蛍光顕微鏡で確認すると、Fluoro-Goldの注入部位は、青斑核複合体を含んでいた。また、中脳中心灰白質の腹外側に多くの標識細胞を認めた。また、橋への注入は片側であったにも関わらず、中心灰白質の両側に同程度に神経細胞が標識された。また、対側の青斑核複合体も標識細胞が認められた。

考 察

刺激実験やニューロトレーサーによる実験で、橋の青斑核アルファーに排尿関係する中枢が存在することが明らかにされている。近年中脳の中心灰白質に、発声を起す部位、瞳孔を散大させ血圧が上昇し尾が直立するといった防御姿勢を生じる部位の存在が報告されていて、ここに交感神経系、副交感神経系、体性神経系の神経細胞体がモザイク状に混在して、まとまった特定の運動パターンを統合して制御しているとされている。また、ネコのニューロトレーサーを用いた実験で、仙髄領域から上行する神経の終末が、橋よりも中脳の中心灰白質に多く存在することや、中心灰白質から橋排尿中枢にも神経線維の連絡があることを証明され、中脳が排尿に関わっていることが示めされた。排尿行動も複数の神経系が協調して生じるので、中脳の刺激で排尿を引き起こすことができるかどうか、また他の自律神経系に動きがないかということにも注目して実験を行った。微小電気刺激実験の結果としては、中脳中心灰白質の腹外側で膀胱収縮と同時に括約筋筋電図の減弱が認められ、排尿筋と括約筋の協調運動が確認できた。しかし、電気刺激では、神経細胞体のみならず、通過線維を刺激しても反応が生じる欠点がある。Goodchildは、グルタミン受容体が中枢神経に広く分布することを利用して、興奮性アミノ酸の微量注入で反応があれば、注入部位には神経細胞体あるいは樹状突起が存在することを報告した。化学的刺激で排尿反射があった中心灰白質の腹外側は、

排尿に関係する神経細胞体が存在することを示している。

さらには、中脳の刺激で膀胱内圧の上昇と同時に血圧も上昇することが明らかになった。中脳の刺激によって引き起こされる情動的行動として血圧の上昇をきたすことが知られており、情動的な反応が血圧や排尿に影響をおよぼすことが考えられる。橋排尿中枢でも同様の反応が認められたが、中脳の血圧上昇の反応は膀胱内圧の変化よりも弱い刺激で生じたのに対し、橋では逆に膀胱の収縮の閾値が低い傾向を示した。部位による反応の出現の違いは、排尿や血圧の微妙な調節に関係していると考えられる。

ニューロトレーサーとして使用した Fluoro-Gold は、神経終末から逆行性に軸索輸送され紫外線で黄白色に励起される蛍光色素剤である。中心灰白質の腹外側の辺縁に多数の標識される細胞が認められ、刺激実験で排尿を誘発できた部位とほぼ一致した。橋排尿中枢に注入された Fluoro-Gold が神経終末から取り込まれて逆行し、中心灰白質に細胞体が標識されたので、ここに存在する神経細胞が橋排尿中枢に線維を送っていることがいえる。また、片側の橋の排尿誘発部位に注入した Fluoro-Gold が、両側の中脳中心灰白質辺縁及び対側の青班核複合体にも認められたことより、中脳中心灰白質から橋排尿中枢に同側にも対側にも線維を送っていること、橋排尿中枢同士も線維の連絡があることが明らかになった。

このような研究は、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な神経機構の解明に役立っていくものと考えられる。

結 語

中脳中心灰白質腹外側辺縁の微小電気刺激および化学的刺激により排尿が誘発できることより、この部位に排尿を誘発する神経の細胞体が存在することが示唆された。また、刺激実験で、膀胱収縮と同時に血圧の上昇が認められ、排尿以外の自律神経の動きも生じることがわかった。さらに、橋排尿中枢に注入したニューロトレーサーにより逆行性に標識された神経細胞体の分布が、刺激実験の分布とほぼ一致した。中心灰白質の腹外側に排尿に関連した神経細胞が存在し、両側の橋排尿中枢に神経線維を送っていることが明らかになった。




引用文献

- 1) Block, B. F., De Weerd, H. and Holstege, G.:
Ultrastructural evidence for a paucity of projections from the lumbosacral cord to the pontine micturition center of M-region in the cat : a new concept for the organization of the micturition reflex with the periaqueductal gray as central relay
J Comparative Neurology, 359:300-309, 1995
- 2) Goodchild, A. K., Dampney, R. A. and Bandler, R.:
A method for evoking physiology responses by stimulation of cell bodies, but not axons of passage, within localized regions of the central nervous system.
J Neuroscience Methods, 6:351, 1982
- 3) 宮田昌伸、森 茂美、黒田一秀
排尿における仙髄および橋の機能的役割に関する研究
日本泌尿器科学会誌 75:826-835, 1984

参考論文

- 1) Miyata M, Mizunaga M, Taniguchi N, Kaneko S, Yachiku S, Atsuta Y.
Neuropathic bladder dysfunction in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament.
Int J Urol, 5:540-545, 1998
- 2) 宮田昌伸、谷口成実
脳幹の下部尿路神経機構
排尿障害プラクティス 4:276-283, 1996
- 3) 谷口成実、岡村廉晴、金子茂男、徳中荘平、八竹 直
高齢者の痴呆、日常生活動作及び膀胱機能の検討
泌尿紀要, 39:1-5, 1993

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	谷 口 成 実
審査委員長 坂 本 尚 志 			
審査委員 八 竹 直 			
審査委員 吉 田 成 孝 			
学 位 論 文 題 目			
A study of micturition inducing sites in the periaqueductal gray of the mesencephalon. (中脳中心灰白質における排尿誘発部位の検討)			
<p>本論文は中脳中心灰白質に排尿運動中枢が存在することを明らかにしようと試みた論文である。</p> <p>これまで脳幹の橋には排尿運動中枢が存在し、微小電気刺激や微小化学刺激により排尿運動が誘発されることが知られていた。また、仙髄排尿中枢や大脳皮質への標識物質注入による神経線維連絡の解析から、排尿運動に関するさらに上位の中枢として中脳が推測されていた。そこで本論文は、中脳に加えた微小電気刺激および微小化学刺激による排尿運動誘発部位の検索を行ない、さらにその部位と橋排尿運動中枢との神経線維連絡を明らかにしようと試みている。</p>			

実験には、中脳の前縁で脳幹を離断した無麻酔除脳ネコを用い、排尿運動の他、血圧、呼吸等自律神経反応を指標に解析している。また、橋排尿運動中枢に逆行性標識物質を注入し、標識された細胞の部位と刺激効果の認められた部位を対応させて、神経線維連絡を解析している。

得られた結果は明らかで、微小電気刺激および微小化学刺激により自律神経反応を伴った排尿誘発部位は、中脳中心灰白質腹外側部に局限しており、その部位は橋排尿中枢に注入した標識物質により標識された部位と一致していた。

このことは、中脳中心灰白質に、排尿運動中枢が存在することを示しており、自律神経反応を伴った統合された排尿運動を発現する、より上位の排尿運動中枢であることが推測される。中脳中心灰白質は情動運動の発現に統合的作用を果たしていることが知られている。排尿運動も情動など高次の脳機能により影響されることが知られており、本論文により、高次中枢による排尿運動制御機構の解析および中枢性排尿障害の病態の解析など、今後これらの領域の進歩に資するところが大きいと思われる。

なお、論文提出者に対する本論文の内容、関連領域に関する試問に対し、適切な回答が得られ、学力も十分と考えられた。以上より、本論文は博士の学位論文に値すると判定された。