

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 20 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791489

研究課題名（和文）正常とパーキンソン病の高位排尿中枢の神経活動と神経伝達物質-脳深部刺激療法の効果

研究課題名（英文）The effect of subthalamic nucleus deep brain stimulation (STN-DBS) on the neuronal activity and the neurotransmitter in higher micturition centre

研究代表者

山本 達也 (YAMAMOTO TATSUYA)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：50375755

研究成果の概要（和文）：2009, 2010 年度は正常ラットに対し視床下核脳深部刺激 (STN-DBS) を行い、排尿反射が抑制されること、視床下核神経活動は 20Hz 付近でのパワーが上昇することを示した。線条体カテコラミンは刺激前後で有意な変化を認めなかった。2010, 2011 年度はパーキンソン病モデルラットを作成し、同様の実験を行った。STN-DBS により排尿反射が抑制され、視床下核神経活動は全周波数帯でパワーが減少した。線条体カテコラミンは刺激後に DOPAC が有意に低下した。STN-DBS の効果は正常とパーキンソン病モデルラットで異なることを示した。

研究成果の概要（英文）：We initially investigated the effect of subthalamic nucleus deep brain stimulation (STN-DBS) on the micturition reflex, local field potential in the STN, and the levels of catecholamine in the striatum, respectively. STN-DBS significantly inhibit the micturition reflex and increase the power in the α frequency (around 20Hz) in STN. Dopamine metabolites (DOPAC and HVA) in the striatum were slightly increased by STN-DBS without statistically significance. In the next, we generated Parkinson's disease model rat (PD rat) by stereotaxically injecting 6-OHDA into the medial forebrain bundle in normal rat. STN-DBS significantly inhibited micturition reflex in some PD rats and the power in the α frequency in STN. Striatal DOPAC was significantly decreased by STN-DBS.

This study showed that the effect of STN-DBS was different between normal and PD model rat, which might be important in examining the physiological mechanisms of STN-DBS.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：泌尿器科学

1. 研究開始当初の背景

排尿反射は脊髄—脊髄反射（蓄尿期）および脊髄—脳幹—脊髄反射（排出期）で生じるが、脳幹より高位に排尿中枢が存在し、臨床的に大脳・大脳基底核病変で排尿障害が生じることが明らかになっており、また近年のヒトにおける機能的脳画像を用いた検討で大脳・大脳基底核の様々な部位が排尿に関わっていることが明らかになっている（J Comp Neurol 2005）。しかし、各々の高位排尿中枢の神経活動や神経伝達物質と排尿反射との関係については明らかになっていない。

以前我々は、ヒトの大脳や脳幹の脳血管障害（Sakakibara R et al, J Neurol Sci 1996）、黒質線条体ドパミン神経の変性で生じるパーキンソン病（Sakakibara R et al, J Neurol Neurosurg Psychiatry 2001）、大脳基底核や脳幹など広範な領域の変性を有する多系統萎縮症（Yamamoto T et al, Mov Disord 2008, in press）、大脳・大脳基底核に変性を有するレビー小体型痴呆、大脳皮質基底核変性症でも排尿障害が生じることを示し、排尿障害の病変部位として、脳幹より高位の各中枢が関与していることを臨床的検討で示した。

また我々は、正常ネコを用いて大脳基底核の線条体の一部でドパミン濃度が蓄尿期に有意に上昇していることをマイクロダイアリシス法を用いて示し（Yamamoto T et al, Neuroscience 2005）、排尿反射と神経伝達物質のドパミンとの関係を明らかにした。

また電気生理学的手法を用いて、黒質、線条体、更にパーキンソン病の脳深部刺激療法の刺激部位である視床下核の電気刺激で排尿反射が抑制され、同部位に膀胱内圧と同期して発火するニューロンが存在し、膀胱収縮に対して抑制的に作用するニューロンが多いことを示した（Sakakibara R et al, Auton neurosci 2002, Sakakibara R et al, Neuroscience 2003, Yamamoto T et al, 37th Annual Meeting of the International Continence Society 2007）。

その他、傍中脳水道灰白質（Liu Z et al, Neuroscience 2004）や縫線核（Ito T et al, Neuroscience 2006）にも排尿関連ニューロンが存在することを示した。薬理的検討も行い、ドパミン D1 受容体アゴニストの静脈内投与により膀胱収縮が抑制され、膀胱収縮期における線条体ニューロン活動が有意に増大していることを示し（山本 他、第 15 回日本排尿機能学会）、パーキンソン病の蓄尿障害の治療薬として有効である可能性などを示し、脳幹以上の様々な部位が排尿に関わっ

ていることを電気生理学的に示してきた。

代表的な神経変性疾患であるパーキンソン病は運動症状だけでなく、排尿症状も呈することが知られている。近年パーキンソン病に対して行われている視床下核の Deep Brain Stimulation（脳深部刺激療法：DBS）が運動症状だけでなく排尿症状も変化させることが報告されている（Brain 2006）。このことから、視床下核 DBS が高位排尿中枢の活動を変化させて、排尿障害に変化を及ぼすことが予想される。しかし、正常と比較してパーキンソン病で高位排尿中枢の神経活動や神経伝達物質がどのような病的変化をきたしているのかは明らかでない。また、視床下核の DBS（STN-DBS）が高位排尿中枢の神経活動や神経伝達物質をどのように変化させて排尿症状に変化を起こしうるかについても明らかでない。これまでの動物実験の結果から大脳基底核には排尿反射と関連して活動するニューロンが存在することが分かっており、STN-DBS により大脳基底核の神経活動・神経伝達物質が変化することで排尿障害が改善することが推察される。

2. 研究の目的

本研究ではパーキンソン病患者に施行される STN-DBS により、大脳基底核における高位排尿中枢と考えられている視床下核や線条体の神経活動、神経伝達物質がどのように変化し、また排尿反射にどのような影響を与えるのか検討することを目的とする。

また、正常ラット、パーキンソン病モデルラットの各々に STN-DBS を施行し、高位排尿中枢の神経活動・神経伝達物質や排尿反射への影響が正常モデルとパーキンソン病モデルでどのように違うのかを検討することで、STN-DBS の治療メカニズムの解明を目指す。

3. 研究の方法

1) 正常雌ラット 10 頭を用いて、ウレタン麻醉下に挿管・呼吸器を装着、CO2 モニター・動静脈カテーテル・膀胱カテーテル・外括約筋筋電図電極を装着する。次にシリンジポンプを用いて膀胱内に一定量の生理食塩水を持続的に注入し、等量性排尿反射を誘発する。ラットを定位脳固定装置（Narishige）に固定し単一神経活動電位測定用電極（タングステン電極）を視床下核に刺入する。視床下核に存在する排尿関連ニューロンの神経活動を細胞外記録用 AC アンプ（DAGAN 2400A）を用いて記録する。視床下核の神経活動と膀胱内圧を同時に測定する。さらに、STN-DBS を施

行し、刺激前・後で視床下核神経活動がどのように変化するかをスペクトラム解析により検討し排尿反射との関係を調べる。また線条体に透析用プローブを刺入し、マイクロダイアリシス法を用いて細胞外液を採取する。細胞外液採取はSTN-DBSの刺激前・刺激中・刺激後の各々で施行する。その後高速液体クロマトグラフィー法(エイコム HTEC-500)を用いて蓄尿期と排出期の各々で神経伝達物質(ノルエピネフリン、ドパミン、セロトニン、アセチルコリン、グルタミン酸)を測定し、排尿に関連して変化する神経伝達物質を同定し、さらにSTN-DBSとの関連を調べる。

2) 正常雌ラットの内側前脳束に

6-hydroxydopamine (6-OHDA) を注入しパーキンソン病モデルラットを作製する。作成1カ月後にアポモルフィン腹腔内投与を行い回転運動が認められたものをパーキンソン病モデルラットとする。このパーキンソン病モデルラット10頭を用いて、ウレタン麻酔下に挿管・呼吸器を装着、CO2モニター・動静脈カテーテル・膀胱カテーテル・外括約筋電図電極を装着する。次にシリンジポンプを用いて膀胱内に一定量の生理食塩水を持続的に注入し、等量性排尿反射を誘発する。ラットを定位脳固定装置(Narishige)に固定し単一神経活動電位測定用電極(タングステン電極)を視床下核に刺入する。視床下核に存在する排尿関連ニューロンの神経活動を細胞外記録用ACアンプ(DAGAN 2400A)を用いて記録する。視床下核の神経活動と膀胱内圧を同時に測定する。さらに、STN-DBSを施行し、刺激前・後で視床下核神経活動がどのように変化するかをスペクトラム解析により検討し排尿反射との関係を調べる。

また線条体に透析用プローブを刺入し、マイクロダイアリシス法を用いて細胞外液を採取する。細胞外液採取はSTN-DBSの刺激前・刺激中・刺激後の各々で施行する。その後高速液体クロマトグラフィー法(エイコム HTEC-500)を用いて蓄尿期と排出期の各々で神経伝達物質(ノルエピネフリン、ドパミン、セロトニン、アセチルコリン、グルタミン酸)を測定し、排尿に関連して変化する神経伝達物質を同定し、さらにSTN-DBSとの関連を調べる。

4. 研究成果

正常ラット

視床下核脳深部刺激(STN-DBS)を行い、刺激前後での高位排尿中枢の一部である視床下核の神経活動、線条体カテコラミン濃度、排尿反射への影響を検討した。STN-DBSにより排尿反射が抑制された。視床下核神経活動

はスペクトラム解析により20Hz付近でのパワーが7.17(a.u)から7.29(a.u)に有意に上昇することを示した。線条体カテコラミンについては、刺激後にドパミン代謝物のHVA、セロトニン代謝物の5-HIAAがそれぞれ基礎値と比較し130%上昇し、ドパミンやドパミン代謝物のDOPACがそれぞれ77.5%、86.5%に低下したが統計学的な有意差は認めなかった。

パーキンソン病モデルラット

STN-DBSにより一部のパーキンソン病モデルラットで排尿反射が抑制された。視床下核神経活動は正常ラットと異なり、ほぼ全周波数帯でパワーが減少し、20Hz付近では6.87(a.u)から6.31(a.u)に有意に低下することを示した。線条体カテコラミンは刺激後にドパミン代謝物のDOPAC基礎値と比較し39.5%に有意に低下した。HVAは刺激中・刺激後ともに基礎値より低い値であったが有意差は認めなかった。ドパミンは刺激中に基礎値の258%まで上昇し刺激後に41.6%まで低下したが有意差はなかった。セロトニンやセロトニン代謝物の5HIAAも刺激による有意な変化は認めなかった。

STN-DBSは進行期パーキンソン病患者に広く行われている治療法だが、効果は正常とパーキンソン病モデルラットで異なることがわかり、今後の治療メカニズムを考えるうえで重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T et al. Pelvic organ dysfunction is more prevalent and severe in MSA-P compared to Parkinson's disease. *NeuroUrol Urodyn.* 30(1):102-107, 2011 査読有り
- ② Yamamoto T, Sakakibara R, Nakazawa K et al. Neuronal activities of forebrain structures with respect to bladder contraction in cats. *Neurosci Lett.* 473:42-47. 2011 査読有り
- ③ 山本達也 神経障害の部位と排尿障害
山本達也 臨床検査 2011;54:731-738
査読なし
- ④ Yamamoto T, Uchiyama T, Takahashi H et al. B cell aplasia and hypogammaglobulinemia after carbamazepine treatment. *Intern Med* 49:707-8. 2010 査読有り

- ⑤ Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T et al. Questionnaire-based assessment of pelvic organ dysfunction in multiple system atrophy. *Mov Disord.* 24:972-978. 2009 査読有り
- ⑥ Yamamoto T, Sakakibara R, Nakazawa K et al. Effects of electrical stimulation of the striatum on bladder activity in cats. *Neurourol Urodyn.*;28:549-54. 2009 査読有り

[学会発表] (計 10 件)

- ① 山本達也、内山智之、柳澤充 他、多系統萎縮症における排尿障害の経時的変化-尿流動態検査による検討 2011. 10. 27-28 第 64 回日本自律神経学会総会、秋田
- ② Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T et al. Receiver operating characteristics (ROC) analysis of external sphincter electromyography for differentiating multiple system atrophy from other parkinsonian syndrome. The 41st Annual meeting of International Continence Society, 2011. 8. 29-9. 2, Glasgow, UK
- ③ Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T et al. Receiver operating characteristics (ROC) analysis of external sphincter electromyography for differentiating multiple system atrophy from other parkinsonian syndrome. The 15th International Congress of Parkinson's disease and Movement disorders, 2011. 6. 5-9, Toronto, Canada
- ④ 山本達也、内山智之、柳澤充 他、多系統萎縮症の鑑別における外肛門括約筋電図の有用性 2011. 5. 18-20 第 52 回日本神経学会学術大会 名古屋
- ⑤ 山本達也、内山智之、阿波裕輔 他 外肛門括約筋電図で神経原性変化を呈する神経疾患 2010. 10. 7-9 第 4 回 パーキンソン病・運動障害疾患コンgres、京都
- ⑥ Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T et al. What kinds of the neurological disorder show neurogenic change in external anal sphincter EMG? The 40th Annual meeting of International

Continence Society, 2010. 8. 23-8. 27, Toronto, Canada

- ⑦ 山本達也、内山智之、阿波裕輔 他 外肛門括約筋電図で神経原性変化を呈する神経疾患 2010. 5. 20-22 第 51 回日本神経学会学術大会、東京
- ⑧ Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T et al. Examination of pelvic organ dysfunction is helpful in diagnosis of Parkinson syndrome. The 39th Annual meeting of International Continence Society, 2009, 9. 29-10. 3, San Francisco, USA
- ⑨ Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T et al. Dopamine D1 agonist inhibit the bladder contraction and change the activity of striatal bladder relaxation phase related neuron in cats. 6th Congress of The International Society for Autonomic Neuroscience, 2009, 9. 1-9. 4, Sydney, Australia
- ⑩ 山本達也、内山智之、阿波裕輔 他 MSA-P と PD における骨盤臓器障害の差異 2009. 5. 20-22 第 50 回日本神経学会学術大会、仙台

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 達也 (YAMAMOTO TATSUYA)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：50375755