

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月15日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791735

研究課題名（和文）前部帯状回の排尿コントロールにおける役割の検討

研究課題名（英文）Functional role of anterior cingulate gyrus in the control of micturition reflex

研究代表者

橘田 岳也 (KITTA TAKEYA)

北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号：40374441

研究成果の概要（和文）：前部帯状回は排尿反射における重要な役割を果たしていることが動物実験やヒトに対する機能的脳画像で確認されているが、その詳細なメカニズムは不明であった。今回我々はラットを用いて神経伝達物質（グルタミン酸、セロトニン、ドーパミン）が排尿に関して変化することを確認した。さらに過活動膀胱等の排尿状態の異常によってこの変化も同様に変化する。さらに、薬理的な治療によってこの変化が正常化することが確認された。本結果の発展は創薬への糸口となりうると信じている。

研究成果の概要（英文）：The micturition reflex is controlled by a complex hierarchy of the central nervous system. Additionally, anterior cingulate gyrus (ACG) neurons could have an important role in micturition control based on animal physiological and human functional neuroimaging studies. Extracellular levels of glutamate, serotonin, and dopamine were analyzed by high-performance liquid chromatography. Glutamate and dopamine levels significantly increased during micturition reflex induced by saline infusion, whereas serotonin levels did not change in ACG. When acetic acid was infused (cystitis status), marked increases in glutamate levels were observed. Serotonin levels also significantly increased in such overactive bladder rat model. ACG is a higher brain region that sends its projection to the pontine micturition center, which is a key brain region controlling the micturition reflex.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,400,000	720,000	3,120,000

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：前部帯状回、排尿障害、ラット、神経伝達物質、創薬

1. 研究開始当初の背景

下部尿路の機能とは、蓄尿と排尿を交互に繰り返すことであるが、正常な下部尿路では蓄尿期には膀胱排尿筋の弛緩と尿道括約筋の収縮が持続することによって十分な量の尿をためることが可能である。一方排尿期は尿道括約筋の弛緩に続いて膀胱排尿筋が収縮することによって尿が排出される。これらの下部尿路機能において、遠心性または求心

性神経のシグナル伝達は、腰仙髄の下位排尿中枢を介して中脳水道周囲灰白質を含んだ上位排尿中枢との間の反射経路で行われ、一連の排尿・蓄尿反射が生じる。一方、大脳皮質にいたる中脳水道周囲灰白質よりさらに上位の神経路が、この排尿・蓄尿反射に興奮性または抑制性の調節を行っていることを報告してきた (Matsuura et al., 2002, Kitto et al., 2006)。これらの下部尿路機能におけ

る中枢神経による調節は、様々な神経伝達物質を介して行われているが、膀胱炎やパーキンソン病などの病態モデルでは、中脳水道周囲灰白質への神経によるシグナル伝達に変化する可能性が示唆されている (Kitta et al., 2002, 2008)。これらの点について、当教室ではラットを用いた基礎研究や PET を用いたヒトでの研究でその一部を明らかにしてきた。近年のヒトによる脳機能画像の進歩は著しく、中脳水道周囲灰白質より上位の働きについても解明が進んでいる。前頭前野皮質・補足運動野・橋・小脳などがこの調節に関与することが示されているが、そのヒエラルキーや薬理学的機能については不明なままである。排尿障害を持つ患者さんの脳に直接侵襲を加えることは不可能なため、現時点では診断モダリティの進歩がすなわち脳内の機能解明の律速段階となっているといわざるを得ない。

過去に前部帯状回における神経伝達物質がどのように下部尿路機能に関与しているのか明らかにした報告はない。また、臨床における過活動膀胱や前立腺肥大症などの下部尿路閉塞などの病態においても中枢神経系における神経機能の再構築が起これと考えられているが、そのメカニズムに前部帯状回が関与する可能性はヒトの機能的 MRI で示されている。しかしその詳細については明らかになっていないのが現状である。そこで、上位排尿中枢内における前部帯状回の役割について検討することを目的とした。

2. 研究の目的

はじめに電気生理学的手技を用いて前部帯状回刺激に伴う排尿反射の変化を確認する。この実験により前部帯状回の排尿コントロールに対する機能を確認することが可能である。次の段階として膀胱内に尿を充満させるかあるいは骨盤神経の刺激によって引き起こす排尿反射の際に変化すると予想される前部帯状回における神経伝達物質をマイクロダイアリス法を用いてリアルタイムに測定する。さらに、本測定モデルが確立した後は上位中枢における障害による排尿障害モデルであるパーキンソン病ラットや下部尿路閉塞・酢酸刺激頻尿モデルを用いて同様の検討を行う。これにより、障害時の前部帯状回の機能的役割が明らかになることが期待される。これらの研究によって将来的には下部尿路機能障害に対する中枢神経を標的とした新しい治療薬の開発に役立つものと考えられる。そのためマイクロダイアリスの結果を踏まえて、神経伝達物質に関わる刺激薬や遮断薬を投与することによって、下部尿路機能にどのような変化をもたらすのかについても尿流動態検査を用いて検討を行う。

3. 研究の方法

本研究は排尿コントロールにおける、特に脳内メカニズムの解明を目的として、電気生理学的・神経薬理学的アプローチで追求する。この際、排尿の生理的活動を同時測定をするために常に膀胱内圧もモニタリングする。また、脳内において重要な役割を担っているグルタミン酸、GABA、セロトニン、ドーパミンをはじめとする神経伝達物質のリアルタイムな変化にも同時に着目し、次の段階の治療戦略の礎とする。

(1) 脳内電極・カニューレの挿入および留置、膀胱カテーテル挿入
実験には雄性ラットを使用し、麻酔下に Paxinos & Watson の脳図譜に従い脳定位固定装置を用いて前部帯状回、及び排尿において中枢的役割を担う中脳水道灰白質に透析用ガイドカニューレを挿入する。ガイドカニューレを頭蓋骨に固定した後、腹部正中切開を行い、膀胱を露出しポリエチレンカテーテルを膀胱内に挿入する。カテーテルは皮下を通して頸部より体外へ出し背側部で固定しておく (図1)。



(2) 膀胱内圧測定
膀胱へ挿入したポリエチレンカテーテルにシリンジポンプを接続して持続的に排尿反射を起こすことで膀胱内圧を測定する。カテーテルはT字管を通して圧トランスジューサーへ導入して圧をモニターした。排尿反射を確認するとき以外は解放して、排尿反射が起こらないようにする。膀胱機能評価のために排尿を伴う膀胱収縮の間隔および最大排尿圧を測定する。

(3) マイクロダイアリス法
無麻酔・無拘束で透析用プローブを挿入し、リンゲル液を $2 \mu\text{L}/\text{min}$ の流速で2-3時間灌流し、安定した基準値が確認された後にサンプリングを開始する。セロトニン、ドーパミン濃度の測定は電気化学検出器付高速液

体クロマトグラフィ (HPLC-ECD) を用いて行い、グルタミン酸、GABA 濃度はプレラベル誘導化法により o-pathaldehyde (OPA) と反応させた後、HPLC-蛍光光度法により測定する

実験終了後、ペントバルビツールを過量投与してから灌流固定を行い、ガイドカニューレの先端が前部帯状回あるいは PAG にあることを確認できた個体のデータのみ採用する。

4. 研究成果

我々は主に2つのアプローチをラットに対して行った。1つ目は電気生理学的アプローチであるが、前部帯状回(頻尿状態に対する)防衛的機構として働いている可能性が高いことが確認された。すなわち電気的な刺激によって排尿障害時に前部帯状回の活動を刺激によってサポートすることで、排尿障害が改善することを確認した。直接的な介入はヒトにおいて未だ困難であるが、今後は中動物への適応を行い将来的には外来的にヒトに対する前部帯状回の刺激療法を目指している。本結果は米国泌尿器科学会を始め複数の学会で報告した(学会発表2, 5, 6)。2つ目は、薬理学的アプローチである。我々のグループで確立したラットにおける覚醒下での前部帯状回における神経伝達物質の測定を施行中であるが、少なくとも神経伝達物質の種類(グルタミン酸、セロトニン、ドーパミン)によってはその動態が異なることを示唆する結果を得ている(図2)(学会発表1, 3, 4)。

図2

前部帯状回における神経伝達物質の変化



これは先の前部帯状回の詳細な電気生理学的検討にて得られた部位に対して行っている。しかしながら、本実験系においてラットは覚醒下による検討であるため、行動学的に異常な際には相反する神経伝達物質の動きを得ることもあり未だ結論には達していない。今後さらなる検討によってこの変化を突き止め、さらには排尿障害時における変化を正常に戻すような薬理学的治療の確立を目

指している。本結果の発展は創薬への糸口となりうると信じている。

今後の展望

高齢化社会の進我が国では、今後血管性やアルツハイマー型痴呆患者の増加することが予想されており、対応した薬剤の開発が世界的にも進んでおり、様々な薬剤の上梓が予定されている。これら薬剤は多くの場合排尿障害に関しては十分な説明が行われて異なる事が多いのが現状である。これら薬剤の上位中枢に対する作用も本実験系を用いての検討を予定している。さらに、我々のグループが過去に作成してきた下部尿路閉塞モデル(高齢男性の前立腺肥大症に相当)、パーキンソン病モデルにおける神経伝達物質の変化を測定し、疾患によって上位中枢がどのように変化するかを確認する。この結果から変化のある神経伝達物質の拮抗薬を投与することで、排尿障害が改善するかについても同時に測定する予定である。

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3件)

1. Suppression of bladder overactivity by adenosine A2A receptor antagonist in a rat model of Parkinson disease. Kitta T, Chancellor MB, de Groat WC, Kuno S, Nonomura K, Yoshimura N. J Urol. 2012;187(5):1890-7. 査読有
2. 尿流動態検査-尿流動態検査の概要- 橘田岳也、泌尿器ケア、冬刊、2012:279-84、査読無
3. ラット排尿機能におけるアデノシン受容体サブタイプの役割 橘田岳也、排尿障害プラクティス、2012:39-45、査読無

[学会発表] (計6件)

1. 37th International Urogynaecology Association meeting, 2012/09/06, Convention Center (Australia), "Pressure flow study using a temporary vaginal pessary can predict the lower urinary tract function after pelvic organ prolapse surgery" Takeya Kitta, Hiroshi Tanaka, Takahiko Mitsui, Yukiko Kanno, Kimihiko Moriya, Katsuya Nonomura
2. Nagoya Shinshu Forum 2012, 2012/09/01, 名古屋マリオットアソシアホテル(名古屋), "Differences between moving and

voiding disorder in Parkinson's disease: a new concept of the neural circuitry” Takeya Kitta, Takahiko Mitsui, Yukiko Kanno, Kimihiko Moriya, Hiroki Chiba, Katsuya Nonomura, Naoki Yoshimura

3. 第19回日本排尿機能学会、2012/08/31、名古屋国際会議場(名古屋)、過活動膀胱の中樞神経メカニズム、橘田岳也
4. 第19回日本排尿機能学会、2012/08/30、名古屋国際会議場(名古屋)、前部帯状回の排尿コントロールにおける役割の検討、橘田岳也、三井貴彦、菅野由岐子、千葉博基、守屋仁彦、田中博、野々村克也
5. 107th AUA2012, 2012/05/19, Georgia World Congress Center(USA), “Functional role of anterior cingulate gyrus in the control of micturition reflex in rats” Takeya Kitta, Hiroshi Tanaka, Takahiko Mitsui, Yukiko Kanno, Kimihiko Moriya, Katsuya Nonomura, Naoki Yoshimura
6. 27th EAU2012, 2012/02/27, Le Paris des Congres de Paris(France), “Differential effects of micturition/nociceptive reflex on the neurotransmitter regulation of the periaqueductal gray (PAG) between anesthetized and awake rats” Takeya Kitta, Machiko Matsumoto, Hiroshi Tanaka, Takahiko Mitsui, Mitsuhiro Yoshioka, Hiroko Togashi, Katsuya Nonomura

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橘田 岳也 (KITTA TAKEYA)
北海道大学・北海道大学病院・助教
研究者番号：40374441

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし