

## 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 6 月 3 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791771

研究課題名（和文） 皮膚寒冷刺激はいかにして尿意切迫感を誘発するか-新規膀胱支配知覚神経回路の探求-

研究課題名（英文） Investigation for novel nerve circuit related to urinary urgency in cold environmental stimulation.

研究代表者

高田 麻沙（TAKADA MASA）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：60468254

研究成果の概要（和文）：

膀胱機能と皮膚知覚刺激との関連を示唆する事象として、シャワーを浴びた瞬間や、冷水で手を洗ったときなど、周囲環境の急な温度の低下や皮膚刺激によって尿意切迫感や尿失禁を生ずることが経験的に知られており、これらは過活動膀胱の病態の一つと考えられる。また、脊髄損傷患者の大腿部から陰部にかけての皮膚領域に刺激を加えると排尿を誘発することが trigger voiding として知られ、脊髄損傷患者の排尿の補助として利用される場合がある。一方、皮膚と内臓の相互作用の例として鍼灸治療が知られており、尿・便失禁、間質性膀胱炎、夜尿症の治療に応用されている。このように皮膚刺激は膀胱知覚および膀胱収縮と密接に関係しているにもかかわらず、そのメカニズムは不明であった。

私たちは、ラットを用いて、膀胱と皮膚に逆行性神経トレーサーを投与し、知覚神経回路の詳細を検討した。その結果、膀胱と皮膚に同時に軸索を投射する二分岐軸索の存在を証明した。これは、皮膚の知覚と、膀胱の知覚の一部は一次知覚神経レベルで回路が混線し、中枢に至った際に膀胱知覚と皮膚知覚が混同される可能性があることを示す物と考えられた。さらに、この二分岐軸索を投射している神経細胞体の特徴を探るため、in situ hybridization 法を用いた検討を行った。その結果、同神経細胞体の一部に寒冷刺激受容体の候補として知られる TRPM8 の発現が確認された。以上の知見より、寒冷刺激により尿意切迫感が誘発される原因の一つとして、皮膚で受容された寒冷刺激の一部が中枢神経に至る過程で膀胱知覚刺激と混同され認識される可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

Cold sensation occasionally evokes urinary urgency. Earlier studies in rats have reported the marked hyperactivity of the detrusor muscle owing to cold stress. There may be a solid link between the temperature reception of the skin and the bladder response. Bladder contraction can be provoked by manual stimulation of certain areas within sacral and lumbar dermatomes in patients with spinal cord injury; such trigger voiding also suggests close interactions between these organs.

To reveal the mechanism of urinary urgency evoked by cold sensation, we investigated the convergence of the primary sensory afferents of the skin and bladder. Dichotomizing afferents of L6-S1 dorsal root ganglion neurons that innervate the skin and bladder was

constantly observed with retrograde neuron tracers in rats. In-situ hybridization revealed that approximately 8.0% of the double-labeled cells expressed transient receptor potential channel melastatin member 8 (TRPM8) transcripts in the dorsal root ganglions. Cold and menthol stimuli to the skin generated bladder nerve responses conducted through dichotomizing axons. Taken together, TRPM8-expressing sensory neurons with dichotomizing axons projecting to the skin and bladder may be responsible for the urinary urgency evoked by cold sensation.

#### 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	3,100,000	930,000	4,030,000

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：過活動膀胱、神経回路、尿意切迫感、後根神経節、一次知覚感覚神経線維、二分岐軸索、逆行性神経トレーサー

#### 1. 研究開始当初の背景

内臓知覚と体性知覚を混同して認識するメカニズムとして、関連痛という概念がある。一例として心筋梗塞や狭心症で左肩・左上腕部痛を同時に認知することなどがよく知られている。この機構は、それぞれ末梢の一次知覚神経線維が、脳に至るどの部分で内臓からの知覚神経回路と体性知覚神経回路が混同されるかによって、4つの仮説(① 軸索反射説;一つの一次知覚神経が複数の臓器に軸索を延ばす、② 収束投射説;複数の知覚神経が一つの二次知覚神経に投射する、③ 収束促通説;一つの一次知覚神経が他臓器を支配する一次知覚神経にシグナルを送る、④ Supraspinal interaction; 脊髄より上位で感覚経路が混線する)が提唱されている。そこで私たちは、これら関連痛の概念に類似したメカニズムによって、皮膚刺激が尿意を誘発するという現象を説明できるのではないかと推察した。

この仮説を支持する報告として、一つの神経細胞体が複数の軸索を延ばしているという事実や、多臓器を同時に支配する知覚神経の存在を証明する過去の報告として、ラット・マウスの膀胱・遠位結腸を同時に支配する一次知覚神経の存在を証明するものや、膀胱と子宮を同時に支配する一次知覚神経の存在を証明する研究があり、膀胱における

上記軸索反射説の可能性を支持する結果となっている。また、過去の報告で、ラットの膀胱・前立腺で炎症が起こると、後角の腰髄 L6 から仙髄 S1 にかけて炎症マーカーである c-fos が発現し、同時に腰髄 L6 から仙髄 S1 にかけての皮膚領域に Evans Blue 色素が滲出するという報告があり、同部位への関連痛の存在を強く示唆する結論を導き出したものがある。このように、知覚神経には一般に知られているような一対一の対応のみではなく、一対多数の対応や、臓器間の相互作用をもたらす機構が存在することが知られている。

#### 2. 研究の目的

以上の背景より、皮膚知覚と膀胱知覚の関係について、これまでに存在の知られていない新規の神経回路が存在するかを検証することを目的とした。本研究においては、前記の仮説の一つである軸索反射説に相当する回路の同定のため、逆行性神経トレーサーをもちいた検討を行った。具体的には、主に膀胱の知覚に関連することが知られている L6 から S1 にかけての皮膚分節において検証することにより、皮膚知覚が尿意を誘発する可能性を探求し、過活動膀胱の病態の一因を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

膀胱を支配する知覚神経および皮膚を支配する知覚神経の神経終末に、それぞれ異なる蛍光を持った逆行性神経トレーサーを注入することによって、後根神経節まで神経の走行を追跡し、知覚神経回路の詳細を検討する。知覚神経は後根神経節に一次知覚神経の細胞体を持つことから、標識後に後根神経節を観察することによって、皮膚・膀胱を支配する知覚神経の特徴を明らかにする。具体的には、脊髄レベルの同定や、細胞体の直径の分布を明らかにする。また、皮膚を支配する知覚神経および膀胱を支配する知覚神経を同時に逆行性に標識し、二重染色を行うことによって、両知覚神経回路の位置関係を理解する。

実験動物として、雄性 S-D ラットを使用した。逆行性神経トレーサーを使用して、膀胱を支配する知覚神経および皮膚を支配する神経をそれぞれ標識し、後根神経節のレベルでの知覚の詳細を検討した。皮膚分節の L6-S1 領域である陰嚢上部全周へ、青色の蛍光を持つ神経トレーサー Fast Blue を使用、膀胱へコレラ毒素 B サブユニットと赤色光の蛍光物質である Alexafluor を結合した逆行性神経トレーサーをそれぞれ投与し、膀胱と皮膚それぞれの知覚神経を二十票指揮した。1 週間の生存期間をおいた後に、深麻酔下に 4%パラホルムアルデヒドにより環流固定。後根神経節を回収し、30%ショ糖によるクライオプロテクションを行い、凍結切片を作成し、蛍光顕微鏡で観察を行った。同じ切片を用いて、神経細胞体が発現している遺伝子の同定のため、RI-in situ hybridization を施行した。寒冷刺激受容体の候補遺伝子である TRPM8 を検出することを目的に TRPM8 に特異的な 971 塩基対からなるプローブを作成し使用した (495-1465; Gen Bank / EBI Data Bank accession number EDL92094)。上記プローブを用いて In situ hybridization を行った後、逆行性神経トレーサーを用いた二重染色によって得られた画像との重ね合わせ画像を作成し、神経のプロパティについて検討を行った。

### 4. 研究成果

膀胱と皮膚に同時に軸索を投射する二分岐軸索の存在を証明した。これは、皮膚の知覚と、膀胱の知覚の一部は一次知覚神経レベルで回路が混線し、中枢に至った際に膀胱知覚と皮膚知覚が混同される可能性があることを示す物と考えられた。さらに、この二分岐軸索を投射している神経細胞体の特徴を探るため、in situ hybridization 法を用いた検討を行った。その結果、同神経細胞体の一部に寒冷刺激受容体の候補として知られる TRPM8 の発現が確認された。以上の知見より、寒冷刺激により尿意切迫感が誘発される原因の一つとして、皮膚で受容された寒冷刺激の一部が中枢神経に至る過程で膀胱知覚刺激と混同され認識される可能性が示された。

### 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 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 窪田 泰江、濱川 隆、井村 誠、早瀬 麻沙、柴田 泰宏、佐々木 昌一、飯田 啓太郎、廣瀬 泰彦、林 祐太郎、郡 健二郎、日比野 充伸  
過活動膀胱に対するミラベグロンの有用性・安全性の検討  
第 62 回日本泌尿器科学会中部総会  
2012. 11. 1-3  
富山市
- ② Imura Makoto, Sasaki Shoichi, Hamakawa Takashi, Shibata Yasuhiro, Hayase Masa, Kubota Yasue, Kojima Yoshiyuki, Kohri Kenjiro  
Regulation of cell proliferation through a KIT-mediated mechanism in benign prostatic hyperplasia  
Nagoya Shinshu Forum  
2012. 8. 31-9. 1  
名古屋市
- ③ 井村 誠、佐々木 昌一、窪田 泰江、濱川 隆、柴田 泰宏、早瀬 麻沙、小島 祥敬、郡 健二郎  
KIT 陽性間質細胞による前立腺の自動収

縮作用

第 19 回日本排尿機能学会

2012. 8. 29-9. 1

名古屋市

- ④ 柴田 泰宏、佐々木 昌一、窪田 泰江、  
濱川 隆、早瀬 麻沙、井村 誠、小島 祥  
敬、郡 健二郎

前立腺肥大症の誘因物質としての GDNF  
の可能性

第 19 回日本排尿機能学会

2012. 8. 29-9. 1

名古屋市

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高田 麻沙 (TAKADA MASA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研  
究員

研究者番号：6 0 4 6 8 2 5 4