

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462505

研究課題名(和文) 排尿障害における前頭前野皮質の役割の解明

研究課題名(英文) The role of prefrontal cortex for controlling the micturition reflex

研究代表者

橘田 岳也 (Kitta, Takeya)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：40374441

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々はラットを用いて、排尿中、前頭前野皮質におけるセロトニン濃度は有意に上昇することを確認した。これは、逆に前頭前野皮質のセロトニンを増加させることによって、排尿反射の抑制が確認され、逆にセロトニンを減少させることによって、排尿反射の促進を確認できた。すなわち、蓄尿時において前頭前野皮質のセロトニン上昇は中脳水道周囲灰白質を直接的あるいは間接的に抑制し、その結果排尿反射の抑制を起こす。過活動膀胱の患者の脳では前頭前野皮質の機能低下が示唆されているが、本研究の結果よりセロトニン濃度の減少し排尿反射の亢進をきたしている可能性がある事が確認された。本結果は、今後の排尿障害の創薬に有用な情報である。

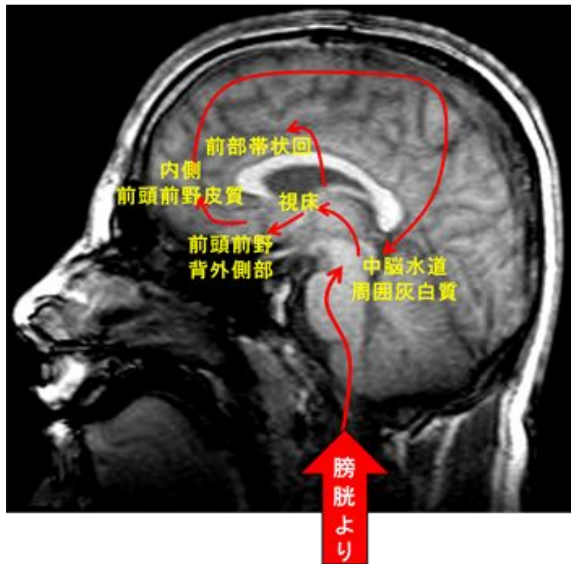
研究成果の概要(英文)：Microdialysis in the prefrontal cortex (PFC) and cystometrography (CMG) were performed under consciousness. Experiment 1: Extracellular neurotransmitters were collected by microdialysis. At the same time, CMG were performed to measure intercontraction interval (ICI) and maximum voiding pressure (MVP). Experiment 2: SSRI was administered into the PFC. Experiment 3: Following SSRI administration, 5-HT1A agonist, which has the effect of decreasing the level of serotonin (5-HT) in the PFC, was administered into the PFC. Ex. 1: Extracellular level of 5-HT in the PFC significantly increased during micturition reflex, whereas levels of glutamate or dopamine were not significantly changed. Ex. 2: The 5-HT level increased. It also significantly increased ICI, whereas no significant change was found in MVP. Ex. 3: The 5-HT decreased, thereby ICI significantly decreased. The results suggest that the PFC has a suppressive effect on neural control of the micturition reflex via serotonin.

研究分野：泌尿器科・排尿生理学

キーワード：排尿反射 脳 神経伝達物質 セロトニン

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で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及び膀胱排尿筋が収縮することで尿が排出される。この下部尿路機能において、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る(下図)。



一方、大脳皮質にいたる中脳水道周囲灰白質より上位の神経路が、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ヒトに対する機能的脳画像を用いて報告してきた (Matsuura et al.,2002, Kitta 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・前部帯状回・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未だ十分に解明されていない。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、現在我々のグループではラットを用いて、これら上位の部位がどのように下部尿路機能に関与しているのかの一部を報告し、昨年度の欧州泌尿器科学会においては、ベストポスターとして表彰された(2012/02/24、パリ)。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において神経機能の再構築が起こると考えられているが、そのメカニズムに前頭前野皮質が関与する可能性がヒトの機能的 MRI で示されている [Griffiths et al.,2007, Komesu et al.,2011]。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、特に上位排尿中枢内における前頭前野皮質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

排尿障害における前頭前野皮質の役割の解明

我が国は世界で最初に超高齢化社会となった。排尿障害は加齢に伴い罹患率が増加し、QOL(生活の質)を著しく低下させる。そのため、排尿メカニズムの解明は重要な課題である。今回我々は近年のヒトの脳機能画像から排尿障害をもつ患者において、異常活動が指摘されている前頭前野皮質を中心とした脳内核に注目する。ラットを用いることで、ヒトに対して施行不可能な電気生理学的、神経薬理学的アプローチによって調節的役割を明らかにすることを目的とする。

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するため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頭前野皮質、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。本手術は平成23年度の科学研究費で購入した脳定位装置を用いることで2点の同時挿入が可能となっている。

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部で固定しておく。

(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

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) マイクロダイアリシス法

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 μ L/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。

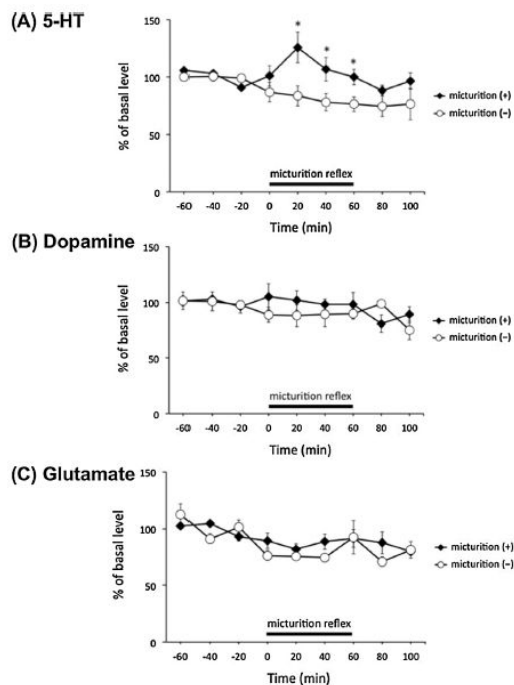
実験終了後、ペントバルビツールを過量投与してから灌流固定を行い、ガイドカニューレの先端が前頭前野皮質あるいは中脳水道灰白質にあることを確認できた個体のデータのみ採用する。

4. 研究成果

今回の結果において、世界で初めて確認できた内容は、排尿反射中の前頭前野皮質におけるセロトニン濃度は、コントロール群と比較し有意に上昇することである。グルタミン酸、ドーパミンについては有意な変化は観察できなかった(下図)。

さらに、セロトニン選択的阻害剤の前頭前野皮質局所投与にて、前頭前野皮質におけるセロトニン濃度は、基準値の約500-600%まで上昇した。それに伴い膀胱内圧測定では、排尿間隔の延長が見られた。一方、排尿時膀胱内圧に有意な変化は見られなかった。

以上の結果から、排尿反射とセロトニン濃度の関係を裏付けるために、セロトニン受容体の agonist 局所投与によりセロトニン濃度を減少させて、排尿反射の変化を確認したところ、排尿間隔の短縮がみられた。



以上の結果は、蓄尿時において前頭前野皮質のセロトニン上昇は中脳水道周囲灰白質を直接的あるいは間接的に抑制し、その結果排尿反射の抑制を起こす。過活動膀胱の患者の脳では前頭前野皮質の機能低下が示唆されているが、本研究の結果よりセロトニン濃度の減少し排尿反射の亢進をきたしている可能性がある事が確認された。以上の結果は国際学会において発表し、論文としてすでにアクセプトされた。

さらに、過活動膀胱や前立腺肥大症などの下部尿路閉塞において神経機能の再構築が起こると考えられているため、ラットにおける実験モデルに対して本手法を用いて、前頭前野皮質の神経伝達物質が正常とは変化しているかを検討中である。

また、セロトニンには、セロトニンはサブタイプが豊富に存在するため、どのサブタイプが重要であるかを検討するために、各種の拮抗薬を局所に直接投与することで、サブタイプ別の作用メカニズムを解明した。結果として、セロトニンはセロトニン 2A 受容体及びセロトニン7受容体では全く相反する反応を来していることが確認された。これは、生体内において、排尿反射の亢進と抑制という相反するメカニズムが内包することによって過度のドライブがかからないような安全弁の一つ考えることも可能である。

・今後の研究の推進方策

セロトニンのサブタイプの検討が進行中であるが、脳内におけるセロトニンの役割における検討は排尿に関しては非常に少なく、その至適容量の設定が課題であると考えられる。現在は複数の容量設定を行っているが、

時間とコストがかかることが予想される。また、本研究の目的に病態モデルにおける変化の確認もあるため、セロトニンサブタイプの検討をどこまで行うかを、進捗結果を確認しながら検討する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. The role of serotonergic mechanism in the rat prefrontal cortex for controlling the micturition reflex: an in vivo microdialysis study.
Chiba H, Mitsui T, Kitta T, Ohmura Y, Moriya K, Kanno Y, Yoshioka M, Shinohara N. *Neurourol Urodyn*. 2015 Jul 30. doi: 10.1002/nau.22843. [Epub ahead of print] (査読有)
2. Brain-bladder control network: the unsolved 21st century urological mystery.
Kitta T, Mitsui T, Kanno Y, Chiba H, Moriya K, Shinohara N.
Int J Urol. 2015 Apr;22(4):342-8.
(査読有)
3. 橘田岳也、篠原信雄: 過活動膀胱 - この未知なる病態 *Urology Today* 22:41-9, 2015 (査読有)

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 橘田岳也: 第 65 回日本泌尿器科学会中部総会, 高齢者の OAB 治療について ~ 最近の知見を含めて ~, 長良川国際会議場 (岐阜県長良), 2015/10/24
2. Chiba H, "The role of serotonergic mechanism in the rat prefrontal cortex for controlling the micturition reflex: an in vivo microdialysis study" 45th Annual meeting of the International Continence Society, Montreal (Canada), 2015/10/08
3. 橘田岳也: シンポジウム: 専門医による BPH 薬物治療: 薬物併用療法の適応と選択 -PDE5 阻害剤-, 第 103 回日本泌尿器科学会総会, ANA クラウンプラザホテル金沢 (石川県金沢市), 2015/04/19

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

三井 貴彦 (MITSUI TAKAHIKO)
山梨大学・総合研究部・講師
研究者番号: 90421966