

学 位 論 文 題 名

Afferent fibers of the hypogastric nerves are involved  
in the facilitating effects of chemical bladder irritation in rats

(ラット膀胱における化学的刺激後の排尿反射亢進に  
下腹神経求心性神経線維が関与する)

学位論文内容の要旨

自律神経は下部尿路機能の調節に重要な役割を果たしている。骨盤神経内の副交感神経は膀胱伸展による膀胱収縮反射を誘発し、下腹神経 (HGN) は遠心性交感神経線維として蓄尿期における膀胱平滑筋の弛緩および膀胱頸部の収縮に関与する。一方、高度の頻尿、膀胱部痛、尿意切迫感を呈する間質性膀胱炎や慢性膀胱炎などの Urogenital Pain Syndrome には、膀胱の求心性神経の活動亢進が関与しており、特に C 線維の脱感作が治療の 1 つとして臨床応用されている。膀胱求心路として骨盤神経が重要であることは広く知られているが、膀胱求心路における HGN の詳細な機能は不明である。そこで膀胱求心路における HGN の機能的評価を目的として、HGN 切除ラットを用いて、膀胱への化学的刺激後の Voiding behavior および覚醒下膀胱内圧測定 (CMG) を検討するとともに、脊髄において痛覚伝達の機能的マーカーである c-fos 蛋白 (Fos) の発現について検討した。

【方法】

雌 Wistar 系ラット (体重 150-200g) を用い、以下の 3 つの実験を行なった。

【Voiding Behavior】(1) コントロール群 (n=7)、(2) HGN 切除群 (n=7) の 2 群に対して、まず排尿状態を観察するために、metabolic cage 内にラットを入れ、コンピューターを用いて一定時間 (3 時間) における排尿回数、排尿量を計測した (PM10:00-AM1:00)。その 3 日後に、エーテル麻酔下で尿道よりポリエチレンカテーテル (PE-50) を挿入した後に、0.5% 酢酸を膀胱内に注入した。20 分後、酢酸を十分に洗い流し、麻酔が完全に醒めた状態で、同一時間帯における排尿回数、排尿量を計測した。

【覚醒下 CMG】膀胱頂部よりポリエチレンカテーテル (PE-60) を挿入した 1 週間後に、ラットをボールマンケイジに入れ、覚醒下 CMG を以下の 3 群で行なった：(1) コントロール群 (n=7)、(2) カプサイシン脱感作群 (n=6)、(3) HGN 切除群 (n=8)。カプサイシン脱感作群は、実験 4 日前にカプサイシン 75mg/kg を皮下投与して作成した。覚醒下 CMG は 0.1 ml/min の速度でまず生理食塩水を、続いて 0.1% 酢酸を持続的に膀胱内に注入し、膀胱内圧を測定した。排尿反射が安定した段階で、排尿間隔 (ICI) と排尿時最大膀胱内圧 (MVP) について比較検討した。

【脊髄 Fos の発現】ウレタン麻酔 (1.2g/kg、腹腔内投与) を行なった後に、膀胱頂部より 23 G 針を挿入し、生理食塩水または 1% 酢酸を以下の 3 群に対し 0.12 ml/in の速度で 2 時間膀胱内に持続注入した：

(1) HGN 非切除生理食塩水注入群 (n=3)、(2) HGN 非切除 1%酢酸注入群 (n=3)、(3) HGN 切除 1%酢酸注入群 (n=3)。 脊髄における Fos の発現は免疫組織学的手法により検討した。

Fos 発現細胞は骨盤神経が投射する脊髄 L6 レベルと HGN が投射する L1 レベルにおいて、次の 3 領域に分類して光学顕微鏡下でカウントした：dorsal horn (DH), dorsal commissure (DCM), intermediolateral gray matter (ILG)。

## 【結果】

**【Voiding Behavior】** 観察した 3 時間における全排尿量は、酢酸注入前後ともコントロール群、HGN 切除群間に有意差は認められなかった。両群とも酢酸注入後に排尿回数の増加がみられたが、その増加の程度は HGN 切除群に比べコントロール群で有意に強かった。1 回排尿量はコントロール群で酢酸注入後有意に減少しているのに対し、HGN 切除群では酢酸注入前後で有意差は認められなかった。

**【覚醒下 CMG】** コントロール群では生食注入時に比べ酢酸注入時には ICI の有意な低下と MVP の有意な上昇がみられ、酢酸による膀胱刺激症状が認められた。カプサイシン脱感作群、HGN 切除群とも生食注入時の ICI、MVP はコントロール群と比べて有意な変化は認められなかった。カプサイシン脱感作群では酢酸注入後も ICI の低下と MVP の上昇は認められなかった。HGN 切除群では酢酸注入後は MVP の有意な上昇はみられたものの、ICI の低下は認められなかった。

**【脊髄 Fos の発現】 [L6 level]** 酢酸注入群では HGN の切除の有無に関係なく、DH, DCM, ILG のすべてにおいて生食注入群に比べて Fos 発現細胞数の有意な増加がみられた。[L1 level] DCM と ILG では Fos 発現細胞数は 3 群間で有意差は見られなかった。DH における Fos 発現細胞数は、生理食塩水注入群に比べ酢酸注入群で有意な増加がみられたが、HGN 切除群では HGN 非切除群より Fos 発現細胞数は有意に少なく、この HGN 切除による Fos 発現の抑制は特に lamina I で認められた。

## 【考察・結論】

Voiding behavior および CMG の実験では、通常の排尿反射は HGN 切除により影響を受けないこと、酢酸注入による排尿間隔の減少が HGN 切除により軽減されることが示された。この結果から、酢酸注入後の膀胱刺激症状の 1 つとしての頻尿の発現には HGN が関与することが示唆された。また C 線維を脱感作する作用のあるカプサイシン前処置により膀胱刺激症状の発現が抑制されたことから、膀胱への酢酸注入はカプサイシン感受性神経を介して膀胱刺激症状を引き起こすと考えられた。一方、酢酸注入後の脊髄における Fos 発現の上昇は、HGN 切除により L1 レベルの dorsal horn でのみ抑制され、仙髄排尿中枢が存在する L6 レベルでは HGN 切除の影響がなかったことから、HGN を介する膀胱求心路の情報は L1 レベルを通過して上位排尿中枢に伝達されると考えられた。

以上より、HGN を介する膀胱求心路は膀胱の化学的刺激によって引き起こされる頻尿に関与することが示唆された。膀胱への化学的刺激は、HGN に含まれるカプサイシン感受性求心性神経を介し L1 レベルの dorsal horn を通って上位排尿中枢に伝達され、排尿反射の亢進をもたらすと考えられた。

今後、HGN を介した膀胱求心路の上位中枢における投射部位、神経伝達機構の解明を進めることにより、Urogenital Pain Syndrome に対する新しい治療法が展開されることを期待したい。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 田 代 邦 雄

副 査 教 授 小 柳 知 彦

副 査 教 授 吉 岡 充 弘

## 学 位 論 文 題 名

### Afferent fibers of the hypogastric nerves are involved in the facilitating effects of chemical bladder irritation in rats

(ラット膀胱における化学的刺激後の排尿反射亢進に  
下腹神経求心性神経線維が関与する)

膀胱求心路として骨盤神経が重要であることは広く知られているが、膀胱求心路における下腹(HGN)の詳細な機能は不明である。そこで膀胱求心路における HGN の機能的評価を目的として、HGN 切除ラットを用いて、膀胱への化学的刺激後の Voiding behavior および覚醒下膀胱内圧測定(CMG)を検討するとともに、脊髄において痛覚伝達の機能的マーカーである c-fos 蛋白(Fos)の発現について検討した。

雌 Wistar 系ラット (体重 150-200g) を用い、以下の 3 つの実験を行なった。

まず、Voiding Behavior の実験では、(1) コントロール群 (n=7)、(2) HGN 切除群 (n=7) の 2 群に対して、まず排尿状態を観察するために、metabolic cage 内にラットを入れ、コンピューターを用いて一定時間 (3 時間) における排尿回数、排尿量を計測した (PM10:00-AM1:00)。その 3 日後に、エーテル麻酔下で尿道よりポリエチレンカテーテル(PE-50)を挿入した後に、0.5%酢酸を膀胱内に注入した。20 分後、酢酸を十分に洗い流し、麻酔が完全に醒めた状態で、同一時間帯における排尿回数、排尿量を計測した。

次に、覚醒下 CMG の実験では、膀胱頂部よりポリエチレンカテーテル(PE-60)を挿入した 1 週間後に、ラットをボールマンケージに入れ、覚醒下 CMG を以下の 3 群で行なった：(1) コントロール群 (n=7)、(2) カプサイシン脱感作群 (n=6)、(3) HGN 切除群 (n=8)。カプサイシン脱感作群は、実験 4 日前にカプサイシン 75mg/kg を皮下投与して作成した。覚醒下 CMG は 0.1 ml/min の速度でまず生理食塩水を、続いて 0.1%酢酸を持続的に膀胱内に注入し、膀胱内圧を測定した。排尿反射が安定した段階で、排尿間隔(ICI)と排尿時最大膀胱内圧(MVP)について比較検討した。

脊髄 Fos の発現の実験では、ウレタン麻酔 (1.2g/kg、腹腔内投与)を行なった後に、膀胱頂部より 23 G 針を挿入し、生理食塩水または 1%酢酸を以下の 3 群に対し 0.12 ml/in の速度で 2 時間膀胱内に持続注入した：(1) HGN 非切除生理食塩水注入群 (n=3)、(2) HGN 非切除 1%酢酸注

入群 (n=3)、(3) HGN 切除 1%酢酸注入群 (n=3)。脊髄における Fos の発現は免疫組織学的手法により検討した。Fos 発現細胞は骨盤神経が投射する脊髄 L6 レベルと HGN が投射する L1 レベルにおいて、次の 3 領域に分類して光学顕微鏡下でカウントした：dorsal horn (DH), dorsal commissure (DCM), intermediolateral gray matter (ILG)。

まず、Voiding Behavior の実験では、観察した 3 時間における全排尿量は、酢酸注入前後ともコントロール群、HGN 切除群間に有意差は認められなかった。両群とも酢酸注入後に排尿回数の増加がみられたが、その増加の程度は HGN 切除群に比べコントロール群で有意に強かった。1 回排尿量はコントロール群で酢酸注入後有意に減少しているのに対し、HGN 切除群では酢酸注入前後で有意差は認められなかった。

次に、覚醒下 CMG の実験では、コントロール群では生食注入時に比べ酢酸注入時には ICI の有意な低下と MVP の有意な上昇がみられ、酢酸による膀胱刺激症状が認められた。カプサイシン脱感作群、HGN 切除群とも生食注入時の ICI、MVP はコントロール群と比べて有意な変化は認められなかった。カプサイシン脱感作群では酢酸注入後も ICI の低下と MVP の上昇は認められなかった。HGN 切除群では酢酸注入後は MVP の有意な上昇はみられたものの、ICI の低下は認められなかった。

脊髄 Fos の発現の実験では、L6 level において、酢酸注入群では HGN の切除の有無に関係なく、DH, DCM, ILG のすべてにおいて生食注入群に比べて Fos 発現細胞数の有意な増加がみられた。L1 level では、DCM と ILG では Fos 発現細胞数は 3 群間で有意差は見られなかった。DH における Fos 発現細胞数は、生理食塩水注入群に比べ酢酸注入群で有意な増加がみられたが、HGN 切除群では HGN 非切除群より Fos 発現細胞数は有意に少なく、この HGN 切除による Fos 発現の抑制は特に lamina I で認められた。

Voiding behavior および CMG の実験では、通常の排尿反射は HGN 切除により影響を受けないこと、酢酸注入による排尿間隔の減少が HGN 切除により軽減されることが示された。この結果から、酢酸注入後の膀胱刺激症状の 1 つとしての頻尿の発現には HGN が関与することが示唆された。また C 線維を脱感作する作用のあるカプサイシン前処置により膀胱刺激症状の発現が抑制されたことから、膀胱への酢酸注入はカプサイシン感受性神経を介して膀胱刺激症状を引き起こすと考えられた。一方、酢酸注入後の脊髄における Fos 発現の上昇は、HGN 切除により L1 レベルの dorsal horn でのみ抑制され、仙髄排尿中枢が存在する L6 レベルでは HGN 切除の影響がなかったことから、HGN を介する膀胱求心路の情報は L1 レベルを通過して上位排尿中枢に伝達されることが考えられた。

この論文は、下腹神経に含まれるカプサイシン感受性求心性神経を介し脊髄 L1 レベルの dorsal horn を通って上位排尿中枢に伝達され、排尿反射の亢進をもことを示唆したことで高く評価され、今後、下腹神経を介した膀胱求心路の上位中枢における投射部位、神経伝達機構の解明を進めることにより、Urogenital Pain Syndrome に対する新しい治療法が展開されることを期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。