

背外側被蓋核内部の排尿中枢の機能とその局在性 —寒冷刺激および鍼刺激の影響—

†星 伴路

明治鍼灸大学大学院 鍼灸学研究科 鍼灸臨床医学 (泌尿器科学)

要旨：SD系雄性ラットを用い、ウレタン麻酔下でガラス管微小電極にて背外側被蓋核 (LDT) の単一ニューロン活動を記録し、LDT内部の排尿中枢機能と局在性を検討すると共に、寒冷刺激および鍼刺激がLDTから得られるニューロン活動に及ぼす影響を検討した。ニューロン活動は、その発火パターンから排尿時に発火頻度増加 (Type1)、発火頻度減少 (Type2)、発火頻度不変 (Type3) に分類された。LDT内の排尿中枢とされる非コリン作動性ニューロンはType1およびType2であり、Type1は排尿時に興奮するリセプターからの求心性情報を反映し、Type2は蓄尿時に興奮するリセプターからの求心性情報を反映していると推測できた。またそれらの局在性はType1はLDTの中心部で背側1/3位の部位に集中しており、Type2はType1の吻側・背側を覆うように局在していた。それらの周囲をType3が占めていた。LDT内の排尿中枢と思われるニューロンに対し寒冷刺激および鍼刺激を与えると、寒冷刺激では膀胱からの情報が刺激によりmodulateされ排尿を促進するような変化が見られたが、鍼刺激では一定の結果は得られなかった。

I. はじめに

排尿中枢には上位 (橋) 中枢と下位 (仙髄) 中枢があることが知られており¹⁻³⁾、ヒトや小動物膀胱に対する支配神経や排尿中枢に関する研究は数多く報告されている^{1-9, 12-24)}。

本研究に先だって、著者は鍼刺激と寒冷刺激が排尿間隔を延長させることを、ラットを用いた実験にて確認し報告した⁴⁾。この現象の機序としては、Satoらや柏木ら、Kaufmanらが小動物を用いた実験から報告⁵⁻⁹⁾しているように、膀胱機能に対する鍼刺激、侵害刺激としての寒冷刺激または温熱刺激の影響は、下位排尿中枢である仙髄排尿中枢において反射的に膀胱支配の骨盤神経活動を抑制し、排尿の遅延を引き起こしたと考えられている。しかし、この現象に対する上位排尿中枢の関与に関しては、いまだ明らかにされていない。

上位排尿中枢である橋排尿中枢は、古くから青斑核 (locus coeruleus, 以下LC) や背外側被蓋核 (laterodorsal tegmental nucleus, 以下LDT)、パーリントン核 (Barrington's nucleus, 以下Bar) がそれに当たるといわれている^{1-3, 12-24)}。

LDTは組織化学的手法によりコリン作動性ニューロンの集合であるとされ¹⁰⁾、後に電気生理学的にその機能について検討されてきた。最近の研究ではコリン作動性ニューロンの集まりであるはずのLDT内部に非コリン作動性ニューロン活動が存在し^{20, 21)}、そのニューロンが排尿反射に深く関係しているらしいことが示唆されている²²⁾。しかしLDT内部のどこに排尿中枢があり、それがどのように機能しているかについては全くわかっていない。

そこで本研究では、LDT内部における排尿中枢の機能と局在性について明らかにするとともに、寒冷刺激と鍼刺激が膀胱機能を抑制した先の研究結果に対して、両刺激はLDTに対してどのような影響を与えているのか、またその反応性に相違があるか否かについて、LDTから得られるニューロン活動 (以下、ニューロン活動) を指標に検討した。

II. 方法

1 実験手順

実験には270~400gのSD系雄性ラット19匹を用

平成13年11月20日受付, 平成14年1月15日受理

Key Words : ラット rat, 背外側被蓋核 laterodorsal tegmental (LDT), 排尿中枢 micturition center, 寒冷刺激 cold stimulation, 鍼 acupuncture

†連絡先: 〒629-0392 京都府船井郡日吉町保野田ヒノ谷6 0771-72-1181 明治鍼灸大学内 研究棟
臨床鍼灸医学研究室 内線274

E - Mail : tomozy@muom.meiji-u.ac.jp

い、46ニューロンのニューロン活動を対象に解析を行った。

導入としてハロセンによる吸入麻酔を行った後、ウレタン1.2g/kgを腹腔内投与し、麻酔下で気管にカニューレを装着した。補液、追加麻酔投与のため、1側の外頸静脈に、また血圧・瞬時心拍数測定のため総頸動脈に、それぞれ外径1.0mmのポリエチレンチューブでのカニューレーションを行った。血圧・瞬時心拍は圧トランスデューサ（日本光電、TP-400T）を介して、ポリグラフ（日本光電、AP641G）、パルスカウンター（日本光電、AT601G）にて測定記録した。ラットの直腸温をモニターし、ヒーティングパッド（室町機械、MK-900）を用いて $37.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に維持し、自発呼吸下で実験を行った。追加麻酔は、体動、血圧、瞬時心拍数を観察し必要に応じて $0.03 \sim 0.185\text{g/kg}$ のウレタンを静脈のカニューレから投与した。

2 膀胱内圧測定

下腹部を約3cm正中切開し、膀胱頂部から血管を避け外径1.7mmのポリエチレンチューブを膀胱内に挿入し、結紮固定した。このチューブに三方活栓をつなぎ、一端を圧トランスデューサ（日本光電、TP-300T）、もう一端をインフュージョンポンプ（TERUMO, STC-521）に接続し、生理食塩水を 0.4ml/min の速度で膀胱内に持続注入し排尿を促して、膀胱内圧を測定した。

膀胱内圧は、圧トランスデューサを介してオシロスコープ（日本光電、VC-11）でモニターし、データレコーダ（TEAC, RD-135T）およびサーマルアレイレコーダ（日本光電、RTA-1200M）に記録した。なお、膀胱に注入した生理食塩水は、随時排泄させるため、尿道の結紮は行わなかった。

3 ニューロン活動記録

気管、頸動静脈、膀胱のカニューレーションを終えたラットを定位脳固定装置（成茂、ST-7）に固定、頭皮を約2cm正中切開し頭蓋骨を露出、入縫合より尾側で前後幅約2mm、左右幅約5mmの範囲を、歯科用ドリルにて除去し、硬膜を剥離、小脳を露出した。

ポンタミンスカイプルー（2%、0.5M酢酸ナトリウム）を満たしたガラス管微小電極（成茂、GD-1.5、インピーダンス $10 \sim 15\text{M}\Omega$ ）を、油圧式

マニピュレータ（成茂、PF5-1）に装着し、パルスモーターにて刺入した。刺入部位は primary fissure から尾側 $0.2 \sim 0.6\text{mm}$ 、正中から外方 $0.5 \sim 0.8\text{mm}$ の範囲で、吻側に向かい 30° の角度で刺入した。刺入深度は $4.5 \sim 6.0\text{mm}$ とし、LDTのニューロン活動と思われる電位を得られるまで上記の手順を数回繰り返し、1匹のラットに対し2~3ニューロンを測定、記録した（図1）。

ニューロン活動は前置増幅器（WPI, DAM-80）で増幅、オシロスコープ（日本光電、VC-11）でモニターし、データレコーダ（TEAC, RD-135T）およびサーマルアレイレコーダ（日本光電、RTA-1200M）に記録した。

4 脳内記録部位の同定

記録部位にはポンタミンスカイプルーを電気泳動的に流し（ダイヤモンド、DPI-50、 $2\mu\text{A}$ -30min）マーキングを行った。実験終了後、心臓より生理食塩水に続いて10%ホルマリン緩衝液を注入してラットを灌流固定した。その後、頭蓋骨から脳を取り出し24時間以上ホルマリン液中に留置した後、マイクロスライサー（堂阪EM, DTK-100）で厚さ $100\mu\text{m}$ の切片を作成し、脳アトラス¹¹⁾と比較、ニューロン活動導出部位の同定を行った。

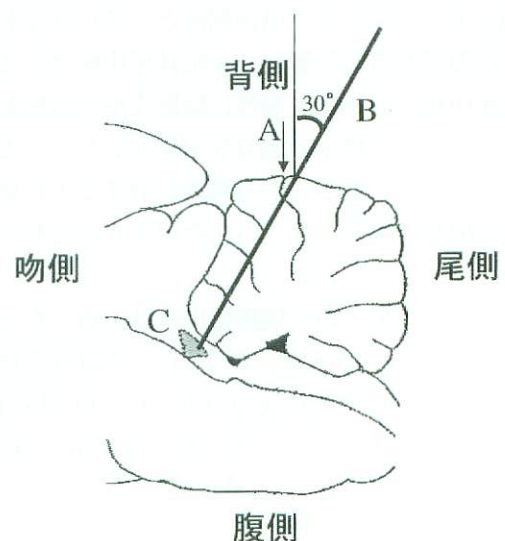


図1. ニューロン活動記録方法

Bregmaから6mm以上尾側の矢状断面を示す。

A: primary fissure,

B: ガラス管微小電極と刺入角度,

C: LDT (laterodorsal tegmental nucleus)

5 刺激方法

寒冷刺激は、ラットの左後肢遠位部約1/3を独自に作成したチャンバーに挿入した状態で、刺激時のみ10°Cの冷水150mlをチャンバー内に注ぎ込み、1分間留置し刺激した。刺激後チャンバー内の冷水は速やかに排出した。

鍼刺激は、直径0.3mm、長さ30 mmの毫鍼を用いた。刺鍼部位は仙骨部で、仙骨に達する深さまで刺入し、1~2Hzの頻度で旋撚刺激を1分間行った。

6 データ処理・解析方法

データレコーダに記録されたデータは、ADコンバータ (PowerLab/8s, AD Instruments) を介してパーソナルコンピュータに取り込まれ、解析ソフトChart 3.6.5 (PowerLab/8s, AD Instruments付属) 及び、Scope3.6.5 (PowerLab/8s, AD Instruments付属) を用い、データ抽出、解析を行った。なお、経時的なデータサンプリングはニューロン活動が40k points/sec、膀胱内圧は20 points/secで行った。

また、非コリン作動性ニューロンを判別するためにKoyamaら²⁰⁻²²⁾と同様、ニューロン活動の各刺激前の5分間における50回分の発火活動電位を加算平均後、その波形を測定ニューロンの代表活動電位とし、Positive Stroke Time (以下PST: 活動電位が基線より正值をとる時間) の測定を行った。なお、この解析も40k points/secでデータを

サンプリングした。

各刺激に対するLDTの反応は、刺激前5分間の平均発火頻度に対し刺激後10%以上変化のあったものを、抑制または亢進とし、10%未満の変化の場合を不変とした。

なお、本研究は、明治鍼灸大学研究倫理委員会の承認 (No. 13-42) を受けた後に行ったものである。

III. 結果

1 ニューロン活動の分類

ニューロン活動には、その発火と膀胱収縮との関係において3種類のパターンが見られたため、図2のようにType分類を行った。Type1は排尿時に発火が増加するものであり、46ニューロン中10ニューロン (21.7%) に観察された。Type2は排尿時に発火が減少又は消失するものであり、46ニューロン中22ニューロン (47.9%) に観察された。Type3は排尿や蓄尿とは無関係に発火するものであり、46ニューロン中14ニューロン (30.4%) に観察された。この分類で、Type1とType2は明らかにニューロン活動の発火と膀胱収縮との同期が見られたが、その同期パターンを詳細に検討したところ、Type1においては膀胱内圧が上昇して排尿が始まるまでの間に発火頻度が増加し、排尿が終わり膀胱内圧が基線まで下降している間に発火頻度は元に戻った (図2)。Type2においては排尿が始まってから終わるまでの間に発火頻度の減少

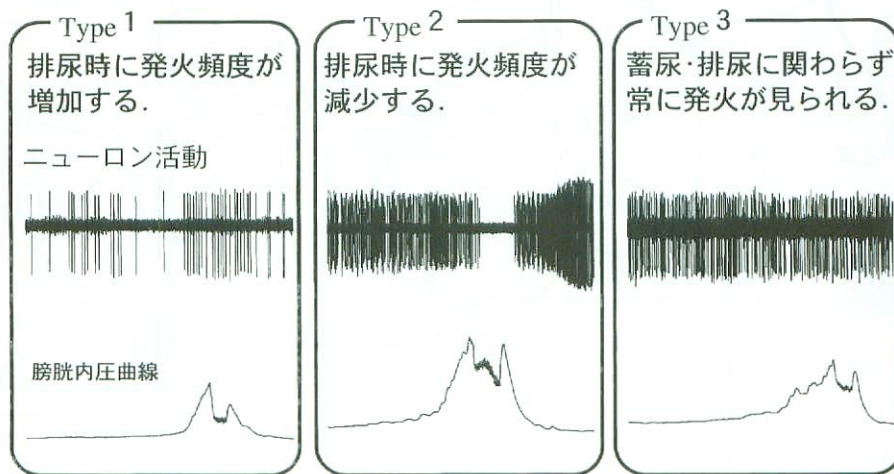


図2. ニューロン活動と膀胱収縮による分類

ニューロン活動の発火と膀胱収縮の間に3種類の同期パターンが見られた為、3つに分類した。各Typeとも、上段にニューロン活動、下段に膀胱内圧曲線を示した。

が観察された。このType2における発火頻度の減少は極めて著明なものであり、多くの場合発火がほとんどみられなくなる程であった。また時間的にみると発火頻度の減少は必ず排尿より 0.30 ± 0.03 sec (平均±標準誤差)ほど遅れて起こることがわかった。

一方LDTから得られるニューロン活動は、コリン作動性ニューロンと非コリン作動性ニューロンの2種類に分けられ、前者はそのPSTが 0.76 msec以上、後者は 0.75 msec以下であることが知られている²⁰⁻²²⁾。そこで、図3上段に示すようにPSTを測定し、Type別のヒストグラムを下段に示した。Type1の10ニューロン全てがPST <0.75 msecの非コリン作動性ニューロンであった。またType2は一部の例外を除けばType1と同様のヒストグラム分布となり、22ニューロン中20ニューロン(90.9%)がPST <0.75 msecの非コリン作動性ニューロンであった。しかし、Type3においては、14ニューロン中9ニューロン(64.3%)がPST <0.75 msecの非コリン作動性ニューロンであったが、ヒストグラム上の分布ではType1およびType2とは明らかに違っていた。

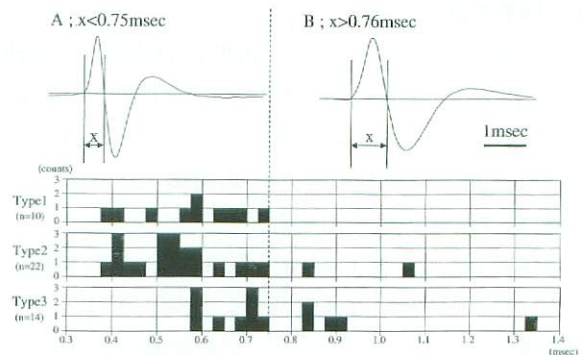


図3.活動電位解析方法

各刺激前の5分間における50回分の発火活動電位を加算平均し、その波形を測定ニューロンの代表活動電位とし、活動電位が基線より正値をとる時間(X:PST)を測定、比較した。上段左AはPSTが 0.75 msec以下の短い活動電位。上段右BはPSTが 0.76 msec以上の長い活動電位。下段には、各Type別に、ヒストグラムを示した。横軸にPSTを、縦軸にニューロンのcount数で示した。

2 ニューロン活動記録部位

本実験で得られたニューロン活動記録部位を、Type別に図4に示した。

Bregmaから $8.8 \sim 9.16$ mm尾側で多くの記録が導出され、Type1はBregmaから 9.16 mm尾側のスライスの背側1/3に最も多く記録され、その中でも限られた部分に密集して存在していた。Type2はType1に比べ比較的広い範囲で記録され

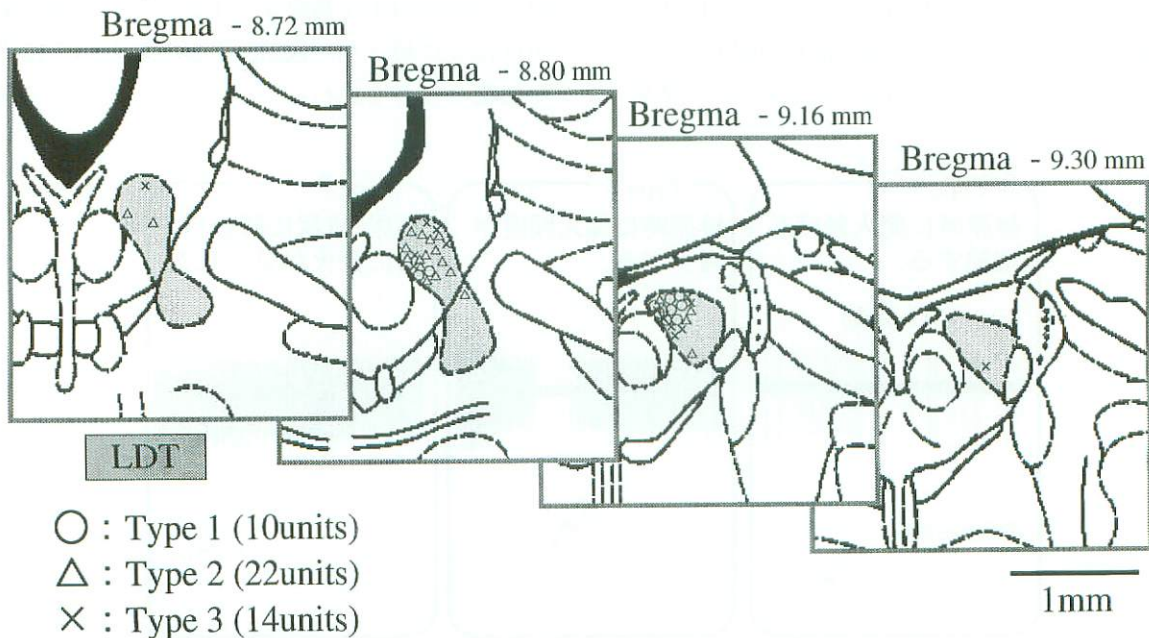


図4.ニューロン活動記録部位

Bregmaから尾側に向かい $8.72 \sim 9.30$ mmの範囲の冠状断面を示す。Type1は○、Type2は△、Type3は×で示す。

たが、Bregmaから8.80mm尾側のスライスに最も多く、Type1に隣接し吻側でType1を包み込む様に存在していた。Type3は最も広い範囲で記録されたが、その大部分はLDTの外縁に多く、Type1とType2を包み込む様に存在していた。そのLDT内部における局在性の概念を模式的に図5に示した。

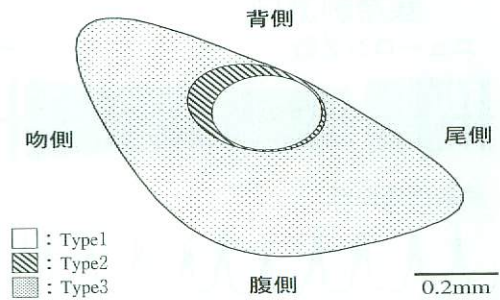


図5. LDT内部排尿中枢の模式図

LDTの矢状断面にてニューロン活動記録部位から想像したLDT内部における各Typeの局在を示す。Type1は白抜き、Type2は斜線、Type3は点で示す。

3 Type別におけるニューロン活動に対する

寒冷刺激および鍼刺激の影響

寒冷刺激と鍼刺激の影響に関する検討には、Type1およびType2の30ニューロンについてのみ解析した。

寒冷刺激および鍼刺激におけるType1のLDT反応と膀胱内圧曲線を図6に示した。上段が寒冷刺激例のニューロン活動および膀胱内圧曲線であり、下段は鍼刺激例のニューロン活動および膀胱内圧曲線である。図6に示した例では、排尿反射において、寒冷刺激例、鍼刺激例共に排尿間隔の延長がみられた。ニューロン活動の刺激に対する反応は、寒冷刺激では発火頻度が亢進（蓄尿期・排尿期に関わらず刺激前に比べ刺激後にニューロン活動の発火頻度が増加）され、鍼刺激では刺激後発火頻度が抑制（蓄尿期・排尿期に関わらず刺激前に比

べ刺激後にニューロン活動の発火頻度が減少）された。

Type2の寒冷刺激および鍼刺激におけるLDTの反応と膀胱内圧曲線を図7に示した。図7に示した例では、排尿反射において寒冷刺激では刺激開始から排尿間隔の延長が持続して見られ、鍼刺激例は刺激開始時に排尿間隔の延長が見られた。ニューロン活動の刺激に対する反応は、寒冷刺激および鍼刺激共に、刺激中からニューロン活動の発火頻度が抑制された。

寒冷刺激および鍼刺激によるその他のニューロ

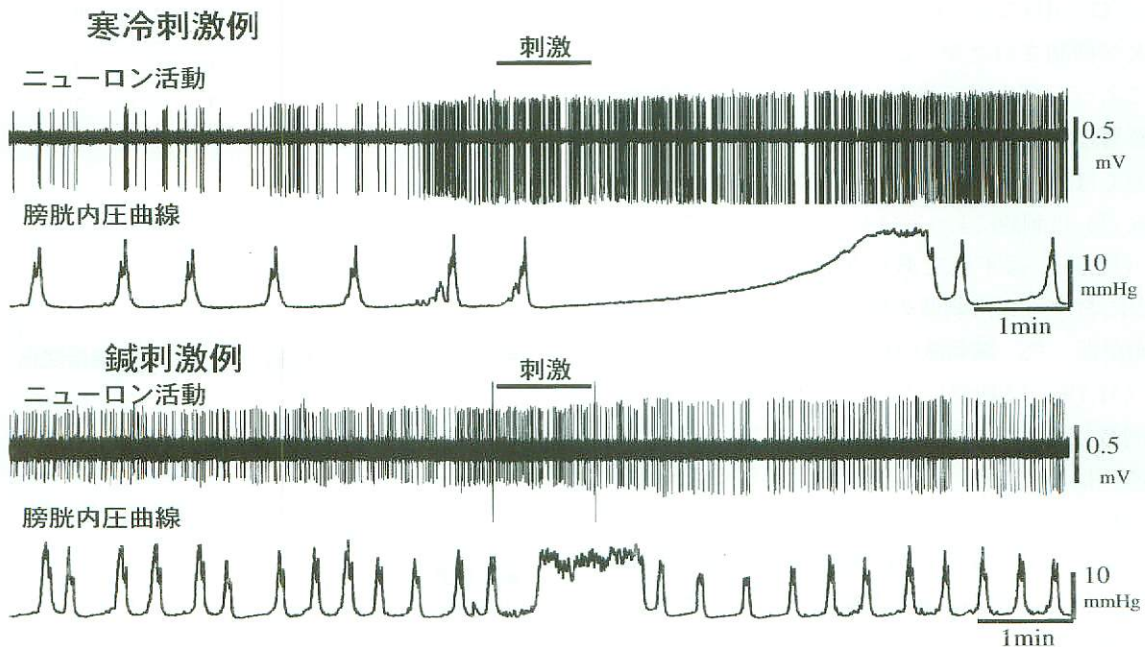


図6.Type1における寒冷刺激および鍼刺激の影響

Type1のニューロン活動と膀胱内圧曲線を示す。上段が寒冷刺激例、下段が鍼刺激例である。それぞれ上からニューロン活動、膀胱内圧曲線の順で示した。

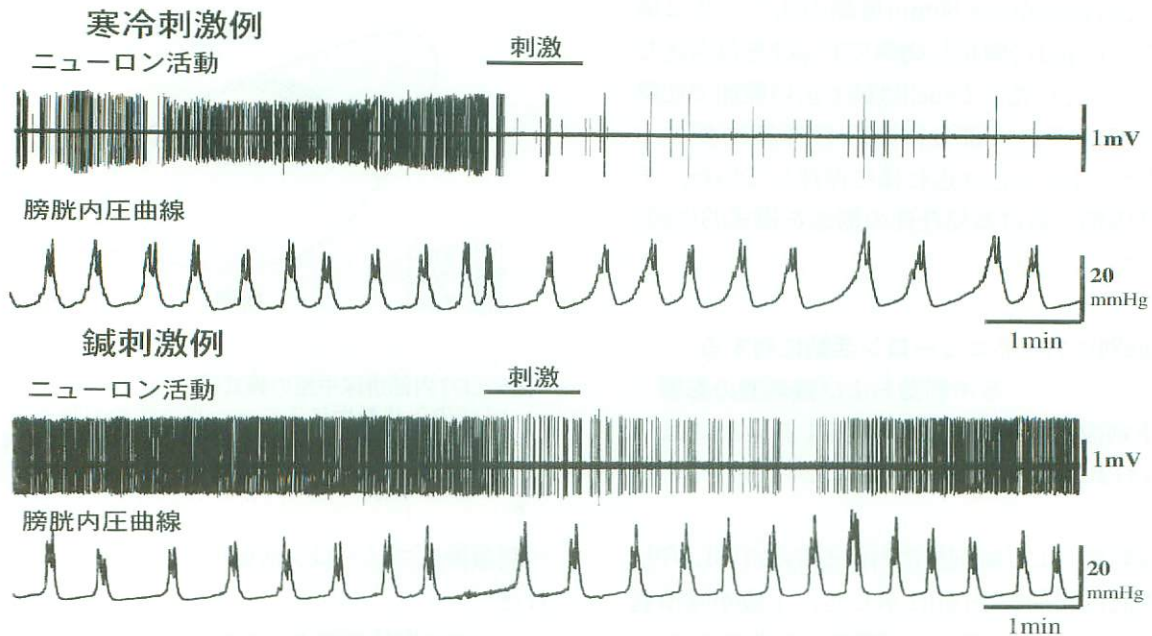


図7. Type2における寒冷刺激および鍼刺激の影響

Type2のニューロン活動と膀胱内圧曲線を示す。上段が寒冷刺激例、下段が鍼刺激例である。それぞれ上からニューロン活動、膀胱内圧曲線の順で示した。

ン活動の変化をまとめて表1に示した。Type1において、寒冷刺激の5ニューロン中1ニューロン(20.0%)では刺激によって発火が抑制されたが、大多数を占める4ニューロン(80.0%)では刺激によって発火が亢進し、Type1における寒冷刺激の影響は発火を亢進する傾向があった。鍼刺激の6ニューロン中4ニューロン(66.7%)は刺激によって発火が抑制されたが、2ニューロン(33.3%)は刺激によって発火が亢進し、Type1における鍼刺激の影響は一定の結果が得られなかった。Type2においては、寒冷刺激の7ニューロン中6ニューロン(85.7%)は刺激によって発火が抑制され、1ニューロン(14.3%)は不変であり亢進例はみられず、Type2における寒冷刺激の影響は発火が抑制される傾向があった。鍼刺激の12ニューロン中5ニューロン(41.7%)は刺激によって発火が抑制されたが、同数において亢進がみられ、2ニューロン(16.6%)は不変で、Type2における鍼刺激の影響も一定の結果は得られなかった。つまり、ニューロン活動に対する寒冷刺激の影響は、Type1では亢進性、Type2では抑制性と相反する反応性を示した。鍼刺激はType1・Type2共に影響は与えるものの、ニューロン活動の反応性は不定であり、Typeによる反応特性は判断できなかった。

一方、寒冷刺激および鍼刺激による膀胱機能の

表1. 寒冷刺激および鍼刺激によるニューロン活動の変化

		ニューロン活動 発火頻度変化	Type 1	Type 2
寒冷刺激	抑制		1	6
	不変		0	1
	亢進		4	0
鍼刺激	抑制		4	5
	不変		0	2
	亢進		2	5

表2. 寒冷刺激および鍼刺激による膀胱機能変化

	排 尿 間 隔		
	延 長	不 変	短 縮
寒冷刺激 (19units)	9	10	0
鍼刺激 (27units)	20	7	0

変化を、排尿間隔を指標に検討し表2に示した。本実験においても先の研究⁴⁾と同様の結果が得られた。すなわち排尿間隔の短縮例は認められず、寒冷刺激を行った12ニューロン中6ニューロン(50.0%)、鍼刺激を行った18ニューロン中14ニューロン(77.8%)に排尿間隔の延長が見られ、両刺激において膀胱機能は抑制された結果であった。

寒冷刺激および鍼刺激によるニューロン活動と膀胱機能の変化を検討すると、各Typeの刺激による変化と排尿間隔の延長には一定の傾向がみられなかった。

IV. 考 察

Satoらや柏木らは鍼刺激によって起こる膀胱機能抑制は、脊髄分節性に下位排尿中枢の仙髄排尿中枢に入力され、反射性に骨盤神経の興奮を抑制したことによるものであると報告している^{6, 7)}。しかし排尿反射には仙髄排尿中枢以外にも橋排尿中枢が存在し、鍼刺激や他の侵害刺激による排尿反射に対する影響は仙髄排尿中枢のみでなく橋排尿中枢にも影響を与える可能性が高く、上位排尿中枢である橋排尿中枢に対する鍼刺激の影響を研究する必要性が示唆されてきたが、これまで橋排尿中枢に対する鍼刺激の影響についての報告はなかった。一方、上位排尿中枢である橋排尿中枢の中には、LCやLDT、Bar等の核があり、排尿の中枢として古くから研究され、ラットにおいては、LDTが排尿中枢として報告されてきた^{13-15, 19-23)}。最近の研究では、ラットにおいてBarが膀胱収縮を誘発する最終的な出力を担っている部位として報告され²⁴⁾、ラットを対象にした排尿中枢に関する研究ではBarが注目されるようになった。また、LDTで記録されるPSTの短いニューロン活動が非コリン作動性ニューロンによるもので膀胱からの求心性活動を表し、LDTが排尿反射中枢の一部とする報告²⁵⁾もある。しかしその機能や局在性については明確に示した研究はこれまでなされていない。

そこで今回、LDTのニューロン活動を指標にLDT内部の排尿中枢の機能とその局在性を検討するとともに、寒冷刺激と鍼刺激がLDTに対してどのような影響を与えているのか、またニューロン活動において両刺激に対する反応性に相違があるかを検討した。

1 ニューロン活動の機能と局在性

今回得られたニューロン活動を、膀胱収縮とニューロン活動の関係から3種類のTypeに分類が出来た。Type1およびType2に関しては膀胱収縮とニューロン活動が同期しており、PST分類においてもニューロン活動の中で排尿反射に関係しているとされる非コリン作動性ニューロンと考えられることから、排尿中枢の一部であることが示唆される。またType1およびType2の膀胱収縮とニューロン活動の同期についてより詳細に解析すると、どちらのTypeも膀胱収縮の後にニューロン活動に変動が起きていることから、Koyamaら²²⁾やLecciら²³⁾と同様LDT内にある排尿中枢は求心性のものと推測され、その変動は約0.3secという比較的長い時間遅れてみられたことから、幾つかのニューロンを介していることも推測できる。つまり、排尿に関わる何らかのリセプターから刺激を受けとり、その情報を何らかの目的で他のニューロンに発信するための発火現象を、本実験で捉えられたと考えている。Type1においては、恐らく膀胱の収縮に関わるリセプターからの入力で発火し、遠心性の排尿中枢と示唆されているBerに排尿の調節のための情報を発信していると推測できる。

またType2の膀胱収縮とニューロン活動の同期パターンは、強力で極めて明瞭な反応であった。この現象に関しては、蓄尿時に主な機能を持ち、排尿時にその機能を失う何らかの効果器官からの情報を受け起こった現象、または排尿時に生体に対して不利益にならないために排尿以外の時期(蓄尿期)を監視するかなり強力なリセプターからの情報を受け起こった現象であると考えられる。前述した効果器官からの情報という考えについては、ヒトの排尿に例えるなら外尿道括約筋の働きに類似しているが、ラットの排尿時における外尿道括約筋はヒトのものとは大きく異なり、律動的な収縮によって滴下排尿が起こることから、尿道括約筋の筋収縮情報を反映しているものとは考えにくく、また尿道括約筋以外の効果器は思い当たらない。後述した排尿以外の時期を監視するリセプターからの情報という考えについては、蓄尿現象の監視(すなわち膀胱の伸展に関する監視)が考えられる。従来この種のリセプターの存在は想像されてはきたが、その存在を示唆するものは無

かった。これまでの膀胱機能に関する研究では膀胱の自律収縮を指標にした排尿の研究が主であり、蓄尿の機構に関する研究は極めて少ない。排尿から蓄尿までに至る連続した現象を観察した本実験において初めて蓄尿の重要性が明らかにできたと思う。いずれにせよ膀胱の収縮に対してnegativeな機能を持つかなり強力な何らかのリセプターの存在が強く示唆されるものである。

一方、Type3に関しては膀胱収縮に同期せず、PST分類においても非コリン作動性ニューロンとコリン作動性ニューロンが混在するが、Type別ヒストグラム上でType1およびType2と分布が明らかに異なることから、排尿とは関係のない何らかの情報を反映したニューロン活動であったと推測している。

LDT内の排尿中枢の局在性については、図5の模式図に示したようにコリン作動性ニューロンの集合であるLDT内の極一部に非コリン作動性ニューロンが存在し、Type1のニューロンを吻側で受け止めるようにType2のニューロンが存在しており、Type3などの排尿の中枢以外のニューロンがその周りを覆うように存在していると推測された。

2 ニューロン活動に対する寒冷刺激

および鍼刺激の影響

寒冷刺激および鍼刺激によるニューロン活動の反応性の違いについて検討すると、寒冷刺激においてType1は亢進性に、Type2は抑制性に反応した結果は、通常の膀胱からの求心性情報に加えて、寒冷刺激による全身状態の変化がこの情報をmodulateし、その変化がニューロン活動に反映され、他のニューロンに発信していると考えられた。この反応は寒冷を受け尿意を感じやすくなる反応と類似している様に思われる。また、鍼刺激においてType1およびType2で、抑制性の反応も亢進性の反応も同等数見られた結果は、刺激が局所現象として捉えられ、寒冷刺激ほどのmodulateは受けず通常の膀胱からの求心性情報のみ影響を反映した結果であったと考えられるが、LDTが幾つかの刺激に対する投射経路であるとの報告²⁵⁾があることから、鍼刺激が他のニューロンに与えた影響の投射をLDTにて記録した可能性は否定出来ない。しかし、排尿中枢と考えられるニューロン活動に変化が現れていることから鍼刺激が

LDT内の排尿中枢に影響を与えていることは確かである。また、寒冷刺激および鍼刺激は同じ侵害刺激として排尿中枢に入力されているのではなく、寒冷刺激と鍼刺激は上位中枢では異なる種類の反応として区別されている可能性を示唆した。

一方、LDT内にある排尿中枢は膀胱からの求心性の情報を反映しているものと推測されたが、寒冷刺激および鍼刺激によって膀胱機能は抑制されず排尿間隔に変化が現れない例であってもニューロン活動発火頻度に変化がみられたり、逆に膀胱機能は抑制され排尿間隔が延長した例であってもニューロン活動発火頻度に変化がみられなかったりすることから、Type1・Type2とも単に排尿現象に関するリセプターからの求心性情報を中継し発火しているのではなく、寒冷刺激などの身体における諸条件によって発火がmodulateされることが示唆された。つまりこれらのニューロンの機能は、排尿が行われている状況を逐一モニターしつつ、それに他の諸条件を加味して、遠心性排尿中枢（恐らくBar）の機能を円滑に遂行させるところにあると推察された。

また本実験において、寒冷刺激および鍼刺激によって起こる排尿間隔の延長という現象の発生機序については、刺激による膀胱機能変化とニューロン活動発火頻度の変化に一定の傾向が得られなかったことから、残念ながら明らかにすることは出来なかった。これは、排尿という生理現象には数多くの中枢が連絡を取り合い調整しながら反射が行われるため、本実験で対象としたLDT内部の排尿中枢では機序解明が出来なかったのであろうと考えている。各刺激の影響はニューロン活動の変化が現れていることから、上位中枢に情報は伝わってきていることは明らかであるし、今後LDT以外の排尿中枢を指標にした研究や、橋よりも上位の排尿に関する研究によって、刺激による排尿間隔の延長という現象の発生機序を明らかにしていきたいと考えている。

V. 結語

1. ラットのLDT内部には、排尿に際して発火頻度が増加するニューロン (Type1)、排尿に際して発火頻度が減少するニューロン (Type2)、および発火頻度がまったく変わらないニューロン (Type3) の3種のニューロンがある。

2. 排尿と発火とが関係するType1およびType2のニューロンは、そのPositive Stroke Time (PST) よりみていずれも非コリン作動性ニューロンであり、また排尿と発火のtimingのずれからみていずれも求心性情報を反映しているニューロンであると思われた。
3. Type1のニューロンはLDTの中心部で背側1/3位の部位に集中して局在しており、Type2のニューロンはType1の吻側・背側を覆うように局在していた。それらの周囲はType3のニューロンで占められていた。
4. 後肢の寒冷刺激を行うとType1では発火亢進、Type2では発火抑制の傾向がみられた。仙骨部への鍼刺激の発火に対する効果は、寒冷刺激のそれに比べて不定であった。
5. 以上の事実から、Type1のニューロンは排尿時（排尿期）に興奮が高まるリセプターからの求心性情報を反映し、Type2のニューロンは排尿時以外の時期（蓄尿期）に興奮が高まるリセプターの求心性情報を反映しているが、それらの結果は寒冷刺激などの排尿行動以外の身体的諸条件によってかなりmodulateされることがわかった。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、終始御指導、御校閲を賜りました明治鍼灸大学泌尿器科教室斉藤雅人教授、同大学生理学教室川喜田健司教授、同大学臨床鍼灸医学教室北小路博司助教授に深甚なる謝意を表します。また、多大なる御教示を頂いた、同大学大学院第三基礎医学渡辺洪教授に深謝いたします。

参考文献

- 1) 岡田博匡：排尿の生理。神経進歩，28：27-35, 1984.
- 2) 清水信夫：排尿の神経経路。神経進歩，28：13-26, 1984.
- 3) 佐藤啓二：橋被蓋部に存在する排尿反射中枢に関する実験形態学的研究。脳と神経，29：63-71, 1977.
- 4) 星伴路，角谷英治，北小路博司ら：ラット膀胱機能におよぼす寒冷刺激と鍼灸刺激の実験的検討。明治鍼灸医学，24：17-24, 1999.
- 5) Sato A, Sato Y, Suzuki A：Mechanism of the reflex inhibition of micturition contractions of the urinary bladder elicited by acupuncture-like stimulation in anesthetized rat. *Neurosci Res*, 15: 189-198, 1992.
- 6) 柏木仁美，秋葉裕子，内田さえら：麻酔下ラットの排尿機能に及ぼす鍼刺激の効果。自律神経，29：592-598, 1992.
- 7) Sato A, Sato Y, Shimada F, et al: Varying changes in heart rate produced by nociceptive stimulation of the skin in rats at different temperatures. *Brain Res*, 110: 301-311, 1976.
- 8) Sato A, Sato Y, Sugimoto H, et al: Reflex changes in the urinary bladder after mechanical and thermal stimulation of the skin at various segmental levels in cats. *Neuroscience*, 2: 111-117, 1977.
- 9) Kaufman A, Sato A, Sato Y, et al: Reflex change in heart rate after mechanical and thermal stimulation of the skin at various segmental levels in cats. *Neurosci*, 2: 103-109, 1977.
- 10) Sofroniew MV, Priestley JV, Consolazione A, et al: Cholinergic projections from the midbrain and pons to the thalamus in the rat, identified by combined retrograde tracing and choline acetyltransferase immunohistochemistry. *Brain Res*, 329: 213-223, 1985.
- 11) Paxinos G, Watson C: The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th edn, Academic Press, New York, 1998.
- 12) Mallory BS, Roppolo JR, de Groat WC: Pharmacological modulation of the pontine micturition center. *Brain Res*, 546: 310-320, 1991.
- 13) Kruse MN, Noto H, Roppolo JR, et al: Pontine control of the urinary bladder and external urethral sphincter in the rat. *Brain Res*, 532: 182-190, 1990.
- 14) Noto H, Roppolo JR, Steers WD, et al: Electrophysiological analysis of the ascending and descending components of the micturition reflex pathway in the rat. *Brain Res*, 549: 95-105, 1991.
- 15) Noto H, Roppolo JR, Steers WD, et al: Excitatory and inhibitory influences on bladder activity elicited by electrical stimulation in the pontine micturition center in the rat. *Brain Res*, 492: 99-115, 1989.
- 16) Naoko I, Yoshimasa K, Akihiro K, et al: State dependent response of the locus caeruleus neurons to bladder distention. *J Urol*, 164: 1740-1744, 2000.
- 17) Blok Bertil FM, Holstege G: Direct projections from the periaqueductal gray to the

- pontine micturition center (M-region). An anterograde and retrograde tracing study in the cat. *Neurosci Lett*, 166 : 93-96, 1994.
- 18) Sugaya K, Matsuyama K, Takakusaki K, et al : Electrical and chemical stimulations of the pontine micturition center. *Neurosci Lett*, 80 : 197-201, 1987.
- 19) Satoh K, Shimizu N, Tohyama M, et al : Localization of the micturition reflex center at dorsolateral pontine tegmentum of the rat. *Neurosci Lett*, 8 : 27-33, 1978.
- 20) Kayama Y, Ogawa T : Electrophysiology of ascending, possibly cholinergic neurons in the rat laterodorsal tegmental nucleus : comparison with monoamine neurons. *Neurosci Lett*, 77 : 277-282, 1987.
- 21) Koyama Y, Honda T, Kusakabe M, et al : In vivo electrophysiological distinction of histochemically identified cholinergic neurons using extracellular recording and labelling in rat laterodorsal tegmental nucleus. *Neurosci*, 83 : 1105-1112, 1998.
- 22) Koyama Y, Imada N, Kawauchi A : Firing of putative cholinergic neurons and micturition center neurons in the rat laterodorsal tegmentum during distention and contraction of urinary bladder. *Brain Res*, 840 : 45-55, 1999.
- 23) Lecci A, Giuliani S, Tramontana M, et al : Multiple sites of action in the inhibitory effect of nociceptin on the micturition reflex. *J Urol*, 163 : 638-645, 2000.
- 24) Pavcovich Luis A, Valentino Rita J : Central regulation of micturition in the rat by corticotropin-releasing hormone from Barrington's nucleus. *Neurosci Lett*, 196 : 185-188, 1995.
- 25) Koyama Y, Jodo E, Kayama Y : Sensory responsiveness of "broad-spike" neurons in the laterodorsal tegmental nucleus, locus coeruleus and dorsal raphe of awake rats : implications for cholinergic and monoaminergic neuron-specific responses. *Neurosci*, 63 : 1021-1031, 1994.

Location and Function of the Urination Centerin in the Rat Dorsal Tegmental Nucleus

--- With Special Reference to Cold Stimulation and Acupuncture---

†HOSHI Tomoji

*Department of Urology, Clinical Medicine of Acupuncture and Moxibustion,
Graduate School of Acupuncture and Moxibustion,
Meiji University of Oriental Medicine*

Abstract

Purpose : Function and localization of micturition center in the laterodorsal tegmental (LDT) nucleus, and the effects of cold stimulation and acupuncture stimulation on the LDT micturition center were investigated.

Methods : Firing from 46 single neurons in the Dorsal tegmental nucleus (LDT) in 19 SD-strain male rats were recorded by a stereotactic method under urethane anesthesia.

Results and Conclusions : The firing pattern was classified into 3 types; Type 1 (Firing increased during urination), Type 2 (Firing decreased during urination) and Type 3 (Firing unchanged during urination), respectively. The urination center in LDT was thought to consist only of Type 1 neurons, which were located at 1/3 caudal from the oral end in the central part of LDT, and of Type 2, which located just covering the oral and dorsal sides of Type 1 neurons. Type 3 neurons existed surrounding Type 1 and 2 neurons. Both Type 1 and 2 neurons were purely non-cholinergic. Type 1 firing mainly reflected centripetal information from receptors being excited during urinary discharge, while Type 2 firing reflected centripetal information from receptors being excited during urinary storage. Cold stimulation to the left leg of the rat promoted urination on firing from Type 1 and 2 neurons but acupuncture to the sacral region did not show any specific change in the firing pattern.

Received on November 20, 2001 ; Accepted on January 15, 2002

†To whom correspondence should be addressed.

Meiji University of Oriental Medicine, Hiyoshi-cho, Funaigun, Kyoto 629-0392, Japan