

(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

### 論 文 題 目

Inhibitory effect of intrathecal glycine on the micturition reflex in normal and spinal cord injury rats

(脊損とコントロールラットにおけるグリシン髄腔内投与の排尿抑制)

氏 名

田中

美



【目的】排尿は橋排尿中枢と腰仙髄に存在する神経核から構成される神経回路により制御されている。それらに投射する介在ニューロンからの神経伝達物質として、興奮性のグルタミン酸と抑制性の $\gamma$ アミノ酪酸がある。本研究では、腰仙髄中もうひとつの抑制性グリシンニューロンの排尿に及ぼす作用とグルタミン酸ニューロンとの関連を検討した。

【方法】雌ラットを脊髄無傷群 ( $n = 80$ )、胸髄 (Th9・10) 切断の急性脊損群 ( $n = 4$ ) と慢性脊損群 ( $n = 46$ ) に分けた。1) 各群で、ウレタン麻酔下に、等容量性膀胱内圧測定を行った。グリシンまたはストリキニン (グリシン $\alpha$ 1受容体遮断薬) を仙髄領域の髄腔内に投与し、膀胱内圧を測定した。2) 脊髄無傷群と慢性脊損群の仙髄領域の髄腔内にグリシンまたはストリキニンを投与し、5分後の腰仙髄組織をホモジネートしてグルタミン酸とグリシン濃度をキャピラリー電気泳動にて測定した。3) 脊髄無傷群と慢性脊損群の腰仙髄

組織中グリシン  $\alpha 1$  受容体 (GlyR  $\alpha 1$ ) mRNA の発現を測定し、 $\beta$ -actin mRNA で補正した。




【結果】 1) グリシン 0.1~100  $\mu$ g 投与により、脊髄無傷群の膀胱収縮回数が減少し、1~100  $\mu$ g 投与で収縮圧が低下した。慢性脊損群では脊髄無傷群に比べて膀胱収縮回数が増加し、収縮圧は低かったが、グリシン 10~100  $\mu$ g 投与により収縮回数は減少し、100  $\mu$ g 投与で収縮圧は低下した。脊髄無傷群へのストリキニン 0.01~10  $\mu$ g 投与では膀胱基線圧が上昇し、収縮圧が低下した。急性脊損では膀胱麻痺状態で収縮しなかったが、ストリキニン 30  $\mu$ g 投与により収縮が誘発された。慢性脊損群ではストリキニン 100  $\mu$ g 投与で基線圧が上昇し、膀胱収縮が消失した。2) 脊髄無傷群ではグリシン 0.01~100  $\mu$ g 投与で腰仙髄組織中グルタミン酸濃度が無投与より低かった。慢性脊損群では脊髄無傷群に比べて腰仙髄組織中グルタミン酸とグリシン濃度が低く、グリシン投与でも組織中グルタミン酸濃度に変化はな

かった。脊髄無傷群におけるストリキニン投与では腰仙髄組織中グルタミン酸とグリシン濃度に変化はなかった。3) 腰仙髄組織中 GlyR  $\alpha 1$  mRNA レベルは脊髄無傷群と慢性脊損群で有意差がなかった。

【考察】抑制性グリシンニューロンの排尿神経機構に及ぼす影響としては、1) グリシンが膀胱収縮回数を減少したことより、排尿反射の求心路の抑制、2) グリシンが膀胱収縮圧を低下したことより、排尿反射の遠心路の抑制、3) グリシンが腰仙髄組織中グルタミン酸濃度を低下させたことより、興奮性グルタミン酸ニューロンの抑制などが示唆された。また、脊損急性期の尿閉は腰仙髄中グリシンニューロンによる抑制が一因と考えられ、逆に脊損慢性期の頻尿はグリシンニューロンによる抑制の低下がその一因と考えられた。脊損慢性期にも腰仙髄組織中 GlyR  $\alpha 1$  mRNA レベルに変化がなかったことは、受容体は傷害されていないことが示唆された。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	*論文博第	号	氏名	宮里 実
論文審査委員	平成 15 年 12 月 9 日			
	主査教授	金谷文則		
	副査教授	坂梨又郎		
	副査教授	植田真一郎		
(論文題目) Inhibitory effect of intrathecal glycine on the micturition reflex in normal and spinal cord injury rats				
(論文審査結果の要旨) 上記論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義と学術的水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的 脳脊髄中では神経伝達物質としてアミノ酸が重要な役割を果たしている。そのなかで、排尿神経機構における興奮性のグルタミン酸と抑制性のガンマアミノ酪酸の機能は知られているが、抑制性のグリシンの機能に関しては報告がない。本研究は、腰仙髄中グリシンニューロンの脳幹排尿反射と脊髄排尿反射における機能をグルタミン酸ニューロンとの関りを含めて検討したものである。				

備考 1 用紙の規格は、A4 とし縦にして左横書とすること。

2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。

3 \*印は記入しないこと。

## 2. 研究内容

Sprague-Dawley 系雌性ラットを脊髄正常ラット、下部胸髄を完全切断して1日経過した急性脊損ラットと4週間経過した慢性脊損ラットに分けた。各ラットで、ウレタン麻酔下に等容量性膀胱内圧測定を行いながらグリシンまたはストリキニン（グリシン受容体遮断薬）を腰仙髄領域の脊髄髄腔内に投与し、膀胱の活動性に及ぼす効果を検討した。また、脊髄正常ラットと慢性脊損ラットで腰仙髄領域の脊髄髄腔内にグリシンまたはストリキニンを投与し、腰仙髄を摘出してグルタミン酸とグリシン濃度を測定した。さらに、脊髄正常ラットと慢性脊損ラットの腰仙髄中グリシンレセプター $\alpha 1$ 受容体(GlyR $\alpha 1$ ) mRNAの発現量を測定した。その結果、グリシン髄腔内投与は、脊髄正常と慢性脊損ラットの膀胱収縮間隔を延長させ、膀胱収縮圧を低下させた。脊髄正常と慢性脊損ラットのストリキニン髄腔内投与では膀胱基線圧が上昇し、急性脊損ラットの髄腔内投与では膀胱収縮が誘発された。アミノ酸測定では、脊髄正常ラットのグリシン髄腔内投与では腰仙髄中グルタミン酸濃度が軽度ながら有意に低下した。慢性脊損ラットでは脊髄正常ラットに比べて腰仙髄中グルタミン酸とグリシン濃度がそれぞれ27%と54%低下して頻尿を呈したが、腰仙髄中 GlyR $\alpha 1$  mRNA量は脊髄正常ラットと差がなかった。

## 3. 研究成果の意義と学術的水準

本研究は、抑制性グリシンニューロンが脳幹排尿反射と脊髄排尿反射の主に求心路ならびに遠心路を抑制し、さらに興奮性グルタミン酸ニューロンを抑制することによってそれら排尿反射を直接的及び間接的に抑制することを明らかにした。また、脊損慢性期の頻尿はグリシンニューロン活動の低下がその一因であり、腰仙髄中 GlyR $\alpha 1$  mRNA量に変化がないことを見出した。これらの結果は、頻尿や尿意切迫感などを呈する過活動膀胱のメカニズムを考える上で重要であり、さらにはグリシンを用いた新たな排尿障害治療法の開発に結びつく可能性を有しており、国際的に評価できるものとする。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。