

慢性脊髄損傷ラットにみられる排尿障害に対するGA BAとオピオイドの関与について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/4579

慢性脊髄損傷ラットにみられる排尿障害に対する GABAとオピオイドの関与について

金沢大学医学部泌尿器科学講座 (主任: 並木幹夫教授)

三 田 絵 子

慢性脊髄損傷患者にとって排尿管理は重大な問題である。これまでに慢性脊髄損傷患者に対してガンマアミノブチル酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 受容体作動薬であるバクロフェンのクモ膜下腔内投与が膀胱の過緊張の軽減をもたらすことが報告され、また動物モデルを用いた実験より、 κ_1 オピオイド受容体作動薬であるU-50488の経静脈的投与が、仙髄刺激後の膀胱や尿道の反射を抑制したという報告がなされている。本実験ではバクロフェンとU-50488が覚醒下の慢性脊髄損傷ラットにおいて、排尿筋外尿道括約筋協調不全 (detrusor-sphincter dyssynergia, DSD) を軽減させ、排尿効率の改善をもたらすかどうかを客観的に検討した。雌性Sprague-Dawley系ラット (体重180-200g) を第6胸髄レベルで完全に脊髄を切断した。4週間後に膀胱瘻を造設しボールマンケージ内に固定した後、膀胱瘻から毎分0.1 mlの速度で生理食塩水を注入した。排尿効率は、膀胱容量に対する排尿量の割合とした。コントロール値を計測後、経静脈的にバクロフェンとU-50488を0.01 mg/kgから10 mg/kgまでの用量で60分間隔にて累積投与した。バクロフェン投与では排尿収縮圧の有意な減少 (0.1, 1 mg/kg) と排尿効率の有意な増加 (0.1 mg/kg) がみられたが、どの用量においても膀胱容量に有意な変化はみられなかった。U-50488では、排尿収縮圧の有意な減少 (1, 10 mg/kg) と排尿効率の有意な増加 (0.01, 10 mg/kg) がみられたが、同時に膀胱容量の減少も認められた (1, 10 mg/kg)。また κ_1 オピオイド受容体拮抗薬であるノルビナルトルフィミン (norbinaltorphimine) 投与にてU-50488投与による排尿の変化は拮抗されていた。以上より、GABA受容体作動薬バクロフェンと κ_1 オピオイド受容体作動薬U-50488は脊髄損傷後のDSD治療薬としての有効性が示唆された。覚醒下の慢性核上型脊髄損傷ラットを用いた本実験は、神経因性膀胱に対する薬理学的効果を検討するモデルとして有用であると思われる。

Key words spinal cord injury rats, detrusor-sphincter dyssynergia, γ -aminobutyric acid, κ_1 opiate

下部尿路には蓄尿機能と排尿機能が存在し、これらは膀胱と内、外尿道括約筋の協調運動、すなわち蓄尿時における膀胱の弛緩 (交感神経系の興奮) と尿道括約筋の収縮、排尿時における膀胱収縮 (副交感神経系の興奮) と尿道括約筋の弛緩という相反運動により行われている¹⁾。これらの自律神経系を調節している高位中枢神経系の研究は、Barrington²⁾⁻⁵⁾がネコの除脳実験から吻側部橋における排尿中枢の存在を発見したことに始まる。排尿の基本的な中枢は橋排尿中枢 (pontine micritrion center, PMC) で、ラットでは吻側部橋の背外側被蓋野にあり排尿反射、特に膀胱尿道協調運動の調節に重要な部位であるが、同じ橋の領域に外尿道括約筋の活動を増強させ、かつ膀胱運動を抑制する橋蓄尿中枢 (pontine urine storage center) がある³⁾。仙髄における排尿に関する神経核には、膀胱平滑筋を収縮させる副交感神経核群 (仙髄中間質外側) と外尿道括約筋を収縮させるオヌフ核と呼ばれる細胞群が存在する。膀胱伸展の情報量が閾値に達するとPMCから仙髄の副交感神経核へ興奮性の命令が伝達され、骨盤神経の遠心路を介して強い膀胱収縮が惹起

される⁶⁾。仙髄オヌフ核は外尿道括約筋の運動を調節している^{6,7)}。

排尿は膀胱の収縮と尿道の弛緩という排尿筋外尿道括約筋協調運動でなされるが、排尿障害の一つとして、膀胱が収縮しても尿道が弛緩しない排尿筋外尿道括約筋協調不全 (detrusor-sphincter dyssynergia, DSD) がある。これは脳幹の排尿中枢と仙髄の排尿中枢との間の連絡が遮断された場合に起こるといわれており⁸⁾、仙髄より上位の脊髄に障害を有する二分脊椎症や核上型の脊髄損傷症例にみられるDSDは、膀胱機能の荒廃ばかりでなく上部尿路障害をひき起こすため、二分脊椎や脊髄損傷における尿路管理の重要な課題として、従来より種々の研究がなされている。

中枢神経系における神経伝達物質の一種であるアミノ酸系神経伝達物質には興奮性のグルタミン酸と抑制性のガンマアミノ酪酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) が知られており⁹⁾、排尿反射において重要な役割を果たしているといわれている。GABA受容体はイオンチャンネルの開閉に直接関与するGABA_A受容体

平成12年11月29日受付, 平成13年1月19日受理

Abbreviations : DSD, detrusor-sphincter dyssynergia; GABA, γ -aminobutyric acid; nor-BNI, norninaltorphimine; PMC, pontine micritrion center; SCI, spinal cord injury

と代謝調節型のGABA_B受容体の二種類に大別され、全く異なる情報伝達機構を介して神経活動の抑制に関与している。これまでに、GABA_B作動薬であるバクロフェンを脊髄腔内注入し膀胱の過緊張を軽減させたというNanningaら¹⁰⁾の報告があり、DSDに対する治療薬になりうる可能性が示唆されている。

また、オピオイドは鎮痛薬として広く知られているが、その受容体は1970年代にMartinら¹¹⁾によって、 μ 、 κ 、 σ の三種が提唱された。さらにマウス輸精管に存在しエンケファリンに高親和性を示す δ 受容体¹²⁾とラット輸精管に存在し β -エンドルフィンに比較的特異的な ϵ 受容体¹³⁾が報告され、現在では薬理学的研究により、 μ 、 κ 、 δ 受容体の三つが広く認められている。排尿反射に対するオピオイドの影響に関する研究は、Glazerら¹⁴⁾やKawataniら¹⁵⁾によって仙髄における排尿反射中枢である仙髄中間質外側部にオピオイド受容体が存在すると報告されたことに端を発する。オピオイド受容体の局在については種々の報告があり、脳幹部¹⁶⁾、仙髄の副交感神経核¹⁷⁾、オヌフ核¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁸⁾と膀胱壁内の神経叢¹⁹⁾²⁰⁾がこれまで同定されている。オピオイド受容体のうち κ 受容体は κ_1 と κ_2 の2つの亜型の存在が知られており κ_1 受容体はダイノルフィン感受性を持ち、

κ_2 受容体はエンケファリン感受性を持つことがいわれている²¹⁾。 κ_1 オピオイド受容体作動薬であるU-50488が仙髄刺激後の膀胱や尿道の反射を抑制したというAbdelmagidら²²⁾の報告により、排尿時に膀胱の収縮が得られても尿道が弛緩しない状態であるDSDに対する治療薬になりうる可能性は示唆されているが、それらはいずれも排尿効率の増大や排尿収縮圧の低下といった排尿改善についての客観的検討がなされていない。

今回慢性の病態モデルで、ヒトにおけるDSDに近いと考えられる脊椎損傷ラットを用いて、バクロフェンとU-50488およびその拮抗薬であるノルビナルトルフィミン(norbiantorphimine, nor-BNI)を経静脈的に投与し、その排尿機能への影響について検討した。

材料および方法

I. 実験動物

8週齢のSprague-Dawley系雌性ラット(体重180-200g)を日本SLC(浜松)より購入した。

II. 使用試薬

バクロフェンは(±)- β -(aminomethyl)-4-chlorobenzenepropanoic

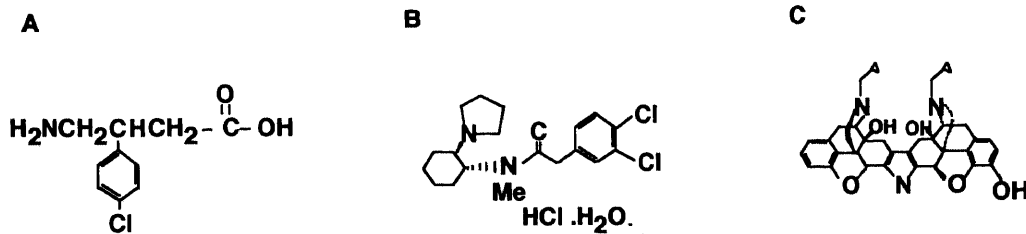


Fig. 1. Formations and molecular weight (M.W.) of baclofen (A), U-50488 (B) and nor-BNI (C). M.W. of baclofen is 213.67, M.W. of U-50488 is 423.81 and M.W. of nor-BNI is 675.82, respectively.

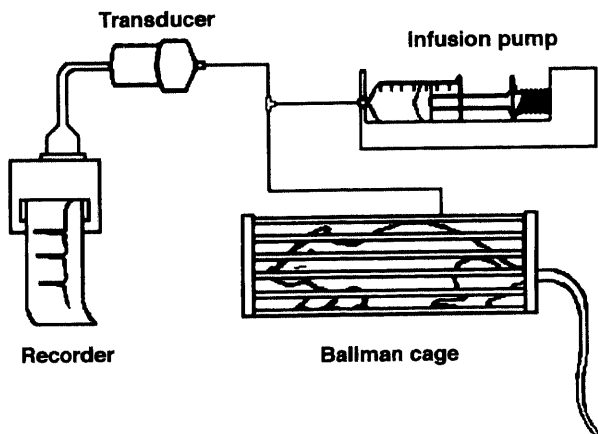


Fig. 2. Setup for measurement of the cystometrogram in conscious rats.

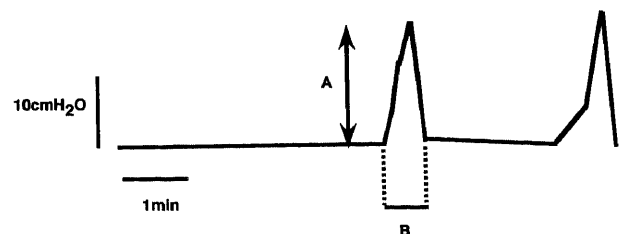


Fig. 3. Cystometrogram in spinal cord injury (SCI) rats. A, contraction duration (min). B, contraction amplitude (cmH₂O).

acid (baclofen, Research Biochemical International, Natick, USA)を、U-50488は trans-(±)-3,4-dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)-cyclohexyl] benzeneacetamide hydrochloride hydrate (東レ, 東京)を、nor-BNIは 17,17-bis(cyclopropylmethyl)-6,6,7,7-tetrahydro-4,5:4,5-diepoxy-6,6-(imino)[7,7-bimorphinan]-3,3,14,14-tetrol (東レ)を用いた。

バクロフェンは生理食塩水(大塚製薬, 東京)に溶解し、U-50488, nor-BNIは蒸留水(扶桑薬品, 東京)に溶解希釈した。バクロフェン, U-50488およびnor-BNIの構造式を図1に示す。

Ⅲ. 脊髄損傷ラットの作成

ラットを1.5%ハローセン(武田薬品, 東京)吸入麻酔にて導入維持した。腹臥位にて第6胸椎を確認した後、皮膚を切開し棘突起を露出した。棘突起に附着した筋肉をメスを用いて椎体後面まで剥離後、棘突起を切除し骨切剪を用いて硬膜まで切除した。次いで脊髄のみを尖刃刀で切断し、椎体腹側の表面がみえるまで完全断裂とした。出血は止血用ゼラチンスポンジ(スポンゼル[®], 山之内製薬, 東京)で圧迫止血とした。止血を確認後筋層、皮膚を縫合した。

Ⅳ. 脊髄損傷後の管理法

1. 感染予防

感染予防として、手術後3日間硫酸アミカシン(萬有製薬, 東京)を0.5mg/kg, 1日1回筋肉内注射した。

2. 排尿管理

通常、脊髄損傷作成後1週間で弱い排尿反射が出現し、その後徐々に膀胱の反射性収縮は強くなり、約4週間前後で排尿反射は確立されるといわれている²³⁾。しかし同時に外尿道括約筋の収縮を伴い(DSD)、多量の残尿を有するようになる。排尿反射が回復するまでは毎日2回腹部を指にて圧排し残りなく排尿させた。

Ⅴ. 膀胱瘻作成

脊髄損傷作成約4週後に、再びラットを1.5%ハローセン吸入麻酔にて導入維持したのち、仰臥位にして下腹部皮膚を正中切開した。膀胱を露出して膀胱頂部に約2mmの小切開を加えた。ポリエチレンカテーテル(size 4, Hibiki)の膀胱側は加熱のうえ、襟を作成して小切開より膀胱内に挿入し固定した。カテーテルの他端は皮下トンネルを経由し、ラット頸部の背部

切開創へ通した。膀胱瘻カテーテルを固定し、皮膚を縫合した。

Ⅵ. 外頸静脈留置カテーテル挿入

膀胱瘻作成後ラットを腹臥位に固定し、右外頸静脈にポリエチレンカテーテル(SP 10, 夏目製作所, 東京)を留置し、薬物の投与経路とした。

Ⅶ. 膀胱内圧測定

膀胱内圧測定はラットが麻酔より覚醒していることを確認し行った。ラットをボールマングージ3型(夏目製作所)内に覚醒下で拘束した。膀胱瘻先端にT字管を連結し、シリンジポンプ(TE-311, テルモ, 東京)および圧トランスデューサー(TP-200T, 日本光電, 東京)にそれぞれ接続した。毎分0.1mlの注入速度で連続的に生理食塩水を膀胱内に注入し、膀胱収縮を誘発して、経時的に膀胱内圧測定を行った(図2)。排尿毎に排尿量を測定し、注入量から排尿量を差し引いた量を残尿量とした。

Ⅷ. バクロフェンの排尿反射に対する影響

覚醒下に生理食塩水を毎分0.1mlの注入速度で膀胱内圧測定をし、1時間毎に生理食塩水を経静脈的に投与した群を溶媒投与群とした。パラメーターとして排尿量と残尿量を測定しその和を膀胱容量(bladder capacity)とし、膀胱容量に対する排尿量の割合を排尿効率(voiding efficiency)とした。同時に排尿収縮圧(contraction amplitude)と排尿時間(contraction duration)も測定した(図3)。バクロフェンは0.01mg/kgから10mg/kgの累積投与とし、各投与間隔は1時間とした。

Ⅸ. U-50488, nor-BNIの排尿反射に対する影響

κ_1 オピオイド受容体作動薬であるU-50488を0.01mg/kgから10mg/kgまで1時間毎に累積投与し膀胱内圧測定を行った。溶媒投与群では蒸留水を1時間毎に経静脈的に投与した。また κ_1 オピオイド受容体拮抗薬であるnor-BNI 10mg/kg投与後24時間経過した後にU-50488を累積投与し、バクロフェンと同様の各パラメーターについて溶媒投与群と比較した。

Ⅹ. 統計学的検討

各パラメーターの薬剤投与による影響は投与前のコントロール値に対する変化率の平均値±標準誤差で表示した。有意差検定は二元配置分散分析を行い、 $p < 0.05$ の場合を有意差ありと

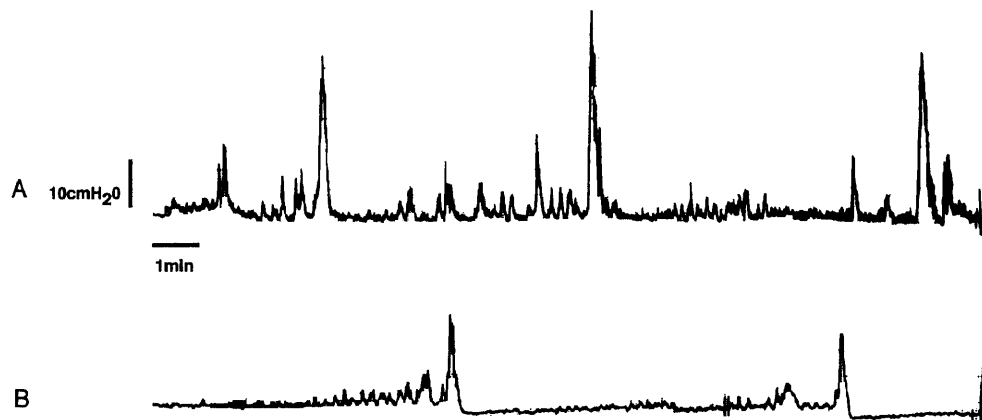


Fig. 4. Cystmetogram in spinal cord injury (SCI) rats before (A) and after (B) administration of baclofen (10 mg/kg iv). Note that volume threshold has increased and contraction amplitude has markedly decreased.

した。

成 績

I. バクロフェンの排尿反射に対する影響

実際の膀胱内圧曲線を図4に示した。バクロフェン投与前(図4A)に比べバクロフェン投与後(図4B)は排尿までの間隔が延長し、膀胱容量の増大が認められた。また排尿収縮圧も減少していた。

1. 膀胱容量

バクロフェン投与による膀胱容量の変化は、増加傾向を示す

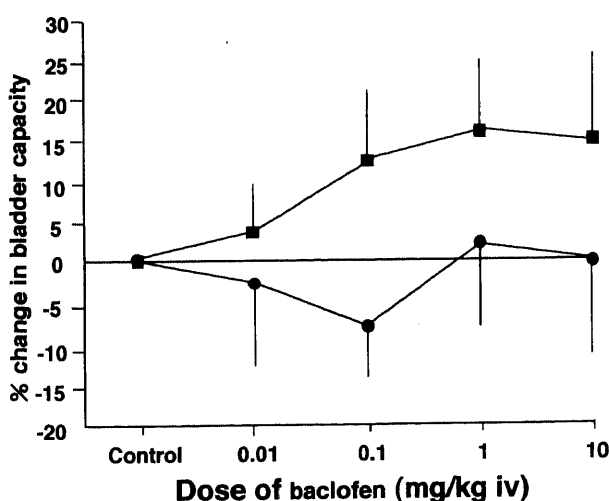


Fig. 5. Dose-response curves of baclofen (0.01-10 mg/kg iv) or vehicle on percentage changes in bladder capacity in spinal cord injury (SCI) rats (●, vehicle, n = 9; ■, baclofen, n = 10). Values are $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

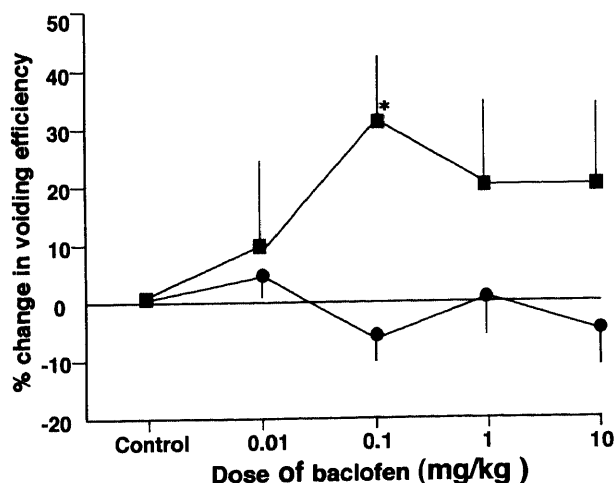


Fig. 6. Dose-response curves of baclofen (0.01-10 mg/kg iv) or vehicle on percentage changes in voiding efficiency in spinal cord injury (SCI) rats (●, vehicle, n = 9; ■, baclofen, n = 10). Values are $\bar{x} \pm \text{SEM}$. *p < 0.05 compared with voiding efficiency in vehicle-administered SCI rats.

ものの溶媒投与群との間に有意差は認められなかった(図5)。

2. 排尿効率

排尿効率に関しては溶媒投与群に比べバクロフェン投与群では有意な増加が認められ、投与前の排尿効率51.0%から69.5%まで改善していた。各用量間では、0.1mg/kgでバクロフェン投与群と溶媒投与群で有意差が認められた(図6)。

3. 排尿収縮圧

排尿収縮圧では溶媒投与群に比べバクロフェン投与群では有意な減少が認められ、投与前の排尿収縮圧44.4cmH₂Oから29.6cmH₂Oまで減少していた。各用量間では0.1, 1mg/kgで有意差が認められた(図7)。

4. 排尿時間

排尿時間は両群間で有意差は認められなかった。

II. U-50488の排尿反射に対する影響

1. 膀胱容量

正常、脊髄損傷ラットともU-50488投与により膀胱容量は有意に減少した。各用量間では正常、脊髄損傷ラットともに1および10mg/kgのU-50488において有意差が認められた(図8)。

2. 排尿効率

正常ラットでは残尿はほとんど認められず、投与前の排尿効率は97.8%で、U-50488投与によるその変化率も図9Aのようにほとんど変化はみられなかった。脊髄損傷ラットでは溶媒投与群に比べU-50488投与群で有意な増加がみられ、投与前の排尿効率64.3%から85.3%まで改善した。各用量間では0.01および1mg/kgで有意差が認められた(図9)。

3. 排尿収縮圧

排尿収縮圧に関しては正常、脊髄損傷ラットともU-50488投与により溶媒投与群に比べ有意な減少が認められ、1および10mg/kgの高用量で有意差がみられた(図10)。

4. 排尿時間

排尿時間に関しては正常、脊髄損傷ラットともに有意な変化

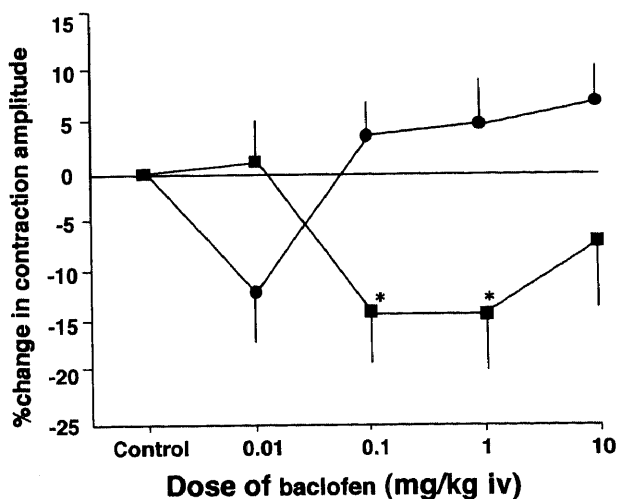


Fig. 7. Dose-response curves of baclofen (0.01-10 mg/kg iv) or vehicle on percentage changes in contraction amplitude in spinal cord injury (SCI) rats (●, vehicle, n = 9; ■, baclofen, n = 10). Values are $\bar{x} \pm \text{SEM}$. *p < 0.05 compared with contraction amplitude in vehicle-administered SCI rats.

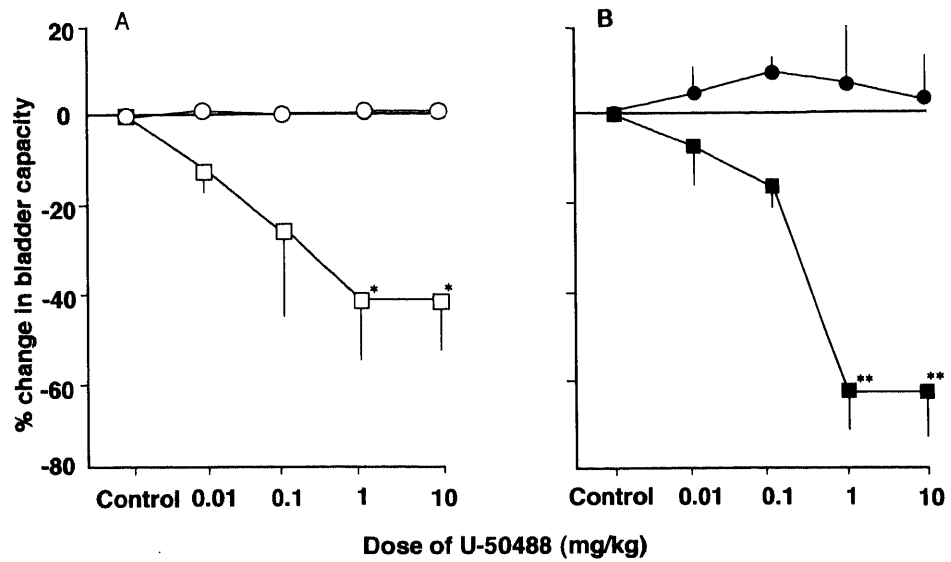


Fig. 8. Dose-response curves of U-50488 (0.01-10 mg/kg iv) or vehicle on percentage changes in bladder capacity in normal rats (A) (○, vehicle, n = 5; □, U-50488, n = 5) and spinal cord injury (SCI) rats (B) (●, vehicle, n = 7; ■, U-50488, n = 7). Values are $\bar{x} \pm \text{SEM}$. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared to vehicle-administered normal or SCI rats.

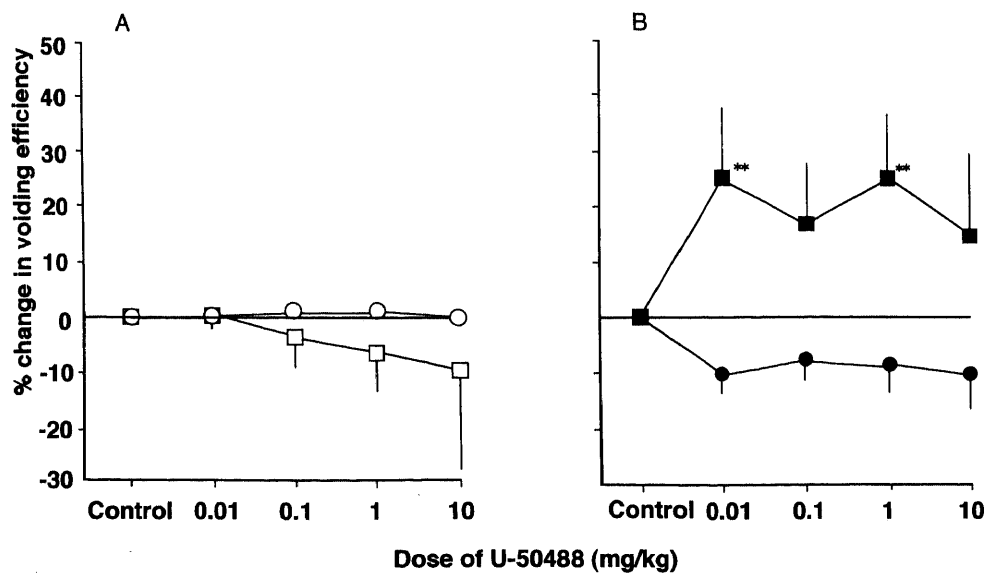


Fig. 9. Dose-response curves of U-50488 (0.01-10 mg/kg iv) or vehicle on percentage changes in voiding efficiency in normal rats (A) (○, vehicle, n = 5; □, U-50488, n = 5) and spinal cord injury (SCI) rats (B) (●, vehicle, n = 7; ■, U-50488, n = 7). Values are $\bar{x} \pm \text{SEM}$. ** $p < 0.01$ compared to vehicle-administered SCI rats.

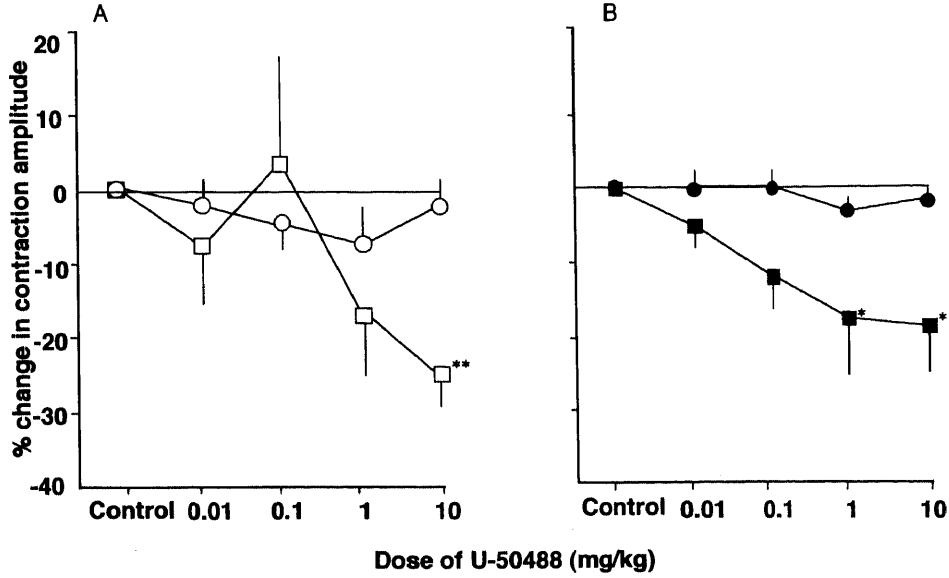


Fig. 10. Log dose-response curves of U-50488 (0.01-10 mg/kg iv) or vehicle on percentage changes in contraction amplitude in normal rats (A) (○, vehicle, n = 5; □, U-50488, n = 5) and spinal cord injury (SCI) rats (B) (●, vehicle, n = 7; ■, U-50488, n = 7). Values are $\bar{x} \pm$ SEM. *p < 0.05, **p < 0.01, compared to vehicle-administered normal or SCI rats.

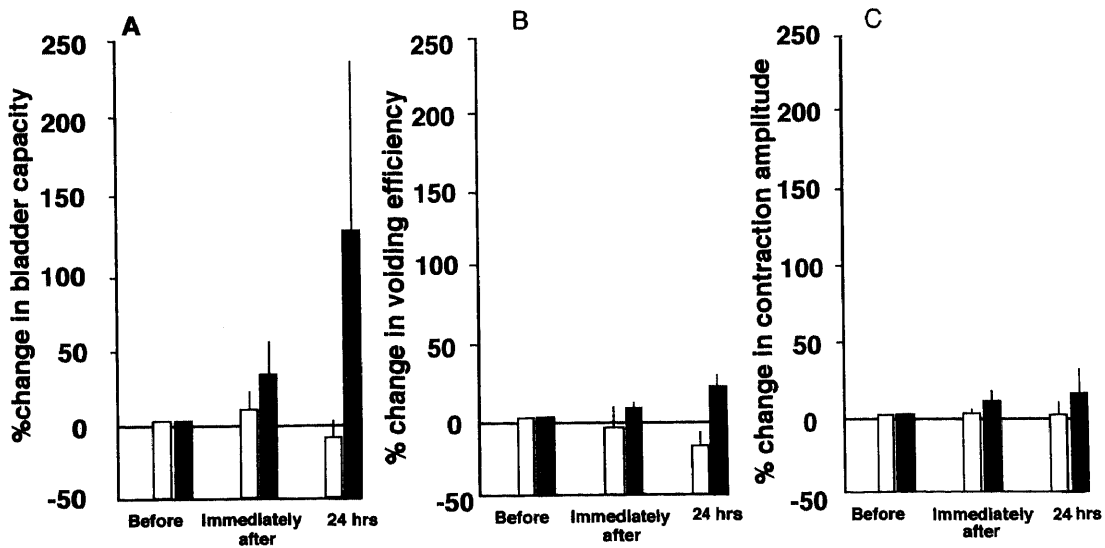


Fig. 11. Effects of nor-BNI on bladder capacity (A), voiding efficiency (B) and contraction amplitude (C) in normal rats. The effects were evaluated before, immediately after and 24 hrs after administration of vehicle (open bar, n = 8) or nor-BNI (closed bar, n = 8).

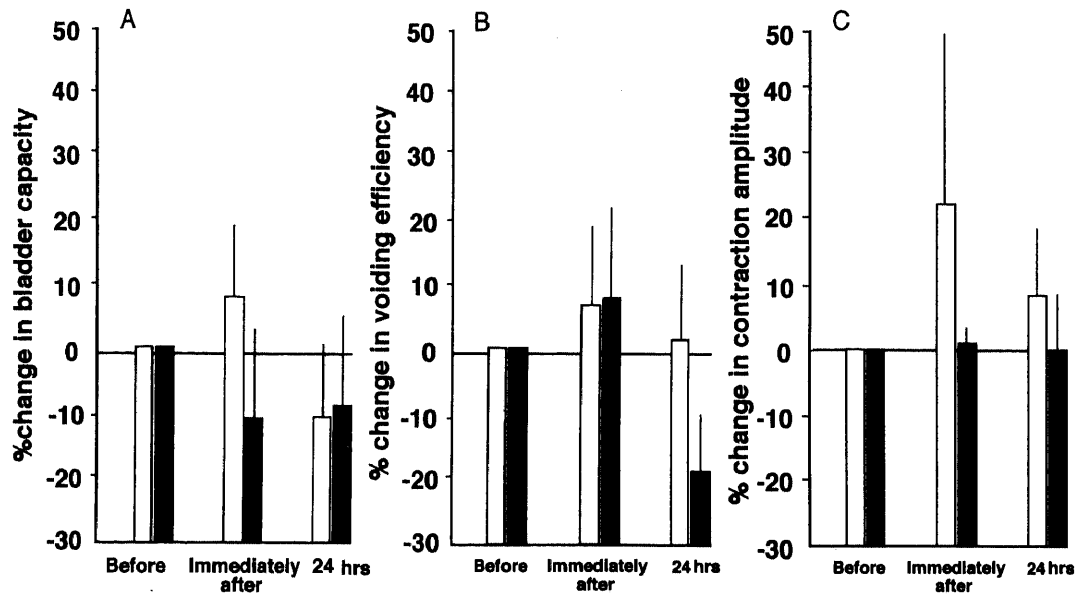


Fig. 12. Effects of nor-BNI on bladder capacity (A), voiding efficiency (B) and contraction amplitude (C) in spinal cord injury (SCI) rats. The effects were evaluated before, immediately after and 24 hrs after administration of vehicle (open bar, n = 8) or nor-BNI (closed bar, n = 8).

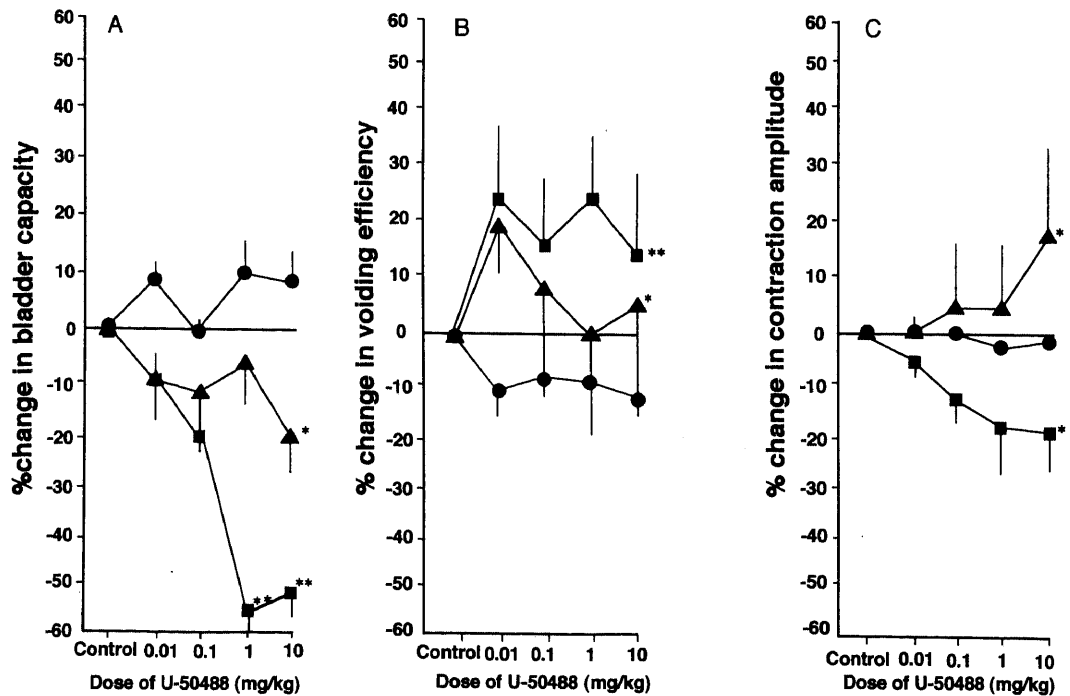


Fig. 13. Dose-response curves of U-50488 (0.01-10 mg/kg iv) in spinal cord injury (SCI) rats pretreated with or without nor-BNI (10 mg/kg) (▲, n = 7; ■, n = 7) on percentage change in bladder capacity (A), voiding efficiency (B) and contraction amplitude (C). To compare effects of U-50488 on these parameters, vehicle was administered to SCI rats 1-hour intervals, amounting to 4 injections (●, n = 7). Values are $\bar{x} \pm \text{SEM}$. *p < 0.05, **p < 0.01, compared to vehicle-administered normal or SCI rats (●).

は認められなかった。

Ⅲ. nor-BNI の排尿反射に対する影響

正常、脊髄損傷ラットにおける膀胱容量、排尿効率、排尿収縮圧の変化率を投与前、nor-BNI 10mg/kg 投与直後、24 時間後で比較した (図 11, 12)。

1. 膀胱容量

正常ラットでは nor-BNI 10mg/kg 投与直後に比べ 24 時間後に膀胱容量の増加が認められたがラット間の増加率に差が大きく有意差は認められなかった (図 11A)。脊髄損傷ラットでは膀胱容量に減少傾向がみられたが、有意な変化ではなかった (図 12A)。

2. 排尿効率、排尿収縮圧、排尿時間

正常、脊髄損傷ラットともに排尿効率 (図 11B, 図 12B)、排尿収縮圧 (図 11C, 図 12C)、排尿時間に有意な変化は認められなかった。

Ⅳ. nor-BNI の U-50488 に対する拮抗作用

脊髄損傷ラットに nor-BNI 10mg/kg を前投与し、その 24 時間後に U-50488 を 0.01, 0.1, 1 および 10mg/kg 累積投与したときの排尿反射への影響について検討した (図 13)。

1. 膀胱容量

膀胱容量に関しては、1 および 10mg/kg の U-50488 による膀胱容量の減少効果は nor-BNI 前投与により消失した (図 13A)。

2. 排尿効率

排尿効率に関しても U-50488 投与でみられた改善が nor-BNI 前投与により減少した (図 13B)。

3. 排尿収縮圧

排尿収縮圧に関しても U-50488 投与によりみられた減少が、nor-BNI 前投与により拮抗された (図 13C)。

以上の結果により、nor-BNI は U-50488 の排尿反射に対する作用に拮抗することが証明された。

考 察

Kruse ら¹⁷⁾は脊髄損傷ラットにみられる排尿障害について報告した。それによるとウレタン麻酔において、コントロールのラットに比べ脊髄損傷ラットの膀胱容量は増大するが、同時に残尿量も増大するため排尿効率が低下し、また異常な外尿道括約筋の運動、すなわち排尿筋の収縮とともに外尿道括約筋が収縮する DSD の状態を呈していたと述べている。

これまでに脊髄損傷モデルの排尿障害についての報告はそのほとんどが麻酔下でのデータであり、少なからず麻酔の影響をうけている可能性があった。今回の実験では覚醒下での検討を行ったため、より生理的条件下に近い状態での評価ができたと思われる。しかし覚醒下であるため、たとえケージ内にラットを拘束しても体動による人工的な筋電図が記録されてしまい、外尿道括約筋筋電図を DSD の指標とするのは困難であった。そこで本研究においては、DSD が下部尿路の通過障害をひきおこしその結果として排尿効率の低下と排尿収縮圧の増大をもたらすことより、排尿効率と排尿収縮圧の相対的变化を DSD のパラメーターとして採用した。

これまで、動物実験において膀胱壁に GABA 受容体が同定され、GABA_B 受容体作動薬であるバクロフェンによって直接排尿筋収縮が抑制されたことが報告され、主に末梢レベルでバクロフェンは効果があるとされていた^{24)~26)}。しかしその後ラットでの連続した膀胱内圧測定により、バクロフェンの作用は

末梢よりもむしろ中枢神経系に直接働いていると考えられるようになった²⁷⁾。このことは犬やラットに対しバクロフェンのクモ膜下腔投与や静脈内投与により、排尿反射の抑制や排尿収縮圧の減弱がみられた結果からも裏付けられている^{27)~29)}。現在バクロフェンは中枢性筋弛緩薬として使用されており、その作用部位は脊髄およびより上位の中枢神経系といわれている。主な作用機序は脊髄における単シナプスおよび多シナプス反射の抑制とされている³⁰⁾。今回の実験においても、投与経路は経静脈的とし、核上型の脊髄損傷ラットをモデルとして用いた。このモデルにおけるバクロフェンの作用部位は、排尿筋の可能性も完全には否定できないが、むしろ切断部以下の脊髄と考えた方がよいと思われる。経静脈的投与により、臨床的応用に向けた評価ができるものと考えられる。

バクロフェン投与において膀胱容量は増加傾向を示したものの有意な変化はみられず、排尿効率の増加と排尿収縮圧の低下がみられたことより DSD の改善が得られた可能性があると思われる。これはバクロフェンが中枢性に、即ちオヌフ核に作用し外尿道括約筋のトーンスを下げたための効果と考えることができる。Blok ら³¹⁾によれば、正常ネコでは、橋排尿中枢からオヌフ核、外尿道括約筋に投射される経路には、仙髄レベルに GABA 性の介在ニューロンが存在し外尿道括約筋の活動を抑制することが知られている。二分脊椎や脊髄損傷状態ではこの介在ニューロンよりも上位の経路が遮断され、膀胱求心路には C 線維を介した新たな排尿の反射弓が生ずる報告がなされているが³²⁾、上位中枢からの投射経路の遮断によりオヌフ核 GABA 受容体の薬理学的変化がもたらされ、バクロフェンの投与でより強くオヌフ核を抑制することができるようになったため排尿効率の改善と排尿収縮圧の低下がみられたと推測される。バクロフェンは痙性麻痺に対する筋弛緩薬として臨床的には使用されているが、精神神経症状などの副作用が問題となることもいわれている。DSD 改善薬としてのバクロフェンの利用にはさらに投与経路や投与量などを慎重に検討する必要もあると思われる。

オピオイドの主な副作用として膀胱の機能低下が知られているが^{33)~38)}、このことは仙髄排尿中枢より上位の中枢の障害でみられる膀胱不随意収縮を有する症例にはその異常な膀胱の活動を低下させる薬剤として、即ち頻尿・尿失禁治療薬としての可能性を示唆しているとも考えられる。Thor ら³⁹⁾は尿閉を呈した痙性麻痺のネコの κ 受容体を活性化することで排尿が促進されたと報告し、さらに内因性オピオイドペプチドであるエチルケトシクラゾシンが外尿道括約筋のトーンスを抑制した結果より κ 受容体が外尿道括約筋の過反射による尿閉に対して有用である可能性を示唆した²¹⁾。また、Cruz ら¹⁰⁾はオピオイド受容体のうち δ 受容体拮抗薬が膀胱の活動を低下させ、 κ 受容体作動薬が外尿道括約筋を弛緩させたとしている。さらに Kalia ら⁴⁰⁾や Sheldon ら⁴¹⁾は、 κ 受容体は仙髄レベルよりもむしろ仙髄より上位で膀胱や尿道の反射を調節していると述べている。

U-50488 は μ 受容体に弱い親和性があり⁴²⁾、 μ 受容体作動薬は膀胱の自発的収縮を抑制することが知られている⁴²⁾⁴³⁾。本実験では U-50488 の排尿に関する作用が κ 受容体拮抗薬である nor-BNI でほとんど完全に拮抗されていることと nor-BNI は μ 受容体に親和性がないことから、本実験においては μ 受容体については考慮する必要がないと考えられた。一方 Dray ら⁴³⁾⁴⁴⁾は

U-50488を脳室内投与あるいはクモ膜下腔内投与しても自発的な膀胱収縮には影響を及ぼさなかったと報告し、これは $20\mu\text{l}$ - $40\mu\text{l}$ という低容量投与のためであろうと述べている。

さらにJyotiら⁴⁵⁾はラットの結腸縦走筋や輪状筋に最高 $10\mu\text{mol/l}$ までのU-50488を投与したが伝導速度に変化はみられなかった⁴⁵⁾としている。したがって本実験で得られた結果は膀胱平滑筋、外尿道括約筋への末梢作用と考えるより、脊髄レベルでの作用と考えた方が良いと考えられる。

今回の実験ではU-50488投与により膀胱容量と排尿収縮圧の有意な減少がみられ、また排尿効率の増加がみられた。本実験で得られた排尿効率の増加と排尿収縮圧の減少は、Abdelmagidら²²⁾のU-50488脊髄腔内投与により膀胱・外尿道括約筋収縮の減弱がみられたという報告に一致している。しかし今回の実験で、膀胱容量の減少という結果が得られたのは、仙髄の排尿に関する神経核のうち、膀胱を収縮させる副交感神経節前ニューロンにはGABA性の抑制性ニューロンが存在し⁴⁶⁾、このGABA性ニューロンに κ_1 オピオイド受容体が存在するためではないかと推測される。すなわち、U-50488がこの介在ニューロンに作用し、副交感神経節前ニューロンに対する抑制性の投射を遮断したため、結果として排尿反射の亢進をもたらしたと考えられる。正常なラットの膀胱機能に対してU-50488はほとんど影響を与えないことより、脊髄損傷後にオヌフ核への投射系が再構築され、新たに κ_1 オピオイド受容体に変化が生じている可能性が示唆された。

本実験の結果より脊髄損傷ラットに対してはU-50488 0.01mg/kg 投与では膀胱容量を減少させずに排尿効率を増加させるという結果が得られている。したがって膀胱を収縮させる副交感神経節前ニューロンとオヌフ核とではU-50488に対する反応性が異なると考えられ、投与量を考慮すれば頻尿を起こさずに排尿効率を改善させようと考えられる。 κ_1 オピオイド受容体作動薬の臨床応用への可能性も示唆された。

結 論

慢性の核上型脊髄損傷ラットにおけるGABAとオピオイドの排尿に対する影響について検討するため、GABA_B受容体作動薬であるバクロフェンと κ_1 オピオイド受容体作動薬であるU-50488を経静脈的に累積投与し、以下の結果を得た。

1. GABA_B受容体作動薬のバクロフェンの経静脈的投与により、脊髄損傷ラットに排尿効率の増加と排尿収縮圧の減少がみられたが、膀胱容量には有意な変化は認められなかった。

2. κ_1 オピオイド受容体作動薬であるU-50488の投与により、脊髄損傷ラットにおいて排尿効率の増加と排尿収縮圧の減少が認められ、この効果はnor-BNI前投与により拮抗された。

以上の結果より脊髄損傷後のDSDに対するバクロフェンの有効性が示唆された。また、 κ_1 オピオイド受容体作動薬に関しても膀胱容量を減少させない用量にて排尿効率の改善が認められたことより、投与量を選べばDSDの治療薬としての可能性もあると考えられた。

謝 辞

稿を終えるに臨み、本研究に終始、懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師並木幹夫教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究に終始直接御指導、御校閲をいただきました横山修講師、小松和人助手に謹んで深謝いたします。また多大なる御協力、御助言をいただきました金沢大学医学部泌尿器科学教室の教室員の皆様にも深く感謝いたします。

最後に、U-50488, nor-BNIを恵与いただきました東レ株式会社医薬研究室の諸氏に感謝いたします。なお、本論文の要旨は第87回日本泌尿器科学会総会(1999年, 大阪), 第6回日本神経因性膀胱学会(1999年, 新潟), 第38回国際パラプレジア医学会(1999年, コペンハーゲン)にて発表した。

文 献

- 1) 土田正義. 排尿の神経支配. 日泌尿会誌 80: 1257-1277, 1989
- 2) Barrington FJF. The central nervous control of mictrition. Brain 51: 209-220, 1928
- 3) Barrington FJF. The component reflexes of mictrition in the cat. Brain 64: 239-243, 1941
- 4) Barrington FJF. The relation of the hind-brain to mictrition. Brain 44: 23-53, 1921
- 5) Barrington FJF. The effect of lesions of the hind-and mid-brain on mictrition in the cat. Q J Exp Psychol B 15: 81-102, 1925
- 6) De Groat WC. Nervous control of the urinary bladder of the cat. Brain Res 87: 201-211, 1975
- 7) De Groat WC, Booth AM, Yoshimura N. Neurophysiology of mictrition and its modification in animal models of human disease. In Maggi CA(ed). Nervous Control of the Urogenital System 3: p227-290, Harwood Academic Publishers, London, 1993
- 8) Blaivas JG. The neurophysiology of mictrition: a clinical study of 550 patients. J Urol 127: 958-963, 1982
- 9) Yokoyama O, Yoshiyama M, Namiki M, De Groat WC. Glutamatergic and dopaminergic contributions to rat bladder hyperactivity after cerebral artery occlusion. Am J Physiol 276: R935-942, 1999
- 10) Nanninga JB, Frost F, Penn R. Effect of intrathecal baclofen on bladder and sphincter function. J Urol 142: 101-105, 1989
- 11) Martin WR, Eades CG, Thompson JA. The effects of morphine-and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-depedent chronic spinal dog. J Pharmacol Exp Ther 197: 517-532, 1976
- 12) Lord JAH, Waterfield AA, Hughes J. Endogenous opioid peptides; Multiple agonists and receptors. Nature 267: 495-499, 1977
- 13) Schuiz R, Wuster M, Krenss H. Selective receptors for beta-endorphin on the rat vas deferens. Life Sci 24: 843-850, 1979
- 14) Glazer E, Basbaum AI. Leucine enkephalin; localization in and axoplasmic transport by sacral parasympathetic preganglionic neurons. Science 208: 1479-1481, 1980
- 15) Kawatani KB, Erdman SL, De Groat WC. Vasoactive intestinal polypeptide and substance P in primary afferent pathways to the sacral spinal cord of the cat. J Comp Neurol 241: 327-347, 1985
- 16) Castanas E, Blanc D, Bourhim N, Cupo A, Cantau P, Giraud P, Reassessment of opioid binding sites in the rat brain, Neuropeptides 7: 369-380, 1986
- 17) Kruse MN, Belton AL, De Groat WC. Changes in bladder and external urethral sphincter function after spinal cord injury in the rat. Am J Physiol 264: 1157-1163, 1993

- 18) Cruz L, Basbaum AI. Multiple opioid peptides and the modulation of pain: immunohistochemical analysis of dynorphin and enkephalin in the trigeminal nucleus caudalis and spinal cord of the cat. *J Comp Neurol* 240: 331-348, 1985
- 19) De Groat WC, Kawatani M, Hisamitsu AM, Lowe I, Morgan C, Roppolo J, Booth AM, Nadelhaft I, Kuo D, Thor B. The role of neuropeptides in the sacral autonomic reflex pathways of the cats. *J Auton Nerv Syst* 7: 339-350, 1983
- 20) Kawatani M, Lowe IP, Booth AM, Backers MG, Erdman SL, De Groat WC. The presence of leucine-enkephalin in the sacral preganglionic pathway to the urinary bladder of the cat. *Neurosci Lett* 39: 143-145, 1989
- 21) Thor KB, Hisamitsu T, Roppolo J, Tuttle P, Nagel J, De Groat WC. Selective inhibitory effects of ethylketocyclazocine on reflex pathways to the external urethral sphincter of the cat. *J Pharm Exp Ther* 243: 1018-1025, 1989
- 22) Abdelmagid ME, Gajewski JB. Modulation of feline bladder and distal urethral responses to dorsal sacral root stimulation by intrathecal administration of a kappa 1 opioid agonist. *Urology* 49: 802-807, 1997
- 23) Kruse MN, Bennett B, De Groat WC. Effect of urinary diversion on the recovery of micritition reflexes after spinal cord injury in the rat. *J Urol* 151: 1088-1091, 1994
- 24) Barany M. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. *J Gen Physiol* 50:197-221, 1967
- 25) Kusunoki M, Taniyama K, Tanaka C. Neuronal GABA release and GABA inhibition of Ach release in guinea-pig urinary bladder. *Am J Physiol* 246: R502-509, 1984
- 26) Maggi CA, Santicoli P, Giuliani S, Furio M, Conte B, Meli P, Grangnani L, Meli A. The effect of baclofen on spinal and supraspinal micritition reflexes in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharm* 336: 197-203, 1987
- 27) Igawa Y, Mattiasson A, Anderson KE. Effect of GABA-receptor stimulation and baclofen on micritition normal rats with bladder outflow obstruction. *J Urol* 150: 537-542, 1993.
- 28) Magora F, Shazar M, Drengar B. Urodynamic studies after intrathecal administration of baclofen and morphine in dogs. *Urol* 141: 143-147, 1989
- 29) Hachen HJ, Krucker V. Clinical and laboratory assessment of efficacy baclofen on urethral sphincter spasticity in patients with traumatic paraplegia. *Eur Urol* 3: 237-240, 1977
- 30) McKenna KE, Schramm LP. Baclofen inhibits sympathetic preganglionic neurons in an isolated spinal cord preparation. *Neurosci Lett* 47: 85-88, 1984
- 31) Blok BFM, Holstege G. The pontine micritition center projects to sacral cord GABA immunoreactive neurons in the cat. *Neurosci Lett* 222: 195-198, 1997
- 32) De Groat WC, Mechanisms underlying the recovery of urinary bladder function following spinal cord injury. *J Auton Nerv Syst* 30: 571-577, 1990
- 33) Green J, Jaffe JH. Alcohol and opiate dependence; a review. *J Stud Alcohol* 38: 1274-1293, 1977
- 34) Magora F, Oshwang D, Eimerl D, Shorr J, Katzenelson R, Cotev S, Davidson JT. Observations on extradural morphine analgesia in various pain conditions. *Br J Anaesth* 52: 247-252, 1980
- 35) Reiz S, Westberg M. Side effects of epidural morphine. *Lancet* 2: 203-204, 1980
- 36) Torda TA, Pybus D, Liberman H, Clark M, Crawford M. An experimental comparison of epidural and intramuscular morphine. *Br J Anaesth* 52: 920-943, 1980
- 37) Weddel SJ, Ritter RR. Serum levels following epidural administration of morphine and correlation with relief of postsurgical pain. *Anesthesiology* 54: 210-214, 1981
- 38) Yaksh TL. Spinal opiate analgesia; characteristics and principles of action. *Pain* 11: 293-346, 1981
- 39) Thor KB, Morgan CW, Nadelhaft I, Houston MB, De Groat WC. Afferent and efferent components of the pudendal nerve of the female cat. *J Comp Neurol* 228:263-271, 1989
- 40) Kalia PK, Madan R, Saksena R, Barta RK, Gode GR. Epidural pentazocine for postoperative pain relief. *Anesth Analg* 62: 949-950, 1983
- 41) Sheldon RJ, Nunan L, Porreca F. Mu antagonist properties of kappa agonists in a model of rat urinary bladder motility in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 243: 234-240, 1987
- 42) Lahti RA, VonVoigtlander PF, Barsuhn. Properties of a selective kappa agonist, U-50488H. *Life Sci* 31: 2257-2260, 1982
- 43) Dray A, Metsch R. Inhibition of urinary bladder contractions by a spinal action of morphine and other opioids. *J Pharmacol Exp Ther* 231: 254-260, 1984
- 44) Dray A, Metsch R. Opioid receptor subtypes involved in the central inhibition of urinary bladder motility. *Eur J Pharmacol* 104: 47-53, 1984
- 45) Jyoti NS, Xin S, Gerald FG. κ , but not μ or δ , Opioids attenuate responses to distention of afferent fibers innervating the rat colon. *Gastroenterology* 111: 968-980, 1996
- 46) De Groat WC. The effects of glycine GABA and strychnine on sacral parasympathetic preganglionic neurons. *Brain Res* 18: 542-544, 1970

Roles of γ -Aminobutyric Acid and κ_1 Opiate in Urinary Dysfunction Associated with Chronic Spinal Cord Injury Rats Eiko Mita, Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — J. Juzen Med Soc., 110, 106 – 116 (2001)

Key words chronic spinal cord injury rats, detrusor-sphincter dyssynergia, γ -aminobutyric acid, κ_1 opiate

Abstract

It has been reported that the γ -aminobutyric acid (GABA) receptor agonist, baclofen, can relieve severe bladder spasticity in chronic spinal cord (SCI) patients and that the κ_1 opiate receptor agonist, U-50488, diminishes the bladder and urethral responses to sacral dorsal root stimulation. This study was undertaken to determine whether baclofen and U-50488 can reduce detrusor-sphincter dyssynergia (DSD) and thus improve voiding efficiency in conscious SCI rats or not. Experiments were conducted on female Sprague-Dawley rats (180-200 g) whose spinal cord was completely transected at the T6 level 4 weeks prior to cystostomy. Saline was infused (1.0 mg/min) via the cystostomy into the bladder of SCI rats held in restraining cages and the catheter was extruded from the back of the neck. Voiding efficiency was determined by measuring voided and residual volumes. After performing control cystometry, cumulative doses of baclofen (0.01, 0.1, 1 and 10 mg/kg iv) and U-50488 (0.01, 0.1, 1 and 10 mg/kg iv) were administered at 60 minute intervals. Baclofen significantly reduced contraction amplitude ($p < 0.05$; 0.1 and 1 mg/kg) and significantly increased voiding efficiency ($p < 0.01$; 0.1 mg/kg), there was but no detectable effect on bladder capacity. U-50488 significantly decreased contraction amplitude ($p < 0.01$; 0.01 and 1 mg/kg), but reduced the bladder capacity ($p < 0.05$; 1 and 10 mg/kg). Nor-BNI, a κ_1 opiate receptor antagonist, counteracted the effect of the U-50488-induced changes. These results suggest that baclofen and U-50488 might be useful for treating DSD associated with SCI. Our model of cystometry evaluation in the conscious animal is expected to be useful for the evaluation of new pharmacological regimens for neurogenic bladder dysfunction.