# 蓄尿作用を有する inaperisone の橋における作用部位の同定

秋田大学医学部泌尿器科学教室（主任：土田正義教授）
菅谷 公男，西沢 理，能登 宏光，塚田 大星
小浜 丈夫，下田 直威，原田 忠，土田 正義
北陸製薬株式会社中央研究所
森 川 宏 二

# IDENTIFICATION OF EFFECTIVE REGION OF THE PONS IN RESPONSE TO INAPERISONE WHICH FACILITATES URINE STORAGE

Kimio Sugaya, Osamu Nishizawa, Hiromitsu Noto
Taisei Tsukada, Takeo Kohama, Naotake Shimoda,
Tadashi Harada and Seigi Tsuchida
*From the Department of Urology, Akita University School of Medicine*
Kouji Morikawa
*From the Research Laboratories, Hokuriku Seiyaku Co.*

To identify the effective region of the pons in response to inaperisone which facilitates urine storage, inaperisone (100 mM, 0.2 $\mu$l) was injected into the nucleus locus coeruleus alpha (LCa, the pontine micturition center), the nucleus locus subcoeruleus (LSC, the pontine urine storage center) and the nucleus reticularis pontis oralis (PoO, micturition inhibitory region) of the decerebrate cats. On reflex micturition, inaperisone injection into the LSC decreased voiding volume, and increased residual volume and bladder capacity, significantly. However, there was no difference in the maximum bladder pressure before and after inaperisone injection into the LSC. Inaperisone injection into the LCa or the PoO had no influence on reflex micturition. These results suggest that effective region of the pons in response to inaperisone is the LSC, and that inaperisone facilitates the urine storage neural mechanism in the LSC.

(Acta Urol. Jpn. 37: 1639-1644, 1991)

**Key words:** Pollakisuria, Inaperisone, Pontine urine storage center, Nucleus locus subcoeruleus

## 緒 言

中枢性骨格筋弛緩薬である baclofen は，不安定膀胱による頻尿症状に対して有効であり[1]，また排尿反射を抑制することが報告されている[2,3]．最近，北陸製薬株式会社中央研究所で開発した中枢性骨格筋弛緩薬の（±)-4'-ethyl-2-methyl-3-(1-pyrrolidinyl) propiophenone hydrochloride（以下，inaperisone）もまた，膀胱収縮抑制作用があり頻尿治療薬として期待されている[4]．森川ら[4]は麻酔下の各種動物を用いた実験で，inaperisone は律動性膀胱収縮を抑制し，膀胱容量を増加させると報告しており，また麻酔下ラットへの静脈内投与，第4脳室内投与，脊髄クモ膜下腔内投与や膀胱直接投与の実験から，脳室内投与が最も低用量で膀胱収縮を抑制したと報告している．しかし，脳内のどの領域に inaperisone が作用して膀胱収縮を抑制したのかは明らかではない．そこで本研究では，除脳ネコを用いて橋排尿中枢である青斑核アルファ（LCa)[5,6]，橋蓄尿中枢である青斑下核，(LSC)[7]と膀胱収縮を抑制する吻側橋網様核背側部（PoO)[8,9]に inaperisone を局所注入し，橋における inaperisone の作用部位を同定したので報告する．

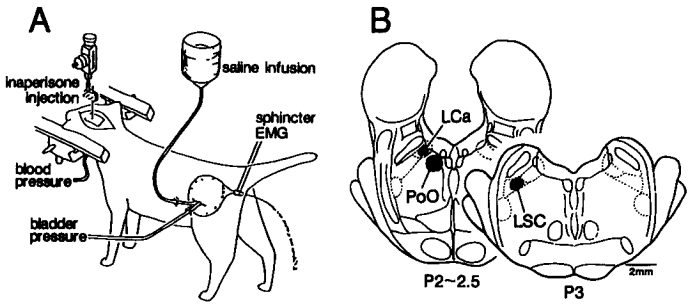


Fig. 1. Diagram of experimental setup (A) and inaperisone injection sites (B). LCa; the nucleus locus coeruleus alpha, LSC; the nucleus locus subcoeruleus, PoO; the nucleus reticularis pontis oralis.

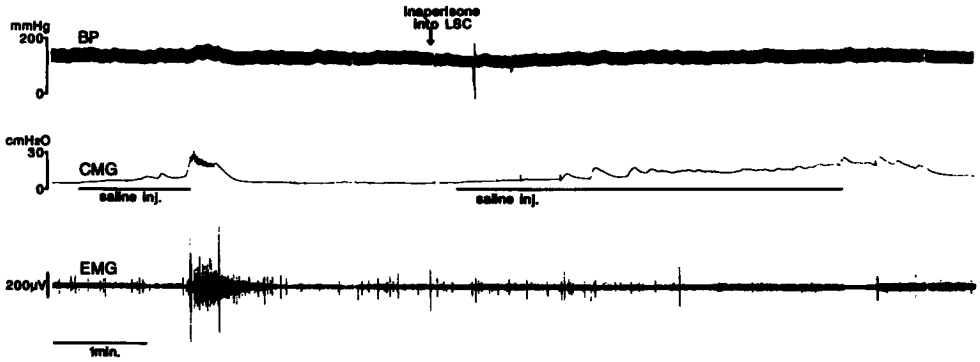


Fig. 2. Representative recording of blood pressure, cystometry and the external urethral sphincter EMG before and after inaperisone injection into the LSC.

## 実 験 方 法

実験には体重 2.5～5.5 kg の雌雄のネコを10頭用いた．エレトンと笑気の吸入麻酔下に下腹部を切開し，膀胱頂部から膀胱内に 6Fr. 2腔カテーテルを挿入し，一方を水注入路，他方を膀胱内圧測定路とした．また，内頸動脈に血圧測定用 4Fr. カテーテルを挿入し，気管切開して気管チューブを挿入した．頸部を閉創した後，頭蓋骨を除去し，上丘前縁と乳頭体後縁を結ぶ面で除脳した．除脳後は麻酔を止め，動物を脳定位固定装置に固定し，会陰部から 50 μm の2本のワイヤー電極を 1～2 cm 刺入して外尿道括約筋筋電図を導出した (Fig. 1A). Inaperisone の橋への注入前に，膀胱内に生理食塩水を注入して反射性排尿を繰り返し起こし，膀胱内への注入開始から1～2分で反射性排尿が起こる注水速度とした後，排尿閾値膀胱容量と最大膀胱収縮圧が一定したところで control とした．Inaperisone は生理食塩水に溶解して 100 mM 濃度とし，先端直径が 30 μm の微小ガラス管に充塡して stereotaxic にガラス管先端を LCa, LSC または PoO に刺入し，inaperisone 溶液 0.2 μl を圧注入した．Horsley-Clarke 軸上の青斑核アルファは，p 2.5, LR2.5, H－2.5 で，青斑下核は P 3.0, LR 3.2 H－3.2 を，吻側橋網様核は P 2.0, LR 1.7, H－2.7 を目標とした (Fig. 1B). Inaperisone の橋への注入後に再び膀胱内に生理食塩水を注入して反射性排尿を繰り返し起こし，反射性排尿の変化を解析した．1頭で1～2回の inaperisone 注入実験を行ったが，2回目の注入は1回目の注入の影響がなくなった1時間以上後に対側に対して行った．生理実験の終了後に微小ガラス管を脳幹から抜き，電気刺激用微小ガラス管電極を同部位に刺入して inaperisone 注入部位に直流通電 (30～50 μA, 30～50秒) し，微小破壊巣を作製した．脳幹を取り出して10% formalin 溶液で固定した後，50 μm の横断切片を作製して微小破壊巣の局在部位を確認した．

## 結 果

LCa と PoO への inaperisone 注入前後では反射性排尿が生じ，排尿量，残尿量，膀胱容量と最大膀

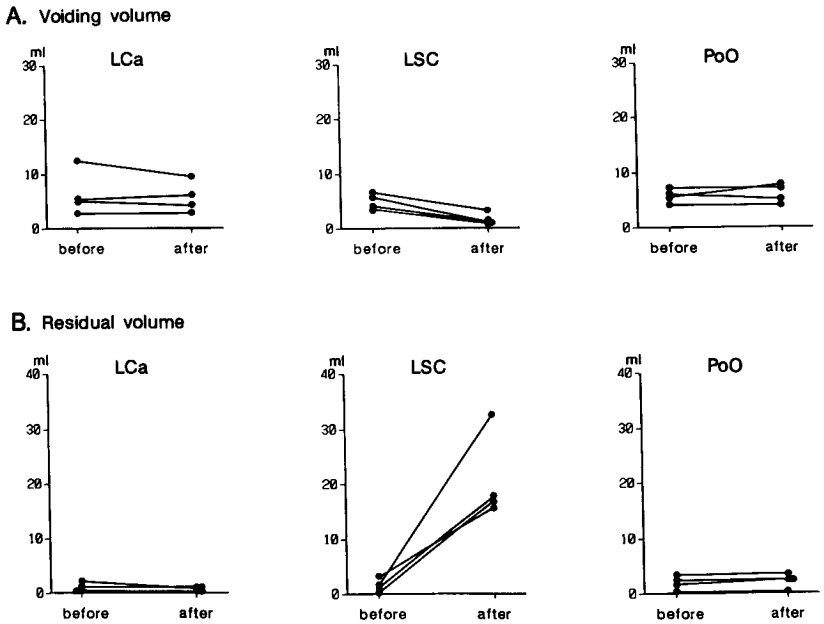


Fig. 3. Voiding volume (A) and residual volume (B) before and after inaperisone injection into the LCa, the LSC and the PoO.

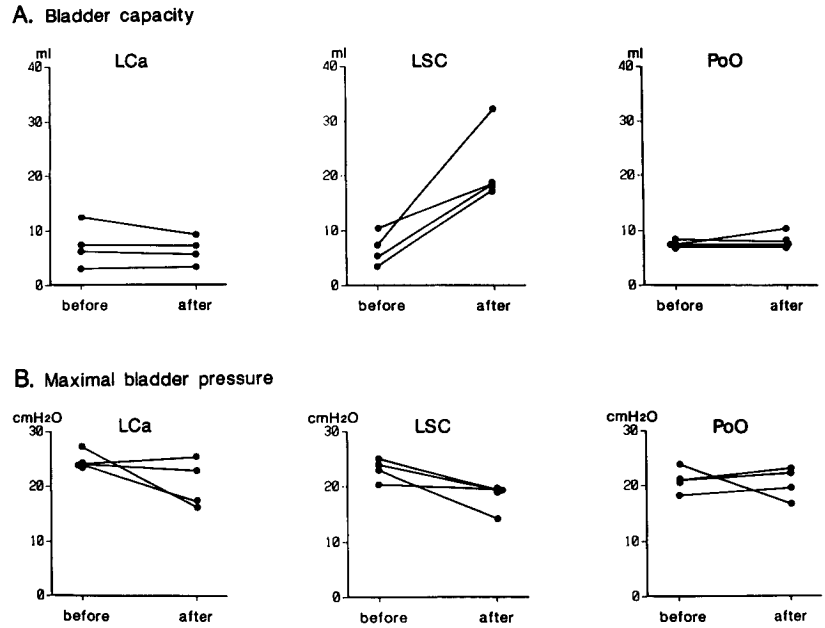


Fig. 4. Bladder capacity (A) and the maximum bladder pressure (B) before and after inaperisone injection into the LCa, the LSC and the PoO.

胱収縮圧のいずれにも有意差はなく，外尿道括約筋筋電図にも変化はなかった (Table 1). また，inaperisone 注入後に繰り返し反射性排尿を起こしても，ほぼ一定の反射性排尿が生じ，時間経過とともに排尿パターンが変化することはなかった. LSC へ inaperisone を注入すると膀胱空虚時の筋電図は一時的に増強する例も2例あったがまもなく注入前のレベルとなり，膀胱内へ注入しても排尿反射は抑制され，溢流性

Table 1. Urodynamic parameters before and after inaperisone injection into the LCa, the LSC and the PoO.

| Injection site | Time | Voiding volume (ml) | Residual volume (ml) | Bladder capacity (ml) | Maximum bladder pressure ($cmH_2O$) |
|---|---|---|---|---|---|
| LCa (n=4) | before | 6.6±3.6 | 0.7±0.7 | 7.3±3.5 | 24.8±1.3 |
| | after | 5.8±2.3 | 0.5±0.5 | 6.3±2.2 | 20.3±3.7 |
| LSC (n=4) | before | 5.1±1.3 ** | 1.6±1.2 * | 6.7±2.5 * | 22.8±1.8 |
| | after | 1.5±1.0 | 21.0±7.0 | 22.5±6.7 | 18.2±2.2 |
| PoO (n=4) | before | 5.8±1.1 | 1.8±1.1 | 7.6±0.5 | 21.1±2.0 |
| | after | 6.2±1.6 | 2.0±1.2 | 8.2±1.3 | 20.5±2.7 |

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ (Mean±S.D.)

尿失禁となるか，排尿反射が出現しても少量の排尿があるのみで多量の残尿が生じた（Fig. 2）．LSC への inaperisone 注入前後で排尿量は 5.1±1.3 ml（平均±標準偏差）から 1.5±1.0 ml へと有意（$p<0.01$, paired t test）に減少し，残尿量は 1.6±1.2 ml から 21.0±7.0 ml へと有意（$p<0.05$）に増加した（Fig. 3）．また，膀胱容量も 6.7±2.5 ml から 22.5±6.7 ml へと有意（$p<0.05$）に増加したが，最大膀胱収縮圧には差がなかった（Fig. 4）．Inaperisone の注入後は時間経過とともに反射性排尿が回復していったが，注入前の反射性排尿と同程度に回復するには1時間以上を要した．薬剤注入は血圧に影響をおよぼさなかった．組織学的には，inaperisone 注入部位に作製した微小破壊巣は正確に目標の神経核にあった．

## 考　　察

私たちのこれまでの除脳ネコを用いた実験では，LCa への電気刺激や carbachol 注入は排尿を誘発し[5,6]，LSC への持続電気刺激は外尿道括約筋を収縮させて膀胱収縮を抑制した[7]．また，PoO への carbachol 注入は膀胱収縮を抑制したが[9]，PoO への carbachol 注入時には PoO の神経細胞は興奮することが報告されている[10]．したがって，橋においては，LCa は排尿促進神経機構の，LSC と PoO は排尿抑制神経機構すなわち蓄尿神経機構のそれぞれ重要な部分を構成していることが考えられる．

私たちはまた，橋のこれらの神経核に各種の神経伝達物質を注入する化学的刺激実験を行い，反射性排尿におよぼす効果を検討している．LCa への noradrenaline や carbachol の注入は反射性排尿において膀胱容量を減少させて最大膀胱収縮圧を上昇させる排尿促進効果があり，leusine-enkephalin や gamma-aminobetyric acid（GABA）の注入は逆に排尿抑制効果があった[6]．また，LSC への noradrenaline, carbachol, leucine-enkephalin の注入は排尿抑制効果があり，GABA の注入は排尿促進効果があったが，いずれの薬剤の LSC への注入も膀胱収縮圧にはあまり影響をおよぼさなかった[7]．さらに，PoO への noradrenaline, GABA の注入は排尿促進効果があり[8]，carbachol 注入は排尿抑制効果があった[9]．このように，noradrenaline, carbachol, leusine-enkephalin と GABA は，LCa, LSC, PoO のうちの2～3カ所の注入で排尿反射に影響を有し，同一薬剤でも注入部位によっては異なった効果，すなわち排尿に対して促進や抑制を示したり，また同一の効果を示したりした．しかし，inaperisone のこれら3カ所への注入では LSC だけに効果があり，LSC への各種神経伝達物質の注入と同様に，膀胱収縮圧にはあまり影響をおよぼさなかった．したがって，inaperisone による膀胱収縮抑制作用は，橋においては LSC の蓄尿神経機構に対する促進効果と考えられる．

本実験で用いた inaperisone は，baclofen と同様に中枢性骨格筋弛緩作用がある[11-13]．Baclofen は抑制性神経伝達物質とされる GABA の $GABA_B$ 受容体の agonist であるが[14,15]，inaperisone が baclofen と同様の作用機序で骨格筋弛緩作用を示すのかは明らかにされていない．しかし，排尿に関しては，Kontani ら[3]が，麻酔下ラットへの baclofen の静脈内投与，第4脳室内投与と脊髄クモ膜下腔内投与の実験から，脳室内投与が最も低容量で膀胱収縮を抑制したと報告しており，森川ら[4]の inaperisone を用いた実験と同じ成績である．また最近，Morikawa ら[16]はラットへの inaperisone の静脈内投与による排尿抑制効果が，$GABA_B$ 拮抗薬の phaclofen 投与により拮抗されることを報告しており，inaperisone も baclofen と同様に $GABA_B$ 受容体を介して作用していることが考えられる．この場合，本成績では inaperisone は LSC の蓄尿神経機構のなかの抑制性経路を抑制して，結果として蓄尿促進（排尿抑制）効果を示したと考えられる．

一方，前述のように，GABA の LSC への注入では inaperisone と異なり排尿が促進される[7]．この違いの理由としては，$GABA_A$ 受容体と $GABA_B$ 受容体の分布に差があること[14]，LSC のなかの蓄尿促進機構の構成ニューロンにある GABA 受容体はおもに $GABA_A$ 受容体で，その機構に抑制をかけるニューロンにある GABA 受容体はおもに $GABA_B$ 受容体であること，また，代謝されやすい GABA に比べて比較的長く作用を示す inaperisone の周囲への拡散効果の出現などが推測されるが詳細は不明である．ただ，inaperisone の拡散効果の可能性については，LSC に隣接する LCa や PoO への inaperisone 注入では反射性排尿に変化はみられず，時間経過とともに反射性排尿が抑制されることもなかったことから否定的であろう．また，LCa や PoO への inaperisone 注入で反射性排尿に変化がなかったのは，これらの神経核には $GABA_B$ 受容体が少ない可能性を示しているものと思われる．

橋の蓄尿に働く部位に関するこれまでの報告は，ネコ[7,8,17,18]およびイヌ[19]を用いた電気刺激法で検討され，LSC やその隣接領域とされている．しかし，橋排尿中枢が排尿反射に必須の領域であるのに，LSC が蓄尿にとってどの程度の重要性を持つのかは不明であった[20]．それは橋より下位の脊髄に蓄尿のための反射中枢が存在するからである．この点に関して，inaperisone の LCa, LSC と PoO への注入で LSCへの注入時のみ蓄尿促進作用を示した本成績と，inaperisone の静脈内投与，第4脳室内投与と脊髄クモ膜下腔内投与で，脳室内投与が最も低容量で膀胱収縮を抑制したとの森川ら[4]の報告から，LSC が橋蓄尿中枢としての重要な役割を担っていることが考えられる．

ここ10年ほどの間に，排尿や蓄尿に関与する中枢神経機構の解析が進んでいるが[20]，これまで baclofen 以外に中枢神経に作用して頻尿を尿失禁に対する治療効果を期待できる薬剤の報告はなかった．その baclofen の脳内への移行は，経口投与で最高血中濃度の約20分の1[21]であるのに対し，同じく経口投与での inaperisone の最高脳内濃度は最高血中濃度の約2倍[22]であることが報告されている．したがって，橋蓄尿中枢に作用して膀胱収縮を抑制する inaperisone は，高位中枢神経系の障害で頻尿や尿失禁を呈する神経因性膀胱患者の治療薬として十分期待できると考えられる．

## 結　　語

膀胱収縮抑制作用のある中枢性筋弛緩薬の inaperisone を，除脳ネコの橋排尿中枢である青斑核アルファ（LCa），橋蓄尿中枢である青斑下核（LSC）と膀胱収縮抑制作用のある吻側橋網様核背部（PoO）に局注し，反射性排尿におよぼす効果を検討した．

1）LCa と PoO への inaperisone 注入では，反射性排尿になんら変化がみられなかった．

2）LSC への inaperisone 注入では膀胱容量の増加，排尿量の減少と残尿量の増加がいずれも有意であったが，最大膀胱収縮圧には影響しなかった．

3）以上から，inaperisone による膀胱収縮抑制作用は，橋においては LSC の蓄尿神経機構に対する促進効果と考えられ，inaperisone は高位中枢神経系の障害で頻尿や尿失禁を呈する神経因性膀胱患者の治療薬として期待できると考えられた．

本研究の一部は，文部省科学研究費一般研究（B），No 02454366 の援助によるものである。本論文の要旨は，第32回日本平滑筋学会総会（軽井沢，1990月6月）において発表した。

## 文　　献

1）Taylor MC and Bates CP: A double-blind crossover trial of baclofen, a new treatment for the unstable bladder syndrome. Br J Urol **51**: 504-505, 1979
2）Maggi CA, Santicioli P, Giuliani S, et al.: The effects of baclofen on spinal and supraspinal micturition reflexes in rats. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol **336**: 197-203, 1987
3）Kontani H, Kawabata Y and Koshiura R: The effects of baclofen on the urinary bladder contraction accompanying micturition in anesthetized rats. Jpn J Pharmacol **46**: 7-15, 1988
4）森川宏二，垣内正人，山内利栄，ほか：(±)-4'-Ethyl-2-methyl-(1-pyrrolidinyl) propiophenone hydrochloride（HY-770）の膀胱機能に及ぼす作用．日薬理誌 **92**：311-324, 1988
5）Sugaya K, Matsuyama K, Takakusaki K, et al.: Electrical and chemical stimulations of the pontine micturition center. Neurosci Lett **80**: 197-201, 1987
6）菅谷公男：除脳ネコの橋排尿中枢に対する化学的刺激の効果に関する研究．日泌尿会誌 **79**：1364-1371, 1988
7）松崎章：除脳ネコの橋における蓄尿機構に関する研究．日泌尿会誌 **81**：672-679, 1990
8）Sugaya K, Nishizawa O, Noto H, et al.: Effect of chemical stimulations of pontine regions on micturition and urine storage in decerebrate cats. Neurosci Res Suppl **11**: S17, 1990

9) 菅谷公男，西沢 理，鈴木隆志，ほか：ネコ吻側橋網様核の膀胱平滑筋抑制作用．日本平滑筋誌 **24**：237-239, 1988
10) Takakusaki K, Matsuyama K, Ohta Y, et al.: Cholinergically activated reticulospinal inhibitory pathway to hindlimb alpha-MNs in decerebrate cats. J Physiol Soc Jpn **49**: 286, 1987
11) Morikawa K, Oshita M, Yamazaki M, et al.: Pharmacological studies of the new centrally acting muscle relaxant 4'-ethyl-2-methyl-3-pyrrolidino-propiophenone hydrochloride. Arzneimittelforschung **37**: 331-336, 1987
12) 紺谷 仁，真野章弘，越浦良三，ほか：2-methyl-3-amino-propiophenone 関連化合物の中枢性筋弛緩作用．日薬理誌 **89**：91-101, 1987
13) 山崎光雄，青木康治，加藤日出男，ほか：2-methyl-3-pyrrolidinopropiophenone 誘導体の中枢性筋弛緩作用．薬学雑誌 **107**：705-710, 1987
14) Bowery NG, Price GW, Hudson AL, et al.: GABA receptor multiplicity visualization of different receptor types in the mammalian CNS. Neuropharmacology **23**: 219-231, 1984
15) 岡田安弘，花田 進，米田一志：GABA 受容体の生理・生化・薬理学．神経進歩 **30**：606-619, 1986
16) Morikawa K, Hashimoto S, Yamauchi T, et al.: Inhibitory effect of inaperisone hydrochloride (HY-770U) on the micturition reflex and its mechanism. Jpn J Pharmacol Suppl 1 **55**: 156, 1991
17) Kuru M: Nervous control of micturition. Physiol Rev **45**: 425-494, 1965
18) Holstege G, Griffiths D, De Wall H, et al.: Anatomical and physiological observations on supraspinal control of bladder and urethral sphincter muscles in the cat. J Comp Neurol **250**: 449-461, 1986
19) Nishizawa O, Sugaya K, Noto H, et al.: Pontine urine storage center in the dog. Tohoku J Exp Med **153**: 77-78, 1987
20) 土田正義：排尿の神経支配．日泌尿会誌 **80**：1257-1277, 1989
21) 山本博之，九鬼基翁，尾崎昌宣：β-(p-Chlorophenyl)-GABA (Baclofen) の吸収，分布，代謝ならびに排泄（第1報），ラットにおける吸収と生体内動態．応用薬理 **14**：97-108, 1977
22) 永田 治，高原栄二，反保浩一，ほか：HY-770の体内動態(第1報)マウス，ラットおよびイヌにおける吸収，分布，排泄．薬物動態 **4**：83-100, 1989

(Received on January 23, 1991
Accepted on April 18, 1991)