

山梨県若手研究者奨励事業 研究成果概要書

所属機関名

山梨大学大学院総合研究部医学域

職名・氏名

臨床助教・志村 寛史 (印)

1 研究テーマ

排尿・蓄尿における前帯状皮質のニューロン活動の解明

2 研究の目的

これまでブラックボックスとされてきた大脳における下部尿路機能（排尿・蓄尿）に関わるニューロンの活動を、領域単位ではなく個々のニューロン単位で詳細に観察する。これにより、排尿・蓄尿に関わるニューロンがどこでどれだけ活動しているか把握することができ、複雑な排尿中枢の全容解明に繋がる。中枢神経が原因とされる難治性下部尿路機能障害の病態解明や治療法開発の端緒となる。

3 研究の方法 (図 1)

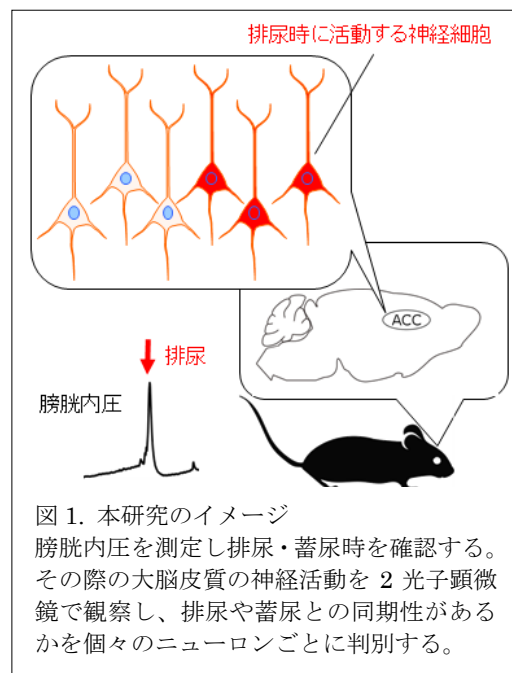
① 対象脳領域：大脳皮質においてこれまで下部尿路機能への関与が強く示唆されてきた前帯状皮質 (Anterior cingulate cortex; ACC) と一次運動野 (M1)。ACC においては投射先と想定される中脳水道灰白質 (periaqueductal gray; PAG) へ投射しているニューロンに限定しての観察も行う。

② マウス：WT (野生型) マウス 10 週齢程度

③ ウイルス注入：カルシウムセンサーを発現させるウイルスを標的領域に注入 (観察 1 ヶ月前)

④ 観察：標的領域上の骨を除去し 2 光子顕微鏡下で神経活動 (カルシウムの動態) を観察

⑤ 膀胱内圧測定：麻酔下で、膀胱に挿入したカテーテルで膀胱内圧を計測しながら、蓄尿・排尿のサイクルを繰り返す



4 研究の成果

I. ACC における神経活動

同領域の 1mm の深さまで神経活動を捉えることができた。全体の細胞 (3 個体 13,719 個) 中、ごくわずかな細胞が図 2 のように排尿時に活動が同期して上昇していた。また、

留意事項

① 3 枚程度で作成してください。

② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

図 2. 2 光子顕微鏡による ACC のニューロンの活動の 1 例

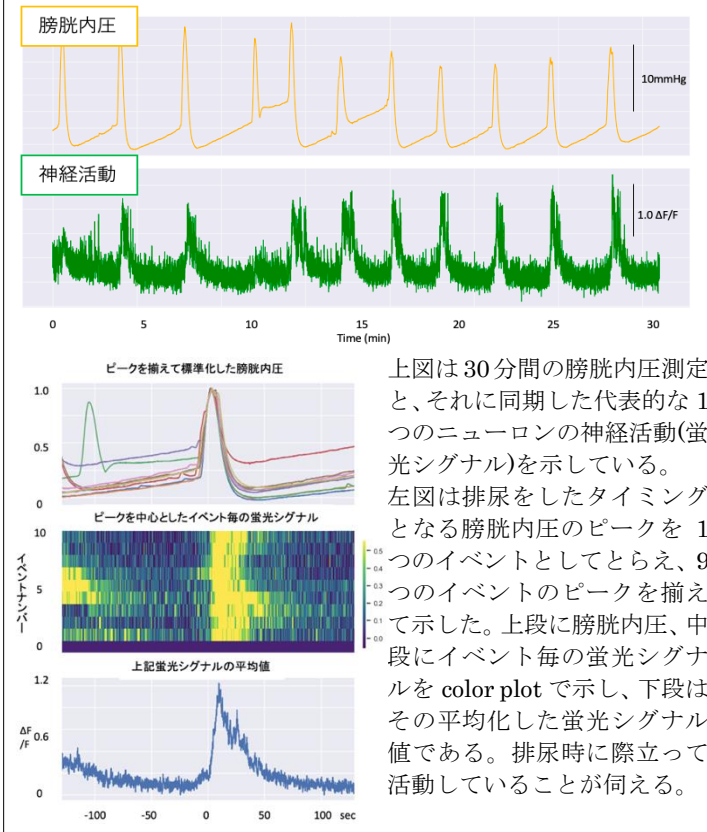
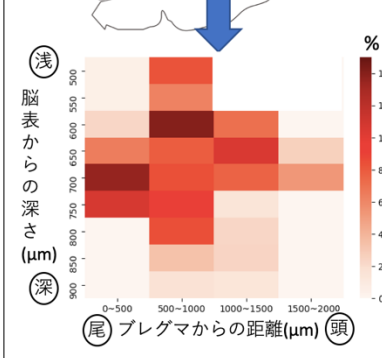
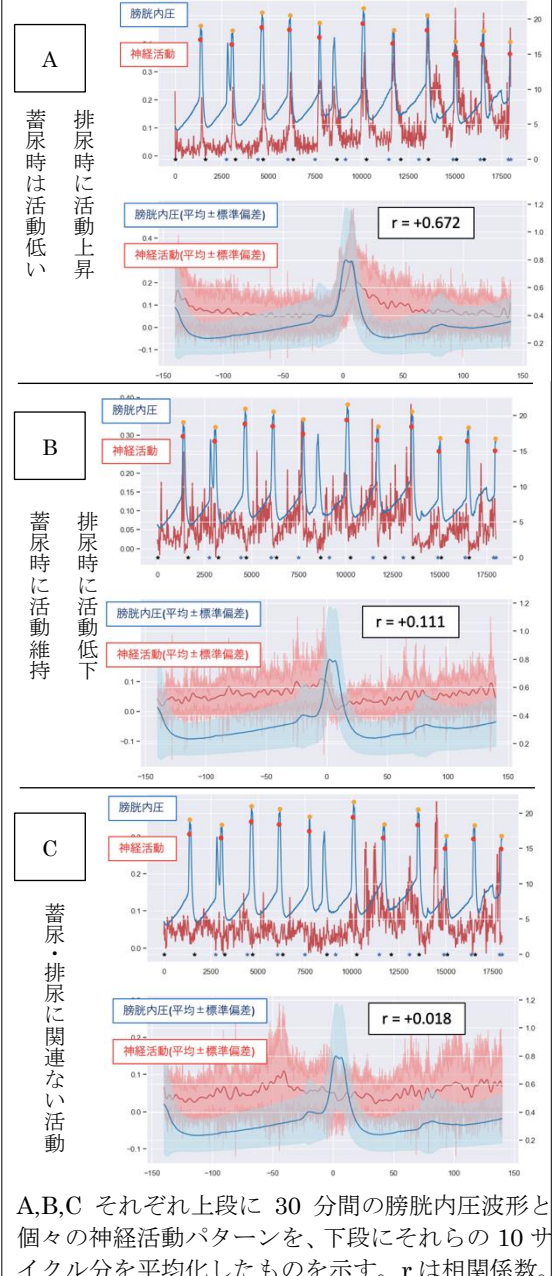


図 4. ACC における相関係数の高い (>0.4) 細胞のマッピング



3 個体中の 13,719 細胞の神経活動と膀胱内圧との相関係数(r)を計算した。正の相関が高いとされる $r > 0.4$ となる細胞の占める割合を%で示し、ACC の座標上にヒートマップで示した。なお、全座標中では $r > 0.4$ となる割合は 5.88%であった。

図 3. 活動パターンの種類の例



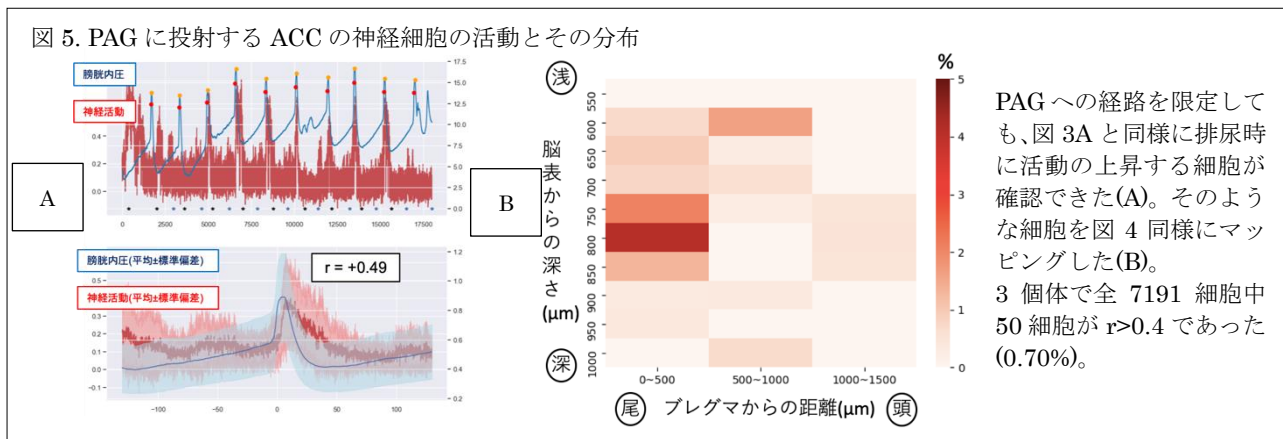
排尿時に上昇するパターン(図 3A)以外に、蓄尿時に上昇し排尿時に低下する活動パターン(図 3B)や、蓄尿や排尿とは無関係な活動パターン(図 3C)などが確認された。排尿時に上昇するパターンは図 3A のように膀胱内圧との相関係数が高くなり、相関係数が 0.4 以上となるニューロンの分布は図 4 のように表される。マッピングによると、プレグマから 0-1500 μm 、深さ 600-800 μm に相関の高い細胞が多く認められる。

II. PAG に投射する ACC のニューロン に限定した神経活動

ACC の全ての細胞と比べ、観察される細胞数も少なくなり、また蓄尿や排尿に関連する細胞数も少ないが、確かに関連する細胞は存在し、ACC から PAG へ投射するニューロンが関与していることが明らかとなった(図 5)。

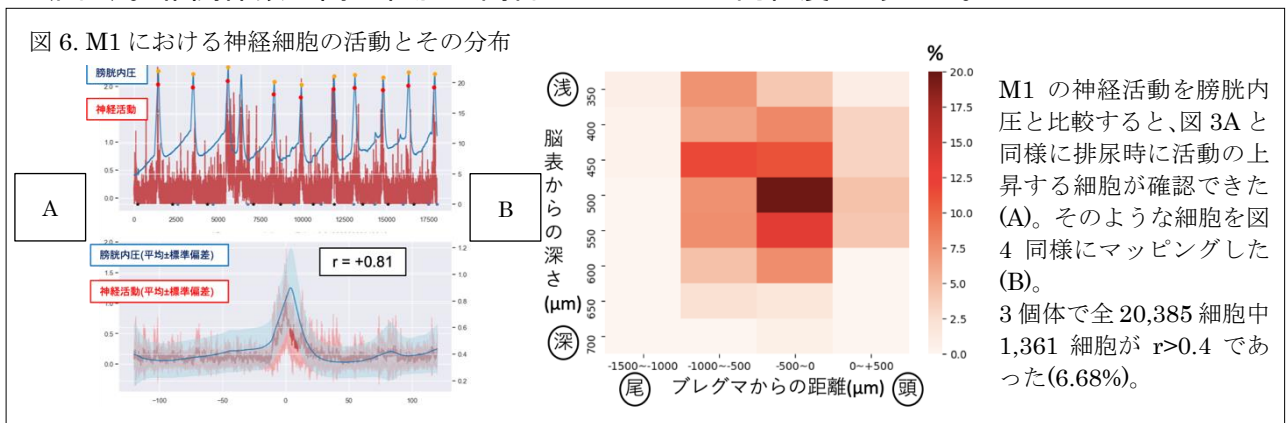
留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。



Ⅲ. M1 における神経活動

M1 の最深部まで観察可能で、ACC と同様に排尿や蓄尿に連動して活動する細胞が見られた(図 6)。相関係数の高い細胞の割合は ACC とほぼ同程度であった。



- 大脳皮質では一定の割合で排尿・蓄尿に関与する神経細胞が存在する。
 - そのような関与が強い細胞の局在が存在する。
 - ACC-PAG 経路の関与の強い細胞の数は少なく、他の投射経路の存在も示唆される。
- このような研究の手法やデータはこれまでになく、新規性の高い成果が得られた。

5 今後の展望

本年度はもともと予定していた種類のウイルスの確保に難渋し、神経細胞の種類ごとの観察は十分には施行できなかった。今後は細胞の種類ごとやさらにあらゆる投射経路を確認しながらデータを蓄積していく。また、ACC は 1.5mm までの深さがあり、脳表からでは不十分な深さに対しては GRIN レンズを挿入して観察する。これもデータ数は不十分ではあるが手法として確立できている。

このような手法をあらゆる領域、経路、細胞種に適用していくことで、これまでブラックボックスであった排尿・蓄尿に関わる中枢神経のメカニズムが明らかとなる。

6 研究成果の発信方法(予定を含む)

各種国内・国際学会で発表予定である。データがまとまり次第、論文投稿を行う。

留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。