ラットを用いた実験的神経因性膀胱に おける膀胱壁内自律神経について

福島県立医科大学泌尿器科学教室 熊 佳 伸
(主任: 白岩康夫教授)

THE AUTONOMIC INNERVATION IN EXPERIMENTAL NEUROGENIC BLADDER OF THE RAT

Yoshinobu Kuma

Department of Urology, Fukushima Medical College

(Director: Prof. Yasuo Shiraiwa)

The autonomic innervation was investigated morphologically in the wall of the normal and experimentally induced neurogenic bladders of male rats. Observations were made of the adrenergic fibers by fluorescent histochemical technique and of the acetylcholinesterase-positive fibers by enzymatic histochemical technique.

The results obtained were as follows.

1) Adrenergic fibers terminated, after the arrival at the bladder neck with the inferior branch of the vesical artery, in large numbers in the muscle of the bladder neck but not in that of the body of the bladder.

2) It seemed to be sure that adrenergic fibers in the muscle of the bladder neck changed their neurons in the pelvic ganglia, according to the studies after severance of the hypogastric nerve, ligation of the inferior branch of the vesical artery, proximal ligation of the vesical artery and destruction of the pelvic ganglia.

3) A small number of grouped acetylcholinesterase-positive and negative cells were observed outside the bladder wall near the vesicoureteral junction but not within the bladder wall.

4) There were a greater number of acetylcholinesterase-positive fibers in the longitudinal muscles than in the circular muscles in both the neck and the body of the bladder.

5) Bilateral severance of the pelvic splanchnic nerve was followed by disappearance of acetylcholinesterase-positive fibers in some bundles of muscle but not in other bundles, the findings which suggests the presence of 2 types of fibers: fibers involved in direct innervation from the micturition center in the sacral part of the spinal cord and those with alternating neurons.

6) The pelvic splanchnic nerve appeared to innervate the urinary bladder bilaterally based on the studies after unilateral and bilateral severance of the pelvic splanchnic nerve.

緒 言

言うまでもなく膀胱は尿保持および尿排出という相反する二大機能を持つており、膀胱の大部分を占める膀胱体部は尿量一許容量に達すると収縮し、一般に利尿筋部と呼ばれる。さらに膀胱三角部から膀胱頸部にいたる部分は尿保持機能に関与し、一般に括約部と呼ばれており、排尿時には弛緩する。この一連の運動は膀胱支配の自律神経系によつて制御されていると考えられている。

従来より、利尿筋部は副交感神経である骨盤内臓神経

(骨盤神経)により優位に支配されており、括約部から尿道外括約筋にかけての神経支配は交感神経である下腹神経により優位に支配されていると言われているが細部にわたつては未だ不明な点が多い。したがつて膀胱および尿道を支配する自律神経系の障害によつて引き起こされる病的膀胱機能を主病因とする神経因性膀胱においては、その病態についての論議がさらに複雑化しているのが現状である。

現在、膀胱および尿道の機能検査法としては一般神経

学的検査法の外に、レントゲン学的検査法、残尿量測定法、尿流測定法、膀胱内圧測定法、urethral pressure profile 等が用いられており、神経因性膀胱における検査法としても重要な位置を占めている。しかしながらこれらの諸検査法の大部分は、いわゆる膀胱および尿道の機能検査法であり、病態の本質を究明し得るものではない。そこで著者はラットを用い、まず膀胱支配の交感神経とされている下腹神経および副交感神経とされている骨盤内臓神経の走行を肉眼的に追求し、ついで正常膀胱壁内の自律神経線維について観察した。さらに下腹神経および骨盤内臓神経を、それぞれ両側および片側切断し、それによつて惹起される実験的神経因性膀胱における壁内自律神経の形態学的変化を観察した。また交感神経の膀胱への経路を確認するため、膀胱動脈の下枝および上枝結紮、さらには膀胱動脈の高位結紮および骨盤神経節破壊を行い、その後の膀胱壁内交感神経節後線維についても観察した。

神経線維の形態学的研究は、かつては鍍銀法を用いて行われてきたが、この方法は自律神経線維においては交感神経線維か副交感神経線維かの区別がまったく不可能であり、手技的にも満足のいくものではなかつた。そこで著者は膀胱壁内自律神経の形態学的観察を行うに際し、交感神経節後線維（以下 adrenergic 線維とする）は蛍光組織化学的に蛍光を発する線維として認識できることを利用した蛍光組織化学的方法¹⁾により、副交感神経線維は酵素組織化学的にアセチルコリンエステラーゼ陽性神経線維（以下 Ach-E 陽性線維とする）であることを利用し、酵素組織化学的方法²⁾により追求した。その結果、若干の新知見を得たのでここに報告する。

研究材料ならびに染色方法

A. 研究材料

I) 下腹神経ならびに骨盤内臓神経の肉眼的所見について

雄ラットの固定標本で下腹神経および骨盤内臓神経を周囲臓器との関係を含め観察した。

II) 正常膀胱について

生後約3カ月、体重250g前後の雄ラット32匹（神経切断実験等の際のコントロールを含む）を用い、エーテル麻酔下に下腹部正中切開にて膀胱および外尿道括約筋近位端までの尿道を露出した後、尿管および膀胱動脈を切断し、後部尿道の一部を含めて膀胱を摘出した。これを直ちにタイロード液に浸し、液中で膀胱三角部を含め膀胱頸部までの輪状標本を作製し、これを膀胱頸部と

図1 膀胱頸部 (a) および膀胱体部 (b)

した（図1, a）。さらに膀胱頸部の部分より膀胱頂部側を三分割し、その中間部の輪状標本を膀胱体部とした（図1, b）。この輪状膀胱標本を直ちにアセトン加ドライアイスで凍結し、 -20°C でクライオスタットにて 30μ の輪状膀胱横断の連続切片を作製し、これを3枚に1枚の割で（ 90μ 間隔で）交互に、一方を adrenergic 線維観察用、もう一方を Ach-E 陽性線維観察用として -20°C のカバーガラスに採取した。この切片をそれぞれ後述の方法で処理、観察した。

III) 実験的神経因性膀胱について

1) 下腹神経切断後の膀胱

前述と同様のラットを用い、エーテル麻酔下で総腸骨動脈分岐部下方で両側下腹神経切断（図2, a）を4匹に行い、術後4日目および7日目に、それぞれ2匹ずつ膀胱を摘出し、前述と同様の方法で膀胱壁内の adrenergic 線維、Ach-E 陽性線維の形態学的変化を観察した。さらに右側片側切断を2匹に行い、術後7日目にその膀胱も観察した。なお実験毎に蛍光発色および酵素反応の false negative を否定するために、正常ラット膀胱をコントロールとして使用した。

2) 膀胱動脈結紮後の膀胱

i) 膀胱動脈下枝、上枝結紮

前述と同様のラットを用い、エーテル麻酔下で3匹の

両側膀胱動脈下枝を結紮（図2，b）し，前述と同様の方法を用い，術後4日目に膀胱壁内の adrenergic 線維の形態学的変化を観察した．また2匹を用い両側膀胱動脈上枝を結紮（図2，c）し，その膀胱も観察した．

ii) 膀胱動脈高位結紮

同様に，2匹に対し，両側膀胱動脈高位結紮を行い（図2，d），膀胱壁内の adrenergic 線維を観察した．

なお，i) ii) の実験毎に蛍光発色の false negative を否定するため，正常ラット膀胱頸部をコントロールとして使用した．

3) 骨盤神経節破壊後の膀胱

前述と同様のラット2匹を用い，エーテル麻酔下で，実体顕微鏡を使用し，鉗子で両側骨盤神経節を可及的に圧挫破壊（図2，e）し，前述と同様の方法を用い，術後4日目に膀胱壁内の adrenergic 線維の形態学的変化を観察した．なお実験毎に蛍光発色の false negative を否定するため，正常ラット膀胱頸部をコントロールとして使用した．

4) 骨盤内臓神経切断後の膀胱

前述と同様のラットを用い，hypogastric trunk の内側部から骨盤腔に進入してくる部分，すなわち骨盤神経節に入る以前で両側骨盤内臓神経を切断（図2，f）した．両側を切断したラットは6匹で，3匹は術後4日目に，3匹は7日目に膀胱を摘出し，前述と同様の方法で膀胱頸部，体部の adrenergic 線維，Ach-E 陽性線維の形態学的変化を観察した．さらに骨盤内臓神経の片側切断による変化を観察するために，右側骨盤内臓神経切断を2匹に施行し，術後7日目にその膀胱を観察した．なお実験毎に蛍光発色および酵素反応の false negative を否定するため，正常ラット膀胱をコントロールとして使用した．

B. 染色方法

a) adrenergic 線維

作製した切片を五酸化リンの下に室温で1時間真空乾燥させた後，Falck-Hillarp 法¹⁾に従い，80℃のホルマリンガスで1.5時間 incubate した後，非蛍光性のスライドグラスにグリセリンで封入し，蛍光顕微鏡で観察した．

b) Ach-E 陽性線維

作製した切片を室温で30分間真空乾燥させた後，Gomori 法²⁾に従いヨウ化アセチルチオコリンを基質として加えた浸漬液に45分間浸漬し，飽和硫酸ナトリウム水溶液で3回洗浄，1%硫化アンモニウム水溶液で2分間反応させた後，水洗，グリセリン封入し，光学顕微

鏡で観察し，反応陽性であった神経線維をコリンエステラーゼ陽性神経線維（以下 Ch-E 陽性線維とする）とした．さらに非特異的コリンエステラーゼ抑制剤である 10^{-6} モル D.F.P. を加えた28%硫酸ナトリウムで30分間前処置し， 10^{-6} モル D.F.P. を加えた浸漬液で処理，観察し，反応陽性であった神経線維を Ach-E 陽性線維とした．なお，これらの反応系における反応陽性部位が非特異的コリンエステラーゼによるものとアセチルコリンエステラーゼによるものであることは， 10^{-5} モルエゼリンで前処置した切片には反応がまったく見られないことにより確認した．

観察結果

I) 下腹神経ならびに骨盤内臓神経の肉眼的所見について（図2）

下腹神経は腰部交感神経幹からおこる単一の神経枝としておこり，左右のものが腹大動脈の前面で数回吻合した後，下腸間膜動脈の起始部で左右2本に分かれ前立腺の前外側に存在する骨盤神経節に直達していた．一方骨盤内臓神経は大部分が L₆，S₁ からおこり，hypogastric

図2 雄ラットの下腹神経，骨盤内臓神経の肉眼的所見ならびに切断部位等の模式図

Abbreviations of the Figure

A.M.I.	: A. mesenterica inferior	N.S.P.	: N. splanchnicus pelvinus
A.R.	: A. renalis	P.	: Prostate
A.V.	: A. vesicalis	T.S.	: Truncus sympathicus
R.I.	: R. inferior	U.	: Ureter
R.S.	: R. superior	V.	: Vesica urinaria
G.P.	: Ganglia pelvina	a, f	: severance
N.H.	: N. hypogastricus	b, c, d	: ligation
N.I.P.	: N. iliohypogastricus	e	: destruction

图 3 × 640

图 7 × 490

图 4 × 640

图 8 × 490

图 5 × 640

图 9 × 490

图 6 × 490

图 10 × 100

〔図譜説明〕

- 図3：膀胱頸部の筋層間質の adrenergic 線維。動脈周囲の adrenergic 線維およびそれから分枝し間質を走行する線維が観察できる。(× 640)
- 図4：膀胱頸部の adrenergic 筋層の線維終末像。筋線維の表面で緑色の強い蛍光を発する終末が多数観察される。(× 640)
- 図5：膀胱体部の adrenergic 線維。筋層間質の動脈周囲には観察されるが筋線維上には終末が観察されない。(× 640)
- 図6：膀胱頸部の内縦走筋層。Ach-E 陽性線維が筋線維を包みこむように分布しており、さらに終末と思われる強い反応部位が散見される。(× 490)
- 図7：膀胱頸部の中輪走筋層。Ach-E 陽性線維は比較的少ない。(× 490)
- 図8：膀胱頸部の粘膜下層。Ach-E 陽性線維が叢を形成している。神経細胞は認められず、また筋線維も存在しない。(× 490)
- 図9：膀胱壁外に存在する神経節(膀胱尿管移行部付近)。アセチルコリンエステラーゼ陽性細胞(8~10 μ)と陰性細胞(12~14 μ)が混在する。(× 490)
- 図10：膀胱体部の Ach-E 陽性線維。内、外縦走筋層に多く分布しており中輪走筋層には少ない。(× 100)

图11 × 490

图15 × 640

图12 × 490

图16 × 490

图13 × 250

图17 × 490

图14 × 640

图18 × 980

〔図譜説明〕

図11：膀胱体部の内縦走筋層．内筋周膜には比較的太い **Ach-E** 陽性線維が存在し、これより分枝して筋線維に分布する **Ach-E** 陽性線維が多数認められる．（× 490）

図12：膀胱体部の外縦走筋層．**Ach-E** 陽性線維が多数分布し、また終末部を思わせる強い反応陽性部が散見される．（× 490）

図13：膀胱体部の粘膜．粘膜直下には **Ach-E** 陽性線維が叢を形成している．（× 250）

図14：両側下腹神経切断後7日目の膀胱頸部の **adrenergic** 線維．筋層の線維は依然として残存する．（× 640）

図15：両側下腹神経切断後7日目の膀胱頸部の **adrenergic** 線維．動脈周囲の **adrenergic** 線維にも変化は認められない．（× 640）

図16：両側骨盤内臓神経切断後7日目の膀胱頸部の筋層．大部分の筋線維では **Ach-E** 陽性線維は消失するが、残存するものも存在する．（× 490）

図17：両側骨盤内臓神経切断後7日目の膀胱体部の筋層．大部分の筋線維では **Ach-E** 陽性線維は認められない．（× 490）

図18：両側骨盤内臓神経切断後7日目の膀胱体部の筋層．**Ach-E** 陽性線維の残存が一部に見られる．（× 980）

trunk に同行する静脈（ヒトにおける 内腸骨静脈に相当する）の内側部から骨盤腔に進入し、骨盤神経節に達していた。

II) 正常膀胱について

a) adrenergic 線維

雄ラットの正常膀胱における adrenergic 線維の形態および動脈との関連性については、今回の薄切切片を用いた研究においても著者らがすでに発表した膀胱伸展標本を用いた研究⁹⁾と同様の所見で、基本的には差異を認めなかつた。膀胱頸部においては間質の壁内動脈周囲には比較的太い adrenergic 線維が網状にからみあつて存在し、血管壁内にも終末像と思われる部分が存在していた。さらにこの動脈周囲から分枝して、間質を走行する細い adrenergic 線維も蛍光を発して認められた（図3）。また、間質から筋層内に進入し、筋線維と概ね平行に走行した後、次第に数珠状となり、最後には筋線維の表面で緑色の強い蛍光を発して終る adrenergic 線維終末像が多数観察された（図4）。さらにこの終末像は膀胱頸部の内側筋層に比較して外側筋層に多く分布していた。しかし個々の筋線維にそれぞれ別個の終末像を見るほどの密な分布は示さず、1本の adrenergic 線維が複数の筋線維を支配しているように思われた。

一方、膀胱体部においては筋層間質の動脈周囲には adrenergic 線維とその終末が観察されるものの、筋層内にはごく稀に adrenergic 線維が観察される程度で、終末像は確認できず、膀胱頸部における adrenergic 線維の量に比較して、ほぼ無視できる程度であつた（図5）。

なお蛍光を発する神経細胞（交感神経節後細胞）は膀胱頸部、体部ともに、壁内にはこれを認めず、いわゆる骨盤神経節に多数認め、さらに膀胱尿管移行部付近の膀胱壁外にも稀に存在していた。

b) Ach-E 陽性線維

膀胱頸部における Ach-E 陽性線維は筋層、粘膜下層に分布しており、さらには粘膜内にもわずかながら認められた。

頸部の筋層は内縦走筋、中輪走筋、および痕跡的に外層を形成する縦走筋で構成されており、Ach-E 陽性線維は内側および痕跡的な外側の縦走筋層に多く分布しており、よく発達した中間の輪走筋層には比較的少なかつた（図6, 7）。筋層内の Ach-E 陽性線維は内筋周膜に存在する比較的太い線維およびそれより分枝し、個々の筋線維の表面にまわりつくよう密に分布する細い線維によつて構成されていた。粘膜下層には細い Ach-E 陽性

線維が網状に集合し、叢を形成していたが神経細胞は観察されず、また筋線維も存在しなかつた（図8）。なお Ach-E 陽性神経節についても観察を行つてみたが膀胱頸部壁内にこれを見ることができなかつた。しかし膀胱尿管移行部付近の膀胱壁外には稀に観察された（図9）。この神経節には Ach-E 陽性細胞と陰性細胞が混在しており、陽性細胞は8~10 μ 、陰性細胞はこれよりわずかに大きく12~14 μ の大きさを有していた。

一方、膀胱体部における Ach-E 陽性線維は筋層、粘膜直下に認められ、粘膜上皮内にも散見された（図10）。

体部の筋層は内層、外層が縦走筋、中間層は輪走筋であり、縦走筋層がともによく発達していた。Ach-E 陽性線維は内層、外層の縦走筋層に多く分布しており、中輪走筋層には比較的少なかつた。さらに筋線維への分布形態も膀胱頸部のときと同様で、内筋周膜の太い線維から分枝し筋線維に至る細い神経線維が筋線維に密接して認められた（図11, 12）。また粘膜下には Ach-E 陽性線維の叢が観察されるが、体部における叢は頸部におけるそれよりも粘膜により近接していた（図13）。また体部においても膀胱壁内の神経細胞は観察できなかつた。なお Ach-E 陽性線維は膀胱頸部と比較して体部に多いが、これは主として縦走筋は体部によく発達しており、頸部ではそれほど発達しておらず、むしろ輪走筋がよく発達していることに起因するものと考えられた。

III) 実験的神経因性膀胱について

かならずしも機能的に神経因性膀胱を呈さない実験もあるが、都合上この項で一括して述べる。

1) 下腹神経切断後の膀胱

両側下腹神経切断後4日目、7日目の膀胱はともに肉眼的に異常を認めなかつた。

a) adrenergic 線維

切断後4日目、7日目の膀胱頸部 adrenergic 線維はともにコントロールとの間に明らかな差異は認められず、動脈周囲の adrenergic 線維および筋層への分枝像さらには筋層内の adrenergic 線維の終末像も観察された（図14, 15）。また膀胱体部には元来筋層の adrenergic 線維がほとんど認められないが、両側下腹神経切断によつて増強するようなことはなかつた。右側切断後も膀胱壁内 adrenergic 線維の形態学的変化は認められなかつた。

b) Ach-E 陽性線維

両側切断後4日目、7日目における筋層の Ach-E 陽性線維の所見は頸部、体部ともコントロールと比較して

差異は認められなかつた。

2) 膀胱動脈結紮後の膀胱

i) 膀胱動脈下枝, 上枝結紮

両側膀胱動脈下枝結紮後の膀胱頸部においては, 動脈周囲および筋層の adrenergic 線維とその終末はまったく認められなかつた。しかし, 膀胱体部の動脈周囲には adrenergic 線維は残存していた。また両側上枝結紮後の頸部の所見ではコントロールとの差はなかつたが, 膀胱体部の動脈周囲の adrenergic 線維は消失していた。これらの所見は伸展標本を用いて行つた研究所見⁹⁾と同様のものであつた。

ii) 膀胱動脈高位結紮

両側膀胱動脈を高位で結紮した後の膀胱頸部においては, 動脈周囲の adrenergic 線維の終末像は消失するものの, 線維そのものは残存しており, さらに筋層の adrenergic 線維およびその終末は依然として残存していた。膀胱体部においては動脈周囲の adrenergic 線維は完全に消失していた。

3) 骨盤神経節破壊後の膀胱

ラットにおける骨盤神経節はいわゆる神経叢の形態をとつており, 全部を破壊することは困難と思われた。術後4日目の膀胱は過伸展の状態となつていた。膀胱壁内の動脈周囲の adrenergic 線維およびその終末には明らかな変化を認めなかつたが, 膀胱頸部の筋層の adrenergic 線維はコントロールと比較して明らかに減少しており, 終末像もほとんど認められなかつた。

4) 骨盤内臓神経切断後の膀胱

両側切断後4日目, 7日目の膀胱をみると全例において巨大に伸展し, 膀胱内容が透視できるまで膀胱壁は薄くなつており, 排尿不能の状態であつた。しかし右側切断を行つた2匹の切断後7日目の膀胱は肉眼的にはほぼ正常の形態を保つており, 過伸展の状態とはならなかつた。

a) adrenergic 線維

両側および右側切断後4日目, 7日目の膀胱壁内 adrenergic 線維は, 頸部, 体部ともにコントロールに比し, 差異は認められなかつた。

b) Ach-E 陽性線維

両側切断後の膀胱頸部筋層の Ch-E 陽性線維は切断後4日目ですでにコントロールと比較して明らかに減少していた。切断後7日目のものと4日目のものでは量的な差異は認められなかつた。しかしながら一部の筋束では切断後7日目でも Ch-E 陽性線維が残存しているのが観察

されたため非特異的のコリンエステラーゼによる反応を抑制する目的で D.F.P. で処理したが抑制をうけず, したがつて Ach-E 陽性線維が残存していることが確認できた(図16)。また膀胱頸部粘膜下の Ach-E 陽性線維は両側切断後7日目でもほぼ正常に残存していた。

両側切断後7日目の膀胱体部をみると筋層における Ach-E 陽性線維は頸部における所見と同様に著明に減少し, まつたくこれを認めない筋束が多かつた(図17)。しかし一部の筋束には Ach-E 陽性線維が残存しているのが観察された(図18)。また粘膜直下の Ach-E 陽性線維は頸部の所見と同様に, コントロールと比較しても良く残存していた。さらに2匹に対して右側切断を行い, 7日目の膀胱壁内 Ach-E 陽性線維について観察したところ, 2匹とも頸部, 体部の筋層にむける明らかな左右差を認めず, 骨盤内臓神経は両側性支配であることを強く示唆していた。

考 察

I) 染色方法等について

膀胱壁内に分布する自律神経に関する研究は古くは生理学的⁴⁾, 薬理学的⁵⁾に行われた程度で, 形態学的にもかつては鍍銀法による神経染色法であつたため, 交感神経線維か副交感神経線維かの区別がまづたく不可能であり, 十分な検索はなされていながつた。

1950年, Koelle らは Ch-E 陽性線維を形態学的に検出する方法を発表し, その後, Gomori, Kalnovski らによつて今日の Ach-E 陽性線維の酵素組織化学的検出法⁹⁾が確立されるに至つた。さらに Söderhorm⁶⁾は光顕的には新鮮標本を使用したときと固定標本を使用したときと固定標本を使用したときでは組織化学的に特別な差異はみられないと述べている。

一方 Falck¹⁾ らは交感神経節後細胞および節後線維は蛍光組織化学的に蛍光を発して認められることを発表した。

このように自律神経系に関する形態学的研究は飛躍的に進歩し, さらに電顕的に副交感神経線維の終末には agranular synaptic vesicle が存在し, 交感神経節後線維の終末には dense-core synaptic vesicle の存在することなどが確認されている^{7) 8)}。

今回著者は未固定新鮮標本を用いて, adrenergic 線維は Falck-Hillarp 法, Ach-E 陽性線維は Gomori 法を利用し, 雄ラット膀胱壁内の自律神経線維を追求したが, この方法は同一標本を 90 μ 間隔で交互に adrenergic 線維と Ach-E 陽性線維を観察できること, 方法が比較的

簡便であること、さらに得られる像は十分鮮明であることが特長としてあげられる。ただし Gomori 法においては浸漬液の原液は硫酸ナトリウムを十分飽和安定させるために24時間以上放置し、この原液に基質であるヨウ化アセチルチオコリンを溶解させた方が良好な結果が得られた。

II) 正常膀胱について

1966年, EL-Badawi ら¹⁰⁾は蛍光組織化学的方法を利用し、哺乳動物の膀胱壁内 adrenergic 線維の形態を追求した最初の論文を発表した。その後彼ら¹¹⁾¹²⁾¹³⁾はねこ、犬、うさぎ、ラットの膀胱筋は dual innervation であるとし、粘膜下および筋層間には神経節が存在しているが、動物種によつてかなりの variation があるとも述べている。今回の著者の観察では Gosling ら¹⁴⁾の報告と同様に、ラットにおいては膀胱壁内に神経節は存在せず、膀胱尿管移行部の壁外にのみ認められた。しかし、ねこにおいては膀胱尿管移行部付近の壁内にも交感神経および副交感神経性の神経節が多数存在することを、未発表ながら著者も確認しており、Schulman ら¹⁵⁾も犬、うさぎの膀胱でやはり膀胱尿管移行部付近の壁内に交感神経および副交感神経の神経節が共存していることを形態学的に証明していることなどから、動物種によつてかなりの variation があるのは確実である。一方、膀胱体部いわゆる利尿筋部では Ach-E 陽性線維が圧倒的に優位であり、三角部から頸部にかけては adrenergic 線維, Ach-E 陽性線維が共存していた。この所見は諸家の形態学的¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、薬理学的研究¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾報告と一致する。また著者の観察によると膀胱壁内の adrenergic 線維は壁内の動脈と密接に関係している所見が得られており、膀胱支配の adrenergic 線維は動脈と同行する可能性が強いと思われたが、この点に関しては後述する。

著者はさらに膀胱を横断し、輪状標本を作製することにより膀胱筋層各部における Ach-E 陽性線維の量的な差について観察し、興味ある事実を見出すことができた。膀胱体部は原則的に三層の筋層によつて構成されている。内層、外層は縦走筋、中間層は輪走筋で、内、外の縦走筋はよく発達しているが後者はあまり発達していない。また頸部では内層は縦輪筋、中間層は輪走筋で構成され、外層の縦輪筋は痕跡的である。膀胱筋層に分布する Ach-E 陽性線維は体部、頸部共に縦走筋により多く分布しているのが認められた。落合ら²¹⁾はヒトの膀胱利尿筋は中間層の輪走筋が最も良く発達していて排尿時には強く収縮すると述べているが、ラットにおける利尿

筋部では縦走筋がよく発達しており、しかも Ach-E 陽性線維の分布も多かつた。排尿の効率面からみれば利尿筋は縦方向に収縮する方が効率が良いと考えられ、この部分に Ach-E 陽性線維が多いことも理解される。また山本²²⁾は近位尿道の筋層は内縦輪筋層と外輪走筋層(著者の中輪走筋層)から成り、輪走筋が強く発達しており、電顕的に内縦輪筋層では交感神経線維終末と副交感神経終末がほぼ同数見られるが外輪走筋層では約85%が交感神経線維終末であると報告しており、著者の膀胱頸部所見と一致していた。

III) 実験的神経因性膀胱について

a) adrenergic 線維

かつては交感神経節前線維は交感神経幹神経節で neuron を交替し、その節後線維が支配臓器に達するものであるとの見解が定説であつた。その後蛍光組織化学的方法による検索が行われるようになった結果、交感神経幹神経節で neuron を交替するのはむしろ少ないことが解明されてきた。交感神経系において節後線維を切断(denervation)した場合の節後線維および終末の蛍光は蛍光組織化学的に、28時間以後はまったく消失すること²³⁾²⁴⁾、また節前線維を切断(decentralization)した場合の節後線維および終末の蛍光は消失しないこと²⁵⁾が知られている。Owman ら²⁶⁾は各種の哺乳動物を用いて下腹神経を切断し、下腹神経に含まれる節後線維(adrenergic 線維)は消失するにもかかわらず、male genital organ の adrenergic 線維終末には変化がなく、これは骨盤神経節又は臓器近接部で neuron を交替しているからであり、下腹神経に含まれる adrenergic 線維は膀胱又は直腸に分布するものであろうと述べている。

著者の実験では両側下腹神経切断後7日目の膀胱壁内にも adrenergic 線維終末は残存しており、膀胱支配の adrenergic 線維も骨盤神経節あるいは膀胱近接部で neuron を交替している可能性が考えられた。しかし著者らは膀胱支配の adrenergic 線維は膀胱動脈下枝と同行すること²⁾を観察しており、骨盤神経節で neuron を交替しその節後線維が膀胱動脈下枝に同行し膀胱に達することはもちろん考えられるが、福山²⁷⁾の骨盤内臓へ分布する自律神経についての比較解剖学的研究報告から、下腸間膜動脈神経叢以前で neuron を交替し、その節後線維が膀胱動脈と同行し膀胱に達していることも十分考えられた。そこで両側膀胱動脈を高位で結紮し、膀胱頸部の adrenergic 線維を観察したが、動脈壁内の adrenergic 線維終末は消失するものの、膀胱頸部筋層の

adrenergic 線維およびその終末は依然として残存していた。さらにこの adrenergic 線維は両側骨盤神経節を可及的に破壊することによって大部分が消失した。つまり膀胱支配の交感神経線維は下腹神経を經由し、大部分が骨盤神経節で neuron を交替し、その節後線維が膀胱動脈下肢に同行し、膀胱壁内に達するものと考えられた。

b) Ach-E 陽性線維

骨盤内臓神経切断後における膀胱壁内自律神経線維の形態学的変化に関する論文は現在まで報告されていない。denervation 後の Waller 変性および逆行性変性はよく知られた事実であり、decentralization の場合は下位 neuron は形態学的には不変であるとされている。denervation 後の神経線維のコリンエステラーゼの変化について Snell ら²⁸⁾は、骨格筋に分布する運動神経終末のコリンエステラーゼは術後11日目ごろから漸次減少し、約20日で消失すると述べており、Schwarzacher²⁹⁾はラットの舌下神経切断後の舌の運動神経終末のコリンエステラーゼは4日から16日で減少すると述べているが、これらはいわゆる非特異的コリンエステラーゼとアセチルコリンエステラーゼを同時に観察しているものと考えられる。その後アセチルコリンエステラーゼはコリン作動性神経の胞体内、とくに endoplasmic reticulum に多く、神経線維から終末シナプス膜にまで分布しており、非特異的コリンエステラーゼは髄鞘およびグリア細胞に多く分布することが知られるようになる³⁰⁾³¹⁾と共に、各種抑制試験も確立されるに至った。Snell³²⁾、Holmstedt ら³³⁾は上頸交感神経節の節前線維切断により切断部遠位側のアセチルコリンエステラーゼは4日から7日後にはまったく消失するが非特異的コリンエステラーゼは比較的長期間残存することを報告しており、最近では Fathy ら³⁴⁾がアセチルコリンエステラーゼは術後2日で消失し、非特異的コリンエステラーゼは92日まで残存したと報告している。

著者の実験による両側骨盤内臓神経切断後の膀胱筋層の Ach-E 陽性線維の検索では、切断後4日目ですでに Ach-E 陽性線維の残存する筋束群と消失する筋束群がみられ、7日目の標本も同様の所見であつたし、量的な差異も認められなかつた。このことは膀胱支配の副交感神経線維は骨盤神経節あるいは膀胱近接部、膀胱壁内に neuron を交替すると¹⁷⁾³⁵⁾³⁶⁾いう現在の概念では理解できず、少なくともラット膀胱においては仙髄排尿中枢よりの直達性線維が存在することを示唆している。事実、樋浦(未発表)はラットの両側骨盤内臓神経を切断する

と膀胱体部の筋層に存在する副交感神経線維の軸索は大部分で明らかな変性像を呈してくることを電顕的に確めている。しかしながら両側切断後7日目でも Ach-E 陽性線維の残存する筋束があることも事実であり、下腹神経を經由する筋知覚線維によるものではないとは完全に否定できなかったが、これは切断部より遠位で neuron を交替している線維が存在することが最も考えられた。

両側骨盤内臓神経切断後における D.F.P. による抑制試験の際に抑制前後における明らかな差が認められなかつたのは、膀胱には非特異的コリンエステラーゼが量的に少ないためか、あるいは基質としてヨウ化アセチルチオコリンを使用したためと考えられた。前者を裏付けるものとしては Uemura ら³⁷⁾の、膀胱壁内には非特異的コリンエステラーゼの含有量が多いとされている有髄線維が約0.5%以下であつたとする報告がある。

粘膜下の Ach-E 陽性線維は体部、頸部とも、両側骨盤内臓神経切断後も消失しない。もし、これが粘膜表面の知覚線維であるとすれば、Uemura ら³⁷⁾の述べるごとく下腹神経を經由する可能性が大きいと思われた。

片側骨盤内臓神経切断実験においては明らかな片側の膀胱壁内筋層 Ach-E 陽性線維の減少、消失は認められず、肉眼的にも膀胱の過伸展は起こらないことより、骨盤内臓神経は両側性支配であると考えられた。これは骨盤内臓神経を經由する求心性線維は反対側支配はないとの報告³⁷⁾とは別の態度をとり、少なくとも遠心性線維は両側支配であると考えられ、このことは Carpenter ら³⁸⁾、Ingersoll ら³⁹⁾、Elliot ら⁴⁾の生理学的研究報告と一致していた。

結 語

交感神経節後線維(adrenergic 線維)に対しては蛍光組織化学的方法、アセチルコリンエステラーゼ陽性神経線維(Ach-E 陽性線維)に対しては酵素組織化学的方法を利用し、ラットにおける正常膀胱ならびに実験的に作製した神経因性膀胱の壁内自律神経を形態学的に追求し、以下の結果を得た。

1) adrenergic 線維は膀胱動脈下肢に同行して膀胱の頸部に達した後、頸部の筋に対しては多数の終末を形成していたが、体部の筋には終末を形成していなかつた。

2) 頸部の筋支配の adrenergic 線維は、下腹神経の切断、膀胱動脈下肢の結紮、膀胱動脈の高位部結紮ならびに骨盤神経節の破壊等の実験結果より、骨盤神経節で neuron を交替しているものと考えられた。

3) Ach-E 陽性細胞ならびに陰性細胞の混在する神

経節が膀胱尿管移行部付近の膀胱壁外に稀に存在していた。しかし膀胱壁内では観察できなかった。

4) Ach-E 陽性線維は膀胱全域に観察され、輪走筋層よりも縦走筋層により多く分布していた。

5) 両側骨盤内臓神経切断後の膀胱筋層において、Ach-E 陽性線維が消失する部分と残存する部分があることから、膀胱を支配する Ach-E 陽性線維には仙髄排尿中枢に由来し、筋層に直達する線維と neuron を交替する線維の2種類があることが示唆された。

6) 骨盤内臓神経は、該神経の片側ならびに両側切断の実験結果より、膀胱を両側性に支配するものと考えられた。

稿を終えるにあたり終始御指導御校閲を賜った恩師白岩康夫教授に心より感謝の意を表します。また本研究において御協力を惜しまれなかった樋浦明夫助手を始め第一解剖学教室各位ならびに泌尿器科学教室各位に感謝いたします。

なお本論文の一部は第65回日本泌尿器科学会総会で発表した。

文 献

- 1) Falck, B., Hillarp, N.A., Thieme, G. and Torp, A.: Fluorescence of catechol amines and related compounds condensed with formaldehyde. *J. Histochem. Cytochem.*, **10**, 348—354, 1962.
- 2) 佐野豊: 組織学研究法。第4版, 546~548, 南山堂, 東京, 1972.
- 3) 熊佳伸, 小林正人, 白岩康夫, 樋浦明夫: ラット膀胱壁にみられるアドレナリン作働性交感神経線維について。日泌尿会誌, **68**, 890, 1977.
- 4) Elliot, T.R.: The innervation of the bladder and urethra. *J. Physiol.*, **35**, 367—445, 1907.
- 5) Kunz, A. and Saccomanno, G.: Sympathetic innervation of the detrusor muscle. *J. Urol.*, **51**, 535—542, 1944.
- 6) Söderholm, U.: Histochemical localization of esterases phosphatases and tetrazolium reductases in the motor neurons of the spinal cord of the rat and the effect of nerve division. *Acta Physiol. Scand.*, **65**, Suppl. 256, 1965.
- 7) Walfe, D.E., L.T. Potter, K.C. Richardson and J. Aöelrod: Localizing tritiated norepinephrine in sympathetic axons by electron microscopic autoradiography. *Science*, **138**, 440—442, 1962.
- 8) DeRobertis, E., G. Rodriguez De Lores Arneiz, L. Salganicoff, A. Pellegrino De Iraldi and L.M. Zieher: Isolation of synaptic vesicles and structural organization of the acetylcholine system within brain nerve endings. *J. Neurochem.*, **10**, 225—235, 1963.
- 9) Richardson, K.C. and E.L. Rodriguez Echandia: The fine structure of the albino rabbit iris with special reference to the identification of adrenergic and cholinergic nerves and nerve endings in its intrinsic muscles. *Amer. J. Anat.*, **114**, 173—203, 1964.
- 10) El-Badawi, A. and Schenk, E.A.: Dual innervation of the mammalian urinary bladder. A histochemical study of the distribution of cholinergic and adrenergic nerves. *Amer. J. Anat.*, **119**, 405—427, 1966.
- 11) El-Badawi, A. and Schenk, E.A.: A new theory of the innervation of bladder musculature. Part 1. Morphology of the intrinsic vesical innervation apparatus. *J. Urol.*, **99**, 585—587, 1968.
- 12) El-Badawi, A. and Schenk, E.A.: A new theory of the innervation of bladder musculature. Part 2. The innervation apparatus of the ureterovesical junction. *J. Urol.*, **105**, 368—371, 1971.
- 13) El-Badawi, A. and Schenk, E.A.: A new theory of the innervation of bladder musculature. Part 3. Postganglionic synapses in uretero-vesico-urethral autonomic pathways. *J. Urol.*, **105**, 372—374, 1971.
- 14) Gosling, J.A. and Dixon, J.S.: The structure and innervation of smooth muscle in the wall of the bladder neck and proximal urethra. *Brit. J. Urol.*, **47**, 549—558, 1975.
- 15) Schulman, C.C., Duarte-Escalante, O. and Boyarsky, S.: The ureterovesical innervation. A new concept based on a histochemical study. *Brit. J. Urol.*, **44**, 698—712, 1972.
- 16) Nergårdh, A. and Boréus, L.O.: Autonomic receptor function in the lower urinary tract of man and cat. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, **6**, 32—36, 1972.
- 17) George S. Benson, Alan J. Wein, David M. Raezer and Joseph N. Corriere, Jr.: Adrenergic and cholinergic stimulation and blockade of the human bladder base. *J. Urol.*, **116**, 174—175, 1976.
- 18) Ratz, S. and Caine, M.: Adrenergic receptors in the female canine urethra. *Invest. Urol.*, **9**, 319—323, 1972.
- 19) Caine, M., Ratz, S. and Zeigler, M.: Adrenergic and cholinergic receptors in the human prostate, prostatic capsule and bladder neck. *Brit. J. Urol.*, **47**, 193—202, 1975.
- 20) Awad, S.A., Bruce, A.W., Carro-Ciampi, G.,

- Downie, J.W. and Lin, M.: Distribution of α - and β -adrenoceptors in human urinary bladder. *Brit. J. Pharmac.*, **50**, 525—529, 1974.
- 21) 落合京一郎, 高安久雄: 泌尿器科学, 第1版, 277, 医学書院, 東京, 1973.
- 22) 山本敏行: 尿路の解剖. 日泌, **69**, 1157, 1978.
- 23) Andén, N.-E., J. Häggendal, T. Magnusson and E. Rosengren: The time course of the disappearance of noreadrenaline and 5-hydroxytryptamine in the spinal cord after transection. *Acta Physiol. Scand.*, **62**, 115—118, 1964.
- 24) Malmfors, T. and Sachs, C.: Direct studies on the disappearance of the transmitter and changes in the uptake-storage mechanisms of degenerating adrenergic nerves. *Acta Physiol. Scand.*, **64**, 211—223, 1965.
- 25) 草間敏夫, 中沢恒幸: 神経の変性と再生 (その基礎と応用). 第1版, 394, 医学書院, 東京, 1975.
- 26) Owman, C. and Sjostrand, N.O.: Short adrenergic neurons and catecholamine-containing cells in vas deferens and accessory male genital gland of different mammals. *Z. Zellforsch.*, **66**, 300—320, 1965.
- 27) 福山右門: 骨盤内臓自律神経の経過について. 福島医誌, **2**, 1—17, 1952.
- 28) Snell, R.S. and McIntyre, N.: Effect of denervation on the histochemical appearance of cholinesterase at the myoneural junction. *Nature*, **176**, 884—885, 1955.
- 29) Schwarzscher, H.G.: Der Histochemisch Nachweisbare Cholinesterasegehalt in Muskelendplatten nach Durchschneidung des motorischen Nerven. *Acta Anat.*, **31**, 507—521, 1957.
- 30) Fukuda, T. and Koelle, G.B.: The histological localization of intracellular neuronal acetylcholinesterase. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, 433—440, 1959.
- 31) Terai, H.B. and Bourne, G.H.: Histochemical localization of specific and non-specific cholinesterases and simple esterase in myelinated nerves. *Exp. Cell Res.*, **21**, 245—248, 1960.
- 32) Snell, R.S.: The histochemical appearances of cholinesterase in the superior cervical sympathetic ganglion and the changes which occur after preganglionic nerve section. *J. Anat. (Lond.)*, **92**, 408—418, 1958.
- 33) Holmstedt, B., Lundgren, G. and Sjoxqvist, F.: Determination of acetylcholinesterase activity in normal and denervated sympathetic ganglia of the cat. A biochemical and histochemical comparison. *Acta Physiol. Scand.*, **57**, 235—247, 1963.
- 34) Fathy, A. State and Ruth, E.M. Bowden: The effect of transection of the glossopharyngeal nerve upon the structure, cholinesterase activity and innervation of taste buds in rabbits. *J. Anat.*, **118**, 77—100, 1974.
- 35) Khanna, O.P., Heber, D. and Gonic, P.: Cholinergic and adrenergic neuroreceptors in urinary tract of female dogs. Evaluation of function with pharmacodynamics. *Urology*, **5**, 616—623, 1975.
- 36) Fletcher, T.F. and Bradley, W.E.: Neuroanatomy of the bladder-urethra. *J. Urol.*, **119**, 153—160, 1978.
- 37) Uemura, E. Fletcher, T.F. and Bradrey, W.E.: Distribution of lumbar and sacral afferent axons in submucosa of cat urinary bladder. *Anat. Rec.*, **183**, 579—587, 1975.
- 38) Carpenter, F.G. and Root, W.S.: Effect of parasympathetic denervation of feline bladder function. *Amer. J. Physiol.*, **166**, 686—691, 1951.
- 39) Ingersoll, E.H., Jones, L.L. and Hegre, E.S.: Effect on urinary bladder of unilateral stimulation of pelvic nerves in the dog. *Amer. J. Physiol.*, **189**, 167—172, 1957.

(1979年4月7日受付)