上部尿路組織内カテコールアミン含有量に関する研究

秋田大学医学部泌尿器科学教室 西 本 正
(主任: 土田正義教授)

A STUDY ON CATECHOLAMINE CONTENT OF THE CANINE UPPER URINARY TRACT

Tadashi Nishimoto

Department of Urology, Akita University School of Medicine
(Chairman: Prof. Seigi Tsuchida)

The catecholamines, noradrenaline (NA), adrenaline (ADR) and dopamine (DA) were determined in canine upper urinary tract tissues using high-pressure liquid chromatography with electrochemical detection. The NA content was characterized by regional variations in upper urinary tract tissues freed of canine adventitial blood vessels. The NA contents in renal calyces were always highest. Significant differences between renal calyx and renal pelvis, renal pelvis and pelvi-ureteric region, pelvi-ureteric region and upper ureter, upper ureter and lower ureter were demonstrated by the paired t test ($p < 0.05$). No regional variations were seen in the ADR content. The DA content showed the same regional variation pattern as NA, but no significant differences were seen statistically.

To determine the catecholamine contents of only smooth muscular tissues, adventitial and mucosal tissues were resected from the calico-pelviureter. The NA contents of calico-pelvic muscular tissues were significantly higher than those of ureteral muscular tissues.

The left lower ureter was ligated in fifteen dogs, and the right upper urinary tracts were used as controls.

Tissues of various regions were removed after 2 days, 1 week and 1 month. The NA contents of the samples ligated after 2 days were significantly reduced as compared with the controls. Even in the case of a dilated upper urinary tract, the NA content of the calyx was higher than that of other regions. The longer the duration of obstruction, the heavier the tissue weight of dilated upper urinary tract as compared with the control. The NA content of dilated upper urinary tract was not reduced in proportion to obstruction period.

要旨: 上部尿路組織内アドレナリン作動性神経の分布状態を組織内濃度として定量的に評価するため、イヌの上部尿路組織内カテコールアミン(CA)を測定した。測定にはブタノール抽出法、高速液体クロマトグラフィーと電気化学検出器を用いた。外膜の血管のみを除去した上部尿路組織のノルアドレナリン(NA)濃度は腎杯が最も高く、腎盂、腎盂尿管移行部と濃度が低下し、上部尿管、下部尿管と濃度が上昇し、膀胱尿管移行部は下部尿管とほぼ同程度であった。アドレナリン(ADR)濃度は部位による濃度差は認めなかった。ドーパミン(DA)濃度はNA濃度と同様の分布傾向を認めた。また両側腎盂尿管のCA含有量に差を認めなかった。外膜、粘膜を切除した尿路平滑筋組織のNA濃度は腎杯腎盂が尿管に比べ有意に高かった。

実験的に左下部尿管を結紮し、右腎盂尿管をコントロールとして2日後、1週間後、1カ月後に水腎盂尿管のCA含有量を測定した。2日後のNA濃度はコントロールに比べ有意に低下したが、結紮より上部では腎杯が他の部位に比べNA濃度が高かった。結紮後の時間経過にともなって水腎盂尿管の組織重量は増加したが、NA濃度はほとんど変化しなかった。

結 言

交感神経が腎盂尿管機能に対して果たす役割について、一定の結論は得られていないものの、組織学的に腎盂尿管にはアドレナリン作動性神経終末の存在が確認されている¹⁾²⁾。しかし、腎盂尿管系における交感神経系の分布については組織学的に一致した見解がない。ところで、神経終末におけるノルアドレナリン (NA とす) 含有量は神経線維における NA 含有量の数百倍といわれ³⁾、組織内 NA 含有量は交感神経末端の分布の粗密とほぼ比例すると考えられ、各臓器により組織内濃度が異なるとされているが、上部尿路のカテコールアミン (以下 CA とす) 含有量の定量的報告はほとんどない。

そこで私は腎杯、腎盂、腎盂尿管移行部および尿管の上下部といった部位的な交感神経分布の有無を検討するため、イヌを用いて上部尿路組織内 CA 含有量を測定した。さらに水腎盂尿管組織における CA 含有量を検討するため、下部尿路を完全に閉塞して実験的水腎盂尿管を作製した場合の組織内 CA 含有量の変化を検討し、興味ある結果を得たので報告する。

実験方法

10~15kg の雄の雑種成犬25頭を使用した。上部尿路組織の摘出は pancuronium bromide 0.1mg/kg を静脈内投与し、イヌを非動化してから腹部正中切開で両側の腎盂尿管を腎臓を含めて膀胱尿管移行部まで一塊として摘出した。CA 量の日内変動を考慮して摘出時刻は午後2時から5時までとした。

I. 標本作製

1) 正常上部尿路標本の作製

正常上部尿管における左右腎盂尿管 CA 含有量の相違ならびに部位別の CA 含有量を検討するために、外膜の血管のみを除去した上部尿路標本作製した。摘出した腎、尿管を 0℃ 生理食塩水で冷却しながら森田⁴⁾の方法で実体顕微鏡下に腎杯腎盂を被っている腎実質、血管および微小血管を含む脂肪組織、結合組織を除去して腎杯腎盂尿管標本作製した。標本の採取部位は腎杯、腎盂、腎盂尿管移行部、上部尿管、下部尿管および膀胱尿管移行部とした。実体顕微鏡下に腎杯腎盂を観察すると、腎杯側では腎実質に向かって放射状に筋走行が認められ、腎盂側は円弧状の筋走行がみられるので、この境界より近位側を腎杯として摘出した。腎盂は腎盂、尿管の移行部より約5mm 近位側までの部分とし、腎盂尿管移行部は腎盂、尿管の移行部を中心に近位側、遠位側、各約5mm 計約1cm とした。上

部尿管は腎盂尿管移行部の遠位側約1~2cm、下部尿管は総腸骨動脈交叉部直上約1~2cm、膀胱尿管移行部は膀胱尿管移行部の膀胱外尿管約1~2cm を摘出した。標本は液体窒素に浸漬し、測定まで-70℃冷凍庫で保存した。イヌの麻酔より標本の液体窒素浸漬までに要した時間は約20分であった。標本の CA 測定は1週間以内に行なった。

2) 腎盂尿管筋層標本の作製

腎盂尿管平滑筋組織内の CA を測定するために、出来る限り血管平滑筋の神経終末を除外した腎盂尿管筋層標本作製した。腎臓と一塊として摘出した腎盂尿管を、既述のごとく腎杯腎盂、上部尿管、および下部尿管標本にわけ、腎杯腎盂は平板となるように細片とし、尿管は縦方向に切開し、これらの標本を口紙上におき液体窒素に浸漬した。右腎盂尿管をコントロールとし、左腎盂尿管を筋層標本とした。粘膜、外膜の切除には電子凍結ステージ付滑走式マイクローム (Jung, Hn 40) を使用した。すなわち口紙上に平板とした腎盂尿管を凍結し、肉眼で色調の変化に注意しながら粘膜、外膜を約90μ から300μ の厚さで切除除去し筋層のみとした。また尿管を貫通する血管は14G 針でパンチバイオプシーの要領で標本から除去した。

3) 水腎犬の作製

雄の雑種成犬15頭を使用した。pentbarbital 25mg/kg 静脈内麻酔下に左下腹部傍腹直筋切開を施行し、総腸骨動脈交叉部で左尿管を剥離し、絹糸で結紮した。結紮2日後、1週間後、1カ月後に pancuronium bromide 0.1mg/kg を静脈内投与し、イヌを非動化してから両側腎盂尿管を摘出した。摘出標本は右腎盂尿管をコントロール、左腎盂尿管を水腎とし、それぞれ前述の各部位より標本を摘出した。また、水腎の程度をみるため右腎盂尿管と左水腎盂尿管の重量を測定した。水腎盂尿管では肉眼的に筋層を区別し得ず、筋層標本作製できなかったため、外膜の血管を除去した右腎盂尿管をコントロールとして使用した。

II. CA 測定

1) 組織内 CA は Sasa と Blank⁵⁾ (1979)、Ischikawa と McGauch⁶⁾ (1982) の報告に準じて n-ブタノール抽出法により抽出し、高速液体クロマトグラフィと電気化学検出器の組み合わせにより測定した。また内部標準物質として 3,4-dihydroxybenzylamine (Aldrich, DHBA とす) を使用した。すなわち、組織標本約100mg を 0.1M EDTA (2Na) 20μl と 40ng の DHBA を含む 0.025N 塩酸 200μl と 3ml の n

図1 CA抽出操作

TISSUE (Ca. 100mg)

20 μ l 0.1 M EDTA (2Na)

200 μ l of 0.025 N HCL containing DHBA 40mg

3ml of n-BUTANOL

HOMOGEIZATION (30000 rpm, for 30 sec.)

1g of solid NaCl

RECIPROCAL SHAKING (for 60 min.)

CENTRIFUGATION (3000 rpm, for 10 min.)

2.5ml of n-BUTANOL LAYER

5ml of n-HEPTANE

100 μ l of 0.1 N HCl

CENTRIFUGATION (3000 rpm, for 5 min.)

AQUEOUS LAYER

ASSAY (NA , Ad , DA , etc.)

n-ブタノールの混液で homogenate (30,000rpm, 池本理化工業 Chemitron) し, 1g の NaCl を加え60分間振盪 (ヤマト科学 SA 31, 280回/分), その後10分間遠心分離 (3,000rpm) を行ない, その上清2.5ml を5ml の n-ヘプタンと100 μ l の0.1N 塩酸と混和し, 再度10分間振盪した後, 5分間の遠心分離 (3,000rpm) 後, 水層より10 μ l をとり, それぞれカラムに注入した (図1). 測定には逆相カラム ODS-T (25 $\times$ 4cm) を装着した柳本 L-2000を用いた. 移動相には0.5%テトラヒドロフラン, 0.001%EDTA (2Na) を含む pH 4.6, 0.1M クエン酸バッファーを使用し, 設定加電圧0.6V, 流量0.8 $\pm$ 0.1ml/min カラム温度25 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C, 感度8nAFS と16nAFS の条件で測定した. 標準物質として noreadrenaline (Sigma) 40ng, adrenaline (Sigma) 10ng, dopamine hydrochloride (Sigma) 20ng を含む0.025 N 塩酸100 μ l を使用した. 各 CA の値は抽出操作のはじめに標準物質溶液に加えた DHBA のピーク高と各 CA のピーク高との比より次式で計算し求めた.

(例)

$$NA \text{ (ng/g)} =$$

$$\frac{(NA/DHBA) \text{ 標本} \times NA \text{ 標準液 (ng)}}{(NA/DHBA) \text{ 標準液} \times \text{組織重量 (g)}}$$

2) 回収率, 精度ならびに最小検出量の測定

腎盂尿管組織を含む場合の回収率と標準 CA 溶液のみの回収率を調べるため以下の実験を行なった. 尿管約1g に0.1M EDTA (2Na) 200 μ l, 0.025N 塩酸2ml, n-ブタノール30ml を加え homogenate し, これを10本の試験管に分けた. 5本には0.025N 塩酸20 μ l を加え

(A群), 他の5本にはNA 40ng, アドレナリン (以下ADR とす) 10ng, DHBA 40ng, ドーパミン (以下DA とす) 20ng を含む0.025N 塩酸20 μ l を加えた (B群). また別に0.025N 塩酸300 μ l と0.1M EDTA (2Na) 20 μ l を含む5本の試験管を用意し, これに同様にNA 40ng, ADR 10ng, DHBA 40ng, DA 20ng を含む0.025N 塩酸20 μ l, n-ブタノール3ml 用意した (C群). A, B, C群は前述のごとく抽出操作を施行し, その10 μ l をカラムに注入した. またNA 4ng, ADR 1ng, DHBA 2ng, DA 2ng を含む0.025N 塩酸溶液10 μ l (D群) は抽出操作を施行せず, そのままカラムに注入した. B群の各CA ピーク高よりA群の各CA のピーク高をひき, これをD群のピーク高で除し, 組織を含むCA の回収率を求めた. またC群のピーク高をD群のピーク高で除し, 組織を含まない標準CA の回収率を算出した. A, B, C, D群のピーク高のばらつきより精度を求めた. 最小検出量はNA 40ng, ADR 10ng, DHBA 40ng, DA 20ng を含む0.025N 塩酸溶液を10倍, 20倍, 50倍および100倍に希釈し, それぞれ溶液100 μ l を同様に抽出処理後, その水層10 μ l をカラムに注入して, 測定ノイズに比べ明らかなピークとして認められた注入CA 量より求めた.

結 果

高速液体クロマトグラフィーと電気化学検出器の使用によりCA はNA, ADR, DHBA, DA の順に約10分で検出された (図2). 完全に他のピークを認めず基準

図2 CA分析例

線に復帰するのに約40分必要とした。回収率は組織を含まない標準 CA 溶液では(以下平均±標準偏差) NA 36.8±0.4%, ADR 35.2±0.6%, DHBA 35.8±0.9%, DA 33.5±0.4%で、組織を含む場合 NA 36.1±0.6%, ADR 35.4±0.7%, DHBA 36.0±0.4%, DA 33.2±0.6%であり、両者の回収率に有意差は認めなかった。回収率測定で測定されたピーク高より求めた変動係数は、NA 5.5%, ADR 4.2%, DHBA 4.3%, DA 6.0%であった。以上、私の使用した測定法は回収率は一定で、精度が高いので十分に上部尿路組織 CA 含有量を評価できることが判明した。

1) 正常上部尿路 CA 濃度

表1に示すように外膜の血管のみを除去した上部尿路組織の NA 濃度、ADR 濃度、DA 濃度は、腎杯、腎盂、腎盂尿管移行部、上部尿管、下部尿管および膀胱尿管移行部の各部位で左右の腎盂尿管に有意差を認めなかった。個々のイヌの上部尿路 NA 濃度は腎杯が最も高く、腎盂、腎盂尿管移行部と順次低下するが、上部尿管、下部尿管と濃度が上昇して腎盂に近い値となり、膀胱尿管移行部で低下する傾向を示した(図3)。

5頭の10腎盂尿管の NA 濃度(以下湿量あたりとする)は腎杯442±162.2ng/g、腎盂254±76.1ng/g、腎盂尿管移行部170±68.9ng/g、上部尿管220±91.8ng/g、下部尿管309±83.8ng/g、膀胱尿管移行部262±181.2ng/gであり、腎杯と腎盂、腎盂と腎盂尿管移行部、腎盂尿管移行部と上部尿管、上部尿管と下部尿管には有意差を認めたが(paired t test p<0.05)、下部尿管と膀胱尿管移行部では有意差を認めなかった。ADR 濃度は腎杯4.4±3.8ng/g、腎盂4.6±4.0ng/g、腎盂尿管移行部4.6±3.8ng/g、上部尿管5.9±3.8ng/g、下部尿管

図3 上部尿路組織の各部位の NA 濃度

外膜の血管のみを除去した右腎盂尿管の各部位での NA 濃度を示す (n=5)。

管5.9±3.8ng/g、膀胱尿管移行部5.2±3.0ng/gであり各部位間に有意差を認めなかった。一方 DA 濃度は腎杯19.5±8.6ng/g、腎盂11.6±7.7ng/g、腎盂尿管移行部10.3±7.8ng/g、上部尿管12.5±8.3ng/g、下部尿管16.1±15.0ng/g、膀胱尿管移行部16.5±11.2ng/gであった。DA 濃度は NA 濃度と同様に腎杯が最も高く、腎盂、腎盂尿管移行部と低下し、上部尿管、下部尿管と濃度が上昇する傾向を示したが、統計学的には有意差を認めなかった。各部位における NA 濃度と DA 濃度は相関係数 r=0.729で相関を認めた (p<0.005)。

以上、外膜の血管のみを除去した上部尿路組織 CA 濃度には左右差を認めなかった。また NA 濃度は腎杯が最も高く、腎盂、腎盂尿管移行部と低下し、ふたたび上部尿管、下部尿管と濃度が上昇し、部位による差を認めた。

2) 腎盂尿管筋層標本の CA 濃度

表1 上部尿路組織 CA 濃度

	Noradrenaline		Adrenaline		Dopamine	
	Right	Left	Right	Left	Right	Left
Calyx	461±161.8	424±179.0	4.6±4.9	4.6±4.5	20.3±10.0	18.8± 8.1
Renal Pelvis	250± 85.9	257± 75.0	4.4±3.3	4.4±4.4	11.4± 7.8	11.8± 8.5
Pelviureteral Region	186± 84.0	154± 54.5	4.3±4.5	4.9±3.5	10.0± 7.3	10.6± 9.1
Upper Ureter	233±101.7	207± 90.5	5.8±4.3	5.4±4.0	11.8± 8.4	13.2± 9.0
Lower Ureter	317± 99.1	300± 76.1	4.8±2.9	5.2±2.1	16.0±17.0	16.1±14.5
Ureterovesical Region	267± 88.0	258± 83.6	4.9±3.9	5.8±2.4	17.4±11.3	16.5±14.2

(Mean±s. d. ng/g wet Tissue)

外膜の血管のみを除去した右腎盂尿管と左腎盂尿管の CA 濃度を示す(n = 5)。

左右の腎盂尿管 CA 濃度に差を認めないので、右腎盂尿管をコントロール、左側を筋層標本とした(表 2)。コントロールの NA 濃度は腎杯腎盂452±79.4ng/g、上部尿管207±51.5ng/g、下部尿管280±70.6ng/gであり、筋層標本の NA 濃度は腎杯腎盂338±106.2ng/g、上部尿管114±41.2ng/g、下部尿管134±38.7ng/gであった。外膜の血管のみを除いたコントロールに比べ筋層標本の NA 濃度は腎杯腎盂、上部尿管、下部尿管のすべてで低下した。コントロールと筋層標本の NA 濃度の相関係数は $r=0.752$ であり、両者に相関を認めた ($p<0.005$)。またコントロールの各部位間の NA 濃度には有意差を認めた (paired t test $p<0.05$)。筋層標本の NA 濃度は腎杯腎盂と上部尿管、下部尿管の間には有意差を認めたが (paired t test $p<0.05$)。上部尿管と下部尿管には有意差を認めなかった。ADR 濃度はコントロールと筋層標本間に有意差を認めず、各部位間にも有意差を認めなかった。コントロールの DA 濃度に比べ筋層標本の DA 濃度は低下した。DA 濃度は両群とも腎杯腎盂に高い傾向を示したが、腎杯腎盂と尿管の間に統計学的に有意差を認めなかった。

以上、上部尿路筋層の NA 濃度は腎杯腎盂で有意に尿管より高かったが、それら全体の濃度はコントロー

ルに比べ低下していた。

3) 水腎犬の CA 濃度

実験的に左尿管を結紮し、水腎を作製した場合の CA 濃度の変化を 2 日後、1 週間後、1 カ月後調べた。右腎をコントロール、左腎を水腎尿管として、その結果を表 3、表 4、表 5 に示した。水腎尿管の NA 濃度は 2 日後、1 週間後、1 カ月後ともコントロールの NA 濃度と比べ結紮より近位の腎杯、腎盂、腎盂尿管移行部、上部尿管、下部尿管、結紮より遠位の膀胱尿管移行部とも NA 濃度は著明に低下した。2 日後、1 週間後、1 カ月後のコントロールの NA 濃度は正常上部尿路組織と同様、腎杯が高く、腎盂、腎盂尿管移行部と順次低下し、ふたたび上部尿管、下部尿管と上昇した。下部尿管と膀胱尿管移行部では有意差はなかったが、下部尿管と比べ膀胱尿管移行部の NA 濃度が高いイヌが多かった。2 日後、1 週間後、1 カ月後の水腎尿管の各部位間では結紮より近位で腎杯と腎盂に有意差を認めた (paired t test $p<0.05$)。また結紮より近位の下部尿管と遠位の膀胱尿管移行部には明らかな有意差を認めた (paired t test $p<0.05$)。ADR 濃度は 2 日後、1 週間後、1 カ月後とも、コントロールに比べ水腎尿管が高い傾向を認めたが、統計学的に有意

表 2 上部尿路筋層の CA 濃度

	Noradrenaline		Adrenaline		Dopamine	
	Control	Muscular Tissue	Control	Muscular Tissue	Control	Muscular Tissue
Calico-Pelvis	452±79.4	338±106.2	3.5±2.6	3.4±3.5	49.6±34.4	36.8±29.4
Upper Ureter	207±51.3	114± 41.2	3.0±3.0	0.6±1.0	25.5±11.5	10.2± 9.3
Lower Ureter	280±70.6	134± 38.0	2.1±1.8	3.5±4.1	34.7±21.2	14.2±14.1

(Mean±s.d. ng/g wat Tissue)

表 3 下部尿管結紮 2 日後の上部尿路組織 CA 濃度

	Noradrenaline		Adrenaline		Dopamine	
	Control	Hydro.	Control	Hydro.	Control	Hydro.
Calyx	380± 99.0	94± 52.1	1.5±2.3	3.0±4.4	9.1± 7.9	1.7±2.3
Renal Pelvis	266±120.8	47± 31.0	1.1±1.7	3.2±2.5	4.9± 6.0	1.8±2.5
Pelviureteral Region	172± 42.5	48± 27.7	1.4±1.4	5.5±6.2	n.d.	n.d.
Upper Ureter	209± 77.8	66± 38.6	4.8±3.5	4.7±5.3	3.4± 5.1	1.2±1.7
Lower Ureter	372±121.1	72± 28.0	2.0±3.2	5.2±5.9	5.1± 4.8	n.d.
Ureterovesical Region	454±272.2	359±205.3	2.7±3.8	2.7±2.7	9.9±17.2	5.7±7.0

n.d. : not detectable (Mean±s.d. ng/g wet Tissue)

Hydro. : Hydropelviureter

表 4 下部尿管結紮 1 週間後の上部尿路組織 CA 濃度

	Noradrenaline		Adrenaline		Dopamine	
	Control	Hydro.	Control	Hydro.	Control	Hydro.
Calyx	469±139.5	92±47.9	6.1±4.4	8.5±6.8	24.8±12.1	38.6±64.7
Renal Pelvis	298± 55.5	32±19.6	4.4±3.7	6.9±7.5	20.5± 9.6	20.0±33.8
Pelviureteric Region	139± 39.6	59±49.4	3.5±3.4	7.2±6.1	11.4± 7.0	10.1±14.3
Upper Ureter	176± 42.4	40± 9.7	4.9±3.7	5.3±5.0	11.5± 5.0	16.3±22.4
Lower Ureter	299± 88.2	52±26.9	5.2±3.2	8.2±7.8	20.0±11.9	20.7±35.6
Ureterovesical Region	297± 88.2	247±90.2	4.2±2.4	4.2±2.4	20.2±15.2	16.1± 8.7

Hydro. : Hydropelviureter (Mean±s.d. ng/g wet Tissue)

表 5 下部尿管結紮 1 カ月後の上部尿路組織 CA 濃度

	Noradrenaline		Adrenaline		Dompamine	
	Control	Hydro.	Control	Hydro.	Control	Hydro.
Calyx	460±141.1	92± 33.8	3.9±3.6	6.6±6.0	38.5±21.0	12.6±20.6
Renal Pelvis	291± 68.5	21± 10.9	2.8±2.6	4.5±5.3	25.0±10.8	3.4± 4.7
Pelviureteric Region	150± 36.1	28± 18.9	2.7±3.3	6.8±7.7	11.2± 5.8	16.5±30.5
Upper Ureter	192± 37.9	25± 16.1	3.5±3.5	5.2±4.2	11.3± 4.3	9.0±17.2
Lower Ureter	375±137.8	45± 45.6	3.2±3.5	8.5±6.6	16.8± 7.9	8.3±12.2
Ureterovesical Region	475±161.9	241±156.7	4.4±4.5	6.9±6.6	25.9±13.3	22.9±18.4

Hydro. : Hydropelviureter (Mean±s.d. ng/g Tissue)

差はなかった。DA 濃度は 2 日後の水腎盂尿管で低下傾向を示したが、1 週間後、1 カ月後ではコントロールに比べ明らかに DA 濃度が高いイヌと低いイヌがあった。

右腎盂尿管に対する左腎盂尿管の重量比は正常 1.0 ± 0.07 、2 日後 1.6 ± 0.25 、1 週間後 2.8 ± 0.59 、1 カ月後 5.2 ± 0.70 であり、尿管結紮後の時間の経過とともに水腎盂尿管重量は増加した。

考 案

アドレナリン作動性神経終末における NA 含有量は神経線維内 NA 含有量の数百倍といわれ³⁾、組織内 NA 含有量は交感神経終末分布の粗密とほぼ比例すると考えられている。そこで私は上部尿路組織内アドレナリン作動性神経の分布状態を組織内濃度として定量的に評価するために、また上部尿路組織中の生理活性アミン濃度を評価するために、イヌの上部尿路組織内 NA, ADR, DA 含有量を測定した。

この場合まず問題となるのは測定法である。CA の

測定は従来よりエチレンジアミン法、トリハイドロオキシインドール法の蛍光法が行なわれてきたが、測定精度や測定物質の特異性の点で劣るため、私は試料処理が簡単で同時に CA ならびに CA 関連物質を測定できる精度の高い方法として、高速液体クロマトグラフィーと電気化学検出器の組み合わせにより CA 測定を行なった。この方法で測定した外膜の血管のみを除去した上部尿路組織内 NA 濃度は腎杯に高く、腎盂、腎盂尿管移行部と順次低下し、ふたたび上部尿管、下部尿管と上昇し、膀胱尿管移行部でやや低下する分布を示した。ADR 濃度は各部位に差がなく、DA 濃度は NA 濃度と同様の分布傾向を示した。

組織内 CA は組織中の交感神経と組織に含まれる血液に由来する。当教室の石川の報告⁷⁾では chloralose 麻酔下の雑種成犬血漿中 NA 濃度は $0.091 \sim 0.350 \text{ ng/ml}$ 、ADR 濃度は $0.107 \sim 0.500 \text{ ng/ml}$ であり、私の測定した NA 濃度は血液の NA 濃度に比べ非常に高く、血液由来の NA は無視しうるものであり、上部尿路組織

内 NA 濃度のほとんどすべてがアドレナリン作動性神経由来と考えられる。また副腎、心臓、脳以外の末梢臓器に見出される微量の ADR は、そのほとんど副腎髄質より血中に分泌された ADR に由来すると考えられており、私の測定した上部尿路組織内 ADR 濃度は実験犬の麻酔によるストレスなどの影響を考慮すると、ほぼ妥当な値であると考えられる。イヌ血漿中の DA 濃度も 0.2ng/ml 前後と報告されており⁸⁾、私の測定した DA 濃度は血液由来の DA を測定している可能性も否定できない。しかし、最近の交感神経終末 CA 貯蔵顆粒の成分分析では⁹⁾、DA は全 CA の $1.2\% \sim 9\%$ とされ、私の測定値もこれと一致し、また NA 濃度と DA 濃度に相関関係を認めたことより、私の測定した DA 濃度は、その大部分がアドレナリン作動性神経に存在する DA を測定したものと考えられる。従って DA は神経伝達物質である NA の前駆物質として上部尿路組織内に大部分存在すると思われる。

尿管の CA 含有量については Boyarsky ら (1966)¹⁰⁾、Wein ら (1972)¹¹⁾ の報告があるが、腎杯、腎盂の CA 含有量についての報告はない。Boyarsky らはイヌの尿管の CA を蛍光法で定量し、NA 濃度は $0.14 \pm 0.08 \mu\text{g/g}$ 、ADR 濃度は $0.10 \pm 0.08 \mu\text{g/g}$ と報告し、Wein らは同様にイヌ尿管の NA 濃度を上部尿管 $0.35 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$ 、中部尿管 $0.36 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$ 、下部尿管 $0.37 \pm 0.04 \mu\text{g/g}$ と報告している。Boyarsky らも Wein らも私と同様にイヌを対象として尿管の CA を測定しているにもかかわらず、Boyarsky らの報告の NA 濃度は私の値に比べ低く、ADR 濃度は著明に高い。また Wein らの NA 濃度は尿管全層の NA を測定したためと考えられるが、私の値と比べやや高い。この違いの原因としては、対象がともに雑種のイヌであることや標本の採取法が違うことや彼らの使用した測定法が約20年前のものであることなどが挙げられる。

上部尿路筋層では腎杯腎盂の NA 濃度が尿管の NA 濃度に比べて有意に高く、尿管では部位による差を認めなかった。また各部位の上部尿路筋層の NA 濃度は外膜の血管のみを除去したコントロールの NA 濃度に比べ低下した。DA 濃度は両群で NA 濃度と同様の傾向を認め、ADR 濃度は両群で有意差を認めなかった。いままでに上部尿路筋層の CA 濃度を測定した報告はない。ところで、腎盂尿管のアドレナリン作動性神経には腎盂尿管の血管平滑筋を支配するものと尿路平滑筋を支配するものがある。また血管は筋層に比べ尿管外膜と粘膜固有層に多く分布することが知ら

れている。私の正常上部尿路標本では細血管を多数含む粘膜固有層も含まれるため、粘膜を切除して筋層の CA を測定した。コントロールに比べ筋層の NA 濃度が低下したことは、粘膜固有層の血管平滑筋を支配するアドレナリン作動性神経終末が筋層のアドレナリン作動性終末より多いことを意味すると考えられる。

Gosling と Dixon (1971)¹²⁾ はウサギの腎杯、腎盂、尿管の神経支配について蛍光組織化学および電子顕微鏡的観察を行ない、腎杯、腎盂には内、外2層の筋層があり、外層筋の結合組織にはアドレナリン作動性神経が豊富で、腎杯腎盂内層筋とこれに連続する上部尿管筋層にはアドレナリン作動性神経が少ないと報告している。腎杯、腎盂にはアドレナリン作動性神経が尿管より密に分布しているとの私の結果は、この報告と一致する。

組織学的な尿管のアドレナリン作動性神経の分布に関して、Elbadawi と Schenk (1969)¹³⁾ はネコの尿管で腎盂尿管移行部では神経が最も少なく、上部尿管はやや分布が増加し、中部尿管は尿管中最も多く分布し、下部尿管は上部尿管より多く分布するが、中部尿管より神経の分布が少ないと報告し、尿管の部位による分布差を認めている。また Duarte-Escalante ら (1969)²⁾ は種々の哺乳動物とヒトの尿管の神経支配について観察し、アドレナリン作動性神経は腎盂尿管移行部、膀胱尿管移行部に豊富に認められると報告している。しかし Dixon と Gosling (1971)⁴⁾ はラット、ウサギ、モルモットの尿管で Ogata ら (1973)⁴⁾ はイヌの尿管で、尿管平滑筋を支配するアドレナリン作動性神経には部位による分布差はないと報告している。私の CA 測定では、外膜の血管のみを除去した組織では Elbadawi と Schenk¹³⁾ の報告と同様の NA 濃度の分布を示したが、細血管を多く含む粘膜を切除した筋層標本では、NA 濃度が低下し、尿管の部位による差を認めなかった。従って私の CA 測定結果は、Dixon と Gosling、Ogata らの報告と一致するものである。また Schulman (1975)¹⁶⁾ はウサギの胎生、出生後の神経支配の発達について観察し、尿管の自律神経の発達は尿路平滑筋組織の発達と関連していると報告しており、少なくとも尿管筋層にはアドレナリン作動性神経の部位による分布差はないと考えられる。すなわち、尿管ではその尿管平滑筋が少ない部位では筋層のアドレナリン作動性神経の分布が少なく、尿管平滑筋の多い部位ではアドレナリン作動性神経が多いと考えられ、私のように組織重量あたりの NA 量よりアドレナリン作動性

神経分布をみる限りでは差はないと思われた。

ところで、生理学的には腎盂尿管の蠕動収縮は腎杯附近に発生し、腎盂内を伝播し、尿管へと移動するとされている。また鈴木(1983)¹⁷⁾は摘出したイヌの腎盂尿管内に NA を投与すると、腎盂内圧が上昇して腎杯の蠕動収縮が尿管まで伝播しやすくなると述べている。Longrigg (1975)¹⁸⁾はヒトの摘出腎杯、腎盂尿管に対する NA の作用の強さを検討し、腎杯が最も強く反応すると報告している。これらの事実から尿路平滑筋の NA 感受性には差異があり、NA 感受性は腎杯が最も強く、下部になるほど弱くなると考えられる。私の結果は腎杯、腎盂が尿管と比べ有意に NA 含有量が多く、アドレナリン作動性神経終末の分布が腎杯に近いほど密であることを示唆するものであるが、この分布は腎杯に発生した微小蠕動収縮を効率よく尿管まで伝播させるために極めて都合の良い神経分布であると思われる。

尿管を結紮して実験的に水腎盂尿管を作製すると、水腎盂尿管の NA 濃度は2日後、1週間後、1カ月後ともコントロールに比べ結紮より近位の腎杯、腎盂、尿管で著明に低下し、結紮より遠位の膀胱尿管移行部でも有意に低下した。ADR 濃度には有意の差を認めず、DA 濃度は2日後低下傾向を示したが、1週間後、1カ月後はイヌによるばらつきが大きくなった。この NA 濃度の低下の原因として、水腎盂尿管となったために組織重量が増加し、みかけ上の濃度低下がおきたことも考えられる。事実、実験的に尿管の不完全閉塞あるいは完全閉塞を起こした場合、尿管の内径の増大と尿管の重量の増加が認められ、組織学的には尿路平滑筋の肥大と尿管平滑筋数の増加があり、またコラーゲン線維が平滑筋周囲に増加することが報告されている^{19)~21)}。私が作製した実験的水腎盂尿管においても、その腎盂重量はコントロールに比べ2日後 1.6 ± 0.23 、1週間後 2.8 ± 0.59 、1カ月後 5.2 ± 0.70 と増加した。しかし、2日後の水腎盂尿管の重量が 1.6 ± 0.23 倍と増加した以上に著明な NA 濃度の低下が認められたので、NA 濃度の低下は重量増加によるみかけ上の濃度低下とは考えられず、神経が変性を起こしたために NA 濃度が低下したと考えた方が妥当と思われる。現在のところ、実験的水腎盂尿管におけるアドレナリン作動性神経分布についての報告はほとんどない。Aung-Khin (1973)²²⁾はウサギの中部尿管を6時間閉塞し、解除後 methylen blue を注入し、尿管の神経を観察した。その報告によると、閉塞部より遠位から上

行する神経は急速に変性し、また閉塞より遠位2cm も逆行性変性を起こしたという。私の結果も2日後の水腎盂尿管で、NA 濃度は著明に低下しており、神経変性が生じたと思われたが、1カ月後は重量の増加に比べ水腎盂尿管に含まれる NA の総量はそれほど低下しておらず、正常腎盂尿管の NA の総量と同程度であると考えられた。これは、水腎盂尿管となった場合には NA を増加させる何らかの機構が働いたと考えられる。NA の前駆物質である DA が、1週間後、1カ月後の水腎盂尿管で増加したイヌが存在したことも関連があるかもしれない。しかも水腎盂尿管においても、腎杯の NA 濃度が他の部位に比べ有意に高いことは腎杯のアドレナリン作動性神経の重要性を示唆するものと考えられる。

結 論

1. 上部尿路組織におけるアドレナリン作動性神経の分布を調べるため、n-ブタノール抽出法により高速液体クロマトグラフィーと電気化学検出器を用いて雄の雑種成犬の上部尿路組織内 CA 含有量を測定した。外膜の血管を除去した上部尿路組織の NA 濃度は腎杯が最も高く、腎盂、腎盂尿管移行部と濃度が低下し、上部尿管、下部尿管と濃度が上昇し、膀胱尿管移行部は下部尿管とほぼ同濃度を示した。ADR 濃度は部位による濃度差を認めず、DA 濃度は NA 濃度と同様の分布傾向を認めた。また両側腎盂尿管の CA 含有量に差を認めなかった。血管を支配するアドレナリン作動性神経を除外するため粘膜を切除した腎杯腎盂、上部尿管、下部尿管筋層組織 CA を測定した。腎杯腎盂筋層は尿管筋層に比べ有意に NA 濃度が高く、上部尿管、下部尿管の筋層には有意差を認めなかった。組織内 NA 濃度はアドレナリン作動神経分布の粗密と比例すると考えられているので、腎杯、腎盂は尿管に比べ有意にアドレナリン作動性神経の分布が多いと考えられる。

2. 実験的に下部尿管を結紮し、水腎盂尿管を作製した。尿管結紮後の時間の経過とともに水腎盂尿管重量は増加した。各時期の水腎盂尿管の NA 濃度はコントロールに比べ有意に低下した。しかし、水腎盂尿管の NA 濃度は水腎盂尿管重量の増加に比例して低下せず、むしろ1カ月後の水腎盂尿管の総 NA 量は正常腎盂尿管と同程度と考えられた。また尿管結紮部より近位の水腎盂尿管においても腎杯の NA 濃度が他の部位の NA 濃度より高かった。

稿を終えるに当り、御指導、御校閲を賜った恩師土田正義

教授に深甚なる謝意を表します。また御指導、御助力を頂いた森田隆博士を始め教室諸兄に深く感謝いたします。

本論文の要旨は、第72回日本泌尿器科学会総会で発表した。

文 献

- 1) Elbadawi, A. and Schenk, E.: Innervation of the abdominopelvic ureter in the cat. *Am. J. Anat.*, 126, 103—114, 1969.
- 2) Schulman, C.C.: Electron microscopy of the human ureteric innervation. *Br. J. Urol.*, 46, 609—623, 1974.
- 3) Dahlström, A. and Häggendal, J.: Some quantitative studies on the noradrenaline content in the cell body and terminals of a sympathetic adrenergic neuron system. *Acta Physiol. Scand.*, 67, 271—277, 1966.
- 4) 森田 隆: 腎盂筋電図と腎盂内圧変動の同時記録によるイヌ腎盂 pacemaker activity とその伝播に関する研究. *日泌尿会誌*, 69, 304—314, 1978.
- 5) Sasa, S. and Blank, C.L.: Simultaneous determination of noradrenaline, dopamine, and serotonin in brain tissue by high-pressure liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytica Chimica Acta*, 104, 29—45, 1979.
- 6) Ishikawa, K. and Mcgaugh, J.L.: Simultaneous determination of monoamine transmitters, precursors and metabolites in a single mouse brain. *J. Chromatogr.*, 229, 35—46, 1982.
- 7) 石川 清: 膀胱内圧の変化と循環動態に関する研究—とくに血圧、血漿カテコールアミン濃度の変化について. *日泌尿会誌*, 73, 977—987, 1982.
- 8) Bühler, H.U., Da prada, M., Haefely, W. and Picotti, B.: Plasma adrenaline, noradrenaline and dopamine in man and different animal species. *J. Physiol.*, 276, 331—320, 1978.
- 9) Fried, G.: Small noradrenergic storage vesicles isolated from rat vas deferens—biochemical and morphological characterization. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 493, 1—21, 1980.
- 10) Boyarsky, S., Kirshner, N. and Labay, P.: Catecholamine content of the normal dog ureter. *Invest. Urol.*, 4, 97—102, 1966.
- 11) Wein, A.J., Leone, J.V., Schoenberg, H.W. and Jacobowitz, D.: A study of the adrenergic nerves in the dog ureter. *J. Urol.*, 108, 232—233, 1972.
- 12) Gosling, J.A. and Dixson, J.S.: Morphologic evidence that the renal calyx and pelvis control ureteric activity in the rabbit. *Am. J. Anat.*, 130, 393—408, 1971.
- 13) Duarte-Escalante, O., Labay, P. and Boyarsky, S.: The neurohistochemistry of mammalian ureter: A new combination of histochemical procedures to demonstrate adrenergic, cholinergic and chromaffin structures in ureter. *J. Urol.*, 101, 803—811, 1969.
- 14) Dixson, J.S. and Gosling, J.A.: Histochemical and electron microscopic observation on the upper segment of the mammalian ureter. *J. Anat.*, 110, 57—66, 1971.
- 15) Ogata, J., Ueno, F., Sakata, T. and Yamasaki, K.: Histochemical study of adrenergic and cholinergic nerve fiber in the dog ureter. *Kumamoto Med. J.*, 26, 113—119, 1973.
- 16) Schulman, C.C.: Development of the innervation of the ureter. *Eur. Urol.*, 1, 46—48, 1975.
- 17) 鈴木隆志: 自律神経薬剤の腎盂蠕動 pacemaker に及ぼす影響に関する基礎的生理学的研究. *日平滑誌*, 19, 123—138, 1983.
- 18) Longrigg, N.: Minor calyces as primary pacemaker sites for ureteral activity in man. *Lancet*, 1, 253—254, 1975.
- 19) Cussen, L.J.: The effect of incomplete chronic obstruction on the ureteric muscle of the dog. *Invest. Urol.*, 10, 208—211, 1972.
- 20) Gee, W.F. and Kiviat, M.: Ureteral response to partial obstruction. *Invest. Urol.*, 12, 309—316, 1975.
- 21) Cussen, L.J. and Tymms, A.: Hyperplasia of ureteral muscle in response to acute obstruction of the ureter. —A quantitative study. *Invest. Urol.*, 9, 504—508, 1972.
- 22) Aung-Khin, M.: The innervation of the ureter in experimental open hydronephrosis. *Invest. Urol.*, 10, 379—386, 1973.

(1984年6月4日受付)