下部尿路を支配する自律神経の神経伝達物質に 関する免疫組織学的研究

大分医科大学泌尿器科学教室 (主任: 緒方二郎教授)

寺 田 勝 彦 緒 方 二 郎

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES OF PUTATIVE NEUROTRANSMITTERS IN THE LOWER URINARY TRACT

Katsuhiko Terada and Jiro Ogata

Department of Urology, Medical College of Oita, Oita, Japan

(Director: Prof. Jiro Ogata)

Putative neurotransmitters of the lower urinary tract were investigated in apes, rabbits and cats using immunohistochemical techniques of PAP (Peroxidase antiperoxidase) staining and IGSS (Immunogold silver staining) methods for Neuron specific enolase (NSE), Acetylcholine (Ach), Noradrenaline (NA), Vasoactive intestinal polypeptide (VIP), Substance P (SP) and Calcitonin gene related peptide (CGRP).

1) The localization of pelvic ganglions exhibited more striking evidence of species difference. Huge pelvic ganglions were found particularly in the dorsolateral area of the prostate in apes. On the other hand, in cats and rabbits, many ganglion cells were found around the uretero-vesical junctions.

2) In the pelvic ganglions of the apes, Ach immunoreactives were detected in early 70 percent of the cell bodies. 10~15 percent were NA immunoreactive cells. In addition, 15~20 percent VIP and a smaller percentage of SP immunoreactive cells were detected in the same ganglions. Axons extending from the ganglion cells showed the intense neurotransmitters immunoreactivity.

3) In the apes, varicose fibers containing SP were widely distributed in the epithelium, submucosa, muscle layer, and around the vessels of the bladder. SP immunoreactive cell bodies were found in the dorsal root ganglion at levels of L7, S1 and at the same levels in the posterior horn. On the other hand, the bulbourethral gland and the seminal vesicle contained SP immunoreactive cell bodies.

4) CGRP containing fibers were distributed in similar locations as SP containing fibers in the bladder.

5) VIP immunoreactive fibers were also widely distributed, being most dense at the base of the bladder.

6) Large numbers of Pacinian corpuscles were arranged in clusters at the distal site of the membranous urethra. Intense immunohistochemical reactions were demonstrated with both anti-SP and anti-VIP sera in the all outer course. These immunohistochemical evidences suggested that the pelvic ganglion cells contained more than one potential neurotransmitter substances. It was suspected that VIP and a part of SP modulate the actions of Ach and/or NA in efferent nerve of the autonomic nervous system in the lower urinary tract. Also, CGRP and most of SP were considered afferent putative neurotransmitters.

Key words: lower urinary tract, neurotransmitter, peptide

要旨: 日本猿, 家兎および猫を用いて, 下部尿路の自律神経における神経伝達物質を免疫組織化学的に検索した。抗体には Neuron specific enolase, Acetylcholine, Noradrenaline, Vasoactive intestinal polypeptide, Substance P, Calcitonin gene related peptide 抗体を用い下記の果が得られた。

1) 日本猿と家兎, 猫では骨盤神経節の存在部位に種差が認められ, 前者では前立腺の背外側に, 後者

では尿管膀胱移行部に存在した。

2) 日本猿の骨盤神経節には、約70%の Acetylcholine 陽性細胞、約10~15%の Noradrenaline 陽性細胞、15~20%の Vasoactive intestinal polypeptide 陽性細胞および小数の Substance P 陽性細胞が検出され、神経節に続く神経線維束にはそれぞれの神経伝達物質陽性線維が認められた。

3) Substance P は日本猿の膀胱上皮内、粘膜下組織、筋層、血管周囲に Varicose 状の線維に検出され、L7, S1レベルの後根神経節および後角には Substance P 陽性神経細胞が認められた。また精囊腺および尿道球腺間質内にも Substance P 陽性細胞が検出された。

4) Calcitonin gene related peptide の局在はほぼ Substance P と同様であった。

5) Vasoactive intestinal polypeptide 陽性線維は三角部の膀胱上皮内および筋層に多く認められた。

6) 尿道外括約筋部背外側き Pacinian corpuscle 様小体の集簇が認められ、外棍に Substance P と Vasoactive intestinal polypeptide が共存していた。

キーワード：下部尿路、神経伝達物質、ペプチド

結 言

下部尿路を支配する末梢神経は、下腹神経、骨盤神経、および陰部神経である。前二者は純粋な自律神経で、骨盤神経節、さらには膀胱壁、尿道壁内に神経節が存在し、神経線維を出してそれぞれの平滑筋を支配している。後者は自律神経を含む体性神経であるが、これらの三神経の脊髄起源は胸、腰、仙髄に分布する。排尿機構を論ずるには平滑筋組織を含め、まずこれら神経支配の詳細な説明が必要である。

膀胱の収縮は主に骨盤神経を刺激することによって起こるが、Acetylcholine (Ach) 投与によっても生じる。多量の atropine 投与を行なうと、Ach による膀胱の収縮は完全に抑制されるが骨盤神経刺激による膀胱収縮は部分的にしか抑制されない vesical atropine resistance として知られている¹⁾。そこで膀胱を始めとする泌尿生殖器にも Non-cholinergic, Non-adrenergic な神経線維が取り上げられるようになり、神経活性ペプチドを始めとする神経伝達物質の存在を示唆する薬理学的、免疫組織化学的な研究が報告されている²⁾。

また一方、従来末梢神経系における神経活性物質の同定には、マーカーとして Acetylcholine esterase (AchE) 等の分解酵素が利用されていたが、近年中枢神経系において AchE はコリン作動神経以外の神経系にも存在し、コリン作動神経の特異的な指標とはなり得ない事がわかってきた³⁾。そのため既知の伝達物質である Ach 等の同定には合成酵素、或いは Ach そのものを用いて検出しなければならないことが主張されている。

今回われわれは下部尿路に於いて骨盤神経節を中心に抗 Neuron specific enolase (NSE) 抗体、抗 Acetyl-

choline (Ach) 抗体、抗 Noradrenaline 抗体、抗 Substance P (SP) 抗体、抗 Calcitonin gene related peptide (CGRP) 抗体、抗 Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) 抗体を用い、その生理作用を知る一助としてこれらの物質の日本猿、家兎および猫を用いて、下部尿路の自律神経における各物質の存在の可能性を検討する目的で免疫組織化学的手法で観察を行なった。

実験方法

日本猿(雄、体重7.0~10kg)、家兎(雄、体重1.0~1.5kg)および猫(雄、体重0.5~0.8kg)を用いた。動物をケタラルあるいはペントバルビタール深麻酔下に開胸し、下大動脈より4%パラホルムアルデヒド(FA)、0.2%ピクリン酸(PA)、0.5%グルタルアルデヒド(GLA)を含む0.1M リン酸緩衝液(PB, pH 7.4 4℃)にて約20分灌流して生体固定を行ない所要組織を採取した後、4%FA、0.2%PAを含む0.1M PB (pH 7.4)で4℃環境下に24時間、後固定。次いで4℃の状態を保ったまま、0.1M PBS (pH 7.4)に2日間浸漬、エタノール、キシレン系列で脱水、透徹、60℃環境でパラフィン包埋した。

膀胱と尿道全長およびその周辺組織を含めた大きなパラフィン切片を作製し、とくに骨盤神経節はtrimmingした。また猿ではL7, S1レベルの後根神経節および脊髄後角組織切片も作製し、同定を後述の2通りの免疫組織化学法を適当に選び、形態学的に観察した。

一部の組織は後固定後、凍結切片標本として観察したものもある。以下の免疫組織化学法の概略を述べる。

1) PAP法：基本操作は、ほぼ Nakane & Kawai⁴⁾の方法に従った。切片を0.5%の normal goat serum を含む PBS (NGS)、又は二次抗体と同種の5%の正

常血清に約20分間浸漬。次に一次抗体の抗 SP 抗体(希釈倍率 1 : 200), 抗 VIP 抗体(1 : 800), 抗 CGRP 抗体(1 : 800)を 4℃環境で24時間反応させた。次に室温で二次抗体を100~500倍の NGS 希釈液で1時間間反応。最後に PAP-complex を30分間反応させた後, 0.02%アミノベンチジン塩酸塩(DAB), 0.006% H_2O_2 を含む50mM Tris 塩酸緩衝液(pH 7.6)と5~10分間反応させて染色。

2) IGSS 法: 基本的操作は Roth らの方法に改良を加えた Fujimori⁹⁾の方法に従った。脱バラ後, 5% PBS-NGS 液に30分間浸漬。一次抗体の抗 Ach (1 : 100) 抗体, 抗 NA (1 : 100) 抗体, 抗 SP (1 : 500) 抗体, 抗 VIP (1 : 1000) 抗体, 抗 CGRP 抗体(1 : 1000)を各々60~90分間反応させた。次に1%の BSA 加 PBS で300倍に希釈した金属標識抗体(Immunogold: goat)を60分間反応後, 切片を water bath 環境の現象用ジャーに入れ, 20度に保った物理現象液(Physical developer)を加える。現象用ジャーは全暗黒状態に置き, 逐次検鏡により結果を確認しながら現象時間を調節した。4倍に希釈した定着液(Photo-graphic fixter)に1分間浸漬後, 後染色(Kernechitorot)した。

3) 試薬: 試薬は以下のものを使用した。抗 Ach 抗体(SFRI 社*), 抗 NA 抗体(SFRI 社*), 抗 SP 抗体(Sera labo 社*, MILAB 社*), 抗 VIP 抗体(VCE 社*, MILAB 社*), 抗 CGRP 抗体(MILAB 社*), 抗 NSE 抗体(DAKO 社*), ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ IgG (フナコシ), ペルオキシダーゼ標識抗ラット IgG (Sera labo 社), Goat anti-rabbit IgG Gold (EY 社), PAP-Complex (フナコシ), アラビアゴム(和光)。

*Polyclonal antibody(Rabbit), *Monoclonal antibody (Mouse)

結 果

1) 骨盤神経節: 猫, 家兎および雄日本猿では, 骨盤神経節の存在部位に種差が認められた。猫および家兎では尿管膀胱移行部を中心に, 膀胱壁内外に大きな神経節が多数認められた(Fig. 1A, B)。猿では大きな骨盤神経節は膀胱壁外で, 前立腺の背外側に存在した(Fig. 1C, Fig. 2)。尿管膀胱移行部および膀胱壁内には, 猫や家兎に比べるとはるかに少数しか存在しなかった。

2) Ach および NA: 日本猿の骨盤神経節内には Ach 陽性細胞が約70%に認められ, 神経細胞に続く神経線維も強く陽性を示した(Fig. 3A, B)。同一神経節

Fig. 1 Pelvic ganglion. A: Cat (NSE: PAP-AEC) A pelvic ganglion (↑) at the ureterovesical junction, mainly composed of the NSE immunoreactive ganglion cells ×100, B: Rabbit (HE) A large ganglion at the ureterovesical junction ×100, C: Ape (NSE: PAP-DAB) A huge ganglion at the dorsolateral area of the prostate, containing large number of the NSE immunoreactive ganglion cells. ×100

Fig. 2 Laterosagittal section of lower urinary tract of the ape (HE) Numerous ganglia (↑) were observed at the dorsolateral area of prostate (P-prostate, SV-seminal vesicle, B-bladder, U-ureter, VD-vas deferens, DUG-diaphragma urogenitale, R-rectum). ×1

内に約10~15%程度の NA 陽性細胞が存在した。また神経細胞に続く神経線維の中には NA 陽性線維が認められた(Fig. 4A, B)。

3) SP: 猿の骨盤神経節周辺には SP 強陽性の神経細胞が散在し, それに続く神経線維も SP 強陽性である(Fig. 5A)。家兎の骨盤神経節では SP 陰性の神経細胞周囲を SP 陽性線維が網目状に取り巻き varicose 状を呈していた(Fig. 5B)。また囊腺を近接する膀胱

Fig. 3 Ach (IGSS). Ape. A: Huge pelvic ganglia were observed at the dorsolateral area of the prostate. Most of them were mainly composed of Ach immunoreactive ganglion cells $\times 200$, B: Axons extending from the ganglion cells showed the intense Ach immunoreactivity $\times 200$.

Fig. 4 NA (IGSS). Ape. A: In the same pelvic ganglia, small number of NA immunoreactive ganglion cells were mixed $\times 200$. B: Related axons were positive NA immunoreactivity. $\times 200$

壁内神経節の一部は SP 陽性を示した (Fig. 5C).

猿の膀胱の上皮内 (Fig. 6A), 粘膜下結合組織, 筋層および血管周囲に varicose 状の SP 陽性線維をみとめた. 陽性線維は膀胱頸部, 三角部に多く, その分布密度は次に述べる VIP 線維よりあきらかに少ない. L7, S1の後根神経節内の小細胞 (Fig. 6B) および同レベルでの脊髄後角にも陽性細胞が認められた (Fig. 6C). また尿道球腺 (Fig. 7A) および精囊腺間質内 (Fig. 7B) に SP 陽性細胞が認められた.

4) CGRP: 猿では CGRP 線維も SP 線維同様, 膀胱上皮内, 粘膜下結合組織 (Fig. 8A), 膀胱筋層および血管周囲に分布していた. L7, S1後根神経節内には

Fig. 5 A: SP (IGSS). Ape. Around the pelvic ganglia, SP immunoreactive cell bodies ($\uparrow$) and axons ($\uparrow\uparrow$) were detected $\times 200$. B: SP (PAP-DAB). Rabbit. frozen section SP immunoreactivity ($\uparrow$) were revealed around the ganglia cells of the ureterovesical junction $\times 400$. C: SP (PAP-DAB). Rabbit Small cluster of SP immunoreactive ganglion cells at the intramural trigone $\times 200$.

Fig. 6 SP (PAP-DAB). Ape. frozen section. A: SP-positive varicose fibers ($\uparrow$) at the intra-trigonal epithels widely distributed $\times 400$. B: SP immunoreactive small ganglion cells were found at the dorsal root ganglia in the level of S1 $\times 400$. C: SP immunoreactives ($\uparrow$) were found in the posterior horn of L7 and S1 $\times 200$.

多数の中, 小型陽性細胞 (Fig. 8B) が存在し, 同レベルでの脊髄後角にも陽性細胞が存在した. 骨盤神経節内には CGRP 陽性細胞は認められなかった.

5) VIP: 猿の骨盤神経節では神経細胞の15~20%がVIP陽性を示していた (Fig. 9A). 家兎の骨盤神経節ではVIP陰性の神経細胞の周囲にVIP線維が網目状に取り巻いていた (Fig. 9B). また猿では, VIP陽

Fig. 7 SP (PAP-DAB). Ape. A: Bulbourethral gland containing SP immunoreactive cell bodies $\times 400$. B: Seminal vesicle contain SP immunoreactive cell bodies $\times 400$.

Fig. 8 CGRP (PAP-DAB). Ape frozen section. A: CGRP positive fibers ($\uparrow$) were revealed in the trigonal submucosa $\times 200$. B: CGRP immunoreactive cell bodies were found in the dorsal root ganglia in the level of L7 and S1 $\times 400$.

性線維が膀胱上皮内、筋層ならびに血管周囲に認められ、特に三角部にはSP線維より密に分布していた。後根神経節および脊髄後角では明らかな陽性所見はなかった。

6) Pacinian corpuscle 様小体：尿道外括約筋背外側部に、Pacinian corpuscle 様小体の多数の集簇が認められ、その外棍にSP (Fig. 10A), VIP (Fig. 10B) が共存していた。

考 案

これまで、自律神経の神経伝達物質として、副交感神経のAchおよびNAがよく知られており、この両者のみによる自律神経支配の体系が確立していた。しかし最近はこれら以外の神経伝達物質、あるいは神経

Fig. 9 VIP (IGSS). Ape VIP immunoreactive cell bodies were detected in the same pelvic ganglia $\times 200$. B: VIP (PAP-DAB). Rabbit Frozen section VIP immunoreactives ($\uparrow$) were found around the ganglion cells of the ureterovesical junction $\times 400$.

Fig. 10 SP (PAP-DAB). Ape. A: A large numbers of Pacinian corpuscles were gathered in dorsal site of the membranous urethra. Intense immunoreactivities were demonstrated to anti-SP sera in all outer cores. (ADP=arteria dorsalis penis) $\times 40$. B: VIP demonstrated the co-storage with SP in the same sites $\times 40$.

調節物質 (Neuromodulator) が脳や消化管に発見されるに及び、自律神経の伝達機構はより複雑であり、さらにこれらの存在から疾患の解明のみならず治療面にも新しい分野が開拓され始めている⁶⁾。

今回我々が行なった実験結果から、従来のAchおよびNAは下部尿路を支配する自律神経に存在するが、この他にもSP, VIP, CGRP等の中樞神経系では神経伝達物質とされている物質が神経細胞の胞体内および神経線維に存在することが実証された。

SPは膀胱上皮内より脊髄に至る知覚神経路領域に主に存在していた。交感神経節内に注入された標識物質(HRPなど)は逆行性軸索流により、対応する高さの後根神経節内の小型細胞体内に蓄積され検出されること⁷⁾、また後根神経節内のSPを枯渇させる作用のあるCapsaicinは同時に膀胱のSPを消失させること、並びに骨盤神経節の末梢枝での切断でも膀胱のSP線維が消失すること⁸⁾が報告されている。

またSPは径の細い線維(C線維など)中に存在することや、SPの放出は鎮痛薬であるモルヒネの適用により著しく抑制されること、SPのクモ膜下注入により、ネズミが痛みを感じているのに似た特徴的な挙動、scratching, licking, bitingを示す⁹⁾ことなどから、SP線維の少なくともあるものは、細胞体を脊髄後角および後根神経節に持つ知覚神経の末梢枝であると考えられる。

しかし本実験で示されたように、SP陽性細胞は骨盤神経節周辺や膀胱壁内神経節にも少数ながら存在すると、また電気生理実験で前根の刺激は典型的なコリン作動性の興奮性シナプス後電位だけが誘発されるが、消化管や気管支などではSP神経のみを刺激すること時間経過の長い平滑筋の収縮反応が誘発されること¹⁰⁾から、SP線維の全てが知覚神経枝と考えるのは妥当ではない。

CGRP線維もSP線維同様、膀胱上皮内より脊髄に至る主に知覚神経路に存在していた。骨盤神経節内にはCGRP陽性細胞は全く見られず、また逆行性トレーサーの膀胱壁注入で後根神経節内の中から小型細胞に蓄積され検出される⁸⁾ということから知覚への関与が強く考えられる。

しかしながら舌での報告ではあるが、横紋筋を支配する運動線維にもCGRP陽性線維が存在し神経筋終板状を呈する¹¹⁾ことから、尿路においてもCGRP線維の全てが知覚神経枝とは断定できない。

VIPは、骨盤神経節内では神経細胞の15~20%程度に陽性細胞が認められ、SPに比べはるかに多くの神経細胞が存在した。さらにPelvic nerve, Hypogastric nerveの切断によっても膀胱内VIP含有神経の分布には著変がないということにより¹⁰⁾骨盤神経節内のVIP陽性細胞が膀胱壁VIP含有神経の起源であろうと考えられた。動注されVIPはPelvic nerve刺激による膀胱収縮を抑制する。この抑制作用は膀胱への入力神経の切断、或いはアトロピン投与によっても影響されず、膀胱に直接投与したAchによる収縮を抑制す

ることからVIPは膀胱平滑筋に対する直接作用があると考えられている¹²⁾。

電気生理学的実験によれば、膀胱神経節の節後神経に対してムスカリン性アゴニストは興奮および抑制の2種類の作用を示し、VIPは前者を増強し、後者を抑制することが示されている¹²⁾。VIPはニコチン性神経伝達には影響しないことから、VIPの役割の1つは、膀胱及び骨盤神経節での神経伝達を調節することにより膀胱平滑筋の活動を調節しているものと考えられる。

ペプチドは個体発生において変化することが知られている。SPを始め多くのペプチドは生後5日から15日目にピークに達し、以後ペプチド含有神経が減少傾向をたどるのに対し、VIPは生後出現し、その後成長とともに増加するという⁸⁾。このことは成人の生体内ではVIPが神経活性ペプチドとして、より大きな生理的意義を持つものと考えられる。

これまでCholinergic neuronを解剖学的に研究するには主としてAChEの組織化学が用いられてきた。しかし現在ではこの酵素はCholinergic neuronのみならず、たとえばDopaminergic neuronにも存在するとされ³⁾、コリン作動性神経の特異的指標とはならないことがわかってきた。そのためより特異性の高い抗Choline acetyltransferase (CAT)抗体などの開発がされたが¹³⁾、AChそのものを追跡する事が最も望ましいことは論をまたない。

そのため今回我々は抗ACh抗体、および抗NA抗体を用い、PAP法と比較してdiffusion artifactが少なくhigh sensitivityなIGSS法を用い骨盤神経節を中心に検索を行なった。

雄日本猿の骨盤神経節内にはACh陽性細胞が約70%に認められ、神経細胞に続く神経線維も強く陽性を示し、また同一神経節内には約10~15%程度NA陽性細胞も存在した。さらに同部位には少数のSPおよび比較的多数のVIP陽性細胞も認められている。

この骨神経節の存在部位が動物種によってかなり異なることがわかった。家兎、猫では尿管膀胱移行部の近辺に存在する。今回の実験には含まれていないが犬でも同様である。ところがこの部位はしばしば人の摘出標本で検索の対象となるところである。人の標本でこの部位に大きな神経節を発見できたことはわれわれの経験ではない。このことが従来より不思議でならなかったのであるが、今回の下部尿路の大切片の検索から猿では前立腺背外側の左右に一对存在していた。人

でもこの部位に存在するとすれば、前立腺に近接はしているが外側にあるので、人の標本ではなかなか発見されなかったのではないかと考えられる。

今回の結果が示すようにコリン作動性神経が主な骨盤神経節内に多数のVIP陽性細胞が検出されたことは、Achとペプチドが同一神経細胞内に共存している可能性を強く示唆している。しかしこの実験ではミラー切片で検索している訳ではなく、同一切片での二重検出法も現段階のわれわれの手技では確立できていないので実証されていない。

他方一部交感神経節細胞¹⁴⁾や副腎髄質¹⁵⁾においては、カテコールアミンとNeuropeptide YやEnkephalineが共存することがすでに知られている。従って同一のニューロン内に複数の神経伝達物質が共存している可能性は高く、少なくとも尿路における自律神経系では、遠心性神経を従来のコリン作動性およびアミン作動性神経とは別に、ペプチド作動性神経を独立させて、3群に分類することには抵抗がある¹⁶⁾。即ち種々のペプチド、例えばSP作動性神経やVIP作動性神経等をまとめて、ペプチド作動性神経として1つの神経機能単位に独立させるのではなく、純コリン作動性、コリン-SP作動性、純アミン作動性、アミン-VIP作動性といった組合せを考慮する必要があると考える。従って今後はこれらのことを踏まえた上で交感および副交感両系の相互制御機構の解明が必要と考える。

尿道外括約筋背外側部には、Pacini corpuscle様小体の集簇がみられた。尿路では前立腺被膜や陰茎真皮等での報告¹⁷⁾はあるが、同部位からの報告は未だない。Pacini小体は圧覚や振動覚、とくに100c/s以上のhigh frequency vibrationの受容に関係があるといわれ¹⁸⁾、今回の実験ではSPとVIPとが外棍に共存していることが確認された。CGRPは検出し得なかったが、尿道前立腺部には陰部神経由来の知覚有髄線維が豊富であるということから、これら小体も知覚、あるいは血流調節などを行なっていると考えられた。

また精囊腺および尿道球腺間質内にSP陽性細胞が認められ、性機能に大きく関与しているのであろう。検索をすすめればさらに多くの神経伝達物質が下部尿路の種々の部位に存在する可能性がある。

神経系を取り扱う研究者にはこれまでone neuron-one transmitterという仮説が広く受け入れられてきたが、現在ではこの仮説に転換が求められている。初期段階ではごく例外的だと考えられていたが、共存例は

決してめずらしくなくむしろ普遍的であることが次々と見出されつつある²⁾。尿路末梢自律神経系においても種々の神経ペプチドが広く存在し、それらは神経伝達物質あるいは調整物質として排尿機能の調節に関与しているものと考えられる。

今後排尿機構の解明は、El-Badawiらが主張するように¹⁹⁾、CholinergicおよびAdrenergicな相互制御機構も重要であるが、それに劣らずcholinopeptidergic, adrenoepitidergic, さらにはPacini様小体で見られるようにpeptido-peptidergicな神経伝達物質の相互制御機構の解明が重要な研究課題の1つになると思われる。

結 語

以上の結果から骨盤神経節細胞には複数以上の神経伝達物質の共存の可能性があり、VIPおよび一部のSPは尿路自律神経と遠心路においてAchおよびNAの作用を調節しており、CGRPと大部分のSPは主に求心路の神経伝達物質と考えられた。

本研究は昭和62年度文部省科学研究費一般研究B(課題番号62480340)および国立学校特別会計昭和63年度特定研究経費の援助によった。ここに記して謝意を表する。

文 献

- 1) Henderson, V.E. and Roepke, M.H.: The urinary bladder mechanism. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **54**, 408-419, 1935.
- 2) 遠山正彌, 和田 博: 脳循環ペプチド, 中枢神経学一なぞ, 複数の活性物質が同一細胞内に共存するのか?, 代謝, **23**, 3-19, 1986.
- 3) Butcher, L.L., Talbot, K. and Belezikjan, L.: Acetylcholine-esterase neurous in dopamine containing regions of the brain. *J. Neural. Transm.*, **27**, 127-153, 1975.
- 4) Nakane, P.K. and Kawai, A.: Peroxidase labeled antibody: A new method of conjugation. *J. Histochem. Cytochem.*, **22**, 1084-1091, 1984.
- 5) Fujimori, K.: Immunogold silver staining method for light microscopic immunohistochemistry. *Arch. Histol. Jpn.*, **48**, 449-452, 1985.
- 6) 加藤進昌: 神経内分泌学の最近の進歩.
- 7) Dalsgaard, J.C., Hokfelt, T., Elfvin, L.G., Skirboll, L. and Emson, P.: Substance P containing primary sensory neurons projecting to the inferior mesentery ganglion, *Neuroscience*, **7**, 647-661, 1982.
- 8) 遠山正彌, 塩谷弥兵衛: 化学的神経機能解剖学, 第1版, 567-614, 厚生社, 大阪, 1987.

- 9) Yaksh, T.L. and Jessel, T.M.: Intrathecal morphine inhibits Substance P release from mammalian spinal cord in vitro, *Nature*, 286, 155—157, 1986.
- 10) 小西史朗: 自律神経系における神経伝達物質と神経回路網, *神経進歩*, 30, 104—117, 1986.
- 11) Takami, K., Kawai, Y., Shirotsuka, S., Lee, Y. and Toyama, M.: Immunohistochemical evidence for co-existence of Calcitonin gene related peptide and Choline acetyltransferase-like immunoreactivity in neurons of the hypothalamus, facial and ambiguous nuclei. *Brain Res.*, 328, 386—395, 1985.
- 12) Kawatani, M., Rutigliano, M. and DeGroat, W.: Selective Facilitatory effect of Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) on muscarine firing in cesical ganglia of the cat. *Brain Res.*, 336, 223—234, 1985.
- 13) Eckenstein, F. and Thoenen, H.: Production of specific antisera and monoclonal antibodies to choline acetyl-transferase; characterization and use for identification of cholinergic neurons. *Embo. J.*, 1, 363—374, 1982.
- 14) Lundberg, J.M.: Enkephaline, Substance P, VIP, somatostatine, gastrin/CCK and neurotensin in peripheral neurons. *Acta Physiol. Scand.*, 473(Suppl)14—28, 1979.
- 15) Kobayashi, S., Ohshima, T. and Uchida, T.: Co-storage of adrenaline and noradrenaline with Met-Enkephaline-Arg-Leu-Gly and Met-Enkephaline-Arg-Phe in chromaffin cells of hamster adrenal medulla. *Arch. Histol. Jpn.*, 47, 391—336, 1984.
- 16) Lundberg, J.M. and Hokfelt, T.: Coexistence of peptides and classical neurotransmitters. *Neuroscience*, 6, 325—338, 1983.
- 17) 小川和朗: 人体組織学, 内分泌器, 生殖器, 第6版, 朝倉書店, 1985.
- 18) Hlinsky, O.B., Akoev, G.N., Krasniskova, T.L. and Elmann, S.I.: K and Na ion content in the Pacinian corpuscle fluid and its role in the activity of receptors, *Europ. J.*, 361, 279—286, 1976.
- 19) El-Badawi, A. and Schenk, E.A.: A new theory of the innervation of bladder musculature. Part 3. Post ganglionic systems in uretero-vesicourethral autonomic pathway, *J. Urol.*, 106, 372—374, 1971.

(1989年8月10日受理, 特別掲載)