

麻薬性鎮痛薬のネコ脊髄後角浅層侵害受容ニューロンに 及ぼす直接効果

久米田 幸 弘

札幌医科大学麻酔学講座 (主任: 並木昭義 教授)

Luke M. KITAHATA, J. G. COLLINS

エール大学麻酔科 (主任: Prof. P. G. BARASH)

Direct Action of Opioid Analgesics on the Superficially Located Nociceptive Neurons of the Spinal Dorsal Horn in the Cat

Yukihiro KUMETA

Department of Anesthesiology, Sapporo Medical College

(Chief: Prof. Akiyoshi Namiki)

Luke M. KITAHATA and J. G. COLLINS

Department of Anesthesiology, Yale University School of Medicine

(Chief: Prof. P. G. Barash)

ABSTRACT The present studies were designed to examine the role of superficially located nociceptive neurons in spinal opiate analgesia.

In the first study, we examined the influence of spinally administered fentanyl on the spontaneous and noxious heat-evoked activity of nociceptive specific (NS: n=14) and wide dynamic range (WDR: n=19) neurons in the superficial dorsal horn of decerebrate spinal cord transected cats. Both spontaneous and evoked activities of both types of neurons in the superficial layer were suppressed by spinally administered fentanyl. However, NS neurons were suppressed to a lesser degree than WDR neurons.

In the second study, we also examined the influence of spinally administered morphine of 0.25 mg on spontaneous and noxious heat-evoked activity of WDR neurons (n=8) in the superficial dorsal horn of cats. Morphine reduced both spontaneous and evoked activities of WDR neurons. Comparing the results from both the superficially located WDR neurons (present study) and deeply located WDR neurons (previous study¹⁸⁾), the rate of onset and the degree of suppression by morphine were similar.

In the third study, we investigated the distribution and localization of intrathecally administered radioactive morphine in the cat spinal cord by light microscopic autoradiography, and compared the time course of penetration with the neurophysiologic results obtained in the second study. Silver grain numbers in the superficial dorsal horn were 2-3 times as large as that in the deep dorsal horn.

These results demonstrate the difference in the sensitivity of NS and WDR neurons in the same superficial layer of the spinal cord to fentanyl suppression. It is suggested that there is a difference in sensitivity to morphine suppression between superficially and deeply located WDR neurons, or that deeply located WDR neurons are suppressed by morphine at the site of the superficial dorsal horn.

(Received April 3, 1989 and accepted May 11, 1989).

Key Words: Spinal cord, Wide dynamic range neuron, Nociceptive specific neuron, Fentanyl, Morphine, Autoradiography.

1 結 言

近年、麻薬性鎮痛薬のクモ膜下腔および硬膜外腔投与による鎮痛法は、広く臨床に応用されてきている。この場合の鎮痛作用は脊髄レベル、特に脊髄後角において発揮されるものと考えられている¹⁻³⁾。

脊髄後角ニューロンは、受容野に加えられた各種の刺激に対する反応性に基づいて、3種類に分けられる⁴⁾。すなわち低域値機械受容ニューロン (low threshold mechanoreceptive neuron: 以下, LTMニューロンと略す)、広作動域ニューロン (wide dynamic range neuron: 以下, WDRニューロンと略す) および特異的侵害受容ニューロン (nociceptive specific neuron: 以下, NSニューロンと略す) である。これらのうち痛覚伝達に關与する侵害受容ニューロンは、WDRニューロンとNSニューロンである⁵⁾。WDRニューロンは脊髄後角のRexed⁶⁾ 第I, II層(以下, 後角浅層と称す) および後角第V層付近(以下, 後角深層と称す)に、そしてNSニューロンは後角浅層に多く存在する^{5,7)}。

従来、脊髄後角侵害受容ニューロンのうち痛覚伝達に最も重要な役割を演ずるものは、後角第V層のWDRニューロンであると考えられてきた。これに対し近年、脊髄後角第I層にも侵害刺激に対してのみ反応するニューロンが存在すると報告⁸⁾ されて以来、脊髄後角浅層侵害受容ニューロンの働きを重視する見方⁹⁾ がでてきた。これに加えて、脊髄後角浅層には麻薬性鎮痛薬に対するレセプターが豊富に存在するという報告¹⁰⁻¹²⁾ が相次いで出された。

以上のことから、麻薬性鎮痛薬の作用機序における後角浅層侵害受容ニューロンの役割を知る上で、これらが麻薬性鎮痛薬によりどのように影響を受けるのかを調べることが極めて重要になってきた。

これまで後角浅層侵害受容ニューロンに対する麻薬性鎮痛薬の影響をみた報告¹³⁻¹⁷⁾ はいくつかあるが、これらをWDRニューロンとNSニューロンとに分けて考え、麻薬性鎮痛薬に対する反応の程度を比較検討した報告はなされていないようである。

また、麻薬性鎮痛薬の作用部位に関してはレセプターが豊富に存在する後角浅層に作用するという説¹⁴⁾ と深層の細胞体にも直接作用するという説¹⁵⁾ があり、まだ定まっていない。

そこで今回著者らは、脊髄クモ膜下腔に投与された

麻薬性鎮痛薬の作用機序を解明する目的で、2種類の麻薬性鎮痛薬を用いて以下の実験を行った。

(1) 第1実験では、脊髄を切断したネコにおいて、フェンタニールのクモ膜下腔投与が、後角浅層にある2種類の侵害受容ニューロン (NSニューロン・WDRニューロン) 活動に及ぼす効果を調べた。

(2) ついで第2実験では、同様にモルヒネのクモ膜下腔投与が、後角浅層WDRニューロン活動に及ぼす効果について調べ、以前に著者ら¹⁸⁾ が行った深層WDRニューロンについての結果と比較検討した。

(3) 第3実験では、クモ膜下腔に投与されたモルヒネが、どの様に脊髄に浸透してゆくのか、その過程をオートラジオグラフィ法によって調べ、(2)の結果とあわせて検討した。

2 実験方法

2.1 <実験1>浅層WDRおよびNSニューロンの神経発射活動に及ぼすフェンタニールの効果

2.1.1 実験動物および標本作製

成猫(体重3.2-4.8 kg, オスまたはメス)33匹を使用した。ハロセン-笑気-酸素麻酔下で気管切開を行い輸液および薬物投与のため外頸静脈に、動脈圧測定のため総頸動脈にそれぞれカテーテルを挿入した。

ついでネコを脳脊髄固定装置に固定し、無麻酔下で実験を行うために中脳網様体部を電気凝固して除脳した。

次に上位中枢から脊髄への下行性抑制系の影響を除外するため、胸椎T-11またはT-12の位置で脊髄を切断した(以下このようなネコを、除脳脊髄ネコと称する)。さらに腰椎L-4からL-6までの椎弓切除を行い、硬膜を反転して脊髄表面を保護した。また脊髄の呼吸性移動を少なくするために、左第5, 6肋間で開胸シドレーン管を挿入した。以上の手術操作ののち、ハロセン・笑気をきり純酸素で換気した。

実験中、パンクロニウムブロマイド(0.1-0.15 mg/kg/hr)を点滴静注し自発呼吸を停止させ、ハーバード型人工呼吸器に接続して調節呼吸にした。換気量は赤外線呼吸炭酸ガス分析装置(LB-2, Beckmann)を用いて終末呼吸炭酸ガス分圧が3.5-4.0%となるように調節した。また、体温が37±0.5℃となるように温水循環マットおよび赤外線ランプを用いて保温した。輸液は乳酸加リンゲル液を用いて、収縮期血圧が100 mmHg

以上になるように行った。

ついでネコの両下肢を固定し足底部皮膚面を損傷させないように電気カミソリで除毛した。また熱刺激装置による輻射熱の吸収を均一化するため、受容野となる足底部をインディアンインクで一様に黒く塗った。

2・1・2 ニューロンの導出および記録方法

吸入麻酔薬の作用消失後（ハロセン，笑気の吸入停止後約2時間），微小電極を腰髄膨大部付近で後根線維進入部と正中線のあいだより刺入した。使用した電極はタングステン微小電極（Frederick社）で，先端の太さ1-2 μm ，インピーダンス8-12 M Ω である。これを微動駆動装置を用いて脊髄表面より1 μm ずつ刺入した。1,000 μm 付近のnegative-positiveのsoma spikeを，他の神経発射活動と区別し1種類のニューロン（以下，単位ニューロンと称する）の活動として記録できるように導出した。この単位ニューロン発射活動は前置増幅器を通してオシロスコープで観察するとともに，1秒毎の神経発射数をペン書き記録装置に記録した。同時に神経発射音をスピーカーでモニターし，血圧および受容野皮膚温もポリグラフに連続記録した。

2・1・3 WDR および NS ニューロンの同定

本実験には，WDR および NS ニューロンとも受容野の中心が足趾の無毛部にあるものを選んだ。

単位ニューロンのタイプは，その受容野に加えた以下に示すような各種刺激に対する反応性に基づいて決定した。(1) air puff：空気を吹き付ける。(2) touch：毛筆でなでる。(3) pinch：鉗子でつまむ。(4) 熱刺激：40 $^{\circ}\text{C}$ 以上の輻射熱刺激（Hardy-Wolff-Goodwell 疼痛計）を与える。(5) 寒冷刺激：エチルクロライド（皮膚温度15 $^{\circ}\text{C}$ 以下）を吹き付ける。

各種刺激に対する WDR ニューロンの反応の1例を Fig. 1A に示した。WDR ニューロンの特徴は，弱い機械刺激（上記(1)-(2)）から侵害的機械刺激（上記(3)）にいたるまでその刺激の強さに応じて段階的に神経発射数が増加し，また熱刺激に対してもその程度に応じて神経発射数が増加する。さらに WDR ニューロンは寒冷刺激に対しても反応する。

一方 NS ニューロンの特徴は，Fig. 1B に示したように弱い機械刺激には反応せず，侵害的機械刺激に対してのみ反応する。熱刺激に対しては温度の上昇とともに神経発射数が増加する。しかし寒冷刺激には反応しない。

このような WDR または NS ニューロンを同定したのち，末梢皮膚の受容野の中心部に熱電対をとりつけ，ここに輻射熱刺激を加えた。この装置は熱電対で皮膚

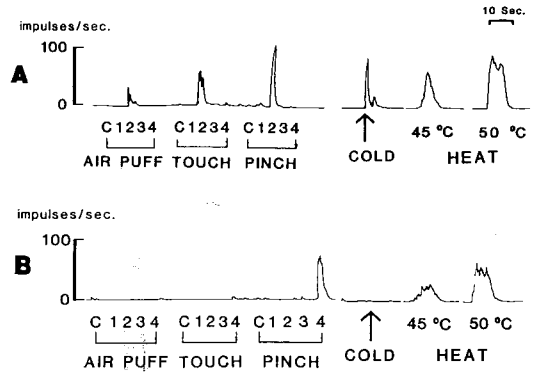


Fig. 1 Examples of a response profile of WDR and NS neurons (Numbers and C represent the site of stimulation on the foot). A: WDR neuronal responses to various stimuli are shown. The response increases with increasing intensity of mechanical and heat stimuli. The WDR neuron also responds to cold stimuli. B: NS neuronal responses to various stimuli are shown. The NS neuron only responds to noxious pinch and heat stimuli, but does not respond to cold stimuli.

温を測定し，輻射熱刺激装置にフィードバックをかけることにより任意の皮膚温が一定時間維持されるようになっていいる。単位ニューロンの自発発射の状態を10分間以上観察し，これが安定していることを確認したのち，まず自発発射活動を30秒間測定する。続いて51 $^{\circ}\text{C}$ ，8秒間の輻射熱刺激を与えてこれによる熱誘発発射活動を記録した。これを3分間隔で2回繰り返す，それぞれの平均発射頻度を自発および熱誘発発射の対照とした。ついで以下に示すような各濃度のフェンタニール溶液を脊髄に投与し，3分毎に同様な自発および熱誘発発射頻度を測定した。

2・1・4 フェンタニール溶液の作製法

フェンタニール溶液はクエン酸フェンタニール粉末を37 $^{\circ}\text{C}$ 生理的食塩水で溶解し，以下の3種類の溶液を作製した。すなわち10 μg 溶液（0.5 ml中にクエン酸フェンタニール10 μg 含有，37.8 $\mu\text{mol/l}$ ），25 μg 溶液（0.5 ml中に25 μg 含有，クエン酸フェンタニール94.5 $\mu\text{mol/l}$ ），および50 μg 溶液（0.5 ml中にクエン酸フェンタニール50 μg 含有，189 $\mu\text{mol/l}$ ），である。

2・1・5 フェンタニールおよびナロキソンの投与法

上記の対照実験後，脊髄表面の生理的食塩水を注意深く吸引除去し，あらかじめ作製し37 $^{\circ}\text{C}$ に暖めておいたフェンタニール溶液0.5 mlを微小電極刺入部から離れた位置で数十秒間かけてゆっくりと脊髄表面に投与した。

本研究において使用したフェンタニールの投与量は、以前に著者ら¹⁹⁾が行った研究において10 μg および25 μg 溶液を用いたので、これと比較するために同じ投与量のものを用いた。またNSニューロン群に対しては、WDRニューロン群と比較するためにフェンタニール25 μg 溶液と、さらに用量依存性を確かめるためフェンタニール50 μg 溶液を投与した。

薬物投与31分後には、これらの変化がフェンタニールによるものであることを確認するために、麻薬拮抗薬ナロキソン0.1 mgを静脈内に投与(以下、静注と称す)し抑制の回復を確認した。

2・1・6 導出部位の同定

実験終了後、導出されたニューロンの部位を検索するため微小電極に直流電流(20 μA , 20秒間)を通電することによってelectrolytic lesionをつくり、脊髄を切り出して10%ホルマリン液で固定した。数日間固定したのち、約50 μm の連続凍結切片を作製してクレシルバイオレットで染色し、組織学的にlesion部位を同定した。

2・2 <実験2> 浅層 WDR ニューロンの神経発射活動に及ぼすモルヒネの効果

成猫8匹を使用した。実験1と同様の方法にて除脳脊髄ネコ標本を作製し、浅層WDRニューロンの電気的活動を導出した。

本実験は以前に著者ら¹⁸⁾が行った深層WDRニューロンに関する研究結果と比較することを目的としているため、これと同じ濃度のモルヒネ溶液を用いた。すなわち硫酸モルヒネ粉末を37℃生理的食塩水で溶解し0.25 mg溶液(0.5 ml中に硫酸モルヒネ0.25 mg含有, 659 $\mu\text{mol/l}$)とした。

方法2・1・3に示したように浅層WDRニューロンの対照実験を行ったのち脊髄表面の生理的食塩水を吸引し、37℃に暖めておいたモルヒネ0.25 mg溶液0.5 mlを脊髄表面に投与し、3分毎に自発および熱誘発発射頻度を測定した。31分後、ナロキソン0.1 mgを静注しモルヒネによる抑制効果の回復を確認した。

2・3 データ解析

実験1および2で観察されたニューロンの神経発射活動は記録テープに保存すると共に、コンピューター(PDP 11/45)を用いてon-lineおよびoff-lineで処理し集計した。自発発射頻度は熱刺激開始前30秒間の平均で算出し、熱誘発発射頻度は熱刺激開始後20秒間の平均を求めimpulses per second (IPS)で表示した。

統計処理方法は、対照値と薬物投与後の値の比較にはStudent's paired t-testを用い、フェンタニールの

投与量が異なる2群間の比較、およびモルヒネ投与による浅層および深層ニューロン間での比較にはMann-Whitney法を用いた。いずれの検定法とも、有意水準を0.05とした。データの数値は平均±標準誤差(mean±S.E.)で表した。

2・4 <実験3> モルヒネの脊髄組織内への浸透度

2・4・1 実験動物および標本作製

成猫10匹を使用した。実験1と同様の手順で脊髄を露出したのち、37℃の生理的食塩水で脊髄表面を保護した。

2・4・2 放射性モルヒネ溶液の作製法

0.5 ml中に0.25 mgの硫酸モルヒネを溶かした溶液と³H-モルヒネ(72.7 Ci/mM, 1 mCi/ml, New England Nuclear)0.025 mlを混合し、放射性モルヒネ溶液(モルヒネ628 $\mu\text{mol/l}$)を作製した。

2・4・3 脊髄標本作製法

ネコ脊髄表面を被っている生理的食塩水を注意深く吸引した後、放射性モルヒネ溶液を脊髄に投与した。その後30秒、5分、10分、20分、30分間放置し脊髄に浸透させた(各群2匹)のち、この溶液を吸引した。ついで露出した脊髄(約2 cm)を手早く摘出し、ただちにあらかじめドライアイスで約-65℃に冷却しておいたisopentaneに浸し、脊髄を急速に凍結した。30秒後にこれを取り出し、長さ約5 mmの切片にした。これを冷却したisopentaneに再び浸しそのまま保存した。2日目にこの凍結標本をIEC-CTF Cryostat (International Equipment Corp.)を使用し、-15℃の低温下で厚さ8 μm の切片にした。この脊髄標本を、あらかじめゼラチン処理し-15℃に冷却しておいたスライドグラスにのせた。ついで乾燥剤をいれたスライドボックスに入れ、更にデシケータ内に移し-15℃下に保存した。

3日目に暗室内においてこれらのスライド標本を感光乳化剤(Ilford K-5)に浸したのち、-15℃の冷凍庫内で保存した。4週間後これを取り出し、再び暗室内で現像定着を行った。ついでこれらの標本を、室光下にてクレシルバイオレット法で染色した。

2・4・4 黒化銀粒子測定法

モルヒネの脊髄組織内への浸透度は³H-モルヒネによって感光された黒化銀粒子数を算定することにより求めた。すなわち1000倍光学顕微鏡下で各切片の脊髄後索、後角第I, II, V, VII層および前角に相当する部分で各々3ヶ所を任意に選び、625 μm^2 (25 $\mu\text{m} \times 25 \mu\text{m}$)内の黒化銀粒子数を算定した。使用した切片は各ネコにつき5枚ずつで、それぞれの時間における各層

の黒化銀粒子数の平均を求めた。

統計処理方法は、Student's unpaired t-test を用い、有意水準を 0.05 とした。データの数値は平均±標準誤差 (mean±S. E.) で表した。

3 実験成績

3.1 実験 1

3.1.1 WDR および NS ニューロンの神経発射活動

19 個の WDR ニューロンのうち自発発射活動のあるものは 18 個 (自発発射頻度 0.2-26.4 IPS, 平均 8.7±1.6 IPS) で、自発発射活動のないものは 1 個であった。また 14 個の NS ニューロンのうち自発発射活動のあるものは 12 個 (自発発射頻度 0.1-14.4 IPS, 平均 5.4±1.5 IPS) で、自発発射活動のないものは 2 個であった。また 51°C, 8 秒間の熱刺激による誘発発射頻度は WDR ニューロンで 12.8-110.9 IPS (平均 42.3±5.4 IPS, n=19), NS ニューロンで 10.0-74.4 IPS (平均 32.4±5.9 IPS, n=14) であった。自発発射頻度、熱誘発発射頻度とも両群間で有意差はないが、NS ニューロンの方がやや少ない傾向にあった。

3.1.2 WDR および NS ニューロンの自発発射活動に及ぼすフェンタニールの影響

いずれのタイプのニューロンとも、薬物投与前の自発発射頻度が 1 IPS 以下のものについては自発発射活動が麻薬性鎮痛薬によってほとんど変化をうけず、自発発射頻度の多い例ほどフェンタニールによって強く

抑制される傾向が認められた。

薬物投与前の自発発射頻度が 1 IPS 以上の例についてのみ統計処理したものが Table 1 である。WDR ニューロンはフェンタニール 10, 25 μg 投与によって自発発射活動が有意に抑制された。またこれらはナロキソン投与により回復する傾向にあった。NS ニューロンの 25 μg 投与群では自発発射活動は有意に抑制された。またフェンタニール 50 μg 投与群 (n=3) でも抑制がみられたが有意ではなかった。

3.1.3 WDR および NS ニューロンの熱誘発発射活動に及ぼすフェンタニールの影響

フェンタニールのクモ膜下腔投与により、WDR および NS ニューロンともその熱誘発発射活動が用量依存的に抑制された。

それぞれのニューロンの代表的抑制過程を Fig. 2 に示した。Fig. 2C は、受容野に与えられた皮膚温の変化である。Fig. 2A は、WDR ニューロンの 1 例である。この例においては、対照値 40.4 IPS がフェンタニール投与 15, 30 分後にはそれぞれ 6.5 IPS (16.1%), 3.8 IPS (9.4%) に減少し、ナロキソン 0.1 mg 静注により 28.3 IPS (70.1%) に回復した。

Fig. 2B は、NS ニューロンの 1 例である。この例では、対照値 23.8 IPS がフェンタニール投与により 15, 30 分後にはそれぞれ 16.7 IPS (70.0%), 14.0 IPS (58.8%) に減少し、ナロキソン 0.1 mg 静注により 25.9 IPS (109%) に回復した。

Table 1 Effects of spinal administration of fentanyl on spontaneous activity of WDR and NS neurons.

	control	15min.	30min.	naloxone
WDR neurons				
10μg (n=8)	11.5±2.5 (100)	7.8±1.6* (66.0±12.6)	7.6±1.8** (59.3±10.4)	9.4±2.0 (108.9±25.7)
25μg (n=7)	10.4±2.7 (100)	2.0±1.1* (25.3±11.6)	1.4±1.2* (19.2±12.7)	5.0±1.8 (56.3±17.2)
NS neurons				
25μg (n=6)	9.6±2.0 (100)	5.6±1.8+ (58.6±11.7)	4.8±1.6+ (50.0±13.1)	9.7±2.5 (102.0±9.0)
50μg (n=3)	5.3±3.3 (100)	1.9±1.1 (41.4±26.7)	0.8±0.3 (21.4±15.0)	3.2±2.1 (67.5±49.3)

(mean±S. E.)

Activity is expressed as impulses per second.

Numbers in parenthesis indicate percent of control values.

* t-value 2.365, p<0.05 compared with control values.

** t-value 3.499, p<0.01 compared with control values.

+ t-value 2.447, p<0.05 compared with control values.

+ t-value 2.571, p<0.05 compared with control values.

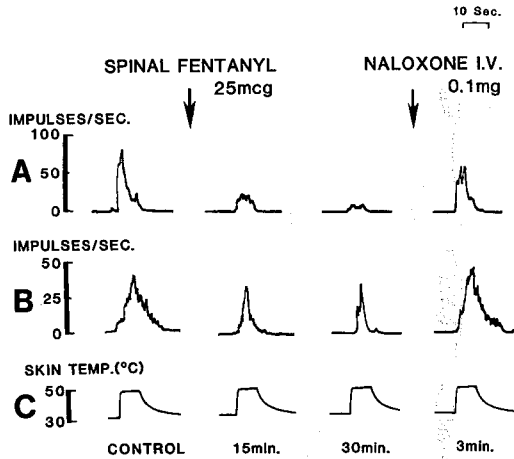


Fig. 2 Examples of the effects of spinally administered fentanyl (25 μ g solution) on evoked activity of WDR neuron and NS neuron. A: A record of spontaneous and evoked activity of a WDR neuron. B: A record of spontaneous and evoked activity of a NS neuron. C: The skin temperature of the receptive field in the hind paw, where a 51°C radiant heat stimulus for eight seconds was applied. Twenty-five μ g of fentanyl suppressed the activity of both types of neurons and the suppression was reversed by naloxone, 0.1mg iv.

各ニューロンの平均値の経時的変化を、Fig. 3に示した。横軸は薬物投与後の時間で、縦軸は対照値を100%としたときの神経発射頻度の割合を示している。Fig. 3Aは、WDRニューロンの変化を示したものである。フェンタニール10 μ g (n=9), 25 μ g (n=10)投与によりそれぞれ6分後、3分後から有意な抑制が始まり、30分後まで徐々に抑制が強くなってゆく。両投与群間で抑制度を比較するとすべての時点で有意差があった。

また、NSニューロンの変化をFig. 3Bに示した。フェンタニール25 μ g (n=7), 50 μ g (n=7)投与によりそれぞれ9分後、6分後より有意な減少が始まり、30分後まで徐々に抑制度が増していった。両群間の比較では6分以後30分までのすべての時点において有意差があった。この抑制は、いずれの投与群においてもナロキソン静注により回復した。なおフェンタニール25 μ g投与群のうち1例は、フェンタニール投与後3分から6分にかけてコントロール値よりも上昇した。

フェンタニール25 μ gを投与した場合のWDRニューロンとNSニューロンを比較すると、NSニューロンの抑制はWDRニューロンに比べて著しく少なかった。

3・1・4 導出部位の組織学的検索

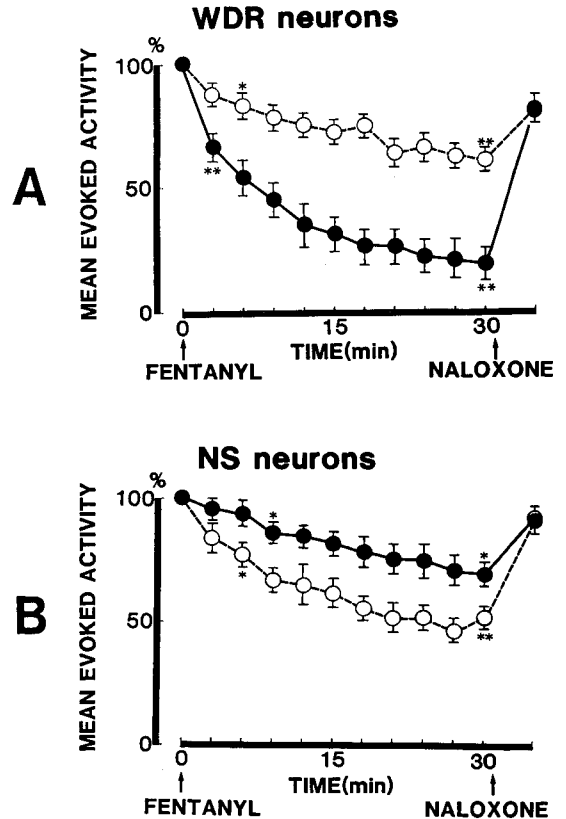


Fig. 3 Effects of spinally administered fentanyl on the mean evoked activity of both WDR and NS neurons. x axis, time in min; y axis, neuronal activity expressed as percentage of control values (mean \pm S.E.). A: Responses of WDR neurons. Both 10 μ g (open circles: n=9) and 25 μ g (closed circles: n=10) of fentanyl produced a significant reduction of evoked activity of WDR neurons, at 6 to 30 min. and 3 to 30 min., respectively. The suppression was reversed by naloxone, 0.1mg iv. B: Responses of NS neurons. Both 25 μ g (closed circles: n=7) and 50 μ g (open circles: n=7) of fentanyl produced a significant reduction of evoked activity of NS neurons, at 9 to 30 min. and 6 to 30 min., respectively. The suppression was reversed by naloxone, 0.1mg iv. Note the differences of degree of the suppression between WDR and NS neurons.

* p<0.05, compared with control values.

** p<0.01, compared with control values.

針先の位置を確認するために作製した electrolytic lesionのうち、その存在部位が明らかになったものは14例であった。Fig. 4Aに代表的な組織標本の1例を示した。写真中の矢印は、針先があった部位を示す。また

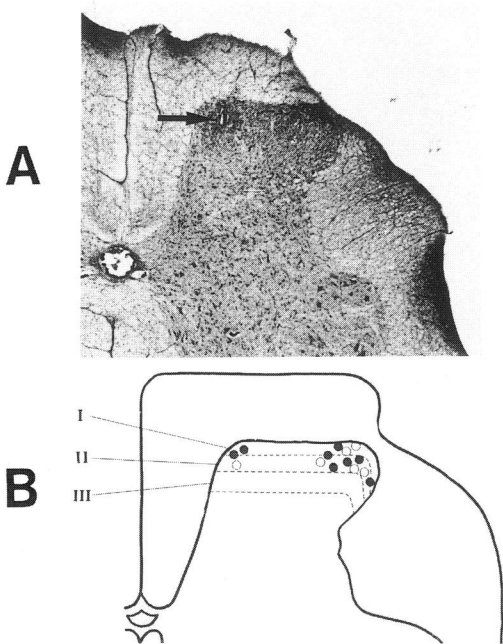


Fig. 4 Histological examination of electrolytic lesions. A: An example of an electrolytic lesion. The arrow indicates the electrolytic lesion in lamina II of the spinal dorsal horn. B: Fourteen electrolytic lesions in the superficial layer (lamina I and II) of the dorsal horn. Closed circles are WDR neurons and open circles are NS neurons.

Fig. 4Bには14例におけるlesion部位を示した。後角第I層にあったものは4つ、第II層には7つ、その中間にあったものは3つであった。

3.2 実験2

モルヒネ投与による熱誘発発射活動の経時変化をFig. 5に示した。黒丸が浅層WDRニューロンの結果であるが、浅層WDRニューロンはモルヒネ0.25mg投与により3分後から徐々に抑制されはじめ、30分後まで僅かずつ抑制されていった。この抑制はナロキソン静注により回復した。また白丸は、以前に著者ら¹⁸⁾が行った実験によるもので、同量のモルヒネ投与によるものである。これらの結果を比較すると、同量のモルヒネをクモ膜下腔に投与した場合、浅層および深層のWDRニューロンの抑制度はいずれの時点においても有

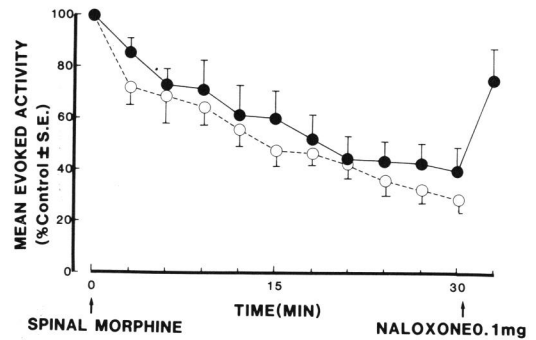


Fig. 5 Effects of 0.25mg of morphine of superficial WDR neurons (closed circles) and deep WDR neurons (open circles: Reprinted from ref. 18, with permission from the publisher). Both superficial and deep WDR neurons were suppressed by morphine. The rate of onset and the degree of suppression are similar.

意差を認めなかった (Mann-Whitney 法, 有意水準 0.05).

3.3 実験3

Fig. 6は³H-モルヒネ投与後10分の各層における黒化銀粒子の分布を示した1例である。層が深くなるにつれて黒化銀粒子数は減少していた。Table 2に各層の平均黒化銀粒子数の経時変化を示した。³H-モルヒネ投与30秒後で、すでに脊髄全層に黒化銀粒子が見られた。各層とも、時間と共に黒化銀粒子が増加し20分後にはプラトーに達していた。投与後30分以内では脊髄全層が均一にはならず、層が深くなるにつれ黒化銀粒子数は減少していた。後角第I層と第V層の黒化銀粒子数を比較すると、いずれの時間においてもI層がV層よりも約2から3倍の密度であった。

4 考 察

4.1 麻薬性鎮痛薬の作用部位

麻薬性鎮痛薬が全身性に投与された場合の鎮痛機序は、以下の2つの相加作用によると思われる。すなわち1)脊髄後角に直接作用しここで痛覚求心路を遮断するという機序、2)脳幹部(中脳水道灰白質、大縫線核、延髄巨大細胞網様体核など)に作用し、ここから脊髄後角ニューロンに至る下行性抑制系を賦活化することにより後角侵害受容ニューロン活動を抑制するという機序である¹⁾。

本研究では、この脊髄直接作用について調べるために脊髄を上位で切断し、脳幹部からの下行性抑制系の関与を除外した。

しかし脊髄を切断すると、下位にある侵害受容ニュー

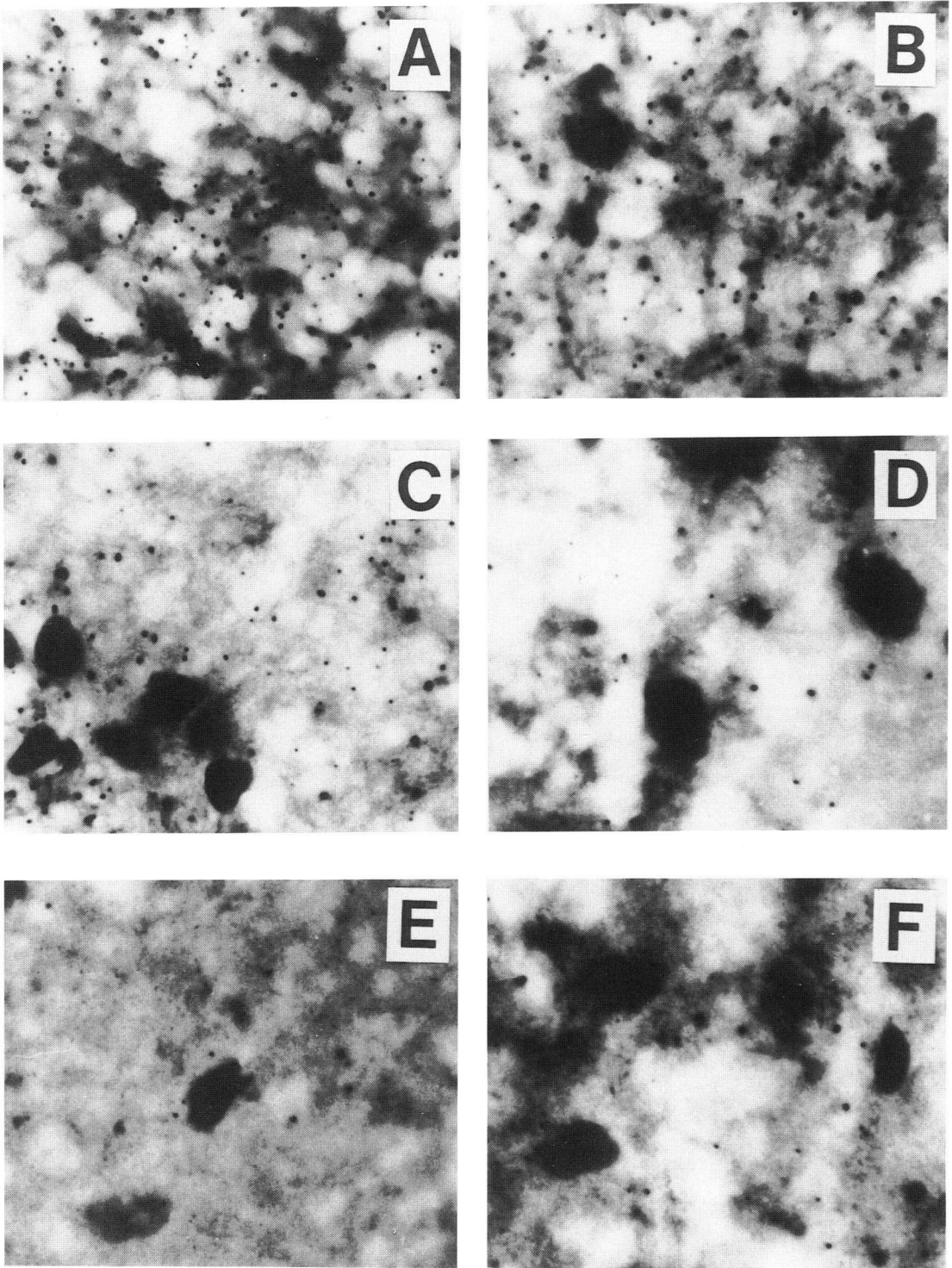


Fig. 6 High power view (X1000) of autoradiograph at various sites of spinal cord cross section. The tissue sample shown was extracted 10 min. after spinal morphine application. A: posterior column, B: lamina I, C: lamina II, D: lamina V, E: lamina VII, F: ventral horn.

Table 2 Mean grain numbers per $625\mu\text{m}^2$ in respective areas of the spinal cord.

	30sec.	5min.	10min.	20min.	30min.
posterior column	12.6±2.1	22.3±2.2*	29.9±3.1*	33.9±3.1	32.2±2.3
lamina I	7.7±1.3	12.3±1.5*	19.0±2.1*	24.2±2.3	27.3±2.6
lamina II	6.4±1.2	10.2±1.3*	16.3±1.9*	21.6±2.5	22.6±2.4
lamina V	4.4±0.8	5.2±0.6	9.1±1.2*	8.1±1.1	8.2±1.1
lamina VII	3.1±0.7	3.6±0.6	6.8±1.3*	4.3±0.6	4.2±0.8
ventral horn	3.0±0.5	4.6±0.7	5.8±1.2	4.4±0.7	3.7±0.8

(mean±S.E.)

* t-value 2.002, $p < 0.05$ compared with the preceding values.

ロンの自発発射活動および侵害受容活動は増大すると
言われている²⁰⁾。

従って、脊髄ネコにおいて得られた侵害受容ニュー
ロンの神経活動抑制を、そのまま生体での鎮痛効果と
結びつけることには無理があるかもしれない。しかし
本研究の成績は、クモ膜下腔に投与された麻薬性鎮痛
薬が少なくとも脊髄レベルで、求心路を遮断すること
により鎮痛効果を発揮することを示している。

4・2 フェンタニールに対する浅層 WDR および NS ニューロンの反応

フェンタニールはモルヒネと同じ mu-アゴニストの
麻薬性鎮痛薬であり、その鎮痛作用はモルヒネの約 80
倍と言われる²¹⁾。

このフェンタニールをクモ膜下腔に投与した場合、浅
層にある WDR ニューロンと NS ニューロンは、程度
において差が認められるもののいずれも自発発射活動
および熱誘発発射活動が抑制された。

後角浅層は痛覚伝達の最初の中継点として、やや複
雑な細胞構成をなしている^{4,5,22-24)}。Fig. 7 は、後角内
で痛覚伝達に関与するニューロンのシナプス結合を示
したものである。第 I 層は、上位中枢へ投射する NS また
は WDR ニューロンからなる。これに対し、第 II 層
は内外 2 層に分けられ(外層を Ilo, 内層を Ili とする)、
いずれも介在ニューロンからなる。特に Ilo は, stalked
cell と islet cell から構成され、前者は興奮性、後者は
抑制性の侵害受容性介在ニューロンであると考えられ
ている。これらは、一次求心性線維から第 I 層ニュー
ロンへの情報伝達に関与する。いずれも生理学的には NS
または WDR ニューロンに属する。

これまでの報告では、麻薬性鎮痛薬を静注¹³⁾あるい
はイオントフォーシス法¹⁵⁾で脊髄に直接注入した場
合、第 I 層侵害受容ニューロンの活動は抑制されると
言われている。しかし第 II 層ニューロンに対し麻薬性鎮

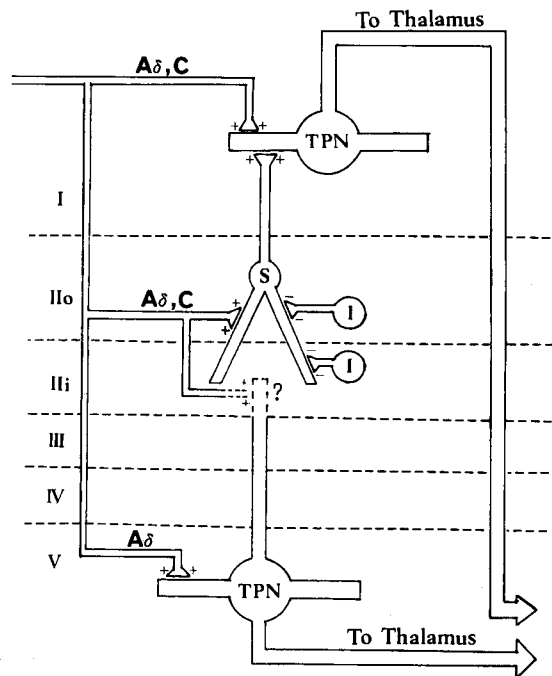


Fig. 7 Summary of the synaptic relay in afferent pathways of noxious input in the dorsal horn. Primary afferent axons are schematically shown entering at the left. TPN: thalamic projection neuron. S: stalked cell. I: islet cell. +: excitation. -: inhibition. Lamina I and V are considered to be the main output systems for nociceptive information. TPNs both in lamina I and V receive nociceptive information either directly from primary afferent axons or indirectly via lamina II interneurons.

痛薬を血管内投与すると、抑制されるニューロンと逆
に興奮するニューロンがあるという¹⁶⁾。また Dickenson
ら¹⁷⁾によれば、浅層侵害受容ニューロンはモルヒネの
クモ膜下腔少量投与では興奮し、さらに投与量を増や

すと抑制されるという。本研究では、1例のみフェンタニール投与直後に一過性に興奮のみられたニューロンがあったほかは、すべて抑制された。このように麻薬性鎮痛薬に対する浅層侵害受容ニューロンの反応性が報告によって異なる理由は、実験動物の種差、投与量の違いなどが考えられるが明らかではない。

本研究において得られたNSおよびWDRニューロンは、第I層の投射性ニューロンおよび第II層の介在ニューロンのいずれをも含んでいると考えられる。本来これらの痛覚伝達機構における役割は異なるものである。しかし侵害的熱刺激に対する反応性は同じであるため²⁵⁾、本研究ではこれらを併せて検討した。今後は逆行性刺激法や細胞内電極法によるマーキングなどにより、第I層と第II層のニューロンを区別して検討する必要がある。

4.3 モルヒネの脊髄組織内への浸透について

従来、モルヒネのような水溶性薬剤はフェンタニールのような脂溶性薬剤に比べ、脊髄への浸透性が悪いため作用発現時間が遅いと言われてきた²⁶⁾。しかし投与30秒後には、脊髄後方から前方にかけて順に黒化銀粒子数が減少している。このことからモルヒネはクモ膜下腔投与後、すみやかに浸透が始まっていると考えられる。また脊髄内の黒化銀粒子密度は20分後にはすでにプラトーに達しているにもかかわらず、モルヒネによる神経発射活動はその後もひきつづき抑制される傾向にある。このことはモルヒネがその作用部位にあっても、効果が十分発揮されるまでには時間的なずれがあることを意味する。この理由にはモルヒネとレセプターの結合速度が遅いこと、あるいは結合したあと抑制効果を発揮するまでの過程が遅いことなどが推察される。

4.4 モルヒネに対する浅層WDRニューロンの反応および深層WDRニューロンとの比較

モルヒネ0.25 mgのクモ膜下腔投与により、浅層WDRニューロンの自発および熱誘発発射活動は抑制された。しかしこれを深層WDRニューロンと比較すると、抑制程度や時間的推移には全く差がなかった。

後角深層のWDRニューロンは、第I層の侵害受容ニューロンと同様に、上位中樞へ投射するニューロンとして重要な役割をはたしている。これにはA δ 線維の直接入力と、第II層からのC線維入力がある(Fig. 7)。

オートラジオグラフィ法の実験結果では、いずれの時間帯においても浅層の黒化銀粒子密度は深層よりも高く、クモ膜下腔に投与されたモルヒネは脊髄表面か

ら順に浸透していくと考えられた。それにもかかわらず浅層と深層のWDRニューロンの反応には時間的なずれがないということは、以下に示す2つの可能性を示唆する。すなわち第1には、浅層および深層のWDRニューロンはタイプが同じであってもモルヒネに対する反応性が異なるという可能性である。第2には、モルヒネが深層ニューロンの細胞体に直接作用してこれを抑制するのではなく、麻薬性鎮痛薬は浅層に作用し深層ニューロンはここで抑制されるという可能性である。後者の考え方は、第V層ニューロンはモルヒネをイオントフォレーシス法により第V層に注入しても抑制されず、第II層に注入すると抑制されるというDuggan¹⁴⁾らの報告とも一致する。さらに、麻薬性鎮痛薬に対するレセプターは浅層に豊富に存在するという報告¹⁰⁻¹²⁾からも後者の考え方は支持される。

このレセプターに関しては、後角浅層内のpresynapse(すなわち一次求心性線維末端)上に存在するという説^{12,27)}と、postsynapse(すなわちシナプス後膜)上に存在するという説²⁸⁾がある。しかしその存在部位についてはいまだ結論が出ておらず、今後さらに検討されるべき課題である。

5 要 約

クモ膜下腔に投与した麻薬性鎮痛薬の作用機序を解明する目的で、脊髄後角浅層の侵害受容ニューロンに対するフェンタニールおよびモルヒネの影響について調べた。さらに、モルヒネの脊髄への浸透度をオートラジオグラフィ法を用いて調べた。その結果、以下の結論を得た。

1. フェンタニールの脊髄クモ膜下腔投与によって、脊髄浅層にある2種類の侵害受容ニューロンの神経活動が抑制された。
2. しかしその抑制程度には違いがあり、NSニューロンはWDRニューロンに比べ抑制程度が低かった。
3. 浅層WDRニューロンは、モルヒネの脊髄クモ膜下腔投与によっても、その神経活動が抑制された。
4. オートラジオグラフィ法によるモルヒネの脊髄浸透度実験では、モルヒネは脊髄組織へすみやかに浸透しはじめ投与後20分でプラトーになった。また全過程において、浅層の方が深層よりも黒化銀粒子密度が高くなっていた。
5. クモ膜下腔モルヒネ投与による浅層および深層のWDRニューロンの抑制程度および時間経過の比較では、両者に違いはなかった。

以上のことから、脊髄後角侵害受容ニューロンの中

でも NS ニューロンと WDR ニューロンでは麻薬性鎮痛薬に対する反応性が違うという新見がえられた。さらに麻薬性鎮痛薬は浅層および深層の WDR ニューロンに対し異った反応を示すのか、あるいは麻薬性鎮痛薬は脊髄浅層に作用し、深層侵害受容ニューロンも浅層で抑制をうけることが示唆された。

本研究の一部は第 37 回アメリカ麻酔学会総会(1986 年, ラスベガス)において発表した。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を頂きました札幌医科大学麻酔学講座、並木昭義教授ならびに貴重な御助言、御教示を賜りました同生理学第 2 講座、青木藩教授に深謝いたします。また、本研究遂行のために御尽力下さいました札幌医科大学名誉教授、高橋長雄先生に深謝いたします。

文 献

- 高木博司：鎮痛薬の中枢性機序—脳幹と脊髄後角への作用を中心として—。 *神経進歩* **21**, 681-690 (1977)。
- Yaksh, T. L.: Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics. *Science* **192**, 1357-1358 (1976)。
- Yaksh, T. L.: Analgesic actions of intrathecal opiates in cat and primate. *Brain Res.* **153**, 205-210 (1978)。
- 横田敏勝, 園田博邦, 樺隆行, 吉武潤一：脊髄後角の侵害受容ニューロン。 *麻酔* **31**, 680-690 (1982)。
- Price, D. D. and Dubner, R.: Neurons that subserve the sensory-discriminative aspects of pain. *Pain* **3**, 307-338 (1977)。
- Rexed, B.: The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J. Comp. Neurol.* **96**, 415-495 (1952)。
- 重永凱男：痛覚の中枢内経路。高倉公明, 森健次郎, 佐藤昭夫編集： *Pain—痛み—の基礎と臨床* 28-46, 朝倉書店, 東京 (1988)。
- Christensen, B. N. and Perl, E. R.: Spinal neurons specifically excited by noxious or thermal stimuli: Marginal zone of the dorsal horn. *J. Neurophysiol.* **33**, 293-307 (1970)。
- 横田敏勝：痛みと脊髄。市岡正道, 中浜博, 山村秀夫編集： *痛み—基礎と臨床* 84-96, 朝倉書店, 東京 (1980)。
- Pert, C. B., Kuhar, M. J. and Snyder, S. H.: Autoradiographic localization of the opiate receptor in rat brain. *Life Sci.* **16**, 1849-1854 (1975)。
- Atweh, S. F. and Kuhar, M. J.: Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. I. Spinal cord and lower medulla. *Brain Res.* **124**, 53-67 (1977)。
- LaMotte, C., Pert, C. B. and Snyder, S. H.: Opiate receptor binding in primate spinal cord: distribution and changes after dorsal root section. *Brain Res.* **112**, 407-412 (1976)。
- Kitahata, L. M., Kosaka, Y., Taub, A., Bonikos, K. and Hoffert, M.: Lamina-specific suppression of dorsal-horn unit activity by morphine sulfate. *Anesthesiology* **41**, 39-48 (1974)。
- Duggan, A. W., Johnson, S. M. and Morton, C. R.: Differing distributions of receptors for morphine and Met⁵-enkephalinamide in the dorsal horn of the cat. *Brain Res.* **229**, 379-387 (1981)。
- Calvillo, O., Henry, J. L. and Neuman, R. S.: Actions of narcotic analgesics and antagonists on spinal units responding to natural stimulation in the cat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **57**, 652-663 (1979)。
- Woolf, C. J. and Fitzgerald, M.: Lamina-specific alteration of C-fiber evoked activity by morphine in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Neurosci. Lett.* **25**, 37-41 (1981)。
- Dickenson, A. H. and Sullivan, A. F.: Electrophysiological studies on the effects of intrathecal morphine on nociceptive neurons in the rat dorsal horn. *Pain* **24**, 211-222 (1986)。
- 本間英司, Kitahata, L. M. and Collins, J. G.: ネコ脊髄後角の広作動域ニューロン活動に及ぼすも膜下腔モルヒネ投与の効果。 *札幌医誌* **52**, 679-689 (1983)。
- Suzukawa, M., Matsumoto, M., Collins, J. G., Kitahata, L. M. and Yuge, O.: Dose-response suppression of noxiously evoked activity of WDR neurons by spinally administered fentanyl. *Anesthesiology* **58**, 510-513 (1983)。
- Handwerker, H. O., Iggo, A. and Zimmermann, M.: Segmental and supraspinal actions on dorsal horn neurons responding to noxious and non-noxious skin stimuli. *Pain* **1**, 147-165 (1975)。
- Jaffe, J. H. and Martin, W. R.: Narcotic analgesics and antagonists, In: Goodman, L. S. and Gilman, A.: *The pharmacological basis of therapeutics* (7th edition) 517, Macmillan publishing Co., Inc., New York (1985)。
- McMahon, S. B.: Spinal mechanisms in somatic pain, In: Holden, A. V. and Winlow, W.: *The neurophysiology of pain* 159-178, Manchester University Press, Great Britain (1984)。

23. Bennett, G. J., Abdelmoumene, M., Hayashi, H. and Dubner, R.: Physiology and morphology of substantia gelatinosa neurons intracellularly stained with horseradish peroxidase. **J. Comp. Neurol.** **194**, 809-827 (1980).
 24. Dubner, R.: Specialization in nociceptive pathways: Sensory discrimination, sensory modulation and neural connectivity, In: Fields, H. L.: Advances in pain reseach and therapy, Vol. 9, 111-136, Raven Press, New York (1985).
 25. Tsubaki, T. and Yokota, T.: Heat-evoked responses of dorsal horn nociceptive neurons in the monkey, **Jap. J. Physiol.** **33**, 249-267 (1983).
 26. Cousins, M. J. and Mather, L. E.: Intrathecal and epidural administration of opioids. **Anesthesiology** **61**, 276-310 (1984).
 27. MacDonald, R. L. and Nelson, P. G.: Specific opiate-induced depression of transmitter release from dorsal root ganglion cells culture. **Science** **199**, 1449-1451 (1978).
 28. Zieglgänsberger, W. and Bayerl, H.: The mechanism of inhibition of neural activity by opiates in the spinal cord of cat. **Brain Res.** **115**, 111-128 (1979).
-
- 別刷請求先:
(〒047) 小樽市若松 1-2-1
市立小樽病院麻酔科 久米田幸弘