

ラットの延髄後角の侵害受容細胞に対する 内包条件刺激の抑制効果

福田 大介, 松本 範雄*

岩手医科大学歯学部歯科矯正学講座

(主任 三浦 廣行 教授)

*岩手医科大学歯学部口腔生理学講座

(主任 北田 泰之 教授)

(受付 2003年10月27日)

(受理 2003年11月13日)

Abstract The effect of conditioning stimulation of the internal capsule (IC) on nociceptive neurons in the rat medullary dorsal horn was investigated. The animals were anesthetized with N_2O-O_2 (2:1) and 0.5%-halothane, and immobilized with pancuronium bromide. Nociceptive neurons responding to noxious stimulations of the face and oral structures were recorded in the trigeminal caudal nucleus and the medial reticular subnuclei. These neurons were classified into wide dynamic range (WDR) and nociceptive-specific (NS) types. NS neurons were distributed in the superficial layers of the caudal nucleus and the dorsal part of the reticular subnuclei, whereas WDR neurons were distributed diffusely throughout the area except for the magnocellular layer of the caudal nucleus. A test stimulus with a single rectangular pulse (5-70 V) was applied to the center of the receptive field, the nociceptive neurons exhibited short- and/or long-latency responses. Both responses in about 53% of the nociceptive neurons were inhibited by conditioning stimuli to the ipsilateral IC with trains of 33 pulses (100-300 μA) at 330Hz. The percent of inhibitory effects on the WDR neurons and NS neurons were $20.7 \pm 24.5\%$ ($n=16$) and $16.5 \pm 13.7\%$ ($n=2$), respectively. The inhibitory effect continued for conditioning-test intervals of up to 500 msec. Effective sites for conditioning stimulation were concentrated in the lateral side of the IC, through which the corticofugal fibers from the somatosensory and motor cortices pass. The IC inhibitory effect was not affected by a systemic injection of naloxone. Our findings suggest that the transmission of nociceptive information is modulated at the level of the medullary dorsal horn by the corticofugal fiber via the IC and that transmitters other than opioids are involved in the IC antinociception.

Key words internal capsule, conditioning stimulation, antinociception, trigeminal caudal nucleus, reticular subnucleus

緒 言

Adamsら(1974)は末梢感覚神経や中枢神経系の傷害によって起こる求心路遮断痛(deafferentation pain)か内包(internal capsule)の電気刺激によって軽減することを報告した¹⁾。その後、同グループは脳内出血や脳梗塞によって起こる視床痛か内包の電気刺激によって抑さえられることを確認した²⁻⁴⁾。彼らは

内包刺激によって大脳皮質から視床や脊髄への下行性痛覚抑制系が活性化されると推測した。しかし、内包刺激による痛覚抑制効果の神経生理学的メカニズムは未だ解明されていない。Siegelら(1986)は侵害性熱刺激に対する脊髄後角ニューロンの応答か内包の電気刺激によって影響されないことをネコで観察した⁵⁾。彼らはこの実験から内包刺激による痛覚抑制は脊髄後角よりもより上位での侵害情報の伝達を抑制

することによって起こると考えた。一方、MorganとFranklin(1988)はラットの熱刺激に対する tail flick の潜時か内包の電気刺激によって延長することを観察した⁶⁾。この知見は内包刺激による抗侵害受容効果は脊髄レベルで起こることを意味する。

我々は最近、三叉神経視床路を経て三叉神経支配領域からの侵害情報を受ける視床の後内側腹側核(VPM)や後核群(PO)および腹側視床の不確帯(ZI)で記録される侵害受容ニューロンの応答が対側の内包刺激によって抑制され、その抑制効果の強さは三領域ではほぼ等しいことを麻酔したラットで観察した⁷⁾。これらの知見は内包刺激が脊髄後角と似た構造と機能を持つ延髄後角の2次ニューロン・レヘルで侵害情報の伝達を抑制する可能性を想起させた。本研究の目的はこの可能性を確かめるため、内包刺激による抑制効果が延髄後角、すなわち三叉神経脊髄路核尾側核(caudal nucleus)およびその内側の網様亜核(reticular subnuclei)の侵害受容ニューロンで観察されるかどうかをラットを用いて調べることである。本研究は三叉神経系からの侵害情報を受け、そして三叉神経視床路を経て視床に侵害情報を送る延髄後角で記録される侵害受容ニューロンの応答を内包条件刺激が抑制することを報告する。

方 法

1. 実験動物

実験には7~15週齢のSprague-Dawley雄性ラット68匹を用いた。動物はN₂O-O₂(2:1)混合ガスと2.0%ハロタンの深麻酔下で人工呼吸のために気管切開を行い、気管にチューブを挿入した。呼気終末CO₂濃度は呼気CO₂アナライザー(capstar-100, CWE社製)で持続

的に観察し、38~45%になるように一回換気量を調節し人工呼吸を施した(人工呼吸器:SN480-7, シナノ製作所製)。体温は循環式保温パッドで38°Cに維持し、気管からの分泌物を押さえるため硫酸アトロピンを腹腔内に投与(10mg/kg)した。大腿静脈にカニューレーションし、そこから臭化パンクロニウム(初期投与0.24mg/kg, 補助的投与0.16mg/kg/hr)を不動化のために投与した。動物を定位脳固定台に装着し、ユニット活動の記録中はハロタンのレヘルを0.5%に維持した。動物の状態が生理的であることを確認するため大脳皮質脳波、心電図、呼気終末CO₂を持続的に観察した。これらすべての実験はInternational Association for the Study of Painの倫理ガイドラインに従っておこなった。

2. 末梢試験刺激

延髄で記録されるニューロンの性質を調べるため、顔面の皮膚や毛あるいは口腔粘膜に対する機械的刺激を使用した。繰り返し筆でなでる触刺激(brush)、無鉤ピンセットでつまむ圧刺激(pressure)、有鉤ピンセットでつまむ侵害刺激(pinch)の3段階の強度の刺激をそれぞれ20秒間末梢受容野に与えた。これらの刺激に対する応答からニューロンは3種に分類された。これらのニューロンはそれぞれ1)触刺激や圧刺激に最大応答を示し、侵害刺激には応答しない低閾値機械受容(low threshold mechanoreceptive LTM)ニューロン、2)3種の刺激すべてに応じ、なおかつ刺激強度に比例して発火頻度を増す性質を有する広作動域(wide dynamic range WDR)ニューロン、3)触刺激や圧刺激には応じず、侵害刺激のみに応答する性質を有する特異的侵害受容

Inhibitory effects of conditioning stimulation of the internal capsule on nociceptive neurons in the medullary dorsal horn of the rat

Daisuke FUKUDA and Norio MATSUMOTO*

Department of Orthodontics, School of Dentistry, Iwate Medical University,

*Department of Oral Physiology, School of Dentistry, Iwate Medical University,

1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-5805, Japan

(nociceptive specific NS) ニューロンである。侵害受容ニューロンが記録された後、その末梢受容野に針電極（電極間距離 2 mm）を介して双極性に試験電気刺激（持続時間 20 msec）を与え、それに対する応答を痛覚の指標とした。その刺激強度は応答の閾値の 2 - 3 倍（5 - 70 V）に設定した。

3 内包条件刺激

延髄の記録側に対し同側内包に条件刺激電極を刺入するため、Paxinos と Watson⁸⁾ のアトラスを参照し、フレクマ (bregma) より尾側 2.0-3.5 mm, 外側 3.5-4.5 mm に歯科用電気エンジンにて開頭術を施した。刺激用の同心円双極電極 (S-121, Unique Medical 社製) は大脳皮質表面から挿入し、深さは皮質表面から 4.0-8.0 mm とした。条件刺激は強度 100-300 μ A, 持続時間 0.2 msec の矩形波パルスをも 100 msec の間、330 Hz の頻度で与えた。内包の条件刺激と末梢受容野への試験刺激の間隔 (C-T interval) は通常 50 msec とした。これらの内包条件刺激は心電図や脳波に何ら影響を与えなかった。

4 ユニット放電記録

延髄を露出後、門 (obex) より尾側 0.5-3.0 mm, 外側 0.5-3.5 mm の範囲内の脊髄路核尾側核とその内側の網様垂核から顎顔面皮膚および口腔内粘膜の機械的刺激に応じる侵害受容ニューロンを記録した。単一ユニット放電の記録は 1 M の酢酸ナトリウム中に 2% の pontamine sky blue を含む溶液を充填したガラス微小電極（電極抵抗 7-15 M Ω ）を用いた。その微小電極は油圧マニピュレーター (PC 5 N, 成茂社製) によって 5 μ m ずつ進めた。得られた神経活動は増幅器 (VC-11 の AVB-21, 日本光電社製) に導いた後、peri-stimulus time (PST) ヒストグラムを作成するため計算機 (PowerLab/8 SP, ADInstruments 社製) で処理した。

5 組織学的検索

三叉神経脊髄路核とその内側の網様垂核にお

ける侵害受容ニューロンの記録部位を同定するため微小電極側を陰極、生体側を陽極とし 5 μ A の直流を 25 分間通電することによって電気泳動的に pontamine sky blue を注入した。内包の条件刺激部位は電極に 3 μ A の陽極電流を 20 秒間通電して鉄イオンを沈着させることによりマーキングした。実験終了後、動物をペントバルビタールの過剰投与により殺し、心臓から 500 ml の生理食塩水、続いて 750 ml の 2% フェロシアン化カリウム含有 10% フォルマリン溶液で灌流した。厚さ 50 μ m の凍結切片を作製し、cresyl violet にて Nissl 染色を施して組織標本を作製した。

延髄の記録部位および内包の条件刺激部位を光学顕微鏡にて組織学的に検索した。延髄の学術用語と解剖学的区分は Palkovits と Jacobowitz⁹⁾ に従った。

6 テータ解析

侵害受容ニューロンの末梢試験刺激に対する応答か内包条件刺激によって影響を受けるかどうかを調査した。すなわち、条件刺激前後の試験刺激に対する応答のスパイク数を PST ヒストグラムから計測し、条件刺激後の応答を条件刺激前の応答（コントロール）の百分率（%）として表した。条件刺激によってコントロールのスパイク数の 20% 以上減少あるいは増加したものをそれぞれ“抑制”あるいは“促進”と見なした。有意差検定は Mann-Whitney U- 検定を用い、p 値が 0.05 以下を有意差ありと見なした。

結 果

1 延髄の侵害受容ニューロン

延髄後角、すなわち三叉神経脊髄路核尾側核とその内側の網様垂核で記録された侵害受容ニューロン 34 個はその末梢受容野への機械的刺激に対する応答から、WDR ニューロンと NS ニューロンの 2 種類に分類された。

1) WDR ニューロン

31 個のニューロンは触刺激、圧刺激、侵害刺

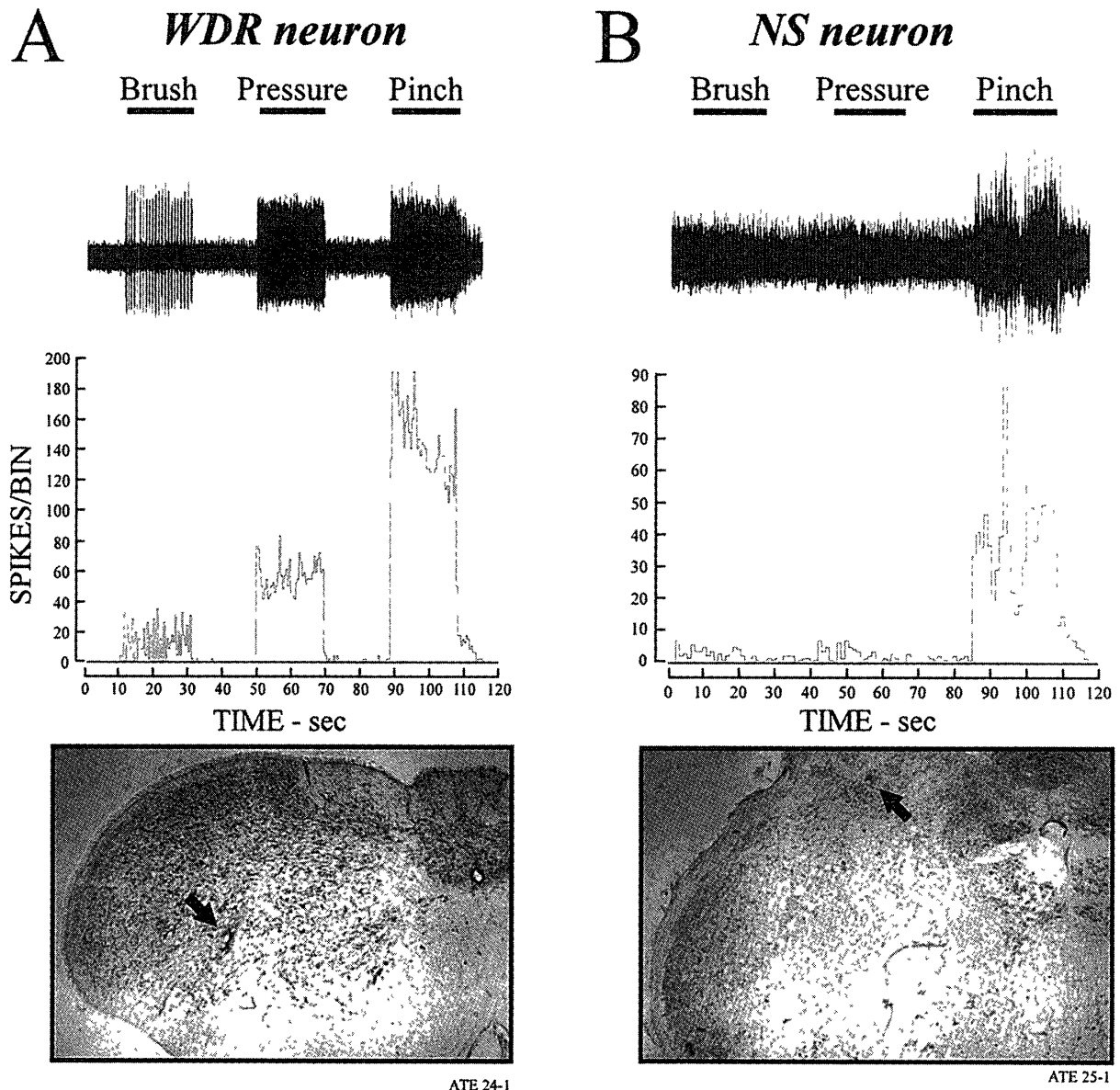


Fig 1 Responses of wide dynamic range (WDR) and nociceptive specific (NS) neurons to a series of graded mechanical stimuli, including brush, pressure and pinch stimuli, to the receptive field. Upper traces show raw extracellular recording of responses, and lower traces show PST histograms of corresponding responses shown in the upper traces. The bars on the upper traces indicate a 20 sec stimulus application. The photomicrographs indicate the recording site (arrow).

激のすへてに応答し、しかも刺激強度に応じて発火頻度を増す性質を有していた。これらをWDRニューロンと分類した。WDRニューロンの一例をFig 1 Aに示した。網様亜核背側部で記録されたこのニューロンは三叉神経第二枝領域(頬部)を受容野に持ち、侵害刺激であるピンチ刺激に最大発火頻度で応じた。これらのWDRニューロンは通常侵害刺激の最中持続して発火し、刺激終了と同時に発火は止むか、13個(41.9%)は侵害刺激終了後にも後発射

(after-discharge)を伴っていた。

2) NSニューロン

3個のニューロンは触刺激や圧刺激などの非侵害刺激には応じず、有鉤ピンセットでのピンチのような侵害刺激にのみ応答を示したのでNSニューロンと分類した。NSニューロンの一例をFig 1 Bに示した。三叉神経第二枝領域(頬部)を受容野を持つこのニューロンは尾側核辺縁層で記録され、侵害刺激にのみ応答した。これらのNSニューロンの内1個(33.3%)

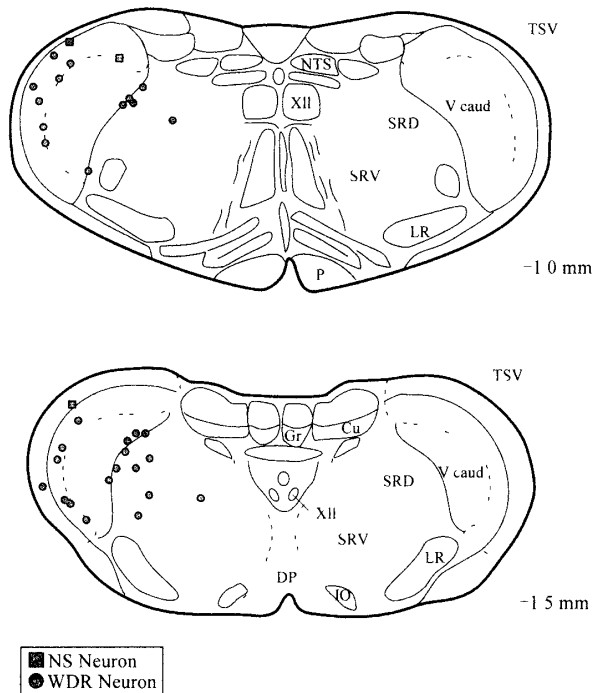


Fig 2 Frontal-section drawings showing recording sites of 31 WDR and 3 NS neurons. The recording points were reconstructed from histological sections of marking spots. Closed circle, WDR neuron, Closed square, NS neuron. The sections are taken from the atlas of Palkovits and Jacobowitz (1974)⁹⁾. The number in each section indicates the AP level from the obex. Abbreviations: XII, hypoglossal nucleus, Cu, cuneate nucleus, DP, decussation of pyramidal tract, Gr, gracil nucleus, IO, inferior olive, LR, lateral reticular nucleus, P, pyramidal tract, NTS, solitary tract nucleus, SRD, dorsal part of reticular subnucleus, SRV, ventral part of reticular subnucleus, TSV, spinal trigeminal tract, V caud, trigeminal caudal nucleus.

か侵害刺激終了後に後発射を伴っていた。

2 延髄における侵害受容ニューロンの分布

記録された34個の侵害受容ニューロンの内18個(15個のWDRニューロンと3個のNSニューロン)が三叉神経尾側核浅層部で記録され、13個のWDRニューロンが網様垂核背側部、2個のWDRニューロンが網様垂核腹側部、1個のWDRニューロンが尾側核大細胞部で記録された。これらの侵害受容ニューロンの

分布を問から尾側10mmと15mmの二つの前頭断面図にプロットした(Fig 2)。

WDRニューロンは尾側核浅層部および網様垂核背側部の全般にわたって分布していた。しかし網様垂核腹側部での記録例は少数であった。またNSニューロンは網様垂核背側部でのみ認められた。

網様垂核腹側部および背側部で記録された侵害受容ニューロンの分布と受容野の間には何ら規則性は認められなかった。しかし、尾側核浅層部で多数記録されたWDRニューロンには体部位再現(somatotopy)が観察され、三叉神経第一枝支配領域を受容野に持つニューロンは内側部に、三枝領域を受容野に持つニューロンは外側部に分布していた。また顔面や口腔内への侵害刺激に加えて同側角膜への触刺激あるいは両側耳介への侵害刺激に応じるニューロンが33例(同側角膜17例, 同側角膜耳介14例, 両側角膜耳介1例, その他1例)観察されたか、これらの本来の末梢受容野は角膜や耳介と離れた部位にあった。このような性質を持つニューロンは網様垂核の背側部で認められたか、尾側核浅層部や網様垂核の腹側部ではまったく認められなかった。

3 内包条件刺激の抑制効果

1) WDRニューロンに対する抑制効果

末梢受容野の電気刺激に対する応答が52個のWDRニューロンで記録された。これらのニューロンを潜時が10msec以下の速い応答を示すF型、潜時が30msec以上の遅い応答を示すS型、およびF型の潜時の速い応答に遅い応答を伴うFa型に分類したところ、F型、S型、Fa型はそれぞれ40個(75.5%)、1個(2.0%)、11個(22.6%)であった。F型およびFa型の速い応答の平均潜時はそれぞれ 5.8 ± 2.6 msec ($n=40$)、 5.6 ± 2.6 msec ($n=11$)で、それらの間に有意差は無かった。11個のFa型WDRニューロンの遅い応答の平均潜時は 85.91 ± 41.5 msecで1個のS型ニューロンの潜時は120msecであった。

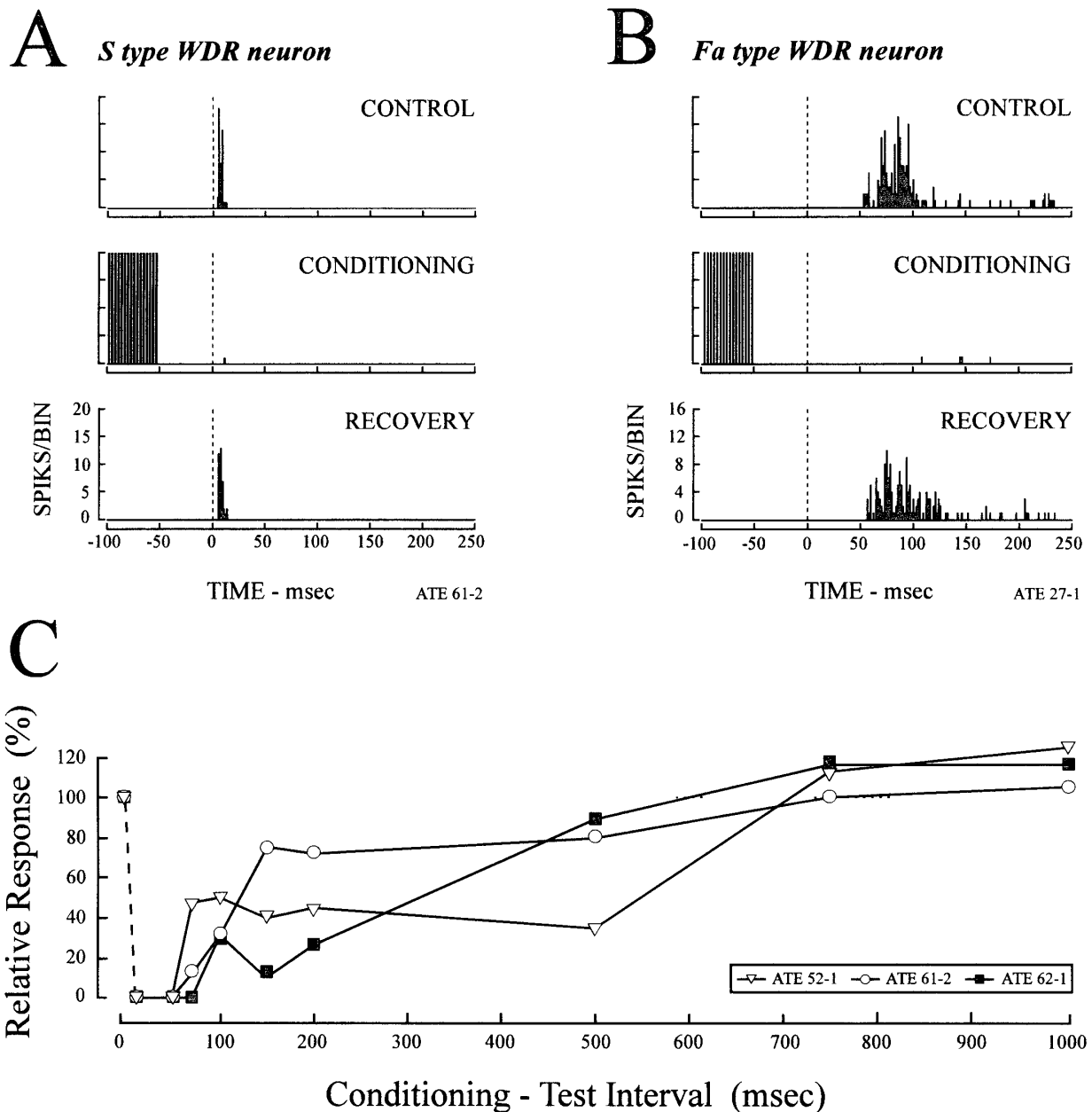


Fig 3 Effects of conditioning stimulation of the internal capsule on a fast-type WDR neuron (A) and on a slow-type WDR neuron (B) Both responses were inhibited at a C-T interval of 50 msec (middle trace) In each PST histogram, the ordinate shows the number of spikes/bin and the abscissa shows the time course in msec (bin width = 1 msec) Zero indicates the time when the stimulus was applied Twenty trials were performed for construction of each histogram C Effects of conditioning stimulation of the internal capsule on the nociceptive responses of WDR neurons at various C-T intervals The ordinate shows the percent change in the number of spikes in the response with conditioning stimulation vs control, and the abscissa shows the C-T interval in msec Each type of symbol represents a different neuron (n = 3)

三つの型の WDR ニューロン52例中16例 (13 F型, 1 S型, 2 Fa型) の応答が内包条件刺激によって抑制され, その平均抑制効果は79.4 ± 24.5%であった。F型およびS型の WDR ニューロンに対する内包条件刺激の抑制例をそれぞれ Fig 3 A と Fig 3 B に示した。この F

型 WDR ニューロンは末梢受容野の試験刺激に対して 3 msec の潜伏で応答した。この応答は内包条件刺激によって完全に抑制された (Fig 3 A の中段)。同様に, 試験刺激に 50 msec の潜伏で応じる S 型 WDR ニューロンの応答も内包条件刺激によってコントロール応答の約

0.1%まではほぼ完全に抑制された (Fig 3 B の中段)。Fig 3 C は延髄後角で記録された3個のWDRニューロンについて、条件刺激と試験刺激との間隔 (C-T interval) を変えて条件刺激の効果を調べたものである。条件刺激による抑制効果は20から50 msec の C-T interval で最も強く500 msec 以上にわたって持続することか観察された。

2) NS ニューロンに対する抑制効果

3個のNSニューロンすべてがF型であり、

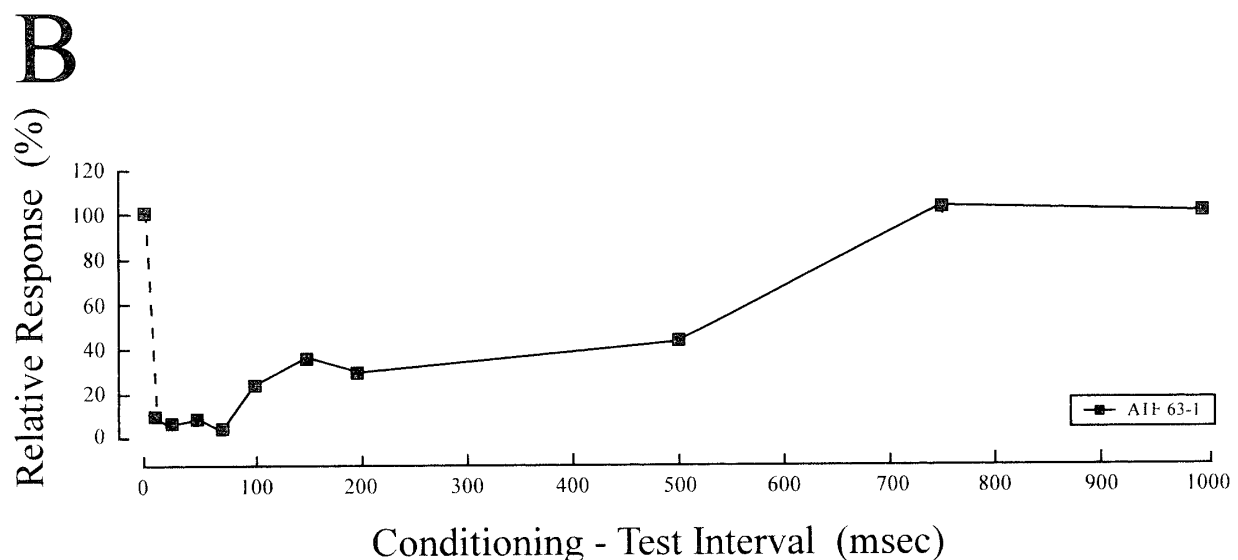
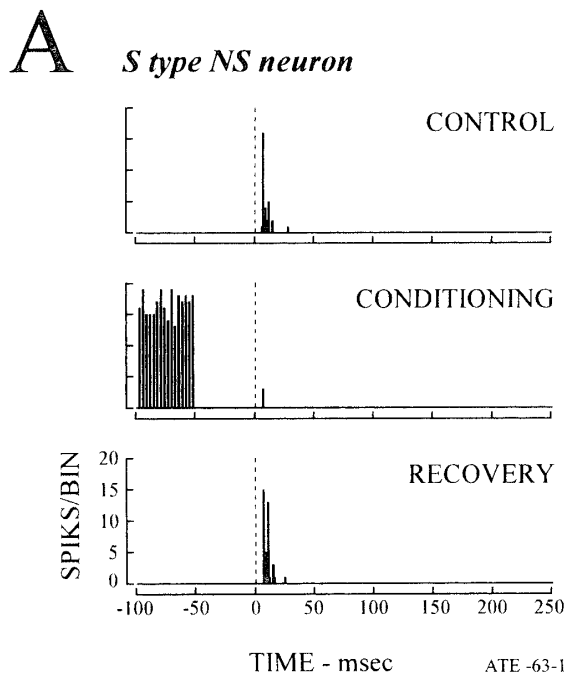


Fig 4 Effects of conditioning stimulation of the internal capsule on the fast-type NS neurons (A) The short-latency-response to electrical stimulation of the face was inhibited to 93.2% of control response at a C-T interval of 50 msec (middle trace) B Effects of conditioning stimulation of the internal capsule on the nociceptive responses of a NS neuron at various C-T intervals

試験刺激に対する平均潜時は 5.3 ± 0.6 msecであった。これらのNSニューロン2例についての内包条件刺激の効果を観察したところ、両ニューロンにおいて抑制が観察され、この平均抑制効果は $83.5 \pm 13.7\%$ であった。Fig 4 A はNSニューロンの潜時5 msecの応答か内包条件刺激によってコントロール応答の約6.8%に抑制されたことを示す。1個のNSニューロンについて条件刺激と試験刺激との間隔 (C-T interval) を変えて条件刺激の効果を調べた (Fig 4 B)。条件刺激による抑制効果は10–70 msec 以下の C-T interval で最も強く500 msec 以上にわたって持続することか観察された。

4 内包条件刺激部位と抑制効果

条件刺激か抑制を示した18箇所を Fig 5 にまとめた。これらの部位はマーキングスポットの組織学的検索により位置を決めた。すべての刺激部位は内包内にあるか、あるいは内包に接しており、それらの分布は吻尾方向全般にわたっており偏りは認められなかった。しかし、これらすべての部位はフレクマの-3.3 mm より前方に位置していた。抑制効果を示す部位の分布で最も顕著な特徴は内包の外側部に集中していることであった。大多数の抑制部位 (15

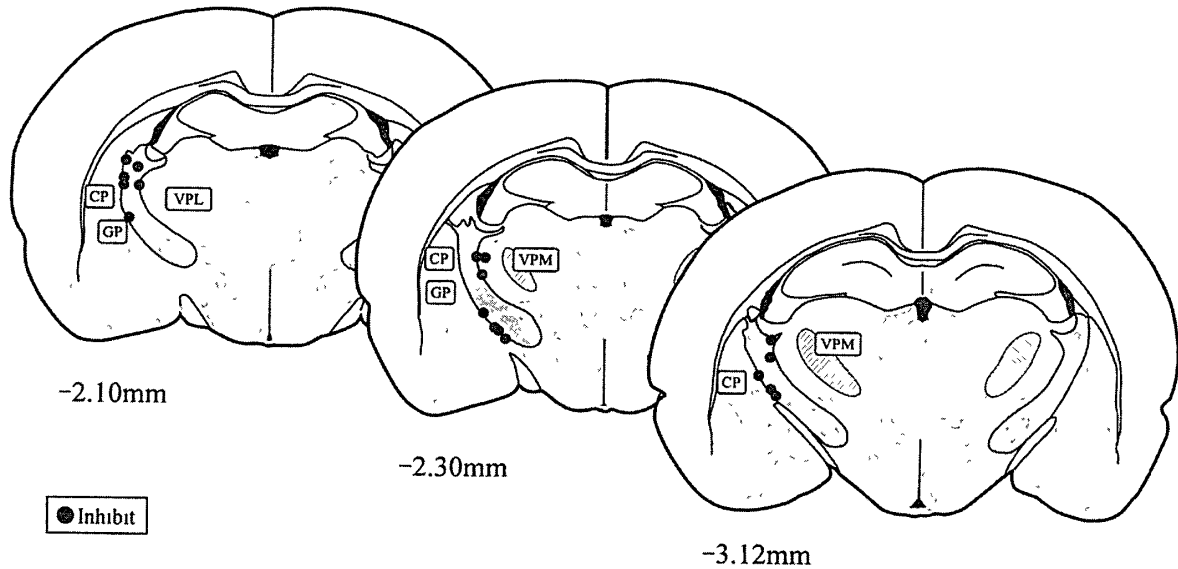


Fig 5 Histological locations of the tips of 18 stimulating electrodes in coronal sections Filled circles indicate stimulating sites that produced inhibition of the nociceptive responses Hatched areas show the ventral posteromedial nucleus (VPM) Diagrams were adapted from the atlas of Paxinos and Watson (1986) The number in each section indicates the AP level from the bregma Abbreviations CP, caudate putamen, GP, globus pallidus, VM, ventromedial nucleus, VPL, ventral posterolateral nucleus, st, stria terminalis

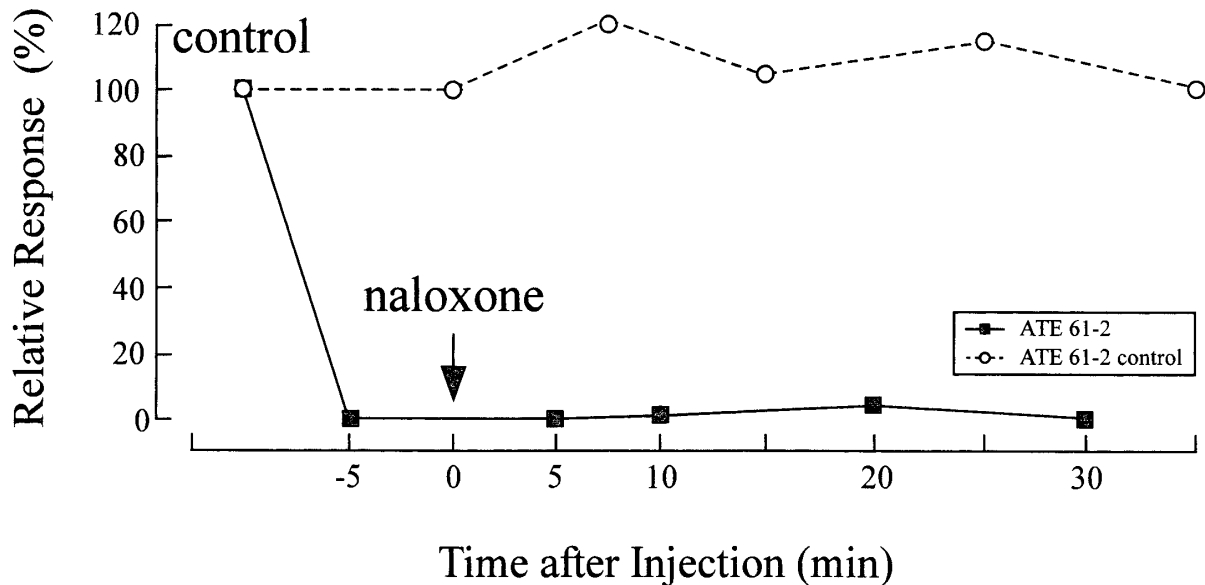


Fig 6 Effect of naloxone (1 mg/kg, i.v., n=1) on the inhibition induced by conditioning stimulation of the internal capsule The inhibitory effect was not affected by the opioid antagonist The ordinate shows the mean percent changes in the number of spikes with conditioning stimulation vs control, and the abscissa shows the time in min after drug injection

／18) は視床腹側基底核の外側縁のレベルよりもより外側に位置しており、3例のみが内側に認められた。また、内包の条件刺激が侵害受容ニューロンに促進効果を及ぼす例はまったく観察されなかった。

5. 内包の抑制効果に対するナロキシンの作用

内包条件刺激による抑制効果にオピオイド受容体か関わっているかどうかをWDRニューロンで調べた。非選択的オピオイド受容体拮抗剤であるナロキソン(1 mg/0.2 ml生理食塩水/kg)の静注は投与後30分にわたって内包の抑制効果に影響を与えなかった(Fig 6)。また、ナロキシンの投与によって試験刺激に対する

WDR ニューロンの応答はまったく変化しなかった。

考 察

1 延髄後角の侵害受容ニューロン

顔面皮膚の痛覚情報は三叉神経感覚核の脊髄路核尾側核とその内側の網様垂核で中継され視床に投射することか知られている¹⁰⁻¹¹⁾。尾側核は頸髄後角の延長で、機能的および形態的類似性から延髄後角 (medullary dorsal horn) とも呼ばれており、辺縁層と膠様質から成る浅層部と大細胞層に分けられる。その内側は背側網様垂核と腹側網様垂核から成る延髄網様体と接している。

WDR ニューロンの大部分が背側網様垂核に分布し、少数が尾側核浅層部にも認められるのに対して、NS ニューロンは尾側核浅層部に多く少数が背側網様垂核に分布していることを多くの報告が示している¹²⁻¹³⁾。またラットの腹側網様垂核では侵害受容ニューロンは少数のみが記録されており、尾側核大細胞層には侵害受容ニューロンは認められていない¹⁴⁾。今回の結果はこれらの先人の報告にはほぼ一致し、両侵害受容ニューロンは主に尾側核浅層部と背側網様垂核で記録され腹側網様垂核で極少数が認められた。また Villanueva ら (1988)¹⁴⁾ の結果と同じく角膜や耳介からの侵害入力をうける WDR ニューロンが背側網様垂核で記録された。ネコではこれらの特徴を持つニューロンは腹側網様垂核で記録されている¹⁵⁾。このような差異は Villanueva ら¹¹⁾が述べているように、網様垂核には種差があり、ラットとネコでは背側網様垂核と腹側網様垂核の細胞構築学的区分が異なることによっても考えられる。

2 内包刺激による抗侵害受容作用

(1) WDR ニューロンと NS ニューロンに対する抑制作用

三叉神経系からの感覚入力を受ける三叉神経感覚核 (trigeminal sensory complex) およびその内側の背側網様垂核で記録される侵害受容

ニューロンでは、30msec 以上の潜伏時を持つ応答は C 線維由来とされている¹⁶⁻¹⁷⁾。従って、今回記録された S 型ニューロンの応答と Fa 型の潜伏時の遅い応答は C 線維の興奮によると考えられる。また今回の実験では速い潜伏時の応答、すなわち F 型ニューロンの応答と Fa 型の潜伏時の短い応答は WDR ニューロンと NS ニューロンでは有意差は認められなかった。これら両侵害受容ニューロンの平均潜伏時 (5.6±2.5msec) は明らかに村田らの報告した LTM ニューロンの平均潜伏時よりも長い¹⁸⁾。この結果は LTM ニューロンと侵害受容ニューロンの短潜伏時応答がそれぞれ Aβ と Aδ 線維の興奮に由来することを示唆すると考えられる。

Dubner ら (1989) は覚醒サルを用いて侵害刺激の刺激強度弁別タスク遂行中の三叉神経尾側核から単一ニューロン応答を記録した¹⁹⁾。この実験から、彼らはある種の WDR ニューロンは侵害刺激の強度の増加に応じて発火頻度を増加することから刺激強度の弁別に関わっていると考えた。一方、NS ニューロンは刺激強度を符号化できないことに加えて、視床下部や大脳辺縁系に投射する中脳に線維連絡を持つことか知られている尾側核第 I 層に多く分布する。これらの知見から NS ニューロンは痛み刺激によって誘発される情動反応の発現に関わると考えられた⁹⁾。しかし、NS ニューロンについては末梢受容野が WDR ニューロンよりも小さいことから侵害刺激部位の弁別に関わっていると考える²⁰⁾。

今回の実験は 2 種の侵害受容ニューロンの短い潜伏時および長い潜伏時の応答が内包の条件刺激によって抑制されることを示した。これらの結果は内包刺激が C 線維および Aδ 線維の興奮に由来する WDR ニューロンと NS ニューロンの活動を抑制し、その結果として痛みの強さや痛み刺激による情動反応を制御する可能性を示唆する。

(2) 内包刺激による抑制部位

麻薬性鎮痛薬か効を奏しない視床内出血や梗塞によっておこる求心路遮断痛の一種である中

中枢痛の軽減に内包の電気刺激が臨床で用いられている²⁻⁴⁾。臨床での慢性痛に対するこれらの鎮痛効果に加えて、ラットの侵害性熱刺激に対する tail flick 潜時か内包刺激によって延長することが報告されている⁶⁾。これに加えて、今回の結果は内包刺激が中枢痛などの慢性痛のみならず急性痛をも抑制することを示唆する。

今回の結果は延髄後角の侵害受容ニューロンの活動か内包刺激によって抑制されることを示した。同様に、Morgan と Franklin (1988) は脊髄レベルで起こる tail flick 反射の潜時か内包の電気刺激によって延長することをラットで観察した⁶⁾。これらの知見は内包刺激による抗侵害受容効果は脊髄レベルで起こることを意味する。一方 Siegel ら (1986) はネコでの観察から侵害性熱刺激に対する脊髄後角ニューロンの応答か内包の電気刺激によって影響されないと報告した⁷⁾。我々の結果と異なるのは実験動物の種差以外に内包の刺激部位の相違に依ると思われる。彼らか発表した論文⁷⁾の図から判断すると、腹側核レベルでの我々の刺激部位に比較して彼らの刺激部位はそれより大分吻側の前交連レベルに位置する。この部位の内包では大脳皮質からの下行性線維の占める割合か非常に少ないことか知られている²¹⁾。

(3) 抑制に関わる神経路

本研究は延髄後角の侵害受容ニューロンを抑制する部位は内包の外側部に集中していることを示した。この知見はラット内包の内側部の電気刺激は鎮痛効果を持たないという Balagura と Ralph (1973) の行動学的観察と一致する²²⁾。また Coleman ら (1977) はラット内包の外側部は大脳皮質体性感覚野顔面領域および感覚運動野の後肢領域から起こる線維によって占められていることを解剖学的に示した²¹⁾。さらに Yezierski ら (1983) は大脳皮質体性感覚野やその後方部の 5 野の刺激は脊髄視床路細胞の侵害刺激に対する応答を抑制し、一方運動野の刺激は抑制を伴う興奮あるいは抑制のみを引き起こすことを麻酔したネコで観察した²³⁾。本研究では内包刺激による侵害受容細胞の興奮を観察

することはできなかった。

Okada らの研究は、1) 視床および腹側視床の侵害受容細胞は対側内包刺激によって抑制され、2) 視床後内側腹側核 (VPM) と後核群 (PO) および腹側視床の不確帯 (ZI) で記録される侵害ニューロンに対する内包刺激の抑制効果はほぼ等しいことを示した⁷⁾。これらに今回の研究結果を加味して考えると、内包の条件刺激は大脳皮質体性感覚野や運動野から脊髄や延髄に投射する線維を興奮させ、その結果、脊髄や延髄後角での侵害情報の伝達を遮断すると考えられる。これらの大脳皮質から延髄後角への投射は電気生理学のおよび解剖学的手法によって証明されている²⁴⁻²⁷⁾。

内包あるいは大脳感覚運動野の刺激が三叉神経尾側核の WDR ニューロンの求心路遮断による過興奮を抑制することかネコでの実験から確かめられている²⁸⁾。また、第一次体性感覚野に相当する部位の硬膜刺激か頸髄の脊髄空洞症 (syringomyelia) の結果生じた中枢痛を軽減したとの臨床報告もある²⁹⁾。さらに、最近ヒトで感覚運動皮質の刺激か神経因性疼痛を抑制することか示されている³⁰⁻³²⁾。これらの知見は内包刺激による痛覚抑制は大脳皮質から発する線維の興奮に依存するという我々の仮説に一致する。皮質からの線維かどこを経由して延髄後角で痛覚抑制を引き起こすのかは不明である。本研究は内包刺激による痛覚抑制にオピオイトか関わっていないことを示した。したかつて、従来知られている中脳中心灰白質 (PAG) から発してオピオイドか関与する下行性痛覚抑制系か内包刺激による痛覚抑制に関わっているとは思われない。いずれにしても内包刺激による痛覚抑制は大脳皮質からの下行性線維の興奮に依るであろう。この興奮か中枢痛の発生の原因となる延髄や脊髄後角の侵害受容ニューロンにおいて異常興奮の誘発を抑制する可能性かあり得る。

条件刺激-試験刺激 (C-T) 間隔か500msec でも内包刺激による抑制作用か認められることから、内包からの下行性線維はシナプス前抑制によって侵害情報の伝達を抑制すると考えられ

る。この考えは C-T 間隔を変えた時の抑制の時間経過を観察した結果か中脳や延髄の縫線核 (raphe nucleus) を刺激した時に歯髄性求心性線維で観察された一次求心性線維脱分極 (primary afferent depolarization PAD) の時間経過と非常に類似していることによって支持される^{33, 34)}。また近年脊髄のスライス標本を用いた実験から後角の侵害受容ニューロンに対してクリシンあるいは GABA を伝達物質として 100 msec 以上持続する抑制性シナプス後電位を誘発する抑制性介在細胞が報告された³⁵⁾。内包刺激かこれらの介在細胞を興奮させる可能性も考えられる。今回観察された内包条件刺激による延髄後角の侵害受容ニューロンに対する抑制は臨床で用いられている内包刺激による鎮痛作用の神経生理学的基礎の一つを与えらる。

結 論

内包刺激による痛覚抑制か延髄後角の二次ニューロンレベルで認められるかどうか検証することを目的とした。麻酔および不動化した SD 系ラットの三叉神経尾側核と網様亜核において侵害受容細胞の活動を記録し、これらの細胞の末梢受容野への試験刺激に対する応答か同側内包の条件刺激によって影響を受けるかどうかを観察した。

1 34個の侵害受容細胞が記録され、その内31個は触刺激から侵害刺激に至る種々の刺激強度に比例して段階的に応じる広作動域 (WDR) ニューロン、3個が侵害刺激のみに応じる特異的侵害受容 (NS) ニューロンであった。

2 WDR ニューロンは尾側核浅層部と背側および腹側網様亜核に散在して認められたか、NS ニューロンは尾側核浅層部にのみ分布していた。

3 34個の侵害受容ニューロン (31個の WDR ニューロンと 3個の NS ニューロン) の中18個 (16個の WDR ニューロンと 2個の NS ニューロン) の応答か内包条件刺激によって抑制された。その抑制はコントロールの $79.8 \pm 23.3\%$ で、

その効果は条件一試験刺激間隔か 500 msec まで持続した。

4 侵害受容ニューロンの活動を抑制する条件刺激部位は内包の外側部に集中していた。

5 内包の抗侵害受容作用はオピオイド拮抗剤であるナロキソン (1 mg/kg, 1 v) によって影響されなかった。

6. 以上の知見は延髄後角侵害受容ニューロンに対する内包条件刺激の抑制作用は大脳皮質からの下行性線維を介して、オピオイドか関わらない系を通して行われることを示唆する。

謝辞 稿を終えるにあたり、終始こ懇篤な指導、校閲を賜りました三浦廣行教授に深甚なる謝意を捧げます。また本研究の遂行に際しこ助言および指導を賜りました口腔生理学講座の北田泰之教授、歯科薬理学講座の加藤裕久教授に心から感謝の意を表します。最後に様々な面にてこ協力をいただきました口腔生理学講座の各位、矯正歯科学講座医局員に深く御礼申し上げます。

本論文の要旨は、第80回日本生理学会 (2003年3月24日, 福岡), 第4回ヨーロッパ疼痛学会 (2003年9月2日, Prague), 第36回東北生理談話会 (2003年10月5日, 岩手), 第62回日本矯正歯科学会 (2003年10月8日, 新潟) において発表した。

なお、本研究の一部は岩手医科大学圭陵会学術基金およびハイテクリサーチセンター補助金による研究助成金を受けて行われた。

文 献

- 1) Adams, J E, Hosobuchi, Y, Fields, H L Stimulation of internal capsule for relief of chronic pain *J Neurosurg* 41 740-744, 1974
- 2) Fields, H L and Adams, J E Pain after cortical injury relieved by electrical stimulation of the internal capsule *Brain* 97 169-178, 1974
- 3) Hosobuchi, Y, Adams, J E and Rutkin, B Chronic thalamic and internal capsule stimulation for the control of central pain *Surg Neurol* 4 91-92, 1975
- 4) Namba, S, Nakao, Y, Matsumoto, Y, Ohmoto, T and Nishimoto, A Electrical stimulation of

- the posterior limb of the internal capsule for treatment of thalamic pain *Appl Neurophysiol* 47 137-148, 1984
- 5) Siegel, J, Morton, C R, Sandkuhler, J, Xiao, H M and Zimmermann, M Spinal neuronal inhibition and EEG synchrony by electrical stimulation in subcortical forebrain regions of the cat *Exp Brain Res* 62 363-372, 1986
 - 6) Morgan, M J and Franklin, K B J Stimulation-produced analgesia (SPA) from brainstem and diencephalic sites in the rat relationships between analgesia, aversion, seizures and catalepsy *Pain* 33 109-121, 1988
 - 7) Okada, N, Matsumoto, N and Kitada, Y Responses of diencephalic nociceptive neurons to orofacial stimuli and effects of internal capsule stimulation in the rat *Arch Oral Biol* 47 815-829, 2002
 - 8) Paxinos, G and Watson, C The rat brain in stereotaxic coordinates 2nd ed, Academic Press, San Diego, 1986
 - 9) Palkovits, M and Jacobowitz, D M Topographic atlas of catecholamine and acetylcholinesterase-containing neurons in the rat brain II Hindbrain (mesencephalon, rhombencephalon) *J Comp Neurol* 157 29-42, 1974
 - 10) Yokota, T Neural mechanisms of trigeminal pain In *Advances in pain research and therapy*, Vol 9, eds by Fields, H L, Dubner, R and Cervero, F, Raven Press, New York, pp 211-232, 1985
 - 11) Young, R F and Perryman, K M Neuronal responses in rostral trigeminal brain-stem nuclei of macaque monkeys after chronic trigeminal tractotomy *J Neurosurg* 65 508-516, 1986
 - 12) Dallel, R, Raboisson, P, Auroy, P and Woda, A The rostral part of the trigeminal sensory complex is involved in orofacial nociception *Brain Res* 448 7-19, 1988
 - 13) Dubner, R and Bennett, G J Spinal and trigeminal mechanisms of nociception *Annu Rev Neurosci* 6 381-418, 1983
 - 14) Villanueva, L, Bouhassira, D, Bing, Z and Le Bars, D Convergence of heterotopic nociceptive information onto subnucleus reticularis dorsalis neurons in the rat medulla *J Neurophysiol* 60 980-1009, 1988
 - 15) Yokota, T, Koyama, N, Nishikawa, Y, Nishikawa, N, Nishida, Y, Hasegawa, A and Fujino, Y Trigeminal nociceptive neurons in the subnucleus reticularis ventralis I Response properties and afferent connections *Neurosci Res* 11 1-17, 1991
 - 16) Hu, J W Response properties of nociceptive and non-nociceptive neurons in the rat's trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) related to cutaneous and deep craniofacial afferent stimulation and modulation by diffuse noxious inhibitory controls *Pain* 41 331-345, 1990
 - 17) Raboisson, P, Bourdiol, P, Dallel, R, Clavelou, P and Woda, A Responses of trigeminal subnucleus oralis nociceptive neurones to subcutaneous formalin in the rat *Neurosci Lett* 125 179-182, 1991
 - 18) 村田純一郎, 松本範雄 ラットの三叉神経脊髄路核尾側核および網様垂核の侵害受容細胞に対する扁桃体条件刺激の抑制効果, 岩医大歯誌, 27 246-260 2002
 - 19) Dubner, R, Kenshalo, D R Jr, Maxner, W, Bushnell, M C and Oliveras, J L The correlations of monkey medullary dorsal horn neuronal activity and the perceived intensity of noxious heat stimuli *J Neurophysiol* 62 450-457, 1989
 - 20) Bushnell, M C, Duncan, G H, Dubner, R and He, L F Activity of trigemino-thalamic neurons in medullary dorsal horn of awake monkeys trained in a thermal discrimination task *J Neurophysiol* 52 170-187, 1984
 - 21) Coleman, K A, Baker, G E and Mitrofanis, J Topography of fibre organisation in the corticofugal pathways of rats *J Comp Neurol* 381 143-157, 1997
 - 22) Balagura, S and Ralph, T The analgesic effect of electrical stimulation of the diencephalon and mesencephalon *Brain Res* 60 369-379, 1973
 - 23) Yezierski, R P, Gerhart, K D, Schrock, B J and Willis, W D A further examination of effects of cortical stimulation on primate spinothalamic tract cells *J Neurophysiol* 49 424-441, 1983
 - 24) Antal, M Termination areas of corticobulbar and corticospinal fibres in the rat *J Hirnforsch* 25 647-659, 1984
 - 25) Desbois, C, Le Bars, D and Villanueva, L Organization of cortical projections to the medullary subnucleus reticularis dorsalis a retrograde and anterograde tracing study in the rat *J Comp Neurol* 410 178-196, 1999
 - 26) Dunn, R C Jr and Tolbert, D L The corticotrigeminal projection in the cat A study of the organization of cortical projections to the spinal trigeminal nucleus *Brain Res* 240 13-25, 1982
 - 27) Burke D, Hicks, R G and Stephen, J P H Corticospinal volleys evoked by anaodal and cathodal stimulation of the motor cortex *J Physiol* 425 283-299, 1990
 - 28) Namba, S and Nishimoto, A Stimulation of

- internal capsule, thalamic sensory nucleus (VPM) and cerebral cortex inhibited deafferentation hyperactivity provoked after Gasserian ganglionectomy in cat *Acta Neurochir (Suppl)* 42 243-247, 1988
- 29) Canavero, S and Bonicalzi, V Cortical stimulation for central pain *J Neurosurg* 83 1117, 1995
- 30) Herregodts, P, Stdnik, T, De Ridder, F and D'Haens, J Cortical stimulation for central neuropathic pain 3-D surface MRI for easy determination of the motor cortex *Acta Neurochir (Suppl)* 64 132-135, 1995
- 31) Ebel, H L, Rust, D, Tronnier, V, Boker, D and Kunze, S Chronic precentral stimulation in trigeminal neuropathic pain *Acta Neurochir* 138 1300-1306, 1996
- 32) Nguyen, J P, Keravel, Y, Feve, A, Uchiyama, T, Cesaro, P, Le Guernel, C and Pollin, B Treatment of deafferentation pain by chronic stimulation of the motor cortex report of a series of 20 cases *Acta Neurochir (Suppl)* 68 54-60, 1997
- 34) Dostrovsky, J O, Sessle, B J and Hu, J W Presynaptic excitability changes produced in brain stem endings of tooth pulp afferents by raphe and other central and peripheral influences *Brain Res* 218 141-160, 1981
- 35) Hu, J W, Dostrovsky, J O and Sessle, B J Primary afferent depolarisation of tooth pulp afferents is not affected by naloxone *Nature* 276 283-284, 1978
- 36) Yoshimura, M and Nishi, S Primary afferent-evoked glycine- and GABA- mediated IPSPs in substantia gelatinosa neurons in the rat spinal cord *in vitro J Physiol* 482 29-38, 1995