

氏名・(本籍)	陳 軍 (中国)
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 第248号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成9年3月24日
学位論文題目	Effects of subcutaneous formalin on responses of dorsal horn wide dynamic range neurons and primary afferent neurons in the cat (ネコの脊髄後角広作動域ニューロンと一次求心性ニューロンに及ぼすホルマリン皮下注射の効果)

審査委員	主査 教授	北 里 宏
	副査 教授	前 田 敏 博
	副査 教授	陣 内 皓之祐

## 論文内容の要旨

### 【目的】

ホルマリン皮下注射は持続痛のモデルとして、痛みの発生機序や鎮痛作用の研究に広く使われている。しかし、ホルマリンの組織損傷による侵害受容のメカニズムは、未だ十分に解明されていない。本研究ではネコの脊髄後角広作動域(WDR)ニューロンと一次求心性ニューロンがこのメカニズムにどのように関与するかを調べた。

### 【方法】

ウレタン・クロラロズ(3.5 ml/kg, i.v., ウレタン125 mg/ml、クロラロズ10 mg/ml)で麻酔したネコ(体重: 2.0~4.0 kg)を実験に使用した。白金双極刺激電極を浅腓骨神経(SP)と後脛骨神経(PT)に装着した。動物を脳定位固定装置に固定し、筋弛緩薬(臭化パンクロニウム2~4 mg/kg/h, i.v.)を投与した後、人工呼吸で管理した。呼気CO<sub>2</sub>を3.5~4.5%に、体温を37.5±0.5℃に維持した。2%ポンタミン スカイ ブルーを充填した硝子毛細管微小電極を用いて、第7腰髄後角から同側の後肢皮膚に末梢受容野を持ち、SP或いはPTの電気刺激に反応するWDRニューロンを検出した。末梢受容野の皮下に5%ホルマリン(0.1 ml)を注入し、それに対するWDRニューロンの反応を記録した。またNMDA受容体の拮抗薬MK-801(1mg/kg)あるいはケタミン(2.5 mg/kg)の全身前投与がホルマリン注射によるWDRニューロンの感受性亢進に影響を与えるかどうかを調べた。さらに、WDRニューロンの感受性亢進の持続が末梢からの求心性入力にどの程度依存しているかを調べるために、4%リドカイン(0.5 ml)を坐骨神経鞘内に注入し、末梢からのインパルスの遮断によりWDRニューロンの感受性亢進が変化するか否かを調べた。次に、第7腰髄後根神経節の一次ニューロンを検出し、一次求心性ニューロンを伝導速度によりAβ(>30 m/s)、Aδ(2~30 m/s)とC線維(<2 m/s)に分類した。さらに、末梢受容野への機械刺激に対する反応特性によって、侵害受容ニューロンと非侵害受容ニューロンに分類した。その後、それぞれのニューロンの末梢受容野へのホルマリン注射に対する反応を記録した。

### 【結果】

WDRニューロンに及ぼすホルマリン皮下注射の効果

脊髄後角の第IV~VI層から合計68個のWDRニューロンを検出し、ホルマリン皮下注射に対する反応を調べた。

1. WDRニューロンの末梢受容野の低閾値中心部(LTC)にホルマリンを注射すると(n=12)、1秒以内にスパイク発射数の増加が始まり、この増加は一時間以上続いた。
2. ホルマリンをWDRニューロンの末梢受容野の高閾値周辺部位(HTS)に注射すると(n=6)、スパイク発射数は増加したが、LTCへの注射群と比較すると、発射頻度は低く、持続時間は10分以

内であった。

3. WDRニューロンの末梢受容野のLTCにホルマリンを注射すると、注射以前のLTCへの機械刺激に対する反応が消失し、LTCが隣接部位に移動した。注射5分後から、末梢受容野全体の面積の拡大が始まり、15分後にピークに達し、約1時間を費やして、元のレベルに戻った。末梢受容野面積の拡大の最大値はホルマリン注射前の $162.95 \pm 13.87\%$  (n=5)であった。HTSにホルマリンを注射した場合は、末梢受容野の拡大は見られなかった(n=2)。
4. NMDA受容体の拮抗薬MK-801あるいはケタミンの全身投与後に、ホルマリンを注射するとWDRニューロンのスパイク発射数の増加は、非薬物投与群と比べて、 $73.42 \pm 1.38\%$  (n=9)あるいは $51.61 \pm 2.52\%$  (n=6)抑制され、末梢受容野の拡大は見られなかった(n=7)。
5. SPあるいはPTのC-線維電気刺激に対するWDRニューロンの反応はLTCへのホルマリン注射に増強されなかった(n=11)。
6. 末梢受容野のLTCへのホルマリン注射5分後、リドカインを坐骨神経鞘内に注入するとスパイク発射数は $1.35 \pm 0.18\%$  (n=5)に抑制された。この発射数はホルマリン注射前のレベルよりも低く、その $9.80 \pm 1.31\%$  (n=5)であった。

一次求心性ニューロンに及ぼすホルマリン皮下注射の効果

検出された74個の後根神経節一次求心性ニューロンは侵害受容ニューロンと非侵害受容ニューロンに分類された。非侵害受容ニューロンはA $\beta$ 毛包受容器を持つニューロン(n=17),速順応動き受容器を持つニューロン(n=3),I型遅順応動き受容器を持つニューロン(n=20),II型遅順応動き受容器を持つニューロン(n=3),A $\delta$ 綿毛毛包受容器を持つニューロン(n=12)およびC-低閾値機械受容ニューロン(n=7)であった。侵害受容ニューロンはA $\delta$ 高閾値機械受容ニューロン(n=12)であった。非侵害受容ニューロンの末梢受容野へのホルマリン注射によるスパイク発射数の増加は1~10分以内に消失したが、侵害受容ニューロンのスパイク発射数の増加は30~70分以上続いた。

#### 【考察と結論】

1. 末梢受容野LTCへのホルマリン注入によるスパイク発射数の持続的増加に伴って、WDRニューロンの侵害受容性末梢受容野が拡大し、WDRニューロンの侵害性刺激に対する反応の亢進が示された。
2. NMDA受容体はホルマリンによるWDRニューロンの反応性亢進に関与することが示唆された。
3. ホルマリンによるWDRニューロンの持続的興奮が末梢求心性入力によって維持されることが示された。
4. ホルマリンの皮下注入によるWDRニューロンのスパイク発射数の増加は非侵害受容線維の一過性の興奮と侵害受容線維の持続的な興奮に起因する可能性が示された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究はホルマリン皮下注入がもたらす持続痛発生の神経機構をネコの脊髄後角広作動域(WDR)ニューロンおよび一次求心性ニューロンの活動を指標にして調べた研究の報告である。得られた主要知見は次の通りである。

1. ネコにおいてもホルマリン皮下注入後、脊髄後角にあるWDRニューロンのスパイク発射頻度が上昇した。しかし、ラットについての報告とは異なり、ネコにおけるスパイク発射頻度上昇反応は単相性であった。
2. ホルマリン皮下注入後、WDRニューロンの末梢受容野が拡大した。
3. ホルマリン皮下注入により誘発されるWDRニューロンのスパイク発射頻度の上昇はNMDA受容体拮抗剤であるMK-801およびケタミンによって抑制され、また末梢受容野の拡大もMK-801によって抑制された。
4. ホルマリン注入後に認められるスパイク発射亢進はリドカインを用いて坐骨神経を遮断することにより抑制された。

5. 脊髄後根神経節のニューロン活動を記録し、非侵害受容一次求心性線維はホルマリンの皮下注入に反応して一過性に興奮すること、これに対して、侵害受容一次求心性線維は持続的にスパイクを発射することを確認した。

この研究は、ホルマリン皮下注入時、脊髄後角WDRニューロンへの末梢受容野からのシナプス入力の大部分がNMDA受容体を介するものであり、ホルマリン皮下注入によりもたらされる持続痛が末梢部位からの持続的なスパイク入力の増強および脊髄後角ニューロンの閾値低下に起因するものであることを明らかにしたものである。この点において本研究は博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められた。