
原 著

脊髄後角におけるオピオイドの選択的痛覚抑制

新潟大学医学部麻酔学教室（主任：下地恒毅教授）

河野達郎

Selective Inhibitory Action of Opioids on Excitatory Transmission
in the Rat Spinal Dorsal Horn

Tatsuro KOHNO

*Department of Anesthesiology,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Koki SHIMOJI)*

Whole cell patch clamp recordings were made from substantia gelatinosa (SG) neurons in adult rat spinal cord slices to study the presynaptic mechanisms of opioid agonists on primary afferent transmission. Both μ receptor agonist (DAMGO, $1\mu\text{M}$) and δ receptor agonist (DPDPE, $1\mu\text{M}$) inhibited the amplitude of A δ afferent fiber-evoked excitatory postsynaptic currents (EPSCs) by 27% and 17%, respectively. DAMGO and DPDPE also suppressed the frequency of miniature EPSCs by 61% and 23%, respectively, without affecting amplitude distributions. The κ receptor agonist (U-69593, $1\mu\text{M}$), however, had little effect on both the evoked and miniature EPSCs. Neither DAMGO nor DPDPE affected the amplitude of postsynaptic currents produced by AMPA, suggesting a presynaptic site of action of these opioid receptor agonists. Evoked and miniature inhibitory postsynaptic currents (IPSCs) mediated by GABA_A or glycine receptor were not significantly affected by μ , δ and κ receptor agonists. These observations suggest that opioids, particularly through μ and δ receptors, predominantly suppress excitatory synaptic transmission by reducing glutamate release from primary afferent terminals. This presynaptic modulation of the sensory transmission might be a

Reprint requests to: Tatsuro KOHNO,
Department of Anesthesiology,
Niigata University School of Medicine
Niigata, 951-8510 JAPAN

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部麻酔学教室 河野達郎
E-mail address: tkohno@med.niigata-u.ac.jp

possible mechanism for antinociceptive effects produced by the intrathecal administration of opioid agonists.

Key words: substantia gelatinosa, opioid receptor, presynaptic inhibition, antinociception, spinal cord, EPSC, IPSC

オピオイド, 脊髄痛覚抑制, ホールセルパッチクランプ法

緒 言

脊髄クモ膜下腔に投与したオピオイドが著明な鎮痛作用を持つことは、臨床的¹⁾²⁾に、また実験動物を用いた研究³⁾でも明らかにされている。しかし、脊髄内における作用部位やその作用機序および関与するサブタイプは未だ明らかではない。ところで、*in vivo* 標本を用いた実験では、脊髄後角第II層、いわゆる膠様質がオピオイドの主たる作用部位であることを示唆する結果が得られている⁴⁾。すなわち、膠様質へのオピオイドの投与は、痛覚応答のみを選択的に抑制するが、その他の後角内への投与は、痛覚のみならず非侵害性の応答も抑制するという結果である。生体内モルヒネ様鎮痛物質であるエンケファリン、ダイノルフィンが脊髄後角、特に膠様質細胞に高濃度に含まれ⁵⁾⁶⁾、また、この部位にはオピオイド受容体も豊富に発現している⁷⁾⁻¹⁰⁾。さらに、膠様質は末梢から侵害情報を伝える A δ 線維と C 線維の入力を受け、それらを統合して投射ニューロンの出力を制御するなど、痛みの伝達に重要な役割を果たしていると考えられている¹⁸⁾³³⁾。以上の所見は、膠様質細胞が麻薬性鎮痛物質の主たる作用部位である可能性を示唆する。また、受容体分布様式からオピオイドの作用にはシナプス前性およびシナプス後性の両者が関与していると思われる。シナプス後性にはカリウムイオン透過性亢進による過分極がその主たる抑制機序と考えられている¹¹⁾¹²⁾。一方、末梢神経切断によって、オピオイド受容体が減少する⁷⁾⁹⁾¹³⁾ ことから、オピオイドはシナプス前性にも痛覚伝達を抑制していることが示唆される。このことは、後根神経節を用いた間接的な実験から支持されている。それは、オピオイドが後根神経節細胞のカルシウム電流を抑制するという知見である¹⁴⁾⁻¹⁶⁾。しかし、後根神経節細胞体に発現したオピオイド受容体はその細胞の脊髄内終末に存在する受容体と同様の機能を持っているか否かは未だ明らかではない。

そこで、本研究は成熟ラット脊髄の横断スライスに後根を付した標本を作製し、膠様質細胞で観察されるシナプス応答に対するオピオイド作用薬の作用をホールセル

パッチクランプ法を用いて記録し、膠様質細胞と A δ 線維シナプス間におけるオピオイドのシナプス前抑制機序と、それに関与するオピオイド受容体サブタイプを明らかにする。さらに抑制性シナプス入力に対するオピオイドの作用を興奮性シナプス応答と比較検討する。

方 法

1) 脊髄スライス標本の作製

成熟ラット脊髄の横断スライス標本の作製は、Yoshimura ら¹⁷⁾の方法に従って行った。体重 150 ~ 250 g (週齢 6 ~ 10週) の Sprague-Dawley 系成熟雄ラットからウレタン麻酔下 (1.2 g/kg 腹腔内投与) に腰部脊髄を摘出し、酸素負荷した冷却クレブス液に浸した。硬膜の除去後、一側の L4 または L5 後根を除く他の後根及び前根を全て切除し、温存した L4 または L5 後根の近傍は残して他の部位のクモ膜と軟膜を除去した。この脊髄を寒天ブロックに設けた溝に置いた後、寒天ブロックとともにマイクロスライサー (堂阪イーエム) に設置し、厚さ約 600 μ m の後根を付した脊髄スライス標本を作製した。このスライス標本を記録用チェンバーに移して、36°C に加温したクレブス液で灌流した (15ml/min)。

2) 細胞内記録及び電気刺激

横断スライス下部からの透過光で観察すると、膠様質は後角に位置する明るい細胞帯として容易に視認できた。その膠様質細胞から、先端電極抵抗 5 ~ 12 M Ω のパッチ電極を用いて、実体顕微鏡下にホールセルパッチクランプ記録を行った¹⁷⁾¹⁸⁾。ガラス電極内液の組成は、Cs-sulfate 110, CaCl₂ 0.5, MgCl₂ 1.2, EGTA 5, HEPES 5, TEA 5, ATP 5, GDP- β -S 1 (mM) とした。得られた応答は、パッチクランプ用増幅器, Axopatch 200 B (Axon Instruments) により増幅し、コンピューターに記録後、データ解析用ソフトウェア, pCLAMP 6, Axo-Graph (Axon Instruments) を用いて解析した。膠様質細胞におけるシナプス応答を誘起するため、後根を吸引電極に装置した。また、脊髄後角内の局所刺激は単極性電極を用いて行った。後根誘起のシナプ

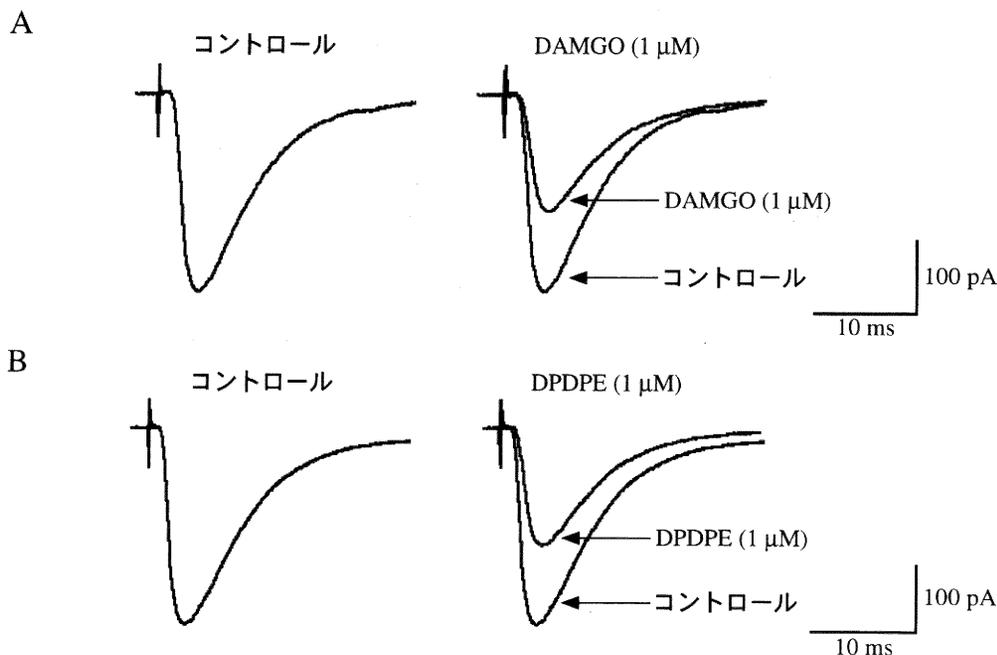


図1 A δ 線維誘起 EPSC に対する μ , δ 受容体作動薬の作用

- A. μ 受容体作動薬 (DAMGO 1 μ M) の灌流投与前, 投与中の誘起 EPSC を示す. DAMGO の投与により, EPSC の振幅は減少した.
- B. δ 受容体作動薬 (DPDPE 1 μ M) の灌流投与前, 投与中の誘起 EPSC を示す. DPDPE の投与により, EPSC の振幅は減少した.
- 各々の記録は10回の刺激によって誘起された EPSC を加算平均したものである.

ス応答が単シナプス性か否かの同定は, 刺激からの潜時が短い (2.1 ms 以内) ことと後根の高頻度 (20Hz) 刺激にも, 潜時が一定でかつすべての刺激に反応するものを単シナプス性 EPSC とした. 一方, 多シナプス性 EPSC はその潜時が長く (2.5 ms 以上), また潜時が一定していないこと, さらに高頻度刺激時には潜時が延長し, 時に脱落がみられた. すべてのデータは mean \pm S.E. で表した.

結 果

47匹のラットより摘出した脊髄横断スライス標本を用い, 187 個の膠様質細胞から記録を行った. 記録したすべての細胞で自発性の興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current: EPSC), 抑制性シナプス後電流 (inhibitory postsynaptic current: IPSC) の両方が観察された. これまでの結果から, EPSC はグルタミン酸が伝達物質で, AMPA 受容体を介して発生していると考えられ, また, 吉村ら¹⁷⁾ が報告したよ

うに, IPSC にはグリシン受容体を介する速い経過の IPSC (fast IPSC) と GABA_A 受容体を介する比較的緩徐な IPSC (slow IPSC) の2種類が観察された.

1) A δ 線維誘起 EPSC に対するオピオイドの作用
膜電位を静止膜電位近く (約 -70mV) に固定し, オピオイド作動薬を灌流投与すると約50%の細胞で外向き電流が誘起された. この外向き電流は, 作動薬の投与毎に著明に減少し, 10分以内にはほぼ全ての細胞で消失した. しかし, 自発性の EPSC や IPSC およびグルタミン酸投与による応答は, 数時間にわたって安定した記録がとれた. この外向き電流は, 電極内にカリウムチャンネルブロッカー (Cs や TEA など) や G タンパクの作用を抑える GDP- β -S が含まれていないときには, 1時間以上にわたって観察された. この結果は, オピオイド誘起応答が G タンパクを介し, カリウムチャンネルコンダクタンス上昇によって発生すると言う従来の結果と一致する. そこで, シナプス後作用を除外するため, 全ての実験はホールセル記録完成後少なくとも10分後で,

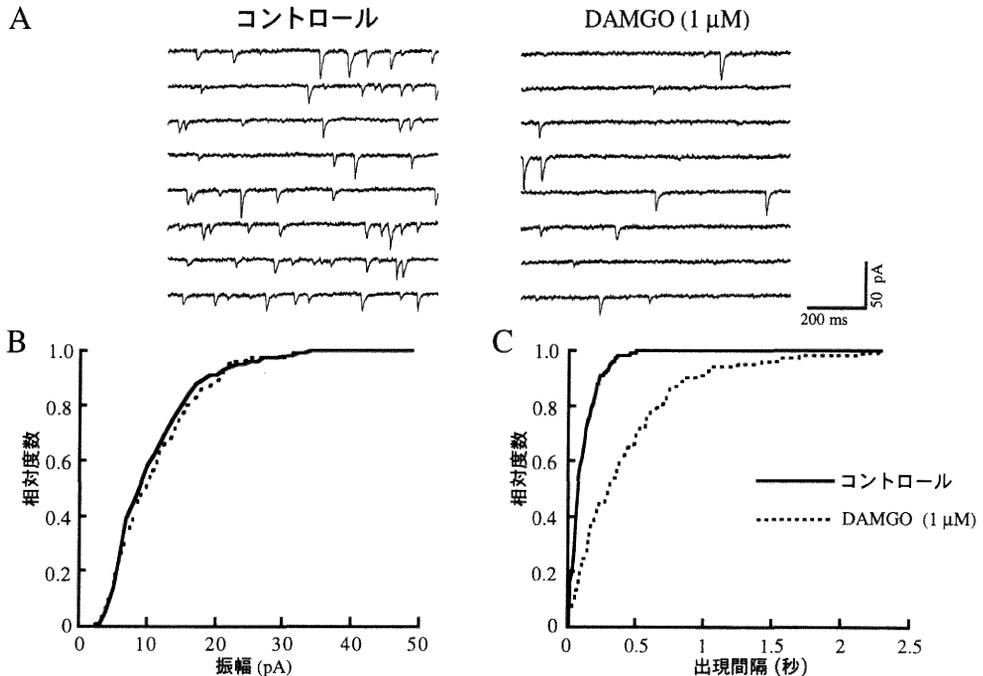


図2 TTX, bicuculline, strychnine 存在下で記録された mEPSC に対する μ 受容体作動薬の作用
 A. DAMGO の灌流投与前, 投与中の mEPSC を示す. DAMGO の投与により, mEPSC の頻度は減少した.
 B. mEPSC の振幅分布は, DAMGO により影響を受けなかった ($P > 0.5$, Kolmogorov-Smirnov の検定).
 C. mEPSC の発生頻度分布は, DAMGO によって著明にその頻度が減少した ($P < 0.01$, Kolmogorov-Smirnov の検定).

かつオピオイド作動薬でまったく外向き電流が記録されないことを確認した後に行なった。

GABA_A 受容体拮抗薬の bicuculline (20 μ M), グリシン受容体拮抗薬の strychnine (2 μ M) 存在下で, 速い痛みを伝える A δ 線維誘起の単シナプス性 EPSC に対するオピオイド作動薬の作用を観察した. EPSC の振幅は 223 ± 16 pA で, μ 受容体作動薬 (DAMGO, 1 μ M) の灌流投与によって, EPSC の振幅は $73 \pm 4\%$ に減少した ($P < 0.01$, t 検定, $n=19$, 図 1A). 同様に, δ 受容体作動薬 (DPDPE, 1 μ M) も, EPSC の振幅を $83 \pm 4\%$ に減少させた ($P < 0.01$, t 検定, $n=17$, 図 1B). しかし, κ 受容体作動薬 (U-69593, 1 μ M) は EPSC の振幅を有意に変化させなかった. この μ , δ 受容体作動薬による振幅の減少作用が, シナプス後性のグルタミン酸受容体感受性の変化によるものではないことを明らかにするため, グルタミン酸の non

-NMDA 受容体作動薬である α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA, 10 μ M) 誘起電流に対する μ 及び δ 受容体作動薬の影響を調べた. AMPA 電流はいずれの作動薬によっても明らかな影響を受けなかったことから, EPSC の振幅の減少作用は, シナプス前性の μ , δ 受容体を介して起きているものと考えられる.

2) miniature EPSC に対するオピオイドの作用

Tetrodotoxin (TTX) および bicuculline と strychnine 存在下で, シナプス前終末からのグルタミン酸の自発性放出によって生じる微小興奮性シナプス後電流 (miniature EPSC: mEPSC) に対する作用を観察した. μ 受容体作動薬 (DAMGO, 1 μ M) の灌流投与は, mEPSC の頻度を減少させたが, 振幅には影響を与えなかった (図 2). 同様に, δ 受容体作動薬 (DPDPE, 1 μ M) も, mEPSC の振幅に影響を与え

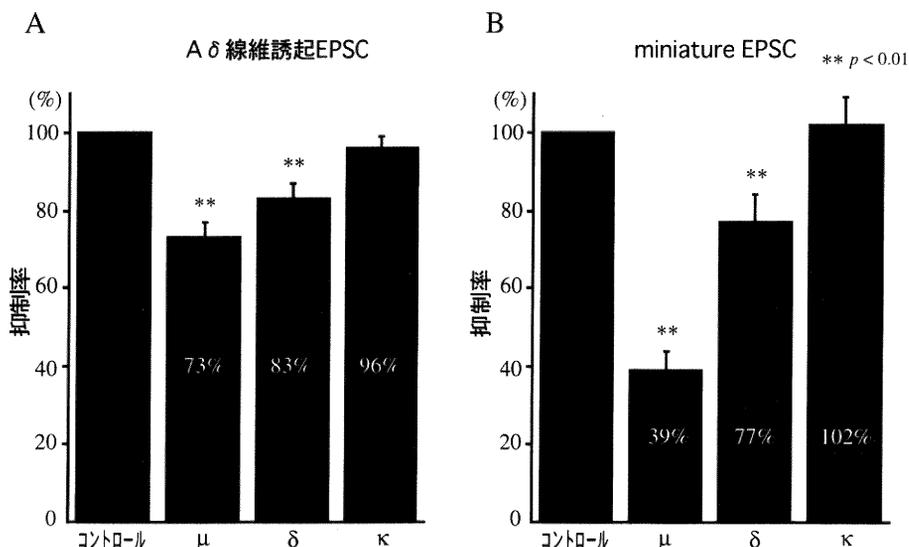


図3 μ , δ , κ 受容体作動薬による A δ 線維誘起 EPSC の振幅, 及び mEPSC の頻度に対する抑制率の比較

A. μ , δ 受容体作動薬は EPSC の振幅を, それぞれ, コントロールに比して, $73 \pm 4\%$, $83 \pm 4\%$ 減少させた ($n=19, 17$, $**$: $P < 0.01$, t 検定). しかし, κ 受容体作動薬は著明な作用を示さなかった.

B. μ , δ 受容体作動薬は mEPSC の発生頻度を, それぞれ, コントロールに比して, $39 \pm 5\%$, $77 \pm 7\%$ 減少させた ($n=17, 12$, $**$: $P < 0.01$, t 検定).

ずに, 頻度だけを減少させた (図は省略). しかし, κ 受容体作動薬 (U-69593, $1 \mu\text{M}$) は mEPSC の振幅, 頻度ともに影響を与えなかった. 以上のデータから得られた A δ 線維誘起 EPSC と mEPSC に対する μ および δ 受容体作動薬の抑制率をグラフに示す (図 3).

3) 誘起 IPSC に対するオピオイドの作用

次に, 膜電位を 0 mV に固定し, グルタミン酸の NMDA 受容体拮抗薬の DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid (AP-5, $50 \mu\text{M}$), non-NMDA 受容体拮抗薬の 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX, $10 \mu\text{M}$) 存在下に, 局所刺激によって誘起される単シナプス性 IPSC に対する作用を観察した. グリシンおよび GABA 仲介の IPSC を bicuculline または strychnine を用いて単離し, それぞれの IPSC に対する作用を検索した. Bicuculline ($20 \mu\text{M}$) 存在下に誘起されるグリシン仲介の IPSC はその振幅が $109 \pm 12 \text{ pA}$ で, その half decay time は $6.5 \pm 0.4 \text{ ms}$ であった. この IPSC に μ 受容体作動薬 (DAMGO, $1 \mu\text{M}$) を灌流投与すると, その振幅はコントロールに比して 98

$\pm 2\%$ に減少する傾向を示したが, その抑制率には有意な差が認められなかった ($P > 0.05$, t 検定, $n=7$, 図 4A). 一方, strychnine ($2 \mu\text{M}$) 存在下に観察された GABA_A 受容体を介する IPSC は, その振幅が $130 \pm 11 \text{ pA}$ で, その half decay time は $19.3 \pm 3.4 \text{ ms}$ で, グリシン誘起の IPSC より有意に緩徐な時間経過を示した. GABA 作動性 IPSC に対しても同様に μ 受容体作動薬の作用はコントロールに比して $95 \pm 4\%$ と減少したが有意差は認められなかった ($P > 0.05$, t 検定, $n=9$, 図 4B). δ , κ 受容体作動薬も同様にグリシン, GABA_A によって仲介される IPSC に対しては, 有意な作用を示さなかった.

4) miniature IPSC に対するオピオイドの作用

次に, TTX, AP-5, CNQX 存在下に, bicuculline または strychnine を投与し, グリシンまたは GABA の自発性放出によって生じる微小抑制性シナプス後電流 (mIPSC) に対する作用を観察した. グリシン誘起の mIPSC は, その振幅が $14.8 \pm 1.7 \text{ pA}$ で, その発現頻度は $2.3 \pm 0.3 \text{ Hz}$ であった. μ 受容体作動薬 (DAMGO, $1 \mu\text{M}$) の灌流投与は, グリシン作動性 mIPSC の振幅,

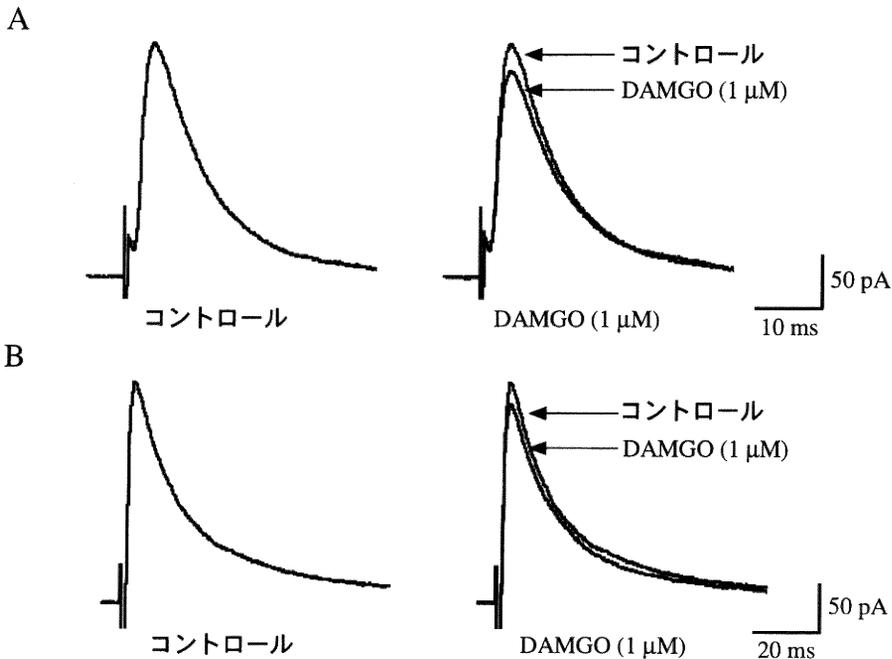


図4 グリシンおよび GABA 誘起 IPSC に対する μ 受容体作動薬の作用

A. DAMGO の灌流投与前, 投与中のグリシン誘起 IPSC を示す. DAMGO の投与により, IPSC の振幅には有意な変化が認められなかった.

B. DAMGO の灌流投与前, 投与中の GABA 誘起 IPSC を示す. DAMGO の投与により, IPSC の振幅は変化しなかった.

各々の IPSC は, 10回加算平均して得られたものである.

頻度に影響を与えなかった (図は省略). また, GABA 誘起の mIPSC はその振幅が 13.4 ± 0.9 pA で, その発現頻度は 3.0 ± 0.5 Hz であった. GABA 誘起 mIPSC に対しても μ 受容体作動薬は, その振幅および頻度に有意な影響を与えなかった (図 5). また, μ 受容体作動薬と同様に δ , κ 受容体作動薬もいずれの mIPSC の振幅, 頻度にも影響を与えなかった.

考 察

脊髓スライス標本を用いて, 膠様質細胞と一次求心性線維シナプスにおけるオピオイドによるシナプス前抑制機序をホールセルパッチクランプ法を用いて解析した. μ , δ 受容体作動薬は膠様質細胞で観察される A δ 線維誘起 EPSC の振幅および mEPSC の発生頻度を減少させたが, IPSC の振幅, 頻度には影響を与えなかった. 以下, 個々の得られたデータについて考察する.

1) オピオイドの作用部位と機序

オピオイドは中枢神経の種々な部位でシナプス前性およびシナプス後性にシナプス伝達を抑制することがよく知られている. そのシナプス前性の作用機序として, 主に次の2つの機序が考えられている. 1つは, 電位依存性カルシウム電流を減少させる事によって, シナプス終末からの伝達物質の放出を抑制する機序である. 他の1つは, カリウムコンダクタンス上昇によって間接的に終末部でのカルシウム流入を減少させシナプス伝達を抑制する機序である¹⁹⁾. オピオイドが著明な鎮痛作用を持つことから, 一次求心性線維終末における伝達物質放出に対するその作用が調べられてきたが, 電気生理学的には一次求心性神経の終末から直接記録することは困難であるため, 後根神経節細胞体を用いた解析が主である¹⁴⁾⁻¹⁶⁾. そこでは, カルシウムチャネルに対する直接作用とカリウムコンダクタンス上昇に起因するカルシウム電流の抑制が観察されており, 終末部においても両者

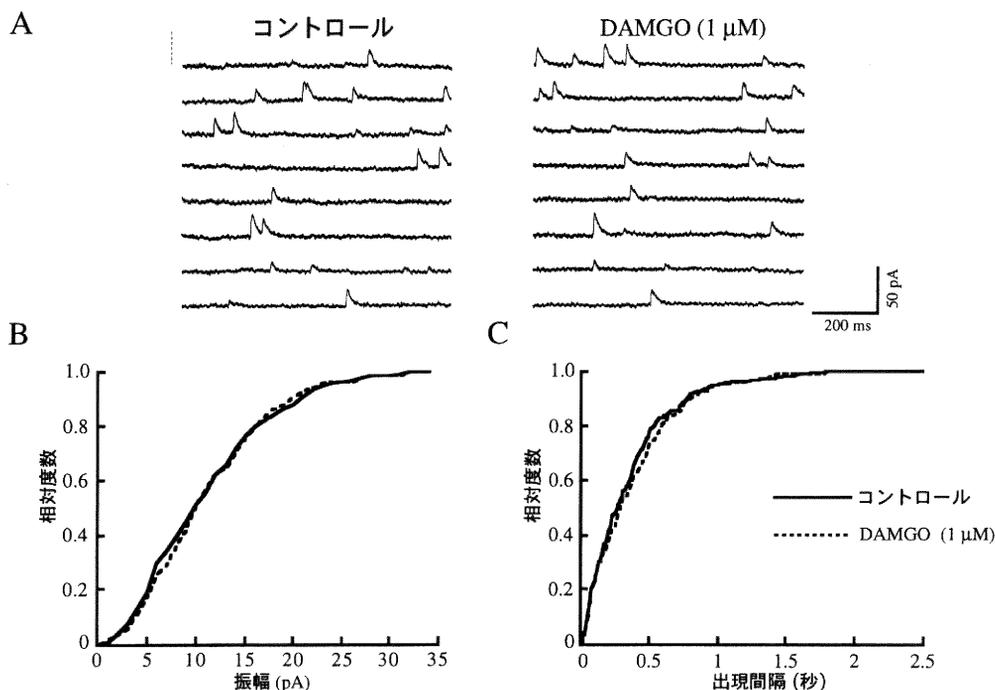


図5 TTX, AP-5, CNQX, strychnine 存在下で記録された GABA 誘起 mIPSC に対する μ 受容体作動薬の作用

- A. DAMGO の灌流投与前, 投与中の mIPSC を示す. DAMGO の投与により, mIPSC の頻度およびその振幅は変化しなかった.
- B. mIPSC の振幅分布は, DAMGO により影響を受けなかった ($P > 0.5$, Kolmogorov-Smirnov の検定).
- C. mIPSC の発生頻度分布は, DAMGO により影響を受けなかった ($P > 0.4$, Kolmogorov-Smirnov の検定).

の機序が関与している可能性がある。しかし、オピオイド受容体の発現がその細胞体と軸索終末では異なる可能性があることや、電位依存性のチャネルの発現もその細胞の部位によって差があることが報告されており、細胞体で得られた結果をそのまま終末からの伝達物質放出機序に適用する事は慎重である必要がある。本研究で得られた結果からは、上記2種類の機序のうちいずれが主として関与しているかは明かではない。今後、カリウムチャネルやカルシウムチャネル遮断薬を用いた検索が必要である。しかし、いずれにしても、末梢神経切断によって脊髄後角浅層（第I層と膠様質を含む）におけるオピオイド受容体が40-70%減少し⁷⁾⁹⁾¹³⁾、このオピオイド受容体の減少が、細い一次求心性線維の脱落と相関することから²¹⁾、オピオイド受容体の多くは痛覚を伝える細

い一次求心性線維の終末に存在する事が示唆される。この結果は、本研究で観察した A δ 線維刺激によって誘起されるシナプス応答がオピオイド作動薬によって抑制される結果ともよく一致する。今後は、A δ 線維のみでなく非限局性の持続する痛みを伝える C 線維終末における伝達物質放出に対する作用を調べることが必要であろう。また、オピオイドはシナプス前終末に作用するのみでなく膠様質細胞に直接働き、カリウムイオン透過性亢進による細胞の過分極を引き起こす¹¹⁾¹²⁾。以上のことから、オピオイド作動薬による鎮痛作用は、シナプス前およびシナプス後受容体に作用することによって引き起こされているものと考えられる。しかし、脊髄内で放出された内因性オピオイドがシナプス前またはシナプス後受容体に働いているかは、内因性オピオイド誘起の応

表 1 μ , δ , κ 受容体作動薬によって抑制された細胞の割合

	μ	δ	κ
A δ 線維誘起 EPSC	18/19 (95%)	12/17 (71%)	5/16 (31%)
miniature EPSC	17/17 (100%)	9/12 (75%)	2/9 (22%)

μ 受容体作動薬は, A δ 線維誘起 EPSC の振幅, 及び mEPSC の頻度に対し, ほとんどすべての細胞 (90%以上) を, また, δ 受容体作動薬は70%以上の細胞を抑制した. しかし, κ 受容体作動薬は31%以下の細胞でわずかな抑制がみられただけであった. 5%以上抑制したものを抑制細胞とした.

答が未だ明らかでないため不明である.

2) μ , δ 受容体によるグルタミン酸の素量放出の抑制

本研究において, μ , δ 受容体作動薬はグルタミン酸による誘起 EPSC の振幅を減少し, また, mEPSC の振幅は変えずに, 発生頻度だけを減少させた. さらに, これらの作動薬は AMPA 誘起電流の振幅を変化させなかった. 以上の結果から, これらの抑制作用はシナプス後性ではなく, シナプス前性の受容体を介して起こった作用であるといえる. 同様の作用が, 痛覚に関連する中脳中心灰白質²²⁾ や脊髄後角浅層²³⁾ 24) においても報告されている.

ところで, 図 3 に示したように, 誘起 EPSC と mEPSC に対する μ 受容体作動薬の抑制率には明かな差が認められた. この説明として次の2つの可能性が考えられる. 1つは, mEPSC の誘起が A δ 線維終末からの自発性放出のみでなく, 介在ニューロンからの放出も大きく関与していることを考えると, 介在ニューロン終末にはより多くの μ 受容体が発現していることを仮定すれば説明出来る. 他の1つは, 誘起 EPSC と自発性 EPSC の伝達物質放出の過程が一部異なり, その部分にオピオイドが作用している可能性である. 今後, 後根切断によって A δ 線維終末を脱落させたとき, すなわち介在ニューロンからの入力だけにしたとき, μ 受容体作動薬による抑制率が異なるか否かを調べてみる必要がある.

本研究の結果から, 興奮性シナプス伝達に対するシナプス前抑制作用は, μ 受容体作動薬が最も強く, 次いで δ 受容体作動薬であり, κ 受容体作動薬は抑制作用をほとんど示さなかった. さらに, それぞれの作動薬によって抑制された細胞の割合も $\mu > \delta > \kappa$ の順であった (表 1). これらの結果はオピオイドを脊髄クモ膜下腔に投与して得られる鎮痛効果が $\mu > \delta > \kappa$ の順であるという報告^{25)–27)} と一致している. また, 脊髄後角の受容体分布は, μ 受容体が最も多く (70%以上), δ 受容体

(23%以下), κ 受容体 (7%以下) の順である⁷⁾²⁸⁾. この受容体の分布密度の相違が鎮痛効果の差を生じているとも考えられる.

3) グリシンおよび GABA 誘起シナプス応答に対する μ , δ , κ 受容体の作用

グリシンおよび GABA で仲介される IPSC が後根 A δ 線維刺激によって誘起され, それは抑制性介在ニューロン一個を介して発生する多シナプス性応答であることが既に報告されている²⁹⁾. これらの抑制性シナプス応答はほとんどの膠様質細胞で観察されることから, グリシンによる fast IPSC と GABA による slow IPSC は膠様質における痛覚伝達の制御に重要な役割を果たしていると考えられる. 事実, グリシンあるいは GABA_A 受容体拮抗薬の投与時には, 一次求心性線維の単一刺激によって膠様質細胞に単シナプス性 EPSC に加えて, 重畳する多数の多シナプス性 EPSC が持続するのが観察されている³⁰⁾. しかし, 本研究において, μ , δ , κ 受容体作動薬のいずれも, グリシンや GABA 作動性誘起 IPSC および mIPSC に対して有意な影響を及ぼさなかった. この結果は, μ 受容体は, 脊髄後角浅層の GABA やグリシンを含有していない細胞に主に発現しているという報告³¹⁾ と一致する.

4) 機能的意義

膠様質は形態学的に大きく膠様質外層に存在する stalk 細胞と内層に存在する islet 細胞の2種類に分類される. そのうち stalk 細胞は興奮性, islet 細胞は抑制性の介在ニューロンと一般に考えられている. 免疫学的にもグルタミン酸含有細胞, GABA, グリシン, 及びエンケファリンなど興奮性と抑制性伝達物質を含む細胞が観察され, またその受容体も多く存在していることが報告されている³²⁾. また, 膠様質は末梢より多くの痛覚伝達に関与する A δ および C 線維入力を受けている¹⁸⁾³³⁾. 一方, 膠様質からの出力は細胞が微小であるため形態的にとらえることは困難であるが, 膠様質に局限しているものと I 層に投射するものが報告されている.

以上の結果から、膠様質細胞は末梢からの痛覚情報と非侵害性感覚情報を受け、それらを統合して投射ニューロンの出力をコントロールしている可能性が考えられる。

本実験で示したように、オピオイドの作用は受容体によって異なり、また選択的に興奮性入力のみを抑制し、抑制性入力には有意な作用を示さなかった。これらの結果は、*in vivo* の実験系で示された膠様質へのモルフィンの投与による、選択的痛覚抑制の発生機序に関与しているものと考えられる。今のところ、オピオイドの脊髄クモ膜下腔投与による鎮痛効果が、今回観察した膠様質における興奮性入力の抑制によるものか否かは明かではない。今後、I層細胞におけるオピオイドの作用も同様に明らかにしていく必要がある。

稿を終えるにあたり、御指導・御校閲を賜りました新潟大学医学部麻酔学教室 下地恒毅教授、佐賀医科大学生理学講座 吉村 恵教授に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) Cousins, M.J. and Mather, L.E.: Intrathecal and epidural administration of opioids. *Anesthesiology*, **61**: 276-310, 1984.
- 2) Onofrio, B.M. and Yaksh, T.L.: Long-term pain relief produced by intrathecal morphine infusion in 53 patients. *J. Neurosurg.*, **72**: 200-209, 1990.
- 3) Yaksh, T.L. and Rudy, T.A.: Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics. *Science*, **192**: 1357-1358, 1976.
- 4) Duggan, A.W., Hall, J.G. and Headley, P.M.: Suppression of transmission of nociceptive impulses by morphine: selective effects of morphine administered in the region of the substantia gelatinosa. *Br. J. Pharmacol.*, **61**: 65-76, 1977.
- 5) Hunt, S.P., Kelly, J.S., and Emson, P.C.: The electron microscopic localization of methionine-enkephalin within the superficial layers (I and II) of the spinal cord. *Neuroscience*, **5**: 1871-1890, 1980.
- 6) Merchenthaler, I., Maderdrut, J.L., Altschuler, R.A. and Petrusz, P.: Immunocytochemical localization of proenkephalin-derived peptides in the central nervous system of the rat. *Neuroscience*, **17**: 325-348, 1986.
- 7) Besse, D., Lombard, M.C., Zajac, J.M., Roques, B.P. and Besson, J.M.: Pre- and postsynaptic distribution of mu, delta and kappa opioid receptors in the superficial layers of the cervical dorsal horn of the rat spinal cord. *Brain Res.*, **521**: 15-22, 1990.
- 8) Faull, R.L. and Villiger, J.W.: Opiate receptors in the human spinal cord: a detailed anatomical study comparing the autoradiographic localization of [³H] diprenorphine binding sites with the laminar pattern of substance P, myelin and nissl staining. *Neuroscience*, **20**: 395-407, 1987.
- 9) Gouarderes, C., Beaudet, A., Zajac, J.M., Cros, J. and Quirion, R.: High resolution radioautographic localization of [¹²⁵I]FK-33-824-labelled mu opioid receptors in the spinal cord of normal and deafferented rats. *Neuroscience*, **43**: 197-209, 1991.
- 10) Mansour, A., Fox, C.A., Akil, H. and Watson, S.J.: Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci.*, **18**: 22-29, 1995.
- 11) Yoshimura, M. and North, R.A.: Substantia gelatinosa neurones hyperpolarized *in vitro* by enkephalin. *Nature*, **305**: 529-530, 1983.
- 12) Grudt, T.J. and Williams, J.T.: kappa-Opioid receptors also increase potassium conductance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **90**: 11429-11432, 1993.
- 13) Ninkovic, M., Hunt, S.P. and Kelly, J.S.: Effect of dorsal rhizotomy on the autoradiographic distribution of opiate and neurotensin receptors and neurotensin-like immunoreactivity within the rat spinal cord. *Brain Res.*, **230**: 111-119, 1981.
- 14) Macdonald, R.L. and Werz, M.A.: Dynorphin A decreases voltage-dependent calcium conductance of mouse dorsal root ganglion neurones. *J. Physiol.*, **377**: 237-249, 1986.
- 15) Bean, B.P.: Neurotransmitter inhibition of neuronal calcium currents by changes in channel voltage dependence. *Nature*, **340**: 153-156, 1989.
- 16) Schroeder, J.E., Fischbach, P.S. Zheng, D. and McCleskey, E.W.: Activation of mu opioid receptors inhibits transient high- and low-threshold Ca²⁺ currents, but spares a sustained current. *Neuron*, **6**: 13-20, 1991.

- 17) Yoshimura, M. and Nishi, S.: Blind patch-clamp recordings from substantia gelatinosa neurons in adult rat spinal cord slices: pharmacological properties of synaptic currents. *Neuroscience*, **53**: 519-526, 1993.
 - 18) Yoshimura, M. and Jessell, T.M.: Primary afferent-evoked synaptic responses and slow potential generation in rat substantia gelatinosa neurons in vitro. *J. Neurophysiol.*, **62**: 96-108, 1989.
 - 19) North, R.A.: Handbook of experimental pharmacology, **104**: 773-797, Springer, Berlin, 1993.
 - 20) Sah, D.W.: Neurotransmitter modulation of calcium current in rat spinal cord neurons. *J. Neurosci.*, **10**: 136-141, 1990.
 - 21) Coggeshall, R.E. and Carlton, S.M.: Receptor localization in the mammalian dorsal horn and primary afferent neurons. *Brain Res. Rev.*, **24**: 28-66, 1997.
 - 22) Vaughan, C.W. and Christie, M.J.: Presynaptic inhibitory action of opioids on synaptic transmission in the rat periaqueductal grey in vitro. *J. Physiol.*, **498**: 463-472, 1997.
 - 23) Hori, Y., Endo, K. and Takahashi, T.: Presynaptic inhibitory action of enkephalin on excitatory transmission in superficial dorsal horn of rat spinal cord. *J. Physiol.*, **450**: 673-685, 1992.
 - 24) Glaum, S.R., Miller, R.J. and Hammond, D.L.: Inhibitory actions of $\delta 1$ -, $\delta 2$ -, and μ -opioid receptor agonists on excitatory transmission in lamina II neurons of adult rat spinal cord. *J. Neurosci.*, **14**: 4965-4971, 1994.
 - 25) Dickenson, A.H., Sullivan, A.F., Knox, R., Zajac, J.M. and Roques, B.P.: Opioid receptor subtypes in the rat spinal cord: electrophysiological studies with mu- and delta-opioid receptor agonists in the control of nociception. *Brain Res.*, **413**: 36-44, 1987.
 - 26) Leighton, G.E., Rodriguez, R.E., Hill, R.G. and Hughes, J.: kappa-Opioid agonists produce antinociception after i.v. and i.c.v. but not intrathecal administration in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, **93**: 553-560, 1988.
 - 27) Danzebrink, R.M., Green, S.A. and Gebhart, G.F.: Spinal μ and δ , but not κ , opioid-receptor agonists attenuate responses to noxious colorectal distension in the rat. *Pain.*, **63**: 39-47, 1995.
 - 28) Stevens, C.W., Lacey, C.B., Miller, K.E., Elde, R.P. and Seybold, V.S.: Biochemical characterization and regional quantification of mu, delta and kappa opioid binding sites in rat spinal cord. *Brain Res.*, **550**: 77-85, 1991.
 - 29) Yoshimura, M. and Nishi, S.: Primary afferent-evoked glycine- and GABA-mediated IPSPs in substantia gelatinosa neurones in the rat spinal cord in vitro. *J. Physiol.*, **482**: 29-38, 1995.
 - 30) Grudt, T.J. and Williams, J.T.: mu-Opioid agonists inhibit spinal trigeminal substantia gelatinosa neurons in guinea pig and rat. *J. Neurosci.*, **14**: 1646-1654, 1994.
 - 31) Kemp, T., Spike, R.C., Watt, C. and Todd, A.J.: The μ -opioid receptor (MOR1) is mainly restricted to neurons that do not contain GABA or glycine in the superficial dorsal horn of the rat spinal cord. *Neuroscience*, **75**: 1231-1238, 1996.
 - 32) Willis, W.D.J. and Coggeshall, R.E.: Sensory mechanisms of the spinal cord, 2nd ed. Plenum Press, New York, 1991.
 - 33) Kumazawa, T. and Perl, E.R.: Excitation of marginal and substantia gelatinosa neurons in the primate spinal cord: indications of their place in dorsal horn functional organization. *J. Comp. Neurol.*, **177**: 417-434, 1978.
-