

# 神経因性疼痛モデルラットではケタミンによる 脊髄後角痛覚伝達抑制作用が増強する

高松 美砂子

新潟大学大学院医歯学総合研究科麻酔科学分野

(主任：馬場 洋教授)

## Increased Sensitivity to NMDA Receptor Antagonists in the Spared Nerve Injury Model of Neuropathic Pain

Misako TAKAMATSU

*Department of Anesthesiology*

*Graduate School of Medical and Dental Sciences Niigata University*

*(Director: Prof. Hiroshi BABA)*

### 要 旨

ketamine は健常人に投与してもほとんど抗侵害作用をもたない量で一部の難治性神経因性疼痛を著明に改善することがある。しかし、その詳細な機序は明らかではない。脊髄後角は末梢組織から入力された侵害情報を修飾して上位中枢へと伝達する重要な部位である。神経因性疼痛状態の発生機序の一部は脊髄における解剖学的・機能的な可塑性変化であること、脊髄への局所投与によっても神経因性疼痛の軽減が得られることなどから、神経因性疼痛患者においては ketamine の脊髄後角細胞に対する作用にも何らかの変化が生じていることが推測される。そこで坐骨神経部分損傷 (spared nerve injury; SNI) モデルラットの脊髄スライス標本を用いて電気生理学実験を行い、脊髄後角細胞の痛覚伝達に対する ketamine の作用を正常動物と比較した。

【方法】6週齢の正常ラットおよび SNI モデルラットよりウレタン麻酔下に腰仙部脊髄を取り出し、後根付き横断スライス標本を作製した。脊髄後角第Ⅱ層 (膠様質) より blind 法による patch-clamp 記録を行い、後根刺激で誘起される興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current; EPSC) の、ketamine 50  $\mu$ M および競合性 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体拮抗薬 APV (DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid) 50  $\mu$ M 灌流投与前後での最大振幅、EPSC 波形と基線で囲まれる面積について検討した。

【結果】SNI ラットではほとんどの記録細胞 (93% : 29/31) で A $\delta$  線維誘起の多シナプス性応答を示したため、本研究では正常ラット (n = 24) 及び SNI ラット (n = 29) の後角細胞から記録された A $\delta$  線維誘起多シナプス性 EPSC のみに対する ketamine および APV の影響を調べた。ketamine および APV の灌流投与により、正常ラット群の EPSC 波形は振幅 (p <

Reprint requests to: Misako TAKAMATSU  
Department of Anesthesiology  
Graduate School of Medical and Dental Sciences  
Niigata University  
1-757 Asahimachi-dori,  
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通り1-757  
新潟大学大学院医歯学総合研究科麻酔科学分野  
高松美砂子

0.05), 面積 ( $P < 0.01$ ) とともに有意に減少した. SNI ラット群の EPSC 波形も振幅, 面積とも有意に減少した ( $p < 0.01$ ). 抑制率は SNI ラット群が正常ラット群に比べて有意に高かった.

【考察】  $50\mu\text{M}$  という NMDA 受容体以外にはほとんど作用がないとされる濃度の ketamine により, A  $\delta$  線維誘起の多シナプス性 EPSC の抑制が認められ, さらに, APV でも同様に A  $\delta$  線維誘起の多シナプス性 EPSC の抑制が認められた. EPSC の抑制は正常ラットよりも SNI ラットにおいて強く認められ, SNI ラット脊髄後角では痛覚情報伝達に NMDA 受容体がより大きく関与するようになることが示された. NMDA 成分が増大する機序として, 神経損傷による gamma-aminobutyric acid (GABA) 抑制系の減弱 (脱抑制), 解剖学的構築の変化による多シナプス性の応答の増加, NMDA 受容体サブタイプ発現の変調が考えられる.

キーワード: 神経因性疼痛, ketamine, NMDA 受容体, 脱抑制

## 緒 言

ketamine はこれまで主に手術麻酔で使用されてきた静脈麻酔薬であり, 意識消失作用・鎮痛作用を持つが不動化作用はあまり強くないという特徴を持つ. しかし, その麻酔機序は不明な点が多い. 現在, 明らかにされている ketamine の作用機序の一つが非競合性 NMDA 受容体拮抗作用である<sup>1)</sup>. 一方, ペインクリニック領域においても難治性疼痛に対して ketamine が使用されることが多くなり, 健常人に投与してもほとんど鎮痛効果をもたない少量の ketamine を難治性神経因性疼痛患者に全身投与すると, 痛みが劇的に減少するということを臨床では経験する<sup>2)3)</sup>. また, 神経因性疼痛患者の脊髄硬膜外に投与しても同様の効果が報告されていること<sup>4)</sup>, 神経因性疼痛モデルラットにおいては ketamine の鎮痛効果部位が脊髄であるといった報告<sup>5)</sup>があることから, 神経因性疼痛患者に対する ketamine の作用部位としては脊髄後角が最も可能性が高いと考えられる.

脊髄後角は末梢感覚受容器からの痛覚情報が一次求心性線維を通じて最初に入力される部位であり, その中でも後角第 II 層 (膠様質) は痛覚情報の伝達・修飾に重要な役割を果たしている<sup>6)</sup>. 末梢神経損傷による神経因性疼痛の発症には脊髄後角におけるなんらかの可塑的变化が関与していると推察されている<sup>7)8)</sup>が詳細は明らかになっていない. また, このように病的可塑性変化が起きている脊髄後角では, 痛覚伝達に対する ketamine

の作用にも何らかの変化が生じていることが推測される.

今回, 坐骨神経の部分損傷によって作成した神経因性疼痛モデル動物を用い, 後根刺激で脊髄後角膠様質細胞に誘起される興奮性シナプス後電流 (EPSC) に対する ketamine の作用について正常ラットと比較した. さらに, 競合的 NMDA 受容体拮抗薬である APV についても同様の実験を行い, ketamine の作用が NMDA 受容体拮抗作用を介しているかどうかを検討した.

## 方 法

### 1. SNI ラットの作成

今回, 使用した動物モデル (spared nerve injury model; SNI model) は Decostered らが開発した動物モデルで, 機械的アロディニア (触刺激が痛みとして感じる) が強く, 温度刺激への閾値は不変であるが逃避閾値を越えた刺激への反応が強いという点で人の神経因性疼痛の症状をよく再現しているとされている<sup>7)</sup>. SNI ラットの作成は Decostered ら<sup>7)</sup>の方法に拠った. 4週齢の Wistar 系雄性ラットを酸素-セボフルレン (2.5 - 3.0%) 吸入による全身麻酔下に左坐骨神経を露出した. 坐骨神経の3本の枝のうち, tibial nerve と common peroneal nerve をそれぞれ 5 - 0 silk 糸にて結紮し, その遠位を切離した. Sural nerve は損傷しないように温存した. 神経損傷手術後 2 - 3 週間は創の治癒を待ち, その後, スラ

イス標本を作製し電気生理学実験を行った。

## 2. 後根付き脊髄スライス標本の作製

脊髄スライス標本は吉村ら<sup>8)</sup>の方法に従って作製した。Wistar系成熟雄性ラット(250-300g)に1g/kgのウレタン腹腔内投与による全身麻酔下に腰仙部の椎弓を切除し、脊髄を摘出した。酸素飽和した氷冷クレブス液(117mM NaCl, 3.6mM KCl, 1.2mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.5mM CaCl<sub>2</sub>, 1.2mM MgCl<sub>2</sub>, 25mM NaHCO<sub>3</sub>, 11mM glucoseで調製)中で硬膜を除去した後、左側L4の後根を付した厚さ約650 $\mu$ mの脊髄スライスをマイクロスライサー(Dosaka EM, DTK-1500)にて作製した。スライス標本は記録用チャンバーのナイロンメッシュ上に固定し、95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>を通気して約37度に加温したクレブス液を10~15ml/minで灌流した。

## 3. ホールセルパッチクランプ記録

ホールセルパッチクランプ記録は、電極内液(110mM Cs-sulfate, 0.5mM CaCl<sub>2</sub>, 2mM MgCl<sub>2</sub>, 5mM EGTA, 5mM HEPES, 5mM TEA, 5mM ATP-Mg saltで調整)を充填した先端抵抗10-15M $\Omega$ のパッチ電極を用いて行った。細胞が密に存在し、ミエリンが少ない膠様質は実体顕微鏡下では半透明な帯状の層として容易に視認できる。記録電極先端を膠様質に向けて刺入し、ギガオームシールを形成した後、電極内に弱い陰圧を与えることによりホールセルの状態を得た。保持膜電位は-70mV(静止膜電位付近)とし、得られた記録電流はパッチクランプ用増幅器(Axopatch 200B, Axon Instruments, Foster City CA)により増幅し、A/D変換(Digidata 1200, Axon Instruments, Foster City CA)後、データ記録・解析用ソフト(pCLAMP 8, Axon Instruments, Foster City CA)を用いて記録・解析した。

後根刺激は吸引電極により行い、A $\delta$ 線維の刺激閾値上である100 $\mu$ A, 0.1msで行った<sup>9)</sup>。

また、膠様質細胞に誘起された興奮性シナプス応答が単シナプス性か否かの同定は、高頻度刺激(20Hz)による潜時が一定であり、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<sup>10)</sup>(図1-A, B)。潜時が一定せず、高頻度刺激時には潜時が延長し、時には脱落がみられるものを多シナプス性EPSCとした<sup>10)</sup>(図1-C, D)。振幅・面積の測定では、多シナプス性EPSCの最大振幅は刺激毎に違うため、10秒間隔で5回刺激し、その平均トレースの最大振幅及び面積(総電流量: pA $\cdot$ s)を測定した。正常ラット、SNIラットともEPSC波形は刺激後約150ms後にはほぼ基線まで戻ったため、面積測定では0-150msまでの間に基線とEPSC波形で囲まれる面積を測定した(図1-E)。

## 4. 薬剤の投与

クレブス液中で既知の濃度に調製した薬剤を、速度・温度を変えずに灌流投与した。使用薬剤は、ketamine hydrochloride (sigma) 50 $\mu$ M, NMDA受容体拮抗薬DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid (APV: Sigma) 50 $\mu$ Mである。

## 5. 統計処理

データはすべて平均 $\pm$ 標準誤差で表記した。統計学的解析はpaired t-testあるいはunpaired t-testにて行い、p < 0.05を統計学的有意差ありとした。

## 結 果

SNIモデルラット13匹、正常ラット13匹より摘出した脊髄スライス標本を用いた。後根刺激によって脊髄膠様質から記録された興奮性シナプス反応はグルタミン酸作動性の単シナプス性または多シナプス性EPSCであった<sup>11)12)</sup>。SNIラット脊髄膠様質では、A $\delta$ 線維誘起の多シナプス性応答が増加することが報告されている<sup>13)</sup>。本実験でもSNIラットからの記録細胞の93%(29/31)がA $\delta$ 線維誘起の多シナプス性応答のみを示し、A $\delta$ 線維誘起の単シナプス性応答は7%(2/31)しか存在しなかった。また、SNIラットではC線維刺激を行っても7%(2/31)にしかC線維による反応が見られなかったため、今回の研究ではA

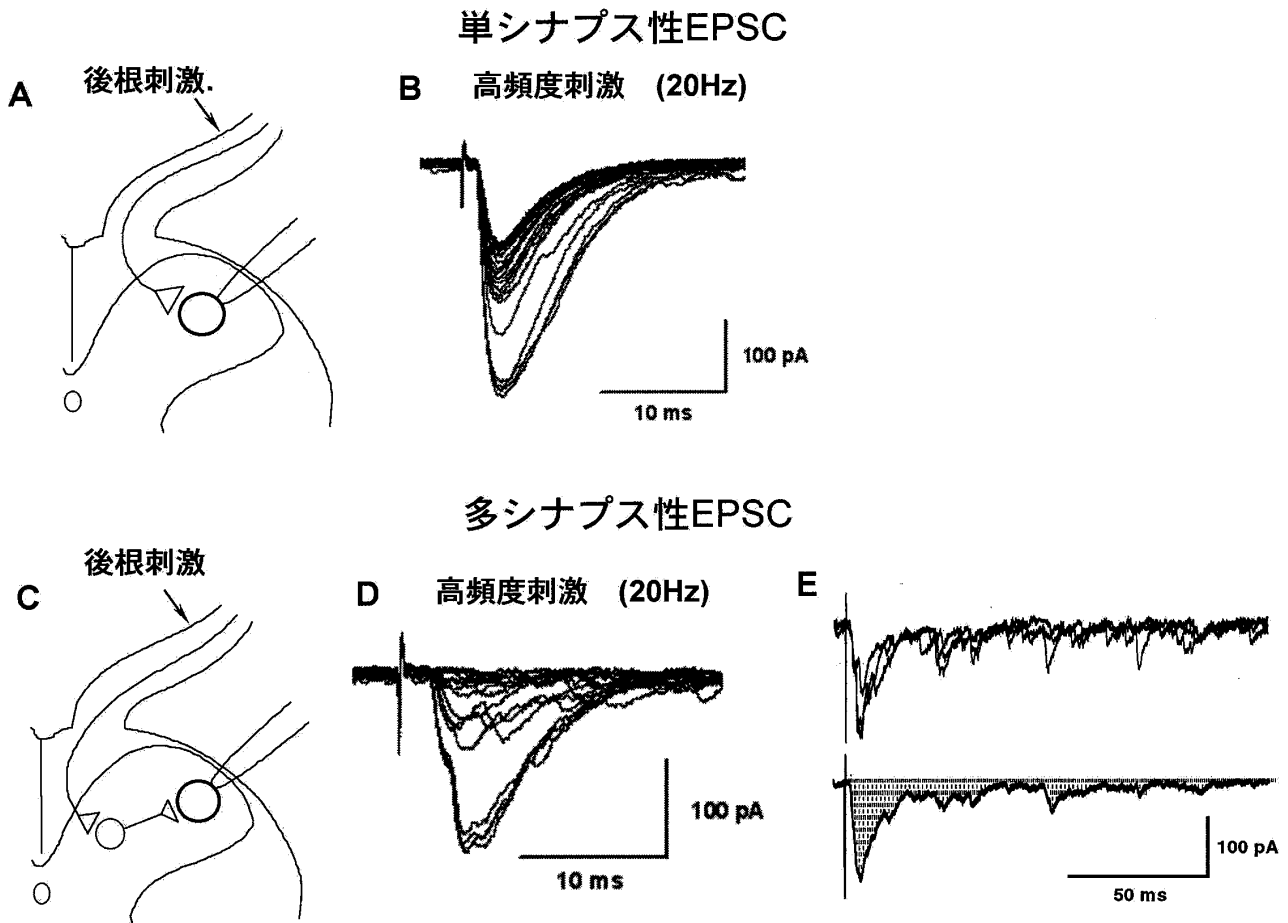


図1 シナプス応答の判定および EPSC 波形の振幅, 面積の測定

A 単シナプス性神経細胞の模式図 B 単シナプス性 EPSC では高頻度刺激による潜時は一定である C 多シナプス性神経細胞の模式図 D 多シナプス性 EPSC では高頻度刺激による潜時が一定でなく, 時に脱落を認める E 本実験では, 多シナプス EPSC の記録・解析にあたり, EPSC を 5 回記録したもの (上段) を平均し (下段), 最大振幅および, 面積 (下段斜線部分) を測定した.

$\delta$  線維誘起の多シナプス性 EPSC のみに対する ketamine および APV の影響について検討した.

### 1. ketamine による A $\delta$ 線維誘起多シナプス性 EPSC の抑制 (図 2)

正常ラット (n = 15), SNI ラット (n = 19) の記録細胞において ketamine 50  $\mu$ M を灌流投与し, EPSC の最大振幅および EPSC 波形と基線とで囲まれる面積を調べた. ketamine 投与前後の振幅は, 正常ラットでは  $171.8 \pm 21.8$  pA から  $156.0 \pm 21.7$  pA と有意に減少した ( $p < 0.05$ ). SNI ラットでも  $144.5 \pm 25.7$  pA から  $93.7 \pm 20.7$  pA と有意

に減少した ( $p < 0.01$ ). また, 面積は正常ラットで  $4.0 \pm 0.5$  pA $\cdot$ s から  $3.4 \pm 0.5$  pA $\cdot$ s に, SNI ラットで  $3.7 \pm 0.6$  pA $\cdot$ s から  $2.1 \pm 0.4$  pA $\cdot$ s に, どちらも有意に減少した ( $p < 0.01$ ).

### 2. APV による A $\delta$ 線維誘起多シナプス性 EPSC の抑制 (図 3)

ketamine の多シナプス性 EPSC 抑制効果と同様の抑制効果が NMDA 受容体の拮抗によって得られるかどうか確認するために, 競合性 NMDA 受容体拮抗薬である APV を用いて同様の実験を行った. APV 50  $\mu$ M の灌流投与前後で正常ラッ

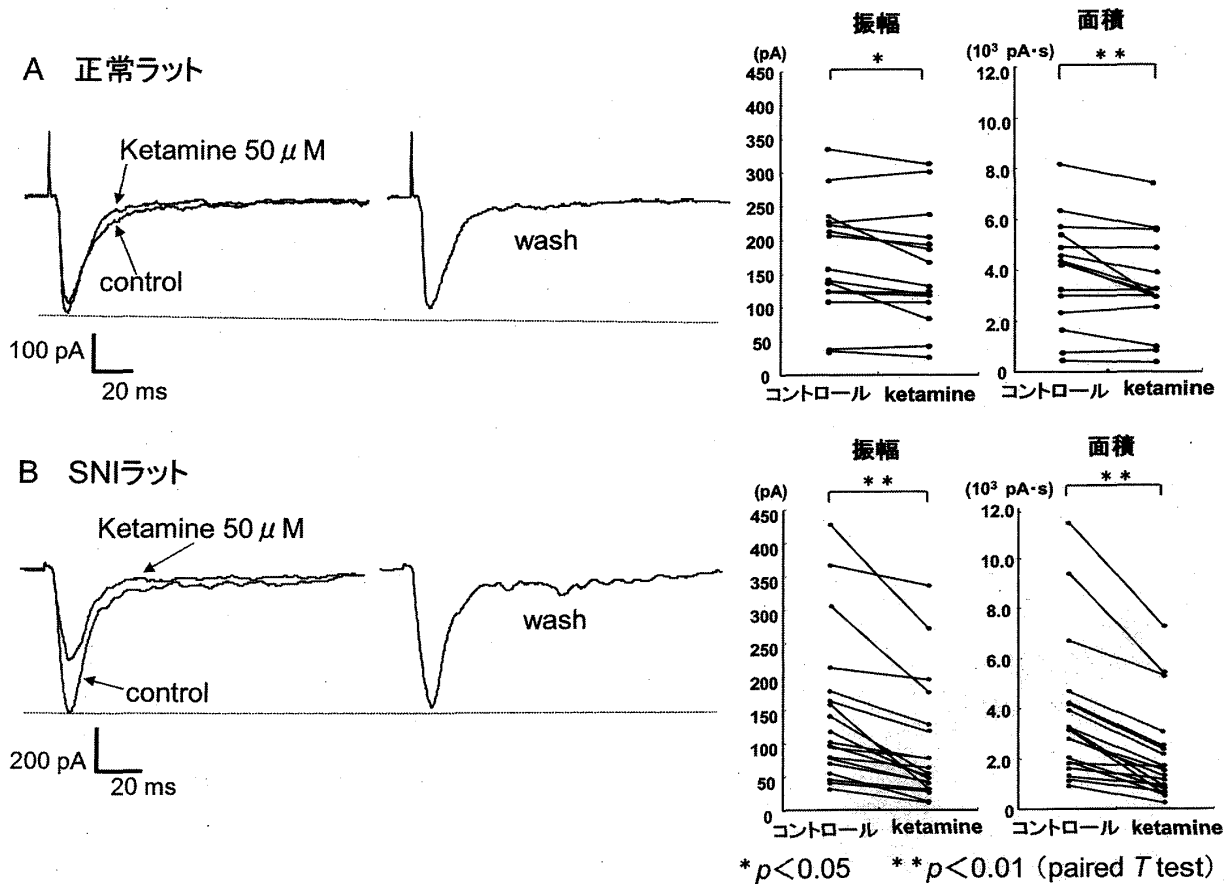


図 2

- A 正常ラット後角細胞で記録された ketamine 灌流投与前後の EPSC 波形と、振幅・面積 (n = 15).  
いずれも有意に抑制された
- B SNI ラット後角細胞で記録された ketamine 灌流投与前後の EPSC 波形と、振幅・面積 (n = 19).  
いずれも有意に抑制された

ト (n = 9) での振幅は  $112.1 \pm 22.1$  pA から  $102.5 \pm 20.8$  pA と有意に減少した (p < 0.05). SNI ラット (n = 10) の記録細胞においても、 $129.6 \pm 27.4$  pA から  $90.7 \pm 22.6$  pA と有意に減少した (p < 0.01). 面積は、正常ラットで  $2.4 \pm 0.6$  pA·s から  $2.1 \pm 0.6$  pA·s に、SNI ラットでは  $2.6 \pm 0.6$  pA·s から  $1.5 \pm 0.4$  pA·s に、いずれも有意に減少した (p < 0.01).

### 3. SNI ラットおよび正常ラットでの ketamine, APV による EPSC 波形の振幅, 面積の抑制率の比較 (図 4)

神経因性状態にある脊髄後角においては、正常状態よりも ketamine による痛覚伝達の抑制が強

いという仮説を検証するため、振幅および面積の抑制率を正常ラットと SNI ラットで比較した (図 4-A). APV についても同様に、抑制率を正常ラットと SNI ラットで比較した (図 4-B). Ketamine による振幅の抑制率は正常ラットで  $90.2 \pm 3.6$  %, SNI ラットで  $60.3 \pm 4.9$  %, 面積の抑制率は正常ラットで  $85.8 \pm 4.5$  %, SNI ラットで  $54.4 \pm 4.4$  % と、SNI ラットでは正常ラットに比べると有意に抑制率が強かった (p < 0.01). APV でも、振幅は正常ラットで  $90.7 \pm 3.4$  % に対して SNI ラットで  $67.3 \pm 5.6$  %, 面積は正常ラットで  $80.9 \pm 4.1$  %, SNI ラットで  $59.0 \pm 4.6$  % といずれも有意な差が認められた (p < 0.01).

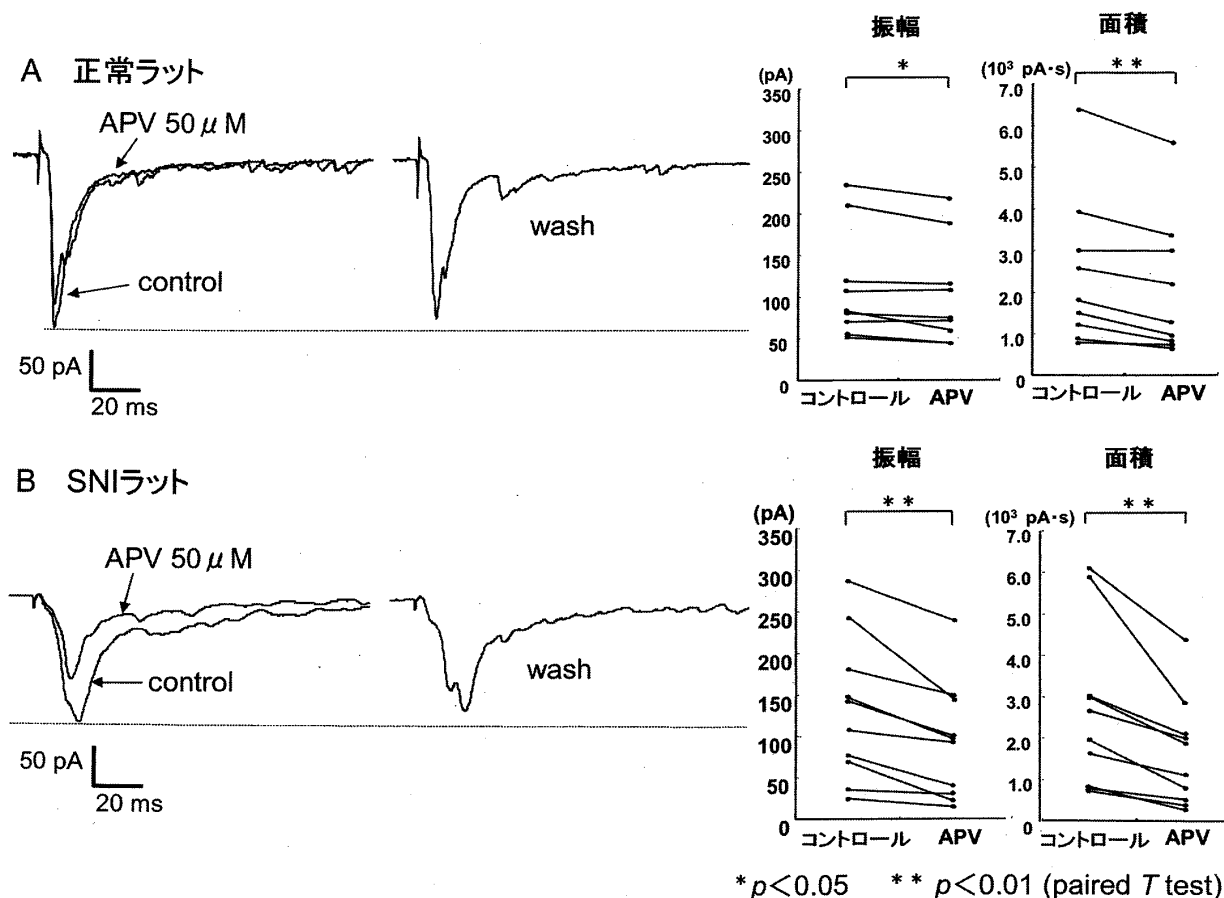


図3

- A 正常ラット後角細胞で記録された APV 灌流投与前後の EPSC 波形と、振幅・面積 (n = 9). いずれも有意に抑制された
- B SNI ラット後角細胞で記録された APV 灌流投与前後の EPSC 波形と、振幅・面積 (n = 10). いずれも有意に抑制された

### 考 察

SNI ラットでは正常ラットとは異なり、後根刺激により脊髄後角膠様質細胞で記録される EPSC はほとんどすべて (93%) が多シナプス性であった. ketamine を脊髄スライスに灌流投与することにより正常ラットと SNI ラットの両方において A δ 線維誘起の多シナプス性 EPSC の最大振幅と面積 (総電流量) が有意に抑制された. APV でも同様に A δ 線維誘起の多シナプス性 EPSC の抑制が認められたこと, および今回使用した ketamine 濃度 (50 μM) では NMDA 受容体以外

にはほとんど作用しないことから<sup>14)15)</sup>, ketamine による多シナプス性 EPSC の抑制は NMDA 受容体の阻害によるものと考えられた. さらに, SNI ラット脊髄においては正常ラットよりもケタミンや APV による多シナプス性 EPSC の抑制作用がより強く認められたことから, SNI ラットでは脊髄後角の痛覚情報伝達に NMDA 受容体がより大きく関与してくるような可塑性変化が生じていることが示唆された.

### SNI ラットにおける多シナプス性 EPSC の増加

正常ラットでは通常 70% 程度の膠様質細胞で

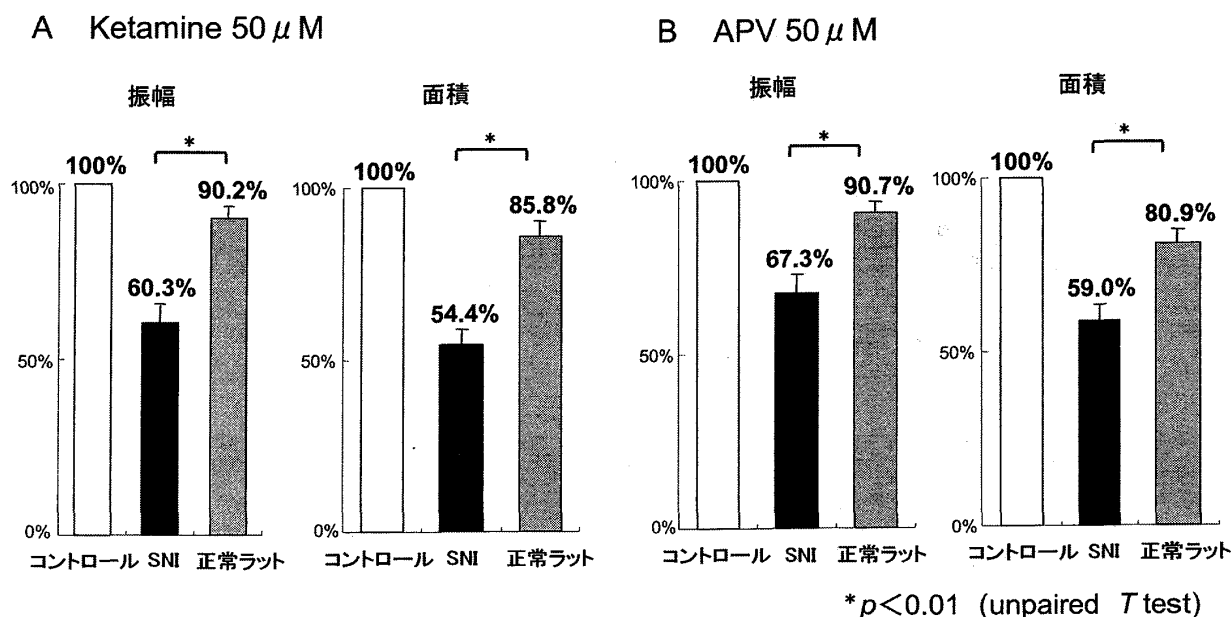


図4 正常ラットとSNIラットの抑制率の比較

A ketamine 投与により, SNI ラット群は正常ラット群に比べて振幅, 面積が有意に抑制された  
 B APV 投与により, SNI ラット群は正常ラット群に比べて振幅, 面積が有意に抑制された

A δ線維による単シナプス性 EPSC あるいは興奮性シナプス後電位 (excitatory postsynaptic potential; EPSP) が記録されるが<sup>16)</sup>, 末梢神経損傷後に単シナプス性入力が増加し, 多シナプス性入力が増加する。SNIにおける多シナプス性伝達の増加は, Kohno らによって報告されており<sup>13)</sup>, 他の神経損傷モデル, 坐骨神経完全損傷モデル (Sciatic Nerve Transection model; SNT), 絞扼性神経損傷モデル (Chronic Constriction Injury model; CCI) や炎症性疼痛モデルなどでも報告されている<sup>13)17)18)</sup>。本研究でも SNI ラット脊髄標本からの記録細胞は, A δ線維誘起多シナプス性 EPSC が 93 % を占めた。末梢神経損傷の後, 単シナプス性入力の消失および膠様質細胞に対する何らかの多シナプス性興奮性入力経路が形成される機序として, 損傷を受けた A δ線維の変成・消失, 興奮性介在ニューロンが発芽 (sprouting) して膠様質細胞に新しいシナプスを形成すること等が考えられる。実際, 坐骨神経切断後, 膠様質に著しいシナプス新生が生じるという報告もある<sup>17)</sup>。後述するように, この多シナプス性 EPSC の割合の増加や末梢神経損傷後のシナプス新生の増

加が SNI ラットや神経因性疼痛患者で NMDA 受容体拮抗薬に感受性を高めている可能性がある。

#### 正常ラットに対する NMDA 受容体拮抗薬の影響

今回の実験では記録細胞の膜電位を -70mV (後角細胞の静止膜電位付近) に固定しているため, 後根刺激で記録細胞に誘起される EPSC は単シナプス性, 多シナプス性の両方とも alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) 受容体を通するシナプス電流が主体である<sup>19)</sup>。しかし, 記録細胞に興奮性情報を伝達する細胞 (興奮性介在ニューロン) では AMPA 受容体を介した EPSP によって脱分極するため NMDA 受容体に対する Mg ブロックが解除され, NMDA 受容体も活動電位発生に関与するようになる。従って, 正常動物でも一部の細胞では NMDA 受容体拮抗薬によって後根刺激による多シナプス性 EPSC, EPSP は抑制される<sup>9)20)</sup>。今回の結果でも正常ラットの多シナプス性 EPSC の振幅・面積は ketamine, APV によって若干ではあるが (10 - 15 % 程度) 有意差をもって抑制された。一方, 後根刺激で膠様質細胞に誘起される

単シナプス性 EPSC, EPSP は NMDA 受容体拮抗薬によってほとんど影響を受けない<sup>9)11)12)</sup>。今回, SNI ラットから得られた EPSC のほとんどすべてが多シナプス性 EPSC であったので, NMDA 受容体拮抗薬に対する感受性増加の詳細な機序を解析することは不可能であった。

SNI ラットの多シナプス性 EPSC の方が正常ラットの多シナプス性 EPSC よりも NMDA 受容体拮抗薬に対して感受性が高くなる理由として以下のことが考えられる。

#### 後角細胞の可塑性変化と NMDA 受容体拮抗薬に対する感受性の増強

SNI ラットから記録された多シナプス性 EPSC の方が正常ラットから記録された多シナプス性 EPSC よりも NMDA 受容体拮抗薬に感受性が高い機序として, まず脊髄後角の GABA 抑制系の減弱が挙げられる。SNI ラット脊髄での GABA 含有量および GABA 放出量減少による機能的減弱<sup>21)</sup>といった可塑性変化は Moore らにより報告されている。抑制系の減弱(脱抑制)が起これば, EPSP によって後角細胞に生じる脱分極は増強・延長し, EPSP の発生に関わる NMDA 成分の割合も増加する。実際, 正常ラット脊髄に GABA<sub>A</sub> 受容体阻害剤を作用させて薬理的につくりだした脱抑制状態では多シナプス性 EPSC の著明な増強が認められ, これは NMDA 受容体拮抗薬によってほぼ完全に消失する<sup>9)</sup>。しかし, GABA 抑制系の減弱が生じていると報告されている SNI<sup>21)</sup>などの末梢神経傷害モデル脊髄において, 実際に興奮性応答にどのような変化が生じているのかについては今まで明らかではなかった。今回の実験で正常ラット脊髄に観察された多シナプス性 EPSC では, 振幅において約 10%, 面積では約 15% が競合性 NMDA 受容体拮抗薬 (APV) によって抑制される成分であった。一方, SNI ラットでは振幅で約 33%, 面積で約 41% と, 正常ラットに比べて競合性 NMDA 受容体拮抗薬 (APV) によって抑制される成分が振幅でも面積でも増加していた。

次に考えられる機序として, 痛覚情報の持続的

入力による NMDA 受容体の膜電位依存性の消失あるいは減弱がある。末梢神経損傷時には損傷部での神経腫形成等による自発的電気活動発生により脊髄後角細胞に持続的に痛覚情報(興奮性入力)が伝わる<sup>22)</sup>。このため後角細胞に持続的な脱分極が生じ, NMDA 受容体が活性化して細胞内に Ca<sup>2+</sup> が流入する。Ca<sup>2+</sup> の流入により活性化された PKC により NMDA 受容体がリン酸化され持続的に NMDA 受容体の Mg ブロックが解除される。神経因性疼痛モデルでもこのような機序で脊髄後角の痛覚情報伝達に NMDA 受容体がより大きく関与してくるようになる可能性がある<sup>23)</sup>。

脊髄後角の NMDA 受容体数の変化やサブユニット構成の変調も末梢神経損傷によって生じる可能性がある。CCI モデルを用いた研究では, NMDA 受容体サブタイプの変調が報告されている<sup>24)</sup>。今回, NMDA 受容体サブユニット構成の変化による機能的変化を電気生理学的に検討するため, 単シナプス性の応答についても解析する予定であったが, 正常では A 線維誘起応答を示す細胞の約 70%<sup>18)</sup> に認められる単シナプス性応答を示す細胞が, 今回の SNI ラットでは 6% (n = 2) と著しく減少していたため断念した。

その他, 末梢神経損傷によって膠様質に新生された若いシナプスのシナプス伝達は AMPA 受容体より NMDA 受容体が主体であるという説もあり<sup>25)</sup>, これも NMDA 受容体拮抗薬に対して感受性が高まる一つの機序となりうる。

以上, 列挙した機序が病的痛覚伝達における NMDA 成分増加に対してどのような割合で寄与しているかは不明であるが, おそらくすべての機序が総合的に, しかもポジティブフィードバック的に関与していると推測される。すなわち, ある細胞の興奮性が増強あるいは解剖学的構築の変化により新しいシナプスの新生がおこれば他の細胞に多シナプス性に興奮性情報が伝わりやすくなり, 多シナプス性入力が増えれば脱分極の程度・時間が増加し, さらに NMDA 成分が増加して活動電位が発生しやすくなる。そうすれば, さらに他の細胞に対して多シナプス性に興奮性情報を伝えやすくなり, 後角における痛みの伝達が増強す



ることは容易に想像できる。また、正常ラットでは約 70% に単シナプス性 EPSC が見られ、多シナプス性 EPSC は比較的少ない<sup>11) 12) 18)</sup>。前述のように、多シナプス性 EPSC は元々 NMDA 受容体拮抗薬に対して感受性が高く、単シナプス性 EPSC は NMDA 受容体拮抗薬に対して感受性が低いこと<sup>9) 11) 12)</sup> を考慮すれば、単純に多シナプス性入力の割合が増加しただけでも、脊髄後角全体の興奮性に対する NMDA 受容体拮抗薬は高まるはずである。今回解析したデータの中には単シナプス性 EPSC は含まれていない。従って、本研究で報告した SNI ラットにおける ketamine, APV の抑制効果は脊髄後角全体の興奮性に関して言えば過小評価になっている可能性もある。

### 最後に

ketamine は現在臨床使用可能な NMDA 受容体拮抗薬であるが、大規模研究によれば、神経因性疼痛患者における除痛効果は個人差が大きく、副作用も多いとされる<sup>26)</sup>。しかし、正常では殆ど鎮痛効果を生じないような量の ketamine を神経因性疼痛患者に投与すると、劇的に疼痛が減少する<sup>27)</sup> ことは筆者の経験からも明らかな事実であり、慎重に症例を選べば有効な治療法として普及することは間違いないと思われる。今回の実験により、一部の神経因性疼痛状態では脊髄での痛覚伝達に NMDA 成分がより大きく関与するようになること、増加した NMDA 成分による痛覚伝達の増強を ketamine により有効に抑えることができることが明らかとなった。今後はより副作用が少なく臨床使用可能な NMDA 受容体拮抗薬の開発が期待される。

### 謝辞

最後に、本研究のご指導及び論文のご校閲を頂いた新潟大学大学院医歯学総合研究科麻酔科学分野 馬場洋教授、河野達郎助手に深謝いたします。また、本研究に関してご助言を頂いた新潟大学医歯学総合病院医療情報部 赤澤宏平教授に御礼申し上げます。

### 参考文献

- 1) Yamamura T, Harada K, Okamura A and Kemmotsu O: Is the Site of Action of Ketamine Anesthesia the N- Methyl- D- Aspartate Receptor? *Anesthesiology* 72: 704 - 710, 1990.
- 2) Eide PK, Jorum E, Stubhang A, Bremnes J and Breivik H: Relief of post- herpetic neuralgia with the N- methyl- D- aspartic acid receptor antagonist ketamine: a double- blind, cross- over comparison with morphine and placebo. *Pain* 58: 347 - 354, 1994.
- 3) Ilkjaer S, Petersen KL, Brennum J, Wernberg M and Dahl JB: Effect of systemic N- methyl- D- aspartic acid receptor antagonist (ketamine) on primary and secondary hyperal- gesia in humans. *British Journal of Anesthesia* 76: 829 - 834, 1996.
- 4) Takahashi H, Miyazaki M, Nanbu T, Yanagida H and Morita S: The NMDA- receptor antagonist ketamine abolishes neuropathic pain after epidural administration in a clinical case. *Pain* 75: 391 - 394, 1998.
- 5) Sonoda H and Omote K: Suppressive effects of ketamine on neuropathic pain. *Masui* 47: 136 - 144, 1998.
- 6) Willis WD Jr. and Coggeshall RE: *STRUCTURE OF THE DORSAL HORN SENSORY MECHANISMS OF THE SPINAL CORD*. 2nd ed, Plenum Press, New York and London, pp79 - 151, 1991.
- 7) Decosterd I and Woolf CJ: Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 87: 149 - 158, 2000.
- 8) 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.
- 9) Baba H, Ji RR, Kohno T, Moore KA, Ataka T, Wakai A, Okamoto M and Woolf CJ: Removal of GABAergic inhibition facilitates polysynaptic A fiber- mediated excitatory transmission to the superficial spinal dorsal horn. *Molecular and Cellular Neuroscience* 24: 818 - 830, 2003.

- 10) Ataka T, Kumamoto E, Shimoji K and Yoshimura M: Baclofen inhibits more effectively C - afferent than A  $\delta$  - afferent glutamatergic transmission in substantia gelatinosa neurons of adult rat spinal cord slices. *Pain* 86: 273 - 282, 2000.
- 11) Yoshimura M and Jessell T: Primary afferent - evoked synaptic responses and slow potential generation in rat substantia gelatinosa neurons in vitro. *J Neurophysiol* 62: 96 - 108, 1989.
- 12) Yoshimura M and Jessell T: Amino acid - mediated EPSPs at primary afferent synapses with substantia gelatinosa neurones in the rat spinal cord. *J Physiol* 430: 315 - 335, 1990.
- 13) Kohno T, Moore KA, Baba H and Woolf CJ: Peripheral nerve injury alters excitatory synaptic transmission in lamina II of the rat dorsal horn. *J Physiol* 548.1: 131 - 138, 2003.
- 14) Yamakura T, Bertaccini E, Trudell JR and Harris RA: Anesthetics and Ion Channels: Molecular Models and Sites of Action *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol* 41: 23 - 51, 2001.
- 15) Frenkel C and Urban BW: Molecular Actions of racemic ketamine on human CNS sodium channels. *British Journal of Anesthesia* 69: 292 - 297, 1992.
- 16) Nakamura S and Myers RR: Myelinated afferents sprout into lamina II of spinal dorsal horn after peripheral nerve injury in rats. *Brain Reserch* 904: 137 - 140, 2001.
- 17) Okamoto M, Baba H, Goldstein PA, Higashi H, Shimoji K and Yoshimura M: Functional reorganization of sensory pathways in the rat spinal dorsal horn following peripheral nerve injury. *J Physiol* 532: 241 - 250, 2001.
- 18) Nakatsuka T, Jin - Soo Park, Kumamoto E, Tamaki T and Yoshimura M: Plastic changes in sensory inputs to rat substantia geratinosa neurons following peripheral inflammation. *Pain* 82: 39 - 47, 1999.
- 19) Woolf CJ and Salter MW: plasticity and pain: role of the dorsal horn, Wall PD, Melzack R ( eds) *TEXTBOOK OF PAIN*. 5th ed, Churchill livingstone, London, pp91 - 105, 2005.
- 20) Yoshimura M and Nishi S: Excitatory amino acid receptors involved in primary afferent - evoked polysynaptic EPSCs of substantia geratinosa neurons in the adult rat spinal cord slice. *Neurosci Letter* 143: 131 - 134, 1992.
- 21) Moore KA, Kohno T, Karchewski LA, Scholz J, Baba H and Woolf CJ: Partial Peripheral Nerve Injury Promotes a Selective Loss of GABAergic Inhibition in the Superficial Dorsal Horn of the Spinal Cord. *J Neurosci* 22: 6724 - 6731, 2002.
- 22) Ossipov MH, Lai J and Porreca F: Mechanisms of experimental neuropathic pain: integration from animal models, Wall PD, Melzack R ( eds) *TEXTBOOK OF PAIN*. 5th ed, Churchill livingstone, London, pp929 - 946, 2005.
- 23) Chen L and Huang LM: Protein kinase C reduces Mg<sup>2+</sup> block of NMDA - receptor channels as a mechanism of modulation *Nature* 356: 521 - 523, 1992.
- 24) Wilson JA, Garry EM, Anderson HA, Rosie R, Colvin LA, Mitchell R and Fleetwood - Walker SM: NMDA receptor antagonist at the time of nerve injury prevents injury - induced changes in spinal NR1 and NR2B subunit expression and increases the sensitivity of residual pain behaviours to subsequently administered NMDA receptor antagonists. *Pain* 117: 421 - 432, 2005.
- 25) Baba H, Doubell TP, Moore KA and Woolf CJ: Silent NMDA receptor - mediated synapses are developmentally regulated in the dorsal horn of the rat spinal cord. *J Neurophysiol* 83: 955 - 962, 2000.
- 26) Hocking G and Cousins MJ: Ketamine in Chronic Pain Management: An Evidence - Based Review. *Anesthesia Analgesia* 97: 1730 - 1739, 2003.
- 27) Leung A, Wallace MS, Ridgeway B and Yaksh T: Concentration - effect relationship of intravenous alfentanil and ketamine on peripheral neurosensory thresholds, allodynia and hyperalgesia of neuropathic pain. *Pain* 91: 177 - 187, 2001.

(平成17年12月28日受付)