

脊髄後角における A δ および C 線維を介した 痛覚伝達に対するオピオイドの作用の比較

生駒 美穂

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)

Comparison of the Effect of Opioids on A δ - and C - afferent Mediated Nociceptive Transmission in the Spinal Dorsal Horn

Miho IKOMA

Division of Anesthesiology, Niigata University Graduate School of

Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan

(Director: Prof. Hiroshi BABA)

要 旨

全身投与されたオピオイドは A δ 線維を介する速く鋭い痛みより、それに引き続く C 線維を介した鈍い痛みのほうをより強く抑制する。一方、脊髄クモ膜下に投与したオピオイドが A δ と C どちらの線維を介する痛みをより強く抑制するかについての行動学的研究はいくつか報告されているが、これまでに電気生理学的手法を用いて行った研究報告はない。脊髄第 II 層（膠様質）はオピオイドの主な作用部位と考えられているため、本研究では、脊髄膠様質細胞からパッチクランプ法を用いて、後根を刺激することによる興奮性シナプス応答を記録し、A δ と C 線維を介する応答に対するオピオイドの抑制作用を比較した。

成熟ラット脊髄から厚さ約 600 μ m の後根を付した脊髄スライス標本を作製した。膠様質細胞からホールセルパッチクランプ記録を行い、後根を電気刺激して誘起される興奮性シナプス後電流（excitatory postsynaptic current; EPSC）を記録した。刺激の強度、刺激からの潜時によって A δ 線維と C 線維を介する応答を区別し、さらに単シナプス性の応答を同定した。シナプス前性の作用を観察するため、G タンパク質阻害薬およびカリウムチャネル阻害薬を電極内に加え、シナプス後性の作用を除外した。 μ 、 δ 、 κ オピオイド受容体アゴニストを灌流投与し、A δ と C 線維誘起単シナプス性 EPSC の振幅の変化を比較した。

μ 受容体アゴニストはほとんどの細胞で A δ 、C 線維誘起 EPSC の振幅をコントロールに比してそれぞれ 71 \pm 5%、48 \pm 6% に減少させた。 δ 受容体アゴニストは約 70% の細胞で A δ 線維誘起 EPSC の振幅を 88 \pm 3% に減少させたが、C 線維誘起 EPSC はコントロールに比して 96 \pm 3% と抑制しなかった。一方、 κ 受容体アゴニストは A 線維、C 線維誘起 EPSC とも抑制しなかった。

オピオイド受容体は脊髄後角とくに浅層部（I、II 層）に局在しており、 μ 受容体が 70% 以

Reprint requests to: Miho IKOMA
Division of Anesthesiology
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences
1 Asahimachi - dori,
Niigata 951 - 8510 Japan

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

上を占め、続いて δ 、 κ 受容体の順で多いと報告されている。さらに侵害刺激を伝導するA δ 線維およびC線維に多く局在し、特にC線維シナプス前性の神経終末に優位である。したがって本研究で μ 受容体アゴニストによってA δ 線維よりもC線維を介する応答が有意に抑制された要因として μ 受容体の分布密度の違いが考えられる。また、 δ 、 κ 受容体アゴニストが μ 受容体アゴニストに比べ強く抑制しなかったのも受容体の分布密度が関与している可能性がある。

本研究の結果から、 μ 受容体アゴニストのシナプス前抑制作用はA δ 線維よりもC線維を介するもののほうが強いことが示された。この結果は、 μ オピオイドがA δ 線維に比べC線維を介する痛みをより強く抑制することのひとつの説明となりうる。

キーワード：オピオイド、脊髄膠様質、一次求心性線維、ホールセルパッチクランプ法

緒 言

モルヒネは臨床で用いられる代表的なオピオイドのひとつであるが、全身投与すると一過性の鋭い痛みよりも、それに続く鈍い痛みにより効果があるということが、臨床的にまたは実験動物を用いた研究により示されている¹⁾²⁾。末梢からの侵害情報は、一次求心性線維の細い有髄線維(A δ 線維)または無髄線維(C線維)によって脊髄後角に伝導されるが、A δ 線維は速く鋭い痛みを伝え、C線維は遅く鈍い痛みを伝える。臨床的には、手術後に持続する安静時の痛みはC線維、体動時に手術創が刺激されて起こる痛みがA δ 線維を介するものであると説明されているが、全身投与されたモルヒネはC線維を介していると考えられる痛みを、より強く抑制することをしばしば経験する³⁾。また、電気生理学的手法を用いた研究においても、モルヒネの全身投与はA線維よりもC線維を介する応答を強く抑制するという報告がある^{4)–6)}。一方、脊髄クモ膜下に投与したオピオイドが、著明な鎮痛作用を示すことはよく知られており⁷⁾⁸⁾、さらにA δ とCどちらの線維を介する痛みをより強く抑制するかについての行動学的研究はいくつか報告されているが⁹⁾¹⁰⁾、これまでに電気生理学的手法を用いて行った研究報告はない。

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、その中でも膠様質は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。さらに、膠様質はオピオイド受容体のサブタイプ μ 、 δ 、 κ 受容体が高密度に存在し^{11)–14)}、内因性オピオイドであるエンドモルフィンやエンケファリンなども豊富に存在しており^{15)–18)}、脊髄におけるオピオイドの主な作用部位である。また、オピオイドの作用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考えられている¹⁹⁾。一次求心性線維終末のシナプス前性には70%以上のオピオイド受容体が分布しており¹¹⁾、オピオイドが電位依存性カルシウム電流を抑制することにより、興奮性伝達物質グルタミン酸の放出を抑制することがその機序として考えられている²⁰⁾²¹⁾。一方、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抑制機序とされている^{22)–24)}。さらに、オピオイドには神経終末からの興奮性伝達物質サブスタンスPの放出を抑制する作用もある²⁵⁾。

これまで、膠様質におけるA δ 線維を介する単シナプス性応答に関して、各オピオイド受容体のシナプス前抑制作用を調べた報告がある²¹⁾。本研究では新たにC線維を介する単シナプス性応答を同定することにより、A δ およびC線維を介する痛覚伝達に対する各オピオイド受容体の作用について比較し、その機能的意義を検討する。そこで、成熟ラット脊髄の横断スライスに後根を付した標本作製し、ホールセルパッチクランプ法を用いて膠様質細胞の興奮性シナプス応答に対する各オピオイド受容体アゴニストの作用を解析した。

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²⁶⁾に従って行った。体重 120～230g (週齢 5～7週) の Wistar 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) に腰仙部脊髄を摘出し、酸素化した冷却クレブス液中に浸した。硬膜の除去後、一侧の L4 後根を除く他の後根及び前根を全て切除し、温存した L4 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設置した後、マイクロスライサー (堂阪イーエム) を用いて、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 $^{\circ}$ 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

横断スライスの下部からの透過光で観察される膠様質は、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、先端電極抵抗約 10 M Ω のパッチガラス電極を用いて、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²¹⁾²⁶⁾²⁷⁾。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。シナプス後性の作用を除くため、電極内にカリウムチャンネル阻害薬 (Cs や TEA) や G タンパク質阻害薬 (GDP- β -S) を加えることにより、シナプス前性の作用のみを観察した。後根刺激は吸引電極を用いて行った。膜電位を -70mV に固定して、後根刺激によって誘起される興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current; EPSC) を記録した。比較的弱い刺激 (50-100 μ A, 0.1 msec) で、A δ 線維誘起 EPSC が誘起され、より強い刺激 (500 μ A, 0.5 msec) によって C 線維誘起 EPSC が誘起された。応答が単シナプス性か多シナプス性かは、Nakatsuka らの報告した基準を用いて同定した²⁸⁾²⁹⁾。つまり、A δ 線維を介するものは、後根の高頻度 (20 Hz) 刺激にも、潜時が一

定でかつ欠落のないものを単シナプス性 EPSC とし、C 線維を介するものは、低頻度 (2 Hz) 刺激で、潜時が一定でなくても欠落がみられないものを単シナプス性 EPSC とした。また、薬剤はクレブス液中で既知の濃度に調整し、速度・温度を変えずに灌流投与した。得られた電流は、パッチクランプ用増幅器: Axopatch 200B (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: pCLAMP8 (Axon Instruments) を用いて解析した。すべてのデータは mean \pm S.E.M で表した。統計処理は対応のある T 検定または対応のない T 検定を用いて行った。p < 0.01 を有意とした。なお、5%以上振幅の減少した細胞を抑制細胞とした。

結 果

25 匹のラットより摘出した脊髄横断スライス標本を用い、115 個の膠様質細胞から記録した。膜電位を静止膜電位近く (約 -70mV) に固定して、数分後に安定したところで記録し、すべての細胞で自発性 EPSC が観察された。これまでの報告から、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た²⁶⁾²⁷⁾。記録した細胞のうち 41 細胞で A δ 線維を介した単シナプス性 EPSC が観察され、42 細胞で C 線維を介した単シナプス性 EPSC が認められた。そのうち 9 細胞で、A δ および C 両線維の単シナプス性入力 that 認められた。

1) A δ ・C 線維誘起 EPSC に対する μ オピオイド受容体アゴニストの作用

それぞれの線維を介する EPSC に対する μ 受容体アゴニストの作用を観察した。 μ 受容体アゴニスト (DAMGO, 1 μ M) の灌流投与によって、A δ 線維誘起 EPSC は抑制され、その抑制作用は投与開始から約 2 分で最大に達した。DAMGO により平均振幅は 369 \pm 51 pA から 242 \pm 34 pA (n = 17) に減少し、コントロール値を 100% とすると 68 \pm 5% に抑制された (p < 0.01, 図 1A)。この抑制作用は、19 細胞中 17 細胞 (89%) において

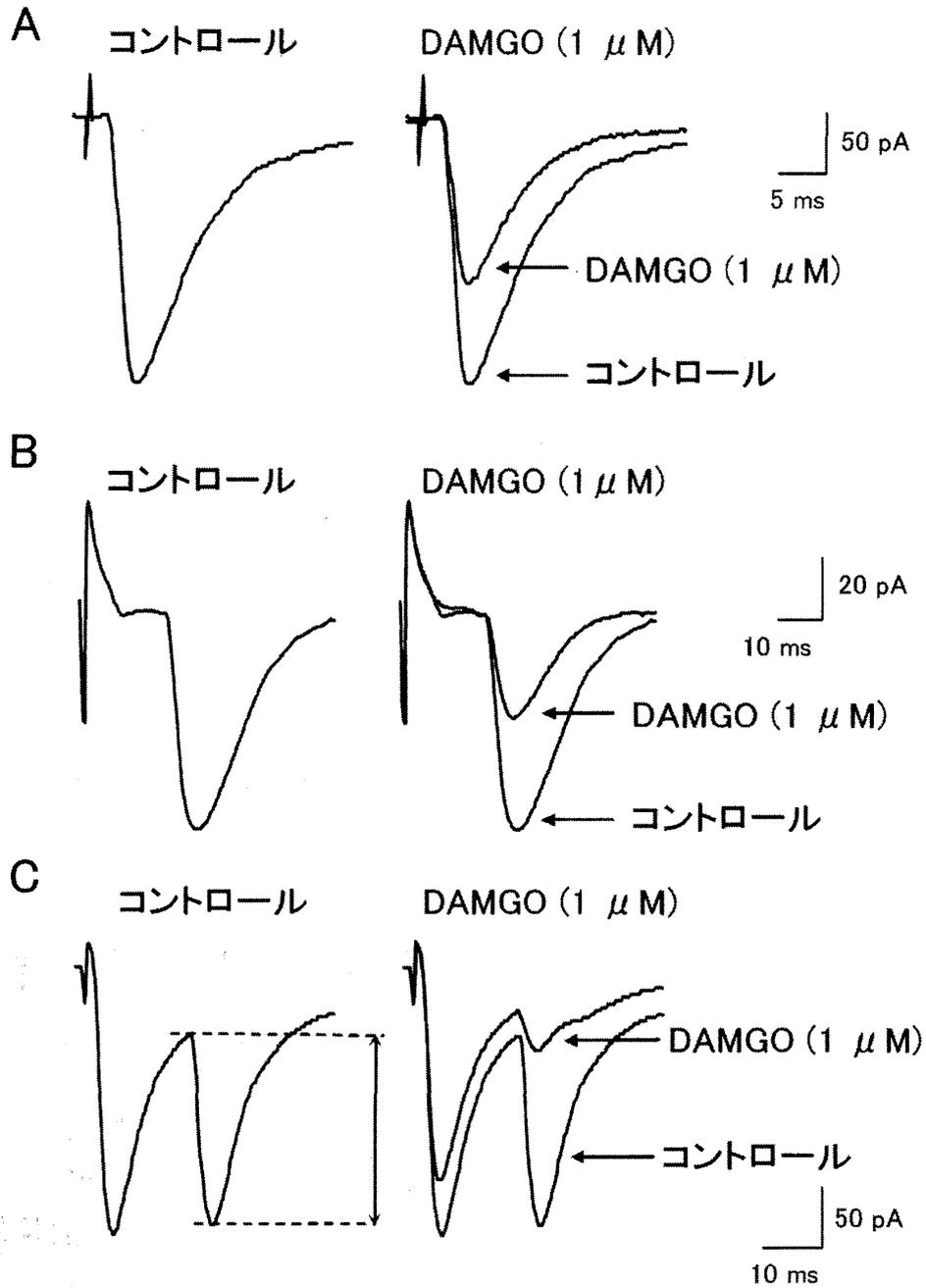


図1 A δ, C線維誘起 EPSC に対する μ 受容体アゴニストの作用

- A. μ 受容体アゴニスト (DAMGO, $1 \mu\text{M}$) の灌流投与前, 投与中の A δ 線維誘起 EPSC を示す. DAMGO の投与により, EPSC の振幅は減少した.
- B. μ 受容体アゴニスト (DAMGO, $1 \mu\text{M}$) の灌流投与前, 投与中の C 線維誘起 EPSC を示す. DAMGO の投与により, EPSC の振幅は減少した.
- C. μ 受容体アゴニスト (DAMGO, $1 \mu\text{M}$) の灌流投与前, 投与中の A δ, C 線維誘起 EPSC を示す. DAMGO の投与により, 誘起 EPSC の振幅は両線維とも減少したが, C 線維のほうがより大きく抑制された. 点線は C 線維誘起 EPSC の振幅の計測方法を示す.

各々の記録は 5 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.

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	17/19 (89 %)	9/13 (69 %)	3/9 (33 %)
C	11/12 (92 %)	7/20 (35 %)	2/10 (20 %)

μ 受容体作動薬はほとんどすべての細胞で (約 90%), A δ , C 線維誘起 EPSC の振幅を抑制した. また δ 受容体作動薬は 69% の細胞で A δ 線維誘起 EPSC を抑制したが, C 線維誘起 EPSC は 35% の細胞しか抑制しなかった. 一方, κ 受容体アゴニストは A δ , C 線維誘起 EPSC とも約 30% の細胞しか抑制しなかった. なお, 5% 以上抑制したものを抑制細胞とした.

認められた (表 1). 同様に, C 線維誘起 EPSC の振幅は, 170 \pm 37 pA から 74 \pm 14 pA (n = 11) に減少し, コントロール値に対して 44 \pm 8% に抑制された (p < 0.01, 図 1B). 抑制作用は, 12 細胞中 11 細胞 (92%) において認められた (表 1). 次に, μ 受容体アンタゴニスト (CTAP, 1 μ M) を用いて, DAMGO による振幅の抑制作用が拮抗されるか調べたところ, 観察した全ての細胞で拮抗された (A δ ; n = 3, C; n = 2, A δ + C; n = 2, 図 2A 上). DAMGO による作用の経時的变化は, A δ , C 線維において, それぞれの反応がピークに達するまでの時間に差はなかった (図 2A 下). A δ , C 線維を介する誘起 EPSC の抑制を比較すると C 線維の方が A δ 線維に比べ有意に大きかった (p < 0.01, 図 2B).

2) A δ 線維・C 線維誘起 EPSC に対する δ オピオイド受容体アゴニストの作用

δ 受容体アゴニスト (DPDPE, 1 μ M) も, A δ 線維誘起 EPSC の振幅を 283 \pm 37 pA から 235 \pm 31 pA (n = 9) に減少させ, コントロール値に対して 83 \pm 2% に抑制した (p < 0.01, 図 3A, 表 1). この作用は 13 細胞中 9 細胞 (69%) で認められた. しかし, C 線維誘起 EPSC の抑制は, 20 細胞中 7 細胞 (35%) にしか認められず, 振幅も減少しなかった (p > 0.01, 図 3B, C, 表 1).

3) A δ 線維・C 線維誘起 EPSC に対する κ オピオイド受容体アゴニストの作用

μ , δ 受容体アゴニストと異なり, κ 受容体アゴニスト (U-69593, 1 μ M) を作用させたとき, A δ 線維誘起 EPSC の振幅は 228 \pm 29 pA から 209 \pm 15 pA (n = 3) に減少し, コントロール値に対して 82 \pm 2% に抑制されたが, この減少は 9 細胞中 3 細胞 (33%) にしか認められなかった. C 線維誘起 EPSC の抑制は 10 細胞中 2 細胞 (20%) にしか認められず, 50 pA から 31 pA に減少 (62% に抑制) したものと 110 pA が 95 pA に減少 (87% に抑制) したものであった.

考 察

脊髄スライス標本を用いて, 一次求心性線維 (A δ 線維または C 線維) 誘起シナプス応答における μ , δ , κ オピオイド受容体アゴニストによるシナプス前抑制作用を膠様質細胞から記録した. 抑制された細胞の割合は各オピオイド群で異なっていた. そこで, 図 4 に全記録細胞を対象にした各オピオイド受容体アゴニストの誘起興奮性シナプス応答に対する抑制率を示した. μ 受容体アゴニストは膠様質細胞で観察される A δ 線維および C 線維誘起 EPSC の振幅を減少させたが, C 線維を介する応答をより強く抑制した. また,

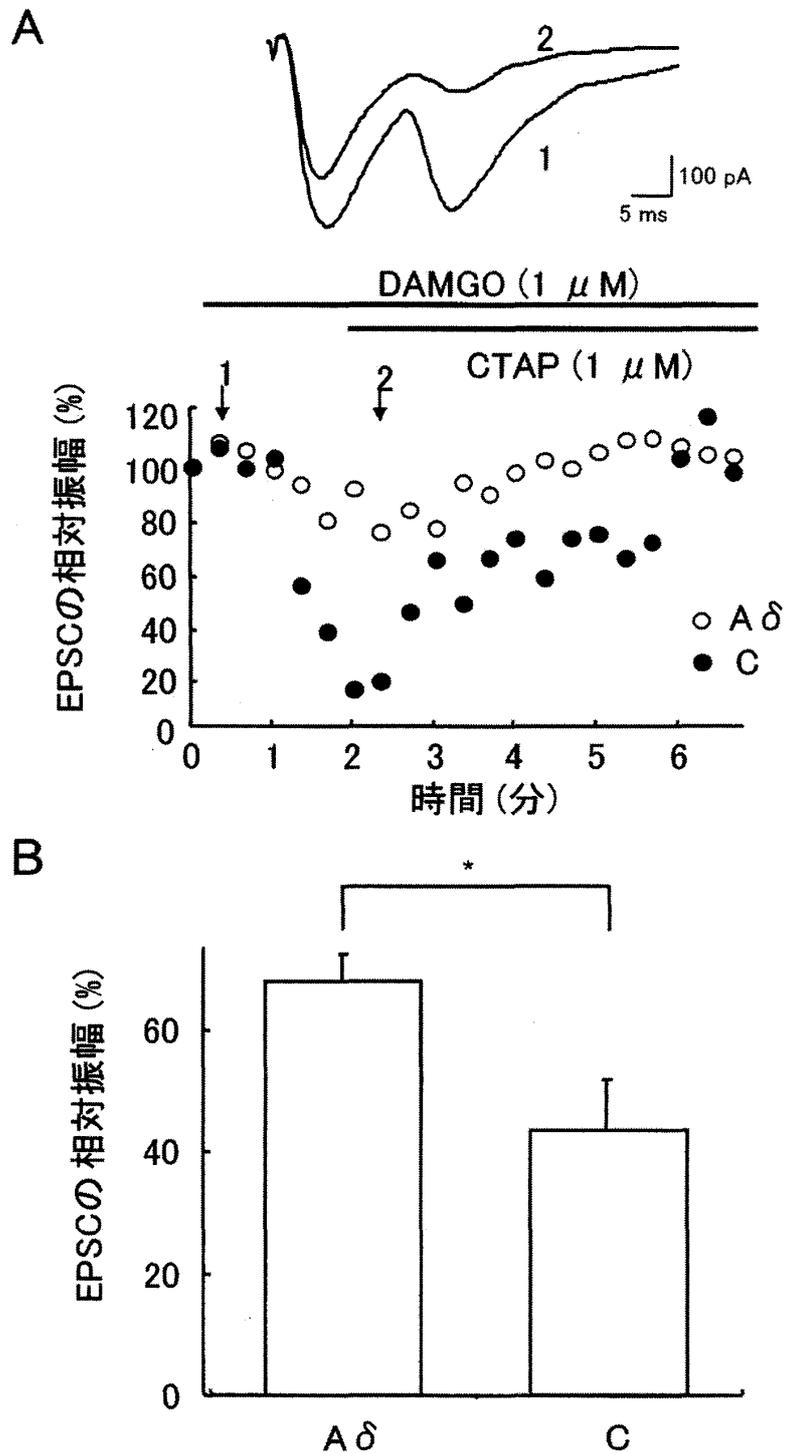


図2 A δ , C線維誘起 EPSC に対する μ 受容体アゴニストの作用の経時的变化, および相対振幅の比較

A. A δ , C線維誘起 EPSC の振幅に対する μ 受容体アゴニスト (DAMGO, 1 μ M) の作用を経時的に示す. DAMGO の作用は μ 受容体アンタゴニスト (CTAP, 1 μ M) によって拮抗された

B. A δ 線維より C線維を介した応答の抑制率のほうが有意に大きかった. * $p < 0.01$

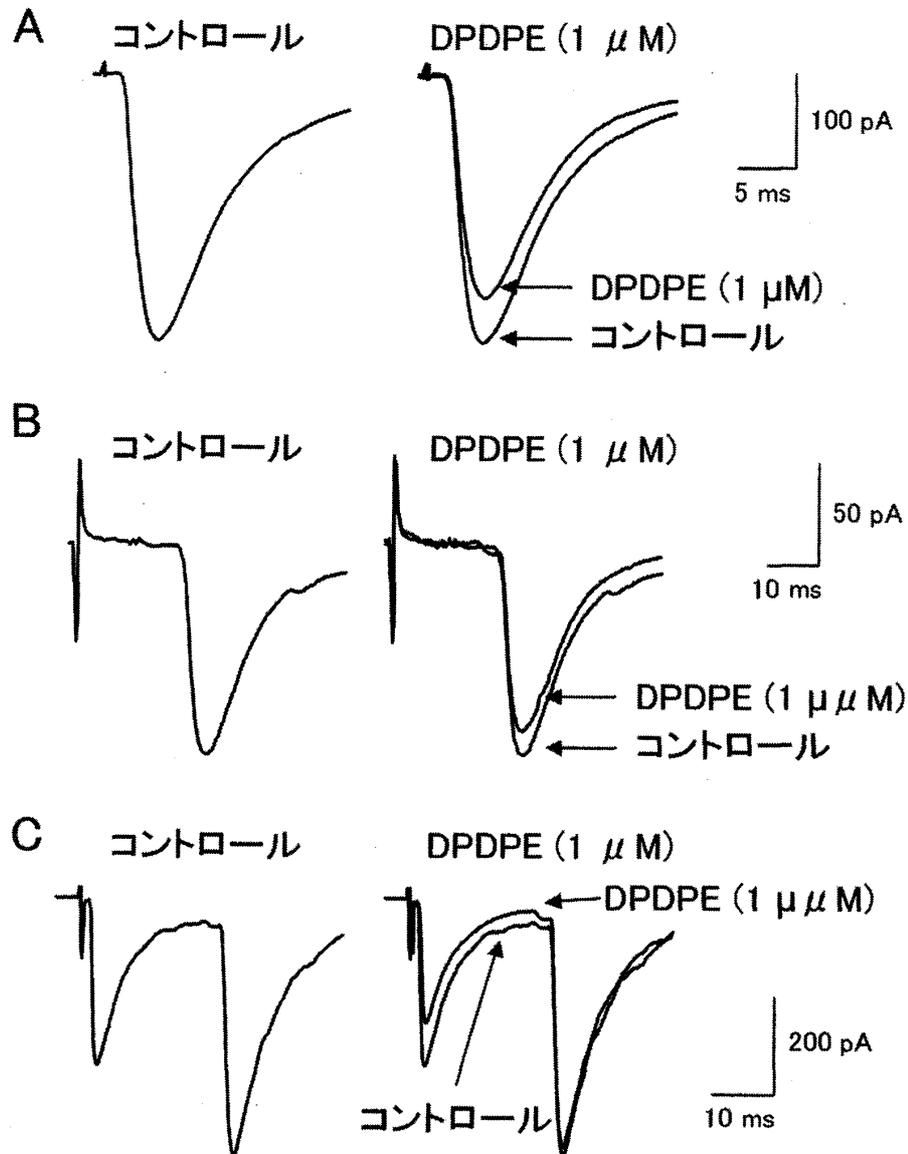


図3 A δ , C線維誘起 EPSC に対する δ 受容体アゴニストの作用

- A. δ 受容体アゴニスト (DPDPE, 1 μ M) の灌流投与前, 投与中の A δ 線維誘起 EPSC を示す. DPDPE の投与により, EPSC の振幅は減少した.
- B. δ 受容体アゴニスト (DPDPE, 1 μ M) の灌流投与前, 投与中の C 線維誘起 EPSC を示す. DPDPE の投与により, EPSC の振幅は減少しなかった.
- C. δ 受容体アゴニスト (DPDPE, 1 μ M) の灌流投与前, 投与中の A δ , C 線維誘起 EPSC を示す. DPDPE の投与により, A δ 誘起 EPSC の振幅は減少したが, C 線維誘起 EPSC の振幅は減少させなかった.

各々の記録は 5 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.

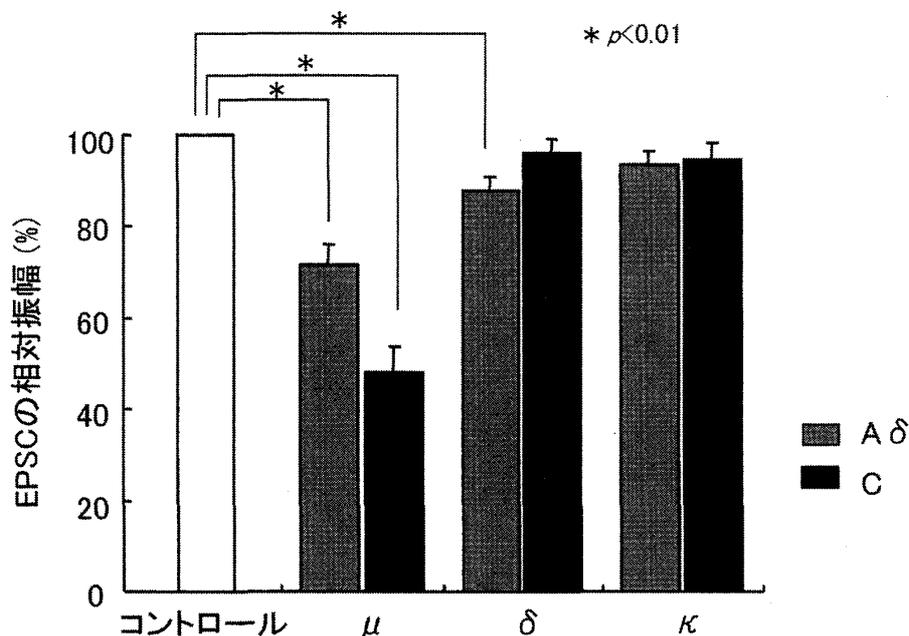


図4 全記録細胞におけるA δ , C線維誘起EPSCに対する各オピオイド受容体アゴニストの抑制率

μ 受容体アゴニストはA δ , C線維誘起EPSCの振幅をコントロールに比してそれぞれ71 ± 5% (n = 19; p < 0.01), 48 ± 6% (n = 12; p < 0.01)に減少させた。 δ 受容体アゴニストはA δ 線維誘起EPSCの振幅を88 ± 3% (n = 13; p < 0.01)に減少させたが, C線維誘起EPSCを減少させなかった (n = 20; p > 0.01)。一方, κ 受容体アゴニストはA線維, C線維誘起EPSCとも抑制しなかった (n = 9, n = 10; p > 0.01)。

δ 受容体アゴニストはA δ 線維誘起EPSCの振幅を減少させたが, C線維誘起EPSCでは有意な抑制を認めなかった。一方, κ 受容体アゴニストはA線維, C線維誘起EPSCとも振幅に影響を与えなかった。すでにオピオイドによるA δ 線維誘起EPSCの抑制についてはKohnoら²¹⁾が報告している。本研究の結果は, それぞれのオピオイド受容体アゴニストによる, 振幅の抑制率および抑制された細胞の割合とも, この報告と一致していた。

μ 受容体は中枢神経の様々な部位に存在するが, 脊髄後角においては主に浅層部 (I, II層) に局在している¹¹⁾³⁰⁾。 μ , δ , κ 各受容体の脊髄内分布は, それぞれ70%以上, 23%以下, 7%以

下と μ 受容体が最も多い¹¹⁾³¹⁾。また, 一次求心性線維を切断することによって, 脊髄後角浅層部の μ 受容体が著明に減少することから, μ 受容体の70%以上がシナプス前性の神経終末に存在していることが示唆される¹¹⁾³⁰⁾。早くて鋭い痛みを伝導する有髄性のA δ 線維は主に脊髄後角I, II, V層に終末し, 遅くて鈍い痛みを伝導する無髄性Cの線維はI, II層に終末するので, 膠様質細胞は侵害刺激を伝えるどちらの線維からも入力を受けている。本研究では膠様質細胞から記録しているが, μ 受容体はどちらの線維に多く存在しているのだろうか。オートラジオグラフィや免疫組織学的手法を用いた過去の研究では, A α/β 線維に比べA δ およびC線維に μ 受容体が多く

存在し、さらに A δ 線維よりも C 線維のほうが多いことが示されている³⁰⁾³²⁾³³⁾。これらのことから、本研究による A δ 線維を介するシナプス応答に比べ、C 線維を介する応答が有意に抑制されたのは、 μ 受容体の分布密度の違いによると考えられる。一方、RT95 (有髄性線維のマーカー) 陽性の線維と μ 受容体は共存しないと報告³⁰⁾もあるが、本研究の結果からは有髄線維である A δ 線維にも明らかに μ 受容体は存在していることが示された。また、 μ 受容体はシナプス前性の N 型電位依存性カルシウムチャネルを抑制し³⁴⁾、興奮性神経伝達物質の放出を抑制する²⁰⁾²¹⁾が、 μ 受容体が活性化された後の電位依存性カルシウムチャネルの抑制作用の機序が A δ 線維と C 線維で異なる可能性もある。

一方、 δ 受容体アゴニストは、 μ 受容体アゴニストに比べ A δ 線維応答の抑制率が小さかった。その説明として、 δ 受容体も μ 受容体と同じく、脊髄後角浅層に主に存在するが、分布密度は 23% 以下と μ 受容体 (70% 以上) に比べ少ないこと¹¹⁾³¹⁾、本研究で使用した δ 受容体アゴニスト DPDPE の力価は、 μ 受容体アゴニスト DAMGO の 1/10 以下であること³⁵⁾などが考えられる。さらに、 δ 受容体アゴニストは A δ 線維応答を抑制するが C 線維応答を抑制しなかった。 δ 受容体は一次求心性線維終末、特に C 線維終末に多く存在するという報告がある³⁶⁾³⁷⁾。本研究の結果とこれらの報告は矛盾するが、その理由は明らかでない。 κ 受容体も同様に脊髄後角浅層の C 線維神経終末に優位に存在すると報告されているが¹¹⁾³⁸⁾、他のサブタイプに比べ分布密度が低いために、抑制された細胞も少なく抑制率も低かったと考察される。

モルヒネを全身投与したとき、A δ 線維に比べ C 線維を介する痛みに対して、より強い鎮痛効果があると報告されている¹⁾²⁾。オピオイド受容体アゴニストを脊髄クモ膜下に投与した場合はどうか。Wang らは μ 受容体アゴニストを脊髄クモ膜下に投与した場合でも C 線維の方がより抑制が強いと報告した⁹⁾。また、Lu らは μ オピオイド受容体アゴニストの A δ 線維と C 線維に

対する用量反応曲線の傾きが異なり単純に比較できないものの、低濃度の μ 受容体アゴニストは C 線維を介する反応をより強くおさえることを示した¹⁰⁾。本研究から得られた、 μ 受容体アゴニストのシナプス前抑制作用は A δ 線維よりも C 線維を介するもののほうが強いという結果は、これらの行動学実験結果の根拠となるかもしれない。しかし、実際には脊髄クモ膜下に投与したオピオイドは、シナプス前性だけでなく、シナプス後性のオピオイド受容体にも結合する。また、今回記録した膠様質細胞はほとんどが介在ニューロンなので、これがどのように投射ニューロンの出力を制御するかは不明である。さらに、オピオイドには C 線維終末に多く存在する興奮性伝達物質サブスタンス P の放出を抑制する作用があるが²⁵⁾³⁹⁾、これも鎮痛作用に影響している可能性がある。したがって、本研究の結果だけで A δ 線維と C 線維を介するオピオイドの鎮痛作用の違いをすべて説明できるわけではないが、少なくともひとつの根拠となると考えられる。

参考文献

- 1) Cooper BY, Vierck CJ, Jr. and Yeomans DC: Selective reduction of second pain sensations by systemic morphine in humans. *Pain* 24: 93-116, 1986.
- 2) Yeomans DC, Pirec V and Proudfit HK: Nociceptive responses to high and low rates of noxious cutaneous heating are mediated by different nociceptors in the rat: behavioral evidence. *Pain* 68: 133-140, 1996.
- 3) Pirec V, Laurito CE, Lu Y and Yeomans DC: The combined effects of N-type calcium channel blockers and morphine on A delta versus C fiber mediated nociception. *Anesth Analg* 92: 239-243, 2001.
- 4) Carstens E, Tulloch I, Zieglansberger W and Zimmermann M: Presynaptic excitability changes induced by morphine in single cutaneous afferent C- and A- fibers. *Pflugers Arch* 379: 143-147, 1979.

- 5) Le Bars D, Guilbaud G, Jurna I and Besson JM: Differential effects of morphine on responses of dorsal horn lamina V type cells elicited by A and C fibre stimulation in the spinal cat. *Brain Res* 115: 518 - 524, 1976.
- 6) Johnson SM and Duggan AW: Evidence that the opiate receptors of the substantia gelatinosa contribute to the depression, by intravenous morphine, of the spinal transmission of impulses in unmyelinated primary afferents. *Brain Res* 207: 223 - 228, 1981.
- 7) Yaksh TL and Rudy TA: Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics. *Science* 192: 1357 - 1358, 1976.
- 8) Wang JK, Nauss LA and Thomas JE: Pain relief by intrathecally applied morphine in man. *Anesthesiology* 50: 149 - 151, 1979.
- 9) Wang C, Chakrabarti MK, Galletly DC and Whitwam JG: Relative effects of intrathecal administration of fentanyl and midazolam on A delta and C fibre reflexes. *Neuropharmacology* 31: 439 - 444, 1992.
- 10) Lu Y, Pirec V and Yeomans DC: Differential antinociceptive effects of spinal opioids on foot withdrawal responses evoked by C fibre or A delta nociceptor activation. *Br J Pharmacol* 121: 1210 - 1216, 1997.
- 11) Besse D, Lombard MC, Zajac JM, Roques BP and Besson JM: 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.
- 12) Faull RL and Villiger JW: 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.
- 13) Gouarderes C, Beaudet A, Zajac JM, 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.
- 14) Mansour A, Fox CA, Akil H and Watson SJ: Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci* 18: 22 - 29, 1995.
- 15) Merchenthaler I, Maderdrut JL, Altschuler RA and Petrusz P: Immunocytochemical localization of proenkephalin-derived peptides in the central nervous system of the rat. *Neuroscience* 17: 325 - 348, 1986.
- 16) Hunt SP, Kelly JS and Emson PC: The electron microscopic localization of methionine-enkephalin within the superficial layers (I and II) of the spinal cord. *Neuroscience* 5: 1871 - 1890, 1980.
- 17) Martin-Schild S, Zadina JE, Gerall AA, Vigh S and Kastin AJ: Localization of endomorphin-2-like immunoreactivity in the rat medulla and spinal cord. *Peptides* 18: 1641 - 1649, 1997.
- 18) Hutchison WD, Morton CR and Terenius L: Dynorphin A: in vivo release in the spinal cord of the cat. Release of dynorphin A in cat spinal cord in vivo. *Brain Res* 532: 299 - 306, 1990.
- 19) Grudt TJ and Williams JT: mu-Opioid agonists inhibit spinal trigeminal substantia gelatinosa neurons in guinea pig and rat. *J Neurosci* 14: 1646 - 1654, 1994.
- 20) Glaum SR, Miller RJ and Hammond DL: Inhibitory actions of delta 1-, delta 2-, and mu-opioid receptor agonists on excitatory transmission in lamina II neurons of adult rat spinal cord. *J Neurosci* 14: 4965 - 4971, 1994.
- 21) Kohno T, Kumamoto E, Higashi H, Shimoji K and Yoshimura M: Actions of opioids on excitatory and inhibitory transmission in substantia gelatinosa of adult rat spinal cord. *J Physiol* 518: 803 - 813, 1999.
- 22) Yoshimura M and North RA: Substantia gelatinosa neurones hyperpolarized in vitro by enkephalin. *Nature* 305: 529 - 530, 1983.
- 23) Williams JT, Christie MJ and Manzoni O: Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiol Rev* 81: 299 - 343, 2001.
- 24) Eckert WA, 3rd and Light AR: Hyperpolarization of substantia gelatinosa neurons evoked by mu-, kappa-, delta 1-, and delta 2-selective opioids. *J*

- Pain 3: 115 - 125, 2002.
- 25) Go VL and Yaksh TL: Release of substance P from the cat spinal cord. *J Physiol* 391: 141 - 167, 1987.
- 26) 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.
- 27) Yoshimura M and Jessell TM: Primary afferent - evoked synaptic responses and slow potential generation in rat substantia gelatinosa neurons in vitro. *Journal of Neurophysiology* 62: 96 - 108, 1989.
- 28) Nakatsuka T, Ataka T, Kumamoto E, Tamaki T and Yoshimura M: Alteration in synaptic inputs through C - afferent fibers to substantia gelatinosa neurons of the rat spinal dorsal horn during postnatal development. *Neuroscience* 99: 549 - 556, 2000.
- 29) Ataka T, Kumamoto E, Shimoji K and Yoshimura M: Baclofen inhibits more effectively C - afferent than A δ - afferent glutamatergic transmission in substantia gelatinosa neurons of adult rat spinal cord slices. *Pain* 86: 273 - 282, 2000.
- 30) Arvidsson U, Riedl M, Chakrabarti S, Lee JH, Nakano AH, Dado RJ, Loh HH, Law PY, Wessendorf MW and Elde R: Distribution and targeting of a mu - opioid receptor (MOR1) in brain and spinal cord. *J Neurosci* 15: 3328 - 3341, 1995.
- 31) Stevens CW, Lacey CB, Miller KE, Elde RP and Seybold VS: Biochemical characterization and regional quantification of mu, delta and kappa opioid binding sites in rat spinal cord. *Brain Research* 550: 77 - 85, 1991.
- 32) Fields HL, Emson PC, Leigh BK, Gilbert RF and Iversen LL: Multiple opiate receptor sites on primary afferent fibres. *Nature* 284: 351 - 353, 1980.
- 33) Gamse R, Holzer P and Lembeck F: Indirect evidence for presynaptic location of opiate receptors on chemosensitive primary sensory neurones. *Naunyn - Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 308: 281 - 285, 1979.
- 34) Abdulla FA and Smith PA: Axotomy reduces the effect of analgesic opioids yet increases the effect of nociceptin on dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci* 18: 9685 - 9694, 1998.
- 35) Dickenson AH, Sullivan AF, Knox R, Zajac JM and Roques BP: 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.
- 36) Abbadie C, Lombard MC, Besson JM, Trafton JA and Basbaum AI: Mu and delta opioid receptor - like immunoreactivity in the cervical spinal cord of the rat after dorsal rhizotomy or neonatal capsaicin: an analysis of pre - and postsynaptic receptor distributions. *Brain Res* 930: 150 - 162, 2002.
- 37) Cheng PY, Liu - Chen LY and Pickel VM: Dual ultrastructural immunocytochemical labeling of mu and delta opioid receptors in the superficial layers of the rat cervical spinal cord. *Brain Res* 778: 367 - 380, 1997.
- 38) Harris JA, Chang PC and Drake CT: Kappa opioid receptors in rat spinal cord: sex - linked distribution differences. *Neuroscience* 124: 879 - 890, 2004.
- 39) Kondo I, Marvizon JC, Song B, Salgado F, Codeluppi S, Hua XY and Yaksh TL: Inhibition by spinal mu - and delta - opioid agonists of afferent - evoked substance P release. *J Neurosci* 25: 3651 - 3660, 2005.

(平成 17 年 12 月 28 日受付)