

学位研究紹介

侵害刺激伝達メカニズムの解析に有用な  
新たな三叉神経スライス標本作製法の開発  
Novel trigeminal slice preparation  
method for studying mechanisms of  
nociception transmission

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯科麻酔学分野

平原三貴子

Division of Dental Anesthesiology, Niigata University Graduate  
School of Medical and Dental Sciences

Mikiko Hirahara

【目 的】

口腔顔面領域からの痛覚や触覚などの侵害または非侵害受容信号は三叉神経脊髄路核を介して伝達される。三叉神経脊髄路核は吻側亜核 (Vo), 中間亜核 (Vi), 尾側亜核 (Vc) に分類され, 特に Vc は脊髄後角と同様な層状構造を持ち, 三叉神経支配領域における痛覚の伝達に重要な役割を担っていると考えられている。分節性に求心路が収集している脊髄後角と異なり, 三叉神経における求心性入力には橋から脳幹に入り, 離れた場所にある神経核に達する。したがって, Vc ではスライス標本で求心性線維刺激による Vc ニューロンの反応を記録することは困難と考えられていた。そこで本研究では三叉神経入口部から同神経核までの構造を含むスライス標本を

作製し, 光学的分析によりスライス内の Vc の応答を可視化した。

【方 法】

実験には, C57/BL6J 雄性マウス (6~7 週齢) を用いた。深麻酔下で脳幹を摘出し, 氷冷した人口脳脊髄液 (ACSF) 中で, 三叉神経入口部, 神経路, Vc を含む平面でスライスし, 厚さ 600  $\mu\text{m}$  の標本作製した。作製したスライス標本は 60 分間室温の ACSF で灌流した後, カルシウムイオンと結合することにより蛍光特性が変化するカルシウム指示薬 Rhod-2 で 90 分間染色した。染色後, 31°C の ACSF を灌流しながら三叉神経入口部の神経線維を単電極で刺激し (刺激電流: 100  $\mu\text{A}$ , パルス

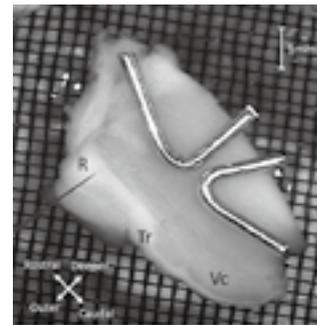


図1. 測定に用いたスライス標本  
単電極を用いて三叉神経入口部の電気刺激 (刺激電流: 100  $\mu\text{A}$ , パルス幅: 200  $\mu\text{secs}$ ) を行った。  
(R: 三叉神経入口部, Tr: 三叉神経脊髄路, Vc: 三叉神経脊髄路核尾側亜核)

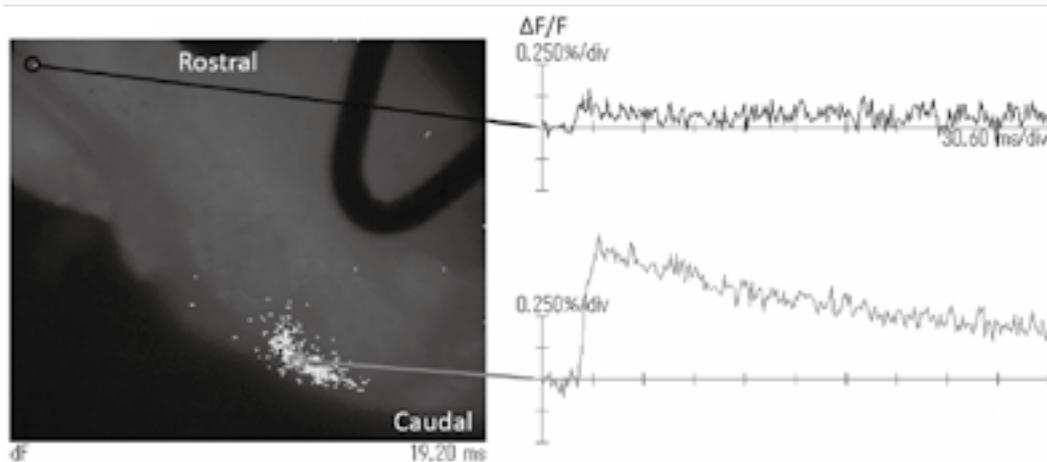


図2. 電気刺激時のカルシウム画像  
黒丸は電気刺激部, 赤丸は三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) 領域の一部を示している。Vc の浅層部で強いカルシウム濃度上昇が認められたが, 吻側亜核や中間亜核では認められなかった。

幅: 200  $\mu$  secs), 細胞内カルシウム濃度の変化を記録した。得られた反応がシナプスを介したものであるか確認するため, グルタミン酸受容体ブロッカーの CNQX および MK-801 を含む ACSF を灌流し, 再度測定を行った。またスライス標本の組織構造を観察するため, Kluber-barrera 染色を行った。

### 【結果と考察】

本スライス標本で三叉神経入口部を電気刺激した結果, Vc の浅層に沿って強いカルシウム反応が得られた。しかし Vi や Vo には反応が観察されなかった。これは求心性線維の脊髓路への投射方向が異なるため, Vc と同じ平面では Vi や Vo で反応しなかったと考えられた。また Vc では形態的にも層状構造が認められ, 浅層部に

高密度のカルシウム反応が観察された。しかし深層での反応は認められなかった。これはこの平面において, 深層には求心性線維は投射しておらず, 浅層のみに投射するためと考えられた。よって本スライス標本は浅層にのみ神経線維の連続性が保持できるということになる。また, 本研究での Vc での反応は CNQX により低下したことより, Vc における反応は主に AMPA/kinate 型グルタミン酸受容体を介した post synaptic な反応であると考えられた。Vc は顎顔面領域の侵害受容性一次ニューロンが投射し, 侵害情報の伝達を行う場所であることより, この反応は顎顔面領域の痛覚伝達に関与した入力により生じたものに相当すると考えられた。以上の研究結果より, 本方法により作製されたスライス標本は, 口腔顔面領域の痛覚伝達メカニズムの研究に有用であると考えられた。