



Title	三叉神経脊髄路核尾側亜核における痛覚伝達制御機構に関する研究
Author(s)	澁谷, 徹
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3052247
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文表題：

三叉神経脊髄路核尾側亜核における
痛覚伝達制御機構に関する研究

所属：岩手医科大学歯学部歯科麻酔学講座

(主任：城 茂治教授)

著者名：澁谷 徹

緒言

末梢に加えられた痛み刺激は、一次求心性線維末梢端の自由終末に存在する痛覚受容器を興奮させる。ここで発生したインパルスは、脊髄後角に至り、シナプスを介して二次ニューロンに伝えられ上行し、脳幹網様体、視床などを通り大脳皮質知覚領に達する。この痛覚伝導路のうち、第一次中継核の存在する脊髄後角には、[Met⁵]-enkephalin ([Met]-enk)などの内因性鎮痛ペプチドが高濃度に分布していることから¹⁾、髄節性制御と呼ばれる内因性鎮痛ペプチドを含む脊髄固有介在ニューロンを介した痛覚伝達調節機構が存在することが示唆されている²⁾。また、脊髄後角での痛覚情報伝達は、延髄網様体、大縫線核などの上位中枢からの下行性抑制系による制御も受けることが明らかにされている^{3, 4)}。このように脊髄後角は痛覚の伝達、制御に關与する重要な部位である。

口腔領域の知覚に關与する三叉神経系のうち、三叉神経脊髄路核尾側亜核 (SpVc) 浅層領域は、形態学的、生理学的に脊髄後角の浅層領域に類似することから⁵⁾、口腔領域に加えられた侵害情報は、本部位を介し、上位中枢へ伝達されるものと考えられる⁶⁻⁹⁾。しかしながら、SpVc浅層領域における痛覚伝達の制御機構については、脊髄後角ほどいまだ十分検討されておらず、不明な点も多い。一方、齒髓に加えられた刺激は、ほぼ純粋な痛みとして認識されることが知られている^{10, 11)}。そこで本研究では、家兎を用いて、SpVc浅層領域の局所灌流を行い、痛覚伝達物質の1つと考えられている substance P (SP) の齒髓刺激に伴う遊離変動を指標として、本部位での痛覚伝達制御機構について検討を行った。

実験方法

実験 1 髄節性制御機構について

1) 三叉神経脊髄路核尾側亜核浅層領域の灌流

実験には、体重 2.5~3.0 kg の雄性家兎を用いた。urethane (1.0 g/kg i.p.) にて麻酔した後、下顎切歯歯髄に刺激用の双極性電極（直径 0.1 mm、エナメル線）を挿入し、脳定位固定装置に固定した。cisterna magna の硬膜（atlanto-occipital membrane）を切除し、obex より尾側 1.5 mm、歯髄刺激電極装着歯と同側に正中より 2.0 mm、深さ 1.0~1.2 mm の位置に push-pull cannula（図 1）を挿入し、SpVc 浅層領域を灌流した。灌流液として、37℃ に加温し、95% O₂、5% CO₂ 混合ガスで飽和した人工脳脊髄液（NaCl 128.5 mM、KCl 3.0 mM、CaCl₂ 1.15 mM、MgCl₂ 0.80 mM、NaHCO₃ 21.0 mM、Na₂HPO₄ 0.25 mM、glucose 3.4 mM、pargyline 0.075 mM、desipramine 0.038 mM、bes-

tatin 0.03mg/ml) を用いた。流速 50 μ l/min で灌流を行い、試料は 20分毎に氷冷下採集した。

2) 歯髄刺激

歯髄刺激として、10V または 40V 矩形波を用い、100Hz、0.5msec duration、5 pulses/train、repetition rate 2Hz の条件で 20分間電気刺激を行った。

3) SP および [Met]-enk 量の測定

SpVc 浅層領域の灌流液中の SP および [Met]-enk 量は、試料を凍結乾燥した後、[¹²⁵I]-SP、[³H]-[Met]-enk を用いた radioimmunoassay により測定を行った。測定に用いた SP 抗体は、neurokinin A に対して 1% 未満、neurokinin B に対しては 0.2% 未満の cross-reactivity を示した。[Met]-enk 抗体は、[Leu⁵]-enkephalin に対して 0.4% 未満の cross-reactivity を示し、一方 SP に対しては cross-reactivity を示さなかった。本研究で測定されたものは、正確には SP-like immuno-

reactivityあるいは [Met]-enk-like immuno-reactivityと呼ぶべきであるが、本論文においては単に SP および [Met]-enk と呼ぶものとする。

測定された SP および [Met]-enk 量は、歯髓刺激前あるいは薬物投与前の3つのフラクションの平均を100とし、% of control で示した。各フラクション間の比較は、control とした3つのフラクションの平均に対する対応のある t 検定を用い、また各群間の比較は、対応のない t 検定を用いて行い、危険率5%未満を有意とした。

4) opioids の影響

歯髓刺激の20分前に morphine (10 mg/kg) を静脈内投与し、歯髓刺激に伴う SP 遊離に対する影響を調べた。(以下、静脈内投与を全身投与という。)また、歯髓刺激中ならびにその前後100分間、morphine (10^{-6} M) および [D-Ala², Met⁵]-enkephalinamide (10^{-4} M; [Met]-enk の類似体) を灌流液中に添加したときの

SP遊離の変動についても検討を行った。(以下、灌流液中に添加することを局所投与という。)さらに、これらopioidsに対するnaloxoneの影響について検討するため、naloxone(5mg/kg)の全身投与、あるいはnaloxone($5 \times 10^{-7}M$ または $5 \times 10^{-5}M$)の局所投与を行った。

実験2 下行性monoamine抑制系について

1) norepinephrine(NE)およびserotonin(5-HT)の測定

α -chloralose(50mg/kg)を腹腔内投与した後ether麻酔下で気管切開を行い、alcuronium(0.5mg/kg i.v.)にて不動化し、実験1と同様な方法でSpVc浅層領域の灌流を行った。下行性monoamine抑制系に対する歯髄刺激、morphine全身投与(10mg/kg i.v.)、ならびに両者を併用した場合の影響を検討するため、灌流液中でのNE、5-HTおよびそれらの代謝産物の変動を高速液体クロマトグラフ電気化学検出器を用いて測定した。歯髄刺激は、実験

1 と同一条件で10分間の電気刺激を行った。測定された5-HT量は、歯髄刺激前あるいは薬物投与前の2つのフラクシヨンの平均を100とし、% of control で示した。

2) 5-HT、methysergideの影響

5-HT (10^{-6} M) を歯髄刺激中ならびにその前後100分間、SpVc浅層領域に局所投与し、歯髄刺激に伴うSP遊離に対する影響について検討を行った。さらに、5-HTの局所投与、morphineの全身投与に加えて、5-HTの拮抗薬の1つであるmethysergide (10^{-4} M)の局所投与を行い、歯髄刺激に伴うSP遊離に対する影響を調べた。

3) 大縫線核電気刺激の影響

下行性5-HT系の起始核と考えられている大縫線核に同心円状刺激電極を挿入し、10V矩形波、250Hz、0.5msec duration、4 pulses/train、repetition rate 2Hzの条件で20分間電気刺激を行い、SpVc浅層領域での5-HTの遊離について調べた。また、大縫線核を歯髄刺

激 10 分 前 から 刺 激 終 了 ま で の 20 分 間 電 気 刺 激
し、 歯 髓 刺 激 に 伴 う SP 遊 離 に 対 す る 影 響 に つ
い て も 検 討 し た。

実験結果

1) 歯髄刺激による SP、[Met]-enk 遊離の変化

SpVc 浅層領域の灌流液中への、SP および [Met]-enk の自然遊離量は、それぞれ 0.016 ± 0.002 pmol/ml (mean \pm SEM, $n = 30$)、 6.5 ± 1.0 fmol/ml (mean \pm SEM, $n = 30$) であった。実験終了後に組織切片を作製し、push-pull cannula の先端が SpVc 浅層領域に正しく挿入されていることを確認した。図 2 にその組織切片の 1 つを示す。矢印の部位は push-pull cannula の先端を示している。

10V の歯髄刺激により、灌流液中の SP 量は増加傾向を示した (図 3)。一方、40V の歯髄刺激では、図 4 に示すように著明な SP 遊離増加が認められた。そこで以後の実験では、歯髄刺激としてすべて 40V の電気刺激を用いた。

灌流液中の [Met]-enk 量は、SP と同様に 40

V の 歯 髓 刺 激 に よ り 有 意 に 増 加 し た (図 5) 。

2) 歯 髓 刺 激 に 伴 う SP遊 離 に 対 す る morphine 投 与 の 影 響

歯 髓 刺 激 に 伴 う SP遊 離 増 加 は 、 歯 髓 刺 激 の 20分 前 に morphine (10mg/kg) を 全 身 投 与 す る こ と に よ り 抑 制 さ れ た (図 6) 。 さ ら に morphine 投 与 の 10分 前 に naloxone (5mg/kg) を 全 身 投 与 す る と 、 morphine に よ る SP遊 離 抑 制 作 用 は 拮 抗 さ れ た (図 7) 。 一 方 、 morphine 全 身 投 与 に よ る SP遊 離 抑 制 作 用 は 、 naloxone の 局 所 投 与 ($5 \times 10^{-5} M$) で は 拮 抗 さ れ な か っ た (図 8) 。

ま た 、 歯 髓 刺 激 中 な ら び に そ の 前 後 100 分 間 、 morphine ($10^{-6} M$) を 局 所 投 与 す る こ と に よ っ て も 、 歯 髓 刺 激 に 伴 う SP遊 離 増 加 は 抑 制 さ れ 、 こ の 抑 制 作 用 は 、 naloxone ($5 \times 10^{-7} M$) の 局 所 投 与 に よ り 拮 抗 さ れ た (図 9) 。

3) 歯 髓 刺 激 に 伴 う SP遊 離 に 対 す る [D-Ala², Met⁵]-enkephalinamide 投 与 の 影 響

[Met]-enk の 類 似 体 で あ る [D-Ala², Met⁵]-

enkephalinamide (10^{-4} M) を局所投与することにより、歯髄刺激に伴う SP 遊離増加は抑制された。またこの抑制作用は、同時に naloxone (5×10^{-5} M) を局所投与することにより拮抗された (図 10)。

4) 灌流液中の NE、5-HT 量の変化

下行性 monoamine 系の関与を調べるため、SpVc 浅層領域での灌流液中の NE、5-HT 量の変動を測定した。図 11 に NE 測定のカロマトグラフの代表例を示す。SpVc 浅層領域の灌流液中では、epinephrine (E) が検出されたが、NE は検出されなかった。また、歯髄刺激あるいは morphine (10 mg/kg) の全身投与により、NE、E 遊離量には変化はみられなかった。

灌流液中の 5-HT 量は、歯髄刺激により増加傾向を示した (図 12)。morphine (10 mg/kg) を全身投与することにより 5-HT 量は有意に増加した (図 13)。また、morphine 全身投与後に歯髄刺激を行っても、morphine 単独と比べて 5-HT 量の変化には差はみられなかった。

5) 歯髄刺激に伴うSP遊離に対する5-HT投与の影響

歯髄刺激に伴うSP遊離増加は、5-HT (10^{-6} M) を局所投与することにより抑制された (図14)。この抑制作用は、5-HTの拮抗薬の1つである methysergide (10^{-4} M) を同時に局所投与することにより拮抗された。

またこの methysergide の局所投与は、morphine の全身投与によるSP遊離抑制作用に対しても拮抗作用を示した (図15)。

6) 大縫線核電気刺激のSP、5-HT遊離に対する影響

大縫線核の刺激電極挿入部位は、実験終了後に組織切片を作製することにより確認した。図16はその組織切片の1つで、矢印の部分が電極の先端が入っていた部位である。

大縫線核の電気刺激に伴い、SpVc浅層領域における5-HT遊離は著明に増加した (図17)。図18の左図は、大縫線核に刺激用電極の挿入だけを行い、歯髄を刺激したときのSP遊離の

変動を示したものである。右図は、歯髄刺激の10分前から大縫線核を先行刺激した時の結果である。歯髄刺激に伴うSP遊離増加は、大縫線核の先行刺激を行うことにより抑制された。

考 察

1 . 実 験 方 法 に つ い て

1) S p V c 浅 層 領 域 の 灌 流

体幹や四肢の侵害受容器からの一次求心性線維は、脊髓後角に存在する中継核を介して上位中枢へ痛覚情報を伝達する。一方、三叉神経系の一次求心性線維は、三叉神経主知覚核、三叉神経脊髓路核に投射する。三叉神経脊髓路核は、吻側亜核、中間亜核、尾側亜核に分けられ、中でも尾側亜核が主な痛覚情報の中継核とみられている^{1,2)}。

S p V c は、頸髄後角の延長であり、形態学的に脊髓後角に非常に類似している⁵⁾。これは外側から辺縁層、膠様質、大細胞層に分けられ、辺縁層、膠様質は、それぞれ脊髓後角の第 I 層、第 II 層に相当する。歯髄や口腔・顔面領域の侵害刺激に特異的に応答するニューロンは、この辺縁層と膠様質外層部に存在する⁶⁻⁸⁾。これらの侵害受容線維の中枢側の局

在部位と、末梢側の侵害受容野との間には一定の規則性があり、第3枝領域は背内側、第1枝領域は外側から腹外側に、第2枝領域は両者の中間に投射している¹³⁾。本研究では、侵害刺激として下顎切歯歯髄に電気刺激を行っているため、ここからの神経線維が投射すると考えられる尾側亜核の背内側部の辺縁部を局所灌流し、ここでの神経伝達物質遊離の変動について検討を行った。

局所灌流は、図1に示すような push-pull cannula を用いて行った。Kuraishiら¹⁴⁾は同様の方法で家兎の脊髓後角の局所灌流を行い、末梢の侵害性圧刺激と熱刺激に伴う神経伝達物質遊離の変動について研究を行っている。この方法は、脊髓灌流法や脳室内灌流法に比べてより局所の詳細な神経活動を調べる方法として有用である。

2) 歯髄刺激

歯髄に加えられた刺激は、ほぼ純粋な痛み

として認識されることが知られている^{10, 11)}。本研究では、侵害刺激として歯髄に挿入した双極性電極を介して電気刺激を行った。齧歯動物では、歯髄に加えられた電気刺激は、歯髄のみならず周囲組織にも広がり、侵害刺激以外の刺激も与えるという意見もある^{15, 16)}。しかしながら逆に、ラットの下顎切歯では、周囲への電流の伝播は見られなかったという報告もあり¹⁷⁾、また、ラットの切歯歯髄の電気刺激により得られた三叉神経脊髄路核尾側亜核における誘発電位は、ネコの犬歯の電気刺激により得られたものと同様であるとの報告もある¹⁷⁾。従って、本研究で用いた家兎の切歯歯髄の電気刺激は、歯髄からの求心性線維だけを選択的に刺激することは困難であるが、歯髄の侵害受容器を興奮させるには十分であったものと思われる。

2. 実験結果について

1) 歯髄刺激に伴うSP遊離の変動について

SPは、一次求心性線維の神経伝達物質の有
力な候補の一つであり、特に痛覚伝達との関
連で注目されている^{18, 19)}。SPは脊髄後角お
よびSpVcに高濃度に存在し^{20, 21)}、後根を切
断することにより、脊髄後角のSP量は著明に
減少する²⁰⁾。また、in vitroの脊髄標本を用
いた実験では、後根刺激によりSP放出量が増
加することが明らかとされている²²⁾。

Yakshら²³⁾は、in vivo実験で、ネコの
脊髄灌流液中のSP量が、坐骨神経のA δ 、C
線維の刺激により著明に増加し、この作用は
灌流液中に微量のmorphineを添加すること
により抑制されることを報告している。また、
Kuraishiら¹⁴⁾は、本研究と同様な方法で家
兎の脊髄後角の局所灌流を行い、末梢の侵害
刺激に応じて灌流液中のSP量が増加するこ
とを報告している。本研究では、歯髄刺激に伴
いSpVc浅層領域の灌流液中で、著明なSP量増
加が観察された。前述したように、歯髄刺激
は比較的純粹な痛みを発現すること、また、

灌流部位は主として下顎切歯歯髄からの神経線維の投射を受けていることを考慮すれば、歯髄刺激に伴う灌流液中でのSP遊離量の増加は、一次求心性線維中枢端より痛みに対応して遊離されたものと考えられる。しかしながら、SPを含む介在ニューロン、下行性線維の存在も報告されており^{24, 25)}、本研究で測定されたSPすべてが一次求心性線維由来のものであるかどうかは不明である。

2) 髄節性制御機構について

脊髄後角の浅層領域には、[Met]-enkなどの内因性鎮痛ペプチドが高濃度に存在することが免疫組織学的に確認されている¹⁾。また、この部位に分布する一次求心性線維には、opiate receptorが存在することも見出されており^{26, 27)}、脊髄後角に存在する内因性鎮痛ペプチドを含む脊髄固有介在ニューロンを介した痛覚伝達制御機構(髄節性制御機構)が存在する可能性が示唆されている^{23, 28)}。

本研究においても、SpVc浅層領域の灌流液中には [Met]-enk が検出され、歯髄刺激に伴い SPと同様、[Met]-enk 遊離量は著明に増加した。

この SPと [Met]-enk 遊離に関しては、Tangら²⁹⁾ は、SPが脊髄後角の神経細胞を興奮させることにより [Met]-enk の遊離を惹起する可能性を報告している。また、Jesselら³⁰⁾ は、morphine、[Met]-enk がラット三叉神経脊髄路核からの SP遊離を抑制することから、節前性の SP遊離抑制機構が存在する可能性を報告している。本研究においても、morphine の SpVcへの局所投与により歯髄刺激に伴う SP遊離増加は抑制された。また、[Met]-enk の類似体である [D-Ala², Met⁵]-enkephalinamide の局所投与によっても歯髄刺激に伴う SP遊離増加は抑制され、これらはいずれも麻薬性鎮痛薬の拮抗薬である naloxoneの局所投与により拮抗された。以上のことから、SpVcでは、歯髄刺激により遊離された SPがさらに

[Met]-enk の遊離を引き起こし、この遊離された [Met]-enk が一次求心性線維からの SP 遊離を抑制することにより、歯痛伝達の調節を行っている可能性が考えられる (図 19)。

一方、morphine の全身投与によっても歯髄刺激に伴う SP 遊離は抑制され、この抑制作用は、naloxone の全身投与では拮抗されたが、局所投与では拮抗されなかった。このことは、morphine を全身投与した場合、morphine は SpVc に直接作用する以外に、下行性抑制系などを活性化することにより間接的に抑制作用を発揮する可能性を示唆している。

3) 下行性 monoamine 抑制系について

Reynolds は、中脳水道周囲灰白質の電気刺激が鎮痛効果を発現することを見出した³¹⁾。大縫線核や延髄傍巨大細胞網様核などでも同様の電気刺激による鎮痛効果が認められている^{31, 32)}。また、中脳水道周囲灰白質や延髄には、内因性鎮痛物質を含む神経や opiate

receptorが存在することも見出されている³³⁾。これらの下位脳幹部は、下行性抑制系線維を介して脊髄後角での痛覚伝達を抑制していると考えられている^{2, 34)}。この下行性抑制系に關与する神経線維としては、現在までのところ主として大縫線核を起始核とする5-HT系と、巨大細胞網様核を起始核とするNE系の存在が知られている^{2, 35-38)}。

本研究において、SpVc浅層領域の灌流液中の5-HT量は歯髄刺激に伴い増加傾向を示し、また、5-HTの灌流液中への局所投与により歯髄刺激に伴うSP遊離増加は抑制された。これらのことは、歯髄刺激により活性化された下行性5-HT系が、SpVcにおいてSP遊離を抑制することにより、歯痛伝達の調節を行っている可能性を示唆している(図19)。しかしながら、歯髄刺激に伴う5-HT遊離増加は、morphineの全身投与に伴うそれと比べると軽度であり、下行性5-HT系は歯髄刺激のみでは十分には活性化されず、morphineにより強く活性化され

ることが明らかとなった。

一方、NE系に関して、Kuraiishiら³⁹⁾は、脊髄後角における侵害刺激に伴うSP遊離が下行性NE系により抑制されることを報告している。本研究では、NEは灌流液中には検出されず、歯髄刺激、morphine投与によっても遊離増加はみられなかった。また、トリチウムでラベルしたNE($[^3\text{H}]-\text{NE}$)をSpVc浅層領域に取り込ませた後、灌流液中の比放射活性の変動を調べた猪木ら⁴⁰⁾の実験でも、歯髄刺激に伴う $[^3\text{H}]-\text{NE}$ 遊離の変化はみられなかった。これらのことから、下行性抑制系の作用は、部位によって異なり、SpVc浅層領域においては、下行性抑制系のうち主として5-HT系が歯痛伝達の調節に関与しているものと思われる。

morphineと下行性抑制系の関連について、Yakshら⁴¹⁾は、morphineの中脳水道周囲灰白質への局所投与により、鎮痛効果が発現されるとともに、脊髄の灌流液中に5-HTが遊離されることを報告している。また、Shiomiら

35) は、morphineの鎮痛量投与ならびに痛み刺激により、脊髄後角においてNE、5-HTの代謝産物が増加することを報告している。

本研究においても、大縫線核の電気刺激およびmorphineの全身投与に伴い、SpVc浅層領域において著明な5-HT遊離増加が観察された。また、大縫線核の先行刺激により、morphineを全身投与した場合と同様、歯髄刺激に伴うSP遊離増加は抑制された。さらに、morphineの全身投与によるSP遊離抑制作用がnaloxoneの局所投与では拮抗されず、5-HTの拮抗薬であるmethysergideの局所投与により拮抗された。これらの結果は、morphineによるSpVc浅層領域での歯髄刺激に伴うSP遊離の抑制作用には、大縫線核を起始核とする下行性5-HT系の活性化が強く関与しており、内因性鎮痛ペプチド系を含む髄節性制御機構の活性化よりも強力である可能性を示唆している。

結 論

家兎の SpVc 浅層領域の局所灌流を行い、歯髄刺激に伴う SP 遊離の変動を指標として、ここでの歯痛伝達制御機構について検討を行った。その結果、以下の結論が得られた。

1) 歯髄刺激に伴い、灌流液中の SP 量および [Met]-enk 量は著明に増加した。歯髄刺激に伴う SP 遊離増加は、morphine の全身投与ならびに灌流液中への局所投与により抑制された。また、[Met]-enk の類似体である [D-Ala², Met⁵]-enkephalinamide の局所投与も歯髄刺激に伴う SP 遊離増加を抑制した。以上のことから、SpVc 浅層領域では、歯髄刺激に伴って遊離された [Met]-enk が一次求心性線維からの SP 遊離を抑制することにより、歯痛伝達の調節を行っている可能性が示唆された。

2) 歯髄刺激に伴い灌流液中の 5-HT 量は増加した。一方 NE は灌流液中には検出されず、歯髄刺激によっても増加しなかった。また、歯

髓刺激に伴うSP遊離増加は、5-HTの局所投与ならびに大縫線核を先行刺激することにより抑制された。以上のことから、SpVc浅層領域では、大縫線核を起始核とする下行性5-HT系により歯痛伝達の調節が行われていることが示唆された。

3) Morphineは、痛覚伝導路の第一次中継核に直接作用し、歯髓刺激に伴う一次求心性線維からのSP遊離を抑制する効果を有するとともに、大縫線核からの下行性5-HT系を活性化することにより、間接的にSP遊離の調節に関与していることが明らかとなった。

稿を終えるにあたり、本研究を行う機会を与えて頂き、始終御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました、大阪大学歯学部歯科麻酔学講座松浦英夫教授に深く感謝いたします。また、本研究課題を与えられ、懇切な御指導と御校閲を賜りました、大阪大学歯学部歯科薬物学講座猪木令三教授に深謝の意を表わします。また、研究計画の立案と実施にあたり、始終ひとかたならぬ御指導とご鞭撻を賜りました、大阪大学歯学部歯科薬物学講座米原典史博士に心より感謝いたします。さらに、本研究を遂行するにあたり、御助言と御協力を頂きました、大阪大学歯学部歯科麻酔学講座および歯科薬物学講座の皆様、ならびに岩手医科大学歯学部歯科麻酔学講座城茂治教授に心より御礼申し上げます。

Mechanism of the Modulation of Pain Transmission at the
Subnucleus Caudalis of the Trigeminal Sensory Nuclear
Complex in Rabbits

Tohru Shibutani

Department of Dental Anesthesiology,
Iwate Medical University, School of Dentistry
1-3-27, Tyuodori, Morioka City, Iwate, Japan

Key Words: Trigeminal subnucleus caudalis, Push-pull cannula
system, Tooth pulp stimulation, Substance P,
Enkephalin, Serotonin

The modulation of dental pain transmission at the subnucleus caudalis of the trigeminal sensory nuclear complex (SpVc) was investigated in rabbits in vivo. The superficial layers of SpVc were perfused with artificial cerebrospinal fluid using a push-pull cannula system. Immunoreactive substance P (SP) released into the perfusates following electrical stimulation of the lower incisor pulp was measured.

The obtained results were as follows.

1. An increase in the release of SP and [Met⁵]-enkephalin was observed by the electrical stimulation with 40V.
2. The increase of SP release following electrical stimulation was inhibited by systemic administration of morphine (10 mg/kg i.v.) or local application of morphine (10⁻⁶M) to SpVc. The stimulus-evoked SP release was also inhibited by local application of [D-Ala², Met⁵]-enkephalinamide (an analog of [Met⁵]-enkephalin; 10⁻⁴M).
3. Spontaneous release of serotonin (5-HT) into the perfusates was observed, while that of norepinephrine was not. Tooth pulp stimulation tended to increase the level of 5-HT. Systemic administration of morphine (10mg/kg i.v.) and electrical stimulation of the nucleus raphe magnus (NRM) significantly enhanced the release of 5-HT.
4. The release of SP evoked by tooth pulp stimulation was inhibited by local application of 5-HT (10⁻⁶M) and electrical stimulation of NRM.

These results suggest that there are two modulatory systems controlling the delivery of the ascending sensory message at the superficial layers of SpVc. One is an intrinsic mechanism associated with the segmental enkephalinergic system, the other is a descending monoaminergic system originating in NRM. It is also

suggested that these two systems play an important role in producing the analgesic effect of morphine.

文 献

- 1) Hökfelt, T., Ljurgdahl, A., Terenius, L., Elde, R. and Nilsson, G. (1977): Immunohistochemical analysis of peptide pathways possibly related to pain and analgesia; Enkephalin and substance P. Proc.Natl.Acad.Sci., 74, 3081-3085.
- 2) Basbaum, A.I. and Fields, H.L. (1978): Endogenous pain control mechanisms; Review and hypothesis. Ann. Neurol., 4, 451-462.
- 3) Reynolds, D.V. (1969): Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. Science, 164, 444-445.
- 4) Fields, H.L. and Basbaum, A.I. (1978): Brainstem control of spinal pain-transmission neurons. Ann.Rev.

- Physiol., 40, 217-248.
- 5) Olszewski, J. (1950): On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus. J. Comp. Neurol., 92, 401-413.
- 6) Mosso, J.A. and Kruger, L. (1973): Receptor categories represented in spinal trigeminal nucleus caudalis. J. Neurophysiol., 36, 472-488.
- 7) Shigenaga, Y., Sakai, A. and Okada, K. (1976): Effects of tooth pulp stimulation in trigeminal nucleus caudalis and adjacent reticular formation in rat. Brain Res., 103, 400-406.
- 8) Yokota, T. (1975): Excitation of units in marginal rim of trigeminal subnucleus caudalis elicited by tooth pulp stimulation. Brain Res., 95, 154-158.

- 9) Dubner, R., Gobel, S. and Price, D.D. (1976): Peripheral and central trigeminal "pain" pathways; in Advances in Pain Research and Therapy. (Bonica, J.J. and Albe-Fessard, D., editor), ed.1, Raven Press, New York, 137-148.
- 10) Selle, B.J. (1979): Is the tooth pulp a "pure" source of noxious input?; in Advances in Pain Research and Therapy. (Bonica, J.J., Liebeskind, J.C. and Albe-Fessard, D., editor), ed.3, Raven Press, New York, 245-260.
- 11) Matthews, B., Baxter, J. and Watts, S. (1976): Sensory and reflex responses to tooth pulp stimulation in man. Brain Res., 113, 83-94
- 12) Yokota, T. (1985): Neural mechanisms of trigeminal pain; in Advances in

Pain Resesrch and Therapy. (Fields, H.L., Dubner, R. and Cervero, F., editor), ed.9, Raven Press, New York, 211-232.

- 13) Yokota, T., Koyama, N. and Matsumoto, N. (1985): Somatotopic distribution of trigeminal nociceptive neurons in ventrobasal complex of cat thalamus. J. Neurophysiol., 53, 1387-1400.
- 14) Kuraishi, Y., Hirota, N., Sato, Y., Hino, Y., Satoh, M. and Takagi, H. (1985): Evidence that substance P and somatostatin transmit separate information related to pain in the spinal dorsal horn. Brain Res., 325, 294-298.
- 15) Engstrand, P., Shyu, B.C. and Anderson, S.A. (1983): Is a selective stimulation of rat incisor tooth pulp possible? Pain, 15, 27-

34.

- 16) Hayashi, H. (1980): A problem in electrical stimulation of incisor tooth pulp in rats. *Exp. Neurol.*, 67, 438-441.
- 17) Dickenson, A.H., Hellon, R.F. and Woolf, C.J. (1981): Tooth pulp input to the spinal trigeminal nucleus; a comparison of inhibitions following segmental and raphe magnus stimulation. *Brain Res.*, 214, 73-87.
- 18) Otsuka, M. and Konishi, S (1983): Substance P - the first peptide neurotransmitter? *Trends in Neurosci.*, 6, 317-320.
- 19) 瀬川富朗, 仲田義啓, 日下歆子 (1980): 神経伝達物質 (サブスタンス P について) 蛋白質核酸酵素, 25(2), 43-52.
- 20) Hökfelt, T., Kellerth, J.O., Nilsson, G. and Pernow, B. (1975):

Experimental immunohistochemical studies on the localization and distribution of substance P in cat primary sensory neurons. Brain Res., 100, 235-252.

21) Kanazawa, I. and Jessell, T. (1976): Post mortem changes and regional distribution of substance P in the rat and mouse nervous system. Brain Res., 117, 362-367.

22) Otsuka, M. and Konishi, S. (1976): Release of substance P-like immunoreactivity from isolated spinal cord of newborn rat. Nature, 264, 83-84.

23) Yaksh, T.L., Jessel, T.M., Gamse, R., Mudge, A.W. and Leeman, S.E. (1980): Intrathecal morphine inhibits substance P release from mammalian spinal cord in vivo. Nature, 286, 155-157.

- 24) Cannon, D., Powell, D., Skrabanek, P., Strumillo-Dyba, E. and Traczyk, W.Z. (1980): SP-like immunoreactivity in cerebrospinal and perfusing cerebral ventricle fluid in rats; in *Neuropeptides and Neural Transmission*. (Ajmone Marson, C., Traczyk, W.Z., editor), ed.1, Raven Press, New York, 153-157.
- 25) Pelletier, G., Steinbusch, H.W.M and Verhofstad, A.A.J. (1981): Immunoreactive substance P and serotonin present in the same dense-core vesicles. *Nature*, 293, 71-72.
- 26) Fields, H.L, Emson, P.C., Leigh, B.K., Gilbert, R.F.T. and Iversen, L.L. (1980): Multiple opiate receptor sites on primary afferent fibers. *Nature*, 284, 351-353.
- 27) Atweh, S.F. and Kuhar, M.J. (1977):

Autoradiographic localization of
opiate receptors in rat brain.

I . Spinal cord and lower medulla.

Brain Res., 124, 53-67.

- 28) Anderson, R.K., Lund, J.P. and Puil,
E. (1978): Enkephalin and substance
P effects related to trigeminal pain.
Can. J. Physiol. Pharmacol., 56, 216-
222.
- 29) Tang J., Chou, J., Yang, H-Y.T. and
Costa, E. (1983): The effect of pep-
tidase inhibitors on the release of
Met⁵-enk-Arg⁶-Phe⁷ (YGGFMRF) and Met⁵-
enkephalin (YGGFM) from spinal cord
induced by substance P in vivo. Life
Sci., 33 (Suppl. 1), 121-124.
- 30) Jessel, T.M. and Iversen, L.L. (19
77): Opiate analgesics inhibit sub-
stance P release from rat trigeminal
nucleus. Nature, 268, 549-551.

- 31) Rhodes, D.L. and Liebeskind, J.C.
(1978): Analgesia from rostral brain stem stimulation in the rat. Brain Res., 143, 521-532.
- 32) Akaike, A., Shibata, T, Satoh, M. and Takagi, H. (1978): Analgesia induced by microinjection of morphine into, and electrical stimulation of, the nucleus reticularis paragigantocellularis of rat medulla oblongata. Neuropharmacol., 17, 775-778.
- 33) Dickenson, A.H., Oliveras, J.L. and Besson, J.M. (1979): Role of the nucleus raphe magnus in opiate analgesia as studied by the microinjection technique in the rat. Brain Res., 170, 95-111.
- 34) Oliveras, J.C., Redjemi, F., Guildbaud, G. and Besson, J.M. (1975): Analgesia induced by elec-

trical stimulation of the inferior centralis nucleus of the raphe in the cat. Pain, 1, 139-145.

- 35) Shiomi, H. and Takagi, H. (1974): Morphine analgesia and the bulbospinal noradrenergic system; Increase in the concentration of normetanephrine in the spinal cord of the rat caused by analgesics.

Bri.J.Pharmacol., 52, 519-526.

- 36) Kuraishi, Y., Fukui, K., Shiomi, H., Akaike, A. and Takagi, H. (1978): Microinjection of opioids into the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat; Analgesia and increase in the normetanephrine level in the spinal cord. Biochem.Pharmacol., 27, 2756-2758.

- 37) Headley, P.M., Duggan, A.W. and Griersmith, B.T. (1978): Selective

reduction by noradrenaline and 5-hydroxytryptamine of nociceptive responses of cat dorsal horn neurons. Brain Res., 145, 185-189.

38) Rivot, J.P., Chaouch, A. and Besson, J.M. (1980): Nucleus raphe magnus modulation of response of rat dorsal horn neurons to unmyelinated fiber inputs; Partial involvement of serotonergic pathways. J. Neurophysiol., 44, 1039-1057.

39) Kuraishi, Y., Hirota, N., Sato, Y., Kaneko, S., Sato, M. and Takagi, H. (1985): Noradrenergic inhibition of the release of substance P from the primary afferents in the rabbit spinal dorsal horn. Brain Res., 359, 177-182.

40) 猪木令三, 米原典史 (1986): 疼痛衝撃に対する脊髄後角でのニューロアクチブ

ペプチドの役割について. 文部省特定研究, 神経難病の発症機構(Ⅱ) 昭和60年度研究業績集, 535-539.

- 41) Yaksh, T.L. and Tyce, G.M. (1979):
Microinjection of morphine into the periaqueductal gray evokes the release of serotonin from spinal cord. Brain Res., 171, 176-181.

脚注

岩手医科大学歯学部歯科麻酔学講座

(主任：城 茂治教授)

本文の要旨は、第31回日本麻酔学会関西地方会（昭和60年9月大阪）、第13回日本歯科麻酔学会総会（昭和60年10月名古屋）、第35回日本麻酔学会総会（昭和63年6月金沢）、第16回日本歯科麻酔学会総会（昭和63年9月新潟）、第30回歯科基礎医学会総会（昭和63年10月福岡）、第10回日本疼痛学会（昭和63年12月東京）、第11回日本麻酔薬理学会総会（平成元年6月東京）において発表した。

図の説明

図 1 Push-pull cannula による三叉神経脊髄路核尾側亜核 (SpVc) 浅層領域の局所灌流の模式図

図 2 Push-pull cannula 挿入部位の組織切片

矢印は、Push-pull cannula 先端が挿入された部位を示す。

図 3 10V の歯髄刺激に伴う SP遊離の変動

横軸は灌流開始からの時間を表わす。縦軸は灌流液中の SP量を示し、最初の3つのフラクションの平均を対照値として百分率で表わした。

mean ± SEM、n = 4

ST : 歯髄電気刺激

図 4 40V の歯髄刺激に伴う SP遊離の変動

★ ($p < 0.05$) は対照値 (最初の3つのフラクシヨンの平均) に対する有意差を示す。

mean \pm SEM、 n = 8

図 5 歯髄刺激に伴う [Met]-enk 遊離の変動
★ ($p < 0.05$) は対照値に対する有意差を示す。

mean \pm SEM、 n = 4

図 6 歯髄刺激に伴う SP遊離に対する
morphine全身投与の影響

mean \pm SEM、 n = 6

図 7 Morphine全身投与のSP遊離抑制作用に
対する naloxone全身投与の影響

★ ($p < 0.05$) は対照値に対する有意差を示す。

mean \pm SEM、 n = 5

図 8 Morphine 全身投与の SP 遊離抑制作用に
対する naloxone 局所投与の影響
mean ± SEM、 n = 6

図 9 歯髄刺激に伴う SP 遊離に対する
morphine 局所投与ならびに naloxone 局
所投与の影響
★ (p < 0.05) は対照値に対する有意
差を示す。
mean ± SEM、 n = 6

図 10 歯髄刺激に伴う SP 遊離に対する [D-Ala²,
Met⁵]-enkephalinamide 局所投与なら
びに naloxone 局所投与の影響
★ (p < 0.05) は対照値に対する有意
差を示す。
mean ± SEM、 n = 4

図 11 歯髄刺激および morphine 全身投与に伴
う NE 遊離の変動

(A) は 齒 髓 刺 激 の み を 行 っ た と き 、
(B) は morphine (10 mg / kg) を 全 身 投
与 した と き 、 (C) は morphine (10 mg /
kg) を 全 身 投 与 し 、 20 分 後 に 齒 髓 刺 激
を 行 っ た と き の ク ロ マ ト グ ラ フ の 代 表
例 を 示 す 。

E : epinephrine

DHBA : 3,4-dihydroxybenzylamine

図 12 齒 髓 刺 激 に 伴 う 5-HT 遊 離 の 変 動

(A) は 齒 髓 刺 激 前 、 (B) は 齒 髓
刺 激 中 の ク ロ マ ト グ ラ フ の 代 表 例 を 示
す 。 右 図 の 横 軸 は 、 灌 流 開 始 か ら の 時
間 を 示 す 。 縦 軸 は 、 灌 流 液 中 の 5-HT 量
を 示 し 、 最 初 の 2 つ の フ ラ ク シ ョ ン の
平 均 を 対 照 値 と し て 百 分 率 で 表 わ し た 。

mean \pm SEM、 n = 6

5-HT : serotonin

DHBA : 3,4-dihydroxybenzylamine

図 13 Morphine 全身投与に伴う 5-HT 遊離の変動

★ ($p < 0.05$) は、対照値に対する有意差を示す。

mean \pm SEM、 n = 5

図 14 歯髄刺激に伴う SP 遊離に対する 5-HT および methysergide 局所投与の影響

★ ($p < 0.05$) は、対照値に対する有意差を示す。

mean \pm SEM、 n = 6

図 15 Morphine 全身投与による SP 遊離抑制作用に対する methysergide 局所投与の影響

★ ($p < 0.05$) は、対照値に対する有意差を示す。

mean \pm SEM、 n = 6

図 16 大縫線核刺激電極挿入部位の組織切片

矢印は、刺激用電極先端が挿入された部位を示す。

図 17 大縫線核の電気刺激に伴う 5-HT遊離の変動

★ ($p < 0.05$) は、対照値に対する有意差を示す。

mean \pm SEM、n = 7

NRM Sti. : 大縫線核電気刺激

図 18 歯髄刺激に伴う SP遊離に対する大縫線核先行刺激の影響

左図は、大縫線核に刺激用電極の挿入のみを行い歯髄刺激を行ったときの灌流液中の SP遊離量の変動を示す。右図は、歯髄刺激の 10分前から大縫線核を先行刺激したときの SP遊離量の変動を示す。

★ ($p < 0.05$) は、対照値に対する有意差を示す。* ($p < 0.05$) は、左図の

齒髓刺激時のSP遊離量に対する有意差を示す。

mean ± SEM、 n = 9 (左図)、 n = 7 (右図)

図 19 三叉神経脊髄路核尾側亜核 (SpVc) における痛覚伝達の制御に関する模式図

齒髓刺激に伴う SpVc 浅層領域での一次求心性線維中枢端からの SP 遊離は、Enk を含む介在ニューロンの活性化、ならびに、大縫線核 (NRM) を起始核とする下行性 5-HT 系の活性化により抑制される。

NRGC : 巨大細胞網様核

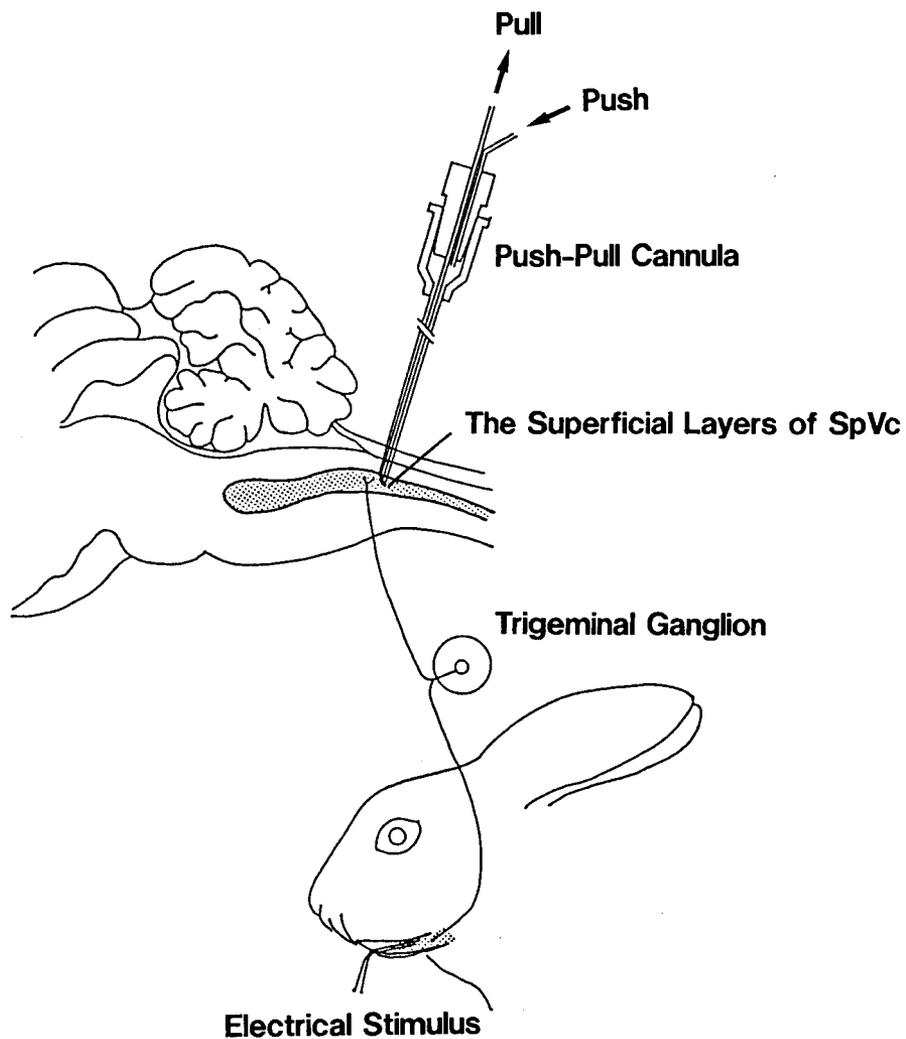


図 1 Push-pull cannula による三叉神経脊髄路核尾側亜核 (SpVc) 浅層領域の局所灌流の模式図



図 2 Push-pull cannula 挿入部位の
組織切片

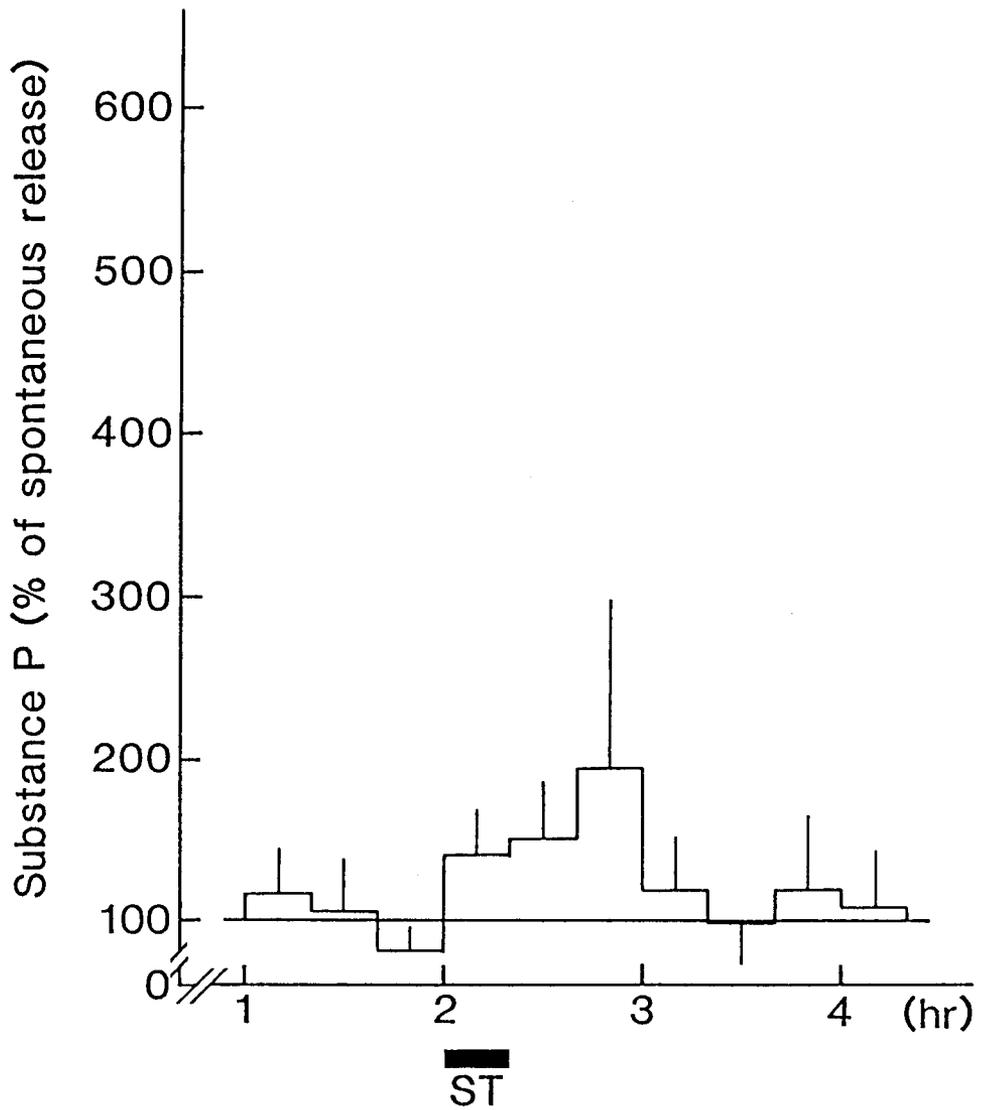


図 3 10 V の 齒 髓 刺 激 に 伴 う SP 遊 離 の 変 動

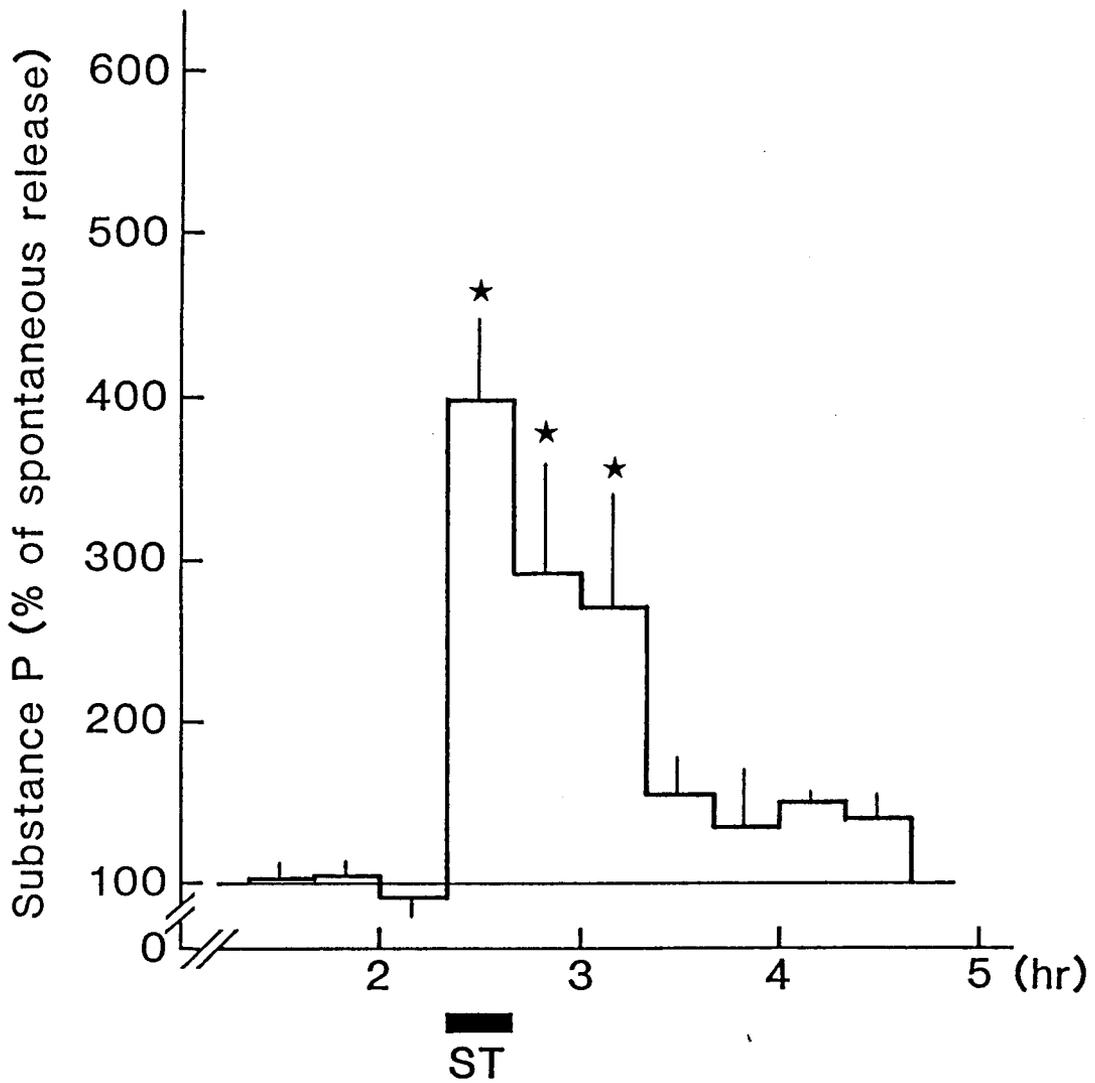


図 4 40 V の歯髓刺激に伴う SP遊離の変動

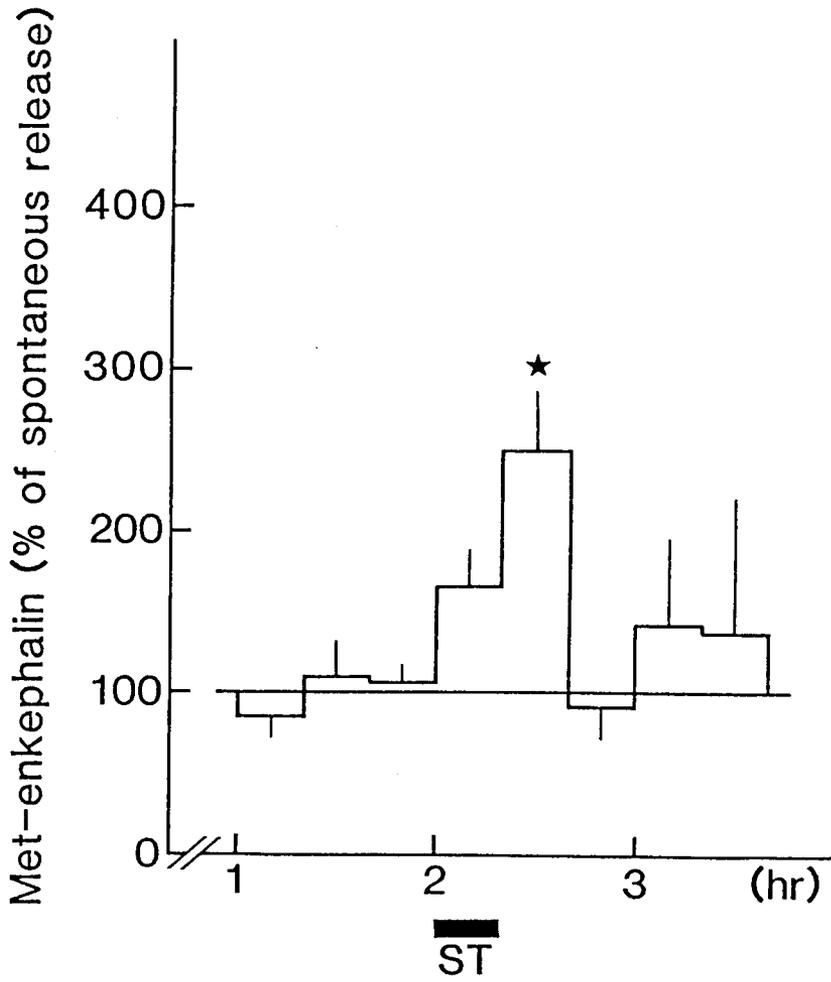


図 5 歯髄刺激に伴う [Met]-enk 遊離の変動

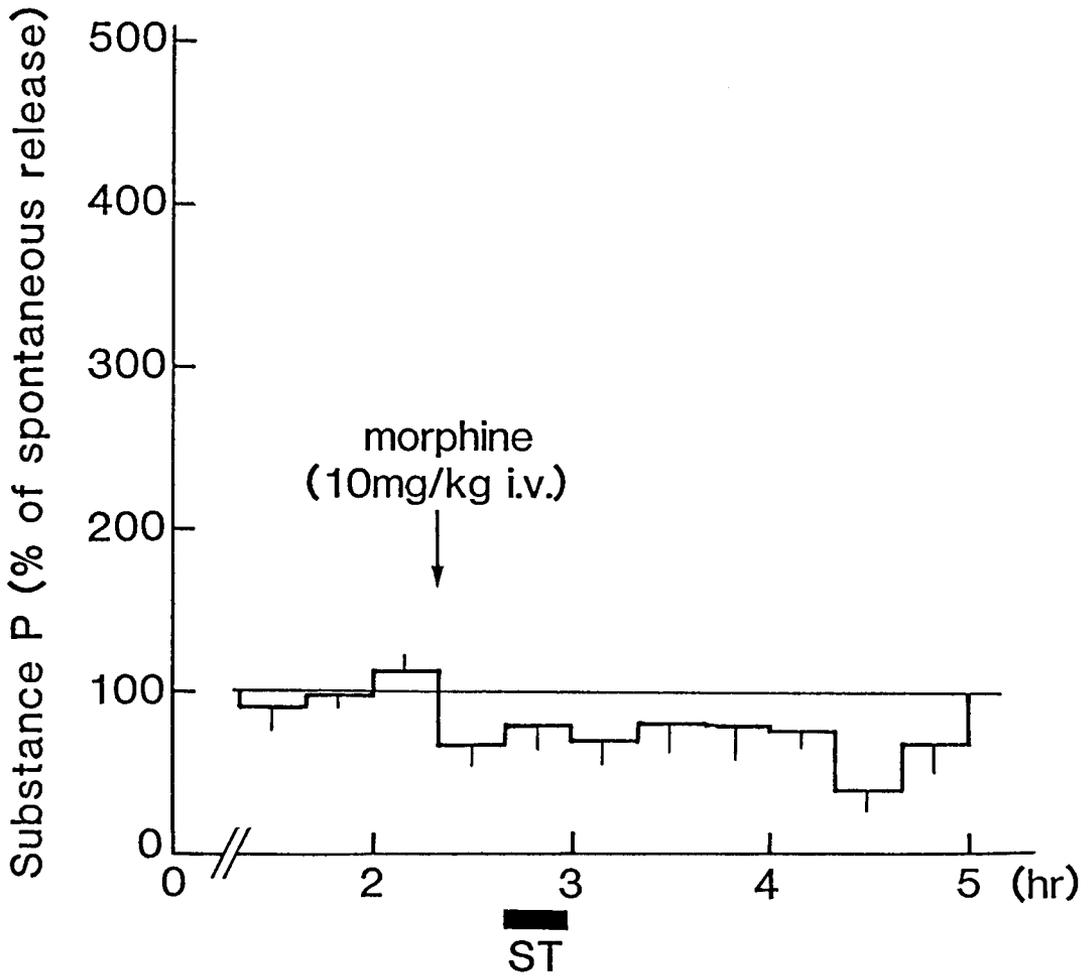


図 6 歯髓刺激に伴う SP遊離に対する morphine 全身投与の影響

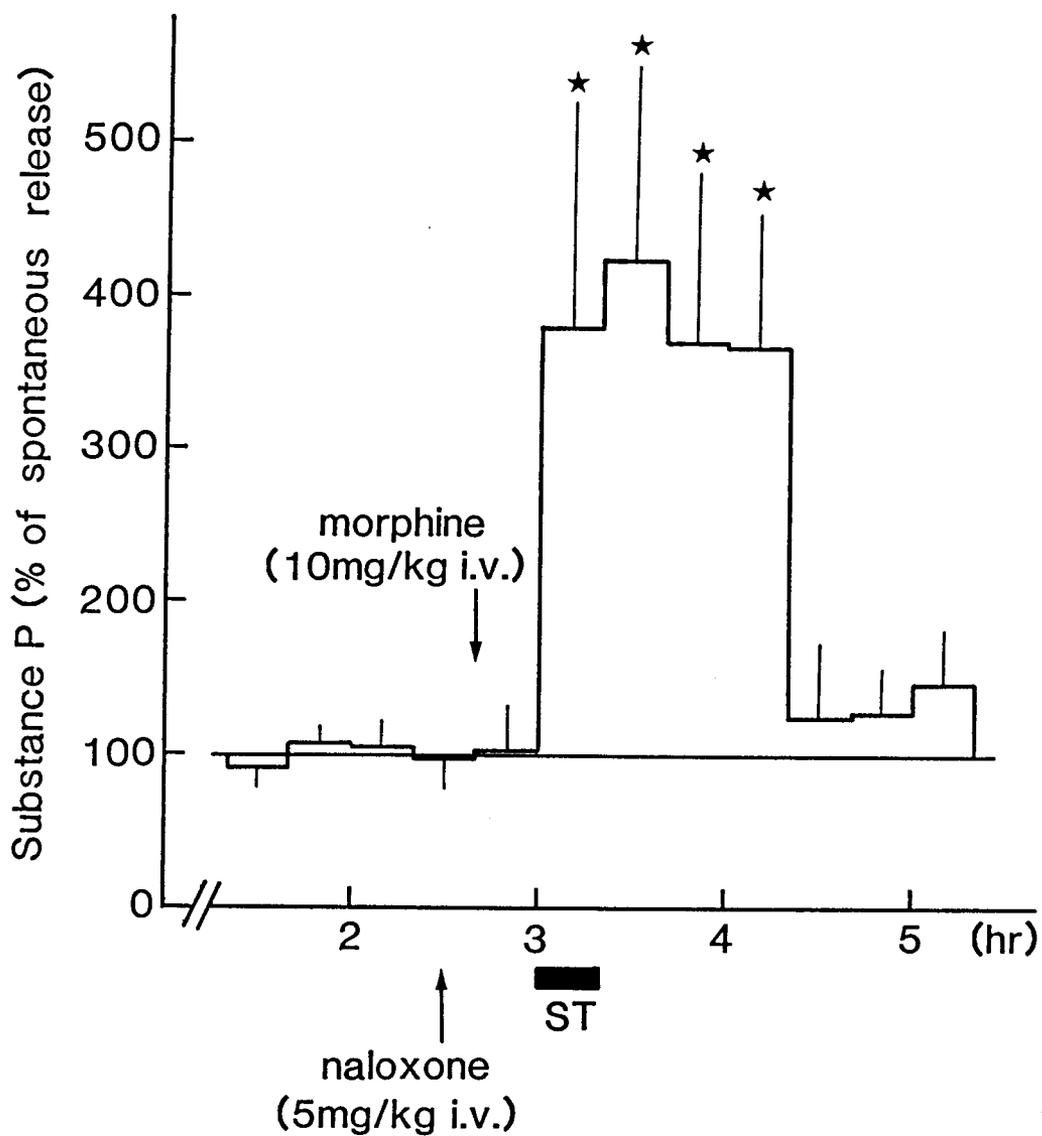


図 7 Morphine全身投与のSP遊離抑制作用に対するnaloxone全身投与の影響

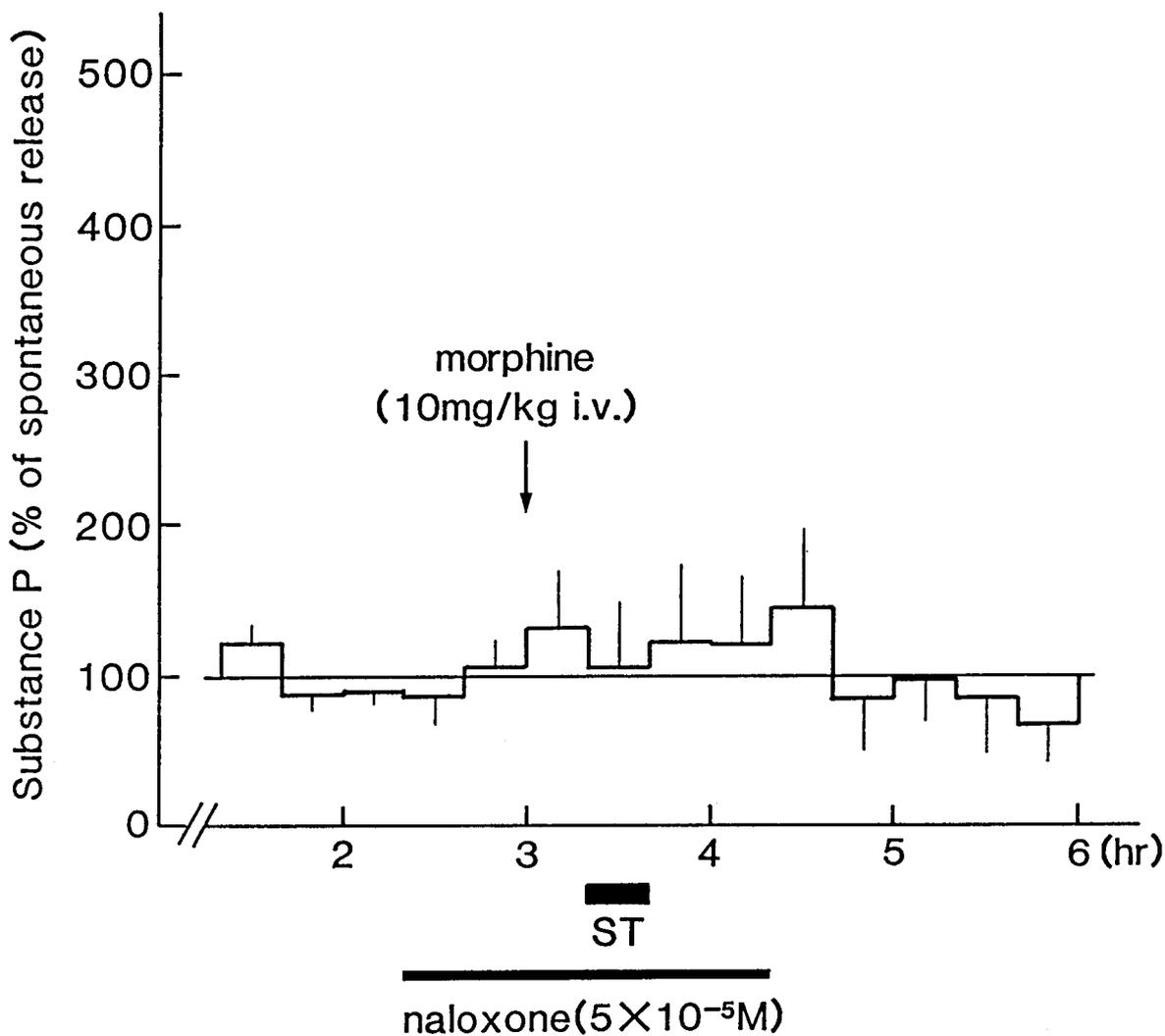


図 8 Morphine全身投与のSP遊離抑制作用に対するnaloxone局所投与の影響

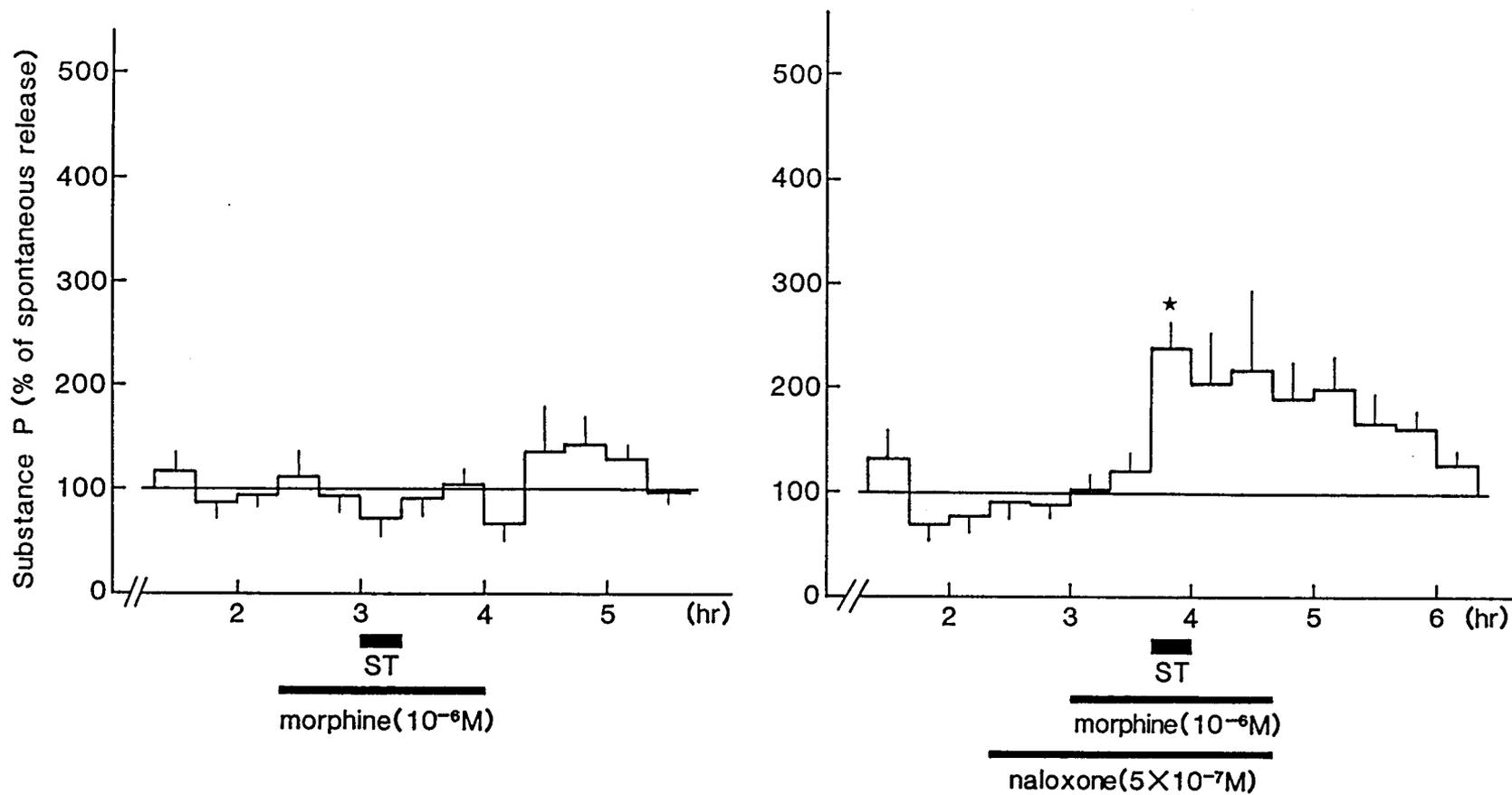


図 9 齒髓刺激に伴う SP遊離に対する morphine 局所投与ならびに naloxone 局所投与の影響

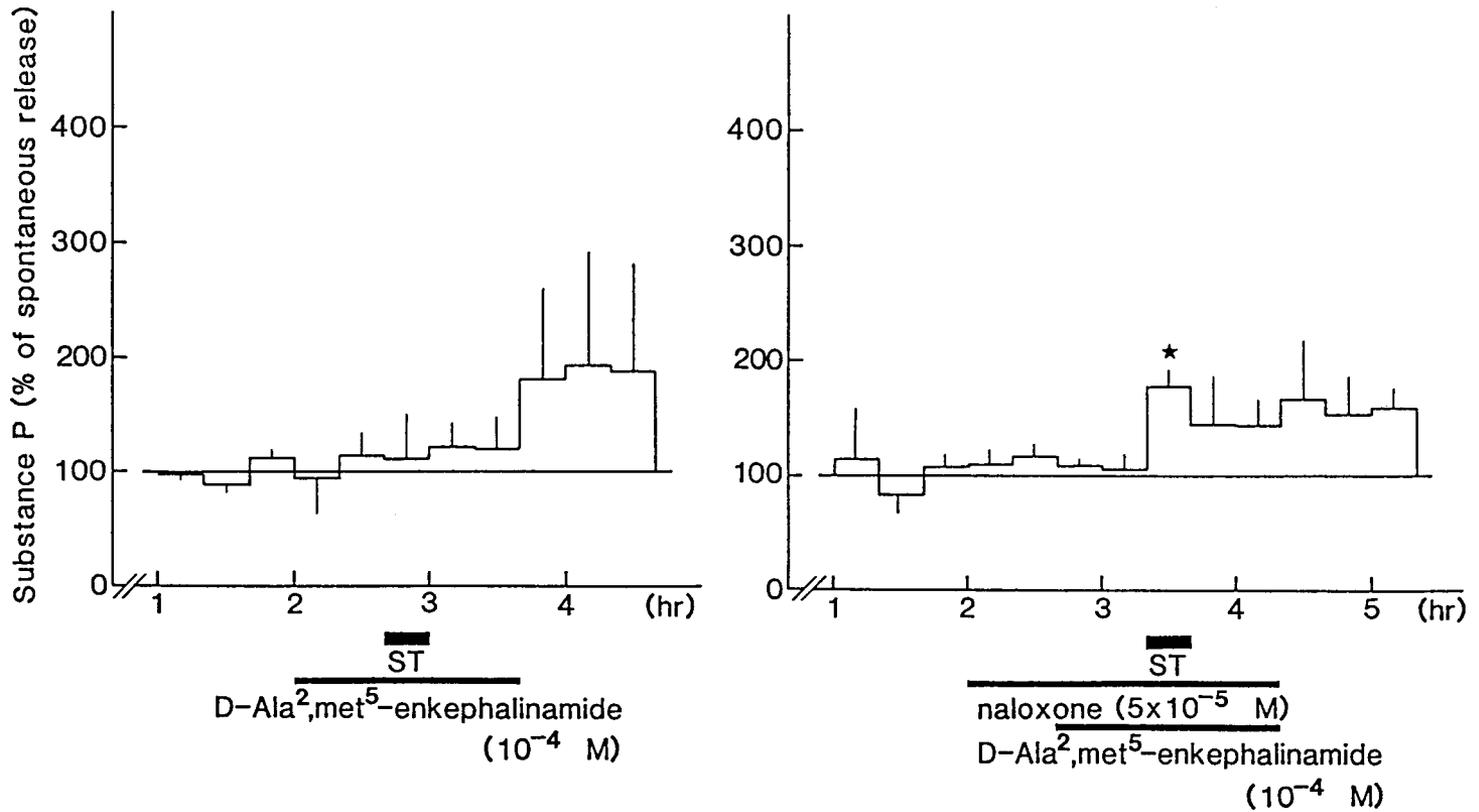


図 10 歯髄刺激に伴う SP遊離に対する
[D-Ala², Met⁵]-enkephalinamide局所
投与ならびにnaloxone局所投与の影響

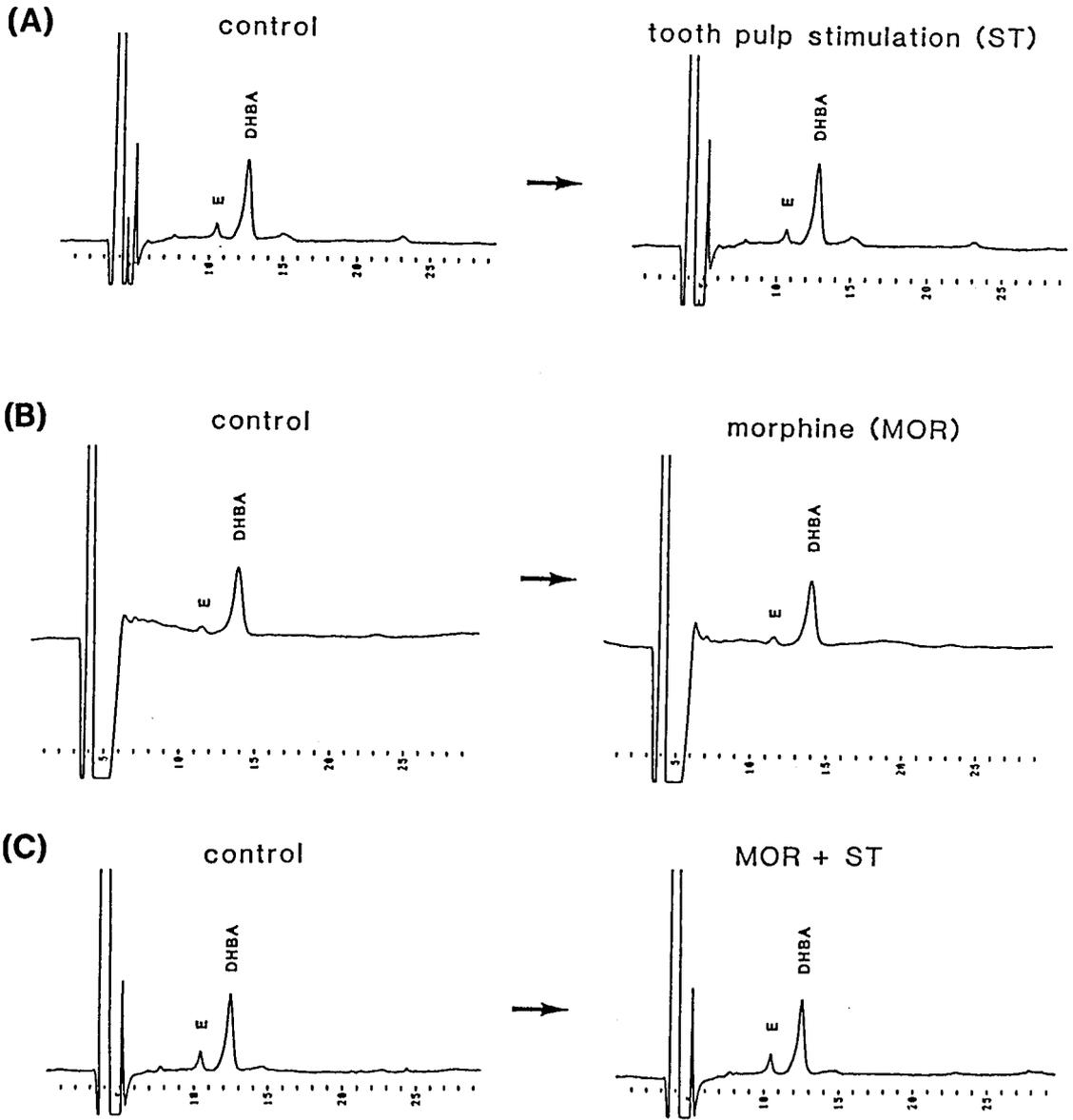


図 11 歯髄刺激および morphine 全身投与に伴う NE 遊離の変動

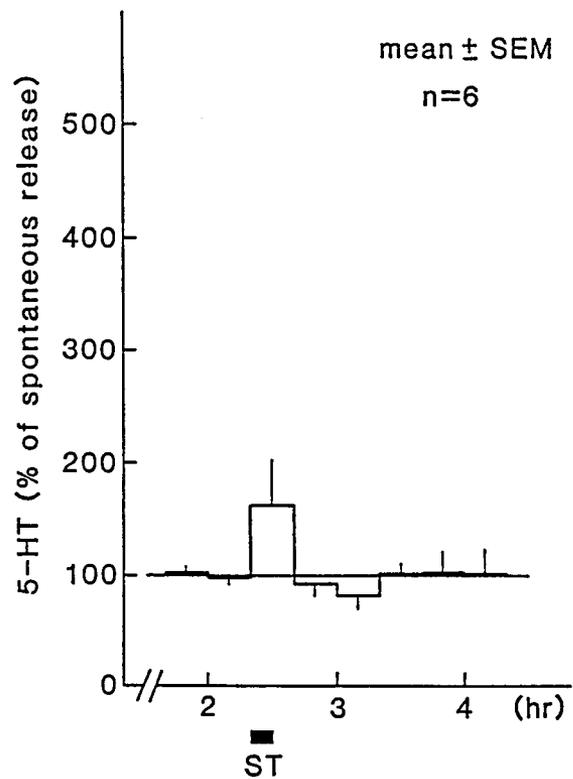
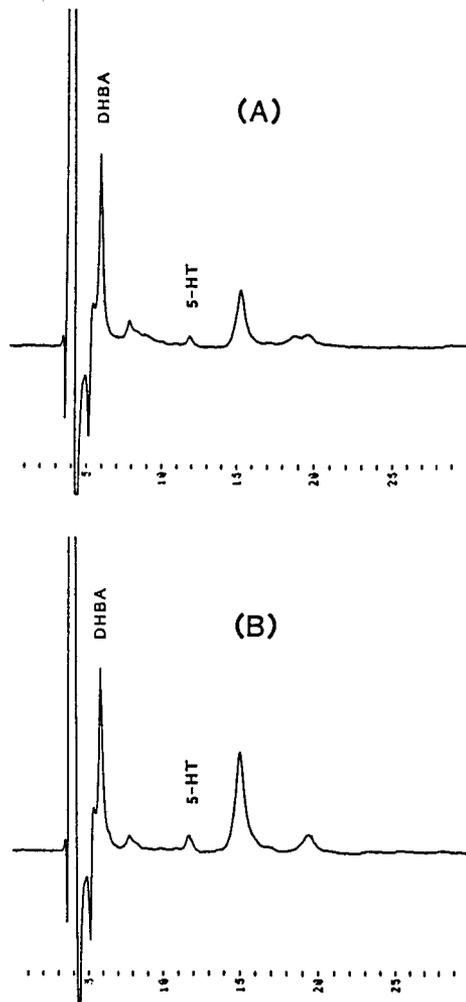


図 12 齒髓刺激に伴う 5-HT遊離の変動

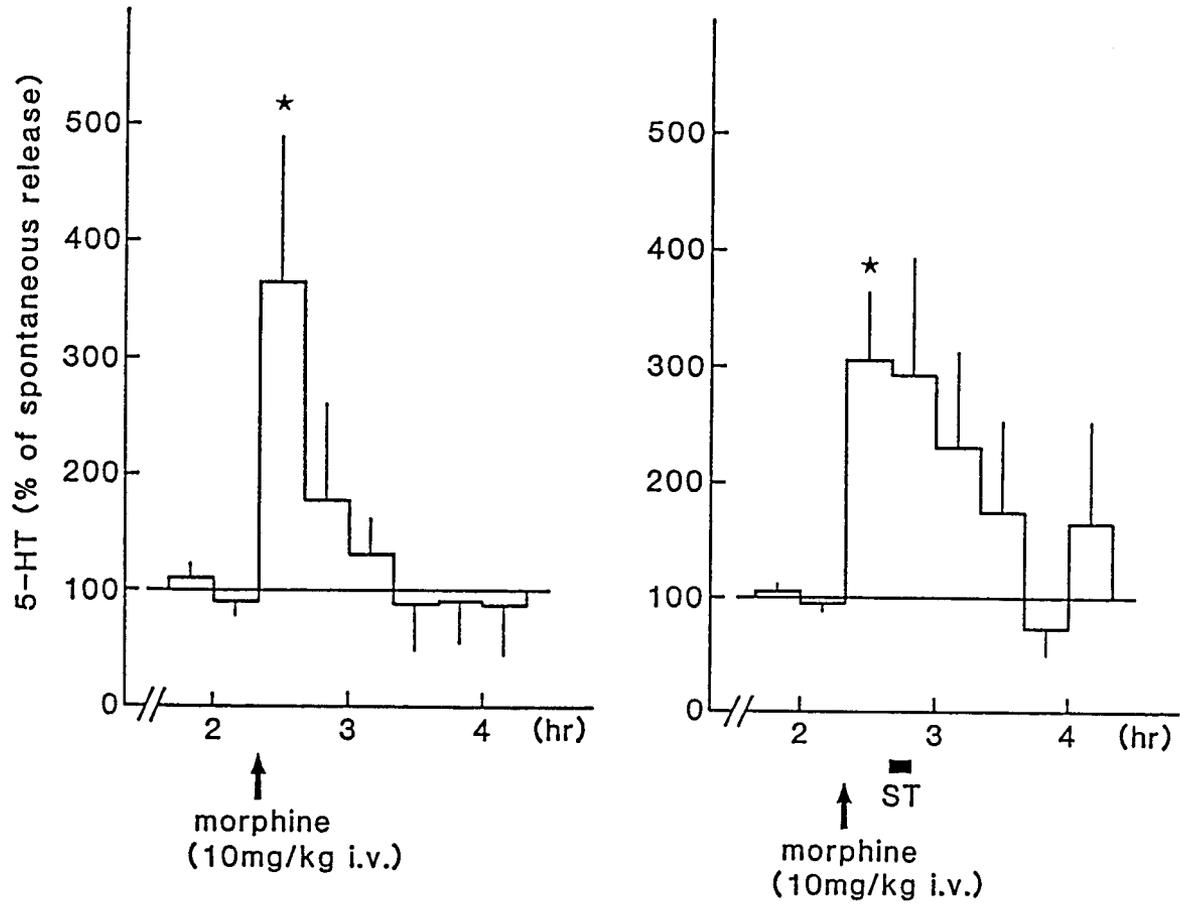


図 13 Morphine全身投与に伴う5-HT遊離の変動

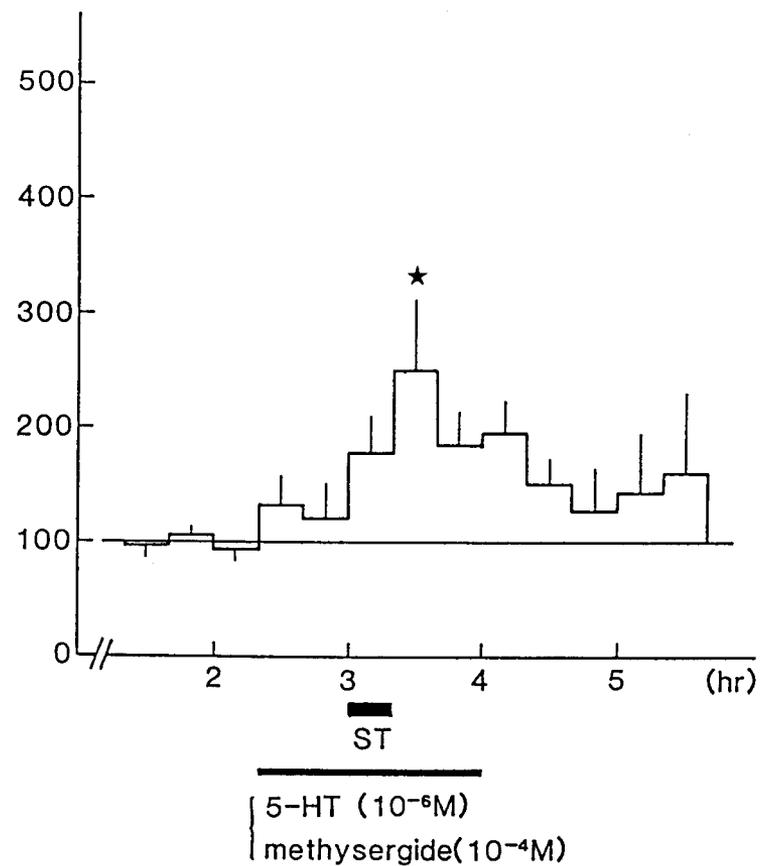
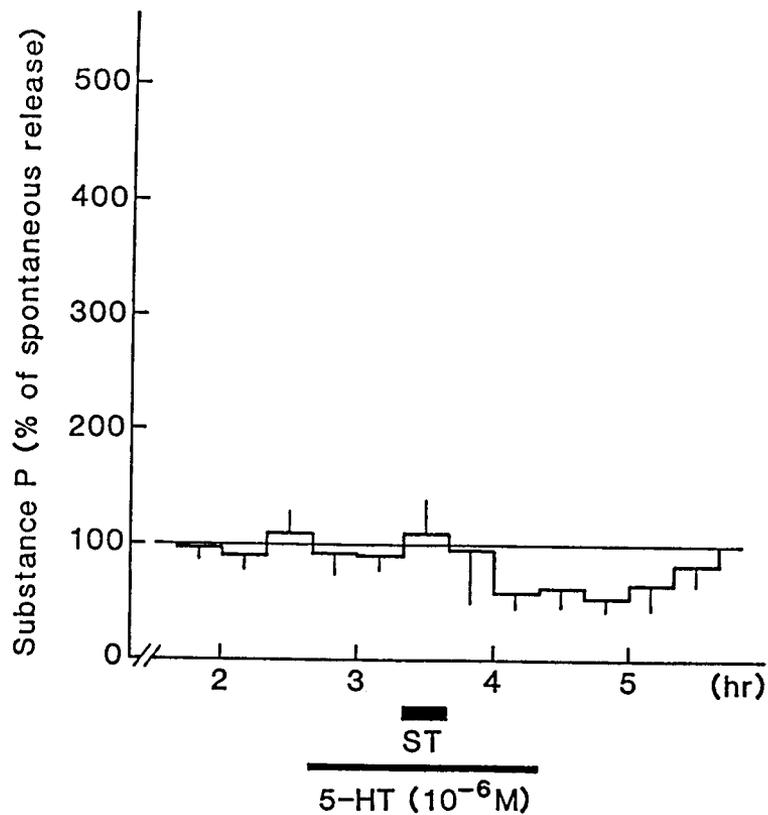


図 14 齒髓刺激に伴う SP遊離に対する 5-HT および methysergide 局所投与の影響

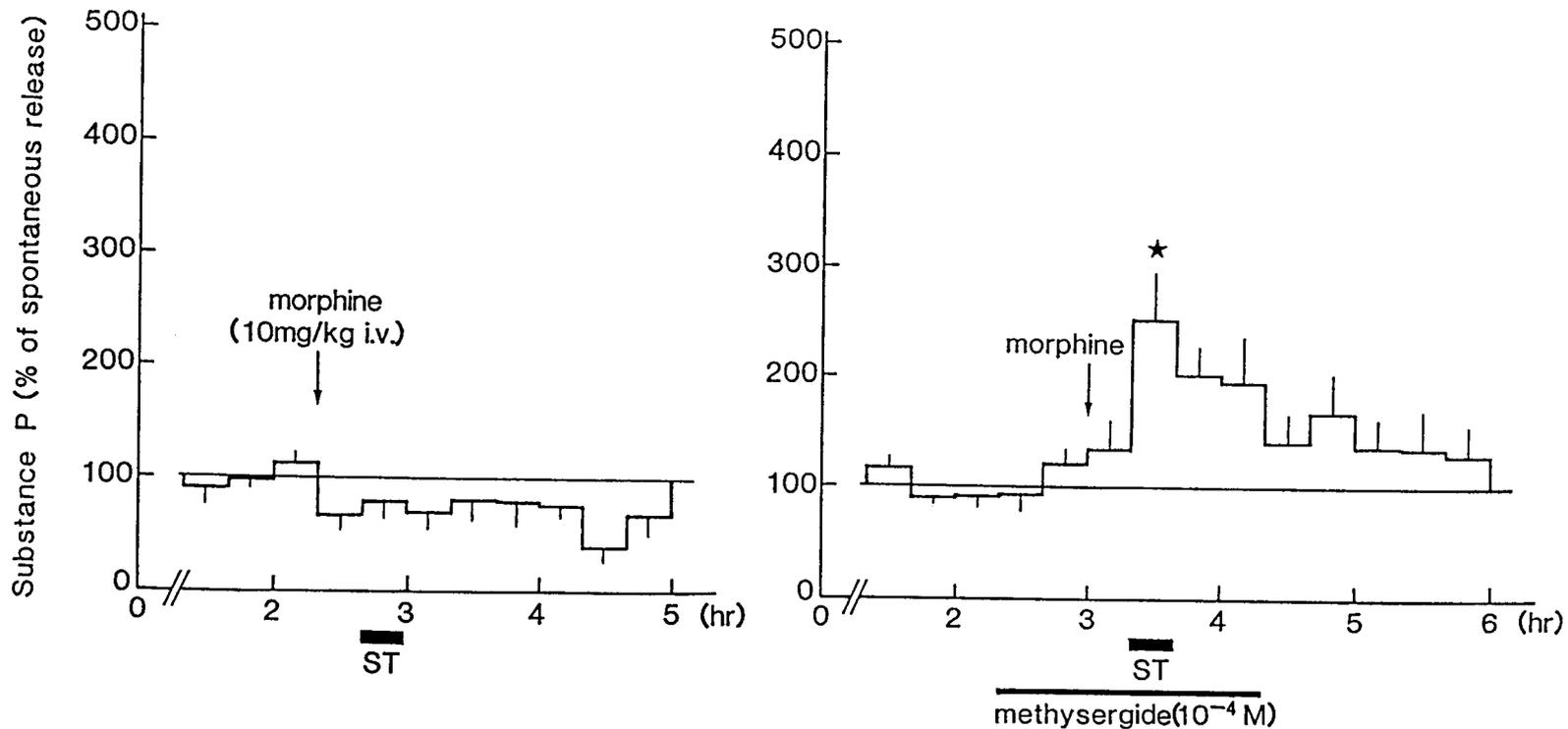


図 15 Morphine全身投与によるSP遊離抑制作用
 に対するmethysergide局所投与の影響

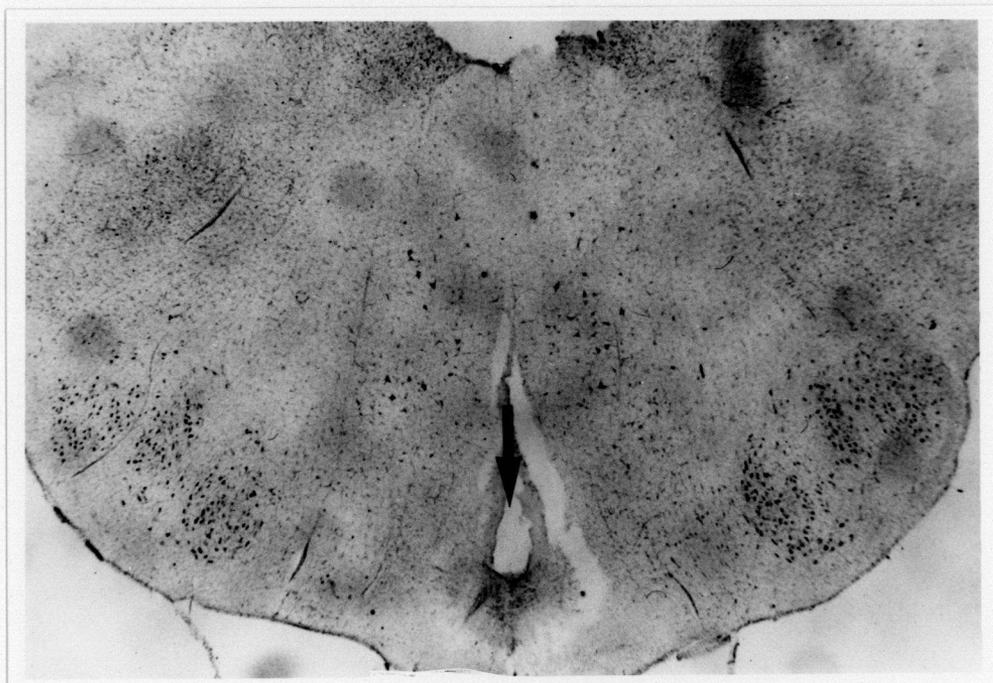


図 16 大縫線核刺激電極挿入部位の組織切片

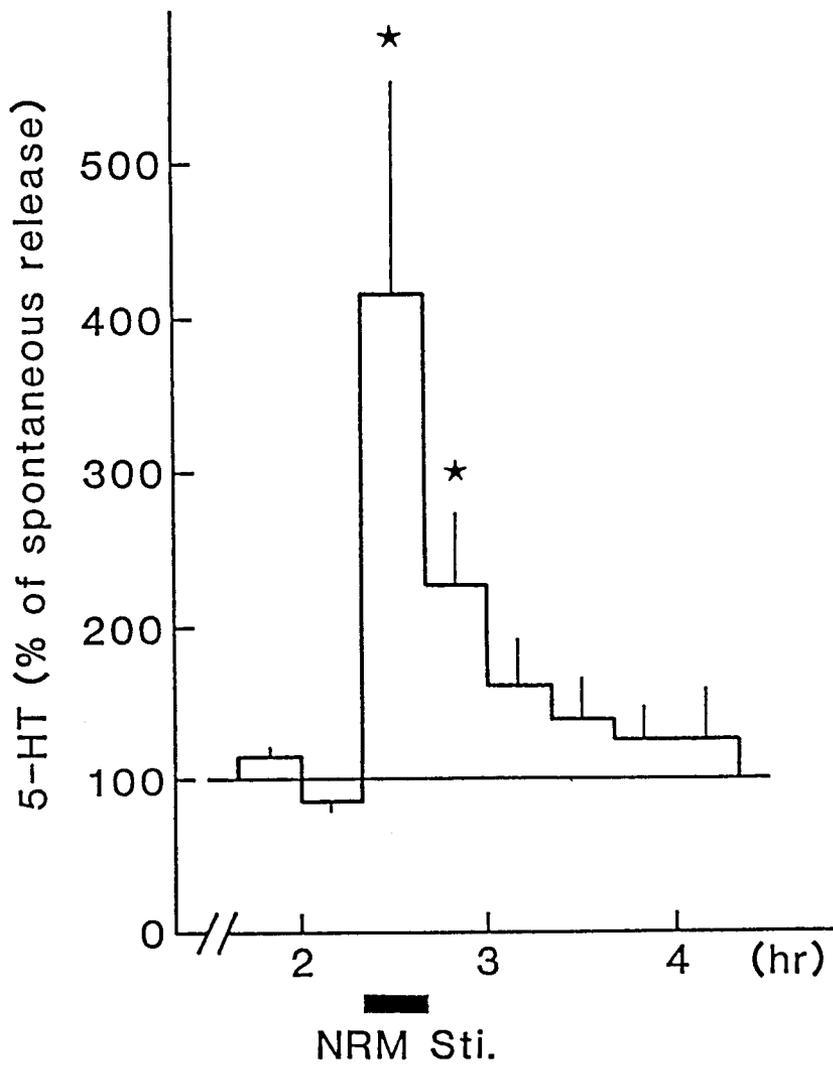


図 17 大縫線核の電気刺激に伴う 5-HT遊離の変動

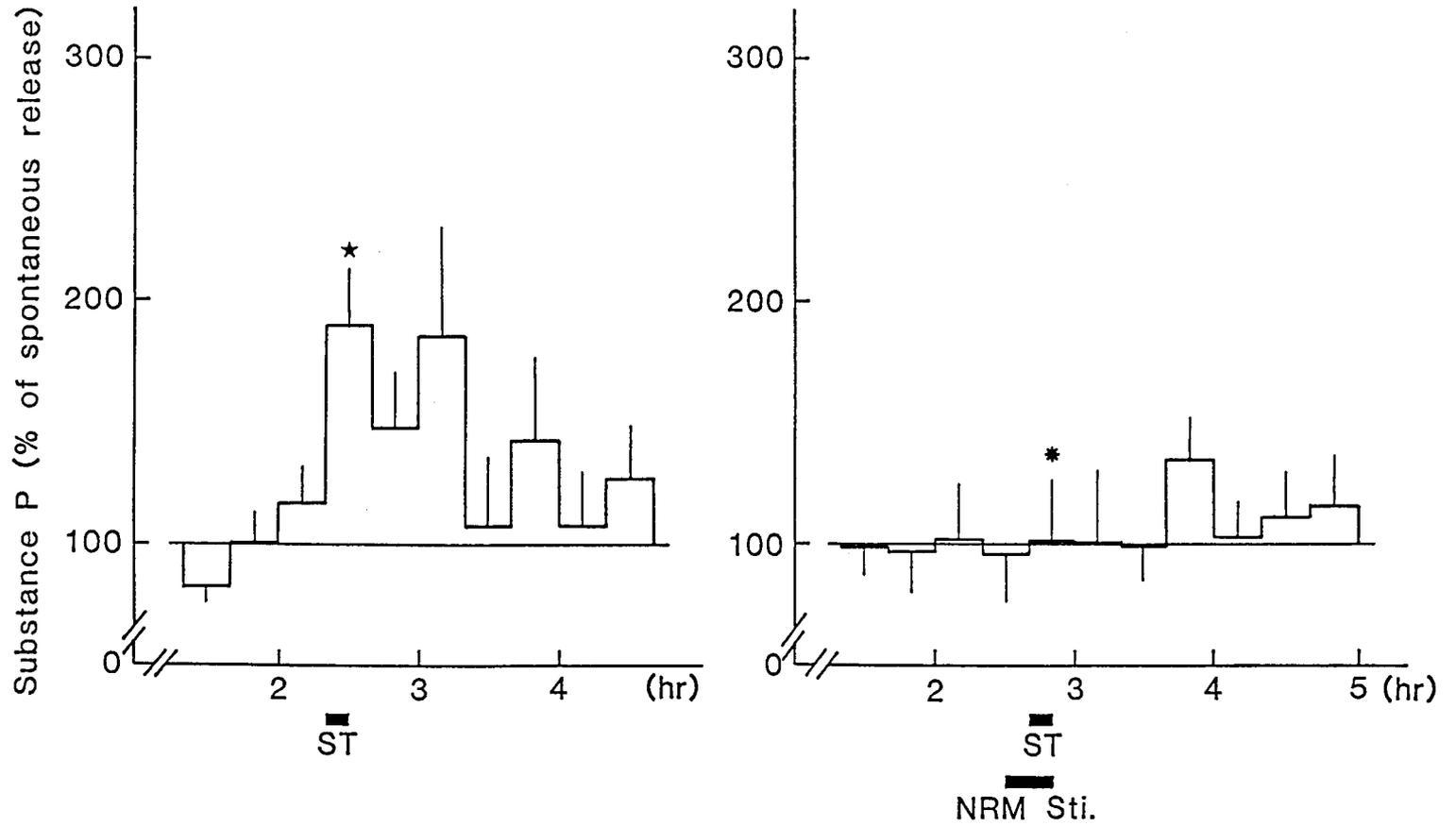


図 18 歯髄刺激に伴う SP遊離に対する
大縫線核先行刺激の影響

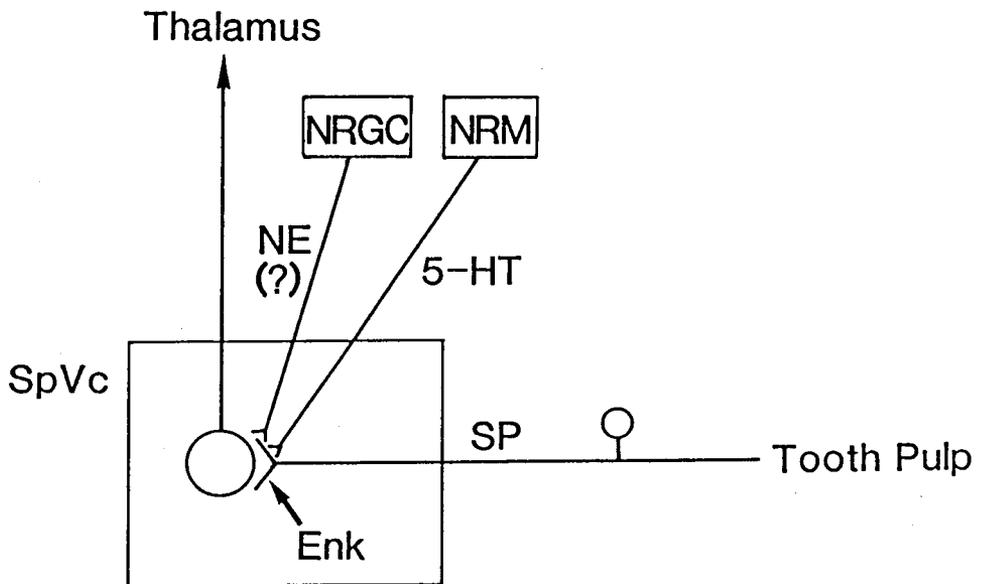


図 19 三叉神経脊髄路核尾側亜核 (SpVc) における痛覚伝達の制御に関する模式図