

小さくなる。この回帰直線のX軸との交点を Wind-up 現象を起こし得る最大の刺激間隔と考え、これを Wind-up の刺激間隔閾値と定義した。従って、刺激間隔閾値が短い程 wind-up 現象を起こし易い状態にあることになる。Wind-up の強さは刺激強度が上がるに従って増大した。一方、Wind-up の強さと Wind-up を起こす刺激間隔閾値の間には有意の関係は認められなかった。A δ 線維による反応の増大の程度はC線維による反応に比べて小さく、特に3発目以降に刺激での増大は殆ど観られなかった。

図2は刺激間隔閾値の分布を示す。刺激強度は500 μ Aであった。高齢ラットの平均値は 26.5 ± 4.6 s と若齢ラットの 16.1 ± 2.0 s に比べて有意に大きかった (t-test, $p < 0.05$)。一方、Wind-up 強度を老若間で比較すると、刺激間隔3秒の時高齢ラットでは 0.21 ± 0.11 で、若齢ラットの 0.81 ± 0.58 より有意に小さかった。しかし、刺激間隔が5秒以上では老若間に差は認められなかった。若齢では5連発刺激間の感覚を60秒空けると連発刺激の1発目に対する反応はほぼ前の連発刺激の1発目と同レベルに戻るが、

高齢ラットでは2回目以降元に戻らず高いレベルに止まっている。一方、5発目の刺激に対する反応に老若間に差がない。この為、回帰直線の勾配 (Wind-up 強度) が高齢ラットで若齢ラットと比べて有意に小さくなった。刺激強度を上げると Wind-up 強度は上昇したが、Wind-up の閾値は変化しないか寧ろ短くなる傾向が見られた。

D. 考察

高齢ラットでは反復刺激による反射の増強が、より低い刺激頻度でも起こることが明かとなった。この事は高齢ラットの方が若齢ラットに比較して脊髄痛覚伝導路の可塑性変化が起こり易いことを示唆している。反復刺激による反応増強現象、所謂 wind-up 現象には NMDA 受容体が関与していると考えられている。また、NMDA 受容体の活性化にはある程度強い入力が必要であることも知られている。我々は脊髄後角の侵害受容ニューロンの活動が、自発放電・末梢の侵害刺激に対する反応共に高齢ラットに於いて亢進していることを明らかにしている。これが wind-up がより低い頻度の刺激で起こ

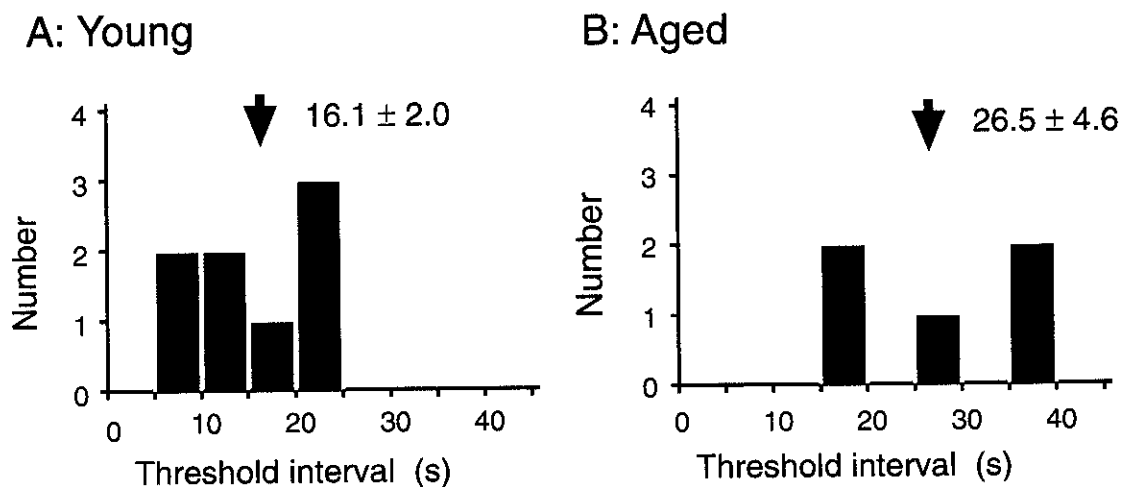


図2 刺激間隔閾値の分布。 高齢ラットで有意に長い ($p < 0.05$, t-test)。

ることの原因になっている可能性があるが、その他の因子についても今後更に検討していく必要がある。

C線維刺激による反射応答は、上位中枢からの促進及び抑制を受けていることも知られている。本研究でも刺激を繰り返すに従い誘発される反応が小さくなる傾向が見られた。胸髄の切断で反射が回復するので、この反射の減衰はC-線維活動による上位中枢を介した抑制の結果と考えられた。本研究では減衰の程度に成熟・老齢ラット間で差は認められなかったが、この問題については今後更に実験を加えて検討していく必要がある。本報告書の岩田、野口が高齢ラットでは抑制性下行路の機能低下と形態異常が見られるとしている。

C線維の反復刺激による反応（筋電図または脊髄後角のニューロン活動）の増強作用は刺激間隔が2秒以下で見られ、これ以上刺激間隔が長くなると明らかな増強が見られないとするものが多い。本実験と似た条件、即ち、ハロセン麻酔下の脊髄無傷ラットを用いた Le Bars 等も同様の結果を報告している。今回の我々の実験では、これよりずっと長い刺激間隔、時には60秒以上でも増強効果が認められた。本実験では皮膚切開は一側下肢背側面に限り、また、神経切断は腓腹神経（及び足蹠神経）のみとし、反射活動の記録前の手術による損傷を出来

る限り小さく抑えた。一方、先行実験の多くは脊髄を露出するための背部皮膚切開、背筋の切断・挫めつ、椎弓切除術等の大きな手術侵襲を加えている。当然 Ad- 及び C 線維が刺激されることになり、その影響は小さくないものと考えられる。しかし、本実験と先行実験における増強を起こす最長刺激間隔の差が何に起因するかは現時点では必ずしも明かでない。

E. 結論

侵害刺激を繰り返すことで起こる屈筋反射の増強現象が高齢ラットでは成熟ラットに比べて低頻度の刺激で起こり、痛覚伝導路の可塑性変化が起こり易くなっていることが示唆された。

F. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 神田健郎、佐藤齊 ラット屈筋反射に見る wind-up 現象の老化に伴う変化 第77回日本生理学会大会 1999, 3.27-29.

侵害性刺激による心拍数増加反応の加齢変化

分担研究者 鈴木敦子 東京都老人総合研究所 主任研究員

研究要旨

モルヒネの静脈内投与が、非分節性の後肢脛骨神経あるいは分節性の第3-4肋間神経刺激によって誘発される上脊髄性及び脊髄性の心拍数増加反応及び心臓交感神経の反射電位に及ぼす効果を麻酔ラットで調べた。中枢神経無傷時、モルヒネは脛骨神経刺激によって誘発される上脊髄性の心拍数増加反応を増強したが、肋間神経刺激によって誘発される心拍数増加反応へは有意な効果を及ぼさなかった。脛骨神経の有髄（A）及び無髄（C）線維刺激によって誘発される心臓交感神経のA及びC反射はいずれもモルヒネによって増強された。肋間神経刺激によって誘発される心臓交感神経の反射電位には上脊髄性と脊髄性のコンポーネントが混じっており、モルヒネの効果は脊髄性か上脊髄性かによって異なった。頸髄で脊髄を切断後、肋間神経刺激は脊髄性の心拍数増加反応とA及びC反射を誘発し、モルヒネはこれらの反応を全て抑制した。以上より、モルヒネは体性-心臓交感神経反射を脊髄に作用して抑制するが、上脊髄に作用すると増強することが明らかになった。

A. 研究目的

侵害性刺激は痛覚を起こすと同時に自律機能にも様々な反応を引き起こす。中枢神経無傷の麻酔ラットで種々の分節に侵害性ピンチ刺激を加えると、心臓交感神経活動が増加して心拍数増加反応が誘発される（Kimura et al., 1995; Sato et al., 1997）。この時、心臓交感神経が出力する分節と遠い後肢への刺激は、脳を介する上脊髄性の反射だけを誘発するが、心臓交感神経の出力する分節と近い胸部への刺激は、上脊髄性の反射に加えて脊髄性反射も誘発する特徴がある。

本研究ではこれらの侵害性刺激によって誘発される上脊髄性および脊髄性の体性-心臓反射に注目し、侵害性刺激が心拍数（心

臓交感神経活動）に誘発する反応をを中枢神経無傷および急性脊髄ラットで調べ、その加齢変化を明らかにすることを目的とする。

鎮痛薬であるモルヒネは痛覚の伝導を脊髄後角で直接、あるいは脳幹からの下行性抑制系を介して抑制することが良く知られている（Fields and Basbaum, 1978; Yaksh, 1981）。一方、モルヒネは後肢刺激によって誘発される上脊髄性の心臓交感神経反射電位を脳幹に作用して増強することが麻酔ラットを用いて明らかにされている（Adachi et al., 1992）。しかし、このモルヒネによって誘発される心臓交感神経の反射性反応の増強が、心拍数の反応でもみられるかどうかは、まだわかっていない。

そこで本年度は、後肢刺激によって心臓に誘発される上脊髄反射と胸部刺激によって誘発される脊髄反射に対するモルヒネの効果を調べ、反射が上脊髄性であるか脊髄性であるかによって、モルヒネの効果が異なるかどうか、さらにその神経性のメカニズムを明らかにするため、上脊髄性と脊髄性の体性-心臓交感神経反射電位に及ぼすモルヒネの効果を若齢ラットで調べた。

B. 研究方法

Wistar 系雄性ラットをウレタンで麻酔し (1.1g/kg, i.p.) 気管挿管して人工呼吸にした。頸動脈に挿入したカテーテルを介して血圧を記録し、血圧の脈派から心拍タコメータで心拍数を記録した。実験中、血圧の変動、眼瞼反射などを指標とし、必要に応じて麻酔を頸静脈に留置したカテーテルから追加投与した。モルヒネなどの薬物も静脈内投与した。体温は約 37.5°C に、呼気中炭酸ガス濃度は約 3% に保った。

非分節性の求心性神経として後肢脛骨神経を、分節性の求心性神経として第 3-4 肋間神経を選び、これらの神経を末梢で切断し、中枢側を白金イリジウム双極電極にのせ、求心性に電気刺激した。

心臓交感神経は、第二肋骨を部分切除し、星状神経節から出て心臓に向かう枝をできるだけ心臓の近傍で切断し、中枢端を白金イリジウム双極電極にのせ、増幅器を介して活動を導出した。体性神経の求心性刺激によって誘発される反射電位をコンピュータを用いて加算平均し、記録した。刺激の際にも記録の際にも、神経が乾かないように温かいパラフィンオイルで覆った。

C. 研究結果

中枢神経無傷時の安静時の心拍数は平均 412 ± 7 beats/min であった。

脛骨神経を 1V (A β と A δ 線維の閾上で

C 線維の閾下の強度) および 10V (C 線維を含む全ての線維の閾上の強度) で 10Hz、20 秒間電的に頻回刺激すると、心拍数はそれぞれ 24 ± 4 および 38 ± 6 beats/min 増加したが、0.2V (A β の閾上で A δ 線維と C 線維の閾下の強度) の刺激では、心拍数は変化しなかった。

モルヒネ 20mg/kg を静脈内投与すると、心拍数は一過性に低下し、8-27 分かけて

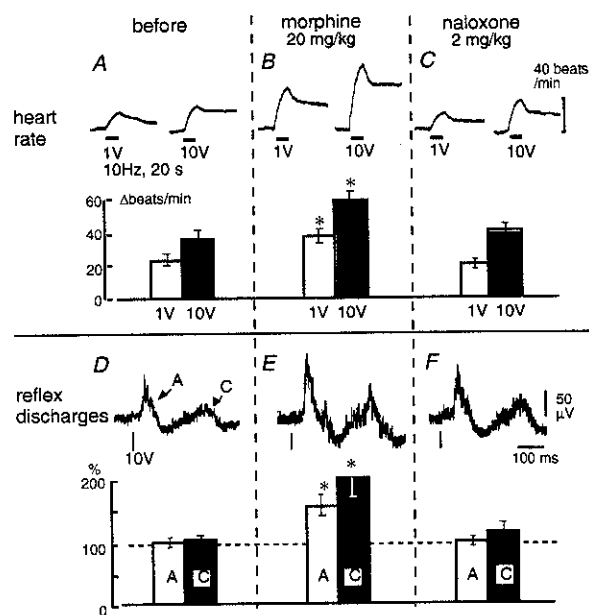


図1 中枢神経無傷時に脛骨神経求心性刺激によって誘発される体性-心臓反射に及ぼすモルヒネとナロキソンの効果。A-C: 上段は脛骨神経の1および10Vの頻回電気刺激 (0.5 ms、10 Hz、20 s、下線で示す) によって誘発される心拍数増加反応の典型例。下段は心拍増加の最大反応を6匹で纏めたグラフ。D-F: 上段は脛骨神経の単発電気刺激 (10 V、矢印) によって心臓交感神経に誘発されるA-およびC-反射電位の典型例 (加算平均)。下段はA-およびC-反射電位の大きさを4匹で纏めたグラフ。グラフは平均値 \pm S.E.M. で示す。モルヒネ投与前のコントロールとモルヒネ投与後との間の有意差は Student's t-test で検定した (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)。

徐々に元のレベルに回復した。心拍数が元のレベルに戻って安定した後に脛骨神経を1Vおよび10V、10Hzで20秒間電的に頻回刺激して調べたところ、脛骨神経刺激による心拍数増加反応はモルヒネにより有意に増強した。すなわち1Vおよび10Vの刺激により心拍数はそれぞれ 38 ± 5 および 58 ± 6 beats/min増加した。モルヒネによる増強効果は、2mg/kg投与から同程度にみられるが、0.2mg/kgではみられない。続いてモルヒネの拮抗薬であるナロキソンを2mg/kg静脈内投与すると、モルヒネの効果は拮抗され、心拍数増加反応は投与前とほぼ同じに戻る。脊髄を第2頸髄で切断した急性脊髄ラットでは、脛骨神経刺激によって心拍数は変化しなかった。

このモルヒネによる心拍数増加反応の増強作用の機序として、モルヒネが脛骨神経刺激によって誘発される心臓交感神経の興奮

反応に及ぼす効果を調べた。後肢の脛骨神経を10Vで単発電気刺激をして、心臓交感神経の活動を記録すると、伝導速度の速い有髄(A)線維によって誘発される潜時約40msのA反射と、伝導速度の遅い無髄(C)線維によって誘発される潜時約210msのC反射という2種類の反射電位が記録される。モルヒネ20mg/kgを静脈内投与すると、AおよびC反射電位はいずれも著しく増強し、それぞれ投与前の 158 ± 19 および $201 \pm 30\%$ になった。これらのモルヒネの効果はナロキソンで拮抗された。これらの成績はAdachiら(1992)の成績と同様であった。

次に、分節性の胸部肋間神経刺激によって誘発される上脊髄性と脊髄性の心拍数増加反応に及ぼすモルヒネの効果について調べた。

中枢神経無傷時には、第3-4肋間神経を10V(C線維を含む全ての線維の閾上の強

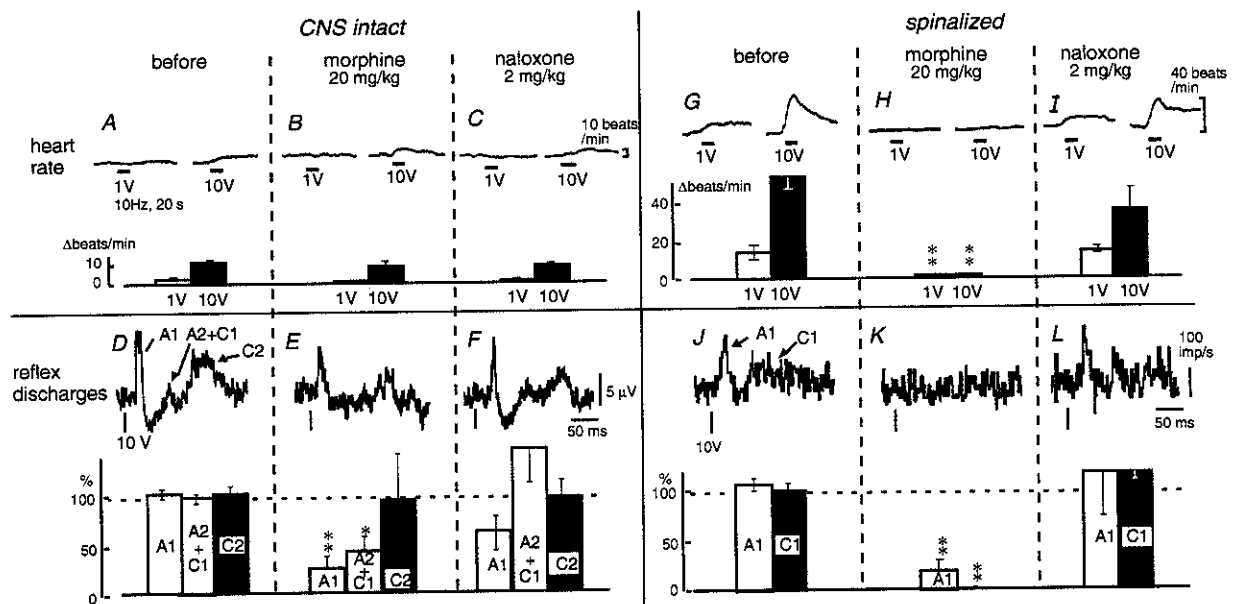


図2 A-F: 中枢神経無傷時に第3-4肋間神経求心性刺激によって誘発される心拍数の反応(n=7)および心臓交感神経の反射電位(n=6、加算平均)に及ぼすモルヒネとナロキソンの効果。G-L: 脊髄切断後に第3-4肋間神経求心性刺激によって誘発される心拍数の反応(n=4)および心臓交感神経の反射電位(n=6、刺激後時間ヒストグラム)に及ぼすモルヒネとナロキソンの効果。詳細は図1を参照。

度) 10Hzで20秒間、電氣的に頻回刺激すると、心拍数は $11 + 2$ beats/min増加した。しかし0.3V (Aβの閾上でAδ線維とC線維の閾下の強度) 1V (AβとAδ線維の閾上でC線維の閾下の強度) の刺激では、心拍数は変化しなかった。10V刺激によって誘発される心拍数増加反応は、モルヒネおよびナロキソンの影響を受けなかった。

心臓交感神経活動を記録し、第3-4肋間神経を10Vで単発電気刺激して反射電位を調べると、中枢神経無傷時には、肋間神経刺激によって、脛骨神経刺激の時とは異なり、3つのコンポーネントの反射電位が誘発される。1つめは潜時が約20msで脊髓性のA (A1) 反射、2つめは潜時が約60msで上脊髓性のA (A2) 反射と脊髓性のC (C1) 反射が重なったもの、3つめは潜時が約140msで上脊髓性のC (C2) 反射であることが明らかにされている (Kimura et al., 1996)。これらの反射に対するモルヒネの効果を調べたところ、最初の2つのコンポーネント、つまり潜時の短い脊髓性のA反射および上脊髓性のA反射+脊髓性のC反射はモルヒネによりそれぞれ 25 ± 12 および $43 \pm 14\%$ に有意に抑制されたが、潜時の長い上脊髓性のC反射は大きくなる場合と小さくなる場合があり、有意な影響は認められなかった。

次に急性に脊髓を切断後の結果であるが、第3-4肋間神経を1Vおよび10Vで10Hz、20秒間、電氣的に頻回刺激すると、心拍数はそれぞれ 15 ± 4 および 54 ± 7 beats/min増加したが0.3Vの刺激では心拍数は変化しなかった。モルヒネ20mg/kgを静脈内投与すると、1Vおよび10V刺激によって誘発された心拍数増加反応はいずれも消失した。モルヒネの用量依存性を調べたところ、0.2mg/kgから抑制効果が見られ (投与前の30-40%に抑制)、2ないし20mg/kgでは心拍数増加反応をほぼ完全に抑制した。モルヒネの抑制効果はナロキソンにより拮抗された。

さらに第3-4肋間神経を10Vで単発電気刺激をし、反射電位を解析したところ、脊髓性のAおよびC反射電位が見られた。これらの反射は、モルヒネ投与によりそれぞれ $18 + 12$ および $0 + 0\%$ に抑制され、この抑制効果はナロキソンにより拮抗された。

D. 考察

モルヒネは脛骨神経刺激によって誘発される上脊髓性の心拍数増加反応を増強するが、これは脛骨神経刺激によって心臓交感神経に誘発されるAおよびC反射の増強の加重によると考えられる。脛骨神経刺激によって誘発される心臓交感神経活動と心拍数の増加反応は、上脊髓反射であるので、モルヒネは脳幹、おそらくは延髄の孤束核や吻側腹外側部に作用して、体性-心臓交感神経反射の抑制性経路を抑制して、増強作用を起こしていると考えられる (Adachi et al., 1992; Li et al., 1996)。

中枢神経無傷時に、肋間神経刺激によって誘発される心拍数増加反応はモルヒネにより有意な影響を受けない。反射電位のうち、脊髓性のA反射および上脊髓性のA反射+脊髓性のC反射のコンポーネントはモルヒネにより抑制されたが、上脊髓性のC反射は有意な影響は認められなかったことから、肋間神経刺激によって誘発される心拍数増加反応には、脊髓性のA反射および上脊髓性のA反射+脊髓性のC反射のコンポーネントはほとんど関与せず、上脊髓性のC反射が重要な役割を果たしていると考えられる。

脊髓切断後に見られる肋間神経刺激によって誘発される脊髓性の心拍数増加反応がモルヒネによって抑制されるのは、心臓交感神経に誘発されるAおよびC反射が抑制されることによると考えられる。

本研究では、モルヒネが体性感覚の入力部位に依存して体性-心臓反射を増強したり

抑制することを明らかにした。この刺激する求心性神経と心臓交感神経の出力の分節関係は、心拍数の反射性反応の大きさに重要であると考えられる。モルヒネは体性-心臓交感神経反射を脊髄のレベルで抑制するが、上脊髄のレベルでは増強する。このため、モルヒネの体性-心臓交感神経反射に対する効果は、特に中枢神経無傷時にみられる第3-4肋間神経刺激によって誘発される心拍数増加反応のように、脊髄性のコンポーネントと上脊髄性のコンポーネントが混じった場合には、複雑である。

本実験ではモルヒネを投与したが、中枢神経系で内因性のオピオイドが分泌されて鎮痛効果を持つことが知られている (Yaksh, 1981)。後肢の感覚入力の際に、内因性オピオイドが分泌され、心臓交感神経活動が反射的に増強されて、循環機能の維持に役立つ可能性が考えられる。

E. 結論

本研究により、中枢神経無傷時には後肢脛骨神経刺激による心拍数増加反応はモルヒネによって増強され、肋間神経刺激による反応はモルヒネの影響を受けない。急性脊髄切断後には、脛骨神経刺激は心拍数に

影響を及ぼさないが、肋間神経刺激は心拍数増加反応を誘発し、この反応はモルヒネにより抑制されること、が明らかになった。その機序としてはモルヒネの脊髄レベルでの抑制と上脊髄レベルでの促進が関与していることが示唆された。

(9) F. 研究発表

1. 論文発表

1. Uchida, S., Suzuki, A., Hotta, H., Sato, A., The effects of morphine on supraspinal and propriospinal somatocardiac reflexes in anesthetized rats. *Neurosci. Lett.*, 269: 161-164., 1999.
2. Ideguchi, S., Hotta, H., Suzuki, A., Umino, M., Trigeminally induced cardiovascular reflex responses in spinalized rats. *J. Auton. Nerv. Syst.*, in press.

2. 学会発表

1. 内田さえ、鈴木はる江、鈴木敦子、マイネルト核コリン作動性血管拡張系と Nitric Oxide、第76回日本生理学会、長崎、1999.3.28-30.
2. 内田さえ、鈴木敦子、堀田晴美、鍼刺激が脳皮質局所血流に及ぼす効果、第52回日本自律神経学会総会、1999.11.3-5.