

学 位 論 文 題 名

ラット脊髄前根を経由する求心線維刺激に対応する
脊髄神経細胞—機械的侵害刺激に対する応答、
脊髄内分布及び上行性投射路について

学位論文内容の要旨

I. 研究目的

脊髄前根内にも感覚情報を伝える求心線維が存在することは臨床的、解剖学的にまた生理学的に知られているが、これらを刺激することにより活性化される脊髄ニューロンがどのような性質を有するのか、また脊髄内のどこに分布しそのうち投射するニューロンは脊髄のどこを上行するのかについては知られていない。これらを検索するために主として電気生理学的に検討した。

II. 方 法

56匹のラット（Sprague-Dawley）を用い実験を行った。体重は365-570 gである。エーテルで麻酔を導入後ウレタン（1,000mg/kg）および α -クロラロース（25mg/kg）を腹腔内投与しいかなる外科的刺激にも逃避反射を示さないことを確認し右総頸静脈、気管にカニューレを挿入、C₁およびL₁からL₆まで椎弓切除を行い脊髄を露出した後、顕微鏡下に左側のL₁からS₄の後根を切断し露出部は約37°Cの流動パラフィンで覆い脊髄固定装置にラットを固定した。

実験に先立ち単極ボール電極を脊髄側面に接着させ前根刺激により誘発される電位を記録した。全ての刺激強度を前根より得た最も太い α -運動線維の閾値に対する割合によって決定した（ $x\text{Threshold} = xT$ ）。

ニューロンの記録はガラミントリエチオダイドを静注しラットを非動化した後左前根L_{4,5}およびL₆S₁をパルス幅500 μ sec, 間隔300msec, 強さ37xT で刺激しながら脊髄のL₄-S₁で1 M NaClにFast green FCFを飽和させた溶液を満たしたガラス微小電極（抵抗2.5-4 M Ω ）を使用し単一細胞の活動電位を細胞外に記録した。

ニューロンが見つかった場合にはChungら(1986)の方法により4種類の機械的刺激(bush, pressure, pinch, squeeze)を各10秒ずつ加え受容野の部位, 大きさ, および各刺激に対する対応を調べニューロンの性質を決定した。またC₁髄節では記録したニューロンの上行性投射路

を調べるため両側の前索（30個のニューロンで検討）および前索と背側索（18個のニューロンで検討）を Isonel31 で塗装した Elgiroy® 電極（先端直径10 μ m, 先端を50 μ m 露出）を用い逆行性刺激を行った。

実験終了後記録部位には10～15 μ A の陰性電流を10～15分流して染色を、また刺激部位には30 μ A の陽性電流を30sec 通電し傷害を作った。その後脊髄を取り出し10%ホルマリンに固定した後標本を50 μ m の切片としクレシールバイオレットで染色し Molandar, Xu および Grant (1984) のラット脊髄の細胞構築学的組織を参照し脊髄の刺激部位および記録部位を決定した。

Ⅲ. 結 果

56匹のラットより64個の細胞を記録した。

1. ニューロンの性質

64個の細胞のうち35個は末梢の機械的侵害刺激に応答する侵害受容性ニューロンであった。即ち29個はピンチや絞扼刺激にのみ特異的に応答する高閾値作動性ニューロンであり6個は機械的侵害刺激ばかりでなくブラシや圧刺激にも応答する広閾値作動性ニューロンであった。この実験においては低閾値作動性ニューロンは認められなかった。また末梢に受容野を確認できなかったものは29個見られこれは非分類性ニューロンとした。

2. ニューロンの受容野

35個の細胞のうち受容野を解析したものは33個であった。細胞の記録部位と同側の下肢に受容野を有するものは27個であった。しかし細胞の記録部位と反対側の下肢に受容野を有するものも6個（18%）存在した。

3. ニューロンの投射路

48個のニューロンについて上行性投射路を検討した。内訳は両側の前索を逆行性に刺激した細胞が30個、両側の前索および背側索の4か所を逆行性に刺激したものが18個である。

両側の前索刺激を行い片側の前索刺激に応じた細胞は30個中8個（26.6%）、このうち5個（16.6%）は高閾値作動性ニューロン、3個（10%）は非分類性ニューロンであった。高閾値作動性ニューロンのうち4個は細胞記録側と反対側、1個は同側であり非分類性のニューロンのうち2個は対側、1個は同側の前索刺激に応じたものであった。

両側の前索および背側索刺激を行い反応が認められたのは18個中1個でありこれは反対側背側索の逆行性刺激に応じた高閾値作動性ニューロンであった。

4. ニューロンの脊髄内分布

記録した全てのニューロンは脊髄のIV～X層に分布していた。

受容野を有するものはIV層に1個、V層12個、VI層8個、VII層9個、VIII層4個、X層1個でありV層に最も多く存在した。

非分類性ニューロンはIV層に2個、V層12個、VI層6個、VII層4個、VIII層2個、X層1個であった。

投射ニューロンについては侵害受容性ニューロンは6個のうち3個(50%)がV層に属しVI, VII, VIII層が各1個であった。また非分類性ニューロンでは3個全てがV層に存在した。

IV. 考 察

今回の実験において対側の後肢にのみ受容野をもつものが6個(18%)認められた。これは刺激前根と同側の脊髄ニューロンへ対側の皮膚からの入力があることを意味するものと考えられる。我々が組織学的に調べた結果からはガラス電極が正中を越えて対側へ進入していたことは考えにくく今回解析したニューロンの中にはそうしたものが実際に存在するものと考えられた。

多くの内臓求心線維は後根を経由し脊髄に入力するが、あるものは前根を経由し脊髄のI層やV層に終わるという。我々の実験で得られた29個の非分類性ニューロンのうちV層に属する12個のニューロンはこうした前根の内臓求心線維から入力を受けている可能性があると思われた。Apkarian (1985, 1989) や Jones ら (1987) によればネコの脊髄視床路には2つあり、ひとつは対側の脊髄IV～X層に存在するニューロンの軸索よりなる腹側脊髄視床路であり、もうひとつは対側のI層に存在するニューロンの軸索よりなる背側脊髄視床路であるという。また McMahon ら (1988) によればラットのI層の細胞の軸索は主に対側の背側索を通り上行するという。今回の実験の結果は脊髄に存在した侵害受容性ニューロン35個は全てIV～X層に存在しこのうち投射ニューロンは1個(対側背側索に投射)を除き5個(83.3%, 対側:同側=4:1)が前索を上行していた。

以上の結果はラットの前根を経由する一次求心線維刺激に応ずる脊髄ニューロンの一部は侵害受容性ニューロンでありそのうち一部が頸髄腹側部の刺激に逆行性に応ずる上行性ニューロンであることを示していると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 阿 部 弘

副 査 教 授 加 藤 正 道

副 査 教 授 井 上 芳 郎

脊髓前根内にも感覚情報を伝える求心線維が存在することは臨床的、解剖学的にまた生理学的に知られているが、これらを刺激することにより活性化される脊髓ニューロンがどのような性質を有するのか、また脊髓内のどこに分布しそのうち投射するニューロンは脊髓のどこを上行するのかについては知られていない。これらを検索するために電気生理学的に検討した。

56匹のラットより64個の細胞を記録した。

64個の細胞のうち35個の末梢の機械的侵害刺激に応答する侵害受容性ニューロンであった。即ち29個はピンチや絞扼刺激にのみ特異的に応答する高閾値作動性ニューロンであり6個は機械的侵害刺激ばかりでなくブラシや圧刺激にも応答する広閾値作動性ニューロンであった。この実験においては低閾値作動性ニューロンは認められなかった。また末梢に受容野を有しないものは29個見られこれは非分類性ニューロンとした。

35個の細胞のうち受容野を解析したものは33個であった。細胞の記録部位と同側の下肢に受容野を有するものは27個であった。しかし細胞の記録部位と反対側の下肢に受容野を有するものも6個(18%)存在した。

48個のニューロンについて上行性投射路を検討した。内訳は両側の前索を逆行性に刺激した細胞が30個、両側の前索および背側索の4か所を逆行性に刺激したものが18個である。

両側の前索刺激を行い片側の前索刺激に応じた細胞は30個中8個(26.6%)、このうち5個(16.6%)は高閾値作動性ニューロン、3個(10%)は非分類性ニューロンであった。高閾値作動性ニューロンのうち4個は細胞記録側と反対側、1個は同側であり非分類性のニューロンのうち2個は対側、1個は同側の前索刺激に応じたものであった。

両側の前索および背側索刺激を行い反応が認められたのは18個中1個でありこれは反対側背側索の逆行性刺激に応じた高閾値作動性ニューロンであった。

記録した全てのニューロンは脊髓のIV～X層に分布していた。

受容野を有するものはIV層に1個、V層12個、VI層8個、VII層9個、VIII層4個、X層1個でありV層に最も多く存在した。

非分類性ニューロンはIV層に2個、V層12個、VI層6個、VII層4個、VIII層2個、X層1個であった。

投射ニューロンについては侵害受容性ニューロンは6個のうち3個(50%)がV層に属しVI、VII、VIII層が各1個であった。また非分類性ニューロンでは3個全てがV層に存在した。

以上の結果はラットの前根を経由する一次求心線維刺激に応ずる脊髄ニューロンの一部は侵害受容性ニューロンでありそのうち一部が頸髄腹側部の刺激に逆行性に応ずる上行性ニューロンであることを示していると考えられた。即ち、腹側脊髄視床路の一次神経細胞が脊髄IV～X層に存在するということを考慮すれば、実験で得られた投射ニューロンは脊髄視床路細胞である可能性があり、従って、脊髄前根も痛覚の伝導路として機能しているものと考えられた。

口頭発表の審査において、加藤正道教授より、前根内の痛覚線維について、ヒトでも認められるのかどうか、また、臨床的にそれを示唆する知見があるのか、その細胞体はどこに存在するのか、今回の実験では、線維の種類を区別し得たかについての質問がなされた。また、井上芳郎教授より、今回の実験結果は他の動物でも共通に見られるのか、実験結果に言う上行性投射路と何か、また、前根内の求心性感覚線維の起源についての質問がなされた。また、長嶋和郎教授より求心線維は形態学的に証明が可能ではないか、筋萎縮性側索硬化症の剖検例の脊髄前根に見られる残存線維は自律神経線維ばかりではなく今回の実験に示されているような感覚線維も含まれている可能性があるのか、感覚線維の細胞体はどこにあるのか、皆川知紀教授より、axon flow mechanismで求心性、遠心性線維の区別はできないのか、児玉譲次教授より、実験結果の組織写真に示されている後索の形態についての質問がなされた。これに対し申請者は概ね妥当な回答を行った。その後、行われた加藤、井上副査教授との試問においても、概ね適切な回答がなされた。

本研究は脊髄前根内にも求心性線維が存在し、その一部は侵害受容性の脊髄神経細胞とシナプス性に接続し、脊髄腹側部を上行する投射ニューロンであることを示したものである。即ち、脊髄前根は痛覚の伝導路としても機能していることを明らかにしたものであり、有意義な研究と考えられ、学位授与に値する。