

マウス脊髄後角膠様質におけるカプサイシン感受性一次知覚ニューロンの 中枢性終末と GABA またはメチオニン-エンケファリン陽性 介在ニューロンとのシナプス

樋浦明夫 那須史男 石塚 寛

カプサイシン (capsaicin: Cap) が侵害受容性の一次知覚ニューロン (nociceptive primary afferent neuron: NPAN) を特異的に障害することはよく知られている¹⁾。Cap 感受性の NPAN の中枢性終末は脊髄後角または三叉神経脊髄路核の膠様質 (II層) に終止する²⁾。その微細構造は、大きな扇形の暗調な軸索形質にいろいろな大きさの密な明小胞、少数の有芯小胞とミトコンドリアを有するのが特徴である³⁾。それらは多くの樹状突起と少数の軸索様突起に囲まれ、いわゆるシナプス糸球体を形成している³⁾。成体マウスの膠様質にはそうした成熟した形態だけでなく、小さく細長いもの、曲がりくねったもの (幼若型)⁴⁾、円形、楕円形、帽子状のものなどさまざまなものがカプサイシン感受性を示し⁵⁾、また一次知覚ニューロンのマーカーである FRAP (fluoride-resistant acid phosphatase) にも陽性を示す⁶⁾。こうした終末は GABA 陽性の介在ニューロンとシナプス前性に接触している⁷⁾。脊髄後角膠様質における痛覚伝達の調節機構を形態学的に解明するために、Cap 感受性の終末と GABA あるいはメチオニン-エンケファリン (Met-Enk) 陽性の介在ニューロン間のシナプス構築を二重免疫電顕組織化学的方法により検討した。

材料と方法

成熟 ddY マウスの背側皮下に Cap を 50 mg/kg 投与した。投与後 2 時間にネムブータル麻酔下において 0.1 M のリン酸緩衝液 (pH 7.4) に溶解した 4% パラホルムアルデヒドと 0.25% グルタルアルデヒドの溶液 (1% のピクリン酸を含む) により灌流固定した。固定後腰髄を採取し、同固定液によりさらに 1 時間 (4°C) 再固定した。試料をマイクロスライサーを用いて 30~40 μm の厚さに横断薄切した。通法に従い脱水し、エポンまたは LRwhite に包埋した。膠様質を実体顕微鏡下にトリミングし、横断超薄切片を作製した。切片を 1% BSA-PBS 中に浸漬した (室温, 60 分)。さ

らに、ウサギ抗 Met-Enk 血清 (Chemicon, 1:1,200) にて反応後 (室温, 60 分)、ヒツジ抗ウサギ IgG-gold (5 nm, 1:10) を作用させた。引き続き、ウサギ抗 GABA 血清 (SFRI Laboratoire, 1:1,500) にて反応後 (室温, 60 分)、ヒツジ抗ウサギ IgG-gold (15 nm, 1:10) を作用させた。ウランと鉛による染色後、電子顕微鏡で観察した。

結果

Neuropile や細胞体内の金粒子の数がバックグラウンドよりも 3 倍強多い場合に免疫活性陽性と判断した。同一の Neuropile と細胞体に GABA と Met-Enk の両方の金粒子がみられる場合は粒子数の圧倒的に多い方を免疫陽性とした。また、同一の変性終末内に GABA と Met-Enk 陽性の金粒子がみられる場合があり (図 1-b, d)、多くの場合バックグラウンドと同程度の粒子数なので、人工的なものと考えた。

Cap によりシナプス顆粒が消失して、一様に電子密度の高まった変性像を示すさまざまな形の終末が、GABA または Met-Enk 陽性の樹状突起 (図 1-a, b) と細胞体 (図 1-c, d) に接触していた。細く曲がりくねった変性終末 (a) と帽子状の変性終末 (b) が GABA 陽性または Met-Enk 陽性の樹状突起とシナプス前性に接触していた。また、帽子状の変性終末が GABA 陽性な細胞体に接触しているもの (c)、変性萎縮した扇形の終末 (d) が Met-Enk 陽性の細胞体と接触しているものなどがみられた。

考察

さまざまなタイプの終末が Cap によりシナプス顆粒の消失と一様な電子密度の増大などの変性像を呈した。それらの終末は GABA あるいは Met-Enk 陽性の樹状突起または細胞体と接触していた。あるものは GABA または Met-Enk 陽性ニューロンに対して明らかにシナプス前性に接触していた。ラットの頸髄後角表層でサブスタンス P (SP) 陽性の一次知覚ニュー

Synaptic relationship between capsaicin-sensitive primary afferent central endings and GABA- or methionine-enkephalinergic interneurons in the substantia gelatinosa of the mouse spinal dorsal horn

Akio HIURA, Fumio NASU and Hiroshi ISHIZUKA: 徳島大学歯学部第二口腔解剖学教室
連絡先: 樋浦明夫 (徳島大 〒770 徳島市蔵本町 3-18-15)

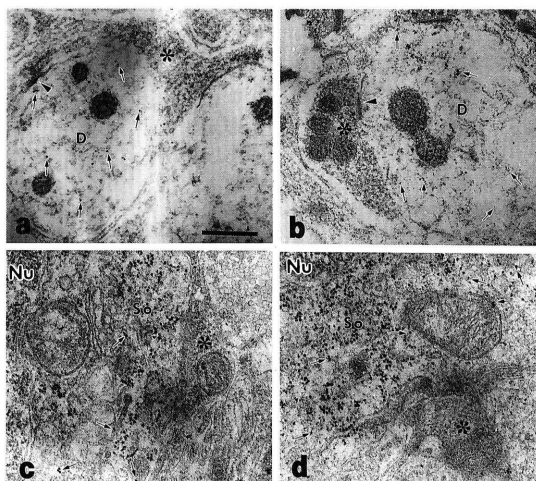


図1 カプサイシン投与後2時間の腰髄後角表層における一次知覚ニューロンの変性終末(*印)とGABAまたはMet-Enk陽性介在ニューロンとのシナプス

a: 細長く曲がりくねった典型的なカプサイシン感受性の変性終末がGABA陽性の樹状突起(D)に対しシナプス前性に接触している。矢印はGABA陽性の金粒子(15 nm)を、矢頭はシナプス後膜の肥厚を示す。

b: 帽子状の変性終末がMet-Enk陽性樹状突起幹(D)とシナプス前性に接触している。矢印はMet-Enk陽性の金粒子(5 nm)を、矢頭はシナプス後膜の肥厚を示す。

c: 変性した帽子状の終末がGABA陽性の細胞体(So)に接触している。シナプス構造ははっきりしない。右上にはシナプス顆粒が充滿している正常な軸索様終末がみえる。矢印はGABA陽性の金粒子を示す。

d: 変性萎縮した扇状の終末がMet-Enk陽性の細胞体(So)に接触している。シナプス構造ははっきりしない。矢印はMet-Enk陽性の金粒子を示す。GABA陽性の金粒子もすこしみられる。

Nu: 核, 棒=0.5 μm.

ロンの終末が, Met-Enk陽性の細胞体と樹状突起に対してシナプス前性に接触しているという報告がある⁸⁾。マウス腰髄後角表層においてSPを含有する終末

は微細構造のうえでCap感受性の一次知覚ニューロンの終末と酷似している⁹⁾ことから, Cap感受性の終末は痛覚伝達物質とみなされているSPを含有しているものと考えられる。本研究により, Cap感受性の中枢性終末がGABAあるいはMet-Enkを含有する介在ニューロンとシナプスを形成することから, NPANの終末が抑制性の介在ニューロンとシナプス前性に接触することが明らかになった。このことはNPANが痛覚を伝達するだけでなく, 抑制性の介在ニューロンを介して自らその調節に関与していることを強く示唆する。

まとめ

脊髄後角膠様質においてカプサイシン感受性であることから, 明らかに侵害受容性一次知覚ニューロン(NPAN)の中枢性終末が抑制性の伝達物質であるGABAまたはMet-Enkを含有する介在ニューロンと接触していた。それらは多くの場合, NPANが抑制性の介在ニューロンに対してシナプス前性に接触していた。このことはNPANの痛覚伝達における調節作用の可能性を示すものと考えられる。

- 1) Holzer, P.: *Pharmacol. Rev.* **43**: 143-201, 1991.
- 2) Willis, W. D. Jr. and Coggeshall, R. E.: *Sensory Mechanisms of the Spinal Cord* Plenum Press, New York, 1992, p. 106.
- 3) Ribeiro-da-Silva, A. and Coimbra, A.: *J. Comp. Neurol.* **209**: 176-186, 1982.
- 4) Pignatelli, D. et al.: *Brain Res.* **491**: 33-44, 1989.
- 5) Hiura, A. and Ishizuka, H.: *Experientia.* **51**: 551-555, 1995.
- 6) Hiura, A. et al.: *Acta Histochem. Cytochem.* **28**: 501-505, 1995.
- 7) Hiura, A. et al.: *Arch. Histol. Cytol.* **59**: 55-60, 1996.
- 8) Katoh, S. et al.: *Cell Tissue Res.* **253**: 55-60, 1988.
- 9) Hiura, A. et al.: 4th IBRO World Congress of Neuroscience, Abstracts(B 2. 35), 1995.

(受理日: 1997年6月4日)

* * *