

視床下部—下垂体系における  
除痛メカニズムの実験的研究

(研究課題番号：01570798)

平成1年、2年度 科学研究費補助金  
(一般研究C) 研究成果報告書

平成4年3月

研究代表者 大神正一郎  
(旭川医科大学医学部)

## はしがき

平成1、2年度の2年間にわたって文部省科学研究費補助金（一般研究C）の助成のもとに行なった「視床下部-下垂体系における除痛メカニズムの実験的研究」は、研究期間を終了し、ここにその研究成果の報告書をまとめることになった。

実験的研究を幅広く、しかも可能な限り深く掘り下げて施行し、結果を出す予定であったが、その研究のほんの一部しか目的は達成されていない。しかし二、三の新しい知見が得られたと考え報告するものである。報告書をまとめるにあたり、各分野の専門家の方々からの率直な御批判、御意見を願うものである。

## 研究組織

研究代表者 大神正一郎（旭川医科大学医学部・助教授）

### 研究分担者

米増祐吉（旭川医科大学医学部・教授）

田中達也（旭川医科大学医学部・講師）

代田 剛（旭川医科大学医学部・講師）

橋本政明（旭川医科大学医学部・助手）

藤田 力（旭川医科大学医学部・助手）

田中滋也（旭川医科大学医学部・研究生）

福田 博（旭川医科大学医学部・助手）

### 研究協力者

磯部裕成（旭川医科大学医学部・文部技官）

## 研究経費

平成1年度 1,840千円

平成2年度 900千円

計 2,740千円

# 研究発表

## 1. 学会誌等

(1) 大神正一郎、橋本政明、橋爪 明、米増祐吉

視床下部一下垂体系と疼痛抑制機構

—Corticotrophin releasing factor (CRF) の役割について—

機能的脳神経外科 26:201-206,1987

(2) Hashimoto, M., Ohgami, S. and Yonemasu, Y.

The Role of the Paraventricular Nucleus and Pituitary Gland  
in Morphine Analgesia

Neurologia medico-chirurgica (Tokyo) vol:31 (10) 629-634, 1991

## 2. 口頭発表

前部視床下部 PVN核と疼痛抑制機構：

—ラットにおけるmorphine脳内微量注入法による検討—

旭川医科大学脳神経外科

○大神正一郎、田中滋也、橋本政明、代田 剛、田中達也、米増祐吉

第29回日本定位脳手術研究会、平成2年10月22日（千葉）

# 研究 成 果

## 〈視床下部－下垂体系における除痛メカニズムの実験的研究〉

はじめに

臨床的に下垂体や視床下部を破壊したり、また一方では電気刺激しても鎮痛が得られることが知られているが、そのメカニズムはいまだに明らかではない。

我々は、以前からラットを用い、視床下部－下垂体系の痛みに及ぼす影響について検討してきたが、前部視床下部の神経核群、中でも Corticotropin releasing factor (CRF) を産生する paraventricular nucleus (以後 PVN) 核に着目し、ラットの PVN にモルフィンを微量注入し、ラットの疼痛におよぼす影響を検討してみた。また下垂体が及ぼす影響を検討するため、下垂体摘出やナロキソン投与による影響も検討した。

この報告は A, B の 2 部から成立っている。A は日本語による学会発表を加筆したものであり、B は英文ですでに発表したものと併記したものである。

### A. <前部視床下部 PVN 核と疼痛抑制機構：>

ーラットにおける morphine 脳内微量注入法による検討ー>

#### <実験方法および実験動物>

実験動物として Fig 1 のようにオス SD ラット 延べ 3 4 匹を使用し実験を行なった。疼痛閾値測定にあたり、その前処置として、下垂体摘出群はペントバルビタール麻酔下に、手術顕微鏡を使って下垂体摘出術を施行した。また Naloxone を投与する群は、モルフィン微量注入の 3 分前に 0.2 mg を腹腔内に投与した。全例、定位的に外径 0.6 mm のステンレス製 guide cannula を、右 PVN 1 mm 上方に留置固定しておいた。術後 1-2 週間目に、guide cannula より 0.5 mm 長い内径 0.3 mm の injection cannula を挿入し、Hamilton syringe を使って 0.7-1  $\mu$ l の morphine hydrochloride を 約 60 秒かけてゆっくり注入し、生食注入群と比較した。無麻酔で注入針の挿入が困難な場合は、エーテル麻酔を行なって施行した。薬液注入後 15 分－30 分毎に 120 分後まで、52 度 C

の hot plate上で前肢または後肢をなめるまでの時間、すなわち paw lick latency (以後 PLL)を測定し、痛み閾値の客観的評価とした。挿入電極の確認には70 $\mu$ Aの直流を、30秒間流してlesionを作成し、H-E染色で cannulaの先端を確認した。

またラットは Fig 2のように6群に分け、それぞれ生食、morphineを下垂体非摘出、摘出グループに分けて注入した。上4群は組織学的に、cannulaの先端が PVNに当たっているものだけを対象としてあるが、naloxone 注入グループは組織学的確認はまだである。

#### <痛みの評価方法>

痛みのレベルの評価は、これら一連の実験では非常に重要な部分を占めるが、これらの実験ではすべて hot plate法(熱板式鎮痛効果測定装置：室町器械社製 MK-350)でラットの疼痛閾値を客観的に測定し検討した。ホットプレートに52 $^{\circ}$ Cに設定し、ホットプレート上に放り出されたラットが、足底部に痛みを感じて足の裏をなめるまでの時間である paw lick latency (以下PLL)を2分おきに4回測定し、平均値を各群間で比較した。

#### <下垂体摘出手術>

下垂体摘出および sham operationは手術用顕微鏡を用い parapharyngeal approachで行なった。ラットをsodium pentobarbital麻酔(45 mg/Kg、腹腔内投与)後、手術台上に背臥位に固定した。頸部の正中で皮膚切開後、気管、食道を外側に寄せラットの頭蓋底を露出すると視野の中央に後頭蝶形軟骨結合が認められる。下垂体摘出群はその中央に歯科用ドリルで(3x3 mm大)骨窓を開け硬膜を切開して下垂体を露出し、サクシオンで下垂体を吸引摘出した。Sham operation群は骨窓は開けたが硬膜は切開していない。

#### <結果>

1. PVNに 生食および Morphineを微量注入した場合の PLL

1) Table 1は PVN生食注入群のPLLで、それをグラフ化したものが Fig 3である。生食注入30分後から30分毎に90分まで PLLを測定したが平均するとほぼ10秒以下である。

2) Table 2はモルフィン注入群の PLLで、それをグラフ化したものが Fig 4である。60秒以上のものは60秒で打切っているが、2匹をのぞき60秒以上と PLLは著明に延長し

鎮痛効果が認められた。このときラットは動きが少なく cataleptic な傾向が認められるが、元気である。

3) モルフィン注入群と生食注入群の平均値を比較してみたものが Fig 5 であるが、両者間にはあきらかな差異が認められ、統計学的にも危険率 1 % で有意である。

## 2. 下垂体摘出の影響

4) 次に下垂体摘出の影響を検討してみた。下垂体摘出グループにおける生食、モルフィン注入群の PLL 平均値をグラフで示したものが Fig 6 であるが、両者の間には明らかな差が認められ、統計学的に 1 % の危険率で有意であった。

5) Fig 7 は下垂体摘出、非摘出群におけるモルフィン注入後の PLL 平均を、グラフで示したものである。☆印の下垂体摘出群で 90, 120 分後の PLL が非摘出群に比べて延長しているが、統計学的に有意ではなかった。下垂体摘出、非摘出群間の差はあまりなく、両群ともモルフィン注入により有意に PLL が延長していると考えられる。

## 3. Naloxone 腹腔内投与の影響

次にモルフィンの antagonist である naloxone を腹腔内に投与してその影響を検討した結果を Table 3 に示す。この両群のラットはまだ組織学的に検討していないので、両方の実験が可能であった 5 匹のラットを対象として、上段はモルフィン注入、下段には naloxone 処置後モルフィン注入の PLL を併記してある。

Fig 8 は その PLL をグラフで示したもので、その PLL の平均値を経時的にまとめ図示したものが Fig 9 である。強いて言えば、多少 naloxone 処置後のモルフィン注入群の PLL が短い傾向がうかがえ、また naloxone 前処置の影響が特に 15, 30 分の初期段階で認められるといえるかも知れない。この点は組織学的にも、さらに実験ラット数を増やして検討する必要があるし、また、naloxone を PVN に注入してモルフィン全身投与によって生じた鎮痛効果がブロックされるかどうかも含めて、検討する積りである。

## 4. 組織学的検討

全例ラットの脳は 8  $\mu$ m 厚さの coronal section でカットし、injection cannula の先端部を組織学的に検討した。PVN は第 3 脳室のすぐ外側下部に存在しており、特に cannula の先端が第 3 脳室を突き破り、脳室内にモルフィンが注入されていないことを確認した。

## <考察>

脳神経外科に於ける頭痛症の治療法としては、これまでは痛覚求心路を破壊する方法が中心であった。ヒトに対する下垂体破壊術は1968年Morriccaにより施行されその除痛効果はすでに認められ、除痛法として、他の部位での痛覚求心路の破壊術と並行して広く行なわれるようになっていた。しかし下垂体破壊術の除痛メカニズムに関しては十分に解明されておらず、ホルモンの関与が示唆されてきた。その後下垂体には内因性モルフィン様物質の $\beta$ -endが非常に多量存在していることが判明し、 $\beta$ -endと鎮痛との関連が注目され、数多くの実験が行なわれてきた。この neuropeptideである $\beta$ -endの鎮痛における評価は様々で、賛否が分れているのが現状である。 $\beta$ -endは下垂体に圧倒的に多く存在しているが、下垂体以外でも脳内の視床下部、中隔野、中脳、橋および延髄など、脳の中心線沿いに存在しているのが免疫学的方法で認められている。我々は以前より下垂体内に $\beta$ -endを分泌し、下垂体より上位の視床下部ホルモンであるCRFに注目し、CRFがラットの痛みにもどのような影響を及ぼすか検討してきたが、CRFの微量注入では疼痛閾値に影響を与えなかった。

Fairmanは視床下部のPVNの破壊で、真柳らはPosterior hypothalamusでの破壊や電気刺激で、鎮痛効果があることを、それぞれ臨床例で報告しているが、実験的にも視床下部と疼痛について検討した報告は少なく、その鎮痛効果には賛否両論がある。またPVNに限って疼痛との関連を検討したものは見当たらない。PVNはmedial hypothalamusに属しラットで1 mm直径位の核であるが、Swansonによれば、dorsal parvocellular partはspinal cordに、magnocellular partは下垂体後葉の両者に線維を送っており、前部視床下部と後部視床下部との接点であるとも云える。またopiate receptorが多いこともわかっており、今回劇的な鎮痛をしめしたメカニズムとしては、直接脊髄後角への抑制なのか、または電気刺激やモルフィンに著明に反応する、中脳水道周囲灰白質(PAG)(NRGC)、延髄縫線核群などの下行性抑制系との関連があるのではないかと推測される。しかし視床下部は、刺激でも破壊でも疼痛抑制を示すと、一見矛盾した報告を真柳らがしているように、いくつかの神経機序に加えて液性機序が複雑にからんでおり、その鎮痛のメカニズムの解明には、まだまだ今後の研究の積み重ねが必要である。

またPVNは下垂体との連絡が強い内分泌の中枢でもあり、臨床的に下垂体破壊により生ずる鎮痛機序と関連して、PVNの影響も検討してみたが、今回の結果から

PVNのモルフィン鎮痛と下垂体切除の相関はないように思われる。

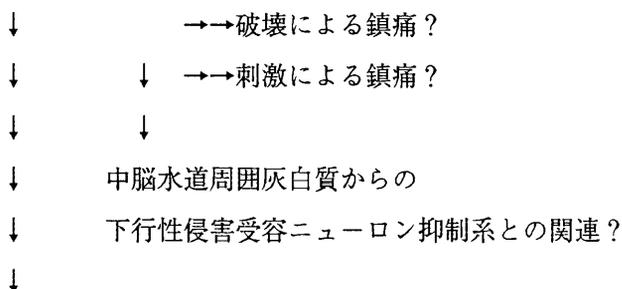
いずれにしても、今回の実験結果から、視床下部 PVN が疼痛抑制に重要な役割を果たし、opiate receptorを介して疼痛抑制機構に関与していると推測される。

**PVN:** \*下垂体後葉と medulla ,spinal cordの両者に連絡

(Swanson, Pittman, Hosoya)

\*opiate receptorが豊富

\*morphine微量注入→→劇的な鎮痛



opiate systemを介する

疼痛抑制機構の存在

<まとめ>

1. ラットの視床下部 PVNに morphineを微量注入すると劇的な鎮痛効果を示した。
2. 従って、PVNは鎮痛機構に関与しているが、その機序として opiate systemを介しているらしい。
3. 下垂体摘出はその鎮痛機構には関与しないと考えられる。

<文献>

1) Hosoya Y, Matushita M

Identification and distribution of the spinal and hypophyseal projection neurons in the paraventricular nucleus of the rat. A light and electron microscopic study with the horseradish peroxidase method.

Exp Brain Res vol:35, 315-331, 1979

2) Mayanagi Y, Sano K, Suzuki I, Kanazawa I, Aoyagi I, Miyachi Y

Stimulation and coagulation of the posteromedial hypothalamus for intractable pain, with reference to  $\beta$ -endorphins

Appl Neurophysiol 45:136-142, 1982

3) Kawajiri Shin-ichi, Satoh Masamichi

Analgesic effects of cyclazocine and morphine microinjected into the rat dorsomedial hypothalamus demonstrated by the bradykinin-induced flexor reflex test, European J of Pharmacol vol:111, 117-120, 1985

4) Cazala P, Darracq C and Saint-Marc M

Self-administration of morphine into the lateral hypothalamus in the mouse

Brain Research vol:416, 283-288, 1987

5) 橋本政明, 大神正一郎, 米増祐吉

視床下部室傍核 (P V N) と下垂体と疼痛抑制機構—ラットにおける morphine 脳内微量注入法による検討—

第26回日本定位脳手術研究会講演集, 83, 1987

6) 真柳佳昭, 渡辺英寿

頭痛の外科的除去—視床下部電気刺激除痛法の研究—

文部省特定研究報告書”疼痛のメカニズム” S 59年度, 492-496, 1974

7) Swanson LW

Immunohistochemical evidence for a neurophysin-containing autonomic pathway arising in the paraventricular nucleus of the hypothalamus

Brain Research vol:128, 346-353, 1977

8) Buckingham JC, Cooper TA

Interrelationships of opioidergic and adrenergic mechanism controlling the secretion of corticotrophin releasing factor in the rat

Neuroendocrinol vol:46, 199-206, 1987

<実験方法>

1. 実験動物：オス SD rat (260-340 g) 34匹
2. 前処置：
  - 1) 下垂体摘出術：下垂体摘出群のみ  
顕微鏡下に parapharyngeal approach
  - 2) 腹腔内 naloxone 投与：NL-M群のみ 3分前 0.2 mg
  - 3) 定位的 guide cannula 設置：全例に行なう  
guide cannula (外径 0.6 mm, 内径 0.3 mm)  
右 PVNの 1 mm上方に留置固定
3. 生食または morphine微量注入 (術後 7-14日目)
  - a. injection cannula (外径 0.3 mm)
  - b. 1  $\mu$ l Hamilton syringe
  - c. microinjection 生食 0.7  $\mu$ l or  
morphine hydrochloride 0.7  $\mu$ l (7  $\mu$ g)
4. 疼痛閾値測定 (熱板法)
  - a. 熱板 (52 $\pm$ 0.1 $^{\circ}$ C)
  - b. paw lick latency (PLL) 測定 15、30、60、90、120分後
5. 組織学的検討  
H-E 染色で cannula刺入部位の確認

Fig 1

<実験ラットグループ内訳>

- |                      |     |
|----------------------|-----|
| 1) 生食注入群             | 6 匹 |
| 2) モルフィン注入群          | 7   |
| 3) 下垂体摘出+生食注入群       | 7   |
| 4) 下垂体摘出+モルフィン注入群    | 4   |
| 5) *モルフィン注入群         | 5   |
| 6) *ナロキソン処置+モルフィン注入群 | 5   |

Fig 2

---

計 34 匹

<PVN 生食注入群の PLL>

ラット番号	30分後	60分後	90分後
S-1	10	7.7	8.8
S-2	5.3	7.1	3.5
S-3	4.2	6.2	7.1
S-4	6.9	5.4	5.1
S-5	8.2	14.8	9.2
S-6	14.9	6.8	4.4

Table 1

平均(秒) 8.3±3.5 8.0±3.1 6.4±2.2

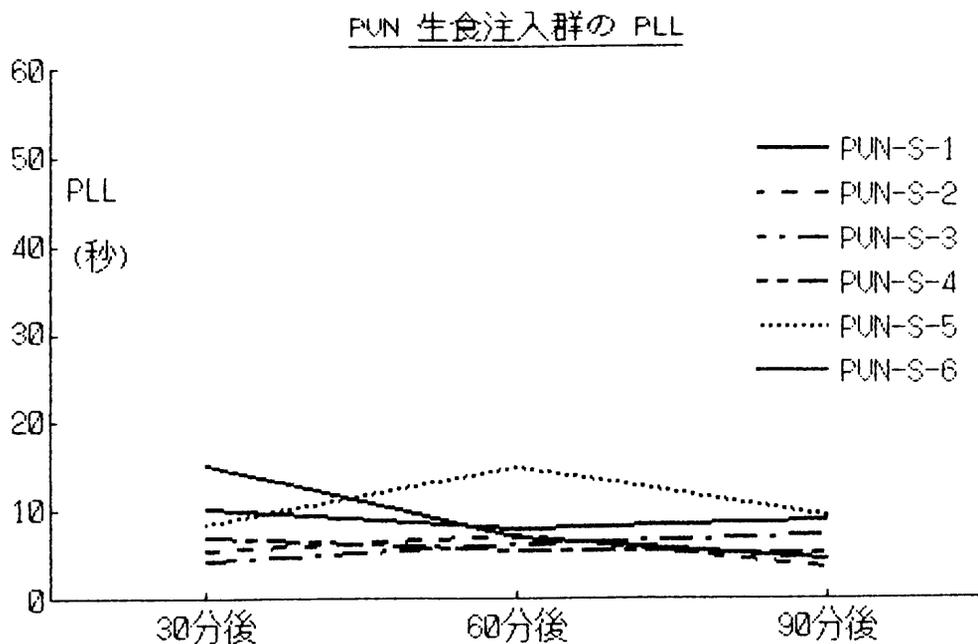


Fig 3

<PVN モルフィン注入群の PLL>

ラット番号	30分後	60分後	90分後	120分後
M-1	60	60	11.6	3.8
M-2	20	5	15.6	9.7
M-3	13.8	23	14.9	9.4
M-4	60	60	4.7	5.3
M-5	60	60	6.3	5.9
M-6	60	60	19	4
M-7	60	60	60	60

平均 (秒) 47.7±18.8 48.4±17.3 17.9±16.6 13.6±17.8

Table 2

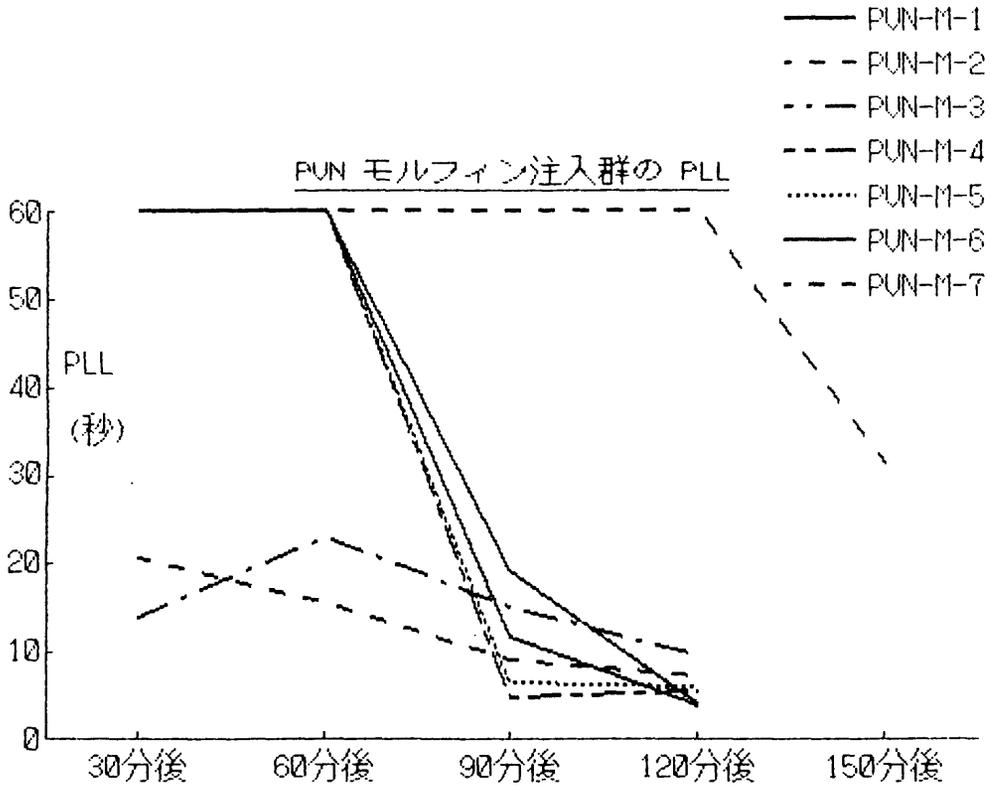


Fig 4

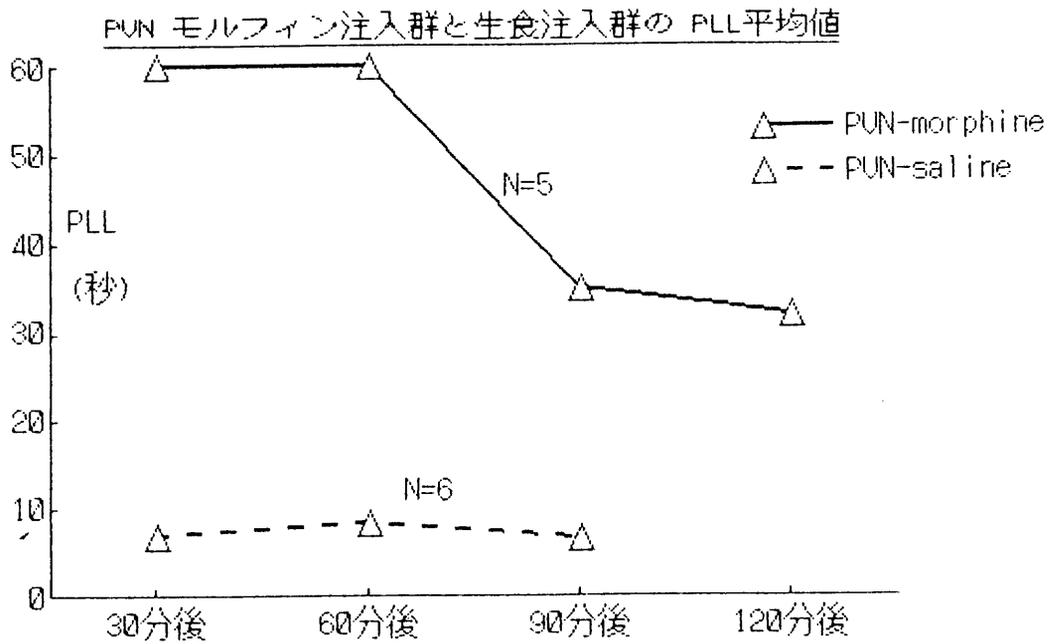


Fig 5

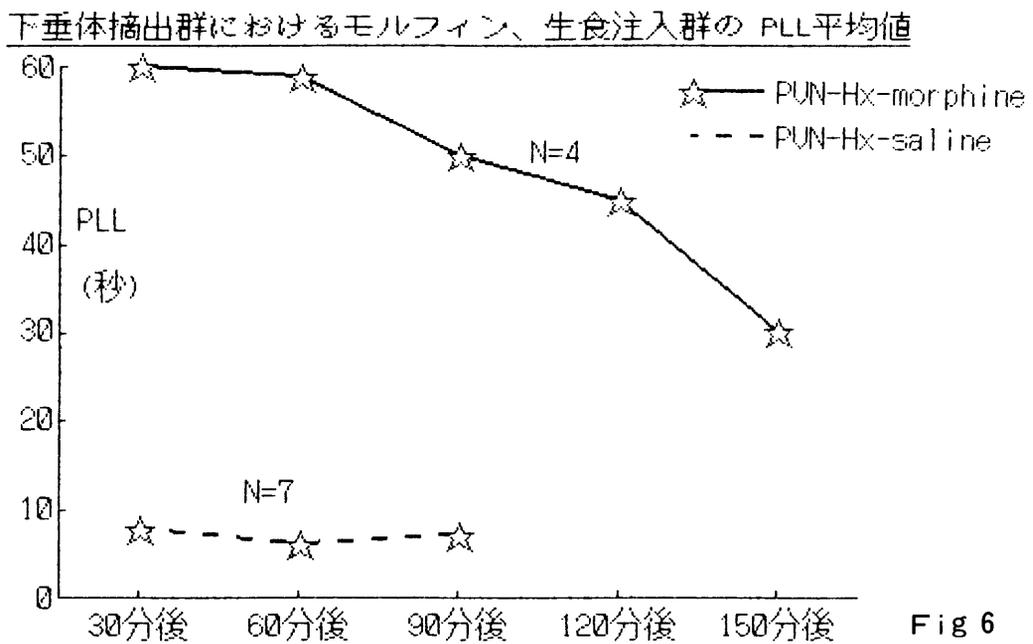


Fig 6

下垂体摘出、非摘出群におけるモルフィン注入

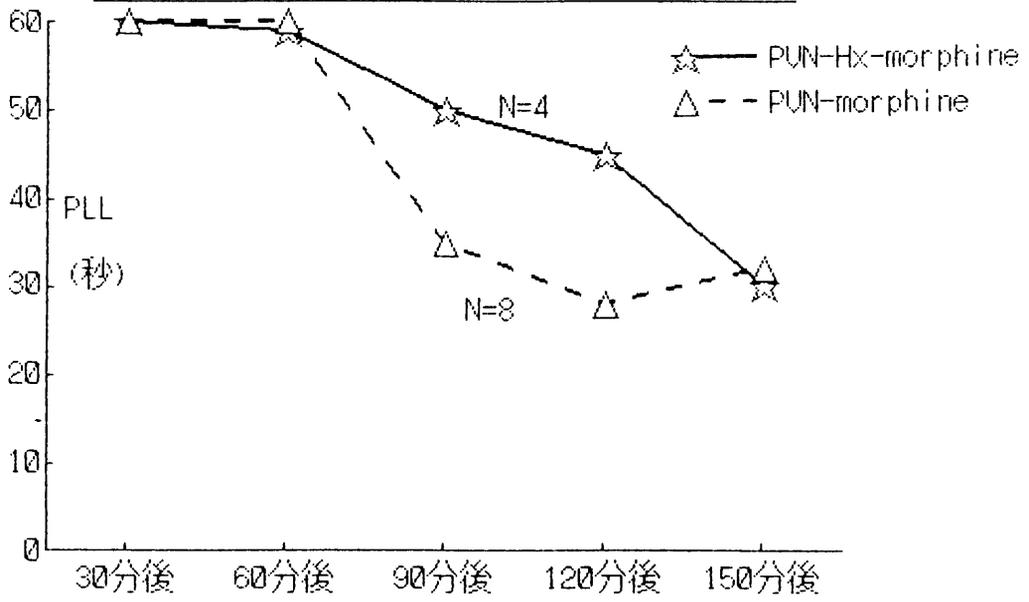


Fig 7

<PVN モルフィン注入群と ナロキソン処置後注入群の PLL.>  
 15分後 30分後 60分後 90分後 120分後

M-1 (M 注入)		63	23	9	
M-1-NL (NL処置)	7.9	13.9	11	14.2	14.1
M-3		15	22	14	
M-3-NL	9.4	6.7	5.6	5.1	4.5
M-6	6	30	30	11	19
M-6-NL	29.6	29	23.4	10.6	18.4
M-7	12	28	20	14	10
M-7-NL	14.1	8.8	12.1	5.9	4.4
M-8	18	8	9	7	7
M-8-NL	9.5	6.2	12.6	7.1	4.4
M 群平均 (秒)	30.0	28.8	20.8	11.0	12.0
NL 群平均 (秒)	14.1	12.9	12.9	8.6	9.2

Table 3

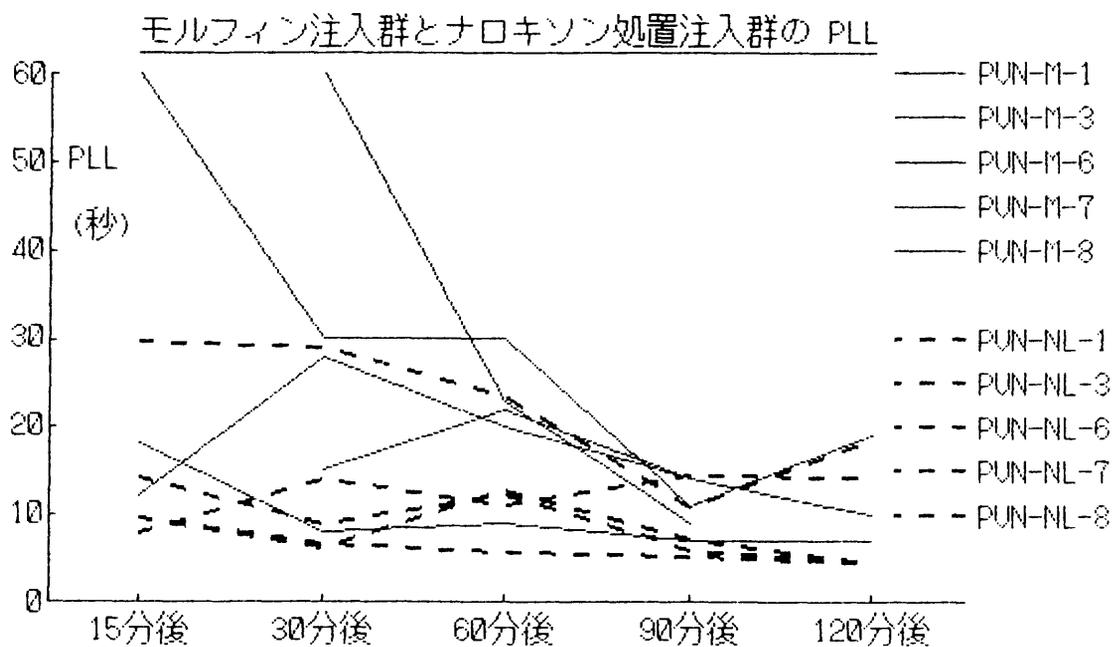


Fig 8

モルフィン注入群とナロキソン処置注入群の PLL 平均値

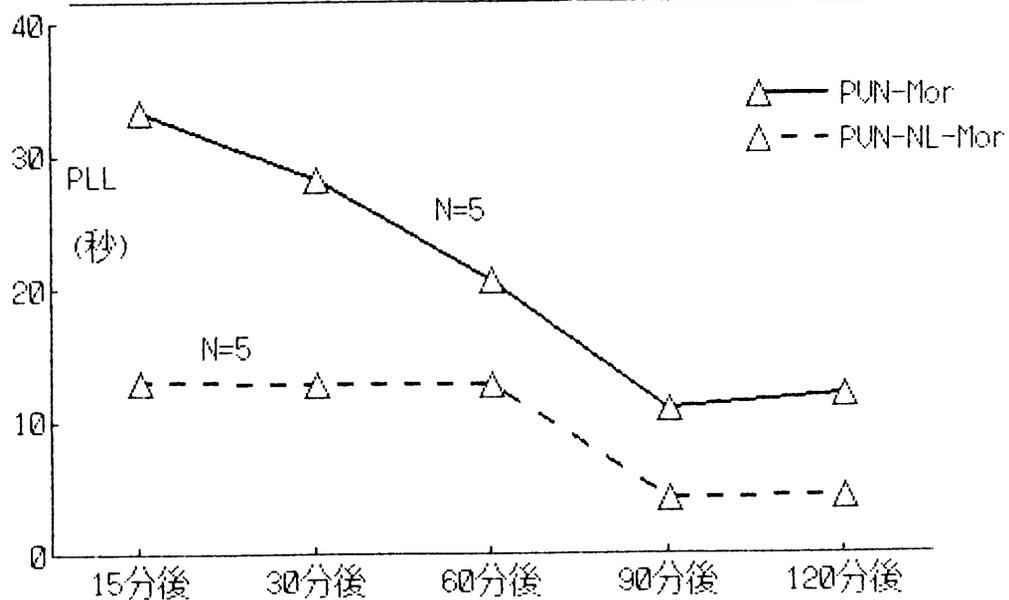


Fig 9