アロディニア発現における脊髄シナプス 伝達様式に関する検討

今 井 弘 貴

九州歯科大学大学院歯学研究科歯科麻酔学専攻 (指導: 仲西 修 教授)

平成 10 年 2 月 25 日受理

Mechanism of Spinal Transmission in Tactile Allodynia

Hirotaka Imai

Department of Dental Anesthesiology (Director: Prof. Osamu Nakanishi)
Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

Intrathecal (i.t.) injection of strychnine (STR: glycine antagonist) or bicuculline (BIC: GABA-A receptor antagonist) results in tactile-allodynia that can be blocked by N-methyl D-aspartate (NMDA) receptor antagonists. These glycine and GABA-A receptors tonically regulate activity in spinal glutamatergic terminals and i.t. STR and BIC enhance the spinal release of amino acids (AAs).

Under halothane (1.5 %) anesthesia Sprague-Dawley rats were implanted with a lumbar i. t. loop dialysis catheter and an i.t. injection catheters. Four days after implantation, rats were randomized to receive an i.t. injection of STR (3 μ g) or BIC (10 μ g). Before and after injections the touch-evoked agitation (TEA) was scored and dialysate samples were collected periodically and analyzed for glutamate (Glu) and taurine (Tau) concentration by HPLC with EC detector. To assess the contribution of NMDA receptors which themselves exert an excitatory effect upon spinal glutamatergic neuron, the effects of i.t. NMDA (3 μ g) on spinal AAs release and TEA scores were also examined.

Intertheal NMDA and BIC evoked a transient spinal release of Glu and Tau in the 0-10 min sample and prominent allodynia, whereas STR did not affect spinal transmitter release at any time.

These results suggest that the development of allodynia may result from either a loss of GABA-A or glycine inhibition. The spinal mechanisms underlying these two actions appear to differ, the former facilitating spinal glutamate release, the latter not.

Key words: Allodynia / N-methyl D-aspartate (NMDA) / GABA

緒 言

一般に、痛みは体外からの侵害刺激（熱、機械、化学的な刺激）が末梢神経の A δ 線維や、C 線維を介して中枢神経に伝達される。一方、生理的条件下では痛みを生じない触覚、圧等の非侵害刺激は末梢神経から A β 線維を介して中枢神経に伝達される。臨床において、帯状疱疹後神経痛やカウザルギーなどの病的状態においては、きわめて軽い触覚（低域値触覚刺激）によって痛みが生じる¹⁾。これを触覚アロディニアという。この触覚アロディニアは、治療に抵抗性が高く、その病態解明と的確な治療法の確立は急務とされている。最近の研究から、触覚アロディニアは、末梢神経が傷害されると求心性刺激が脊髓後角ニューロンへ入力される過程で、シナプス調節様式が変調をきたすことがその一機序であることが、明らかにされつつある。すなわち、末梢からの非侵害性刺激が A β 線維の興奮をもたらし、脊髓後角ニューロンに入力する。この過程で第 II-IV 層に局在する GABA あるいはグリシン含有の抑制性介在ニューロンの機能が低下していることと合せ、グルタメート神経系の活動亢進が関与するのではないかと示唆されている²⁾。

このような、脊髓レベルにおける抑制性介在ニューロンの脱抑制機構の関与については、以下の報告から支持されている。まず、末梢神経損傷後に脊髓後角で GABA 含有神経細胞の選択的傷害が起きることが知られている³⁾。さらに、電気生理学的研究により、脊髓シナプスにおいて、GABA やグリシン髄腔内投与が A β 神経線維終末-軸索間のシナプス活性によって生じる一次求心性神経のシナプス前抑制をもたらすこと⁴⁾や、軸索-樹状突起間シナプス、軸索-細胞体間シナプス活性によって生じるシナプス後抑制を介する調節機構にも、GABA やグリシン神経系が関与すること⁵⁾が明らかにされた。また、i) グリシン神経系阻害薬 (strychnine: STR) や GABA-A 受容体阻害薬 (bicuculline: BIC) を脊髓くも膜下腔内 (i.t.) に投与した後、低域値刺激、すなわち触覚刺激を末梢に与えると、もがき (touch-evoked agitation: TEA) 反射が発現すること^{6,7)}、ii) BIC や STR の作用は、電気生理学的には、低域値刺激によって惹き起こされる脊髓後角の広域作動ニューロン (wide dynamic range neurons: WDR) の増強反応と同じであると考えられていること^{8,9)}、さらに、iii) 脊髓後角で、有髄神経の刺激が脊髓抑制性シナプス後電位 (IPSP) を発生させ、それらは BIC, STR で阻害されること¹⁰⁾も報告された。したがって、これらの事実から A β 神経を介

する求心性入力、GABA やグリシン神経系による立体的な抑制機構によっても調節されていることがわかる。その例として、脊髓後角の GABA-A やグリシン神経系が機能的変調をきたすか、細胞傷害を起こすと、抑制性介在ニューロンの機能低下 (脱抑制) が生じる。つまり、末梢神経損傷に起因したとみられるアロディニアが起きる。この場合、GABA-A 阻害薬、グリシン阻害薬の脊髓 i.t. 投与によって誘発される触覚アロディニアは、脊髓 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体阻害薬の i.t. 併用投与によって GABA-A、グリシン両阻害薬の作用が抑制されることから、アロディニア発現にグルタメート神経系を介する機構の関与も考えられる¹¹⁾。すなわち、NMDA 受容体阻害薬の脊髓 i.t. 投与は、GABA 誘発触覚アロディニアの発現を低下させ^{6,12)}、一方では、NMDA の脊髓 i.t. 投与により、痛覚過敏や、アロディニアが著明に発現することが分かっている^{13,14)}。

ところで、末梢からの繰り返しの高域値刺激は、痛覚過敏を惹き起こし、その発現に伴って刺激直後に一過性の脊髓内グルタメート濃度の著しい上昇が起きることが報告されている¹⁵⁾。また、NMDA 阻害薬を i.t. 投与すると、痛覚過敏の発現が低下すると共に、脊髓内グルタメート濃度上昇も抑制されることが報告されている^{16,17)}。しかし、STR あるいは BIC 誘発触覚アロディニア発現における脊髓内グルタメート濃度の変化については知られていない。

これらのことから、触覚アロディニア発現時のグルタメート濃度の変化を調べることは、求心性入力の増加、あるいは、GABA やグリシン神経系の機能の変調を知る上で大きな意義がある。

そこで、本研究では、さまざまな化学的誘発触覚アロディニアにおいて、その発現機構の差異を調べるため、脊髓マイクロダイアリス法を用い、脊髓グルタメート濃度の変化に及ぼすグリシン神経系阻害薬および GABA-A 受容体阻害薬の影響について比較検討した。

材料および実験方法

I. 実験動物および準備操作

Sprague-Dawley 系雄性ラット (300-350 g) を用いた。明 / 暗 12 時間 (明 7:00~19:00)、室温 23 ± 2 °C の環境条件下で飼育し、固形飼料および飲用水を自由に与えた。

実験 3 日前に、Yaksh-Rudy の方法に準じ¹⁸⁾、ラットを脳定位装置に固定した後、マスクをあて 3 % ハロタン麻酔下に薬物投与のためのポリエチレンチューブ (PE-

10) およびループ型マイクロダイアリス (MD) プローブを先端が腰髄1-2のクモ膜下腔内となるように留置した^{12,19)}。MD プローブは、Marsala らの方法¹⁹⁾に準じ、長さ 18 cm, 透析範囲 4 cm, 内径 200 μ m, 外径 300 μ m, cut off 分子量 45 kDa のキュプロファン膜ホローファイバーを用いて作成した。予備実験で、デキストロース (分子量 180.16) を用いて測定したところ本プローブの回収率は約 40 % であった¹⁹⁾。留置3日後に20 % 以上の体重減少, 神経学的障害, およびストレス症状のみられるラットは実験から除外した。

また、実験終了後は速やかに pentobarbital sodium (50 mg/kg, ip) 麻酔下でホルマリン灌流固定を行い、脊髄を摘出し、カテーテルの留置部位および組織傷害の有無を確認した。

なお、本研究における動物実験は「九州歯科大学における動物実験に関する指針」に従って行った。

II. 触覚アロディニアの測定

NMDA, STR あるいは BIC 投与後の触覚アロディニア反応については、Yaksh の方法に準じ⁶⁾, touch-evoked agitation (TEA) スコアによる評価を行った。すなわち、ラット腰部を複数の鉛筆の先で尾側より頭側に向かって、約5秒ごとに撫でるようにして刺激を与え、その反応の強さにより、4段階スコア (0: 無反応, 1: 軽度なもがき, 2: 中程度のもがき, 3: 強いもがき, 逃避行動および鳴く行動) で評価した。

III. 薬物投与および実験群

ラットを投与する薬物により任意に以下の6群に分けた。薬物はすべて i.t. カテーテルより投与した。ただし、NMDA 受容体阻害薬 (MK-801) 併用群では、MK-801 は脂溶性がやや高く、他の報告⁶⁾に準じ、アロディニア誘発剤の NMDA, STR, あるいは BIC 投与前15分に i.t. カテーテルより投与した。また、予備実験から各群の薬物は、投与後に少なくとも30分間は触覚アロディニアが発現、持続する用量を選び、それぞれ 10 μ l の生理食塩水に溶解して使用した。

1) NMDA 群: 受容体作用薬, N-methyl-D-aspartate (NMDA) 3 μ g (n=8)

2) STR 群: glycine 阻害薬, strychnine 3 μ g (n=9)

3) BIC 群: GABA-A 受容体阻害薬, bicuculline 10 μ g (n=10)

4) NMDA-MK-801 併用群: MK-801 10 μ g を上記1) 群の NMDA 3 μ g と併用 (n=9)

5) STR-MK-801 併用群: NMDA 受容体阻害薬

(MK-801) 10 μ g を上記2) 群の STR 3 μ g と併用 (n=8)

6) BIC-MK-801 併用群: MK-801 10 μ g を上記3) 群の BIC 10 μ g と併用 (n=8)

次の実験 I, II では、ラットを麻酔箱の中に入れ、2-3 % ハロタンと酸素により意識を消失させたのち、箱から取り出し、四肢をビニルテープにより最小拘束した後、吸入ハロタン濃度を1 % に落とし、鎮静状態を保った。ハロタン濃度の調節は赤外線ガスモニターによって行った。前述のマイクロダイアリスプローブの一方に PE-50 チューブ (内径 0.58 mm, 外径 0.965 mm, 長さ 3 cm, イントラメデック) を接続し、微量注入ポンプを用い、人工脳脊髄液 (aCSF) を 10 μ l/分 で灌流した。MD プローブの他端には、PE-50 チューブを接続し透析液を回収した。透析液は分析まで、冷凍庫 (-80 $^{\circ}$ C) で保存した。aCSF の組成は、Na⁺ 151.1, K⁺ 2.6, Mg²⁺ 0.9, Ca²⁺ 1.3, Cl⁻ 122.7, HCO₃⁻ 21.0, HPO₄²⁻ 2.5, dextrose 3.5 (単位 mM) とした。

安静状態で aCSF を 30 分間灌流させたのち (wash-out), 透析液を 10 分毎に 2 回採取 (1 回採取量 100 μ l) し、この2回の平均濃度を基準値 (baseline) とした。以後、サンプルの濃度は % 基準値で表した。基準値測定後、各薬剤の目的用量 (10 μ l に溶存) と、それに続くフラッシュとして、生理食塩水 10 μ l を i.t. カテーテルより約 30 秒で注入した。

実験 I. NMDA, STR あるいは BIC のそれぞれの単独投与、および、MK-801 併用投与が TEA スコアに及ぼす影響を調べた。i.t. カテーテルより NMDA, STR あるいは BIC を投与し、10 分毎に 30 分間 TEA スコアの観察を行った。また、これらの薬物に MK-801 を併用し、TEA スコアの観察を行った。

実験 II. NMDA, STR あるいは BIC との各単独 i.t. 投与による触覚アロディニア発現の様子を TEA スコアで観察し、合わせて透析液を採取し、脊髄グルタメート濃度およびタウリン濃度測定を行った。

IV. 脳脊髄液中グルタメートおよびタウリンの測定

脊髄透析液中の脊髄興奮性アミノ酸グルタメートおよび抑制性アミノ酸タウリン濃度は、o-phthalaldehyde 誘導体化でフェノール基を付与したのち、HPLC-ECD 法 (高速液体クロマトグラフィー, 電気化学検出器) で定量的に測定した¹⁹⁾。測定感度は、約 5 pmol であった。

V. 統計処理

数値は平均 $\pm$ 標準誤差で示した。TEA スコアは 5 分毎に測定し、各時間 (10 分, 20 分, 30 分時) の TEA ス

コアは、5分前のスコアと加算して10分毎の数値として示した。TEAスコアの経時変化および群間の差は、マン・ウィットニー法で、また、脊髄アミノ酸濃度の経時変化、群間の比較については一元配置分散分析法とPLSD法による多重比較を行った。p<0.05を有意とした。

結 果

1) NMDA, STRあるいはBIC投与による触覚アロディニア発現、およびMK-801併用投与の影響

Fig. 1に、NMDA, STRあるいはBICのi.t.投与後のTEAスコアを経時的に示す。生食水のi.t.投与ではTEAスコアの変化は見られなかった。

NMDA, STRの各i.t.投与では10分後のみ有意なTEAスコアの上昇が認められたが、20分後、30分後では有意差は認められなかった。

BICのi.t.投与では、TEAスコアは10分後を最大とし、20分後でも有意な上昇を示したが、30分後では有意なTEAスコアの上昇は認められなかった。

NMDA, STRあるいはBICとMK-801 i.t.併用投与によって、TEAスコアの上昇は、いずれの群、測定時間ともに有意に抑制された (Fig. 1)。

Fig. 2は各薬物投与後のTEA総和を示している。NMDA, STRあるいはBICのi.t.投与により、触覚アロディニアが発現することがわかる。また、Fig. 1より、MK-801 i.t.投与によりその作用は拮抗されるので、NMDA, STR, およびBIC誘発アロディニアには、すべてにおいてグルタミン受容体の活性化を介していることが分かる。

2) NMDA, STR, BIC投与後の脊髄グルタミン濃度変化および脊髄タウリン濃度変化に及ぼす影響

Fig. 3にNMDA, STRあるいはBICのi.t.投与後の脊髄グルタミン濃度の経時変化を示す。

NMDAのi.t.投与では、脊髄グルタミン濃度は基準値と比較して投与後10分で約50%の有意な上昇が認められたが、投与後20分、30分では基準値との有意差は認められなかった。

STRのi.t.投与では、脊髄グルタミン濃度は基準値と比較して、投与後10分、20分、30分のいずれの時間も基準値との有意差は認められなかった。

BICのi.t.投与では、脊髄グルタミン濃度は基準値と比較して投与後10分で約90%、投与後20分で約30%有意な上昇を各々認めたが、投与後30分では有意差は認められなかった。

Fig. 1 Tactile allodynia by drugs: Time course for the effect of intrathecal N-methyl-D-aspartate (NMDA: 3μg), strychnine (STR: 3μg) or Bicuculline (BIC; 10μg) on touch-evoked agitation score. Each point indicates the sum of instance of agitation score for value of every 5 min. Asterisk indicates significant difference compared with control (score 0).

Fig. 2 Touch-evoked agitation: The effect of intrathecal NMDA ($3\mu\text{g}$), strychnine (STR: $3\mu\text{g}$), and bicuculine (BIC: $10\mu\text{g}$) on the touch-evoked agitation score. Each column indicates the sum of instance of agitation score of value for 30 min. With either NMDA, STR or BIC injection intrathecally, the pattern was similar among drugs.

Fig. 4 The effect of intrathecal NMDA ($3\mu\text{g}$), strychnine (STR: $3\mu\text{g}$), and bicuculine (BIC: $10\mu\text{g}$) on the CSF glutamate. Each column indicates the sum of instance of % change in CSF glutamate for 30 min. With either NMDA or BIC injection intrathecally, the CSF glutamate release was increased while STR did not increase glutamate release.

Fig. 3 Time course of CSF glutamate release following intrathecal drug injection. Data represent percent of baseline. Asterisk indicates significant difference compared with control. The transient increase in CSF glutamate release was evoked by NMDA and BIC while did not affect with STR.

*: $p < 0.05$ vs. Baseline

#: $p < 0.05$ vs. NMDA

Fig. 5 The effect of intrathecal NMDA ($3\mu\text{g}$), strychnine (STR: $3\mu\text{g}$), and bicuculine (BIC: $10\mu\text{g}$) on the CSF taurine. Each column indicates the sum of instance of % change in CSF taurine for 30 min. The CSF taurine release with STR did not increase taurine release any further.

また、さらに脊髄グルタメート濃度の経時的变化を Fig. 4 に、30 分間の%基準値の総和をヒストグラムで示したが、NMDA あるいは BIC 投与群に比べ、STR 投与群は、有意に低値を示した。

Fig. 5 に、各薬物投与後の脊髄タウリン濃度推移を示した。これも、興奮性のグルタメートとほぼ同期した変化を示した。

考 察

脊髄マイクロダイアリス

従来、Skilling ら (1995)²⁰⁾ が、脊髄に直接マイクロダイアリスカテーテルを刺入する方法を考案し、末梢炎症性刺激によりアミノ酸が増加することを報告したが、この方法ではカテーテル刺入による脊髄侵襲が大きいことが結果へ影響する可能性があり、また同時に行動観察が不可能などの問題があった。

しかし、本研究に用いたループ型くも膜下腔内マイクロダイアリスプローブ留置法は、行動観察と合わせ脊髄伝達物質濃度の変化が測定でき、脊髄シナプス伝達とその調節機構を検討する上で極めて有用とされている¹⁹⁾。本法は、脳脊髄液中の神経伝達物質濃度を測定するため、瞬時の脊髄細胞外液中アミノ酸濃度変化を反映しにくい、求心性神経の興奮や薬剤によるシナプス前抑制作用を知る上で有用である。また、従来の報告にみられる脊髄内カテーテル留置法^{20,21)}に比べ、侵襲も少なく、急性一亜急性期の病態を知る上で優れていると考える。また、この方法では、触覚アロディニア発現に関与する脊髄の神経伝達物質の同定およびその変調を容易に調べることができ、病態発現あるいは薬物の作用機構の検討に有用と思われる。

アロディニア発現と脊髄アミノ酸放出の関連における抑制性介在ニューロンの機能の多様性

本研究の結果から、GABA-A 受容体活性の機能低下が脊髄グルタメート放出を引き起こし、後角ニューロンの NMDA 受容体を活性化し、アロディニアを発現することが分かった。このことは、低域値触覚刺激に対する過敏状態 (アロディニア) の発現機序に、脊髄グルタメート神経系の活動の亢進が関与することを意味する。すなわち、非侵害刺激を脊髄レベルで疼痛として認識するもので、臨床で一般に難治性疾患の一とされる神経因性疼痛の発症機序と考えられており、知覚系の伝達、調節異常において、重要な意味がある^{16, 20, 22-24)}。いままでに、これらの痛覚の脊髄伝達におけるグルタメート神経系の関与を支持するいくつかの報告がなされている。1) 脊

髄に投与されたグルタメートにより、刺激を受けた後細胞で痛覚の神経伝達物質、プロスタグランジン (PGs) や一酸化窒素 (NO) の産生が増加すること^{13, 25)}、2) これらの物質は神経間隙に拡散され、神経終末を刺激し神経伝達物質の放出をさらに亢進する^{26, 27, 28)}、3) NMDA 受容体がグルタメート神経系の後細胞に加え、神経終末にも局在することが最近示唆されていることを考えると²⁹⁾、NMDA 受容体の活性化がシナプス前作用を増強し、グルタメート放出をさらに亢進させることも考えられる。また、本研究において、BIC の i.t. 投与時の脊髄グルタメート濃度と TEA スコアの相関性は、一過性のグルタメート過剰放出でも、NMDA 受容体が活性化されアロディニアが強く発現することがみられた報告¹⁵⁾から支持できる。

さらに、グルタメート放出と GABA-A 受容体との関連においては、免疫組織学的研究から、GABA およびグリシン含有神経は脊髄 II-IV 層に局在し^{5, 30, 31)}、これらの神経線維は、i) 軸索-軸索間接着として A β 神経終末と結合し、また ii) 軸索-細胞質接着あるいは、iii) 軸索-樹状突起接着として wide dynamic range neurons と結合していることが明らかにされている^{4, 31, 32)}。これらの事実から考え、GABA-A 受容体活性の機能が低下すると、過剰なグルタメート放出をもたらす (シナプス前の脱抑制)、また wide dynamic range neurons に対し、脱抑制機序 (過分極作用の消失) による神経過敏状態を引き起こすことが考えられる。したがって、脊髄シナプスに GABA 含有の介在ニューロンは重要な調節を担っており、A β 神経終末の抑制性機能の消失はグルタメート放出をもたらすことが理解される。しかし、今までにマイクロダイアリス法でそれを明らかにした報告は、本研究を除いて見当たらない。しかも、脊髄くも膜下腔 (i.t.) 内 NMDA 作用薬でアロディニアが発現し、その作用は阻害薬併用投与で消失したことからも、A β 神経終末は NMDA 受容体の活性により調節されていることも分かった。

本研究では、アロディニアを誘発させる薬物の用量依存性は検討しなかったが、TEA スコアの時間的变化や 30 分間の総和スコアからみて、使用した NMDA、STR および BIC の用量はアロディニアを発現するには十分で、しかもほぼ同程度に発現したことから最大量に近いものであると考えられる。

本研究で重要なこととして、末梢神経損傷後のアロディニア発現は脊髄くも膜下腔 (i.t.) 内 NMDA 受容体阻害薬により拮抗される点が挙げられる^{23, 33)}。末梢神経

損傷後に GABA 含有神経が豊富に局在する後角ニューロンでは細胞傷害が起き易いことが知られており、これは、一過性の脊髄虚血によって、アロディニアが発現することが良く知られている。また、他にも神経傷害後に同部位の GABA 含有量が減少することも報告されている^{34,35)}。これらの事実を考え合わせると、NMDA 受容体阻害薬がアロディニア発現を有効に抑制するのは、GABA 神経系がグルタメート神経系の興奮を抑制することと関係があるとみられている。

また、本研究結果で興味深いことは、STR の i.t. 投与により脊髄グルタメート放出が変化しなかったことである。本研究に用いた STR 用量は十分であり、薬物も脊髄くも膜下腔内に投与されていることは疑いがない。それは、STR 投与により十分なアロディニア発現がみられ、その作用は NMDA 受容体阻害薬により拮抗されたことから理解できる。すなわち、このことは、グリシン阻害誘発アロディニアはグルタメート神経系活動の亢進を介していることを意味する。こうした中、脊髄グルタメート放出が変化しなかったことは、STR が A β 神経線維終末におけるグルタメート神経系の活動亢進をもたらす機構への関与が乏しいことが挙げられる。これは、脳脊髄液中のタウリン濃度変化からも考えられる。タウリンは抑制性神経伝達物質の候補といわれており、グルタメート神経系が活性化されるとシナプス後からタウリンが放出され、グルタメートの放出を抑制することが知られている³⁶⁾。本研究結果においても、NMDA、BIC の各 i.t. 投与群と比較して STR の i.t. 投与群の脊髄タウリン濃度は有意に低値を示した。このことは、STR の i.t. 投与ではグルタメート放出が、あまり起こらないことを示唆している。しかし、グリシン阻害誘発アロディニアは NMDA 受容体阻害薬により拮抗されることから考え、NMDA 受容体興奮性回路からの入力が必要としていることは明かである。いずれにしても、グリシンは GABA とは脊髄においてアロディニア調節機能において、機能的差異があることが本研究から初めて明かとなった。今後、グリシンの調節様式について、さらに検討を加える必要があろう。

ま と め

本研究から、末梢低域値機械刺激（触覚刺激）による化学的誘発アロディニアの発現様式には、1) A β 神経線維終末および wide dynamic range neurons に対し立体的に神経接着しその活動を調節するとされる脊髄Ⅲ-Ⅳ層に局在する抑制性介在ニューロン（GABA およ

びグリシン神経含有）の易障害性と、2) 脊髄グルタメート神経系の活動亢進が関与すること、また、3) GABA およびグリシン神経系のアロディニア調節機構にはシナプス前（A β 神経線維終末）において機能的差異が存在することが明かとなった。

稿を終えるにあたりご指導とご校閲を賜りました恩師仲西修教授に深甚なる感謝の意をあらわします。ご教示、ご校閲をいただきました山口大学麻酔・蘇生学講座石川敏三講師に心より感謝いたします。さらに、本研究に数多くのご協力をいただきました九州歯科大学歯科麻酔学講座の諸兄姉に心からお礼申し上げます。

文 献

- 1) Roberts, W. J.: A hypothesis on the physiological basis for causalgia and related pains. *Pain* 24: 297-311, 1986.
- 2) Yaksh, T. L. and Aimone L.: The central pharmacology of pain transmission. In: *Textbook of pain* (ed. by Wall, P. D. and Melzack, R.). Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne and New York, 1989, 283-320.
- 3) Sugimoto, T., Bennett, G. J., and Kajander K. C.: Strychnine-enhanced transsynaptic degeneration of dorsal horn neurons in rats with an experimental painful peripheral neuropathy. *Neurosci. Lett.* 98: 139-143, 1990.
- 4) Solodkin, M.: Identification of common interneurons mediating pre- and post-synaptic inhibition in the cat spinal cord. *Science* 224: 1453-1456, 1984.
- 5) Todd, A. J., Watt, C., Spike, R. C., and Sieghart, W.: Colocalization of GABA, glycine, and their receptors at synapses in the rat spinal cord. *J. Neurosci.* 16: 974-982, 1996.
- 6) Yaksh, T. L.: Behavioral and autonomic correlates of the tactile evoked allodynia produced by spinal glycine inhibition: Effects of modulatory receptor systems and excitatory amino acid antagonists. *Pain* 37: 111-123, 1989.
- 7) Sherman, S. E. and Loomis, C. W.: Morphine insensitive allodynia is produced by intrathecal strychnine in the lightly anesthetized rat. *Pain* 56: 17-29, 1994.
- 8) Khayyat, G. F., Yu, Y. J., and King, R. B.: Response patterns to noxious and non-noxious stimuli in rostral trigeminal relay nuclei. *Brain Res.* 97: 47-60, 1975.
- 9) Yokota, T., Nishikawa, N. and Nishikawa, Y.: Effects of strychnine upon different classes of trigeminal subnucleus caudalis neurons. *Brain Res.* 168: 430-434, 1979.

- 10) Sivilotti, L.: The contribution of GABA-A and glycine receptors to central sensitization: disinhibition and touch-evoked allodynia in the spinal cord. *J. Neurophysiol.* 72: 169-179, 1994.
- 11) Yaksh, T. L. and Malmberg, A. B.: Antinociception produced by spinal delivery of the S and R enantiomers of flurbiprofen in the formalin test. *Eur. J. Pharmacol.* 256: 205-209, 1994.
- 12) Onaka, M., Minami, T., Nishihara, I., and Ito, S.: Involvement of glutamate receptors in strychnine- and bicuculline-induced allodynia in conscious mice. *Anesthesiology* 84: 1215-1222, 1996.
- 13) Malmberg, A. B. and Yaksh, T. L.: Hyperalgesia mediated by spinal glutamate or substance P receptor blocked by spinal cyclooxygenase inhibition. *Science* 257: 1276-1279, 1992.
- 14)Coderre, T. J. and Melzack, R.: Central neural mediators of secondary hyperalgesia following heat injury in rats: Neuropeptides and excitatory amino acids. *Neurosci. Lett.* 131: 71-74, 1991.
- 15) Yaksh, T. L., Chaplan, S. R., and Malmberg, A. B.: Future directions in the pharmacological management of hyperalgesic and allodynic pain states: The NMDA receptor. *NIDA Research Monograph* 147: 84-103, 1995.
- 16) Malmberg, A. B. and Yaksh, T. L.: Cyclooxygenase inhibition and the spinal release of prostaglandin E2 and amino acids evoked by paw formalin injection: a microdialysis study in anesthetized rats. *J. Neurosci.* 15: 2768-776, 1995.
- 17) Yaksh, T. L. and Rudy, T. A.: Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol. Behav.* 17: 1031-1036, 1976.
- 18) Yang, L. C., Marsala, M. and Yaksh, T. L.: Characterization of time course of spinal amino acids, citrulline and PGE2 release after carrageenan/kaolin-induced knee joint inflammation: a chronic microdialysis study. *Pain* 67: 345-354, 1996.
- 19) Marsala, M., Malmberg, A. B. and Yaksh, T. L.: The spinal loop dialysis catheter: Characterization of use in the unanesthetized rat. *J. Neurosci. Meth.* 62: 43-53, 1995.
- 20) Skilling, S. R., Smullin, D. H., Beitz, A. J. and Larson AA.: Extracellular amino acid concentrations in the dorsal spinal cord of freely moving rats following veratridine and nociceptive stimulation. *J. Neurochem.* 51: 127-132, 1988.
- 21) Sorkin, L. S., Steinman, J. L., Hughes, M. G., Willis, W. D. and McAdoo, D. J.: Microdialysis recovery of serotonin released in spinal cord dorsal horn. *J. Neurosci. Meth.* 23: 131-138, 1988.
- 22) Bach, F. W., Chaplan, S. R. and Yaksh, T. L.: Studies on the spinal pharmacology of a new model of allodynia. *Ann. Neurol.* 36: 288A, 1994.
- 23) Chaplan, S. R., Malmberg, A. B. and Yaksh T. L.: Efficacy of spinal NMDA receptor antagonism in formalin hyperalgesia and nerve injury evoked allodynia in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 280: 829-838, 1997.
- 24) Sosnowski, M. and Yaksh, T. L.: Role of spinal adenosine receptors in modulating the hyperesthesia produced by spinal glycine receptor antagonism. *Anesth. Analg.* 69: 587-592, 1989.
- 25) Malmberg, A. B. and Yaksh, T. L.: Spinal nitric oxide synthesis inhibition blocks NMDA-induced thermal hyperalgesia and produces antinociception in the formalin test in rats. *Pain* 54: 291-300, 1993.
- 26) Sorkin, L. S.: NMDA evokes an L-NAME sensitive spinal release of glutamate and citrulline. *Neuroreport* 4: 479-482, 1993.
- 27) Sorkin, L. S. and McAdoo, D. J.: Amino acids and serotonin are released into the lumbar spinal cord of the anesthetized cat following intradermal capsaicin injection. *Brain Res.* 607: 89-98, 1993.
- 28) Yaksh, T. L.: Preclinical Pain models. In: Yaksh TL, Lynch C, Maize M, Zapol W, Biebyck J and Saidman L. (Eds) *Anesthesiology: Biologic Foundations*. 82 Chapters. Lippicott-Raven, Philadelphia, 1997 (in press).
- 29) Liu, H., Mantyh, P. W., Basbaum, A. I.: NMDA-receptor regulation of substance P release from primary afferent nociceptors. *Nature* 386: 721-724, 1997.
- 30) Todd, A. J. and Sullivan, A. C.: Light microscope study of the coexistence of GABA-like and glycine-like immunoreactivities in the spinal cord of the rat. *J. Comp. Neurol.* 296: 496-505, 1990.
- 31) Todd, A. J.: GABA and glycine in synaptic glomeruli of the rat spinal dorsal horn. *Eur. J. Neurosci.* 8: 2492-2498, 1996.
- 32) Todd, A. J.: Light microscope study of the coexistence of GABA-like and glycine-like immunoreactivities in the spinal cord of the rat. *J. Comp. Neurol.* 296: 496-505, 1990.
- 33) Yamamoto, T. and Yaksh, T. L.: Studies on the spinal interaction of morphine and the NMDA antagonist MK-801 on the hyperesthesia observed in a rat model of sciatic mononeuropathy. *Neurosci. Lett.* 135: 67-70, 1992.
- 34) Castro-Lopes, J. M., Tavares, I. and Coimbra, A.: GABA decreases in the spinal cord dorsal horn after peripheral neurectomy. *Brain Res.* 620: 287-291, 1993.
- 35) Ibuki, T., Hama, A. T., Wang, X. T., Pappas, G. D. and Sagen, J.: Loss of GABA-immunoreactivity in the spinal dorsal horn of rats with peripheral nerve injury and promotion of recovery by adrenal medullary grafts. *Neuroscience* 76: 845-858, 1997.

36) Nieves, M., Oscar, H., Jose, M. S., Antonio, S. H. and Rafael, M. R.: Extracellular taurine increase in rat hippocampus evoked by specific glutamate receptor

activation is related to the excitatory potency of glutamate agonist. *Neurosci. Lett.* 102: 64-69, 1989.