

カラゲニン炎症性痛覚過敏に対する 鍼通電刺激の影響について

†関戸 玲奈¹⁾, 石丸 圭荘²⁾, 咲田 雅一³⁾

¹⁾ 明治鍼灸大学大学院 鍼灸臨床医学 ²⁾ 明治鍼灸大学 臨床鍼灸医学教室

³⁾ 明治鍼灸大学 外科学教室

要旨：疼痛を有する状態下での鍼鎮痛機序の検討を目的に、カラゲニン炎症性痛覚過敏モデルを作成し、低頻度（3 Hz）、高頻度（100 Hz）鍼通電が痛覚過敏に及ぼす影響を加圧式鎮痛効果測定装置（Randall Selitto Test）を用いて検討し、さらにナロキソンの影響も併せて検討した。カラゲニンをラット左後肢足底に皮下投与したところ、左後肢（カラゲニン投与側）では痛覚過敏を生じ、対側の右後肢でも痛覚過敏を生じた。また、鍼通電を行うと3 Hz 鍼通電では両側での鎮痛効果が見られたが、100 Hz 鍼通電では左後肢でのみ鎮痛効果が見られた。ナロキソンの腹腔内投与で3 Hz 鍼通電による鎮痛効果は部分的に拮抗され、左後肢の鎮痛効果はナロキソンの炎症局所への皮下投与で拮抗された。また、ナロキソンのカラゲニン非投与側への局所投与では3 Hz 鍼通電による鎮痛効果は拮抗されなかった。3 Hz 鍼通電による両側での鎮痛効果には、中枢での内因性モルヒネ様物質のみならず、その他の鎮痛機序の関与なども考えられ、特に左後肢の鎮痛効果には炎症局所での末梢性の鎮痛の関与が強いと考えられた。

I. はじめに

1973年、脳内においてオピオイド受容体が発見¹⁾され、相次いで内因性モルヒネ様物質の存在が明らかとなり^{1, 2)}、この物質は侵害刺激情報を調節する下行性疼痛抑制機構において重要な物質であることが分かってきた。そして、これらの研究が鍼鎮痛の作用機序の解明に影響し、多くの動物実験や追試の結果、この下行性疼痛抑制機構の賦活が鍼通電による鎮痛効果を生じさせると知られている³⁻⁶⁾。しかし、これらはいずれも正常動物を対象とした検討から得られたものであり、疼痛を有する病的な状態下での鍼鎮痛の作用機序を検討した報告はほとんどなく、その機序も明らかでない。そこで今回、起炎物質であるカラゲニンを用いて病的な状態を作成した。

カラゲニンの足底部への投与は、投与側後肢の炎症と痛覚過敏のモデルとして広く用いられている⁷⁻¹⁰⁾。このような炎症を有する動物においては、オピオイドによる鎮痛作用の増強が認められるが、これらはオピオイドが炎症組織局所に存在する末

梢性のオピオイド受容体に作用しているためと考えられている¹¹⁻¹³⁾。また、炎症性痛覚過敏に対するモルヒネの鎮痛作用にはオピオイド系以外にノルアドレナリン系も関係していること¹⁴⁾が報告されている。さらに、炎症による組織損傷が痛み刺激となって内因性モルヒネ様物質の濃度に差を生じさせることが知られている^{15, 16)}。これらのことから炎症性の疼痛を有する状態での鍼鎮痛の機序は、正常動物とは異なる可能性が考えられる。従って、炎症性の疼痛（病的な状態下）に対する鍼鎮痛の作用やその機序を検討する必要があると思われる。そこで今回、カラゲニン炎症性痛覚過敏モデルを作成し、鍼通電が痛覚過敏に及ぼす影響を加圧式鎮痛効果測定装置（Randall Selitto Test）^{5, 7, 9, 10, 17)}を用いて検討した。さらにオピオイド拮抗薬であるナロキソンを用いて、内因性モルヒネ様物質の関与についても併せて検討した。

II. 方法

1. 実験動物および実験群

Sprague-Dawley 系雄性ラット（9～11週齢、

平成12年7月26日受付、平成12年9月18日受理

Key Words：鍼通電 electroacupuncture, 鍼鎮痛 acupuncture analgesia, カラゲニン carrageenan, 痛覚過敏 hyperalgesia

†連絡先：〒629-0392 京都府船井郡日吉町 明治鍼灸大学大学院 鍼灸臨床医学

せ、最終的に1.5mA となるようにした。なお、電流量は随時オシロスコープでモニターした。

また、鍼通電時には覚醒下で刺激を行うため、ラットに上述のジャケット着用させ、行動を防ぐ目的で吊り下げた。ラットには、PPT の測定時・鍼通電時のみ静かにジャケットを着用させ、それ以外ではケージに戻し自由に行動、摂食ができるようにした。

5. 使用薬物

鍼鎮痛の作用機序を検討する目的で、ナロキソン (USP CAT NO. 45300) を鍼通電開始直前に腹腔内投与 (1.0mg/kg, i. p.) した。ナロキソンの投与量は、0.5 mg, 1.0 mg, 1.5 mg, 2.0 mg/kg を腹腔内投与の予備実験の結果、至適量として 1.0 mg/kg を用いた。

また、末梢性鎮痛の可能性を検討するために、鍼通電開始直前に 12 μg/ml のナロキソン 0.1 ml を左後肢足底 (カラゲニン投与側) あるいは右後肢足底 (カラゲニン非投与側) に皮下投与した。

また、鍼鎮痛効果に対するナロキソン投与の影響は、抑制率として $\{(鍼通電 + ナロキソン投与群の PPT) - (鍼通電群の PPT)\} / (鍼通電群の PPT) \times 100\%$ で表した。

6. 統計解析

統計解析は、統計解析用ソフト (Statistica for Macintosh Release 4.1 J) を使い、Huynh Feldt 補正下で二元配置分散分析を行った後、多重比較は Tukey 法を用いて検定した。有意水準は 5% 以下を図中に示し、すべてのデータは平均値 ± 標準偏差 (mean ± SD) で表した。

III. 結 果

1. カラゲニン投与による PPT の変化 (図 1)

ラット左後肢足底への 2% λカラゲニンの皮下投与により、投与前 (0 min) には左後肢 84.0 ± 13.4 g, 右後肢 81.3 ± 13.3 g であった PPT が皮下投与 2 時間後から徐々に低下し、この PPT の低下は両側後肢で見られた。PPT は、皮下投与 3 時間後に最も著明な低下を示し、左後肢では 54.2 ± 14.2 g (コントロール群) まで低下し痛覚過敏を生じ、対側である右後肢でも 54.4 ± 9.8 g (コントロール群) と痛覚過敏を生じた。また、

皮下投与 24 時間後においても左後肢 57.5 ± 8.3 g, 右後肢 55.6 ± 6.7 g と両側ともに痛覚過敏の持続が観察された。

2. カラゲニン炎症性痛覚過敏モデルにおける鍼通電の影響 (図 1)

3 Hz 鍼通電群における PPT は、カラゲニンの皮下投与により投与 3 時間後に左後肢で 59.6 ± 19.1 g まで低下し、痛覚過敏を生じた。しかし、3 Hz 鍼通電直後から PPT は 89.4 ± 16.8 g と上昇し、鍼通電終了 20 時間後においても 85.2 ± 23.2 g とその効果は持続し、コントロール群に比し、全経過を通じ有意 (▲印, ***: P < 0.001, **: P < 0.01, *: P < 0.05) な上昇が見られた。一方、対側である右後肢において、皮下投与 3 時間後に PPT は 57.7 ± 6.4 g まで低下し、痛覚過敏を生じ

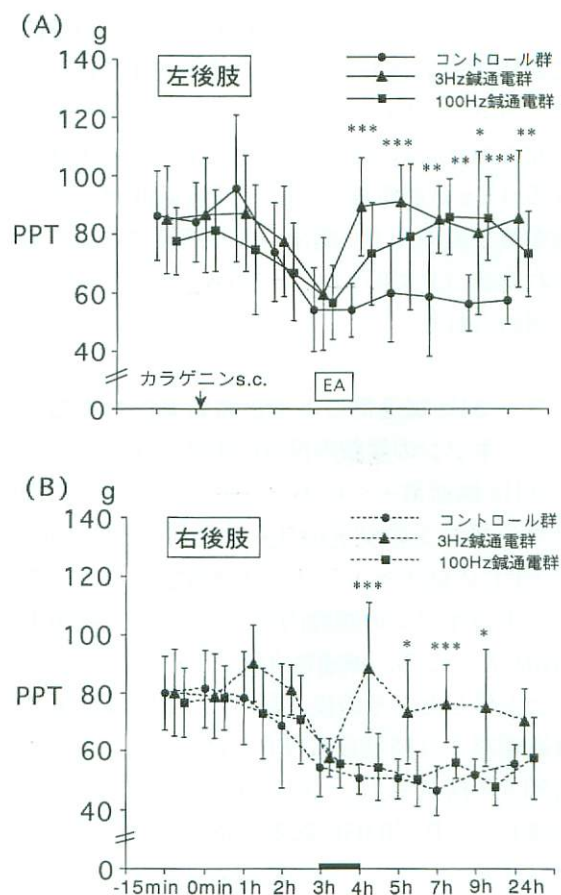


図 1 鍼通電による PPT の変化

(A)は左後肢 (カラゲニン投与側) の変化を、(B)はその対側である右後肢の変化をそれぞれ示す。両下肢ともに●はカラゲニンコントロール群、▲は 3 Hz 鍼通電群、■は 100 Hz 鍼通電群をそれぞれ示す。鍼通電はカラゲニンの皮下投与 3 時間後から 4 時間後の間に行った。データはすべて平均値 ± 標準偏差。有意水準は ***P < 0.001, **P < 0.01, *P < 0.05 とした。

た。しかし、3 Hz 鍼通電直後に右後肢の PPT はコントロール群に比し 88.5 ± 22.3 g と有意 (▲印, ***: $P < 0.001$) に上昇し、その後鍼通電終了5時間後においても有意 (▲印, *: $P < 0.05$) な上昇が見られた。

100 Hz 鍼通電群における PPT は、カラゲニンの皮下投与により投与3時間後に左後肢で 56.7 ± 12.7 g まで低下し、痛覚過敏を生じた。しかし、100 Hz 鍼通電直後から 73.3 ± 17.5 g と PPT の上昇傾向が見られ、鍼通電終了3時間後に 85.8 ± 12.8 g とコントロール群に比し有意 (■印, **: $P < 0.01$) に上昇し、鍼通電終了5時間後においても 85.4 ± 14.2 g と有意 (■印, ***: $P < 0.001$) な上昇が見られた。これら左後肢の3 Hz 鍼通電群と100 Hz 鍼通電群の変化に有意差は認められなかった。一方、対側である右後肢では、皮下投与3時間後に PPT は 55.6 ± 8.1 g まで低下し、痛覚過敏を生じた。100 Hz 鍼通電直後、20時間後においても右後肢の PPT はそれぞれ 54.6 ± 11.2 g, 57.5 ± 13.9 g と上昇せず、コントロール群との間に差は認められなかった。また、右後肢における3 Hz 鍼通電群と100 Hz 鍼通電群間では、鍼通電終了直後、1時間後、5時間後においてそれぞれ有意 ($P < 0.001$, $P < 0.05$, $P < 0.01$) な差が認められた。

3. 3 Hz 鍼通電による鎮痛効果に対するナロキシソンの腹腔内投与の影響 (図2)

3 Hz 鍼通電+ナロキシソン投与群では、左後肢でカラゲニンの皮下投与3時間後に 59.2 ± 4.0 g と PPT の低下を示し、痛覚過敏を生じた。そこで、ナロキシソンの腹腔内投与後に3 Hz 鍼通電を開始したところ、鍼通電直後に PPT は 86.0 ± 11.0 g と上昇した。その後、徐々に PPT は低下し、鍼通電終了3時間後に PPT は 62.5 ± 13.8 g と最大26.3%拮抗され、3 Hz 鍼通電群に比し有意 (×印, *: $P < 0.05$) な差が認められたが、その他の経過において有意差は認められなかった。一方、右後肢では、3 Hz 鍼通電+ナロキシソン投与群で、カラゲニンの皮下投与3時間後に PPT は 61.0 ± 15.8 g まで低下し、3 Hz 鍼通電直後に 75.0 ± 14.1 g まで上昇した。しかし、その後 PPT は低下し、鍼通電終了3時間後に PPT は 56.9 ± 9.6 g と最大25.4%拮抗されたが、3 Hz 鍼通電群の

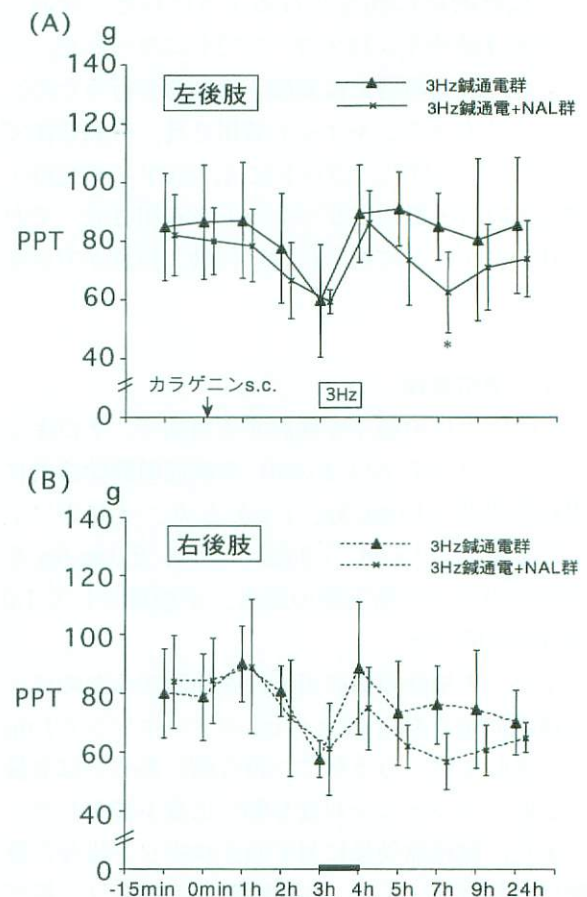


図2 3 Hz 鍼通電による鎮痛効果に対するナロキシソンの腹腔内投与の影響

(A)は左後肢(カラゲニン投与側)の変化を、(B)はその対側である右後肢の変化をそれぞれ示す。両下肢ともに▲は3 Hz 鍼通電群、×は3 Hz 鍼通電+ナロキシソン投与群をそれぞれ示す。鍼通電はカラゲニンの皮下投与3時間後から4時間後の間に行った。また、ナロキシソンは鍼通電の開始前に腹腔内投与した。データは平均値±標準偏差。有意水準は* $P < 0.05$ とした。

変化に比し有意差は認められなかった。また、その他の経過においても有意差は認められなかった。

4. 3 Hz 鍼通電による左後肢の鎮痛効果に対するナロキシソンの炎症局所皮下投与の影響 (図3)

3 Hz 鍼通電+ナロキシソン皮下投与群では、カラゲニンの皮下投与3時間後に左後肢の PPT は 57.7 ± 16.2 g まで低下し、痛覚過敏を生じた。そこで、ナロキシソンの左後肢足底への皮下投与後に3 Hz 鍼通電を開始したところ、鍼通電直後に PPT は 75.0 ± 23.1 g まで上昇する傾向にあったが、3 Hz 鍼通電群に比し鍼通電終了1時間後、3時間後にそれぞれ PPT は 54.8 ± 12.6 g, 46.7 ± 13.8 g と有意 (□印, ***: $P < 0.001$) に拮抗された

(抑制率最大44.9%)。さらに鍼通電終了5時間後、20時間後においてもそれぞれ 54.0 ± 18.5 g (□印, **: $P < 0.01$), 61.9 ± 11.7 g (□印, *: $P < 0.05$) と有意に拮抗された。また、右後肢においても皮下投与3時間後に PPT は 56.7 ± 5.0 g まで低下し、痛覚過敏を生じた。しかし、3 Hz 鍼通電直後に PPT は 87.3 ± 12.3 g まで上昇し、鍼通電終了20時間後においても PPT は 77.5 ± 13.2 g と 3 Hz 鍼通電群と比較しても有意差は認められず、ナロキソンの炎症局所皮下投与による影響は認められなかった。

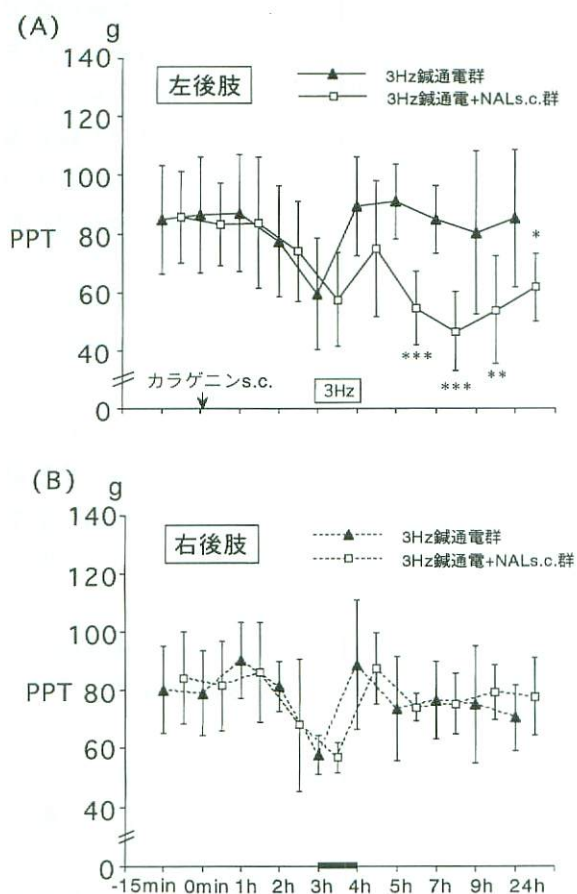


図3 3 Hz 鍼通電による左後肢の鎮痛効果に対するナロキソンの皮下投与の影響

(A) は左後肢 (カラゲニン投与側) の変化を、(B) はその対側である右後肢の変化をそれぞれ示す。両下肢ともに▲は 3 Hz 鍼通電群、□は 3 Hz 鍼通電+ナロキソン皮下投与群をそれぞれ示す。鍼通電はカラゲニンの皮下投与3時間後から4時間後の間に行った。また、ナロキソンは鍼通電の開始前に左後肢足底に皮下投与した。データは平均値±標準偏差。有意水準は *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ とした。

5. 3 Hz 鍼通電による左後肢の鎮痛効果に対するナロキソンの右後肢皮下投与の影響 (図4)

3 Hz 鍼通電+右後肢へのナロキソン皮下投与

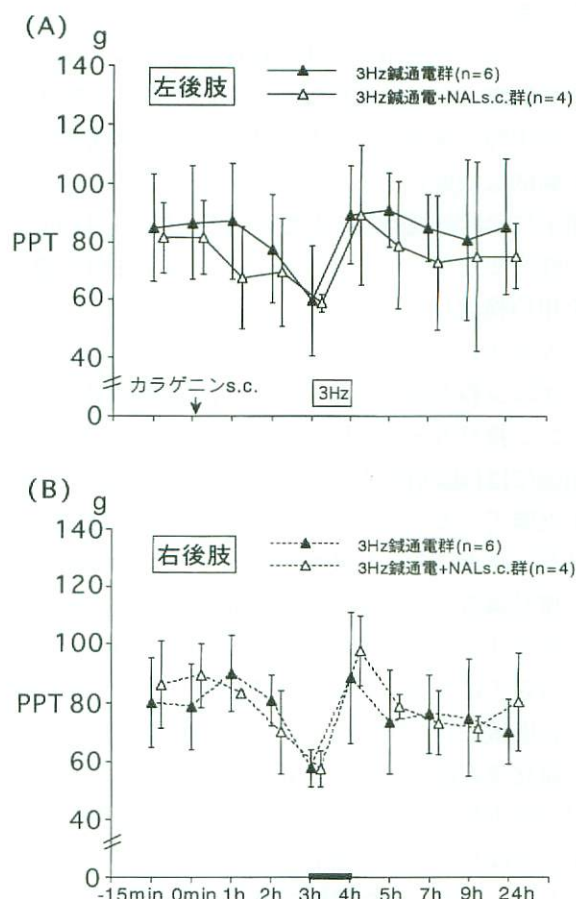


図4 3 Hz 鍼通電による左後肢の鎮痛効果に対するナロキソンの右後肢皮下投与の影響

(A) は左後肢 (カラゲニン投与側) の変化を、(B) はその対側である右後肢の変化をそれぞれ示す。両下肢ともに▲は 3 Hz 鍼通電群、△は 3 Hz 鍼通電+ナロキソン皮下投与群をそれぞれ示す。鍼通電はカラゲニンの皮下投与3時間後から4時間後の間に行った。また、ナロキソンは鍼通電の開始前に右後肢足底に皮下投与した。データは平均値±標準偏差。

群では、カラゲニンの皮下投与3時間後に左後肢の PPT は 58.8 ± 3.2 g まで低下し、痛覚過敏を生じた。そこで、ナロキソンの右後肢足底への皮下投与後に 3 Hz 鍼通電を開始したところ、鍼通電直後から左後肢の PPT は 89.1 ± 24.0 g と上昇し、鍼通電終了 20 時間後においても 75.0 ± 11.2 g とその効果は持続し、3 Hz 鍼通電群とほぼ同様の経過を示した。その対側である右後肢において、PPT は皮下投与3時間後に 57.5 ± 6.2 g まで低下し、痛覚過敏を生じた。また、3 Hz 鍼通電直後に右後肢の PPT は 97.8 ± 11.9 g まで上昇し、鍼通電終了 20 時間後においても 80.3 ± 16.7 g と PPT の上昇傾向が見られ、3 Hz 鍼通電群とほぼ同様の経過を示した。

IV. 考 察

これまでの鍼鎮痛の作用機序の検討は、正常動物や健常人を対象に行われたものが多く、臨床では実際に鍼鎮痛を必要とする対象は疼痛を有する病的な状態にある場合が多い。そこで今回、疼痛下における鍼通電の影響を明らかにする目的で、急性炎症モデルであるカラゲニン炎症性痛覚過敏を用い検討した。

カラゲニンによる炎症性痛覚過敏モデルは、カラゲニン投与後に浮腫が発生し、痛覚過敏はカラゲニン投与3～4時間後に最大となり、24～72時間後にはほぼ消失することが知られている^{7-10, 17}。本実験で、カラゲニンをラット左後肢足底に皮下投与したところ、左後肢（カラゲニン投与側）では痛覚過敏と浮腫を生じ、対側の右後肢でも痛覚過敏を生じた。この結果は Kissin⁹⁾、Kayser¹⁷⁾らの報告に一致している。このカラゲニン炎症性痛覚過敏モデルでは、カラゲニン投与部位での末梢痛覚受容器の感作¹⁸⁾が起こり、末梢からの持続的な侵害刺激が脊髄に達すると、脊髄は中枢性感作とよばれる痛覚亢進状態となることが分かっている¹⁹⁾。このような状態では、脊髄後角ニューロンの興奮性の増大及び受容野の拡大^{20, 21)}が見られ、侵害相当部以外の部位の刺激までも痛覚と感じてしまうと同時に、同じ強さの刺激に対しても反応が異常に増大する現象が起こる（wind up 現象）。その結果、痛覚過敏が生じる。以上のことから、今回得られた結果においても、カラゲニン投与部位での末梢痛覚受容器の感作と脊髄の中枢性感作の両方の機序により痛覚過敏が引き起こされたと考えられた。

次に、カラゲニン炎症性痛覚過敏に対する鍼通電の影響を検討したところ、3 Hz 鍼通電では両側後肢の鎮痛効果が見られ、100 Hz 鍼通電では炎症側でのみ鎮痛効果が見られ、通電頻度による違いが認められた。従来正常動物での tail flick テスト^{3, 4)}や Randall Selitto Test⁵⁾を用いた鍼鎮痛に関する研究において、低頻度鍼通電では刺激を与えると徐々に鎮痛が出現し、刺激終了後も鎮痛効果は持続するが徐々にその効果は消失し、高頻度鍼通電では刺激開始と同時に鎮痛が出現し、刺激終了と同時に鎮痛効果は消失することを報告している。また、低頻度鍼通電と高頻度鍼通電では遊離される内因性モルヒネ様物質^{3, 4)}、脳内の

Fos 蛋白発現細胞の発現状況・場所が異なり²²⁾、プレプロダイノルフィン mRNA の出現が 100 Hz 鍼通電と深く関わっていること^{22, 23)}なども明らかにされている。さらに、Zhou ら⁶⁾は、正常ラットへの 100 Hz 鍼通電は脊髄において抗オピオイド作用を有するコレシストキニン（CCK-8）の産生を増加させるが、2 Hz 鍼通電では CCK-8 の産生は見られないと報告している。従って、このような鍼通電の頻度の違いによる現象が、今回炎症を有する動物で得られた効果の違いに表れていると考えられた。また、正常動物では鍼通電終了後、鎮痛効果は消失するのに対し、今回行った鍼通電で得られた鎮痛効果は長時間に渡って持続し、カラゲニン投与の 24 時間後においてもその効果の持続が観察された。Sluka ら²⁴⁾の関節炎動物の痛覚過敏に対する経皮的電気神経刺激（TENS）を用いた研究でも、TENS による鎮痛効果が今回得られた結果と同様に、長時間に渡り持続することが示されている。このことから、末梢の炎症を有する動物での鍼鎮痛においては、正常動物とは異なる鎮痛効果を示すことが示唆された。Guo ら²⁵⁾は、鍼通電後、プレプロエンケファリン mRNA の発現が長時間に及ぶことを示し、長時間持続する鎮痛に関与する可能性を報告している。今回の結果のみでは長時間持続する鎮痛効果の理由は不明であるが、遅くに出現するプレプロエンケファリン mRNA などの関与も考えられ、また鍼通電が中枢性感作の発現になんらかの影響を及ぼしていると考えられた。

そこで、長時間の鍼鎮痛効果が内因性モルヒネ様物質により引き起こされているのか否かを検討するために、オピオイド拮抗薬であるナロキソンを用いた。ナロキソンは予め決定した至適量を鍼通電の開始直前に腹腔内投与した。その結果、3 Hz 鍼通電による左及び右後肢の鎮痛効果は鍼通電終了3時間後のみ拮抗されたが、その他の時間経過では有意差は認められなかった（図2）。さらに、左後肢及び右後肢（非炎症側）へのナロキシソンの皮下投与は右後肢の鎮痛効果に影響を及ぼさなかった（図3、図4）。これらのことから、本実験において3 Hz 鍼通電による両側での鎮痛効果には中枢での内因性モルヒネ様物質の関与が考えられた。しかし、その鎮痛効果はナロキシソンの腹腔内投与によって部分的に拮抗されたただけだっ

たので、中枢での内因性モルヒネ様物質の関与のみでなくその他の中枢での鎮痛機序や末梢性の鎮痛の関与なども考えられた。

近年、多くの研究において末梢での強いオピオイドの鎮痛効果が発見されており、そのような効果は正常組織でなく炎症組織で起こることが動物実験及び人での臨床状態下においても報告されている^{11, 12)}。また、一次感覚神経終末にオピオイド受容体が存在し、末梢のオピオイド受容体の内因性リガンドであるオピオイドペプチド（エンドルフィン、エンケファリン、ダイノルフィン）やそれぞれの mRNA もまた炎症組織で発見されている¹³⁾。これらのペプチドは、局所の組織損傷によって活性化された Tリンパ球、Bリンパ球、単球、マクロファージを含む免疫細胞によって産生される¹³⁾。そして局所に産生されたそれぞれのオピオイドペプチドが一次感覚神経終末のオピオイド受容体に作用して、末梢性の鎮痛を引き起こすことが示唆されている^{1, 13)}。

これらのことから、鍼通電が炎症局所での末梢性の鎮痛を引き起こしている可能性を検討した。鍼通電の開始前にカラゲニン投与部位にナロキソンを皮下投与すると、3 Hz 鍼通電による左後肢の鎮痛効果は全経過において拮抗された（図3）。一方、右後肢（非炎症側）へのナロキソンの皮下投与は左後肢の鎮痛効果にほとんど影響を及ぼさなかった（図4）。足底に皮下投与したナロキソンは、血液脳関門を通らない。従って、今回行った鍼通電が免疫細胞を活性化させることにより炎症部位でオピオイドペプチドの遊離を促進し、それらが一次感覚神経終末のオピオイド受容体を活性化し、左後肢の鎮痛効果を発現させた可能性が考えられた。また、これまでの多くの研究で鍼通電により下垂体由来のβエンドルフィンが末梢血中に増加することが分かっている^{26, 27)}。このことから、今回行った鍼通電により末梢血中に下垂体由来のβエンドルフィンが増加し、それらが炎症部位の末梢のオピオイド受容体を介し鎮痛作用を発現した可能性も考えられ、今後詳細な検討が必要である。

少なくとも鍼通電には、鎮痛効果を期待する場合、通電頻度が重要な因子の一つであると考えられた。また、今回の結果から、鍼通電により術後などの炎症性の疼痛が緩和され、同時に中枢性感

作を防止できる可能性が示された。

V. 結 語

疼痛を有する状態下での鍼鎮痛機序の検討を目的に、カラゲニン炎症性痛覚過敏モデルを作成し、鍼通電が痛覚過敏に及ぼす影響を加圧式鎮痛効果測定装置（Randall Selitto Test）を用いて検討し、さらにナロキソンの影響も併せて検討した。カラゲニンをラット左後肢足底に皮下投与したところ、左後肢（カラゲニン投与側）では痛覚過敏を生じ、対側の右後肢でも痛覚過敏を生じた。また、鍼通電を行うと3 Hz 鍼通電では両側での鎮痛効果が見られたが、100Hz 鍼通電では左後肢でのみ鎮痛効果が見られた。ナロキソンの腹腔内投与で3 Hz 鍼通電による鎮痛効果は部分的に拮抗され、左後肢の鎮痛効果はナロキソンの炎症局所への皮下投与で拮抗された。また、ナロキソンのカラゲニン非投与側への局所投与では3 Hz 鍼通電による鎮痛効果は拮抗されなかった。以上のことから鍼通電により術後などの炎症性の疼痛が緩和され、同時に中枢性感作を防止できる可能性が示された。また、3 Hz 鍼通電による両側での鎮痛効果には、中枢での内因性モルヒネ様物質のみならず、その他の鎮痛機序の関与なども考えられ、特に左後肢の鎮痛効果には炎症局所での末梢性の鎮痛の関与が強いと考えられた。

謝 辞

本研究に際し御助言を賜りました明治鍼灸大学第三生理学教室の川喜田健司教授に心から深謝いたします。本研究の一部は平成11年度（11770873）文部省科学研究費の助成を受けて行われた成果である。

参考文献

- 1) 佐藤公道：内因性鎮痛系とオピオイド。神経進歩 42(3)：455-465, 1998.
- 2) Hughes J, Smith T W, Kosterlitz H W, et al : Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. Nature, 258 : 577-579, 1975.
- 3) Han J S, Xie G X : Dynorphin : Important mediator for electroacupuncture analgesia in the spinal cord of the rabbit. Pain, 18 : 367-376, 1984.
- 4) Chen X H, Geller E B, Adler M W : Electrical

- stimulation at traditional acupuncture sites in periphery produces brain opioid-receptor-mediated antinociception in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 277(2) : 654-660, 1996.
- 5) 井口賀之, 尾崎昌宣, 岸岡史郎ら : 針鎮痛発現における下垂体の関与について. *日薬理誌*, 85 : 453-465, 1985.
 - 6) Zhou Y, Sun Y H, Shen J M, et al : Increased release of immunoreactive CCK-8 by electroacupuncture and enhancement of electroacupuncture analgesia by CCK-B antagonist in rat spinal cord. *Neuropeptides*, 24 : 139-144, 1993.
 - 7) Hargreaves K, Dubner R, Brown F, et al : A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*, 32 : 77-88, 1988.
 - 8) Joris J, Costello A, Dubner R, et al : Opiates suppress carrageenan-induced edema and hyperthermia at doses that inhibit hyperalgesia. *Pain*, 43 : 95-103, 1990.
 - 9) Kissin I, Lee S S, Bradley E L : Effects of prolonged nerve block on inflammatory hyperalgesia in rats-prevention of late hyperalgesia. *Anesthesiology*, 88 : 224-232, 1998.
 - 10) Fletcher D, Kayser V, Guilbaud G : Influence of timing of administration on the analgesic effect of bupivacaine infiltration in carrageenin-injected rats. *Anesthesiology*, 81 : 1129-1137, 1996.
 - 11) Stein C, Millan M J, Shippenberg T S, et al : Peripheral opioid receptors mediating antinociception in inflammation. evidence for involvement of mu, delta, and kappa receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 248(3) : 1269-1275, 1989.
 - 12) Stein C, Yassouridis A : Peripheral morphine analgesia. *Pain*, 71 : 119-121, 1997.
 - 13) Stein C : The control of pain in peripheral tissue by opioids. *N Engl J Med*, 332 : 1685-1690, 1995.
 - 14) Hylden J L K, Thomas D A, Iadarola M J, et al : Spinal opioid analgesic effects are enhanced in a model of unilateral inflammation/hyperalgesia : possible involvement of noradrenergic mechanisms. *Eur. J. Pharmacol*, 194 : 135-143, 1991.
 - 15) Simonnet G, Taquet H, Floras P, et al : Simultaneous determination of radioimmunoassayable methionine-enkephalin and radioreceptor-active opiate peptides in CSF of chronic pain suffering and non suffering patients. *Neuropeptides*, 7(3) : 229-240, 1986.
 - 16) Noguchi K, Dubner R, Ruda M A : Preproenkephalin mRNA in spinal dorsal horn neurons is induced by peripheral inflammation and is co-localized with fos and fos-related proteins. *Neuroscience*, 46(3) : 561-570, 1992.
 - 17) Kayser V, Guilbaud G : Local and remote modification of nociceptive sensitivity during carrageenin-induced inflammation in the rat. *Pain*, 28 : 99-107, 1987.
 - 18) Kocher L, Anton F, Reeh P W, et al : The effect of carrageenan-induced inflammation on the sensitivity of unmyelinated skin nociceptors in the rat. *Pain*, 29 : 363-373, 1987.
 - 19) Yamamoto T, Shimoyama N, Mizuguchi T : The effects of morphine, MK-801, an NMDA antagonist, and CP-96,345, an NK1 antagonist, on the hyperesthesia evoked by carrageenan injection in the rat paw. *Anesthesiology*, 78 : 124-133, 1993.
 - 20) 野口光一 : 痛みと神経ペプチド. *神経進歩* 42(3) : 434-443, 1998.
 - 21) Stanfa L C, Sullivan A F, Dickenson A H : Alterations in neuronal excitability and the potency of spinal mu, delta and kappa opioids after carrageenan-induced inflammation. *Pain*, 50 : 345-354, 1992.
 - 22) Guo H F, Tian J, Wang X, et al : Brain substrates activated by electroacupuncture of different frequencies (I) : comparative study on the expression of oncogene c-fos and genes coding for three opioid peptides. *Mol Brain Res*, 43 : 157-166, 1996.
 - 23) Guo H F, Tian J, Wang X, et al : Brain substrates activated by electroacupuncture (EA) of different frequencies (II) : role of Fos/Jun proteins in EA-induced transcription of preproenkephalin and preprodynorphin genes. *Mol Brain Res*, 43 : 167-173, 1996.
 - 24) Sluka K A, Bailey K, Bogush J, et al : Treatment with either high or low frequency TENS reduces the secondary hyperalgesia observed after injection of kaolin and carrageenan into the knee joint. *Pain*, 77 : 97-102, 1998.
 - 25) Guo H F, Cui X, Hou Y, et al : C-Fos proteins are not involved in the activation of preproenkephalin genes expression in rat brain by peripheral electric stimulation (electroacupuncture). *Neurosci Lett*, 207 : 163-166, 1996.
 - 26) Malizia E, Andreucci G, Paolucci D, et al : Electroacupuncture and peripheral β -endorphin and ACTH levels. *Lancet*, 535-536, 1979.
 - 27) Masala A, Satta G, Alagna S, et al : Suppression of electroacupuncture (EA)-induced β -endorphin and ACTH release by hydrocortisone in man. absence of effects on EA-induced anaesthesia. *Acta Endocrinol*, 103 : 469-472, 1983.

Effect of electroacupuncture stimulation on hyperalgesia
by carrageenan-induced inflammation

SEKIDO Reina¹⁾, ISHIMARU Keisou²⁾, SAKITA Masakazu³⁾

¹⁾ *Department of Surgery, Graduate School of Acupuncture and Moxibustion,
Meiji University of Oriental Medicine*

²⁾ *Department of Clinical Acupuncture and Moxibustion,
Meiji University of Oriental Medicine*

³⁾ *Department of Surgery, Meiji University of Oriental Medicine*

Summary :

[Purpose] This study investigated the effect of low (3Hz) and high (100Hz) frequency electroacupuncture (EA) on the development of hyperalgesia during carrageenan-induced inflammation, and to clarify its mechanism of analgesia.

[Materials and Methods] Male Sprague-Dawley rats were used (n=34). Carrageenan was subcutaneously injected into the intraplantar of the left hind paw of rats to induce inflammation, and EA were given in the left hind paw. Hyperalgesia was defined as quantitatively measured using the paw pressure threshold (PPT) required to elicit paw withdrawal (Randall Sellito Test).

The rats were divided into three groups : the carrageenan group, carrageenan+3Hz EA group, and carrageenan+100Hz EA group. In the EA groups, rats were received EA in the left anterior tibial muscles for a period of 60min at each frequency. The rats receiving 3Hz EA were further divided into naloxone intraperitoneal (i.p.) injection group and naloxone subcutaneous (s.c.) injection group. Naloxone was administered immediately before 3Hz EA by either i.p. injection or local intraplantar injection of the inflamed paw and contralateral paw.

[Results] Three hours after carrageenan injection, a marked ipsilateral inflammatory response (swelling) appeared and PPT in the inflamed paw was decreased significantly. At this time, PPT in the contralateral paw was also decreased. In addition, when rats received either 3Hz or 100Hz EA, analgesic effects were induced in the bilateral hind paws in the carrageenan + 3Hz EA group, but only in the inflamed paw in the carrageenan + 100Hz EA group. Moreover, the analgesic effects induced by 3Hz EA were partly antagonized by naloxone i.p. injection. However, the analgesic effects induced in inflamed paw by 3Hz EA were completely antagonized by naloxone given by local intraplantar injection.

[Discussion] These findings suggest that EA reduces inflammation-induced hyperalgesia. The analgesic effects on the bilateral hind paws induced by 3Hz EA may be mediated by not only central endogenous morphin-like substances, but also by morphin-like substances produced in the peripheral tissue of the inflamed site.