

# 足底部カラゲニン誘発性炎症に伴う胃排出能遅延に対する 鍼通電刺激の作用

濱本 健太郎<sup>\*1)</sup>, 今井 賢治<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 明治国際医療大学大学院, <sup>2)</sup> 明治国際医療大学臨床鍼灸学講座

**要 旨** 【目的】足底部に誘発した急性炎症に伴う胃排出能の変化と、それらに対する鍼通電刺激の影響、さらにその機序についてカラゲニン炎症性痛覚過敏ラットを用いて検討した。  
【方法】SD系雄性ラット40匹を用い、対照群（生理食塩水投与）、カラゲニン投与群、カラゲニン投与+鍼通電刺激群と、カラゲニン投与+鍼通電刺激+ナロキソンメチオジド投与群の4群（各n=10）を比較した。胃排出能の計測は20時間の絶食の後、カラゲニン投与4時間後に1.50gの餌を10分間で摂食させ、90分後に胃を摘出し内容物を回収した。さらに72時間後に乾燥重量から胃排出能を算出し4群間を比較した。鍼通電は摂食前1時間、両側の足三里相当部位に10Hzで行った。生理食塩水、カラゲニンの皮下投与、ナロキソンメチオジドの腹腔内投与の4時間経過後に、炎症所見として足部周径、痛覚閾値および直腸温を計測し比較した。  
【結果】カラゲニン投与により足部周径の増大、直腸温の上昇、痛覚閾値の低下、胃排出能の遅延が確認された。これに対し、カラゲニン投与+鍼通電刺激群では痛覚閾値は上昇し対照群と同等となり、胃排出能も高くなった。さらにナロキソンメチオジドの投与を加えた群では痛覚閾値の改善は維持され、胃排出能遅延も対照群と同等まで改善した。  
【考察】鍼通電刺激による痛覚閾値の上昇には末梢オピオイドは関与せず、中枢性の機序の関与が示唆された。また、胃排出能遅延の改善には末梢オピオイドの関与は明確ではなかった。

**Key words** 末梢部炎症 peripheral inflammation, カラゲニン炎症性痛覚過敏 carrageenan inflammatory hyperalgesia, 胃排出能 gastric emptying, 鍼通電 electrical acupuncture, 内因性オピオイド endogenous opioid

Received November 27, 2014; Accepted January 23, 2015

## 1. はじめに

運動器疾患の有訴者で、消化器症状の併発率が健康人に比べ高値を示す事が疫学調査の結果から明らかとなり、主疾患の治療とともに消化器症状に対する治療戦略の必要性も提唱され始めた<sup>1)</sup>。

炎症時の局所反応として、炎症部にオピオイド含有免疫細胞が遊走し、集積する事が知られており、末梢血中でβ-エンドルフィンなどのオピオイドが産生されることが示されている<sup>2-5)</sup>。また、末梢の

肥満細胞から放出されたβ-エンドルフィンが胃に分布するμ2受容体に直接結合し、アセチルコリンの放出を抑制することで胃運動の抑制を引き起こすことが報告されている<sup>6)</sup>。また、上部消化管機能の抑制反応は種々の条件下で確認され、その機序ならびに治療法についても検証が進められている<sup>7,8)</sup>。しかしながら、これまでに末梢部の炎症に起因する消化器機能の生理的な変化については実験的に明らかにされていない。

一方、鍼刺激が末梢部の炎症性疼痛に対して高い鎮痛効果を示すことはよく知られている。その機序として、中枢神経内の内因性オピオイドペプチドやその他の神経伝達物質を介した脊髄への下行性抑制

\*連絡先: 〒629-0311 京都府南丹市日吉町保野田ヒノ谷6番地1  
明治国際医療大学大学院  
E-mail: k\_hamamoto@meiji-u.ac.jp

系を賦活する中枢性の鎮痛機構と<sup>9-11)</sup>、局所でのβ-エンドルフィン放出による末梢性の鎮痛機構が報告されている<sup>12,13)</sup>。さらに、鍼刺激は疼痛の緩和作用のみならず自律神経系を介した生体調節作用のあることが示されている<sup>14-17)</sup>。このうち消化器機能に対する鍼通電刺激の作用については、動物実験においても一定の知見が示されており、なかでも胃排出能の評価は小動物を使った意識下での上部消化管運動に関する研究において、簡便かつ有用な指標の一つとして応用されている<sup>18,19)</sup>。

そこで、本研究では末梢部の炎症に起因する消化管機能の変化を観察し、それらに対する鍼刺激の効果を検討する目的で、ラットの足底部へカラゲニン炎症性痛覚過敏を誘発した際の胃排出能の動態と、鍼通電刺激の効果を検証した。加えて、その機序を調べる目的でオピオイド拮抗薬であるナロキソンメチオジドを腹腔内に投与し、末梢β-エンドルフィンの関与を確認した。

## II. 方法

### 1. 実験動物および実験群

実験動物としてSprague-Dawley系ラット40匹(雄性, 7週齢, 体重190~233g, 日本クレア)を用いた。このうちの10匹を対照群に設定し、左後肢足底部

に生理食塩水を皮下投与した。残りの30匹を、カラゲニンを左後肢足底部に皮下投与したカラゲニン投与群(n=10)、カラゲニン投与に加えて両側の足三里穴(ST-36)に1時間の鍼通電を施行したカラゲニン投与+鍼通電刺激群(n=10)、カラゲニン投与と鍼通電施行に加えてナロキソンメチオジドを腹腔内投与したカラゲニン投与+鍼通電刺激+ナロキソンメチオジド投与群(n=10)の3群に振り分け、合計4群の実験群を作成した。

飼育条件は、実験時間以外は至適環境に保たれたケージの中で自由行動として、飲食は自由とした。

尚、本研究は明治国際医療大学動物実験倫理委員会の承認(承認番号25-12)を得て行った。

### 2. 実験手順(図1)

ラットを48時間前述した条件で飼育した後、20時間の絶食時間を設けた。絶食時間終了時にイソフルラン麻酔(2%, 吸気麻酔)下で生理食塩水、カラゲニンの皮下投与、ナロキソンメチオジドの腹腔内投与を各群の条件に従い行った。このうち、鍼通電刺激を設定した2群についてはカラゲニン投与あるいはカラゲニンとナロキソンメチオジドの投与後3時間経過時から1時間の鍼通電を施行した。生理食塩水、カラゲニンの皮下投与、ナロキソンメチオジドの腹腔内投与後4時間経過時に1.50gの固形飼料を10分間で摂食させ、90分の消化時間を設けた

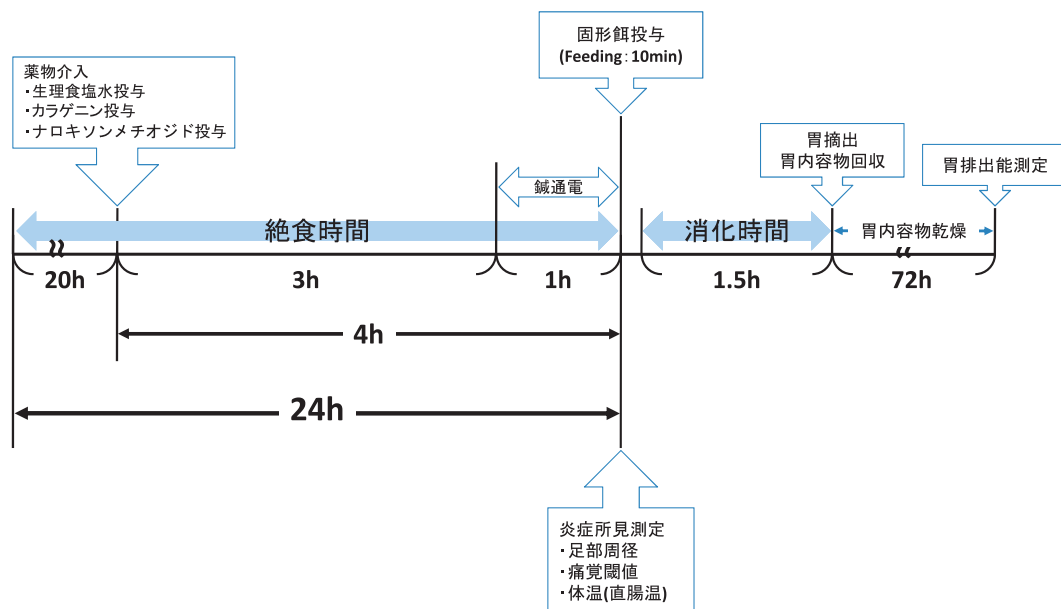


図1 実験手順

20時間の絶食時間を設けた後、各群それぞれの薬物介入を行った。このうち、鍼通電刺激を設定した2群については薬物介入後3時間経過時から1時間の鍼通電を施行した。薬物介入後4時間経過時に固形飼料を10分間で摂食させ、90分の消化時間を設けた後、消化時間終了時に胃を摘出し内容を回収した。回収した内容物は72時間の乾燥時間を経た後に重量を測定し、乾燥重量と摂食量の割合から算出した胃排出能を4群間で比較した。加えて、炎症の程度を確認する目的で、足部周径、痛覚閾値、直腸温を、薬物介入後4時間経過時に計測した。(各群ともにn=10)

後、胃を摘出し内容物を回収した。72時間後に、乾燥重量から胃排出能を算出し、4群間で比較した。

さらに、炎症の程度を確認するため、足部周径、痛覚閾値、直腸温を、生理食塩水、カラゲニンの皮下投与、ナロキソンメチオジドの腹腔内投与後4時間経過時に計測した。

### 3. 介入薬物

#### ①カラゲニン (λ-Carrageenan)

カラゲニン炎症性痛覚過敏モデルラットの作成を目的としてイソフルラン麻酔下で、ラットの左後肢足底部に起炎物質である2%λ-カラゲニン (Sigma-Aldrich, 20mg/ml:生理食塩水にて希釈) を、26G注射針を用いて0.1ml皮下投与した<sup>12,13,20-29)</sup> (図2)。

#### ②ナロキソンメチオジド (Naloxone methiodide)

末梢放出性のオピオイドの拮抗剤として、血液脳関門を通過しない非選択的オピオイド拮抗薬であるナロキソンメチオジド (Sigma-Aldrich, 5mg/kg:生理食塩水で希釈) を1.0ml腹腔内投与した<sup>30)</sup>。

#### ③生理食塩水

起炎物質の対照として、カラゲニンと同量の0.1mlをカラゲニン皮下投与と同部位に同様の方法で投与した。

### 4. 鍼通電方法

鍼通電刺激の使用鍼は、ステンレス鍼 (直径0.34mm, アサヒ医療器・日本) を先端部の長さが約10.0mmとなるよう切断して刺入部の長さが約5.0mmとなるよう平鉗子で鉤状に彎曲させたものを制作し、この鍼に銅線をハンダ固定した上で、鍼と銅線部の接合部に絶縁処理を施したものを用いた。刺激部位は、両側の足三里穴 (ST-36) 相当部位 (膝

関節より約10.0mm下、後肢前面の正中から外側に約5.0mmで前脛骨筋上) とし、刺入深度を約5.0mmとした。通電方法は、非対称両極パルス波 (Ohm Pulser, LFP-4000A, 全医療器社・日本) を用い、通電電波形を交流連続波、持続時間を50msec、刺激頻度を10Hz、刺激強度を筋収縮が見られる程度 (3-5V)、刺激時間を1時間とした<sup>17,19)</sup>。

なお、鍼はカラゲニン投与あるいはカラゲニンとナロキソンメチオジドの投与後3時間経過時にイソフルラン麻酔 (2%, 吸気麻酔) 下で刺入し、鍼通電は覚醒下で鍼の刺入後から1時間施行した<sup>12,13)</sup>。

### 5. 胃摘出ならびに胃内容物回収方法

24時間の絶食を保たせた後、飼育ゲージ内の床面上に置いた1.50gの固形飼料を能動的に10分間で摂食させ、90分の消化時間を設けた後に胃の摘出を行った。胃摘出は固形飼料摂食後、消化時間85分経過時にイソフルラン麻酔 (3~4%, 吸気麻酔) 下でメツェンバウム剪刀を用いて腹部を正中切開し胃を露出させた後、消化時間90分経過時にコッヘル鉗子を用いて噴門部上部ならびに幽門部下部を把持し、胃から十二指腸への内容物の流入を遮断した。その後、イソフルラン麻酔の過剰投与 (5%以上, 吸気麻酔) と横隔膜の切開による呼吸停止ならびに心停止によりラットを安楽死させた上で、噴門部上部の把持部より上方と幽門部下部の把持部より下方をメツェンバウム剪刀で切断し、胃を摘出した。噴門部上部の把持部より下方と幽門部下部の把持部より上方を切断し、幽門部側の断端から噴門部の断端に向けて小彎部を切開した後に胃を展開させ、薬匙を用いて胃内容物 (残渣) を回収した<sup>18,19)</sup>。

### 6. 評価

#### ①炎症所見

炎症の発現程度を確認する目的で、足部周径、痛覚閾値、直腸温の3つの測定項目を設定し、生理食塩水、カラゲニンの皮下投与、ナロキソンメチオジドの腹腔内投与後4時間経過時に計測した。足部周径は、炎症による浮腫の程度を確認する目的で、手術糸を用いて両後肢の中足骨最近位端の周径を測定した<sup>23,24)</sup> (図2)。

痛覚閾値は、炎症性痛覚過敏の程度を確認する目的で、ラットの後肢のみが露出するように作製した布製のジャケットを着用させ、15分間の安静時間を設けた後に、露出させた後肢足背部に加圧式鎮痛効果測定装置 (Ugo Basile 社製・イタリア) を用いて加圧し、後肢の逃避反応を起こすまでに要した負荷重量 (g) を Paw Pressure Threshold (PPT) として、

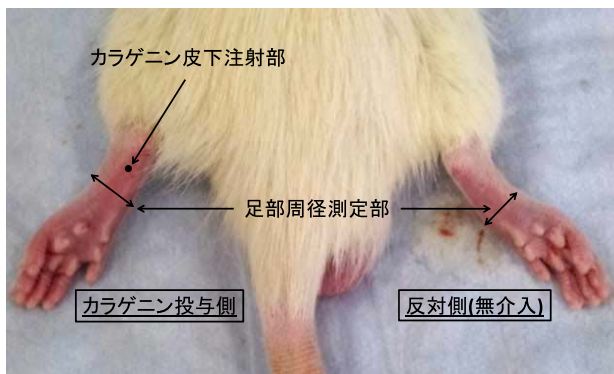


図2 カラゲニン投与部と足部周径測定部

カラゲニンは左後肢足底部に皮下投与し、足部周径は手術糸を用いて両後肢の中足骨最近位端の周径を測定した。



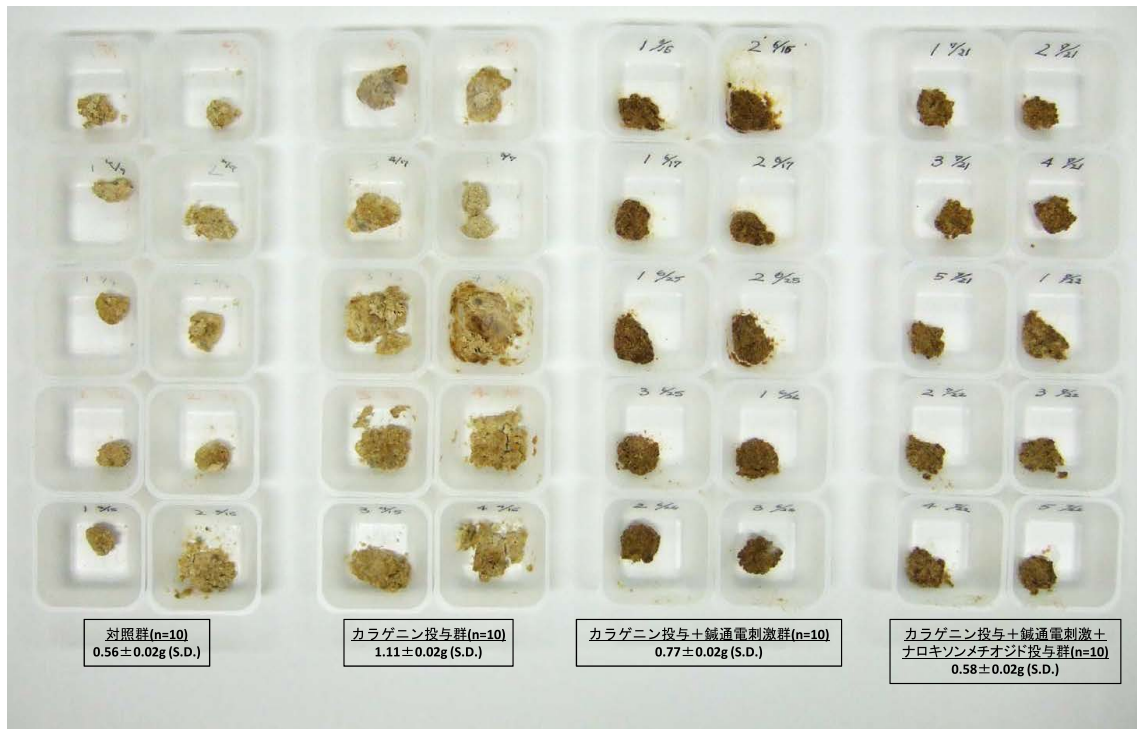


図3 胃内容物の肉眼的所見

胃内容物重量 (Mean ± S.D.) は、対照群  $0.56 \pm 0.02\text{g}$  に対し、カラゲニン投与群  $1.11 \pm 0.02\text{g}$ 、カラゲニン投与+鍼通電刺激群  $0.77 \pm 0.02\text{g}$ 、カラゲニン投与+鍼通電刺激群+ナロキソンメチオジド投与群  $0.58 \pm 0.02\text{g}$  であった。(各群ともに  $n = 10$ )

2分おきに左右交互で計6回計測し、その平均値を算出した (Randall Selitto Test)<sup>12,13,20,22-25,31</sup>。なお、足趾の組織損傷を避けるために250gをcut offの負荷重量とした。直腸温は、炎症による全身性の発熱を確認する目的で、体温計を用いて測定した。

## ②胃排出能

胃排出能は24時間の絶食時間を設けた後、1.50gの固形飼料を能動的に10分間で摂食させ、摂食後90分の消化時間を設けた後に胃を摘出し内容物を回収した。回収した内容物(残渣)を72時間自然乾燥させ、乾燥重量(胃内容物重量)を測定した(図3)。摂食させた固形飼料と胃内容物の乾燥重量から、次式に基づいて胃排出能を算出した<sup>18,19</sup>。

$$\text{胃排出能 (\%)} = \frac{\{\text{摂取固形飼料重量 (1.50g)} - \text{胃内容物重量 (g)}\}}{\text{摂取固形飼料重量 (1.50g)}} \times 100$$

## 6. 統計学的解析

4群間の比較は一元配置分散分析の後、多重比較検定をKruskal-Wallis検定を経てScheffe法を用いて検定を行った。統計処理には統計ソフトJSTATを使用し、有意水準は5%とした。

## III. 結果

### 1. 炎症所見の比較 (表1)

足部周径と直腸温については、カラゲニン投与群とカラゲニン投与+鍼通電刺激群とカラゲニン投与+鍼通電刺激群+ナロキソンメチオジド投与群の3群間に全ての項目で差は認められず、対照群と比較して足部周径は投与側のみ有意な増大を認め ( $p < 0.01$ )、直腸温の有意な上昇を認めた ( $p < 0.01$ )。この結果から、カラゲニンを投与した3群での炎症の発現を確認した。

痛覚閾値の計測結果は、対照群に対してカラゲニン投与群で両肢での有意な低下を示し ( $p < 0.01$ )、カラゲニン投与に伴う両側性の痛覚過敏の発現を認めた。一方で、カラゲニン投与+鍼通電刺激群とカラゲニン投与+鍼通電刺激群+ナロキソンメチオジド投与群では痛覚閾値は両側共に対照群との間に差を認めなかったことから、カラゲニン投与によってもたらされた痛覚過敏に対する鍼通電刺激の鎮痛効果が示され、その効果がナロキソンメチオジドによって拮抗されなかったことが示された。

### 2. 胃排出能の比較

図3に各群における72時間乾燥後の胃内容物の

表1 各群における薬物介入後4時間経過時の足部周径, 痛覚閾値, 直腸温の測定値の比較

	対照群 (n = 10)		カラゲニン投与群 (n = 10)		カラゲニン投与+ 鍼通電刺激群 (n = 10)		カラゲニン投与+ 鍼通電刺激+ ナロキソンメチオジド投与群 (n = 10)	
	カラゲニン 投与側	対側	カラゲニン 投与側	対側	カラゲニン 投与側	対側	カラゲニン 投与側	対側
足部周径 (mm)	27.4 ± 0.5	27.4 ± 0.5	41.8 ± 1.1*	27.4 ± 0.5	40.1 ± 0.9*	27.4 ± 0.5	40.1 ± 0.9*	27.4 ± 0.5
痛覚閾値 (g)	83.8 ± 7.4	83.5 ± 7.3	52.3 ± 7.0**	55.0 ± 7.3**	89.5 ± 7.6	89.7 ± 7.6	89.0 ± 7.4	89.2 ± 7.8
体温 (°C)	36.7 ± 0.2		38.3 ± 0.3***		38.0 ± 0.2***		38.1 ± 0.2***	

対照群に比べ, 他3群では直腸温と投与側の足部周径が有意に高値を示した ( $p < 0.01$ , Scheffe法). 一方, 痛覚閾値はカラゲニン投与群のみで他3群に対し有意に低値を示した ( $p < 0.01$ , Scheffe法). (各群ともに  $n = 10$ : Mean  $\pm$  S.D. で表記)

\* VS 対照群 (両側)・カラゲニン投与群 (対側)・カラゲニン投与+鍼通電刺激群 (対側)・カラゲニン投与+鍼通電刺激+ナロキソンメチオジド投与群 (対側):  $p < 0.01$ /Scheffe

\*\* VS 対照群 (両側)・カラゲニン投与+鍼通電刺激群 (対側)・カラゲニン投与+鍼通電刺激+ナロキソンメチオジド投与群 (対側):  $p < 0.01$ /Scheffe

\*\*\* VS 対照群:  $p < 0.01$ /Scheffe

肉眼的所見と平均重量を示した. 胃内容物の重量は対照群で  $0.56 \pm 0.02$ gであったのに対し, カラゲニン投与群では  $1.11 \pm 0.02$ gと対照群に対して有意に重く ( $p < 0.01$ ), より残渣の多いことが肉眼的にも明らかであった. カラゲニン投与+鍼通電刺激群では  $0.77 \pm 0.02$ gとカラゲニン投与群に対して有意に軽く ( $p < 0.01$ ), 残渣はカラゲニン投与群に比べ少ないことが肉眼的に認められた. しかし, この変化は対照群に比べ対して有意に重く ( $p < 0.01$ ), 元の重量に回復するものではなかった. カラゲニン投与+鍼通電刺激+ナロキソンメチオジド投与群では  $0.58 \pm 0.02$ gとカラゲニン投与群に対して有意に軽く ( $p < 0.01$ ), 対照群の重量との間に差を認めず, 残渣は対照群と同程度に復する事が見受けられた.

胃排出能を算出し比較すると, 対照群で  $62.6 \pm 1.3\%$ であったのに対しカラゲニン投与群では  $25.9 \pm 1.4\%$ と有意に低下し, 明らかな胃排出能の遅延を認めた ( $p < 0.01$ ). カラゲニン投与+鍼通電刺激群では  $48.8 \pm 1.1\%$ とカラゲニン投与群に対し有意に高く ( $p < 0.01$ ), 鍼通電刺激による胃排出能の改善が示されたが, この変化は対照群に比べ有意に低値を示し ( $p < 0.05$ ), 胃排出能を元の状態に回復するものではなかった. カラゲニン投与+鍼通電刺激群+ナロキソンメチオジド投与群では  $61.5 \pm 1.3\%$ とカラゲニン投与群に対し有意に高く ( $p < 0.01$ ), 対照群の値との間に差を認めず, 胃排出能は完全に元の状態に復した (図4).

なお, 今回の実験においては全てのラットが10分間で1.50gの餌を完食した.

#### IV. 考察

2012年に発表された世界の疾病負担研究 (Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors Study: GBD 2010)において, 有訴率が高く社会的損失の大きい疾患として, 運動器系疾患が挙げられている<sup>32-38</sup>). そして近年, 運動器疾患の有訴者で, 消化器症状の併発率が健常人に比べ高値を示す事が疫学調査の結果から明らかとなり, 主疾患の治療とともに消化器症状に対する治療戦略の必要性も提唱され始めた<sup>1</sup>).

このうち, 生体防御反応である炎症下での局所反応として, 炎症部にオピオイド含有免疫細胞が遊走し, 集積する事が知られており, 末梢血中で $\beta$ -エンドルフィンなどのオピオイドが産生されることが示されている<sup>2-5</sup>). また, 末梢の肥満細胞から放出された $\beta$ -エンドルフィンが, 胃に分布する $\mu 2$ 受容体に結合し, アセチルコリンの放出を抑制し胃運動の抑制を引き起こすことが報告されている<sup>6</sup>). このことから, 運動器疾患有訴者における消化器症状の発現には, 炎症に伴う末梢部局所での $\beta$ -エンドルフィンが関与する可能性が充分にあり得ると考えられる.

上部消化管機能の抑制反応は, これまでに種々のストレス<sup>19,39-41</sup>)により確認され, その機序や治療に関しても検討が進められている. そのなかで, 小動物を使った意識下での研究において, 簡便かつ有用な指標の一つとして胃排出能評価が用いられている<sup>18,19</sup>). しかしながら, これまで末梢部の炎症に伴う消化器機能の生理的な変化を実験的に評価した報告は見られず, その機序について必ずしも明確ではない.

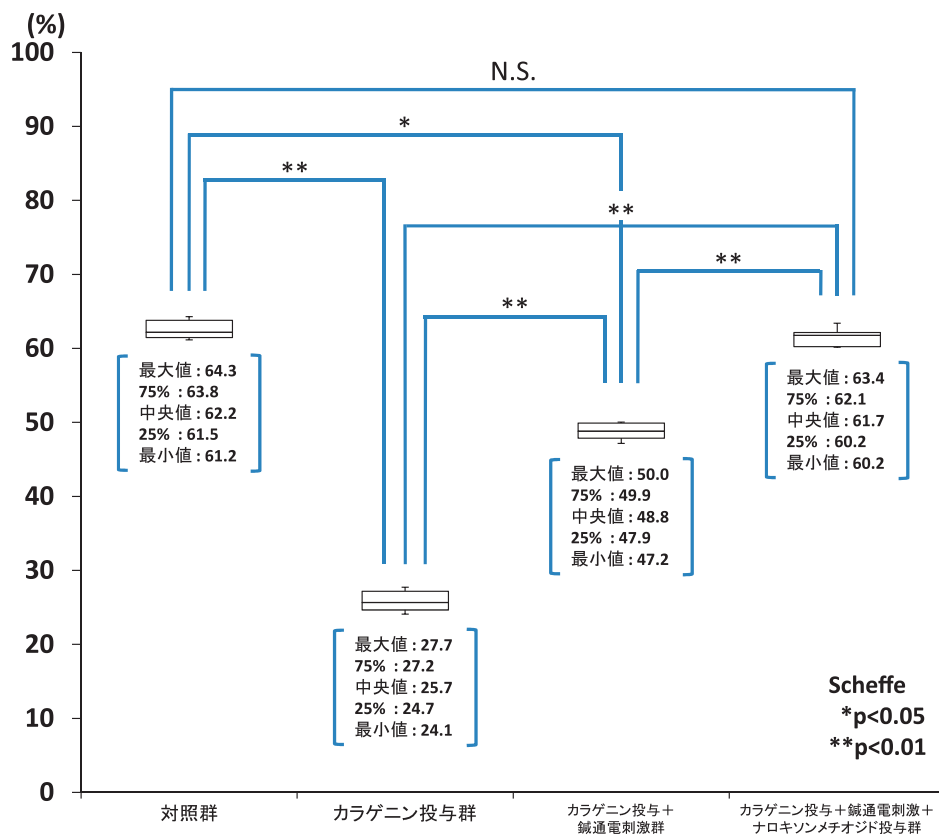


図4 各群での胃内容物排出能の比較

胃排出能は、対照群に対し、カラゲニン投与群で有意に低値を示した ( $p < 0.01$ , Scheffe 法)。カラゲニン投与群に対しカラゲニン投与+鍼通電刺激群で有意に高値を示し ( $p < 0.01$ , Scheffe 法)、カラゲニン投与+鍼通電刺激群+ナロキソンメチオジド投与群でさらに高値を示した ( $p < 0.01$ , Scheffe 法)。対照群とカラゲニン投与+鍼通電刺激群+ナロキソンメチオジド投与群では差が認められなかった。(各群ともに  $n = 10$ )

そこで、本研究では末梢部の炎症による  $\beta$ -エンドルフィン産生に焦点をあて、カラゲニン炎症性痛覚過敏モデルラットを用いて実験的に急性炎症を誘発した際の胃排出能の動態を確認し、末梢部の炎症に併発する消化器症状に対する治療法として鍼刺激の有効性とその作用を検討した。

カラゲニン炎症性痛覚過敏モデルでは、炎症初期には肥満細胞から放出されたヒスタミンやセロトニンが細動脈拡張や血管透過性亢進させ、時間経過とともにブラジキニンを中心として細動脈拡張や血管透過性亢進をさらに増強させる事で、浮腫ならびに痛覚過敏を発生させる<sup>12,13)</sup>。また、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<sup>20-24)</sup>。本実験で、カラゲニンをラットの左後肢足底部に皮下投与した群では、左後肢(カラゲニン投与側)で痛覚過敏と浮腫を生じ、対側の右後肢で痛覚過敏を生じた。この結果は、過去の報告と一致している<sup>22,25)</sup>。

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が起こ

り<sup>26)</sup>、末梢からの持続的な侵害刺激が脊髄に達すると、脊髄は中枢感作とよばれる痛覚亢進状態となることが解っている<sup>27)</sup>。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がみられ<sup>28,29)</sup>、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過度な反応となる Wind up 現象が起こり、その結果、両側性に痛覚過敏が生じることになる。今回の結果でも両側性に痛覚閾値の低下が得られており、カラゲニン投与部位での末梢感覚受容器の感作と脊髄を介した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る。

また、直腸温についても対照群に比べ、カラゲニン投与群で有意な上昇を認めた事から、この炎症は全身的にも波及していることを確認した。その上で、対照群とカラゲニン投与群の胃排出能を比較すると、対照群で  $62.6 \pm 1.3\%$  であったのに対しカラゲニン投与群では  $25.9 \pm 1.4\%$  と有意に低値を示していた。さらに、カラゲニン投与+ナロキソンメチオジド投与群では、 $39.9 \pm 1.4\%$  と対照群に比べて有



意に低値を示した（データ非表示）ものの、カラゲニン投与群に対し有意に高値を示していた。このことから、四肢末梢部での急性炎症時には、明らかに胃排出能の遅延が引き起こされることが本研究から明らかとなり、一方でナロキソンメチオジドにより拮抗されるため、その機序に末梢における $\beta$ -エンドルフィンの関与を確認した。しかし、その拮抗は不完全なものであることから、末梢における $\beta$ -エンドルフィンの関わりのみでなく、侵害刺激としての疼痛やそれにとまらうストレス反応など他の機序の関与も想定される。

そのなかで、鍼刺激が末梢部の炎症性疼痛に対して高い鎮痛効果を示すことはよく知られている。その機序として中枢神経内の内因性オピオイドペプチドやその他の神経伝達物質を介した脊髄への下行性抑制系を賦活する中枢性の鎮痛機構<sup>9-11)</sup>と、炎症局所でオピオイド含有免疫細胞に存在する corticotropin-releasing factor（副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン、CRF）受容体と interleukin-1（インターロイキン-1, IL-1）受容体を活性化させ、これにより産生ならびに放出された $\beta$ -エンドルフィンが一次感覚神経終末に存在する $\mu$ オピオイド受容体に作用することによる末梢性の鎮痛機構が報告されている<sup>12,13)</sup>。

また、鍼刺激は疼痛の緩和作用のみならず自律神経系を介した生体調整作用を治療機転とする<sup>14-16)</sup>。すでに拘束ストレス等が胃排出能遅延を引き起こし鍼通電刺激で改善することが示されている<sup>17,19)</sup>。これらの報告から、鍼刺激は四肢末梢部での炎症に併発する疼痛と消化器機能障害の両方に対して、効果を示す事が期待出来る。しかし、鍼刺激の鎮痛作用の機序に、末梢部での $\beta$ -エンドルフィン産生が関与しており<sup>12,13)</sup>、炎症に伴う胃運動抑制<sup>6)</sup>も $\beta$ -エンドルフィンが直接的に胃運動抑制に作用するならば<sup>2-6)</sup>、鍼刺激による鎮痛効果と胃運動抑制の改善効果を同時に考察すると矛盾が生じることとなる。そこで、カラゲニン炎症性痛覚過敏モデルに対して鍼通電刺激を加えたカラゲニン投与+鍼通電刺激群を設定し、四肢末梢部での急性炎症に伴う胃排出能の遅延に対する鍼通電刺激の効果を実際に検討した。さらに末梢における $\beta$ -エンドルフィンの関与を調べる目的で、 $\mu$ 2-受容体に結合するナロキソンメチオジドの腹腔内投与を行ったカラゲニン投与+鍼通電刺激+ナロキソンメチオジド投与群を設定し、その機序に関する検討を加えた。

その結果、足部へのカラゲニン投与で引き起こされた炎症所見である足部周径と直腸温の増大については鍼通電の効果はなかったが、痛覚閾値については両側共に高くなり、疼痛の制御が既報と同様に得

られた<sup>12,13)</sup>。そしてカラゲニン投与によって胃排出能が遅延することが実証され、さらに鍼通電はこれを改善させることを示した。その上で、ナロキソンメチオジド投与を加えた群を設定し比較すると、鍼通電により得られた痛覚閾値の上昇は維持されながら、さらに胃排出能も改善し、対照群との間に変化が見られない程となった。当初は末梢性の鎮痛機構における $\beta$ -エンドルフィンの作用をナロキソンメチオジドは遮断するため、鍼通電による痛覚閾値の上昇が拮抗されることを想定したが、そのような結果とはならなかった。そして胃排出能に関してはナロキソンメチオジド投与によってカラゲニン投与+鍼通電刺激群よりもさらに改善した。腹腔内へのナロキソンメチオジドの投与は、末梢において胃に存在する $\mu$ 2受容体に作用し $\beta$ -エンドルフィンの効果を拮抗し胃排出能の改善を引き起こしたことで対照群と同程度まで回復したものである。この結果から、今回の鍼通電の効果発現の機序として末梢における $\beta$ -エンドルフィンの関与の可能性は少ないこととなる。

胃排出能の低下は、様々なストレスにより引き起こされ、室傍核におけるCRFの放出<sup>19)</sup>から下垂体-副腎系に作用し引き起こされる一連の生理作用と言える。カラゲニン投与による炎症性痛覚過敏も明らかな疼痛を伴う侵害刺激であり、これがストレス反応となり下垂体-副腎系を刺激し交感神経系の興奮を引き起こすことは充分にあり得る。すでに足三里への鍼通電はCRFの抑制を介して胃排出能を改善させることが示されており<sup>19)</sup>、今回はほぼ同様の鍼通電を応用した。すなわち、カラゲニン投与による炎症性痛覚過敏がCRFを放出させるストレス反応であると仮定すれば、今回の鍼通電の作用機序の一つとしてCRFの制御が上げられる。さらに疼痛によるストレス反応は、疼痛そのものをコントロールすることで制御が可能であろう。本実験では、鍼通電により痛覚閾値の上昇が確認でき、ナロキソンメチオジドによって影響を受けるものではなかった。腹腔内へ投与したナロキソンメチオジドは血液脳関門を通過しないため、末梢における $\beta$ -エンドルフィンの関与を除く反応として今回の痛覚閾値の上昇が得られたこととなる。正常動物での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比較的早くその効果は消失するのに対し<sup>30)</sup>、カラゲニンによる急性炎症を誘発した痛覚過敏モデルラットでは、低頻度鍼通電で刺激を与えると鍼通電直後から鎮痛効果が出現し、24時間後においてもその持続効果が確認されている<sup>12,13)</sup>。そしてその

機序には上脊髄性のオピオイドが大きくかかわっていることから、本実験においても同様の機構の存在が想定され、鍼鎮痛によるストレス反応の制御の結果、胃排出能遅延を改善させた可能性が考えられる。今後、この点を明らかにするため、ナロキソンの腹腔内投与および脳室内投与による詳細な検討を計画している。

さらに、四肢への鍼刺激は体性—内臓反射を機序とした胃運動亢進を引き起こすことが示されている<sup>15,39,42</sup>。今回用いた足三里穴相当部位への鍼刺激による胃運動亢進はすでに数多く報告され<sup>15,39,42</sup>、また胃排出能を高めることも示されている<sup>18</sup>。この機序として、鍼刺激による体性神経の興奮は延髄に存在する迷走神経背側核に求心性に伝達し、迷走神経の遠心性活動を増大させることで、胃運動の亢進を引き起こすことが示されている<sup>15,39,42</sup>。このような自律神経反射も今回の鍼通電による胃排出能改善の作用機序として考えられる。

以上、鍼通電刺激はカラゲニン投与による炎症性痛覚過敏において鎮痛効果を発現するとともに胃排出能遅延を改善させ、その作用機序として、疼痛に伴うストレス反応の制御から体性—内臓反射の関与の可能性を考察した。

また、鍼刺激により抗炎症作用が引き起こされることが報告されている<sup>43</sup>。本結果では、カラゲニン投与により足部周径は腫脹し、直腸温は高く発熱が認められ、局所ばかりでなく全身的にも炎症反応が見られた。本研究では、この全身的な炎症による胃排出能への影響の程度は不明だが、鍼通電を加えた群、および鍼通電とナロキソンメチオジドを加えた群においても疼痛以外に関する炎症所見については変化を認めなかった。今回の結果は、全身的な炎症反応そのものを鍼通電が抑制しているわけではないといえるだろう。

鍼灸臨床において運動器疾患に起因する疼痛を愁訴とする患者は多く、その中で鍼灸治療は関節炎やそれに伴う慢性疼痛に対して良好な成績が報告されている<sup>44</sup>。本研究は急性炎症の動物実験モデルではあるが、末梢部位に炎症や疼痛が発現している際、胃運動抑制を引き起こしている可能性を実験的に示したことが特徴である。その炎症や疼痛の程度については今後さらに詳細な検討を加えるが、鍼灸臨床において運動器疾患を主疾患とする患者であっても胃症状の存在する可能性に留意する必要があるだろう。

## V. 結語

足底部にカラゲニン炎症性痛覚過敏を誘発した際の胃排出能の動態と、それらに対する鍼通電刺激の効果ならびにその機序を検討した結果、

- (1) 足底部の炎症に伴い痛覚過敏の出現と胃排出能の遅延が確認された。
- (2) これに対し鍼通電刺激は痛覚閾値を上昇させ、胃排出能の遅延を改善させた。
- (3) 鍼通電による痛覚閾値の上昇には末梢オピオイドは関与せず、中枢性の機序の関与が示唆された。
- (4) 鍼通電による胃排出能遅延の改善には末梢オピオイドの関与は明確ではなかった。

謝辞：本研究の遂行におきましてご教授を賜りました、臨床鍼灸学講座北小路博司教授、谷口授助教、田口玲奈助教、伊藤和憲准教授、基礎鍼灸学講座谷口博志助教に深謝申し上げます。

## 文献

1. Myasoedova E, Matteson EL, Talley NJ, et al.: Increased incidence and impact of upper and lower gastrointestinal events in patients with rheumatoid arthritis in Olmsted County, Minnesota: a longitudinal population-based study. *The Journal of Rheumatology*, 39(7): 1355-1362, 2012.
2. Stain C, Millan MJ, Shippenberg TS, et al.: Peripheral opioid receptors mediating antinociception in inflammation. Evidence for involvement of mu, delta and kappa receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 248(3): 1269-1275, 1989.
3. Stein C, Yassouridis A: Peripheral morphine analgesia. *Pain*, 71: 119-121, 1997.
4. Stain C: The control of pain in peripheral tissue by opioids. *The New England Journal of Medicine*, 332: 1685-1690, 1995.
5. 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.
6. Yokotani K, Osumi Y: Involvement of  $\mu$ -receptor in endogenous opioid peptide-mediated inhibition of acetylcholine release from rat stomach. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 78(1): 93-95, 1998.
7. Tache Y, Martinez V, Million M, et al.: Stress and the gastrointestinal tract III. Stress-related alteration of gut motor function-role of brain corticotropin-



- releasing factor receptors. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 280(2): G173-177, 2001.
8. Ozarba Ilcol Y, Ozyurt G, Kilicirgey S, et al.: The decline in serum choline concentration in humans during and after surgery is associated with the elevation of cortisol, adrenocorticotropic hormone, prolactin and beta-endorphin concentrations. *Neuroscience Letters*, 324(1): 41-44, 2002.
  9. 川喜田健司：鍼灸刺激による鎮痛発現の機序—ポリモーダル受容器から脳内オピオイドまで。医学のあゆみ, 206, 6, 医歯薬出版, 455-458, 2002.
  10. Malizia E, Andreucci G, Paolucci D, et al.: Electroacupuncture and peripheral  $\beta$ -endorphin and ACTH levels. *Lancet*, 535-536, 1979.
  11. Masala A, Satta G, Alagna S, et al.: Suppression of electroacupuncture (EA)-induced beta-endorphin and ACTH release by hydrocortisone in man. absence of effects on EA-induced anaesthesia. *Acta Endocrinol*, 103: 469-472, 1983.
  12. 関戸玲奈, 石丸圭荘, 咲田雅一：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。明治鍼灸医学, 26: 33-41, 2000.
  13. 関戸玲奈：カラゲニン炎症性痛覚過敏における鍼鎮痛機序—末梢性鎮痛の関わりについて—。明治鍼灸医学, 31: 31-41, 2002.
  14. Kametani H, Sato A, Sato Y, et al.: Neural mechanisms of reflex facilitation and inhibition of gastric motility to stimulation of various skin areas in rats. *The Journal of Physiology*, 294: 407-418, 1979.
  15. Sato A, Sato Y, Suzuki A, et al.: Neural mechanisms of the reflex inhibition and excitation of gastric motility elicited by acupuncture-like stimulation in anesthetized rats. *Neuroscience Research*, 18(1): 53-62, 1993.
  16. 池田和久：鍼通電刺激がラット胃運動に及ぼす影響について—自律神経と末梢求心路に関する影響—。明治鍼灸医学, 27: 15-26, 2000.
  17. Imai K, Ariga H, Takahashi T: Electroacupuncture improves imbalance of autonomic function under restraint stress in conscious rats. *The American Journal Chinese Medicine*, 37(1): 45-55, 2009.
  18. Ishiguchi T, Amano T, Matsubayashi H, et al.: Centrally administered neuropeptide Y delays gastric emptying via Y2 receptors in rats. *American Journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 281(1): R1522-1530, 2001.
  19. Iwa M, Nakade Y, Pappas TN, et al.: Electroacupuncture elicits dual effects: stimulation of delayed gastric emptying and inhibition of accelerated colonic transit induced by restraint stress in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 51(8): 1493-1500, 2006.
  20. 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.
  21. 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.
  22. Kissin I, Lee SS, Bradley EL: Effects of prolonged nerve block on inflammatory hyperalgesia in rats—prevention of late hyperalgesia. *Anesthesiology*, 88: 224-232, 1998.
  23. Eschalier A, Keyser V, Guilbaud G: Influence of a specific 5-HT3 antagonist on carrageenan-induced hyperalgesia in rats. *Pain*, 36(2): 249-255, 1989.
  24. Fletcher D, Kayser V, Guilbaud G: Influence of timing administration on the analgesic effect of bupivacaine infiltration in carrageenin-injected rats. *Anesthesiology*, 84(5): 1129-1137, 1996.
  25. Kayser V, Guilbaud G: Local and remote modification of nociceptive sensitivity during carrageenin-induced inflammation in the rat. *Pain*, 28: 99-107, 1987.
  26. Kocher L, Anton F, Reeh PW, et al.: The effect of carrageenan-induced inflammation on the sensitivity of unmyelinated skin nociceptors in the rat. *Pain*, 29: 363-373, 1987.
  27. 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.
  28. 野口光一：痛みと神経ペプチド。神経進歩, 42(3): 434-443, 1998.
  29. Stanfa LC, Sullivan AF, Dickenson AH, et al.: Alterations in neuronal excitability and the potency of spinal mu, delta and kappa opioids after carrageenan-induced inflammation. *Pain*, 50: 345-354, 1992.
  30. Froetschel MA, Azain MJ, Edwards GL, et al.: Opioid and cholecystokinin antagonists alleviate gastric inhibition of food intake by premeal loads of casein in meal-fed rats. *The Journal of Nutrition*,

- 131(12): 3270-3276, 2001.
31. 井口賀之, 尾崎昌宣, 片岡史郎ら: 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.
  32. Wang H, Dwyer Lindgren L, Lofgren KT, et al.: Age-specific and sex-specific mortality in 187 countries, 1970-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380: 2071-2094, 2012.
  33. Murray CJL, Vos T, Lozano R, et al.: Disability-adjusted life year (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380: 2197-2223, 2012.
  34. Lozano R, Naghavi M, Forman K, et al.: Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age-groups in 1990 and 2010: A systematic analysis. *Lancet*, 380: 2095-2128, 2012.
  35. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, et al.: Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380: 2071-2163, 2196.
  36. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, et al.: A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380: 2224-2260, 2012.
  37. Salomon JA, Vos T, Hogan DR, et al.: Common values in assessing health outcomes from disease and injury: disability weights measurement study for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380: 2129-2143, 2012.
  38. Salomon JA, Wang H, Freeman MK, et al.: Healthy life expectancy for 187 countries, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380: 2144-2162, 2012.
  39. Sato A, Sato Y, Shimada F, et al.: Changes in gastric motility produced by nociceptive stimulation of the skin in rats. *Brain Research*, 87: 151-159, 1975.
  40. Lenz HJ, Raedler A, Greten H, et al.: Stress-Induced gastrointestinal Secretory and Motor Responses in Rats are Mediated by Endogenous Corticotrophin-Releasing Factor. *Gastroenterology*, 95: 1510-1517, 1988.
  41. Enck P, Merlin V, Erckenbrecht JF, et al.: Stress effects on gastrointestinal transit in the rat. *Gut*, 30: 455-459, 1989.
  42. 山口真二郎, 岡田薫, 大沢秀雄ら: 麻酔ラットの胃運動に及ぼす鍼通電刺激の効果. 自律神経, 33: 39-45, 1996.
  43. McDonald JL, Cripps AW, Smith PK, et al.: The Anti-Inflammatory Effects of Acupuncture and Their Relevance to Allergic Rhinitis: A Narrative Review and Proposed Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Doi: 10.1155/2013/591796. Epub 2013 Feb 14.
  44. White A, Foster NE, Cummings M, et al.: Acupuncture treatment for chronic knee pain: a systematic review. *Rheumatology*, 46: 384-390, 2007.

# The effects of electrical acupuncture on delayed-gastric emptying under peripheral acute inflammation induced by carrageenan injection to foot pad in rats

Kentaro Hamamoto<sup>1)</sup>, Kenji Imai<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Meiji University of Integrative Medicine, Graduate School

<sup>2)</sup>Meiji University of Integrative Medicine, Department of Clinical Acupuncture and Moxibustion

## Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of electrical acupuncture on delayed-gastric emptying induced under peripheral acute inflammation by carrageenan injection to foot pad on rats. 40 SD male rats were divided into four groups that were 10 control (vehicle) group, 10 carrageenan-subcutaneous injection group, 10 carrageenan-subcutaneous injection with electrical acupuncture group, and 10 carrageenan-subcutaneous injection with both electrical acupuncture and naloxone methiodide group. 4 hours after the injection of carrageenan, rats were fed the 1.50g solid food within 10 minutes after fasting for 20 hours. The excised stomach of 90 minutes after feeding, to evaluate gastric emptying from the weight of the dry contents after 72 hours. Electrical acupuncture with 10Hz had been performed to bilateral ST-36 with one hour. Findings of inflammation that are circumference of foot, pain threshold and rectal temperature, had been measured at four hours after carrageenan-subcutaneous injection, intraperitoneal injection of vehicle or naloxone methiodide. In the results, hyperalgesia and delayed-gastric emptying had been observed in the carrageenan-subcutaneous injection group. Electrical acupuncture has elevated the pain threshold and improved the delayed-gastric emptying under the acute inflammation induced by carrageenan injection that have not relation with peripheral  $\beta$ -endorphin in the mechanism of these results.