ラット後肢へのホルマリン注入により、脊髄後角細胞に惹起される活動に対する低出力レーザー照射の効果

下山直人*, 堀 雄一**, 渡部士郎**, 飯島一彦*, 水口公信*

*千葉大学医学部麻酔科

**杏林大学医学部第一生理

The effects of helium-neon laser irradiation on formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rat

N. Shimoyama*, Y. Hori**, S. Watanabe**, K. Iijima* and T. Mizuguchi*

Department of Anesthesiology, School of Medicine, Chiba University*

Department of Physiology, School of Medicine, Kyorin University**

Extracellular recordings were made from dorsal horn neurons in the lumbosacral enlargement in rats anesthetized with halothane (0.8-1.0%). Effects of He-Ne (8.5 mW; 632.8 nm) low power laser irradiation on the dorsal horn neuron responses to subcutaneous injection of formalin (5-10%, 0.1 ml) were evaluated. It was observed that the irradiation significantly reduced the formalin induced responses.

The observed inhibition of dorsal horn neuron might explain the clinically alleged analgesia elicited by low power laser irradiation.

〔はじめに〕

低出力レーザーの鎮痛機序に関しては、いまだに解明されておらず、局所の疼痛部位に対する影響¹⁾、末梢神経の興奮伝導に対する影響^{2) 9)}、中枢神経系に対する影響^{3) 10) 11)}などについての研究が行なわれている。また、低出力レーザー照射は、tail flick testなどの急性の疼痛には効果がないという報告がある⁴⁾。今回我々は、慢性疼痛の実験モデルといわれるホルマリンテストを使用し、低出力レーザーの影響を調べた。その結果、脊髄後角侵害受容ニューロンのホルマリンに対する反応が低出力レーザーにより抑制されることを見いだしたので、低出力レーザーの鎮痛機序につき、文献的考察を含め報告する。

図 1

〔方 法〕

SD系ラット（体重220-410g）を雌雄の別なく用いた。ハローセン2%にて麻酔を導入，気管切開，静脈カニュレーション施行後，腰膨大部上にて椎弓切除を行い，ハローセン濃度を0.8-1.0%として記録を行なった（図1）。単一ニューロン活動の記録には，直径7ミクロンのカーボンファイバーをガラスにてコーティングした微小電極を用い⁵⁾，脊髄後角内から，後肢の皮膚に受容野をもつニューロンの活動を記録した。受容野の皮下に5-10%のホルマリン0.1mlを投与し，ニューロンの反応を約60分にわたって観察し，その性質についても調べた。実験中は，パクロニウム・ブロマイドにて非動化し，人工呼吸を行なった。活動の記録はデータレコーダーに録音し，実験終了後シグナルプロセッサー（日本電気三栄7T08）にて解析した。使用したレーザーは，泉工医科製低出力レーザーで，出力8.5mW，波長632.8nmであった。control群20例，レーザー照射群10例に分け実験を行なった。レーザー照射群は，ホルマリン注入前に，30分間低出力レーザーを受容野を支配する皮膚に経皮的に照射し，その後ホルマリンを注入した。また，control群は，レーザー照射を行わずホルマリン注入のみとし，両群の後角ニューロンの発火数を比較した。

図 2

図 3

〔結 果〕

今回記録した脊髄後角ニューロンの一般的な性質について図2,3に示す。図2は、皮膚に加えた自然刺激に対する後角ニューロンの反応をヒストグラムにて示したものである。侵害刺激として受容野の皮膚にピンチを10秒間加えた時、後角ニューロンは持続的な発火数の上昇を示し、ピンチ終了後にも発火の増加が約3秒間続いた。次に非侵害刺激として皮膚にブラッシュを加えた時には、発火数の増加は見られるが、ピンチの時に比べ発火数は明らかに少ない。以上からこのニューロンは、いわゆるWyer-Dynamic Range Neuron(以下WDR)と同定された。また、このニューロンは、受容野に経皮的にくわえた強い電気刺激に対しては(図3)、約450msecにpeakをもつ、C-fiberの入力による活動を示した。このようなWDRニューロンに対してホルマリンテストを施行した。

図 4

受容野の皮下にホルマリンを投与した時のニューロンの反応の一例を図4に示す。注射針の刺入とホルマリンの注入に対して、一過性にニューロンの発火の増加が見られその増加は一時減弱し、その後再び増加し、数十分にわたり持続するという、2相性の反応であった。

図 5 A

図 5 B

図 5 C

ホルマリンにより惹起された後角ニューロンの発火に対する、他肢に加えた侵害刺激であるピンチの影響を、後角ニューロンの発火が安定している時点で調べた(図5)同側の前肢(A)、対側の前肢(B)、後肢(C)に与えたピンチは、後角ニューロンの活動を明らかに抑制した。この抑制に対するナロキソン0.5mg/kgの全身投与の影響を図6に示す。

図 6 A

図6Aの例では、ナロキソン投与前には、ピンチによる発火の抑制がピンチを終了した後も持続し、回復に数十秒を要していた。しかし、ナロキソン投与後は、ピンチによる発火の抑制は見られるものの、投与前に比べ、早期の回復が見られた。

図 6 B

図6Bの例では、ナロキソンの投与により、ピンチによる抑制が見られなくなった。次に、末梢神経に反復して加えた、強い電気刺激の、ホルマリン反応に対する影響を調べた。

図 7

図7に、対側の後肢にC-fiberの域値以上の強い刺激を15分間、1Hzで連続して加えた後、ホルマリンを皮下投与した時の後角ニューロンの反応の様子を示す。ホルマリン注入時の一時的な発火の上昇は見られるが、持続的な発火の増加は見られなかった。

図 8

これと同様に、対側の後肢に15分間、C-fiberの域値以上にて、5Hzの連続した刺激を15分間加えた後にホルマリンを皮下投与した時の後角ニューロンの反応においても、ホルマリン注入後の持続的な発火が抑制されるのがみられた(図8)。次いで、ナロキソンの全身投与を行なうと、発射数の増加が見られた。

低出力レーザーを、30分間照射した後にホルマリンを皮下投与した群では、針の刺入とホルマリンの注入による後角ニューロンの発火の増加は見られるものの、その後続く発火の増加は見られなかった。

図 9

control群20例、およびレーザー照射群10例において、

1分間ごとの発火数の平均値を図9のグラフに示す。グラフ中の*印は、ホルマリン投与によるニューロンの発火数の増加が、ホルマリン投与前に比べて有意であることを示す($p < 0.05$)。また☆は、コントロール群およびレーザー照射群のニューロン活動の差が有意であることを示す($p < 0.05$)。ホルマリン投与前の自発発火は、両群間に有意差は見られなかった。コントロール群では、ホルマリン投与後0-5分後に発火数の増加が見られた。その後、発火数は減少を示したが、9分以降再び、発火数の増加が観察された。一方、レーザー照射群では、ホルマリン投与後0-2分後に発火数の増加が見られたが、その後徐々に発火数は減少し、control群で見られた9分以降の発火数の増加はおこらなかった。

〔考 察〕

DubinsonとDenisらは、1977年、新しい実験疼痛モデルとしてホルマリンテストを発表した⁶⁾。ホルマリンは動物の皮下に投与すると、持続的な疼痛をおこし、hot plateやtail flick testとは異なった疼痛をひきおこすものとされている。これは、動物の行動の変化⁷⁾や、脊髄後角細胞の発射頻度の増加などで定量化されている⁸⁾。また、その持続的な刺激は、人間の慢性疼痛の実験モデルとも言われている。今回我々は、ラットの脊髄後角ニューロンの活動を記録し、その受容野の皮下に投与したホルマリンに対する反応を調べた。ホルマリン皮下投与によって、後

角ニューロンに2相性の持続性発火を起こすこと、その活動にはC-fiberが関与していることを確認した。さらにホルマリンに対する後角ニューロンの反応が、身体の各部位の刺激により、抑制されることを観察した。

このような性質を持つ脊髄後角ニューロンのホルマリンに対する反応が低出力レーザー照射によりどのような影響をうけるか調べた。その結果、低出力レーザー照射は、ホルマリンにより惹起される後角ニューロンの反応を、明らかに抑制することが示された。

低出力レーザー照射の神経系に対する影響としては、ラットの橈骨神経への照射により、その伝導速度を低下させた⁹⁾、とする報告、伝導速度に対しては影響を与えないとする²⁾、相反する報告がある。一方、Walker¹⁰⁾らは、ヒトの正中神経上の皮膚に加えたレーザー照射によって、同側のErb's pointより体性感覚誘発電位(SEP)が記録されると報告している。

また、さらに、長時間加えたレーザー照射により、SEPおよび、電気刺激によって誘発されるH波などの脊髄反射が抑制される^{10),11)}。これらの報告より、低出力レーザーが経皮的に末梢神経を刺激することが示唆された。しかし、その詳細な機序は不明である。実験的疼痛に対する効果としては、カラゲニンラットの足肢に注入し、炎症による疼痛に対する低出力レーザーの効果を調べているものがある¹⁾。これによれば、レーザー照射は、インドメサシン4mg/kgに匹敵する疼痛抑制効果を持つとしこの作用機序としては、局所の炎症反応に起因する発痛物質の産生過程やその作用過程を阻害する可能性をあげている。これに対して、山本⁶⁾らは、ラットにおける経穴レーザー照射の鎮痛作用がnaloxoneにより拮抗されることから、低出力レーザー照射による鎮痛効果にオピオイド作動性神経が関与している可能性を示唆している。同時に、tail flick testを抑制しないこと、副腎摘出により、針鎮痛と同様に増強され、モルヒネ鎮痛とは異なること、Dexamethasone投与により針鎮痛は抑制されるが、レーザー鎮痛は抑制されないことにより、レーザー鎮痛はモルヒネや針鎮痛とは異なっているを述べている。

今回の我々の結果から、臨床的に報告されている低出力レーザーの鎮痛効果は、少なくとも部分的には脊髄後角ニューロンに対する抑制によって説明できることが示されたと考える。

〔まとめ〕

- 1.ホルマリン注入は、ラットの脊髄後角ニューロンに2相性、持続性の発火を起こす。このホルマリン反応に対する低出力レーザーの効果を調べた。
- 2.後角ニューロンのホルマリン反応は、低出力レーザーの前照射により有意に抑制された。
- 3.抑制の機序としては、いわゆる内因性鎮痛機構の介在が考えられる。

4.臨床的に言われるレーザー鎮痛は、部分的には脊髄後角ニューロンに対する抑制によって説明できると思われる。

〔参考文献〕

- 1)柳瀬昌弘, 本村明江, 坂巻玲子, 他: カラニゲン炎症における低出力半導体レーザーの鎮痛効果。ペインクリニック 8:39-42,1987
- 2) D.G.Greathouse,D.P.Currier,R.L.Gilmore:Effects of clinical infrared laser on superficial radial nerve conduction:Phycal. Therapy 65(8):1184-1187,1985
- 3) J.Walker:Relief from chronic pain by low power laser irradiation:Neuroscience Letter 43:339-344, 1983
- 4) 山本博之, 尾崎昌宣, 他: ラットにおける経穴レーザー照射の鎮痛効果: ペインクリニック 8 (1):43-48, 1987
- 5) Anderson,C.W.,and M.R.Cushman:A simple and rapid method for making carbon fiber microelectrodes. J.Neurosci. Methods 4:435-436,1981
- 6) D.Dubinsson:The formalin test:A quantitative study of the analgesic effects of morphine,meperidine and brain stem stimulation in rats and cats Pain 4:164-174,1977
- 7) Meenaks Alreja,Pradeep Mutalik:The formalin test:A tonic pain model in the primate:Pain 20:97-105, 1984
- 8) A.H.Dickenson:Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rat:differential response to and intrathecal opiate administration pre or post formalin:Pain 30:349-360,1987
- 9) Snyder-Mackler L:The effect of helium-neon laser on latency of sensory nerve Phys. Ther. 65:737,1985
- 10) J.B.Walker:Laser-induced somatosensory evoked potentials:evidence of photosensitivity in peripheral nerve:Brain Reserch 344:281-285,1985
- 11) Walker,J.B.:Can photochemical reactions alter neuronal activity in humans ? Soc. Neurosci. Abstr. 14:866,1984