Original Article

Changes in skin blood flow and current perception threshold during pain / numbness sensation evoked by ischemia-reperfusion in human subjects

Satoko Hayashi, Kaoru Okada, and Kenji Kawakita

Department of Physiology, Meiji University of Integrative Medicine

[Received 2 November 2009, Accepted 15 December 2009]

Abstract

To investigate underlying mechanism of subjective pain / numbness sensation following ischemia-reperfusion of upper arm, we examined the changes in skin blood flow (SBF) and current perception threshold (CPT). Eighteen healthy volunteers with informed consents were used. A 140 mm wide tourniquet cuff was inflated to 200 mmHg and maintained for 15 min at non-dominant upper arm. SBF was measured by Laser Doppler flow meter before, during and after ischemia at the index finger. Magnitude of the evoked pain / numbness sensation after ischemia-reperfusion was recorded by VAS with an electric device continuously. CPT was measured by 5, 250, 2000 Hz of sine-waves randomly applied to the index finger. SBF was increased immediately after reperfusion in all the subjects. Pain / numbness sensation was also evoked after reperfusion in all subjects. But baseline SBF, increased SBF and magnitude of subjective sensation after reperfusion were different among individuals. Correlation between changes of SBF and magnitude of subjective sensation measured by VAS did not show statistical significance. After ischemia-reperfusion, significant increases of CPT were observed in 250 and 2000 Hz (baseline vs. after reperfusion, $p < 0.01$). The sine-wave stimulation of 5, 250 and 2000 Hz were assumed to activate C, A-delta and A-beta fibers, respectively. The production of pain / numbness sensation was accompanied with the significant increases of CPT at 250 and 2000 Hz after reperfusion. These results suggest the participation of A fibers in the production of pain / numbness sensation evoked by ischemia-reperfusion.

Key words: Pain / numbness; Ischemia reperfusion; Skin blood flow;
Current perception threshold

PAIN RESEARCH 25 (2010) 45–53

虚血再灌流によるしびれ感覚誘発時の皮膚血流の変化および電流知覚閾値への影響

林 聖子 / 岡田 薫 / 川喜田 健司

明治国際医療大学 生理学教室

はじめに

しびれ感覚は疼痛とともに臨床でよく遭遇する症状のひとつである。しびれ感覚は、日本語特有の概念で医学的に定義されたものではなく非常に曖昧で、その症状はビリビリ、チクチクなどの自発的に生じる異常感覚や感覚消失、感覚鈍麻、運動障害など多様である¹¹⁾。

このような訴えの原因となる疾患には、絞扼性神経障害や閉塞性動脈硬化症などの末梢性疾患、脳梗塞や脊髄損傷、多発性硬化症などの中枢性疾患、過換気症候群やうつ病などの心因性の疾患などがある²⁰⁾。一方、しびれ感覚の発生機序に関しては、虚血時間の長さに応じて神経線維が機能低下をきたす血流障害説をはじめとして、末梢神経の軸索から自発的に神経興奮が発生する異所性発火説、末梢神経の障害を受けた部分で触覚を伝達する神経線維が痛覚を伝達する神経線維に短絡を起こすエファプス伝達説など諸説が提唱されている^{9,14,20,23)}。

これまで用いられてきたしびれ感覚の実験モデルには、ヒトあるいは動物において、虚血再灌流によって異常感覚を生じさせることによる一時的な末梢神経障害モデルや末梢血行障害モデルがある。虚血の方法は、ヒトでは血圧測定用マンシェットを用いて上肢を圧迫するものが多く、加圧の程度は報告によりさまざまである^{1,2,15,19,21,22)}。動物では後肢の血管を結紮するモデル^{5,17)}、後肢や尾をマンシェットなどで加圧するモデル^{6,7,10,16)}、糖尿病モデル¹²⁾を使った報告などがみられる。これらの報告は、痛覚過敏やアロディニアなど神経障害性疼痛における症状やその機序について調べたものが多い、生じる感覚と血流との関連を検討したものはない。

そこで、血流障害の観点から虚血再灌流によって生じるしびれ感覚の強さと、変化する皮膚血流とのあいだに関連性があるかどうかを検討した。また、虚血再灌流によって生じたしびれ感覚には、求心性神経線維の異常興奮が関与するとの報告があることから²¹⁾、選択的に神経線維の機能の評価を行うことができる正弦波刺激装置を用い、電流知覚閾値を測定することによって、しびれ感覚発現に関与している可能性のある求心性線維についての検討も合わせて行った。

方 法

1. 対象

本実験の内容について口頭で説明し文書による同意の得られた健康成人18名を対象とし、そのうち10名(男性4名、女性6名、平均年齢 32 ± 9 歳)でしびれ感覚と皮膚血流量の測定を行い、8名(男性6名、女性2名、平均年齢 26 ± 4 歳)で虚血再灌流前後の電流知覚閾値を測定した。本実験は明治国際医療大学研究倫理委員会の承認を得て行った(19-53)。

2. 虚血再灌流

安静座位にて非利き手の上腕部で、上腕骨内側上顆の直上に血圧測定用マンシェット(幅14 cm)の下端がくるように装着した。加圧条件は、予備実験でしびれ感覚に再現性のあった200 mmHg、15分間とし、その後再灌流を行った。室温は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ に設定した。

3. しびれ感覚の評価

再灌流後に生じたしびれ感覚について、自覚

的強度および持続時間を評価した。その評価は Visual Analogue Scale (VAS) を連続的に測定することにより行った。左端 0 mm を「しびれ感覚無し」、右端 100 mm を「想像する最大のしびれ感覚」としたスライド型ポテンションメータ (10 k Ω) を用い、再灌流直後からしびれ感覚の強さに応じてスケールを動かしてもらった。スケールからの出力はオシロスコープ (Memory Oscilloscope, VC-11, NIHON KOHDEN, Japan) 上でモニターし、ペンレコーダ (Omniace, RT3303, NEC, Japan) で記録した。

4. 皮膚血流の測定

皮膚血流 (Skin Blood Flow: SBF) は虚血を行う非利き手の第 2 指指尖にプローブをつけ、Laser Doppler flow meter (FLO-C1, Omega Wave Co. Ltd) で測定した。虚血前 10 分間を baseline とし、虚血中 15 分間、再灌流後はしびれ感覚が消失するまで連続的に記録した。baseline を 100 % とし、1 分毎に換算した。

皮膚血流の虚血前後での変化と、しびれ感覚の強さとの関連性を検討するために、以下の相関関係を調べた。

- (1) SBF の baseline と VAS のピーク値
- (2) 再灌流後のピーク時 SBF と VAS のピーク値
- (3) baseline と再灌流後ピーク時 SBF との変化率と VAS のピーク値
- (4) 再灌流直後に SBF の上昇する傾き (slope 1) と VAS の上昇する傾き (slope 1')
- (5) 再灌流後ピークから SBF の減少する傾き (slope 2) と VAS の減少する傾き (slope 2')

5. 電流知覚閾値の測定

虚血を行う非利き手側の第 2 指遠位指節間関

節部分に、刺激電極をつけた。刺激電極は 20 × 25 mm のゼリー付表面電極 (Blue Sensor NF-00-S, Ambu, ϕ lstykke, Denmark) を用いた。正弦波通電刺激は、周波数を漸増させランダムに出力が可能な正弦波刺激装置 (Geosense Inc., Japan) を用い、AMP (AMP10X, Geosense Inc., Japan), Isolator (BSI-950, DAGAN CORPORATION, U.S.A.), 緊急遮断装置 (SWB-001, Geosense Inc., Japan) を介して出力させた。コンピュータプログラムにて 5 Hz, 250 Hz, 2000 Hz 刺激をそれぞれ 20 秒で最大出力 (1 V, 10 mA) になるように設定し、この 3 種類の刺激を 30 秒間隔でランダムに出力させ刺激した。刺激を感じた時点でボタンを押してもらい、その時の値を電流知覚閾値 (Current Perception Threshold: CPT) とし、AD コンバータ (ADCB 002-2, Geosense Inc., Japan) を介し記録した。

CPT は虚血前約 10 分間 (baseline), 虚血中 15 分間、再灌流後しびれ感覚が消失するまで連続的に測定した。なお、正弦波刺激により 5 Hz 刺激では C 線維, 250 Hz 刺激では A δ 線維, 2000 Hz 刺激では A β 線維が選択的に刺激される⁸⁾。

6. 統計解析

結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。解析には Stat View 5.0 (SAS Institute Japan Inc., Osaka, Japan) を用いた。しびれ感覚と皮膚血流の変化との関係は Pearson's correlation coefficient を、それぞれの周波数における CPT は一元配置分散分析と post hoc の多重比較として Bonferroni/Dunn test を用いた。Non parametric test として Mann-Whitney test を用いた。 $p < 0.05$ を有意とした。

Fig.1 A typical example of SBF response and VAS induced by ischemia-reperfusion. (A) SBF (B) VAS. Measurement of VAS started after reperfusion. A bar indicates duration of ischemia (200 mmHg, 15 min).

Fig.2 Averaged SBF and VAS responses after ischemia-reperfusion. Left vertical axis indicates normalized SBF (%), right vertical axis indicates VAS (mm). SBF (% of mean baseline) showed every one minute.

結 果

Fig.1 は皮膚血流と VAS の典型例を示す。皮膚血流の baseline は 1.4~24.8 ml/min/100 g, 再灌流後のピーク時皮膚血流は 8.8~29.2 ml/min/100 g, VAS のピーク値は 45~90 mm と個人差が大きかった。皮膚血流の値は, baseline の平均を 100%として換算し, 標準化してグラフに示した (**Fig.2**)。皮膚血流は再灌流直後から上

昇するのに対し, VAS は約 1 分遅れて上昇した。また, 皮膚血流は再灌流後に baseline よりも上昇したあと一旦 baseline 以下まで減少し, 徐々に baseline レベルまで回復した。VAS は, 皮膚血流が baseline まで戻ったときに, いずれの被験者もしびれ感覚の消失を示した。しびれ感覚について口頭で聞き取り調査したところ, ピリピリ, ビリビリ, チクチク, ジンジンなどと表現され, これらの感覚は指先から手掌, 前

Table 1 Correlation coefficient between SBF and VAS

SBF	vs	VAS	r	p
baseline	vs	peak	−0.577	0.0820
peak after reperfusion	vs	peak	−0.295	0.4217
peak after/baseline	vs	peak	0.531	0.1178
slope 1	vs	slope 1'	−0.131	0.7268
slope 2	vs	slope 2'	0.059	0.8754

Fig.3 Effect of ischemia–reperfusion on the CPT.

CPT to the randomly changed stimulus (5, 250, 2000 Hz) was measured successively. Clear increases of CPT at 250 Hz and 2000 Hz were observed during and after reperfusion. A bar indicates duration of ischemia (200 mmHg, 15 min).

腕へと徐々に広がった。しびれ感覚はピークに達したあと、VASが減少するに従って手掌へと範囲が狭くなり、最後は指先に収束する傾向がみられた。

皮膚血流としびれ感覚との間の相関関係について検討したところ、皮膚血流のbaselineとVASのピークの値、皮膚血流の変化率 (baseline/再灌流後ピーク時皮膚血流) とVASのピーク値で中程度の相関が認められた。再灌流後のピークの皮膚血流とVASのピーク値、皮膚血流とVASの変化の上昇する傾きおよび減少する傾きでは、相関はほとんど認められなかった。いずれの間においても、有意差はなかった (Table 1)。

Fig.3 は虚血再灌流前後の CPT 変化の典型例を示す。閾値の baseline は 5 Hz 刺激と 250 Hz 刺激がほぼ等しく、2000 Hz 刺激では高かった。5 Hz 刺激では虚血再灌流による影響がほとんどみられなかったが、250 Hz、2000 Hz 刺激では虚血期間の最後からしびれ感覚がピークになる再灌流後 1 分にかけて閾値の上昇がみられた。8 名の測定結果を平均し刺激頻度別で示すと、5 Hz では虚血再灌流の影響はほとんどみられず、閾値の変化は認められなかった。250 Hz では、虚血前と比較して再灌流後の CPT が有意に上昇した。2000 Hz では、虚血中から閾値の上昇傾向がみられ、再灌流後の CPT は有意に上昇した (Fig.4)。

Fig.4 Changes in CPT before, during and after ischemia in different frequency. CPT was not changed at 5 Hz in any period significantly. CPT was significantly increased after reperfusion at 250 and 2000 Hz (vs. baseline). **: $p < 0.01$

考 察

1. しびれ感覚と皮膚血流の変化

虚血再灌流の影響については、ラットの尾の虚血再灌流が数時間持続する痛覚過敏を生じたという報告がある^{6,10,16)}。痛覚過敏が生じた理由として、虚血中に放出された液性メディエータ（水素イオン、キニン、プロスタグランジン、ヒスタミン、5-HT、乳酸等）が侵害受容器を感作し痛覚過敏が誘発された可能性が示唆されている¹⁰⁾。そのほか、サイトカインの増大や一酸化窒素に関連するという報告や⁵⁾、仙髄の c-fos が増大したという報告もあり¹⁶⁾、虚血再灌流による痛覚過敏モデルは内因性のメディエータの侵害性入力によるとされている。虚血再灌流モデルは神経損傷を伴わない複合局所疼痛症候群（CRPS）の type I のモデルとしても提案されており、組織酸素分圧低下が CRPS の臨床症状の要因となる可能性についても指摘されている¹⁷⁾。また、虚血は Na^+/K^+ ポンプを抑制して

膜の脱分極を引き起こし、 Na^+ チャンネルを不活性化することで興奮を妨げ、pH が下がり脱分極したまま Na^+ チャンネルは興奮しなくなる。そして、虚血の解放後起電性 Na^+/K^+ ポンプが回復し過剰に活動することにより、軸索が急に過分極となるのが原因であるとの報告もあり^{3,4)}、虚血再灌流の影響によって生じる痛みやしびれの原因に関する見解は一致していない。

今回、皮膚血流は虚血再灌流直後から上昇したが、しびれ感覚は皮膚血流の上昇から約 1 分遅れて上昇し始めた。そして、皮膚血流がピークになるまでの時間と、しびれ感覚がピークになるまでの時間との間にも約 3 分の較差がみられた。また、皮膚血流の変化としびれ感覚の強さとの関連をいくつかのパラメータを用いて検討したが、両者の間には強い相関が認められなかった。

深部組織における血流がしびれ感覚の発現にどのように影響しているのかは今回測定していないため不明であるが、少なくともしびれ感覚は皮膚血流の直接的な増減の変化によるもので

はなく、痛覚過敏モデル同様、虚血中に放出された何らかのメディエータや神経軸索上の Na^+/K^+ ポンプの過剰興奮などによって、神経性に引き起こされた可能性が高いと考えられた。

2. しびれ感覚と電流知覚閾値

求心性神経線維の興奮性としびれ感覚について検討するために、神経線維選択的に末梢神経機能を評価できるとされる正弦波刺激装置を用い、虚血前から虚血中、再灌流後しびれ感覚が消失するまでの電流知覚閾値(CPT)を測定した。正弦波刺激装置によるCPTの定量測定は、皮膚の厚さや体温などの影響を受けず、神経選択的な電気刺激を用いることによって感覚神経を直接的に興奮させることができ、その電気刺激は感覚受容器には作用しないとされている¹⁸⁾。求心性神経線維は太さ、伝導速度、感覚機能が異なっており、神経線維表面あたりのイオンチャンネル量の違いにより脱分極後の不応期もそれぞれの太さによって異なるため、この違いを利用して個々の神経線維を興奮させることが可能であるとされている⁸⁾。正弦波刺激の選択的興奮性は、ラットを用いた細胞内記録によって脊髄レベルでも明らかにされている¹³⁾。

神経の直接の圧迫は、5 Hz と 250 Hz 刺激では有意なCPTの上昇を引き起こし、C線維、 $\text{A}\delta$ 線維の抑制を示したが、2000 Hz 刺激に対するCPTは有意な上昇を生じず、直接圧迫は $\text{A}\beta$ 線維を抑制しないことが報告されている¹⁹⁾。しかし今回、200 mmHg、15分間の虚血中、 $\text{A}\beta$ 線維を刺激するとされる2000 Hz 刺激でCPTの上昇傾向がみられた。これは、ターニケット虚血(収縮期圧 + 100 mmHg、60秒間上腕挙上)の15分、20分後において250 Hz と 2000 Hz 刺激で有意なCPTの上昇が起こったという報告¹⁾

と同様の結果であった。一般的に、虚血によってATPの合成が妨げられ Ca^{2+} が細胞膜から離れる結果、細胞膜の電気抵抗が低下して活動電位が小さくなり興奮伝導が生じなくなるとされている²⁴⁾。また、神経線維の細胞膜の内圧は外部環境圧よりも低く、外からの圧迫により内外の圧力差が増大する。圧力差によって発生する張力は半径に比例するので、太い神経線維が細い線維よりも強い影響を受け早く障害されるとされている²⁴⁾。これらのことから、今回虚血中に $\text{A}\beta$ 線維を刺激するとされる2000 Hz 刺激によるCPTの上昇傾向がみられたのは、15分間虚血することにより $\text{A}\beta$ 線維の伝導遮断が起こった可能性が考えられた。

再灌流直後はしびれ感覚が生じている状態であり、虚血状態ではないにもかかわらず、250 Hz および 2000 Hz 刺激でCPTが有意に上昇した。Bostock ら⁴⁾は虚血再灌流後の膜の興奮性の変化について以下の仮説を提唱している。虚血時にはATPの供給不足から神経線維の Na^+/K^+ ポンプの働きが阻害され、膜電位は脱分極する。そして、再灌流されるとともに Na^+/K^+ ポンプが回復し、脱分極していた膜電位が次第に正常な静止膜電位に近づく、しかしこれまでのポンプ機能の低下によって細胞外液の K^+ 濃度が高くなっているために、その回復過程である臨界点に達すると突然過分極での安定状態に移移するとされている。そして、膜電位が過分極することにより Na^+/K^+ ポンプの活動が低下して膜電位は正常な静止電位方向へ脱分極する。その過程で再び以前の低 K^+ 濃度時の安定状態に向かって突然脱分極し、このとき群発波が発生すると考えられている。その後は再び正常値に向かって過分極する。このようにして、2つの膜電位安定状態を往復することにより群発波

射が反復することになる。その間に K^+ が血流によって洗い去られ、 K^+ 濃度が下がって脱分極での安定状態がなくなり膜電位が正常化している。

また、マイクロニューログラムの記録では、虚血再灌流後に有髄線維 ($A\beta$ 線維) が興奮し発作性の放電を引き起こし、その放電が異常感覚の一因となること、そして無髄線維 (C 線維) はインパルス発生を引き起こさないということも報告されている²¹⁾。これら神経線維における虚血再灌流後の放電が、しびれ感覚をもたらした可能性は十分考えられる。

今回、 C 線維が興奮するとされる 5 Hz 刺激で、CPT が虚血再灌流による影響を受けなかったことは過去の報告文献と一致した。虚血中ではなく再灌流後に、250 Hz と 2000 Hz 刺激による CPT が上昇した理由として、 $A\delta$ 線維および $A\beta$ 線維の軸索途中で異所性に自発放電が発生することにより、通電刺激によって生じたインパルスがそれぞれの軸索上で衝突 (collision) して消滅するため、中枢へ上がる情報量が減少し CPT が上昇した可能性が考えられた。

以上のことから、しびれ感覚に関与する主な神経線維は有髄線維であると考えられた。しかし、虚血再灌流後の $A\delta$ 線維の自発放電発生についてはまだ報告がないことから、今後さらに検討が必要である。

結 語

1. しびれ感覚の発現およびその強さには、皮膚血流の直接的な増減の変化ではなく、虚血中に放出された何らかのメディエータなど別の要因の関与が考えられた。
2. 再灌流後の正弦波刺激において、250 Hz,

2000 Hz で CPT の上昇がみられたことから、しびれ感覚には有髄線維の関与が示唆された。

文 献

- 1) Baron, G.C., Irving, G.A., Effects of tourniquet ischemia on current perception thresholds in healthy volunteers, *Pain Practice*, 2 (2002) 129-133.
- 2) Bostock, H., Burke, D., Hales, J.P., Differences in behaviour of sensory and motor axons following release of ischaemia, *Brain*, 117 (1994) 225-234.
- 3) Bostock, H., Cikurel, K., Burke, D., Threshold tracking techniques in the study of human peripheral nerve, *Muscle Nerve*, 21 (1998) 137-158.
- 4) Bostock, H., Baker, M., Reid, G., Changes in excitability of human motor axons underlying post-ischaemic fasciculations: evidence for two stable states, *J. Physiol.*, 441 (1991) 537-557.
- 5) Coban, Y.K., Ciralik, H., Kurutas, E.B., Ischemic preconditioning reduces the severity of ischemia-reperfusion injury of peripheral nerve in rats, *J. Brachial Plex. Peripher. Nerve Inj.*, 1 (2006) 1-5.
- 6) Coderre, T.J., Xanthos, D.N., Francis, L., Bennett, G.J., Chronic post-ischemia pain (CPIP): a novel animal model of complex regional pain syndrome-Type I (CRPS-I; reflex sympathetic dystrophy) produced by prolonged hindpaw ischemia and reperfusion in the rat, *Pain*, 112 (2004) 94-105.
- 7) Crews, J.C., Cahall, M.A., An investigation of the neurophysiologic mechanisms of tourniquet-related pain: changes in spontaneous activity and receptive field size in spinal dorsal horn neurons, *Reg. Anesth. Pain Med.*, 24 (1999) 102-109.
- 8) Fukuuchi, A., CPT (current perception threshold), *Pain Clinic*, 24 (2003) 354-360.
- 9) Futami T., Clinical consideration of numbness, *Pain Clinic*, 22 (2001) 1245-1250.
- 10) Gelgor, L., Phillips, S., Mitchell, D., Hyperalgesia following ischaemia of the rat's tail, *Pain*, 24 (1986) 251-257.
- 11) 石島武一, さまざまなしびれの原因, 治療, 78 (1996) 3294-3296.
- 12) Khan, G.M., Chen, S.R., Pan, H.L., Role of primary afferent nerves in allodynia caused by diabetic neuropathy in rats, *Neuroscience*, 114 (2002) 291-299.
- 13) Koga, K., Furue, H., Rashid, H., Takaki, A., Katafuchi, T., Yoshimura, M., Selective activation of primary afferent fibers evaluated by sine-wave electrical stimulation, *Mol. Pain*, 1 (2005) 1-11.

- 14) 國本雅也, しびれ, 痛みを感じるメカニズム, *medicina*, 41 (2004) 1261-1263.
- 15) Lin, C.S.Y., Kuwabara, S., Smith, C.C., Burke, D., Responses of human sensory and motor axons to the release of ischaemia and to hyperpolarizing currents, *J. Physiol.*, 541 (2002) 1025-1039.
- 16) Lin, Y., Mather, L.E., Power, I., Cousins, M.J., The effect of diclofenac on the expression of spinal cord c-fos-like immunoreactivity after ischemia-reperfusion-induced acute hyperalgesia in the rat tail, *Anesth. Analg.*, 90 (2000) 1141-1145.
- 17) Ludwig, J., Gorodetskaya, N., Schattschneider, J., Jänig, W., Baron, R., Behavioral and sensory changes after direct ischemia-reperfusion injury in rats, *Eur. J. Pain*, 11 (2007) 677-684.
- 18) 宮崎東洋, Neurometer®を用いた知覚神経機能検査: 神経選択的電流閾値と疼痛耐性閾値, *医科器械学*, 68 (1998) 573-577.
- 19) Morell, R.C., Prielipp, R.C., Harwood, T.N., James, R.L., Butterworth, J.F., Men are more susceptible than women to direct pressure on unmyelinated ulnar nerve fibers, *Anesth. Analg.*, 97 (2003) 1183-1188.
- 20) Morimoto M., Morimoto M., Causes and treatments for numbness, *Osaka. J. Clin. Acu. Mox*, 19 (2003) 141-149.
- 21) Ochoa, J.L., Torebjörk, H.E., Paraesthesiae from ectopic impulse generation in human sensory nerves, *Brain*, 103 (1980) 835-853.
- 22) Oshima, M., Yokoyama, K., Naiki, R., Shimada, Y., Inagi, T., Akabane, H., Sugimoto, K., Ogawa, R., The effects of tourniquet on function of myelinated and unmyelinated nerve fibers, *Pain Clinic*, 23 (2002) 1401-1404.
- 23) 橘滋国, しびれの発生機序, 治療, 83 (2001) 1959-1963.
- 24) 横田敏勝, 臨床医のための痛みのメカニズム (改訂第2版), 南江堂, 東京 (1997) 187-190.