

# 鍼回旋刺激および輻射熱刺激による後外側腹側核の 侵害受容性ニューロンの活動の抑制 —鍼鎮痛における上行性痛覚抑制系の関与の可能性—

小笠原 千絵\*, 谷口 博志, 新原 寿志, 日野 ころろ, 角谷 英治

明治国際医療大学基礎鍼灸学教室

**要 旨** 【目的】近年, 中脳水道周囲灰白質 (PAG) の電気刺激により, 痛覚の視床中継核の侵害受容性反応が抑制される上行性痛覚抑制系の存在が報告されている. 本研究では, ラットを用い鍼灸刺激で生じる痛覚抑制における上行性痛覚抑制系の関与の可能性を検討した. 【方法】ウレタン麻酔SD系ラットを用いて (n = 30), 痛覚中継核のひとつである後外側腹側核 (VPL) の侵害受容ニューロンから, 第12胸髄の外側脊髄視床路 (LSTT) を電気刺激した際の誘発電位を記録し, 体の種々の部位に鍼回旋刺激 (鍼刺激) または点火した線香による棒灸様の輻射熱刺激 (間接灸様刺激) を行った際の出現状況を観察した. さらに, PAG/NRD にリドカイン (1%, 0.5 $\mu$ l; PAGブロック群) または生理食塩水 (対照群) を微量注入して, 同様に誘発電位の出現状況を観察した. 【結果】LSTTの電気刺激によるVPL侵害受容ニューロンの誘発電位は, 受容野以外の部位に行った鍼回旋刺激または輻射熱刺激により抑制され, 抗侵害受容効果が観察された (n = 18). PAGブロック群では, 鍼または輻射熱刺激による抗侵害受容効果が消失したが (n = 5), 対照群では消失しなかった (n = 5). 【考察】以上の結果から, 鍼灸刺激で生じる痛覚抑制効果において, PAG/NRDを介した視床で痛覚の入力を制御する上行性痛覚抑制系の関与の可能性が示唆された.

**Key words** 鍼鎮痛 acupuncture analgesia, 輻射熱刺激 radiant heat stimulation, 上行性痛覚抑制系 ascending inhibitory pathway, 後外側腹側核 ventral posterolateral nucleus, 中脳水道周囲灰白質 periaqueductal gray matter

Received October 31, 2012; Accepted December 27, 2012

## 1. はじめに

生体内には様々な内因性痛覚抑制機構が存在することが知られている. 鍼灸治療の主な効果のひとつである鎮痛効果においても, これら様々な内因性痛覚抑制機構を賦活させて鎮痛効果を発現させるとされており, 特に下行性痛覚抑制系 (descending pain inhibitory system) や広汎性侵害抑制調節 (diffuse noxious inhibitory controls : DNIC) の賦活を中心として鎮痛効果が生じるものと考えられている<sup>1)</sup>.

Melzack と Wall が 1965 年にゲートコントロール説を提唱し<sup>2)</sup>, その後, Reynolds がラットにおいて, 中脳水道周囲灰白質 (periaqueductal gray matter : PAG) 背外側部の電気刺激により, 麻酔薬を用いずに開腹手術に成功したことを報告し<sup>3)</sup>, Mayer らが, PAG の電気刺激によって, 痛覚以外の感覚, 注意力, 情動反応あるいは運動を消失させることなく侵害受容反応の選択的抑制が得られることを報告した<sup>4)</sup>. さらにヒトにおいても PAG を電気刺激すると鎮痛が得られることが多数報告されている<sup>5-7)</sup>. Basbaum らは PAG を電気刺激した際に得られる鎮痛効果やモルヒネの腹腔内投与による鎮痛効果が, 脊髄背外側索 (dorsolateral funiculus : DLF) を破壊すると減弱あるいは消失することから, 下行性痛覚抑制系の

\*連絡先 : 〒 629-0392 京都府南丹市日吉町保野田ヒノ谷 6-1  
明治国際医療大学基礎鍼灸学教室  
Tel: 0771-72-1181  
E-mail: c\_ogasawara@meiji-u.ac.jp

存在を示唆した<sup>8)</sup>。下行性痛覚抑制系は、侵害刺激によって興奮した脳の中枢からの経路が下行して、顔面部からの痛覚入力には延髄の三叉神経脊髄路核尾側亜核で、体幹部・四肢からの痛覚入力には脊髄後角で、一次ニューロンから二次ニューロンへの伝達の部分で抑制されるというもので、PAGの腹側部から腹外側部および、背側縫線核 (nucleus raphe dorsalis : NRD)が中心的な役割を果たすと考えられている<sup>9,10)</sup>。

このような内因性痛覚抑制機構のひとつとして、近年 Horieらは、ネコの PAG 腹側部あるいはNRDを電気刺激すると、視床の痛覚中継核のひとつである後外側腹側核 (ventral posterolateral nucleus : VPL)の被殻領域の特異的侵害受容 (nociceptive specific : NS) ニューロンおよび広作動域 (wide dynamic range : WDR) ニューロンの下心臓神経の電気刺激に対する反応が抑制されることを見出し、PAG/NRD から視床への上行性痛覚抑制系の存在を示唆している<sup>11)</sup>。鍼灸刺激によって生じる鎮痛効果にも、この上行性痛覚抑制系が関与している可能性が考えられるが、このことを検討した研究はない。そこで本研究では、VPL 侵害受容ニューロンの反応特性を調べるとともに、痛覚の求心路の一部である外側脊髄視床路 (lateral spinothalamic tract : LSTT) の電気刺激を行った際に VPL で記録した誘発電位が、鍼回旋刺激または輻射熱刺激 (棒灸様刺激) によりどのように影響を受けるかを観察し、鍼灸刺激で生じる痛覚抑制効果における上行性痛覚抑制系の関与の可能性を検討した。

## II. 方法

### 1. 実験動物

本研究は、明治国際医療大学動物実験委員会の承認を受け (承認番号 22-19) 委員会の規定に従い行った。実験には雄性 Sprague-Dawley ラット 30 匹 (体重 320~500g) を用いた。実験動物は一定の室温 (25 ± 1°C) 12 時間明暗サイクル (7 時点灯, 19 時消灯) にて飼育し、自由飲食および飲水とした。

### 2. 動物の固定および開頭手術

ラットはイソフルラン (3ml) にて導入麻酔を行った後、ウレタン麻酔下 (1.2g/kg, 腹腔内投与) で、気管カニューレを装着し、左総頸静脈に薬物注入用のカテーテルを挿入した。右頸動脈には血圧測定用のカテーテルを挿入し、血圧と瞬時心拍数をポリグラフ (AP-641G, AT-601G, 日本光電, 東京) で測定した。以上の手術が終了した後、動物を脳定位固定装置 (ST-7, 成茂, 東京) に固定し、頭部皮膚を

切開、頭蓋骨を露出し、歯科用ドリルを用いて頭頂骨および後頭骨の一部を取り除いた。次いで、脳硬膜を切開し、脳クモ膜および脳軟膜を除去した後、パラフィンオイルを注いで、乾燥を防いだ。さらに、後頸部の筋肉を正中から尾側にかけて 1cm 程度、止血鉗子でクランプし、正中切開して後頭骨から筋肉を剥離した後、環椎後頭間膜を 20 ゲージの注射針で穿刺し、脳脊髄液を流出させ脳浮腫を防いだ。カニューレが完了した後、瞬目反射がみられない状態までウレタンを追加し、静脈カテーテルより筋弛緩薬 (臭化バンクロニウム, 0.08mg/kg) を投与し、足底部に有鉤ピンセットでピンチ刺激を加えた際に屈曲反射が観察されないことを確認し、動物を非動化し、人工呼吸器 (MODEL : SN-480-, シナノ製作所, 東京) と接続し、呼吸を一定に保った (10ml air/kg × 90cycle/min)。また、体温の下降を防ぐために、加温パット (MK-900 室町機械, 東京) を使用し、直腸温を約 37 ± 0.5°C に保った。なお、実験を通してウレタン (0.093g/h) と筋弛緩薬 (0.07g/h) の混合液を静脈内にインフュージョンポンプ (KDS-210, ニューロサイエンス, 東京) を用いて持続投与した。

### 3. 単一ニューロン活動の導出および記録

VPL の単一ニューロンの細胞外記録には Pontamine Sky Blue (2%, 0.5M 酢酸ナトリウム) を充填したガラス管微小電極 (成茂, 直径 1.5mm, インピーダンス 9~11MΩ) を用いた。電極は油圧式マイクロマニピュレータ (PC-5N, 成茂, 東京) に装着し、パルスモーターで 10μm ずつ挿入した。刺入部位は、ラットの脳地図<sup>12)</sup> を参考に、プレグマ (冠状縫合と人字縫合との交点) の尾側 2.1~4.1mm, 右外側 2.0~3.8mm で、深さは脳の表面から 4,000~6,000μm とした。ニューロン活動は前置増幅器 (DAM-80, WPI, USA) で増幅し、オシロスコープ (VC-11, 日本光電, 東京) でモニタし、データレコーダ (XR-30, TEAC, 東京) とサーマルアレイレコーダ (AD-100F, 日本光電, 東京), AD コンバータ (Micro1401-3, バイオリサーチセンター, 東京) に記録するとともに、スパイクカウンタ (DSE-325P, ダイアメディカル, 東京) で発火頻度をモニタした。

単一ニューロンは、自発発火および機械刺激 (触圧, ピンチ刺激) による探査刺激を指標に導出した。導出後、スパイクカウンタで 1 分間の自発発火数が安定しているのを確認してから、体性刺激を行いニューロンの受容野および反応特性を調べた。各体性刺激は、先端を丸めた木製の棒による触刺激、圧刺激、有鉤ピンセットによるピンチ刺激 (侵害性機

械刺激)を行った。それぞれの刺激時間は5秒間とし、スパイクカウンタの数値を指標に、自発発火頻度が刺激開始前の頻度に概ね戻ったのを確認した後、次の刺激を行った。導出した単一ニューロンは非侵害性の触・圧刺激のみに反応を示す低閾値機械受容 (Low threshold mechanoreceptive: LTM) ニューロン、非侵害性の触・圧刺激および、侵害性のピンチ刺激に反応を示すWDRニューロン、侵害性のピンチ刺激に対してのみ反応を示すNSニューロンの3種類に分類した。

#### 4. 鍼および輻射熱刺激

単一神経活動を導出した後、受容野が同定できたVPLニューロンに対し、鍼刺激および輻射熱刺激を行った。鍼刺激は、ステンレス製ディスポーザブル鍼 (鍼体長30mm, 直径0.3mm, セイリン社, 静岡) を同定した受容野へ10mm刺入し (顔面部, 尾の場合は5mm), 1秒間で右回転に約180度回転させるマニュアル回旋刺激を5秒間行った。灸刺激は、米粒大の透熱灸 (2mg) を受容野へ行った。また点火した線香を皮膚に近づける棒灸様の輻射熱刺激 (間接灸様刺激, 皮膚との距離: 約3mm, 約47°C) を受容野へ5秒間行った。

誘発電位記録中の鍼刺激には、ステンレス製ディスポーザブル鍼 (鍼体長30mm, 直径0.3mm, セイリン社, 静岡) を用い、受容野を含む体の種々の部位へマニュアル回旋刺激を15秒間行った。回旋刺激は、鍼を10mm刺入後 (顔面部, 尾の場合は5mm), 約30秒間そのままの状態に放置しておいて、VPL誘発電位の出現を確認してから、1秒間で右に180度回転させるスピードで10回転させ、鍼が戻らないように維持した (合計15秒間)。また、輻射熱刺激も同様に、点火した線香を皮膚に15秒間近づけることで行い (棒灸様刺激, 皮膚との距離: 約3mm, 約47°C), 同一侵害受容ニューロンにおいて、鍼回旋刺激と輻射熱刺激のそれぞれの刺激を行った際の影響を検討した。

#### 5. VPL侵害受容ニューロンにおけるLSTTへの電気刺激による誘発電位の記録

VPLの侵害受容ニューロン (WDRニューロンおよびNSニューロン) において、LSTTを電気刺激した際の誘発電位を記録した。第12胸髄 (Th12) の直上の皮膚を切開し傍脊柱筋などを切除し脊椎を露出させた後、Th12の椎骨を取り除いた。Th11およびTh13の椎骨を脊髄固定装置 (成茂, 東京) で固定し、脊髄が呼吸等で動かないように固定した。ついで、脊髄硬膜を切開し、脊髄クモ膜および脊髄

軟膜を除去したのち、乾燥を防ぐためにパラフィンオイルを注いだ。ステンレス製刺激電極 (絶縁針: 直径0.18mm) を油圧式マイクロマニピュレータ (PF5-1, 成茂, 東京) に装着し、パルスモーターで5 $\mu$ mずつ刺入した。右LSTTへの刺入部位はラットの脳地図中の脊髄断面図を参考に、右外側1.1~1.3mm, 深さ400~500 $\mu$ mとした。次に受容野の局在を検討した実験結果に基づいて、腰部より尾側に受容野を有するVPL侵害受容ニューロンを、挿入したガラス管微小電極にて導出した。自発発火頻度が誘発電位と区別可能な、1秒あたり10発未満のニューロンにおいて、LSTTをDuration 200 $\mu$ secの矩形波を用いて3秒おきに電気刺激し、誘発電位が記録できるものを対象とした。電気刺激強度は、他の研究と同様に<sup>14,15)</sup>、3秒ごとのLSTT刺激による誘発電位が安定して出現する強度とした (閾値の1.5倍)。誘発電位の記録は鍼または輻射熱刺激前5回、鍼または輻射熱刺激中5回、鍼または輻射熱刺激後5回の計15回行い、鍼または輻射熱刺激中あるいは鍼または輻射熱刺激後に、誘発電位の出現が5回中2回以下になったものを抑制とした。一部のラットではガラス管微小電極を用いて、右LSTTニューロンの体性機械刺激に対する反応特性を確認した (n = 2, 2匹)。

#### 6. PAG/NRDへの局所麻酔薬注入

腹側PAG/NRDが鍼回旋刺激および輻射熱刺激による上行性痛覚抑制系に関与しているかを調べるために、鍼回旋刺激または輻射熱刺激を行った際に、LSTTの電気刺激によりVPL誘発電位が抑制したニューロンのうちの5例 (5匹) において、腹側PAG/NRDの局所麻酔薬によるブロックを行った。局所麻酔薬のリドカイン (1%, 0.5 $\mu$ l, アストラゼネカ) の注入には、脳マイクロダイアリシス用のマイクロインジェクションカニューレ (AMI-X, エイコム, 京都) を用いた。ガイドカニューレ (AG-70, エイコム, 京都) を固定装置用マイクロマニピュレータ (SM-25A, 成茂, 東京) に装着、固定した後、脳地図に従いプレグマから尾側へ7.6mm, 右外側2.2~2.4mmの位置に、上矢状静脈洞を傷つけないように、脳表面からの垂直軸に対し20度の角度で深さ5,000~5,500 $\mu$ mまで挿入した。その後、マイクロシリンジ (10 $\mu$ l, ハミルトン, USA) と結合させたマイクロインジェクションカニューレにリドカインを充填し、マイクロシリンジポンプ (IC-3100, アズワン, 大阪) を用い、0.1 $\mu$ l/分の速度で0.5 $\mu$ l微量注入した。注入終了直後と1時間後に、注入前と同様にLSTTの電気刺激によるVPL誘発電位に対



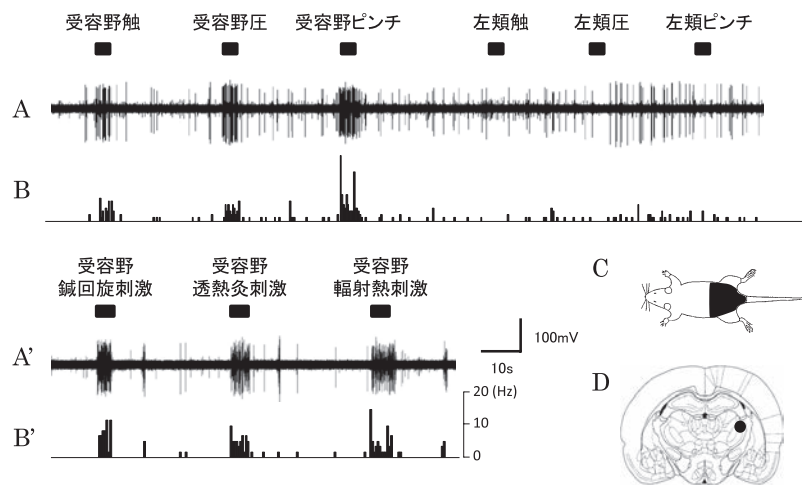


図1 VPLのWDRニューロン反応例

Aは受容野の触刺激, 受容野の圧刺激, 受容野のピンチ刺激, 受容野ではない左頬の触刺激, 左頬圧刺激, 左頬ピンチ刺激を行った際のニューロン活動を示し, A'はAに続いて受容野の鉍回旋刺激, 受容野の透熱灸刺激, 受容野の輻射熱刺激を行った際のニューロン活動を示す. B, B'はA, A'の1秒ごとのスパイク数のヒストグラムを示す. Cは記録ニューロンの受容野(体幹部)を示す(黒の塗りつぶし部分). Dはニューロンの記録部位(VPL)を示す(●印). 受容野の体幹部への触刺激, 圧刺激, ピンチ刺激, 鉍回旋刺激, 透熱灸刺激, 輻射熱刺激ではいずれに対しても興奮性の反応を示した. 受容野ではない顔面部では触刺激, 圧刺激, ピンチ刺激のいずれにも反応しなかった.

して, 同じ部位に鉍回旋刺激または輻射熱刺激を行った(PAGブロック群). また, 別の5例(5匹)では, 同様の条件下でコントロールとして腹側PAG/NRDへ生理食塩水を注入して, 鉍回旋刺激または輻射熱刺激を行った(対照群).

## 7. 脳内記録部位の組織学的同定

主要なニューロンの記録部位は, Pontamine Sky Blueの電気泳動により(2mA, DC, -, 30分), 脊髄の刺激部位は通電により(100 $\mu$ A, DC, -, 1分)マーキングを行った. 実験終了後, 10%ホルマリンを用いて経心臓的に灌流固定し, 脳を摘出して, ホルマリン中に24時間留置した. 脳と脊髄の切片標本は, マイクロスライサー(DTK-100, 堂坂EM, 京都)を用いて50~100 $\mu$ mの厚さで作製し, Cresyl violetでニッスル染色を行い, 記録部位および刺激部位を組織学的に同定した. マーキングを行わなかった記録部位はマイクロマニピュレータのドライブ表示に基づき, マーク部位との相対関係から算出した. また, PAG/NRDの微量注入部位はマイクロインジェクションカニューレの刺入痕から確認した.

## 8. 統計解析

鉍回旋刺激前と鉍回旋刺激中と鉍回旋刺激後および, 輻射熱刺激前と輻射熱刺激中と輻射熱刺激後の比較には, 一元配置分散分析を行った後, Bonferroniの多重比較検定を行った. 有意水準は5%

とした. データはすべて平均 $\pm$ 標準偏差で表した. 統計解析には統計解析用ソフト(GraphPad Prism 5J, GraphPad Software社, USA)を用いた.

## III. 結果

### 1. VPLニューロンの機械的刺激に対する反応性と受容野の局在

今回, VPL内で合計106例の単一ニューロン活動を記録することができた. 106例のニューロンはすべて自発発火を有しており, 自発発火がなく探査刺激により導出したニューロンはなかった. また, 自発発火の量で反応性に違いはみられなかった. 記録したニューロンは, 体性刺激に対して86例が興奮し, 20例は反応せず, 抑制したものはみられなかった. これらのニューロンは, 強度の異なる機械刺激に対する反応性から, LTMニューロン(n=20), WDRニューロン(図1:n=57)および, NSニューロン(図2:n=9)に分類することができた. WDRニューロンおよびNSニューロンは, 鉍回旋刺激, 輻射熱刺激, 灸刺激に対しても興奮性の反応を示した(図1, 2). 鉍刺激に対しては, 回旋刺激時以外に刺入操作時および抜鉍操作時に興奮反応を示した例もみられたが, 刺入操作終了後, 置鉍状態の時に興奮反応を示した例は観察できなかった. なお, これらのLTM, WDR, NSニューロンの体性刺激に対する反応は, 刺激期間中のみ発火が増え,

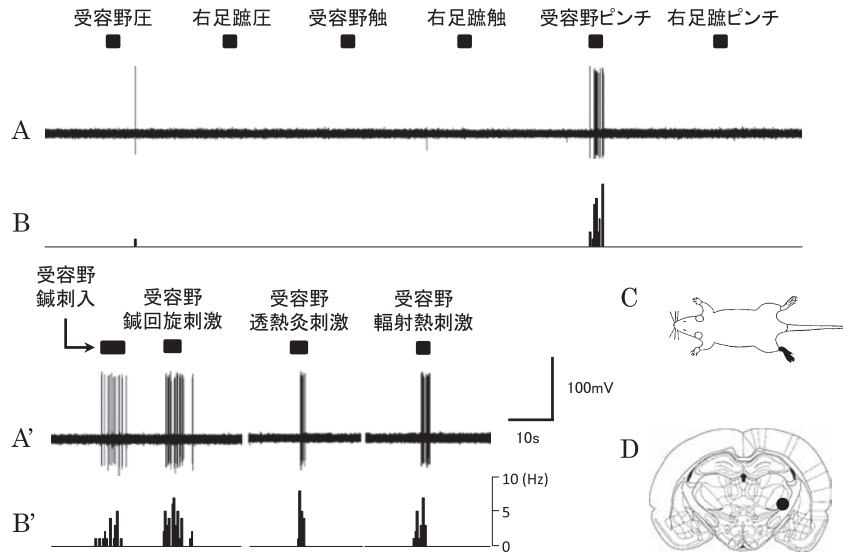


図2 VPLのNSニューロン反応例

Aは受容野の圧刺激，受容野ではない右足蹠の圧刺激，受容野の触刺激，右足蹠触刺激，受容野のピンチ刺激，右足蹠のピンチ刺激を行った際のニューロン活動を示し，A'はAに続いて受容野の鍼刺入，受容野の鍼回旋刺激，受容野の透熱灸刺激，受容野の輻射熱刺激を行った際のニューロン活動を示す．B，B'はA，A'の1秒ごとのスパイク数のヒストグラムを示す．Cは記録ニューロンの受容野（左下肢）を示す（黒の塗りつぶし部分）．Dはニューロンの記録部位（VPL）を示す（●印）．受容野の左足蹠への触刺激，圧刺激では反応しなかったが，ピンチ刺激，鍼回旋刺激，透熱灸刺激，輻射熱刺激の侵害刺激に対しても興奮性の反応を示した．受容野ではない右足蹠では触刺激，圧刺激，ピンチ刺激のいずれにも反応しなかった．

後効果が長く続くものはなかった．

VPLの記録ニューロンの受容野の局在性をみてみると，吻側部のニューロンでは前肢に受容野があり，尾側部の外側部のニューロンでは体幹部から後肢へと移行しており，内側部では前肢の受容野が多かった．さらに背外側部のニューロンでは上肢にあり，腹側部に移行するほど体幹部から下肢へと移行していた．背内側部のニューロンでは前肢に受容野が多かった．

## 2. VPL 侵害受容ニューロンにおける LSTT への電気刺激による誘発電位の記録

痛覚求心路である第12胸髄右LSTTに電気刺激を行うことにより，右VPL内の侵害受容ニューロンにおいて誘発電位を記録した．まず，記録電極を用いて第12胸髄右LSTTニューロンの活動を記録したところ，侵害刺激のみに反応するNSニューロンが記録できた（n=2，2匹）．図3にその一例を示す．この右LSTTを電気刺激すると，VPL内で記録した侵害受容ニューロン（WDRニューロンおよびNSニューロン）66例中30例（25匹）で誘発電位を記録することができた．誘発電位は潜時8～15msec（平均10.2ms），持続時間約2ms（平均2.0ms）で，閾値は40～330μA（平均156.4μA）だった．図4に誘発電位の一例を示す．誘発電位はLSTTを50Hzで連続刺激した際にも観察できた（図5G）．

## 3. VPL 侵害受容ニューロンの誘発電位に対する鍼回旋刺激および輻射熱刺激の影響

痛覚の求心路の一部である第12胸髄の右LSTTへの電気刺激により，VPL侵害受容ニューロンで記録できた誘発電位に対して，体の種々の部位へ鍼回旋刺激および棒灸様の輻射熱刺激（間接灸様刺激）を行ったところ，25例（25匹）中18例で，受容野以外の部位へ行った際に誘発電位の出現が抑制された．残りの7例ではどこに刺激を与えても抑制がみられなかった．図5は，受容野でない右後肢に鍼回旋刺激および輻射熱刺激を行った際の，VPL侵害受容ニューロンの誘発電位の抑制例を示す．この誘発電位の抑制効果は，鍼回旋刺激および輻射熱刺激を，顔面部，上肢，右体幹部，右下肢など，受容野以外の全身のほぼどここの部位に行っても観察することができたが，受容野に鍼回旋刺激または輻射熱刺激を行った場合には，誘発電位は抑制せず，誘発電位の他にVPLニューロンの興奮性反応が生じた（図には示していない）．なお，誘発電位が抑制した18例ではすべて，受容野以外の部位への鍼回旋刺激および輻射熱刺激のどちらでも誘発電位の抑制が観察された．

最初の記録刺激直前の1分間の自発発火合計数から算出した1秒あたりの平均自発発火数は，鍼回旋刺激または輻射熱刺激により誘発電位が抑制した18例では，1発未満/secが12例，1～5発未満/sec

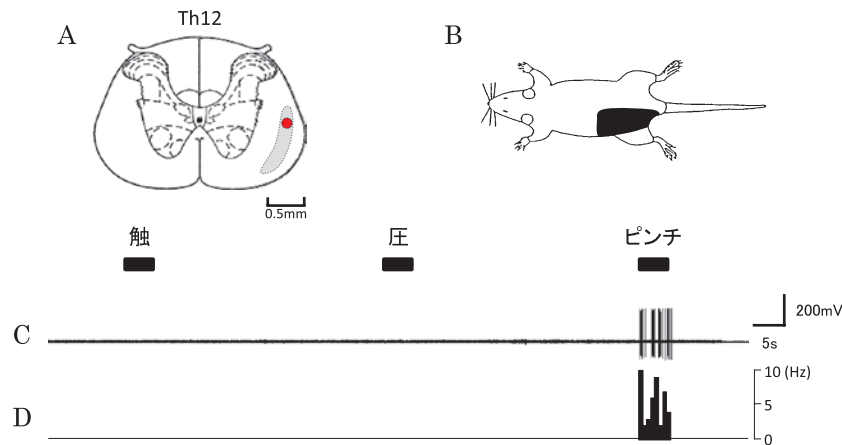


図3 第12胸髄LSTTニューロンの反応特性

第12胸髄のLSTTのニューロンの反応特性を示す。Aは第12胸髄のニューロン記録部位を示す。右下のグレイの部位はLSTTを示し、●は記録部位を示す。Bは記録ニューロンの受容野（左体幹部）を示す（黒の塗りつぶし部分）。Cは左から受容野の触刺激、圧刺激、ピンチ刺激を行った際のニューロン活動を示す。DはCの1秒ごとのスパイク数のヒストグラムを示す。このLSTTニューロンはNSニューロンで、受容野へのピンチ刺激（侵害刺激）のみで興奮し、触刺激、圧刺激には反応しなかった。

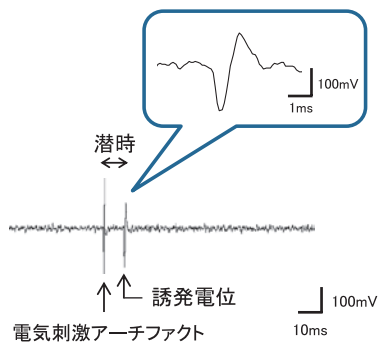


図4 LSTTの電気刺激によるVPLニューロンの誘発電位  
第12胸髄のLSTTを電気刺激（Duration：200msec，強度：30 $\mu$ A）した際のVPLニューロンの誘発電位を示す。右上の四角の中の波形は、下の誘発電位の掃引速度を10倍にして記録したものである。電気刺激のアーチファクトから誘発電位発生までの潜時は10msで、持続時間は約2msであった。

が6例，5～10発未満/secが0例で，抑制しなかった7例では1発未満/secが4例，1～5発未満/secが1例，5～10発未満/secが2例だった。また，これらのニューロンのVPL内における部位特異性もみられず（図6A），誘発電位が抑制したニューロンと抑制しなかったニューロンの間に特性の違いは認められなかった。

25例の鍼回旋刺激前における，5回の右LSTTの電気刺激による誘発電位の回数は $5.0 \pm 0.0$ 回（平均 $\pm$ SD），鍼回旋刺激中は $1.5 \pm 2.3$ 回（平均 $\pm$ SD），鍼回旋刺激後は $4.6 \pm 0.7$ 回（平均 $\pm$ SD）となり，一元配置分散分析を行ったところ，有意な差がみられた（ $P < 0.0001$ ）。さらに，鍼回旋刺激前・鍼回旋刺激中・鍼回旋刺激後の経時データの群間比較で

は，鍼回旋刺激前 vs 鍼回旋刺激中，鍼回旋刺激中 vs 鍼回旋刺激後のどちらも $P < 0.0001$ （Bonferroni）となり，鍼回旋刺激前 vs 鍼回旋刺激後は $P = 0.839$ と有意な差はなく，鍼回旋刺激中に有意な抑制が認められた。また，輻射熱刺激前は $5.0 \pm 0.0$ 回（平均 $\pm$ SD），輻射熱刺激中は $1.8 \pm 2.1$ 回（平均 $\pm$ SD），輻射熱刺激後は $4.5 \pm 0.8$ 回（平均 $\pm$ SD）となり，一元配置分散分析を行ったところ，有意な差がみられた（ $P < 0.0001$ ）。さらに，輻射熱刺激前・輻射熱刺激中・輻射熱刺激後の経時データの群間比較では，輻射熱刺激前 vs 輻射熱刺激中，輻射熱刺激中 vs 輻射熱刺激後のどちらも $P < 0.0001$ （Bonferroni）となり，輻射熱刺激前 vs 輻射熱刺激後は $P = 0.4295$ と有意な差はなく，輻射熱刺激中に有意な抑制が認められた。

#### 4. 鍼回旋刺激または輻射熱刺激によるVPL誘発電位の抑制効果に対するPAG/NRDへの局所麻酔薬投与の影響

鍼回旋刺激または輻射熱刺激を行った際に，LSTT電気刺激による誘発電位が抑制したVPL侵害受容ニューロンに対して，リドカイン（局所麻酔薬）を用いてPAG/NRDをブロックしたところ，行った5例すべてにおいて，鍼回旋刺激または輻射熱刺激を行った際の誘発電位に対する抑制効果が消失した（誘発電位が出現した）。1時間後に再び鍼回旋刺激または輻射熱刺激を行うと，リドカイン注入前と同様にVPL誘発電位抑制効果の回復が5例すべてにおいて観察された（図7，9）。また，同部位に同工程で，生理食塩水をPAGに注入した対照群5例では，



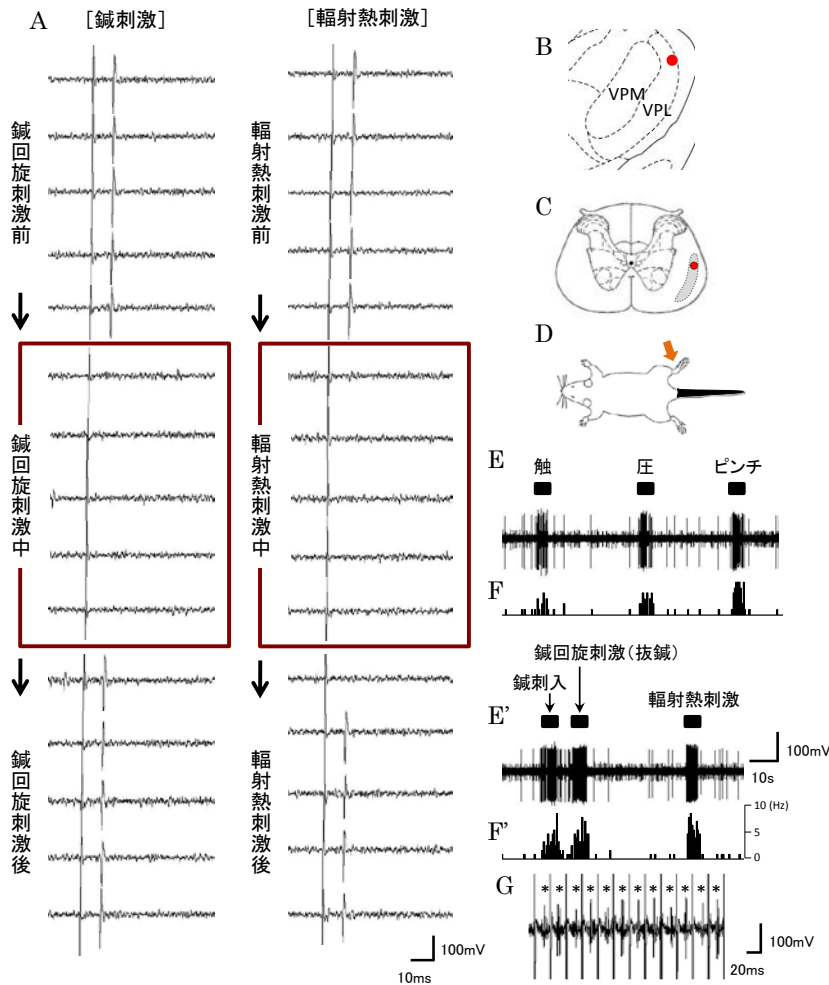


図5 鍼回旋刺激および輻射熱刺激による VPL 誘発電位の抑制例

A は LSTT の電気刺激（強度：30 $\mu$ A）による VPL 誘発電位に対する鍼回旋刺激および輻射熱刺激の影響を示す。左の列は鍼回旋刺激を行ったもの、右の列は輻射熱刺激を行ったものを示す。両列共に上から刺激前5回、刺激中5回（□中）、刺激後5回を示す。B は誘発電位の記録部位を示す（●印）。C は LSTT の電気刺激部位を（●印）、D は受容野（尾）を示し（黒の塗りつぶし部分）、矢印は VPL 誘発電位記録中に鍼回旋刺激および輻射熱刺激を与えた部位を示す。E は左から受容野の触刺激、圧刺激、ピンチ刺激を行った際のニューロン活動を示し、E' は E に続いて受容野の鍼刺入、鍼回旋刺激、輻射熱刺激を行った際のニューロン活動を示す。F、F' は E、E' の1秒ごとのスパイク数のヒストグラムを示す。G は LSTT に 50Hz で電気刺激を与えた時の VPL 誘発電位を示す（\*印）。この VPL ニューロンは WDR ニューロンで、鍼回旋刺激および輻射熱刺激ともに刺激中に誘発電位の抑制が観察された。略語：VPM = 後内側腹側核（ventral posteromedial nucleus）、VPL = 後外側腹側核（ventral posterolateral nucleus）

鍼回旋刺激または輻射熱刺激による誘発電位抑制の消失はみられなかった（図8, 10）。図6Bは腹側 PAG/NRD のリドカインまたは生理食塩水の微量注入部位を示す。

#### IV. 考察

##### 1. VPL ニューロン活動の記録について

これまで、鍼鎮痛に下行性痛覚抑制系が大きく関与することは多く述べられてきている。しかしながら、痛覚中継核である VPL ニューロンに対し、マニュアル鍼刺激および灸刺激がどのような影響を与

えるのかを観察したものはない。そこで今回の研究では、急性麻酔下のラットを用いて、細胞外記録により VPL の単一ニューロン活動記録を行い、身体各部位に鍼回旋刺激または棒灸様の輻射熱刺激（間接灸様刺激）、種々の体性感覚刺激を行った際のニューロン活動の影響を検討した。脳の神経活動を記録する手法としては、MRI や PET、脳波等がある。これらの方法は、非侵襲的に脳の広い領域の全体としての活動を観察することができるが、ひとつひとつの細胞の活動をみているものではない。今回の研究では、VPL の個々の細胞が鍼灸刺激を含む体性感覚刺激に対してどのように反応するかを調べるために、

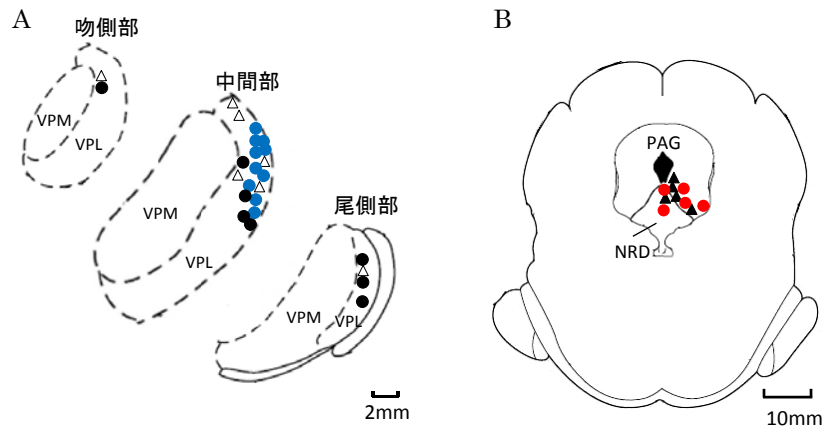


図6 VPL 誘発電位の記録部位と PAG/NRD の微量注入部位

A は LSTT を電気刺激した際の誘発電位に対して、鍼回旋刺激または輻射熱刺激を行った VPL ニューロンの全記録部位を示す (n = 25)。●と●は鍼回旋刺激または輻射熱刺激によって誘発電位の抑制があった部位を示し (n = 18), △は抑制がなかった部位を示す (n = 7)。●は 18 例中の 10 例において、PAG/NRD への局所麻酔薬投与実験を行ったニューロンの記録部位を示す。略語は図 5 と同様。B は PAG/NRD への局所麻酔薬投与実験での微量注入 (0.5 $\mu$ l) 部位を示す。●はリドカインの注入部位を示し (n = 5), ▲は生理食塩水の注入部位を示す (n = 5)。略語: PAG = 中脳水道周囲灰白質 (periaqueductal gray matter), NRD = 背側縫線核 (nucleus raphe dorsalis)

長時間、単一ニューロンの活動を記録することができる細胞外記録法を用いた。

生体において、組織損傷を起こし得る侵害刺激による興奮を伝導する侵害受容ニューロンには、NS ニューロンと WDR ニューロンの 2 種類が存在する。機械刺激に対して、NS ニューロンは侵害レベルの刺激だけに反応するが、WDR ニューロンは侵害レベルの刺激以外に、非侵害レベルの機械刺激の触・圧刺激にも反応を示す。また、どちらも侵害レベルの熱刺激に対しても反応を示す<sup>13)</sup>。痛み感覚は、これら 2 種類の侵害受容ニューロンが脳の種々の部位に伝導して総合的に生じる。

本研究で記録することができた VPL ニューロンは、すべて自発発火があり、侵害受容ニューロン (WDR ニューロンおよび NS ニューロン) は、VPL 内の吻側部、尾側部および、被殻領域にかかわらず記録でき、局在性は特にみられなかった。この結果は、ラットを用いた Guilbaud らの報告<sup>14)</sup>とも一致した。受容野に関しては、すべて、脊髄神経支配領域 (上肢、体幹部、下肢、尾) に受容野を有し、三叉神経領域 (顔面部) に受容野を有しているものはなかった。ウレタン麻酔を用いた他の急性動物実験においても、記録された多くの VPL ニューロンには自発発火があり、脊髄神経支配領域に受容野を有することが報告されている<sup>15-17)</sup>。

受容野の局在性においては、吻側部のニューロンでは前肢にあり、尾側に行く程外側部では体幹から後肢に移行しており、内側部のニューロンでは前肢の受容野が多かった。さらに背外側部のニューロン

では受容野は上肢にあり、腹側部にいくほど体幹から下肢に移行しており、背内側部のニューロンでは前肢に受容野が多かった。この結果も、ラットを用いた Francis らの研究結果と一致した<sup>18)</sup>。今回記録した侵害受容ニューロン (WDR ニューロンおよび NS ニューロン) は、Matsushita らの研究<sup>17)</sup>と同様に、興奮性に反応したものばかりで、抑制性に反応するニューロンは記録できなかった。また、それらは鍼回旋刺激または棒灸様の輻射熱熱刺激 (間接灸様刺激) によっても興奮性の反応を示した。これらの結果より、今回の鍼回旋刺激および輻射熱刺激が侵害刺激としての要素を持っていることを確認することができた。

## 2. VPL 侵害受容ニューロンにおける LSTT 電気刺激による誘発電位の記録と鍼回旋刺激および輻射熱刺激

今回、痛覚求心路の中継核である VPL において、LSTT の電気刺激により誘発電位を記録することができた。脊髄視床路は脊髄後角辺縁層 (I 層) 細胞を起始とし、痛覚・温覚を伝導する LSTT と、後角固有核 (III, IV 層) を起始とし、粗な触・圧覚を伝導する腹側脊髄視床路に分類され、また繊細な触・圧覚は後索-内側毛帯路を上行する<sup>19)</sup>。今回電気刺激を行った LSTT は、上行して脳幹では外側毛帯中を、その後は内側毛帯に隣接して、痛覚発生につながる情報の一部を視床外側の VPL に伝導する経路である<sup>20)</sup>。第 12 胸髄右 LSTT でニューロン活動を記録したところ、侵害受容ニューロン (NS ニュー



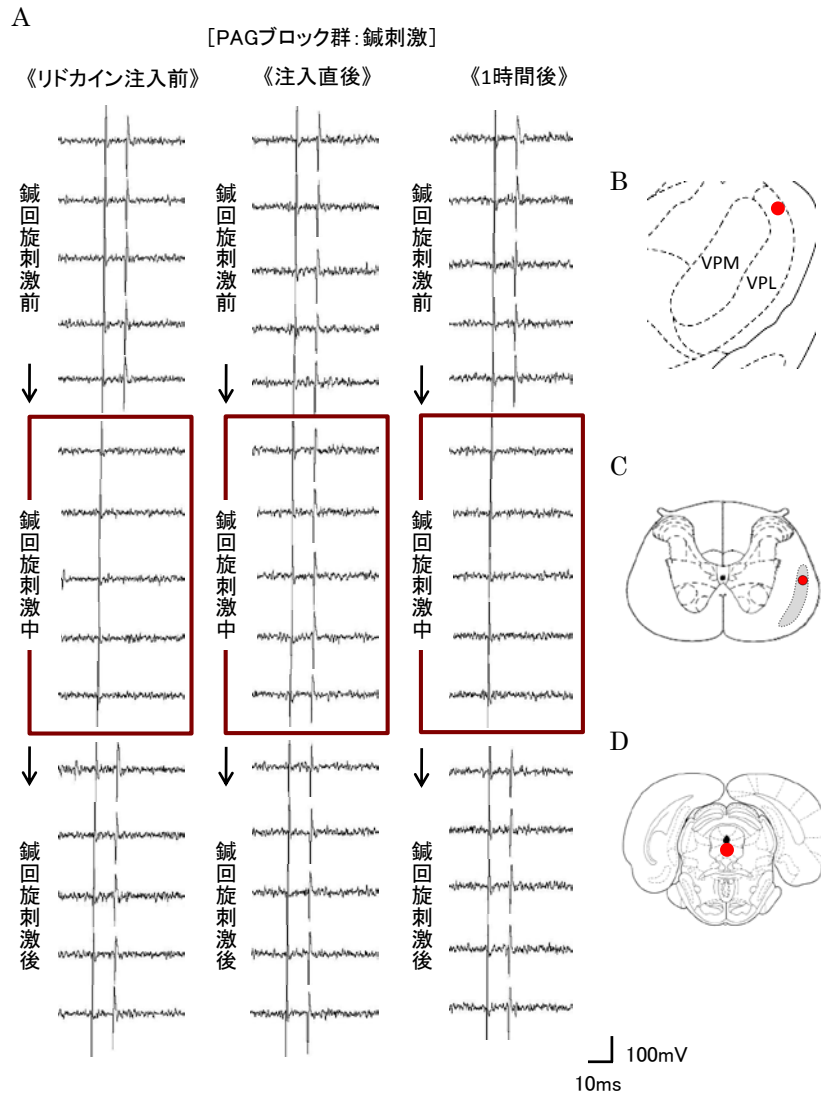


図7 PAG/NERDの局所麻酔中の鉈回旋刺激によるVPL誘発電位の抑制効果消失例

AはリドカインでのPAGブロック群におけるLSTTの電気刺激(強度:30 $\mu$ A)によるVPL誘発電位に対する鉈回旋刺激の結果を示す。左の列からリドカイン注入前,注入直後,1時間後を示し,それぞれ上から鉈回旋刺激前5回,刺激中5回(□中),刺激後5回を示す。Bは誘発電位の記録部位を示し(●印),CはLSTTの電気刺激部位を(●印),DはPAG/NERDのリドカイン注入部位を示す(●印)。PAG/NERDのブロック直後は,ブロック前に起きていた鉈回旋刺激のVPL誘発電位に対する抑制効果が消失し(誘発電位が出現した),1時間後には抑制が回復した。略語は図5と同様。

ロン)の活動を記録することができた(図3)。

VPLの侵害受容ニューロン(NSニューロンおよびWDRニューロン)で記録した誘発電位は,電気刺激によるLSTTの侵害受容ニューロンの興奮が伝導したもので,VPL内の,痛覚を生じさせる侵害受容ニューロンの興奮を表している。この誘発電位の抑制は,侵害受容ニューロンの活動の抑制を意味しており,侵害刺激による興奮が伝導しなくなるため抗侵害受容(鎮痛)作用に繋がるとみなすことができる。

今回,25例中18例において,受容野以外の部位へ行った鉈回旋刺激または輻射熱刺激によりVPL

内の侵害受容ニューロンの誘発電位が抑制し,抗侵害受容(鎮痛)効果が生じた。

鉈の刺激として用いた回旋刺激は,鉈刺入後約30秒間そのままの状態に放置しておき,VPL誘発電位の出現を確認してから行った。この置鉈状態の間に誘発電位の出現が抑制された例はなかった。また,予備実験において,受容野以外の部位に,有鉈ピンセットを用いて侵害性機械刺激を行った際にも,VPL侵害受容ニューロンの誘発電位は抑制されたが,非侵害性である触刺激・圧刺激あるいは非侵害レベルの輻射熱刺激を行った際には,抑制はみられなかった(図には示していない)。これらの結

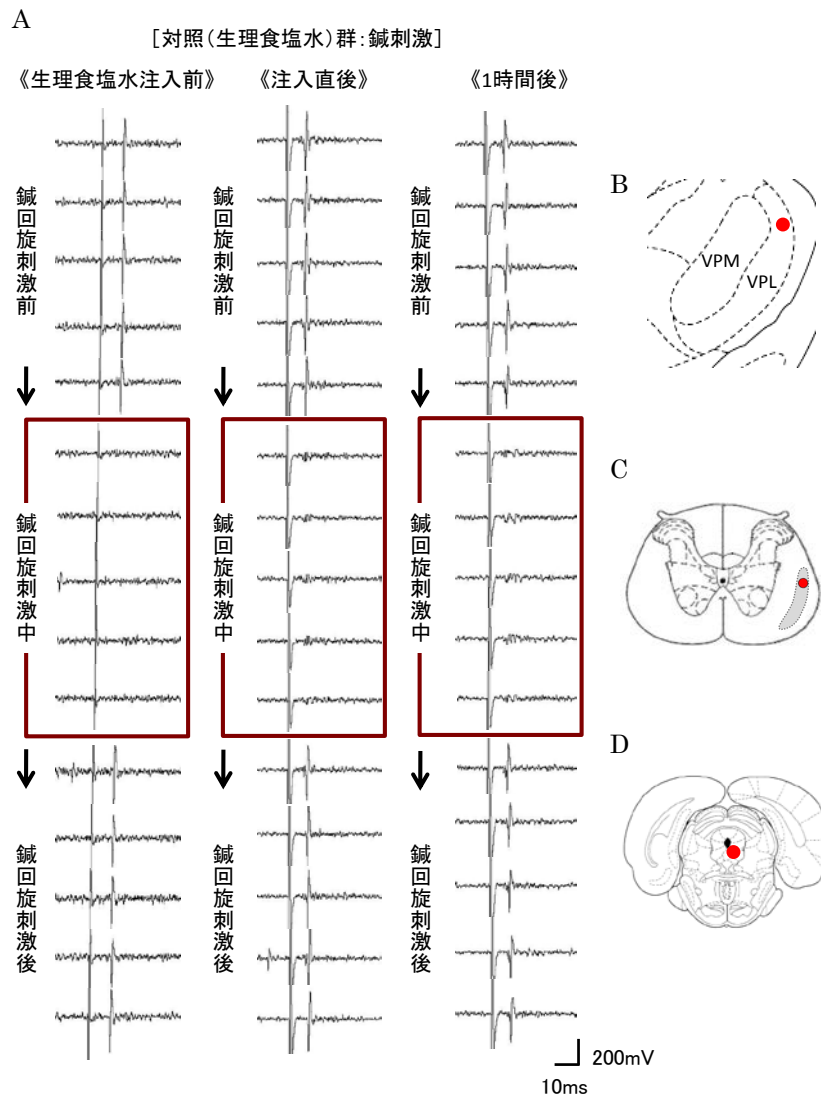


図8 PAG/NRD への生理食塩水注入時の鍼回旋刺激による VPL 誘発電位の抑制例

A は対照 (生理食塩水) 群における LSTT の電気刺激 (強度:  $45\mu\text{A}$ ) による VPL 誘発電位に対する鍼回旋刺激の結果を示す。左の列から生理食塩水注入前, 注入直後, 1 時間後を示し, それぞれ上から鍼回旋刺激前 5 回, 刺激中 5 回 (□中), 刺激後 5 回を示す。B は誘発電位の記録部位を示し (●印), C は LSTT の電気刺激部位を (●印), D は PAG/NRD の生理食塩水注入部位を示す (●印)。生理食塩水注入直後は, 注入前と同様に, 鍼回旋刺激による VPL 誘発電位の抑制が起き, 1 時間経過した後も抑制が起きた。略語は図 5 と同様。

果から, VPL において侵害受容ニューロンの誘発電位を抑制するために行う鍼刺激は, 単に刺入しただけでは効果がなく, 回旋刺激など強めの刺激を行わなければならないことが示唆される。つまり, ピンチ刺激も含めて, 強めの侵害性の機械刺激をし続け, C 線維および  $A\delta$  線維を興奮させて, より多くの入力上げるの必要性があると考えられた。熱刺激については, 本来であれば一般臨床で多く用いられている透熱灸に対する反応を観察したいところであるが, 米粒大, 半米粒大の透熱灸では 1 壮の燃焼持続時間が短く, 15 秒間一定温度の刺激を加え続けることができないため, 今回は間接灸である棒灸に

類似した刺激として, 点火した線香を近づける輻射熱刺激を用いた。灸刺激の場合も VPL において侵害受容ニューロンの誘発電位を抑制させるためには, 鍼刺激と同様に, C 線維および  $A\delta$  線維を興奮させ, より多くの入力上げるの必要性があると考えられた。なお, 輻射熱刺激の開始直後の 1 回目の記録で誘発電位が抑制されない例や, 刺激終了後 1 回目の記録で誘発電位が回復していない例が観察されたが, これらは, 熱刺激の性質上, 刺激開始直後で, 皮膚温が侵害レベルに達していなかったり, 刺激終了直後で皮膚温が侵害レベルに達した状態のままになっていたために生じたものと考えられる。

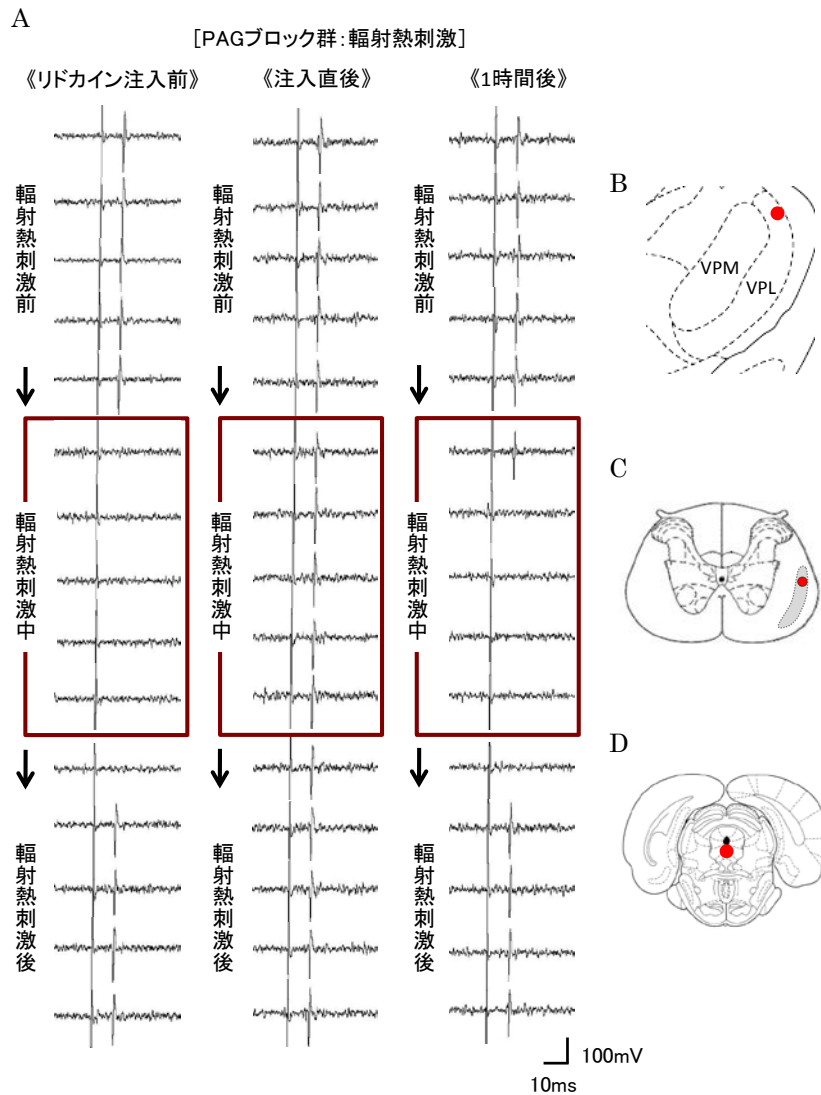


図9 PAG/NERDの局所麻酔中の輻射熱刺激によるVPL誘発電位の抑制効果消失例

AはリドカインでのPAGブロック群におけるLSTTの電気刺激(強度:30 $\mu$ A)によるVPL誘発電位に対する輻射熱刺激の結果を示す。左の列からリドカイン注入前,注入直後,1時間後を示し,それぞれ上から輻射熱刺激前5回,刺激中5回(□中),刺激後5回を示す。Bは誘発電位の記録部位を示し(●印),CはLSTTの電気刺激部位を(●印),DはPAG/NERDのリドカイン注入部位を示す(●印)。PAG/NERDのブロック直後は,ブロック前に起きていた輻射熱刺激のVPL誘発電位に対する抑制効果が消失し(誘発電位が出現した),1時間後には抑制が回復した。略語は図5と同様。

今回記録したVPLの誘発電位25例の潜時は8~15ms(平均10.2ms)で(図4),50Hzの連続刺激でも安定して誘発されたため(図5G),電気刺激部位からVPLへ直接投射するLSTTニューロンの活動の記録であると考えられる。今回の鍼回旋刺激および輻射熱刺激による抗侵害受容の作用部位としては,受容器レベル,脊髄後角レベル,VPLレベルが候補に挙げられるが,記録したVPL侵害受容ニューロンの誘発電位がLSTTの電気刺激によるものであることから,LSTTの電気刺激部位より末梢部での作用の可能性は除外することができ,VPLレベルでの抑制と考えることができる。

### 3. 鍼回旋刺激または輻射熱刺激によるVPLでの抗侵害受容作用(侵害受容ニューロンの誘発電位の抑制)に対するPAG/NERDの局所ブロックの影響

今回の鍼回旋刺激または輻射熱刺激によるVPLでの抗侵害受容作用(侵害受容ニューロンの誘発電位の抑制)に対してPAG/NERDが関与するかを調べるためにPAG/NERDの局所ブロックを行った。PAG/NERDのブロックには局所麻酔薬であるリドカインを用いた。今回用いたリドカインの濃度および注入量は,ラットのPAG腹外側部/NERDのブロックを行った他の複数の研究を参考にして決定した<sup>21-23)</sup>。



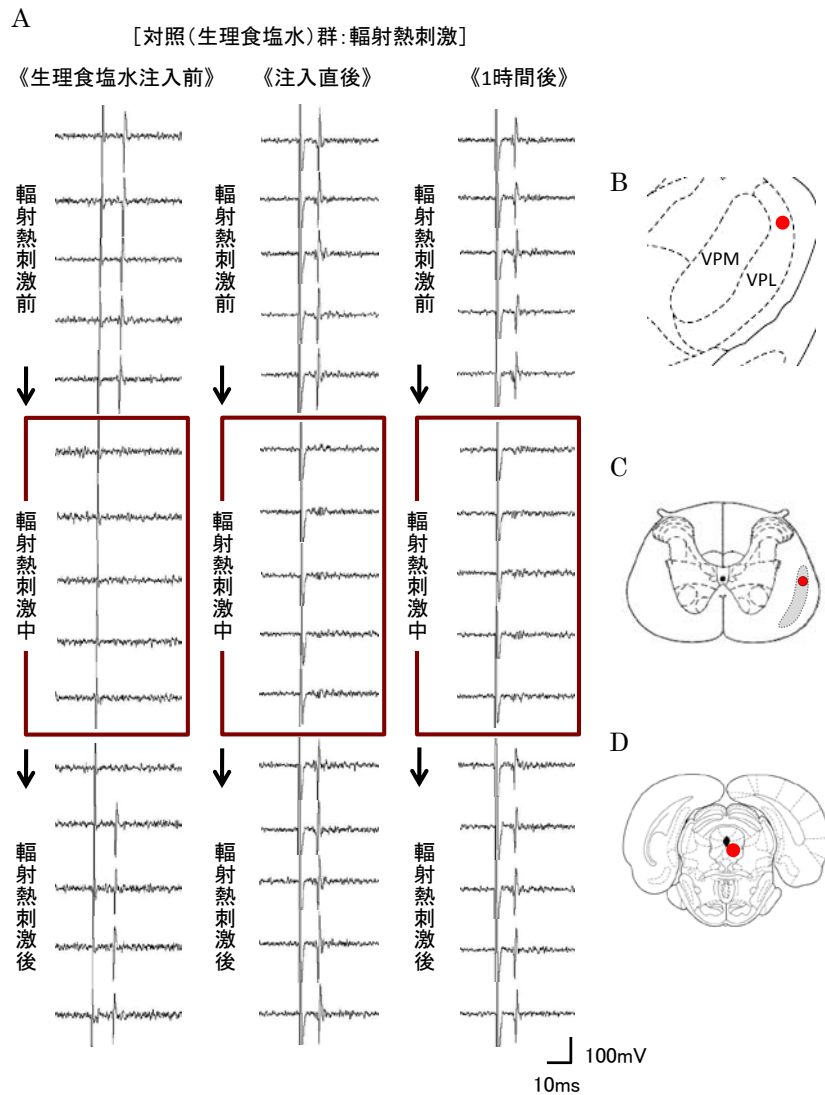


図 10 PAG/NRD への生理食塩水注入時の輻射熱刺激による VPL 誘発電位の抑制例

A は対照（生理食塩水）群における LSTT の電気刺激（強度：45 $\mu$ A）による VPL 誘発電位に対する輻射熱刺激の結果を示す。左の列から生理食塩水注入前、注入直後、1 時間後を示し、それぞれ上から輻射熱刺激前 5 回、刺激中 5 回（□中）、刺激後 5 回を示す。B は誘発電位の記録部位を示し（●印）、C は LSTT の電気刺激部位を（●印）、D は PAG/NRD の生理食塩水注入部位を示す（●印）。生理食塩水注入直後は、注入前と同様に、輻射熱刺激による VPL 誘発電位の抑制が起き、1 時間経過した後も抑制が起きた。略語は図 5 と同様。

今回の 1%、0.5 $\mu$ l のリドカインの注入は PAG 腹外側部/NRD の神経を局所的にブロックできているものと考え得る。

腹側 PAG/NRD をブロックした状態で、鍼回旋刺激または輻射熱刺激を行うと VPL での抗侵害受容作用が消失した（誘発電位が出現した）。さらにリドカインの半減期から薬剤の効果が消失したと思われる 1 時間経過した後に再度、鍼回旋刺激または輻射熱刺激を行うとブロック中に消失した抗侵害受容作用が回復し、誘発電位の抑制が再び観察されるようになった。対照として腹側 PAG/NRD に生理食塩水を同量注入した状態で、鍼回旋刺激または輻射熱

刺激を行うと VPL での抗侵害受容作用は維持され、誘発電位の抑制は消失しなかった。Barbaresi らは逆行性トレーサーを用いた形態学的な研究により、腹側 PAG から VPL への線維投射を報告している<sup>24)</sup>。また、Horie らはネコの PAG 腹側部あるいは NRD に電気刺激を加えると、下心臓神経の電気試験刺激によって VPL で記録された侵害受容ニューロンの誘発電位が抑制され、下行性痛覚抑制系の遠心路が通る脊髄背側索を頸髄の高さで両側性に切断しても、この抑制は減弱するが消失はしなかったことを報告している<sup>11)</sup>。早間らは PAG および NRD において鍼灸刺激に対するニューロンの反応特性を検討し

ており、鍼灸刺激により多くの PAG/NRD ニューロンが興奮性に反応することを報告している<sup>25)</sup>。これらのことから、今回の鍼回旋刺激または輻射熱刺激による、VPL での抗侵害受容作用は、鍼回旋刺激または輻射熱刺激により、PAG/NRD において、VPL へと上行する投射ニューロンが興奮し、その作用により生じたことが示唆される。

#### 4. 関与する内因性痛覚抑制機構について

痛覚の発生は本来、生体に加えられた組織損傷を起し得る刺激に対し、組織損傷を最小限に抑えるための警告信号としての働きが主である。しかしながら、この働きが終わった後でも、刺激が存在し続けければ痛みを感じ続ける。感じる痛みが大きく、長時間に及び慢性化すると非常に苦痛となり、生体は肉体的にだけでなく精神的にも大きなダメージを受け、自律神経系をはじめ運動器系などの体にとって有害な反射も起り続ける。このように痛みを感じ続けることは、生体にとっては非常に不都合なことであるため、この状態から脱するために、生体内にはいくつかの内因性痛覚抑制機構が備わっている。主な内因性痛覚抑制機構には、上脊髄性の中枢（脳）が関与するものとして下行性痛覚抑制系、DNIC などがあり、脊髄レベルの中枢が関与するものとしてはゲートコントロール説に基づいた脊髄分節性の痛覚抑制があり、その両方が関与するものとしてストレス誘発鎮痛が存在する。鍼灸治療は、これらの内因性痛覚抑制機構を巧みに賦活させて鎮痛効果を発現するとされており、中でも特に、下行性痛覚抑制系や DNIC の関与が大きいと考えられている<sup>1)</sup>。下行性痛覚抑制系は、C 線維や A $\delta$  線維からの入力により賦活され、視床下部、中脳水道周囲灰白質 (PAG)、背側縫線核 (NRD)・延髄の大縫線核 (nucleus raphe magnus : NRM)・傍巨大細胞網様核 (nucleus reticularis paragigantocellularis : NRPG)・巨大細胞網様核 (nucleus reticularis gigantocellularis : NRGC) や橋の青斑核 (locus ceruleus : LC) などの部位が関与し、延髄・橋からの下行線維により、顔面部からの痛覚情報は三叉神経脊髄路核尾側亜核で、脊髄神経領域からの痛覚情報は脊髄後角で抑制される<sup>10,26)</sup>。この系には内因性オピオイドやセロトニン、ノルアドレナリンなどの化学物質が関与する<sup>9,27)</sup>。鍼鎮痛の主要な機序であるこの下行性痛覚抑制系は、痛み感覚があり、下行性痛覚抑制系がまだ十分に賦活されていない時に、鍼灸刺激を行うことにより C 線維や A $\delta$  線維を上乗せ的に興奮させて中枢への入力量を増やし、この系を賦活させて鎮痛効果を発現させるものであると考えられる。DNIC は、全身の皮膚、筋、内臓など様々

な組織に侵害的な刺激を加えると、延髄にある背側網様亜核 (subnucleus reticularis dorsalis : SRD) をはじめとする中枢が関与して<sup>28)</sup>、脊髄後角あるいは三叉神経脊髄路核尾側亜核にある侵害受容ニューロンの興奮反応が抑制され、鎮痛効果が生じるものである<sup>29)</sup>。この系にも内因性オピオイドやセロトニンの関与が報告されているが<sup>30,31)</sup>、中枢神経系の破壊実験の結果などから、下行性痛覚抑制系に關与する PAG/NRD, NRM・NRPG, LC は関与しないことが報告されている<sup>32-35)</sup>。ゲートコントロール説に基づいた脊髄分節性の痛覚抑制は、痛みを感じている部位と同じ皮膚分節領域に行った触・圧刺激 (A $\beta$  線維) により、脊髄後角レベルで膠様質にある抑制性介在ニューロンが作用して痛覚の伝導が抑制されるものである<sup>2)</sup>。ストレス誘発鎮痛は、フットショックや拘束、強制水泳による長時間のストレス刺激によって生じ、下垂体や副腎 (皮質・髄質) などの内分泌系が関与するとされる<sup>36-38)</sup>。この他にも、痛覚受容器の興奮性が低下することによって抗侵害受容作用が生じるとされる末梢性鎮痛<sup>39-41)</sup> や、PAG からの投射ニューロンによる視床における抗侵害受容である上行性痛覚抑制<sup>11,16,17)</sup>、大脳皮質一次体性感覚野からの投射ニューロンによる VPL での侵害受容調整作用<sup>42)</sup> の存在も報告されている。これらの痛覚抑制機構のうち、下行性痛覚抑制系、DNIC、脊髄分節性の痛覚抑制、末梢性鎮痛は、その作用部位が、今回の誘発刺激部位の LSTT より末梢にあるため、関与の可能性を除外することができる。また、ストレス誘発鎮痛は分単位の持続するストレス刺激によって生じるとされており、今回行った 15 秒間の鍼回旋刺激、輻射熱刺激でこの系が賦活されるとは考えにくく、今回の鍼回旋刺激および輻射熱刺激の抗侵害受容作用が、PAG の局所ブロックによって拮抗されたことから、大脳皮質一次体性感覚野からの投射ニューロンによる VPL での抗侵害受容作用の影響も考えにくい。以上のことから、この研究の鍼回旋刺激および輻射熱刺激による VPL での抗侵害受容作用は、PAG から VPL への投射ニューロンによる上行性痛覚抑制の関与の可能性が最も考えやすい。

なお、VPL の侵害受容性ニューロンの抑制は、PAG からの投射ニューロンによる直接作用の可能性、または VPL 内での GABA 作動性抑制性介在ニューロンを介した抑制の可能性が考えられるが<sup>43)</sup>、これらのどちらによるものかを検討するためには、更なる研究の必要がある。

## 5. 上行性痛覚抑制系の賦活とその意義

視床は運動、感覚、意識に関する神経細胞群の巨大な集合体であり、広範で多様な機能を有しており、内側髄板によって内側部と外側部に分けられる。今回記録したVPLは腹外側部にあり、痛みの部位、強さなどの弁別相の中継核で<sup>44)</sup>、大脳皮質の体性感覚野に投射して、痛み感覚を引き起こす<sup>9,20)</sup>。内側髄板に存在する髄板内核群や内側部にある視床内側下核は、痛みによる不安感、不快感、恐怖感などの情動相の中継核で、大脳辺縁系に投射して情動反応を引き起こす<sup>9)</sup>。VPLからはこれらの情動相の視床中継核へも密接な投射がある<sup>45)</sup>。以上のことから、今回、鍼回旋刺激または輻射熱刺激（間接灸様刺激）により賦活した上行性痛覚抑制系は、単に痛み感覚が起こるのを抑えるだけでなく、投射先の髄板内核群や視床内側下核への興奮の伝導も抑え、間接的にだが、痛みの入力によって起こる情動反応を抑制する効果もあるものと考えられる。しかしながら、この上行性痛覚抑制系に関連する化学物質は明らかでなく、全体の鎮痛効果のうちで、上行性痛覚抑制系によるものがどれくらいの割合を占めるかは定かではない。今後、これらのことを検討するために更なる研究の必要がある。また、鍼灸刺激による、髄板内核群や内側下核などの痛覚の情動相の視床中継核に対する上行性痛覚抑制の可能性も検討する必要がある。

## V. 結語

今回、急性麻酔ラットを用いて、VPLで単一ニューロン活動の細胞外記録を行い、さらにVPLの侵害受容ニューロンにおける、LSTTの電気刺激による誘発電位に対して、体の種々の部位に、鍼回旋刺激および棒灸様刺激である輻射熱刺激（間接灸様刺激）を行った際の誘発電位の影響を検討した。その後、PAG/NRDに局所麻酔薬を注入した際の影響を検討し、以下の結果を得た。

1. 本研究ではVPL内で106例のニューロンが記録でき、そのうちLTMニューロンは20例、WDRニューロンは57例、NSニューロンは9例で、20例は反応しなかった。受容野は左上肢、体幹部（主に左側）、左下肢、尾の脊髄神経支配領域にあった。さらに、鍼・灸刺激に対して興奮性の反応を示した。
2. 右VPLの侵害受容ニューロンにおいて、右LSTTの電気刺激により記録することができた誘発電位25例に対し、受容野以外の部位へ鍼回旋刺激および輻射熱刺激を行ったところ、鍼

回旋刺激中および輻射熱刺激中に誘発電位の有意な抑制が認められた（抑制18例、変化なし7例）。

3. 鍼回旋刺激または輻射熱刺激によるVPLでの抗侵害受容作用（誘発電位の抑制）はPAG/NRDのリドカインの局所ブロックにより消失したが（n=5）、PAG/NRDへの生理食塩水の注入では消失しなかった（n=5）。

以上の結果より、鍼刺激および棒灸様輻射熱刺激によって生じる抗侵害受容効果に、これまで考えられてきた下行性痛覚抑制系を中心とした内因性痛覚抑制系以外に、PAG/NRDからVPLへの投射線維による上行性痛覚抑制系も関与する可能性が示唆された。

本研究の一部は、明治国際医療大学の2011年度の学内公募研究費の助成を受けて実施した。

謝辞：稿を終えるに当たり、ご指導賜りました明治国際医療大学生理学教室の川喜田健司教授に深謝致します。また、方法論に関して助言いただきました同大学臨床鍼灸学教室の福田文彦准教授に感謝致します。

## 文献

1. 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。医学の歩み, 203(6): 455-458, 2002.
2. Melzack R, Wall PD: Pain mechanisms: a new theory. *Science*, 150: 971-979, 1965.
3. Reynolds DV: Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. *Science*, 164: 444-445, 1968.
4. Mayer DJ, Wolfle TL, Akil H, et al: Analgesia from electrical stimulation in the brainstem of the rat. *Science*, 174: 1351-1354, 1971.
5. Adams JE: Naloxone reversal of analgesia produced by brain stimulation in the human. *Pain*, 2: 161-166, 1976.
6. Richardson DE, Akil H: Pain reduction by electrical brain stimulation in man: part 1 acute administration in periaqueductal and periventricular sites. *J Neurosurg*, 47: 178-183, 1977.
7. Hosobuchi Y, Adams JE, Linchitz R: Pain relief by electrical stimulation of the central gray matter in humans and its reversal by naloxone. *Science*, 197: 183-186, 1977.
8. Basbaum AI, Fields HL: The origin of descending



- pathways in the dorsolateral funiculus of the spinal cord of the cat and rat: further studies on the anatomy of pain modulation. *J Comp Neurol*, 187(3): 513-531, 1979.
9. 横田敏勝：鎮痛機構。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，pp 71-90, 1997.
  10. 椿隆行，田中孝夫，重松昭生：内因性疼痛抑制系。産業医大誌，8(2): 229-238, 1986.
  11. Horie H, Pamplin PJ, Yokota T: Inhibition of nociceptive neurons in the shell region of nucleus ventralis posterolateralis following conditioning stimulation of the periaqueductal grey of the cat. Evidence for an ascending inhibitory pathway. *Brain Res*, 561(1): 34-42, 1991.
  12. Paxinos G, Watson C: *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 4th edn. Academic Press, California, 1998.
  13. Yokota T, Asato F, Koyama N et al: Nociceptive body representation in nucleus ventralis posterolateralis of cat thalamus. *J Neurophysiol*, 60(5): 1714-1727, 1988.
  14. Guilbaud G, Peschanski M, Gautron M, et al: Neurones responding to noxious stimulation in VB complex and caudal adjacent regions in the thalamus of the rat. *Pain*, 8(3): 303-318, 1980.
  15. Yokota T, Koyama N, Matsumoto N: Somatotopic distribution of trigeminal nociceptive neurons in ventrobasal complex of cat thalamus. *J Neurophysiol*, 53(6): 1387-1400, 1985.
  16. Koyama N, Nishikawa Y, Chua AT et al: Differential inhibitory mechanisms in VPL versus intralaminar nociceptive neurons of the cat: I. Effects of periaqueductal gray stimulation. *Jpn J Physiol*, 45(6): 1005-1027, 1995.
  17. Matsushita M, Kizuki N, Koyama N: Excitatory and inhibitory effects of vagal afferent input on nociceptive neurons in the nucleus ventralis posterolateralis of the cat thalamus. *J Shiga Univ Med Sci*, 11: 93-106, 1996.
  18. Francis JT, Xu S, Chapin JK: Proprioceptive and cutaneous representations in the rat ventral posterolateral thalamus. *J Neurophysiol*, 99(5): 2291-2304, 2008.
  19. Kuru M: *Sensory Paths in the Spinal Cord and Brain Stem of Man*, Sogensha, Tokyo, pp 1-39, 1949.
  20. 黒田良太郎，川畑篤史：痛み情報伝達経路一末梢から大脳皮質まで。薬学雑誌，123(7): 533-546, 2003.
  21. Helmstetter FJ, Tershner SA, Poore LH, et al: Antinociception following opioid stimulation of the basolateral amygdala is expressed through the periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla. *Brain Res*, 779(1-2): 104-118, 1998.
  22. Koyama N, Hanai F, Yokota T: Does intravenous administration of GABA(A) receptor antagonists induce both descending antinociception and touch-evoked allodynia? *Pain*, 76(3): 327-336, 1998.
  23. Oliveira MA, Prado WA: Role of PAG in the antinociception evoked from the medial or central amygdala in rats. *Brain Res Bull*, 54(1): 55-63, 2001.
  24. Barbaresi P, Conti F, Manzoni T: Periaqueductal grey projection to the ventrobasal complex in the cat: an horseradish peroxidase study. *Neurosci Lett*, 30(3): 205-209, 1982.
  25. 早間しのぶ，角谷英治，新原寿志ら：麻酔ラットにおける中脳水道周囲灰白質，背側縫線核ニューロンの鍼灸刺激に対する反応特性。明治国際医療大学誌，4: 39, 2011.
  26. 横田敏勝：内因性疼痛抑制系。神経研究の進歩，26(5): 857-868, 1982.
  27. Fields HL, Basbaum AI: Endogenous pain control mechanisms. In Wall PD, Melzack R (eds): *Textbook of pain*. Churchill Livingstone, New York, pp 142-152, 1984.
  28. Bouhassira D, Villanueva L, Bing Z, et al: Involvement of the subnucleus reticularis dorsalis in diffuse noxious inhibitory controls in the rat. *Brain Res*, 595: 353-357, 1992.
  29. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM: Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. effect on dorsal horn convergent neurons in the rat. *Pain*, 6: 283-304, 1979.
  30. Bing Z, Villanueva L, Le Baes D: Acupuncture and diffuse noxious inhibitoru controls: naloxone-reversible depression of activities of trigeminal convergent neurons. *Neuroscience*, 37: 809-818, 1990.
  31. Dickenson AH, Rivot JP, Chaouch A, et al: Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in the rat with or without pCPA pretreatment. *Brain Res*, 216(2): 313-321, 1981.
  32. Bouhassira D, Villanueva L, Le Bars D: Effects of systemic morphine on diffuse noxious inhibitory controls: role of the periaqueductal grey. *Eur J Pharmacol*, 216(2): 149-156, 1992.
  33. Bouhassira D, Chitour D, Le Bars D, et al: Morphine

- and diffuse noxious inhibitory control in the rat: effects of lesions of the rostral ventromedial medulla. *Eur J Pharmacol*, 232: 207-215, 1993.
34. Bouhassira D, Bing Z, Le Bars D: Studies of brain structures involved in diffuse noxious inhibitory controls in the rat: the rostral ventromedial medulla. *J Physiol*, 463: 667-687, 1993.
  35. Bouhassira D, Bing Z, Le Bars D: Effects of lesion of locus coeruleus/subcoeruleus on diffuse noxious inhibitory controls in the rat. *Brain Res*, 571: 140-144, 1992.
  36. Lewis JW, Sherman JE, Liebeskind JC: Opioid and non-opioid stress analgesia: assessment of tolerance and cross-tolerance with morphine. *J Neurosci*, 1(4): 358-363, 1981.
  37. Maier SF, Drugan RC, Grau JW: Controllability, coping behavior, and stress-induced analgesia in the rat. *Pain*, 12(1): 47-56, 1982.
  38. Watkins LR, Mayer DJ: Organization of endogenous opiate and nonopiate pain control systems. *Science*, 216(4551): 1185-1192, 1982.
  39. 岡 孝和 : 痛みとサイトカイン. *神経進歩*, 42(3): 426-433, 1998.
  40. 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, 2003.
  41. Goldman N, Chen M, Fujita T, et al: Adenosine A1receptors mediate local anti-nociceptive effects of acupuncture. *Nat Neurosci*, 13(7): 883-888, 2010.
  42. Monconduit L, Lopez-Avila A, Molat JL, et al: Corticofugal output from the primary somatosensory cortex selectively modulates innocuous and noxious inputs in the rat spinothalamic system. *J Neurosci*, 26(33): 8441-8450, 2006.
  43. Koyama N, Yokota T: Inhibition of activities of VPL nociceptive neurons by dorsal column stimulation. *Pain Res*, 9: 77-86, 1994.
  44. Guilbaud G, Kayser V: The ventrobasal complex of the rat thalamus: its involvement in the sensory-discriminative aspects of nociception, including models of clinical pain. *Thalamus and Pain*, Elsevier Science Publishers, pp 185-209, 1987.
  45. 新見嘉兵衛 : VIII. 視床腹側核群 2. 後腹側核. *視床脳*, 九州大学出版会, 福岡, pp 141-153, 1983.

# Inhibitory effects of nociceptive neurons in the ventral posterolateral nucleus by acupuncture and indirect moxibustion stimulation. Evidence for an ascending inhibitory pathway of acupuncture analgesia

Chie Ogasawara, Hiroshi Taniguchi, Hisashi Shinbara, Kokoro Hino, Eiji Sumiya

*Department of Basic of Acupuncture and Moxibustion, Meiji University of Integrative Medicine*

## ABSTRACT

**Introduction:** Acupuncture and moxibustion have been used to treat diseases with pain. Recently, it has been demonstrated that an ascending inhibitory pathway inhibits pain transmission at the thalamus via neural activity from the periaqueductal gray matter (PAG) to the thalamus. The purpose of this study was to clarify the involvement of this ascending inhibitory pathway in acupuncture and/or moxibustion analgesia. We investigated whether evoked potentials of nociceptive neurons in the ventral posterolateral nucleus (VPL) were inhibited by acupuncture or radiant heat stimulation (similar to indirect moxibustion). Moreover, we examined whether the PAG participated in this inhibitory effect.

**Methods:** Experiments were conducted on rats anesthetized with urethane (n=30). Single unit activities were recorded in the VPL with glass microelectrodes filled with 2% Pontamine sky blue in 0.5 M sodium acetate. The evoked potentials of VPL nociceptive neurons were evoked by electrical stimulation to the spinothalamic tract (LSTT) at Th12. Acupuncture (0.3 mm diameter) or radiant heat stimulation by a incense stick with the fire like the stick moxibustion was applied to the various points of the body while recording the evoked potentials. Further, the same experiments were conducted with microinjections of lidocaine (1%, 0.5  $\mu$ l; n=5) or saline (n=5) into the PAG.

**Results:** The evoked potentials of VPL nociceptive neurons evoked by electrical stimulation to the LSTT were inhibited by acupuncture or radiant heat stimulation to various points of the whole body except the receptive fields (n=18). These antinociceptive effects were abolished by lidocaine microinjections into the PAG (n=5), but not by saline microinjections (n=5).

**Conclusion:** These results suggest that the ascending inhibitory pathway from the PAG to the thalamus may be involved in acupuncture and moxibustion analgesia.