

原 著 内因性オピオイド系を介した慢性炎症性疼痛に
対する低周波経皮的神経電気刺激
(TENS) の鎮痛作用

¹⁾昭和大学医学部生理学講座 (生体制御学部門)

²⁾昭和大学医学部麻酔科学講座

³⁾昭和大学医学部生理学講座 (生体調節機能学部門)

⁴⁾昭和大学医学部整形外科学講座

池本 英志¹⁾ 砂川 正隆*¹⁾ 片平 治人¹⁾

世良田紀幸¹⁾ 小林 喜之¹⁾ 樋口 毅史¹⁾

岡田まゆみ²⁾ 清野 毅俊^{3,4)} 久光 直子¹⁾

久光 正¹⁾

抄録：経皮的神経電気刺激 (transcutaneous electrical nerve stimulation : TENS) は、皮膚に導電性電極をあて、電気刺激を生体に与えることで様々な治療効果が得られる、非侵襲的な治療法である。鍼や TENS などを用いた刺激療法の鎮痛作用には、ゲートコントロール説、下行性疼痛抑制系の賦活、内因性オピオイドの関与などいくつかの作用機序が報告されている。本研究では、ラットアジュバント関節炎モデルを作製し、TENS の慢性炎症性疼痛に対する鎮痛効果を検証するとともに、内因性オピオイドの関与について検討した。1) TENS の鎮痛作用の検証。7週齢の Wistar 系雄性ラットを使用し、Control (Con) 群、Control+TENS (TENS) 群、アジュバント関節炎 (AA) 群、AA+TENS (AAT) 群の4群に分けた。関節炎は右足底に完全フロイントアジュバント 0.1 ml を皮下投与して誘発した。Con 群には同部位に生食を投与した。TENS (4 Hz, 30 分) は週3回、14日間にわたって実施し、その間、足容積、機械刺激ならび熱刺激に対する逃避閾値を測定した。関節炎の誘発により AA 群の足は腫脹し、足容積が有意に増大した。TENS によってこの腫脹は抑制されなかったが、機械的刺激及び熱刺激に対する逃避閾値は、AA 群では Con 群と比較し有意に低下し、AAT 群ではその低下が有意に抑制された。2) 内因性オピオイドの関与の検討。同種ラットを Con 群、AA 群、AAT 群、AAT+naloxone (AAT+N) 群の4群に分けた。AAT+N 群には、 μ オピオイド受容体拮抗薬ナロキソン (3 mg/kg) を TENS 開始 30 分前に皮下投与した。先の実験と同様に逃避閾値を測定し、脊髓 μ オピオイド受容体の変化を組織学的に検討した。その結果、ナロキシンの前投与は TENS の鎮痛作用を有意に減弱させた。また AA 群の脊髓後角では μ オピオイド受容体の発現が有意に増加したが、TENS によってその増加が有意に抑制された。4Hz の低周波 TENS は慢性炎症性疼痛に対し鎮痛作用を示したが、その作用は μ オピオイド受容体拮抗薬の前投与によって減弱した。また脊髓では、AA 群の脊髓後角の浅層に μ オピオイド受容体の発現が増加したが、AAT 群ではこの増加が有意に抑制された。以上より、TENS は μ オピオイド受容体を介して、慢性炎症性疼痛に対し鎮痛作用を示したと考えられる。低周波 TENS は慢性炎症性疼痛に対し有用であり、鎮痛効果の発現には内因性オピオイドが関与していることが示唆された。

キーワード：経皮的神経電気刺激 (TENS), 慢性炎症性疼痛, 鎮痛作用, オピオイド, アジュバント関節炎モデルラット

*責任著者

経皮的神経電気刺激 (transcutaneous electrical nerve stimulation: TENS) は、皮膚に導電性電極をあて、電気刺激を生体に与えることで様々な治療効果が得られる、非侵襲な治療法である。臨床的には、疼痛のコントロール、廃用性筋委縮の予防や改善、筋緊張の軽減、関節拘縮の予防や可動域の拡大、血流の改善、創傷の治癒の促進、浮腫の予防や改善などを目的として広く用いられている^{1,2)}。鍼刺激や TENS による鎮痛作用のメカニズムについては、ゲートコントロール説³⁾、下行性疼痛抑制系の賦活⁴⁾、また神経ペプチドであるオレキシン⁵⁾や内因性オピオイド⁶⁾の作用などが報告されているが、本研究では内因性オピオイドについて注目した。内因性オピオイドはその特異的受容体へ結合し、モルヒネ様作用をもたらす物質で、鍼刺激によって血中や脳脊髄液中の内因性オピオイド濃度の上昇することが数多く報告されている^{7,8)}。特に低周波 (4 Hz) の電気鍼では μ オピオイド受容体 (MOR) に作用する β エンドルフィンや δ オピオイド受容体に作用するエンケファリンの、高周波 (100 Hz) では κ オピオイド受容体に作用するダイノルフィンの分泌が促進される⁹⁾。分泌された内因性オピオイドは脳や脊髄に存在するオピオイド受容体に作用し鎮痛作用をもたらす¹⁰⁾。低周波 TENS も鎮痛作用の機序の一つに、脳脊髄液中や血中の β エンドルフィン濃度を上昇させ^{11,12)}、MOR を介した作用があると考えられている。

アジュバント関節炎モデルラットでは、脊髄後角の MOR は増加することが報告されている^{13,14)}。末梢の炎症により後根神経節で MOR の産生が亢進し、神経の末梢側へ軸索輸送されるだけでなく¹⁵⁾、脊髄後角の一次ニューロン終末にも輸送される¹⁶⁻¹⁸⁾。MOR の発現の変化はオピオイド鎮痛作用を左右する要素の一つとなるが、TENS が MOR に対してどのような影響を与えるかについては検討されていない。本研究では、ラットアジュバント関節炎モデルを作製し、低周波 TENS の慢性炎症性疼痛に対する鎮痛効果を検討するとともに、内因性オピオイドの関与、MOR の変化を検討した。

研究方法

1. 実験動物

7 週齢 (体重 195 ~ 210 g) の Wistar 系雄性ラッ

ト (日本生物材料センター, 東京) を使用した。水および飼料 (CE-2; 日本クレア, 東京) は自由摂取とし、飼育条件は温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、1 日 12 時間ごとの明暗サイクルで管理した。本実験は昭和大学動物実験委員会の承認の下 (承認番号 01106)、昭和大学動物実験実施指針を遵守して行った。

2. アジュバント関節炎モデル

イソフルラン (イソフル®; DS ファーマアニマルヘルス, 大阪) 吸入麻酔下に、被験ラットの右足蹠に完全フロインドアジュバント (0.1ml) (F5881; Sigma-Aldrich, MO, USA) を皮下注射し、関節炎を惹起させた¹⁹⁾。Control 群には同部位に同量の生理食塩水を投与した。

3. TENS 治療

TENS 治療は、ラットをプラスチックボックス (15×4×5 cm) 内に固定し無麻酔で行った (Fig. 1)。刺激電極にはアルミホイルを使用した。両側の足関節上から足先までの範囲をアルミホイル (サン・アルミニウム工業, 千葉) で覆い、ずれないように軽く押し、端をクリップ電極で挟み通電した。電気刺激装置は Electric Stimulator (SEN-8203; 日本光電) を使用し、矩形波刺激 (パルス幅 0.1 msec, 1.5 mA, 4 Hz) を与えた。治療は 1 回あたり 30 分、週に 3 回、14 日間に渡って行った (Fig. 2)。なお、TENS を行わない群も同じ時間プラスチックボックス内に固定した。

4. TENS の効果の検討

動物を無作為に、Control (Con) 群、Control+TENS (TENS) 群、アジュバント関節炎 (AA) 群、AA+TENS (AAT) 群の 4 群に分けた。

機械的刺激ならび熱刺激に対する疼痛閾値と足容積を術前・7 日目・14 日目に測定した。機械的刺激に対する疼痛閾値の測定は AnalgyMeter (Ugo Basile; Varese, Italy) を使用し、Randall Selitto 法にて行った²⁰⁾。熱刺激に対する疼痛閾値はプランター式鎮痛効果測定装置 (Ugo Basile) を使用し、Hargreaves 法にて測定した²¹⁾。いずれの測定も、5 分おきに 3 回、左右交互に測定し、平均値をもって疼痛閾値とした。

足容積は、足容積測定装置 (MK-101CMP; 室町機械, 東京) を用い、ラットの内果および外果を結んだ線より末梢部の体積を計測した。

5. 内因性オピオイドの関与の検討

1) 動物を無作為に、Con 群、AA 群、AAT 群、MOR 拮抗薬ナロキソンを前投与した AAT 群 (AAT+N 群) の 4 群に分けた。方法 4 と同様に機械的刺激ならび熱刺激に対する疼痛閾値を術前・7 日目・14 日目に測定した。AAT+N 群にはナロキソン (3 mg/kg) (N7758; Sigma-Aldrich, MO, USA) を TENS 開始 30 分前に皮下投与し、他の群には生食を投与した。なおナロキシソンの用量は、過去の TENS の研究に用いられたナロキシソンの用量を参考に決定した²²⁾。

2) 脊髄 (L4) MOR の組織学的検討

14 日目、疼痛閾値を測定した後、ペントバルビタール深麻酔下 (50 mg/kg i.p.: ソムノペンチル®; 共立製薬, 東京) に PBS ならび固定液 (4% パラホルムアルデヒド) で灌流固定した後、脊髄を摘出し、通法により蛍光免疫染色を行った。クリオスタット (CM3050S; Leica Biosystems, Nussloch, Germany) にて脊髄の凍結切片 (厚さ 10 μ m) を作製し、PBS 洗浄、ブロッッキング (Dako REAL, Dako, Glostrup, Denmark) の後、一次抗体 (4 °C, overnight) (1 : 100. Anti MOR-1 Rabbit Antibody; Santa Cruz Biotechnology, TX, USA), ならび二次抗体 (室温, 2 時間) (1 : 1000. Alexa Fluor® 555 Donkey Anti-Rabbit Antibody, Life Technologies, CA, USA) と反応させた。最後に 4',6-Diamidino-2-Phenylindole, Dihydrochloride (DAPI) (室温, 10 分) (1 : 2000. Life Technologies) にて核染色を行い、退色防止用封入剤 (H-1000; VECTOR LABORATORIES, CA, USA) を用い封入し、共焦点レーザー走査型顕微鏡 (FV1000D; オリンパス, 東京) にて観察した。脊髄において MOR は灰白質の後角 I および II 層に分布している^{13,14)}。結果は、I および II 層を含む同一エリア (100 × 150 μ m) における MOR の発現量を専用ソフトウェア (FV10-AW; オリンパス) によって測定した光学密度 (optical density : OD) で示した。

6. 統計学的処理

全ての実験結果は平均 ± 標準誤差で示し、Tukey-Kramer 法による多重比較検定を行い、有意水準は 5% 未満とした。

結 果

1. TENS の効果



Fig. 1 Application of TENS to the legs of rat. Each rat was restrained in a small acrylic cage. Both legs were wrapped by aluminum foil and stimulated (frequency: 4 Hz, amplitude: 1.5 mA and pulse duration: 0.1 msec).

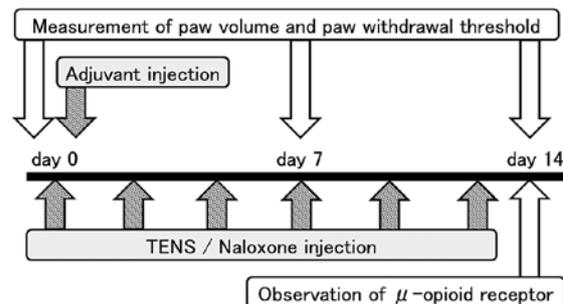


Fig. 2 Study protocol

Inflammation was induced by the injection of complete Freund's adjuvant on day 0. TENS were applied for thirty minutes, three times a week for fourteen days.

1) 疼痛閾値の変化

AA 誘発から 7 日目、機械的刺激に対する疼痛閾値は Con 群 (209.0 ± 3.8 g) ならび TENS 群 (205.6 ± 12.8 g) と比べ、AA 群 (89.6 ± 5.6 g) ならび AAT 群 (115.0 ± 10.3 g) は有意に低下した。しかし 14 日目では、AA 群 (91.4 ± 8.1 g) に対し AAT 群 (140.6 ± 8.1 g) では閾値の低下が有意に抑制された (Fig. 3a)。同様に、熱刺激に対する疼痛閾値も 7 日目、Con 群 (6.4 ± 0.2 sec) ならび TENS 群 (6.2

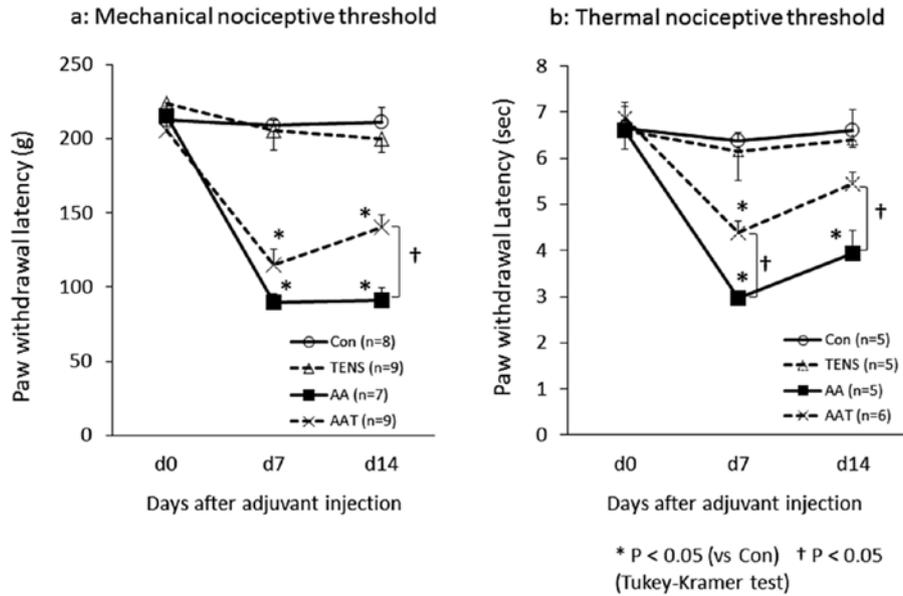


Fig. 3 Nociceptive threshold

The mechanical (a) and thermal (b) nociceptive thresholds were significantly decreased in rats with arthritis compared with the Con and TENS groups (*P < 0.05); however, on day 14 these decreases were significantly inhibited in the AAT group compared with the AA group (†P < 0.05). Con (Control group), TENS (TENS-treated control rats group), AA (Adjuvant Arthritis rats group) and AAT (TENS-treated AA rats group).

±0.6 sec) と比べ, AA 群 (3.0 ± 0.2 sec) ならび AAT 群 (4.4 ± 0.2 sec) では有意に低下したが, 14 日目では, AA 群 (3.9 ± 0.5 sec) に対し AAT 群 (5.5 ± 0.2 sec) では閾値の低下が有意に抑制された (Fig. 3b). なお, いずれの実験においても Con 群と TENS 群との間に差はなかった. TENS は AA ラットにおける炎症性疼痛に対し鎮痛効果を示した.

2) 足容積の変化

TENS の抗炎症作用を検討するため, 足の腫脹の程度を測定した. 結果は, 健側に対する患側の値を百分率で示した (Fig. 4). 実験 7 日目, AA 誘発によって AA 群 (127.7 ± 6.7%) および AAT 群 (130.0 ± 8.6%) の足容積は, Con 群 (98.4 ± 2.0%) ならび TENS 群 (100.4 ± 2.0%) に比べ有意に増加しており, 関節炎によって患肢に腫脹が認められた. 14 日目も AA 群 (128.3 ± 7.4%) と AAT 群 (126.6 ± 4.6%) との間に差はなく, TENS による明らかな消炎効果は認められなかった. なお, Con 群と TENS 群との間にも差はなかった.

2. 内因性オピオイドの関与

1) 疼痛閾値の変化

内因性オピオイドの関与を検討するため, AAT+N 群では MOR 拮抗薬ナロキソン前投与の後に TENS を行った. 実験 14 日目, 先の実験と同様に AAT 群 (160.3 ± 12.2 g) では AA 群 (102.5 ± 8.0 g) と比べ, 機械的刺激に対する疼痛閾値の低下が有意に抑制された. しかし, その効果は AAT+N 群 (131.1 ± 8.5 g) では減弱した (Fig. 5a). 熱刺激に対する疼痛閾値も同様で, 実験 14 日目, AAT 群 (5.5 ± 0.2 sec) では AA 群 (3.8 ± 0.2 sec) と比べ, 疼痛閾値の低下が有意に抑制されたが, その効果は AAT+N 群 (4.8 ± 0.2 sec) では減弱した (Fig. 5b).

2) 脊髄 MOR の変化

脊髄 (L4) における MOR の代表的な組織像を Fig. 6a に示す. Con 群 ((15.2 ± 2.0) × 10⁶ OD) に対して AA 群 ((28.7 ± 1.8) × 10⁶ OD) では有意に MOR の発現が増加したが, AAT 群 ((17.6 ± 1.6) × 10⁶ OD) ではその増加が有意に抑制された. ナロキソンを投与した AAT+N 群 ((24.1 ± 0.6) × 10⁶ OD) では TENS の効果が減弱し, Con 群なら

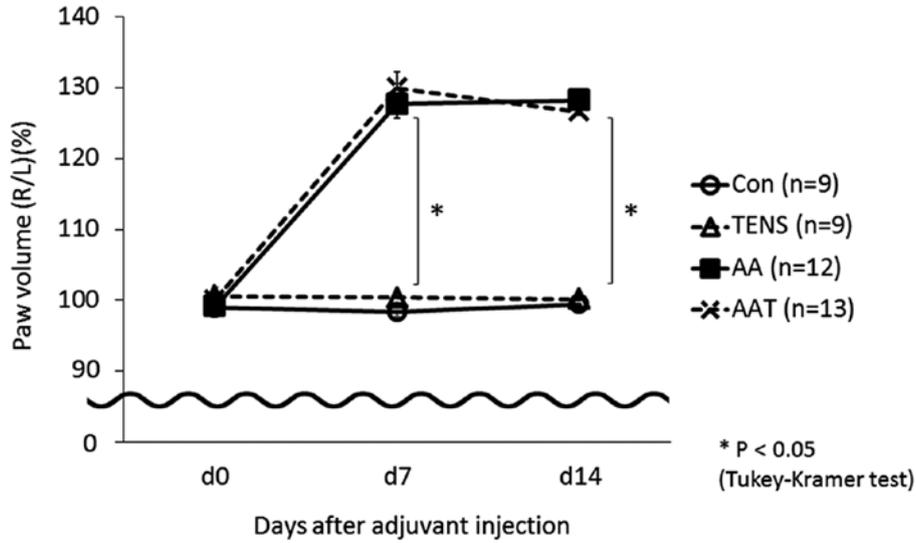


Fig. 4 Paw volume

The values were expressed as percentages (the volume of the affected side / the volume of the unaffected side). The paw volumes were significantly increased in rats with arthritis compared with the Con and TENS groups (* $P < 0.05$), and the swelling was not controlled in AAT group. Con (Control group), TENS (TENS-treated control rats group), AA (Adjuvant Arthritis rats group) and AAT (TENS-treated AA rats group).

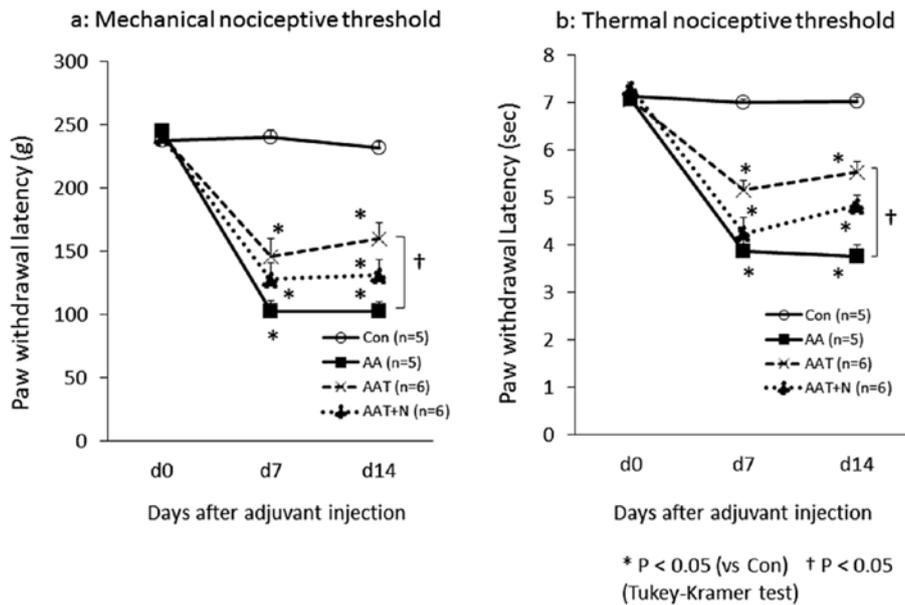


Fig. 5 Influence of naloxone on the antinociceptive effect of TENS

The mechanical (a) and thermal (b) nociceptive thresholds were significantly decreased in rats with arthritis compared with the Con and TENS groups (* $P < 0.05$). On day 14, these decreases were significantly inhibited in the AAT group compared with the AA group ($^{\dagger}P < 0.05$), but the antinociceptive effect was attenuated in the AAT + N group. Con (Control group), AA (Adjuvant Arthritis rats group), AAT (TENS-treated AA rats group) and AAT + N (naloxone-treated AAT rats group).

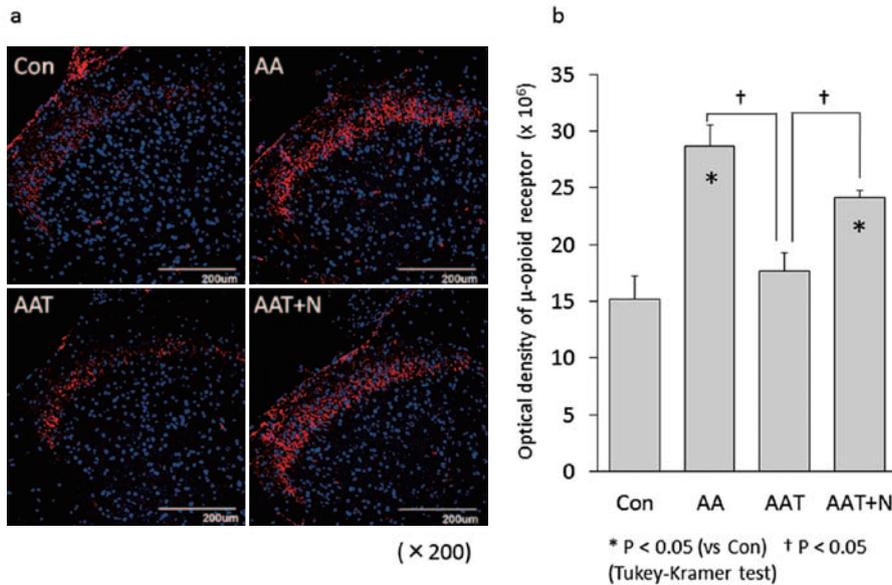


Fig. 6 Influences of TENS and naloxone on the μ -opioid receptor (MOR) expression in the spinal dorsal horn (L4 level).

(a) Immunofluorescent images showing MOR (red) and the nucleus (blue). (b) The optical density (OD) of MOR in the superficial part of the dorsal horn. The expression of MOR was significantly increased in the AA group compared with the Con group (* $P < 0.05$). This increase was significantly inhibited in the AAT group compared with the AA group ($\dagger P < 0.05$) but was not inhibited in the AAT+N group. Con (Control group), AA (Adjuvant Arthritis rats group), AAT (TENS-treated AA rats group) and AAT+N (naloxone-treated AAT rats group).

び AAT 群と比較し有意に MOR は増加した (Fig. 6b).

考 察

電気鍼や TENS などの電気刺激療法はその刺激周波数によって作用機序が異なると考えられている。低周波 (1~9 Hz) 通電では、 β エンドルフィンやエンケファリンなどの内因性オピオイドの作用と、下行性疼痛抑制系を介した鎮痛が生じる。この場合、効果が生じるまで 20~30 分の誘導時間は必要であるが、刺激終了後も鎮痛効果は持続し、全身的に痛覚抑制が生じる²³⁾。一方、高周波 (50~200 Hz) 通電ではダイノルフィンによる内因性オピオイドの作用と、ゲートコントロール説に基づいた脊髄分節性の鎮痛が生じる。即効性はあるが、刺激をやめるとすぐに効果は消失する²³⁾。両者の特徴を活かし、低周波と高周波を組み合わせて用いられることもある²⁴⁾。本研究では、刺激終了後も鎮痛効果の持続が期待できる 4 Hz の低周波刺激を経皮的に

AA ラットの患部に施した。14 日間計 6 回の TENS によって疼痛閾値の低下が有意に抑制された (Fig. 3)。TENS が関節リウマチ患者の慢性疼痛を軽減させたという報告があるが²⁵⁾、本動物モデルを用いた実験においても同様の結果が得られた。

もし、TENS に消炎作用があれば、その結果として鎮痛が起こった可能性もある。そこで、足容積の測定も行った (Fig. 4)。AA 誘発によって患側の足容積は有意に増大した。実験 14 日目でも、AA 群と TENS を施した AAT 群との間に差はなく、TENS による明らかな炎症の抑制は認められなかった。過去の報告でも TENS の抗炎症作用は否定されている²²⁾。しかし、今回は足容積の変化だけを指標にした評価であるため、今後は組織学的あるいは生化学的な側面からも TENS の抗炎症作用について検討する必要がある。

次に、低周波 TENS の作用機序として内因性オピオイドの関与に着目した。低周波の鍼通電や TENS は β エンドルフィンなどの内因性オピオイドの分泌

を促進し、これが鎮痛に関与していると考えられている^{7-9, 11, 12}。AA 誘発による慢性炎症性疼痛に対する TENS の鎮痛効果は、MOR 拮抗薬ナロキソンの前投与により抑制されたが、これは完全な抑制ではなかった (Fig. 5)。この結果から、低周波 TENS による鎮痛作用の機序のひとつに、MOR を介した内因性オピオイドの作用があると考えられる。

分泌された内因性オピオイドは、脳内では中脳水道灰白質、延髄巨大細胞網様核、傍巨大細胞網様核および大縫線核に作用し、脊髄に投射する下行性ノルアドレナリン神経およびセロトニン神経の賦活化を介して、脊髄後角における痛覚情報伝達を抑制したり、大脳皮質や視床などの上位中枢に作用して痛覚情報伝達を抑制する。また脊髄後角では、求心性一次ニューロン終末からのグルタミン酸やサブスタンス P、CGRP などの神経伝達物質の遊離を抑制するシナプス前抑制と、二次ニューロンの活性化を抑制するシナプス後抑制をもたらし、鎮痛効果を生むと考えられている¹⁰。Zhang らは、脊髄 MOR の発現を抑制した動物モデルにおいては、電気鍼による鎮痛作用が得られなかったことを報告している²⁶。このようにオピオイドの作用効果は MOR の発現量に左右されるが、脊髄後角における MOR の発現は病態によって異なり、坐骨神経結紮モデルや帯状疱疹後神経痛モデル動物においては減少するのに対し、アジュバント関節炎モデルラットでは増加することが報告されている^{13, 14, 27}。本研究でも同様に、AA 群では MOR の発現が増加したが、TENS によってその増加は有意に抑制された (Fig. 6)。Goff らは¹³、慢性炎症性疼痛が MOR の発現を増加させた理由として、増加した末梢からの侵害刺激信号を脊髄レベルで抑制しようとしたためと推察している。TENS による電気刺激が MOR に直接的に作用するか否かは今後の研究課題であるが、TENS によって MOR の増加が抑制されたのは鎮痛効果が得られた結果と考えるのが妥当である。ただこれは、14 日目のみの MOR の変化を観察した結果で、鎮痛効果が得られる途中の段階では、TENS が MOR の発現をさらに増加させることによって鎮痛が得られた可能性も考えられるため、今後は経時的に MOR の発現の変化を追っていく必要がある。

低周波 TENS は慢性炎症性疼痛に対し有用であり、鎮痛効果の発現には MOR に作用する内因性オ

ピオイドが関与していることが本研究によって示唆された。炎症性疼痛に対しては NSAIDs やステロイド製剤などが頻用されているが、胃腸障害などの副作用が問題で服用困難なことがあり²⁸、患者の状況に応じ、TENS は治療の選択肢の一つとなりうる。

利益相反

本研究に関し開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Shapiro S. 電気治療. Michelle H, Cameron MH 編著. EBM 物理療法. 第 3 版. 東京: 医歯薬出版; 2010. pp217-254.
- 2) 中山登稔, 林 知也著. 臨床現場における経皮的神経電気刺激療法. 東京: 医歯薬出版; 2011.
- 3) Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science*. 1965;150:971-979.
- 4) Reynolds DV. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. *Science*. 1969;164:444-445.
- 5) Feng XM, Mi WL, Xia F, *et al.* Involvement of spinal orexin A in the electroacupuncture analgesia in a rat model of post-laparotomy pain. *BMC Complement Altern Med*. 2012;12:225.
- 6) Chen XH, Han JS. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav Brain Res*. 1992;47:143-149.
- 7) 石丸圭荘. 腹部外科手術後疼痛に対する鍼鎮痛の効果と内因性鎮痛物質の関係. 明治鍼灸医. 2000;26:11-22.
- 8) Fei H, Xie GX, Han JS. Low and high frequency electroacupuncture stimulations release (Met⁵) enkephalin and dynorphin A in rat spinal cord. *Chin Sci Bull*. 1987;32:1496-1501.
- 9) Han JS. Acupuncture: neuropeptide release produced by electrical stimulation of different frequencies. *Trends Neurosci*. 2003;26:17-22.
- 10) 南 雅文. オピオイド受容体. 医のあゆみ. 2010; 233:899-904.
- 11) Han JS, Chen XH, Sun SL, *et al.* Effect of low- and high-frequency TENS on Met-enkephalin-Arg-Phe and dynorphin A immunoreactivity in human lumbar CSF. *Pain*. 1991;47:295-298.
- 12) Hughes GS Jr, Lichstein PR, Whitlock D, *et al.* Response of plasma beta-endorphins to transcutaneous electrical nerve stimulation in healthy subjects. *Phys Ther*. 1984;64:1062-1066.
- 13) Goff JR, Burkey AR, Goff DJ, *et al.* Reorganization of the spinal dorsal horn in models of chronic pain: correlation with behaviour. *Neu-*

- rosience*. 1998;82:559-574.
- 14) Mousa SA, Machelska H, Schäfer M, *et al*. Immunohistochemical localization of endomorphin-1 and endomorphin-2 in immune cells and spinal cord in a model of inflammatory pain. *J Neuroimmunol*. 2002;126:5-15.
 - 15) Zhang Q, Schäfer M, Elde R, *et al*. Effects of neurotoxins and hindpaw inflammation on opioid receptor immunoreactivities in dorsal root ganglia. *Neuroscience*. 1998;85:281-291.
 - 16) Maekawa K, Minami M, Masuda T, *et al*. Expression of mu- and kappa-, but not delta-, opioid receptor mRNAs is enhanced in the spinal dorsal horn of the arthritic rats. *Pain*. 1996;64:365-371.
 - 17) Dickenson AH, Sullivan AF. Electrophysiological studies on the effects of intrathecal morphine on nociceptive neurones in the rat dorsal horn. *Pain*. 1986;24:211-222.
 - 18) Cheunsuang O, Maxwell D, Morris R. Spinal Lamina I neurones that express neurokinin 1 receptors: II. Electrophysiological characteristics, responses to primary afferent stimulation and effects of a selective mu-opioid receptor agonist. *Neuroscience*. 2002;111:423-434.
 - 19) Colpaert FC. Evidence that adjuvant arthritis in the rat is associated with chronic pain. *Pain*. 1987;28:201-222.
 - 20) Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 1957;111:409-419.
 - 21) Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, *et al*. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science*. 2000;288:306-313.
 - 22) Resende MA, Sabino GG, Cândido CR, *et al*. Local transcutaneous electrical stimulation (TENS) effects in experimental inflammatory edema and pain. *Eur J Pharmacol*. 2004;504:217-222.
 - 23) 北出利勝, 角谷英治. SSP療法における鎮痛効果に有効な通電頻度の検討(その1). 東方医. 2013;29:39-46.
 - 24) 北出利勝, 角谷英治. SSP療法における鎮痛効果に有効な通電頻度の検討(その2). 東方医. 2013;29:47-54.
 - 25) Mannheimer C, Carlsson CA. The analgesic effect of transcutaneous electrical nerve stimulation (TNS) in patients with rheumatoid arthritis. A comparative study of different pulse patterns. *Pain*. 1979;6:329-334.
 - 26) Zhang RX, Wang L, Liu B, *et al*. Mu opioid receptor-containing neurons mediate electroacupuncture-produced anti-hyperalgesia in rats with hind paw inflammation. *Brain Res*. 2005;1048:235-240.
 - 27) 高崎一郎. 帯状疱疹痛と帯状疱疹後神経痛の動物モデルの開発及びアロディニアの発生と抑制作用の機序の解明. 薬誌. 2011;131:299-306.
 - 28) Singh G. Recent considerations in nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Am J Med*. 1998;105:31S-38S.

ANTINOCICEPTIVE EFFECT OF LOW-FREQUENCY TRANSCUTANEOUS
ELECTRICAL NERVE STIMULATION VIA AN OPIOID MECHANISM IN
RATS WITH ADJUVANT ARTHRITIS

Hideshi IKEMOTO¹⁾, Masataka SUNAGAWA¹⁾, Haruto KATAHIRA¹⁾,
Noriyuki SERADA¹⁾, Yoshiyuki KOBAYASHI¹⁾, Takeshi HIGUCHI¹⁾,
Mayumi OKADA²⁾, Taketoshi SEINO^{1,3)}, Naoko HISAMITSU¹⁾
and Tadashi HISAMITSU¹⁾

¹⁾Department of Physiology, Showa University School of Medicine

²⁾Department of Anesthesiology, Showa University School of Medicine

³⁾Department of Orthopaedic Surgery, Showa University School of Medicine

Abstract — The aim of this study was to investigate the effect and mechanism of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) in rats with chronic inflammatory pain. 1) Investigation of the antinociceptive effect. Rats were divided into four groups: the Control group, the TENS-treated control rats (TENS) group, the Adjuvant Arthritis rats (AA) group, and the TENS-treated AA rats (AAT) group. The stimulus (4Hz, 30 min) was applied three times a week for two weeks, after which the paw volume and the pain threshold were detected. The paw volume in the rats with arthritis induced by a mycobacterial adjuvant was significantly increased and the swelling was not controlled by the TENS treatment. The threshold was significantly decreased in the AA group compared with the Control group, but on day 14 these decreases were inhibited in the AAT group. 2) Investigation of the involvement of the endogenous opioids system. The rats were divided into four groups: the Control group, the AA group, the AAT group and the naloxone-treated AAT rats (AAT+N) group. In the AAT+N group, 3 mg/kg of naloxone, an opioid antagonist, was subcutaneously administered before the TENS treatment. The pain threshold was detected on days 0, 7 and 14 and the μ -opioid receptor (MOR) level in the spinal cord was analyzed immunohistochemically on day 14. The antinociceptive effect of TENS was attenuated by the administration of naloxone. The expression of MOR in the dorsal horn was increased in the AA group compared with the Control group. This increase was inhibited by TENS treatment. These results suggest that low-frequency TENS treatment has an antinociceptive effect on chronic inflammatory pain in association with the endogenous opioid system.

Key words: transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS), chronic inflammatory pain, antinociceptive effect, opioid, adjuvant arthritis rat model

[受付 : 1月8日, 受理 : 1月19日, 2015]