

ラット坐骨神経に対する高周波熱凝固の効果

奈良県立三室病院麻酔科

岩 阪 友 裕

THE EFFECTS OF RADIOFREQUENCY THERMOCOAGULATION ON THE RAT SCIATIC NERVE

TOMOHIRO IWASAKA

Department of Anesthesiology, Nara Prefectural Mimuro Hospital

Received February 4, 2004

Abstract : We applied radiofrequency thermocoagulation(R.F.T.C) to the rat sciatic nerve on one side of the body. Animals were divided into four groups, to which R.F.T.C was applied at temperatures of 50, 60, 70 and 80 °C, respectively, for 45 seconds. Autotomy, motor function, and response to heat and mechanical stimulation were examined for 6 weeks. Autotomy was observed in the foot on the R.F.T.C side, in proportion to the increase in the R.F.T.C temperature above 60 °C. Normal responses of digit spread, grip strength and foot drop in motor function were reduced immediately after R.F.T.C treatment, and then recovered slowly at a rate dependent on the temperature. A nociceptive test based on heat stimulation of the plantar showed temporary hyperalgesia on the R.F.T.C side. A touch sensitivity test for mechanical stimulation using Von Frey hair filaments was more sensitive on the R.F.T.C side with increased temperature. It was concluded that these rats had similar characteristics to a neuropathic pain model.

In a second study, we administered sarpogrelate hydrochloride orally to rats with R.F.T.C applied to the sciatic nerve at 70 °C for 45 seconds. Each rat was then examined for 8 weeks. In the sarpogrelate hydrochloride group, the R.F.T.C effects decreased in both number and extent of autotomy, and the abnormal motor function response, and especially the grip strength, recovered a little more quickly. Hyperesthesia observed upon heat and mechanical stimulation also declined more rapidly, and the number of animals with this condition decreased. Histologically, we have observed axon degeneration in the sciatic nerve on the R.F.T.C side, and reduced degeneration was observed following sarpogrelate hydrochloride treatment. Sarpogrelate hydrochloride is a selective serotonin (5HT₂) receptor antagonist that results in anticoagulation of thrombocytes and expansion of blood vessels. Hence, it may have positive effects on the microcirculation following R.F.T.C-induced nerve injury.

Key words : radiofrequency thermocoagulation, neuropathic pain, autotomy, hyperesthesia, sarpogrelate hydrochloride

緒 言

高周波熱凝固法は、高周波のエネルギーを熱エネルギーに変換し、特殊なブロック針(先端が非絶縁部)の先端の温度を上昇させ、組織を熱凝固する方法で、最近疼痛疾患の痛みの治療に利用されており^{1,2)}、特にその高周波熱凝固を神経に対して使用することで有効に痛みを軽減することが可能である。しかしその機序は未だ不明で、また凝固温度や凝固時間の組み合わせによりどのような反応が生じるかも不明である。すなわち、軽い神経鞘の損傷から、神経線維の破壊まで起こしうる。そのため高周波熱凝固を神経に対して用いるには未だ不明な点が多く、方法や適応疾患を十分考慮する必要がある。

本研究では、第一の研究として、ラットの坐骨神経に熱凝固温度設定を変えて高周波熱凝固をおこない、熱凝固後の反応を観察した。自傷行為の観察、運動機能検査、熱刺激検査、機械的刺激検査をおこない、神経因性疼痛モデルと同様の反応を示すかを調べた。

ついで第二の研究として、セロトニン(5HT)₂受容体の特異的拮抗薬で血小板凝集抑制作用及び血管収縮抑制作用を持つ塩酸サルボグレラートが、神経因性疼痛症例に試みられているが、有効性は確立していない。塩酸サルボグレラート投与による高周波熱凝固施行ラット坐骨神経の神経因性疼痛様の反応におよぼす影響を検討した。

対象と方法

1) 対象

2週間程度予備飼育したWister系6週齢(体重150~200g)の雄性的ラット68匹を使用した。ラットは、室温 $22.4 \pm 1.6^\circ\text{C}$ 、湿度 $63.22 \pm 2.5\%$ の環境下で、飼料は日本クレアCE-2、水道水自動給水により飼育した。

2) 手術

手術は、ペントバルビタール40mg/kgを腹腔内投与後、腹臥位で大腿二頭筋を鈍的に剥離し、両側の坐骨神経を約1cm程度露出した。右坐骨神経に対しては高周波熱凝固をおこない、左坐骨神経は、熱凝固は施行せず他は全く同様の処置をおこない、閉創した。

3) 高周波熱凝固法

高周波熱凝固装置は、Radionics社製Model RFG-3B Lesion Generator Systemを使用した。この装置は、ブロック針先端の温度設定を変えることが可能で、熱凝固時間も5~180秒まで調節可能である。また、刺激をおこなうモードがあり、熱凝固前の針の位置確認に利用できる。

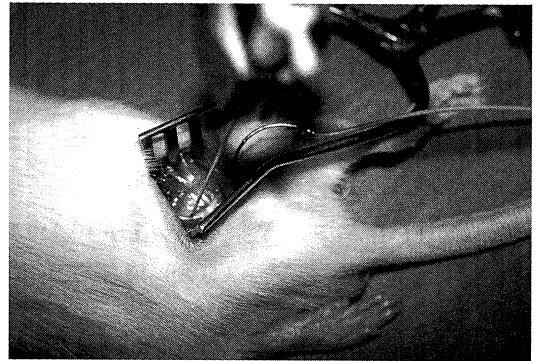


Fig. 1. A rat was anesthetized with sodium pentobarbital. The common sciatic nerve was exposed at the level of the middle of the thigh by blunt dissection through biceps femoris. We applied radiofrequency thermocoagulation to the rat sciatic nerve using a sluyter needle.

熱凝固用のブロック針(Type SMK Sluyter-Mehta cannula 先端4mmが非絶縁部)を使用し、坐骨神経に接するように、かつ神経を損傷しないように刺入した。ブロック針の位置確認は刺激をおこない、2Hzで0.1mAから0.5mAの範囲で、刺激側下肢が反応するように刺入し直し、固定した(Fig.1)。熱凝固前に、ブロック針が坐骨神経に接している部位に1%リドカイン0.1mlを滴下し、5分後に高周波熱凝固をおこなった。熱凝固後、ブロック針は神経を損傷しないように抜去した。

4) 群構成

- (1) 28匹のラットを、高周波熱凝固の温度条件を50 $^\circ\text{C}$ 、60 $^\circ\text{C}$ 、70 $^\circ\text{C}$ 、80 $^\circ\text{C}$ の7匹ずつ4群に分けて、各45秒間の高周波熱凝固をおこなった。熱凝固後最初の2週間は2日毎に、それ以降は1週毎に熱凝固後計6週間にわたり、下記の観察項目について調べた。
- (2) 40匹のラットに70 $^\circ\text{C}$ 45秒間高周波熱凝固をおこない、2群に分けた。塩酸サルボグレラート投与群(n=20)は、手術翌日より、塩酸サルボグレラート100mg/kgを蒸留水に溶解し連日経口投与した。非投与群(n=20)は、塩酸サルボグレラートを含まない同量の蒸留水を連日経口投与した。手術後最初の2週間は2日毎に、それ以降は1週毎に熱凝固後8週間にわたり、下記の観察項目について調べた。

5) 観察項目

(1) 自傷行為

Wall's scale³⁾を用い、1趾でも足趾の爪を噛み傷つけていれば1点、足趾骨遠位を損傷してあれば1趾につき1点、足趾骨近位まで損傷してあれば1趾につき

1点とし、11点満点で判定した。自傷行為がなければ0点とした。

(2) 侵害熱刺激検査 - Plantar test

Hargreaves らの方法⁴⁾に従い、熱刺激に対する反応を測定した。ラットを、ガラス板の上に置いた3区画に仕切られたプラスチックチャンバーの中に1匹ずつ入れ、無拘束の状態で約10分程度チャンバーの中で慣らした後、ガラス板の下からハロゲンランプを光源とする輻射熱を、ガラス板越しに2mm×4mmの範囲に当て、熱刺激によってラットの足底部がガラス板から離れると、自動的に熱刺激が止まり、刺激時間が表示されるようになっている。熱刺激の強度は正常ラットが約10秒程度で足底部がガラス板から離れるように設定した。また熱による火傷防止のため、最高20.7秒で刺激は自動的に止まるように設定されている。

各群のラット両足に熱刺激を加え、刺激に反応し足を上げるまでの時間P.W.L.(Paw withdrawal latency)を測定し、結果は、高周波熱凝固側とSham側の反応時間(P.W.L.)を比較した。同一ラットの刺激は少なくとも10分間はあけ、各足底に各々3回ずつテストをおこない、高周波熱凝固側とSham側のP.W.L.の秒差P.W.L.D.(P.W.L.D.:P.W.L. difference)を計算し、3回の平均値P.W.L.D.A.(P.W.L.D. average)を計算した。

(3) 機械的刺激検査 - Withdrawal threshold test

(Von Frey hair filaments を用いる Yoram Shir らの方法⁹⁾)

Semmes Weinstein Aesthesimeters (Stoelting Co.)は、径の異なる20種類のhair filamentからなるキットで、各hair filamentの先端にかかる力はそれぞれ異なり決まっている。騒音のない静かな部屋で、ラットをスチール製の網のケージに入れ、無拘束の状態ですら約10分間放置した後、細い径のhair filamentから順にケージ下部よりラットの足底部に約1.5秒間程度filamentがたわむまで刺激を加え、ラットが下肢を挙上した時のfilamentの先端圧F.F.(Filament force)(grams)を調べた。高周波熱凝固側とSham側を交互に少なくとも10分間は間隔をあけて3回検査をおこない、高周波熱凝固側とSham側の圧差F.F.D.(F.F. difference)をそれぞれ計算し、3回の平均値F.F.D.A.(F.F.D. average)を計算した。

(4) 運動機能検査(Michael らの方法⁹⁾)

以下の3種類のテストをおこない、3段階に評価した。正常な反応を示せば2、力は残っているが異常である場合を1、全く反応がない場合を0とした。

① Digit spread: ラットを持ち上げ、ケージに降ろした時に足趾を十分広げる力があるか

② Grip strength: ラットを持ち上げ、ケージに降ろした時にケージをつかもうとする足趾の力が十分あるか

③ Foot drop: ラットを持ち上げ、ケージに降ろした時に足趾で踏ん張ろうとする力が十分あるか

6) 電子顕微鏡的組織学検査

70℃ 45秒間の高周波熱凝固をおこない、塩酸サルボグレラート投与群と非投与群から無作為に数匹ずつ抽出し、投与4週間後に両側のラット坐骨神経を採取し、組織標本にした。

組織標本作製法～採取した組織にPBSを添加し、1mm角以下に細切し、2%グルタルアルデヒドにて4℃ 120分で振盪固定した。0.1%PBSで洗浄し、1%四酸化オスミウムで4℃ 120分間後固定した。アルコールで脱水後、樹脂包埋した。熱重合硬化後、超薄切片を作製し、酢酸ウラン及びクエン酸鉛で二重染色を施し、透過型電子顕微鏡(日本電子JEM-1200EX)で観察し、撮影した。

7) 統計学的分析

塩酸サルボグレラート投与群と非投与群の有意差検定は、二元配置の分散分析、 χ^2 乗検定を用いた同等性の検定をおこない、危険率5%以下を有意差ありとした。

結 果

1) 自傷行為

(1) 自傷行為を起こしたラットの写真をFig.2に示す。

50℃の熱凝固では、自傷行為は全く観察されなかった。

自傷行為は、60℃以上の熱凝固温度群で観察され、熱凝固温度が高い程自傷行為を示すラットが増えた。

Wall's scaleも熱凝固温度を上げれば高くなる傾向が見られた。各温度条件での自傷行為が観察されたラット数の経過をFig.3に示す。また各熱凝固温度において自傷行為が観察されたラットのWall's scaleのスケール別のラット数をFig.4に示す。観察されたスケールの最高は、80℃の熱凝固群の5であった。

(2) サルボグレラート投与群と非投与群の自傷行為が観察されたラット数の経過をFig.5に、スケール別にラット数をFig.6に示す。サルボグレラート投与群で自傷行為が観察されるラットが減少し、21日目以降非投与群との間で有意差が認められた。

サルボグレラート投与群のWall's scaleは1匹以外全て1で、非投与群も1が多かったが3～7まで高いスケールを示すラットもいた。しかし、スケールにおいては、サルボグレラート投与群と非投与群の間に有



Fig. 2. Autotomy was observed in the hindlimb on the radiofrequency thermocoagulation side. The rat attacked the own claws and hindlimb. The phenomenon of autotomy was a result of unusual and unpleasant sensations referred to the injured nerve.

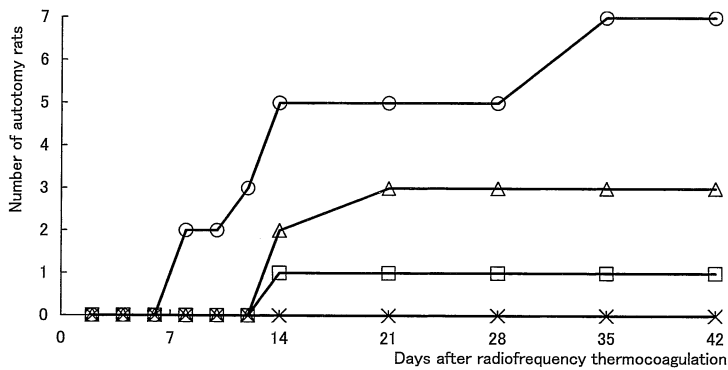


Fig. 3. Radiofrequency thermocoagulation was applied at the temperature of 50,60,70 and 80 °C. We observed autotomy of the rats for six weeks.

—x— 50°C —□— 60°C —△— 70°C —○— 80°C

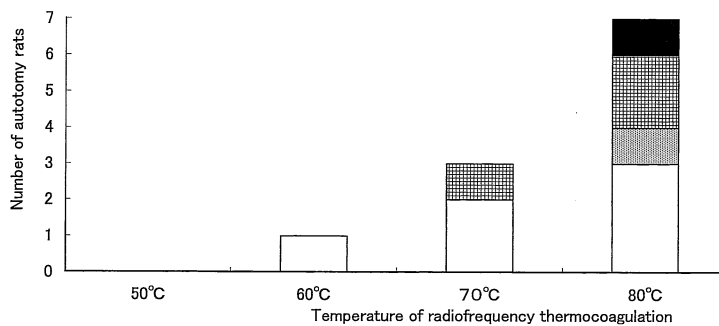


Fig.4. Autotomy was observed above 60°C and Wall's scale of autotomy was high in proportion to the increase in the temperature of radiofrequency thermocoagulation. □ scale 1 ▤ scale 2 ▥ scale 3 ■ scale 5

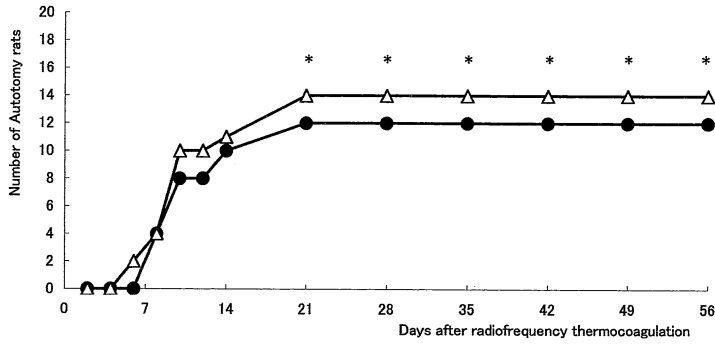


Fig.5. We observed autotomy of rats in sarpogrelate group (n=20) and non-sarpogrelate group (n=20) for eight weeks after radiofrequency thermocoagulation.
 ● Sarpogrelate group △ Non-sarpogrelate group * P<0.05

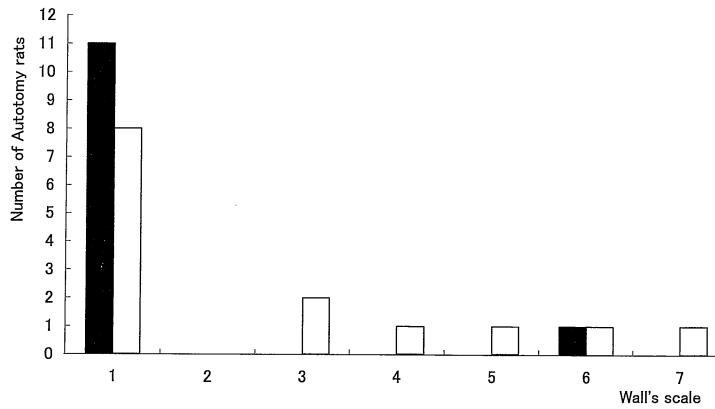


Fig.6. Autotomy rats were examined in Wall's scale in sarpogrelate group and non-sarpogrelate group.
 ■ Sarpogrelate group □ Non-sarpogrelate group

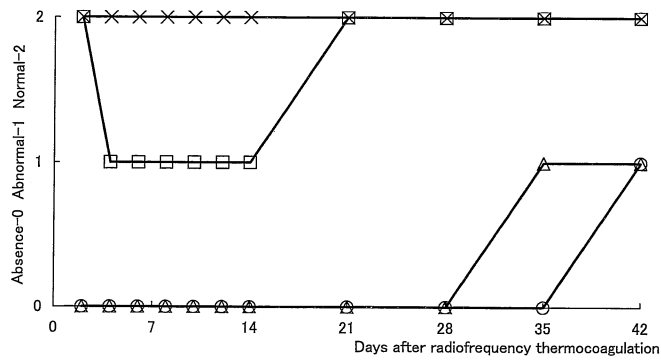


Fig.7. The first behavior of *digit spread* in motor function was examined for six weeks after radiofrequency thermocoagulation. Absence of the response was 0, abnormal response was 1 and normal response was 2.
 × 50°C □ 60°C △ 70°C ○ 80°C

意差がみられなかった。

2) 運動機能検査

Digit spread, Grip strength, Foot drop の運動機能に関して、最高点 2 点、最低点 0 点で各群の中央値の推移を示した。

(1) Digit spread

① 50℃ の熱凝固群は、正常な反応を示した。60℃ の熱凝固群では熱凝固後 4 日目から 14 日目まではやや異常反応が見られ、熱凝固 21 日目以降は正常反応に回復した。70℃ の熱凝固群では熱凝固直後より反応が消失し、35 日目に異常ながら反応がでてきた。80℃ の熱凝固群では 35 日目まで反応消失、42 日目に反応は異常ながら出現した。

60℃ 以上で熱凝固温度を上げていけば異常反応

を示すラットが増え、回復するまで日数を要した (Fig.7).

②サルボグレラート投与群と非投与群の間に有意差はなかった (Fig.8).

(2) Grip strength

① 50℃ の熱凝固群では、2 日目に異常な反応を示したが、4 日目以降は正常反応が続いた。60℃ の熱凝固群では 14 日目までは異常な反応が見られたが、21 日目以降は正常反応を示した。70℃ の熱凝固群では熱凝固後 21 日目まで反応はなく、28 日目から反応があらわれ軽度回復したが、42 日間で完全な回復は見られなかった。80℃ の熱凝固群では熱凝固後 35 日目まで反応は見られず、42 日目に回復傾向が見られた (Fig.9).

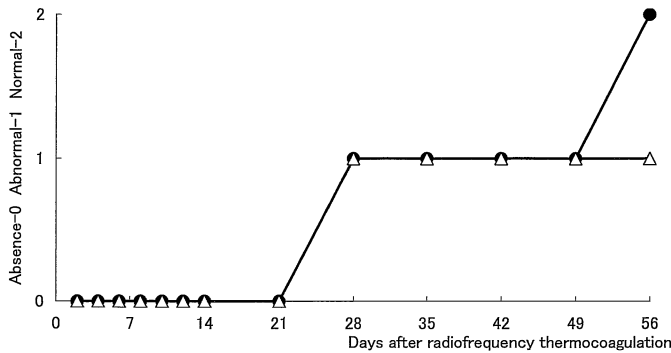


Fig.8. The behavior of *digit spread* in motor function was examined in saropogrelate group and non-saropogrelate group for eight weeks after radiofrequency thermocoagulation. Absence of the response was 0, abnormal response was 1 and normal response was 2. ● Saropogrelate group △ Non-saropogrelate group

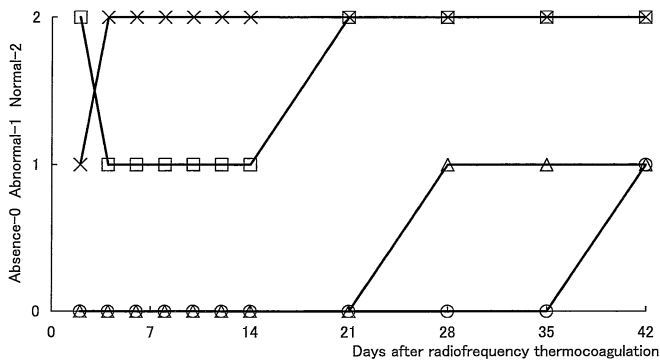


Fig.9. The second behavior of *grip strength* in motor function was examined for six weeks after radiofrequency thermocoagulation. Absence of the response was 0, abnormal response was 1 and normal response was 2. × 50°C □ 60°C △ 70°C ○ 80°C

②サルボグレラート投与群は28日目に非投与群に比べ1週間早く回復傾向が見られ、42日目には正常反応を示したが、非投与群は56日目まで異常反応を示した。

56日目で有意差が認められた(Fig.10).

(3)Foot drop

①50℃, 60℃の熱凝固群は、観察期間中正常反応が続いた。70℃, 80℃の熱凝固群では、熱凝固直後2日目は反応が見られなかったが、4日目以降は回復し正常反応が続いた(Fig.11).

②サルボグレラート投与群と非投与群の間で有意差は認められなかった(Fig.12).

以上の結果から、運動機能に関しては、特にDigit spread, Grip strength テストにおいて、熱凝固温度を

上げれば異常反応を示すラットが増え、経過と共に回復傾向を示した。70℃,80℃の熱凝固群は、正常反応まで回復するまでにかなりの時間を要する場合が多く、観察期間42日間では完全な回復が得られなかった。

サルボグレラート投与群では、非投与群に比べGrip strength の反応が早く回復する傾向がみられた。

3) 侵害熱刺激検査 -Plantar test

(1) 各温度条件でのP.W.L.D.A.の経過を Fig.13 に示す。50℃の熱凝固群では、全経過観察中、P.W.L.D.は0秒前後で、熱刺激に対する反応時間は、熱凝固側とsham側との間に差はほとんどなかった。60℃以上の熱凝固温度では温度が高くなれば、P.W.L.D.が高く痛覚低下が強くなったが、経過中P.W.L.D.がマイナスつまり熱凝固側の反応時間が著しく短縮し痛覚過敏を示

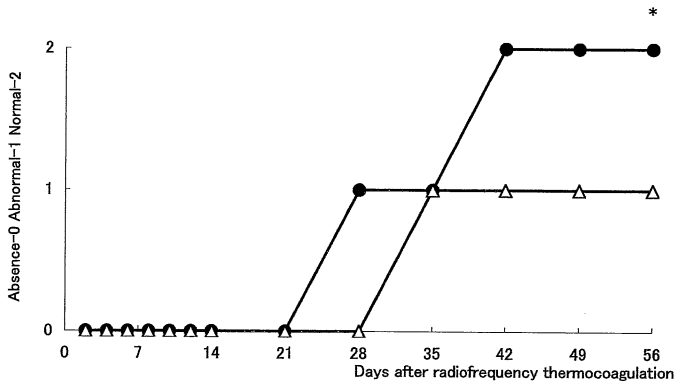


Fig.10. The behavior of *grip strength* in motor function was examined in sarpogrelate group and non-sarpogrelate group for eight weeks after radiofrequency thermocoagulation. Sarpogrelate group had normal response earlier than non-sarpogrelate group. ● Sarpogrelate group △ Non-sarpogrelate group * P<0.05

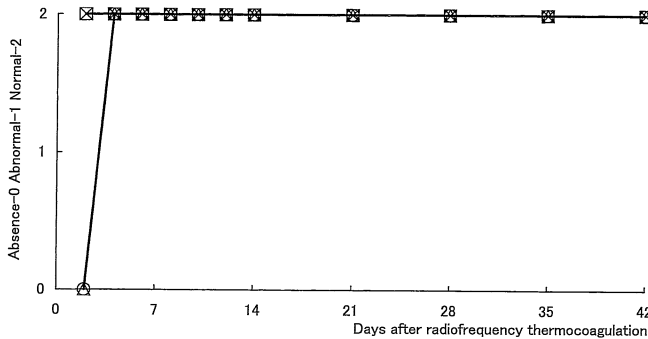


Fig.11. The third behavior of *foot drop* in motor function was examined for six weeks after radiofrequency thermocoagulation. This behavior was recovered early after R.F.T.C. × 50℃ □ 60℃ △ 70℃ ○ 80℃

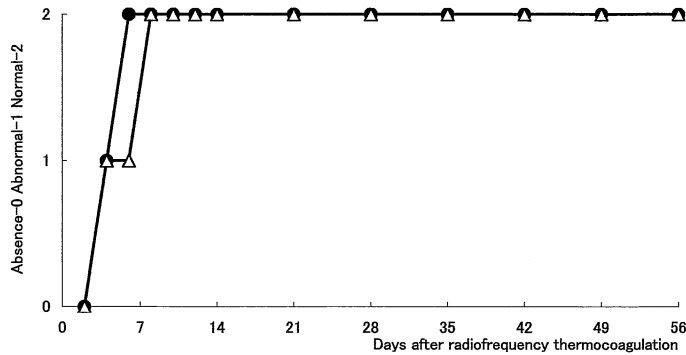


Fig.12. The behavior of *foot drop* in motor function was examined in sarpogrelate group and non-sarpogrelate group for eight weeks after radiofrequency thermocoagulation. ● Sarpogrelate group ▲ Non-sarpogrelate group

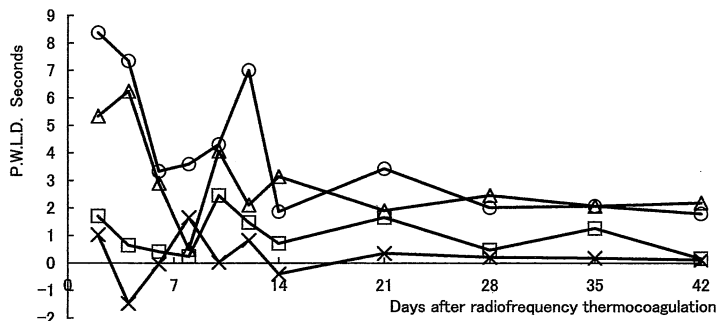


Fig.13. Heat stimulation test was examined for six weeks after radiofrequency thermocoagulation. × 50°C □ 60°C ▲ 70°C ○ 80°C
P.W.L.D.=Paw withdrawal latency difference (Radiofrequency thermocoagulation side paw - The opposite side paw) seconds

したラットがあらわれた。

次に、Plantar testの結果、P.W.L.D.の値から以下の3群に分けて検討した(Fig.14)。

- ① Normal rat ~全経過観察中、常に $-2.0 < P.W.L.D. < 2.0$ の範囲内であったラット。
- ② Hypoalgesia rat ~一時も $P.W.L.D. \leq -2.0$ になることがなく、 $P.W.L.D. \geq 2.0$ が持続したラット。
- ③ Hyperalgesia rat ~経過中一時的でも $P.W.L.D. \leq -2.0$ であったラット。

50°Cの熱凝固群では、痛覚低下の1匹以外は、全て正常であった。

痛覚過敏は、60°Cの熱凝固群では8日目に3匹、70°Cの熱凝固群では8~28日目(中央値14日目)に4匹、80°Cの熱凝固群では21~42日目(中央値35日目)に4匹あらわれた。

以上の結果から、60°C ~ 80°Cの熱凝固温度群は、経過観察中に一時期ではあるが熱刺激に対して痛覚過敏がみられた。一方、痛覚過敏がみられず痛覚低下だけを示すラットもいた。また熱凝固温度を上げると、痛覚過敏があらわれる時期が遅くなる傾向があった。

(2) サルボグレラート投与群と非投与群のP.W.L.D.A.の経過をFig.15に示す。サルボグレラート投与群のP.W.L.D.は、経過とともに非投与群よりは早く0に近づき、つまり痛覚異常が非投与群に比べ早く改善する傾向があった。投与35日目以降有意差が認められた。

また、サルボグレラート投与群は全経過中痛覚過敏を示したラットが非投与群に比べ減ったが、非投与群との間に有意差は認められなかった(Fig.16)。

4) 機械的刺激検査— Withdrawl threshold test

① 観察期間中のF.F.D.A.の経過をFig.17に示す。

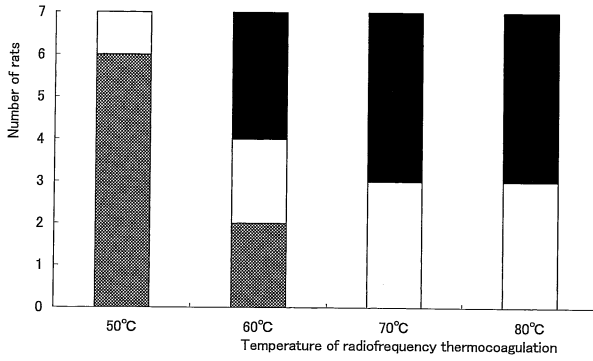


Fig.14. We defined that normal was $-2.0 < P.W.L.D. < 2.0$, hypoalgesia was $P.W.L.D. \geq 2.0$ and hyperalgesia was $P.W.L.D. \leq -2.0$ in the heat stimulation test.

■ Normal □ Hypoalgesia ■ Hyperalgesia

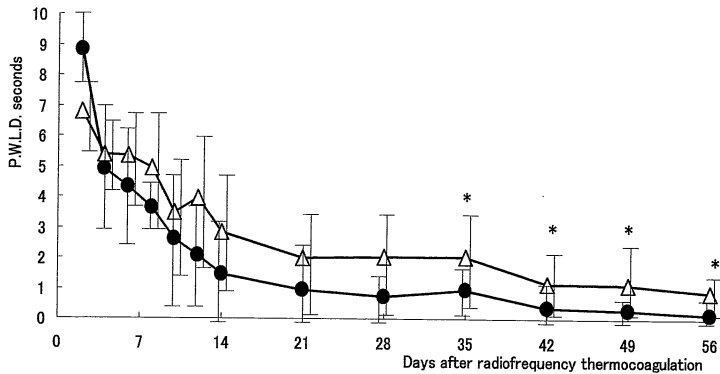


Fig.15. Heat stimulation test was examined to the rats in sarpogrelate group and non-sarpogrelate group, to which radiofrequency thermocoagulation was applied at 70°C for 45 seconds. P.W.L.D. was smaller from 35th to 56th in sarpogrelate group.

● Sarpogrelate group ▲ Non-sarpogrelate group * $P < 0.05$
 P.W.L.D = Paw withdrawal latency difference
 (Radiofrequency thermocoagulation side paw - The opposite side paw) seconds

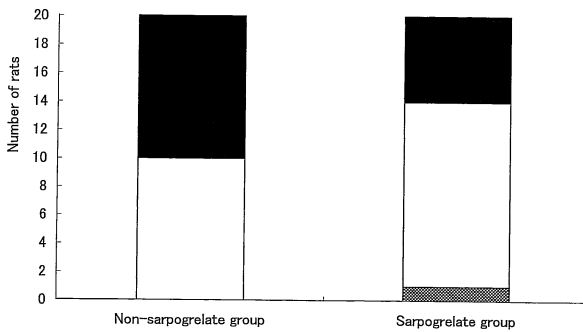


Fig.16. Heat stimulation test for eight weeks after radiofrequency thermocoagulation at 70°C for 45 seconds. Hypoalgesia rats increased and hyperalgesia rats decreased in sarpogrelate group.

■ Normal □ Hypoalgesia ■ Hyperalgesia

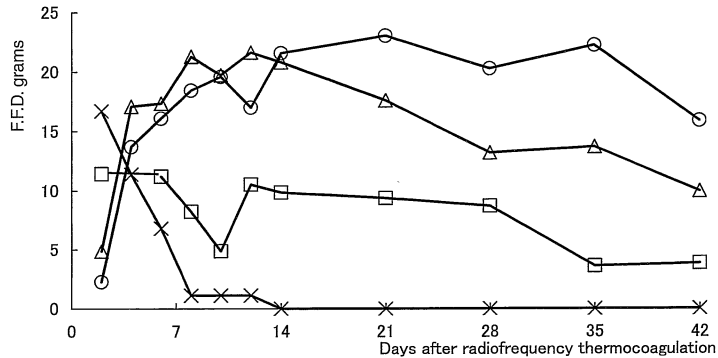


Fig.17. Mechanical stimulation test using Von Frey filaments was examined for six weeks after radiofrequency thermocoagulation. It was more sensitive on the radiofrequency thermocoagulation side with increased temperature.

× 50°C □ 60°C △ 70°C ○ 80°C
 F.F.D.: Filament force difference
 (The opposite side paw - Radiofrequency thermocoagulation side paw) grams

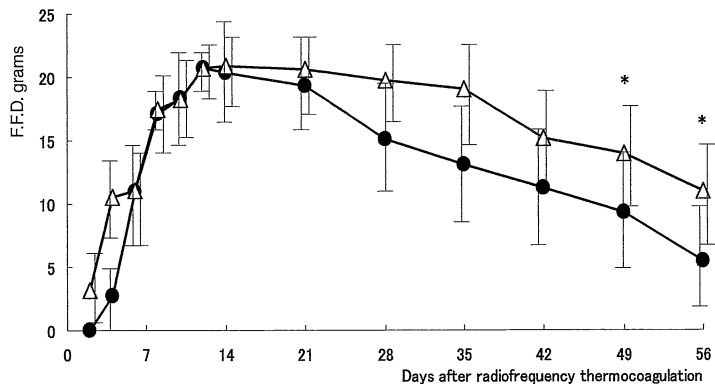


Fig.18. Mechanical stimulation test using Von Frey filaments was examined for eight weeks in sarpogrelate group and non-sarpogrelate group. Non-sarpogrelate group was more sensitive from 49th to 56th than sarpogrelate group.

● Sarpogrelate group △ Non-sarpogrelate group * P<0.05
 F.F.D.: Filament force difference
 (The opposite side paw - Radiofrequency thermocoagulation side paw) grams

F.F.D. が高ければ Von Frey hair filament による機械的刺激に対して過敏であると考えられる。

50°C の熱凝固では、熱凝固直後から F.F.D. が高く、8 日目には低下した。

60°C の熱凝固では、熱凝固直後より F.F.D. が高くなり、10 日目と 35 日以降 F.F.D. が低下した。

70°C の熱凝固では、4 日目以降から F.F.D. が高くなり、21 日目以降徐々に F.F.D. が低下したが、60°C の F.F.D. より高い状態が続いた。

80°C の熱凝固では、70°C と同様 4 日目以降から F.F.D. が高くなり、42 日間 F.F.D. が高い状態が持続した。

②サルボグレラート投与群と非投与群の F.F.D.A. の経過を Fig.18 に示す。投与群は、全経過を通じて非投与群に比し F.F.D. が低かった。投与 49 日目以降有意差が認められ、サルボグレラート投与群は機械的刺激に対する知覚過敏が軽減されたと考えられる。

5) 電子顕微鏡的組織学検査

70°C 45 秒間高周波熱凝固をおこない、塩酸サルボグレラートを投与しなかった群の熱凝固側坐骨神経の組織 (Fig.19) からは、有髄神経の軸索変性がみられ、髄鞘が薄く、髓球形成と呼ばれる髄鞘の変性・断片化といった二次的髄鞘変性も観察された。一方、塩酸サルボグレラート投与群の熱凝固側坐骨神経の組織 (Fig.20) からは、

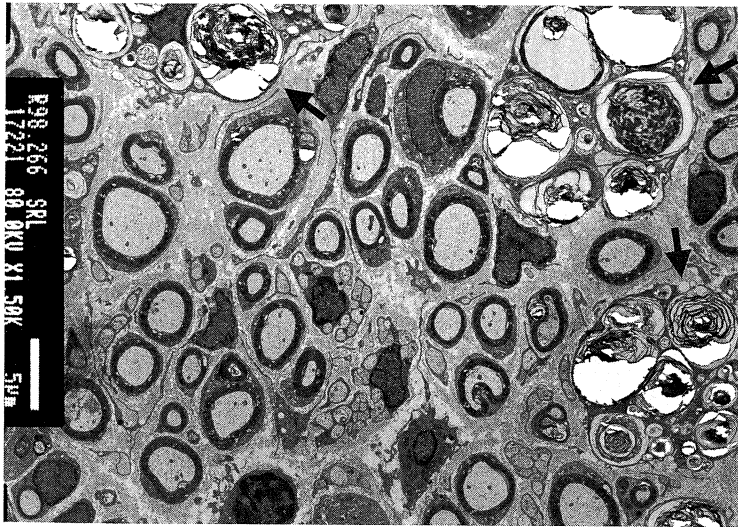


Fig. 19. An electron microscopic photograph of the rat sciatic nerve in non-sarpogrelate hydrochloride group. We did not administer sarpogrelate hydrochloride orally to the rat with radiofrequency thermocoagulation applied to the sciatic nerve at 70 °C for 45 seconds. The sciatic nerve of radiofrequency thermocoagulation side was resected at four weeks and was viewed in the electron microscope. Degeneration changes (arrow) were shown in the axon of the sciatic nerve.

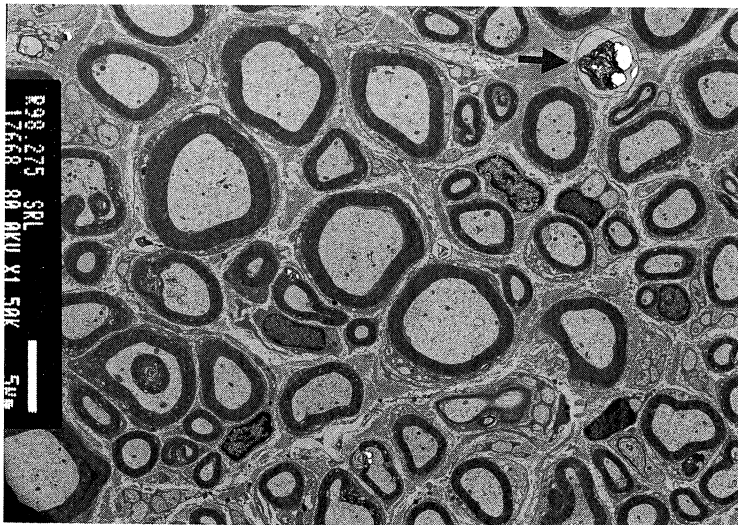


Fig. 20. An electron microscopic photograph of the rat sciatic nerve in sarpogrelate group. We administered sarpogrelate hydrochloride orally to the rat with radiofrequency thermocoagulation applied to the sciatic nerve at 70 °C for 45 seconds. The sciatic nerve of radiofrequency thermocoagulation side was resected at four weeks and was viewed in the electron microscope. In the axon of the sciatic nerve, the reduced degeneration change (arrow) was observed following sarpogrelate hydrochloride.

髓球形成と呼ばれる変化が少なく、軸索変性も非投与群よりは軽度であった。

考 察

今回使用した高周波熱凝固法は、専用の高周波熱凝固装置リージョンジェネレーター RFG-3B(Radionics)を使用し、高周波熱凝固専用のブロック針を用いた。これは、ブロック針先端の非絶縁部数mmより高周波電流が流れ、限定された組織部分を熱凝固、変性させることができる。また、針電極先端の温度及び通電時間が正確に設定可能である。高周波熱凝固法は、現在疼痛治療などで使用^{1,2)}されており、椎間関節後枝内側枝ブロック³⁾や三叉神経ブロック、神経根ブロック⁴⁾、交感神経節ブロック⁵⁾、各関節枝ブロックなどに応用されている方法である。ブロックする神経や疾患症状により熱凝固温度、凝固時間を考慮しておこなう必要があり、神経破壊作用を有することを考えると適応疾患や使用方法は十分な考慮を要する。使用法を誤れば、ブロック後の合併症である知覚異常や運動機能低下につながる。現在、高周波熱凝固法は、いろいろな方法で試みられており、確立された方法はない。

我々は、ラット坐骨神経を剥離、露出し、神経に直接電極針を刺入し、熱凝固温度を50℃、60℃、70℃、80℃の4群に分けて45秒間の高周波熱凝固をおこなった。その結果、自傷行為は60℃の熱凝固でも出現し、80℃では全例に観察された。自傷行為の程度Wall's scaleも熱凝固温度が80℃になると高くなり、一部スケールの高い自傷が観察された。

これまで、神経因性疼痛モデルの神経切除モデルで自傷行為が観察され報告されている¹⁰⁾。高周波熱凝固後の自傷行為も明らかに神経損傷に起因する異常行動と考えられる。

今回、高周波熱凝固をおこなう際、熱刺激による体動により電極針が移動し熱凝固が不十分なることを防止するため、熱凝固前に局所麻酔薬を使用した。神経切除モデルで、局所麻酔薬を使用すると自傷行為が抑制されたという報告¹¹⁾があるが、今回の高周波熱凝固法では完全には抑制されず出現したものと考えられる。

運動機能に関して50℃熱凝固では正常であったが、60℃では短期間異常反応が見られ、70℃、80℃では明らかな反応消失が観察された。6週間で完全な回復は確認できなかったが、経過を追うに従って回復傾向を示した。

侵害熱刺激検査(Plantar test)は、ラット足底部に熱刺激を加えていき、侵害刺激になったときにラットは後肢を上げようとする反応を利用した検査である。熱刺激開

始から後肢挙上までの時間を侵害熱刺激に反応する時間—各ラットの侵害熱刺激の感度として測定した。結果から、坐骨神経を熱凝固すると、その直後から熱刺激に反応が鈍くなり、明らかに健側と比較して熱刺激時間が延長した。これは、侵害熱刺激に対する痛覚低下状態を意味する。そして、経過とともに延長した刺激時間が短縮し、痛覚低下が回復していく。

60℃以上の熱凝固温度で、特に70℃と80℃の熱凝固では、経過観察中短期間ではあるが、熱刺激時間が健側より明らかに短縮している期間があった。これは、侵害熱刺激に対して過敏になっていることを意味し、痛覚過敏状態であると考えられる。また、痛覚過敏の時期は、熱凝固温度を上げると遅くなることから、神経損傷回復過程に何らかの原因で引き起こされている可能性が考えられる。

次に、機械的触試験をおこなうために、Von Frey filaments用いて足底部を刺激し、後肢が挙上反応を示すfilamentの圧力を比較検討した。60℃の熱凝固では、熱凝固直後の短期間、70℃と80℃の熱凝固では、熱凝固直後より長期にわたり、健側より明らかに低い圧で挙上反応があらわれ、機械的触刺激に対する過敏状態が観察された。

これまでにいろいろな神経損傷モデルが報告されており、そのモデル間での過敏反応の違いが報告されている¹²⁾。そのモデル間の違いを考えると、この高周波熱凝固後の過敏反応は、熱刺激より触刺激に対して強く表れたことからBennett model¹³⁾やSeltzer model¹⁴⁾よりはChung model¹⁵⁾に近い神経損傷を起こしているように思われる。

組織学的には、今回、70℃熱凝固群ラット坐骨神経を組織標本とし、電子顕微鏡検査をおこなったところ、有髓神経の髄鞘崩壊、軸索変性が観察され、明らかな有髓神経変性が確認された。自傷行為、痛覚低下や過敏、触刺激過敏、運動機能低下は、熱凝固による蛋白変性が有髓神経を中心として起こったことが原因と考えられる。Bennet modelでは、組織学的にほとんど全てのAβ線維とかなりのAδ、C線維が傷害されていると報告されており^{16,17)}、高周波熱凝固後の組織像からは、有髓神経の軸索変性、比較的細い神経線維像が観察された。また、電気生理学的には、損傷部位で、Aβ線維、Aδ線維の伝導が傷害され、C線維の伝導は保たれていたと報告¹⁸⁾されている。今回、電気生理学的な研究はおこなっていないが、70℃、80℃の熱凝固群では、機械的触刺激に対する知覚過敏の回復がかなり遅く、侵害熱刺激に対する痛覚過敏が全例にみられなかったことや痛覚低下の回復も早かったことから、Aβ線維の損傷は、Aδ線維の障害より

強かったと推測される。

高周波熱凝固による神経損傷は、完全神経損傷モデルであられる自傷行為、不完全神経損傷モデルの Chung model に似た知覚過敏を呈し、Bennet model にみられた組織学的変化に似た組織像がみられ、複雑な神経損傷状態を呈していると考えられる。

以上の結果から、ラットの坐骨神経に高周波熱凝固をおこない、熱凝固温度を上げると熱蛋白変性が原因と考えられる神経損傷の結果、自傷行為、運動機能低下、痛覚知覚過敏を起こすことがわかった。特に 70℃ と 80℃ の熱凝固ではその異常行動及び反応がはっきりみられた。

さて、塩酸サルボグレラートは 5-HT₂拮抗薬であり、正常血管においては血管弛緩作用を維持し、損傷血管に対して平滑筋細胞上 S-2 レセプターに作用し血管収縮作用を抑制する選択的 S-2 セロトニン拮抗剤¹⁹⁾であり、血小板凝集抑制作用や微小循環改善作用を有している。ラット坐骨神経に 70℃ 45 秒間の高周波熱凝固をおこなうことによって神経損傷を起こし、それに起因する異常反応に対する塩酸サルボグレラートの効果を検討したところ、反応が抑制される傾向がみられた。

サルボグレラート投与群では自傷行為を起こすラットが有意に減少し、自傷行為のスケールも有意差はなかったが低下する傾向がみられた。また、侵害熱刺激に対する痛覚低下、機械的触刺激に対する知覚過敏は、有意にサルボグレラート投与群で抑制された。これらの異常反応、異常知覚の抑制は、末梢血管血流増加、微小循環改善作用により神経損傷の修復が促進された結果と考えられる。

しかしながら、電子顕微鏡の組織所見からは、塩酸サルボグレラート投与群の坐骨神経細胞では、シュワン細胞の増生が明らかではなく、神経変性後の再生促進よりも神経変性抑制が示唆された。このことから、高周波熱凝固による神経の熱蛋白変性に、虚血による微小循環障害が関わっていると推定される。つまり、神経損傷翌日より投与された塩酸サルボグレラートが、微小循環を改善し神経変性を抑制した可能性があると考えられる。

帯状疱疹後神経痛や反射性交感神経性萎縮症の神経因性疼痛に対して塩酸サルボグレラート投与の有効性²⁰⁾が報告されているが、全ての神経因性疼痛に効果を示すとは限らない。神経損傷の原因や程度により複雑なメカニズムにより神経機能異常が発生していると考えられ、また神経損傷完成後の修復過程の経過や時期により、投与された薬剤の有効性も異なる可能性も考えられる。

今回の研究結果から、高周波熱凝固による神経損傷に対して、塩酸サルボグレラートを早期から投与すること

により神経変性抑制効果が期待できると考えられた。

結 語

1. ラット坐骨神経に熱凝固温度条件を変えて高周波熱凝固をおこなうと、60℃、70℃、80℃の熱凝固温度で自傷行為があらわれ、70℃、80℃では機械的刺激に対して明らかな知覚過敏を示し、侵害熱刺激に対しても一時的に痛覚過敏を示した。
2. 70℃、80℃の熱凝固温度で高周波熱凝固をおこなうと、神経因性疼痛モデルに似た異常行動・反応を示し、組織学的には主に有髄神経の軸索変性が観察された。
3. 高周波熱凝固を疼痛治療に応用する場合、60℃以上の高い熱凝固温度で高周波熱凝固をおこなうと神経損傷による有害な反応が生じる可能性がある。
4. ラット坐骨神経に 70℃ 45 秒間の高周波熱凝固をおこない、翌日から塩酸サルボグレラートを投与すると、自傷行為、痛覚低下、知覚過敏や組織学的変性が抑制され、神経変性抑制効果が期待できると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、懇切なご指導とご校閲を賜りました奈良県立医科大学麻酔科学教室古家仁教授に対し心より感謝いたします。また、組織学的検討においてご助言を受け賜りました奈良県立医科大学前第 1 病理学教室山田英二先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 若杉文吉：ペインクリニック 神経ブロック法。第 1 版、医学書院、東京、p250、1998。
- 2) 塩谷正弘：図説ペインクリニック。第 1 版、真興交易医書、東京都、p245、2000。
- 3) Wall, P. D., Devor, M., Inbal, R., Scadding, J. W., Schonfeld, D., Seltzer, Z. and Tomkiewicz, M. M. : Autotomy following peripheral nerve lesions: Experimental anaesthesia dolorosa. Pain 7 : 103-113, 1979.
- 4) Hargreaves, K., Dubner, R., Brown, F., Flores, C. and Joris, J. : A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain 32 : 77-88, 1988.
- 5) Shir, Y. and Seltzer, Z. : Effects of sympathectomy in a model of causalgiform pain produced by partial sciatic nerve injury in rats. Pain 45 : 309-320, 1991.
- 6) Kalichman, M. W. and Myers, R. R. : Behav-

- ioral and electrophysiological recovery following cryogenic nerve injury. *Experimental Neurology* **96** : 692-702, 1987.
- 7) 山上裕章, 橋爪圭司, 中橋一喜, 奥田孝雄 : 腰神経後枝内側枝高周波熱凝固法(facet rhizotomy)を施行した6例. *麻酔* **39** : 491-495, 1990.
 - 8) 山上裕章, 湯田康正, 中崎和子, 塩谷正弘, 大瀬戸清茂, 長沼芳和, 唐澤秀武 : 帯状疱疹後神経痛に対する神経根高周波熱凝固法の試み. *ペインクリニック* **9** : 673-677, 1988.
 - 9) 山上裕章, 北口勝康, 中橋一喜, 奥田孝雄 : 胸部交感神経節高周波熱凝固法. *ペインクリニック* **11** : 845-849, 1990.
 - 10) Coderre, T. J., Grimes, R. W. and Melzack, R. : Deafferentation and chronic pain in animals: an evaluation of evidence suggesting autotomy is related to pain. *Pain* **26** : 61-84, 1986.
 - 11) Gonzalez-Darder, J. M., Barbera, J. and Abellan, M. J. : Effects of prior anesthesia of autotomy following sciatic transection in rats. *Pain* **24** : 87-91, 1986.
 - 12) Kim, K. J., Yoon, Y.W. and Chung, J. M. : Comparison of three rodent neuropathic pain models. *Exp Brain Res* **113** : 200-206, 1997.
 - 13) Bennett, G. J. and Xie, Y. K. : A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* **33** : 87-107, 1988.
 - 14) Seltzer, Z., Dubner, R. and Shir, Y. : A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* **43** : 205-218, 1990.
 - 15) Kim, S. E. and Chung, J. M. : An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* **50** : 355-363, 1992.
 - 16) Coggeshall, R. E., Dougherty, P. M., Pover, C. M. and Carlton, S. M. : Is large myelinated fiber loss associated with hyperalgesia in a model of experimental peripheral neuropathy in the rat? *Pain* **52** : 233-242, 1993.
 - 17) Basbaum, A. I., Gautron, M., Jazat, F., Mayes, M. and Guilbaud, G. : The spectrum of fiber loss in a model of neuropathic pain in the rat : an electron microscopic study. *Pain* **47** : 359-367, 1991.
 - 18) Kajander, K. C. and Bennet, G. J. : Onset of a painful peripheral neuropathy in rat: a partial and differential deafferentation and spontaneous discharge in A β and A δ primary afferent neurons. *Journal of Neurophysiology* **68** : 734-744, 1992.
 - 19) 原啓人, 越阪部正徳, 山田久美, 中尾健一郎, 玉尾嘉邦 : 血管収縮反応に対する塩酸サルボグレラートの作用. *薬理と治療* **19** : 611-618, 1991.
 - 20) 山上裕章, 橋爪圭司, 古家仁, 奥田孝雄 : 帯状疱疹後神経痛に対する塩酸サルボグレラートの使用経験. *薬理と治療* **23** : 1803-1806, 1995.
 - 21) 河内正治, 大石敬子, 松本英夫, 西沢伸泰, 黒田真彦 : セロトニン拮抗薬(塩酸サルボグレラート)の反射性交感神経性萎縮症に対する治療効果. *ペインクリニック* **16** : 61-64, 1995.
 - 22) Ogawa, S., Suzuki, H., Shiotani, M., Ooseto, K., Masuda, Y., Okamoto, K., Kawachi, S., Iseki, M., Tanabe, Y. and Miyazaki, T. : A randomized clinical trial of sarpogrelate hydrochloride for neuropathic pain in patients with post-herpetic neuralgia and reflex sympathetic dystrophy. *The Pain Clinic* **11** : 125-132, 1998.