

生体熱測定による痛み（ストレス）の 評価に関する実験的研究

東京医科大学麻酔学教室（指導：一色 淳主任教授）

松 波 紀 行

【要旨】 動物はある一定のリズムで熱量を生体外に放出している。このリズムが生物の行動を示していると考えられるなら、その行動を抑制したり、異常な行動を引き起こしたりする痛みが熱量の変化に現れるのではないかと考えられる。これまでも疼痛の測定、鎮痛の評価方法として様々な動物実験が報告されている^{11)~13)}。それらはその行動抑制や、異常行動を観察することで評価をしてきた。そこで筆者は新しい試みとして、この痛みが流出熱量にどのような変化を与えるのかに着目し、熱量測定を痛みの客観的評価、判定に役立てようと考え、本研究に着手した。

全身熱量計 Bio Dynamic Calorimeter. (BDC200; 電子科学社製) はマウス全身から放出される熱量を測定することが可能である。一日の熱量をリズムが始まる 18:00 から 8 時間毎の積算量により検討した。正常なマウスの流出熱量は Circadian rhythm を形成し日没から夜半にかけて大量の熱量の環境への放出が見られるのに対して、日中は熱量の放出が少なかった。酢酸投与により疼痛刺激を与えると夜間の熱量の流出において減少を示し、又昼間の熱量は逆に増加傾向を示し、Circadian rhythm が乱された。鎮痛薬投与後に疼痛刺激を与えた群では生理食塩水投与群と有意差をみとめなかった。また鎮痛薬単独投与により夜間の熱量の流出は減少を示した。又昼間の流出熱量は逆に増加傾向を示した。Circadian rhythm は乱された。痛みとは複雑な要素が絡み合った状態で存在し、他人との共有が不可能であるがゆえに客観的評価、治療に難渋する。それらの一つ一つを知ることは流出熱量からは不可能である。しかしそれらが取り除かれ健康に近づいていく状態を観察する方法として流出熱量が考えられる。全身熱量計を用いた流出熱量測定は非侵襲的で、同一固体を繰り返し、連続的に測定することが可能であり、痛みの測定、鎮痛の評価に対する有用性が示唆された。

はじめに

痛みとは生体の組織障害に伴う不快な体験により引き起こされる現象でありそこに過去の経験や心理的問題がさらに複雑に絡み合っている。そのため他人がその痛みを理解するのは非常に難しい。臨床医学においても痛みの客観的評価は個体の持つ潜在的感觉および情動が存在するために非常に困難であるが痛みの測定、評価が充分になされれば、適切な診断、治療が可能となる。これまでも痛みの評価法について様々な報告がなされている^{14)~16)}が確立されたものは未だない。

動物はある一定のリズムで熱量を生体外に放出し

ている。このリズムが生物の行動を示していると考えられるなら、その行動を抑制したり、異常な行動を引き起こしたりする痛みが熱産生に影響を与えるのではないかと考えられる。そこで筆者は新しい試みとして、この熱量測定を痛みの客観的評価判定に役立てようと考え本研究に着手した。

方 法

1. 全身熱量計

熱量計として (Bio Dynamic Calorimeter. BDC200; 電子科学社製) を用いた。この全身熱量計はマウス全身から放出される熱量を 7 日間連続して測定することが可能である (図 1)。測定室内部はマ

1995年5月31日受付, 1995年11月27日受理

キーワード: 全身熱量計, 流出熱量, サーカディアンリズム, 痛覚.

(別刷請求先: 〒160 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学麻酔学教室 松波紀行)

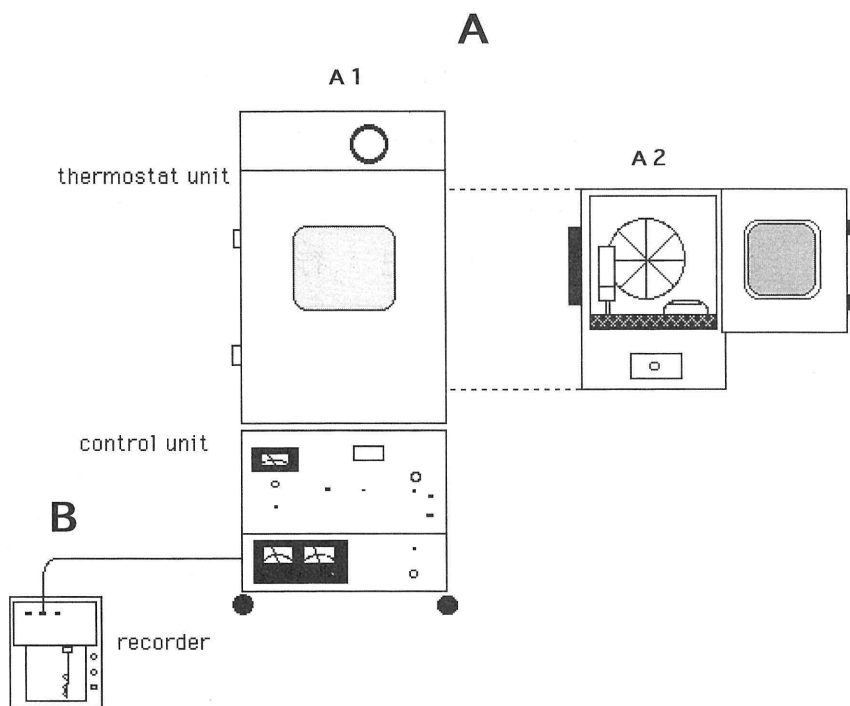


図1 Aは全身熱量計の模式図

A1は熱量計の全景でA2に内部を示す。中に回転輪および餌、水がある。Bは24時間連続記録可能な記録計。

ウスが十分行動できる広さ(400 cm²)と10日間以上の餌および水が用意された。回転輪が設置され、空気は100 ml/minの速度で室内に供給され、窓からは充分な光線が入るように設計された、光線は朝の6時より夜の18時の間蛍光灯で照らした。室温度は21°Cとした。

2. 使用動物および鎮痛薬

測定動物はICR系雄性マウス(6~10週齢、体重30~32g)を用い、control群7匹、疼痛刺激群9匹、鎮痛薬単独投与群30匹、鎮痛薬治療群59匹、総計105匹を用いた。

鎮痛薬として aspirin, buprenorphine, pentazocine, morphineを用い、対照として0.9%生理食塩水を用いた。なお鎮痛薬の希釈には全て0.9%生理食塩水を用いた。

3. 流出熱量の測定

疼痛刺激に伴う流出熱量の測定としてKosterら¹⁾の酢酸 writhing 法を参考に、0.6%酢酸-生理食塩水液を1 ml/100 gの割合でマウスの腹腔内に投与し、その後測定器内にマウスを入れ、熱量を測

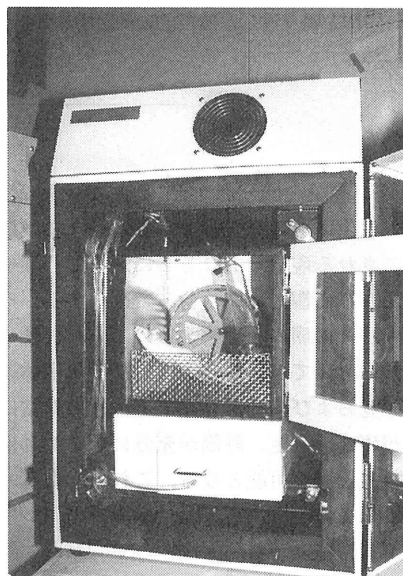


写真1 全身熱量計の内部

定した。対照として0.9%生理食塩水を1 ml/100 gの割合でマウスの腹腔内に投与した。

鎮痛薬単独投与に伴う流出熱量の測定は aspirin を100 mg/kgの割合で腹腔内に投与した群, buprenorphine を0.03 mg/kgの割合で筋肉内に投与した群, pentazocine を0.3 mg/kgの割合で筋肉内に投与した群および morphine を0.3 mg/kgの割合で筋肉内に投与した群, 各々のマウスを測定器内にそれぞれ入れ熱量を測定した。

Aspirin 投与下, 疼痛刺激に伴う流出熱量の測定は被検薬をマウスの腹腔内に100 mg/kgに投与した15分後に, 0.6%酢酸—生理食塩水液を1 ml/100 gの割合でマウスの腹腔内に投与し, その後測定器内にマウスを入れ, 熱量を測定した。

Buprenorphine 投与下, 疼痛刺激に伴う流出熱量の測定は被検薬をマウスの筋肉内に0.03および0.1 mg/kgに投与した15分後に, 0.6%酢酸—生理食塩水液を1 ml/100 gの割合でマウスの腹腔内に投与し, その後測定器内にマウスを入れ, 熱量を測定した。

Pentazocine 投与下, 疼痛刺激に伴う流出熱量の測定は被検薬をマウスの筋肉内に0.3および1.0 mg/kgに投与した15分後に, 0.6%酢酸—生理食塩水液1 ml/100 gの割合でマウスの腹腔内に投与し, その後測定器内にマウスを入れ, 熱量を測定した。

Morphine 投与下, 疼痛刺激に伴う流出熱量の測定は被検薬をマウスの筋肉内に0.3および1.0 mg/kgに投与した15分後に, 0.6%酢酸—生理食塩水液1 ml/100 gの割合でマウスの腹腔内に投与し, その後測定器内にマウスを入れ, 熱量を測定した。

流出熱量の総熱産生量に有意差がないことより, 一日の熱量をリズムが始まる18時から8時間毎の積算量比により検討した。短時間の変化はマウスの出し入れに伴う測定室温の変化の影響や日との接触によるマウスへの影響を考え8時間毎とした。積算量を求めるために熱量計内に0.5, 1.0, 2.0 Wattsの熱源体を入れ熱波形が平行に達した後数時間測定したものをコピーし, コピー用紙1gが何kJに相当するかを算出した。その重さをもとに, それぞれの流出波形をコピーし, はさみを用いて切除した後重量を測定し熱量を算定した。有意差検定は二元配置分散分析法を用い, Scheffe's Fにて多重比較検定をおこない $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

結 果

1. 放出熱量計の日内変動

正常なマウスは日没(18:00)から夜半(2:00)朝(10:00)にかけて数回の大量の熱放出が見られる(図2)。この状態の時マウスは回転輪を激しく動かしており, それに伴う熱量の放出と考えられた。又これに対して, 日中の熱放出は睡眠状態に伴うためか少なかった。このような時間経過に伴う熱量の放出は山村らの報告^{9)~7)}とほぼ一致する。生理食塩水(0.9%)を腹腔内に投与した場合も正常なマウスとほぼ同様な流出熱量が測定される。測定室内挿入後若干の熱産生の低下を認めたが数回の大量の熱放出がその後認められた。また24時間経過後再び同様のリズムで熱産生を認めた。これに対して0.6%酢酸

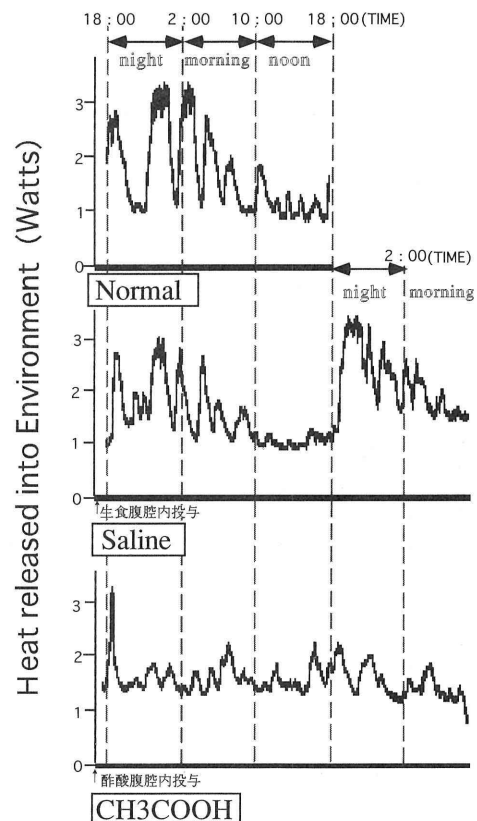


図2 放出熱量計の熱波形

正常および生理食塩水腹腔内投与群は日没から夜半, 朝にかけて大量の熱放出が見られ, 日中の熱放出は少なかった。疼痛刺激群は, 熱放出はほとんど押さえられ昼夜の格差が認められなくなった。

—生理食塩水を腹腔内に注射投与した場合は、正常な状態とは異なった熱量の変化が観察された。測定室内挿入直後に短い熱放出のピークを見るがその後は痛みに伴いマウスの熱放出はほとんど押さえられ昼夜の格差が認められなくなった。また 24 時間経過後も熱放出の大きな変化は認められなかった。これを 8 時間毎の積算熱量 (kJ) および熱量比で検討した。結果を図 3 に示す。夜間の熱量の流出において疼痛刺激群では有意な減少を示し、また昼間の流出熱量は逆に有意に増加した ($p < 0.01$)。正常なマウスや生理食塩水を投与したマウスが示すようなリズムは疼痛により乱される結果となった。

2. 鎮痛薬単独投与に伴う流出熱量の変化

Aspirin 100 mg/kg, buprenorphine 0.03 mg/kg, pentazocine 0.3 mg/kg および morphine 0.3 mg/kg の単独投与により夜間のマウスの熱放出は押さえられ昼夜の格差が少なくなった (図 4)。積算量においても夜間の熱量の流出は有意な減少を示した。また昼間の流出熱量は逆に増加傾向を示した ($p < 0.01$)。

Aspirin 100 mg/kg 投与後に疼痛刺激を与えた群

では夜間の熱放出は減少はしているものの数回の大きな熱放出を認めた。積算量においても生理食塩水投与に近づく傾向を示した (図 5)。

Buprenorphine 投与後に疼痛刺激を与えた群では夜間の熱放出は減少はしているものの数回の大きな熱放出を認めた。積算量においても生理食塩水投与に近づく傾向を示した 0.1 mg/kg 投与した群は 0.03 mg/kg 投与した群に比べさらに正常に近い状態となった (図 6)。

Pentazocine 投与後に疼痛刺激を与えた群では夜間の熱放出は減少はしているものの数回の大きな熱放出を認めた。積算量においても生理食塩水投与に近づく傾向を示した。1.0 mg/kg 投与した群は 0.3 mg/kg 投与した群に比べさらに正常に近い状態となった (図 7)。

Morphine 投与後に疼痛刺激を与えた群では夜間の熱放出は減少はしているものの数回の大きな熱放出を認めた。積算量においても生理食塩水投与に近づく傾向を示した。1.0 mg/kg 投与した群は 0.3 mg/kg 投与した群に比べさらに正常に近い状態となった (図 8)。

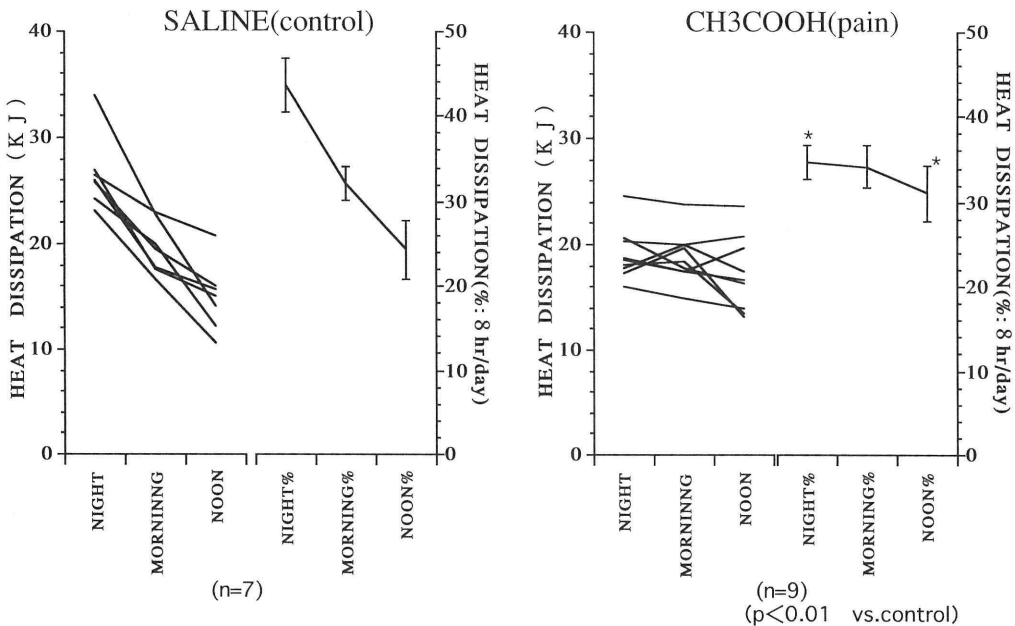


図 3 疼痛刺激に伴う流出熱量の変化 control および酢酸投与群とも左グラフに 8 時間毎の積算熱量 (kJ) 右グラフにその 1 日総熱量合計に対する比を示す。control に対して疼痛刺激群は夜間において有意に低下、日中において有意に増加した ($p < 0.01$)。

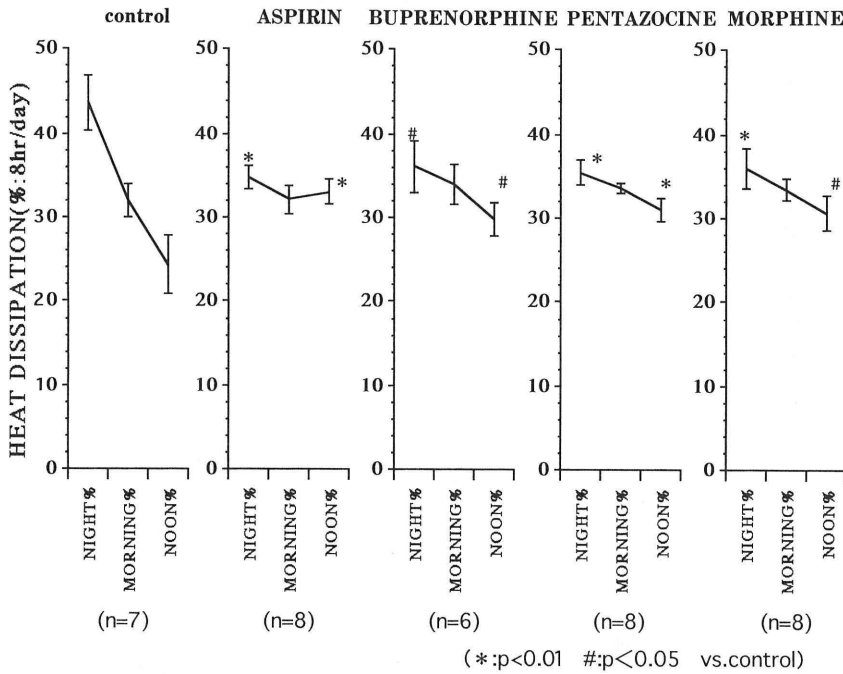


図4 鎮痛薬単独投与に伴う変化

Aspirin, buprenorphine, pentazocine および morphine の単独投与により流出熱量は夜間に有意に減少し、昼間は逆に増加傾向を示した (p<0.01).

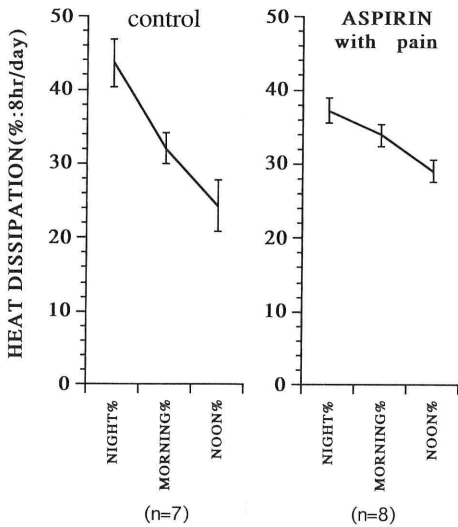


図5 Aspirin 投与下、疼痛刺激に伴う変化
夜間の熱放出は減少、日中の増加を認めるものの有意差は認めなかった。

考 察

1. 歴史的背景

近年、熱量測定は様々な分野において様々な方法で利用されている。皮膚温、食道温、直腸温、膀胱温、鼓膜温などの体温測定を初めとして、酸素消費量炭酸ガス産生量を測定し、エネルギー消費などの代謝データを求める間接熱量測定、体面温度を色で表したサーモグラフィーなどが利用されている。この熱量測定が生物の領域に取り入れられたのは、200年以上も昔にラボアジェによって行われたが、その後は大きな進歩もなく現在に至っている。これは生物がいつも同じ状態では存在せず、時と共に変化し生存しているがために測定結果に変化があり過ぎたためと考えられる。しかしその測定変化が生物の生存を示しているということも考えられる。そしてその変化にあるリズムが存在することが山村ら^{3)~7)}によって報告された。生体は体内に様々なリズムを持っている。睡眠・覚醒、自発運動・摂食・飲水行動などの行動活性、体温・呼吸・心拍数・血圧・脳波などの vital sign、生体機能を調節する神経・内分泌

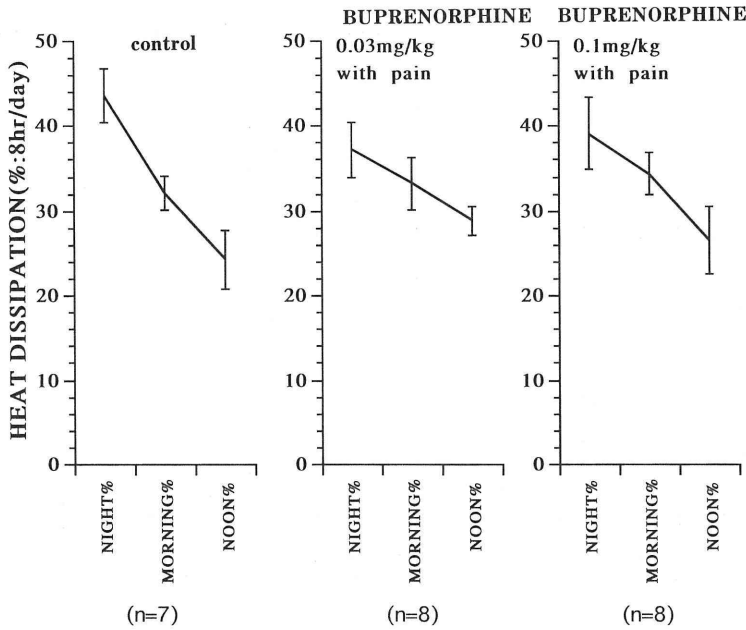


図 6 Buprenorphine 投与下, 疼痛刺激に伴う変化
夜間の熱放出は減少はしているが有意差は認めなかった. 0.1 mg/kg 投与した群は 0.03 mg/kg 投与した群に比べ control 群に近づく傾向を示した.

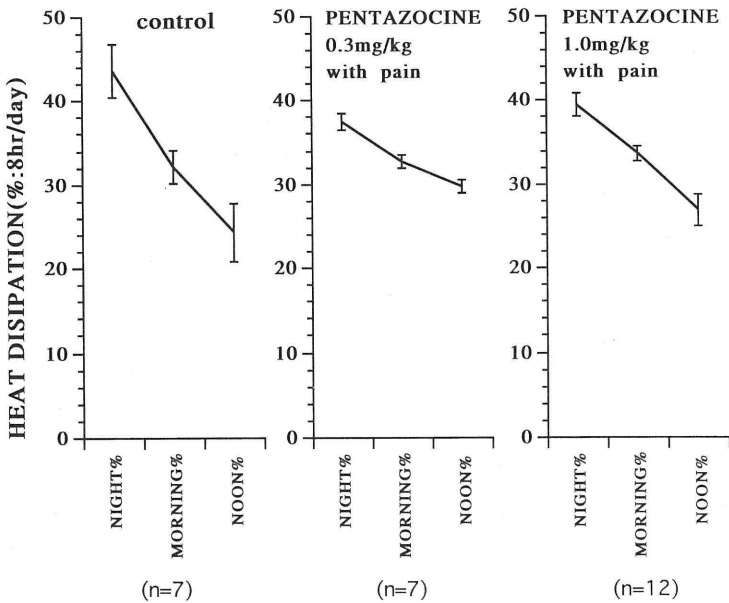


図 7 Pentazocine 投与下, 疼痛刺激に伴う変化
夜間の熱放出は減少はしているが有意差は認めなかった. 1.0 mg/kg 投与した群は 0.3 mg/kg 投与した群に比べ control 群に近づく傾向を示した.

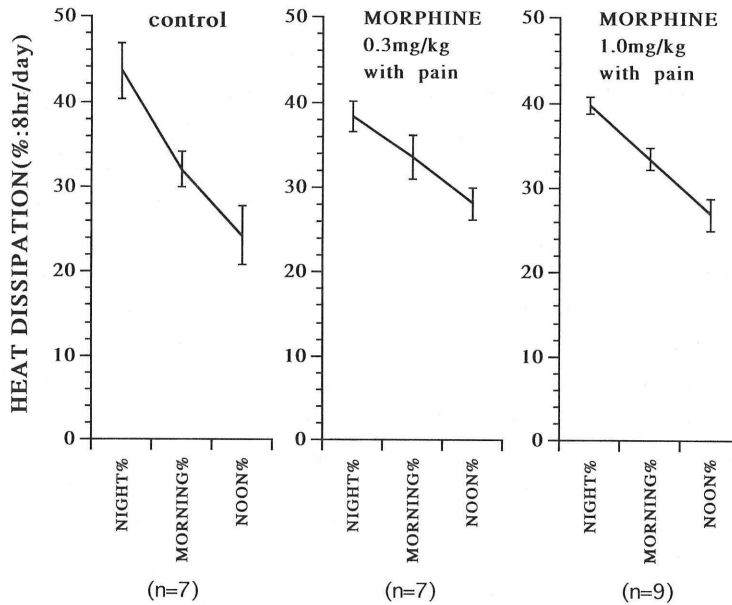


図8 Morphine投与下、疼痛刺激に伴う変化

夜間の熱放出は減少はしているが有意差は認めなかった。1.0 mg/kg投与した群は0.3 mg/kg投与した群に比べcontrol群に近づく傾向を示した。

活性、免疫機能を含む生体防御活性などの生体現象にも認められる。このリズムはある一定の周期を持って変化し、外部環境を一定に保ってやればそれは同じように繰り返されるのである。そしてそのリズムこそが健康な生体の存在であるとも言えるわけである。マウスとラットの違いこそあれ同様の夜行性動物であるマウスの流出熱量とラットの自発運動、摂食・飲水行動量は非常に似たグラフを示している⁸⁾⁹⁾。マウスは夜行性の動物で昼間は眠り、日没から夜間にかけて食餌行動や飲水行動を行う。この単純な行動形態を測定することは今まで観察するほかは方法がなかった。しかしそれらは10分から数時間の観察によるものでありその観察をすること事態は容易なものであってもそれを24時間以上継続実行することはほとんど不可能に近いと言える。これまで疼痛の測定、鎮痛の評価方法として様々な動物実験が報告されている。刺激に対する反射行動¹⁰⁾をみる樟尾反射¹¹⁾や学習によらない組織的行動¹⁰⁾を見る熱板試験¹²⁾、悶え試験¹⁾、ホルマリン試験¹³⁾などの実験が行われてきた。しかしこれらも上記と同様に短い間の観察をするものであり、長時間観察することは非常に困難なものと考えられる。したがって

流出熱量を測定する方法は、長時間の観察が可能であり痛みからの回復の状態を見るのに良好な方法と考えられる。

2. 今回の実験から

マウスを熱量計内に入れた直後のみ熱量の急激な上昇が認められているがこれは急性痛に伴うマウスの異常な行動(writhing)が熱量として現れていることが考えられる。痛みとは複雑な要素が絡み合った状態で存在し、他人との共有が不可能なものであるがゆえに客観的評価は非常に困難なものとなる。それら要素の一つ一つを知ることは流出熱量からは不可能である。しかしそれらが取り除かれ健康に近づいていく状態を観察する方法として流出熱量が考えられる。痛みは急性痛といえども一時的に消え去るものではなくほとんどの痛みが数時間から数日は持続する。そのような痛みに対して評価をくだすためには数時間から数日間の観察が必要である。また本方法は同一個体に対して、繰り返し、長期の観察が可能となる。またしばしば臨床で治療に難渋する慢性疼痛患者の観察にも可能性がある。痛みを評価し、それを数値化する一つの方法として、流出熱量測定は客観的判定法として優れているが、臨床に用

いるには測定室の大きさや、測定部位の検討などもう少し考慮が必要である。筆者の実験結果で鎮痛薬の単独投与によっても熱量のリズムの乱れが認められた。これは健康な状態の生体に対して鎮痛薬が抑制的に働いた結果と考えられる。これまでの鎮痛薬の効果判定に用いられてきたものは行動観察が主なものであり、疼痛により引き起こされた行動を鎮痛薬がどれだけ抑制するかを観察するものであった。しかしそれは至適投与量をこえた過剰な投与による抑制を判断することはできない。本実験では我々が日常、疼痛の治療に頻用する aspirin などの非ステロイド性抗炎症薬、morphine などの麻薬鎮痛薬、pentazocine や buprenorphine などの拮抗性鎮痛薬を用いた。臨床的にはこれらの薬物を用いて治療にあたるがその投与中の至適投与量を判定することは重要な問題である。投与量が少なければ増量すればよいがそれに伴い副作用の可能性も増えるわけである。しかし痛みが消えたからといってそれが適当な鎮痛薬の量とも言えないこともある。慢性疼痛や癌性疼痛の場合どうしても投与期間が長くなり、それに伴う副作用、精神的、身体的依存性や耐性の出現も否認ない。このような状態に対して、この流出熱量を用いた痛みの測定と評価が臨床的に今後役立つことが考えられる。正常な状態に何らかの負担が増えれば、リズムの乱れとして現れる。その負担が何であるかを流出熱量から特定することは困難でも、異常が起こっていることを知らせる一つの客観的手段となる。そしてその負担の一つが痛みであり、また過剰に投与された鎮痛薬でもある。今回の実験において aspirin 単独投与の場合他の薬物とは違った流出熱量の波形を示した。これは麻薬鎮痛薬、拮抗性鎮痛薬が持つ中枢神経作用により引き起こされる波形とは異なっており、非ステロイド性抗炎症薬が持つ体温調節中枢の存在する視床下部付近の刺激の伝達、伝導を抑制すること、プロスタグランジン産生抑制が関係していることが考えられた²⁾。

結 論

1. マウスを用いて流出熱量を測定した。
2. 正常なマウスの流出熱量は Circadian rhythm を形成し日没から夜半にかけて大量の熱量の環境への放出が見られるのに対して、日中は熱量の放出が少なかった。
3. 酢酸投与により疼痛刺激を与えると夜間の熱

量の流出において減少を示し、又昼間の熱量は逆に増加傾向を示した。Circadian rhythm は疼痛により乱された。

4. 鎮痛薬単独投与により夜間の熱量の流出は減少を示した。又昼間の流出熱量は逆に増加傾向を示した。Circadian rhythm は乱された。

5. 鎮痛薬投与後に疼痛刺激を与えた群では生理食塩水投与に近づく傾向を示した。薬物の濃度により、さらに正常に近い状態となった。

6. 全身熱量計を用いた流出熱量測定は非侵襲的で、同一固体を繰り返し、連続的に測定することが可能であり、痛みの測定、鎮痛の評価に対する有用性が示唆された。

謝辞；原稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました東京医科大学麻酔学教室故三宅有教授、一色淳教授に厚く謝意を表します。また、終始適切な助言を賜りました東海大学医学部生化学教室山村雅一教授並びに御協力いただきました教室員各位に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Koster, R. et al. : Fed. Proc., 18, 412, 1960
- 2) Abrasam S.B., Weissmann G. : The mechanisms of action of nonsteroidal antiinflammatory drugs., Arthritis Rheum. 32: 1~9, 1989
- 3) 山村雅一：生物の熱測定と仕事，日本医事新報，3519: 128, 1991
- 4) 山村雅一：生物の状態と熱発生，熱測定 18: 34, 1991
- 5) 山村雅一他：生物の熱測定，熱測定 20(3): 154~161, 1993
- 6) Yamamura M. et al. : Illustration of the value of calorimetry in biology, Pure & Appl. Chem., 65 (9) : 1973~1977, 1993
- 7) 山村雅一：流出熱量と生物の状態，Molecular Medicine, 30(2) : 252~253, 1993
- 8) 田所作太郎，他：ラットの生活行動のサーカディアンリズムに及ぼすニコチンの効果の検討，喫煙科学研究財団研究年報，499~509, 1989
- 9) 篠田元扶，田所作太郎：サーカディアンリズム一昼と夜の違い一，臨床麻酔，13(10) : 1381~1387, 1989
- 10) D'Amour F.E., Smith D.L. : A method for determining loss of pain sensation., J pharmacol. Exp. Ther. 72: 74~79, 1941
- 11) Hammond D.L. : Inference of pain and its modulation from simple behaviors. Adv. Pain Res. Ther. 12: 69~91, 1989
- 12) Merzack R. : ガンの痛みを取り除く新しいモルヒネ投与法，サイエンス 20: 15~23, 1990

- 13) Woolfe G., MacDonald A.D.: The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol), J pharmacol. Exp. Ther. **80**:300~307, 1944
- 14) Melzack, R. and Kinch, R.A.: The McGill Pain Questionnaire: Major properties and scoring methods., Pain, **1**: 275~299, 1975
- 15) Bond, M.R. and Pilowsky, I.: The subjective assessment of pain and its relationship to the administration of analgesics in patients with advanced cancer., J. Psychosomat. Res., **10**: 203, 1966
- 16) Chapman, C.R. and Casey, K.L. et al: Pain measurement; an overview., Pain, **22**: 1~31, 1985

Experimental Study on Evaluation of Pain (stress) by Whole Body Calorimetry

Noriyuki MATSUNAMI

Department of Anesthesiology, Tokyo Medical College
(Director: Prof. Atsushi ISSHIKI)

The behavior of an animal is affected by the presence of pain. When pain has subsided and the animal becomes healthy again, its behavior should return to normal.

The concept of the present study is thus based on the fact that animal behavior or circadian rhythm can be disturbed by the presence of pain.

The circadian rhythm of a mouse can now be easily measured by whole body calorimetry using Bio Dynamic Calorimeter (BDC200, ESCO Ltd JAPAN). When one day is divided into three intervals as follows: night (18:00 h-2:00 h); morning (2:00 h-10:00 h); day time (10:00h-18:00h), then most exothermal heat was recorded at night and the least heat was released during day time. Because mice are nocturnal animals moving around after sunset and resting during the day, it can be concluded that the movement of a mouse can be correlated to exothermal heat measured (in Joules). The disturbance in circadian rhythm was clearly demonstrated after intraperitoneal injection of 0.6% acetic acid. However, the disturbance remained for several days.

When mice were treated with analgesic agents such as aspirin, buprenorphine, pentazocine and morphine prior to the injection of acetic acid, there was little disturbance in the circadian rhythm. When no pain was present, analgesic agents alone disturbed the circadian rhythm.

Although it is an indirect method, whole body calorimetry may be able to measure the effect of pain, there by enabling investigation of ways of alleviating pain.

<Key words> Whole body calorimetry, Exothermal heat, Circadian rhythm, Pain.
