

中樞單胺及類鴉片亞型接受體在不同 頻率電針引起鎮痛機轉之研究

Studies of Action Mechanisms in Different Requencies of EAC Analgesia on Central Monoaminergic and Opioid Receptors

蔡 輝 彥

中國醫藥學院 藥理學科

摘 要

針刺鎮痛及針刺麻醉的機轉，近幾十年來有許多學者持續地進行研究，而隨著疼痛機轉的不斷瞭解，針刺鎮痛的機轉亦被證實與中樞神經系統中的神經enkephalin、endorphin 及單胺類物質 5-HT、NE 的濃度有關。本研究利用福馬林試驗來探討三種不同頻率（2 Hz、10 Hz、100 Hz）電針鎮痛之機轉與單胺神經原及類鴉片接受體之間的關係；更進一步利用高效液相色層分析儀(HPLC)來測定三種不同頻率電針對於腦內單胺物質的影響。

結果顯示：(1) 5-HT 10 $\mu\text{g/kg}$ 、30 $\mu\text{g/kg}$ (i. c. v.) 可加強高頻 100 Hz電針之對於中樞鎮痛作用；而 30 $\mu\text{g/kg}$ 可加強不同頻率之周邊鎮痛作用。NE 3、10、30 $\mu\text{g/kg}$ (i. c. v.) 皆可加強高頻（100 Hz）之鎮痛作用。(2) PCPA (i. p.) 可逆轉三種頻率電針之鎮痛效果；5-HTP (i. p.) 則加強三種頻率電針之鎮痛效果；而 α -MT 可加強高頻率（100 Hz）電針對中樞之鎮痛作用及三種頻率電針對周邊之鎮痛作用。(3)

Naloxone 可逆轉 2 Hz 和 10 Hz 電針在中樞之鎮痛效應，但無法逆轉高頻 (100 Hz) 之作用；而 naltrindole 則逆轉 10 Hz 和 100 Hz 電針在中樞之鎮痛效應，但無法逆轉低頻 (2 Hz) 之作用。(4) Prazosin (i.p.) 及 clonidine (i.p.) 皆可加強三種頻率電針之鎮痛作用，然而 yohimbine (i.p.) 則會逆轉 2 Hz 及 10 Hz 之電針鎮痛作用，但卻加強 100 Hz 之電針鎮痛作用。(5) Pindobind-5-HT_{1A} 及 LY-278584 皆會逆轉三種頻率電針之鎮痛作用，而 ketanserin 則加強了 100 Hz 電針之鎮痛作用。由以上結果顯示，三種頻率之電針鎮痛機轉，與單胺類物質 NE 及 5-HT 皆有關，在電針後 5-HT 主要可能經由 5-HT_{1A} 及 5-HT₃ 接受體來媒介，而高頻率電針可能還有 5-HT₂ 接受體的參與；在腎上腺素系統中則 α_1 及 α_2 接受體皆有參與，且可能扮演著相反的角色。另外，在低頻率 (2 Hz) 電針刺激下與 μ -類鴉片接受體的關係較密切，而高頻率 (100 Hz) 的刺激則與 δ -類鴉片接受體較有關。

關鍵詞：不同頻率電針；鎮痛機轉；中樞單胺及類鴉片亞型接受體

Abstract

There are many studies on the mechanism of antinociception of electroacupuncture (EAc) in the past decades. It has been proved that antinociception of EAc was related to the concentration of neuropeptides (enkephalin, endorphin) and monoamines (5HT, NE). In order to understand the relationships of different frequencies of EAc analgesia on monoaminergic neurons and opioid receptors, this study was accomplished by the formalin test in ICR mice. The concentrations of endogenous monoamines were determined by HPLC. The evidences suggest that (1) Exogenous 5-HT and NE enhanced the analgesic effect of the different frequencies of EAc, especially at 100 Hz. (2) The antinociception of EAc at different frequencies stimulation (2, 10 and 100 Hz) were attenuated by PCPA, and were potentiated by 5-HTP. (3) Naloxone could reverse the EAc analgesia of 2Hz and

10Hz but not 100 Hz. However, natriindole could reverse the EAc analgesia of 10 Hz and 100 Hz but not 2 Hz. (4) Prazosin and clonidine could potentiate the antinociception of different frequencies of EAc whereas yohimbine could reverse 2 Hz and 10 Hz EAc analgesia and potentiate 100 Hz EAc analgesia. (5) Pindobind-5-HT_{1A} and LY-278584 could reverse the three different frequencies of EAc analgesia and ketanserine potentiate 100 Hz EAc analgesia. The concentrations of brain endogenous monoamines were influenced by different frequencies of electroacupuncture.

From the above results, we suggest that the analgesic effect of EAc is related to serotonergic and noradrenergic neurons at different frequency stimulation. In serotonergic pathway, EAc analgesia may be mediated via 5-HT_{1A} and 5-HT₃ receptors. Besides, 5-HT₂ may be involved in high frequency EAc analgesia. In noradrenergic pathway, both α_1 and α_2 receptors were involved in EAc analgesia and may be play in the opposite function. Moreover, the EAc analgesia may be mediated via μ -opioid receptor at low frequency stimulation and δ -opioid receptor at high frequency stimulation.

Key Words : Different Frequent Electroacupuncture ; Analgesic
Effect ; Central Monoaminergic and Opioid Subtype
Receptors

前言

疼痛是每個一人必定都有的經驗，不論是外傷、手術後等外科問題，或是內科各種器官的疼痛，甚至是癌症末期的 cancer pain 等等，無時不在困擾著許許多多的病人，雖然“疼痛”不是一種愉快的經驗，但卻是保護我們健康的一種警訊，它包含了許多複雜的生理、心理反應，因此多年來許多學者從臨床和基礎等各種不同的角度對痛和鎮痛的問題進行研究，不斷地研究出新的止痛藥物及止痛方法。然而在中國數千年的傳統醫學裡，針灸一直是獨具一格地延用至今，連世界衛生組織也不得不承認四十多種針灸的適應症，其中不乏許多痛症的問題，因此，近二十年來，大量的針刺鎮痛及針刺麻醉研究持續的進行著，而隨著疼痛機

轉的不斷瞭解，針刺鎮痛的機轉也是急待更具突破性地建立，期能更加推廣針灸在臨床上的療效，造福更多的病人。

在複雜的疼痛機轉中，中樞神經系統內神經纖維的分佈、投射及神經傳導物質間的作用，甚至媒介這些神經傳導物質的接受體等等，都扮演著相當重要的角色。在中樞神經與疼痛有關的路徑中，丘腦內側核群和脊髓背角是傳入傷害訊息的兩個重要部位⁽¹⁾⁽²⁾，抑制這兩個部位就能收到鎮痛的效果。尤其位於橋腦與延腦中線部分的中縫大核 (raphe magnus nucleus)，此處的訊息可以經由一群抑制痛覺的神經元下傳至脊髓背角⁽³⁾⁽⁴⁾。而針刺鎮痛的作用亦被證實與 descending serotonergic pathway 有關⁽⁵⁾⁽⁶⁾。而早在 1979 年 Cheng 和 Pomeranz 就指出針刺鎮痛的機轉與中樞神經系統中的神經太 (endorphin) 及單胺類物質 (5-HT) 的濃度有關⁽⁷⁾。針刺可使腦內內源性鴉片樣物質 (endogenous opioid-like substance; EOS) 含量顯著升高⁽⁸⁾⁻⁽¹⁰⁾，亦可明顯改變腦內 5-HT 之含量及代謝⁽¹¹⁾。另外，相繼有學者提出 Cholecystokinin (CCK-8) 與電針的 tolerance 有關⁽¹²⁾⁻⁽¹⁴⁾，甚至不同頻率電針所媒介的神經太亦有所不同⁽¹⁵⁾⁻⁽¹⁷⁾，而單胺類物質中 norepinephrine (NE) 與電針鎮痛間的關係，意見尚多分歧⁽¹⁸⁾⁻⁽²¹⁾，且 opioid system 與 monoamine system 間之關聯也未能建立一較完整之機轉模式。雖然針刺鎮痛的機轉不斷地有新的突破，但的確也留下了極大的空間等待我們去開發。

本研究使用化學性的疼痛試驗 (福馬林試驗)，不但由早期 (Early Phase) 可看出對中樞的影響，其晚期 (Late Phase) 亦用來表示周邊的反應，而三種不同頻率 (2 Hz、10 Hz、100 Hz) 的電針，是否各有不同的機轉？所媒介的接受體為何？因此，本研究除了再次證實針刺的鎮痛作用外，更利用三種不同頻率 (2 Hz、10 Hz、100 Hz) 的電針，加上單胺類物質的致效劑及拮抗劑，透過不同的給藥方式 (腹腔注射；腦室給藥) 以能更進一步瞭解電針與單胺類物質之間的關係，再利用接受體的致效劑及拮抗劑來瞭解針刺鎮痛機轉中單胺類物質經由何種接受體之媒介及其接受體所在位置。

材料與方法

一、實驗動物

雄性 ICR 系鼯鼠，體重 18-25 克，飼養於 12 小時黑暗，12 小時白晝之飼養室中，溫度控制於 22-24 °C，每 25-30 隻小白鼠關在一籠，飼料及水供動物自由取食。

二、電針穴位及劑量

將小白鼠置於一塑膠圓筒中，輕輕固定兩後肢，在雙側膝關節外下方（膝下 3 mm，脛骨旁開 1 mm），相當於傳統中醫之足三里穴（S36），扎入 32 號不鏽鋼針 3-5 mm 深，用電刺激器（Coulbourn E13-65）通予 3 mA 之電流，分成 2 Hz、10 Hz、100 Hz 三組。電針時間 5 分鐘，將電針後之老鼠置於 12×13×13 cm 之觀察箱中休息 25 分鐘後進行福馬林試驗。

三、福馬林試驗

本試驗使用 18-25 克之雄性 ICR 系鼯鼠，在絕對安靜之房間，將老鼠先置入觀察箱中 30 分鐘以適應新環境，電針後於鼯鼠之右後腳背，以微量注射器（microsyringe）皮下注射 25 μ l 之 1% formalin-saline 溶液，注射後立即將鼯鼠放於觀察箱中，觀察並記錄鼯鼠咬或舔右後腳注射部位之累積秒數，每隔 5 分鐘記錄一次，共記錄 40 分鐘。將 0-5 分鐘的累積秒數稱為早期（early phase）的痛覺反應時間，而 15-40 分鐘之累積秒數總和稱為晚期（late phase）的痛覺反應時間。

四、電針鎮痛機轉之探討

1. 不同頻率電針對鎮痛之影響

隨機將老鼠分成實驗組（電針）與對照組（不電針）。實驗組依前（二）所述之方式，在雙側足三里施予 2 Hz、10 Hz、100 Hz 三種不同頻率之電針 5 分鐘後，置入觀察箱中休息 25 分鐘，再依前（三）之福馬林試驗方法，分為早期（early phase）及晚期

(late phase) 觀察老鼠舔腳之累記秒數，並與對照組（不電針）比較。

2. 外源性單胺類物質與不同頻率電針所致鎮痛作用之關係

(1) 不同劑量之單胺類物質之鎮痛作用

體重 18-25 克之雄性 ICR 系鼯鼠，隨機分為實驗組及對照組，實驗組以微量注射器分別由腦室給予 5 μ l 不同劑量之單胺類物質 5-hydroxytyramine (5-HT) 及 norepinephrine (NE) (3, 10, 30, 100, 300 μ g/kg i.c.v.) ；而對照組則給予等體積之生理食鹽水，於 5 分鐘後進行福馬林試驗。

(2) 不同劑量之單胺類物質與不同頻率電針鎮痛作用間之關係

選取上 (1) 中 5-HT 及 NE 之有效臨界劑量 (NE : 3, 10, 30 ; 5-HT : 10, 30) 分別施予三種不同頻率 (2 Hz、10 Hz、100 Hz) 電針後，進行福馬林試驗，再與不加電針組比較單胺類物質是否有協同電針鎮痛之作用。

3. 單胺類物質作用劑及拮抗劑對不同頻率電針所致之鎮痛作用之影響

動物與分組方式同前 (四-2.) 所述。實驗組給予單胺類物質作用劑及拮抗劑處理：5-HTP (50 mg/kg i.p. ; 福馬林試驗前 30 分鐘給予) ; α -MT (100 mg/kg i.p. ; 福馬林試驗前 2 小時給予) ; PCPA (200 mg/kg in 0.5 % CMC ; 福馬林試驗前 24 小時給予) ; 而對照組則給予等量的生理食鹽水。實驗組與對照組再分為三個小組，給予不同頻率 (2 Hz、10 Hz、100 Hz) 之電針 5 分鐘後，進行福馬林試驗。

4. 不同頻率電針鎮痛作用與類鴉片接受體之關係

動物與實驗分組同前 (四-2.) 所述。實驗組在電針前 10 分鐘 (即福馬林試驗前 40 分鐘) 給予非選擇性的類鴉片接受體拮抗劑 Naloxone (1 mg/kg i.p.) 及在電針前 15 分鐘 (即福馬林試驗前 45 分鐘) 給予選擇性的 δ -類鴉片接受體拮抗劑 Natrindole (1 mg/kg i.p.) ，再分成三種頻率電針 5 分鐘後，進行福馬林試驗；對照組則在電針前給予等體積的生理食鹽水。

5. 不同頻率電針鎮痛作用與 α -腎上腺素性接受體之關係

動物與實驗分組同前（四-2.）所述。實驗組在電針前 15 分鐘，分別給予 α_1 -腎上腺素性拮抗劑 Prazosin (1 mg/kg i.p.)、 α_2 -腎上腺素性拮抗劑 Yohimbine (1 mg/Kg i.p.) 及 α_2 -腎上腺素性作用藥 Clonidine (0.05 mg/Kg i.p.)，再分成三種頻率電針 5 分鐘後，進行福馬林試驗；對照組則在電針前給予等體積的生理食鹽水。

6. 不同頻率電針鎮痛作用與不同血清張力素性接受體拮抗劑之關係

動物與實驗分組上同前（四-2.）所述。

(1)實驗組以微量注射器分別由腦室給予選擇性的 5-HT_{1A} 接受體之拮抗劑 Pindobind-5HT_{1A} (0.1 及 1 μ g/5 μ l/animal；福馬林試驗前 35 分鐘給予) 再分成三種頻率電針 5 分鐘後，進行福馬林試驗；而對照組則給予等體積之生理食鹽水。

(2)實驗組在電針前 5 分鐘（福馬林試驗前 35 分鐘）給予選擇性的 5-HT₂ 接受體之拮抗劑 Ketanserin (1 mg/Kg i.p.)，再分成三種頻率電針 5 分鐘後，進行福馬林試驗；對照組則給予等體積的生理食鹽水。

(3)實驗組以微量注射器分別由腦室給予選擇性的 5-HT₃ 接受體之拮抗劑 LY-278584 (0.1 及 1 μ g/5 μ l/animal；福馬林試驗前 35 分鐘給予) 再分成三種頻率電針 5 分鐘後，進行福馬林試驗；而對照組則給予等體積之生理食鹽水。

五、不同頻率電針對於腦內單胺類物質及其代謝物濃度之影響

為了進一步了解在不同頻律電針下，中樞神經系統內單胺類物質濃度之變化，對鼯鼠以不同頻率之電針後斷頭取腦，以高效液相層析儀 (HPLC) 來測定其腦內單胺物質及其代謝物之濃度。

鼯鼠經電針後斷頭取腦及脊髓，在 4°C 之碎冰中保持低溫，依 Glowinski 氏法將大腦皮質、延髓及脊髓分離後迅速置 -80°C 之冷凍櫃中保存。

將保存在 -80°C 之腦組織，於 4°C 下解凍後，加入 2 ml 之抽取液 (10⁻⁶ Ascorbic acid、1.5 mg pargyline/100 ml 和 50 pg/ μ l

3-MT in 0.1 N HCl) 後，以均質機 (GT-R Eylea®) 500 RPM up/down 10 次研勻後，再以 2 ml 抽取液分兩次洗出腦組織均質液，在 4°C 下，以 10000 x g 離心 20 分鐘，取上清液經由過濾膜 (nylon filter, 0.2 μ m) 過濾後，以 HPLC 分析其單胺類物質及其代謝物之含量。

由上述方法分離所得腦內單胺物質為：norepinephrine (NE)；dopamine (DA)；5-hydroxytryptamine (5-HT)。而其代謝物為：vanilline mandelic acid (VMA)；homovanillic acid (HVA)；5-hydroxy-indoleacetic acid (5-HIAA)。

本實驗是使用高效液相層析儀 (HPLC, PM-60, LC-4C, Bioanalytical system Inc.) 及電化學檢出器 (Electrochemical Detectors, LC-4C, Bioanalytical system Inc.) 測定，並以自動注射系統 (Refrigerated microsampler, CMA-200, CMA / Microdialysis AB) 配合電腦化積分器 (訊華公司) 進行數據處理。本儀器的偵測靈敏度為 pg，而每次注射樣品量為 16 μ l。

分離所用的移動相每升中，含有 9.45 g MCA (monochloroacetic acid)、186 mg Na₂-EDTA、160 mg SOS (sodium 1-octanesulfonate)、50 ml acetonitrile 等，並以 NaOH 調整 pH 值至 2.9。所用的 column 為 Alltech Adsorbosphere 5 μ m 4.6 $\times$ 150 mm，其流速為 80 μ l/min。電化學檢出器之條件設定為 Range 10 nA, Filter 0.1 Hz, AppE cell 0.750 V (59)。所用的電極為 Ag-AgCl 參考電極 (Ag-AgCl reference electrode)。

六、統計分析

本研究結果的數據，均以 Mean $\pm$ S.E. 表示，實驗組與對照組之差異以 Unpaired Student's *t*-test 的方法進行統計分析，唯三種不同頻率電針之鎮痛作用以 one way ANOVA 及 Dunnett's 作事後檢定。設定 α 值為 0.05，凡是 P 值小於 0.05 時，則認為其差異具有統計上的意義。

結 果

一、不同頻率電針之鎮痛作用

鼯鼠於三種不同頻率 (2 Hz, 10 Hz, 100 Hz) 的電針作用後，其產生的鎮痛作用以福馬林試驗來觀察，不管在早期或晚期的痛覺反應，與對照組比較均有明顯的抑制現象 ($P < 0.001$)。(Fig. 1)

二、外源性單胺類物質與不同頻率電針所致鎮痛作用之關係

1. 不同劑量之單胺類物質之鎮痛作用

給予不同劑量的 5-HT (3, 10, 30, 100, 300 $\mu\text{g/kg}$, i.c.v.) 的鼯鼠，在福馬林試驗的早期痛覺反應，與對照組 (Normal saline, i.c.v.) 比較，有抑制痛覺的反應，但只有在劑量大於 30 $\mu\text{g/kg}$ 時才有統計學上的意義；而福馬林試驗的晚期痛覺反應，只有在劑量 300 $\mu\text{g/kg}$ 才有顯著的抑制作用 ($P < 0.001$)。(Fig. 2)

給予不同劑量的 NE (3、10、30、100、300 $\mu\text{g/kg}$, i.c.v.) 的鼯鼠，在福馬林試驗的早期 (early phase) 痛覺反應，與對照組 (Normal saline, i.c.v.) 比較，皆有顯著的抑制痛覺的反應，尤其在劑量大於 30 $\mu\text{g/kg}$ 時更為明顯 ($P < 0.001$)；而福馬林試驗的晚期 (late phase) 痛覺反應，只有在劑量 300 $\mu\text{g/kg}$ 下才有顯著的抑制作用 ($P < 0.001$)。(Fig. 3)

2. 不同劑量之單胺類物質與不同頻率電針鎮痛作用間之關係

由 Figs 4, 5 顯示 5-HT 10 $\mu\text{g/kg}$ 、30 $\mu\text{g/kg}$ (i.c.v.) 可加強高頻 100 Hz 電針之對於中樞鎮痛作用；而 30 $\mu\text{g/kg}$ 可加強不同頻率之周邊鎮痛作用。NE 在 10 $\mu\text{g/kg}$ 可加強不同頻率之鎮痛效果 (Fig. 7)，而 NE 3 $\mu\text{g/kg}$ 、10 $\mu\text{g/kg}$ 及 30 $\mu\text{g/kg}$ 皆可加強高頻 (100 Hz) 之鎮痛作用。(Figs 6, 8)

三、單胺類作用劑及拮抗劑對不同頻率電針所致之鎮痛作用之影響

給予 5-HTP (serotonin precursor) 對於三種頻率電針，不論在福馬林試驗之早期或晚期皆有協同抑制的作用，尤其 100 Hz 電針後最為明顯 ($P < 0.001$)。(Fig. 9)

PCPA (5-HT synthesis inhibitor) 對於三種不同頻率之電針，在福馬林試驗的早期 (early phase) 可看出，阻斷了三種頻率電針的鎮痛作用，然而在福馬林試驗的晚期 (late phase) 恰相反，有協同電針的鎮痛作用。(Fig. 9)

α -MT (tyrosine hydroxylase inhibitor)，在福馬林試驗的早期 (early phase)，只有在高頻率 (100 Hz) 電針刺激下才有協同鎮痛的作用 ($P < 0.01$)，在低頻率 (2 Hz) 電針刺激下， α -MT 反而抑制針刺的鎮痛作用，但無統計學上的意義。對於福馬林試驗的晚期 (late phase) 則 α -MT 可加強三種頻率電針的鎮痛作用。(Fig. 9)

四、不同頻率電針鎮痛作用與類鴉片接受體之關係

Naloxone 1 mg/kg (i.p.) 可明顯逆轉低頻 2 Hz 及 10 Hz 的電針鎮痛效應；但無法逆轉高頻 100 Hz 的作用。然而，在福馬林試驗的晚期 (late phase) 痛覺反應中，Naloxone 則可逆轉 10 Hz 及 100 Hz 的電針鎮痛作用，但對 2 Hz 電針則沒有影響。(Fig. 10)

給予 Natrindole 1 mg/kg (i.p.) 對於三種頻率電針刺激，不論福馬林試驗的早期 (early phase) 或晚期 (late phase) 痛覺反應，由 Fig. 11 顯示皆可看出 Natrindole 可明顯逆轉 10 Hz 及 100 Hz 的電針鎮痛效應，但無法逆轉 2 Hz 的作用。

五、不同頻率電針鎮痛作用與 α -腎上腺素性接受體之關係

Prazosin 1 mg/Kg 及 clonidine 0.05 mg/kg (i.p.) 對於三種不同頻率電針，不論福馬林試驗的早期 (early phase) 或晚期 (late phase) 痛覺反應皆可呈現加強電針之鎮痛效應。(Fig. 12, 13)

Yohimbine 1 mg/kg (i.p.) 對於三種不同頻率電針刺激，可逆轉 2 Hz 及 10 Hz 電針鎮痛效應；但對 100 Hz 電針鎮痛作用反而呈現加強作用。(Fig. 14)

六、不同頻率電針鎮痛作用與不同血清張力素性接受體之關係

5-HT_{1A} 拮抗劑 pindobind-5-HT_{1A} 0.1 及 1 μ g/kg (i.c.v.) 對於福馬林試驗的早期 (early phase) 或晚期 (late phase) 痛覺反應，皆可逆轉三種不同頻率電針

之鎮痛效果，雖然 2 Hz 電針在 0.1 μ g/kg 時，福馬林試驗早期沒有達到統計學上之顯著。(Fig. 15, 16)。

5-HT₂ 拮抗劑 ketanserin 1 mg/kg (i.p.)，由福馬林試驗的早期 (early phase) 痛覺反應可看出 ketanserin 加強三種頻率電針之鎮痛效果，雖然 10 Hz 電針尚未呈現統計學上意義；而在福馬林試驗的晚期 (late phase) 痛覺反應，ketanserin 則僅明顯加強了高頻 100 Hz 電針的鎮痛作用 ($P < 0.001$)。(Fig. 17)

5-HT₃ 拮抗劑 LY-278584 0.1 及 1 μ g/kg (i.c.v.) 對於三種不同頻率電針後，不論是福馬林試驗的早期 (early phase) 或晚期 (late phase) 痛覺反應皆可逆轉三種頻率電針之鎮痛效果，雖然 2 Hz 電針在福馬林試驗沒有達到統計學上之意義。(Fig. 18)

七、不同頻率電針對於腦內單胺類物質及其代謝物濃度之影響

不同頻率電針中，100 Hz、10 Hz及2 Hz對 norepinephrine(NE) 的濃度 在大腦皮質有dopamine(DA)5HIAA 則較加。

在延腦對於NE及5-HT的濃度有減少的現象，但NE的代謝物HVA的濃度則增加。不同頻率電針在脊髓對於單胺類物質及其代謝物質影響較小(如表一)。

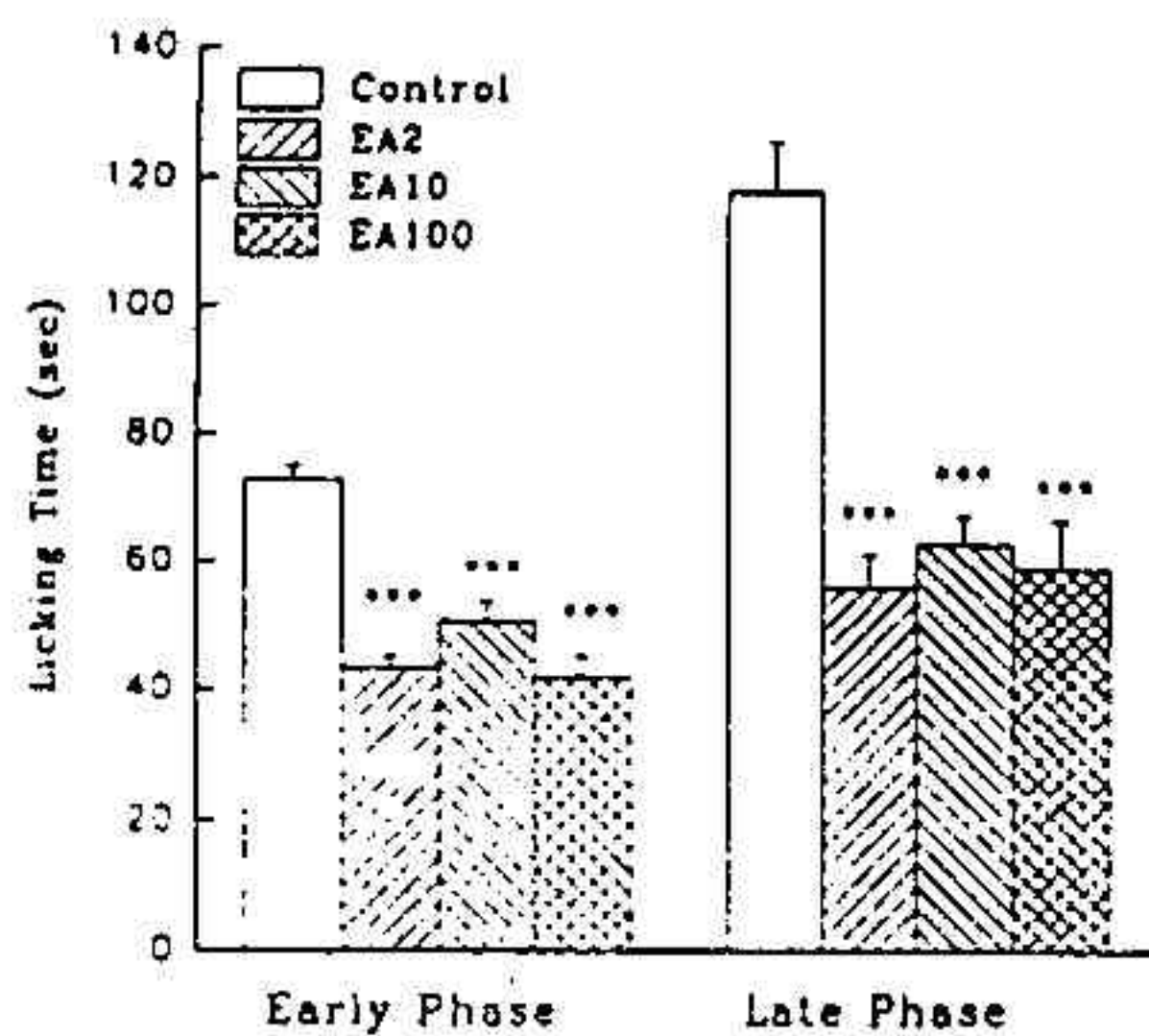


Fig. 1 The antinociceptive effect of three different frequencies of EA by formalin test.

Experimental groups give 2 Hz, 10 Hz and 100 Hz (5 min electroacupuncture) 30 min before formalin test and compared with control group (without EA) by one way ANOVA followed by Dunnett's test. Data are presented as mean±S.E. (n=12); ***P < 0.001.

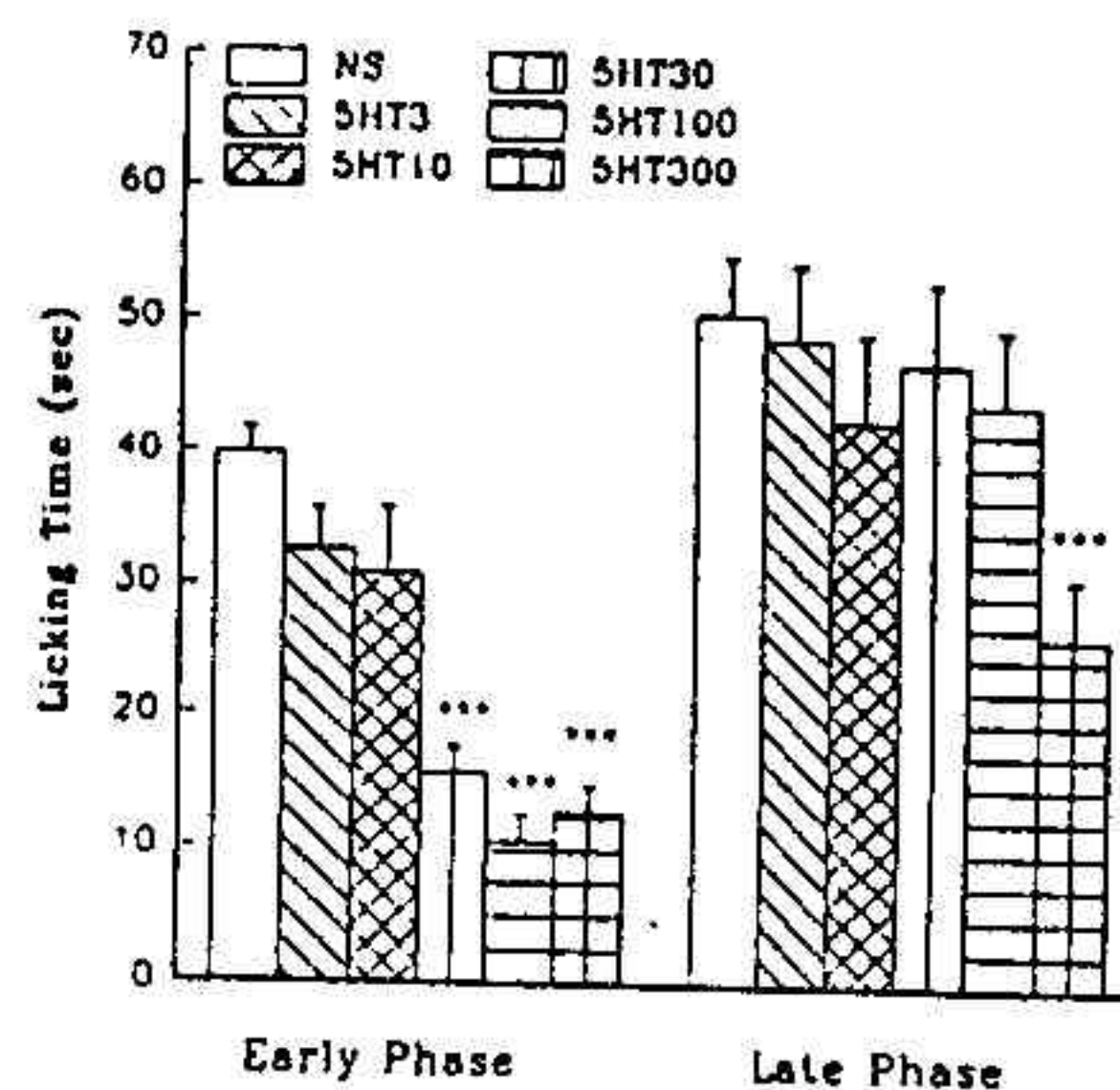


Fig. 2 Effects of 5-HT in different doses (3, 10, 30, 100, 300 µg/Kg, i.c.v.) 5 min before formalin test.

Data are presented as mean±S.E. (n = 10); ***P < 0.001, compared with control group (N.S., i.c.v.).

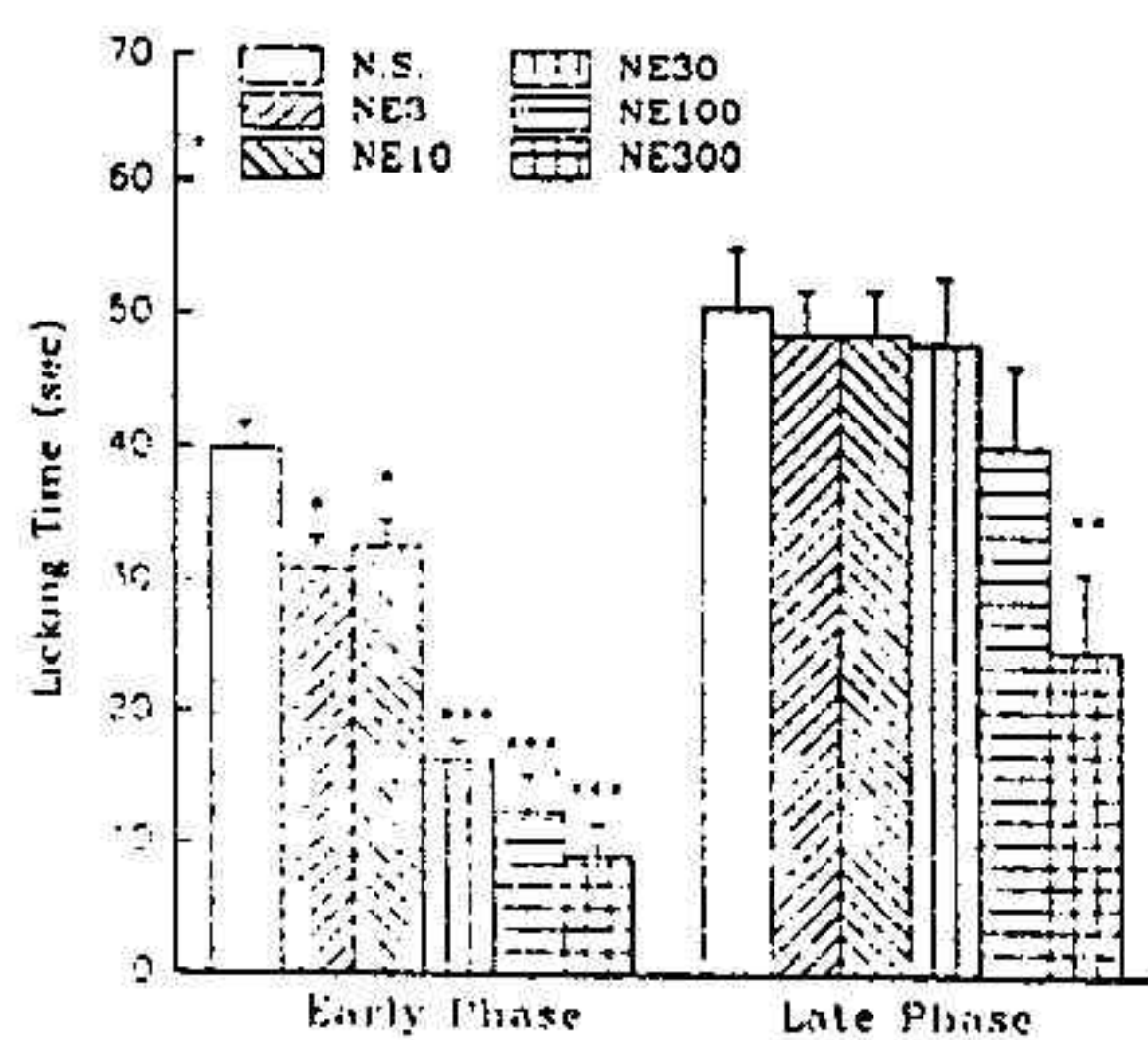


Fig. 3 Effects of NE in different doses (3, 10, 30, 100, 300 µg/Kg, i.c.v.) 5 min before formalin test.

Data are presented as mean±S.E. (n = 10) ***P < 0.001 compared with control group (N.S., i.c.v.).

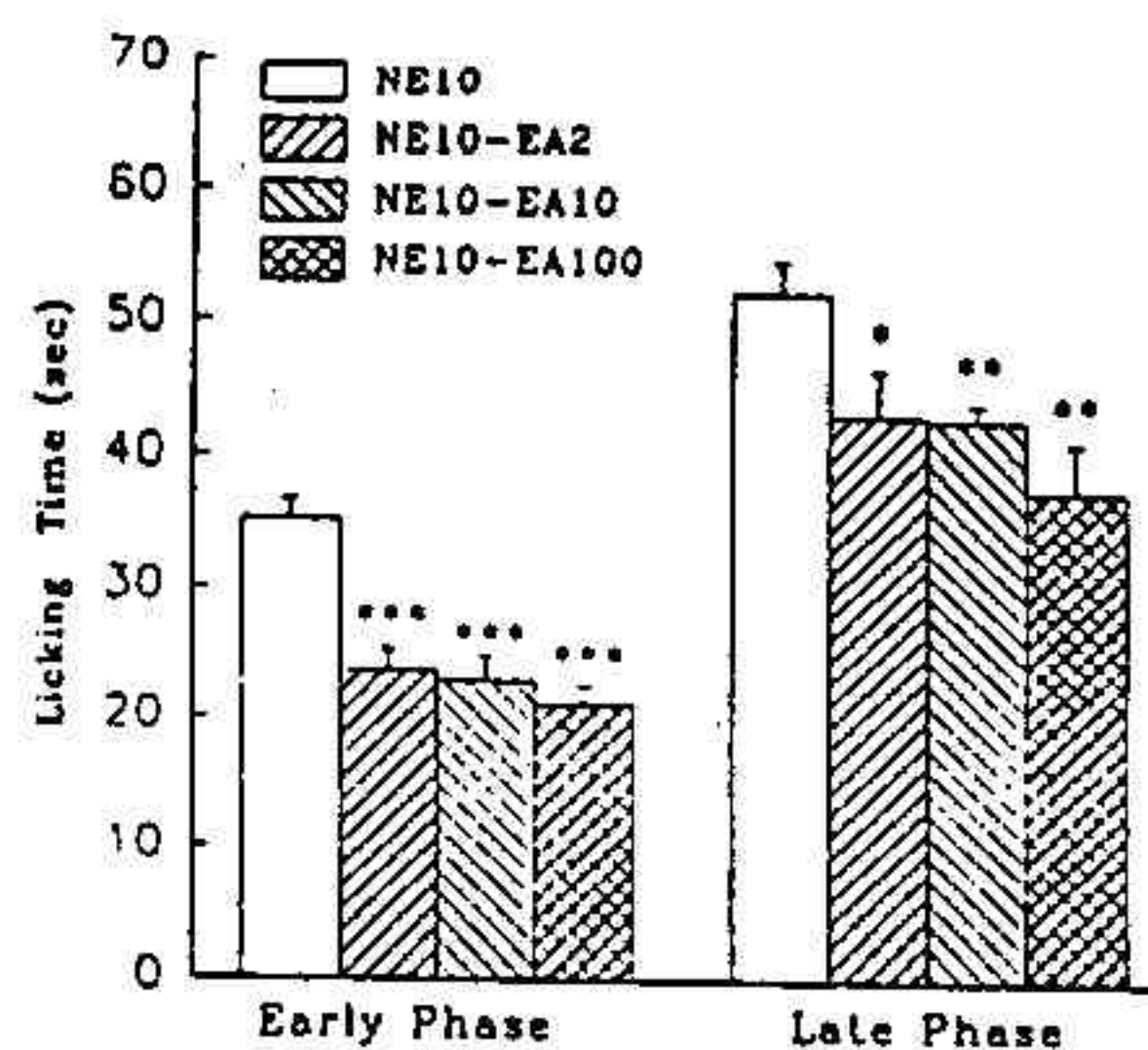


Fig. 4 The influences of three different frequencies of EA on 5-HT (10 µg/Kg, i.c.v.).

Experimental groups pretreat with 5-HT 5 min before formalin test and compared with control group (5-HT 10 µg/Kg, i.c.v.). Data are presented as mean±S.E. (n = 12); **P < 0.01

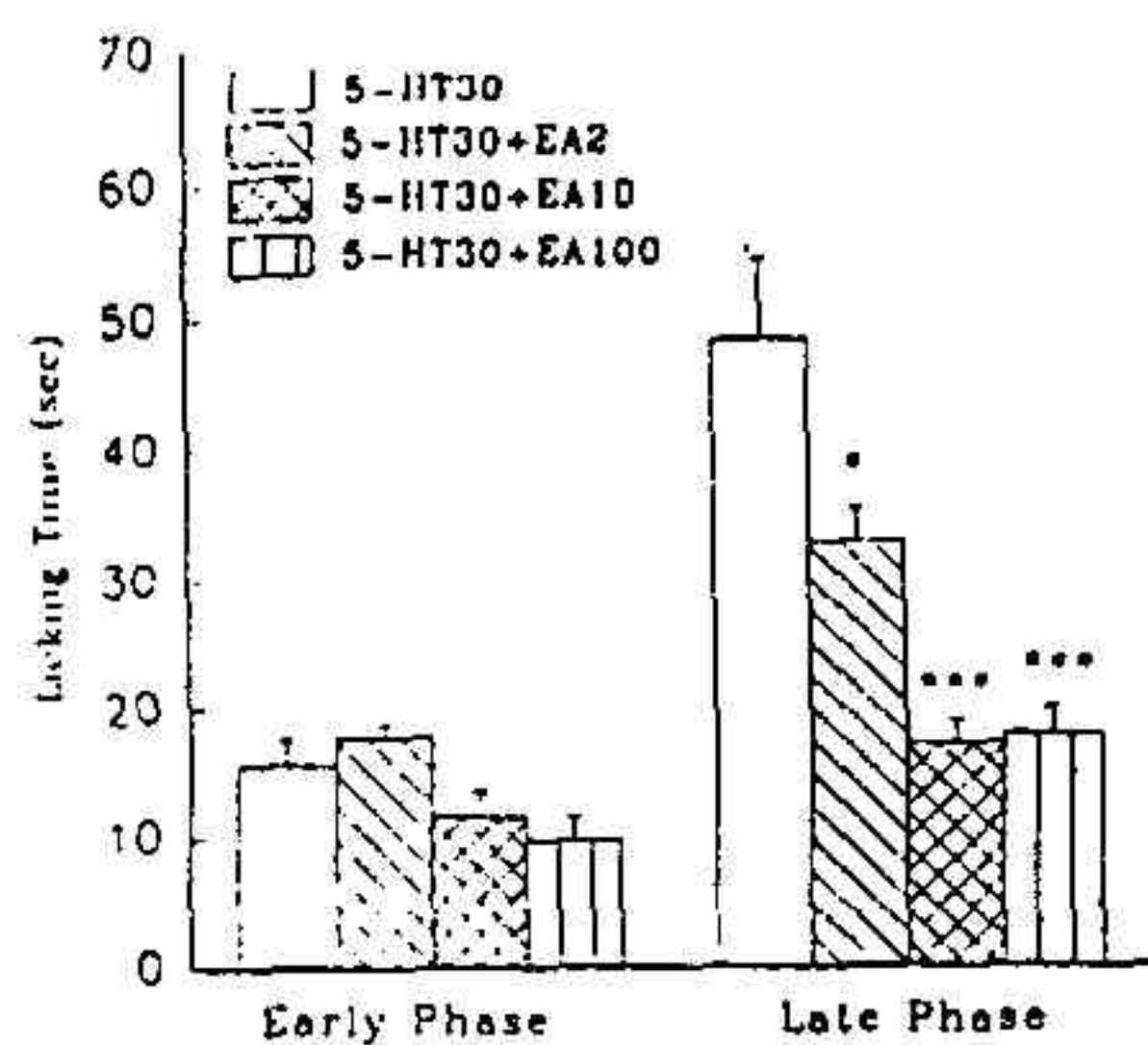


Fig. 5 The influences of three different frequencies of EA on 5-HT (30 µg/Kg, i.c.v.). Experimental groups pretreat with 5-HT 5 min before formalin test and compared with control group (5-HT 30, µg/Kg). Data are presented as mean±S.E. (n = 12); **P < 0.01

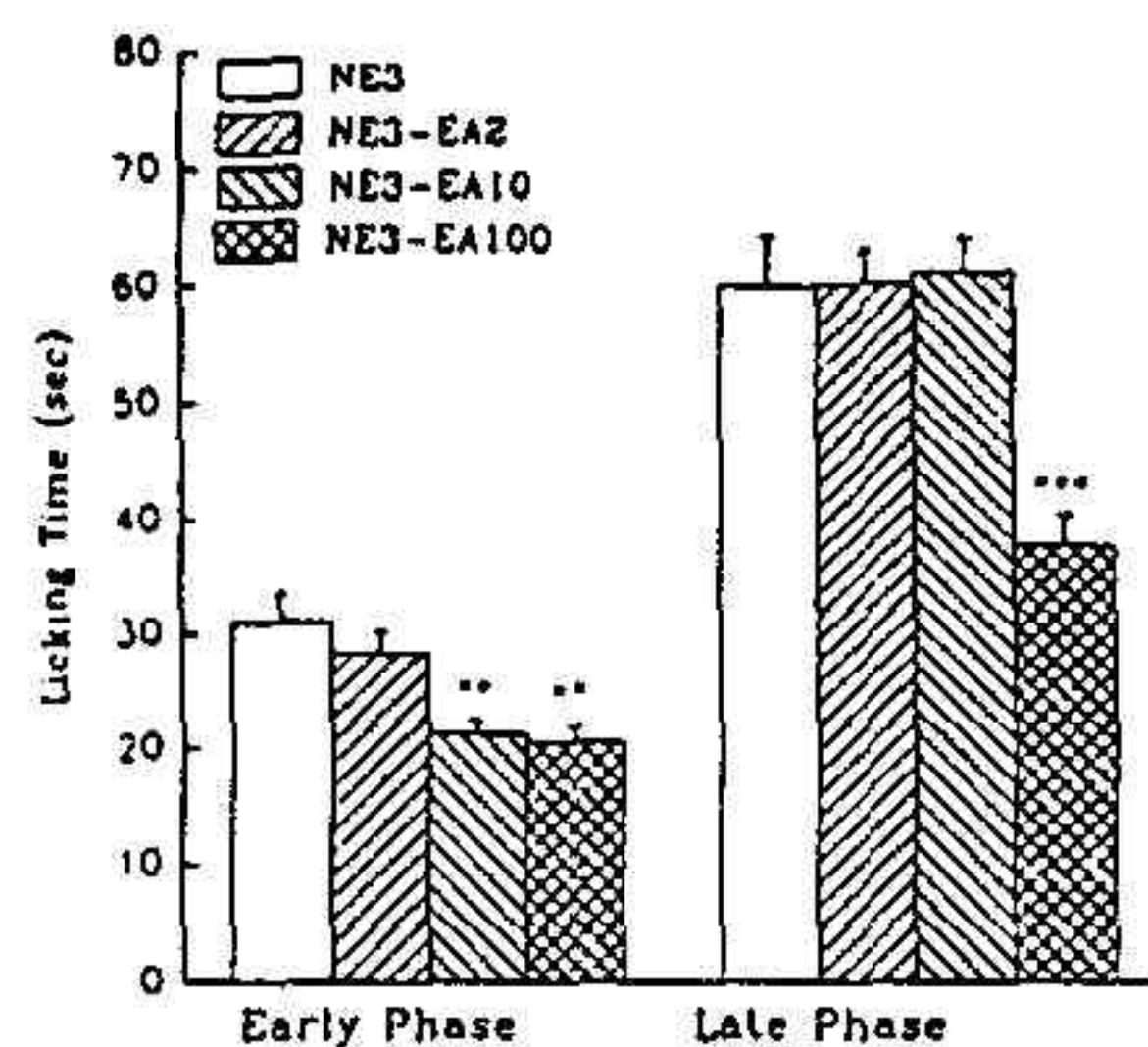


Fig. 6 The influences of three different frequencies of EA on NE (3 µg/Kg, i.c.v.). Experimental groups pretreat with NE 5 min before formalin test and compared with control group (NE 3 µg/Kg, i.c.v.). Data are presented as mean±S.E. (n = 12); **P < 0.01

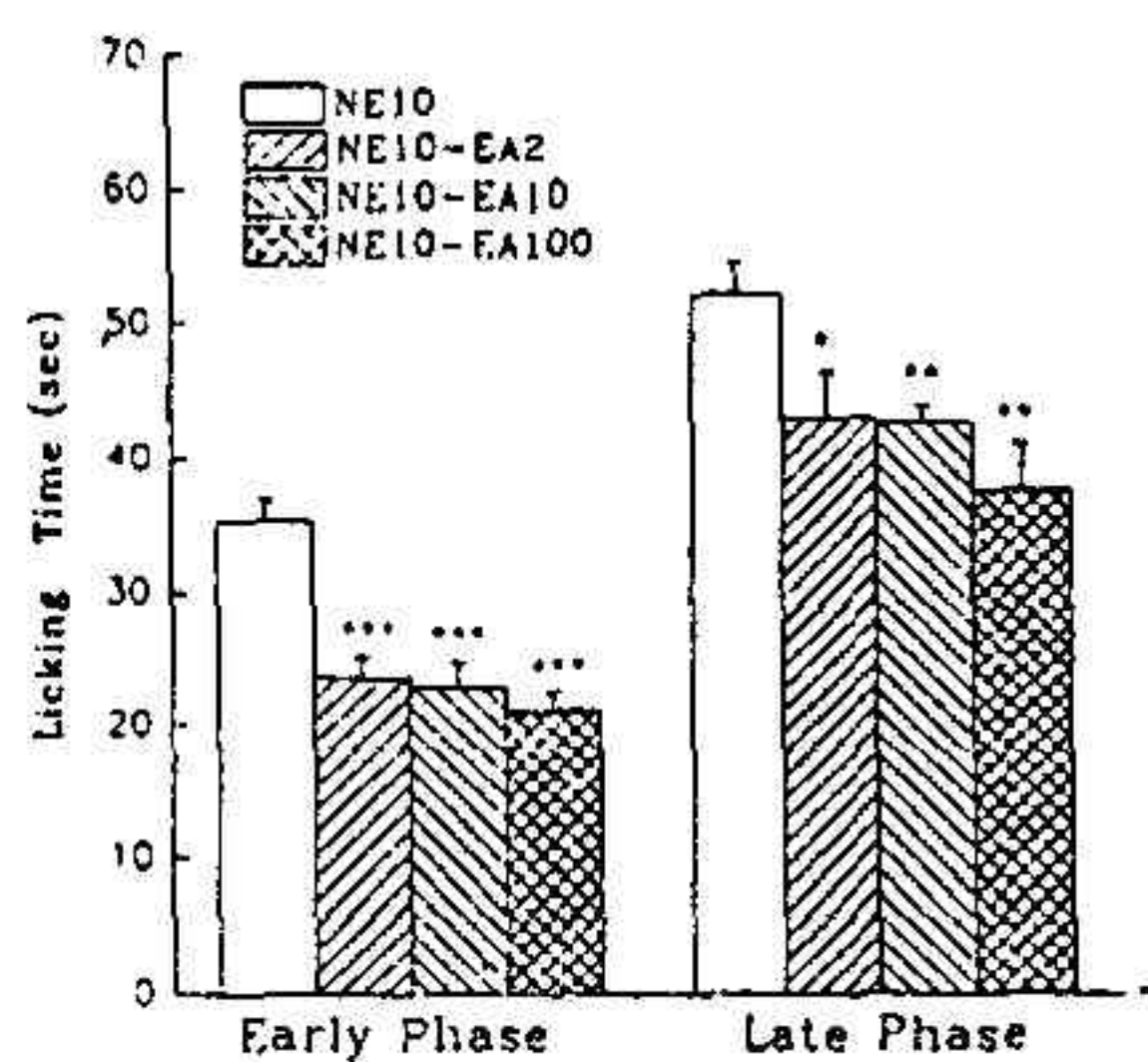


Fig. 7 The influences of three different frequencies of EA on NE (10 µg/Kg, i.c.v.). Experimental groups pretreat with NE 5 min before formalin test and compared with control group (NE 10 µg/Kg, i.c.v.). Data are presented as mean±S.E. (n = 12); **P < 0.01

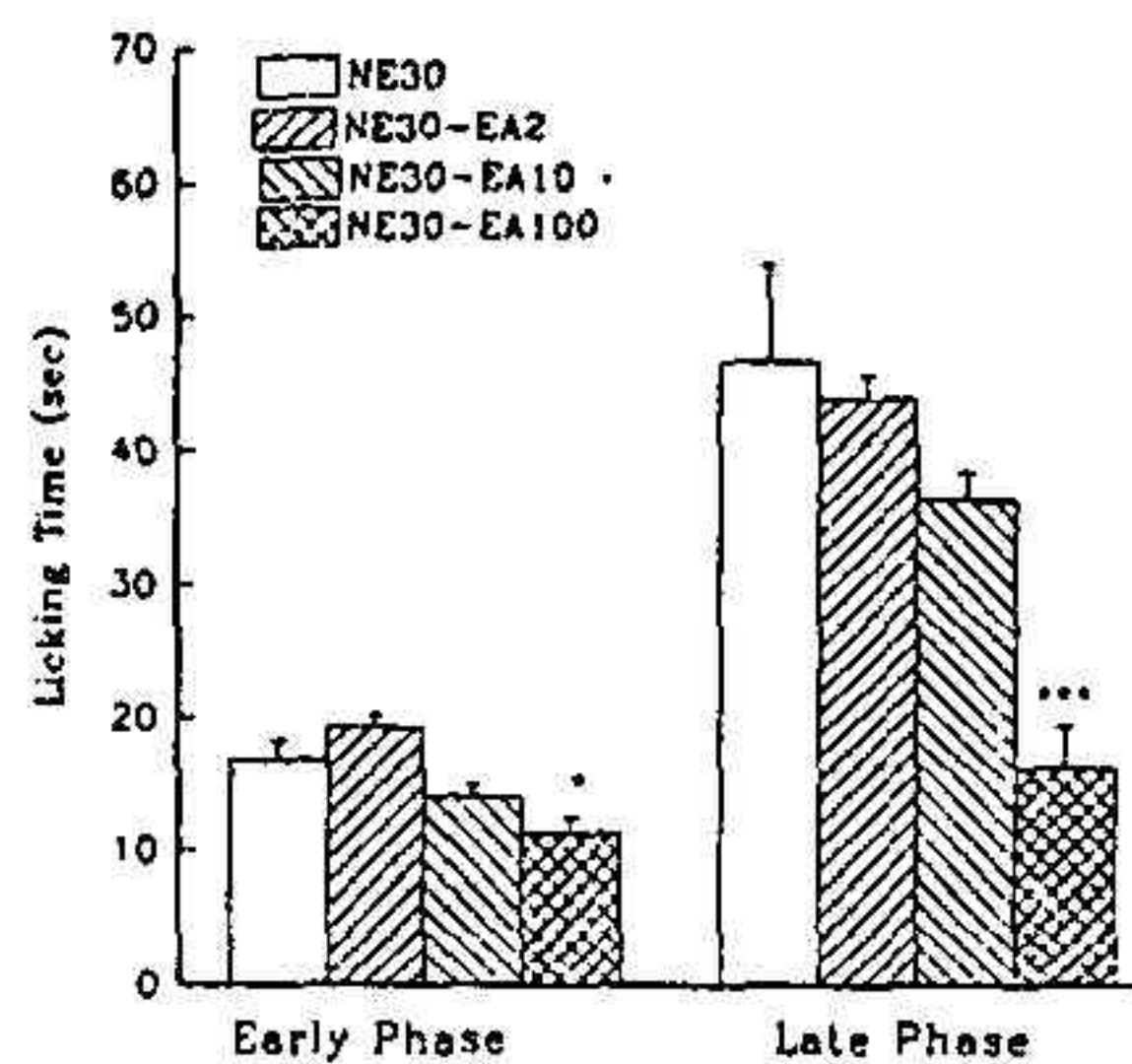


Fig. 8 The influences of three different frequencies of EA on NE (30 µg/Kg, i.c.v.). Experimental groups pretreat with NE 5 min before formalin test and compared with control group (NE 30 µg/Kg, i.c.v.). Data are presented as mean±S.E. (n = 12); **P < 0.01

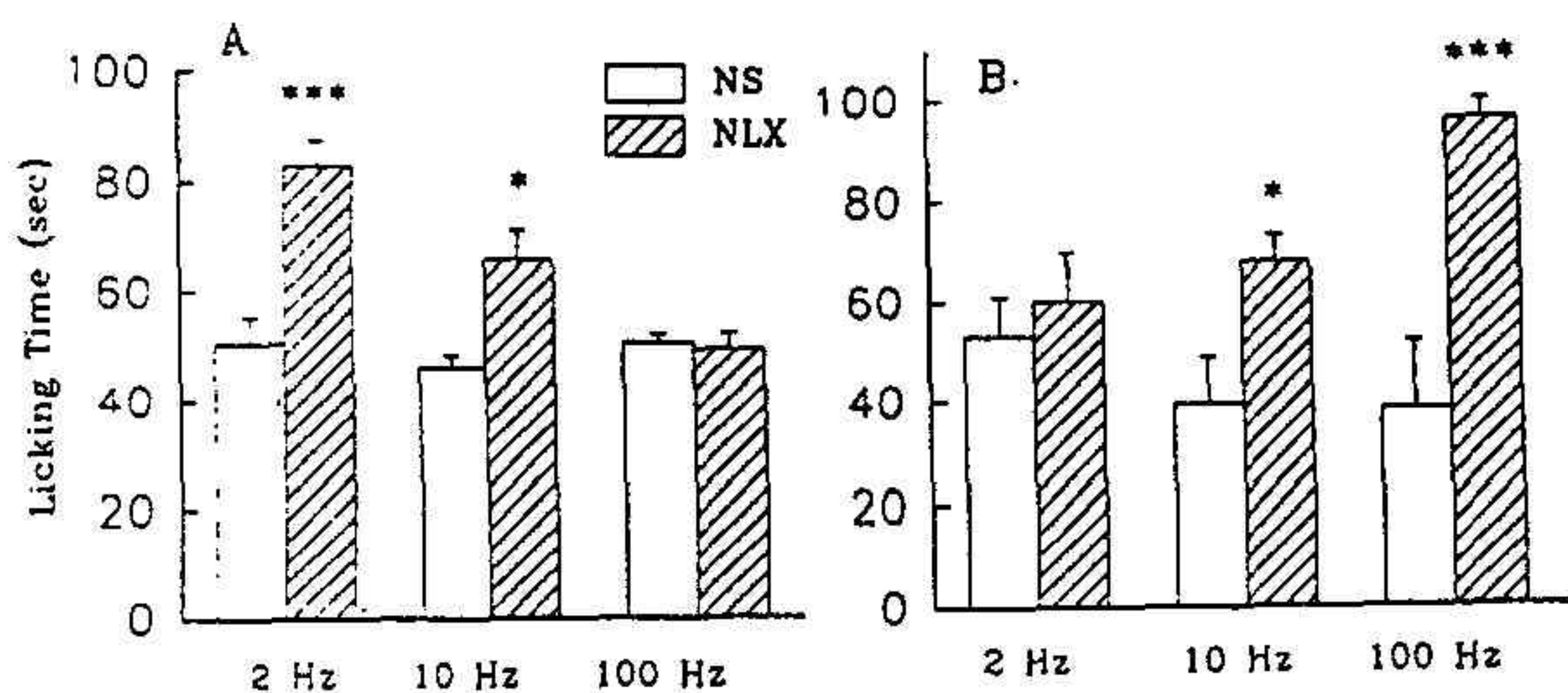
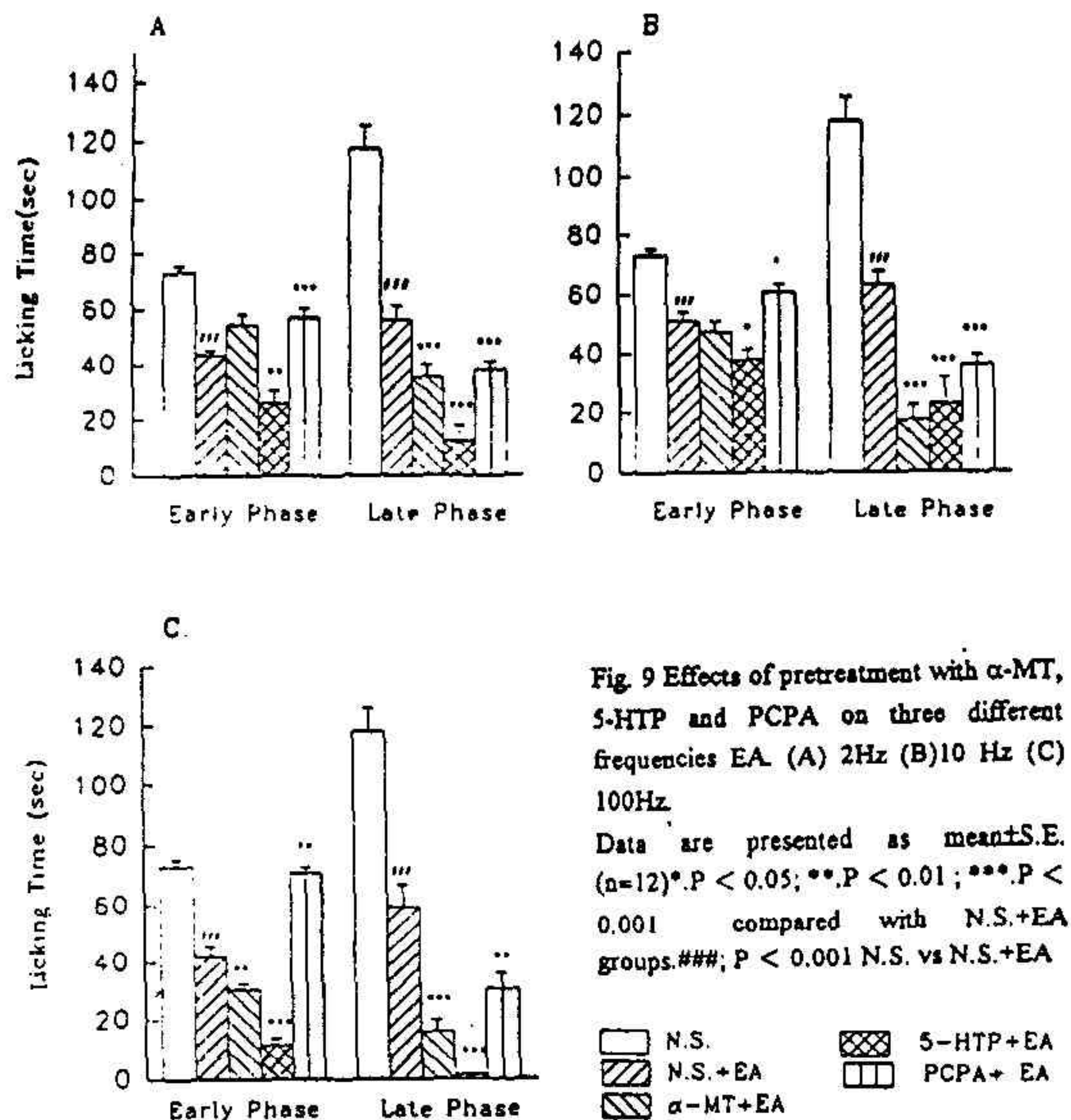


Fig. 10 Effects of naloxone (NLX; 1 mg/Kg, i.p.) on the early (A) and late (B) phases of three different frequencies of EA in the formalin test.

Experimental groups pretreated with naloxone 10 min before EA.

Data are presented as mean $\pm$ S.E. (n=10) *P < 0.05;

***P < 0.001 compared with control group (N.S., i.p.).

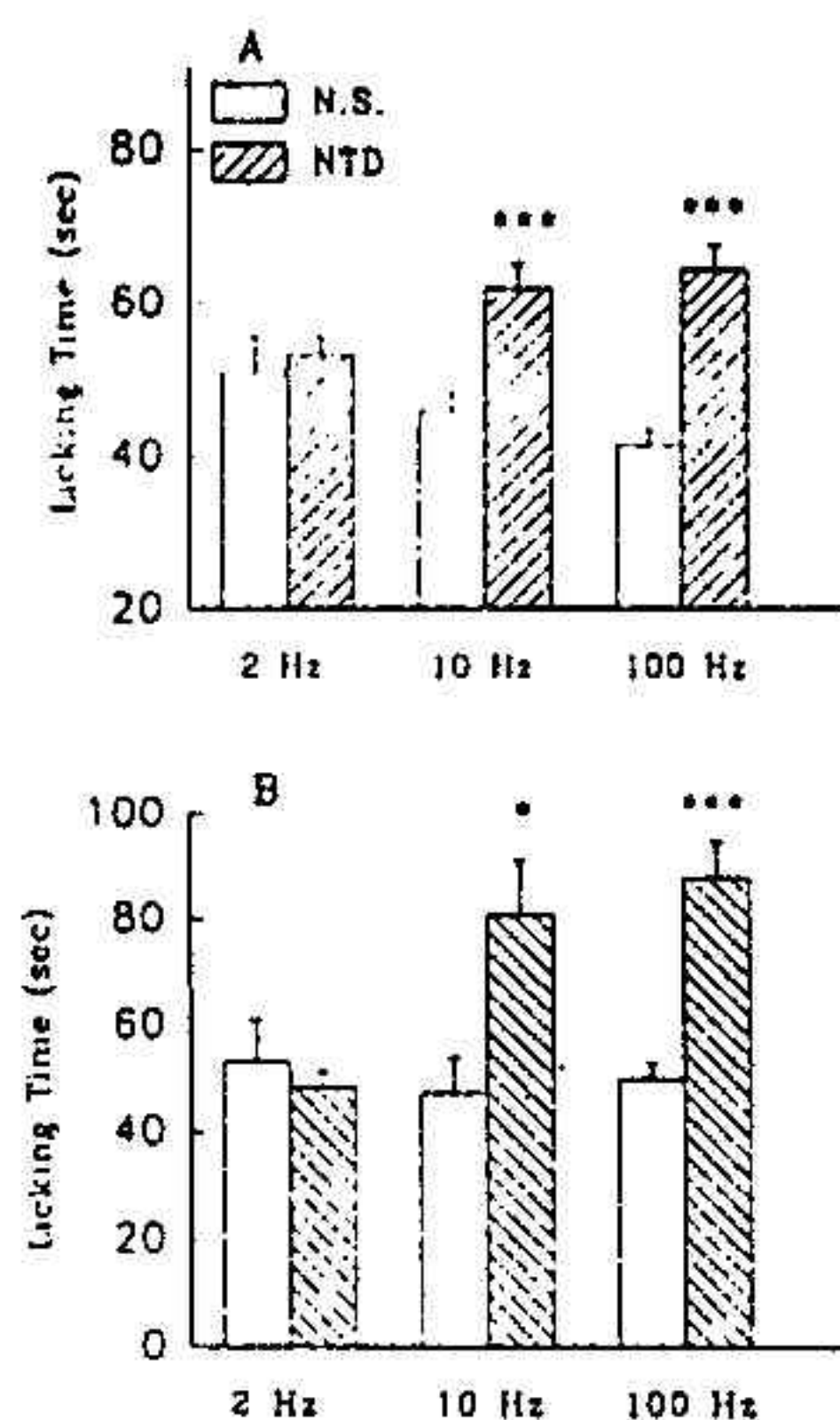


Fig 11 Effects of naltrindole (NTD; 1 mg/Kg i.p.) on the early (A) and late (B) phases of three different frequencies of EA in the formalin test. Experimental groups pretreated with naltrindole 15 min before EA. Data are presented as mean $\pm$ S.E. (n=10) *P < 0.05; ***P < 0.001 compared with control group (N.S., i.p.).

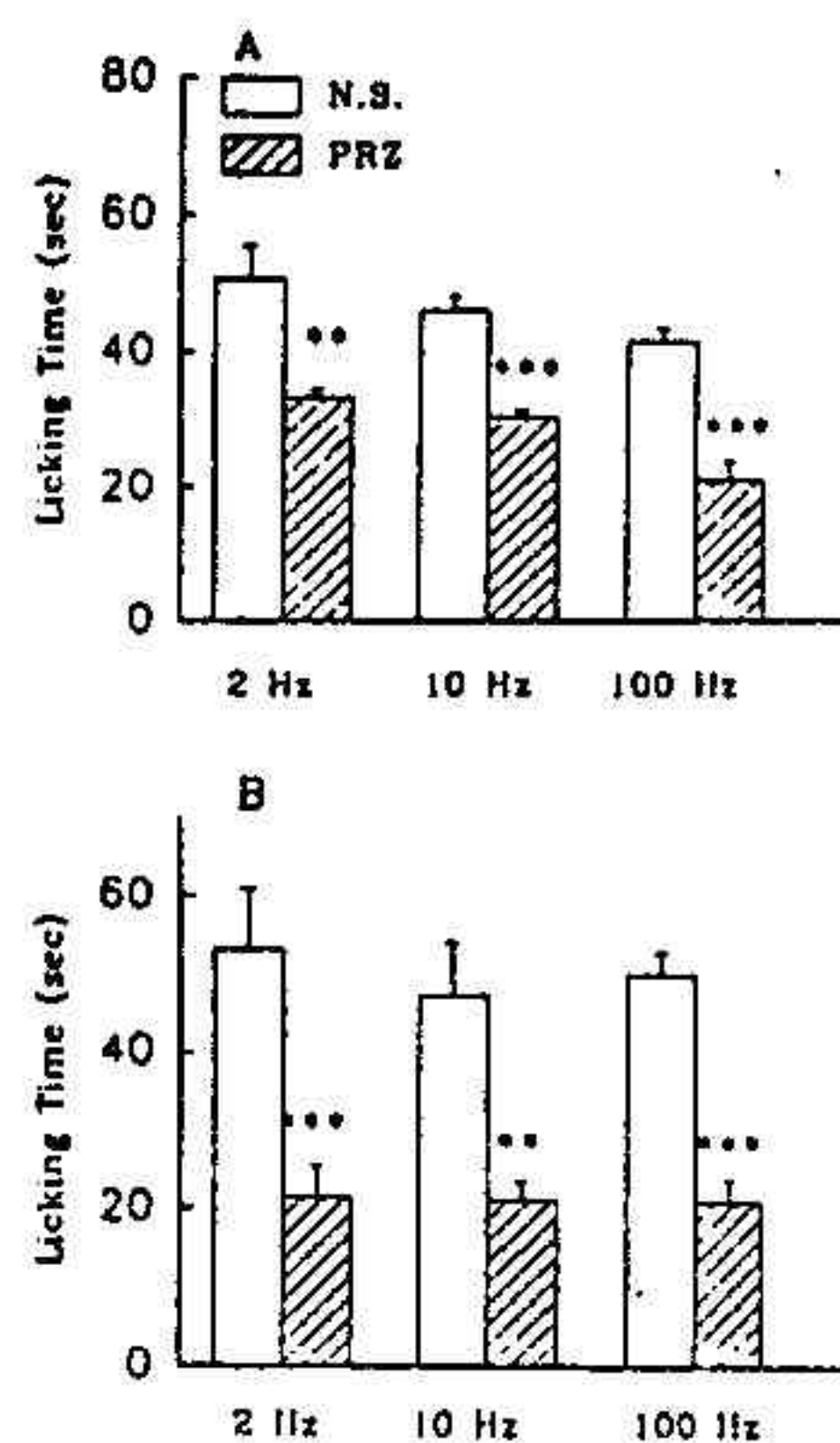


Fig 12 Effects of prazosin (PRZ; 1 mg/Kg i.p.) on the early (A) and late (B) phases of three different frequencies of EA in the formalin test. Experimental groups pretreated with prazosin 15 min before EA. Data are presented as mean $\pm$ S.E. (n=10) **P < 0.01; ***P < 0.001 compared with control group (N.S., i.p.).

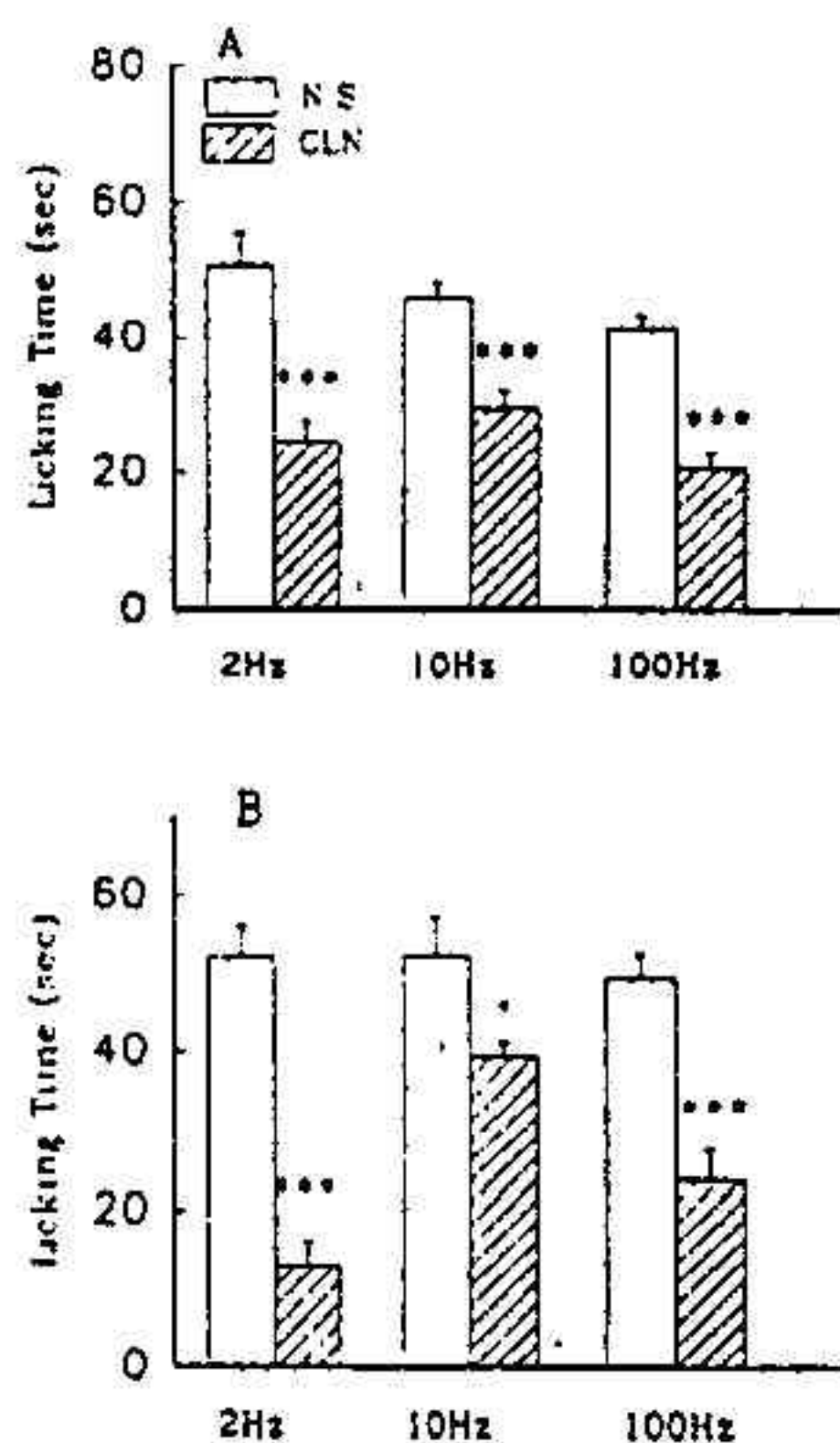


Fig 13 Effects of clonidine (CLN; 0.03 mg/Kg i.p.) on the early (A) and late (B) phases of three different frequencies of EA in the formalin test. Experimental groups pretreated with clonidine 15 min before EA. Data are presented as mean $\pm$ S.E. (n=10) *P < 0.05; ***P < 0.001 compared with control group (N.S., i.p.).

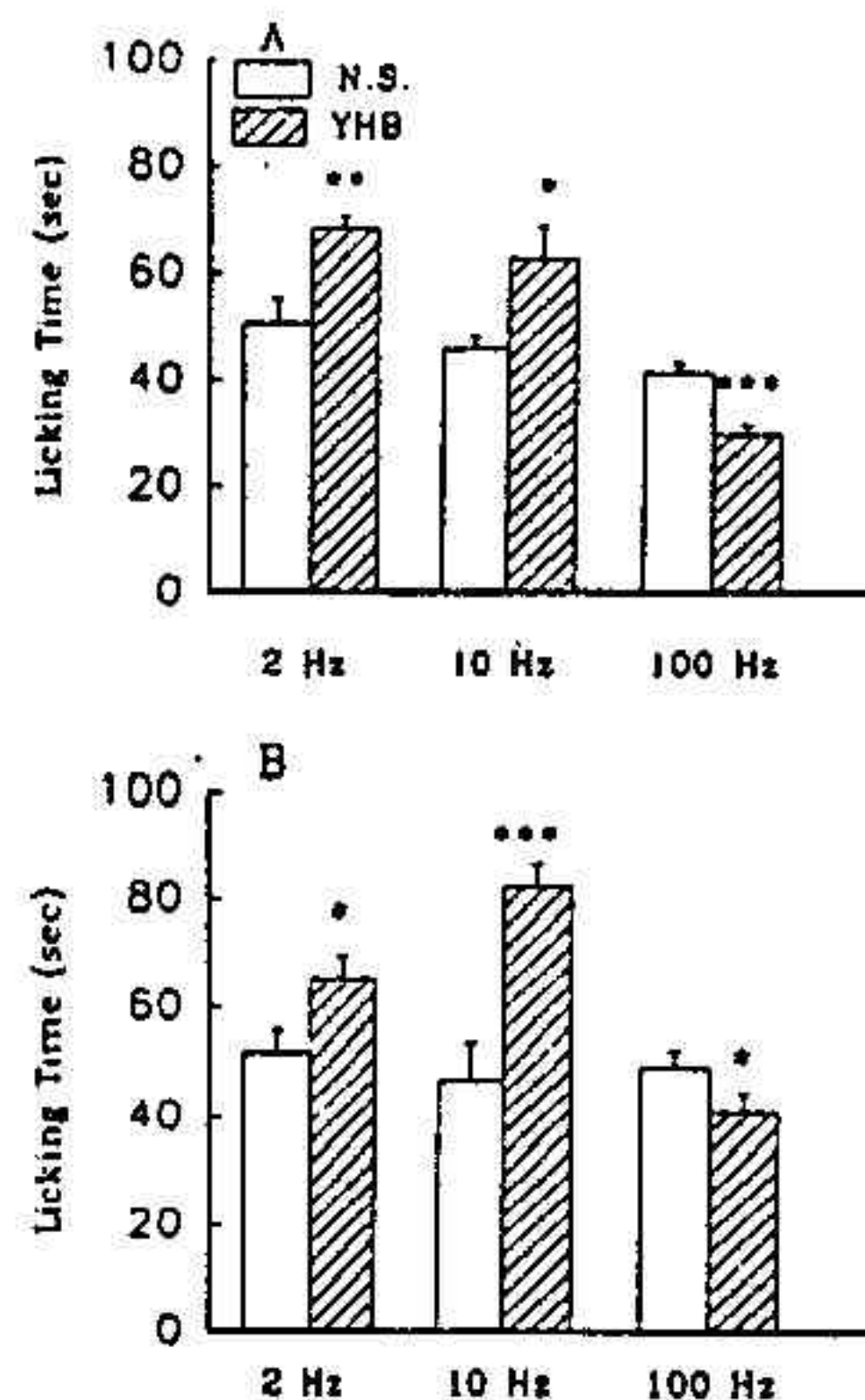


Fig 14 Effects of yohimbine (YHB; 1 mg/Kg i.p.) on the early (A) and late (B) phases of three different frequencies of EA in the formalin test. Experimental groups pretreated with yohimbine 15 min before EA. Data are presented as mean $\pm$ S.E. (n=10) *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001 compared with control group (N.S., i.p.).

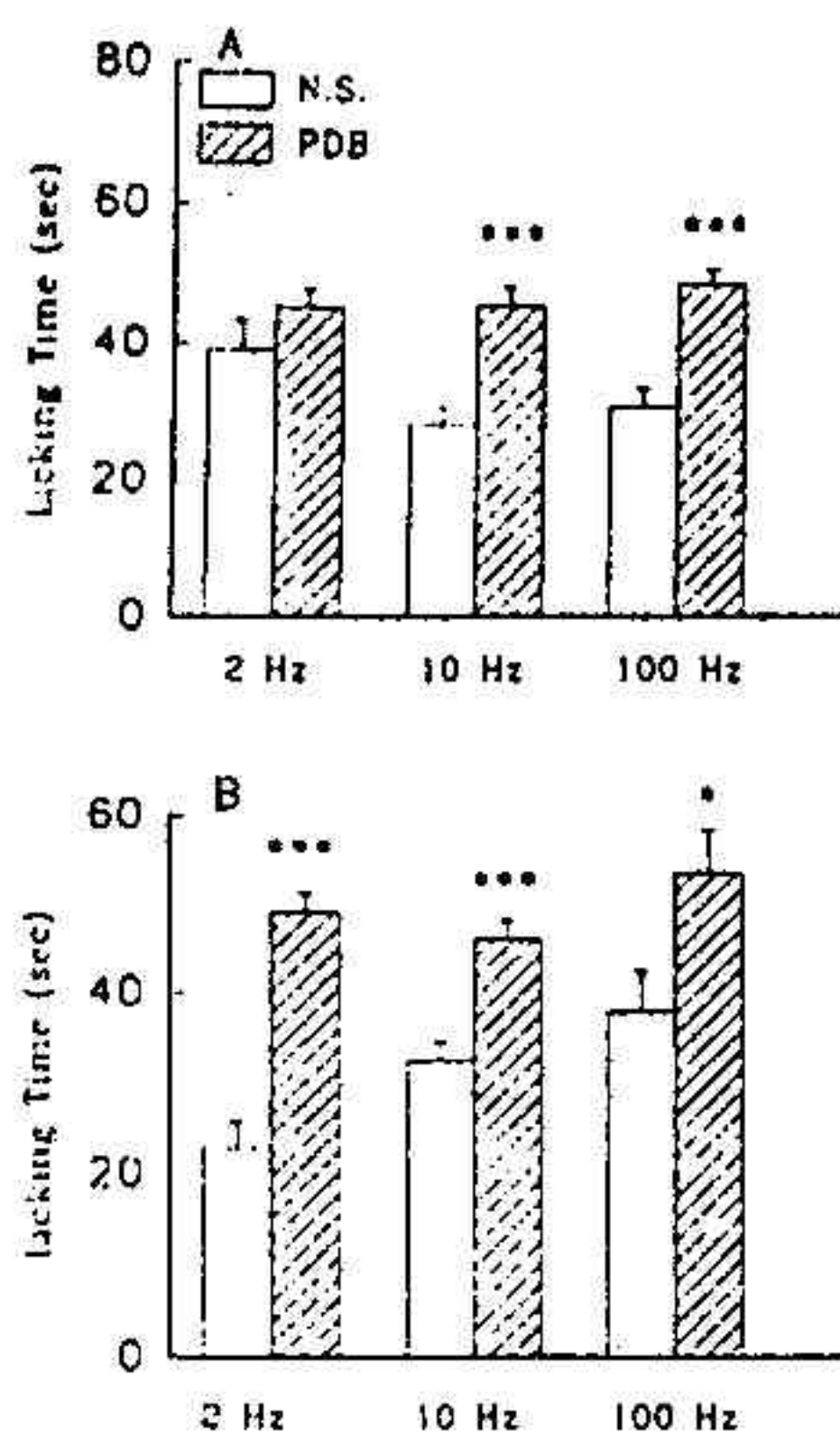


Fig 15 Effects of pindobind-5-HT_{1A} (PDB; 0.1 µg/animal, i.c.v.) on the early (A) and late (B) phases of three different frequencies of EA in the formalin test. Experimental groups pretreated with pindobind-5-HT_{1A} 5 min before EA. Data are presented as mean±S.E. (n=10) *P < 0.05, ***P < 0.001 compared with control group (N.S., i.c.v.).

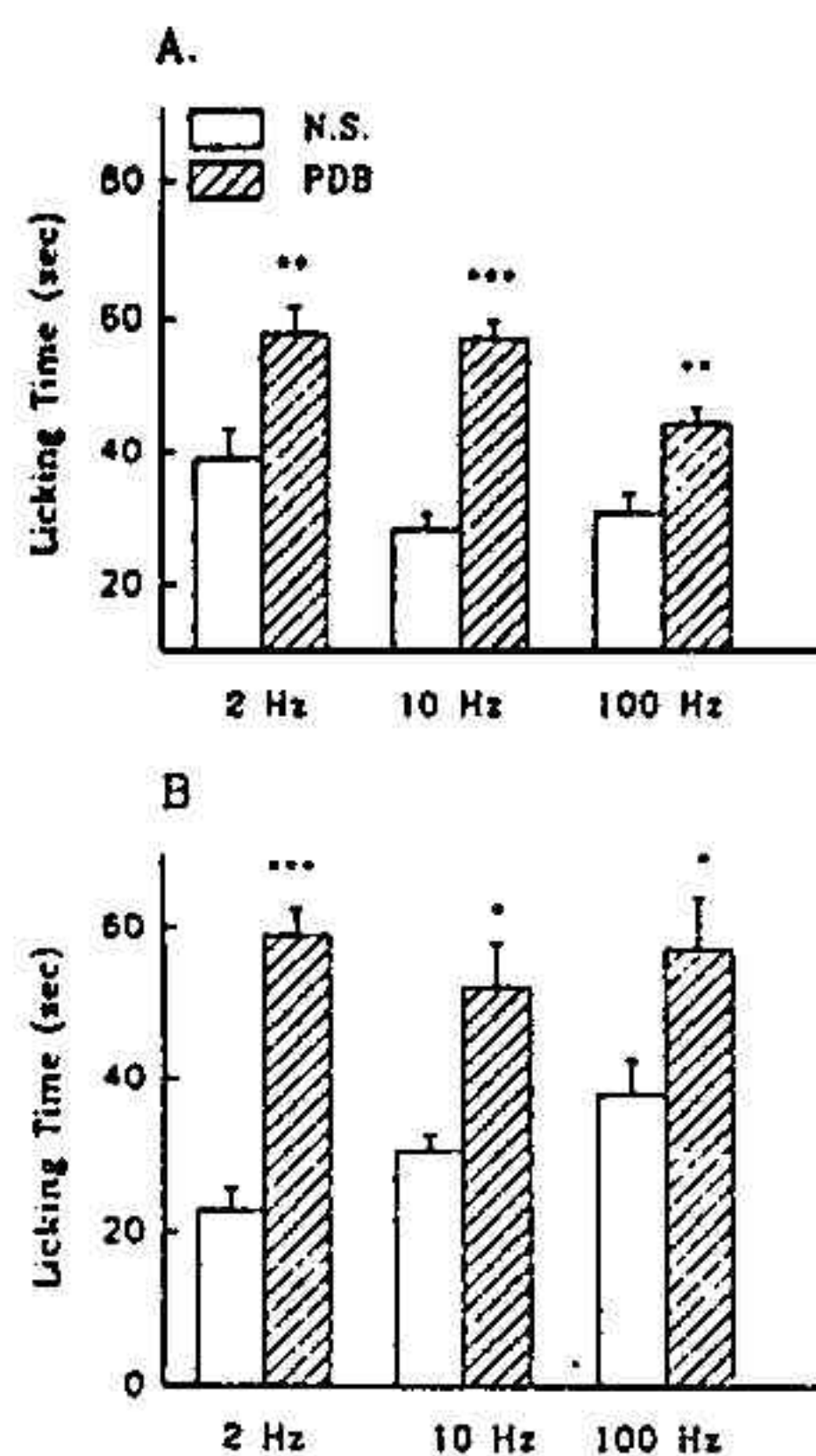


Fig 16 Effects of pindobind-5-HT_{1A} (PDB; 1 µg/animal, i.c.v.) on the early (A) and late (B) phases of three different frequencies of EA in the formalin test. Experimental groups pretreated with pindobind-5-HT_{1A} 5 min before EA. Data are presented as mean±S.E. (n=10) *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001 compared with control group (N.S., i.c.v.).

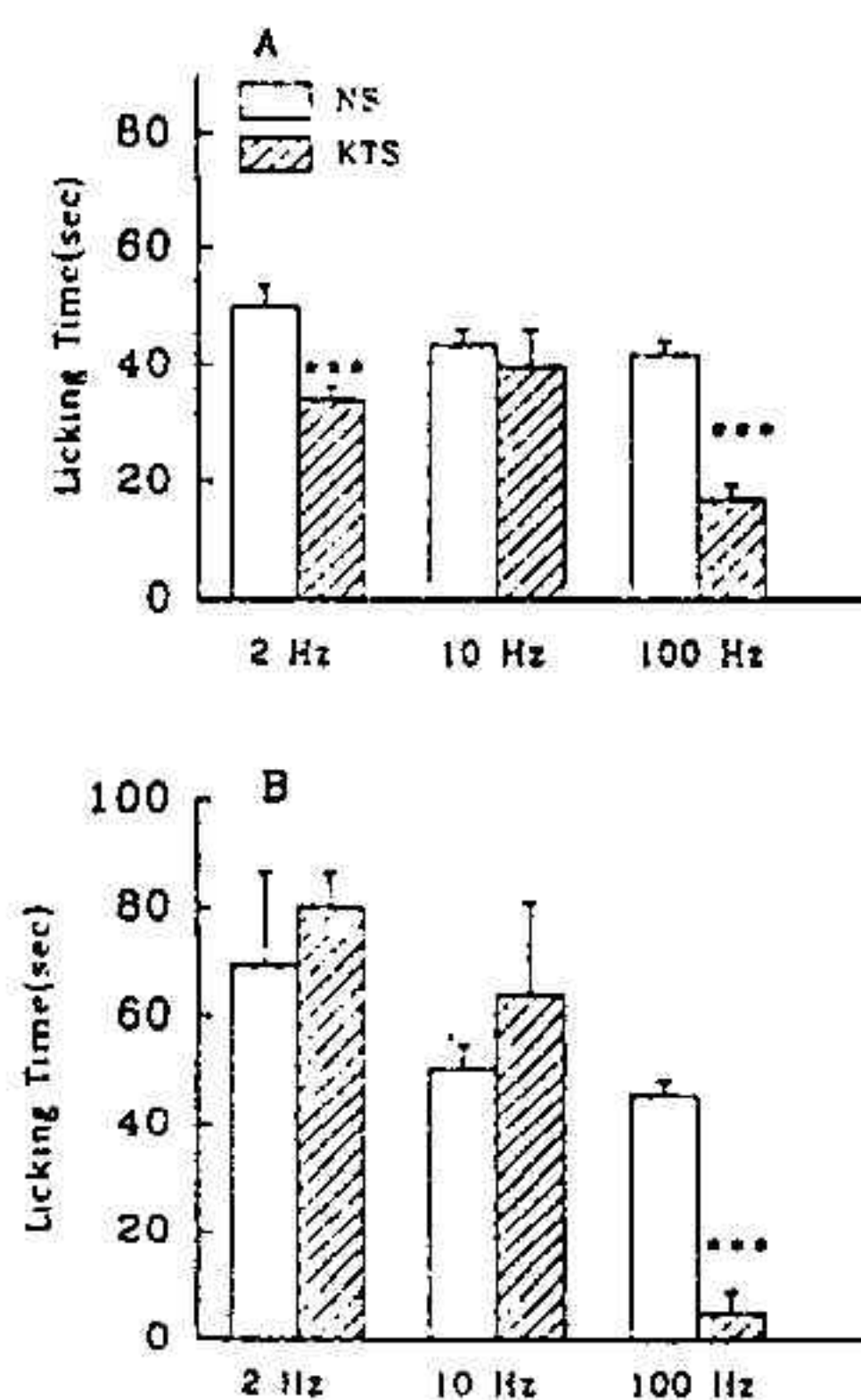


Fig 17 Effects of ketanserine (KTS; 1 mg/Kg, i.p.) on the early (A) and late (B) phases of three different frequencies of EA in the formalin test. Experimental groups pretreated with ketanserine 5 min before EA. Data are presented as mean±S.E. (n=10) *P < 0.05; ***P < 0.001 compared with control group (N.S., i.p.).

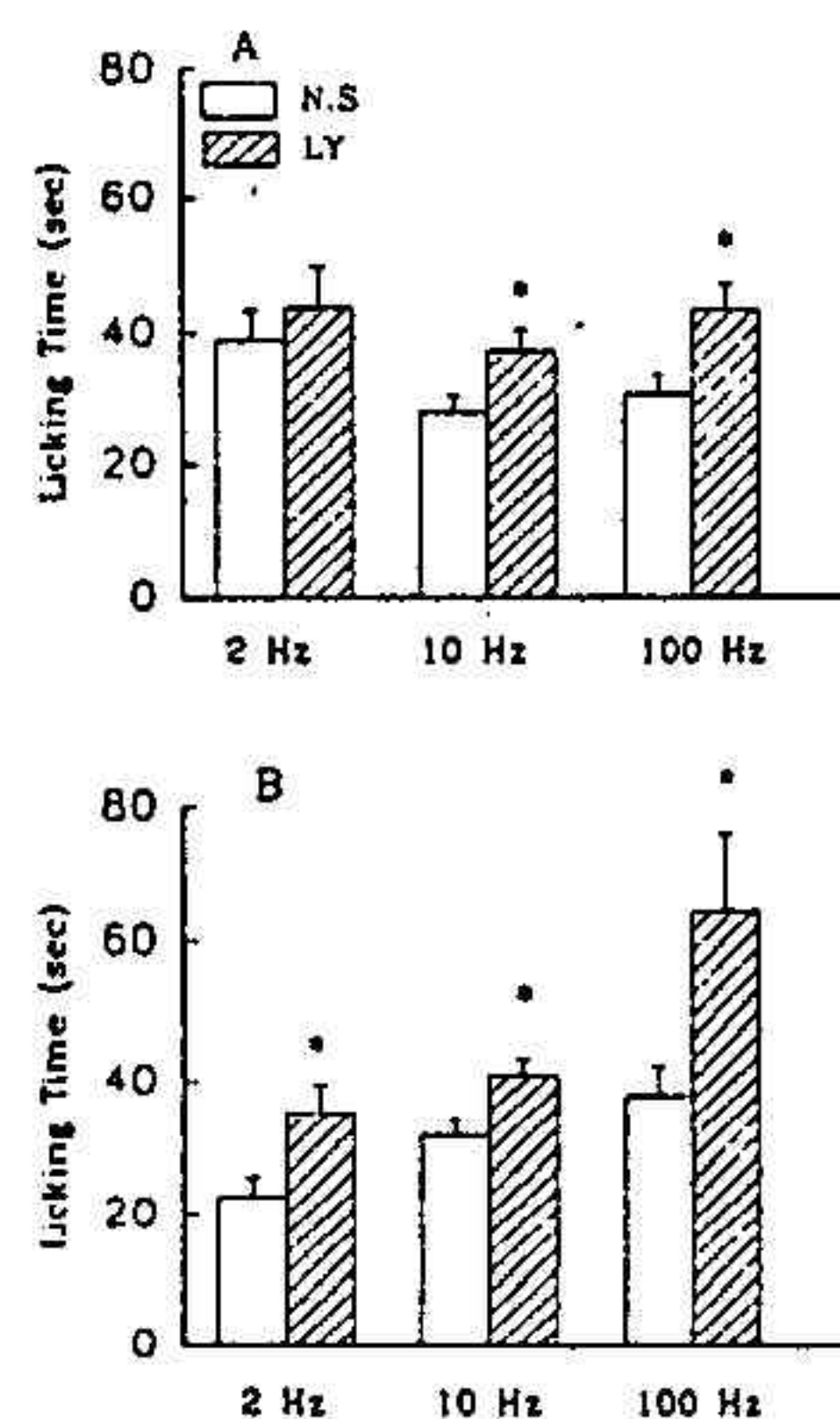


Fig 18 Effects of LY-278584 (1 µg/animal, i.c.v.) on the early (A) and late (B) phases of three different frequencies of EA in the formalin test. Experimental groups pretreated with LY278,584 5 min before EA. Data are presented as mean±S.E. (n=10) *P < 0.05 compared with control group (N.S., i.c.v.).

Table 1. The effects of different frequencies of EAc on the concentrations of monoamines in the mouse brain.

Cortex(ng/ml)						
	NE	Epi	DA	5-HIAA	HVA	5-HT
Control	1.57±0.54	0±0	5.07±1.32	0.57±0.08	1.62±0.50	3.67±0.80
E100Hz	0±0*	0±0	13.19±1.68 **	1.23±0.23 **	1.91±0.23	4.98±0.52
E10Hz	0±0*	0±0	11.88±1.58 **	0.89±0.11*	1.78±0.25	4.74±0.37
E2Hz	0.39±0.27*	0±0	10.32±1.1 **	0.91±0.15 *	1.74±0.21	5.27±0.24

E: Electroacupuncture *P< 0.05 , **P< 0.01

Medulla(ng/ml)						
	NE	Epi	DA	5-HIAA	HVA	5-HT
Control	3.22±0.18	0.13±0.13	0.60±0.16	0.98±0.15	0.02±0.02	2.48±0.36
E100Hz	2.09±0.33*	0±0	0.30±0.13	0.62±0.16	0.56±0.22*	1.36±0.35*
E10Hz	1.08±0.35 **	0.06±0.06	0.55±0.15	1.11±0.17	0.09±0.06	1.18±0.27 **
E2Hz	2.20±0.34	0.06±0.06	0.52±0.14	0.73±0.08	0.11±0.08	2.53±0.42

E: Electroacupuncture *P< 0.05 , **P< 0.01

Spinal(ng/ml)						
	NE	Epi	DA	5-HIAA	HVA	5-HT
Control	0.13±0.13	0±0	0.27±0.12	0.54±0.11	0.86±0.43	0.70±0.17
E100Hz	0±0	0±0	0.33±0.10	0.88±0.20	0.27±0.14	0.39±0.06
E10Hz	0.12±0.12	0±0	0.17±0.08	0.51±0.12	0.17±0.07	0.61±0.08
E2Hz	0.45±0.29	0±0	0.37±0.15	0.80±0.18	0.98±0.32	0.71±0.20

E: Electroacupuncture *P< 0.05 , **P< 0.01

討 論

福馬林試驗乃 Dubuisson 和 Dennis 在 1977 年首先提出，觀察動物行為上的變化來評估化學性傷害刺激造成的持續性疼痛⁽²²⁾，近年來愈來愈多學者使用福馬林試驗當作實驗性動物疼痛的模型。在 1989 Shibata 和 Takahashi 等人又對福馬林試驗提出修正，認為在老鼠腳背注射福馬林溶液後會造成雙相 (biphasic) 的痛覺反應，即有早期 (early phase) 和晚期 (late phase) 兩種疼痛表現的尖峰。早期大多在注射後的 0-5 分鐘，晚期則在注射後 15-20 分鐘內出現⁽²³⁾。早期的神經傳導物質主要為 substance P 和 bradykinin，而晚期則有 histamine、serotonin、prostaglandin 及 somatostatin 等周邊化學物質的參與⁽²³⁾⁽²⁴⁾。至於早期反應的機轉可能是因直接刺激痛覺接受體經 Aδ- 及 C-纖維傳入中樞⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾，屬中樞神經性痛覺反應，而晚期則有許多周邊化學物質的釋出，屬炎症痛覺反應⁽²⁷⁾。

然而，福馬林試驗中大鼠行為改變的評分 (weighting score) 或統計小鼠舔腳的總秒數 (total licking time) 都與福馬林溶液的濃度有關，Rosland 等人在 1990 年建議若僅欲探討中樞之反應，可用 0.05-0.2 % 的福馬林溶液並儘量減少老鼠受到傷害的刺激，但若希望也觀察到周邊的晚期反應，則須用 1 % 或更高的濃度才可誘發出來，當福馬林濃度達 5 % 時，則可由組織的鑑定發現有急性炎症反應，甚至顆粒球的腫脹及破壞⁽²⁸⁾。至於觀察的時間則和所給予的濃度有正相關，早期 0-5 或 0-10 分鐘，晚期則可統計 10-30、10-40 甚至至一小時皆可，視各實驗室的條件和需求。但必須注意的是環境的控制，嘈雜的環境會影響動物的注意力，造成實驗的誤差；而室溫的控制更加的重要，Rosland 在 1991 年提出環境溫度會影響福馬林試驗的結果，尤其是晚期反應⁽²⁹⁾。Hole 和 Tjolsen 在 1993 年又補充說明認為室溫不宜太低，否則晚期的基準線會下降，且實驗所給的藥物若改變動物的皮膚溫度，則會造成晚期反應的改變，形成錯誤的解釋⁽³⁰⁾。

在針刺鎮痛的研究中，多數學者使用甩尾試驗來評估，但僅能用以推論脊髓中之痛覺反射，較無法解釋中樞脊髓上 (supraspinal) 及周邊炎症 (peripheral inflammation) 之痛覺傳導。由於針刺作用絕非單獨的脊髓閘門理論所能含蓋，故本研究用福馬林試驗來評估電針的鎮痛作用，並進一步探討不同頻率電針之機轉。在每天固定的時間內完成實驗 (AM: 9:00-12:00, PM: 2:00-6:00) 來減少晝夜節律 (circadian) 造成

的影響，並控制實驗室的溫度於 22-25 °C，且讓老鼠適應新環境至少 30 分鐘後才進行實驗。另外，在每次的實驗中隨機地將老鼠分成對照組及實驗組（2 Hz、10 Hz、100 Hz EA）以減少系統性誤差，達到更嚴謹的實驗室品質控制。

Pomeranz 在 1976 年就已提出不同頻率電針鎮痛作用的機轉並不相同⁽³¹⁾，當時認為低頻率（4 Hz）電針鎮痛是經由 endorphin 的作用，而高頻率（200 Hz）則可能與 serotonin 有關。在本研究中，電針雙側足三里穴所產生的鎮痛作用不論是 2 Hz、10 Hz 或 100 Hz 在福馬林試驗的早期及晚期皆有明顯的鎮痛作用（Fig.1）。因此可以推論針刺鎮痛的機轉，除了中樞的效應外，可能還有周邊的因素存在。至於單胺類物質在電針鎮痛中的角色，已有不少報告。多數學者認為 serotonin 和 norepinephrine 都與電針鎮痛有關。因此，本研究利用腦室給予外源性單胺類物質 5-HT 及 NE，看看是否會影響三種不同頻率的電針作用。

首先，在實驗組由腦室注射不同劑量的 5-HT，與對照組比較可看到當 5-HT 之劑量大於 30 μ g/kg 時，早期的舔腳秒數明顯下降，而晚期則需劑量在 300 μ g/kg 時才有下降，可知外源性的 5-HT 的確有鎮痛作用。因此選擇 5-HT 產生鎮痛之臨界劑量 10 μ g/kg 及 30 μ g/kg 二種，進行不同頻率的電針刺激。結果可見三種頻率電針在 10 μ g/kg 5-HT 腦室注射後，福馬林試驗之早期在三種頻率電針下皆有加強鎮痛的作用，尤以高頻 100 Hz 最顯著（ $p < 0.001$ ），而低頻 2 Hz 及 10 Hz 則無統計上之意義，這和早期學者認為高頻率與 serotonin 的關係較密切有關。然而在 5-HT 30 μ g/kg 之劑量下，可能因為本身就很強的鎮痛作用，因此福馬林試驗的早期並沒有統計上的顯著差異，但三種頻率電針對福馬林試驗的晚期則有顯著的抑制作用，因此當腦內 5-HT 濃度增加時，周邊的影響可能增大。以上結果表示電針和 5-HT 之間的確存在加成的作用，這與以前學者之結論大致相同⁽³²⁾⁽³³⁾。另外，由腹腔注射 5-HT 之前驅物 5-HTP 來增加內源性 5-HT 之合成，可看到加強了三種頻率電針之鎮痛作用，相反的注射 PCPA 將 5-HT 排空，則抑制了電針之鎮痛作用，更進一步確定了 serotonin 是參與針刺鎮痛的重要神經傳導物質，但不僅是在高頻的刺激，可能在低頻的刺激下中樞的 serotonergic neurons 即已參與；且在高頻的刺激，除了中樞的作用外，也會影響周邊的作用。

Norepinephrine 在中樞之鎮痛作用，主要是經由藍斑（LC）的下行

抑制纖維所控制⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾。然而，在針刺鎮痛下，多數學者認為動物腦內 NE 含量會下降⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾，然而直接由脊髓給予 NE 的確會降低動物痛覺的傳達⁽²⁰⁾，似乎表示 NE 在腦和脊髓中扮演著不同的角色。因此，本研究從腦室直接注射外源性的不同濃度之 NE，由福馬林試驗的早期可看出 NE 具有鎮痛作用，尤其在 30 $\mu\text{g/kg}$ 的劑量以上更為顯著 (Fig. 2-4)，是否暗示 NE 在腦中的作用與其濃度有關。更進一步，3, 10 $\mu\text{g/kg}$ NE 對於不同頻率的電針在中樞的鎮痛作用明顯地被加強，而且對高頻電針鎮痛作用的參與除中樞外，周邊的作用也會影響。早在 1977 年 Pickel 等學者就已觀察到富含 noradrenergic 神經元的藍斑區有 serotonergic 神經元的分布⁽²⁶⁾。Crepes 在 1980 年用 PCPA 將 5-HT 排空後，可看到藍斑區的 noradrenergic 神經元活動性上升，表示 NE 在大腦中的含量，受到 5-HT 神經元的影響。Done 和 Sharp 在 1992 年及 1994 年分別提出海馬中之 NE 釋放量，受到 5-HT 接受體的控制，而且 5-HT_{1A} 和 5-HT₂ 有著相反的作用⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾。因此電針鎮痛時 5-HT 的釋出活化了 NRM 的下行抑制系統，卻也同時抑制了 LC 處之 noradrenergic 神經元。但若給予適量的外源性 NE (10 $\mu\text{g/kg}$) 則可直接起動 NE 的下行抑制路徑，更加強電針的鎮痛作用。而在 100 Hz 的電針下，是直接起動 LC 處的 NE 下行路徑，還是 100 Hz 電針在脊髓中就有加強鎮痛之神經迴路，則需要進一步由脊髓給藥加以證實。在本研究中腹腔注射 α -MT 僅加強 100 Hz 電針之鎮痛作用，亦間接地證實 NE 和 100 Hz 間之關係。

在不同頻率電針鎮痛機轉中， β -內啡太、腦啡太、強啡太等鴉片樣物質皆參與其中，Han 等人更進一步提出 2 Hz 電針鎮痛作用在大鼠脊髓中是由 μ 及 δ -類鴉片接受體所媒介，而 100 Hz 電針則由 κ -類鴉片接受體來媒介⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾。本研究選用非選擇性的類鴉片接受體拮抗劑 naloxone 在電針前給予，結果福馬林試驗的早期主要可逆轉低頻率 2 Hz 及 10 Hz 電針之鎮痛作用；然而選擇性的 δ -類鴉片接受體拮抗劑 naltrindole 在電針前給予，則逆轉了 10 Hz 及 100 Hz 的電針鎮痛作用，對 2 Hz 電針鎮痛作用並沒有影響。由此結果顯示低頻率 (2 Hz) 的電針鎮痛是 naloxone-reversible，表示有 μ -類鴉片接受體的參與，這和大部分的學者看法一致。而當頻率增加時則電針之鎮痛作用則可能 μ 與 δ -類鴉片接受體皆有參與，這和 Han 在 1989 及 1992 年所提出 2/15 Hz 電針之機轉亦接近⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾。然而，由 δ -類鴉片拮抗劑 naltrindol 可逆轉 100 Hz 電針卻對 2 Hz 電針沒有作用，更證實在高頻 δ -類鴉片確實與電針鎮痛有關係，此結果雖然與 Han 認為 δ -類鴉片參與低頻率電針顯然不同，或許是不同的動物和不同的疼

痛模式間之差異，但由許多內源性鎮痛機轉的研究中可知，單胺類物質與鴉片樣物質間有一定的交互作用⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾，當然針刺鎮痛的機轉亦不能排除單胺類物質對鴉片樣物質鎮痛機轉之影響。Pomeranz 在 1988 年又提出 naltrexone 在電針前給藥可阻止電針鎮痛之發生，但在電針後給藥則無法逆轉電針之鎮痛作用⁽⁴²⁾，似乎電針後內源性鴉片樣物質之釋放與拮抗劑間存在有相互的作用關係，因此給藥的時間必須加以考慮進去。

電針鎮痛與 adrenergic 系統間之關係，目前仍無定論。有學者認為腦和脊髓中的 NE 在電針鎮痛中有著完全相反的作用：腦內 NE 經由 α 接受體會“拮抗”電針鎮痛作用；而脊髓的 NE 則經由 α 接受體“加強”電針鎮痛作用⁽¹⁹⁾。但並未提是 $\alpha 1$ 與 $\alpha 2$ 接受體之作用。後來，又有學者針對 $\alpha 2$ 接受體致效劑 clonidine 與電針鎮痛之關係作一補充，但看法仍不一致⁽²⁰⁾⁽²¹⁾。因此，本研究選擇了 $\alpha 1$ 及 $\alpha 2$ 之拮抗劑 prazosin、yohimbine 及 $\alpha 2$ 之致效劑 clonidine，在三種頻率電針前給藥，結果發現， $\alpha 1$ 接受體拮抗劑 prazosin 及 $\alpha 2$ 接受體致效劑 clonidine 均可加強三種頻率電針之鎮痛作用；而 $\alpha 2$ 接受體拮抗劑 yohimbine 加強了 100 Hz 電針之鎮痛作用，但卻逆轉了 2 Hz 和 10 Hz 之電針鎮痛。

以上結果顯示， $\alpha 1$ 及 $\alpha 2$ 接受體皆有參與電針鎮痛之作用，從 prazosin 及 clonidine 一致加強電針鎮痛的結果來看， $\alpha 1$ 及 $\alpha 2$ 接受體與電針鎮痛之關係似乎完全相反。Sagen 在 1985 年提出在 NRM 之突觸後 $\alpha 1$ 接受體和突觸前 $\alpha 2$ 接受體都參與痛覺之調節⁽⁴³⁾。1993 年 Kanui 等學者亦提出相似論點，認為在鼯鼠脊髓中的 $\alpha 1$ 及 $\alpha 2$ 接受體可能有相反的作用。從以上學者的研究可以支持 $\alpha 1$ 接受體拮抗劑 prazosin 和 $\alpha 2$ 接受體致效劑 clonidine 皆可加強電針鎮痛作用。然而 $\alpha 2$ 接受體拮抗劑 yohimbine 可逆轉 2 Hz 及 10 Hz 電針之鎮痛作用，更進一步地說明了 $\alpha 2$ 接受體參與電針鎮痛之作用。但在 100 Hz 電針下，yohimbine 反而加強了電針鎮痛作用。由結果顯示，低頻率之電針經由 $\alpha 2$ 接受體來媒介的關係較密切，至於其中 NE 與 5-HT 或鴉片樣物質間的交互作用如何影響，則有待進一步的探討。

進年來對於 5-HT 接受體的種類與鎮痛作用之關係，有大量的學者進行研究。其中較確定的接受體分成 5-HT₁、5-HT₂、5-HT₃ 三大類。然而，針刺鎮痛的機轉與 5-HT 接受體之關係，目前尚無研究，因此，本

研究在最後針對 5-HT_{1A}、5-HT₂、5-HT₃ 三種接受體與電針鎮痛之關係作一探討。結果顯示，選擇性的 5-HT_{1A} 接受體拮抗劑 pindobind-5HT_{1A}，不管在福馬林試驗之早期或晚期，皆可看到逆轉三種不同頻率電針之鎮痛作用，而且顯現 5HT_{1A}接受體拮抗劑對於高頻 100 Hz 電針刺激之抑制作用，中樞較周邊為強。選擇性的 5-HT₃ 接受體拮抗劑 LY-278584 作用與 pindobind-5-HT_{1A} 類似，亦可拮抗電針之鎮痛作用，但 5-HT₃ 媒介電針鎮痛之重要性似乎比 5HT_{1A} 來的弱。然因，5-HT₂ 接受體拮抗劑 ketanserin 對於 100 Hz 電針之鎮痛有加強作用。由以上結果顯示三種頻率電針鎮痛都與中樞神經內之 5-HT_{1A}、5HT₂ 及 5-HT₃ 有關，電針之鎮痛可能是抑制了興奮性的 5HT_{1A} 及 5HT₃ 接受體或者興奮了抑制性的 5-HT₂接受體。

Eide 和 Hole 認為 5-HT_{1A} 接受體參與脊髓痛覺之調節，而 5-HT₂ 則不然⁽⁴⁴⁾。El-Yassir 等亦提出由 NRM 下傳之抑制性纖維受到脊髓中 5-HT₁ 接受體之媒介⁽⁴⁵⁾。Han 則認為在鼠尾皮膚溫度校正後，5-HT₁ 及 5-HT_{1c/2} 接受體參與脊髓痛覺之調節，5-HT₃ 接受體則沒有參與⁽⁴⁶⁾；然而亦有其它研究支持 5-HT₃ 接受體有參與脊髓痛覺之調節⁽⁴⁷⁾⁽⁴⁸⁾。5-HT₂ 接受體則唯有一研究指出在脊髓上（supraspinal）可抑制痛覺之傳導⁽⁴⁹⁾。而且由本研究的結果顯現 5-HT_{1A} 及 5-HT₃ 接受體被阻斷時，則電針的效果減弱，故若 Done 和 Sharp 的論點屬實，則意味著電針後腦內 NE 與 5-HT 彼此間的互動是一重要因素。因此，更確定的機轉，則有待進一步的研究。

結 論

電針足三里可引起鎮痛作用，已被許多研究不斷地證實，而其機轉與單胺類物質及鴉片樣物質有關，但是經由那些接受體來媒介則尚無定論，且大多數研究所使用的鎮痛模式，多為局限脊髓反射的甩尾試驗或局限中樞機轉的熱板試驗等。因此本研究利用福馬林試驗來探討不同頻率下電針鎮痛的機轉，結果證實電針除了中樞的鎮痛作用外，尚有抑制周邊鎮痛之效果。而三種頻率電針鎮痛之機轉，有那些接受體的參與，

從本研究的結果，可推論如下：

1. 低頻率 (2 HZ) 電針鎮痛之作用可被 naloxone 所逆轉，表示有 μ -類鴉片接受體的參與，當頻率增加時 (10 HZ) 則可能同時有 μ -與 δ -類鴉片接受體的參與；而 δ -類鴉片接受體拮抗劑 naltrexone 可逆轉 100 HZ 電針卻對 2 HZ 電針沒有作用，更證實在高頻率電針鎮痛的機轉，有 δ -類鴉片接受體的參與。

2. α_1 接受體拮抗劑 prazosin 及 α_2 接受體致效劑 clonidine 均可加強電針的鎮痛作用，可知電針鎮痛的機轉與 α_1 及 α_2 接受體皆有關係，且可能扮演著相反的角色。而 α_2 接受體拮抗劑 yohimbine 可逆轉低頻率 (2 HZ 及 10 HZ) 電針之鎮痛作用，可知低頻率電針之鎮痛機轉有 α_2 接受體的參與。

3. 選擇性的 5-HT_{1A} 及 5-HT₃ 接受體拮抗劑可逆轉電針之鎮痛作用，因此三種頻率電針鎮痛的機轉，皆有 5-HT_{1A} 及 5-HT₃ 的參與。然而 5-HT₂ 接受體拮抗劑 ketanserin 加強了高頻 (100 HZ) 電針之鎮痛作用，則可能是在高頻電針下，5-HT 及 NE 皆參與的結果。

參考文獻

1. Han J. S.: The endogenous analgesia system. *Sheng Li Ko Hsueh Chin Chan*, 12 (2): 104-112, 1981
2. Fields H.L. and Basbaum A.I.: Endogenous pain control mechanisms. *Textbook of Pain Vol. I* Second Ed. (Wall P.D. and Melzack R. eds) Churchill Livingstone, Edinburgh London Melbourne and New York, 206-217, 1989
3. Messing R. B., Lytle L. D.: Serotonin-containing neurons: their possible role in pain and analgesia. *Pain*, 4: 1-21, 1977
4. Liu M. Y., Su C. F., Lin M. T.: The antinociceptive role of a bulbospinal serotonergic pathway in the rat brain. *Pain*, 33: 123-129, 1988
5. Liu X., Zhang S. X., Zhu B. and Chen Z. R.: Effects of noxious stimulation and electroacupuncture on raphe-spinal

- neurons in nucleus raphe magnus of rats. *Acta Physiol. Sin.*, **36** (4): 349-357, 1984
6. Dong X. W., Ye W. L., Feng X. C. and Shen E.: Effects on acupuncture analgesia by injection of 5,6-DHT into the rat's locus coeruleus. *Acta physiol. Sin.*, **36** (3): 214-219, 1984
 7. Cheng R. S. S. and Pomeranz B.: Electroacupuncture analgesia could be mediated by at least two pain-relieving mechanisms; endorphin and non-endorphin system. *Life Sci.*, **25**: 1957-1962, 1979
 8. Xue J. I., Yu Y. X. Han and Jen M. F.: Changes in the content of immunoreactive dynorphin in dorsal and ventral spinal cord of the rat in three different conditions. *Int. J. Neurosci.*, **81** (1-2): 95-104, 1995
 9. Liu N. J., Bao H., Li N. Yu Y. X. and Han J. S.: Cholecystokinin octapeptide reverses the inhibitory effect induced by electroacupuncture on C-fiber evoked discharges. *Int. J. Neurosci.*, **86** (3-4): 241-247, 1996
 10. Yuan H. and Han J. S.: Electroacupuncture accelerates the biogenesis of central enkephalins in the rat. *Acta Physiol. Sin.*, **37** (3): 265-273, 1985
 11. Qian Z. N., Gu Z. L., Pan J. X.: Effects of acupuncture analgesia on the monoamine transmitters levels in the striata and spinal cord in rats. *Chen Tzu Yen Chiu* (3): 199-201, 1985
 12. Zhou Y., Sun Y. H., Zhang Z. W. and Han J. S.: Increased release of immuno-reactive cholecystokinin octapeptide by morphine and potentiation of μ -opioid analgesia by CCKB receptor antagonist L-365,260 in rat spinal cord. *Eur. J. Pharmacol.*, **234**: 147-154, 1993
 13. Wang X. H., Wang X. J. and Han J. S.: Cholecystokinin octapeptide (CCK-8) antagonized analgesia mediated by mu and kappa opioid receptors. *Acta Physiol. Sin.*, **42** (3): 219-225, 1990
 14. Wang X. J., Wang X. H. and Han J. S.: Cholecystokinin octapeptide antagonized opioid analgesia mediated by μ - and κ - but not δ receptors in the spinal cord of the rat. *Brain Res.*, **523**: 5-10, 1990

15. Chen X. H. and Han J. S.: Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav. Brain Res.*, **47**: 143-149, 1992
16. Sun S. L. and Han J. S.: High and low frequency electroacupuncture analgesia are mediated by different types of opioid receptors at spinal level: A cross tolerance study. *Acta Physiol. Sin.*, **41** (4): 416-420, 1989
17. Chen X. H. and Han J. S.: All three types of opioid receptors in the spinal cord are important for 2/15 Hz electroacupuncture analgesia. *Eur. J. Pharmacol.*, **211**: 203-210, 1992
18. Wang Y. and Wang S.: Effects of intraperitoneal injection of bicuculine or atropine on electroacupuncture analgesic effect and the change of brain noradrenaline content in rats. *Chen Tzu Yen Chiu*, **1**: 310-313, 1988
19. Xie C. W., Tang J. and Han J. S.: Central norepinephrine in acupuncture analgesia : differential effects in the rat brain and spinal cord. *Acta Physiol. Sin.*, **35** (2): 186-192, 1983
20. Su S., Zheng S. and Su. C.: Effects of four adrenergic drugs on electroacupuncture analgesia. *Chen Tzu Yen Chiu*, **17** (3): 175-178, 1992
21. Yu G. D., Cui C. D., Zhang H. Q., Yin W. P. and Yin Q. Z.: Effect of locus coeruleus stimulation and electroacupuncture on nociceptive response of spinal dorsal horn neurons in rats. *Acta Physiol. Sin.*, **42** (1): 76-81, 1990
22. Dubuisson D. and Dennis S. G.: The formalin test: a quantitative study of analgesia effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, **4** :161-174, 1977
23. Shibata M., Ohkubo T., Takahashi H. and Inoki R. : Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain*, **38**: 347-352, 1989
24. Ohikubo T., Shibata M., Takahashi H. and Inoki R.: Roles of substance P and somatostatin on transmission of nociceptive information induced by formalin in spinal cord. *J. Pharmacol.*

- Exp. Ther.*, 252 (3): 1261-1268, 1990
25. Tjolsen A., Berge O. G., Hunskaar S., Rosland H. H. and Hole K.: The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51: 5-17, 1992
 26. Heapy C G., Jamieson A. and Russel N. J. W.: Afferent C-fiber and A δ fiber activity in models of inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 90: 164-170, 1987
 27. Vaccarino A. L., Marek P. and Liebekind J. C.: Stress-induced analgesia prevents the development of the tonic, late phase of pain produced by subcutaneous formalin. *Brain Res.*, 572: 250-252, 1992
 28. Rosland J. H., Tjolsen A., Maehle B. and Hole K.: The formalin test in mice : effect of formalin concentration. *Pain*, 42: 235-242, 1990
 29. Rosland J. H. : The formalin test in mice: the influence of ambient temperature. *Pain*, 45: 2111-216, 1991
 30. Hole K. and Tjolsen: The tail-flick and formalin tests in rodents : changes in skin temperature as a confounding factor. *Pain*, 53: 247-254, 1993
 31. Pomeranz B.: Relation of stress-induced analgesia to acupuncture analgesia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 467: 444-447, 1986
 32. Zhu S., Shi F., Liu Z. and Jiang J.: Autoradiographic visualization on the role of central ³H-5-hydroxytryptamine in acupuncture analgesia. *Chen Tzu Yen Chiu* (4): 269-273, 1990
 33. Sun F., Xu M. and Xu S.: Effects of microinjections of naloxone and p-chloroamphatamine into rabbit central grey on acupuncture analgesia. *Acta Physiol. Sin.* 34 (2): 173-178, 1982
 34. Segal M. and Sandberg D.: Analgesia produced by electrical stimulation of catecholamine nuclei in the rat brain. *Brain Res.*, 123: 369-372, 1977
 35. Kuraishi Y., Hirota N., Satoh M and Takagi H.: Antinociceptive effects of intrathecal opioids, noradrenaline and serotonin in rats: mechanical and thermal algesic tests. *Brain Res.*, 326: 168-171, 1985

36. Pickel V., Joh T. H. and Reis D. J.: A serotonergic innervation of noradrenergic neurons of the nucleus locus coeruleus: demonstration by immunocytochemical localization of the transmitter specific enzymes tyrosin and tryptophan hydroxylase. *Brain Res.*, **308**: 197-214, 1977
37. Crespi F., Buda M., McRae-Degueurce A. and Pujol J .F.: Alteration in tyrosine hydroxylase activity in the LC after administration of p-chlorophenylalanine. *Brain Res.*, **19**: 501-509, 1980
38. Done C. J. G. and Sharp T.: Evidence that 5-HT₂ receptor activation decreases noradrenaline release in rat hippocampus in vivo. *Br. J. Pharmacol.*, **107**: 240-245, 1992
39. Done C. J. G. and Sharp T.: Biochemical evidence for the regulation of central noradrenergic activity by 5-HT_{1A} and 5-HT₂ receptors: Microdialysis studies in the awake and anaesthetized rat. *Neuropharmacology*, **33**(3/4): 411-421, 1994
40. Loomis C.W., Jhamandas K., Milne B. and Cervenka F.: Monoamine and opioid interactions in spinal analgesia and tolerance. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **26**: 445-451, 1987
41. Wu G.C., Zhu J. and Cao X.: Involvement of opioid peptides of the preoptic area during electroacupuncture analgesia . *Acupun. & Electro-Therap. Res.*, **20** (1): 1-6, 1995
42. Pomeranz B. and Bibic L.: Electroacupuncture suppresses a nociceptive reflex: naltrexone prevents but does not reverse this effect. *Brain Res.*, **452**: 227-231, 1988
43. Sagen J. and Proudfoot H. K.: Evidence for pain modulation by pre- and postsynaptic noradrenergic receptors in the medulla oblongata. *Brain Res.*, **331**: 285-293, 1985
44. Eide P. K. and Hole K.: Different role of 5-HT_{1A} and 5-HT₂ receptors in spinal cord in the control of nociceptive responsiveness. *Neuropharmacology*, **30** (7): 727-731, 1991
45. El-Yassir N. and Fleetwood-Walker S. M.: A 5-HT₁-type receptor mediates the antinociceptive effect of nucleus raphe magnus stimulation in the rat. *Brain Res.*, **523**: 92-99, 1990
46. Xu W., Qiu X. C. and Han J. S.: Serotonin receptor subtypes

- in spinal anti-nociception in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 269 (3): 1182-1189, 1994
47. Glaum S. R., Proudifit H. K. and Anderson E. G.: 5-HT₃ receptors modulate spinal nociceptive reflexes. *Brain Res.*, 510: 12-16, 1990
48. Alhaider A. A., Lei S. Z. and Wilcox G. L.: Spinal 5-HT₃ receptor-mediated antinociception : Possible release of GABA. *J. Neurosci.*, 11 (7): 1881-1888, 1991
49. Alhaider A. A.: Antinociceptive effect of ketanserin in mice : involvement of supraspinal 5-HT₂ receptors in nociceptive transmission. *Brain Res.*, 543: 335-340, 1991