

20030221

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

高齢者の筋・骨格系の痛みに対する鍼灸及び徒手的治疗法の

除痛効果に関する基礎的および臨床的研究

(H14-長寿-029)

平成15年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 水村和枝

平成16(2004)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

- 高齢者の筋・骨格系の痛みに対する鍼灸及び徒手的治疗法の除痛効果に関する基礎的および臨床的研究 ----- 1
水村和枝

II. 分担研究報告

1. 筋・骨格系の痛みモデル動物における侵害受容器反応の解析-----11
水村和枝
2. 筋および筋細径求心線維脊髓投射の形態学的研究----- 31
杉浦康夫
3. 高齢者の筋・骨格系の痛みに対する徒手的治疗法の除痛効果の評価—37
猪田邦雄、肥田朋子
4. モデル動物における筋・骨格系の痛みに対する各種徒手的治疗法の除痛機構の解析 -----49
肥田朋子
4. モデル動物における筋・骨格系の痛みに対する鍼灸の除痛機構の解析
----- 57
川喜田健司
5. 高齢者の筋・骨格系の痛みに対する鍼灸の除痛効果の評価----- 67
勝見泰和

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----77

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----79

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書

高齢者の筋・骨格系の痛みに対する鍼灸及び徒手的治疗法の除痛効果に関する
基礎的および臨床的研究

主任研究者 水村和枝 名古屋大学環境医学研究所神経性調節分野 教授

研究要旨：本研究では、若年および老齢ラットに筋肉痛・関節痛のモデルを作成し、このモデルを用いてその痛みの神経機構および鍼灸・徒手的治疗法の除痛機構を解明し、最も有効性の高い方法を臨床的に明らかにすることを目的とする。本年度は、各研究者が独自に研究を続けるとともに、研究者相互の研究室を訪問して合同実験も数回にわたって行い、また2回の研究会を実施し、より有用な筋痛モデル作成法、筋痛評価法、神経機構を検討した。また、臨床研究の場も増やした。これにより以下のことを明らかにした。1) 大腿動・静脈の結紮による虚血状態で伸張性収縮(ECC)を負荷することにより持続が2, 3週間に及ぶ慢性的筋痛状態が作成できた。また、このモデルにおいて中枢性感作が見られ、関連痛の新しい実験モデルになりうると考えられた。2) 遅発性筋痛のあるラットのC線維受容器活動は正常筋の受容器と比べ、自発活動には変化がなく、機械刺激に対する反応の閾値は低下し、大きさが増大していた。これはECC後の遅発性筋痛に自発痛がほとんどなく、圧痛が主体であるという現象とよく一致する。3) ECC負荷を81週齢のラットに行い、圧痛閾値の低下の時間経過が若年動物よりやや遅い傾向があった。4) 慢性疼痛が筋機能に及ぼす影響を慢性疼痛モデル動物（坐骨神経絞扼ラット）について調べ、筋の萎縮、筋張力の低下、筋線維タイプの変化（速筋の遅筋化、遅筋の速筋化）、筋小胞体のCa²⁺取り込み速度の低下を明らかにした。5) ラット腓腹筋に分布するP2X3、TRPV1、CGRPを発現する神経の走行、分布を明らかにした。6) ラットのカラゲニン筋炎作成によって生じる脊髄後角ニューロンの受容野の変化はWDR、NSニューロンにのみ生じ、もともとある受容野の反応性に変化はなかった。炎症部位を支配する後根神経節においてASIC1のmRNA発現が増大していた。7) 筋痛覚の信頼性の高い測定法を確立するため、刺激プローブの形状と刺激圧力の伝達深さとの関係を、有限要素法を用いたコンピューターシミュレーション、皮膚表面麻酔下での3種の大きさのプローブによる圧痛閾値測定で調べ、先端が大きなプローブであれば、筋痛覚がかなりよく反映されることを明らかにした。8) 若年者に作成した実験的筋痛に対するバイブレーション治療（運動1日後に実施）の効果を項目を絞って再度調べ、疼痛感や関節可動域改善に有用であった。9) 高齢の腰痛患者（平均年齢70歳前後）に対する鍼治療の効果を、今年度はコントロール群（Sham治療群）を置き一般的な経穴に対する置針とトリガーポイント部への置針と比べ、トリガーポイント置針がより有効であることを明らかにした。10) 膝に痛みを有する高齢者（平均年齢85歳）に徒手的治疗と運動療法を行った。対象数もまだ少なく、合併症も複数あることもあり有意な改善は見られなかった。評価方法についての問題点がいくつか明らかになった。

分担研究者氏名・所属機関名 及び所属機関における職名	
杉浦康夫	名古屋大学大学院 医学研究科・教授
猪田邦雄	名古屋大学医学部 保健学科・教授
肥田朋子	名古屋大学医学部 保健学科・助手
川喜田健司	明治鍼灸大学・教授
勝見泰和	明治鍼灸大学・教授

A. 研究目的

高齢者はしばしば腰痛・下肢痛を始めとした筋・骨格系の痛みを有し、それは高齢者の活動を制限し、QOLに大きな影響を与えている。これらの痛みの発生機構を科学的に解明し、適切な治療法を提示することは、高齢化社会を迎えている現在、大きな課題である。そこで本研究では、若年および加齢ラットに筋肉痛・関節痛のモデルを作成し、このモデルを用いてその痛みの神経機構および鍼灸・徒手的治疗法の除痛機構を解明する。およびトリガーポイントの臨床的意義を明らかにすることにある。

本年度は、筋痛を慢性化させる方法を探ること、筋痛動物の筋求心神経の活動性の変化を明らかにすること、加齢による実験的筋痛(遅発性筋痛)の変化について解析し、また、脊髄ニューロンの反応性・受容野の変化等を解析する。さらに、昨年に引き続き健常成人に実験的筋痛を作成しバイブレーション治療を実施して、項目を厳選した検査により効果を定量的に評価し、治療効果の判定における各種検査方法の有用性、限界等を明らかにする。また臨床的には高齢腰痛患者、膝痛患者を対象として、トリガーポイント及び経穴へ置針の効果を比較、運動療法と徒手的治疗法の効果を比較する。

B. 研究方法

1. 伸張性運動負荷による筋痛モデルに対する阻血の影響—筋痛慢性化の試みおよび関連痛指標の探索

筋痛モデルとしてラット腓腹筋に伸張

性収縮による遅発性筋痛(DOMS)を作成し、麻酔下で腓腹筋電気刺激によって反射性に生じる大腿二頭筋EMGを用いて筋の痛みを評価した。大腿動・静脈結紮により後肢を虚血状態にすることにより反射性EMGの増強が遷延するか調べた。伸張性収縮用の電気刺激(期間:1ms, 50Hz, Train:500発)は、定電流刺激装置(日本光電, SEN-3301)からアイソレーター(日本光電, SS-104)を介して15秒おきに10秒間行い、計80回の運動負荷を5分間の休憩をはさみ3セット(計240回)行った。刺激の強度は0.3mA以下とし、0.3mA以上で強縮が見られない場合は電極の位置を移動させた

2. ラット遅発性筋痛モデルにおける単一神経記録による筋求心神経活動変化の解析

ラット長指伸筋に伸張性収縮を負荷して遅発性筋痛を作成し、その筋の単一求心神経活動を長指伸筋—総腓骨神経摘出標本から記録し、機械刺激、発痛物質、温熱刺激に対する反応を調べ、運動負荷していないコントロール動物と比較した。

3. 加齢ラットにおける遅発性筋痛

オスSDラットを、8週齢より制限給餌のもとで飼育し、81週齢となった5匹(体重 374.2 ± 17.6 g)を使用した。ラットは運動負荷するECC群と伸張のみ行うCTR群との2群にわけ、実験2と同様に長指伸筋を収縮・伸張させた。筋圧痛閾値はRandall-Selitto法により測定した。

4. 慢性疼痛動物における筋機能

坐骨神経絞扼ラット(以下、CCIラット)を作成し、術後6週間の疼痛行動の変化と手術6週後の坐骨神経支配筋における筋湿重量、筋張力、筋線維タイプおよび筋小胞体 Ca^{2+} 取り込み速度について調べた。

5. 筋に分布する神経の分布・形態およびペプチド(CGRP)、イオンチャネル(TRPV1, P2X3)の発現

ラットを灌流固定し、腓腹筋から凍結ミクロトームにて $100\mu m$ の厚みの切片を作製し、免疫組織化学法により以下のものを染めた。分布する神経全体を検出するため、protein gene product-9.5 (PGP9.5)を、知

覚神経を染めるために、calcitonin gene-related peptide (CGRP) や substance P (SP) を、交感神経を染めるために tyrosine hydroxylase (TH)、痛覚に関連すると思われる神経線維を染めるために、皮膚の侵害受容器に存在するカプサイシンレセプター (TRPV-1) と ATP 受容体の一つである P2X3 を染めた。

6. ラットカラゲニン筋炎モデルにおける脊髄後角ニューロンの反応特性と後根神経節細胞における各種受容体・チャネルの mRNA 発現の変化

筋炎症モデルとしてカラゲニンの筋内投与を行い、細胞外記録により脊髄後角ニューロンの反応特性の変化を調べた。また、後根神経節を取りだし、real time PCR により、酸感受性イオンチャネル (ASIC1a, 1b, 2a, 2b, 3)、TRPV1、P2X3 の mRNA の発現量を測定した。

7. 筋肉痛測定法の理論的、実験的評価

核磁気共鳴画像法 (MRI) によって撮影したヒト (31歳、男性) 前腕部の断層画像を用い、生体組織の3次元モデルを構築し、2種類のプローブ (直径2mmと10 mm) により124.6 kPaで押した時の応力分布を、有限要素解析を用いたシミュレーションにより推定した。有限要素解析は非線形構造解析ソフトウェア LS-DYNA3D version: 950e (Livermore Software Technology Corporation, CA) を用いて行った。数値計算には名古屋大学情報連携基盤センターのスーパーコンピュータ VPP5000/64 および汎用計算サーバ GPCS を用いた。

また、経皮的筋圧痛測定法の妥当性を検討するため、種々の形状の圧刺激プローブを用いて圧痛を測定し、皮膚表面麻酔 (キシロカインパッチ1時間貼付による) の影響の有無を検討した。

8. ヒト実験的筋痛に対するバイブレーション刺激の影響の評価

健康若年者上腕に伸張性収縮による DOMS を作成し、バイブレーション治療法を実施し、その前後の疼痛感、肘関節可動域、筋硬度、圧痛閾値を継時的に測定し、その効果を評価した。昨年度の実験

より、若年者では疼痛のピークが収縮負荷後1日目にくることがわかったので、バイブレーション治療は伸張性収縮負荷直後と1日後に実施した。

9. 高齢者の腰痛に対するトリガーポイント及び経穴への置針の効果

対象は6ヶ月以上慢性的に腰下肢痛が存在し、退行変性以外の基礎疾患が認められない65歳以上の高齢者とした。治療は週1回の頻度で3回行い、その後3週間の無治療期間設けることを1クールとし、それを2クール行った。治療効果の評価には腰下肢の主観的な痛みを捉える目的で visual analog scale (VAS) と、QOL を把握する目的で pain disability assessment scale (PDAS) と Roland Morris Questionnaire (RMQ) をそれぞれ記録した。治療は、トリガーポイント鍼治療と、①従来慢性腰痛に効果的とされている背部経穴への鍼治療 (経穴治療群) と ② Sham 鍼 (トリガーポイント部分に鍼管をあて、鍼は刺ささずに実際に鍼を刺入するのと同様な手技を行ったのち、'鍼が刺入されている' と伝えて10分間の安静を保つ) 用いた治療を行い、トリガーポイント鍼治療と他2治療とを比較した。

10. 高齢者膝痛に対する運動療法および徒手的治疗の効果

国家公務員共済組合連合会介護老人保健施設ちよだの通所リハビリテーション (以下、デイケア) を利用し、施設内を自立移動できる膝関節痛を有する高齢者8名 (男性2名、女性6名、平均年齢84.8±5.8歳) を対象とし、徒手的治疗法と運動療法のいずれかを原則として週2回で3週間行い、3週間の無治療期間をはさみ、その後もう一方の治療を行った。その治療前後で評価・測定を計4回行った。評価には MOS 36-Item Short-Form Health Survey (以下、SF-36) 日本語版、Osteoarthritis Index (WOMAC) 日本語版、日本整形外科学会変形性膝関節症治療成績判定基準 (JOAスコア)、大腿四頭筋筋力、視覚的アナログスケールによる疼痛評価を用いた。

(倫理面への配慮) 動物実験は各研究者の所属する施設 (名古屋大学、明治鍼灸大学)

の動物実験指針にのっとり実施し、またそれぞれの動物実験委員会の承認の下におこなった。臨床実験は、ヘルシンキ宣言を遵守し、各施設の‘ヒトを対象とする実験’の実験指針に沿って行い、かつ倫理委員会の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

本年度には2回の研究会を実施して発表と情報交換をおこなった。また、研究者相互の研究室を訪問して実際に研究を合同で実施することも数回にわたっておこない、より有用な筋痛モデル作成法、筋痛評価法を検討した。また、臨床研究の場も増やした。

1. 伸張性運動負荷による筋痛モデルに対する阻血の影響—筋痛慢性化の試みおよび関連痛指標の探索

この実験は川喜田グループが実施した。

用いた筋収縮パラメーターでは、主任研究者水村らのデータと少し異なり、刺激後1日目にRandall-Selittoで測定した筋圧痛閾値低下が最大となり、3日目にはもとへ戻った。筋収縮負荷前に大腿動・静脈を結紮すると、その閾値は運動負荷

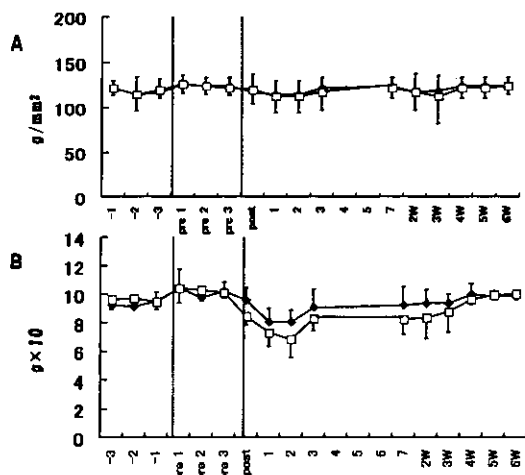


図1. 虚血運動負荷群における閾値変化
虚血運動負荷群における von Frey Hair test と Randall-Selitto test の閾値変化を示す。
◆は対側、□は条件刺激側を示す。pre: 運動負荷前、post: 運動負荷直後、-: 虚血手術前

2-3日後に最も低下する傾向となり、さらにその閾値低下は全例で運動負荷2-3週まで継続する傾向にあった(図1)。大腿動・静脈結紮そのものでは疼痛閾値は変化しなかった。この結果から、虚血により筋痛を慢性化させることができると考えられる。

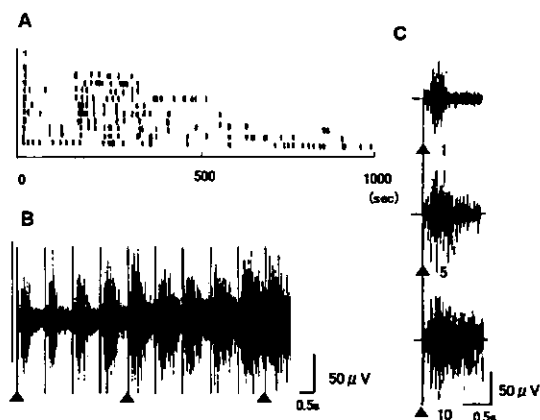


図2. 運動負荷2日後の腓腹筋を1Hzで電気刺激した時に得られた筋電図活動(運動負荷側)
運動負荷2日後に運動負荷側の腓腹筋を1Hzで電気刺激した時に大腿二頭筋から得られた筋電図活動。
A: 電気刺激で得られた筋電図をドットラスタ表示したもの。縦軸を時間経過、横軸は潜時。B: 電気刺激で得られた筋電図の生波形。C: 電気刺激1,5,10回目における筋電図のメモリー波形。それぞれの矢印の数字は記録した刺激回数を示している。

腓腹筋を絶縁針電極で局所的に電気刺激すると、大腿二頭筋から潜時100-250msの範囲に筋電図活動が記録された。運動負荷前では運動負荷群・虚血運動負荷群とも筋電図の波形に大きな違いはなく、また、運動負荷だけでも同じで、NMU様の筋電図活動であった。しかし虚血運動負荷群では、腓腹筋を電気刺激したときに得られる波形は多層性の筋電図活動となり、また、腓腹筋を1Hz以上で繰り返し電気刺激すると刺激の回数が増加するにしたがい、wind-up用に筋電図の出現が増え、潜時や振幅に変化が見られた(図2)。注目すべきは、この変化が両側性に見られたことである。つまり、中枢性に興奮性の増大が起こっていることが示唆された。

2. ラット遅発性筋痛モデルにおける単一神経記録による筋求心神経活動変化の解析

この実験は水村グループが実施した。コントロール (CTR) 群 (n=33)、および ECC 群 (n=25) に対して鋸歯状機械刺激 (ramp 20g, 10s) を行った。テストしたすべての筋 C 線維受容器が機械刺激に反応した。CTR 群の機械閾値は 22.3 ~ 183.5 mN で幅広い分布を示した。一方、ECC 群では n=25 のうち 5 本は比較的機械閾値が高かったが、他の 20 本の閾値は低く、60 mN 未満に集中して分布した (図 3A)。また、ECC 群 (48.2 ± 5.8 mN) の機械閾値の低下は CTR 群 (85.2 ± 8.2 mN) に比べ、有意であった (p=0.001)。

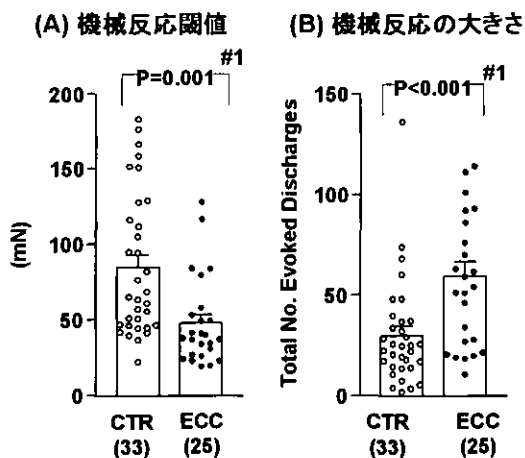


図 3 : 機械刺激による反応の閾値 (A) と反応の大きさ (B)

(A) CTR 群 (85.2 ± 8.2 mN) に比べ、ECC 群 (48.2 ± 5.8 mN) では機械反応閾値が有意に低下した (p=0.001)。 (B) 縦軸 : 刺激期間中 10 秒間に生じた正味のスパイク数。コントロール期間 60 秒間に自発放電がある場合、それを差し引いた値で示している。CTR 群 (29.9 ± 4.5 発) に比べ、ECC 群 (59.3 ± 7.4 発) では刺激期間中 10 秒間に生じた正味のスパイク数が有意に多かった (p<0.001)。#1: unpaired t test。

ECC 群の機械反応は、CTR 群よりも立ち上がり方が早く、その後、刺激終了までの放電頻度も高かった。刺激期間中 10 秒間に生じた正味のスパイク数 (コントロー

ル期間 60 秒間に自発放電がある場合、それを差し引いた値で示している) は、CTR 群 (29.9 ± 4.5 発) に比べ、ECC 群 (59.3 ± 7.4 発) では有意に多かった (p<0.001、図 3B)。

発痛物質 (ATP, ブラジキニン、酸) や熱、冷却に対する反応の大きさには高張食塩水に対する反応を除いて両群間で差がなかった。ATP に反応する受容器の割合は ECC 群で高かった。高張食塩水 (4.5 %) に対する反応は、ECC 群で有意に大きかった (図 4)。

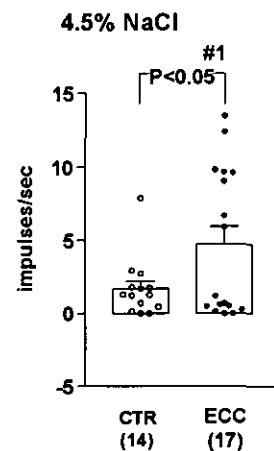


図 4. 4.5% NaCl に対する反応
縦軸 : 投与期間中の平均放電頻度。CTR 群と比較して、ECC 群では放電頻度の有意な増加がみられた。ECC 群では 16/17 本の筋 C 線維受容器が反応したが、16 本のうち 8 本は高頻度に反応し、残りの 8 本は比較的低頻度に反応した。#1: unpaired t test。

3. 加齢ラットにおける遅発性筋痛

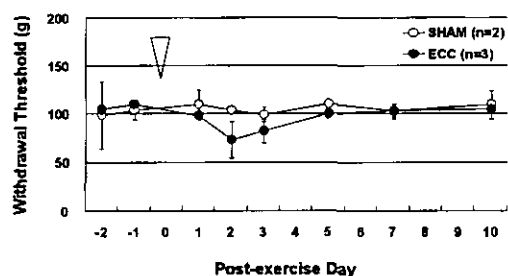


図 5. 80 週齢ラットにおける伸張性収縮負荷による筋圧痛閾値の変化。

矢頭の時期に伸張性収縮を負荷。

運動負荷(または伸張負荷)前の圧痛閾値はECC群で 109.5 ± 2.6 g (mean \pm SE)、SHAM群(伸展のみ)で 104.1 ± 10.5 gと、昨年報告した若年群(ECC群、 96.6 ± 3.7 g)よりやや高い傾向があった。また、運動負荷による圧痛閾値の低下はECC負荷後1日目には見られず、2日目、3日目に見られ(2日目に 73.1 ± 18.5 g)、若年群と比べ遅い傾向があった(図5)。

4. 慢性疼痛動物における筋機能

この実験は肥田グループが実施した。von Frey毛で疼痛反応を調べたところ、坐骨神経絞扼手術後アロディニアが観察され、2週後以後で痛覚過敏が確認された。また術6週後の筋(ヒラメ筋、長指伸筋)は萎縮し、長指伸筋の筋張力は低下

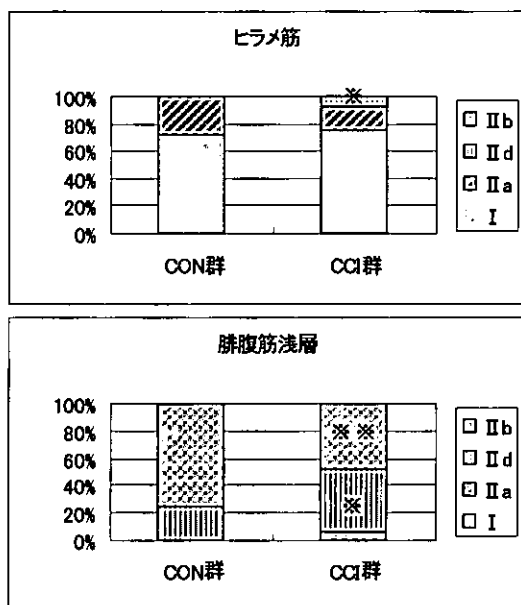


図6 ミオシン重鎖アイソフォーム分析

ヒラメ筋と腓腹筋浅層のミオシン重鎖アイソフォーム割合を速筋型(IIb)から遅筋型(I)の順に並べて示した。ヒラメ筋はCCI群でIIcが出現し、CON群と比較して有意差を認めた($p < 0.05$)。腓腹筋浅層ではCCI群でIIbの割合が有意に減少し、IIcの割合が有意に増加した(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)。

していた。ミオシン重鎖アイソフォーム分布からみた筋線維タイプは速筋(腓腹筋浅層)が遅筋化し、遅筋(ヒラメ筋)は

速筋化していた(図6)。筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み速度は速筋(腓腹筋浅層)、遅筋(ヒラメ筋)ともに低下した。

5. 筋に分布する神経の分布・形態およびペプチド(CGRP)、イオンチャネル(TRPV1, P2X3)の発現

この実験は杉浦グループが実施した。

筋に分布する神経は、横紋筋線維に神経筋終板を形成しているもの、血管に沿って分布しているもの、横紋筋線維の間に入り込んで分布しているものが見られ、知覚神経と思われるCGRP陽性神経線維は血管に沿って分布したり、横紋筋線維の間に入り込んで走行しており、これらの神経は横紋筋やその周囲の組織からさまざまな情報を感受し、痛覚を含む筋に由来する感覚の受容に関与していると思われる。神経線維は、筋膜、腱膜のほか、筋組織内深部に多く見られたことから、深部に見られる神経線維も、筋の感覚受容に重要であろうと思われる。(図7)



図7. 筋に分布するTRPV1(上), P2X3(下)陽性神経線維。

6. ラットカラゲニン筋炎モデルにおける脊髄後角ニューロンの反応特性と後根神経節細胞における各種受容体・チャネルのmRNA発現の変化

この実験は川喜田グループと杉浦グループが実施した。

カラゲニンの筋内注射によって、脊髄後

角のニューロンの受容野は拡大したり新しい部位に発現したりした。また、カラゲニン注入部位に局所麻酔薬のリドカインを注入することによって、拡大していた受容野面積の縮小と反応性の低下が認められた。しかし、元の受容野の反応性や面積には変化は認められなかった。脊髄後角ニューロンの受容野の変化はWDR、NSニューロンにのみ生じており、従来の受容野の反応性に変化はなかった。

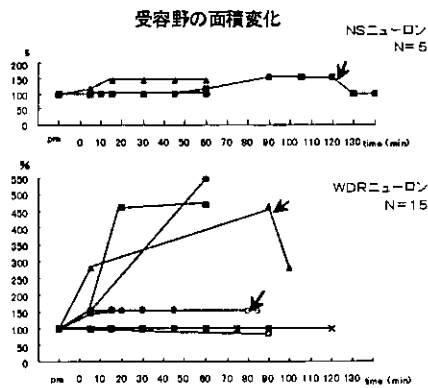


図8. カラゲニン筋注による受容野面積の経時的変化

元の受容野の面積を100%として、その変化率で示す。A: NSニューロン、B: WDRニューロン。図中の矢印はリドカインを注入したことを示す。

カラゲニン筋炎モデルラットの後根神経節において、ASIC (acid sensing ion channels (1a, 1b, 2a, 2b, 3), TRPV-1, P2X3のmRNAの発現量を、real time PCRにて測定した。カラゲニン筋炎モデルラットの後根神経節ではASIC1aの発現が増加していた。(図9)

7. 筋肉痛測定法の理論的、実験的評価

この研究は水村グループと川喜田グループの合同実験により行われた。

圧刺激開始30 msec後のプローブ断面付近における主圧縮応力の分布を図10に示す。2 mmプローブにおいては応力が皮膚に集中しているのに対し、10 mmプローブでは比較的深部の組織にまで応力が及んでいることが観察された。圧刺激開始

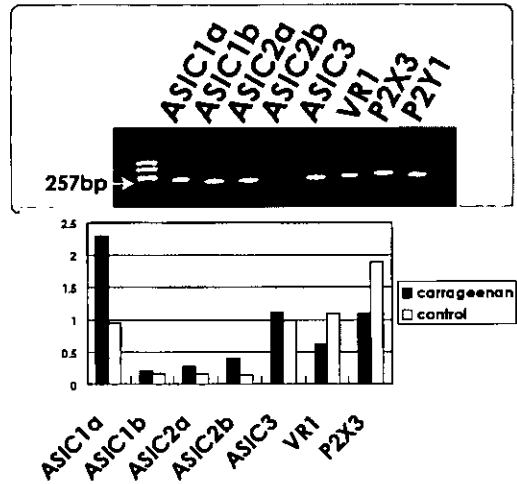


図9. 後根神経節における痛覚関連遺伝子の発現。Real time PCR

30 msec 後における主圧縮応力の皮膚組織/筋組織の比は、2 mm プローブの場合 749.4 であったのに対し、10 mm プローブの場合は 15.9 であった。以上より、経皮的圧刺激を用いて筋の圧痛を測定する際、比較的径の大きいプローブを用いる方が皮膚に対する応力を相対的に小さくし、筋に対する応力を大きくできることが示唆された。

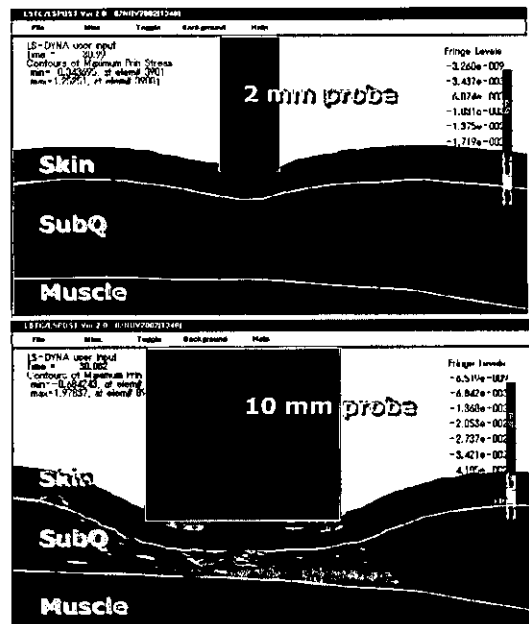


図10: 圧刺激開始 30 msec 後におけるプローブ断面付近での主圧縮応力の分布。

上より圧刺激プローブ、皮膚、皮下組織、筋。青: 応力 0、赤: 最大応力の 1/10。(上) 2 mm プローブ、(下) : 10 mm プローブ。

次に皮膚に局所麻酔剤(キシロカインパッチ)を貼付する前後で、各種プローブを用いた機械刺激による痛覚および電気刺激による深部痛覚を測定した。1時間の貼付により、皮膚表面しか刺激しないと予想される鍼灸針による機械刺激に対する痛み応答は、麻酔処置前に比べ処置後に減少した。これに対し、深部にまで力が伝達されると予想される直径 4.4 mm および 15 mm のプローブで刺激した時の圧痛覚閾値には変化がなかった(図 11)。予想に反し、ペルチエ熱刺激装置で測定した皮膚熱痛覚閾値はキシロカインパッチ貼付後に低下した。この原因は不明である。筋膜部位における深部痛覚に関しては、深部組織に痛みを感じたときの電流閾値で見ると、皮膚表面麻酔の影響は受けなかった。

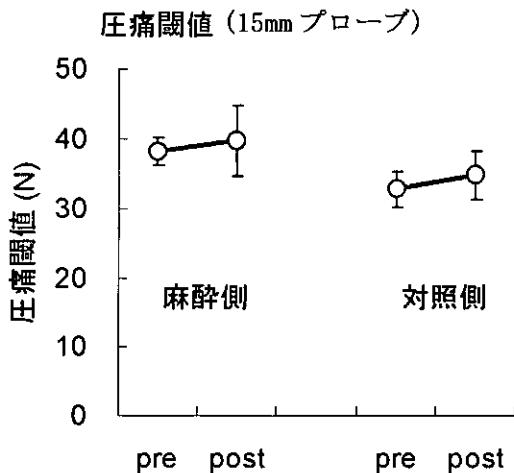


図11: 15mmプローブによる圧痛閾値の測定。

8. ヒト実験的筋痛に対するバイブレーション刺激の影響の評価

この実験は、肥田グループにより実施された。

遅発性筋痛は運動1日後に生じた。運動1日後に行ったバイブレーション治療は、肘関節最大伸展時の疼痛感を軽減させたが、能動運動時痛、圧痛閾値には影響を及ぼさなかった(図12)。

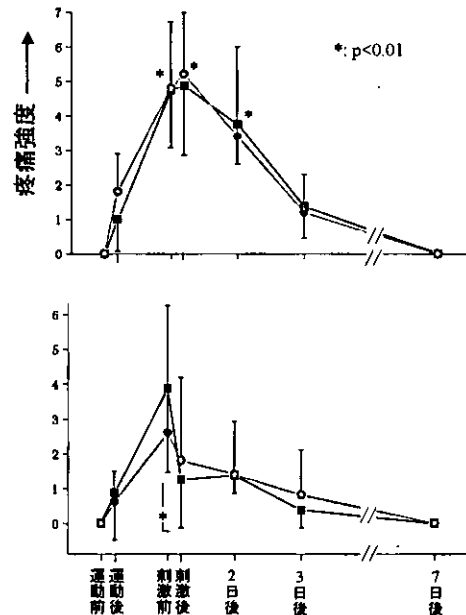


図12 疼痛感覚の経時的変化

縦軸は、能動的に肘屈曲・伸展運動したときの疼痛(上図)、最大伸展時の疼痛(下図)の両群の平均。疼痛は運動1日後に最大を示した。パイプ群では、バイブレーション治療により疼痛は有意に低下した($p < 0.01$)。

9. 高齢者の腰痛に対するトリガーポイント及び経穴への置針の効果

本実験は勝見グループにより実施された。

トリガーポイント治療群は経穴治療群と比較した場合、痛み的大幅な軽減が見られたが(図13)、QOLに関しては両群に大きな

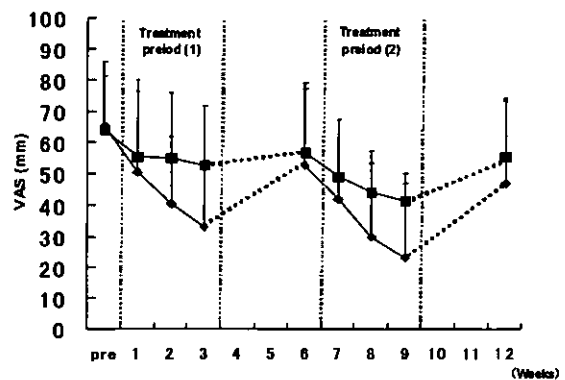


図13: 鍼治療による腰下肢痛の変化

図は腰下肢痛の変化を示し、縦軸はVAS、横軸は週を、また◆はトリガーポイント治療群($n=9$)、■は経穴治療群($n=9$)の変化をそれぞれ示している。

違いは見られなかった。プラシーボ効果の有無を明らかにするため、Sham治療を施したコントロール群とも比較したが、Sham治療では痛みやQOLに大きな変化は見られず、トリガーポイント治療では痛み(図14)やQOLに改善が見られた。

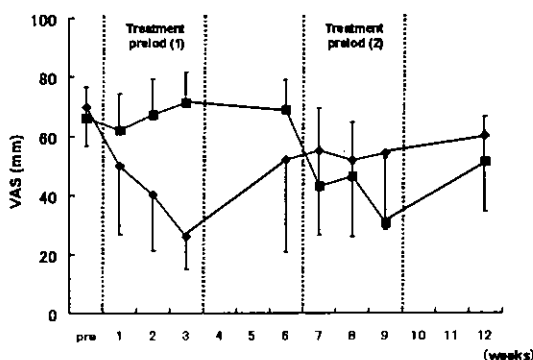


図14: Sham治療を用いた治療効果の検討 (VAS) 図は腰下肢痛の変化を示し、縦軸はVAS、横軸は週を、また◆はトリガーポイント治療-Sham治療群 (n=4)、■はSham治療-トリガーポイント治療群 (n=5) の変化をそれぞれ示している。

10. 高齢者膝痛に対する運動療法および徒手治療の効果

この研究は猪田グループによって実施された。

症例数のごく限られていたこともあり、SF-36、WOMAC、JOAスコア、大腿四頭筋筋力、視覚的アナログスケールによる疼痛強度のいずれも、運動療法、徒手治療のいずれによってもあきらかな改善が認められなかった。わずかにSF-36の「全体的健康感」では両介入で改善傾向を示し、「身体の痛み」を除く身体的健康度分野の下位尺度では改善傾向を示すものが多かった。

D. 考察

本年度の実験により、動物における筋痛を虚血負荷により延長できることがわかった。また、このとき痛覚過敏現象は反対側にも見られ、中枢の興奮性変化が絡んでいることも示された。このモデルは慢性筋痛の脊髄機構、トリガーポイント治療の機構の解析に有用であろうと考えられる。また筋求心C線維の機械反応性

が増強されていることが筋-神経摘出標本で明らかになったことから、摘出標本で機械刺激に対する感作機構を解析することができることとなり、今後の研究の伸展に大変大きな意義がある。

急性の炎症状態で脊髄ニューロンの受容野の変化が生じることが明らかにされた。これは筋痛に特徴的な関連痛の機構を解明する上で重要であると思われる。こちらも今後虚血下伸張性負荷による慢性的筋痛モデル動物、加齢動物で解析することにより、新しい知見が得られるものと思われる。

ヒトでの実験的筋痛では筋痛に関連した各種パラメーターが測定され、測定上の問題点が明らかになった。臨床的には、腰痛を持つ高齢者に対し、Sham治療を施したコントロール群と比較し、トリガーポイント治療が有効であることを確認し、また、経穴治療よりもトリガーポイント治療がより有効であることがVASやQOLに関するアンケート調査で明らかになった。高齢膝痛患者に対する運動療法、徒手両方の効果については、アンケート項目の再検討などを実施し、例数も増やして検討を続けなければならない。

E. 結論

本研究により、筋痛に関する基礎的な研究と、臨床治療とを結ぶ橋が生まれつつある。今後さらに両者の連携を深めることにより、より有効な治療法を探ることが可能になると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

(各分担研究者の項に記載)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

筋・骨格系の痛みモデル動物における侵害受容器反応の解析

分担研究者 水村和枝 名古屋大学環境医学研究所神経性調節分野 教授

研究要旨 慢性的筋痛の末梢神経機構を探るため、昨年度に報告したようにラットに伸張性収縮(ECC)を負荷することにより筋痛モデルを作成し、筋痛が最大になるECC負荷2日後に筋C線維受容器活動を記録し、無負荷ラットの受容器活動と比較した。記録したC線維受容器の受容野は、ECC群では筋腱移行部に多く分布している傾向があった。自発放電頻度には差がなかったが、機械刺激に対する反応閾値は低下し、また同じ鋸歯状機械刺激(196 mN/10秒)に対する反応の大きさも増大していた。この結果は、ECC後の筋痛には自発痛がほとんどなく、圧痛(機械痛覚過敏)があることによく一致している。一方、ブラジキニンやATPのような発痛物質に対する反応の大きさには差が無く、熱に対する反応性にもほとんど差が見られなかったが、反応する受容器の割合はECC群で高かった。筋痛を起こさせるのによく使われる高張食塩水に対する反応はECC群で増大していた。高張食塩水に対する反応の機構には機械反応と共通な機構があるのかもしれないことが示唆された。次に、加齢が実験的筋痛に及ぼす影響を81週齢のSDラットで調べた。圧痛閾値低下の発現が若年動物とくらべ遅い傾向があったが、まだ例数が少ないため断定はできない。加えて今年度は、筋痛測定法についても検討を加えた。筋痛覚測定は通常皮膚を介して行われている。この測定法がどの程度正確に筋肉の痛みを反映しているかを明らかにし、信頼性の高い測定法を確立するため、1) 刺激プローブの形状と刺激圧力の伝達深さとの関係を、有限要素法を用いてコンピューターシミュレーションで予測し、2) 皮膚を表面麻酔することによって、圧痛覚閾値がどのように変化するか調べた。シミュレーションからは、先端径の細いプローブでは応力が筋など深部までは到達しないことが予測された。また、表面麻酔により鍼灸針によって測定した皮膚痛覚が鈍麻した被験者において、4.4mmおよび15mmのプローブで測定した圧痛に対し統計学的に有意な影響を与えなかった。以上より、先端が大きなプローブであれば、筋痛覚がかなりよく反映されることが明らかになった。

A. 研究目的

肩凝り、腰痛などの筋骨格系に起因する痛みは極めて一般的であり、筋骨格系に起因する痛みのメカニズムを解明し、治療法を

確立することは医学的、社会的に意義が大きい。本研究ではその機構を、実験的に筋痛モデルを作成して解明することを目指す。昨年度の研究では、ラット長指伸筋に伸張

性収縮を負荷すると、2日後に Randall-Selitto 法で測定した圧痛閾値が低下し、この日に筋に圧迫を加えると脊髄後角に痛みのマーカーである c-Fos の発現が増える、ラットにおいても筋の痛覚過敏が生じることを明らかにした。本年度はこの筋痛モデルを用い、長指伸筋を支配する求心神経活動の変化を解析し、痛覚過敏に求心神経の反応性変化が関わっているかどうかを明らかにする(実験 I)。

筋痛を有する患者は、年齢とともに多くなるので、加齢が実験的筋痛に及ぼす影響を明らかにするため、遅発性筋痛の程度及び発現・消褪する時間経過が加齢動物で若年動物とどう違うか、調べる(実験 II)

また、昨年の研究経過で問題となってきた、筋痛覚測定法に検討を加えた。もっとも一般的に使われている筋肉痛測定法は、皮膚表面より筋に対し経皮的に圧刺激を与えて圧痛閾値を測るものである。しかしこの方法では皮膚にも圧力が加わり皮膚痛を誘発するため、圧刺激によって誘発された痛みがどの程度筋痛を反映しているか不明である。プローブの形状を変えることにより皮膚の痛みを起こさずに筋痛を測定することができるとして、Fischer 型圧痛計がよく使われているが、その理論的、実験的根拠は薄弱である。

そこで本研究は筋肉痛の定量的な測定法を確立することを目的とし、以下の2つの実験を行った。(実験 III, IV)

III. 経皮的圧刺激によって皮膚・筋に生じる応力の 3 次元有限要素解析

IV. 皮膚表面麻酔下における圧痛閾値変化の解析

実験 I. 伸張性収縮運動負荷後の筋 C 線維受容器活動の解析 —ラット長指伸筋-総腓骨神経標本を用いて—

B. 方法

1. 実験動物と群分け

Sprague-Dawley ラット (オス、335-440 g) を 50 匹使用した。実験行程はすべて名古屋大学の動物実験倫理規定に従った。ラットを無処置のコントロール群 (CTR 群, n=25) と筋に伸張性収縮を負荷した伸張性収縮群 (ECC 群, n=25) の 2 群に分けた。

2. 運動負荷プロトコル

ECC 群のラットをペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg、腹腔内投与) で麻酔した。2本の絶縁鍼電極 (2×1 寸 6 分、株式会社松葉) を長指伸筋 (EDL、右) の支配神経である坐骨神経とその分枝である総腓骨神経の近傍にそれぞれプラス極とマイナス極とになるよう経皮的に刺入し、通電により EDL を収縮させた。電気刺激には電気刺激装置 (SEN-7203, Nihon Kohden, Japan) およびアイソレータ (SS-202J, Nihon Kohden, Japan) を用いた。運動負荷を行う直前に EDL に単収縮を起こさせるのに必要な最低電流強度を測定し、100 μ A を超えた場合には電極位置を換えて、 $\leq 100 \mu$ A を満たすようにした。運動負荷には単収縮誘発閾値の 3 倍の電流強度を用い、刺激周波数を 50 Hz、矩形波電流持続時間を 1 msec とした。1 秒間の収縮と 3 秒間の休止のサイクルを 500 回反復した。EDL の伸張には電気刺激に同期させたサーボモータ (CPL28T08B-06C2T, Oriental Motor, Japan) を用い、ラットの足関節を 1 秒間かけて底屈約 30° から底屈約 90° まで動かし (EDL を伸張し)、3 秒間かけてもとの関節角度に戻して、これ

を繰り返した。運動負荷期間中直腸温をモニターし、ヒートパッドを用いて体温を生理的範囲(37-38°C)に保った。CTR群のラットは無処置とした。

3. 神経-筋標本の作製

ECC群では上述のようにEDLに伸張性収縮を負荷し、その2日後に標本を作製した。CTR群では無処置のまま標本を作製した。まず、ペントバルビタールナトリウム(50 mg/kg、腹腔内投与)麻酔下にて剃毛し、足関節から膝関節、および膝関節から臀部にかけて皮膚を切開した。その後、EDLとその支配神経である総腓骨神経を注意深く取り出し、取り出した神経-筋標本は可及的速やかに95%酸素と5%二酸化炭素を含む混合ガスと平衡させたKrebs液中に浸した。

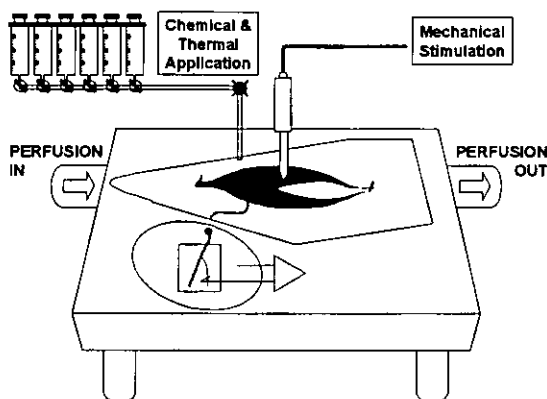


図1：筋C線維受容器活動の記録

長指伸筋を試験槽に置き、自然な長さになるよう筋の両端をピンで固定した。試験槽内は95%酸素と5%二酸化炭素を含む混合ガスと平衡させたKrebs液を灌流した。これに接する小さな楕円形のチャンバー(油槽)にはパラフィンオイルを入れ、鏡の上で総腓骨神経の神経束を細く裂き分け、記録電極にかけた。筋C線維受容器の受容野を特定した後、その部位への機械・化学・熱刺激を行った。化学、および温度刺激投与用の筒は受容野直上に位置させた。プローブ先端には熱電対を置き、受容野直上の温度をモニターした。

4. 筋C線維受容器活動の記録

4-1：セットアップ(図1)

まず、神経-筋標本を図1のようにチャンバーにセットした。筋が位置する Krebs液灌流槽内(試験槽)は95%酸素と5%二酸化炭素を含む混合ガスと平衡させた Krebs液を灌流した。これに接する小さな楕円形のチャンバー(油槽)にはパラフィンオイルを入れ、その中においた鏡の上で総腓骨神経の神経束を細く裂き分け、記録電極にかけた。その後、太いガラス棒(ϕ : 6 mm)にて機械反応の有無を調べ、機械反応がえられたものには、さらに細いガラス棒(ϕ : 1 mm)を用いて筋C線維受容器の受容野を大まかに特定した。またその後、強さの異なる10種類の von Frey filament (ϕ : 0.5 mm, 1.76~66.84 mN)を用いてより詳細に受容野の位置と大きさを調べると同時に、von Frey filamentによる機械反応閾値を測定した。特定した受容野に直接電気刺激を与え、刺激電極と記録電極との距離、および潜時から筋C線維受容器の伝導速度を計算した。特定した受容野上に機械・化学・熱刺激を行った。機械刺激はフィードバック機能付き機械刺激装置(東京衛生学園会澤氏製作、プローブ先端面積: 2.28 mm²)を用いた。化学、および温度刺激投与用の筒の先端部分を受容野直上に位置させ、一定温度に加温した薬液を投与した。薬液を投与する筒の内側の先端には熱電対をおき、受容野直上の温度をモニターした。

4-2：実験に用いた筋C線維受容器の条件

1) 機械刺激に応じること、2) 近位、または遠位部の腱とともに筋を2~3 mm程度伸張した際、伸張の強度依存的に発火頻度が増加しないこと、3) 伝導速度が2.0 m/s

未満であること。

4-3: 実験プロトコル

機械刺激 (①、②)、化学刺激 (③~⑧)、および温度刺激 (⑨、⑩) をおおよそ次の順に行った。① von Frey Hair (1.76~66.84 mN) による機械閾値の測定、② 機械刺激装置を用いた鋸歯状機械刺激 (ramp 20g, 10 s)、③ 酸性 Krebs 液 (pH 5.5, 30 s)、④ DL-乳酸 Krebs 液 (25mM, pH 7.4, 60 s)、⑤ 酸性 DL-乳酸 Krebs 液 (25mM, pH 5.5, 60 s)、⑥ ATP 1~10 mM (30 s)、⑦ Bradykinin 1~10 μ M (60 s)、⑧ 4.5% NaCl (30 s)、⑨ Cold Krebs 液 (34°C→10°C, 60 s)、⑩ Heat Krebs 液 (34°C→50°C, 30 s)。⑧ 4.5% NaCl 投与の多くは⑩ Heat 刺激の次に行った。③は Krebs 液から NaHCO₃ をのぞき、pH を HCl で調整した。④から⑦の薬液は Krebs 液に溶かして使用した。⑧は通常の Krebs 液に NaCl を加えて作成した。薬液投与の機械的影響がないことは、薬液投与と同じ方法で Krebs 液を 30 秒間投与して確認した。

4-4: 反応の有無を判断するための基準

以下の2つの条件を満たしたとき、反応ありと判断した。1) 刺激直前のコントロール期間 60 秒間の instantaneous frequency の平均値 (Mean) と標準偏差値 (SD) を計算し、刺激期間中、あるいは刺激終了後 60 秒間に瞬時放電頻度で Mean+2SD を超える活動電位が連続して 2 発以上出現すること、2) 刺激期間中、あるいは刺激終了後 60 秒間の放電頻度 (imp./s) から刺激直前のコントロール期間 60 秒間の放電頻度を差し引いた正味の放電頻度をそれぞれ計算し、一方、または双方が 0.1 imp./s 以上を満たすこと。

5. 統計処理

データは全て平均±標準誤差で示している。放電頻度における CTR 群と ECC 群間の比較には unpaired t test を用いた。反応した筋 C 線維受容器の割合の比較には Fisher's exact test を用いた。危険率 5% 未満を統計学的に有意とみなした。

C. 結果

1. 伝導速度

CTR 群から 33 本、ECC 群から 25 本の筋 C 線維受容器を記録した。伝導速度は CTR 群が 0.65±0.06 m/s で、ECC 群が 0.74±0.09 m/s であり、両群間に有意な差はなかった。

2. 受容野 (図 2)

CTR 群の標本における受容野はおおよそ筋全体に分布していたが、筋腱移行部に多少多い傾向があった。ECC 群の標本でも筋全体的に受容野があったが、CTR 群と比べて筋腱移行部により集中して分布しているようである。

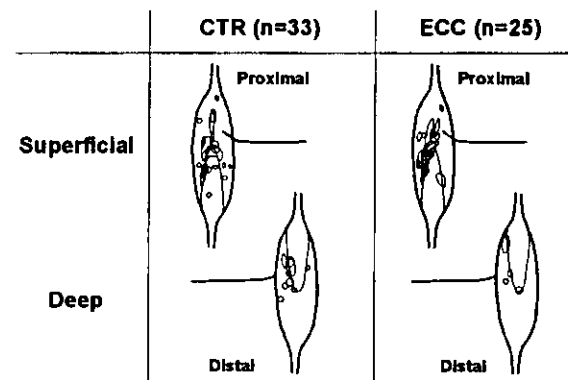


図 2: 筋 C 線維受容器の受容野の大きさと分布

Superficial: 皮膚側の面、Deep: 皮膚と反対側の面を示す。CTR 群の標本における受容野はおおよそ筋全体に分布するが、筋腱移行部に多い。ECC 群の標本でも筋全体的に受容野が分布するが、より筋腱移行部に集中しているようである。

3. 自発放電

筋 C 線維受容器を特定した後、最初の刺激である鋸歯状機械刺激を与える直前の 60 秒間における放電頻度を算出し、CTR 群と ECC 群で比較した。ECC 群は 0.09 ± 0.03 Hz で CTR 群の 0.13 ± 0.02 Hz との間には有意差はなかった。

4. 機械反応 (図 3-5)

4-1: 反応閾値

CTR 群 (n=33)、および ECC 群 (n=25) に対して鋸歯状機械刺激 (ramp 20g, 10s) を行った。【方法】4-4 の 1)、および 2) の基準に基づいて機械反応の有無を調べた結果、CTR 群、および ECC 群ともテストしたすべての筋 C 線維受容器が機械刺激に反応した。

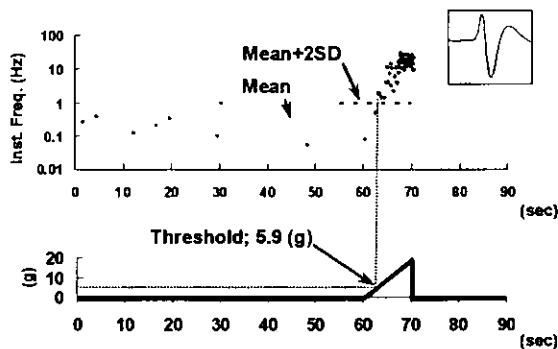


図 3: 機械刺激に対する反応の一例

上段、下段とも横軸は時間を示す。上段の縦軸は instantaneous frequency (Hz) を、下段の縦軸は機械刺激の強さを示す。図の筋 C 線維受容器は ECC 群から取り出したもの。刺激前 60 秒間のコントロール期間に緩やかな自発放電がみられる。コントロール期間 60 秒間の instantaneous frequency の平均値 (Mean、細い破線) と標準偏差値 (SD) を算出し、刺激を与えてから Mean+2SD (太い破線) を超える頻度で活動電位が 2 発続けた場合、初めの 1 発目が生じた時点を反応開始ポイント (閾値) とした。この場合、機械刺激に対する反応閾値は 5.9 (g) であった。

図 3 に ECC 群の標本から機械反応の一例を示した。【方法】4-4 の 1) の基準に従って、

機械反応の閾値を計算し、両群で比較した。CTR 群の機械閾値は 22.3~183.5 mN で幅広い分布を示した。一方、ECC 群では n=25 のうち 5 本は比較的機械閾値が高かったが、他の 20 本の閾値は低く、60 mN 未満に集中して分布した (図 4A)。また、ECC 群 (48.2 ± 5.8 mN) の機械閾値の低下は CTR 群 (85.2 ± 8.2 mN) に比べ、有意であった ($p=0.001$)。

4-2: 反応パターン

図 5 では、10 秒間の機械刺激 (ramp 20g) 期間を 1 秒毎に区切り、縦軸に 1 秒毎の放電頻度を取り、それぞれの受容器の反応パターンを調べ、両群で比較した。2 つのグラフ中の細線は個々の C 線維受容器の機械反応パターンを、太線は平均した反応パターンを示している。個々の反応パターンは、1) 刺激強度依存的に放電頻度を増すもの、2) 放電し始めてから刺激終了まで放電

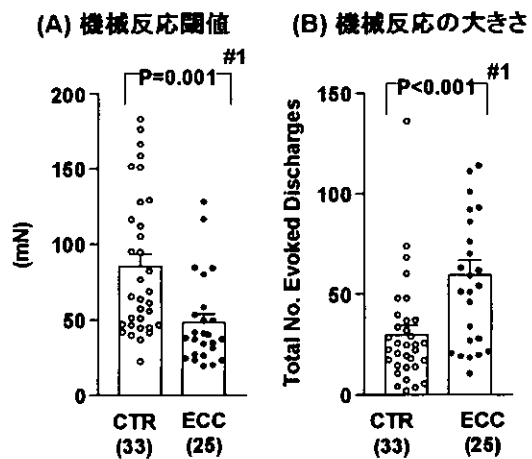


図 4: 機械刺激による反応の閾値 (A) と反応の大きさ (B)

(A) CTR 群 (85.2 ± 8.2 mN) に比べ、ECC 群 (48.2 ± 5.8 mN) では機械反応閾値が有意に低下した ($p=0.001$)。 (B) 縦軸: 刺激期間中 10 秒間に生じた正味のスパイク数。コントロール期間 60 秒間に自発放電がある場合、それを差し引いた値で示している。CTR 群 (29.9 ± 4.5 発) に比べ、ECC 群 (59.3 ± 7.4 発) では刺激期間中 10 秒間に生じた正味のスパイク数が有意に多かった ($p<0.001$)。 #1: unpaired t test。

頻度がほぼ一定で持続するもの、3) 反応の立ち上がりが早く、その後、刺激強度を増すと放電頻度が逆に低下するもの、4) 反応閾値が高く、低頻度に放電するもの、などがあつた。CTR 群では、10 秒間の機械刺激期間中に強度依存的に放電頻度を増すものと、比較的反応閾値が高く低頻度に放電したものが多く、それぞれ約 1/3 程度であつた。3) のような反応パターンは 3/33 本で少なかつた。一方、ECC 群では 3) のような反応パターンが 6/25 本で多く、比較的反應閾値が高く低頻度に放電したものが少なかつた (5/25 本)。強度依存的に放電頻度を増すものの割合は CTR 群と変わら

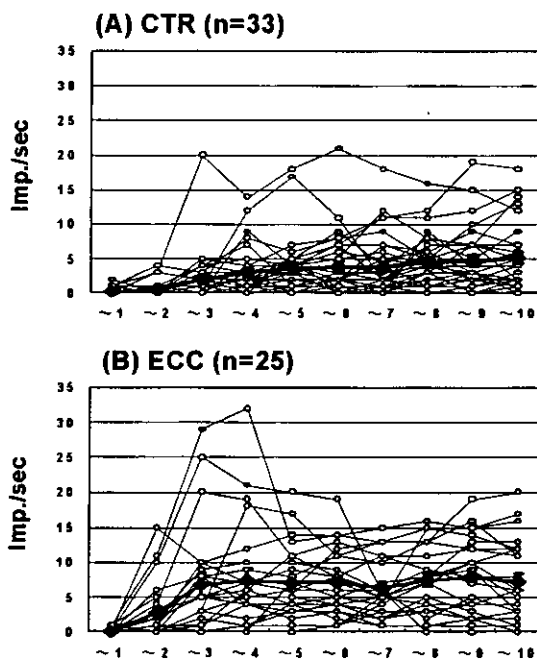


図 5：機械刺激に対する反応パターン

10 秒間の機械刺激 (Ramp 20g) 期間を 1 秒毎に区切り、個々の筋 C 線維受容器活動の放電頻度 (imp./s) を縦軸に示している (細線)。各グラフ中の太線はそれらの平均±標準誤差を示す。(A) CTR 群、(B) ECC 群。CTR 群の標本では刺激強度依存的に放電頻度の増加がみられる。一方、ECC 群では CTR 群に比べ、機械刺激期間の放電頻度が高く、増加の立ち上がり部分が急峻で、2~3 秒後から 10 秒まで放電頻度の増加はほぼプラトーになった。

ず、3 割程度であつた。平均した反応パターンをみると、CTR 群では刺激強度依存的に放電頻度の増加がみられた。一方、ECC 群の平均した反応パターンをみると、CTR 群に比べ放電頻度増加の立ち上がり部分が急峻で、反応閾値が低く、2~3 秒後から刺激終了まで放電頻度の増加はほぼプラトーになった。

4-3：機械反応の大きさ

図 5 に示した機械反応パターンから、ECC 群の機械反応は、CTR 群よりも立ち上がりが早く、その後、刺激終了までの放電頻度も高く、機械反応の程度が大きいようにみえる。そこで、刺激期間中 10 秒間に生じた正味のスパイク数 (コントロール期間 60 秒間に自發放電がある場合、それを差し引いた値で示している) を個々の筋 C 線維受容器で算出し、CTR 群と ECC 群で比較した。その結果、CTR 群 (29.9 ± 4.5 発) に比べ、ECC 群 (59.3 ± 7.4 発) では刺激期間中 10 秒間に生じた正味のスパイク数が有意に多く ($p < 0.001$ 、図 4B)、機械反応は ECC 群で有意に大きかつた。

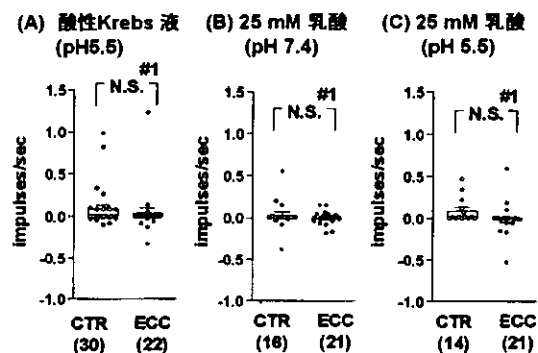


図 6：低 pH、および乳酸投与期間中の平均放電頻度

(A) 酸性 Krebs 液 (pH 5.5)、(B) 25mM 乳酸 (pH 7.4)、(C) 25mM 乳酸 (pH 5.5)。いずれも反応するものの割合が少なく、投与期間中の放電頻度も低い。いずれの化学刺激においても CTR 群と ECC 群の間で放電頻度に差はみられなかつた。#1: unpaired t test.

5. pH 5.5 Krebs、25mM 乳酸(pH 7.4)、および 25mM 乳酸(pH 5.5) 投与に対する反応

上記 3 種類の化学刺激は、筋 C 線維受容器が酸性刺激に対して反応性があるのか、あるいは乳酸に対してか、あるいはその両方に対してかを調べるために行った。例えば、pH 5.5 Krebs と 25mM 乳酸(pH 5.5) に反応し、25mM 乳酸(pH 7.4) に反応しなければ、その筋 C 線維受容器は低 pH に反応を示したことになる。また、pH 5.5 Krebs には反応せず、25mM 乳酸(pH 5.5 と pH 7.4) に反応すれば、その筋 C 線維受容器は乳酸に反応を示したことになる。pH 5.5 投与により CTR 群で 7/30 本 (23.3%)、ECC 群で 3/22 本 (13.6%) が反応した。同じ pH ではあるが乳酸 25mM を含んだ液では CTR 群で 3/14 本 (21.4%)、ECC 群で 5/21 本 (23.8%) の筋 C 線維受容器が【方法】4-4 の 1)、および 2) の基準を満たし反応した(図 6)。反応した線維の割合は CTR 群と ECC 群で差は無かった。一方、pH を通常の Krebs 液と同じにした 25mM 乳酸液(pH 7.4) 投与では、CTR 群で 3/16 本 (18.8%)、ECC 群で 2/21 本 (9.5%) が反応した。pH 5.5 の乳酸液と比べて反応した線維の割合は低い傾向があるものの有意な差は無かった。このように、これら 3 種類の化学刺激に反応する筋 C 線維受容器の割合は少なかった。その反応パターンとしては、1) 一過性にバースト状に放電し、2) 反応の持続時間が短いのが特徴であった。また、3 種類の化学刺激に対する反応の大きさを比較したところ、放電頻度に統計学的有意差はみられなかった(図 6A~C)。

6. ATP、Bradykinin に対する反応 (図 7)

ATP 投与により CTR 群で 10/29 本 (34.5%)、

ECC 群で 10/20 本 (50.0%) が、また、Bradykinin 投与により CTR 群で 19/29 本 (65.5%)、ECC 群で 14/20 本 (70.0%) の筋 C 線維受容器が反応を示した。ATP 投与により反応するものの割合は ECC 群で少し多かった。ATP 投与による反応パターンは、1) 一過性にバースト状に放電した後、5~20 分程度放電が持続するものが多く、CTR 群では 5/10 本が、ECC 群では 6/10 本がこのパターンを示した。他は、2) 放電開始までの潜時が長く、その後低頻度に放電が持続するパターンを示した。ATP 投与期間中の放電頻度を CTR 群と ECC 群で比較したが両者に差は検出できなかった(図 7A)。

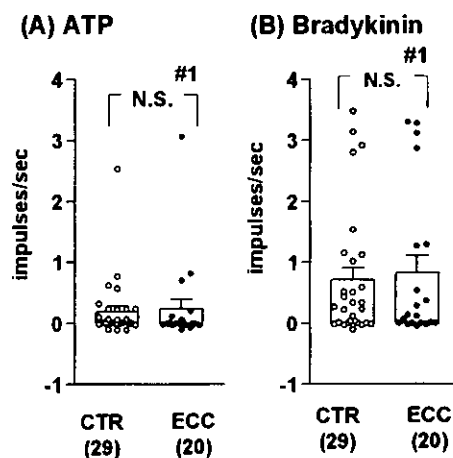


図 7 : ATP および Bradykinin に対する反応

縦軸：投与期間中の平均放電頻度。CTR 群と ECC 群の間で放電頻度に差はみられなかった。
#1: unpaired t test.

Bradykinin に対し反応する筋 C 線維受容器の反応パターンは多様性に富み、反応開始までの潜時が長いもの(約 30~60 秒)も、短いものも観察された。反応開始までの潜時が長いものは、ゆっくり放電頻度を増し始め、ゆっくり戻るものが多かった。反応開始までの潜時が短いもの(約 5~10 秒)は、立ち上がり早くしばらく高頻度に放電し、時には数秒おきに間欠的なバー

ストを示すものが観察された。これらの反応持続時間は約5~20分で長かった。また、一過性にだけ放電を示すものや、ATP投与による反応パターンのように一過性にバースト状に放電した後、放電が比較的緩やかに5~20分程度持続するものもあった。また、ATPに反応した筋C線維受容器は、CTR群で10本、ECC群で10本あったが、これらはすべてBradykininに反応を示した。Bradykinin投与期間中の放電頻度をCTR群とECC群で比較したが両者に統計学的有意差は検出できなかった(図7B)。

7. ColdおよびHeatに対する反応 (図8)

約10°CまでのColdによりCTR群で5/28本(17.9%)、ECC群で4/18本(22.2%)の筋C線維受容器が放電増加反応を示した。また、Cold刺激により自發放電が明らかに抑制されたものが、CTR群で4本、ECC群で4本観察された。Cold投与による反応パターンは、1)温度低下時に放電を示すもの、2)温度が10°C付近まで低下してから、その後、放電するものがあった。CTR群では1)、または2)の反応パターンを示すものが、それぞれ1/5本(反応閾値:31.9°C)、4/5本あった(反応閾値:11.2°C、10.0°C、8.9°C、7.8°C)。一方、ECC群では1)、または2)の反応パターンを示すものが、それぞれ1/4本(反応閾値:18.7°C)、3/4本あった(反応閾値:9.3°C、10.0°C、10.2°C)。また、Cold投与により自發放電が明らかな減少を示すものや、Cold投与期間には放電せず、復温中に放電を示すものが観察された。Cold投与期間中の放電頻度をCTR群とECC群で比較したが両者に統計学的有意差は検出できなかった(図8A)。

Heat刺激によりCTR群で11/27本(40.7%)、ECC群で11/17本(64.7%)の筋C線維受容器が放電増加反応を示し、ECC群でHeatに反応する筋C線維受容器がCTR群よりも24%多かったが、その割合に有意差はなかった。Heat投与による反応は、潜時が短く急な温度の上昇期間(約34~40°C)に放電を始めるもの、ある程度温度が上昇してから(約40~50°C)放電を始めるものがあった。Heat投与による反応閾値温度は、ECC群(44.5±1.5°C、n=11)でやや高いものの、CTR群(42.1±1.2°C、n=11)との間に差はみられなかった。Heatに対する反応パターンは、1)一過性にバーストを示すもの、またその後、放電がしばらく休止するもの、2)バーストが数回繰り返されるもの、3)約40°Cを越えたあたりで低頻度に放電を始めるものが観察された。また、Heatに応じる筋C線維受容器の割合はECC群で上昇したが、Heat投与期間中の放電頻度をCTR群とECC群で比較した結果、両者に統計学的有意差

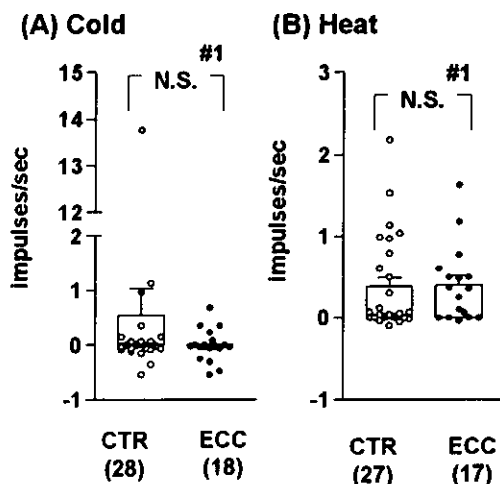


図8: Cold、およびHeatに対する反応
縦軸: 刺激期間中の平均放電頻度。CTR群とECC群の間で放電頻度に差はみられなかった。
#1: unpaired t test.