

は検出できなかった(図 8A)。このことは、ECC 群で Heat に弱く反応するものが増加することを示していると考えられる。CTR 群において、Cold 刺激に対し放電増加反応を示した 5 本のうち、Heat 刺激を行った 4 本はすべて Heat 刺激に反応しなかった。Heat 刺激に反応した 11 本はすべて Cold 刺激に対し放電増加反応を示さなかった。また、Cold 刺激により自発放電が明らかに抑制された 4 本については、すべて Heat 刺激に応じた。一方、ECC 群において、Cold 刺激に放電増加反応を示した 4 本のうち、Heat 刺激を 3 本に対して行ったが、うち 2 本は Heat 刺激にも応じ、残り 1 本は反応しなかった。また、Heat 刺激に反応した 11 本のうち 2 本は Cold 刺激にも応じ、残り 9 本は反応がなかった。Cold 刺激により自発放電が明らかに抑制された 4 本については、うち 3 本が Heat 刺激に応じた。

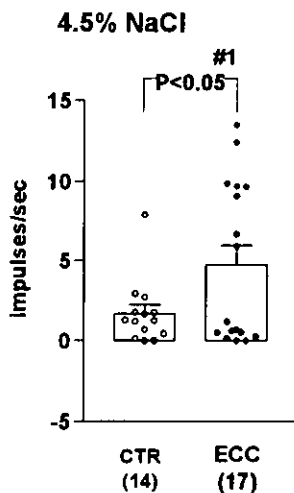


図 9: 4.5% NaCl に対する反応

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.

#### 8. 4.5% NaCl に対する反応 (図 9)

4.5% NaCl 投与により CTR 群で 14/14 本 (100.0%)、ECC 群で 16/17 本 (94.1%) と、ほぼすべての筋 C 線維受容器が反応を示した。ECC 群で 30 秒間の投与により反応を示さなかった 1 本は、2 分間投与を行ったところ約 1 分間の潜時をもって反応を示した。4.5% NaCl 投与による反応パターンは、1) 潜時が 10 秒以内と短く、立ち上がりが早く、高頻度で放電し、その後、増減を繰り返しながら長時間 (10~30 分間) 放電が持続するものが多かったが、2) 比較的低頻度でゆっくり放電し始め、ゆっくり戻るようなパターンも観察された。潜時が遅く (30 秒を過ぎてから) 反応し始めるものは伝導速度が 1.0 m/s 以上のものであった。4.5% NaCl 投与期間中の放電頻度を比較した結果、ECC 群の放電頻度は CTR 群と比べ、有意に高かった ( $p < 0.05$ , 図 9)。ECC 群で 4.5% NaCl に反応した 16 本の筋 C 線維受容器のうち、8 本は CTR 群とほとんど差がないのに対し、残り 8 本は明らかに放電頻度が上昇しており、これらは 2 つの集団に分けられるように見える。

#### D. 考察と結論、および今後の展望

今回、ラット長指伸筋-総腓骨神経の *in vitro* 標本を用い、筋 C 線維受容器活動を末梢レベルで調べ、無処置 (CTR 群)、および伸張性収縮を負荷して 2 日後の標本 (ECC 群) でこれらを比較した。

筋 C 線維受容器の自発放電は CTR 群と ECC 群間で差がみられなかった。この結果は DOMS において自発痛がないという記載<sup>1)</sup>、および伸張性収縮を負荷しただけでは運動後 2 日目に脊髄後角に発現する c-Fos 陽性細胞数 (痛みの神経マーカー) には変

化がないという昨年度報告した結果と一致している。Berberichらはカラゲニン筋炎モデルを用い、コントロール群と比べ、自発放電を示すIV群(C)線維の割合が(有意ではないが)増え、また、その自発放電頻度も(有意ではないが)上昇したと報告している<sup>2)</sup>。このことは、筋の炎症状態では、C線維受容器の自発放電が増大する可能性を示している。今回、CTR群とECC群との間で筋C線維受容器の自発放電に差がみられなかったことは、DOMSが炎症とは異なるメカニズムにより生じていることを示唆している。

筋C線維の受容器タイプについて、機械・化学(Bradykinin)・熱の3種類すべての刺激を行ったもののうち、機械刺激のみに応じるものの割合は、CTR群とECC群でそれぞれ、9/27本(33.3%)と4/17本(23.5%)であった。また、3種類すべての刺激に応じるものの割合は、CTR群とECC群でそれぞれ、11/27本(40.7%)と10/17本(58.8%)であった。ECC群では機械刺激のみに応じるものの割合が少なく、機械・化学・熱のすべてに応じるもの(ポリモーダルタイプ)の割合が多かった。このことは、伸張性収縮負荷により、機械受容のみをになう筋C線維受容器の終末部分に化学、および熱を受容する受容体が新しく出現していることを想像させる。

今回、観察されたもっとも大きな変化は、伸張性収縮運動を行って2日後に取り出した標本において、機械閾値が有意に低下し(図4A)、機械反応の程度が有意に大きくなった(図4B)ことである。これらの結果と昨年度の報告から、DOMSに特徴的な圧痛には、筋C線維受容器の機械反応の増大が関与していると考えられる。これま

で、筋細径線維受容器(A $\delta$ ・C)活動の記録を報告した論文のほとんどは*in vivo*による実験系でなされている。今回観察された変化から、筋を取り出して灌流しても、筋C線維受容器の活動、および伸張性収縮後の変化は長時間にわたり保たれることがわかった。

DOMSのメカニズムについてはこれまでに、(1)乳酸蓄積説、(2)組織損傷に伴う炎症説、(3)筋温上昇説、(4)筋内圧上昇説など、様々な仮説が唱えられている<sup>3, 4)</sup>。今回、これらの仮説の一端を検証すべく、(1)に対しては、pH 5.5、乳酸25mM(pH 7.4)、および乳酸25mM(pH 5.5)を投与し、筋C線維受容器が低pH刺激、または乳酸のどちらにどのくらいの割合で反応するかを調べた。その結果、これらの刺激に反応する筋C線維受容器の割合自体が少なく、その反応の大きさはCTR群とECC群で差がなかった(図6)。(2)に対してはATP、Bradykinin投与を行ったが、ATP投与によりECC群で反応する筋C線維受容器の割合がCTR群に比べ約15%増加した以外に差はなかった(図7)。本実験は一定の温度のKrebs液(約34°C)を灌流した状態で行った。従って観察された機械刺激に対する反応閾値の低下と反応の大きさの増大は、組織温度の上昇によるものでないことは明らかである。(4)に対しては4.5% NaClを含む高張浸透圧刺激を行った。4.5% NaCl投与により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(図9)。この差がナトリウムイオン濃度の上昇によるものか、または高浸透圧刺激による細胞の容積変化によるものかを調べることは今後の課題である。

以上のように、DOMSにおける機械痛覚

過敏（圧痛）には、筋C線維受容器活動の増大が関与していると考えられる。今後、機械反応閾値の低下や機械反応の増大に寄与しているメカニズム、例えば、炎症メディエータによるC線維受容器機械反応の修飾機構の解析、機械受容チャネルやトランスデューサの同定、発現の変化の解析、などを行っていく必要がある。

## 実験 II. 加齢ラットにおける遅発性筋痛

### B. 方法

オスSDラットを、8週齢より制限給餌のもとで飼育し、81週齢となった段階で実験を行った。6匹（体重  $374 \pm 17.6$  g）を使用した。実験 I と同様にラットは運動負荷する ECC 群と伸張のみ行う CTR 群との 2 群にわけた。筋圧痛閾値は Randall-Selitto 法により測定した。ラットがどの群に属するかは、測定者にはわからないようブラインドをかけた。

### C. 結果

6匹のラットのうち1匹が、ECC 負荷を行うための麻酔により死亡したため、5匹（ECC 群が3匹）で実験を行った。運動負荷（または伸張負荷）前の圧痛閾値は ECC 群で  $109.5 \text{ g} \pm 2.6 \text{ g}$  (MEAN $\pm$ SE)、CTR 群で  $104.1 \pm 10.5 \text{ g}$  と、昨年報告した若年群 (ECC 群、 $96.6 \text{ g} \pm 3.7 \text{ g}$ ) より多少高い傾向があった。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  $73.1 \pm 18.5 \text{ g}$ ）、若年群と比べ遅い傾向があった（図 10）。しかし、例数が少ないため、今後例数を増やして検討する必要がある。

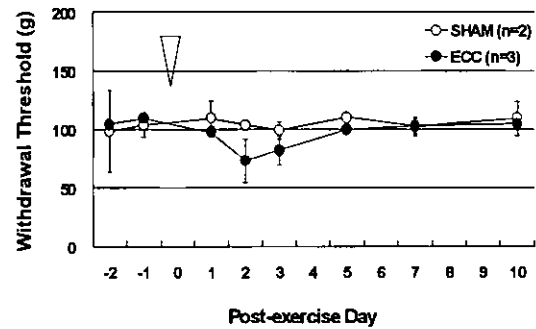


図 10. 高齢ラットにおける ECC 負荷による筋圧痛閾値の変化

### D. 考察及び今後の展望

若年群と比べ、圧痛閾値の低下が発現するのが遅い傾向があったのは、経験的に加齢とともに遅発性筋痛の出現が遅れる、と言われている現象と一致することの用に思われる。使用するラットの匹数を増やして、データを確実なものにし、さらに検討を加えていきたい。

## 実験 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

### B. 方法

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 (図 11) を用い、生体組織の 3 次元モデルを構築した (図 12)。モデルは皮膚、皮下組織、筋、骨の 4 層から成る 42,526 個のソリッド要素より構成した。圧刺激プローブとの接触面における解析精度を上げるため、接触面付近の要素メッシュの分割を細かくした。組織の材料物性は等方弾性体とし、文献に基づいて物性値を入力した<sup>[6-7]</sup>：皮膚、皮下組織、筋、骨それぞれ

の Young 率  $E$  を 2.5、0.025、1.0 および 1900 MPa とし、Poisson 比  $\nu$  は皮膚、皮下組織および筋組織で 0.43、骨で 0.44 とした。被験者における圧痛閾値の測定時と同様に、骨は剛体で不動とした。

次に 20 個の剛体ソリッド要素より成る円柱形圧刺激プローブを作成した。プローブの先端直径は、筋痛覚の測定用に Fischer らが勧めている 10 mm と、皮膚痛覚測定によく用いられている von Frey 毛の直径に近い 2 mm との 2 種類を用いた。それぞれのプローブに 40 g および 1000 g の荷重を加えて、皮膚との接触面における



図 11. ヒト(31歳男性)前腕部のMRI断層画像

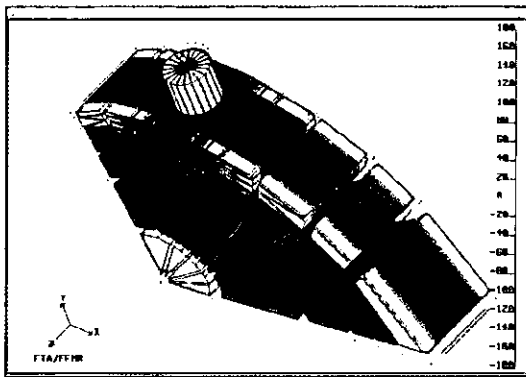


図 12. 像より作成した前腕部の3次元モデル。  
青:  $\phi$  10 mm プローブ、オレンジ: 皮膚、黄:  
皮下組織、赤: 筋、紫: 骨

圧力が共に 124.6 kPa となる条件で圧刺激をシミュレートした。プローブの運動方

向は皮膚面に対し垂直方向 (y 軸) のみに制限した。

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。

本研究は長寿科学振興財団リサーチレジデントの高橋 賢氏の協力によって行われた。

### C. 結果

経皮的圧刺激によって皮膚・皮下組織および筋に生じた応力の最大値 (主圧縮応力、主引張り応力、von Mises 応力) の時間経過を、2 mm および 10 mm プローブを使

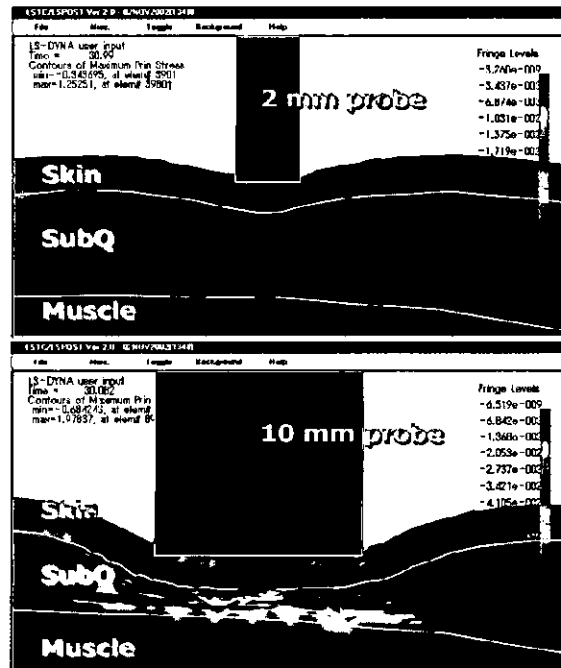


図 13: 圧刺激開始 30 msec 後におけるプローブ断面付近での主圧縮応力の分布。

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。

用した条件でシミュレートした。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 13 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。

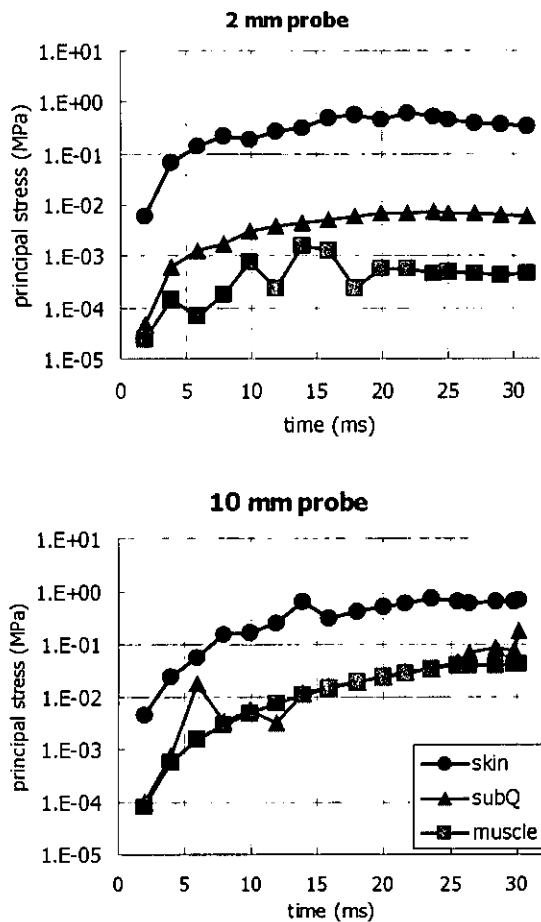


図 14：経皮的圧刺激に対する皮膚（●）・皮下組織（▲）および筋（■）における主圧縮応力の最大値。  
圧縮力は負の数で表されるため絶対値をとってから対数表示した。（上）2 mm プローブ使用時、（下）10 mm プローブ使用時。

次に皮膚・皮下組織および筋における主圧縮応力の最大値の時間経過を解析した結果を図 14 に示す。2 mm プローブによる圧刺激によって生じた主圧縮応力は、皮

膚・皮下組織および筋それぞれにおいて圧刺激開始後約 20 msec の間上昇し、その後プラトーに達した一方 10 mm プローブを用いた場合は、それぞれの組織において約 30 msec の間上昇し続けた。この傾向は主引張り応力および von Mises 応力の場合も同様であった。圧刺激開始 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。また主引張り応力の皮膚組織／筋組織の比は 2 mm プローブの場合 427.0、10 mm プローブの場合 36.5 であった。圧縮応力と引張り応力の影響を同等に考慮する von Mises 応力の皮膚組織／筋組織の比は 2 mm プローブの場合 217.7、10 mm プローブの場合 45.7 であった。主圧縮応力、主引張り応力および von Mises 応力のすべてにおいて、皮膚組織／筋組織の応力比は 10 mm プローブで圧刺激したときの方が 2mm プローブの場合よりも低かった。

#### D. 考察

本研究の結果により、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。

皮膚や筋などの生体組織は、変形の程度が大きくなると応力・ひずみ関係が線形性を示さない材料非線形の性質を持つことが知られている<sup>[8-11]</sup>。今回のシミュレーションでは全ての組織を線形等方弾性体と仮定しているため、次のステップとして材

料非線形性も考慮したモデルで解析を行う必要がある。現在文献を参照して Mooney rubber などの様々な材料特性を用いたシミュレーションを継続中である。

生体組織の材料特性については既に多くの報告が存在するものの、皮膚の Young 率ひとつをとっても研究者によって数値に大きなばらつきがある (0.014~2.5 MPa) のが実情である。これは材料特性を調べる方法として引張り試験、吸引試験、回転試験など多くの方法が混在しているためと考えられる。経皮的な圧刺激による生体組織内の応力分布を考える場合、材料特性は圧縮試験を基に定められた物性値を使用することが望ましい。我々はヒト前腕部に様々な圧縮加重を加えて組織の変形を MRI にて撮影し、シミュレーション結果と比較してその解析精度を評価する実験を現在計画中である。

数名の被験者の前腕部 MRI 断層画像を撮影したところ、被験者によって前腕直径の大きさや皮下脂肪の厚さなどに大きなばらつきがあることが観察された。このことから、経皮的な圧刺激を加えた場合に生じる応力分布が被験者によって大きく異なることが予想される。したがって、経皮的圧刺激を与えたときの応力分布が組織の解剖学的配置の違いによりどのように変化するかを今後シミュレーション解析する予定である。

### III. 圧痛閾値に対する皮膚表面麻酔の影響

#### B. 方法

22~56 歳の健常成人 12 名(女 5 名, 男 7 名)を被験者とし、皮膚に局所麻酔剤を投与する前後で皮膚痛覚・筋の圧痛および深部痛覚を測定した。局所麻酔にはキシロカインパッチを用い、腕橈骨筋上の皮膚に貼付し 1 時間放置した。反対側の腕にはプラセボパッチを貼付した。麻酔パッチを貼付する側を決定する際は乱数表を用いた。またパッチ貼付前に皮膚の角質層をできるだけ除去し、局所麻酔の浸潤を促した。パッチの貼付を行う者を実験者・被験者とは別に設け、ダブルブラインドで行った。

もっとも先端径の細い刺激子としては鍼灸針 ( $\phi 0.16$  mm、長さ 30 mm) を用い、被験者の皮膚に速度 1.14 mm/sec で針がたわむまで 10 回刺激を行い、痛みを感じた回数をカウントした。皮膚の熱痛覚の測定にはペルチエ冷熱刺激装置 (DPS-777、ダイヤモンド) を用い、接触面積 78.5 mm<sup>2</sup> のプローブにて速度 1°C/sec で温度を上昇させて熱痛閾値を 3 回測定し、平均値を求めた。先端径の大きいプローブとしては、半球状で直径 4.4 mm の木製プローブおよび円盤状で直径 15 mm の金属製プローブの 2 種類を用いた。測定は被験者が痛みを訴えるまで一定速度 (4.4 mm プローブ: 約 0.1 N /sec、7mm プローブ: 約 10 N/sec) で圧刺激を加え、3 回の平均値を圧痛閾値とした。深部痛覚の測定には  $\phi 0.18$  mm の絶縁針を皮膚表面より垂直に筋膜に当たるまで (約 8 mm) 刺入し、被験者が痛みを訴えるまで電圧(duration: 1 ms, interval: 2 ms, frequency: 2 Hz, maximum current: 2 mA, 3 train pulses) を上昇させ、閾値を測定した。測定は 3 回を行い平均値を取った。

本研究は長寿科学振興財団リサーチレジデントの高橋 賢、明治鍼灸大学の川喜田健司、岡田薫、伊藤和憲、西村展幸、森定真、木村美保、柏田亜弥子、田中克伸、中井裕子、中村暢俊、および名古屋大学環境医学研究所の田口 徹の諸氏の協力の下に行われた。

### C. 結果

先端の細い鍼灸針による 10 回の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する傾向が見られた (図 15)。1 名の被験者は痛み応答が麻酔前に 7 回、麻酔後に 7 回で変化が見られなかった。実験の目的から、この被験者のデータは以下の実験から除外した。他の被験者は全て麻酔処置により痛み応答の減少が見られた。麻酔側における痛み応答の回数の中央値は処置前 7.5 回であったのに対し処置後は 3.5 回に低下した。一方対照側の痛み応答の中央値は処置前 7.5 回に対し処置後 7.5 回であり、変化が見られなかった。

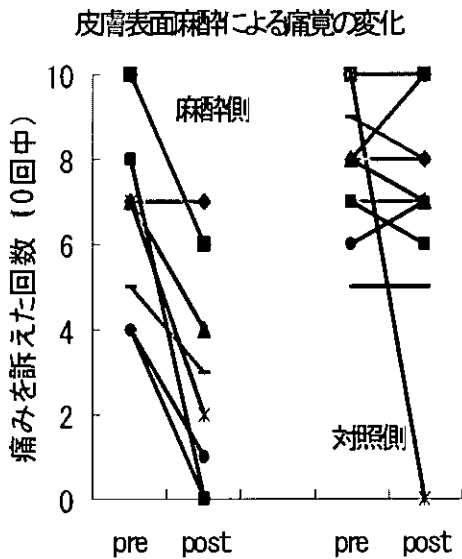


図 15. 鍼灸針による機械痛覚の測定。

Pre: キシロカインパッチ貼付前、Post: キシロカインパッチ貼付後。麻酔処置によって痛み応答が変化しなかった被験者のデータは、以降の実験では削除した。

熱痛覚の閾値は麻酔側において処置前  $44.7 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 、処置後  $43.3 \pm 0.5^\circ\text{C}$  であり有意差が認められた (mean  $\pm$  SEM, Student's *t*-test。以下同様) (図 16)。またコントロール側における熱痛覚の潜時は処置前  $44.4 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 、処置後  $44.1 \pm 0.5^\circ\text{C}$  であり両群間に有意差は認められなかった。

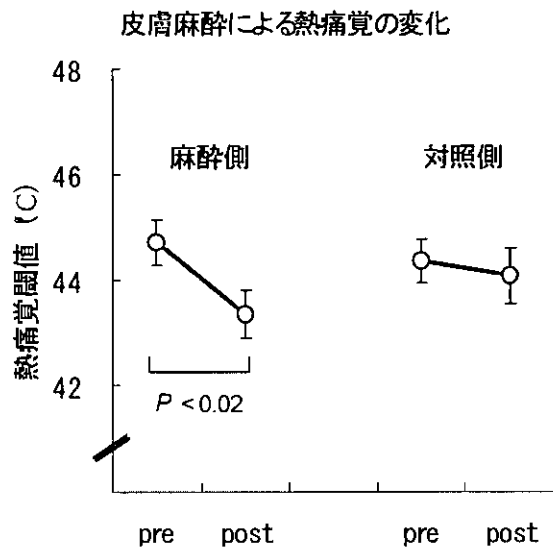


図 16. 熱痛覚閾値の測定。

木製(直径 4.4mm)プローブを用いた実験では、麻酔側において処置前の圧痛閾値が  $5.50 \pm 0.79\text{ N}$ 、処置後  $6.81 \pm 0.86\text{ N}$  であり両群間に有意差は認められなかった (図 17)。またコントロール側においては処置前の圧痛閾値が  $5.34 \pm 0.58\text{ N}$ 、処置後  $6.05 \pm 0.86\text{ N}$  であり有意差を認めなかった。金属性(15mm)プローブを用いた実験では、麻酔側において処置前の圧痛閾値が  $38.22 \pm 1.96\text{ N}$ 、処置後  $39.69 \pm 5.00\text{ N}$  であり両群間に有意差は認められなかった (図 18)。コントロール側においては処置前の圧痛閾値が  $32.83 \pm 2.55\text{ N}$ 、処置後  $34.79 \pm 3.33\text{ N}$  であり、両群間に圧痛閾

値の有意な差は認められなかった。

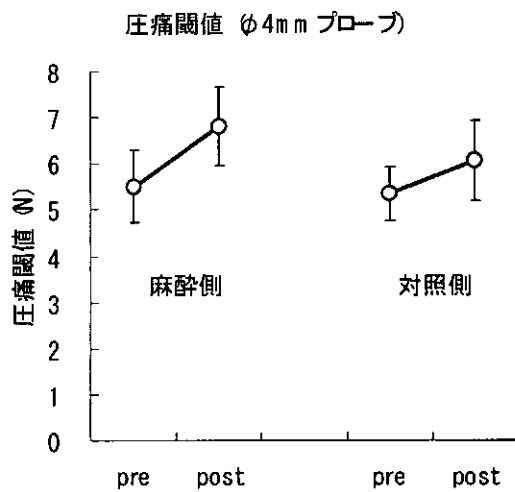


図 17. 大きなプローブ(直径 4mm)による機械痛覚閾値

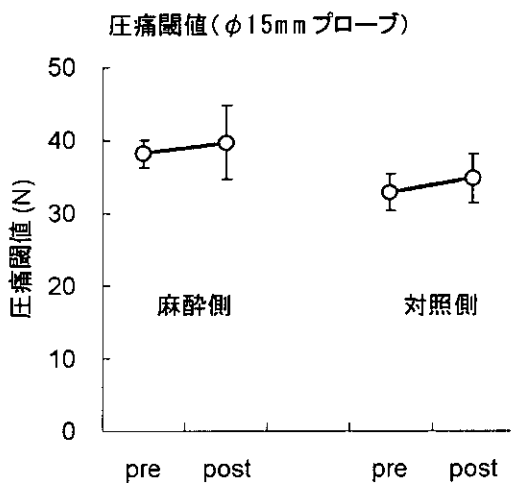


図 18. 大きなプローブ(直径 15mm)による圧痛閾値の測定。

筋膜部位における電気刺激によ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は麻酔側において処置前  $0.444 \pm 0.127$  mA、処置後  $0.448 \pm 0.084$  mA であり有意差は認められなかった (図 19)。またコントロール側では処置前  $0.396 \pm 0.131$  mA、処置後  $0.500 \pm 0.122$  mA であり有意な変化は認められなかった。

皮膚麻酔による深部痛覚の変化

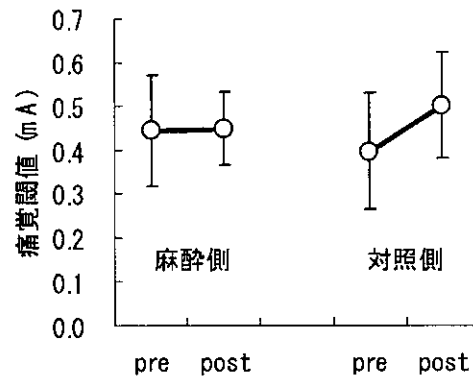


図 19. 筋膜部位における深部痛覚の測定

### 考察

シミュレーション実験より皮膚表面よりあまり深層にまで圧力が伝達されないと推定される細い鍼灸針によって測定した痛覚が、表面麻酔で鈍麻した。従って鍼灸針圧迫による痛覚は皮膚痛覚であろうと考えられる。表面麻酔で皮膚痛覚の低下した被験者において、表面麻酔は直径 4.4 mm および直径 15mm 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。また表面麻酔は筋膜部位における深部痛覚閾値に対して有意な変化を与えなかったことから、筋痛覚は麻酔作用の影響を受けずに保たれていると考えられる。このことから、今回用いた 2 種類の径の大きいプローブは皮膚より筋組織に対しより特異的に痛みを誘発することが示唆される。一方皮膚表面麻酔はペルチエ冷熱刺激装置による熱痛覚測定において、閾値の有意な低下を引き起こした。この原因として、表面麻酔が皮膚温の上昇を誘発し、熱刺激が通常より強く作用することなどが考えられる。追加実験によりこの可能性を調べる予定である。



さらに今回の実験の結果と、前述のコンピュータシミュレーションの結果を総合し、経皮的圧刺激によって筋の圧痛を測定するための最適な方法を決定する予定である。

#### 参考文献 (本文中の番号に対応)

- [1] Graven-Nielsen, T., Arendt-Nielsen, L. Induction and assessment of muscle pain, referred pain, and muscular hyperalgesia, *Curr. Pain Headache Rep.* 7: 443-51, 2003.
- [2] Berberich, P., Hoheisel, U., S. Mense, Effects of a carrageenan-induced myositis on the discharge properties of group III and IV muscle receptors in the cat. *J. Neurophysiol.* 59: 1395-1409, 1988.
- [3] Armstrong, R.B., Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: A brief review, *Med. Sci. Sports. Exerc.* 16: 529-538, 1984.
- [4] Pyne, D.B. Exercise-induced muscle damage and inflammation: A review, *Aust. J. Sci. Med. Sport.* 26: 49-58, 1994.
- [5] Dandekar K., Raju B. I., Srinivasan M. A. 3-D finite-element models of human and monkey fingertips to investigate the mechanics of tactile sense. *J Biomech Eng* 125(5), p.682-691, 2003.
- [6] Behr M., Arnoux P. J., Serre T., Bidal S., Kang H. S., Thollon L., Cavallero C., Kayvantash K., Brunet C. A human model for road safety: from geometrical acquisition to model validation with radios. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 6(4), p.263-273, 2003.
- [7] 佐藤 正明. 生体組織の力学特性. 医用電子と生体工学 第24巻4号, p.213-219, 1986.
- [8] Reihnsner R., Balogh B., Menzel E. J. Two-dimensional elastic properties of human skin in terms of an incremental model at the in vivo configuration. *Med Eng Phys* 17, p.304-313, 1995.
- [9] Tong P., Fung Y. C. The stress-strain relationship for the skin. *J Biomech* 9, p.649-657, 1976.
- [10] Hendriks F. M., Brokken D., van Eemeren J. T., Oomens C. W., Baaijens F. P., Horsten J. B. A numerical-experimental method to characterize the non-linear mechanical behaviour of human skin. *Skin Res Technol* 9(3), p.274-283, 2003.
- [11] Bischoff J. E., Arruda E. M., Grosh K. Finite element modeling of human skin using an isotropic, nonlinear elastic constitutive model, *J Biomech* 33, p.645-652, 2000.

#### E. 結論

遅発性筋痛状態にあるラットの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。また、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、今後の研究が大変しやすくなった。加齢ラットでの遅発性筋痛についてはさらに例数を増やして調べて行かなければならない。

経皮的機械刺激による筋痛測定法は、プローブの大きさがある程度大きくすれば筋痛覚を測定することができることがわかった。今後、皮下組織の厚さの違いなど

も考慮してさらに検討が必要である。また、皮膚痛覚過敏状態ではどのような方法が皮膚痛覚の混入無くはかれるかの検討もしていく必要がある。

F. 健康危険情報  
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Taguchi, T., Tamura, R., Sato, J., and Mizumura, K. Mechanical stimulation of the eccentrically contracted muscle induces expression of c-Fos immunoreactive neurons in the spinal dorsal horn of rats. (submitted)
2. Mizumura, K., Takahashi, K., and Sato, J. Hyperalgesia/allodynia to cold in persistently inflamed rats- changes in C-fiber receptor activities and cold-sensitive ion channel expression. IN: Eds. K. Brune, O. Handwerker, 'Hyperalgesia: Molecular mechanisms and clinical implications', IASP Press (in Press)
3. Sato J, Aoyama M, Yamazaki M, Okumura S, Takahashi K, Funakubo M and Mizumura K. Artificially produced meteorological changes aggravate pain in adjuvant-induced arthritic rats. *Neurosci Lett* 354: 46-49, 2004.
4. Sugiura T, Kasai M, Katsuya H and Mizumura K. Thermal properties of acid-induced depolarization in cultured rat small primary afferent neurons. *Neurosci Lett* 350: 109-112, 2003.

5. Takahashi K, Sato J and Mizumura K. Responses of C-fiber low threshold mechanoreceptors and nociceptors to cold were facilitated in rats persistently inflamed and hypersensitive to cold. *Neurosci Res* 47: 409-419, 2003.
6. Koeda T, Ando T, Inoue T, Kamisaka K, Tsukamoto S, Torikawa T, Hirasawa J, Yamazaki M, Ida K and Mizumura K. A trial to evaluate experimentally induced delayed onset muscle soreness and its modulation by vibration. *Environ Med* 47: 26-30, 2003.
7. Koeda T, Sato J and Mizumura K. Involvement of alpha 1-adrenoceptors in the cutaneous blood flow increase response to sympathetic nerve stimulation in rats with chronic constriction injury. *Environ Med* 47: 31-34, 2003.

2. 学会発表

1. Sato, J., Yamazaki, M, Kaname, H., Aoyama, M., Funakubo, M., and Mizumura, K. Different time courses of concentration of plasma norepinephrine in different chronic neuropathic pain models. 2003 Abstract Viewer/Itinerary Planner. Washington, DC: Society for Neuroscience, Program No. 589.18. 2003. (北米神経科学会、ニューオリズ)
2. Taguchi, T., Tamura, R., Sato, J., and Mizumura, K. Existence of muscular tenderness revealed by behavioral pain test and c - Fos expression after eccentric muscular contraction in rats. 2003 Abstract Viewer/Itinerary

- Planner. Washington, DC: Society for Neuroscience, Program No. 66.5. 2003. (北米神経科学会、ニューオリンズ)
4. Taguchi, T., Tamura, R., Sato, J., and Mizumura, K. Muscular pain in rats induced by eccentric contraction and trial to elongate its duration by exposure to repetitive cold stress. The 1st Science and Research Symposium Book of Abstracts, p47. 2003. (ファイザーシンポジウム、名古屋)
  5. Sato, J., Yamazaki, M., Kaname, H., Aoyama, M., Funakubo, M., and Mizumura, K. Different time course of plasma noradrenaline contents in different chronic neuropathic pain models. The 1st Science and Research Symposium Book of Abstracts, p39. 2003. (ファイザーシンポジウム、名古屋)
  6. Taguchi, T., Tamura, R., Sato, J., and Mizumura, K. Tenderness after eccentric muscular contraction in rats. The Japanese Journal of Physiology 53(suppl), S241. 2003. (日本生理学会大会、福岡)
  7. Takahashi, K., Katanosaka, K., Kozaki, Y., Sato, J., and Mizumura, K. Alteration of primary afferent nerve fibers in adjuvant- monoarthritic rats hypersensitive to cold. The Japanese Journal of Physiology 53 (suppl), S240. 2003. (日本生理学会、福岡)
  8. 田口 徹、田村 良子、佐藤 純、水村 和枝 ラットを用いた筋肉痛モデル作製の試み 第25回日本疼痛学会 2003.12 (東京)
  9. 佐藤純、舟久保恵美、水村和枝 二種類の神経因性疼痛モデル(CCIモデルとSNLモデル) の血中ノルアドレナリン量は異なった経日変動を示す 第25回日本疼痛学会 2003.12 (東京)
  3. 著書・総説
    1. 水村和枝 慢性疼痛の末梢における成立機序 慢性疼痛 22 : 45-51、2003
    2. 水村和枝 炎症と痛み リウマチ科 31 : 186-192、2003
    3. 水村和枝 痛み(侵害)受容器の生理学(花岡一雄 編集 痛み-基礎・診断・治療-) P. 2-6. 朝倉書店 2003



筋および筋細径求心線維脊髄投射の形態学的研究

（分担）研究者 杉浦 康夫 名古屋大学大学院医学系研究科 教授

**研究要旨** 筋の痛覚受容のメカニズムを明らかにするため、筋に分布する神経の分布や形態、痛みに関連する受容体の発現を免疫組織学的に調べた。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受容し、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。筋の知覚神経は、皮膚の痛みの受容にかかわる TRP-V1(capsaicin 受容体)や P2X3(ATP 受容体)を発現し、その終末は筋組織内部の横紋筋線維の間に分布していることから、これらの分子は筋の痛みの治療に重要な対象であると思われる。

また、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 の発現が増加しており、カラゲニン筋炎における筋の痛みには ASIC1a の関与が示唆された。

#### A. 研究目的

筋・筋膜の痛みは、そこに分布する侵害受容器が興奮するために生じると考えられる。生理的にその反応性は詳しく調べられ、機械、熱、化学刺激に反応するポリモダル受容器であることが報告されている (Kumazawa and Mizumura 1977)。生化学的には、侵害受容に関連する神経の分布密度が皮膚に比べて低いことなどが推測され (McMahon et al., 1984)、形態学的には、筋の知覚神経は脊髄における投射領域が広いことが報告され (Mense and Craig, 1988)、これらのことが、筋痛の局在性、判別性の悪さを特徴付けていると考えられている。我々も腓腹筋からの無髄一次求心性神経終末の脊髄内分布を調べ、筋に由来する無髄の知覚神経は脊髄後索表層を数分節にわたって走行するものがあり、終末部の形態や脊髄への投射様式は、皮膚の知覚神経と内臓の知覚神経の中間の性格をもつことを明らかにした (Ling et al., 2003)。しかし、筋・筋膜に分布する末梢の侵害受容器を形態学的に調べた仕事は極めて少ない。

そこで、我々は、末梢における筋の知覚受容のメカニズムを明らかにするため、筋に分布する神経の分布や形態、神経に発現する痛みに関連する受容体 (TRPV-1, P2X3) の発現を免疫組織学的に調べた。また筋痛時に関与する受容体やイオンチャネルを明らかにするため、カラゲニン筋炎動物モデルラットの後根神経節において、近年皮膚の痛みの受容への関与が示唆されて

いる 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、これらの分子の筋痛への関与を調べた。

#### B. 研究方法

材料として Sprague-Dawley (SD) 系ラット (250-400 g) を使用した。

##### 1. 筋に分布する神経線維の形態学的解析

ペントバルビタール深麻酔下にて、4% パラホルムアルデヒドを含む固定液で動物を灌流固定した。動物から腓腹筋を取り出し、同じ固定液で一晩、後固定した。その後 20% シュークローズを含む緩衝液で処理し、OCT compound に凍結包埋した。凍結マイクロトームにて 100  $\mu$ m の厚みの切片を作製した。筋に分布する神経線維を免疫組織化学的に染色した。神経線維全般を染めるために protein gene product-9.5 (PGP9.5) に対する抗体を用い、知覚神経を染めるために、calcitonin gene-related peptide (CGRP) や substance P (SP) に対する抗体を用い、交感神経を染めるために tyrosine hydroxylase (TH) に対する抗体を用いた。また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 に対する抗体を用い、いずれの抗体の場合も ABC-DAB 法にて可視化した。神経線維は画像解析装置 (NeuroLucida) にてトレースし、腓腹筋における神経線維の分

布を明らかにした。本実験は、牛田貴文、  
凌麗君、尾崎紀之が担当した。

## 2. 筋の知覚神経における痛覚関連受容体の発現

ペントバルビタール深麻酔下にて、ラットの左側腓腹筋に逆行性蛍光神経標識物質 Fluorogold(4%)を注入した。7日間の生存期間の後、ペントバルビタール深麻酔下にて、4%パラフォルムアルデヒドを含む固定液で動物を淹流固定し、後根神経節(L4-6)を取り出し、クライオスタットにて15 $\mu$ mの厚みの切片を作製した。TRPV-1またはP2X3に対する抗体を用い、ABC-DAB法にて可視化した。Fluorogoldで標識された腓腹筋に由来する知覚神経がTRPV-1またはP2X3を発現しているか調べた。本実験は、牛田貴文、凌麗君、尾崎紀之が担当した。

## 3. カラゲニン筋炎動物モデルラットの後根神経節における痛覚関連受容体の発現の変化

ペントバルビタール深麻酔下にて、ラットの左側腓腹筋に4% carrageenanを100 $\mu$ l注入し炎症を誘発した。carrageenanの代わりにPBSを100 $\mu$ l注入した動物を対照とした。約24時間後にペントバルビタール麻酔下でL4-L6の後根神経節を採取し、-80 $^{\circ}$ C以下で保存した。組織サンプルよりトータルRNAを抽出し、RT-PCR(reverse transcriptase PCR)を行いcDNAを合成し、ASIC (acid sensing ion channels)1a, 1b, 2a, 2b, 3, TRPV-1, P2X3に対するプライマーを用いPCRを行い、遺伝子発現を調べた。次に、同じprimerを用いてreal time PCRを行い、遺伝子発現を定量した。内部標準としてglyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase(GAPDH)のmRNAの発現を基準に、痛覚関連受容体のmRNA発現量を相対的に定量した。今回はprimerの有効性を確認するために、GAPDHに対するprimerを2種類作成し、その結果を比較した。本実験は、藤井優子、尾崎紀之が担当した。

## 4. (倫理面への配慮)

実験は、動物の愛護および管理に関する法律に準じ、名古屋大学医学部動物実験指針に従い、名古屋大学医学部動物実験委員会の許可のもとに行われた。

## C. 研究結果

### 1. 筋に分布する神経線維の形態学的解析

末梢神経線維のマーカである PGP9.5 に対する抗体によって筋に分布する神経線維の形態を調べると、筋に分布する神経線維には、1. 横紋筋線維に神経筋終板を形成しているもの(図 1A)、2. 血管に沿って分

布しているもの(図 1B)、3. 横紋筋線維の間に分布しているもの(図 1C)、の3種類が見られた。知覚神経のマーカである CGRP 陽性の神経線維は、血管に沿って(図 2A)または横紋筋線維の間に特殊な構造は作らずに分布していた(図 2B)。交感神経のマーカである TH 陽性の神経線維は、ほぼ全て血管に沿って分布していた。また、皮膚の痛覚受容に関与しているカプサイシンレセプターである TRPV-1(図 3)や ATP のレセプターである P2X3(図 4)陽性の神経線維は、横紋筋線維の間に少数ながら分布しており、これらは、筋の痛みの受容に関与していると思われる。また神経線維は、筋膜や腱膜にも見られたが、深部の筋組織にも多く分布し(図 5)、これらの神経が横紋筋やその周囲の組織に由来する感覚に重要な役割を果たしていると思われる。

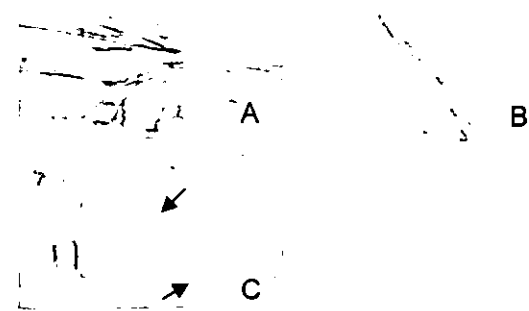


図1: 筋に分布する PGP9.5 陽性神経線維。  
A: 横紋筋線維に神経筋終板を形成するもの。B: 血管に沿って走行するもの。C: 横紋筋線維の間に分布するもの(矢印)。

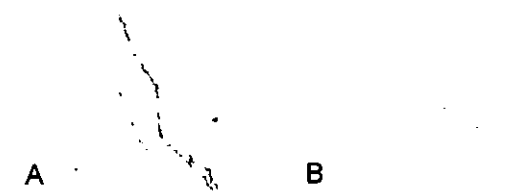


図2: 筋に分布する CGRP 陽性神経線維。  
A: 血管に沿って走行するもの。B: 横紋筋線維の間に分布するもの

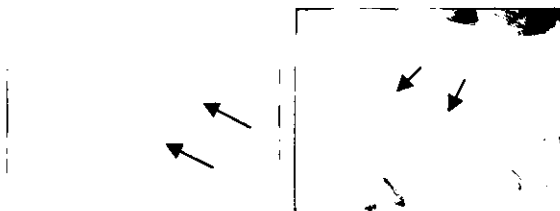


図3: 筋に分布する SP 陽性神経線維。横紋筋線維の間に分布する(矢印)。

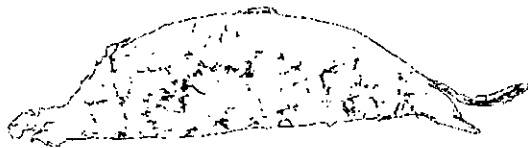


図 4. 筋に分布する TRPV-1 陽性神経線維。



図 5. 筋に分布する P2X3 陽性神経線維。

PGP9.5



CGRP

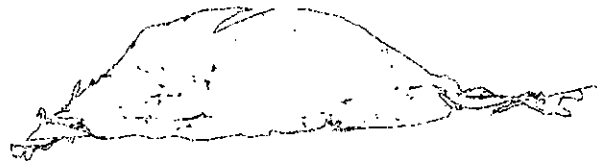


図 6. 筋に分布する PGP9.5、CGRP 陽性神経線維。腓腹筋の矢状断切片。

## 2. 筋の知覚神経における痛覚関連受容体の発現

腓腹筋に神経標識物質 Fluorogold を注入し、逆行性に細胞体を標識した知覚神経には、TRPV-1(図 6)や P2X3(図 7)陽性のもが見られた。これらの知覚神経の突起が横紋筋線維の間に分布し、痛みなどの筋の感覚に関与していると考えられた。

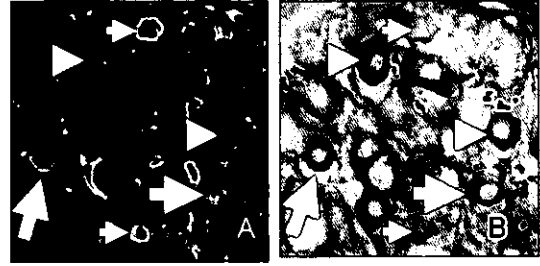


図 7. 後根神経節に見られた TRPV-1 陽性神経。同一切片を UV 励起(A)と明視野(B)にて観察し、Fluorogold で標識された腓腹筋に由来する知覚神経と(A)、その TRPV-1 の発現(B)を調べた。大きい矢印は Fluorogold 陽性で TRPV-1 陽性、小さい矢印は Fluorogold 陽性だが TRPV-1 陰性、矢頭は Fluorogold 陰性で TRPV-1 陽性の細胞を示す。



図 8. 後根神経節に見られた P2X3 陽性神経。大きい矢印は Fluorogold 陽性で P2X3 陽性。小さい矢印は Fluorogold 陽性だが TRPV-1 陰性、矢頭は Fluorogold 陰性で TRPV-1 陽性の細胞を示す。

## 3. カラゲニン筋炎動物モデルラットの後根神経節における痛覚関連受容体の発現の変化

今回作成したプライマーによって、各々の PCR 産物が予想される塩基長約 250 bp の位置に認められ、ラットの後根神経節には ASIC(1a, 1b, 2a, 2b, 3), TRPV-1, P2X3 の発現が確認された。内部標準である GAPDH を基準とした相対的な mRNA 発現量をカラゲニン筋炎動物モデルラットの後根神経節と健常群のものとして比べると、カラゲニン筋炎動物モデルラットでは ASIC1a が増加し、TRPV-1, P2X3 は減少していた。内部標準として用いた GAPDH には二種類の primer を使用したが、どちらの primer を用いた場合でも結果は同じ傾向を示し、今回使用した primer の有効性が確認された。

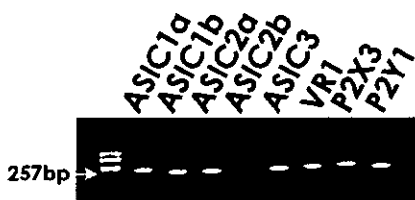


図 8. DRG における痛覚関連遺伝子の発現

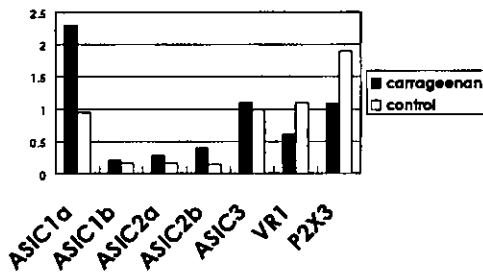


図 9. DRG における痛覚関連遺伝子の発現。Real time PCR

#### D. 考察

1. 筋に分布する神経線維の形態学的解析、筋に分布する神経線維には、1. 横紋筋線維に神経筋終板を形成しているもの、2. 血管に沿って分布しているもの、3. 横紋筋線維の間に分布しているもの、の3種類が見られた。知覚神経のマーカである CGRP 陽性の神経線維や、皮膚の痛覚受容に参与しているカプサイシンレセプター TRPV-1 や ATP レセプター P2X3 陽性の神経線維が、横紋筋線維の間に入り込むように分布しており、この横紋筋線維の間に分布するタイプの神経線維が、筋の痛みへの受容に参与していると思われる。また神経線維は、筋膜や腱膜にも見られたが、深部の筋組織に多く分布していたことから、深部の筋組織の神経線維も横紋筋線維やその周囲の組織に由来する感覚に重要な役割を果たしていると思われる。

#### 2. 筋の知覚神経における痛覚関連受容体の発現

筋に分布する知覚神経は、カプサイシンレセプターである TRPV-1 や ATP レセプターである P2X3 を発現していた。これらのレセプターは皮膚の痛みへの関与が明らかになっているが、筋の痛みにとっては特に重要な役割を担っているかもしれない。カプサイシン受容体はプロトンに反応するので、筋の運動時に組織の pH が低下したときの痛みへの関与が考えられる。ATP は、筋組織に豊富に含まれ、筋が損傷したとき組織間隙に漏出し、筋の侵害受容知覚神経

に存在する ATP 受容体を直接興奮させ痛みを惹起する可能性がある

(Graven-Nielsen and Mense 2001)。

#### 3. カラゲニン筋炎動物モデルラットの後根神経節における痛覚関連受容体の発現の変化

今回作成したプライマーによって、ラットの後根神経節には ASIC(1a, 1b, 2a, 2b, 3), TRPV-1, P2X3 の mRNA の発現が確認され、プライマーや実験方法の有効性が確認された。カラゲニン筋炎動物モデルラットでは ASIC1a の mRNA が増加していた。ASIC1a は後根神経節の主として小型から中型のニューロンに発現し、CGRP と共存し、capsaicin sensitive なニューロンに発現しており、低 PH に反応することから、末梢組織における PH の変化を感受していると考えられており、Freund の完全アジュバントによる慢性炎症においてその発現が増加することが報告されている (Voilley et al., 2001)。起炎剤は異なるが、我々が行ったカラゲニン筋炎においても、ASIC1a の発現が増加し、炎症時における低 PH 刺激に応じる知覚神経が増加し、痛覚過敏をもたらすものと考えられる。

カラゲニン筋炎動物モデルラットでは TRPV-1 の mRNA の発現は減少していた。カラゲニンを皮下に投与し炎症をおこすと、皮膚の痛覚過敏が見られ、TRPV-1 は後根神経節で減少し、脊髄後角で増加し、軸索流が関与していることが示唆されている (tohda et al., 2001)。カラゲニンによる筋炎の場合も同様の現象が起きている可能性がある。

カラゲニン筋炎動物モデルラットでは P2X3 の mRNA は減少していた。Freund の完全アジュバントによる慢性炎症モデルにおいてその発現が増加することが報告されており (Xu and Mae Huang 2002) 実験モデルや組織の違いを含めた詳細な検討が必要と思われる。

#### E. 結論

骨格筋組織において、横紋筋線維の間に分布している神経線維が痛覚を含めた筋の知覚に参与していると思われ、カプサイシンレセプター TRPV-1 や ATP レセプター P2X3 が皮膚の痛みと同様に筋の痛みの受容にも関与していると考えられた。またカラゲニン筋炎において ASIC1a の発現が増加し、筋炎における痛覚過敏に参与していることが示唆された。

#### 【参考文献】

- Kumazawa T, Mizumura K: Thin-fiber



- receptors responding to mechanical, chemical, and thermal stimulation in the skeletal muscle of the dog. *J Physiol* 273, 179-194, 1977.
- McMahon SB, Sykova E, Wall PD et al., Neurogenic extravasation and substance P levels are low in muscle as compared to skin in the rat hindlimb. *Neurosci Lett* 52: 235-240, 1984.
  - Mense S, Craig AD, Spinal and supraspinal terminations of primary afferent fibers from the gastrocnemius-soleus muscle in the cat. *Neuroscience* 26: 1023-1035, 1988.
  - Ling LJ, Honda T, Shimada Y, Ozaki N, Shiraishi Y, Sugiura Y, Central projection of unmyelinated (C) primary afferent fibers from gastrocnemius muscle in the guinea pig. *J Comp Neurol* 461:140-150, 2003.
  - Graven-Nielsen T, Mense S, The peripheral apparatus of muscle pain: evidence from animal and human studies. *Clin J Pain* 17:2-10, 2001.
  - Voilley N, de Weille J, Mamet J, Lazdunski M, Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors. *J Neurosci* 21: 8026-8033, 2001.
  - Tohda C, Sasaki M, Konemura T, Sasamura T, Itoh M, Kuraishi Y, Axonal transport of VR1 capsaicin receptor mRNA in primary afferents and its participation in inflammation-induced increase in capsaicin sensitivity. *J Neurochem* 76:1628-1635, 2001.
  - Xu GY, Huang LY, Peripheral inflammation sensitizes P2X receptor-mediated responses in rat dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci* 22:93-102, 2002.
- F. 健康危険情報  
特になし。
- G. 研究発表
1. 論文発表
    1. Ling L-J, Honda T, Ozaki N, Shiraishi Y, Shimada Y, Sugiura Y, The central projection of unmyelinated (C) primary afferents fibers from gastrocnemius muscle in the guinea pig. *J Comp Neurol*. 461(2):140-50, 2003.
    2. Ling L-J, Honda T, Ozaki N, Shimada Y, Sugiura Y, The central projection of unmyelinated (C) primary afferent fibers from gastrocnemius muscle in the guinea pig in comparison with cutaneous and visceral afferents. In *Proceedings of the 10<sup>th</sup> World Congress of Pain, Progress in Pain Research and Management, Vol.24*, edited by Jonathan O. Dostrovsky, Daniel B. Carr, and Martin Koltzenburg, IASP Press, Seattle, pp227-234.2003.
    3. Shinoda M., Honda T, Ozaki N, Hattori H, Mizutani H, Ueda M, Sugiura Y, Nerve terminals extended into the

- temporomandibular joint of adjuvant arthritic rats. *Eur J Pain* 7(6):493-505, 2003.
4. Shiraishi Y, Kobayashi M, Yasui M, Ozaki N, Sugiura Y, Innervation and functional characteristics of connective tissues, especially elastic fibers, in human fetal thoracic intervertebral articular capsule and its surroundings. *Anat Embryol (Berl)*, 206(6):437-45, 2003.
5. 尾崎紀之 杉浦康夫、総説：内臓痛と体性痛のメカニズム、ペインクリニック 24(6) :807-815, 2003, Ozaki N, Sugiura Y, Mechanisms of visceral and somatic pain.
6. 杉浦康夫、白石洋介、腰痛のメカニズム、薬局 vol 54, No. 10, p2589-2597, 2003.
7. 杉浦康夫、尾崎紀之 トピックス 2. 内臓痛と体性痛の違い、麻酔科診療プラクティス12 ペインクリニックに必要な局所解剖 p235-237、2003.
2. 学会発表
1. Sugiura Y, Ushida T, Ling L-J, Ito Y, Ozaki N, Innervation of gastrocnemius muscle in the rat. *Acta Anat Nippon* volume 79, 2004 (in press).
2. Sugiura Y, Ling L-J, Honda T, Ozaki N, The central projection of unmyelinated (C) primary afferent fibers from somatic organs, skin, muscle and visceral organs in the guinea pig. *Acta Anat Nippon* volume 78, supplement, p154, 2003.
3. Ushida T, Ozaki N, Ling L-J, Sugiura Y, Peptidergic innervation of gastrocnemius muscle in the rat. *Neuroscience Res* 46 Suppl 1, S105, 2003.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

厚生労働省科学研究費補助金（長寿科学研究事業）

分担研究報告書

高齢者の筋・骨格系の痛みに対する徒手的治療法の除痛効果の評価

分担研究者 猪田邦雄、肥田朋子 名古屋大学医学部保健学科 教授、助手

研究要旨 高齢者の筋痛に対する治療法として徒手的治療法の効果を明らかにする。その第一段階として昨年度に引き続き、若年者を対象に肘関節屈伸運動を行わせ遅発性筋痛を作成し、バイブレーション治療を施した。ヒトの個体差を考慮し、運動後の肘関節可動域制限からバイブレーション治療群とコントロール群に分けた。バイブレーション治療の効果判定には疼痛感、上腕横断画像、筋硬度、圧痛閾値を測定した。その結果遅発性筋痛は運動1日後から生じ、7日には消失していた。バイブレーション治療は、運動1日後に行い、肘関節最大伸展時の疼痛感を軽減させたが、圧痛閾値には影響を及ぼさなかった。バイブレーション治療は疼痛感や関節可動域改善に有用であることが判った。

第二段階として膝痛高齢者を対象に、運動療法あるいは徒手的治療を施す期間（1ヶ月）を設け、非処置期間をコントロールとして治療効果を評価した。評価には Health-Related Quality of Life 評価、Western Ontario and McMaster Universities osteoarthritis index 日本語版、日本整形外科学会疼痛スコア、および視覚的アナログスケールの疼痛評価表を用いた。デイケアに通所され膝に痛みを有する高齢者に徒手的治療と運動療法を行った。対象数も少なく、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が、どちらの治療をしても全体的健康感の改善が見られるなど、一定の傾向は見られた。

A. 研究目的

高齢者の多くは筋・骨格系に疼痛を生じ、日常生活活動（ADL）や生活の質（QOL）に大きな影響を与えていると考えられている。そのため疼痛の除去がADLやQOLの改善に役立つものと考え、それを明確にすることを目的に徒手的治療法や運動療法の効果を検討した。

第一段階（研究1）は若年者に実験的に遅発性筋痛（DOMS）を作成し、DOMS作成前後で治療（バイブレーション）を実施

し、治療の効果を経時的かつ多角的に評価することを目的とした。昨年度の結果から、若年者では遅発性筋痛が最大になるのは運動後1日目であったので、今年度は特に運動1日後の状態を評価することと、圧痛閾値と筋硬度の精度化および再現性を図った。

第二段階（研究2）は高齢者の筋・骨格系の疼痛のなかで数も多く、QOLに直結し歩行能力に影響する膝関節痛を対象に、一般に広く行われている運動療法と徒手的治療法の効果を比較検討した。

以下研究 1、研究 2 に分けて報告する。

## B-1. 研究方法

### 研究 1

**対象：**対象は健常成人男女 13 名（平均年齢 20.9 歳）であった。対象は、運動 1 日後すなわち DOMS 発生時に振動刺激治療を施すパイプ群 8 名（男 6 名、女 2 名）、パイプ治療時間中何も施さずに臥位を保持したコントロール群 5 名（男 3 名女 2 名）に分けた。群分け条件は運動後の関節可動域制限の程度に群間差が生じないように行った。

**運動負荷：**対象は非利き手の手関節部に重錘を固定し、背臥位、前腕回外位にて肘関節 20~60 度範囲内の屈伸運動を、不可能になるまで行なった。重錘の重さは男性 3Kg、女性は 2Kg とした。これを 1 セットとし、3 セット行なった。各セット間には 5 分の休憩を入れた。また、2 セット以降は、必要に応じて屈曲運動のみ介助した。上肢の状態の評価には、肘関節可動域、疼痛および重だるさ感、上腕横断画像、筋硬度、圧痛閾値を測定した。

**肘関節可動域の計測：**被験者に肘関節最大屈曲および最大伸展させ、それぞれその角度を 3 回計測し、その平均値をデータとした。

**疼痛感：**重錘を負荷した能動運動時と他動的な最大伸展時の感覚を表現させた。重錘負荷は男性 1Kg、女性 0.5Kg とした。表現方法は numerical rating scale (NRS) で、何も感じない時を 0、今まで経験した中で最も強い痛み感を 10 とし、11 段階の数字で表現させた。

**皮膚厚、筋厚の推定：**超音波画像診断装置（東芝メディカル社製）を用いて上腕横断画像を取得し、皮膚表面から筋までの距離を計測し皮膚の厚みとした。また、上腕骨

から筋組織表面までの距離を測定し筋の厚みとした。計測は各 3 回行い、その平均値をデータとした。

**筋硬度：**機械刺激装置（ダイヤモンド社製）を用いた。プローブを 2.5mm/sec で体表から 10mm 押し込んだ時の圧変位曲線を描かせ、2 相目の傾きを筋硬度として算出した。5 回測定を行い、最大と最小値を除いた 3 回分の平均値をデータとした。**圧痛閾値：**上腕長の 46% 遠位部の上腕二頭筋筋腹上に印をつけ、把持したプッシュプルゲージを体表からゆっくり押し込み、被験者が痛みを感じた圧を読み取った。5 回測定し、その平均をデータとした。圧痛閾値の測定精度を増す目的で被験者に事前学習を行なった。

**治療法：**マッサージを機械的に変換させたバイブレーター（振幅 8mm、30Hz）を用い、体表面から若干痛みを生じる程度の圧迫を与えつつ、上腕二頭筋筋腹上に 20 分間振動刺激を施行した。

以上の測定・評価は運動前後、運動 1、2、3 日および一週間後におこなった。両群とも治療（あるいは臥位保持）を行なった後にも測定を行なった。最終日には、1 週間の疼痛変化を NRS で表現したグラフを作成させた。

被験者からはあらかじめインフォームド Consent をとり、実験を行なった。各項目測定者および治療者はそれぞれ別の験者があつた。また作為が入らないよう、測定者には被験者の所属群がわからないように工夫した。

本研究は名古屋大学環境医学研究所の倫理委員会の承認を得て実施した。

**統計処理：**一元配置分散分析法を用いて各群の変動を分析し、多重比較を行なった。また、振動刺激前後の比較には対応のある t 検定を用い、有意水準は 5% 以下とした。