

筋の知覚神経は DRG の一部の細胞であるので、DRG 全体ではなく、筋の知覚神経における mRNA の変化について検討を加える必要があるかもしれない。

#### E. 結論

アジュバント関節炎のモデルにおいて、またシスプラチン神経因性疼痛モデルにおいて、皮膚の侵害受容にかかわるイオンチャネルや受容体の発現が、筋の知覚神経でも変化していた。筋骨格系の組織に関わる痛みの受容や、痛覚感受性の変化において、これらイオンチャネルや受容体が重要な役割を担っていると思われる。

#### 【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.
- Schafers M, Sorkin LS, Sommer C: Intramuscular injection of tumor necrosis factor-alpha induces muscle hyperalgesia in rats.. *Pain* 104:579-588,2003
- Friction JR: Temporomandibular Muscle and Joint Disorders. *Pain Clinical Updates*, XII, No. 2, June 2004
- Burnstock G: P2X receptors in sensory neurones.. *Br J Anaesth* 84:476-488,2000
- Rudin NJ: Evaluation of treatments for myofascial pain syndrome and fibromyalgia.. *Curr Pain Headache Rep* 7:433-442,2003
- Itoh K, Kawakita K: Effect of indomethacin on the development of eccentric exercise-induced localized sensitive region in the fascia of the rabbit.. *Jpn J Physiol* 52:173-180,2002
- Wasner G, Brechot A, Schattschneider J, Allardt A, Binder A, Jensen TS, Baron R: Effect of sympathetic muscle vasoconstrictor activity on capsaicin-induced muscle pain.. *Muscle Nerve* 26:113-121,2002
- Kehl LJ, Trempe TM, Hargreaves KM: A new animal model for assessing mechanisms and management of muscle hyperalgesia.. *Pain* 85:333-343,2000
- McDonald ES, Windebank AJ:

Cisplatin-induced apoptosis of DRG neurons involves bax redistribution and cytochrome c release but not fas receptor signaling.. Neurobiol Dis 9:220-233,2002

#### G. 研究発表

##### G-1. 論文発表

1. Shiraishi Y, Yasui M, Mori N, Sugiura Y: Involvement of the pronator muscle for "Pulled elbow": anatomical and histological investigation. 柔道整復・接骨医学 13(4)?-?,2004 (in press)
2. Furukawa K, Sugiura Y, Tajima O, Honda T, Furukawa K: [Functional analysis of the nervous system in knockout mice of ganglioside synthase genes]. Tanpakushitsu Kakusan Koso 49:2411-2416,2004
3. Tsuboi T, Honda T, Hishida S, Shigetomi T, Ueda M, Sugiura Y: A quantitative study of nerve fiber density in the submandibular gland of rats.. Nagoya J Med Sci 67:25-34,2004
4. Ishikawa H, Honda T, Toriyama K, Torii S, Sugiura Y: Origin and course of nerves immunoreactive for calcitonin gene-related peptide surrounding the femoral artery in rat.. Anat Embryol (Berl) 207:299-305,2003

##### G-2. 学会発表

1. Shinoda M, Ozaki N, Asai H, Nagamine K, Sugiura Y, Alteration of P2X3 receptor expression in the trigeminal ganglion following monoarthritis of temporomandibular joint in the rats. Program No. 285.6,

2004 Abstract Viewer/Itinerary Planner. Washington, DC: Society for Neuroscience

2. Shinoda M, Ozaki N, Asai H, Nagamine K, Sugiura Y, Alteration of P2X3 receptor expression in trigeminal ganglia following monoarthritis of temporomandibular joint in the rats. International workshop on the neural mechanisms of musculoskeletal pain, abstract p80, 2004.
3. Fujii Y, Ozaki N, Sugiura Y, Mediators expression in sensory neurons following carrageenan induced muscle hyperalgesia. International workshop on the neural mechanisms of musculoskeletal pain, abstract P81
4. Fujii Y, Ozaki N, Sugiura Y, Expression of receptors in sensory neurons following carrageenan induced muscle hyperalgesia. Abstracts of 11<sup>th</sup> world congress on Pain , 2005 (in press)

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### 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疗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

研究要旨 高齢者の筋痛に対する治療法として徒手的治疗法の効果を明らかにする。その第一段階として昨年度までは、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てバイブレーション（振動）治療を施したところ、疼痛感や関節可動域改善に有用であることが判った。しかしこれらの改善が何によるものかは不明であり、より詳細に検討するべく、腰部への振動刺激時の H 反射から筋の緊張状態の評価を行った。また、このとき腰痛の有無とも比較・検討した。その結果、腰部の筋を振動させると下腿三頭筋の H 反射は抑制され、筋緊張が低下することが推察された。

また、膝痛高齢者を対象に 1 ヶ月間の運動療法実施効果を評価している。昨年度は、介護施設へ通所している膝痛高齢者を対象に実施したところ基礎疾患による影響が大きかったため、今年度は基礎疾患の少ない症例に限定した。実施数は現在 2 名にとどまっている。評価には Health-Related Quality of Life 評価、Western Ontario and McMaster Universities osteoarthritis index 日本語版、日本整形外科学会変形性膝関節症治療成績判定基準、大腿四頭筋筋力および視覚的アナログスケール（VAS）の疼痛評価表を用いた。運動療法実施前後に評価した VAS においては、改善傾向を示した。

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疗法や運動療法の効果を検討した。昨年までの研究から徒手的治疗法をより客観的な刺激とするためにバイブレーターを使用した振動刺激を遅発性筋痛被験者に用い、疼痛軽減と関節可動域改善が認められた。これには筋緊張の低

下が関与していると推察したが、筋硬度測定からは判別できなかった。そこで今年度の研究 1 では、腰部の傍脊柱筋に対しバイブレーターによる振動刺激を与え、下腿三頭筋 H 反射へ与える影響について、刺激深度に着目して評価することを目的とした。また、腰痛の有無との関連性も調べた。

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有する対象に、一般に広く行われている運動療法の効果を検討することを目的とした。昨年度は ADL や QOL

に影響を及ぼす基礎疾患として脳梗塞後遺症、高血圧や骨格系疾患を有している者が多く、これら基礎疾患の影響から運動療法の効果判定が難しかったため、今年度は基礎疾患の少ない膝関節痛を有する外来通院高齢者を対象とした。

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：対象はインフォームドコンセントをとり、承諾の得られた健常男性 15 名（平均年齢 21.5 歳）であった。このうち問診にて自覚的に腰痛がある者は 10 名（腰痛群）、ない者は 5 名（非腰痛群）であった。

H 反射測定方法：H 反射測定には筋電計（ニューロパック 8、日本光電社製）を用いた。被験者は腹臥位をとり、膝関節軽度屈曲位（ $30^{\circ}$  ～  $40^{\circ}$ ）、足関節軽度底屈位（ $20^{\circ}$  ～  $30^{\circ}$ ）となるように足関節近位部に枕をおいた。頭部は正中位とし、上肢はベッドの横に肩関節  $90^{\circ}$  外転位、肘関節  $90^{\circ}$  屈曲位になるように垂らした。H 反射は、被験者の姿勢の変化、体動、精神状態の影響を受けるため、被験者には可能な限り安静と精神状態の安定を保たせた。H 反射記録電極（Blue Sensor：（株）メッツ）は、腓腹筋下縁よりやや遠位におけるヒラメ筋の筋腹に縦方向に約 3cm 離して装着した。電気抵抗は  $10k\Omega$  以下にした。アース（皿電極）は外果に装着した。電気刺激用電極は膝窩部の脛骨神経上にマジックベルトで固定し、電気刺激は 1 ms の矩形波とし、M 波閾値のマイナス 0.2mA を刺激強度とした。M 波は最初の刺激時に測定した（以下、Mmax）。電気刺激頻度は 0.3Hz とし、測定時間は 30 秒～1 分としたが、振動刺激の影響は約 1 分後に安定するという報告から、振動刺

激を開始 1 分経過後から測定した。

振動刺激方法：振動器には MyoVib<sup>®</sup>（マイオセラピー研究所製）を用いた。振動刺激は、H 反射の測定と同側（本実験では左）で下腿三頭筋と同髄節である L5 部位の多裂筋の筋腹中央部に加えた。振動子を固定するための枠をベッド上に設置した。振動刺激条件は、周波数 20Hz で振幅は 9mm とし、体表面から振動子を 0cm、1cm、2cm の深さまで押し込み、それぞれの深さで振動刺激を与えた（以下、0cmVib、1cmVib、2cmVib とする）。また押し込みのみで振動刺激を加えない場合（以下、押し込み 0cm、押し込み 1cm、押し込み 2cm とする）や、体表面に振動子を当てることなく（体表面から 10cm 離れた場所）で振動刺激を加えた（以下、安静時 Vib とする）場合等、各条件刺激時の H 反射も測定した。尚、体表面から押し込む深さの基準は、最大吸気時とした。刺激順序は、安静時 Vib、押し込み 0cm、0cmVib、押し込み 1cm、1cmVib、押し込み 2cm、2cmVib の 7 種類の条件刺激を検者が無作為に選択した。また、各刺激施行前に条件刺激を加えることなく H 反射を測定した（以下、H-control とする）。各施行の間隔（休憩）は 3～4 分とした。解析には Mmax に対する H 反射振幅の比率である H/Mmax を用いた。刺激による変化を直前の H/Mmax との差として算出し、値が小さく（＝負に）なるほど H 反射の振幅抑制量が大きいことを示した。

快・不快評価：実験前の安静腹臥位時の他 7 種の条件刺激時の不快感を Visual Analog Scale（以下、快・不快 VAS とする）で聴取した。VAS の表示方法は、実験前の安静腹臥位時における VAS の値を基準に、各条件刺激時の VAS の値から割合を算出した（＝条件刺激施行時 VAS/安静時 VAS ×

100)。

統計処理：一元配置分散分析を用い Bonferroni 法で多重比較した。腰痛群と非腰痛群の検討では、二元配置分散分析を用い、Bonferroni 法で多重比較した。有意水準は 5%以下とした。

本研究は、鈴木未来、松居宏樹氏（名古屋大学医学部保健学科 4 年生）の協力をえて実施した。

（倫理面の配慮）

名古屋大学医学部保健学科の倫理委員会の承認を得て実施した。

### C-1. 研究結果

**H/Mmax 差**：一人の被験者における振動刺激を加えた時および加えなかった時の H 反射を図 1 に示した。振動刺激を加えると H 反射の振幅は抑制された。一方、振動刺激を加えなかった場合には、H 反射の振幅は抑制されなかった。また、振動刺激を加える際の深さが深くなるほど H 反射の振幅抑制程度は増大し、深さと H 反射振幅抑制の間には負の相関関係( $r = -0.6367$ 、 $P < 0.0001$ )がみられた (図 2)。2cmVib の H/Mmax 差は安静時 Vib、0cmVib、1cmVib のそれらに比べて有意な減少( $P < 0.01$ )を示した。また、1cmVib の H/Mmax 差は安静時 Vib のそれに比べて有意な減少を示した ( $P < 0.01$ )。さらに、0cmVib、1cmVib、2cmVib の H/Mmax 差は、それぞれ押し込み 0cm、押し込み 1cm、押し込み 2cm のそれらに比べて有意に減少した ( $P < 0.01$ )。

**H/Mmax 差と快・不快 VAS (図 3)**：2cmVib と押し込み 2cm では、不快感に大きな違いはみられなかったが、H 反射の振幅抑制量は 2cmVib の方が大きかった。1cmVib・0cmVib と押し込み 1cm・押し込み 0cm を比べると、振動刺激を加えることで不快感

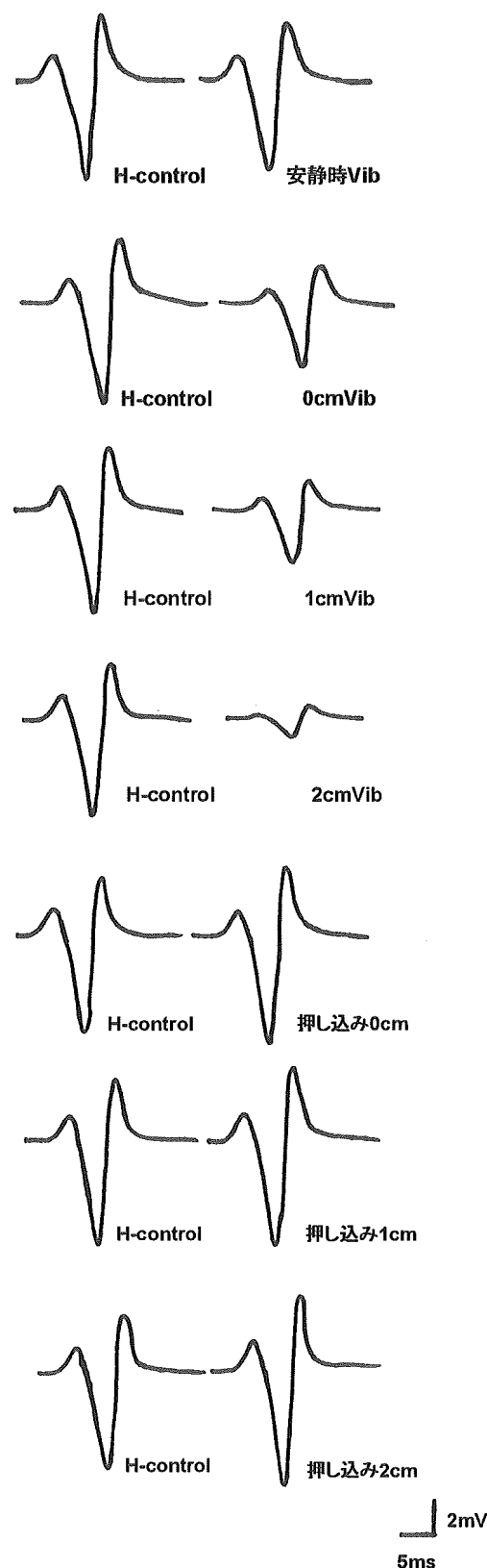


図 1 各条件刺激時の H 反射の一例  
H 反射の振幅は Vib 刺激時に小さくなった。

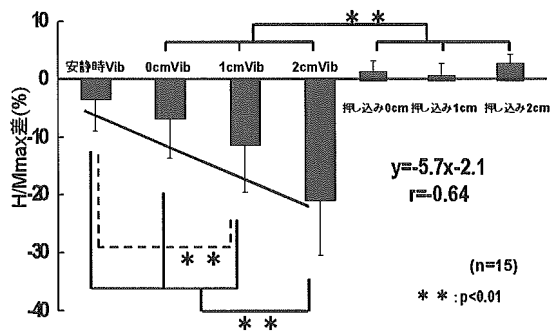


図2 各条件刺激による H/Mmax 差

縦軸は H/Mmax 差、横軸は各条件を示す。押し込みのみでは H/Mmax は影響を受けないが、振動を加えると押し込み深さに比例して抑制された ( $p < 0.01$ )。

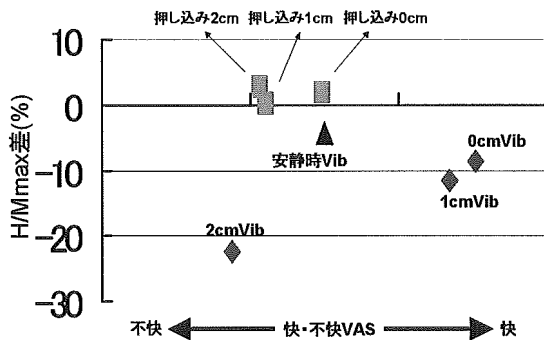


図3 H/Mmax 差と快・不快 VAS の関係

縦軸は H/Mmax 差、横軸は快・不快 VAS を安静時 VAS を基準とした割合で示す。0cmVib と 1cmVib は快に感じる傾向にあった。

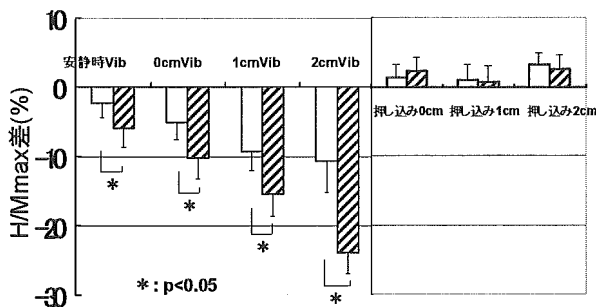


図4 腰痛群と非腰痛群における H/Mmax 差

軸は図2と同様。白棒が腰痛群( $n=10$ )、斜線棒は非腰痛群( $n=5$ )を示す。腰痛群はいずれの深さの振動刺激に対しても非腰痛群に比べて有意に抑制割合が低下した( $p < 0.05$ )。

が軽減されるだけでなく、むしろ快に感じている被験者が多く、H 反射の振幅抑制量も大きかった。

腰痛群と非腰痛群の検討 (図4) : 両群とも振動刺激深度が深くなるほど H 反射振幅抑制量が大きかった。腰痛群と非腰痛群の群間では、安静時 Vib、0cmVib、1cmVib、2cmVib の各深度で非腰痛群の方が有意に振幅抑制量が大きかった ( $P < 0.05$ )。

一方、振動刺激を加えなかった場合には、両群ともに H 反射の振幅抑制はみられず、各深度において群間で大きな違いはみられなかった。

#### D-1. 考察

本実験から下腿三頭筋と同髄節の傍脊柱筋へ振動刺激を加えると、下腿三頭筋 H 反射の振幅が抑制されることが明らかとなった。すなわち  $\alpha$  運動ニューロン (MN) の興奮性が低下したことから筋緊張は低下している可能性が示された。

また、振動刺激深度を深くするほど下腿三頭筋 H 反射の振幅抑制量は増大した。これは、振動刺激深度が深くなるほどより深部に存在する筋も刺激され、その結果振動刺激量が増加し、求心性に送られるインパルスも増加した結果、中枢を介した下腿三頭筋  $\alpha$  MN へのシナプス前抑制が更になくなったことが考えられた。特に、Ia 線維の発射頻度が増すとシナプス前抑制が増強されるとの報告もあり、その結果、 $\alpha$  MN の興奮性が抑制されることで H 反射の振幅抑制が更になくなったと考えられた。このことから後枝支配筋に対する振動刺激量が増加することで、同髄節の前枝支配筋への影響が大きくなることが示唆された。

さらに体表から 0cm および 1cm の深さで振動刺激を加えると不快感が軽減される

だけでなく、むしろ快に感じている被験者が多かった。この結果から治療の際に、適切な深さで振動刺激を加えることで筋緊張の低下(=H 反射振幅抑制)を得ることができるだけだけでなく、患者様に不快感を与えることなく治療を行うことができると考えられた。

ここで、目的としてあげた振動刺激の定量化に関して考えていきたい。被験者を腰痛群と非腰痛群とに分けた結果(図 9 参照)から振動刺激を加えた場合の各深さで、非腰痛群の H 反射振幅抑制量が腰痛群に比べて大きかったことが解った。この差を生み出した要因として考えられることは、本実験では測定しなかったが、腰痛保持者の脊柱起立筋や傍脊柱筋の硬さは健常人に比べて硬いという報告がされていることから L5 部位の脊柱起立筋や傍脊柱筋の硬さの違いが影響しているのではないかと考えられた。つまり、筋が硬いと L5 部位の傍脊柱筋へ加わる振動刺激の周波数や振幅が変化することで生体が受ける振動刺激量が変化すると考えられる。すなわち、筋が硬いとされる腰痛群では、非腰痛群と同じ深さで同じ周波数・振幅の振動刺激を加えても生体へ加えられる振動刺激量が減少していたのではないかと考えられる。今後、振動刺激の定量化をより確実なものにするためには、筋や軟部組織の硬さを考慮したり、刺激を加える際の圧力を定量化することも必要ではないかと考えられる。

#### E-1. まとめ

若年者の腰部傍脊柱筋に様々な深度で振動刺激を与え、下腿三頭筋 H 反射に及ぼす影響を調べた。その結果、より深い部位での振動刺激は下腿三頭筋の H 反射を抑制し、筋緊張の低下に影響を与えることが推

察された。

#### F-1. 結論

傍脊柱筋に与えた周波数 25Hz で振幅 9mm の振動刺激は、刺激部位の深さが深いほど下腿三頭筋 H 反射の振幅を抑制し、筋緊張が低下することが推察された。

#### B-2. 研究方法

##### 研究 2

対象：国家公務員共済組合連合会東海病院の整形外科を受診し、基礎疾患の少ない膝関節痛を有する高齢者を対象とした。対象者には事前にアンケート等の治療や研究に関するインフォームドコンセントを行い同意を得た後、治療を開始した。

方法：治療は日頃当院で行われている運動療法とし、その治療前後で評価・測定を行った。運動療法は下肢伸展挙上訓練 (SLR ex.: Straight leg raising exercise) とした。通院は 2 回/週とし、訓練が正しく行われているかを確認し、通院しない日も在宅で行ってもらった。指導は以下の通り行った。①仰臥位で非訓練側は腰椎の前彎を減少させるため立て膝とする。②足関節を背屈、膝関節を伸展し、大腿四頭筋の収縮を意識する。③踵を床より 20cm 程挙上し 10 秒間静止した後ゆっくりと脚を降ろし、一旦脱力する。④10 回を 1 セットとし左右交互に 3 セット行う。

##### 評価項目

包括的健康概念：健康関連 QOL (Health-Related Quality of Life) の評価として MOS 36-Item Short-Form Health Survey (以下、SF-36) 日本語版を使用した。機能状態や健康状態を患者の視点から評価をするもので、36 項目からなるアンケート質問表である。8 つの下位尺度に分類

され、健康概念を測定できる。

### Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index

(WOMAC)：患者の自覚的機能状態や痛みの程度を測定するために、英語版の WOMAC を参考に、生活スタイルにおける文化差を考慮して改変された日本語版を使用した。自記式回答質問表である。痛みに関する設問は膝の痛みによる平地歩行、階段昇降、立ち座り、立位の各動作の遂行困難度ならびに夜間痛の程度を問う 6 問、日常生活活動は階段昇降、立ち座り、ズボンならびに靴下の着脱の遂行困難度を問う 7 問、移動は歩行可能時間、歩行補助具の使用頻度、買い物・外出の頻度を問う 4 問、家事は家事と炊事の遂行困難度を問う 3 問、趣味・社会的活動は趣味的活動、地域行事、旅行の経験頻度を問う 3 問で構成されている。

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)：日本整形外科学会が作成した治療成績判定基準である。そのうち疼痛に関する歩行能力および階段昇降能力、膝関節可動域、10m 歩行速度について評価した。

大腿四頭筋筋力： $\mu$ tas (MT-1、アニマ社製) を使用し、膝関節 60° 屈曲位で等尺性筋力を左右 1 回ずつ測定した。

主観的な痛みの評価：膝の主観的な痛みの評価として visual analogue scale (VAS) を記録した。VAS は標準的な 100mm 幅のものをを用い、左端 (0mm) には「まったく痛みのない状態」、右端 (100mm) には「今まで経験した最大の痛み」として記載した。この評価のみ全ての外来時の治療前後で評価を行った。

本研究は森本貴之氏 (国家公務員共済組合連合会東海病院リハビリテーション科)

の協力を得て実施した。

### C-2. 結果

高齢者では、基礎疾患が少なく、インフォームドコンセントが得られる対象者が充分獲得できず、現在 2 名にとどまっている。昨年 10 月ごろから外来で変形性膝関節症の診断を受けた高齢者は約 30 名であり、そのうち膝部以外に強度の疼痛を訴える、アンケート記入作業不可能などの対象者を除外すると 1/3 程度となり、さらにインフォームドコンセント時に該当者が減少した。

以下 2 名の結果について報告する。

SF-36 や WOMAC においては質問項目相互関係に矛盾があり、はっきりしなかった。

JOA スコアでは「疼痛・歩行能」や膝関節可動域に各 1 人において改善がみられたが、10m 歩行時間は 2 人とも早くなった。

大腿四頭筋筋力は 2 人とも増加した。

VAS については 1 名は後半に悪化した。膝部よりは大腿部や下腿部に痛みが生じたことによるものであった。残りの 1 名は毎回の運動開始時に比べ運動後の VAS は改善し、2 週間経過時には初回評価時の VAS (約 50mm) に比べ 10mm 前後まで低下し、維持されていた。

### D-2. 考察

本邦では 65 歳以上の高齢者の内、20% 以上が膝の痛みを訴えており、女性では 50% を越え、しかも高齢になるほどその割合は増してくる。高齢者の膝痛は変形性関節症がほとんどで、立ったり、歩いたりすると痛いため、ADL に影響を及ぼし、動きが減ることにより体重が増える。また、痛みのために筋力は低下し、筋萎縮も進行し、少し動いただけでも疲れる。内側の軟骨の



変性が進むと本邦では多く見られる内反変形を呈し、立つと変性した内側に荷重がかかり、痛みとともに更に変性が進み、可動域も減少し、正座やしゃがみ込みは困難となり、屈曲拘縮が進む。これらは図5の様な悪循環となり、活動は制限され、心身機能も低下し意欲も失う。こうなると、動かないことによる心肺機能低下を来し、ついにはQOLも低下する。つまり、高齢者では最も避けなければならない廃用症候を招くので、最近では生活不活発病と呼ばれ、その予防が重要となっている。

高齢者の臨床治験では、インフォームドコンセントを得ることは極めて難しい。面倒なことは嫌がるし、決められた運動などを続けることは一層難しい。今回の実施においても、「毎日運動するのは勘弁してほしい」「湿布だけで」と断られる方もいた。逆に、運動に参加をした対象者は、一生懸命に運動をしており、運動の効果が出やすかったと思われる。

アンケートなどでは、目や耳の不自由さなどから記入は困難であり、通院も難しい。その上、合併症の無い高齢者は少ない。一般に、70歳以上になると、高血圧、糖尿病、心疾患などの内部障害や腰痛、膝痛も増え、目や耳の能力も低下する。これらの合併症の無い高齢者は14%前後と言われている。

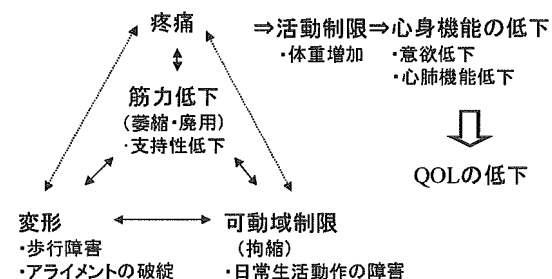


図5 変形性膝関節症進行の悪循環

これらの合併症は日によっても状況が異なり、全身状態や気分などにも反映され、痛みなどには多大な影響を及ぼす。このため、高齢者に関する調査は適応症例の収集に難渋し、評価も難しいこととなる。今回の研究でも、このことが障害となり、十分な結果が得られなかったが、高齢社会における生活不活発病の予防は重要であり、悪循環に陥る前の状態での筋力強化が必要であり、そのための集中リハビリテーションやパワーリハビリテーションの必要性が考えられるので、今後も時間をかけて研究を継続する予定である。

## E-2. まとめ

病院に通院する膝に痛みを有する高齢者に運動療法を行った。合併症の少ない対象者選択が難しく、まだ2例であるが運動後のVASには改善が見られた。今後さらに症例数を増やしたい。

## G. 研究発表

### 1. 著書

猪田邦雄：車椅子・歩行補助具，今日の整形外科治療指針第5版（二宮節夫 他編），医学書院，pp347-350，2004

### 2. 論文

鈴木重行、肥田朋子、他：スポーツ傷害に対する個別的筋伸張法. リウマチ科 32(1): 62-76, 2004

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

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

分担研究者 肥田朋子 名古屋大学医学部

研究要旨 昨年度は慢性痛のモデル動物の1つである慢性絞扼ラット(CCI)を用いて、表在性の痛覚過敏を確認し、筋の機能について調べたが、筋の疼痛変化に関して確認するまでには至らなかった。そこで今回は、腓腹筋の圧痛閾値の変化と、後根神経節(DRG)に存在する腓腹筋由来の神経細胞体を同定し、痛覚伝達物質(SP)の発現の程度を調べた。その結果、腓腹筋の圧痛閾値は低下した。また、DRGにおいて、CCIではコントロールよりも1個の細胞体におけるSP含有量が多く、腓腹筋からの入力を受ける細胞は他の部位からのそれよりも1個の細胞体におけるSP含有量が多かった。多くのSPが産生されている神経では、興奮の程度あるいはSP放出量が増加している可能性があり、より痛みが生じやすいと考えられ、これらの結果より、皮膚だけではなく筋にも疼痛が生じている可能性が確認された。

さらに昨年度CCI術6週後のラットでは速筋が遅筋化することが確認されたが、今年度はCCIラットに徒手的治疗法を施行し、筋線維タイプの変化に与える影響を調べた。その結果、CCIラットでは術2週後でも速筋の遅筋化が観察され、これは術直後から2週間徒手的治疗を施行したラットでは抑制された。このことから疼痛逃避による持続的な筋収縮筋を徒手的に伸長することは重要で、除痛への一助となる可能性が示された。

#### A. 研究目的

我々は筋骨格系の痛みに対する徒手的治疗法の効果を探る目的で、慢性痛モデル動物における筋機能について調べてきたが、筋における疼痛の発現状況については明らかにしていなかった。近年、圧痛閾値測定法の測定対象部を筋腹部にすることで、筋の痛み評価が可能であることが報告(Schafers M, et al., 2003)され、慢性疼痛モデル動物である慢性絞扼ラット(以下、CCIラット)においても筋痛が生じている

かどうか、腓腹筋部を加圧し疼痛閾値を測定した。

また、疼痛の程度を知る指標として、組織学的に痛覚神経の伝達物質の一つであるサブスタンスP(SP)の存在を調べた。先行研究ではCCIラットにおけるSPの発現密度は完全坐骨神経損傷ラットと比較し有意に高かったことが報告されている(Ma W and Ma B, 1998)。しかし、これは主に皮膚、あるいは感覚系全体を調べたものであり、筋について検討している報告はない。

そこで、今回は筋における疼痛変化を明らかにすることを目的とし、1、筋の圧痛閾値の変化と、2、DRG に存在する筋由来の神経細胞体において SP 発現密度を調べた。

さらに、昨年度の研究において、CCI ラットでは速筋が遅筋化し、筋小胞体への Ca<sup>2+</sup>取り込み速度が低下することを報告したが、これは持続的な疼痛逃避姿勢をとる結果であると考えられた。そこで一時的に筋長を伸張することで持続的な筋収縮から開放されればこれらの変化を抑制できると考え、下腿三頭筋に対して静的なストレッチングを施し、筋線維タイプ変化へ与える影響について調べた。

## B. 研究方法

### 1. 筋の圧痛閾値変化の測定

対象と方法：室温を 25 °C に維持し、固形飼料と水道水を自由摂取できる環境下で飼育した 20 匹の SD 系雄性ラット (CCI 処置時 7 週齢) を、ペントバルビタール麻酔下 (50 mg/kg、腹腔内投与) で坐骨神経を剖出した。このうち 13 匹には、坐骨神経に 4 本の腸糸を緩く縛り、CCI を作成した (CCI 群)。また、他の 7 匹は坐骨神経を剖出した後、坐骨神経を縛らずに縫合した (CON 群)。

疼痛評価：疼痛評価には Randall-Selitto 法を用いた。刺激装置は加圧式鎮痛効果測定装置 7200 (ANALGESY METER-7200、UGO BASILE 社製) を用いた。ラットを保定し、腓腹筋内側部に圧子を乗せた。圧子に反応していないことを確かめた後 16 g/sec で加圧し、逃避反応 (声を

出したり、足を動かしたりする) を示した時の値を記録した。刺激回数は 5 回とし、5 回中で値の近い 3 回の平均をその個体の圧痛閾値とした。評価期間は術前 6 日から術後 2 週間、評価は週に 3 回行なった。統計処理には、各群内の日数の比較は一元配置分散分析法を用い、post-hoc test として Bonferroni の多重比較を行い、各日における群間差は Mann-Whitney の U 検定を行った。本実験は、角田友歌氏 (名古屋大学医学部保健学科理学療法学専攻学生) の協力を得て実施した。

### 2. DRG における SP 発現の測定

1 と同一飼育条件、同一処置法にて CCI ラットと CON ラットを 1 匹ずつ作成した直後に、逆行性のトレーサーである 4% フロオロゴールド (FG) 40 µl を右腓腹筋に注入した。FG は、神経線維中を逆行性に輸送され、DRG に存在する神経細胞体に達する色素である。

腓腹筋の圧痛閾値低下が確認される術後 14 日にペントバルビタール深麻酔下にて、4% Zamboni 液で灌流固定した。脊髄に DRG をつけた状態で素早く取り出し、同固定液で 1 日間後固定した。その後 2 日間 30% Sucrose を含む緩衝液で処理し、第 5 腰髄 (L5) DRG を取り出し、OTC コンパウンド (Tissue Tek) に凍結包埋した。標本は、クリオスタットにて 10 µm 厚の切片を作成し、DRG において FG の色素を確認できた CON 8 枚、CCI 9 枚の切片に SP の抗体 (anti-rabbit, polyclonal antibody, Dia Sorin) に 4°C で 3 日間インキュベーションし、二次抗体 (anti-rabbit IgG antibody, Alexa fluor 568, Molecular Probes) を用い

て可視化した。

蛍光顕微鏡を用いて L5DRG を、UV 励起 (360~370nm) し、400 nm のロングパスフィルターを用いて、腓腹筋から神経細胞体に達した FG から腓腹筋からの入力を受ける細胞を同定した。その後、G 励起 (510~560 nm) し、590 nm のロングパスフィルターを用いて、SP を持つ神経細胞体を確認した。これらの画像を PC へ取り込み、二値化した。画像解析ソフト (Scion Image) にて蛍光強度を測定したが、FG の蛍光強度は強いほど色階調が低く表示されるため、細胞が確認できる階調基準として 160 以下を SP 陽性と定め、その平均蛍光強度 (160-蛍光強度) を計算した。統計処理には、Mann-Whitney の U 検定を行い、一元配置分散分析法を用い、post-hoc test として Bonferroni の多重比較を行った。本実験には、角田友歌氏 (名古屋大学医学部保健学科理学療法学専攻学生) の協力を得て実施した。

### 3. 徒手的治疗による筋線維タイプ変化

1 と同一飼育条件、同一処置法にて CCI ラット 7 匹を作成し、CCI ラット 3 匹には処置直後から毎日 30 分間、麻酔下で下腿三頭筋に静的ストレッチを行った (STR 群)。残りの 4 匹は CCI 処置後通常飼育した (CCI 側は CCI 群、反対側は CON 群)。伸長刺激は、麻酔下で股関節、膝関節 90 度屈曲位で足関節最大背屈位にし、非伸縮性のテープで保持した。2 週間後深麻酔下で腓腹筋浅層を摘出し、抽出液で破碎処理した後、電気泳動にてミオシン重鎖アイソフォームを分析し筋線維タイ

プ組成を調べた。

ミオシン重鎖アイソフォームの分離には、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis) を用いた。通電は、160V の定電圧で約 48 時間継続した。泳動槽の液温は 4°C に保った。泳動終了後、山田らの方法に従い銀染色を行った。染色されたバンドはスキャナーでコンピューターに取り込み、Scion image を用いてバンドの量比を算出した。本実験には、岩本泰子氏、長谷川多美子氏 (名古屋大学医学部保健学科理学療法学専攻学生) の協力を得て実施した。

(倫理面の配慮)

本実験は名古屋大学医学部保健学科動物実験委員会の承認を得て実施した。

### C. 研究結果

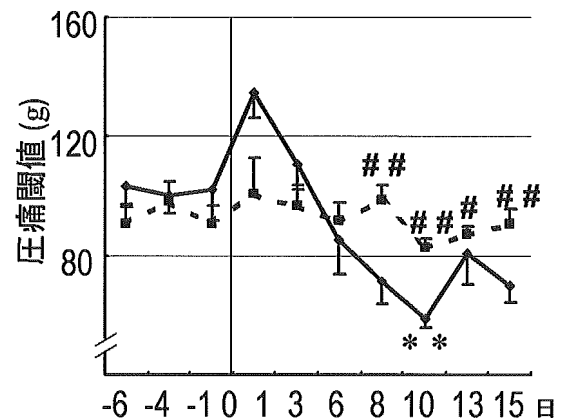


図 1 腓腹筋内側部に与えた圧刺激に対する逃避閾値の経時的变化

横軸は CCI 処置からの日数を、縦軸は圧痛閾値を表わす。CCI 群 (n=13) は実線、CON 群 (n=7) は点線。CCI 群内比較 (\*\*; p<0.01)、各日の群間比較 (#; p<0.05, ##; p<0.01)。圧刺激に対する逃避閾値は CCI 群では術 10 日後有意に低下し、8 日以後は CON 群と比して有意に低かった。

### 1. 筋の圧痛閾値変化 (図 1)

CCI 処置を施した右腓腹筋の圧痛閾値は、CON 群では、各日の比較において有意な変化はみられなかったが、CCI 群では、術前 6 日、4 日、1 日との比較において術後 10 日に有意な閾値の低下がみられた ( $p < 0.01$ )。また、各日の群間の比較では、術前は有意な差はみられなかったが、術後 1 日において、CCI 群は、CON 群に比べ、有意に閾値が高く ( $p < 0.05$ )、術後 8 日、10 日、13 日、15 日において、CON 群に比べ、CCI 群は有意に閾値が低下した (順に  $p < 0.01$ 、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ )。

### 2. DRG における SP 発現の測定

図 2 は DRG における腓腹筋からの入力を受けている神経細胞体と SP 免疫反応像の一例を示す。

DRG における腓腹筋からの入力を

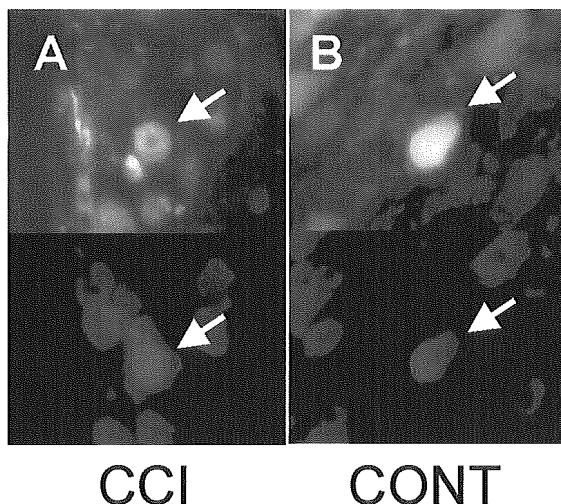


図 2 腓腹筋からの入力を受けている DRG 細胞と SP 陽性細胞

A は CCI、B は CONT の DRG。上段は UV 励起 (腓腹筋からの入力を受けている細胞) 像、下段は G 励起 (SP 含有細胞) 像。← の細胞は腓腹筋領域へ分布する SP 含有細胞を示す。

受けている神経細胞体で SP を含有している細胞の割合は、CON が 22.4% ( $n=81$ )、CCI が 5.7% ( $n=19$ )であり、CCI は CON よりも少なかった。

一方、細胞体に存在する SP の平均密度は、CCI は CON よりも有意に高かった (図 3、 $p < 0.01$ )。腓腹筋からの入力を受けている細胞体とそれ以外の細胞体で分けた場合の SP の平均密度は、いずれも CCI は CON よりも有意に高かった (図 4、それぞれ  $p < 0.01$ )。さらに、CON では、腓腹筋からの入力を受けている細胞体とそれ以外の細胞体における SP の平均密度に有意な差はなかったが、CCI では、腓腹筋からの入力を受けている細胞体は、それ以外の細胞体よりも SP の平均密度が有意に高かった (図 4、 $p < 0.01$ )。

### 3. 徒手的治疗による筋線維タイプ変化

今回の実験では対象数が少なく、統計処理は行わなかった。腓腹筋浅層では CON 群に比して CCI 群ではミオシ

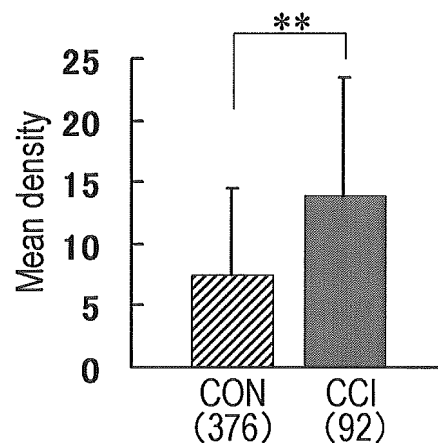


図 3 DRG における SP 平均密度

CCI の DRG における SP 平均含有密度は CON に比して有意に高かった ( $p < 0.01$ )。() 内は細胞数を示す。

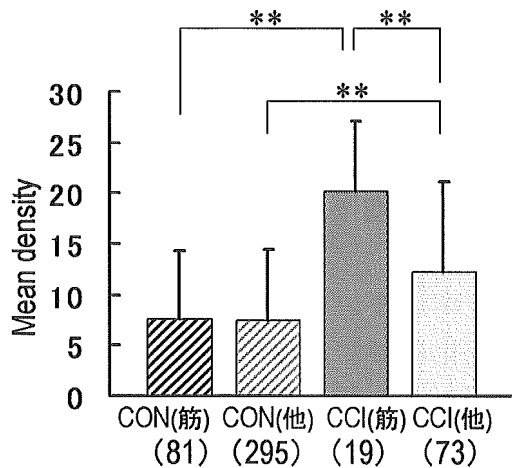


図4 筋からの入力を受けるDRGとその他のDRG別にみたSP含有細胞密度

腓腹筋からの入力を受けているDRGとその他のDRGを分類した時の、SP含有密度を示す。CCIの筋入力細胞でのSP密度は他の入力を受けている細胞のそれより有意に高く、またCONより有意に高かった(p<0.01)。( )内は細胞数を示す。

ン重鎖IIbの減少とミオシン重鎖II dおよびIの増加が見られた(図5)。また、CCI群ではミオシン重鎖II aが出現していた。

一方、CCI術直後から毎日伸長刺激を加えたSTR群ではミオシン重鎖II aの出現やIの増加が抑えられる傾向にあった。

#### D. 考察

CCIにおいて、CCI処置後1日に閾値の上昇がみられ、術後1週目で閾値の低下が目立つようになり、術後10日で最大となったが、これは、機械的疼痛刺激に対して術後1週目は痛覚鈍麻を示し、2週目で痛覚過敏が最大とするAttalらの報告とほぼ一致した。しかし、Attalらは足部での測定であり、皮膚の可能性が高いが、本研究では腓

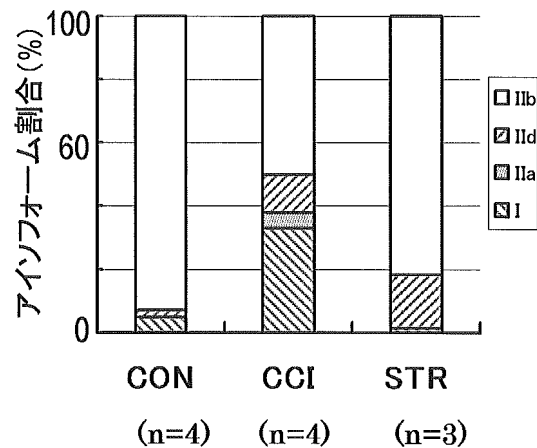


図5 腓腹筋浅層部のミオシン重鎖アイソフォーム割合の変化

CON群、CCI群、STR群における腓腹筋浅層部のミオシン重鎖アイソフォーム割合を示す。CCI群ではCON群に比べミオシン重鎖IIbは減少し、ミオシン重鎖II dとIが増加した。伸長刺激によりIIb減少とII d増加が抑えられる傾向だった。

腹筋部での確認であった。皮膚痛覚過敏の影響はぬぐえないものの、圧刺激の開始時には触刺激による反応がないことを確認した。これらのことから今回の結果は、筋にも痛覚過敏が存在している可能性を行動学的に示したものと考える。

DRGにおける組織学的研究の結果より、腓腹筋からの入力を受ける神経細胞体でSPの含有割合は、CCIではCONよりも少なかった。このことからSPを含有する主に細径神経が損傷の影響を強く受けていることが示された。

一方、神経細胞体に存在するSPの平均蛍光強度は、CCIはCONと比較して有意に高かった。また、腓腹筋からの入力を受けている神経細胞体においても、さらには腓腹筋以外の神経細胞体においても、CCIはCONよりも有意にSPの平均蛍光強度が高かった。各1匹のラットの結果であるため断定

はできないが、これらのことより、CCI は CON よりも、1 個の細胞体における SP 含有量が多い可能性が示された。以上の結果から、腓腹筋の圧痛閾値低下と DRG における腓腹筋からの入力を受ける細胞での SP 含有量の多い状況は、CCI ラットの疼痛発生源は皮膚だけではなく、むしろ腓腹筋を含む筋である可能性が示された。

CCI ラットで速筋が遅筋化したことは、疼痛逃避による筋の持続的な収縮が影響していると考えられ、今回その収縮を抑制させる目的で、下腿三頭筋へ伸長刺激を加えた。その結果、遅筋化が抑えられ、徒手的治疗の効果が示された。持続的な筋収縮は発痛原因の一つであることから、筋収縮抑制は除痛にも効果があるものと推察され、今後は対象数を増やし、行動評価も含めてさらに検討していきたいと考えている。

#### E. まとめ

坐骨神経絞扼ラット(CCI ラット)を作成し、腓腹筋内側部の圧痛閾値を調べたところ、CCI ラットでは低下していた。

DRG における SP の平均密度を腓腹筋からの入力を受ける細胞とその他の細胞に分けて調べた。CCI では CON より SP の平均密度が有意に高値を示した。また筋からの入力細胞で SP 密度は有意に高値を示した。

CCI で生じた速筋の遅筋化は、徒手的治疗法の一つである静的ストレッチングによって抑制された。CCI ラットにおける筋線維タイプ組成の変化は痛みによる逃避行動の影響を受けていた。

#### F. 結論

慢性疼痛モデル動物では表在性のアロディニアや痛覚過敏に加え、筋においても疼痛閾値が低下していた。それには SP が関与している可能性が示された。

慢性疼痛モデル動物の筋線維タイプ組成変化に対する徒手的治疗法の効果を調べたところ、速筋の遅筋化が抑えられた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文

鈴木重行、肥田朋子、他：スポーツ傷害に対する個別的筋伸張法. リウマチ科 32(1): 62-76, 2004

##### 2. 学会発表

Tomoko KOEDA, et al.: Effects of vibration on the delayed onset muscle soreness in young subjects. JJP 54 (Suppl): S171, 2004

厚生労働科学研究費補助金(長寿科学研究事業)  
分担研究報告書

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

分担研究者 川喜田健司 明治鍼灸大学 教授

研究要旨

ラットの大腿動・静脈を結紮し阻血下で伸張性運動負荷を行なったところ、痛覚閾値の低下期間が延長した。また、阻血+運動負荷 2 日目の筋へ電気刺激で与え誘発される屈曲反射筋電図活動を記録したところ、wind-up 様の現象が非処置側ともに両側で見られた。この wind-up 様筋電図活動は、運動負荷のみや阻血のみの筋への電気刺激では誘発されず、MK-801 の静脈内投与によって抑制された。これらの結果より、運動負荷に虚血が加わることによって NMDA 受容体を介して侵害性入力が増大による反応の亢進が起こっていることが明らかとなった。また、老化ラット(121-122 週齢)における麻酔下で筋の痛みを評価する指標として、腓腹筋電気刺激による屈曲反射の誘発閾値と潜時について検討した。老化ラットの屈曲反射の潜時は約148msであり若年群163ms と比べやや短くなるものの、反射の伝導路に対する加齢の影響はほとんど見られなかった。一方、誘発閾値は老化ラットで約4.4mA、若年群では3.1mA と若年群に比べ高くなり有意な差が認められた。また、骨格系の痛みを調べる目的でラットを用いた骨折モデルを作成し、老化ラット(111-112週齢)での骨折の特徴についても検討したところ、圧モニターによるインパクト時の波形の比較から同等の条件で圧を加えた際に老化ラットの方が破断しやすいことが示唆された。

A. 研究目的

高齢者の筋・骨格系の痛みは退行性変性を基盤としたものが多く、様々な要素が複雑に重なることによって慢性化しやすいと一般的に考えられている。これら高齢者特有の疾患条件を理解するためには、それぞれの要因を明らかにするための有用な実験モデルが必要不可欠である。我々はこれまで、ヒトと動物を用い伸張性収縮運動の繰り返し負荷による遅発性筋痛を作成し、実験的筋痛モデルとしての有用性について検討してきた。

これまで当研究助成で実施してきた実験から、ウサギやラットでもヒトの場合と極めて類似した特徴を持つトリガーポイント様の部位が出現すること、痛覚閾値の低下は筋膜の深さで生じていること、血管の結紮実験によって低下部位の出現が延長すること、またその閾値低下部位が筋膜に限局

せず、空間的に広がる傾向があることを明らかにしてきた。これらの特徴は、高齢者の慢性筋痛患者においてびまん的に深部の痛覚閾値低下部位が広がっている事実と即応するものであり、その機序の解明は高齢者に特有な筋痛の特徴を知る上でも有用なモデルである。その他ラットにおいて、カラゲニン筋注により脊髄後角ニューロンの受容野が拡大するものがあり、これらのニューロンは受容野に変化を示さなかったニューロンに比べ刺激に対する反応性が低く、関連痛様現象を起こすニューロンの特徴のひとつを明らかにすることができた。

また昨年度は、動物モデルにおける筋痛の測定方法についても検討した。行動学的によく用いられている von-Frey Hair test と Randall-Selitto test を比較したところ、これまで報告されてきたカラゲニンや酢酸



溶液の注入による慢性筋痛モデルは、von-Frey Hairを用いた皮膚の痛覚を反映したものであり、筋の痛みを反映すると考えられる圧刺激による Randall-Selitto testではほとんど変化しなかった。一方、我々がこれまで用いてきた伸張性運動負荷モデルでは、皮膚の痛覚閾値には変化を与えずに筋のみの痛覚閾値を低下させることが明らかとなった。また、伸張性運動負荷に阻血が加わることにより、同側筋の痛覚閾値低下期間の延長だけでなく、対側の筋の痛覚閾値も低下することが明らかとなり、中枢性の感作が生じている可能性を示唆した。

高齢者の筋骨格系の痛みとしては、関節や骨由来の痛みの問題も重要である。これまで骨折に関してはその固定、整復方法の研究に重点が置かれており、実際の患者にとっての苦痛である骨・骨膜由来の痛みの研究についてはまだ不十分なのが実情である。

高齢者の骨折は、その治療過程での固定によるその後の筋萎縮などによって患者のADLが大きく阻害されることが知られていることから、今回新たな試みとして、実験的に再現性の高い骨折モデルを作成することを試みた。

今年度は阻血＋運動負荷による中枢での可塑的变化の機序を調べる目的で、麻酔下動物の屈曲反射を指標に運動負荷と阻血の相乗効果について検討を行った(実験 I)。また老化動物の筋の痛覚閾値の変化(実験 II)や、骨からの痛み調べるための骨折モデル作成条件(実験 III)について検討を行い若年群と比較した。また骨折の際の疼痛閾値の変化について予備的な検討もあわせて行った。

## 実験 I. ラット慢性筋痛モデルとその筋電図学的解析

### B-1. 方法

本研究には12匹のSD系ラット(雄、320-380g)を用い、①運動負荷群(n=6)と②阻血＋運動負荷群(n=6)の2群に群分けし、運動負荷2日後に筋電図学的な検討を行った。なお、本研究は明治鍼灸大学倫理

委員会の承認を得て行った。

### 1. 条件刺激

#### (1) 運動負荷群

ペントバルビタール麻酔下(50mg/kg, i.p.)で自家製台に側臥位で固定し、絶縁針電極を経皮的に坐骨神経に刺入し、電気刺激によって腓腹筋を強縮させた。腓腹筋が強縮すると足関節が底屈するため、その底屈した足関節を他動的に元の位置まで10秒間かけて背屈させることで腓腹筋を引き延ばし、伸張性収縮運動を行った。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) 阻血運動負荷群

運動負荷1週間前にペントバルビタール麻酔下(50mg/kg, i.p.)でラットの右大腿内側を切開し、縫合糸にて大腿動脈・静脈を完全結紮したのち、丁寧に縫合した。その後約1週間歩行など行動学的に異常がないことを確認した後、実験に用いた。その後の運動負荷方法は、運動負荷群に準じた。

### 2. 腓腹筋の電気刺激による誘発筋電図の記録方法

運動負荷2日後に、腓腹筋を絶縁針電極で局所的に電気刺激し、大腿二頭筋から記録される屈曲反射を記録した。測定はペントバルビタール麻酔(50mg/kg, i.p.)で導入麻酔を行ってから1時間経過した後、自家製台に側臥位で固定し下腿に不自然な力が入らないように脚を伸展位にセットした。測定は腓腹筋の筋腹に5-6mm程度絶縁鍼を刺入して、様々な頻度で電気刺激(1.0-3.2mA, 1ms, 0.1-1.0 Hz)した時に、大腿二頭筋から誘発される筋電図を評価した。なお、刺激電流量は、0.33Hzで電気刺激した時に、潜時100-550msの範囲に筋電図が出現し、尚かつ10回の刺激中8

回以上筋電図が記録できる電流量とした。筋電図は表面電極を用いて導出し、入力箱(日本光電, JB-101J)を介してオシロスコープ(日本光電, VC-11)で観察した後、ペンレコーダー(日本光電, RTA-1200M)とデータレコーダー(TEAC, RD-1235T)に記録した。また、記録中はインフュージョンポンプにてペントバルビタールを腹腔内持続麻酔し(20mg/kg/h, i.p.)、麻酔深度が一定になるようにした。

阻血+運動負荷群では、1Hzの刺激頻度で屈曲反射のwind-up様の現象が認められるのを確認したのち、MK-801(0.1 mg/kg)を静脈内投与し、投与後120分まで30分おきに誘発筋電図記録を行った。実験終了後、記録した筋電図波形の潜時100-600msの部分で積分処理し、それぞれ一回目の積分波形で得られた面積を基準に10回までの試行ごとの面積を算出し比較した。

本研究は、明治鍼灸大学の伊藤和憲、西村展幸、森定真、岡田薫諸氏の協力のもと行なわれた。

### C-1. 結果

運動負荷のみの群では、腓腹筋への電気刺激により、大腿二頭筋から潜時

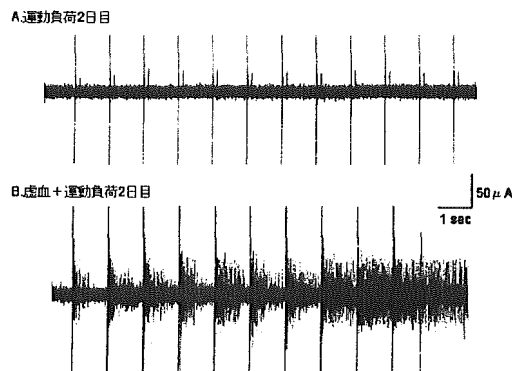


図1 運動負荷後2日目の腓腹筋を1Hzで電気刺激した時に得られた筋電図活動  
A:運動負荷のみを行なった腓腹筋に1Hzで電気刺激した時に大腿二頭筋から得られた筋電図活動の原波形。B:阻血+運動負荷を行なった腓腹筋を1Hzで電気刺激した時に大腿二頭筋から得られた筋電図活動の原波形。

100-250ms(平均168ms)の範囲にNMU様の筋電図活動が記録された(閾値2.5-3.3mA(平均2.85mA))。この誘発された筋電図活動は、1Hzの繰り返し刺激頻度でも波形や潜時、振幅に影響はなかった(図1A)。

一方、阻血+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であり、閾値は1.3-3mA(平均2.47mA)で運動負荷群と比べやや低かった。また、1Hzで繰り返し電気刺激を与えると筋電図の出現が増加しwind-up様の現象がみられた(図1B)。この筋電図波形を積分処理し、試行ごとに面積で比較したところ、1Hzの刺激頻度では、3回目の試行で1回目の筋電図に比べ約2.5倍もの筋電図が導出されており、その後若干減るものの10回目の試行でも約2倍近くの筋電図が誘発された(図2)。この傾向は0.5Hzでも若干見られたが0.33Hz以下の刺激頻度ではこのような現象はほとんど観察されなかった。また、このwind-up様の筋電図波形は、何も処置を行なっていない対側の肢(非阻血、非運動負荷)からも同様に記録することができた。

そこで、このwind-up様の筋電図活動が

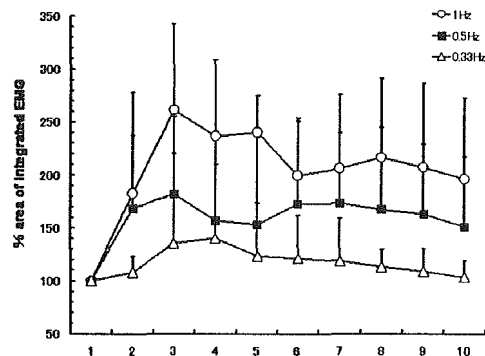


図2 阻血+運動負荷を行なった腓腹筋を電気刺激した際に得られた筋電図に対する刺激頻度の影響

1回目の試行で得られた筋電図活動の積分波形を基準に、試行ごとに面積を算出した。○:1Hzで刺激した際に誘発された各試行での筋電図活動。■:0.5Hz、△:0.33Hz。

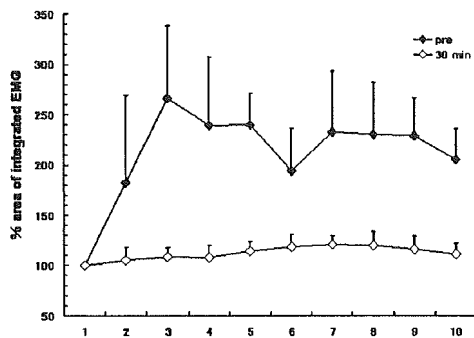


図3 Wind-up 様筋電図活動に対する MK-801 の効果  
投与前と投与後 30 分後の各試行における筋電図積分波形の面積比。◆:投与前、○投与 30 分後。

誘発されたことを確認したのち、MK-801 を静脈内投与し影響を調べたところ、投与後 30 分でほぼ完全に wind-up 様に増加していく筋電図活動は抑制された(図3)。

#### D-1. 考察

今回の結果から運動負荷のみでは、繰り返し電気刺激で誘発される筋電図は一定の潜時に限局しているものだけであった。この一定潜時の反射電位は、運動負荷を行っていない場合でも誘発されることをこれまでも報告しており、運動負荷による遅発性筋痛を直接的に反映したものではないと考えられる。しかしながら、阻血条件を加えることにより、繰り返し刺激(1Hz)によってその誘発筋電図の発火頻度が増加する wind-up 様の現象が見られた。ネコの下腿筋を強縮させたときに反応する無髄求心性線維は、阻血下ではその反応が顕著に増強することから<sup>1)</sup>、今回の wind-up 様の現象は阻血による求心性入力増大によるものである可能性があった。そこで、阻血のみの群で誘発電位を記録してみたがこのような現象は認められなかった(昨年度報告)。また、阻血+運動負荷群では何も処置を加えていない反対側の刺激によっても同様の wind-up 様の誘発筋電図活動が観察されたことから、中枢性の感作であると考えられる。これらの現象は、

NMDA 受容体拮抗薬である MK-801 の全身投与により消失したことから、単純な伸張性収縮の繰り返し負荷では、脊髄のニューロン回路において可塑的な変化を生じることはないが、そこに阻血条件が加わることによって運動負荷による組織損傷が増悪し、侵害性入力の増大が起こり NMDA 受容体が関与した中枢性の感作が生じたものと考えられた。

#### 実験 II. 屈曲反射の誘発閾値および潜時に対する加齢による影響

##### B-2. 方法

実験には adult 群として SD 系雄性ラット(6 匹、320-380g、9-11 週齢)、aged 群として Wistar 系雄性ラット(3 匹、320-525g、121-122 週齢)を用いた。腓腹筋電気刺激による屈曲反射の記録は、実験 I と同じ方法を用いた。aged 群では、同一個体で日を変えて再現性を確認するため、ネブプター麻酔の代わりにハロセン麻酔(1-1.5%)を用い実験を行なった。また老化ラット 1 例で伸張性収縮運動負荷を行い、運動負荷 2 日後の屈曲反射についても記録した。

本実験は、明治鍼灸大学の岡田薫、伊藤和憲諸氏の協力のもと行なわれた。

##### C-2. 結果

昨年報告した若年ラットと同様に、老化ラットでも腓腹筋電気刺激により NMU 様の反射電位を記録することができた。特に 1 例のラットでは両側の肢で比較的再現性良く屈曲反射が記録でき、若年ラット同様に運動負荷による影響は見られなかった。1 例は 3 日間の試行のうち初日の片脚のみで屈曲反射を記録することができたが、同じ条件にもかかわらず他の 2 日間では屈曲反射を誘発することができなかった。残りの 1 例は実験中にチアノーゼを起こしたため、途中で実験を中止した。

屈曲反射の誘発閾値および潜時を、adult 群と aged 群とで比較したものが図4である。誘発閾値は、adult 群ではほぼ 2.5-3.5mA でまとまっているのに対して、

aged 群では 3-6.6mA とバラツキが大きくまた全体的にやや高い傾向があった。統計学的には有意な差が認められた ( $p < 0.05$ , student's t-test)。潜時については、adult 群に対して aged 群でのやや短くなるものの、有意差は認められなかった。

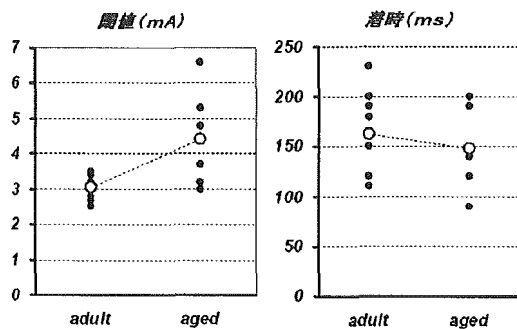


図4 老化ラットと若年ラットにおける屈曲反射の誘発閾値(左)と潜時(右)の比較。  
○:それぞれの平均値

#### D-2. 考察

今回の結果から、老化ラットでは痛覚閾値が高くなっている可能性が示された。これは、昨年度の水村らのグループによる加齢ラット(81 週齢)の Randall-Selitto 法による運動負荷前の筋圧痛閾値の結果と一致する。我々も予備的な実験で、今回屈曲反射を記録したラットで Randall-Selitto 法による腓腹筋の圧痛閾値を測定したところ、やや高めめの圧痛閾値を示した。しかし、同一個体でも測定値のバラツキが大きく、また肢を引っ込める動作が緩慢なため閾値が高めに検出される可能性も考えられたことから、麻酔下での腓腹筋電気刺激による屈曲反射の記録を行なった。結果として潜時はやや短くなるものの、若年群とほぼ同じであったことから、シナプス遅延を含め反射の伝導路自体には老化の影響は少ないと考えられる。末梢神経の伝導速度に対する加齢の影響を調べた報告では、100-129 週齢にかけて有髄線維の伝導速度は 10-15%ほど遅くなるが、無髄神経はほとんど変化しないとされており<sup>2)</sup>、今回の結果はこれを支持するものと考えられる。

これまで他の研究から、末梢での痛覚受容に關与する神経線維の数や脊髄後根の

ニューロペプチドは、加齢の影響を受けにくいとされている<sup>3-5)</sup>。しかし今回の我々の予備実験も含め、侵害性反射である屈曲反射の誘発閾値は老化ラットではやや高くなっている可能性を示した。また、若年ラットでは全例で屈曲反射を記録できたにも関わらず、老化ラットでは約半数の試行で屈曲反射が誘発されないなど、明らかな違いも認められた。これらについては、さらに例数を増やし詳細な検討を加える必要がある。

#### 実験 III. 骨折モデルの作成条件についての検討

##### B-3. 方法

実験には Wistar 系 ( $n=12$ , 250 $\pm$ 15、9 週齢) および SD 系ラット ( $n=3$ , 320-424g、110-112 週齢) を用いた。骨折の作成には、図5に示すようなエアコンプレッサーと圧モニターを用いた骨折作成装置を用いた。その原理は、2点で支持したラット下肢のほぼ中央に対してギロチンタイプの金属性破断ブレードを介して瞬間的に一定の圧力を加え、その際の圧力の変化を 1ms のサンプリングレートで記録するものである。実際にはネブタール麻酔化で除毛した下肢を 17-18mm 間隔にセットした支持台に乗せ、0.6MPa の圧力を加えた。その際の破断ブレードの変位量は 2.7-3.0mm とした。

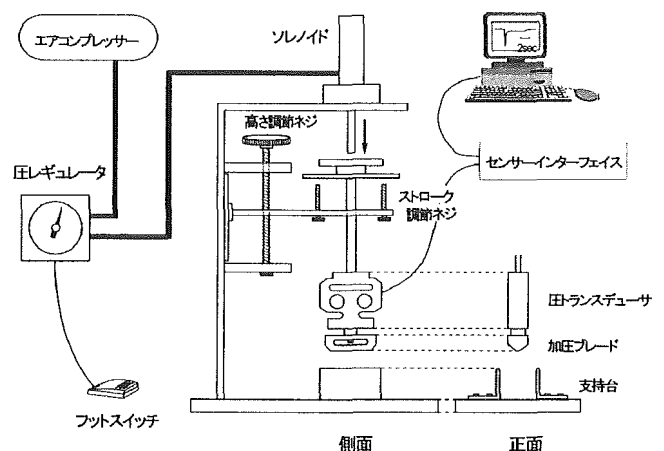


図5. 骨折作成装置の概略図