

週齢のことなるラット（7、80、130 週齢）において、筋圧痛閾値の低下（筋痛覚過敏）の時間経過の違いを調べ、加齢の影響を明らかにする。また、2）このモデルにおける筋痛覚過敏の存在を、脊髄 c-Fos 発現[1]を指標として確認する。さらにこの痛覚過敏の神経機構を明らかにする1段階として、3）伸張性収縮負荷により痛覚過敏になった筋の細径線維受容器活動の変化を単一神経活動記録により明らかにする。また、慢性筋痛のモデルを作るため、4）繰り返し寒冷ストレス(SART)負荷により伸張性収縮による筋痛覚過敏が延長するかどうか、ストレス負荷日数を変えて調べる。

筋の有痛部にはしばしば硬結が存在する。筋硬結部にはしばしば contraction knot (disc) が観察され、これが筋痛に関連しているという Simons や Mense の仮説[2]を検証するため、5） contraction knot を生じる抗コリンエステラーゼの diisopropylfluorophosphate (DFP) を筋肉内に投与し、痛覚過敏を生じるかどうか検討する。ヒトを使った実験（実験 II）では、1）刺激プローブの形状と筋刺激の有効性との関係を、皮膚表面麻酔を用いて調べる。また、2）その結果の妥当性を、3次元有限要素法を用いたコンピューターシミュレーションを用いて検討する。さらに、3）筋痛覚の脳内投射を functional MRI を用いて解析する。

## 実験 I. 動物実験

### B. 方法

### 1. 実験動物

Sprague-Dawley ラット（オス）を用いた。若年群は7週齢で、実験開始時の体重は約 200g であった。80 週齢（81-84 週齢、n=12）、130 週齢（130-132 週齢、n=6）のラットは8週齢より制限給餌のもとで飼育し、実験時の体重は約 390 g であった。

7週齢と80週齢のラットの場合には、筋収縮をさせず伸張のみ行ったコントロール群 (SHAM 群)と筋に伸張性収縮を負荷した伸張性収縮群 (ECC 群)の2群に分けた。130週齢のラットの場合には、使用できるラットの数が限られていたため、右足に伸張性収縮を負荷し、対側を収縮負荷しない対照として用いた。

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。

### 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。130 週齢ラットの場合にはハロセンの吸入麻酔を用いた。2本の絶縁鉸電極 (2×48mm、株式会社松葉) を長指伸筋 (EDL、右) の支配神経である総腓骨神経とその元の坐骨神経の近傍にそれぞれマイナス極とプラス極と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  $\mu$ 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(CPL28T08B06C2T, Oriental Motor, Japan)を用い、ラットの足関節を1秒間かけて底屈約45°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(または対側肢)は伸張のみ負荷(SHAM群と表示)または無処置とした。

### 3. 圧痛閾値の測定: Randall-Selitto テストと von Frey Hair テスト

Randall-Selitto テストには Randall-Selitto 式鎮痛効果測定装置(Ugo Basile, Italy)を用いた。円錐形で先端が球状の圧迫子を毛剃りした皮膚の上からEDLに置き、16 g/secのスピードで加圧し、ラットが後肢を引込めたときの加重を記録した。1個体につき1日あたり10回測定し、後半5回の測定値の平均を圧痛閾値とした。

von Frey hair(VFH)テストでは11種類のフィラメント(19.5-813.9 g/mm<sup>2</sup>、直径:0.5 mm)を用いた。各フィラメントをEDL上の皮膚に当て、後肢を引込める反応を観察した。閾値は極限法により決定した。

いずれのテストも測定は1日のうちの同時間帯に行い、4日間の訓練期間を経た後、運動負荷1、2、3、7日後に行った。また、測定を行う験者にはラットがSHAM群かECC群のどちらに属するかがわからないようにブラインドをかけた。

### 4. 脊髄における c-Fos 発現の免疫組織化学

SHAM、およびECC群のラットはSHAMまたはECC運動負荷後2日目に、EDLに圧迫刺激を加えず、灌流固定した。SHAM+Comp.、およびECC+Comp.群のラットはSHAMまたはECC運動負荷後2日目にEDLに圧迫刺激を加え、その2時間後に灌流固定した。運動負荷2日目におけるEDLの圧迫刺激にはRandall-Selitto鎮痛効果測定装置の圧迫子を用い、剃毛した皮膚の上から行った。圧迫力は160 gとし、10秒圧迫、20秒休止のサイクルを30分間行った。圧迫刺激終了から2時間後、灌流固定した。

c-Fos発現が疼痛によるものであることを確認するため、モルヒネの投与を行った。ECC2日後に、モルヒネ10 mg/kg (n=5)を腹腔内投与し、その20分後にEDLに圧迫刺激(160 g-10秒間を20秒の休止期をおいて60回)を加えた。対照群にはモルヒネの代わりに生理食塩水1ml/kg (n=6)を投与した。それぞれ2時間後に灌流固定し、c-Fosの免疫組織化学を行い、陽性細胞数を数えた。

灌流固定は、ラットを深麻酔(50 mg/kg、腹腔内投与)し、0.1 Mリン酸緩衝液と同緩衝液に溶かした4%パラホルムアルデヒドを用いて行った。脊髄を後固定した後、凍結標本をクリオスタットにて40μm厚に切り、遊離法にて処理した。5000倍に希釈した一次抗体(polyclonal rabbit anti c-Fos antibody, sc-52, Santa Cruz Biotechnology, Inc.)に3日間、500倍に希釈した2次抗体(Biotinylated goat anti-rabbit IgG, BA-1000, Vector Laboratories, Inc.)に90分間、アビ

ジン・ビオチン複合体 (Vectastain Elite ABC kit, pK-6100, Vector Laboratories, Inc.) に 90 分間、と順次反応させ、最後に DAB 反応により c-Fos 陽性細胞を可視化した。

脊髄灰白質を後角表層 (SDH、I-II 層)、固有核 (PN、III-IV 層)、灰白質頸部 (NDH、V-VI 層)、前角 (VH、VII-X 層) に分け[3]、L4 における c-Fos 陽性細胞数をカウントした。カウントする際、切片がどの実験群に属しているかがわからないようにブラインドをかけた。

## 5. 単一神経記録

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、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、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。パラフィン油槽中において総腓骨神経の神経束を細く裂き分け、単一神経活動を導出した。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 mm<sup>2</sup>) 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または Krebs 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。

## 6. 抗コリンエステラーゼ筋肉内投与

SD ラット (9 週齢~12 週齢の雄) を 6 匹用いた。ハロセン麻酔下において、経皮的に 27G 針を前脛骨筋にむけて 3~4 mm 刺入し、diisopropylfluorophosphate (DFP, 10 mM) 10 μl を、前脛骨筋に 10 秒以上かけて注入した。

## 7. 繰り返し寒冷ストレス(SART)負荷

実験動物には SD ラット (7 週齢) の雄を 18 匹用いた。1 群(n=9)の SD ラットの右足の長指伸筋に伸張性収縮を 500 回負荷し、その後 SART を負荷した (SART+ECC 群(n=9))。もう 1 群のラットは麻酔を負荷したのみで麻酔から回復後 SART を負荷した (SART 群)。SART は以下のようなプロトコルで実施した[4]。運動 (または麻酔のみ) 負荷日を day 0 とし、day 0 の 19 時から day 1 の 10 時までラットを 4°C に保った冷蔵ショーケース内においた。そして翌朝(day 1)の午前 10 時から 17 時 30 分まで 22°C と 4°C を 30 分おきに交互に負荷した。夜間は再び 4°C に保った。このプロトコルを 2 日間 (各群 6 匹) または 5 日間 (各群 3 匹) 繰り返した。

以上の研究は、那須輝頭、田口徹、松田輝 (名古屋大学大学院医学研究科) 氏の協力の下に行われた。

## C. 結果

### I-1. 週齢の異なるラットにおける遅発性筋痛

7 週齢のラットでは、SHAM 群の圧痛閾値は SHAM 運動負荷後、変化せずに一定であった。これに対し、ECC 群の圧痛閾値は運動負荷直前日に比べ、運動負荷後 1 日目から有意な低下 ( $P<0.001$ ) を示し、2 日目に最低値 ( $72.9 \pm 5.8$  g,  $P<0.001$ ) となった。約 24g の低下であった。有意な低下は 3 日目まで続いていたが、7 日目には運動負荷前のレベルに戻っていた (図 1)。また、SHAM 群と ECC 群の群間差は運動負荷後 1 日目 ( $P<0.01$ )、2 日目 ( $P<0.001$ )、

3日目 (P<0.01) において有意であった(本結果はG-1論文発表の1)に発表した)。

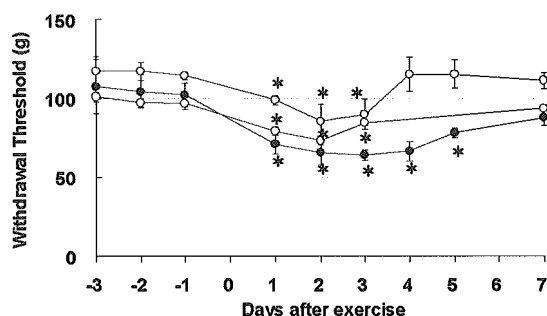


図 1. 異なる週齢のラットにおける伸張性収縮負荷後の EDL 部の圧痛覚閾値 (Randall-Selitto 法) の変化  
○ : 7 週齢ラット、○● : 80 週齢、● : 130 週齢ラット。7, 80 週齢の SHAM 群と 130 週齢の対側肢のデータは省略。80 週齢の day 4 は n=3。\* : SHAM 群 (7 または 80 週齢) または対側肢 (130 週齢) の同日の値と比べて p<0.05。

80 週齢のラットでは、運動負荷(または伸張負荷)前の圧痛閾値は ECC 群で  $114.3 \text{ g} \pm 2.5 \text{ g}$  (MEAN  $\pm$  SE)、SHAM 群で  $119.1 \text{ g} \pm 8.1 \text{ g}$  と、1 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有意な低下は、SHAM 群との比較では 1 日目から見られたが (図 1)、ECC 前値と比べた場合には ECC 負荷後 1 日目には見られず、2 日目に見られた。つまり若年群と比べ遅い傾向があった。

130 週齢群のラットでは、ECC 負荷前日の圧痛閾値は  $102.1 \text{ g} \pm 7.6 \text{ g}$  (ECC 負荷側) と  $107.3 \text{ g} \pm 7.7 \text{ g}$  (対側肢) であり、若年群と比べ多少高い傾向はあったが、80 週齢群に比べて軽度であった。加齢とともに遅発性筋痛は発現が遅れるという予想に反し、圧痛閾値は ECC 負荷後 1 日目から有意に低下し (図 1)、低下の程度は大きい傾向があった (ECC 前日に比

べ、約 38 g の低下)。ほぼ同じ低下レベルを ECC 後 4 日目まで保ち、多少回復する傾向をみせるものの 5 日目にもまだ有意に低下していた。7 日目には ECC 負荷前の値まで回復した。7 と 130 週齢のラットにおいて VFH 法で測定した皮膚機械痛覚閾値には変化はなく、ECC によって生じる痛覚過敏は筋に限られていることがわかった。

### 実験 I-2. c-Fos 発現を指標にした筋痛覚過敏存在の確認

伸張性収縮後に筋痛覚過敏が存在することを更に確認するため、神経活動の指標として使われる c-Fos の脊髄における発現を調べた。無処置の SHAM 群では c-Fos 陽性細胞は痛みの入力に関係した領域 (後角表層部 SDH、後角灰白質頸部 NDH) にほとんどみられなかった。

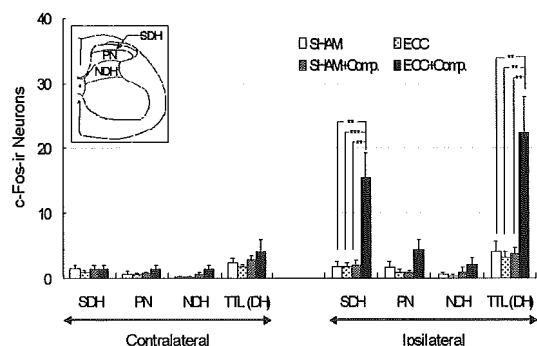


図 2. L4 における c-Fos 陽性細胞数  
横軸の左半分は運動負荷または/および圧迫刺激を与えた側の反対側のデータを、右半分は同側のデータを示す。SDH: 表層、PN: 固有核、NDH: 灰白質頸部、Total: SDH+PN+NDH。ECC+Comp. 群の同側の SDH では、他の 3 群に比べて c-Fos 陽性細胞数の有意な増加がみられる。\*P<0.05、\*\*P<0.01、\*\*\*P<0.001 は各脊髄部位の SHAM 群を基準とした比較による。

同様に、伸張性収縮を負荷して 2 日目に灌流固定した ECC 群や、反復伸張刺激

を行って2日目に筋に圧迫刺激を加えた SHAM+Comp.群においても後角に c-Fos 陽性細胞はほとんどみられなかった。これに対し、ECC+Comp.群における伸張性運動負荷側の SDH ( $P<0.001$ ) において c-Fos 陽性細胞数の有意な増加がみられた (図 2)。後角固有核 (NDH) にも c-Fos 陽性細胞が多い傾向が見られたが、有意な変化ではなかった。伸張性運動負荷側の後角全体 (SDH+PN+NDH) でも、ECC+Comp.群において c-Fos 陽性細胞数の有意な増加がみられた ( $P<0.01$ )。この後角 c-Fos 陽性細胞の増大はモルヒネ投与によりほぼ完全に抑制された。この結果は G-1 論文発表の 1) に発表した。

### 実験 I-3. 単一神経記録

実験は図 3 のようなセットアップを用いて行った。

#### 1. 伝導速度

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

#### 2. 受容野 (図 4)

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。

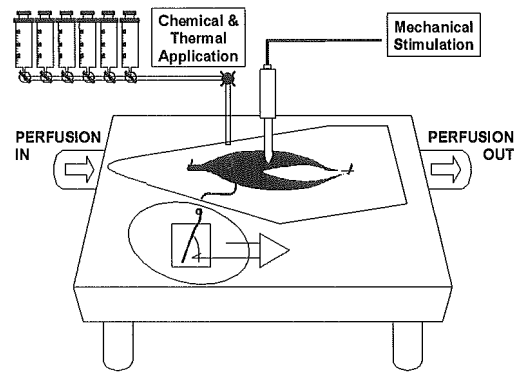


図 3 : 筋 C 線維受容器活動の記録

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。

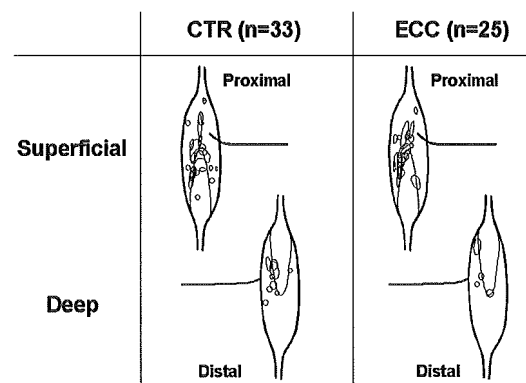


図 4 : 筋細径線維受容器の受容野の大きさと分布

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

筋細径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  $0.09 \pm 0.03$  Hz で CTR 群の  $0.13 \pm 0.02$

Hz との間に有意差はなかった。

#### 4. 機械反応

##### 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。CTR 群の機械反応閾値は 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 本は比較的機械反応閾値が高かったが、他の 20 本の閾値は低く、60 mN 未満に集中して分布した (図 5A)。また、ECC 群 (48.2±5.8 mN) の機械閾値は CTR 群 (85.2±8.2 mN) に比べ、有意に低かった (p=0.001、図 5A)。

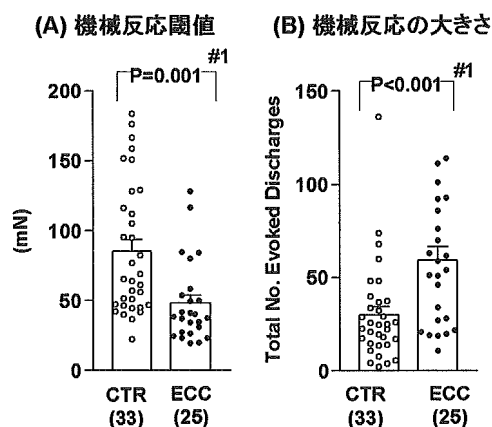


図 5 : 機械刺激による反応の閾値(A)と反応の大きさ(B)

(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。

##### 4-2 : 反応パターン

図 6 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。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、比較的反應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 程度であった。反應の立ち上がりは早い、その後刺激強度を増すと放電頻度が逆に低下する反應パターンは 3/33 本で少なかった。一方、ECC 群ではこのような反應パターンが 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った(5/25 本)。強度依存的に放電頻度を増すものの割合は CTR 群と変わらず、3 割程度であった。

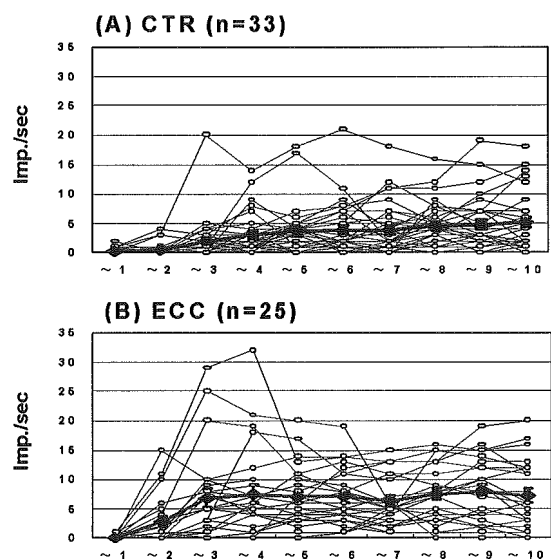


図 6 : 機械刺激に対する反応パターン

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。

平均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 6 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見える。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 秒間に自発放電がある場合、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 ( $29.9 \pm 4.5$  発) に比べ、ECC 群 ( $59.3 \pm 7.4$  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 5B)、機械反応は ECC 群で有意に大きかった。

#### 4-4：機械反応増大と熱感受性

個々の受容器の機械刺激に対する反応を詳細に調べたところ、熱に対する感受性のある群の受容器が反応性を増大させている傾向が見られた。そこで、記録した細径線維受容器を熱による感受性によって 2 群に分け、それぞれの機械刺激に対する反応性を比較した。熱に対して感受性のない群では、ECC 負荷後にも有意な閾値の低下、反応性の増大はみられなかった。これに対し、熱感受性のある群では、ECC 負荷後にも有意な閾値

の低下、総放電数の増大がみられた (図 7)。

以上の単一神経記録の結果は目下投稿中である。

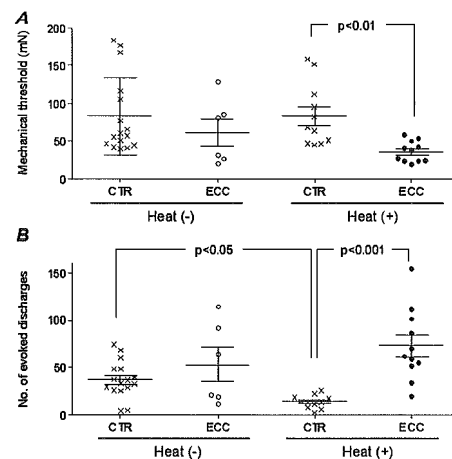


図 7. 筋から記録した細径線維受容器の機械刺激に対する反応性

A, B: 記録した細径線維受容器全体の機械刺激 (20g/10 秒) に対する反応 (A は反応閾値、B は平均放電頻度の増大)。C, D: 熱感受性の有無でグループ化した細径線維受容器の機械反応

C: 閾値, D: 平均放電頻度の増大。CTR: 対照筋 (未処置)、ECC: ECC 負荷後 2 日目の筋。

#### 実験 I-4. 繰り返し寒冷ストレス負荷 (SART) による遅発性筋痛の遷延

SART の 2 日間の負荷では、筋圧痛閾値の低下は 7 日間で元に戻ってしまったが [7]、SART 負荷を 5 日間に延長した場合には、EDL 部の Randall-Selitto 法で測定した圧痛閾値は、ECC+SART 群ともに劇的に低下し (ECC で約 29 g, ECC+SART 群で 35 g の低下)、その後回復する傾向は見られるものの長い間閾値は低下したままであった。SART 群では 39 日目 SART 終了後からは 34 日目に SART 負荷前の値にほぼ戻ったが、ECC+SART 群では 47 日 (SART 終了後からは 42 日目) まで回復が遅れた。

ほぼ同じ部位の皮膚の VFH 閾値は SART 負荷直後に低下するが、その後 5 日で SART 負荷前の値に戻り、その後再度低下して、33 日目までどちらの群も低下傾向を示した。Randall-Selitto 法の結果では SART+ECC 群では 47 日目まで閾値の低下が見られていたので、筋の閾値低下は皮膚閾値低下より長く続いていると考えられる。

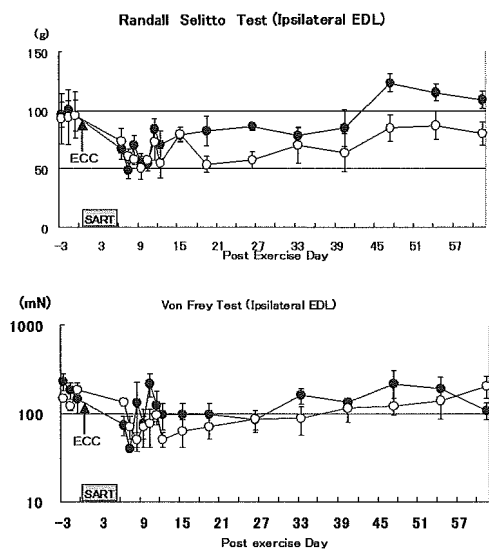


図 8. 伸張性収縮負荷後に与えた繰り返し寒冷ストレス負荷による圧痛閾値の変化  
ECC は矢印の時点(day 0)で負荷し、SART は 1-5 日目に負荷した。平均値 ± 標準誤差。●は SART 群 (n=3)、○は SART+ECC 群 (n=3)。

### 実験 I- 抗コリンエステラーゼ筋注による筋痛覚過敏の有無

DFP 投与後 28 日まで測定を継続したが、図 2 に示すように、Randall-Selitto 法で測定した前脛骨筋部の圧痛閾値にも、前脛骨筋上皮膚に対する VFH のそれにも、有意な変化は観察されなかった。動物の自発的な行動にも何ら変化は認められなかった。

### D. 考察

加齢ラットでは遅発性筋痛の持続時間が延長していることが明らかになった。Clarkson ら[5]は若年(平均 23 歳程度)と高齢女性(平均 67 歳程度)を対象とした研究において、肘屈筋に伸張性収縮を負荷し、安静時肘関節角度の縮小 contracture の存在を示す)が長引くことを示しているが、筋伸張時の痛み(VAS)の時間経過には差を認めていない。より高齢になれば 130 週齢ラットと同様に痛みの時間経過にも差が出る可能性があることを本研究結果は示唆していると考えられる。

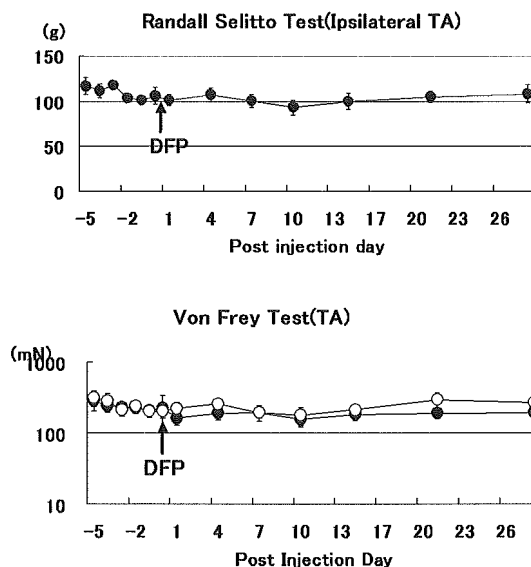


図 9. 抗コリンエステラーゼ (DFP) 筋注による圧痛覚閾値の変化

上図は Randall-Selitto 法で測定した前頸骨筋の圧痛閾値、下図は VFH で測定した前頸骨筋上の皮膚の圧痛閾値。Day 0 の値は、DFP 投与後 4 時間の測定値。平均値 ± 標準誤差 (n=6)。どちらの閾値にも有意の変化は観察されなかった。

抗コリンエステラーゼ投与後には痛覚過敏が観察されなかった。もし報告されているよう[1]にこの処置により contraction knot ができていれば、contraction knot だけでは痛みが生じないことを示唆する。しかし、Mense 達の所見によっても



contracture knot の出現密度は低いので、疼痛行動に変化を与えるにはいたっていない可能性もある。また今回、投与法は前記報告に則って実施したが、組織切片を作成して contraction knot を確認していない。今後組織標本を作製して確認する予定である。

ECC 後に繰り返し寒冷負荷を 5 日間繰り返すことにより全身性痛覚過敏（対側肢にまで波及、かつ皮膚にも痛覚過敏あり）が生じたが、その消褪後にも Randall-Selitto 法で測定した EDL 部の圧痛覚閾値は低下しており、ECC を負荷した EDL の筋痛覚過敏は約 1 週間も長く続くことが示された。つまり筋痛の慢性化を起こすことができた。1 年度目には 2 日間の繰り返し寒冷ストレス負荷を行った[6]。今回はまだ 3 例のデータでしかないが、5 日間負荷後の圧痛閾値低下は 2 日間負荷後の圧痛閾値低下と比べると、はるかに程度が強く、持続も長いものであった。ECC だけの場合に比べて、ECC 後に SART 負荷した場合に、筋における変化、筋圧迫後の脊髄の c-Fos 発現変化のパターン等にどんな違いがあるか、解析を続ける必要がある。

1 年度目の研究で、ECC 負荷後の筋圧迫により脊髄後角に c-Fos 発現が増大することを明らかにした。この発現がモルヒネ投与によりほぼ消失することが示され、この c-Fos 発現が痛みによるものであることがさらに確かなものとなった。

伸張性収縮負荷後 2 日目の筋から記録した筋細径線維受容器活動は、機械刺激に対する閾値が低下し、反応が増大していたことを除き、自発放電、ATP やブラジキニンに対する反応、熱刺激に対する反応にも対照群の筋細径線維受容器と統計的に有

意な違いがなかった。記録の結果をさらに解析したところ、機械感受性を増大させた受容器は、機械刺激ばかりでなく熱にも感受性があるポリモーダル受容器[7]であることが明らかになった。熱感受性と機械感受性がどのような機構でつながっているか、例えば熱感受性イオンチャネルである TRPV1[8]の関与があるか、など、今後解析すべき点である。

#### 参考文献

- [1] Hunt S.P, Pini A, and Evan G. Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature* 328:632-634, 1987.
- [2] Mense S, Simons DG, Hoheisel U, and Quenzer B. Lesions of rat skeletal muscle following local block of acetylcholinesterase and neuromuscular stimulation. *Journal of Applied Physiology*, 94: 2494-2501, 2003.
- [3] Molander C, Xu Q & Grant G. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat. I. The lower thoracic and lumbosacral cord. *J Comp Neurol* 230, 133-141, 1984.
- [4] Satoh M, Kuraishi Y, and Kawamura M. Effects of intrathecal antibodies to substance-p, calcitonin gene-related peptide and galanin on repeated cold stress-induced hyperalgesia - comparison with carrageenan-induced hyperalgesia. *Pain* 49:273-278, 1992.
- [5] Clarkson PM and Dedrick ME. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in old and young subjects. *J.Gerontol.* 43:91-96, 1988.
- [6] Taguchi T, Sato J, and Mizumura K. A combination of eccentric muscle exercise and repeated cold stress (RCS) induced prolonged hyperalgesia - an attempt to develop an animal model of chronic muscle pain. *Environ.Med.* 46:74-76, 2002.

- [7] Kumazawa T and Mizumura K. Thin-fibre receptors responding to mechanical, chemical, and thermal stimulation in the skeletal muscle of the dog. *Journal of Physiology (London)* 273:179-194, 1977.
- [8] Tominaga M, Numazaki M, Iida T, Moriyama T, Sugiura T, Togashi K, Higashi T, Murayama M, Tominaga T, and Mizumura K. Molecular mechanisms of TRPV1-mediated thermal hypersensitivity. In: *Hyperalgesia: Molecular mechanisms and clinical implications*, edited by K. Brune and H. O. Handwerker, Seattle: IASP Press, 2004, p. 37-47.

## II. ヒトにおける実験

### 実験 II-1. 圧痛閾値に対する皮膚表面麻酔の影響

#### A. 目的

臨床で圧痛を測定するときに用いられる経皮的圧刺激は、筋だけでなく皮膚にも痛みを誘発すると考えられる。数種類の形状(先端直径)の圧刺激プローブを用い、皮膚痛が起こりにくい形状を探す。その際に、皮膚を麻酔して皮膚痛覚を消失させても痛覚閾値に変化が起こりにくいことを指標とする。

#### B. 方法

22~57歳の健常成人34名(女13名, 男21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の痛覚・熱痛覚、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。パッチの貼付を行う者を実験者・被験者と別に設け、ダブルブライン

ドで行った。

皮膚痛覚の測定には針(直径0.18 mm)を10回押し当て、そのうち被験者が痛みを訴える回数を数える pin-prick テストを用いた。皮膚の熱痛覚の測定には Peltier 式熱刺激装置を用いて熱痛閾値を測定し、3回の平均値を取った。筋の圧痛の測定には先端直径φ1 mm、φ1.6 mm、φ15 mmの3種類のプローブを用いた。測定は被験者が痛みを訴えるまで約150 g/secの速度で圧刺激を加え、3回の平均値を取って圧痛閾値を求めた。深部痛覚の測定にはφ0.18 mmの絶縁針を皮膚表面より垂直に1~9 mm刺入し、被験者が痛みを訴えるまで電圧を上昇させ、閾値を測定した。電気刺激のパルス幅は1 msec、刺激頻度500 Hz、1回の電気刺激につき3発とした。

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

麻酔処置を行った側において pin-prick 刺激に対し被験者が痛みを訴えた回数は処置前  $7.3 \pm 0.4$  回、処置後  $3.4 \pm 0.6$  回であり有意に減少した(図10左)。一方プラセボ処置を行った側では処置前  $8.2 \pm 0.4$ 、処置後  $7.0 \pm 0.6$  回であり有意な変化は見られなかった。

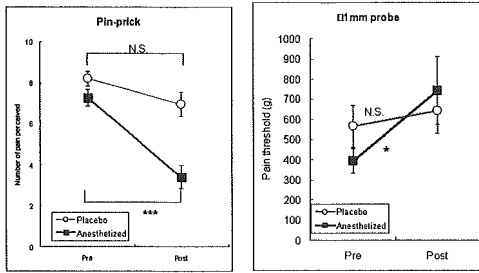


図 10 : pin-prick テスト (左)、 $\phi$  1 mm プローブ (右) をもちいた経皮的圧刺激に対する圧痛閾値。

○ : プラセボ群、■ : 麻酔群。\*\*\*:  $P < 0.0001$ ; \*:  $P < 0.05$  (paired  $t$  test).

$\phi$  1 mm プローブを用いた実験では、麻酔側において圧痛閾値は処置前の  $393 \pm 63$  g 重 (以下省略して g とする) から処置後の  $742 \pm 167$  g へと 1.89 倍に増加した (図 10 右)。一方コントロール側においては処置前  $565 \pm 105$  g、処置後  $462 \pm 112$  g であり両群間に有意な差は認められなかった。 $\phi$  1.6 mm および 15 mm プローブを用いた実験では、麻酔側・対照側の両方において、麻酔・プラセボ処置による圧痛閾値の有意な変化は認められなかった (図 11)。

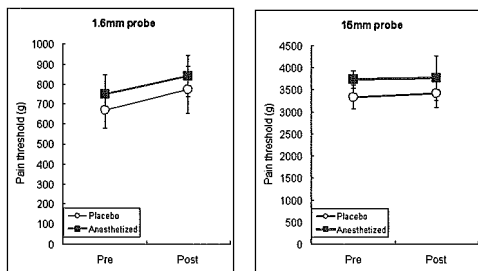


図 11: 経皮的圧刺激に対する圧痛閾値。(左)  $\phi$  1.6 mm プローブ、(右)  $\phi$  15 mm プローブ。○ : プラセボ群、■ : 麻酔群。

熱痛覚の閾値は麻酔側において処置前  $45.4 \pm 0.4$  °C、処置後  $44.6 \pm 0.6$  °C であり両群間に有意差は認められなかった (図 12 左)。またコントロール側におけ

る熱痛覚閾値は処置前  $44.8 \pm 0.5$  °C、処置後  $45.2 \pm 0.5$  °C であり両群間に有意差は認められなかった。

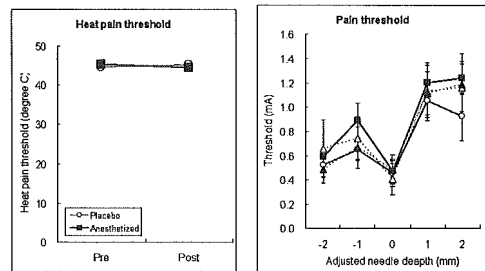


図 12 : ペルチエ熱刺激装置による熱痛覚閾値の測定 (左) と電気刺激針による深部痛覚閾値の測定 (右)。上図 : ○ : プラセボ群、■ : 麻酔群。下図 : △ : プラセボ処置前、▲ : プラセボ処置後、□ : 麻酔処置前、■ : 麻酔処置後。

電気刺激による深部痛覚に関しては、皮下組織の厚さの個人差が大きいため刺激針を刺入する深度を標準化した後に解析を行った。具体的には、刺激針の先端が筋の内部にあるときに比較的弱い電気刺激を行うと筋が収縮することを利用し、筋収縮を起こさない最も深い針の刺入距離を補正深度 0 mm とした。その結果、針の刺入深度による痛み閾値の変化は有意であったが、麻酔要因による閾値の変化は見られなかった (図 12 右)。

#### D. 考察

麻酔処置によって pin-prick 刺激に対し痛みを感じる回数が増加したことから、キシロカインパッチによる麻酔は皮膚表面に効果を及ぼしたと考えられる。一方電気刺激による深部痛覚の測定において、キシロカインパッチは筋付近の組織における痛覚閾値に変化を及ぼさなかったことから、キシロカインパッチによる麻酔作用は皮膚表面に特異的であったことが示唆される。

圧刺激プローブにより圧痛閾値を測定した実験では、 $\phi 1\text{ mm}$  プローブではキシロカイン麻酔の効果が見られたものの、 $\phi 1.6$  および  $\phi 15\text{ mm}$  プローブではこの効果は見られなかった。このことから、経皮的圧刺激を用いて筋痛の程度を測定する場合、プローブの直径は少なくとも  $1.6\text{ mm}$  以上にすることが望ましいことが示唆された。今回実験に参加した被験者で前腕部の MRI 撮像により皮下組織の厚さを測定した者のうち、最も厚い値は約  $9\text{ mm}$  であった。被験者の皮下組織がさらに厚い場合、皮膚から与えられた圧刺激が筋組織まで伝達する効率が低下することが予想されるため、プローブの径はより大きいものを用いる必要があると予想される。この点に関しさらに定量的な解析が必要である。

表面麻酔によって熱痛覚閾値が変化しなかったことは予想外であったが、麻酔を経皮的に[8]あるいは皮下に[9]与えた場合機械痛覚閾値は低下するものの熱痛覚閾値は変化しないという報告がある。このことから、機械痛覚と熱痛覚を伝達する機構が異なることが考えられる。

今回得られた実験結果と、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の確立が期待される。

## 実験 II-2. 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

### A. 目的

ヒトを対象とした実験によって求めることが不可能な、経皮的圧刺激によって

生じる皮膚・皮下組織および筋における応力分布を、3 次元有限要素法 (finite element method, FEM) を用いたシミュレーション解析によって求める。

### 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 13 左) を用い、生体組織の 3 次元モデルを構築した (図 13 右)。モデルは皮膚、皮下組織、筋、骨の 4 層から成る 25,431 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[1][2][3] : 皮膚、皮下組織、筋、骨それぞれの Young 率  $E$  を 0.1、0.025、0.04 および  $12400\text{ MPa}$  とし、Poisson 比はすべて 0.49 とした。

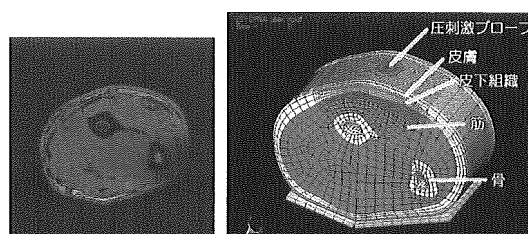


図 13 ヒト前腕部の MRI 断層画像図 (左) とこの MRI 画像より作成した前腕部の 3 次元モデル (右)

上より圧刺激プローブ、皮膚、皮下組織、筋、骨。

用いた物性値によって実際のヒトの組織の挙動を近似できるかどうかを調べるため、ヒトの皮膚に吸引刺激を与えて組織の変位量を観察した報告[7]の結果と本研究で用いた物性値を代入した FEM モデルの解析結果が概ね一致することを確認した。

次に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、0.5、1、3、5、10 および 15 mm の 6 種類を用いた。それぞれのプローブに 4.44、26.6、150.8、444.4、1778 および 4000 g の荷重を加えて、皮膚との接触面における圧力が 222.1 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 GRID を用いた。

### 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 (von Mises) の最大値の時間経過を、6 種類のプローブを使用した条件でシミュレートした。圧刺激開始 100 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 14 に示す。0.5 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 (図 14 左)、15 mm プローブでは比較的深部の

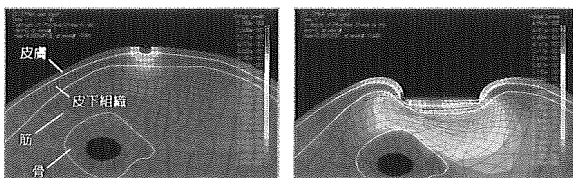


図 14 : 圧刺激開始 100 msec 後におけるプローブ断面付近での von Mises 応力の分布。  
青 : 応力 0、赤 : 最大応力の約 10%。(左) 0.5 mm プローブ、(右) : 15 mm プローブ。

組織にまで応力が及んでいることが観察された (図 14 右)。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 15 に示す。

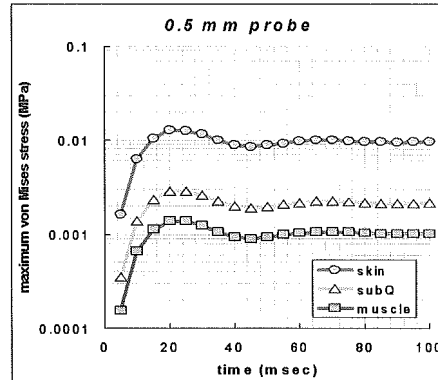


図 15 : 経皮的圧刺激に対する皮膚 (●)・皮下組織 (△) および筋 (■) における von Mises 応力の最大値の時間経過。

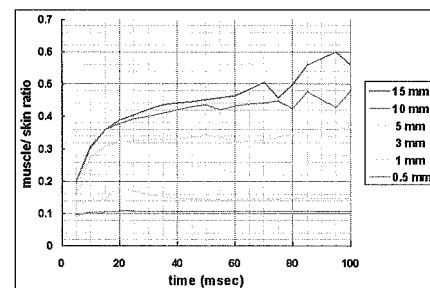


図 16 : 6 種の大きさのプローブで経皮的圧刺激に対し組織内で発生した最大応力の筋/皮膚比。

0.5 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、わずかに振動した後プラトーに達した。圧刺激開始 100 msec 後における von Mises 応力の筋組織/皮膚組織の比は 0.5 mm プローブの場合 0.106 であり、この値はプローブの直径増加に伴い増大し 15 mm プローブの場合 0.561 となった。0.5 mm のプローブでは筋へはほとんど圧が及ばないと

いう結果であった (図 16)。

#### 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[4][5][6][7]。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。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、材料物性を非線形材料である Ogden rubber としてシミュレーションを行ってより生体組織に近いシミュレーションに発展させる予定である。

今後の課題として組織の解剖学的配置の違い (例えば脂肪層の厚さ) やプローブを動かす速度などにより経皮的圧刺激を与えたときの応力分布のシミュレーション解析が考えられる。

### II-3 筋の痛みの脳内投射

#### A. 目的

皮膚感覚刺激に対し応答する脳部位は知られているものの、筋の痛みに対して応答する脳部位はまだ分かっていない。本研究では、皮膚痛でなく筋痛に特異的に応答する脳部位を fMRI を用いて特定することを目的とした。

#### B. 方法

被験者として健常成人 2 名 (年齢 : 28 歳および 32 歳) を用いた。皮膚および筋に対する痛み刺激として、左前脛骨筋部位の皮膚および筋に長さ 48 mm、直径 0.05 mm の針電極を刺入して電気刺激を行った。電極の刺入深度は皮膚で 1.5 mm、筋で 20 mm とした。刺激針より 30 mm 離れた部位に直径 8 mm の皮膚表面電極を貼付して陽極とし、両電極間に 1 ms の矩形波刺激を与えた。刺激強度は実験前に被験者ごとに「刺激を感じるが、痛くない」(皮膚 : 0.4 mA、筋 : 0.6 mA) ものと「適度に痛い」(皮膚 : 1.9 mA、筋 : 3.1 mA、共に VAS 5 程度) の 2 種類を決定した。fMRI スキャンは皮膚刺激実験と筋刺激実験の 2 つに分け、各々の実験において非痛み刺激および痛み刺激をそれぞれ 30 回ランダムに与えた。TR(1 scan に要する時間)を 2 秒とし、刺激間のインターバルは 16 秒とした。

#### C. 結果

筋への電気刺激を行ったときに脳血流量が有意に応答を示した部位は、両側の前頭葉の下前頭回 (Brodmann area (以下 BA) 10)、両側の頭頂葉の下前頭小葉 (BA 40) および楔前部 (BA 7)、両側の辺縁葉の帯状回 (BA 32, 23)、左側の島 (BA 13) および右側の視床であった (図 8)。

皮膚への電気刺激を行ったときに脳血流量が有意に応答を示した部位は、右側の前頭葉の下前頭回 (BA 47)、左側の後頭葉の楔状葉 (BA 18)、両側の辺縁葉の帯状回 (BA 32, 23) および右側の視床であった。

皮膚痛に応答した脳部位を排他的にマスクした後に筋痛に応答した部位を解析した結果、左側の頭頂葉の下頭頂小葉 (BA 40) および縁上回 (BA 40) にわずかな部位の応答が見られた。

#### D. 考察

皮膚および筋への電気刺激で活動が見られた両側の辺縁葉の帯状回(BA 32)、前頭葉の下前頭回(BA10)および島は痛み関連部位として知られており[10]、痛み刺激に対してこの部位に応答が見られたことから実験のプロトコールおよびデータ解析の方法が妥当であることが示唆された。筋痛のみに特異的に応答する脳部位は、痛み刺激の同側(左側)においてわずかに認められた。しかし今回は2例の被験者からのデータのみを解析しているため、データ数を増やすことによりこの部位は変わる可能性がある。現在被験者数を増やして筋痛特異的に応答する部位をより詳細に解析中である。

#### 参考文献

- [1] Dandekar K, Raju BI, Srinivasan MA. 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.
- [2] Behr M, Arnoux PJ, Serre T, Bidal S, Kang HS, 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.
- [3] 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.
- [4] Reihnsner R, Balogh B, Menzel EJ. 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.
- [5] Tong P, Fung YC. The stress-strain relationship for the skin. *J Biomech* 9, p.649–657, 1976.
- [6] Hendriks FM, Brokken D, van Eemeren JT, Oomens CW, Baaijens FP, Horsten JB. A

numerical-experimental method to characterize the non-linear mechanical behaviour of human skin. *Skin Res Technol* 9(3), p.274–283, 2003.

- [7] Bischoff JE, Arruda EM, Grosh K. Finite element modeling of human skin using an isotropic, nonlinear elastic constitutive model, *J Biomech* 33, p.645–652, 2000.
- [8] Wallace MS, Ridgeway B, Schulteis G, Rabussay D, Zhang L. Topical delivery of lidocaine in healthy volunteers by electroporation, electroincorporation, or iontophoresis: an evaluation of skin anesthesia. *Reg Anesth Pain Med* 2001;26:229-238.
- [9] Graven-Nielsen T, Mense S, Arendt-Nielsen L. Painful and non-painful pressure sensations from human skeletal muscle. *Exp Brain Res* 2004;159:273-83.
- [10] Ingvar M, Hsieh JC. The image of pain. In: Wall PD., Melzack R., eds. *Textbook of Pain* (4<sup>th</sup> edition). Churchill Livingstone, 1999. pp. 215-233.

#### E. 結論

ラットにおいてECC負荷2日後に皮膚痛覚過敏を起こさずに筋圧痛覚過敏が生じることが、疼痛行動およびc-Fos発現を指標にして明らかとなった。この痛覚過敏は、加齢により長引くことが明らかになった。また、ECCに繰り返し寒冷負荷をすることにより痛覚過敏の期間を延長することができた。これらのことから、このモデルは筋痛のメカニズム解析の上で有用なモデルとなると考えられる。ECC後の痛覚過敏の末梢性のメカニズムとして、筋細径線維受容器の機械感受性の亢進が明らかにされた。今後はいかにして機械感受性亢進がおこるかを明らかにする必要がある。

ヒトの実験より、筋圧痛閾値の測定に

は少なくとも直径 2mm 以上のプローブを使わなければならないことが、皮膚表面麻酔実験と三次元有限要素法によるコンピュータシミュレーションにより示唆された。これらの結果は、筋圧痛閾値の評価法について初めて実験的根拠を与えたものである。臨床での筋圧痛評価をする上で重要な所見である。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Taguchi T, Sato J, Mizumura K. A combination of eccentric muscle exercise and repeated cold stress (RCS) induced prolonged hyperalgesia - an effort for developing an animal model of chronic muscle pain, *Environmental Medicine*, 46 (2002) 74-76.
- 2) Banik RK, Kasai M, Mizumura K. Reexamination of the difference in susceptibility to adjuvant-induced arthritis among LEW/Crj, Std:Wistar/ST and Slc:SD rats. *Experimental Animals*, 51 :197-201, 2002
- 3) Suzuki Y, Sato J, Kawanishi K, Mizumura K. Tissue glucose level modulate the mechanical responses of cutaneous nociceptors in streptozotocin-diabetic rats but not normal rats in vitro. *Pain* 99: 475-484, 2002.
- 4) 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. *Neuroscience Research* 47: 409-419, 2003.
- 5) 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. *Environmental Medicine* 47: 26-30, 2003.
- 6) 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. *Environmental Medicine* 47: 31-34, 2003.
- 7) Yajima, H., Sato, J., Giron, R., Nakamura, R., & Mizumura, K. Inhibitory, facilitatory, and excitatory effects of ATP and purinergic receptor agonists on the activity of rat cutaneous nociceptors in vitro. *Neuroscience Research*. 51, 405-416, 2005.
- 8) Banik RK, Sato J, Giron R, Yajima H, & Mizumura K. Interactions of bradykinin and norepinephrine on rat cutaneous nociceptors in both normal and inflamed conditions *in vitro*. *Neuroscience Research* 49, 421-425, 2004.
- 9) Sato J, Aoyama M, Yamazaki M, Okumura S, Takahashi K, Funakubo M, & Mizumura K. Artificially produced meteorological changes aggravate pain in



- adjuvant-induced arthritic rats. *Neuroscience Letters* 354, 46-49, 2004.
- 10) Taguchi T, Matsuda T, Tamura R, Sato J, & Mizumura K. Muscular mechanical hyperalgesia revealed by behavioural pain test and c-Fos expression in the spinal dorsal horn after eccentric contraction in rats. *Journal of Physiology* (London). 2005 (In Press).
2. 学会発表
- 1) 青山盛彦, 佐藤純, 高橋賢, 水村和枝. リウマチ様単関節炎ラットの痛覚過敏に対する気象要因変化(低気圧・低温曝露)の影響(第2報)日本生気象学会誌 39(3): 65, 2002
  - 2) 高橋賢, 佐藤純, 水村和枝. 慢性炎症における冷痛覚過敏には, 末梢神経活動の変化が関与する. 第48回日本宇宙航空環境医学総会プログラム予稿集 p.57, 2002
  - 3) 高橋賢, 佐藤純, 水村和枝. 慢性炎症時における冷アロディニアの末梢機構の解析. *Pain Research* 17:34, 2002
  - 4) 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、ニューオリンズ)
  - 5) 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)
  - 6) 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)
  - 7) 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)
  - 8) 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)
  - 9) 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)
  - 10) 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)
- 11) 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)
- 12) Takahashi K, Sato J, Mizumura K. Responses of primary afferent C-fibers to cold were facilitated in the adjuvant-monoarthritic rats hyperalgesic to cold. International Symposium on Plasticity of Pain System (ISPPS) 2002.
- 13) 久保恵美, 佐藤 純, 余 錦, 小畑光央, 水村和枝: 緩徐な気圧低下による神経因性疼痛ラットの痛覚過敏の増強. 第81回日本生理学会大会, 2004.6 (札幌)
- 14) 余 錦, 佐藤 純, 舟久保恵美, 小畑光央, 水村和枝: 気圧低下による覚醒ラットの自律神経パラメータの変化. 第81回日本生理学会大会. 2004.6 (札幌)
- 15) 肥田朋子, 井上貴行, 塚本晋也, 土利川崇洋, 山崎 允, 猪田邦雄, 水村和枝: 若年被験者における遅発性筋痛に対するバイブレーション刺激の効果. 第81回日本生理学会大会, 2004.6 (札幌)
- 16) 田口 徹, 田村良子, 佐藤 純, 水村和枝: *in vitro*ラット神経-筋標本から記録したC線維受容器の機械刺激に対する反応性は伸張性収縮後に増大する. 第81回日本生理学会大会, 2004.6 (札幌)
- 17) 高橋 賢, 水村和枝: 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. 第81回日本生理学会大会, 2004.6 (札幌)
- 18) 高橋 賢, 田口 徹, 伊藤和憲, 西村展幸, 森定 真, 岡田 薫, 川喜田健司, 水村和枝: 皮膚表面麻酔下における圧痛閾値変化の解析 - 経皮的筋痛測定法の開発に向けて -. 第26回日本疼痛学会, 2004.7 (東京)
- 19) 高橋 賢, 水村和枝: 経皮的に圧刺激を与えたときの組織内応力分布の3次元有限要素法を用いた推定 - 経皮的筋痛測定法の開発に向けて -. 第26回日本疼痛学会2004.7 (東京)
- 20) Taguchi T, Tamura R, Sato J, Mizumura K: Muscular mechanical hyperalgesia revealed by behavioral pain test and c-Fos expression after eccentric contraction in rats. Sixth World Congress on Myofascial Pain and Fibromyalgia, 2004 (Munich, Germany)
- 21) Taguchi T, Tamura R, Sato J, Mizumura K: Increased mechanical response and decreased mechanical threshold of muscle C-fiber sensory receptors recorded from rat muscle-nerve preparation *in vitro* after eccentric contraction. Sixth World Congress on Myofascial Pain and Fibromyalgia. 2004 (Munich, Germany)
- 22) 田口 徹, 佐藤 純, 水村和枝: 伸張性収縮後に*in vitro*ラット神経-筋標本から記録した筋C線維受容器の反応. 第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学大会合同大会, 2004.9 (大阪)
- 23) 舟久保恵美, 佐藤 純, 余 錦, 妹

- 尾詩織, 小畑光央, 水村和枝: 小型気圧調節措置を用いた微小気圧変動への曝露が慢性痛ラットの疼痛行動に及ぼす影響. 第43回日本生気象学会大会, 2004.10 (山梨県)
- 24) Taguchi T, Sato J, Mizumura K: Response to mechanical, chemical, and thermal stimulations of the muscle C-fiber sensory receptors after eccentric contraction in rats. 34th. Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2004. 10. (San Diego, U.S.A.)
- 25) Takahashi K, Taguchi T, Itoh K, Nishimura N, Morisada M, Okada K, Kawakita K, Mizumura K: Measurement of the muscle pain by a transcutaneous pressure: theoretical and experimental analyses. 34th. Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2004.10 (San Diego, U.S.A.)
- 26) Taguchi T, Tamura R, Sato J, Mizumura K: Muscular tenderness revealed by behavioral pain test and c-Fos protein expression in the spinal dorsal horn following eccentric contraction in rats. International Workshop on the Neural Mechanism of Musculo-skeletal Pain, 2004.12. (Nagoya)
- 27) Taguchi T, Sato J, Mizumura K: Mechanical, chemical, and thermal responses of the C-fiber sensory receptors recorded from rat muscle-nerve preparations in vitro after eccentric contraction. International Workshop on the Neural Mechanism of Musculo-skeletal Pain, 2004.12. (Nagoya)
- 28) Takahashi K, Taguchi T, Itoh K, Nishimura N, Morisada M, Okada K, Kawakita K, Mizumura K: Measuring the muscle pain using a transcutaneous pressure: simulation and experimental studies. International Workshop on the Neural Mechanism of Musculoskeletal Pain, 2004.12. (Nagoya)
- 3.著書、総説
- 1) 水村和枝, 杉浦健之, 富永真琴 ブラジキニンによるバニロイド受容体1(VR1)の修飾—ブラジキニンによる侵害受容体の興奮とその熱に対する感作の1機構—, 脳機能の解明—生命科学の主潮流 赤池紀扶, 東秀穂, 阿部康二, 久保千春 編集, ガイア出版会, 福岡 477-482, 2002
  - 2) 水村和枝 侵害受容器における受容変換と感作の機構 別冊・医学のあゆみ “痛みとその制御機構—分子メカニズムと治療の最前線” 土肥修司編集 医歯薬出版, 東京, 7-12, 2002
  - 3) 水村和枝 炎症による痛みとブラジキニン 整形・災害外科45(12): 1216-1217, 2002
  - 4) 水村和枝 痛み受容器 (侵害受容器) の生理学-痛み受容器における受容変換・感作の機構- 日本ペインクリニック学会誌 9(4): 400-406, 2002 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
  - 5) 水村和枝 炎症と痛み リウマチ科 31: 186-192, 2003
  - 6) 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
  - 7) 水村和枝: 炎症と痛み, リウマチ科

- 31 : 186-192, 2004.
- 8) 水村和枝 : 痛み受容器の神経生理と炎症時の変化. 痛みシグナルの制御機構と最新治療エビデンス. 医学のあゆみ 211: 355-358, 2004.
  - 9) 水村和枝, 田口徹 : 痛み受容器をめぐる最近の話題 - 痛み受容器における受容変換機構と筋肉痛モデルにおける痛み受容器活動の変化- 特集「筋・骨格系の痛み研究の最近の話題, 運動・物理療法 15: 176-182, 2004.
  - 10) Mizumura K, Takahashi K, Sato J: Hyperalgesia to cold in persistently inflamed rats- changes in C-fiber receptor activities and cold-sensitive ion channel expression. In: Hyperalgesia: Molecular mechanisms and clinical implications. eds. BRUNE K, HANDWERKER HO. Progress in Pain Research and Management 30: 71-86, 2004.
  - 11) 水村和枝, 佐藤 純 : 交感神経活動と痛み - 神経損傷モデルの教えたもの. 末梢神経 15: 1-9, 2004.
  - 12) 水村和枝 ブラジキニン-痛み受容器への作用を中心に- 日本臨牀 63 巻 増刊号 1, 140-144, 2005
  - 13) 高橋賢 奥村聡 佐藤純 アジュバント関節炎 日本臨牀 63 巻 増刊号 1, 51-54, 2005