

資料 2

筋および筋細径求心線維脊髄投射の形態学的研究：筋骨格系の痛みにかかわる分子、受容体の発現の変化

(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 筋骨格系の痛みのメカニズムを解析するため、筋に分布する知覚神経の脊髄への投射、筋への分布、痛覚に関わる受容体の発現の解析を行った。

電気生理学的に同定した後根神経節内の単一神経細胞にトレーサーを注入し、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た。筋からの無髄知覚神経には神経終末が後索表層を吻尾方向に数分節にわたって走行するものがあった。また神経終末は主に I,II,III 層に終末しており、終末膨大の密度がそれほど高くない神経叢を形成していた。筋に分布する無髄の求心性神経は、形態的には皮膚に分布する神経と内臓に分布する神経の間の特徴を持っていることがわかった。

筋に分布する神経の末梢での形態を免疫組織学的に調べた。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)血管とは無関係に横紋筋線維の間に分布しているものが見られた。3)のタイプの神経には CGRP、TRPV1(capsaicin 受容体)、P2X3(ATP 受容体) を発現しているものがあり、これらが痛みなど筋の感覚の受容に関与していると思われた。

各種動物モデルによる筋の痛覚と知覚神経におけるメディエーターの解析を行った。

ラットの顎関節に complete Freund's adjuvant (CFA) を投与し慢性顎関節炎モデルラットを作成し、顎関節部の圧痛における P2X3 受容体 (P2X3R) の役割を検討した。顎関節炎を発症した顎関節で機械的圧刺激に対する閾値が低下した。P2X1,3,2/3 作働薬投与でさらに閾値が低下し、P2X1 作働薬投与で変化を認めなかったが、P2X1,3,2/3,1/5 拮抗薬および P2X1,2,3,5,4/5,1/5 拮抗薬により、閾値が上昇した。また関節炎側の三叉神経節で小型の P2X3R 陽性細胞が増加した。アジュバント顎関節炎により発症する圧痛における P2X3R の関与が示唆された。

神経因性疼痛のモデルの一つとして抗腫瘍薬シスプラチンをラットに 5 週間、反復投与すると、皮膚の機械的痛覚過敏と熱性痛覚鈍麻が見られた。腓腹筋の圧痛テストで閾値の低下を認め、握力が低下し、筋の痛覚過敏が示唆された。シスプラチン投与群の後根神経節 (DRG) では TRPV2、P2X3、ASIC3 陽性細胞数が有意に増加し、P2X3 と ASIC3 は筋由来の DRG 細胞でも有意に増加していた。シスプラチン投与により皮膚および筋の痛覚過敏が示唆され、TRPV2、P2X3、ASIC3 のイオンチャンネルが関与していると考えられた。

ラットの腓腹筋に 4% carrageenan を投与すると、12 時間で腓腹筋の圧刺激に対する閾値が最も低下し、筋の痛覚過敏が確認された。ASIC1a, 1b, 2a, 2b, 3、TRPV1、P2X3、P2Y1 の遺伝子発現量に変化は見られなかったが、DRG において ASIC3、TRPV1、TRPV2 陽性細胞が増加し P2X3 については減少し、これらイオンチャンネルの発現の変化が、carrageenan 筋炎による筋痛の発現に関与していると思われた。

A. 研究目的

筋骨格系の痛みは、皮膚の場合と同様に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。例えば筋および筋膜の痛みについてみると、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ー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。そこで、我々は、末梢における筋・骨格系の痛覚受容のメカニズムを明らかにするため、筋の一次知覚神経の脊髄内投射、筋内での分布、痛覚関連の各種メディエーターの発現を調べ、次に種々の痛みの動物モデルを用い、筋骨格系の痛覚の変化と、知覚神経に発現している受容体やイオンチャンネルの遺伝子やタンパク発現の変化を調べた。

B. 研究方法

B-1. 筋に分布する知覚神経の脊髄投射の実験(図 1)

体重 200 から 300 g のハートレー系モルモットを使用した。ペントバルビタール深麻酔下にて、気管および外頸静脈にカニューレを留置、筋弛緩後、人工呼吸器に接続した。ヒーティングパッドにより体温は 38°C に維持し、血圧をモニターした。動物を定位固定装置に腹臥位に固定し、腓腹筋の外側頭に入る脛骨神経の筋枝を剖出し、刺激電極を留置した。また、第 5 腰髄後根神経節を剖出した。後根神経節ニューロンの活動を記録するために、微小電極用アンブレに接続した微小ガラス管電極を用い、2.5%の PHA-L を含んだ 0.1M の KCl で満たした。腓腹筋外側頭に分布する脛骨神経の筋枝を C-線維を刺激できる強さの電流 (0.05-0.1 msec, 6-10 V または 5mA) で電気刺激し、刺激に応じるニューロンを後根神経節内で検索した。伝導速度を測定し、1

m/s 以下のものを無髄の C-線維とした。電気刺激に応じる C-線維のニューロンを同定した後、電気泳動にて微小ガラス管内の PHA-L を細胞内に注入した。一個体につき一個のニューロンに PHA-L を注入した。手術後 3-5 日間、動物を生存させた後、再びペントバルビタールによる深麻酔下にて灌流固定し、脊髄腰膨大部と第 5 腰髄後根神経節を取り出し、連続凍結切片を作製した。切片に含まれる PHA-L を注入された細胞体や神経線維は、抗 PHA-L 抗体を用いた免疫組織化学により ABC-DAB 法にて可視化した。脊髄の連続切片内に見られた PHA-L にて標識された神経線維は、カメラルシダにてトレースし、おのおののトレースは合成し、一個のニューロンに由来する標識神経線維の脊髄内の全走行を明らかにした。神経線維の終末膨大部の数と大きさを測定した。

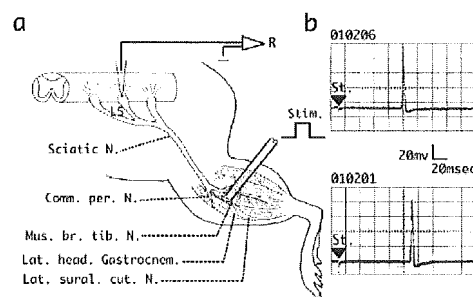


図 1. 筋に分布する知覚神経の脊髄投射の実験

B-2. 筋に分布する神経線維の形態学的解析

Sprague-Dawley 系ラット (250-400 g) を使用した。ペントバルビタール深麻酔下にて動物を灌流固定し、腓腹筋を取り出し、凍結切片を作製し、筋に分布する神経線維を各種抗体を用いて免疫組織化学的に染色した。神経線維全般のマーカーとして

protein gene product-9.5 (PGP9.5)に対する抗体、知覚神経のマーカーとして、calcitonin gene-related peptide(CGRP)や substance P(SP)に対する抗体、交感神経のマーカーとして tyrosine hydroxylase (TH) に対する抗体を用いた。また皮膚の侵害受容器に存在するカプサイシンレセプター (TRPV1) と ATP 受容体の一つである P2X3 に対する抗体を用いた。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。

B-3. 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、動物を灌流固定し、後根神経節(L4-6)を取り出し、クライオスタット切片を作製した。TRPV1 または P2X3 に対する抗体を用い免疫組織化学を行い、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。

B-4. アジュバント顎関節炎に見られる圧痛における P2X3 受容体の役割

Lewis 系雄性ラット (200-300 g) を使用した。ラットの片側顎関節腔に complete Freund's adjuvant (CFA, 6 mg/ml) を投与しアジュバント顎関節炎を作成した。顎関節部に機械的圧刺激を与え、逃避反応が

観察された圧力を圧痛の閾値としその変化を調べた。CFA 投与 15 日後、顎関節部に ATP 受容体作動薬および拮抗薬を投与し閾値の変化を観察した。CFA 投与 15 日後のラットを灌流固定し、顎関節を取り出し、ヘマトキシリンエオジン標本を作製した。また三叉神経節のクライオスタット切片を作成し P2X3R に対する抗体を用いた免疫組織化学を行った。また顎関節の知覚神経における P2X3R の発現を調べるため、ラットの顎関節腔に逆行性トレーサー

Fluorogold(FG)を注入した後、三叉神経節を取り出し、P2X3R に対する免疫組織化学を行った。本実験は、篠田雅路、尾崎紀之、浅井英明、長嶺健一郎、杉浦康夫が担当した。

B-5. シスプラチンによって引き起こされる痛覚過敏のメカニズムの解析

Sprague-Dawley 雄性ラットにシスプラチンを 5 週間、反復投与した (3 mg/kg/週、5 回、全投与量 15 mg/kg、腹腔内投与)。皮膚の痛覚試験として足底皮膚に対する von Frey テスト、pin-prick テスト、Hot plate テストを行なった。筋痛の評価のため、腓腹筋表面の皮膚に対する von Frey テスト、腓腹筋に圧刺激を加え逃避行動を引き起こす閾値を調べる圧痛テスト、握力の測定を行なった。

腓腹筋表面の皮膚に対する von Frey テストを行うためには、動物の体幹を軽く拘束し、開排位を取らせ、von Frey フィラメントを動物の腓腹筋背面中央部に垂直に押しつけ刺激を加えた。

腓腹筋への圧刺激は、Randall-Selitto テストを応用した Schäfers らの報告に従って行った。動物の体幹を軽く拘束し、後肢の腓腹筋

に Ugo Basile Analgesy Meter 37215 (Stoelting, Chicago, IL, USA, Ugo Basile, Italy) を用いて連続的にかつ漸増する圧力 (最大 250 g) を与えた。動物が圧力を加えられている後肢を屈曲する逃避行動を起こしたときの圧力値を測定した。

Kehl らの報告によると、ラットの前肢および後肢の握力は、筋痛を反映すると考えられている。プッシュプルゲージ (MODEL-RX-100, アイコーエンジニアリング, 名古屋, 日本) のトランスデューサー先端に金網を接続した装置を作成した。前肢の握力の測定時には、動物の前肢で金網を握らせ、動物を引っ張り、動物が握っていた金網から手を離すまでの力の最大値を測定値とした。後肢の握力も同様に測定した。

皮膚の侵害受容への関与が明らかにされているイオンチャンネル、TRPV1、TRPV2、P2X₃、ASIC3 の発現を、シスプラチン投与ラットの後根神経節 (DRG) で免疫組織化学的に検索した。シスプラチン投与後、腓腹筋に逆行性トレーサー Fluoro-Gord (FG) を注入し、筋由来の DRG 細胞を標識し、灌流固定し、L5 レベルの後根神経節のクライオスタット切片を作成し、TRPV1、TRPV2、P2X₃、ASIC3 に対する抗体を用いて蛍光抗体法による免疫組織化学を行った。全 DRG 細胞ならびに FG で標識された腓腹筋由来の知覚神経細胞における TRPV1、TRPV2、P2X₃、ASIC3 の発現を調べた。この実験は堀紀代美、尾崎紀之、杉浦康夫が担当した。

B-6. Carrageenan 筋炎によって知覚神経に発現するメディエーターの解析

ペントバルビタール深麻酔下にて、Sprague-Dawley 雄性ラットの腓腹筋に

4% carrageenan を 100 μ l 注入した。

carrageenan 注入後 Randall-Selitto 式鎮痛効果測定装置を用いて、腓腹筋の圧痛閾値を測定し、von Frey Hair を用いて下腿後面の皮膚痛覚閾値を測定した。

筋の知覚神経における遺伝子発現の変化を調べるため、carrageenan 注入 24 時間後に L4-L6 の後根神経節を採取し、-80°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、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 の発現を用いた。

筋の知覚神経におけるイオンチャンネルの発現を調べるため、あらかじめ左側腓腹筋に逆行性トレーサー Fluorogold (4%) を注入し、7 日後、腓腹筋に 4% carrageenan を注入し炎症を誘発した。carrageenan 注入 24 時間後に動物を灌流固定し、後根神経節 (L4-6) を取り出し、クライオスタット切片を作製し、ASIC3、TRPV1、TRPV2、または P2X3 に対する抗体を用い、蛍光抗体法による免疫組織化学を行った。本実験は、藤井優子、尾崎紀之、杉浦康夫が担当した。

B-7. (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

C-1. 筋に分布する知覚神経の脊髄投射の実験(図 2.3)

腓腹筋外側頭に分布する脛骨神経の筋枝を電気刺激することにより同定された、筋に分布する無髄神経の平均伝導速度は、およそ 0.5 m/sec であった。これらの神経は我々が調べた限り、皮膚、筋、腱やその他の深部組織に触刺激やピンセットで挟む刺激を加えても反応しなかった。

筋に分布する無髄神経の脊髄への投射は、神経終末が尾側から吻側に数百マイクロンの狭い領域に分布するものから、後索表層を数分節にわたり走行するものまでさまざまであった。神経終末は主に脊髄の後索、I、II、III 層に終末し、終末膨大は 1500~3000 個見られ、神経叢は 2-3 領域見られたので、終末膨大の数は一領域あたり、500~1000 個くらいで、終末膨大の密度がそれほど高くない神経叢を形成していた。神経叢の領域の広がり尾方向に 200~600 μm 、内外側に 200~300 μm であった。終末膨大は比較的小さく、大きさは最大 2~3 μm であ

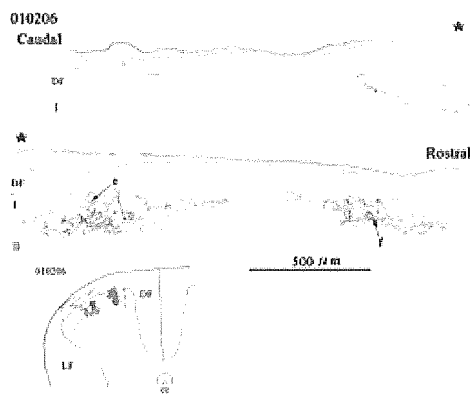


図 2 : 筋に分布する無髄知覚神経の脊髄投射の例

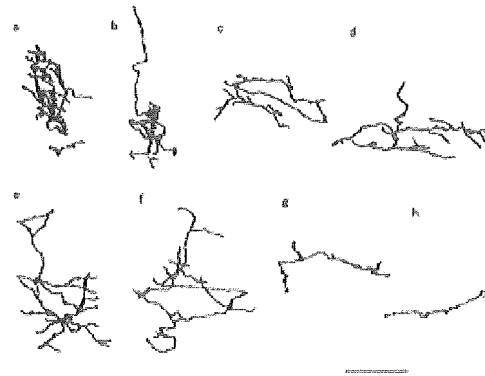


図 3. : 筋に分布する無髄知覚神経の脊髄投射の例。終末部を拡大したもの。

C-2. 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(図 4A)、2. 血管に沿って分布しているもの(図 4B)、3. 横紋筋線維の間に特殊な構造をもたずに分布しているもの(図 4C)、が見られた。知覚神経である CGRP 陽性の神経線維は、2.と 3.の形態を持つものが見られ、交感神経である 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。TRPV-1 や P2X3(図 4D)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いた。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ていた(図 5)、

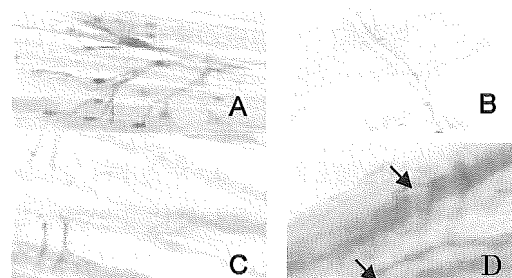


図 4 : 筋に分布する PGP9.5 陽性神経線維。A: 横紋筋線維に神経筋終板を形成するもの。B: 血管に沿って走行するもの。C: 横紋筋線維の間に分布するもの。D: P2X3(B)陽性神経線維 (矢印)。



図 5. 筋に分布する PGP9.5、陽性神経線維。腓腹筋の矢状断切片。

C-3. 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、TRPV1 や P2X3 陽性のものが見られた。

C-4. アジュバント顎関節炎に見られる圧痛における P2X3 受容体の役割

CFA 投与後 14 日間、顎関節炎を発症した顎関節において機械的圧刺激に対する閾値が低下した。(図 6)。

α , β me-ATP (P2X_{1,3,2/3} 作働薬) を投与すると、炎症側、対照側ともに顎関節の圧痛閾値が低下したが、 β , γ me-L-ATP (P2X₁ 作働薬) 投与群では閾値に変化を認めなかった。TNP-ATP (P2X_{1,3,2/3,1/5} 拮抗薬) および PPADS (P2X_{1,2,3,5,4/5,1/5} 拮抗薬) の投与により、炎症側の顎関節で閾値が上昇したが、対照側では閾値の変化は見られなかった(図 7)。

関節炎側の三叉神経節で小型の P2X₃R 陽性細胞が増加した(図 8)。また FG で標識された顎関節由来の知覚神経に P2X₃R 陽性のものが確認された。

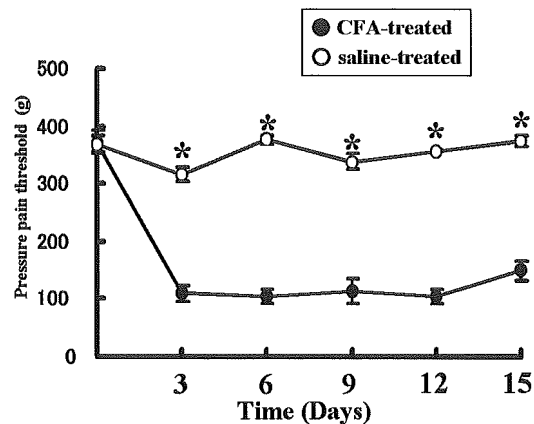


図 6. CFA または生理食塩水注入後の、顎関節の圧痛閾値の変化。*対照群に比較して $p < 0.05$ 。

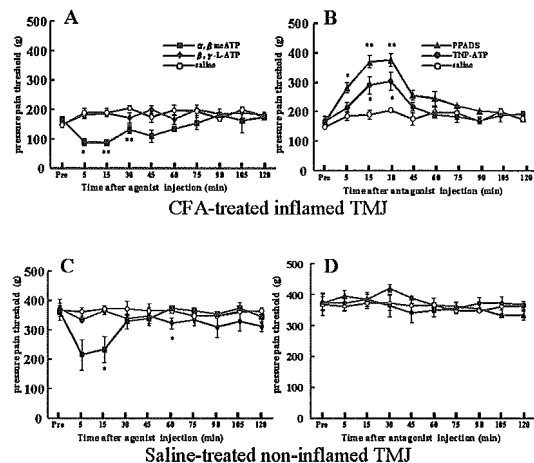


図 7. CFA(A, B)または生理食塩水(C, D)注入側の顎関節における圧痛閾値に対する ATP 受容体作働薬(A, C)と拮抗薬(B, D)の効果。圧痛閾値は受容体作働薬 α , β me-ATP によって低下するが、 β , γ me-L-ATP では変化がなかった(A, C)。一方圧痛閾値は炎症側の顎関節において (B)、受容体拮抗薬である PPADS でも TNP-ATP でも低下したが、対照側 (D) の顎関節では変化が見られなかった。

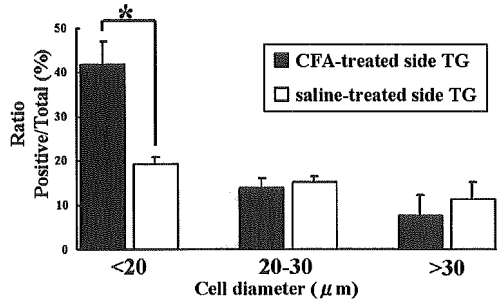


図 8. 三叉神経節における P2X3R 陽性細胞数。CFA 注入側の三叉神経節において P2X3 陽性の小型細胞の数が増加した。

C-5. シスプラチンによって引き起こされる痛覚過敏のメカニズムの解析

シスプラチンを投与された動物では対照群に比べ、足底部の von Frey テストで閾値が低下し(図 9A)、pin-prick テストで後肢の挙上時間が延長し(図 9B)、腓腹筋表面皮膚の von Frey テストで閾値が低下し(図 10A)、皮膚の機械的痛覚過敏が確認された。hot plate テストではシスプラチンを投与された動物では、侵害熱刺激に対して痛覚鈍麻を示した。腓腹筋の圧痛テストでは、シスプラチン投与群で対照群に比べて閾値の有意な低下を認め(図 10B)、また握力も低下し(図 11)、筋の痛覚過敏が示唆された。

シスプラチン投与群の DRG においては対照群と比べ、TRPV2(図 13B)、P2X₃(図 13C)、ASIC3(図 13D)陽性細胞数が有意に増加し、P2X₃(図 13C)と ASIC3(図 13D)は FG で標識された筋由来の DRG 細胞でも有意に増加していた(図 12)。

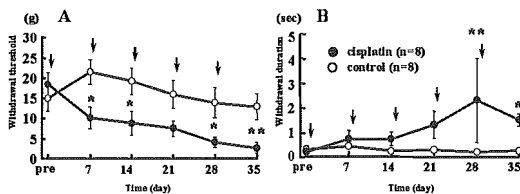


図 9. A: 足底部の von Frey テスト。シスプラチン投与ラットでは対照群に比べ有意に閾値の低下が見られた。B: 足底部の pin prick テスト。シスプラチンを投与された動物では後肢の挙上時間が延長した。

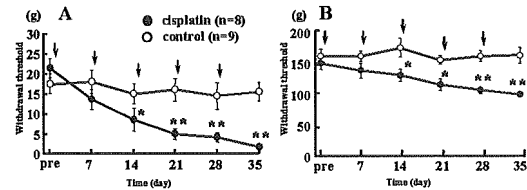


図 10. A: 腓腹筋表面の皮膚の von Frey テスト。シスプラチン投与ラットでは対照群に比べ有意に閾値の低下が見られた。B: 腓腹筋の圧痛テスト。シスプラチンを投与された動物で有意に閾値の低下が見られた。

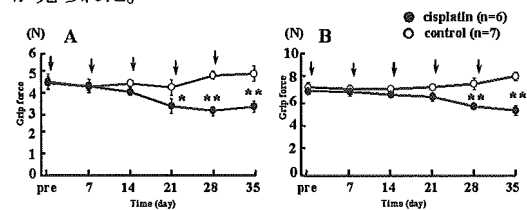


図 11. 握力テスト。シスプラチン投与ラットでは対照群に比べ有意に前肢 (A) および後肢 (B) の握力の低下が見られた。

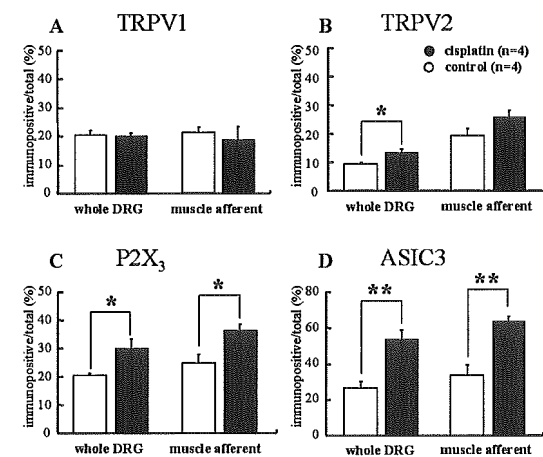


図 12. 後根神経節の全細胞と、FG で標識された腓腹筋由来の知覚神経細胞におけるイオンチャンネル

陽性細胞の割合。TRPV1 (A), TRPV2 (B), P2X3 (C), ASIC3 (D)陽性細胞の割合を示す。

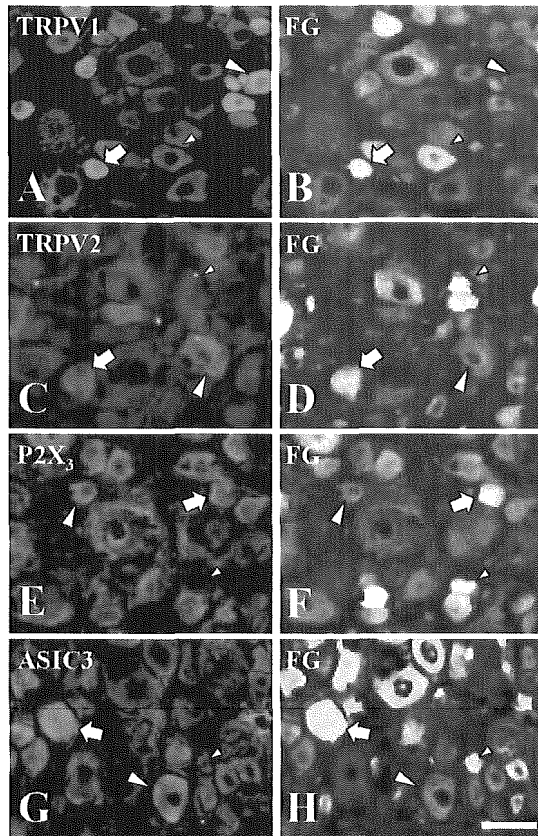


図 13. 後根神経節におけるイオンチャンネルの発現。4組の写真はそれぞれ TRPV1 (A), TRPV2 (C), P2X3 (E), ASIC3 (G), 陽性細胞と FG で標識された腓腹筋由来の知覚神経細胞を示す(B, D, F, H)。スケールは 50 μ m.

C-3. Carrageenan 筋炎によって知覚神経に発現するメディエーターの解析

腓腹筋の圧通テストでは Carrageenan 投与群と saline 投与群ともに、投与 12 時間後で閾値の低下が見られ痛覚過敏を示したが、Carrageenan 投与群は saline 投与群に比べさらに有意に低下していた。しかし、24 時間後では、Carrageenan、saline 両投与群で 閾値の回復が見られ、以後 5

週にわたって閾値の有意な変化は見られなかった(図 14)。

後根神経節における遺伝子発現については、ASIC (acid sensing ion channels) 1a, 1b, 2a, 2b, 3, TRPV-1, P2X3 においては発現量の変化は見られなかった(図 15)。

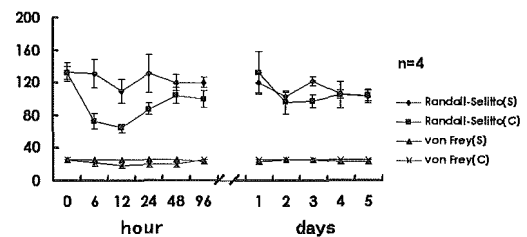


図 14. 腓腹筋の圧痛閾値と腓腹筋表面の皮膚の von Frey test.

Carrageenan 投与群(Randall-Selitto(C))では saline 投与群(Randall-Selitto(S))に比べ圧痛閾値が有意に低下していた。

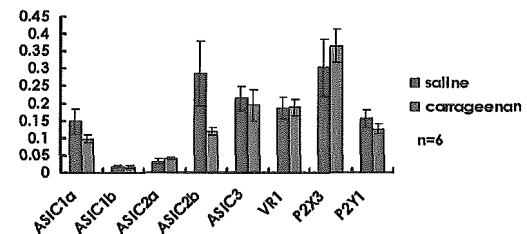


図 15. 後根神経節における遺伝子発現。Real time PCR. 今回調べた ASIC1a, 1b, 2a, 2b, 3, TRPV-1, P2X3 においては発現量の変化した遺伝子は同定できなかった。

D. 考察

D-1. 筋に分布する知覚神経の脊髄投射の実験

筋に分布する無髄求心性神経の脊髄内投射について調べた仕事は、我々の知りうる限りこれまで無く、今回の我々の報告が初めてと思われる。

腓腹筋に分布する筋 C 線維(group IV)の腰髄での分節の広がり、これまでの HRP などの注入による無髄有髄を含めた筋の求心性神経の脊髄投射を調べた実験の結果と同じであったが、(Mense and Craig 1988, Ritz et al., 1991)、脊髄後角における分布は明らかに異なり表層 I, II, III 層に限られていた。

筋に分布する無髄知覚神経の特徴をこれまでに明らかにされてきた皮膚や内臓に分布するものと比較すると、終末分布領域にある終末膨大の数で比較してみると、皮膚からの神経は主に I, II 層に神経叢を形成し、1 終末領域に 700~1500 個の終末膨大を数えた。一方内臓からの神経は I, II 層に皮膚からの神経の約 3 倍の 2500~4000 個の終末膨大を数えるが、終末分枝の数が多く、1 神経終末領域には 200~300 個の終末膨大を持つに過ぎない。これらの神経に比べ筋からの神経は、I, II 層にある終末膨大は 1500~3000 個の終末膨大を数えるが、神経叢の数が、内臓ほどは多くなく、2~3 領域なので、1 神経終末領域あたりの終末膨大は 500~1000 個に相当する。また、吻尾方向の領域の広がりを見ると、皮膚からの神経はほとんど数百マイクロンの狭い領域に展開するのみであるが、内臓からの神経は数分節、20mm にも及ぶ。一方筋からの無髄神経は数百マイクロンから数分節にわたるものまで様々であった。腓腹筋の C 線維(Group IV)の分節の広がりや脊髄後角における分布の多様性は、C-線維の伝えている感覚、あるいは末梢受容体の存在する組織の違いを表しているのかもしれない(図 16)。

D-2. 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. 特殊な構造をもたず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。知覚神経である CGRP 陽性の神経線維、皮膚の痛覚受容に参与している TRPV1、P2X3 陽性神経線維は特殊な構造をもたずに横紋筋線維の間に分布し、このタイプの神経線維が、筋の痛みの受容に参与していると思われる。

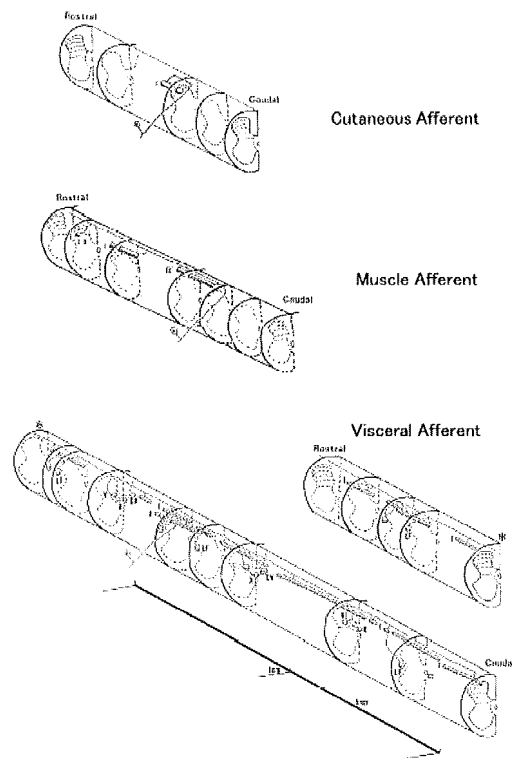


図 16 : 皮膚、筋、内臓に分布する無髄知覚神経線維の脊髄内投射様式。

D-3. 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、TRPV-1 や P2X3 を発現していた。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)。

D-4. アジュバント顎関節炎に見られる圧痛における P2X₃ 受容体の役割

筋骨格系の痛みを伴う疾患のひとつである顎関節症は、北米での統計によると成人の 10%に見られこれに伴う顎関節の痛みで苦しんでいるヒトが多い (Friction, 2004) が、そのメカニズムには不明な点が多い。本研究では顎関節症のモデルであるアジュバントによる慢性顎関節炎モデルラットを作成し、顎関節部の圧痛における P2X₃ 受容体 (P2X₃R) の役割を検討した。顎関節は三叉神経第二枝の枝の支配を受けるが、顎関節表面の皮膚は三叉神経第二枝と第三枝両方の支配を受ける。そこで通常の皮膚の痛覚の感受性を調べる von Frey テストや、輻射熱によるテストでは皮膚より深部にある顎関節の痛みを正確に把握することは困難と考えられる。我々は圧刺激により皮膚より深部にある顎関節の組織に機械的刺激を加え、関節炎における圧痛覚過敏を明らかにすることができた。顎関節痛の解析に本研究で用いた圧刺激は有効と思われる。

近年皮膚の侵害受容において ATP 受容体である P2X₃R が関わっていることが報告されている(Burnstock, 2000)。本研究では、ATP 受容体作働薬が圧痛閾値を低下させることから、ATP が顎関節の侵害受容器を感作し得ることを示した。また ATP 受容

体拮抗薬が顎関節炎において圧痛閾値を増大させることから顎関節炎の圧痛覚過敏には ATP とその受容体の関与が示唆された。また顎関節炎を作成すると、三叉神経節において P2X₃ 陽性細胞が増加することから、P2X₃R の増加が顎関節炎における圧痛覚過敏に関与していることが示唆された。

D-5. シスプラチンによって引き起こされる痛覚過敏のメカニズムの解析

種々の検査を行なっても特別な異常所見は認められないのに、筋に慢性的な痛みを訴える症候群である線維筋痛症候群や筋・筋膜性疼痛症候群は近年大きな問題となっている (Rudin, 2003)。筋・筋膜性疼痛症候群についてはそのメカニズムの仮説として神経因性疼痛で見られるような、筋の侵害受容器の感作も提唱されている(Itoh and Kawakita, 2002)。神経因性疼痛の患者においては筋などの軟部組織の圧痛を訴えることも多い (Wasner et al., 2002)。そこで本研究は慢性の筋痛との関連をふまえながら、神経因性疼痛のメカニズムを明らかにするために、その動物モデルの一つであるシスプラチン投与ラットにみられる痛覚過敏の検討を行った。その際皮膚の痛覚に加え、筋の痛覚についても検討した。

シスプラチンの反復投与により、用量依存的に皮膚に機械的痛覚過敏を観察することが出来た。また腓腹筋に対する圧痛テストで閾値の低下が見られた。カラゲニン筋炎のモデル動物における握力の低下は μ -opioid agonist や臨床上筋痛の治療に用いられる indomethacin などの投与により回復することから、握力の低下は筋炎による筋痛を反映していると考えられている(Kehl et al., 2000)。

本研究ではシスプラチン投与ラットで前後肢両方の握力測定を行った、シスプラチン投与によって握力低下の結果を得たことから、前述の圧痛テストの結果とあわせて、筋の痛覚過敏の存在が示唆された。

シスプラチンを投与されたラットの後根神経節で TRPV2、P2X₃ および ASIC3 の受容体が増加していたことからシスプラチンによる機械的痛覚過敏には TRPV2、P2X₃ や ASIC3 が関与していると考えられた。また筋由来の後根神経節細胞においても P2X₃ および ASIC3 の受容体が増加していたことからシスプラチン投与はこれらのイオンチャネルの変化に伴い、筋の知覚にも変化をもたらしていることが示唆された。

シスプラチンによる神経因性疼痛のメカニズムについては不明な点が多くこれまで DRG に選択的に apoptosis が起こることが報告されている (McDonald and Windebank, 2002)。今回侵害受容に関わるイオンチャネルの変化がシスプラチンを投与された動物の知覚神経で見られることがあきらかにできたことは、今後シスプラチンの神経因性疼痛のメカニズムの解明に大きく寄与すると思われる。

D-6. Carrageenan 筋炎によって知覚神経に発現するメディエーターの解析

Carrageenan 投与の 12 時間後ならびに 24 時間後に筋の機械的圧刺激に対する閾値の低下が見られ、筋の痛覚過敏が示唆されたが、その後 5 週にわたって観察しても閾値の変化は見られず、Carrageenan による痛覚過敏は急性で一過性なものと考えられた。

ラットの後根神経節には ASIC(1a, 1b,

2a, 2b, 3), TRPV-1, P2X₃ の mRNA の発現が確認されたが、カラゲニン筋炎動物モデルラットでは今回調べた範囲では mRNA の変化は見られなかった。Carrageenan による痛覚過敏は一過性であるので、mRNA の変化は関与していないのかも知れないが、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

筋の痛みの受容に重要と思われる筋の一次知覚神経の形態とメディエーターの発現を正常な動物動物で調べ、その変化を痛みの動物モデルで調べた。

筋の痛みの受容に重要な役割を果たしていると思われる筋に分布する無髄の知覚神経線維の脊髄への投射様式を、はじめて明らかにすることができた。筋に分布する無髄知覚神経線維は、その投射様式や終末膨大部の大きさや密度において、皮膚に分布する無髄知覚神経線維や内臓に分布するものの中間の特徴をもつことがわかった。これは、筋の痛みが、内臓の痛みと比べると、局在性がはっきりしているものの、皮膚の痛みと比べるとシャープではないことに関係しているものと考えられる。

また筋の知覚神経には、血管に沿って分布するものと、血管と無関係で骨格筋線維の間に分布するものがあり、この骨格筋線維の間に分布している神経線維はカプサイシンレセプター TRPV1 や ATP レセプター P2X₃ を発現し筋の痛みの受容に関与していると考えられた。

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】

- Abraham VC, Swett JE, The pattern of spinal and medullary projections from cutaneous nerve and muscle nerve of the forelimb of the cat: a study of using the transganglionic transport of HRP. *J Comp Neurol* 246: 70-84, 1986.
- Brushart TM, Henry EW, Mesulum M-M, Reorganization of muscle afferent projection accompanies peripheral nerve regeneration. *Neuroscience* 6: 2053-2061, 1981.
- Burnstock G: P2X receptors in sensory neurones. *Br J Anaesth* 84:476-488,2000
- Forsgren S, Bergh A, Carlson E, Thornell LE, Studies on the distribution of calcitonin gene-related peptide-like and substance P-like immunoreactivities in rat hind limb muscles. *Histochem J* 24: 345-353, 1992.
- Fricton JR: Temporomandibular Muscle and Joint Disorders. *Pain Clinical Updates*, XII, No. 2, June 2004
- Graven-Nielsen T, Mense S, The peripheral apparatus of muscle pain: evidence from animal and human studies. *Clin J Pain* 17:2-10, 2001.
- Hoheisel U, Lehmann-Willenbroch E, Mense S, Termination patterns of identified group II and III afferent fibres from deep tissues in the spinal cord of the cat. *Neuroscience* 28: 495-507, 1989.
- 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
- Kalia M, Mei SS, Kao FF, Central projections from ergoreceptors (C-fibers) in muscle involved in cardiopulmonary responses to static exercise. *Circ Res* 48: 48-62, 1981.
- Kehl LJ, Trempe TM, Hargreaves KM: A new animal model for assessing mechanisms and management of muscle hyperalgesia. *Pain* 85:333-343,2000
- 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.
- 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.
- 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
- 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.
- Mense S, Nociception from skeletal muscle in

- relation to clinical muscle pain. *Pain* 54: 241-289, 1993.
- Mense S, Light AR, Perl ER, 1981, Spinal terminations of subcutaneous high-threshold mechanoreceptors. In: Brown AG, Réthelyi M, editors. *Spinal cord sensation*. Edinburgh: Scottish Academic Press. p79-86.
- Öhlén A, Lindbom L, Staines W, Hökfelt T, Cuello AC, Fischer JA, Hedqvist P, Substance P calcitonin gene-related peptide: Immunohistochemical localization and microvascular effects in the rabbit skeletal muscle. *N-S Arch Pharmacol* 336: 87-93, 1987.
- Ritz LA, Bailey SM, Carter EL, Sparkes ML, Masson RL, Rohoton EL, Crossed and uncrossed projections to cat sacrocaudal spinal cord: II, Axons from muscle spindles primary endings, *J Comp Neurol* 304(1991)316-332.
- Rudin NJ: Evaluation of treatments for myofascial pain syndrome and fibromyalgia.. *Curr Pain Headache Rep* 7:433-442,2003
- Schafers M, Sorkin LS, Sommer C: Intramuscular injection of tumor necrosis factor-alpha induces muscle hyperalgesia in rats.. *Pain* 104:579-588,2003
- 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.
- 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.
- 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
- Xu GY, Huang LY, Peripheral inflammation sensitizes P2X receptor-mediated responses in rat dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci* 22:93-102, 2002.
- G. 研究発表
- G-1. 論文発表
1. Sugiura Y, Terminal organization of C-fiber afferents related with nociception or non-nociception. *Pain research* 17(1): 1-13, 2002.
 2. 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.
 3. 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 10th 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.
 4. 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.
5. 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.
 6. 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.
 7. 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.
 8. 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.
 9. 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
 10. 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
 11. 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
 12. 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)
 13. Shinoda M, Ozaki N, Asai H, Nagamine K, Sugiura Y, Alteration of trigeminal ganglion P2X3 receptor expression following monoarthritis of temporomandibular joint in the rat. *Pain* (in press)
- G-2. 学会発表
1. Ling L-J, Sugiura Y, Honda T, The Central Projection of Unmyelinated Afferent Fibers from the gastrocnemius muscle in guinea pigs. Abstracts, 10th world congress on pain, IASP Press, Seattle, 2002. p159.
 2. Ling L-J, Honda T, Sugiura Y, A comparative study of central projections from somatic, visceral and muscle C-afferent fibers. *Acta Anatomica Nipponica* 2002; 77(Suppl), p51.
 3. Ling L-J, Honda T, Sugiura Y,. The central projection of unmyelinated afferent fibers from gastrocnemius muscle in guinea pigs. *Neuroscience Research* 2001; 25(Suppl): S64.
 4. 凌 麗君、本多たかし、杉浦康夫、腓腹筋からの単一無髄神経の脊髄内終末の解析。日本疼痛学会誌 2001; 16: p105
 5. 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.
 6. Ushida T, Ozaki N, Ling L-J, Sugiura Y,

Peptidergic innervation of gastrocnemius muscle in the rat. Neuroscience Res 46 Suppl 1, S105, 2003.

特になし。

7. 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).
8. 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
9. 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.
10. 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
11. Fujii Y, Ozaki N, Sugiura Y, Expression of receptors in sensory neurons following carrageenan induced muscle hyperalgesia. Abstracts of 11th 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

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

研究要旨 高齢者の筋・骨格系の痛みに対する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。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日後に生じた。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、疼痛感や関節可動域改善に有用であることが判った。

また、バイブレーション刺激が筋痛発生の一要因となる筋緊張に与える影響をより定量的に示すため、振動刺激を体表面から深度条件を設定して与えた時の下腿三頭筋 H 反射振幅を測定した。その結果振動刺激を与えると H 反射振幅は抑制され、体表より深い深度ではその抑制の程度が有意に大きくなった。また、腰痛保持者は腰痛のない被験者に比べて抑制の程度が有意に悪かった。これらのことからバイブレーション治療は H 反射振幅を抑制し、筋緊張が低下することが推察された。

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では、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

高齢者では筋・骨格系の痛みは多く、女性では膝痛や骨粗鬆に基づく腰背痛が、男性では椎間板変性や脊椎変形に起因する脊柱管狭窄が多くを占めている。これらの疾患は痛みや変形のため日常生活活動(ADL)を制限し、それに伴う廃用症候を

招く。そのうえ、歩行能力と直結するため、意欲は低下し、生活の質(QOL)に大きな影響を与える。この悪循環のなかで、これら疾患は生活不活発病の原因ともなり、生活習慣病と並んで介護予防のなかで重要な課題と成っている。

疼痛が悪循環の始まりをなすと考えられ

るので、疼痛の除去が ADL や QOL の改善に役だつものと考え、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。

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 作成前後で徒手的治疗としてバイブレーション治療を実施し、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。さらにバイブレーション刺激の効果を定量的に評価するため刺激を与える深度を変えて効果を検討した。

第二段階(研究 2)では高齢者の筋・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疗法の効果を、介入を確実に実行できる介護老人保健施設通所者に実施した。その結果をもとに、膝関節痛を有する外来通院高齢者を対象に、運動療法が ADL や QOL に及ぼす影響を調査した。

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

1. DOMS に対するバイブレーション治療効果

対象：健常成人男女 24 名を対象とした予備実験を経て本実験に入った。本実験では健常成人男女 13 名 (平均年齢 20.9 歳) を対象とし、運動 1 日後すなわち DOMS 発生時に振動刺激治療を施すバイブ群 8 名とコントロール群 5 名に分けた。各項目測定者および治療者はそれぞれ別の験者があった。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。対象者には予めインフォームドコンセントをとり、了承を得た上で実施した。

方法：対象は非利き手の肘関節屈伸負荷運動を不可能になるまで行い、上腕二頭筋に DOMS を作成した。上肢の状態は肘関節可動域、疼痛および重だるさ感 (NRS)、上腕横断画像、筋硬度、圧痛閾値から評価した。評価は運動前後、運動 1、2、3 日および一週間後に実施したが、両群とも治療(あるいは臥位保持)を行った後にも測定した。

徒手的治疗には、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。統計処理には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。本研究には、安藤貴洋、井上貴行、上坂健太、塚本晋也、土利川崇洋、平澤純、山崎允、鈴木未来、松居宏樹、宮出亜矢子、森坂文子、吉本隆彦氏 (当時名古屋大学医学部保健学科学生) の協力を得て実施した。

2. 振動刺激の深さの違いが筋緊張に与える影響

対象：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) とした。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。

方法：対象の第 5 腰椎部の傍脊柱筋部にバイブレーターを体表面から離れた状態および体表 0、1、2cm の深さに固定して振動刺激を与えたときの下腿三頭筋 H 反射を測定 (それぞれ安静時 Vib、0cm Vib、1cm Vib、2cm Vib) した。また振動を加えず、圧迫のみ与えた時の H 反射も測定 (それぞれ押し込み 0cm、1cm、2cm) した。与える順番はランダムとし、M 波の最大値に対する H

反射振幅 (H/Mmax) を算出し、直前の何も刺激を与えない状態での H/Mmax との差を指標とした。統計処理には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)

本研究は名古屋大学環境医学研究所もしくは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

1. DOMS に対するバイブレーション治療効果

DOMS は全員に生じ、最大筋痛は運動 1 日後、筋痛消失は 3~7 日後だった。運動後の NRS や筋痛消失日は両群間で有意な差はなかった。能動運動時と最大伸展時の NRS は運動 1 日後有意に高値を示した。能動運動時の NRS に運動 1 日後の振動刺激は影響を与えなかった (図 1 上)。しかし、他動的最大伸展時の NRS は振動刺激により有意に低下した (図 1 下)。

バイブ群では振動刺激を加えて約 10 分後には、施術者の触診による筋緊張感の低下とともに被験者の主観的な感覚も改善傾向を示した。バイブ群では振動刺激後、圧痛閾値は低下した。しかしその後の圧痛閾値は治療群の方が回復が早い傾向があった。一方、同時間臥位保持したコントロール群からは、上腕が固まった感を訴えるものがいた。

2. 振動刺激の深さの違いが筋緊張に与え

る影響

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が、刺激を加えると H 反射の振幅は抑制された。その抑

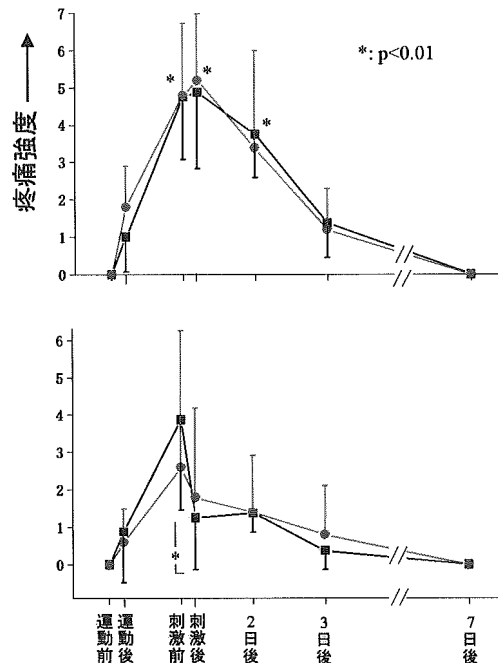


図 1 疼痛感覚の経時的変化

縦軸は、能動的に肘屈曲・伸展運動したときの疼痛 (上图)、最大伸展時の疼痛 (下图) の両群の平均。赤線がコントロール群、黒線がバイブ群である。疼痛は運動 1 日後に最大を示した。バイブ群では、バイブレーション治療により疼痛は有意に低下した ($p < 0.01$)。

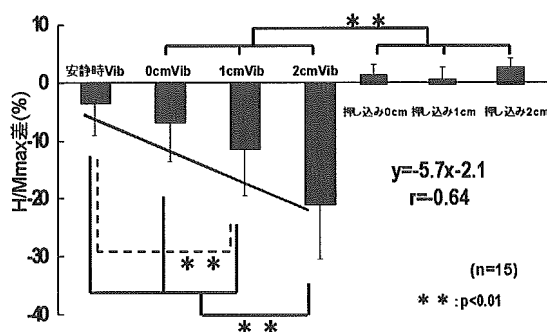


図 2 各条件刺激による H/Mmax 差

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 ($p < 0.01$)。

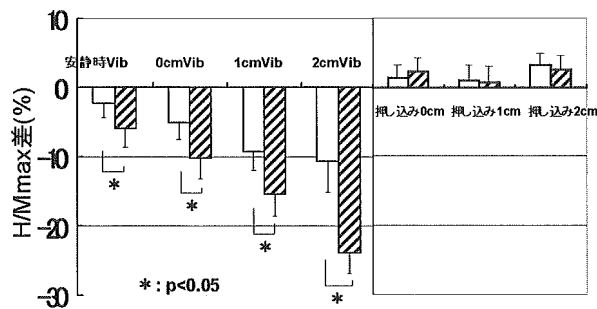


図3 腰痛群と非腰痛群における H/Mmax 差
軸は図2と同様。白棒が腰痛群(n=10)、斜線棒は非腰痛群(n=5)を示す。腰痛群はいずれの深さの振動刺激に対しても非腰痛群に比べて有意に抑制割合が低下した(p<0.05)。

制の程度は刺激深度を増すと増大し、深さと H 反射振幅抑制の間には負の相関関係 ($r=-0.64$, $p<0.0001$)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。

腰痛群と非腰痛群とでは、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(図 3、 $p<0.05$)。

D-1. 考察

Livingston が提唱した疼痛の悪循環では筋収縮と虚血が関与しているとされているが、DOMS も運動 1 日後の能動運動時痛や他動伸展時痛発生と関節可動域制限から筋収縮が関与していることがうかがえた。この状態の上腕二頭筋に行ったバイブレーション治療では他動伸展時の NRS は有意に低下し、徒手的治疗が DOMS の一部の疼痛に除痛効果があることが解かった。しかし、上腕二頭筋に与えたバイブレーション治療の刺激量は一定ではなかったため、

改めて刺激量を定量的にし、振動刺激が筋緊張に及ぼす影響を調べた。定量化の一つとして、バイブレーターを当てる深度を変化させ、筋緊張の間接的な指標として H 反射を測定した。H 反射は α 運動ニューロンの興奮性を示すものとして古くから神経学的な研究に用いられている。振動刺激によって、しかもより深度を深くすることによって H 反射の振幅は有意に抑制された。このことは、バイブレーション治療が筋収縮を抑える方向に働いていたことを示し、さらには除痛に結びつくものと考えられた。

腰痛群と非腰痛群で比較すると、ともに刺激深度が増せば H 反射振幅は抑制されたが、どの刺激深度においても腰痛群の方が抑制の程度は有意に悪かった。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ある。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を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

若年者の上腕二頭筋に DOMS を作成し、多角的に評価した。DOMS は運動 1 日後が最大であった。周波数 30Hz で振幅 8mm のバイブレーション治療により肘伸展時の疼痛は改善したが、圧痛閾値は低下した。しかし圧痛閾値は治療群の方が回復が早い

傾向があった。

バイブレーション治療を行う場合の刺激深度は、生体の体表面よりは筋の存在する深部に当てるほうがH反射振幅を抑制し、疼痛に影響を与える筋収縮を緩和するのに効果的と考えられた。

F-1. 結論

実験的筋痛に対するバイブレーション治療の効果を調べたところ、伸展時疼痛と筋硬度には効果的であった。

バイブレーション治療の刺激深度は体表面よりは筋に実施することでより筋緊張を低下させ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介護老人保健施設ちよだの通所リハビリテーション（以下、デイケア）を利用し、施設内を自立移動できる膝関節痛を有する高齢者 8 名（男性 2 名、女性 6 名、平均年齢 84.8 ± 5.8 歳）および国家公務員共済組合連合会東海病院に外来通院している 2 名（現在）を対象とした。デイケア通所者は全員が要介護度 1 であり、変形性膝関節症の荷重 X 線正面画像による grade 分類（横浜市大）によると、初期 3 名、末期 5 名であった。また、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かった。対象者には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。

方法：通所者では徒手的治疗法と運動療法のいずれかを原則として週 2 回で 3 週間行い、3 週間の無治療期間をはさみ、その後もう一方の治療を行った。その治療前後で評価・測定を計 4 回行った。外来通院者で

は運動療法のみを実施した。

徒手的治疗法：椅座位にて膝関節周囲筋に徒手圧迫によるストレッチを左右 5 分ずつ行った。

運動療法：通所者は椅座位にて足関節にゴムチューブ（株式会社共和製オーバンド #12 チュービング）を 8 の字に巻き、左右交互に 20 回ずつ膝関節を屈曲、伸展させて大腿四頭筋訓練を行った。外来通院者では背臥位で下肢伸展挙上運動 10 回を 1 セットとして、左右交互に 3 セット行った。

評価項目

包括的健康概念：健康関連 QOL 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)：自記式回答質問表である。内容は、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、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、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、家事と炊事の遂行困難度を問う 3 問、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、腫脹を点数化する他、10m 歩行速度などを記載する評価表である。

大腿四頭筋筋力：通所者には