

201325022A

厚生労働科学研究費補助金
地域医療基盤開発推進研究事業

鍼灸の作用機序に関する科学的根拠の確立と神経内科専門医と連携した
鍼灸活用ガイドラインの作成に関する研究

(研究課題番号：H24－医療－一般－023)

平成25年度総括・分担研究年度終了報告書

研究代表者 鈴木 則宏

(慶應義塾大学 医学部 神経内科)

平成26年(2014年)3月

厚生労働科学研究費補助金
地域医療基盤開発推進研究事業

鍼灸の作用機序に関する科学的根拠の確立と神経内科専門医と連携した
鍼灸活用ガイドラインの作成に関する研究

(研究課題番号：H24－医療－一般－023)

平成25年度総括・分担研究年度終了報告書

研究代表者 鈴木 則宏

(慶應義塾大学 医学部 神経内科)

平成26年 (2014年) 3月

目 次

I. 総括研究年度終了報告	1
---------------------	---

鍼灸の作用機序に関する科学的根拠の確立と神経内科専門医と連携した
鍼灸活用ガイドラインの作成に関する研究

鈴木 則宏 (慶應義塾大学医学部 神経内科 教授)

II. 分担研究年度終了報告	7
----------------------	---

1. 咬筋に対する慢性筋痛モデル作成の試み

伊藤和憲 齋藤真吾

(明治国際医療大学)

2. 皮質拡張性抑制に対する三叉神経の関与に関する研究

清水利彦 柴田 護 鳥海春樹

(慶應義塾大学)

3. 片頭痛・緊張型頭痛の鍼治療効果に関する研究

荒木信夫

(埼玉医科大学)

4. Arterial spin labeling を用いた鍼刺激が片頭痛患者の

脳血流に及ぼす影響 2

山口 智 荒木信夫

(埼玉医科大学)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	29
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別冊	37
-----------------------	----

I. 総括研究年度終了報告

鍼灸の作用機序に関する科学的根拠の確立と神経内科専門医と連携した
鍼灸活用ガイドラインの作成に関する研究

研究代表者 鈴木 則宏 慶應義塾大学医学部神経内科 教授

研究要旨

鍼治療は神経内科に関連する疾患を含めさまざまな疾病に効果を示すことが知られている。しかし鍼治療の有用性を検討した臨床試験は少なく、このため鍼治療の有用性を確立するためにはエビデンスの集積が必要と考えられている。さらに鍼治療が疾病に効果を示す作用機序についても未だ明らかにされていない。そこで神経内科の中でもっとも多い疾患の1つである頭痛を対象に、鍼治療が効果をきたす作用機序を探究することおよびガイドライン化に必要なエビデンスを集積することを目的として平成24年度より本研究を開始している。頭痛は、国際頭痛学会頭痛分類第2版において一次性頭痛と二次性頭痛に分類されている。二次性頭痛はくも膜下出血や外傷などの器質的疾患を有している症例に頭痛が生じるものである。一方、一次性頭痛は、慢性頭痛ともよばれ、片頭痛、緊張型頭痛および群発頭痛を含んでおり、本研究では一次性頭痛、中でも片頭痛および緊張型頭痛を対象に研究を進めている。初年度にあたる平成24年度には、三叉神経終末からの侵害刺激が片頭痛の病態に関与すると考えられている皮質拡延性抑制(cortical spreading depression; CSD)の発生に影響することを明らかにし、三叉神経の刺激が片頭痛発作の発生に影響を及ぼす可能性のあることを示した。さらにラットの顔面部および肩背部筋群においてトリガーポイントの作成が可能となり、本年度はマウスを用い三叉神経の支配域である咬筋にトリガーポイントを作成することを試みた。この動物を用いCSD発生閾値の変化をコントロールと比較した。この結果、咬筋にトリガーポイントを有する動物群ではCSDを発生させるのに必要なKCl溶液の濃度はコントロールと比較し低下していることを明らかにした。また、臨床研究においてガイドライン化に必要なエビデンスの集積を継続した。本年度における基礎研究の結果は、頭頸部に形成されたトリガーポイントが、頭痛に対して増悪因子として働く可能性を示す重要な知見と考えられた。

研究分担者

清水利彦 慶應義塾大学医学部神経内科専任講師

荒木信夫 埼玉医科大学医学部神経内科教授

柴田 護 慶應義塾大学医学部神経内科専任講師

山口 智 埼玉医科大学東洋医学センター講師

鳥海春樹 慶應義塾大学大学院政策メディア研究科

伊藤和憲 明治国際医療大学鍼灸学部准教授

特任准教授

A. 研究目的

鍼治療は多くの疼痛疾患に施行されており、一部の症例には効果を示すことが知られている。しかし鍼治療の有用性を確立するための臨床試験の質および量は不十分とされ、さらなるエビデンスの集積が求められている。また、鍼治療が効果を示す機序についても明らかにされていない。

我々は、神経内科の中でもっとも多い疾患の1つである頭痛を対象に、鍼治療が効果をきたす作用機序を解明することを目的として平成24年度より本研究をすすめている。

頭痛は、国際頭痛分類第2版において、大きく一次性頭痛および二次性頭痛の2つに分類されている。二次性頭痛はくも膜下出血や脳腫瘍など器質的疾患により頭痛を呈する疾患である。これに対し、一次性頭痛は、片頭痛、緊張型頭痛および群発頭痛などを含むものである。本研究では一次性頭痛、中でも片頭痛および緊張型頭痛を対象に研究を進めている。

片頭痛は、片側性・拍動性で、中等度から重度の強さもち、4~72時間持続する頭痛である。また動作による増悪を認め、随伴症状として悪心や光過敏・音過敏を有する疾患である。わが国における有病率は約8%とされ、患者の日常生活を大きく阻害するため社会的損失も大きい。片頭痛の病態については明らかにされていないが、皮質拡延性抑制 (cortical spreading depression; CSD) と呼ばれる現象が関与してのではないかと考えられている。CSDは、脳局所の神経細胞やグリア細胞の細胞膜に30~60秒の脱分極が生じた後、15分~30分間電氣的活動が抑制された状態が約2~3mm/分の速さで周囲に伝播する現象で、ヒトにおいても片頭痛発作前兆期に観察され、片頭痛発作への関与が明らかにされている。CSDが発生した後、三叉神経血管系の異常な活性化がおこり脳血管および脳硬膜動脈の拡張や脳硬膜の神経原性炎症により頭痛が生じると考えられている。

昨年度は、三叉神経終末に侵害刺激を関与するとCSDを発生させる閾値の低下することを報告し、三叉神経の刺激が片頭痛発作の発生に影響を及ぼす可能性を指摘した。一部の片頭痛患者では発作前に肩や頸部の筋肉のこりを自覚することが多く片頭痛の予兆として知られている。このことから昨年度に得られた知見は片頭痛の予兆として現れる肩こりが片頭痛誘発と関係する可能性を示唆するものと推察された。また、ラットの顔面部および肩背部筋群におけるトリガーポイントの作成も行い、片頭痛患者における予兆としての肩こりを実験的に作成することが可能となった。そこで本年度はマウスを用い三叉神経の支配域である咬筋にトリガーポイント作成を試みるとともに、この動物を用いCSD発生閾値の変化をコントロールと比較した。この研究は、実験的に作成した三叉神経領域のトリガーポイントがCSDにおよぼす影響を明らかにすることを目的として行うものである。同時に鍼治療を活用するためのガイドライン化に必要なエビデンスの集積についても継続した検討をおこなった。

B. 研究方法

③-1 動物モデル (トリガーポイントモデル) の確立

動物としてSprague-DawleyラットおよびC57Bl/6Jマウスを用いた。それぞれの動物の咬筋に伸張性収縮運動および虚血を加えトリガーポイントを作成し、圧痛に対する閾値の変化を検討した。なお圧痛点形成は筋電図と圧痛閾値の計測により確認した。さらに、この動物を用いCSDの発生閾値をコントロールと比較検討した。CSDの誘発にはKClを用い、0.025Mの低濃度より滴下して、CSDが発生したKCl濃度をその動物のCSD発生閾値とし各群で比較検討した。

③-2 人体における作用機序の解明

Arterial Spin Labeled MRIを使用し鍼治療前後で脳血流の変化をヒトにおいて検討した。また頭頸部筋群にトリガーポイントを認める頭痛症例において鍼治療によるトリガーポイントおよび頭痛の改善の有無についても検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験については、各施設の実験動物倫理委員会のガイドラインを遵守し、動物実験倫理委員会の承認を得て行われている。MRIによる血流解析法 (spin-labeled MRI) を活用した鍼灸治療効果検討法については倫理委員会の承認を得てUMINの「臨床試験登録システム」に登録されている (UMIN00005644)。

C. 研究結果

③-1 動物モデル (トリガーポイントモデル) の確立

トリガーポイントを咬筋に作成した動物では顔面皮膚の痛覚閾値に変化を認めず、一方、圧痛に対する閾値は作成後2日をピークに低下した。さらにこの圧痛に対する閾値の低下は虚血負荷により増強することを明らかにした (伊藤ら)。またトリガーポイントを咬筋に作成した動物群においてCSD発生の閾値をコントロールと比較すると低下していることを明らかにした (清水、柴田、鳥海)。

③-2 人体における作用機序の解明

片頭痛患者の発作間欠期における脳血流は健常者と異なる分布を示した。しかし鍼治療後は健常者に類似した分布を示す傾向を認めた (山口、荒木)。

これらの成果については、平成26年2月22日の厚生労働科学研究費補助金地域医療基盤開発推進研究事業「「統合医療」に関する研究」合同班会議 (世話人 明治国際医療大学 篠原昭二; 京都エミナース 平安の間) で報告するとともに、同日市民公開講座「厚生労働省: 地域医療基盤開発推

進事業; 病気とどのように向き合っていくのか?」を開催し一般市民にも報告した。

考察

本研究は、咬筋に作成したトリガーポイントがCSD発生閾値を変化させることを明らかにしたものである。すでに我々は、三叉神経終末に侵害刺激を加えるとCSD発生の閾値が低下することを示しており、これらの結果より頭頸部に形成されたトリガーポイントは三叉神経終末を介しCSD発生の閾値を低下させている可能性がある。本研究により、頭頸部に形成されたトリガーポイントは、片頭痛を増悪させている可能性が示唆された。これらの結果より、来年度はトリガーポイントを作成した動物においてCSDを発生させる閾値や睡眠リズムに対する影響について実験をすすめるとともに、鍼治療がこれらのパラメーターにおよぼす変化についても検討を加える。さらに臨床研究においてガイドライン化に必要なエビデンスの集積を継続する予定である。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Iwashita T, Shimizu T, Shibata M, Toriumi H, Ebine T, Funakubo M, Suzuki N. Activation of extracellular signal-regulated kinase in the trigeminal ganglion following both treatment of the dura mater with capsaicin and cortical spreading depression. *Neurosci Res.* 2013; 77: 110-9.
2. Sato H, Shibata M, Shimizu T, Shibata S, Toriumi H, Ebine T, Kuroi T, Iwashita T, Funakubo M, Kayama Y, Akazawa C, Wajima K, Nakagawa T, Okano H, Suzuki N. Differential ce

- llular localization of antioxidant enzymes in the trigeminal ganglion. *Neuroscience*. 2013; 248: 345-358.
3. 齊藤真吾, 伊藤和憲, 北小路博司. 咬筋へのマスタードオイル投与により引き起こされた口腔顔面痛に対する鍼通電の効果. *Pain Res*, 28: 167-176, 2013.
 4. 伊藤和憲, 齊藤真吾. 咬筋に対する遅発性筋痛モデル作成の試み. *慢性疼痛*, 32:177-182, 2013.
2. 学会発表
1. 海老根妙子、鳥海春樹、滝沢 翼、萱間洋平、黄 杏里、柴田 護、清水利彦、鈴木則宏. 脳硬膜の神経原性炎症における三叉神経侵害刺激の関与について. 2013年11月15日 盛岡. *日本頭痛学会誌* 40:333, 2013.
 2. 滝沢 翼、柴田 護、萱間洋平、海老根妙子、清水利彦、鳥海春樹、鈴木則宏. TRPV1刺激時の三叉神経脊髄路核におけるHMGB1発現誘導. 2013年11月15日 盛岡. *日本頭痛学会誌* 40:334, 2013.
 3. 滝沢 翼、萱間洋平、海老根妙子、鳥海春樹、岩下達雄、舟久保恵美、柴田 護、清水利彦、鈴木則宏. 三叉神経領域カプサイシン刺激時のTRPV1陽性ニューロンにおけるJNKのリン酸化. 第54回日本神経学会総会. 2013年5月31日東京.
 4. Ebine T, Toriumi H, Unekawa M, Funakubo M, Iwashita T, Shibata M, Shimizu T, Suzuki N. Changes in the threshold for potassium induced cortical spreading depression occurrence during the natural estrous cycle in mice. 16th Congress of the International Headache Society 2013 June 2013; Boston.
 5. Kayama Y, Shibata M, Takizawa T, Shimizu T, Toriumi H, Ebine T, Funakubo M, Iwashita T, Sato H, Suzuki N. Implication of TRPM8 in the TRPV1-mediated trigeminal nociception. 16th Congress of the International Headache Society 2013 June 2013; Boston.
 6. Iwashita T, Shimizu T, Shibata M, Toriumi H, Kayama Y, Ebine T, Takizawa T, Funakubo M, Suzuki N. Effect of cortical spreading depression on the phosphorylation of ERK in the trigeminal ganglion of rat. 16th Congress of the International Headache Society 2013 June 2013; Boston.
 7. Shibata M, Ebine T, Nagai T, Toriumi H, Shimizu T, Iwashita T, Funakubo M, Takizawa T, Kayama Y, Suzuki N. Capsaicin-induced nerve fiber degeneration in the spinal tract of the trigeminal nucleus. 16th Congress of the International Headache Society 2013 June 2013; Boston.
 8. 伊藤和憲, 内藤由規, 齊藤真吾. ラットを用いた伸張運動負荷による顎関節症モデル作成の試み. 第42回慢性疼痛学会 (東京), 114, 2013.
 9. 菊池 友和 専門医より依頼のあった片頭痛・緊張型頭痛の鍼治療効果 2013年11月 現代医療鍼灸臨床研究会
 10. 山口 智、菊池友和、小俣 浩、鈴木真理、松田博史、本田憲業、荒木信夫. ASL MRI を用いた鍼刺激が脳血流に及ぼす影響—片頭痛に対する鍼治療効果—. *日本頭痛学会誌*40巻2号 ; 337, 2013
- F. 知的所有権の取得
1. 特許取得 該当なし
 2. 実用新案登録 該当なし
 3. その他 該当なし

II. 分担研究年度終了報告

咬筋に対する慢性筋痛モデル作成の試み

明治国際医療大学 鍼灸学部 臨床鍼灸学教室 伊藤和憲、齋藤真吾

研究要旨

頭痛患者は顎関節症や顔面痛など三叉神経領域に何らかの痛みを有しているものが多く、頭痛との関連性が疑われている。実際、頭痛患者の咬筋を調べた研究では、咬筋に圧痛や痛みが存在する割合は高かった。しかしながら、これら咬筋の圧痛や痛みは一過性のものではなく、慢性的な痛みであることが多い。そこで、今年度は昨年作成した咬筋の遅発性筋痛モデル（急性モデル）を慢性化させる慢性痛モデルの作成を試みた。実験にはSD系雄性ラット12匹を用い、運動群、コントロール群の2群に無作為に割り振った。全てのラットは咬筋の血流を支配している頸動脈と頸静脈を部分的に縫合糸で結紮し、行動学的に異常がないことを確認した後、実験に用いた。実験は運動群では、咬筋に絶縁鍼電極を刺入し、40Hzで電気刺激することで筋肉を強縮させ、その筋肉を徒手的に引き伸ばす伸張性収縮運動を80回2セット行った。また、コントロール群では電気刺激のみとし、運動は行わなかった。なお、筋肉痛の評価は、von Freyと筋肉の圧迫のそれぞれの閾値を経時的に測定した。その結果、運動群では運動負荷1日後から筋肉の圧迫閾値が低下し、その閾値低下は4週間後まで継続した。しかしながら、von Freyの閾値に関しては、測定期間中変化しなかった。一方、コントロール群ではいずれの閾値にも変化は認められなかった。以上の結果から、咬筋を支配している頸動静脈を部分的に結紮することで、筋肉痛が慢性化する傾向にあることがわかった。

A. 研究目的

緊張型頭痛や片頭痛などを有する患者は、単に頭痛だけが存在するのではなく、肩こりや睡眠障害などの様々な症状を呈する。実際、頭痛患者に対する調査では、肩こりや顎関節症を有している患者の割合は高いとの報告もある一方、肩背部や顔面部の筋肉が頭部などに痛みを誘発することも知られている。このように筋肉に関連しておこる頭痛は関連痛といわれ、筋肉の索状硬結上に存在するトリガーポイントがその原因と考えられている。実際、緊張型頭痛や片頭痛患者の半数以上にトリガーポイントが存在しているとの報告があり、頭痛と肩背部や顔面部の筋痛には何らかの関係が

あるように思われる。さらに、顔面部や肩背部の痛みが軽減すると頭痛そのものが改善することが知られていることから、鍼灸治療では頭部の治療だけでなく、顔面部や肩背部の治療を行うことが多い。以上のことから、顔面部や肩背部の筋肉の状態と頭痛には何らかの関係があると考えられる。しかしながら、これらの関係を基礎研究において証明したことはなく、顔面部や肩背部の筋肉状態と頭痛の関係性に関する機序を説明することはできない。

一方、筋肉痛モデルに関しては様々なモデルが存在している。特に動物では、カラゲニンやマス

タードオイルなどの起炎物質を筋肉内に注入する筋炎モデルや、冷温刺激を繰り返し行うストレスモデル、さらにはエストロゲンのバランスを変化させるエストロゲンモデルなど様々なモデルが存在するが、いずれも全身的な痛みを引き起こすことから、肩こりや顎関節症のような限局した筋肉痛のモデルではない。その一方で、伸張性収縮運動を繰り返し行うことで運動を行った筋肉に限局して遅発性筋痛が出現することが知られており、肩こりや顎関節症のような限局した筋肉痛を作成するにはこの方法が適していると思われる。しかしながら、遅発性筋痛は1週間程度で痛みが改善することから、臨床で求められる痛みとは若干異なる。

そこで、頭痛と顔面部や肩背部の筋肉の痛みの関係性を検討するための前段階として、昨年作成した咬筋の遅発性筋痛モデルを応用して慢性的な筋肉痛モデルを作成し、筋痛モデルとして妥当であるか検討を行った。

B. 研究方法

1. 実験方法

実験にはSD系雄性ラット15匹（200-350g）を用いた。それぞれのラットは運動負荷1週間以上前からハンドリングを行い、その後運動群とコントロール群の2群に無作為に群分けした。

なお、本実験は明治国際医療大学動物実験倫理委員会（24-10：実験動物における頸部および顔面領域の遅発性筋痛作成の試み）の承認を得て行った。

2. 虚血モデルの作成

全てのラットは、麻酔下（50mg/kg, i. p.）で頸部を切開し、右側の頸動脈と頸静脈を縫合糸（ナイロン製）で部分的に結紮した。結紮の強さは、レーザードップラーにて筋血流が1/3程度低下する強さとし、その後切開部分を縫合し、2-3日程度行動学的に異常がないかを確認し、問題がないもの

のみ実験に用いた。

3. 運動負荷方法

ラットを軽度麻酔下（40mg/kg, i. p.）で自家製台に固定した状態で、絶縁針電極を経皮的に右咬筋に刺入し、電気刺激によって咬筋を強縮させた。咬筋が強縮すると口が閉じるため、その強縮した筋肉を他動的に元の位置まで10秒間かけて戻すことで咬筋または後頸部の筋肉を引き延ばすことで、伸張性収縮運動を行った。電気刺激（Interval:20ms, Duration:1ms, Train:500）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2セット（計160回）を行った。刺激の強度は5.0mA以下とし、5.0mA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。

なお、コントロール群に関しては鍼通電のみで筋肉を引き伸ばす伸張性収縮運動は行わなかった。

4. 測定項目

(1) von freyの測定

無麻酔下で顔面部または後頸部のみが露出されるように作成した専用ゲージにラットを固定し、咬筋部または後頸部の筋肉部分の皮膚表面にvon freyを押し当てたときに、ラットが逃避反射を示す閾値を測定した。測定は、軽いvon Freyから順番に重いvon Freyを押し当てていき、逃避反射が認められた閾値を確定し、その後、その閾値より重いvon Freyから順番に軽いvon Freyを押し当てることで同じ値にあるかを確認することで閾値を決定、これらの作業を計3回行うこととし、最終的な閾値を決定した。

(2) 筋肉の圧迫閾値

無麻酔下で顔面部または後頸部のみが露出されるように作成した専用ゲージにラットを固定し、咬筋部または後頸部の筋肉部分の筋肉を圧迫し、

逃避反射が認められる閾値を測定した。閾値の測定は、測定者の指先にひずみストレインゲージ(昭和測器社製)を装着し、1秒に約500gの圧が増加するようなスピードで目的とする筋肉を垂直に圧迫した時の閾値とし、計5回測定した。なお、押す方向やスピードにより閾値がばらつくことから、5回測定したうちの最大値と最小値を除外し、中央値3回の平均値を解析に用いた。なお、ひずみの単位は任意の単位AUとして評価した。

5. 実験プロトコール

各群のラットは購入後、1週間のトレーニング期間を経て、ランダムに2群に振り分けた。その後、運動負荷を開始する前に、①von Frey、②筋肉の圧迫閾値を無麻酔下で、③屈曲反射の誘発閾値をペントバルビタール麻酔下で行った。その後、運動負荷を行い、運動負荷1-3日後と1W-6Wまで毎回測定した。

6. 統計処理

データは平均値±標準偏差 (mean±S.D.) で示し、各群内の経時的変化を反復測定分散分析ののち、多重比較検定 (Dunnett test) を行った。また、各群間の比較には、各経時的変化のグラフを面積化することでエリア・アンダーザ・カーブの値を求め、Wilcoxon Signed ranks testを行った。

C. 研究結果

(1) 阻血に伴う影響

頸動脈と頸動脈をナイロンの縫合糸で部分的に結紮し、阻血を行った。その結果、阻血後1週間の範囲で行動学的に異常を示したラットや食事が減ったラットは認められなかった。また、皮膚の状態なども特に影響が認められなかった。しかしながら、阻血後数週間たつと、皮膚が乾燥したり、荒れたりするラットが一部存在した。

(2) 阻血下の運動負荷に伴う皮膚の閾値変化

昨年度、血流が正常な状態の動物で運動負荷を行った際、皮膚の痛覚閾値は運動反対側ともに変化は認められなかった。一方、阻血下で運動負荷を行った際、皮膚の閾値を継時的に測定したところ、運動負荷側においては、運動1日後に一部のラットで閾値が低下するものが認められたが、その影響は数日のみで、運動前と比べて統計学的に閾値の変化を認められなかった (図1A)。また、阻血のみを行ったコントロール群では皮膚の閾値に変化は認められなかった。一方、6週間の経時的変化を面積化したAUCの結果では、運動群とコントロール群で群間に差は認められず、両者に違いはなかった (図1B)。

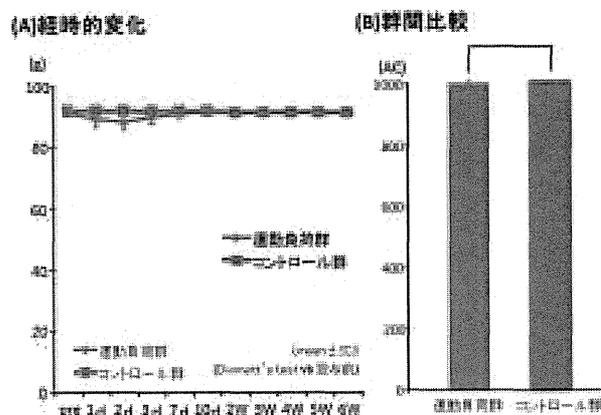


図1: 阻血下で運動負荷を行った際の皮膚痛覚閾値の経時的変化 (阻血側)

また、反対側の皮膚の痛覚閾値の変化を調べたところ、運動群とコントロール群に経時的変化は認められず、また群間にも差は認められなかった (図2)。

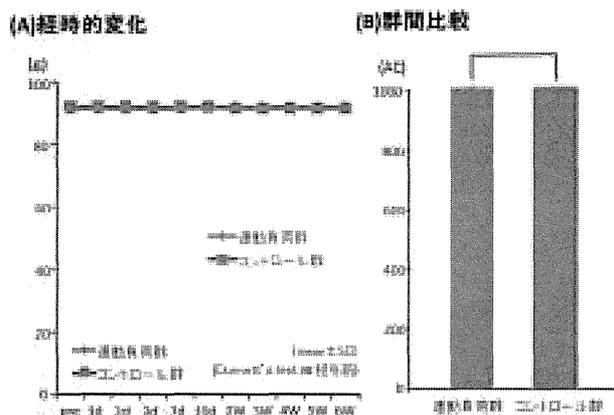


図2: 阻血下で運動負荷を行った際の皮膚痛覚閾値の経時的変化 (反対側)

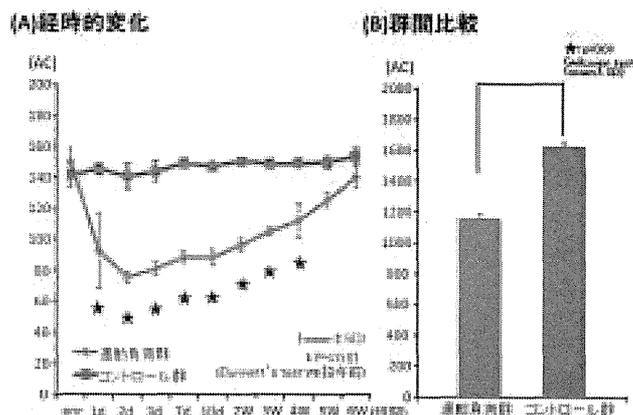


図3: 阻血下で運動負荷を行った際の筋肉痛覚閾値の経時的変化 (阻血側)

(3) 阻血下の運動負荷に伴う筋肉の閾値変化

昨年度、血流が正常な状態の動物で運動負荷を行った際、筋肉の痛覚閾値に変化は運動側のみ運動後から閾値が低下し、2日後に最も低下し、7日後には元に戻る傾向にあった。

一方、阻血下で運動負荷を行った際、筋肉の閾値を継時的に測定したところ、運動負荷側の筋肉の痛覚閾値は、運動負荷直後から低下し、運動後4週間程度筋肉の閾値低下は継続した ($p < 0.01$, Dunnett test: 図3)。しかしながら、コントロール群の痛覚閾値には変化が認められず、測定期間を通じて同じ閾値であった。また、運動群とコントロール群の経時的変化を面積化したAUCでは、運動群とコントロール群に統計学的に有意な差が認められ、運動負荷群で閾値が低下している傾向にあった ($p < 0.01$, Wilcoxon test)。

また、反対側の筋肉の痛覚閾値の変化を調べたところ、運動群では運動負荷後に閾値が多少低下する傾向はあったものの、コントロール群とともに経時的変化は認められず、また群間にも差は認められなかった (図4)。

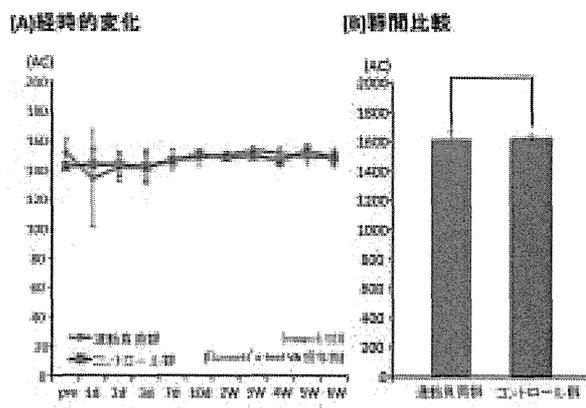


図4: 阻血下で運動負荷を行った際の筋肉痛覚閾値の経時的変化 (反対側)

考察

頭痛患者では、頭痛以外に肩こりや顎の痛みなど、頭痛と直接関係ないと思われる痛みを訴える

割合が多いことが報告されている。実際、頭痛患者の頸部や顔面部の筋肉にはトリガーポイントと呼ばれる筋肉の痛みの原因部位が存在することが報告されており、トリガーポイントが活性化したり、トリガーポイントの数が多き患者では、頭痛が重篤化しやすい傾向にあることが知られている。その一方で、これらの部位を鍼などで治療すると頭痛が軽減することも知られており、その臨床的な報告は数多い。そのため、頭痛の変化には後頸部や肩背部、さらには顔面部の筋肉の状態が大きく関与している可能性があり、頭痛の慢性化の一要因とも考えられる。そこで、前年度の研究では頸部や顔面部に筋肉痛を作成し、その評価方法などを検討した。しかしながら、前年度作成した筋肉痛は遅発性筋痛と呼ばれる急性筋痛であり、実際の頭痛患者で認められる慢性的な筋肉痛である筋・筋膜疼痛症候群とは大きく異なる。そこで、今年度は頸部または顔面部に慢性的な筋肉痛を作成することを試みた。

一般的に、遅発性筋痛のような急性の筋肉痛が筋・筋膜疼痛症候群のような慢性の筋肉痛に発展するには、様々な要因が関与していることが報告されている。例えば、顎関節症や緊張型頭痛は女性が多いことから、エストロゲンなどの性ホルモンが関与している可能性があるとする性ホルモン説や、局所の筋血流の障害が悪循環を起こしているとする悪循環説、さらには精神的・物理的ストレスの繰り返しが慢性的な筋痛を引き起こすとするストレス説などが存在する。そのため、動物モデルでは、高張食塩水を繰り返して投与する高張食塩水モデル、低温と高温を交互に与えることで精神的ストレスを起こすストレスモデル、強い筋炎を引き起こす筋炎モデルなど様々なモデルが提唱されている。しかしながら、いずれのモデルも局所的な筋肉の閾値低下というよりは、全身性の筋肉の閾値低下となること、また筋肉の閾値だけでなく皮膚の閾値も低下することなどから、筋・筋膜疼痛症候群のモデルというよりは線維筋痛症の

モデルに近いと、頭痛患者で臨床的によく遭遇する肩こりや顎関節症などの慢性的な筋痛と一部異なることもある。そこで、注目されるのは局所的な筋肉への血流障害である阻血モデルである。

頭痛患者の増悪因子にはストレスが関与していることは言うまでもないが、ストレスは頸部や顔面部の筋緊張を引き起こすとともに、その筋緊張は局所の血流障害を引き起こす。このことから考えると血流障害が筋痛の慢性化を引き起こすことは臨床的に考えても自然である。そこで、今回は咬筋をターゲットに、咬筋を支配する頸動脈と頸静脈を部分的に結紮し、運動負荷を行うことで筋肉痛が慢性化するかについて検討を行った。その結果、阻血を行わない正常な運動群で運動負荷直後から筋痛が出現し、2日目にピークをむかえ、7日後に元に戻ったが、阻血下で運動を行った群は、運動直後から筋肉の閾値は低下し、その低下は運動負荷後4週間まで継続した。また、阻血下の運動負荷により筋肉の閾値は低下するものの、皮膚の閾値は殆ど変化しなかった。以上のことから、阻血が筋肉の血液循環を阻害し、痛みを慢性化させている可能性があるものと考えられた。阻血が筋肉痛を慢性化させる要因としては、①阻血下での運動は強烈な痛みを伴うことから脊髄などの可塑的变化を引き起こしやすく、慢性化しやすい可能性、②血流の障害は筋痛の回復を遅らせる可能性があることから筋痛が延長する可能性などが考えられている。しかしながら、今回の阻血は正常な筋血流量の1/3程度の低下であることから、②の可能性は低く、①の阻血下の運動が強烈な痛みを引き起こし、脊髄の可塑的变化を導いたものと考えられた。

以上のことから、筋肉痛の慢性化には筋肉への血流が大きく関与しており、阻血などは痛みを慢性化させる可能性があると考えられた。

結論

今回、頸動脈と頸静脈を部分的に結紮すること

で咬筋に慢性的な筋肉痛を作成することを試みた。その結果、通常では3日程度で消失する筋肉痛が、阻血下で運動することに3週間近くも持続することとなった。以上のことから、阻血は筋肉痛を慢性化する1つの要因であり、筋肉の血流状態は筋肉の痛みにおいては重要であると考えられた。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 著書

- 1) 伊藤和憲. 痛みが楽になるトリガーポイントストレッチ&マッサージ. 緑書房, 2013.
- 2) 伊藤和憲. 痛みが楽になるトリガーポイント筋肉トレーニング. 緑書房, 2013.
- 3) 伊藤和憲. 症状から治療点がすぐわかる! トリガーポイントマップ. 医道の日本, 2013.

2. 論文

- 1) Itoh K, Saito S, Sahara S, Naitoh Y, Imai K, Kitakoji H. Randomized trial of trigger point acupuncture treatment for chronic shoulder pain: A preliminary study. J Acupunct Meridian Stud, in press.
- 2) 齊藤真吾, 伊藤和憲, 北小路博司. 咬筋へのマスタードオイル投与により引き起こされた口腔顔面痛に対する鍼通電の効果. Pain Res, 28(3): 167-176, 2013.
- 3) 伊藤和憲, 齊藤真吾. 咬筋に対する遅発性筋痛モデル作成の試み. 慢性疼痛, 32(1):177-182, 2013.
- 4) 齊藤真吾, 伊藤和憲. 炎症モデルの違いによる広汎性侵害抑制調節の効果の検討. 慢性疼痛, 32(1):171-176, 2013.

5) 内藤由規, 齊藤真吾, 伊藤和憲. 顔面部の圧痛と身体の痛みに関連性があるか? 慢性疼痛, 32(1):207-212, 2013.

6) 伊藤和憲, 内藤由規, 佐原俊作, 齊藤真吾. 鍼灸刺激による脳内物質の変化から神経内科領域の可能性を探る. 神経内科, 78(5):543-549, 2013.

3. 学会発表

- 1) 伊藤和憲, 内藤由規, 齊藤真吾. ラットを用いた伸張運動負荷による顎関節症モデル作成の試み. 第42回慢性疼痛学会(東京), 114, 2013.
- 2) 齊藤真吾, 伊藤和憲. 筋痛モデルの違いによる広汎性侵害抑制調節の効果. 第42回慢性疼痛学会(東京), 113, 2013.
- 3) 内藤由規, 齊藤真吾, 伊藤和憲. 顔面部の圧痛と身体の痛みに関連性はあるか? 第42回慢性疼痛学会(東京), 125, 2013.
- 4) 伊藤和憲, 内藤由規, 齊藤真吾. 線維筋痛症患者に森林セラピーを取り入れることの臨床的意義. 第42回慢性疼痛学会(東京), 83, 2013.
- 5) 伊藤和憲. 線維筋痛症患者にヨガを指導することの臨床的意義. 日本ペインクリニック学会, 20(3):43-44, 2013.
- 6) 内藤由規, 齊藤真吾, 佐原秀作, 伊藤和憲. 美容鍼(ローラー鍼)が身体の痛みを変化させるか? 第62回全日本鍼灸学会抄録集, 136, 2013.
- 7) 伊藤和憲, 内藤由規, 佐原秀作, 齊藤真吾. 美容鍼が線維筋痛症患者の痛みに与える影響. 第62回全日本鍼灸学会抄録集, 133, 2013.
- 8) 伊藤和憲. ラットの咬筋を用いた遅発性筋痛モデル作成の試み. Pain Res, 28(2):86, 2013.
- 9) Itoh K, Saito S, Naitoh Y, Imai K, Kitakoji H. Randomised trial of cosmetic facial acupuncture on fibromyalgia: A preliminary study for a pragmatic trial. Internal Scientific Acupuncture and Meridian studies, 31, 2013.

- 10) Saito S, Itoh K, Kitakoji H. Electrical acupuncture reduces mustard oil-induced craniofacial pain in rats. Internal Scientific Acupuncture and Meridian studies, 41, 2013.
- 11) Itoh K, Saito S, Sahara S, Naitoh Y, Imai K, Kitakoji H. Randomized Trial of Trigger Point Acupuncture Treatment for Chronic Shoulder Pain (Frozen Shoulder): ~A Preliminary Study~. Internal Scientific Acupuncture and Meridian studies, 22, 2013.

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

皮質拡延性抑制に対する三叉神経の関与に関する研究

研究分担者 清水利彦 柴田 護 鳥海春樹 慶應義塾大学 医学部 神経内科

研究要旨

片頭痛発作の病態に関与するとされている皮質拡延性抑制（cortical spreading depression : CSD）と三叉神経の関係を検討した。CSDの三叉神経節におよぼす影響を検討するため、CSD誘発直後およびCSD発生30分後の三叉神経節におけるextracellular signal-regulated kinase（ERK）リン酸化の程度をコントロール群と比較した。CSD誘発30分後における三叉神経節のERKリン酸化レベルは、ERK1が 1.82 ± 0.48 、ERK2が 2.97 ± 0.76 とコントロール群およびCSD誘発直後（ 1.12 ± 0.45 ; ERK1, 1.24 ± 0.63 ; ERK2）と比較し有意な増加を示した（ $p < 0.05$ ）。またtransient receptor potential vanilloid subfamily, member 1 (TRPV1) 受容体拮抗薬であるcapsazepineの髄腔内投与を行なった群では、三叉神経節におけるERKリン酸化レベルは、ERK1が 0.23 ± 0.35 、ERK2が 0.35 ± 0.43 とコントロール群と比較し有意に低値を示した（ $p < 0.05$ ）。一方、三叉神経がCSD発生の閾値におよぼす影響を調べるため咬筋にトリガーポイントを咬筋に作成した動物においてCSDを発生させるKCl濃度を測定した。この結果トリガーポイントを咬筋に作成した動物ではCSDを発生させる閾値がコントロールと比較し低値を示した。本研究により我々はCSDが三叉神経節を活性化させるとともに三叉神経を介した刺激がCSDを発生させる閾値を低下させることを明らかにした。

研究分担者

清水利彦 慶應義塾大学医学部神経内科 専任講師

柴田 護 慶應義塾大学医学部神経内科 専任講師

鳥海春樹 慶應義塾大学大学院政策メディア研究科

特任准教授

A.研究の目的

皮質拡延性抑制（cortical spreading depression; CSD）は、片頭痛発作における前兆に関与していると考えられている。さらにCSDが三叉神経血管系の活性化に働き片頭痛における頭痛の発生にも重要な役割を果たしている可能性も指摘されているが統一した見解は得られていない。我々は、脳硬膜に侵害刺激の受容体であるtransient receptor potential vanilloid subfamily, member 1 (TRPV1) 受容体が存在することを示し、さらにTRPV1受容体アゴニストのcapsaicinを投与すると三叉神経節においてextracellular signal-regulat

ed kinase（ERK）のリン酸化が生じることを明らかにした。そこで今回CSDと三叉神経血管系活性化の関係を明らかにするため、CSDの三叉神経節におけるERKリン酸化に対する影響について検討した。

一方、我々は三叉神経末梢の侵害刺激がCSDを発生させる閾値を低下させることも明らかにしている。そこで三叉神経に支配される咬筋にトリガーポイントを作成した動物においてCSDを発生させる閾値の変化の有無についても検討した。

B. 研究方法

1. CSDが三叉神経節におよぼす影響

(1) Sprague-Dawley ラットの脳表に、デンタルセメントを用いDC電極を設置した。動物は、1MのKClを脳表に滴下しCSD出現直後 (group-2; n = 5)およびCSD出現30分後 (group-3; n = 5) に三叉神経節を摘出した群およびKClの代わりに生理食塩水を脳表に滴下し、30分間の経過観察の後、三叉神経節を摘出したコントロール群 (group-1; n = 5) の3群に分類した。摘出した三叉神経節にwestern blotting を行ないphosphorylated ERK (pERK) およびtotal ERK の検出を行った。さらに得られた各bandについてリン酸化の程度(pERK/total-ERK)をdensitometryで定量化した。

(2) Sprague-Dawley ラットをTRPV1受容体拮抗薬であるcapsazepine (50 nM) の髄腔内投与群 (group-5; n = 5) およびvehicle (20% DMSO) の髄腔内投与群 (group-4; n = 5) の2群に分けた。各群の動物の脳表に、デンタルセメントを用いDC電極を設置し、髄腔内投与30分後に1MのKClを脳表に滴下した。CSD出現30分後に三叉神経節を摘出しwestern blotting にてpERKおよびtotal ERK の検出を行いリン酸化の程度をdensitometryで定量化した。

2. 三叉神経のCSD誘発に対する影響

C57BL6/J雄性マウス (8週齢・22~25g) 12匹を①コントロール群 (当日CSD計測 n = 4) , ②コントロール群 (2日後CSD計測 n = 4) および③トリガーポイント作成群 (2日後CSD計測 n = 4) の3群に分類した。①~③群のマウスをイソフルラン吸入麻酔下 (1.2%/400ml/min) で定位固定器に固定し保温パット上に背臥位で静置した。両咬筋に絶縁鍼電極 (ステンレス絶縁電気鍼, 株式会社 松葉) を経皮的に刺入し, ③群に対して低周波通電器 (LFP7000, 株式会社 全医療器) で通電し, 咬筋を強縮させた。咬筋の強縮により強く咬合した

マウスの口をペアンで開口させ, 伸張性収縮刺激を加えた。この操作を5分間に80回繰り返し, 咬筋のトリガーポイントを作成モデルとした。①, ②群については, 麻酔下での絶縁鍼刺入のみで通電を行わず, コントロール群とした。①群の動物は前述の操作直後にCSD発生閾値を計測し②, ③群の動物は慶應動物センターで2日間の飼育後CSD発生閾値を計測した。頭皮を切開し露出した頭頂骨にデンタルドリルを使用して直径0.5mmの微小孔を2つ形成した。微小孔の位置は, Bregma外方2mm, 尾側2mmおよび4mmに統一した。尾側2mmの微小孔に対してデンタルセメントを用いDC電極を設置し測定した。尾側4mmの微小孔は, デンタルセメント (UniFil LoFlo, 株式会社ジーシー) で孔を囲ってCupを作成し, KCl投与ルートとした。この投与ルートへ0.1M~0.5Mまで0.025M毎に濃度を振ったKCl溶液を低濃度のものから順に満たしていき, それぞれ5分間の静置観察の間にCSDが発生したKCl濃度をその動物のCSD発生閾値とした。

(倫理面への配慮) なお本研究は慶應義塾大学動物実験倫理委員会の承認を得て行われた。

C. 研究結果

1. CSD が三叉神経節におよぼす影響

CSD誘発30分後 (group-3) における三叉神経節のERKリン酸化レベル(pERK/total-ERK)は, ERK1が 1.82 ± 0.48 (mean \pm SD), ERK2が 2.97 ± 0.76 とコントロール群 (group-1) およびCSD誘発直後 (group-2; 1.12 ± 0.45 (ERK1), 1.24 ± 0.63 (ERK2) と比較し有意な増加を示した (図1; $p < 0.05$) .

TRPV1受容体拮抗薬であるcapsazepineの髄腔内投与を行なった群 (group-5) では, 三叉神経節のERKリン酸化レベル(pERK/total-ERK)は, ERK1が 0.23 ± 0.35 , ERK2が 0.35 ± 0.43 とコントロール群 (group-4) と比較し有意に低値を示した (図2; $p < 0.05$) .

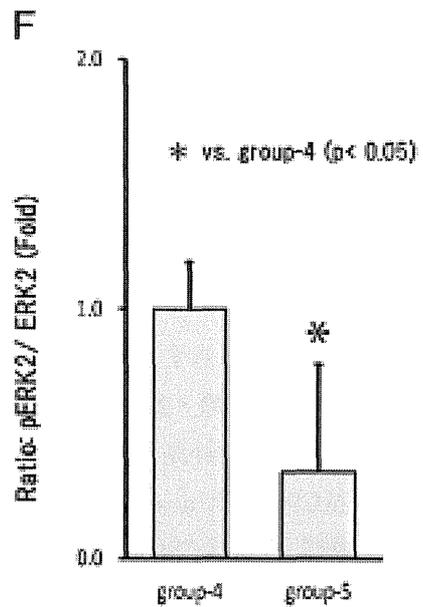
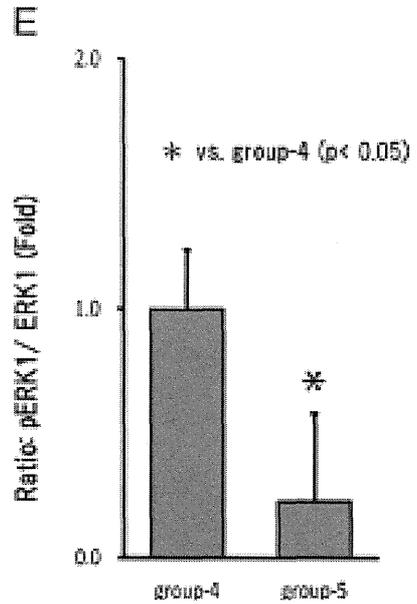
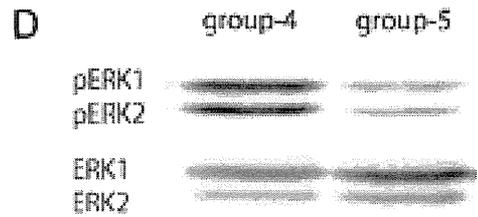
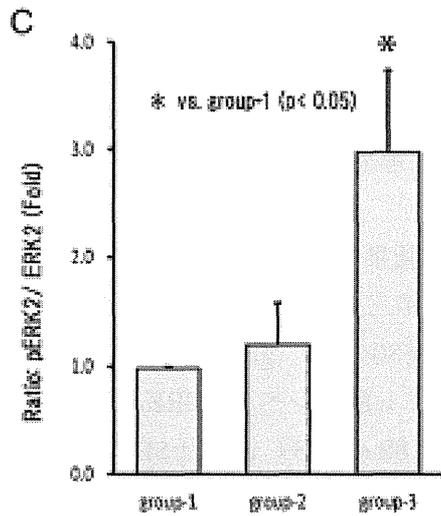
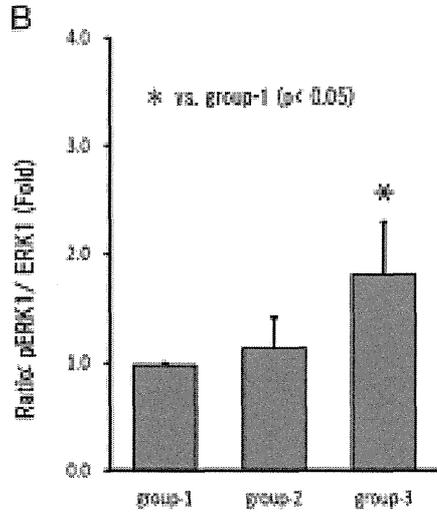
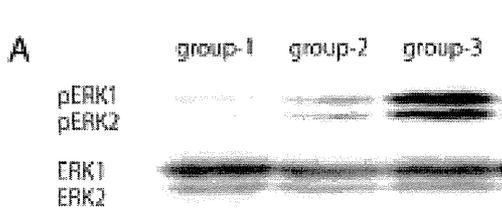


図 1 : CSDが三叉神経節におよぼす影響. CSD誘発30分後 (group-3) における三叉神経節のERKリン酸化レベルは, コントロール群 (group-1) およびCSD誘発直後と比較し有意な増加を示した($p < 0.05$).

図 2 : TRPV1受容体拮抗薬であるcapsazepineの髄腔内投与を行なった群 (group-5) では, 三叉神経節のERKリン酸化レベルは, コントロール群 (group-4) と比較し有意に低値を示した($p < 0.05$).

2. 三叉神経のCSD誘発に対する影響

①コントロール群（当日CSD計測）のCSD発生閾値は 0.28 ± 0.01 M (mean \pm SD), ②コントロール群（2日後CSD計測）では 0.28 ± 0.02 Mで両群間においてCSD発生閾値には有意差を認めなかった。③トリガーポイント作成群（2日後CSD計測）のCSD発生閾値は 0.21 ± 0.05 Mであり①コントロール群（当日CSD計測）と②コントロール群（2日後CSD計測）との間に有意な低下が観察された（図3； $p<0.05$ ）。

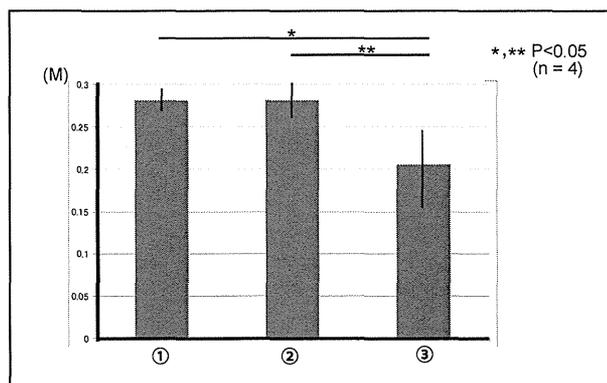


図3：三叉神経のCSD誘発に対する影響。③トリガーポイント作成群のCSD発生閾値は①コントロール群（当日CSD計測）と②コントロール群（2日後CSD計測）と比較し有意な低下を示した（ $p<0.05$ ）。

考察

ERKは細胞内シグナルカスケードのモジュールとして知られているmitogen-activated protein kinase (MAPキナーゼ) の代表的なサブファミリーの1つで、感覚神経末梢に分布するTRPV1受容体を刺激すると脊髄後角や後根神経節でERKリン酸化が観察されることが報告されている。我々は脳硬膜に分布するTRPV1受容体に侵害刺激を加えると三叉神経節においてERKリン酸化がおこることを報告した。この実験系を発展させ本研究を行い、CSD誘発後三叉神経節においてERKリン酸化がおこり、さらにTRPV1受容体アンタゴニストがこの反応を抑制したことを明らかにした。この結果 CSDによ

り三叉神経節が活性化される過程においてTRPV1受容体が関与している可能性が明らかとなった。片頭痛の発生機序としてCSDが惹起され、その後、三叉神経血管系の活性化がおこり頭痛が生じる可能性が考えられている。しかしCSDと三叉神経活性化の関係についていまだに統一した見解は得られていない。このため本研究により我々の得られた知見は片頭痛発生機序の病態に重要な示唆を与えるものと考えられる。

上記の結果に加え、本研究は咬筋に作成したトリガーポイントがCSD発生閾値を変化させることも明らかにした。すでに我々は、三叉神経終末に侵害刺激を加えるとCSD発生の閾値が低下することを示しており、これらの結果より頭頸部に形成されたトリガーポイントは三叉神経を介しCSD発生の閾値を低下させている可能性があるかと推察される。片頭痛患者では頭痛発作があらわれる前に肩こりや後頸部筋のこりを自覚することがあり、このような症例に鍼治療を行うと、肩こりのみならず頭痛の改善も認められることが知られている。本研究により得られた知見はこのような現象の解明に役立つ可能性を有しているだけでなく、鍼治療が片頭痛に効果を示す作用機序の検討にも重要な役割を有していると推察される。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

- Iwashita T, Shimizu T, Shibata M, Toriumi H, Ebine T, Funakubo M, Suzuki N. Activation of extracellular signal-regulated kinase in the trigeminal ganglion following both treatment of the dura mater with capsaicin and cortical spreading depression. *Neurosci Res.* 2013; 77: 110-9.

- Sato H, Shibata M, Shimizu T, Shibata S, Tori