

. 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・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、その閾値より軽いvon Freyから順番に軽いvon Freyを押し当てて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、von Frey、筋肉の圧迫閾値を無麻酔下で、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の分散分析のち、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量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)。

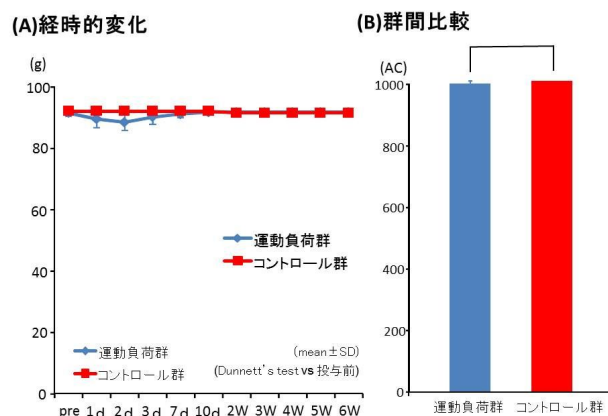


図1: 阻血下で運動負荷を行った際の皮膚痛覚閾値の経時的変化(阻血側)

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)。

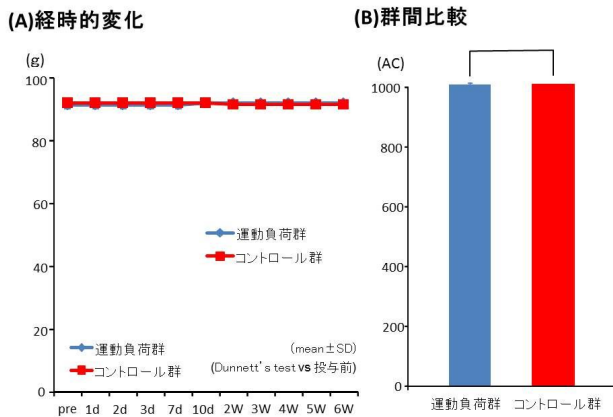


図2: 阻血下で運動負荷を行った際の皮膚痛覚閾値の経時的変化 (反対側)

(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)。

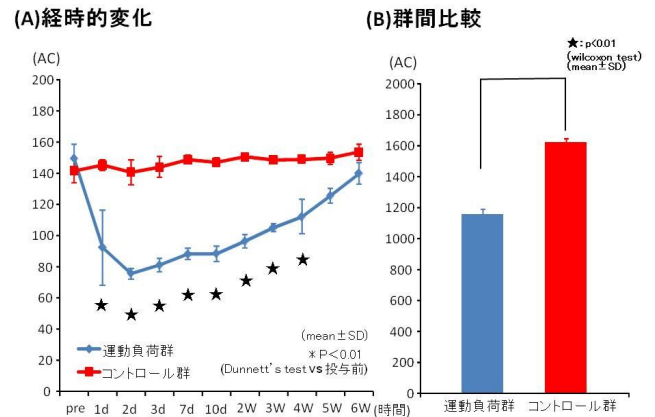


図3: 阻血下で運動負荷を行った際の筋肉痛覚閾値の経時的変化 (阻血側)

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)。

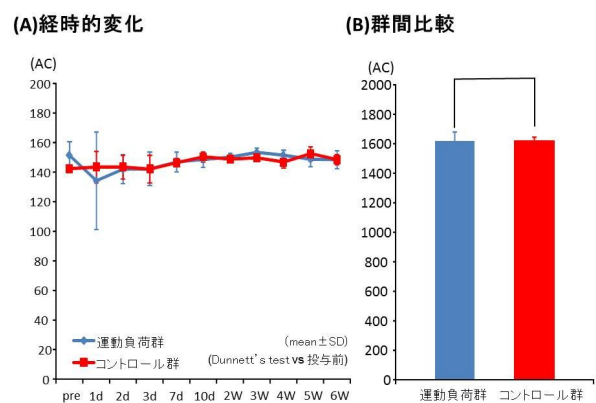


図4: 阻血下で運動負荷を行った際の筋肉痛覚閾値の経時的変化 (反対側)

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い患者では、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

モデルに近い場合、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の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、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、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、の可能性は低く、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):434, 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