

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：34438

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K10911

研究課題名（和文）女性のスポーツ傷害発症リスクの基礎的研究－鍼刺激による内在性ホルモンの適正化－

研究課題名（英文）Basic Research on the Risk of Sports Injury in Women: Optimization of Endogenous Hormones by Acupuncture Stimulation

研究代表者

山口 由美子（YAMAGUCHI, Yumiko）

関西医療大学・保健医療学部・講師

研究者番号：00454661

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：膝前十字靭帯（ACL）損傷は女性で多く発症するとの報告があり、我々はスポーツ傷害のリスクの男女差は体内ホルモン動態の違いによると仮定し、スポーツ傷害のリスクを内在ホルモンの適正化により減少させることを目的とした。雌ラットを用いてエストロゲンとACL強度の関係を検討した実験では、17- β -estradiolの徐放性ペレットを投与した群でコントロール群と比べて試験力最大値が有意に高い値を示したことから、エストロゲン濃度を増加させることがACL損傷の予防につながる可能性が示唆された。また鍼刺激とエストロゲンの関係を検討した実験では、刺激条件等の問題により有意なエストロゲンの変動の確認に至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国のスポーツトレーナーは鍼灸師の資格を持つ者も多く、鍼灸はスポーツ現場でもよく行われている。しかしながら、鍼灸の作用メカニズムについては、十分には判っていない。スポーツにおける前十字靭帯損傷は7割が非接触型との報告もあり、損傷靭帯を再建した場合は復帰まで半年以上を要するため選手への影響は大きい。これらの危険因子を修正することが求められているが、発生頻度の性差においては解剖学的構造やジャンプ着地時の動的要因との関係が示唆されており、修正不可能とされてきたホルモンの影響を鍼灸施術でコントロールすることができれば、スポーツ傷害の予防となり、ひいては競技力向上にもつながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Since it has been reported that anterior cruciate ligament knee injuries occur more frequently in women, we hypothesized that the gender difference in risk of sports injury is due to differences in hormonal dynamics in the body and aimed to reduce the risk of sports injury by optimizing endogenous hormones.

In an experiment examining the relationship between estrogen and ACL strength in female rats, test force maxima were significantly higher in the group treated with slow-release pellets of 17- β -estradiol than in the control group, suggesting that increasing estrogen concentration may prevent ACL injury. This suggests that increasing estrogen levels may be protective against ACL injury. In the experiment examining the relationship between acupuncture stimulation and estrogen, we were unable to confirm significant estrogen fluctuations due to problems with stimulation conditions and other factors.

研究分野：スポーツ科学

キーワード：スポーツ傷害 女性ホルモン 鍼

1. 研究開始当初の背景

女子スポーツの広がりに伴って、スポーツ現場で女性が治療の対象となる局面が増加している。申請者が臨床の現場で多く経験してきた膝前十字靭帯 (ACL) 損傷は女性に多く、再建術を行う場合、半年以上を要する厄介な疾患である。しかし女性に多いスポーツ傷害の医学的メカニズムについて詳細に検討した基礎的な研究は少ない。

これまでは主に解剖学的構造の男女差やジャンプ着地時の動的要因と ACL 受傷との関係が考えられてきたが (Hewett TE, Am J Sports Med. 2005)、女性特有の生理機能によるリスクが近年注目されている。特に排卵期に ACL 損傷のリスクが増加することが知られている (Herzberg SD, Orthop J Sports Med. 2017) ので、月経周期のホルモン変動と ACL 損傷の関与が十分考えられる。先行研究では、エストロゲンやリラキシンの血中濃度と、末梢関節の弛緩性増加との関係も示唆されている (Dragoo JL, Knee. 2009、Romani W, J Womens Health. 2003)。

筋肉量や骨量は多くのホルモンによって調節される事はよく知られているが、靭帯・関節・腱など周辺組織への各種ホルモンの影響はよく判っていない。また、性差のあるホルモンの運動器への作用も未解明の部分が多い。

我々はこれら先行研究の知見から「スポーツ傷害リスクの男女差は体内ホルモン動態の違いに因る」との作業仮説を立て、「スポーツ傷害のリスクを内在ホルモンの適正化により減少させる」ことを目的に本研究を立案した。

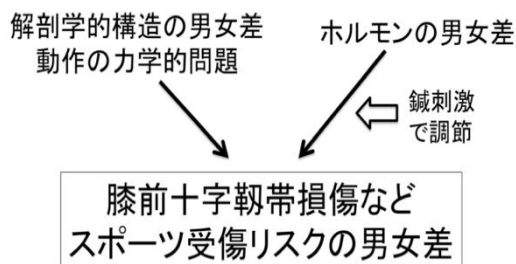
鍼灸は日本で行われている補完代替医療の中で最もポピュラーなものであり、国民にも広く受け入れられている。特にスポーツトレーナーには鍼灸師の資格を持つ者も多く、鍼灸はスポーツ現場でもよく行われている。しかしながら、鍼灸の作用メカニズムについては、筋緊張の緩和や血流量の変化、交感神経系の作用や微小炎症の惹起など様々な仮説があり、まだ十分には判っていない。特に鍼治療のメカニズムの物質的背景についてはほとんど判っていない (Interlandi J, Scientific American, 2016)。

我々の研究グループでは、鍼灸の分子生物学的メカニズムを明らかにするため、動物実験をもちいて研究を行ってきた。これまでに不妊の動物モデルを作製し (Sakurai I, J Mamm Ova Res, 2010)、これに対する鍼刺激の効果を明らかにしてきた (櫻井、修士論文、2011)。また電気通電による鍼刺激がマウス卵巣に変化を起こすことも示した (坂井、関西医療大学紀要, 2007)。

2. 研究の目的

これらの知見から、申請者らは鍼刺激により内在性ホルモンを調節し、スポーツ傷害を減少させることを着想 (図1) した。これを動物実験によって確かめ、ヒトへの適用を考えるのが本研究の目的である。単なる解剖学的構造の違いではなく、外部からコントロールも可能なホルモン状態に着目し、スポーツ傷害リスクを改善しようと考えた。我々のグループのマウスを用いた先行研究では、月経不順に関する文献的考察をおこなった。晋代~清代にかけての17文献について記載を調査した。その結果、一番多くの記載があった「三陰交」穴を使用し、マウスを用いた生理的メカニズムの確認をおこなった。マウスの「三陰交」相当部位に鍼刺激を加え、卵巣の断面積や 17-β-Estradiol 濃度を測定した。どちらも統計学的に有意な差はなかったが、膣スミア法による性周期の揃ったものだけを抜き出し確認をおこなった。コントロール群を100とした相対値でみると、鍼刺激によってホルモン動態の変動を示唆する結果となった。

図1 本研究で実証したい作業仮説



この先行研究より鍼刺激によって内在性ホルモンのコントロールができれば、スポーツ傷害の予防に応用できないか検討することとした。

3. 研究の方法

【実験1：エストロゲンと ACL 強度の関係】

Wistar 系ラット (雌、15 週齢) 15 匹を 2 群に分けた。小動物実験用簡易吸入麻酔装置 (夏目製作所社製、NARCOBIT-E II 型) にてイソフルランを用いて麻酔ボックスを 5 分間充満させたのち、吸入麻酔を 5 分間行なった。その後、エストロゲン群 (以下、E 群) には 17-β-Estradiol 徐放性ペレット (Innovative Research of America: IRA 社製) 0.25mg/21days (E-121) を左の頸部より埋め込み器具 (PRECISION TROCHAR: 直径 3mm) を用いて挿入した。コントロール群 (以下、C 群) には、埋め込み器具にて穿刺後抜き取りシャム施術のみおこなった。予備実験では 21 日目には残存するペレットが確認されたため、期間を 5 週間と設定した。

深麻酔後に頸椎脱臼にて安楽死させたラットから採取した後脚の膝を大腿骨-ACL-脛骨のみに

した膝 ACL 標本を作成した。大腿骨と脛骨はともに引っ張り試験機 (SHIMADZU 社製: EZ-SX) のつかみ具でしっかり把持できる長さを残し切断した。引っ張り試験機にて力を加え大腿骨を引っ張り、切断に至る最大値を靭帯の強度と捉え試験力最大値を算出した。

【実験 2 : 鍼刺激とエストロゲンの関係】

先に示した我々の先行研究がマウスの結果であり、ラットでも同様の結果が得られるか確認することとした。Wistar 系ラット (雌、15 週齢) 12 匹を 2 群に分けて同じ実験内容で行った。鍼刺激群 (以下、A 群) には「三陰交」相当部位に鍼刺激した。小動物実験用簡易吸入麻醉装置 (夏目製作所社製、NARCOBIT-E II 型) にてイソフルランを用いて麻醉ボックスを 5 分間充満させたのち、吸入麻醉を 5 分間行なった。取穴は中兽医学 (胡元亮、中国农业出版社、北京、2006) に記載のあるラットの経穴図と取穴刺鍼方法をもとにおこなった。使用した鍼はセイリン社製 J15SP タイプ 01 番 (0.14mm) 5 分 (15mm) で内果直上 1 cm、直刺 5mm とした。置鍼は麻醉下にて 15 分とした。コントロール群 (以下、C 群) は麻醉のみ 20 分実施した。週 2 回 5 週間継続した。その後、深麻醉後に頸椎脱臼にて安楽死させたラットから血液と卵巣、膣スミアを採取した。採取した血液は ELISA 法 (R&D SYSTEMS, Estradiol Parameter Assay Kit) にて 17-β-Estradiol 濃度を測定した。卵巣は固定後、薄切して He 染色した。膣スミアはスポイドにて生理食塩水を膣口より挿入し、その後採取し、ギムザ染色後、光学顕微鏡にて性周期を決定した。

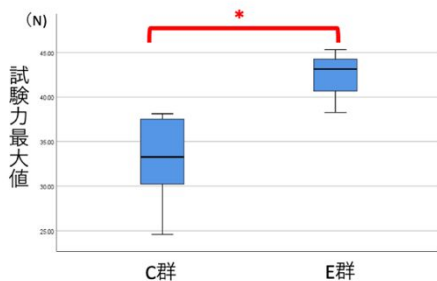
統計処理は SPSS (SPSS statistics26: IBM) を用いて t 検定をおこなった。

4. 研究成果

【実験 1 : エストロゲンと ACL 強度の関係】

試験力最大値を t 検定を用いて 2 群間で比較した。E 群は C 群と比べ有意に高い値を示した (図 2、表 1)。またエストロゲンは食欲とも関与するため、個別別に体重で除して補正した値でも比較した。E 群では有意に高い値を示した (図 3、表 2)。

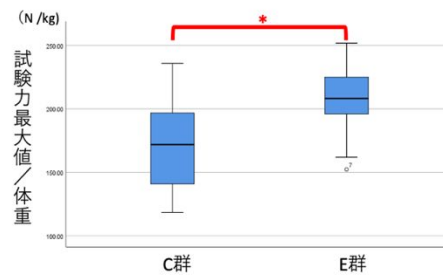
図 2 試験力最大値



	平均値 (SE)	P値
C群(n=15)	32.8 (2.1)	P=0.011
E群(n=10)	42.5 (1.5)	

表 1 試験力最大値

図 3 試験力最大値を体重で補正



	平均値 (SE)	P値
C群(n=15)	172.6(9.7)	P=0.029
E群(n=10)	205.9(9.8)	

表 2 試験力最大値を体重で補正

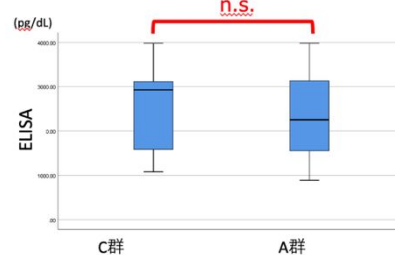
【実験 2 : 鍼刺激とエストロゲンの関係】

2 群の 17-β-Estradiol 濃度は t 検定において統計学的な有意差は認められなかった (図 4、表 3)。エストロゲンは性周期により変動するため、膣スミア法にて性周期が同調したものを抜き出し検討した。該当数が少ないため再実験を試みている (図 5)。

徐放性 17-β-Estradiol のペレットを用いてエストロゲンを高めたラットにおいて、ACL の引っ張り試験力最大値が有意に高い値を示した。このことは、エストロゲン濃度が高いと ACL 強度が高まることを示唆している。エストロゲン濃度を増加させることが、ACL 損傷の予防につながる可能性が示唆された。しかし、排卵前や排卵期に ACL 損傷のリスクが高まるとの報告もあり、卵巣切除ラットにおける同様の実験を現在進めている。

マウスを用いた先行研究において、鍼刺激によりエストロゲンを変動させる可能性が示唆されたが、今回のラットを用いた実験では差が確認できなかった。性周期が同調したラットの標本数が少なく差の検出に至らなかった。ラットの性周期は 4~5 日で、エストロゲン濃度に影響を及ぼす可能性のある性周期を同調させるには標本数を増やすことも検討が必要である。さらに中兽医学書を参考に取穴したが、鍼

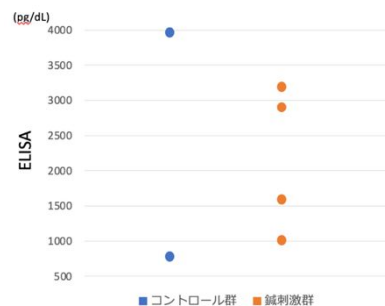
図 4 血中17-β-エストラジオール濃度



	平均値 (SE)	P値
コントロール群(n=6)	2602.3 (437.0)	P=0.736
鍼刺激群(n=4)	2344.2 (632.7)	

表 3 血中17-β-エストラジオール濃度

図 5 性周期を分けて検討—発情後期—



刺激における施術誤差が高い可能性が考えられる。施術者を固定し、経穴部位のマーキングなど誤差を少なくする対策の必要性が示唆された。

卵巣は組織学的に大きな差は確認できなかったが、最大断面積の測定など引き続き検討している。また、卵巣切除したラットでの同様の実験を現在進めているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河村菜捺美、山口由美子、伊藤俊治、王財源
2. 発表標題 月経不順に対する鍼灸配穴の文献的考察 -マウスを用いた生理的メカニズムの解明-
3. 学会等名 2019年度日本東洋医学会関西支部定例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤俊治、河村菜捺美、山口由美子、深澤洋滋、櫻井威織、櫻井悠加、畑村育次
2. 発表標題 マウスを用いた卵巣への鍼刺激の影響の検討
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口由美子、河野凜、櫻井亮佑、山田雄介、湯川凌世、伊藤俊治
2. 発表標題 鍼刺激によるホルモンコントロールの試み—スポーツ傷害への応用
3. 学会等名 第72回全日本鍼灸学会学術大会 神戸大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	伊藤 俊治 (ITOH Shunji) (50275351)	関西医療大学・保健医療学部・教授 (34438)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	深澤 洋滋 (FUKAZAWA Yohji) (70336882)	関西医療大学・保健医療学部・教授 (34438)	
研究分担者	畑村 育次 (HATAMURA Ikuji) (80336883)	関西医療大学・保健医療学部・教授 (34438)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関