

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09496

研究課題名(和文) 外傷急性期におけるアイシングの影響と、高圧・高酸素併用による組織修復促進の検討

研究課題名(英文) The effects of icing on tissue oxygen tension in the acute phase and the effects of hyperbaric oxygen on regeneration in the injured soft tissue.

研究代表者

柳下 和慶 (YAGISHITA, KAZUYOSHI)

東京医科歯科大学・統合教育機構・教授

研究者番号：10359672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ラット骨格筋圧挫損傷モデルを用い、アイシング・温熱療法が損傷骨格筋の組織酸素濃度と再生過程への影響を検討し、アイシングに併用する高濃度高圧酸素(HBO)環境の有効性を検討した。酸素濃度は損傷30分では対照群に対しアイシングで有意に低下し、温熱療法とHBOで有意に上昇した。アイシングHBO併用で酸素濃度はより早期に正常値へ回復した。再生筋線維数は損傷5日後で温熱療法、HBO、アイシングHBO併用で有意に増加した。損傷急性期のアイシングで骨格筋内は低酸素環境となるが、HBO併用で低酸素環境が改善し骨格筋再生が促進すると考えられた。温熱療法は損傷筋内酸素濃度の低下を抑制し、筋再生の促進が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外傷急性期の処置として考えられているRICE療法もしくはPRICE療法の中でもアイシングについては、組織酸素化もしくは組織修復への影響についてはエビデンスが少なかった、今回の研究結果で、少なくとも組織酸素濃度の観点からは漫然としたアイシングには注意が必要なることを、スポーツ現場に警鐘を鳴らすことができるだろう。また酸素や高気圧酸素の併用によりアイシングの悪影響を最小限にする可能性を示すこととなり、酸素や高気圧酸素が新たな急性期処置として期待される。

研究成果の概要(英文)：This study used a rat skeletal muscle injury model to assess the effects of icing and heat therapy on tissue oxygenation and regenerative processes in injured skeletal muscle, and to examine the effectiveness of a hyperbaric oxygen (HBO) environment combined with icing. Results showed that oxygen tension was significantly decreased by icing and significantly increased by heat therapy and HBO compared to the control group at 30 minutes after injury. Tissue oxygen tension was restored to a normal level more quickly when icing was combined with HBO. The number of regenerating muscle fibers was significantly increased by hyperthermia, HBO, and HBO combined with icing at 5 days after injury. Icing during the acute phase of injury leads hypoxic environment in skeletal muscle, but the combination of icing and HBO may improve the hypoxic environment and promote skeletal muscle regeneration. Heat therapy suppressed the decrease of oxygen tension and was observed to promote muscle regeneration.

研究分野：高気圧酸素医学

キーワード：骨格筋 筋再生 高気圧酸素治療 圧挫損傷 アイシング 温熱 酸素濃度

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

代表的スポーツ外傷の軟部組織外傷の急性期では、損傷部の腫脹に伴う内圧の上昇・末梢循環の血管抵抗の増大により血流障害を呈することで組織低酸素環境となり正常の細胞活性が低下する。

軟部組織外傷後の急性期治療においては Rest Icing Compression Elevation という RICE 治療が標準的処置とされ、アイシングは重要と位置付けられてきた。一方で、アイシング処置は末梢血管を収縮させ組織低酸素環境を悪化する懸念も指摘されている。アイシング処置によるラット損傷筋の回復過程の検討では、筋衛星細胞の増殖と分化を遅延する (Takagi R. J Appl Physiol, 2011) との報告や、損傷3日後の筋再生促進因子 MyoD の mRNA 発現量が低下する (池崎ら、体力医学, 2017) などの報告もあり、近年アイシングにより損傷組織の修復遅延が危惧されている。一方で、酸素分圧の観点から外傷急性期に対するアイシングの影響についての報告はみられない。

高気圧酸素治療 (Hyperbaric Oxygen Treatment: HBO) は溶解型酸素が増大し、局所低酸素環境が改善する治療法である。我々は足関節捻挫急性例に対する HBO にて、組織腫脹の軽減と自覚的評価の改善が報告しており (Yagishita K. Sport Exerc Med Open J. 2017、日整スポ 2008)、スポーツ医学領域で利用されてきている。さらにわれわれはラット骨格筋圧挫傷モデルでの検討にて損傷組織の低酸素環境を証明し、HBO による損傷組織が酸素化されることを報告した。そして HBO が筋湿重量の減少と血管透過性の改善を促進し、筋増殖因子を活性化させ、実際に筋衛星細胞を活性化すると共に炎症反応を抑制することで筋再生過程を早めることを報告した (Oyaizu T. Sci Rep. 2018)。

以上より軟部組織損傷、特に骨格筋損傷における組織酸素動態は損傷組織の修復へ影響を与えると考えられる。しかしながら、既存の治療法に目を転じると組織酸素分圧の観点からのアイシングの影響についての報告はなく、アイシングによる組織酸素分圧の動態が未知である。またアイシング処置に酸素吸入もしくは HBO 併用した場合、アイシングによって懸念される組織低酸素環境の可能性を改善することが期待されるが、アイシング+HBO 併用による酸素分圧の測定報告はなく、損傷筋組織の再生過程に与える影響も未知である。

さらに、アイシングに相対する温熱療法についても、それを施行した場合の正常組織及び損傷組織の酸素分圧の報告もなく、組織酸素分圧の観点から見た温熱療法の影響についても未知である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、臨床的な筋損傷に則したラット骨格筋圧挫傷モデルを用い、アイシングによる組織酸素分圧への影響と、アイシングによる損傷組織修復過程に与える影響について検討することである。さらに温熱療法による損傷組織内の酸素分圧変化と修復過程への影響の検討を目的とする。

本研究の第2の目的は、組織酸素分圧の観点からアイシングに併用する高濃度高圧酸素吸入の有効性を検討することである。高気圧・高濃度酸素環境に曝露することで、局所低酸素環境の回避もしくは酸素化と、末梢動脈収縮にともなう腫脹軽減効果を同時に達成可能と考えられる。

外傷に対する急性期治療として臨床現場では、RICE 治療以上の治療が極端に少ないことが現状である。今回の研究結果から、外傷急性期におけるアイシング治療の位置付けを明らかとし、アイシングまたは温熱療法に加えて、HBO が新たな治療法として科学的根拠をもって併用される可能性がある。

3. 研究の方法

(1) 骨格筋圧挫傷モデルラットの作製

10 週齢 Wistar ラットの右腓腹筋に、高さ 25cm より 640g の重錘を落下させ、圧挫傷モデルを作成する (図 1)。圧挫傷をさせた左腓腹筋の対照群 (NT 群) とし、アイシングあり群 (Ice 群)・温熱療法群 (Hot 群) を設定する。

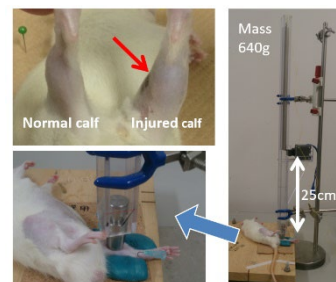


図1 骨格筋圧挫傷モデル

(2) 損傷部のアイシング

損傷筋のアイシングには、ビニール袋に氷を入れて損傷部を 20 分間冷却する。(Takagi R. J Appl Physiol, 2011)

(3) 損傷部の温熱療法

損傷筋の温熱療法には、ビニール袋に 42°C の温湯を入れて損傷部を 20 分間温熱する。(Takeuchi. J Acta Histochemica, 2014)

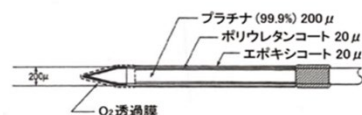
(4) 特注の動物用高気圧酸素治療チャンバーを用い、HBO を実施する。HBO の方法は、2.5 気圧、100%酸素、受傷後 30 分から開始し最大圧力下にて 2 時間、1 回のみ施行とする。圧挫傷モデルに対し、HBO 単独施行群 (HBO 群) およびアイシングに HBO を併用した群 (Ice+HBO 群) を設定した。

(5) 針型酸素プローブで損傷筋内の酸素濃度を経時的に測定する (図 2)。各群とも損傷前、損傷直後、損傷 30 分後 (アイシング・温熱療法直後)、3 時間後、6 時間後、24 時間後、30 時間後に測定する。



図2 針型酸素プローブによる組織酸素分圧の測定

酸素電極の基本構造



(6) 組織学的検討

H&E 染色を用いて各群における損傷前、損傷後 5 日後、7 日後における中心核を有する再生筋線維数と組織像を検討する。

4. 研究成果

(1) 皮下温度

損傷肢は $29.7 \pm 2.4^\circ\text{C}$ 。Ice 群は経時的に低下し、20 分で $13.1 \pm 2.1^\circ\text{C}$ まで低下した。

Hot 群は開始後から $37.8 \pm 0.5^\circ\text{C}$ となり温度変化は認めなかった。(図 3)

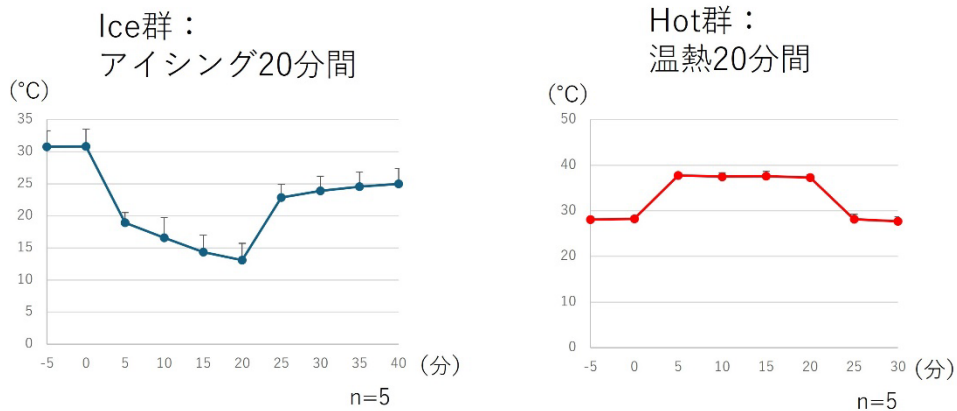


図3 Ice群およびHot群の皮下温度の経時的変化

(2) 組織酸素濃度

掲示的な組織酸素濃度について、Ice群とHot群では20分間(図4)、HBO群とIce+HBO群では140分間(図5)計測した。

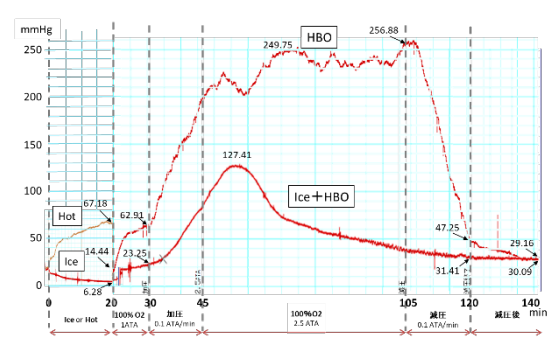
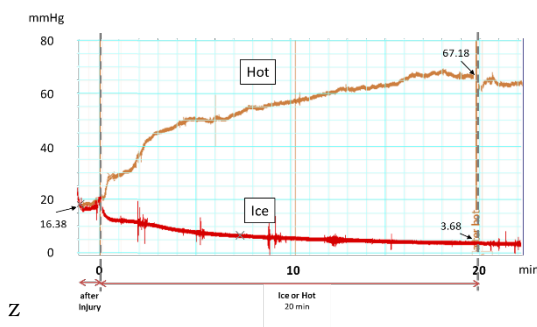


図4 Ice群およびHot群の酸素濃度の経時的変化

図5 HBO群およびice+HBO群の酸素濃度の経時的変化

先行研究 (Oyaizu T. Sci Rep. 2018) では正常組織の酸素濃度は 45mmHg、損傷組織は 15mmHg へ低下すると報告されているが、本研究でも損傷組織は 16.38mmHg と低下

しており、20分後Ice群は3.68mmHgと更に著明に低下し、Hot群は67.18mmHgと正常組織の酸素濃度を上回った。HBO群では256.88mmHgまで上昇したが、Ice+HBO群ではHBO群ほど上昇しなかった。

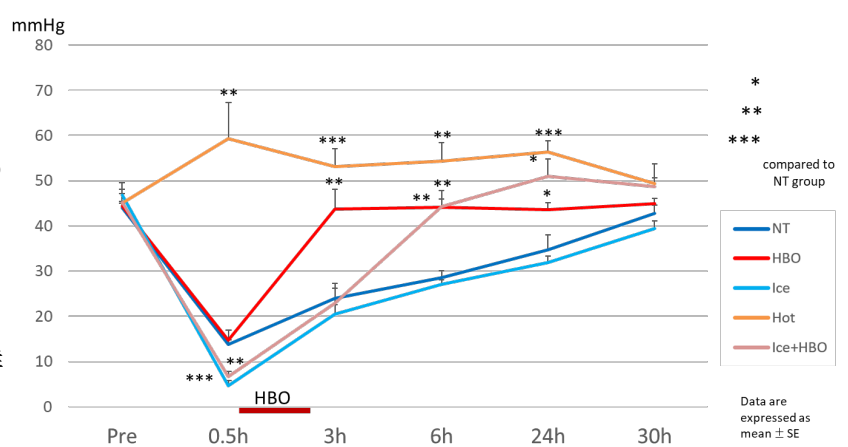


図6 各群の酸素濃度

また、NT 群、HBO 群、Ice 群、Hot 群、Ice+HBO 群について、損傷 30 分後、3 時間後、6 時間後、24 時間後、30 時間後の損傷筋内の酸素濃度を測定した (図 6)。

損傷 30 分で NT 群 $13.8 \pm 2.3 \text{mmHg}$ に対し、Ice 群 $4.7 \pm 2.5 \text{mmHg}$ で有意に低下し、Hot 群 $59.4 \pm 17.4 \text{mmHg}$ で有意に上昇した。損傷 3 時間で HBO 群が著明に改善した。損傷 3 時間以降は NT 群と Ice 群では有意差は認めなかった。しかしながら Ice+HBO 群では 6 時間後に HBO 群と同様に回復した。Hot 群は損傷 24 時間後まで NT 群・Ice 群より有意に増加していたが、損傷 30 時間後には有意差はなくなった。アイシングの低酸素環境を HBO 併用により早期に正常値へ回復することが考えられた。

(3) 組織学的検討による再生筋線維数

損傷 5 日後：Hot 群、HBO 群、Ice+HBO 群が NT 群・Ice 群と比して有意に増加した (図 7)。

損傷 7 日後：Hot 群が NT 群、HBO 群、Ice 群と比して有意に低下した (図 8)。

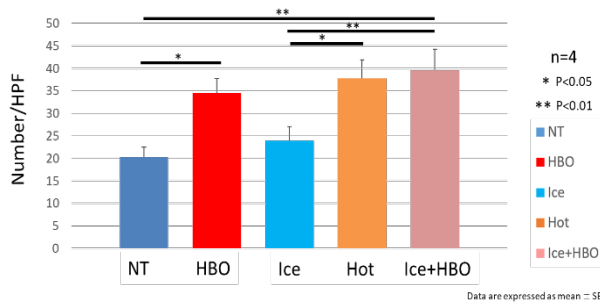


図7 再生筋線維数 (損傷5日後)

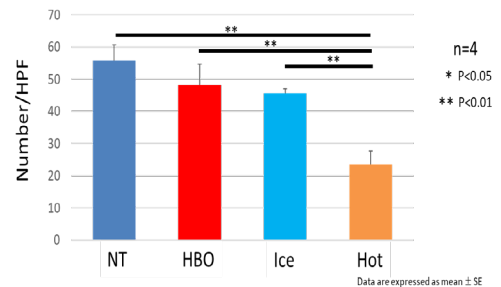
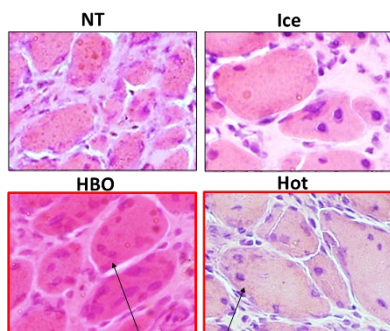


図8 再生筋線維数 (損傷7日後)



損傷 7 日後では、成熟過程が進行していると考えられる偏心性の多核筋線維が HBO 群、Hot 群にも多く、7 日後では再生筋線維数のピークが終了している可能性が考えられた (図 9)。

図9 再生筋線維での多核偏心性 (損傷7日後)

骨格筋挫傷ラットモデルにおいて急性期にアイシングをすることで骨格筋内は低酸素環境となるが、アイシングに追加 HBO を施行することで低酸素環境が改善し骨格筋再生が促進する可能が考えられた。温熱療法は損傷筋内酸素濃度の低下を抑制し、筋再生の促進が観察された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 星野傑
2. 発表標題 ラット筋挫傷モデルにおける急性期のアイシングの影響と、高気圧酸素療法併用による組織修復促進の検討
3. 学会等名 第11回高気圧酸素スポーツ医学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野傑、山本尚輝、小柳津卓哉、堀江正樹、雨宮正樹、池田達宣、小島泰史、柳下和慶
2. 発表標題 ラット筋挫傷モデルにおける急性期のアイシングの影響と高気圧酸素療法併用による組織修復促進の検討
3. 学会等名 第56回日本高気圧環境・潜水医学会 学術総会
4. 発表年 2022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	小柳津 卓哉 (Oyaizu Takuya) (60647709)	東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・講師 (12602)	
研究分担者	山本 尚輝 (Yamamoto Naoki) (60808046)	東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・特任助教 (12602)	

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	星野 傑 (Hoshino Takashi) (70836923)	東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・助教 (12602)	
研究分担者	塩田 幹夫 (Shioda Mikio) (80817635)	東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・特任助教 (12602)	
研究分担者	大原 敏之 (Ohara Toshiyuki) (00793001)	東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・非常勤講師 (12602)	

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