

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17751

研究課題名（和文）不活動性筋痛の発生メカニズム解明と理学療法的介入の効果検証

研究課題名（英文）Mechanisms underlying immobilization-induced muscle pain and the effect of physical therapy intervention

研究代表者

後藤 響 (GOTO, Kyo)

長崎大学・医歯薬学総合研究科（保健学科）・客員研究員

研究者番号：90813436

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）：本研究では実験動物を用いた基礎研究を通して、不活動性筋痛の発生メカニズムに関わる分子機構の解明とともに、予防医学的視点に立った理学療法的治療戦略の探索を試み、その効果について生物学的機序も含めて検証した。結果、不活動性筋痛の発生メカニズムには、骨格筋における神経成長因子（NGF）の発現増加に加え、炎症型（M1）マクロファージの集積とそれに伴うIL-1の発現増加が関与することが明らかとなった。そして、不活動性筋痛に対する骨格筋電気刺激療法（EMS）の介入効果を検証した結果、EMSによる筋収縮運動は不活動によって惹起されるNGFの発現を抑制し、筋痛の発生を軽減する効果があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

不活動性疼痛は腰痛や膝痛等の運動器慢性疼痛の発生要因に関わっていると考えられている。したがって、不活動性疼痛の病態ならびに発生メカニズムの解明を進めることは、運動器慢性疼痛の発生予防ならびに治療戦略開発の観点からも極めて重要といえる。本研究では骨格筋が病巣部位である不活動性筋痛の発生メカニズムに関わる分子機構を解明し、学術的に意義のある研究成果を輩出した。加えて、本研究では骨格筋電気刺激療法を用いた筋収縮運動が不活動性筋痛の予防に効果的であることを明らかにした。つまり、この研究成果は運動器慢性疼痛の発生予防に運動が有効である可能性を示唆しており、社会的にも意義があると考えている。

研究成果の概要（英文）：The first purpose of this study was to elucidate the molecular mechanism involved in the development of immobilization-induced muscle pain through animal experiments in rats. Secondly, for immobilization-induced muscle pain, we practiced the preventive intervention in physical therapy and verified its effect including the biological mechanism. As a result, nerve growth factor (NGF) upregulation may be a major contributor to immobilization-induced muscle pain. Accumulation of inflammatory macrophages and associated increased expression of IL-1 may be related to immobilization-induced muscle pain. In addition, electrical muscle stimulation (EMS) for immobilization-induced muscle pain has the effect of suppressing the expression of NGF caused by immobilization and reducing the occurrence of muscle pain.

研究分野：リハビリテーション科学関連

キーワード：不活動性疼痛 神経成長因子（NGF） M1・M2マクロファージ IL-1 理学療法 筋収縮運動 電気刺激療法（EMS）

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19 , F - 19 - 1 , Z - 19 (共通)

1 . 研究開始当初の背景

四肢の一部、あるいは全身の不活動によって惹起される不活動性疼痛は運動器慢性疼痛の発生要因に深く関わっており、その対策はリハビリテーション科学領域の重要課題である。そのため、代表者の所属研究室では不活動性疼痛の発生メカニズムに関わる末梢機構を解明する目的で皮膚の変化を中心にいくつかの重要知見を報告してきた。具体的には、表皮の角質層の乱れやその菲薄化、A 線維や C 線維といった感覚神経の側枝発芽、表皮の構成細胞であるケラチノサイトにおける神経成長因子 (nerve growth factor; NGF) や TRPV1 , P2X3 といった痛み関連受容体の発現増加といった知見である^{1,2)}。加えて、不活動性疼痛は骨格筋においても認められることを明らかにしており、その発生メカニズムの一部に NGF の発現が関与している可能性を突き止めている³⁾。しかし、NGF の機能的役割や他の分子の動態など、不活動性筋痛の詳細な発生メカニズムは不明である。

一方、不活動性筋痛の直接的な原因はギプス固定などによる骨格筋の不活動であり、理学療法的治療戦略として最も重要なことは不活動を回避し、頻回な筋収縮運動を促すことにある。しかし、ギプス固定などの医学的処置は骨折などの治療には必須であり、臨床では不活動が余儀なくされる場面も少なくない。そのため、ギプス固定下でも行える筋収縮運動の方法を考案する必要がある。理学療法的手段としては骨格筋電気刺激療法 (electrical muscle stimulation; EMS) が想定される。しかし、不活動性筋痛に対する EMS の介入効果はこれまでに報告されていない。

2 . 研究の目的

以上の研究背景を踏まえ、本研究では以下の 3 点を解明することを目的とする。

- (1) 不活動性筋痛の発生メカニズムにおける NGF の機能的役割を解明すること。
- (2) 不活動性筋痛の発生メカニズムに関与する分子機構を解明すること。
- (3) 不活動性筋痛に対する EMS の介入効果を生物学的機序も含めて解明すること。

3 . 研究の方法

(1) 不活動性筋痛の発生メカニズムにおける NGF の機能的役割の解明

実験動物

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 30 匹を用い、1) 4 週間通常飼育する対照群 (n=10)、2) 右足関節を最大底屈位で 4 週間ギプス固定した後、腓腹筋に NGF 受容体の阻害剤である K252a (Sigma, K1639) を投与する K252a 群 (n=10)、3) その疑似処置として PBS 投与を行う vehicle 群 (n=10) に振り分けた。

筋圧痛閾値の評価方法

筋圧痛閾値に関しては、圧刺激鎮痛効果測定装置 (Randall-Selitto, Ugo Basile, Model 37215) を用い、K252a (PBS) の投与前、投与後 10・20・30・60 分に評価した。

統計学的分析

統計処理には一元配置分散分析を適用し、有意差を認めた場合には事後検定として sheffe 法にて群間の有意差を判定した。なお、有意水準は 5% 未満とした。

(2) 不活動性筋痛の発生メカニズムに関与する分子機構の解明

実験動物

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 40 匹を用い、2, 4 週間、ギプスで両側足関節を最大底屈位で固定する不活動群 (各 n=10) と週齢を合致させるため 10, 12 週齢まで通常飼育する対照群 (各 n=10) に振り分けた。そして、各実験期間終了後は両側の腓腹筋外側頭を採取し、以下の検索に供した。

免疫組織化学的解析

試料の一部から 7 μ m 厚の凍結横断切片を作製し、総マクロファージ (CD11b)、M1 マクロファージ (CD11c)、M2 マクロファージ (CD206) に対する免疫組織化学染色を実施した。そして、筋線維 100 本あたりの各陽性細胞数を算出した。

分子生物学的解析

試料の一部は real time RT-PCR 法に供し、IL-1 β mRNA 発現量を定量した。

統計学的分析

統計処理には群間および不活動期間を要因とした二元配置分散分析を適用し、有意差を認めた場合には事後検定として Bonferroni 法にて群間の有意差を判定した。なお、有意水準は 5% 未満とした。

(3) 不活動性筋痛に対する EMS の介入効果の検証

実験動物

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 34 匹を用い、1) 通常飼育する対照群 (n=7)、2) 両側足関節を最大底屈位でギブスで 2 週間固定する不活動群 (n=10)、3) 不活動の過程でペルト電極式の EMS を用いて筋収縮運動を負荷する EMS 群 (n=17) に振り分けた。なお、EMS 群は 2 秒通電、6 秒休止の 1:3 サイクルで刺激する EMS (1:3) 群 (n=8) と 2 秒通電、2 秒休止の 1:1 サイクルで刺激する EMS (1:1) 群 (n=9) を設定した。

筋収縮運動の方法

EMS の刺激条件としては、腓腹筋に強縮を誘発させる目的で刺激周波数は 50Hz とし、この刺激周波数にてラット足関節の最大底屈筋力を誘発できる刺激強度 (14.5 mA) を予備実験で確かめた。そして、本研究では筋力増強効果の期待できる最大筋力 (muscle voluntary contraction; MVC) の 60% (60%MVC) の負荷強度となる刺激強度、すなわち 4.7mA が妥当と考え、これを刺激強度に設定した。加えて、刺激時間は筋疲労を考慮する必要があることから、これらの条件で 1:3 および 1:1 サイクルで刺激した際の筋疲労の出現時間を確かめる予備実験も行った。その結果、1:3 サイクルでは実施後 28 分まで、1:1 サイクルでは実施後 18 分まで 60%MVC の発揮筋力を維持することが可能であった。そして、これらの結果ならびに臨床での介入可能な時間を考慮し、1:3 サイクルで刺激する EMS (1:3) 群は 20 分間、1:1 サイクルで刺激する EMS (1:1) 群は 15 分間を 1 回あたりの刺激時間に設定し、介入頻度は週 6 回とした。

筋圧痛閾値の評価方法

筋圧痛閾値に関しては、圧刺激鎮痛効果測定装置 (Randoll-Selitto, Ugo Basile, Model 37215) を用い、不活動開始前ならびに不活動 1、2 週後にそれぞれ評価した。

生化学的解析

実験期間終了後に採取した腓腹筋外側頭の一部をホモジュネートし、遠心分離後の上清液を回収し、サンプルとした。そして、Rat NGF ELISA kit (Bosterbio) を用いて NGF 含有量を測定し、BCA Protein Assay Kit (Thermo, 23227) を用いて測定した総タンパク質量で除し (単位: pg/mg)、データとして採用した。

統計学的分析

統計処理には一元配置分散分析を適用し、有意差を認められた場合には事後検定として sheffe 法にて群間の有意差を判定した。なお、有意水準は 5% 未満とした。

4. 研究成果

(1) 不活動性筋痛の発生メカニズムにおける NGF の機能的役割の解明

K252a 群の筋圧痛閾値は投与後 10 分から vehicle 群より有意に高値を示し、この状況は投与後 60 分まで持続した (図 1)。

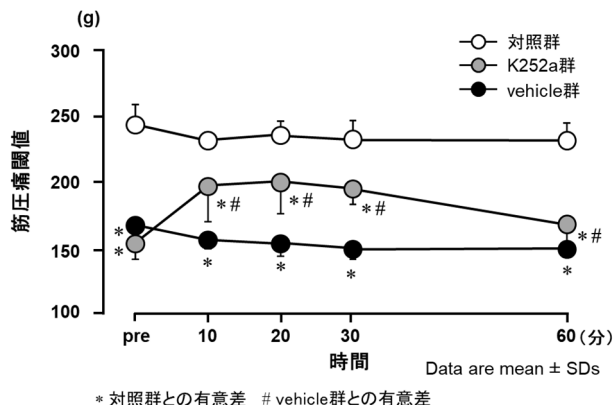


図 1. K252a 投与後の筋圧痛覚閾値の変化

つまり、この結果は NGF の痛みの内因性メディエーターとしての作用を阻害した影響によるものと推測され、不活動性筋痛の発生メカニズムに骨格筋内における NGF の発現増加が関与していることは間違いないと思われる。

(2) 不活動性筋痛の発生メカニズムに關与する分子機構の解明

総マクロファージ数および M1 マクロファージ数については、いずれの不活動期間とも不活動群は対照群と比べて有意に高値を示した (図 2, 図 3)。しかし、M2 マクロファージ数については、いずれの不活動期間においても不活動群と対照群の間に有意差は認められなかった (図 4)。加えて、IL-1 β mRNA 発現量は各不活動期間とも不活動群は対照群と比べて有意に高値を示した (図 5)。

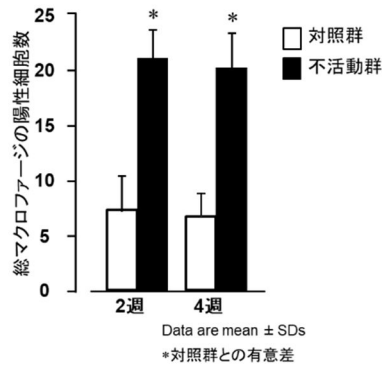


図 2 . 総マクロファージの変化

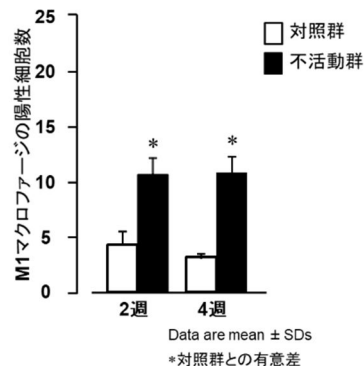


図 3 . M1 マクロファージの変化

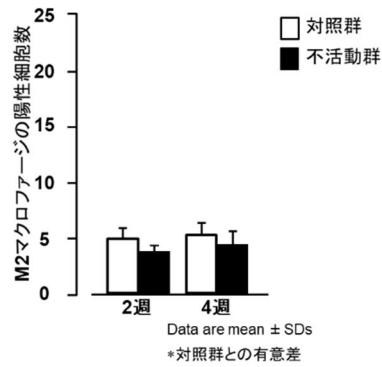


図 4 . M2 マクロファージの変化

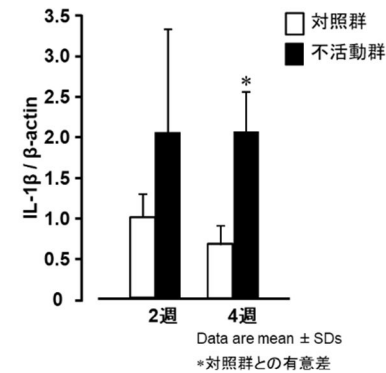


図 5 . IL-1β の変化

以上の結果から、不活動性筋痛の発生メカニズムには、NGF の発現増加に加え、M1 マクロファージの集積とそれに伴う IL-1β の発現増加が関与していると思われる。

(3) 不活動性筋痛に対する EMS の介入効果の検証

腓腹筋の圧痛閾値は不活動 1 週後、2 週後ともに不活動群、EMS (1:3) 群、EMS (1:1) 群の 3 群は対照群より有意に低値を示したが、実験群の 3 群間を比較すると EMS (1:3) 群と EMS (1:1) 群は不活動群より有意に高値を示し、この 2 群間には有意差は認められなかった(図 6)。そして、NGF 含有量を比較すると、不活動群、EMS (1:3) 群、EMS (1:1) 群は対照群より有意に高値を示したが、実験群の 3 群間を比較すると EMS (1:3) 群、EMS (1:1) 群は不活動群より有意に低値を示し、この 2 群間には有意差は認められなかった(図 7)。

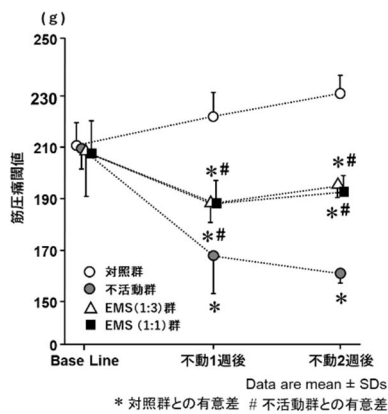


図 6 . 筋圧痛閾値の変化

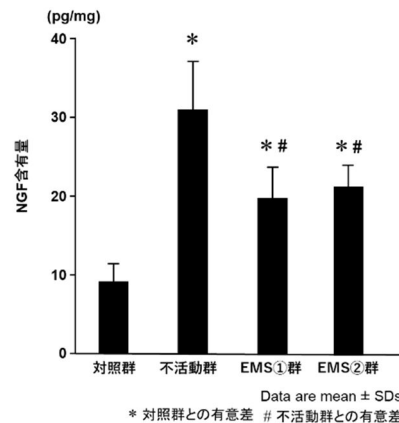


図 7 . NGF 含有量の変化

以上の結果から、EMS を活用した筋収縮運動は不活動によって惹起される NGF の発現を抑制し、不活動性筋痛の発生を軽減する効果があることが示唆された。

<引用文献>

- 1) Nakano J, et al.: Changes in hind paw epidermal thickness, peripheral nerve distribution and mechanical sensitivity after immobilization in rats. *Physiol Res* 61: 643-647, 2012.
- 2) Sekino Y, et al.: Sensory hyperinnervation and increase in NGF, TRPV1 and P2X3 expression in the epidermis following cast immobilization in rats. *Eur J Pain* 18: 639-648, 2014.
- 3) 大賀智史, 他: 不動によって惹起される筋痛のメカニズムの検討 - 神経成長因子と末梢神経の変化から . *日本運動器疼痛学会誌* 6: 107-113, 2014.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Goto Kyo, Kataoka Hideki, Honda Ayana, Yamashita Junichiro, Morita Kaoru, Hirase Tatsuya, Sakamoto Junya, Okita Minoru	4. 巻 2020
2. 論文標題 Factors Affecting Persistent Postoperative Pain in Patients with Hip Fractures	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pain Res Manag	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2020/8814290	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Oga S, Goto K, Sakamoto J, Honda Y, Sasaki R, Ishikawa K, Kataoka H, Nakano J, Origuchi T, Okita M	4. 巻 61
2. 論文標題 Mechanisms underlying immobilization-induced muscle pain in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Muscle Nerve	6. 最初と最後の頁 662-670
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/mus.26840	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kataoka H, Nakashima S, Aoki H, Goto K, Yamashita J, Honda Y, Kondo Y, Hirase T, Sakamoto J, Okita M	4. 巻 11
2. 論文標題 Electrical stimulation in addition to passive exercise has a small effect on spasticity and range of motion in bedridden elderly patients: A pilot randomized crossover study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Health	6. 最初と最後の頁 1072-1086
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4236/health.2019.118084	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ishikawa K, Kajiwara Y, Sakamoto J, Sasaki R, Goto K, Honda Y, Kataoka H, Okita M	4. 巻 706
2. 論文標題 Low-intensity muscle contraction exercise following the onset of arthritis improves hypoalgesia via resuction of joint inflammation and central sensitization in the spinal cord in a rat model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurosci Lett	6. 最初と最後の頁 18-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2019.04.031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 片岡英樹, 後藤 響, 坂本淳哉, 沖田 実	4. 巻 39
2. 論文標題 脊椎圧迫骨折: 急性期からの管理と慢性疼痛予防戦略	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pain Clinic	6. 最初と最後の頁 S145-S152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Honda Yuichiro, Tanaka Miho, Tanaka Natsumi, Sasabe Ryo, Goto Kyo, Kataoka Hideki, Sakamoto Junya, Nakano Jiro, Okita Minoru	4. 巻 57
2. 論文標題 Relationship between extensibility and collagen expression in immobilized rat skeletal muscle	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Muscle Nerve	6. 最初と最後の頁 672-678
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mus.26011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Honda Yuichiro, Sakamoto Junya, Hamaue Yohei, Kataoka Hideki, Kondo Yasutaka, Sasabe Ryo, Goto Kyo, Fukushima Takuya, Oga Satoshi, Sasaki Ryo, Tanaka Natsumi, Nakano Jiro, Okita Minoru	4. 巻 2018
2. 論文標題 Effects of Physical-Agent Pain Relief Modalities for Fibromyalgia Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pain Res Manag	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2018/2930632	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 片岡英樹, 後藤 響, 本多彩菜, 山口 萌, 中川晃一, 野元祐太郎, 近藤祐太郎, 山下潤一郎, 森田 馨, 平瀬達哉, 坂本淳哉, 沖田実
2. 発表標題 脊椎圧迫骨折に対する行動医学的介入を併用したリハビリテーションの効果検証
3. 学会等名 第13回日本運動器疼痛学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 片岡英樹, 本多彩菜, 後藤 響, 野元祐太郎, 山下潤一郎, 森田 馨, 麻生暢哉, 坂本淳哉, 沖田 実
2. 発表標題 新鮮脊椎圧迫骨折患者における既存骨折数が新鮮骨折後の腰背部痛, 心身機能の回復におよぼす影響
3. 学会等名 第12回日本運動器疼痛学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤響, 片岡英樹, 本多彩菜, 森田馨, 山下潤一郎, 坂本淳哉, 沖田実
2. 発表標題 大腿骨近位部骨折術後患者の身体活動性が退院時の痛み, 運動機能, ADLにおよぼす影響
3. 学会等名 第24回日本ペインリハビリテーション学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ishikawa K, Tong Y, Sasaki R, Takeshita I, Goto K, Honda Y, Kataoka H, Sakamoto J, Okita M
2. 発表標題 Voluntary forelimbs exercise reduces immobilization-induced mechanical hyperalgesia in the rat hind paw.
3. 学会等名 11th congress of the European Pain Federation (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片岡英樹, 本多彩菜, 後藤 響, 柿田徹郎, 中川晃一, 山下潤一郎, 森田 馨, 平瀬達哉, 坂本淳哉, 沖田 実
2. 発表標題 強い腰背部痛が残存する脊椎圧迫骨折患者の特徴
3. 学会等名 第56回日本リハビリテーション医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤 響, 片岡英樹, 本多彩菜, 森田 馨, 山下潤一郎, 坂本淳哉, 沖田 実
2. 発表標題 大腿骨近位部骨折術後患者の身体活動性が退院時の多面的リハビリテーションアウトカムにおよぼす影響
3. 学会等名 第7回日本運動器理学療法学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤 響, 片岡英樹, 本多彩菜, 森田 馨, 山下潤一郎, 坂本淳哉, 沖田 実
2. 発表標題 大腿骨近位部骨折患者の術後痛の残存に影響する因子の検討
3. 学会等名 第23回日本ペインリハビリテーション学会学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 徳永嵩栄, 片岡英樹, 本多彩菜, 後藤 響, 山下潤一郎, 坂本淳哉, 沖田 実
2. 発表標題 長期不活動により膝痛が増悪した症例に対する運動療法, 神経筋電気刺激, 活動日記を併用したリハビリテーションの経験
3. 学会等名 第23回日本ペインリハビリテーション学会学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 本多彩菜, 片岡英樹, 後藤 響, 山下潤一郎, 坂本淳哉, 沖田 実
2. 発表標題 多発外傷後にfear-avoidance modelを呈した症例に対する認知行動療法を導入したリハビリテーションの経験
3. 学会等名 第23回日本ペインリハビリテーション学会学会大会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------