

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：34318

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870719

研究課題名(和文) ラットのアキレス腱修復に及ぼす鍼通電刺激の影響

研究課題名(英文) The effect of electroacupuncture on tendon repair in a rat Achilles tendon rupture model

研究代表者

今枝 美和 (Imaeda, Miwa)

明治国際医療大学・鍼灸学部・助教

研究者番号：20587513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はアキレス腱断裂をはじめとした腱の損傷に対する鍼通電刺激の影響について調査することを目的に、アキレス腱断裂モデルラットを用いて組織学的および力学的検討を行った。その結果、腱断裂後早期からの継続した鍼通電刺激は、修復過程早期において腱修復部に細胞増殖と成長因子の増加を惹起し、早い段階での力学的強度の獲得に有益である可能性が示された。また、修復が完了した時期の腱の力学的強度をも高めることから、腱の再断裂の予防に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the effects of electroacupuncture on tendon repair in a rat model of Achilles tendon rupture using histological and mechanical evaluation. With the result that both the total cell count and the number of cells positive for b-FGF were significantly higher in the EA group. Maximum breaking strength of the repaired tendon early post-rupture was significantly higher in the EA group. Furthermore, maximum breaking strength of the repaired tendon a long period elapse post-rupture was significantly higher in the EA group. This finding suggests that electroacupuncture is capable of accelerate the healing of ruptured tendon.

研究分野：運動器

キーワード：腱修復 腱断裂 鍼 鍼通電 直流電気刺激 ラット 組織学的評価 力学的評価

1. 研究開始当初の背景

スポーツ人口の増加とその高齢化に伴い、中高年層でのスポーツ障害・外傷の発生頻度は増加傾向を示している。中でも発生頻度が高く、また、その予後において運動制限などの合併症が問題となっているアキレス腱断裂に対しては、発生後の処置、治療法に関して様々な検討が行われている。

2. 研究の目的

断裂後の治癒に対する促進方法としての鍼通電療法の臨床応用を目的に、ラットのアキレス腱断裂処置後モデルを用いて鍼通電刺激を行い、組織学的、免疫組織化学的、および力学的評価により、介入の影響について検討した。

3. 研究の方法

ラットのアキレス腱断裂処置後モデルを作製後、無作為に鍼通電刺激群、無処置群の2群に分けた。鍼通電刺激群は、軽度麻酔拘束下にアキレス腱断裂部の内外側に先端部が腱断裂部に接触するようにそれぞれ鍼を刺入し、内側部を陰極、外側部を陽極として間欠的直流鍼通電刺激をモデル作製日の翌日から各評価日まで連日行った。鍼通電刺激の条件は、パルス幅 5ms、片極性矩形波、刺激頻度 50Hz、刺激強度 20 μ A、刺激時間 20 分間として行った。無処置群は、麻酔拘束処置のみとした。

(1) 鍼通電刺激の腱修復過程に及ぼす影響について組織学的な観点から検討することを目的に、モデル作製後 3 日、7 日、10 日に修復腱を採取して標本作製後、HE 染色により細胞の局在を観察した。さらに、腱の修復に関与するサイトカイン(Transforming growth factor- 1: 以下 TGF- 1, basic-Fibroblast growth factor : 以下 b-FGF) に対する免疫組織化学染色を行い、それぞれの発現量について確認した。そして、腱断裂部を中心とした関心領域 (0.43 \times 0.34mm²) 内における、HE 染色については全細胞数を、免疫組織化学染色については陽性細胞数をカウントした。

(2) 鍼通電刺激による修復腱の力学的強度について、修復過程早期 (修復過程段階) に当たるモデル作製後 10 日と、凡そラットの腱修復が完了するとされているモデル作製後 90 日 (腱断裂長期経過後) における修復腱について調査した。力学的強度の検討には引張試験を行い、修復腱の最大破断強度を指標とした。

4. 研究成果

(1) HE 染色による観察に関して、モデル作製後 3 日においては、無処置群では炎症細胞と思われるものの他、線維芽細胞と思われる

細胞が少数に止まった。一方、鍼通電刺激群では、線維芽細胞と思しき細胞が断端部に集まるように多数観察されたが、両群間に有意差は見られなかった(図 1)。7 日においては、両群ともに腱断裂部付近に線維芽細胞と思われる紡錘形の細胞が多数観察されたが、両群間に有意差を認め ($p < 0.05$)、鍼通電刺激群でより密に観察された (図 2)。また、鍼通電刺激群では修復部と正常腱組織との境界が既に不明瞭な組織像も見られた。10 日においては、両群ともに断裂部が不明瞭となったが、全細胞数に有意差を認め、鍼通電刺激群で多数の細胞が観察された (図 2)。また、鍼通電刺激群では無処置群に比べ、新生血管と思われる組織像が多数見られた他、断裂部付近の線維芽様細胞が規則正しく配列し、線維性の組織像が観察された。

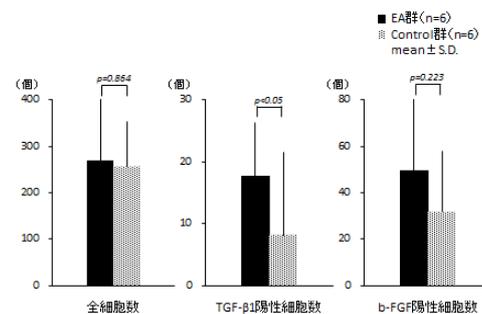


図 1 モデル作製後 3 日における組織学的評価の結果

	7days EA	7days Control	10days EA	10days Control	p
HE	1182.90 ± 292.11	942.70 ± 165.12			$p<0.05$
TGF-β1	59.56 ± 34.02		1329.70 ± 226.55	871.60 ± 94.63	$p<0.001$
	59.56 ± 34.02	16.00 ± 8.51			$p<0.0001$
	59.56 ± 34.02			16.70 ± 15.80	$p<0.0001$
		16.00 ± 8.51	16.70 ± 15.80		N.S.
b-FGF		16.00 ± 8.51	22.50 ± 19.47		N.S.
			22.50 ± 19.47	16.70 ± 15.80	N.S.
	294.50 ± 97.57		175.30 ± 67.84		$p<0.001$
	294.50 ± 97.57	153.40 ± 64.29			$p<0.0001$
b-FGF	294.50 ± 97.57			101.70 ± 50.11	$p<0.0001$
		153.40 ± 64.29	175.30 ± 67.84	101.70 ± 50.11	N.S.
		153.40 ± 64.29	175.30 ± 67.84	101.70 ± 50.11	$p<0.05$

図 2 モデル作製後 7 日、10 日における組織学的評価の結果

TGF- 1 に関して、モデル作製後 3 日においては、線維芽細胞と思われる細胞が陽性反応を示し、無処置群に比べ、鍼通電刺激群においてより強い染色性を示し、両群間に有意差を認めた ($p < 0.05$ 、図 1)。7 日においても、無処置群と比較して鍼通電刺激群で強い染色性を認めたが ($p < 0.0001$)、10 日においては両群ともに染色性が低下し、両群間の明確な違いは見られなかった。鍼通電刺激群では 10 日に比べ、7 日に強い発現が見られたのに対し ($p < 0.001$)、無処置群ではその間に有意な差は見られなかった (図 2)。また、b-FGF に関して、モデル作製後 3 日において

は、TGF- β 1 と同様の傾向を認め、鍼通電刺激群では無処置群と比較して、強い染色性を示す傾向が見られたが、群間に有意差は見られなかった(図2)。7日においては両群ともに腱断裂部付近にのみ陽性細胞が見られ、群間比較において有意差を認め、鍼通電刺激群で強い染色性が見られた($p < 0.0001$)。10日においては、全体的に染色性が低下した無処置群と比較して鍼通電刺激群では断裂部から離れた腱組織にも観察された($p < 0.05$)。(2)モデル作製後10日における修復腱の最大破断強度は、群間に有意差を認め、鍼通電刺激群で有意に高い値を示した($p < 0.01$)。腱修復部の前後径および左右径から算出した横断面積については、群間に有意な差は認めなかったものの、鍼通電刺激群ではやや増大する傾向を示した($p = 0.05$ 、図3)。90日においては、修復腱の最大破断強度に関しては、群間に有意差を認め、鍼通電刺激群で高値を示した($p < 0.06$)。修復腱の横断面積については、群間に有意差を認めなかった(図4)。

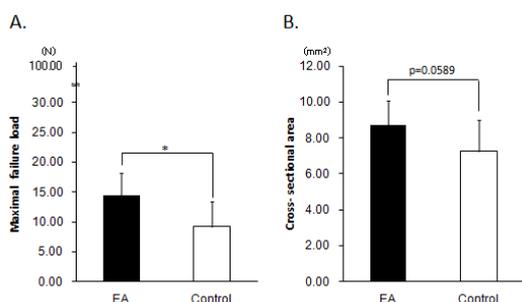


図3 モデル作製後10日における力学的評価の結果

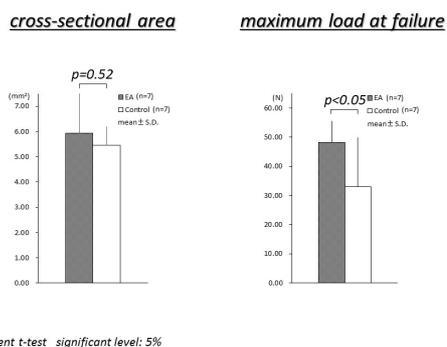


図4 モデル作製後90日における力学的評価の結果

アキレス腱断裂をはじめとした腱の損傷に対する鍼通電刺激の影響について調査することを目的に、アキレス腱断裂モデルラットを用いて組織学的および力学的検討を行った。その結果、腱断裂後早期からの継続した鍼通電刺激は、修復過程早期において腱修復部に細胞増殖と成長因子の増加を惹起し、損傷腱の修復に対して時間的な促進をもたらし、早い段階での力学的強度の獲得に有益である可能性が示された。さらに、断裂後長期

が経過し、修復が完了した時期の腱の力学的強度をも高めることから、断裂によって生じる腱の脆弱化によって高頻度にかかる腱の再断裂の予防に寄与する可能性が示唆された。

<引用文献>

Inoue M, Nakajima M, Oi Y, Hojo T, Itoi M, Kitakoji H, The effect of electroacupuncture on tendon repair in a rat Achilles tendon rupture model, *Acupunct Med.* 33(1), 2015, 58-64

大井優紀、井上基浩、中島美和、糸井恵、北小路博司、ラットのアキレス腱修復に与える鍼通電刺激の効果、*日本温泉気候物理医学会雑誌*、75巻2号、2012、112-123

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

Inoue M, Nakajima M, Oi Y, Hojo T, Itoi M, Kitakoji H: The effect of electroacupuncture on tendon repair in a rat Achilles tendon rupture model. *Acupunct Med.* 査読有. 33(1):58-64. 2015, doi: 10.1136/acupmed-2014-010611.

井上基浩, 中島美和, 北條達也, 勝見泰和, 糸井恵: アキレス腱断裂モデルラットに対する鍼通電刺激の腱癒合促進効果. *日本生体電気・物理刺激研究会誌*, 査読有 29: 29-35, 2015, <http://ci.nii.ac.jp/ncid/AA12323272>

井上基浩, 中島美和, 北條達也, 勝見泰和, 糸井恵: アキレス腱断裂モデルに対する鍼通電刺激の影響～長期経過後の力学的強度～. *日本生体電気・物理刺激研究会誌*, 査読有, 印刷中 <http://ci.nii.ac.jp/ncid/AA12323272>

[学会発表](計 2件)

中島美和, 井上基浩, 北條達也, 糸井恵: 腱修復過程に及ぼす鍼通電刺激の影響～アキレス腱断裂モデルラットを用いた炎症期における検討～. 第80回日本温泉気候物理医学会, 2015.6.20, 軽井沢プリンスホテル(長野県, 北佐久郡)

井上基浩, 中島美和, 北條達也, 勝見泰和, 糸井恵: アキレス腱断裂モデルに対する鍼通電刺激の影響～長期経過後の力学的強度～. 第43回日本生体電気・物理刺激研究会, 2016.3.5, 和歌山県 JA ビル(和歌山県, 和歌山市)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今枝 美和 (IMAEDA MIWA)
明治国際医療大学 鍼灸学部 助教
研究者番号：20587513

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：