

# 早期および末期変形性膝関節症の痛みに対する

## 大腿四頭筋の筋収縮運動の効果

### —ラット変形性膝関節症モデルを用いた基礎的検討—

本川智子

#### 要旨

運動療法による変形性膝関節症(以下、膝OA)の疼痛軽減効果は、多くのランダム化比較試験において明らかにされている。しかし、それらの対象者の多くは進行期の膝OA患者であり、特に、末期膝OA患者に対する運動療法の疼痛軽減効果は明らかにされていない。そこで、本研究では、ラット膝OAモデルを用いて、臨床で広く実践されている大腿四頭筋訓練を電気刺激誘発性筋収縮運動によりシミュレーションし、早期および末期膝OAに対する疼痛軽減効果について検討した。その結果、早期膝OAおよび末期膝OAのいずれにおいても、筋収縮運動を負荷すると患部の痛みと遠隔部の二次性痛覚過敏は改善するが、改善率は末期膝OAでは早期膝OAと比べて有意に小さかった。これには、膝OAの進行に伴って痛みの病態が複雑になることが関係していると考えられ、臨床では膝OAの病態を考慮して運動療法のプログラムを立案する必要があるといえる。

#### はじめに

変形性膝関節症(knee osteoarthritis, 以下、膝OA)は関節軟骨や軟骨下骨の変性といった組織学的な病態を基盤とする関節疾患である。その主要な臨床症状は痛みであり、組織学的な病態と関連があることが示唆されている。具体的には、Kubota ら<sup>1)</sup>は、X線画像による重症度評価に用いられるKellgren / Lawrence(以下、K/L)分類のグレードが高くなるほど、痛みが強くなり、日常生活に支障をきたす割合が大きくなることを報告している。また、Baker ら<sup>2)</sup>によると、核磁気共鳴画像(Magnetic Resonance Imaging: MRI)において認められる滑膜炎の所見が多いほど、痛みが重度であるという。さらに、MRI画像で認められる

骨髄病変(Bone Marrow Lesion: BML)は荷重時痛の強さと関連があることが明らかになっている<sup>3)</sup>。そして、最近では、これらの末梢組織の病変からの侵害刺激の inputs が長期間持続すると中枢感作が惹起され、痛みが重篤化・遷延化するとされている<sup>4)</sup>。

このような膝OA患者の疼痛マネジメントに関して、本邦における変形性膝関節症ガイドラインでは薬物療法と非薬物療法の併用が推奨されている。そして、薬物療法では、痛みが軽症から中等症の膝OA患者に対しては、滑膜炎が痛みの主病態であると推測されることから、抗炎症作用のある非ステロイド性消炎鎮痛剤(Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: NSAIDs)や鎮痛効果のあるアセトアミノフェンの処方推奨されている。

また、中枢感作が痛みの病態に関与しており、これらの薬物での疼痛コントロールが不十分な患者に対しては、弱オピオイドや下行性疼痛抑制系を賦活化させるセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬などの処方が考慮される<sup>5)</sup>。このように膝 OA 患者の痛みに対する薬物療法では、痛みの病態を踏まえて処方する薬物が選択されている。

一方、膝 OA の疼痛マネジメントにおける非薬物療法では、有酸素運動や筋力増強運動といった運動療法が推奨されており、その有効性が多くのランダム化比較試験において明らかにされている<sup>6-9)</sup>。また、本邦では大腿四頭筋訓練が変形性膝関節症患者に対する運動療法として広く実施されており、下肢伸展位挙上運動による膝 OA 患者の疼痛軽減効果を検証する多施設共同研究の結果によると、8 週間運動を継続した群では非ステロイド系抗炎症薬を 8 週間服用した群と同程度の疼痛軽減効果が認められている<sup>10)</sup>。

しかし、これまでの先行研究における対象者を詳細に検討してみると、多くの先行研究において K/L 分類の 2 または 3 と評価される進行期の膝 OA 患者が対象となっている。そのため、運動療法による疼痛軽減効果が早期膝 OA 患者や末期膝 OA 患者でも同等に得られるのかについては明らかではない。前述したように、膝 OA の痛みには複数の病態が関与していることを踏まえると、大腿四頭筋の筋収縮運動による疼痛軽減効果は早期膝 OA と末期膝 OA では異なるのではなかと予想される。そこで、本研究では、早期および末期膝 OA に対する大腿四頭筋の筋収縮運動が痛みにおよぼす影響について、ラット膝 OA モデルを用いて検討した。

## 材料と方法

### 1. 実験動物

実験には 7 週齢の Wistar 系雄性ラット 28 匹を用い、以下に述べるとおり、一部ラットについては、早期膝 OA の痛みに対する大腿四頭筋の筋収縮運動の効果を検証する実験に供した。具体的には、Wistar 系雄性ラット 14 匹を、モノイード酢酸(Mono-iodoacetic acid, 以下、MIA) 2mg を右膝関節腔内に投与し、膝 OA を惹起させた後、通常飼育する OA 群(n=5)、MIA 投与に対する擬似処置として生理食塩水を投与後、通常飼育する擬似処置群(n=5)、膝 OA 惹起後 5 日目から大腿四頭筋の筋収縮運動を負荷する早期運動群(n=4)に振り分けた。また、他のラットについては、末期膝 OA に対する大腿四頭筋の筋収縮運動の効果を検証する実験に供した。具体的には、Wistar 系雄性ラット 14 匹を、前述と同様の OA 群(n=5)および擬似処置群(n=5)、そして、膝 OA 惹起後 29 日目から大腿四頭筋の筋収縮運動を負荷する末期運動群(n=4)に振り分けた。

なお、以下に述べる行動学的評価を適切に行うため、実験開始前に 7 日間のハンドリング期間を設けた。本研究は長崎大学動物実験委員会で承認を受けた後、同委員会が定める動物実験指針に準じ、長崎大学先端生命科学支援センター・動物実験施設において実施した。(承認番号:1808091472)

### 2. ラット変形性膝関節症モデルの作成方法

各群のラットに対して、3種混合麻酔薬(塩酸メドミジン0.375mg/kg, ミタゾラム2mg/kg, 酒石酸ブトルファノール2.5mg/kg)を腹腔内へ投与して麻酔した。そして、OA群および早期・末期運動群のラットに対しては30ゲージの注射針(NIPRO

社)を膝蓋靭帯の直上に刺入し、MIA 2mgを右膝関節腔内に投与した。なお、擬似処置群のラットに対しては、同様の手順で生理食塩水を右膝関節腔内に投与した。

### 3. 大腿四頭筋の筋収縮運動の実施方法

前述の3種混合麻酔薬を腹腔内へ投与して麻酔した後、低周波治療器トリオ300(伊藤超短波社)を用いて、刺激周波数50Hz、パルス幅250 $\mu$ sec、刺激強度2~3mAの条件で、大腿四頭筋を2秒間収縮、4秒間弛緩させることで、膝関節伸展運動を誘発した。そして、この運動を週5回(20分/日)の頻度で28日間継続して負荷した。なお、本研究において採用した膝OAモデルは先行研究<sup>1)</sup>に準じており、MIA投与後5日目には組織学的には早期膝OAに該当するとされており、また、MIA投与後28日目には末期膝OAに該当するとされている。そこで、早期運動群に対する大腿四頭筋の筋収縮運動はMIA投与後5日目から28日間、末期運動群に対する大腿四頭筋の筋収縮運動はMIA投与後29日目から28日間とした。

### 4. 行動学的評価

実験期間中は、以下の方法にて注射側である右側膝関節の圧痛覚閾値を測定した。また、右側足底への機械刺激に対する痛覚閾値を測定し、遠隔部における痛みの発生状況を評価した。なお、各評価はMIAまたは生理食塩水投与前およびMIA投与後4、7日目、その後は7日毎に32日目または56日目まで行った。

#### 1) 膝関節の圧痛覚閾値の評価

膝関節の圧痛覚閾値は、ランダルセリット式鎮痛効果測定装置(Ugo Basile 製)を用いて評価

した。覚醒下にて、右側膝関節の外側裂隙に圧刺激を加え、後肢の痛み関連行動が出現する際の荷重量(g)を測定することで評価した。データは1個体につき5回測定し、最大値と最小値を除外した3回分の値の平均値を採用した。

#### 2) 足底の機械刺激に対する痛覚閾値の評価

足底の機械刺激に対する痛覚閾値の評価には、Von Frey式感覚測定装置(以下、VFF:IITC Life Science 社製)を用いて、覚醒下で右側足底を刺激し、その際の刺激側後肢の逃避反応の出現した際の荷重量を測定することで評価した。データは1個体につき5回測定し、最大値と最小値を除外した3回分の値の平均値を採用した。

#### 3) 膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値の改善率

早期膝OAおよび末期膝OAに対する筋収縮運動の疼痛軽減効果について、早期運動群と末期運動群の膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値の改善率を算出し、比較・検討した。なお、改善率は、「(運動介入後28日目の閾値-運動介入直前の閾値/実験開始時の閾値-運動介入直前の閾値) $\times$ 100」により算出した。

### 6. 統計処理

すべてのデータは平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。膝関節の圧痛覚閾値および足底の痛覚閾値の比較には、二元配置分散分析を適用した。検定において有意差を認めた場合は、事後検定としてBonferroni法を適用した。また、膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値の改善率の比較にはt検定を適用した。なお、すべての統計手法とも有意水準は5%未満とした。

## 結果

### 行動学的評価

#### 1) 膝関節の圧痛覚閾値の変化

OA群および早期運動群は、MIA投与後4日目に擬似処置群と比べて有意に低値を示し、この2群間に有意差は認められなかった。その後の推移をみると、OA群はMIA投与後32日目まで擬似処置群と比べて有意に低値を示した。一方、早期運動群はMIA投与後14日目よりOA群と比べて有意に高値を示し、MIA投与後28日目以降では擬似処置群との有意差を認めなかった(図1)。

次に、OA群と末期運動群は、MIA投与後4日目からMIA投与後56日目まで擬似処置群と比べて有意に低値を示した。そして、この2群を比較すると、MIA投与後4日目から35日目までは21日目を除き有意差を認めなかったが、MIA投与後42日目以降において末期運動群はOA群と比べて有意に高値を示した(図2)。

#### 2) 足底の機械刺激に対する痛覚閾値の変化

OA群および早期運動群は、MIA投与後4日目に擬似処置群より有意に低値を示し、この2群間に有意差は認められなかった。その後の推移をみると、早期運動群はMIA投与後14日目よりOA群と比べて有意に高値を示した(図1)。

次に、OA群と末期運動群は、MIA投与後4日目からMIA投与後56日目まで擬似処置群と比べて有意に低値を示した。そして、この2群を比較すると、MIA投与後4日目から35日目までは有意差を認めなかったが、MIA投与後42日目以降において末期運動群はOA群と比べて有意に高値を示した(図2)。

#### 3) 膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値の改善率

運動介入後28日目における膝関節の圧痛覚閾値ならびに足底の機械刺激に対する痛覚閾値の改善率は、いずれも末期運動群は早期運動群と比べて有意に低値を示した(図3)。

## 考察

本研究では、ラット膝 OA モデルを用いて、早期膝 OA および末期膝 OA の痛みに対する大腿四頭筋の筋収縮運動の効果について検討した。

まず、早期膝 OA に対する筋収縮運動が痛みにおよぼす影響について検討したところ、MIA投与後4日目の膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値は、OA群と早期運動群は擬似処置群と比べて有意に低値を示し、この2群間に有意差を認めなかった。このことから、OA群と早期運動群では同程度の膝OAが惹起されていたと推察できる。そして、運動介入後の膝関節の圧痛覚閾値の推移をみると、MIA投与後14日目以降、早期運動群はOA群と比べて有意に高値を示し、MIA投与後28日目以降は擬似処置群との間に有意差を認めなかった。また、運動介入後の足底の機械刺激に対する痛覚閾値の推移をみると、MIA投与後14日目以降、早期運動群はOA群と比べて有意に高値を示したが、擬似処置群と比べて有意に低値を示した。これらの結果から、早期膝OAに筋収縮運動を負荷すると患部の痛みのみならず遠隔部の二次性痛覚過敏も早期に改善できる可能性が示唆された。

次に、末期膝OAに対する筋収縮運動が痛みにおよぼす影響について検討したところ、MIA

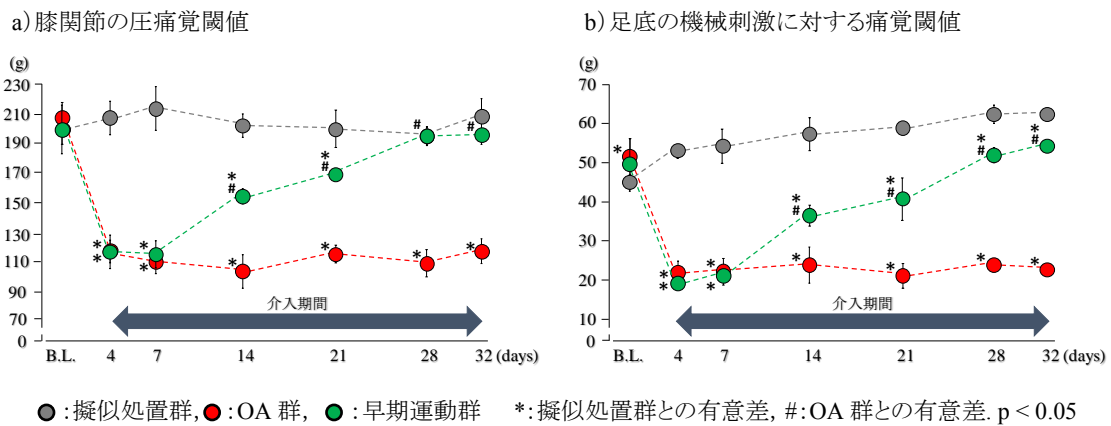


図 1 膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値の変化 (早期膝 OA に対する介入)

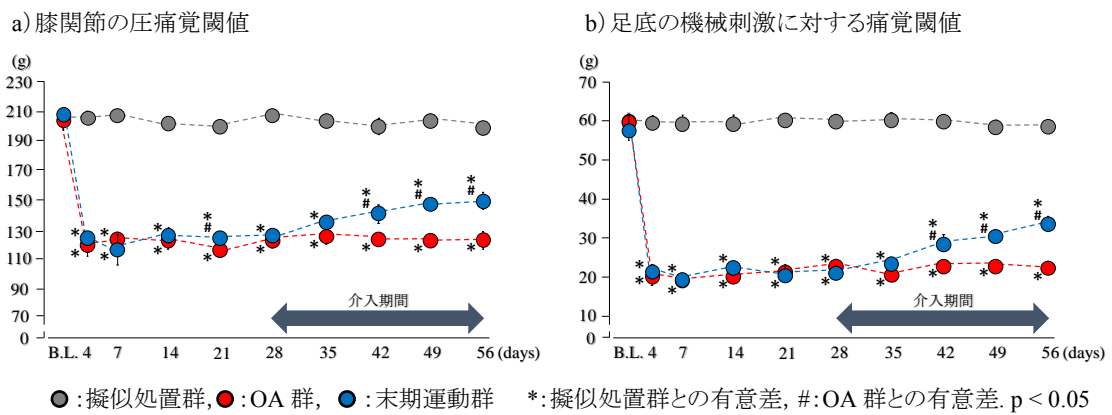


図 2 膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値の変化 (末期膝 OA に対する介入)

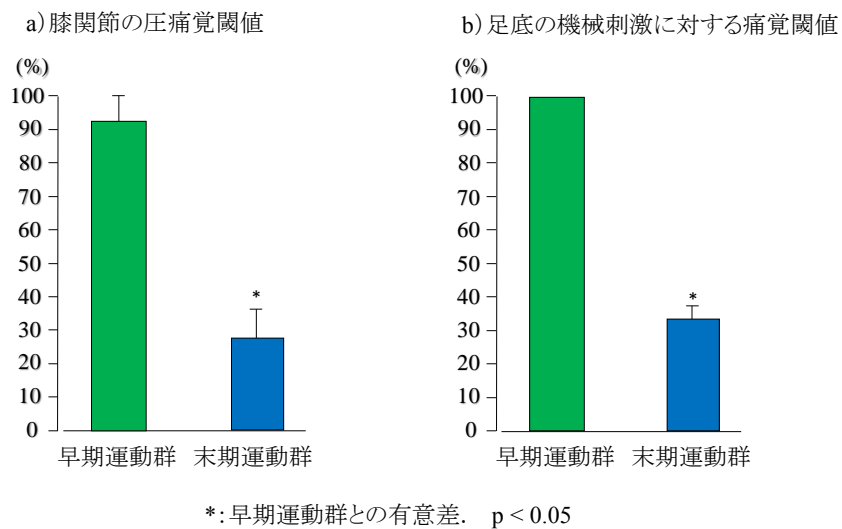


図 3 膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値の改善率

投与後 4 日目から 28 日目までの膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値は、OA 群と末期運動群は擬似処置群と比べて有意に低値を示し、この 2 群間に有意差を認めなかった。つまり、この実験においても OA 群と末期運動群では同程度の膝 OA が惹起されていたと推察できる。そして、運動介入後の推移をみると、MIA 投与後 42 日目以降、膝関節の圧痛覚閾値ならび足底の機械刺激に対する痛覚閾値のいずれも、末期運動群は OA 群と比べて有意に高値を示し、擬似処置群と比べて有意に低値を示した。つまり、末期膝 OA であっても筋収縮運動を負荷すると患部の痛みならびに遠隔部の二次性痛覚過敏が改善される可能性が示唆された。

そして、早期膝 OA および末期膝 OA それぞれに対する筋収縮運動の疼痛軽減効果を比較・検討するために、運動介入後 28 日目における痛覚閾値の改善率を算出し、比較した。その結果、膝関節の圧痛覚閾値および足底の機械刺激に対する痛覚閾値のいずれも、末期運動群は早期運動群と比べて有意に低値を示した。つまり、膝 OA に対する筋収縮運動の疼痛軽減効果は、早期膝 OA 患者と末期膝 OA 患者とで異なり、末期膝 OA 患者では筋収縮運動の疼痛軽減効果は低い可能性が示唆された。

最近の疼痛医学研究の発展により、膝 OA の痛みの病態が明らかにされつつある。膝 OA 早期では、関節軟骨の変性に力学的負荷の偏在化が加わることで関節軟骨が摩耗・断片化し、これが滑膜で貪食されることで生じる滑膜炎が痛みの主病態であるとされている<sup>12, 13)</sup>。そして、関節軟骨の変性が進行し、軟骨下骨において骨嚢胞の形成や骨辺縁部における骨棘形成などが誘発されると、これらも痛みの病態に加わる<sup>14)</sup>。

加えて、軟骨下骨の変性が進むと軟骨下骨を支配する一次感覚ニューロンでは、小型細胞だけでなく大型細胞においてもカルシトニン遺伝子関連ペプチド(Calcitonin gene related peptide, 以下、CGRP)や神経成長因子の受容体である TRPV1 といった疼痛関連分子の発現が増加することが報告されており、このような末梢神経の形質変化(フェノタイプスイッチ)が痛みの重篤化に関与すると考えられている<sup>15)</sup>。そして、このような変化が長期間におよぶと、末梢からの侵害刺激の入力が持続することで、脊髄や脳では中枢感作が生じ、慢性疼痛に発展するとされている。つまり、早期膝 OA の痛みの病態の中心は滑膜炎であり、膝 OA の進行に伴って、他の末梢組織の変化が痛みに病態に加わり複雑になるといえる。

今回の結果では、早期運動群および末期運動群ともに疼痛軽減効果が認められた。Ishikawa ら<sup>16)</sup>によると、ラット急性膝関節炎モデルの発症後早期から低強度の筋収縮運動を負荷すると、滑膜炎の軽減によって患部の痛みが早期に改善し、末梢からの侵害刺激の入力が減少することで脊髄における中枢感作が抑制され、その結果、遠隔部の二次性痛覚過敏が軽減するという。つまり、早期運動群と末期運動群で認められた疼痛軽減効果には、いずれにも共通した痛みの病態である滑膜炎に対して筋収縮運動が好影響をもたらしたことが関与しているのではないかと推察される。一方、筋収縮運動による疼痛軽減効果は早期運動群と比べて末期運動群では小さかった。前述したように、末期膝 OA の痛みの病態には滑膜炎以外の病態が複雑に関与している。そのため、末期から介入しても十分な疼痛軽減効果が得られなかったのではないかと推察される。

臨床場面では、すべての膝 OA 患者に対して

大腿四頭筋訓練が広く実践されている。しかし、今回の結果を踏まえると、膝 OA 患者に対する運動療法では、痛みの病態を考慮したプログラムを立案する必要があるといえる。具体的には、滑膜炎が主な病態と考えられる早期から進行期の膝 OA 患者に対しては、大腿四頭筋訓練により患部の痛みを改善し、慢性化の予防を図るとともに、罹患関節の関節可動域制限や膝関節周囲筋の筋力低下などの機能障害、歩行能力などの維持・向上を図るプログラムが必要といえる。一方、末期膝 OA 患者では、大腿四頭筋訓練による疼痛軽減効果が乏しいことから、痛みの無い部位での全身的な運動をプログラムに加えて疼痛軽減を図るとともに、各種外科術後までの身体機能の維持や不活動の回避・是正に努める必要があるといえる。

## 参考文献

- 1) Kubota M, Kurosawa H, et al.: Bone marrow abnormality associated with painful osteoarthritis of the knee: A cross-sectional study of magnetic resonance imaging findings with the radiographic stage and clinical findings. *Juntendo Medical Journal*. 2009. 55: 45-53.
- 2) Baker K, Grainger A, et al.: Relation of synovitis to knee pain using contrast-enhanced MRIs. *Ann Rheum Dis*. 2010. 69: 1779-1783.
- 3) Lo GH, McAlindon TE, et al.: Bone marrow lesions and joint effusion are strongly and independently associated with weight-bearing pain in knee osteoarthritis: data from the osteoarthritis initiative. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009. 17: 1562-1569.
- 4) 泉仁, 阿漕孝治, 他. 変形性膝関節症の疼痛: 保存療法. *THE BONE*. 2016. 30: 263-268.
- 5) 石田高志, 関口剛美, 他. 関節炎による痛みのメカニズムと薬物治療の最新の進歩. *日本ペインクリニック学会誌*. 2018. 25: 53-62.
- 6) Topp R, Woolley S, et al.: The effect of dynamic versus isometric resistance training on pain and functioning among adults with osteoarthritis of the knee. *Arch Phys Med Rehabil*. 2002. 83:1187-95.
- 7) Jan MH, Lin JJ, et al.: Investigation of clinical effects of high- and low-resistance training for patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Phys Ther*. 2008. 88: 427-36.

最後に、本研究の限界として、各群のサンプル数が小さいことが挙げられる。また、今回の研究では行動学的評価しか行えておらず、その結果を裏付けるための組織学的解析や生化学的解析、分子生物学解析については実施できていない。運動療法の科学的エビデンスの確立につながるよう、今後は、前述の課題を解決し、本研究を発展させたい。

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、ご指導・ご協力いただきました長崎大学大学院医歯薬学総合研究科運動障害リハビリテーション学研究室の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

- 8) Henriksen M, Klokke L, et al.: Association of exercise therapy and reduction of pain sensitivity in patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2014. 66: 1836-1843.
- 9) Geenen R, Overman CL, et al.: EULAR recommendations for the health professional's approach to pain management in inflammatory arthritis and osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2018. 77: 797-807.
- 10) Doi T, Akai M, et al.: Effect of home exercise of quadriceps on knee osteoarthritis compared with nonsteroidal Antiinflammatory Drugs A Randomized Controlled Trial. *Am J Phys Med Rehabil*. 2008. 87: 258-269.
- 11) Hoshino T, Tsuji K et al.: Persistent synovial inflammation plays important roles in persistent pain development in the rat knee before cartilage degradation reaches the subchondral bone. *BMC Musculoskelet Disord*. 2018. 19: 291-301.
- 12) Benito MJ, Veale DJ, et al.: Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005. 64:1263-1267.
- 13) Berlinberg A, Ashbeck EL, et al.: Diagnostic performance of knee physical exam and participant-reported symptoms for MRI-detected effusion-synovitis among participants with early or late stage knee osteoarthritis: data from the Osteoarthritis Initiative. *Osteoarthritis Cartilage*. 2019. 27: 80-89.
- 14) Yusup A, Kaneko H, et al.: Bone marrow lesions, subchondral bone cysts and subchondral bone attrition are associated with histological synovitis in patients with end-stage knee osteoarthritis: a cross-sectional study. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2015. 23: 1858–1864.
- 15) Aso K, Izumi M, et al.: Nociceptive phenotype alterations of dorsal root ganglia neurons innervating the subchondral bone in osteoarthritic rat knee joints. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016. 24: 1596-1603.
- 16) Ishikawa K, Kajiwara Y, et al.: Low-intensity muscle contraction exercise following the onset of arthritis improves hyperalgesia via reduction of joint inflammation and central sensitization in the spinal cord in a rat model. *Neurosci Lett*. 2019. 706: 18-23.

(指導教員：坂本淳哉)