

# 不動に伴う痛みに対する等尺性収縮運動の効果

## —行動学的評価による検討—

中川晃一・永田明日翔

### 要旨

本研究では、足関節不動モデルラットを用い、不動に伴う痛みに対する等尺性収縮運動の効果について行動学的手法を用いて検索した。実験動物には Wistar 系雄性ラット 31 匹を用い、1) 右側足関節を4週間ギプスで不動化させる不動群 (n=12)、2) 不動群と同様の処置を行い、不動側肢の腓腹筋に電気刺激による等尺性収縮運動を負荷する不動+電気群 (n=13)、3) 無処置の対照群 (n=6) に振り分けた。結果、腓腹筋外側頭の筋圧痛閾値は3週目以降、対照群に比べ不動群と不動+電気群が有意に低値を示し、不動+電気群は不動群に比べ有意に高値を示した。また、遠隔部の足底部における機械的刺激に対する痛覚閾値は2週目以降、対照群に比べ不動群と不動+電気群が有意に高値を示し、3週目以降では不動群に比べ不動+電気群が有意に低値を示した。これらのことから、不動に伴う痛みは等尺性収縮運動による介入によって軽減できるのではないかと推察された。

### はじめに

臨床におけるギプスやシーネによる関節固定、骨折や外傷による下肢の免荷状態、疾病や術後の安静臥床は、関節拘縮や廃用性筋萎縮を引き起こすだけでなく、痛覚過敏を惹起するとされている<sup>1)</sup>。例えば、Hamaue ら<sup>2)</sup>は、ラット足関節不動モデルの足底部における痛みの発生状況を検索したところ、不動2週目から機械的刺激に対する逃避反応回数が増加し続け、さらに脊髄後角において感作の発生が認められたことから、痛覚過敏の発生が確認されたと報告している。また、同じ不動モデルを用いた大賀ら<sup>3)</sup>の報告では、腓腹筋外側頭の筋圧痛閾値の変化を検索しており、結果、不動2週目より痛覚過敏が発生したとされている。このように、四肢が不動化されると皮膚および骨格筋において痛覚過敏が発生

することが明らかにされつつある。

一方、近年、痛みに対する運動の効果として Exercise-Induced Hypoalgesia (以下、EIH) が注目されている。Umeda ら<sup>4)</sup>は、健常人に対して25%最大収縮力の等尺性収縮運動による手の把握運動を1分間負荷すると、手指の圧痛閾値が上昇したと報告している。また、Hoffman ら<sup>5)</sup>は、健常人に対して75%最大酸素摂取量の有酸素運動によるトレッドミル走行を30分間負荷すると手指の圧痛に対する主観的疼痛強度が低下したと報告している。さらに Koltyn ら<sup>6)</sup>は、健常人に対して75%最大収縮力によるベンチプレスを10回×3セット、45分間負荷すると手指の圧痛閾値の上昇が見られたと報告している。この他にも、同様な結果を示す EIH に関する研究は多く報告されている。既にメタ分析を用いたシステムティックレビューにおいて高いエビデンスが得られてお

り<sup>7)</sup>、等尺性収縮運動、有酸素運動、抵抗運動には疼痛の自覚的強度を低下、疼痛閾値を上昇させる効果があることはまず間違いない。

こうした EIH という現象を踏まえて、先に述べたギプス固定などといった不動に伴う痛覚過敏に対する介入方法を考えた場合、等尺性収縮運動が有効である可能性がある。等尺性収縮運動はギプス固定中の四肢でも実施可能であり、実際に臨床においては、ギプス固定中に惹起される廃用性筋萎縮の予防を目的として実施されている<sup>8)</sup>。つまり、ギプス固定中の四肢の骨格筋に等尺性収縮運動を負荷すれば、EIH により不動に伴う痛覚過敏が軽減されるのではないかと期待できる。しかしながら、不動に伴う痛覚過敏に対する等尺性収縮運動の効果を検討した報告は現在のところ見当たらない。また、先行研究<sup>4,7)</sup>で検討されている EIH はすべて即時効果であり、2週間以上の不動によって惹起される痛覚過敏が等尺性収縮運動を繰り返し負荷することによって予防・軽減できるかどうかは不明である。

そこで本研究では、ラット足関節不動モデルに対して等尺性収縮運動を繰り返し負荷し、骨格筋と皮膚に生じる痛覚過敏がどのように変化するかを検討した。

## 予備実験

本研究では、定量・定強度の等尺性収縮運動を再現するため、等尺性収縮運動の負荷方法として電気刺激による誘発を採用した。また、その強度としては、先行研究<sup>4)</sup>を参考にして 25%最大収縮力に設定した。そこで、電気刺激の通電条件を決定することを目的とし、以下の予備実験を行った。

- 1) 刺激強度と等尺性収縮力の関係 (予備実験 1)

25%最大収縮力を発揮させるためにはどの程度の強度の通電が必要であるのかを検討した。具体的には、8 週齢の Wistar 系雄性ラット 11 匹をペントバルビタールナトリウム (40mg/kg) の腹腔内投与にて麻酔し、下腿後面に低周波治療器トリオ 300 (伊藤超短波社) の電極 (縦 2cm, 横 1.5cm) を添付した後、足関節が 90°底屈位になるよう足底部にプッシュプルゲージ (AIKOH ENGINEERING 社製) のプローブを密着させた。そして、通電して刺激強度を漸増させ、プッシュプルゲージに表示される値を足関節底屈力として記録した。なお、刺激周波数は 40Hz、パルス幅は 200 $\mu$ sec とした<sup>9)</sup>。その結果を図 1 に示す。電気刺激による最大底屈力は 4.7N であり、その 25% (1.2N) を発揮する刺激強度をグラフから読み取ると 4mA であったため、これを本研究での刺激強度に決定した。

## 2. 刺激サイクルと筋疲労の関係 (予備実験 2)

電気刺激による筋収縮が繰り返されると筋疲労が生じることがあり、その際に痛覚閾値の低下が生じる可能性がある<sup>10)</sup>。本研究ではそれを避けるため、適切な通電時間と休止時間を設定する必要がある。そこで、刺激サイクル (通電時間と休止時間の繰り返し) と筋疲労の関係を検討した。

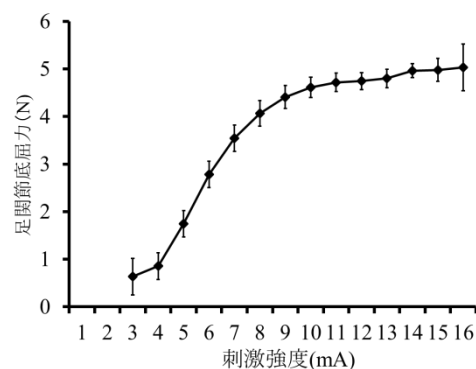


図 1 刺激強度による筋出力の変化

刺激強度を 0 から 16mA まで漸増的に上昇させた際の足関節底屈力を示している。平均±標準誤差。

対象と方法は予備実験1と同様とし、刺激強度は予備実験1の結果に基づいて 4mA とした。通電は 1 秒通電-1 秒休止の刺激サイクルと、1 秒通電-3 秒休止の刺激サイクルの条件でそれぞれ 15 分間行った。そして、足関節底屈力の変化を 1 分毎に記録した。その結果を図 2 に示す。1 秒通電-1 秒休止の刺激サイクルでは筋疲労による足関節底屈力の低下が認められたが(図 2-A)、1 秒通電-3 秒休止では認められなかった

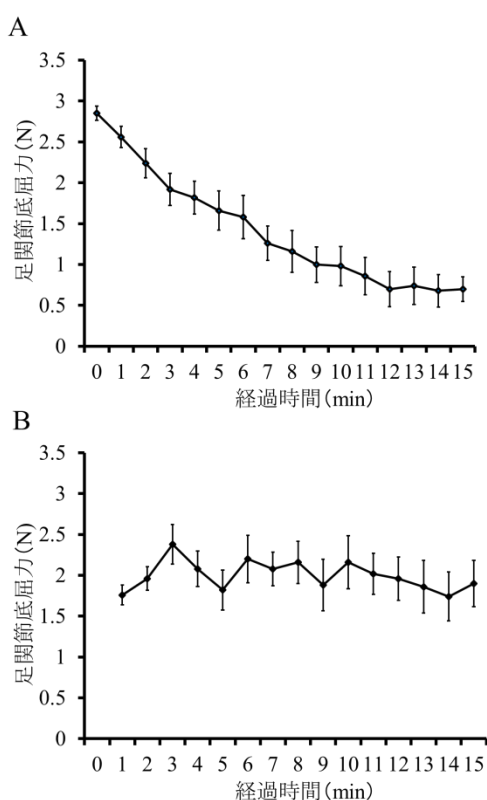


図 2 刺激時間による足関節底屈力の変化

A: 1 秒通電-1 秒休止による電気刺激. B: 1 秒通電-3 秒休止による電気刺激. 平均±標準誤差.

(図 2-B). よって、本実験での刺激サイクルは 1 秒通電-3 秒休止に決定した。

## 材料と方法

### 1. 実験プロトコル

#### 1) 実験動物

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 31 匹を用い、これらが無作為に 1) 右側足関節を 4 週間ギプスで不動化させる群 (以下、不動群; n=12), 2) 不動群と同様の処置を行い、不動側に電気刺激による等尺性収縮運動を負荷する群 (以下、不動+電気群; n=13), 3) 通常飼育を行う群 (以下、対照群; n=6) の 3 群に振り分けた。なお、今回の実験は長崎大学が定める動物実験指針に準じ、長崎大学先導生命科学研究支援センター動物実験施設で実施した。

#### 2) ギプス固定の方法

不動群と不動+電気群に対しては、不動側の自発運動を制限する目的でギプス固定を行った。具体的には、麻酔を行った後、右足関節を最大底屈位で中足指節関節 (MP 関節) から膝蓋骨上縁より近位 2cm までの範囲をギプス包帯で 4 週間不動化した。なお、不動期間中は浮腫の発生やギプスの緩みを防ぐ目的で 2~3 日毎にギプスの巻き替えを行った。

#### 3) 等尺性収縮運動の実施方法

不動+電気群においては、右側の腓腹筋に電気刺激による等尺性収縮運動を負荷した。具体的には、麻酔を行い、右側の下腿後面に縦 2cm・横 1.5cm の電極を添付し、低周波治療器トリオ 300 (伊藤超短波社) を用いて通電した。通電条件は予備実験の結果に従った (刺激強度: 4mA, 刺激サイクル: 1 秒通電-3 秒休止, 周波数: 40Hz, パルス幅: 200μsec)。また、ギプス固定により関節拘縮が発生することを考慮し、通電は

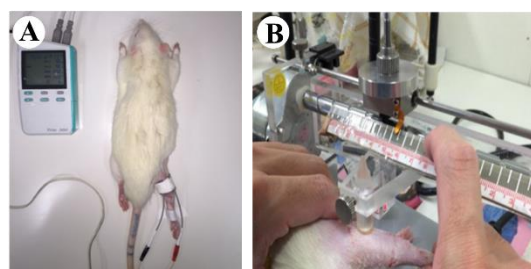


図 3 等尺性収縮運動と筋圧痛閾値測定の方法

A: 電気刺激による等尺性収縮. B: Randall-Selitte を用いた筋圧痛閾値の測定.

足関節を最大底屈位に固定して行った。運動頻度は1日10分間、週5回で、実験期間は4週間とした(図3-A)。

## 2. 評価方法

ギプス固定の直前と1, 2, 3, 4週目に、以下に述べる方法で筋圧痛閾値と足底部の機械的刺激に対する痛覚閾値、ならびに体重と足関節可動域(Range of Motion: 以下, ROM)を測定した。

### 1) 腓腹筋外側頭の筋圧痛閾値

筋圧痛閾値の測定は、圧刺激鎮痛効果測定装置(Randall-Selitte, UGO BASIL 社製)を用いて行った。具体的には、先端直径が8mmのプロープで皮膚上から腓腹筋外側頭を32g/秒の速度で漸増的に加圧し、逃避反応が出現する圧力値を測定した(図3-B)。測定は5回行い、最大値と最小値を除外した3回の測定値の平均値をデータとして採用した。

### 2) 足底部の機械的刺激に対する痛覚閾値

足底部の機械的刺激に対する痛覚閾値は、von Frey filament (以下, VFF)テストにより評価した。今回は、4gと15gのVFF(ニューロサイエンス社製)を使用し、足底をそれぞれ10回刺激し、後肢の逃避反応の出現回数をカウントした。なお、4gのVFFはアロディニアを、15gのVFFは痛覚過敏を評価できるとされている<sup>11)</sup>。

### 3) 足関節 ROM 測定

実験開始時と終了時(不動から4週目)のみ、足関節のROMを測定した。具体的には、第5中足骨、外果、膝関節裂隙中央をランドマークとし、麻酔下のラットを側臥位に固定して、丸型テンションゲージで足関節を背屈方向に押し(0.3N)、膝関節裂隙中央と外果を結ぶ線と外果と第5中足骨を結ぶ線との外角を分度器で測定した。

## 3. 実験期間終了後

実験期間終了後、全てのラットを麻酔した後、両側の腓腹筋外側頭を摘出、筋湿重量を計測し、体重1kgあたりの相対重量比を算出した。その後、トラガントガムに包埋し、液体窒素で冷却したイソペンタン液内(-80°C)で急速凍結した。凍結した試料は、クリオスタット(Leica 社製)を用いて7μm厚に薄切し、連続横断切片とし、組織学的検索に供した。横断切片には、ヘマトキシリン・エオジン(以下, HE)染色を施した。そして、光学顕微鏡を用いて検鏡し、筋線維損傷や筋浮腫などの筋病理学的所見の有無を確認した。

## 4. 統計処理

各指標の解析には、一元配置分散分析(以下, ANOVA)を適用し、有意差を認めた場合は、事後検定にFisherのPLSD法を適用して多群間の比較を行った。なお、すべての統計手法とも有意水準は5%未満とした。

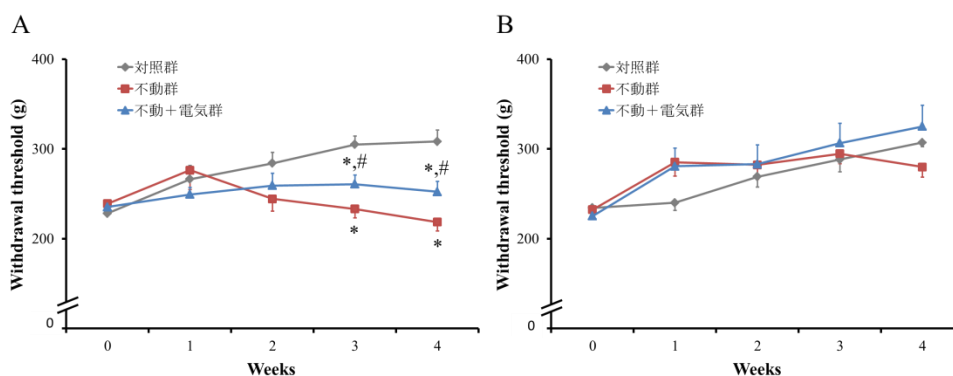


図4 腓腹筋の筋圧痛閾値の変化

A: 不動側(右側), B: 非不動側(左側)。\*: 対照群との有意差( $p < 0.05$ ), #: 不動群との有意差( $p < 0.05$ )。平均±標準誤差。

## 結果

### 1. 体重

不動から1週目以降, 対照群に比べ不動群と不動+電気群が有意に低値を示したが, 不動群と不動+電気群の間には有意差は認められなかった.

### 2. 腓腹筋外側頭の筋圧痛閾値

不動側(右側)の筋圧痛閾値は, 不動から3週目以降, 対照群に比べ不動群と不動+電気群が有意に低値を示した. また, 不動群と不動+電気群の2群を比較すると不動+電気群が有意に高値を示していた. 一方, 非不動側(左側)では, 3群間に有意差は認めなかった. (図4)

### 3. 足底部の機械的刺激に対する痛覚閾値

不動側の VFF4g に対する逃避反応回数は, 不動から3週目以降, 対照群に比べ不動群と不

動+電気群が増加し始め, 不動4週目では2群とも対照群に比べ有意に高値を示した. また, 不動群と不動+電気群を比較すると, 不動+電気群が有意に低値を示した. 不動側の VFF15g に対する逃避反応回数も同様な傾向を示し, 不動から2週目以降, 対照群に比べ不動群と不動+電気群が有意に高値を示した. また, 不動群と比べ不動+電気群が有意に低値を示した. 一方, 非不動側(左側)においては, VFF4g および VFF15g に対する逃避反応回数とも, 3群間に有意差は認められなかった. (図5)

### 4. 足関節 ROM

実験開始時は3群の全てのラットとも160°と同等であったが, 不動から4週目においては, 対照群に比べ不動群と不動+電気群が有意に低値を示した. (図6)

### 5. 相対重量比と筋組織像

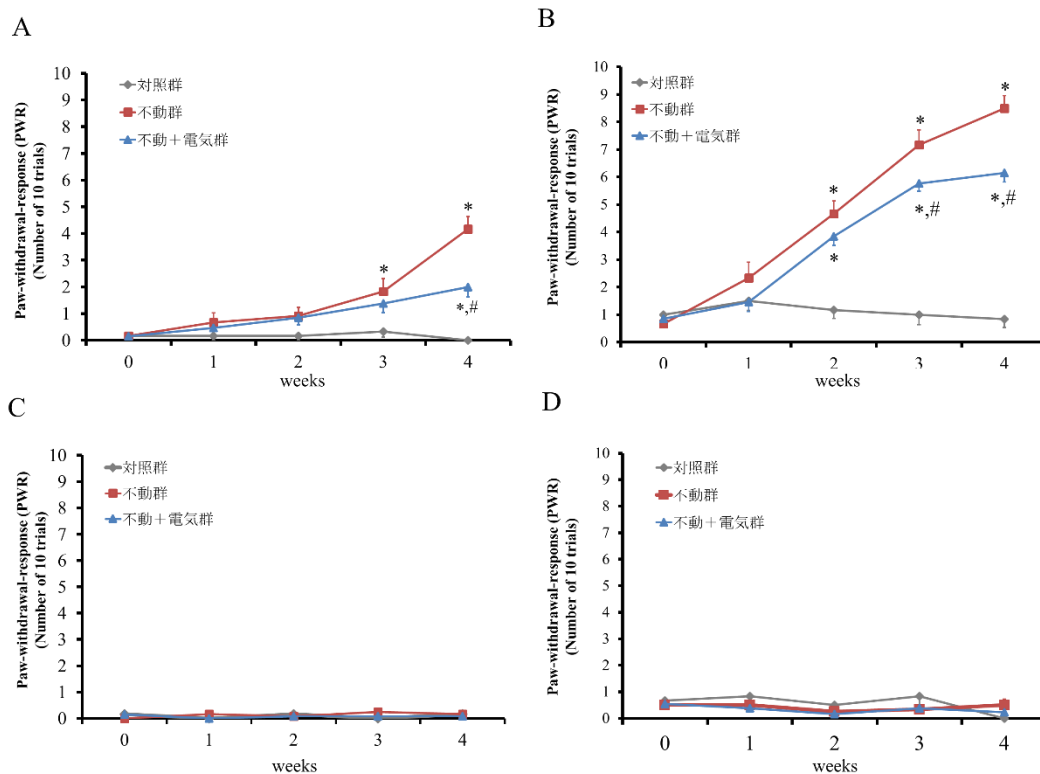


図5 足底部の機械的刺激に対する痛覚閾値の推移

A: 不動側の VFF4g に対する逃避反応回数, B: 不動側の VFF15g に対する逃避反応回数, C: 非不動側の VFF4g に対する逃避反応回数, D: 非不動側の VFF15g に対する逃避反応回数. 平均±標準誤差. \*: 対照群との有意差 ( $p < 0.05$ ), #: 不動群との有意差 ( $p < 0.05$ ).

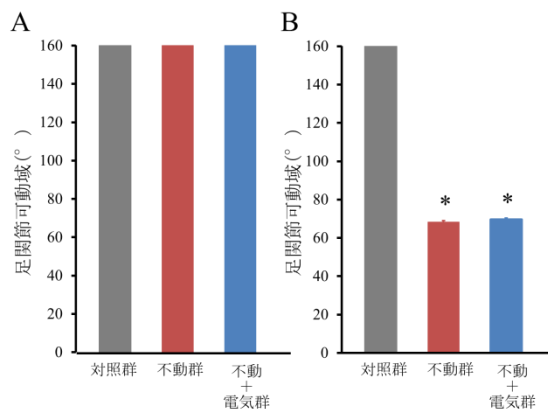


図6 不動側(右側)足関節ROM

A: 実験開始時, B: 実験終了時. 平均±標準誤差.  
\*: 対照群との有意差 ( $p < 0.05$ ).

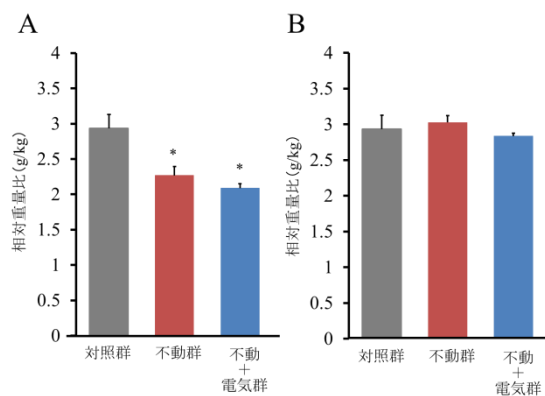


図7 腓腹筋外側頭の相対重量比

A: 不動側(右側), B: 非不動側(左側). 平均±標準誤差.  
\*: 対照群との有意差 ( $p < 0.05$ )

不動側(右側)の腓腹筋の相対重量比は、対照群に比べ不動群と不動+電気群が有意に低値を示したが、非不動側(左側)では3群間に有意差は認められなかった(図7). また、腓腹筋の組織像を顕鏡したところ、不動群と不動+電気群において筋線維サイズの縮小は観察されたが、筋線維損傷や筋浮腫といった筋病理学的所見は3群の全てのラットで認められなかった(図8).

## 考察

本研究では、ラット足関節不動モデルのギプス固定期間中に、不動側の腓腹筋に対して電気

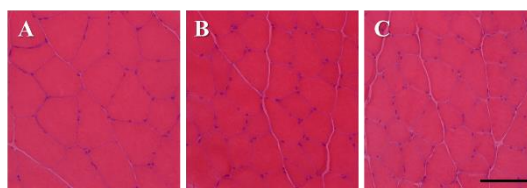


図8 不動側(右側)の腓腹筋のHE染色像

A: 対照群, B: 不動群, C: 不動+電気群.  
Scale bar=10 $\mu$ m.

刺激による等尺性収縮運動(40Hz, 4mA, 10分)を4週間負荷した. 吉村ら<sup>12)</sup>の報告によれば、本研究と同様なラット足関節不動モデルの不動側後肢に対して電気刺激(1Hz, 4mA, 60分)による等尺性収縮運動を負荷すると関節拘縮の発生が軽減したとされている. これに対して、本研究では、不動群と不動+電気群の両群に足関節の関節拘縮は認められたものの、2群間に有意差は認められなかった. また、一般に等尺性収縮運動を負荷することにより廃用性筋萎縮の発生が軽減することが知られているが<sup>13)</sup>、本研究の不動+電気群では4週間のギプス固定により発生した廃用性筋萎縮は軽減されなかった. つまり、今回設定した電気刺激による等尺性収縮運動が筋組織に与える生物学的作用はさほど大きいものではなかったと推測でき、それを裏付けるように、筋組織像に筋損傷などを示唆する所見は確認されなかった.

一方、行動学的手法による痛覚閾値の評価をみると、不動群の腓腹筋外側頭の筋圧痛閾値および足底部の機械的刺激に対する痛覚閾値は低下し、痛覚過敏の発生が認められた. これは、大賀ら<sup>3)</sup>の先行研究で示されている不動が原因で発生する痛覚過敏と考えてまず間違いなさであろう. そして、不動期間中に電気刺激による等尺性収縮運動を負荷した不動+電気群では、腓腹筋と足底部のいずれにおいても、痛覚過敏が軽減した. つまり、不動に伴う骨格筋と皮膚の痛覚過敏は、等尺性収縮運動によって軽減できる

ことが示された。その作用メカニズムについては、本研究の結果のみから考えることはできないが、先行研究を基に、考えられる可能性について以下に述べるとする。

まず、本研究では、等尺性収縮運動による痛覚過敏の軽減は、電気刺激を直接行った腓腹筋のみならず、遠隔部に位置する同側肢の足底部でも認められた。この結果から、等尺性収縮運動による痛覚過敏の軽減効果は、腓腹筋そのものの変化ではなく、中枢神経系を介した何らかの作用によるものではないかという仮説が成り立つ。例えば、Goldfarbら<sup>14)</sup>の報告では、運動によって内因性オピオイドシステムの活性化が引き起こされ、末梢および中枢における $\beta$  エンドルフィンの放出によって疼痛の感度が低下することが示されており、これがEIHのメカニズムの1つと考えられている。また、Koltynら<sup>15)</sup>の報告では、オピオイド拮抗薬を投与した健常人に対して運動を負荷した場合でもEIHが誘発されたことから、非オピオイドによる鎮痛機構の存在も指摘しており、それには内因性カンナビノイドが深く関わっていると考えられている。そして今回、内因性オピオイドシステムまたは内因性カンナビノイドのいずれか等尺性収縮運動により作用した可能性が考えられる。ただ、これまでの研究はすべて、EIHを運動による即時効果として捉えており、長期効果を検討したものは見あたらない。これに対して、本研究では定期的な繰り返しの等尺性収縮運動を負荷しており、痛覚過敏の軽減効果は不動から3週目以降に明らかとなった。これらのことを考えると、本研究で見られた痛覚過敏の軽減効果はEIHによるものとも言い切れない。

一方、今回の足関節不動モデルラットで見られ

た不動に伴う痛覚過敏の発生要因としては、感覚入力の低下が考えられている<sup>16)</sup>。そして、Hamaueら<sup>17)</sup>は、足関節不動モデルラットの足底に対して振動刺激による感覚入力を継続的に行うと、脊髄後角の中枢性感作が抑制され、その結果、痛覚過敏の発生が予防・軽減されたと報告している。これを踏まえて本研究を考えると、不動+電気群に感覚入力となされたと捉えることができる。つまり、等尺性収縮運動によって生じる骨格筋からの感覚入力、または電気刺激そのものによって、Hamaueら<sup>17)</sup>の報告と同様な機序により痛覚過敏が軽減した可能性がある。

このように、等尺性収縮運動が不動に伴う痛覚過敏を抑制したメカニズムは複数考えられるが、本研究の結果のみではどのメカニズムが作用したか推測を脱することはできない。ただ、どのメカニズムが作用したとしても、不動期間中における25%最大収縮力という低強度の等尺性収縮運動の介入によって、不動に伴う痛みの発生が軽減できたのは事実であり、臨床応用も十分可能であると考えられる。今後は、本研究で明らかにできなかった痛覚過敏に対する等尺性収縮運動の作用メカニズムを明らかにし、より効果的な等尺性収縮運動の条件が検討される必要があると考える。

## 謝辞

今回の実験において、ご指導、ご協力いただい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先生方に厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) 沖田 実, 松原貴子・他: 機能障害科学入門, 千住秀明(監), 神陵文庫, 福岡, 2010, p56, p183.
- 2) Hamaue Y, Nakano J, et al.: Immobilization-induced hypersensitivity associated with spinal cord sensitization during cast immobilization and after cast removal in rats. *J Physiol Sci.* 2013; 63: 401-408.
- 3) 大賀智史, 関野有紀・他: ラット足関節不動モデルの骨格筋における痛覚過敏と神経成長因子の変化. *日本運動器疼痛学会誌.* 2014; 6: 107-113.
- 4) Umeda M, Newcomb LW, et al.: Examination of the dose-response relationship between pain perception and blood pressure elevations induced by isometric exercise in men and women. *Biol Psychol.* 2010; 85: 90-96.
- 5) Hoffman MD, Shepanski MA, et al.: Intensity and Duration Threshold for Aerobic Exercise-Induced Analgesia to Pressure Pain. *Arch Phys Med Rehabil.* 2004; 85: 1183-1187.
- 6) Koltyn KF, Arbogast RW, et al.: Perception of pain after resistance exercise. *Br J Sports Med.* 1998; 32: 20-24.
- 7) Naugle KM, Fillingim RB, et al.: A Meta-Analytic Review of the Hypoalgesic Effects of Exercise. *J Pain.* 2012; 13: 1139-1150.
- 8) 阿部信寛: ギプス固定中のリハビリテーション-しておきたい, しなければならぬリハビリ-. *整形外科看護.* 2005; 10: 1033-1036.
- 9) Ray CJ, Marshall JM: Elucidation in the rat of the role of adenosine and A2A-receptors in the hyperaemia of twitch and tetanic contractions. *J Physiol.* 2009; 587: 1565-1578.
- 10) Yokoyama T, Lisi TL: Muscle fatigue increases the probability of developing hyperalgesia in mice. *J Pain.* 2007; 8: 692-699.
- 11) Peleshok JC, Silva AR: Delayed reinnervation by nonpeptidergic nociceptive afferents of the glabrous skin of the rat hindpaw in a neuropathic pain model. *J Comp Neurol.* 2010; 519: 49-63.
- 12) 吉村彩菜, 原槇希世子・他: 電気刺激を用いた筋収縮運動の収縮様式の違いがラットヒラメ筋の線維化ならびに拘縮におよぼす影響. *理学療法学.* 2014; 41 巻大会特別号 2 : 1487.
- 13) 藤田 直人, 村上 慎一郎・他: *日本物理療法学会会誌.* 2012; 19: 53-58.
- 14) Goldfarb AH, Jamurtas AZ: Beta-endorphin response to exercise. An update. *Sports Med.* 1997; 24: 8-16.
- 15) Koltyn KF, Brellenthin AG: Mechanisms of Exercise-Induced Hypoalgesia. *J Pain.* 2014; 15: 1294-1304.
- 16) 松原貴子, 沖田実・他: *ペインリハビリテーション*, 三輪書店, 東京, 2011, p134.
- 17) Hamaue Y, Nakano J: Effects of Vibration Therapy on Immobilization-Induced Hypersensitivity in Rats. *Phys Ther.* 2015; 95: 1015-1026.

(指導教員 : 中野治郎)