

変形性膝関節症に対する疼痛軽減効果を得るために

必要な運動の要素の検討

—変形性膝関節症モデルラットを用いた基礎的検討—

小川祥広・福山りか子

要旨

これまでの先行研究では、変形性膝関節症に対する疼痛軽減効果を得るために必要な運動の要素、すなわち、筋収縮であるのか、関節運動であるのか、その両者であるのかについては明らかにされていない。そこで、本研究では、ラット膝 OA モデルに対して等尺性筋収縮運動、他動関節運動、等張性筋収縮運動を負荷し、疼痛軽減効果を得るために必要な運動の要素について検討した。その結果、等張性筋収縮運動ならびに等尺性筋収縮運動を負荷すると、患部の痛覚感受性亢進と自発痛が改善することが認められた。一方、他動関節運動を負荷してもそれらの改善は認められなかった。以上の結果より、変形性膝関節症に対する疼痛軽減効果を得るために必要な運動の要素は筋収縮ではないかと推察される。

はじめに

世界各国における変形性膝関節症 (knee osteoarthritis, 以下、膝 OA) の診療ガイドライン^{1, 2)}では、運動療法はすべての患者に適応すべき第一選択治療に位置付けられている。その背景には、これまでに多くの無作為化比較試験が実施されており、それらを統合したシステマティックレビュー・メタアナリシス^{3, 4)}において運動療法の疼痛軽減効果が示されていることがある。また、最近では膝 OA の痛みの病態に対する運動療法の生物学的効果の検証が進められている。所属研究室では、モノヨード酢酸を膝関節腔内に投与することで作成する膝 OA モデルラットを用いて、運動療法による疼痛軽減効果の生物学的機序について検討している⁵⁾。具体的には、進行期膝 OA モデルラットを作製し、電気刺激により大腿四頭筋の筋収縮を誘発することで膝関節の屈曲伸張運動を負荷し、膝 OA の痛みの主病態である滑膜炎におよぼす影響を検討している。その結果、運動を負荷すると滑膜では炎症性 (M1) マクロファージの増加が抑制され、また、抗

炎症性 (M2) マクロファージが増加することが認められている。加えて、脊髄後角ではカルシトニン遺伝子関連ペプチドの発現が抑制されることが示されている。つまり、滑膜炎の軽減と脊髄レベルにおける中枢感作の抑制が運動療法による疼痛軽減効果の生物学的機序の一端であると推察される。

ただ、これらの先行研究で採用された運動は筋収縮運動と関節運動の両者が負荷されているため、疼痛軽減効果を得るために必要な運動の要素は筋収縮であるのか、関節運動であるのか、それともその両者であるのかについては明らかにされていない。これらの点を明らかにできれば、膝 OA の疼痛マネジメントに有効な運動療法プログラムの確立につながる基礎データの確立につながる。そこで、本研究では、膝 OA モデルラットに対して、等尺性筋収縮運動、他動的関節運動、等張性筋収縮運動を負荷し、疼痛軽減効果を得るために必要な運動の要素について検討した。

材料と方法

1. 実験動物

実験動物には7週齢のWistar系雄性ラット26匹を用い、これらをモノイodob酢酸(Monoiodoacetic acid, 以下, MIA)2mgを右膝関節腔内に投与し, OAを惹起する実験群(n=21)とMIA投与の疑似処置として右膝関節腔内に生理食塩水を投与するSham群(n=5)に振り分けた。そして, 実験群は①OAを惹起後, 35日間通常飼育をするOA群(n=6), ②OAを惹起後, 大腿四頭筋に等尺性筋収縮運動を負荷する筋収縮運動群(n=6), ③OAを惹起後, 持続的他動運動機器を用いて膝関節の他動運動を負荷する関節運動群(n=3), ④OAを惹起後, 大腿四頭筋の等張性筋収縮運動によって筋収縮運動と関節運動の両者を負荷する併用運動群(n=6)に振り分けた。なお, 各運動介入は, 先行研究⁵⁾を参考にMIA投与後15日目より実施した。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, 長崎大学先導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: 1808091472-9)

2. 膝OAモデルラットの作製方法

実験群のラットに対しては, 3種混合麻酔薬(塩酸メドミジン 0.375mg/kg, ミタゾラム 2mg/kg, 酒石酸ブトルファンール 2.5mg/kg)を腹腔内へ投与して麻酔した。そして, 30ゲージの注射針(NIPRO社)を各ラットの右膝蓋靭帯直上に刺入し, MIA2mgを溶解した50 μ Lの生理食塩水を関節腔内に投与することで膝OAを惹起した。なお, Sham群のラットに対しては, 同様の手順で麻酔を行った後, 生理食塩水を右膝関節腔内に投与することで疑似処置を施した。

3. 等尺性筋収縮運動および等張性筋収縮運動の実施方法

筋収縮運動群および併用運動群のラットに対しては, 前述の3種混合麻酔薬を腹腔内に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 μ sec, 刺激強度2~3mAの条件で, 大腿四頭筋を2秒間収縮, 4秒間弛緩させた。実施時間は20分とし, この運動を1日1回週5回の頻

度で3週間継続して負荷した。なお, 筋収縮運動群では, 大腿四頭筋の収縮・弛緩に伴って膝関節の屈曲伸張運動が生じないように, 足部を固定することで膝関節を最大伸展位に保った状態で筋収縮運動を誘発した。

4. 持続的他動運動の実施方法

関節運動群のラットに対しては, 前述の3種混合麻酔薬を腹腔内に投与して麻酔した後, ヒト用アングルストレッチャー(酒井医療製)を用いて, 持続的他動運動を負荷した。なお, 持続的他動運動機器によって負荷する関節運動の回数および可動範囲を等張性筋収縮運動の条件と合致させるため, 持続的他動運動は角速度30°/秒, 運動範囲90°にて関節運動が200回に達するまで負荷した。そして, この運動を1日1回週5回の頻度で3週間継続して負荷した。

5. 痛みの行動学的評価

実験期間中は, 以下の方法にて痛みの行動学的評価を実施した。なお, 行動学的評価を適切に行うため, 実験開始に先立ち7日間のハンドリング期間を設け, ラットを測定環境に馴化させた。

1) 膝関節の圧痛閾値の評価

患部の痛覚感受性の評価として, ランダルセリット式鎮痛効果測定装置(Ugo Basile製)を用いて右側膝関節の圧痛閾値を測定した。具体的には, 覚醒下にて右側膝関節の外側裂隙に圧刺激を加え, 後肢の逃避反応が出現する際の加圧量(g)を測定した。データは1個体につき5回測定し, その平均値を算出した。なお, これらの測定はMIAおよび生理食塩水の投与前日と, 投与後は4日目, 7日目, その後は7日毎に35日目まで行った。

2) 患肢荷重率

先行研究では, げっ歯類の患肢荷重率は自発痛の指標となることが報告されている^{6,7)}。そこで, 本研究においても各ラットの自発痛を評価するため, インキャパシタンステスト装置(バイオリサーチ社製)を用いて左右の後肢荷重量を測定した。具体的には, 覚醒状態にある各ラットを装置上に設置されたアクリルホルダー内

に入れ、2枚のセンサープレートの上にラットの後肢足部が左右対称になるように静置した。そして、10秒間安静状態を保った際の左右の後肢荷重量を計測した。そして、得られた測定値から左右後肢の合計荷重量(g)を求め、この値に対する患側後肢の荷重量の百分率を算出した。計測は5回行い、算出した各百分率の平均値を各個体データとして採用した。なお、これらの測定はMIAおよび生理食塩水の投与前日と、投与後は14日目、その後は7日毎に35日目まで行った。

3) 歩行解析

先行研究では、1歩行周期時間に対する立脚期時間および遊脚期時間の百分率(立脚期率および遊脚期率)は炎症性疼痛の動物モデルにおける動作時痛の指標となることが報告されている⁸⁻¹⁰⁾。そこで、本研究では動作時痛を評価する目的で、DigiGait小動物用トレッドミル(Mouse Specifics社)を用いて、歩行解析を行った。具体的には、小動物用トレッドミル上でラットを歩行させ、その様子をトレッドミルの下部に設置した高速カメラを用いて撮影した。歩行条件は歩行速度12m/分、トレッドミル傾斜角度0°とし、撮影条件は撮影周波数216フレーム/秒とし、3歩行周期撮影した。次に、専用の解析ソフトを用いて、撮影した動画を用いて1歩行周期時間に対する遊脚期率(%)および立脚期率(%)を算出した。そして、各ラットについて3歩行周期分の立脚期率および遊脚期率の平均値を算出し、これをデータとして採用した。なお、測定はMIAおよび生理食塩水投与前日、投与後14日目、投与後35日目に行った。

6. 統計処理

すべてのデータは平均値±標準偏差で示した。各痛みの行動学的評価の結果の比較には、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られた場合は、事後検定としてBonferroni法を適用した。なお、すべての統計手法とも優位水準は5%未満とした。

結果

1. 膝関節の圧痛覚閾値の変化

MIA投与後4日目において、OAを惹起した実験群の膝関節の圧痛閾値は、Sham群のそれと比べて低値を示し、この4群間に有意差は認められなかった。その後の推移を見ると、OA群はMIA投与後35日目までSham群と比べて有意に低値を示した。一方、筋収縮運動群はMIA投与後21日目より、また、併用運動群はMIA投与後28日目よりOA群と比べて高値を示した。また、関節運動群はMIA投与後4日目から35日目までOA群と同様の推移を示し、OA群との間に有意差を認めなかった(図1)。

2. 患肢荷重率の変化

MIA投与後4日目において、OAを惹起した実験群の患肢荷重率はSham群のそれと比べて有意に低値を示し、この4群間に有意差は認められなかった。その後の推移を見ると、OA群はMIA投与後35日目までSham群と比べて有意に低値を示した。筋収縮運動群と併用運動群はMIA投与後35日目においてOA群と比べて有意に高値を示し、Sham群との間に有意差を認めなかった。一方、関節運動群はMIA投与後35日目までOA群との間に有意差を認めなかった。(図2)

3. 1歩行周期時間に対する立脚期率および遊脚期率

1歩行周期時間に対する立脚期率および遊脚期率は、実験開始前およびMIA投与後14日目、35日目のいずれにおいても5群間に有意差を認めなかった。また、いずれの群においても時間要因における有意差を認めなかった。(図3)

考察

本研究では、膝OAモデルラットに対して等尺性筋収縮運動、他動関節運動、等張性筋収縮運動を負荷し、疼痛軽減効果に必要な運動の要素は筋収縮であるか、関節運動であるのか、またはその両者であるのかについて行動学的評価から検討した。

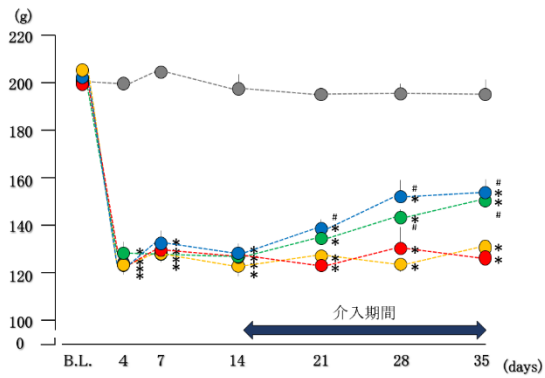


図1 膝関節の圧痛閾値の変化

灰色:Sham 群, 赤:OA 群, 青:筋収縮運動群,
 緑:併用運動群, 黄:CPM 群.
 *:Sham 群との有意差. #:OA 群との有意差.
 $p < 0.05$. 平均 \pm 標準偏差

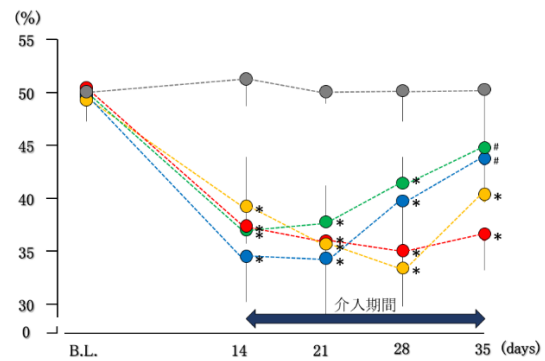


図2 患肢荷重率の変化

灰色:Sham 群, 赤:OA 群, 青:筋収縮運動群,
 緑:併用運動群, 黄:CPM 群.
 *:Sham 群との有意差. #:OA 群との有意差.
 $p < 0.05$. 平均 \pm 標準偏差

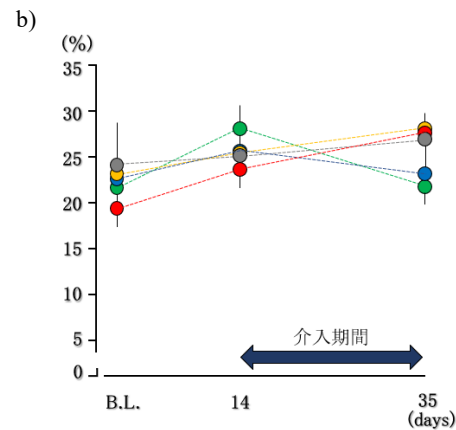
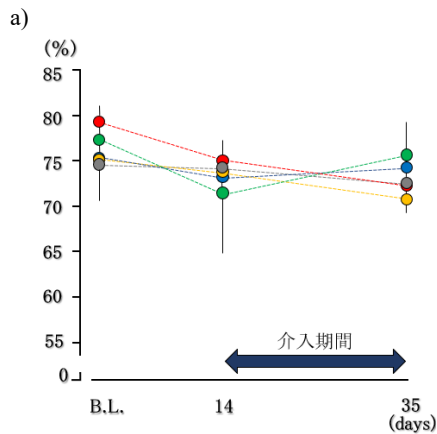


図3 1歩行周期時間に対する立脚期率および遊脚期率

a) 1歩行周期時間に対する立脚期率 b) 1歩行周期時間に対する遊脚期率

灰色:Sham 群, 赤:OA 群, 青:筋収縮運動群, 緑:併用運動群, 黄:CPM 群. 平均 \pm 標準偏差

まず、患部の圧痛閾値について、MIA 投与後 4 日目において OA 群を惹起した 4 群は Sham 群と比べて有意に低値を示し、この 4 群間に有意差を認めなかった。また、その後の推移をみると、MIA 投与後 14 日目まで 4 群の圧痛閾値はほぼ一定に推移しており、4 群間に有意差を認めなかった。したがって、膝 OA を惹起した 4 群では同程度に痛覚感受性の亢進が生じており、惹起された膝 OA の程度は同程度であったと推察される。そして、運動介入後の膝関節の圧痛閾値をみると、筋収縮運動群においては MIA 投

与後 21 日目以降、また、併用運動群においては MIA 投与後 28 日目以降、OA 群と比べて高値を示した。一方、関節運動群は MIA 投与後 35 日目まで OA 群との間に有意差を認めなかった。つまり、これらの結果は、膝 OA 惹起後に等尺性筋収縮運動または等張性筋収縮運動を負荷すると患部の痛覚感受性亢進が改善すること、また、他動関節運動を負荷しても痛覚感受性の亢進は改善しないことを示唆している。したがって、膝 OA 惹起後の患部の痛覚感受性亢進の改善には筋収縮が必須となるのではないかと推察され

る。

次に、患肢荷重率の変化について、OAを惹起した実験群ではMIA投与後14日目においてSham群と比べて有意に低値を示し、この4群間に有意差を認めなかった。そして、運動介入後の推移を見ると、筋収縮運動群と併用運動群はMIA投与後35日目においてOA群と比べて有意に高値を示し、Sham群との間に有意差を認めなかった。一方、関節運動群は患部の圧痛閾値と同様にMIA投与後35日目までOA群との間に有意差を認めなかった。つまり、これらの結果は等尺性筋収縮運動または等張性筋収縮運動を負荷すると患部の自発痛は改善すること、また、患部の関節運動のみを負荷してもその改善は得られないことを示唆している。したがって、膝OAに起因する患部の自発痛の改善には筋収縮が必須となるのではないかと推察される。

次に、歩行解析の結果、Sham群では実験期間を通じて1歩行周期における立脚期率および遊脚期率はほぼ一定の推移を示した。一方、OAを惹起した4群ではMIA投与後14日目の立脚期率は実験開始時と比べて減少する傾向がうかがえ、また、遊脚期率は増加する傾向がうかがえた。そして、MIA投与後35日目では、OA群と関節運動群においては、MIA投与後14日目と比べて立脚期率が増加し、遊脚期率が減少する傾向にあったが、筋収縮運動群および併用運動群においては、MIA投与後14日目と比べて立脚期率は増加し、遊脚期率は減少する傾向にあった。しかし、いずれの評価時点においても5群間に有意差を認めず、また、各群内における時間要因についても有意差を認めなかった。したがって、歩行解析による運動時痛の評価について、本研究では膝OAの惹起に起因する変化および運動介入による変化のいずれも認められなかった。

以上のように、筋収縮運動を負荷した筋収縮運動群および併用運動群では患部の痛覚感受性亢進および自発痛の改善を認めたのに対し、関節運動のみを負荷した関節運動群ではそれらの改善は認められなかった。したがって、膝OAに対する疼痛軽減効果を得るために必須の運動の要素は筋収縮ではないかと推察される。本研究では、筋収縮運動によって疼痛軽減効果が得ら

れる機序については検討できていない。ただ、先行研究を参考にすると、骨格筋が内分泌器官として機能することが影響しているのではないかと推察される。すなわち、骨格筋に筋収縮を負荷するとインターロイキン(interleukin; IL)-10やIL-6といった抗炎症性サイトカインや脳性ナトリウム利尿ペプチド、イリシンといった抗炎症性ホルモンが産生されることが知られている¹¹⁾。また、これらの物質は白色脂肪組織において炎症性(M1)マクロファージから抗炎症性(M2)マクロファージへの形質転換を促すことが示されている¹²⁾。そして、筋収縮運動を負荷された骨格筋に由来する前述の抗炎症性サイトカインをはじめとした物質は血流を介して、他の臓器に到達し、炎症を軽減するような作用を果たすと考えられている¹³⁾。このような先行研究や前述した所属研究室の知見に基づく、本研究の筋収縮運動群や併用運動群では大腿四頭筋の筋収縮運動を負荷したことで前述した炎症を軽減するような物質が産生され、これらが血流を介して膝関節に到達し、滑膜炎を軽減させたことで疼痛軽減効果が得られたのではないかと仮説を立てることができる。しかし、本研究ではこれらの仮説検証は実施できておらず、この点については今後の課題であると考えている。

本研究の限界として、まず、サンプルサイズが小さいことが挙げられる。特に、関節運動群のサンプルサイズは小さく、このことは行動学的評価の結果に影響を与えている可能性を否定できない。次に、歩行解析において膝OAを惹起した影響について明らかにできていないことが挙げられる。先行研究⁸⁻¹⁰⁾では膝関節に炎症を惹起すると1歩行周期時間に対する立脚期率の減少および遊脚期率の増加が認められており、これは歩行時痛の指標となることが報告されている。しかし、本研究では膝OA惹起後に先行研究のような変化が認められておらず、そのため運動介入の効果についても明らかにできていない。今回の歩行解析の結果については、実験開始前におけるトレッドミル機器に対する馴化が十分でなかった可能性やラットの個体差によるデータの分散が影響している可能性があり、これらの点については今後検討を進める予定である。また、本研究では筋収縮運動によって疼痛軽減効果が得ら

れる機序について検討できていない。この点を明らかにすることができれば、炎症に起因する疼痛に対するマネジメントとしての運動療法の有用性を示す基礎データとなり得る。そのため、今後は前述の課題を解決し、本研究を発展させる必要がある。

謝辞

本研究を実施するにあたり、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

参考文献

- 1) Kolasinski SL, Neogi T, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. *Arthritis Rheumatol.* 2020; 72: 220-233.
- 2) Bannuru RR, Osani MC, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2019; 27: 1578-1589.
- 3) Verhagen AP, Ferreira M, et al. Do we need another trial on exercise in patients with knee osteoarthritis?: No new trials on exercise in knee OA. *Osteoarthritis Cartilage.* 2019; 27: 1266-1269.
- 4) Fransen M, McConnell S, et al. Exercise for osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; 9: CD004376.
- 5) 近藤祐太郎,坂本有希倫:低強度の筋収縮運動による変形性膝関節症の疼痛軽減効果のメカニズムの検討:長崎大学理学療法専攻卒業研究論文集. 2018; 12: 15-22
- 6) Bove SE, Calcaterra SL, et al. Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2003; 11: 821-30.
- 7) Schött E, Berge OG, et al. Weight bearing as an objective measure of arthritic pain in the rat. *Pharmacol Toxicol Methods.* 1994; 31: 79-83.
- 8) Berryman ER, Harris RL, et al. Digigait quantitation of gait dynamics in rat rheumatoid arthritis model. *J Musculoskeletal Neuronal Interact.* 2009; 9: 89-98.
- 9) Hoffmann MH, Hopf R, et al. Gait changes precede overt arthritis and strongly correlate with symptoms and histopathological events in pristane-induced arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010; 12: R41.
- 10) Yu Xu, Na-Xi Tian, et al: Gait Assessment of Pain and Analgesics: Comparison of the DigiGait™ and CatWalk™ Gait Imaging Systems. *Neurosci Bull.* 2019; 35: 401-418
- 11) Schnyder S, Handschin C. Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1 α , myokines and exercise. *Bone.* 2015; 80: 115-125.
- 12) Slate-Romano JJ, Yano N, et al. Irisin reduces inflammatory signaling pathways in inflammation-mediated metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2022; 552:111676.
- 13) Leal LG, Lopes MA, et al. Physical Exercise-Induced Myokines and Muscle-Adipose Tissue Crosstalk: A Review of Current Knowledge and the Implications for Health and Metabolic Diseases. *Front Physiol.* 2018; 24: 1307.

(指導教員 坂本淳哉)