

〔原著〕

不動化に陥る前の運動が疼痛発生に及ぼす影響

— ラットを用いたトレッドミル走での検討 —

中村浩輔¹, 酒井成輝¹, 水野奈緒², 肥田朋子³

要 旨

関節不動化に伴って疼痛が生じることが知られているが、不動化に陥る前の運動が不動化による疼痛発生を抑制する手段として有効かどうかを検討した。8週齢のWistar系雄性ラット10匹を、無作為に事前にトレッドミル走を行うT群と行わないC群に分け、さらにギプス固定するC-G群、T-G群と、固定しないC-C群、T-C群に振り分けた。T群は5日間トレッドミル走をさせた後、左後肢を4週間足関節底屈位で固定し、足底の皮膚痛覚閾値および腓腹筋痛覚閾値を経時的に調べた。また固定終了後に後根神経節を取り出しサブスタンスPを免疫組織化学的に検討した。固定4週目のT-G群の皮膚痛覚閾値はC-G群と比較し有意に高値を示し ($p < 0.05$)、筋痛覚閾値はC-G群と比較し高い傾向がみられた。これらより、事前運動によって不動化に伴う疼痛発生が部分的に抑制できることが示された。一方、サブスタンスPの免疫組織学的結果に差はなく、別の物質の関連を考えていく必要がある。

キーワード：関節不動化、運動習慣、皮膚痛覚閾値、筋痛覚閾値、ラット

はじめに

理学療法士は臨床において意識障害などにより長期臥床を強いられる患者、治療のために関節をギプスや装具で固定する患者や、麻痺によって不動化となる患者を対象とするが、これらの患者が痛みを訴えることは少なくない。

我々はラットを用いた研究によって、足関節の不動化に伴い足底皮膚にアロディニアや痛覚

過敏が発生することを報告した [7]。さらに、早期から理学療法を実施することで二次的障害および不動化による疼痛発生を予防できるかを検討するために、ラットの足関節の不動期間中にストレッチングを行い、足関節可動域と皮膚痛覚閾値を測定したところ、可動域制限や皮膚痛覚閾値の低下を一部抑制できたことを報告した [2]。

一方、田崎ら [6] によると、不動化に陥る

1 水谷病院 理学療法部

2 熱田リハビリテーション病院 リハビリテーション科

3 名古屋学院大学 リハビリテーション学部

Correspondence to: Tomoko Koeda

E-mail: tomokoed@ngu.ac.jp

Received 19 January, 2015

Accepted 4 February, 2015

前に温熱刺激を加えることで、足底皮膚痛覚過敏に対する先取り鎮痛効果が得られたと報告している。先取り鎮痛とは、痛み刺激が加わる前に鎮痛処置をすることで痛みが抑制されるという考え方であり、特に術後痛の軽減に応用されている [3]。慢性痛に対する理学療法として運動療法が注目されてきているが、患者の日常的な運動習慣や術前の運動療法のような不動化前の環境が、不動化後の疼痛発生にどのように影響するかを検討した研究は見当たらない。またこのような不動化による疼痛発生やそれに対する理学療法アプローチの効果についての研究は、皮膚における影響について検討されたものであり、筋に対する検討はなされていない。

そこで我々は、不動化前のトレッドミル走が、関節不動化によって生じる疼痛閾値の低下に対し、その発生を予防できるか、皮膚痛覚閾値だけでなく、筋にも注目して先取り鎮痛の効果を検討した。

また、先行研究 [1] ではギプス固定下での疼痛閾値の低下に対して、拮抗薬を使用した実験からサブスタンスPが関与していると報告しており、これについても痛みの行動学的評価と合わせて組織学的に検討を行った。

方法

〈実験動物〉

本研究の対象は、8週齢のWistar系雄性ラット10匹で無作為に事前にトレッドミル走を行う群と行わない群に5匹ずつ振り分けた。さらに両群の左後肢足関節にはギプス固定を行った。すなわち無処置のコントロール群（以下C-C群、5匹右5肢；n=5）、コントロールギプス群（以下C-G群、5匹左5肢；n=5）、トレッドミルコントロール群（以下T-C群、5匹右5

肢；n=5）、トレッドミルギプス群（以下T-G群、5匹左5肢；n=5）に振り分けた。飼育室の照明は、12時間ごとに明暗をコントロールし、室温は一定条件下(23±1℃)とした。また、餌と水は自由に摂取させた。

事前にトレッドミル走を行うT-C群、T-G群は25m/min、傾斜0°で20分間トレッドミル(MK-680、室町機械社製)上を走行させた。トレッドミル走実施期間は5日間とし、C-C群とC-G群はトレッドミル走期間に合わせて通常飼育した。その後T-G群とC-G群にギプス固定を行った。固定期間は4週間とした。C-G群とT-G群はイソフルラン吸引麻酔下にてニトリートCBテープ(日東メディカル社製)を用い足関節底屈位で足趾基部から膝関節まで巻き、その上にプラスランギプス(ALCARE)を巻いて固定した。固定後のラットは固定肢にあまり荷重しなかったが、主に右後肢と前肢を使用してケージ内を自由に移動できた。

〈皮膚痛覚閾値検査〉

皮膚痛覚閾値測定にはvon Frey hair(以下、VFH)棒を用いる先の報告[2]の方法に準じたが、最大刺激は40gまでとした。週5回、4週間継続して行い、各肢で1週間ごとのデータの平均値を各期間の代表値とし、0週の値を100%とした変化率で示した。

〈筋痛覚閾値検査〉

筋痛覚閾値は刺激を一定速度で与えることのできるRandall-Selitto装置(圧刺激鎮痛効果測定装置、Ugo-Basile社製)を用いて計測した(図1)。刺激を与えるに際して、麻酔下にてラットのギプスを除去し体幹をタオルで保定し、完全に麻酔から覚醒したことを確認してから行った。各ラットは、刺激を与える後肢を下にした

側臥位とし、下腿内側面、腓腹筋の筋腹に徐々に加圧した。刺激に対して後肢を動かすなどの逃避反応をみせた時の数値を記録し、刺激量を算出(1cm×10g)した。週5回、4週間継続して測定し、各肢で1週間ごとのデータの平均値を各期間の代表値とした。なお、ギプス固定を行った不動肢は測定中も荷重しないように注意して実験を行った。

〈神経の免疫組織学的分析〉

4週間のギプス固定後、第4～6腰椎(以下L4-6)の後根神経節(dorsal root ganglion; 以下, DRG)を摘出した。DRGを摘出するため深麻酔下で0.1Mリン酸緩衝液と4%ザンボン固定液で灌流固定し、脊髄とDRGを素早く取り出した。同固定液で後固定を行い、30% Sucroseで固定液を抜き、L4-6のDRGをOTCコンパウンド(Tissue Tek)にて包埋した。その後、分析まで-80℃で保存した。標本はCryostat(Leica CM1850)にて縦断方向に10μm厚に薄切後、ABC法を用いてサブスタンスPの免疫染色を行った。染色後にL4-6のDRG画像を

パーソナルコンピューターへ取り込み、全細胞数に対するサブスタンスP含有細胞数を算出した。

統計処理にはSPSS ver. 19を用い、一元配置分散分析法と後検定にTukey法を用いた。なお本研究は、本学の動物実験委員会の承認(2007-004)を得て行った。

結 果

1. 皮膚痛覚閾値

VFHを用いた皮膚痛覚閾値の変化率は、C-C群は1週目101.6±4.4%、2週目101.6±2.4%、3週目102.2±5.1%、4週目101.1±4.7%であり、各週における皮膚痛覚閾値に有意差は認められなかった(図2)。C-G群の1週目は106.0±9.2%、2週目95.8±3.8%、3週目78.8±6.8%、4週目62.3±2.0%となり、0週目から3、4週目、1週目から2、3、4週目、2週目から3、4週目、3週目から4週目に有意な低下が認められた(p<0.05)。T-C群の1週目は118.2±16.2%、2週目117.7±17.8%、3週目118.8±

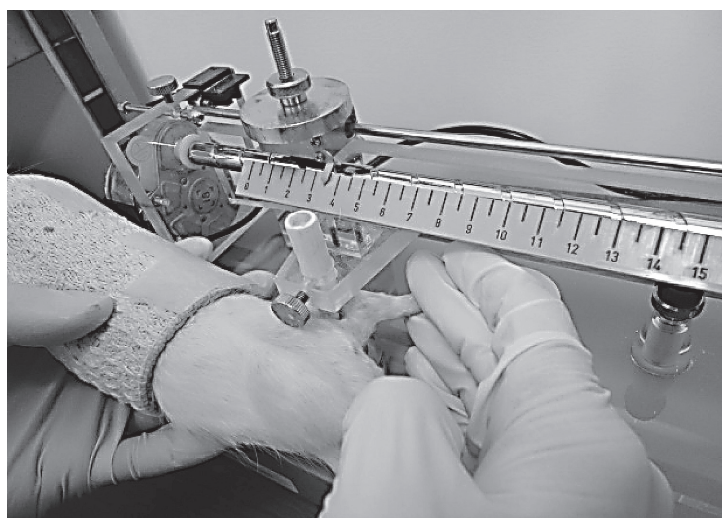


図1 筋痛覚閾値検査の様子

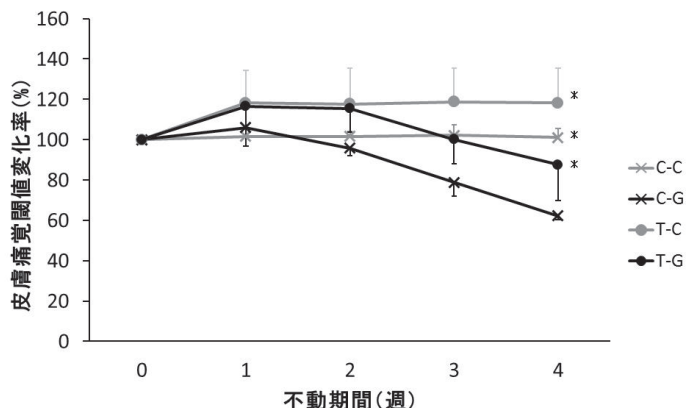


図2 各群における皮膚痛覚閾値の経時的変化
縦軸は不動化前の皮膚痛覚閾値を100とした経時的な変化率を示す。
4週目の時点で、C-G群は他の3群に比べ有意に低下した (* : $p < 0.05$)。

16.7%, 4週目 $118.2 \pm 17.4\%$ となり, 0週目から2, 3, 4週において有意な増加が認められた ($p < 0.05$)。T-G群の1週目は $116.5 \pm 11.1\%$, 2週目 $115.4 \pm 11.5\%$, 3週目 $100.2 \pm 12.2\%$, 4週目 $87.6 \pm 17.7\%$ となり, 0週目から1, 2, 4週目, 1週目から3, 4週目, 2週目から3, 4週目において有意に低下した ($p < 0.05$)。4週目の時点で, C-G群の皮膚痛覚閾値は他の3群に比べ有意に低下していた ($p < 0.05$)。

2. 筋痛覚閾値

筋痛覚閾値検査においてC-C群は0週目 $13.4 \pm 1.2g$, 1週目 $13.7 \pm 1.9g$, 2週目 $16.0 \pm 2.8g$, 3週目 $15.0 \pm 3.6g$, 4週目 $18.3 \pm 4.3g$ であった(図3)。T-C群はC-C群と同様の結果であった。C-G群は0週目 $13.8 \pm 0.9g$, 1週目 $9.2 \pm 1.1g$, 2週目 $5.4 \pm 0.7g$, 3週目 $3.9 \pm 0.6g$, 4週目 $4.6 \pm 0.7g$ であり, 0週目と比較し1週目以降, 1週目と比較し2週目以降はすべて有意に閾値が低下した ($p < 0.01$)。また2週目と比較し3週目まで有意に閾値が低下した ($p < 0.05$)。T-G

群では, 0週目 $13.9 \pm 0.6g$, 1週目 $9.6 \pm 0.8g$, 2週目 $7.1 \pm 1.2g$, 3週目 $5.11 \pm 1.4g$, 4週目 $5.9 \pm 1.6g$ であり, 0週目と比較し1週目以降はすべて有意に閾値が低下した ($p < 0.01$)。また1週目と比較し2, 3, 4週目まで有意に閾値が低下した(2週目は $p < 0.05$, 3週目以降 $p < 0.01$) が, 2週目と比較し3, 4週目では有意差を認めなかった。

3. サブスタンスP含有細胞比率

DRGにおける染色されたサブスタンスP含有細胞比率を算出した(図4)。ギプス固定をしていないC-C群では $8.8 \pm 2.5\%$, T-C群では $9.4 \pm 3.0\%$ であった。一方, ギプス固定をしたC-G群では $13.1 \pm 4.7\%$, T-G群では $13.6 \pm 3.9\%$ であった。4群間に有意な差は認められなかったが, ギプス固定をしたC-G群, T-G群はギプス固定をしていないC-C群, T-C群と比較し, サブスタンスP含有細胞比率が多い傾向がみられた。

不動化に陥る前の運動が疼痛発生に及ぼす影響

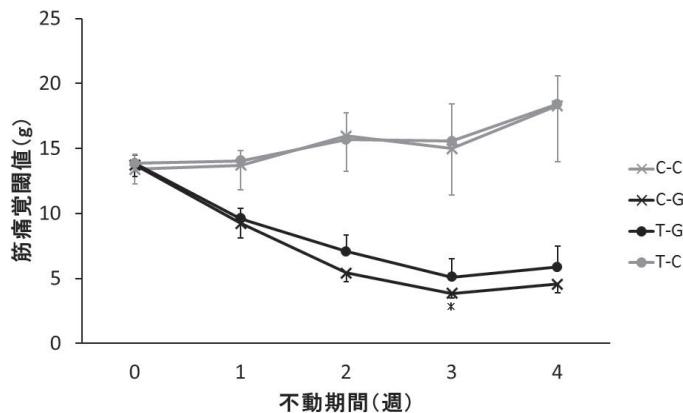


図3 各群における筋痛覚閾値の経時的变化
縦軸は筋痛覚閾値を示す。4週目の時点で、C-G群とT-G群との間に有意な差は認められなかったが、C-G群は2週目と3週目の間で有意差を認めた (* : $p < 0.05$) のに対し、T-G群は2週目以降に有意差を認めなかった。

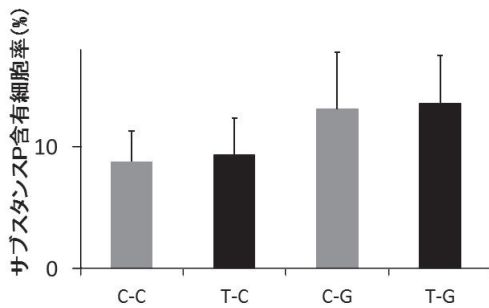


図4 各群におけるサブスタンスP含有細胞比率
4群間に有意差は認められなかったが、ギプス固定をしたC-G群、T-G群はギプス固定をしていないC-C群、T-C群と比較し、サブスタンスP含有細胞比率が多い傾向がみられた。

考察

1. 痛覚過敏に対する不動化の影響

先行研究 [2, 7] では、不動化により皮膚痛覚過敏が発生すると報告しているが、本研究でも先行研究と同様に、不動化により皮膚痛覚閾値は低下した。また、今までは不動化モデルにおける筋痛の存在は明らかにされていなかったが、今回の結果から不動化によって皮膚痛覚閾

値だけでなく筋痛覚閾値も低下することが示唆された。

一方、先行研究 [1] ではギプス固定下での疼痛閾値の低下に対して、サブスタンスPが関与していると報告している。本研究では、ギプス固定を行った群はギプス固定を行っていない群と比較しDRGにおけるサブスタンスP含有細胞比率は高値を示す傾向であったが有意差を認めなかった。痛みの神経伝達物質にはサブスタンスPの他にいくつかあるが、そのうちカルシトニン遺伝子関連ペプチド(以下CGRP)は、先行研究 [1] やラットの四肢を4週間固定した後のDRGで増加したという報告 [4] があるため、今後はCGRPについても検討していく必要があると考えられた。

2. 痛覚過敏に対する不動化前のトレッドミル走の影響

不動化によって生じる皮膚痛覚閾値の低下に対し、不動化前のトレッドミル走は、その発生程度を抑えた。また筋痛覚閾値に関しては不

動化前にトレッドミル走を行ったT-G群においては2週目以降に閾値の低下が抑えられた。このように不動化前のトレッドミル走は皮膚だけでなく筋の痛覚閾値の低下を抑制する効果が得られた。これらのことから、臨床において、運動習慣の有無が不動化による疼痛発生に影響することが示された。つまり、日頃から運動習慣がある人はない人と比較して、不動化による痛覚閾値の低下を抑制できる可能性があると考えられ、痛み発生の観点からも、日常的な運動の有効性が示された。

3. 痛覚閾値低下とサブスタンスP含有細胞比率

皮膚痛覚閾値と筋痛覚閾値は、トレッドミル走を行った群では行っていない群と比較して閾値の低下を抑制したのに対し、サブスタンスP含有細胞比率においては、この2群の間には有意差は認められなかった。このことは、不動化による疼痛閾値の低下とDRGにおけるサブスタンスP含有量との間には関係性があると報告している先行研究 [1] と異なった結果となった。この理由として一つは、トレッドミル走により、脳内からの下行性疼痛抑制系つまり脳内の鎮痛系が活性化され、痛みは抑えられたが、この鎮痛系は末梢からの痛みを中枢へ伝達する上行路の脊髄レベルに作用するため、それより末梢の後根神経節には変化がみられなかったのではないかと考えられた。Staggら [5] によると神経障害性疼痛ラットにトレッドミル走を行わせ、鎮痛効果が認められたが、脳内のβエンドルフィン量の増加が確認されている。このようにトレッドミル走は脳内の鎮痛系に作用した可能性が考えられた。2つ目の理由は、今回の実験ではギプス固定した群においてもサブスタンスPの増加が明らかではなく、トレッド

ミル走による効果判定の材料としては不十分であった可能性が考えられた。すなわち前述したようにCGRPあるいは他の因子についての検討が必要である。

結語

今回、関節不動化前のトレッドミル走が、不動に伴う痛覚閾値低下に効果があるか検討を行った。その結果、不動化前のトレッドミル走は関節不動化による疼痛発生を抑制することが示された。

また、トレッドミル走を行った群と、行っていない群とではサブスタンスP含有細胞比率において有意差は認められなかった。

謝辞

本研究はJSPS 科研費 23500624の一部を用いて実施した。

引用文献

- [1] Guo TZ, Offley SC, Boyd EA, Jacobs CR, Kingery WS. (2004) Substance P signaling contributes to the vascular and nociceptive abnormalities observed in a tibial fracture rat model of complex regional pain syndrome type I. *Pain*. 108: 95-107
- [2] 肥田朋子, 榊原拓也, 冲向雄也, 堀田昌志, 野村達也, 中田智章, 井筒孝徳, 平賀慎一郎, 松原崇紀, 田崎洋光. (2013) 関節不動化による関節可動域制限と疼痛発生に対するストレッチングの効果. *名古屋学院大学論集 医学・健康科学・スポーツ科学篇*. 1(2): 1-9
- [3] Muratani T, Doi Y, Nishimura W, Nishizawa M, Minami T, Ito S. (2005) Preemptive

- analgesia by zaltoprofen that inhibits bradykinin action and cyclooxygenase in a post-operative pain model. *Neurosci Res.* 51: 427-433
- [4] Nishigami T, Osako Y, Tanaka K, Yuri Kazunari, Kawasaki M, Ikemoto T, McLaughlin M, Ishida K, Tani Toshikazu, Ushida T. (2009) Changes in calcitonin gene-related peptide expression following joint immobilization in rats. *Neurosci Lett.* 454: 97-100
- [5] Stagg, NJ, Mata HP, Ibrahim MM, Henriksen EJ, Porreca F, Vanderah TW, Phillip Malan T Jr. (2011) Regular exercise reverses sensory hypersensitivity in rat neuropathic pain model: role of endogenous opioids. *Anesthesiol.* 114(4): 940-948
- [6] 田崎洋光, 松原貴子, 三木明德. (2006) 痛覚過敏と廃用性筋萎縮に対する温熱刺激の先取り効果について. *理学療法学.* 33(Suppl 2): 600
- [7] 山本 綾, 古島泰子, 長谷川多美子, 肥田朋子. (2009) ラット足関節不動化による活動制限は痛みを促進する. *理学療法学.* 36(6): 305-311

[Original Article]

The Effectiveness of Treadmill Running Exercise before Cast Immobilization for Reducing the Pain in Rats

Kosuke Nakamura¹, Shigeki Sakai¹, Nao Mizuno², Tomoko Koeda³

Abstract

It is well known that physical inactivity such as cast immobilization induces pain, and physical training could reduce the pain. The purpose of this study was to investigate the effectiveness of treadmill running exercise before cast immobilization for reducing the pain in rats.

Ten male Wister rats were used and randomly divided into four groups; 5 rats performed treadmill running exercise for 5 days, and then left ankle joint was fixed in full plantar flexion by a cast (T-G group), and right limb was free (T-C group). The other 5 rats did not performed treadmill running exercise for 5 days, but left ankle joint was fixed as same as T-G group (C-G group) and right limb was not immobilized (C-C group).

Cutaneous plantar pain threshold and calf muscle pain threshold were tested before and after cast immobilization for 4 weeks. Substance P positive cells in the dorsal root ganglion were identified using immunohistological staining.

The results showed there were significant difference of cutaneous plantar pain threshold between T-G group and C-G group. However, there was no significant difference of substance P among groups.

Our study showed that the pain induced by immobilization was inhibited in T-G group, nevertheless no significant differences were found in substance P among groups, thus, a mechanism of the inhibited pain was unclear, and another mechanism had to be considered.

In conclusion, physical training such as treadmill running exercise before immobilization may be beneficial to inhibit the pain induced by immobilization.

Keywords: before immobilization, treadmill running exercise, muscle pain threshold, cutaneous pain threshold, rat

1 Department of Physical Therapy, Mizutani Hospital

2 Department of Rehabilitation, Atsuta-Rehabilitation Hospital

3 Faculty of Rehabilitation Sciences, Nagoya Gakuin University