

<研究課題> 伸張性収縮による骨格筋損傷モデルを用いた、鍼治療効果の検討

代表研究者 帝京平成大学ヒューマンケア学部鍼灸学科 助教 小峰昇一

【抄録】

むちうち障害は、神経学的所見の他、骨格筋の伸張性負荷も加わり障害された総称である。鍼通電刺激 (EA) は、筋痛や筋損傷に対する治療を目的として行われるが、むちうち傷害に対する効果は未知である。本研究では、筋損傷誘導モデルを用いて、筋損傷後に EA を行い治療効果を解析した。

被験者は男性 13 名とし、無作為に 2 群に分けた。全ての被験者には非利き腕の上腕二頭筋に運動負荷を行い筋損傷を誘導した。コントロール群には利き腕に、EA 群には非利き腕の上腕二頭筋に EA を行った。通電期間は運動負荷直後から運動後 4 日後までとした。

コントロール群と EA 群の間に、すべての筋損傷、炎症マーカーに差は認められなかった。他方、最大筋力のみ、EA により増大した。この結果から骨格筋損傷後の局所的な鍼通電刺激は最大筋力を増加させることにより、筋保護効果を有することが示唆され、これが治療効果につながる可能性が示唆された。

1. 研究の目的

1-1 むちうちと鍼治療

むちうち障害は、神経学的所見のほか、骨格筋の伸張性負荷も加わり障害された総称である (1)。鍼治療の一つである鍼通電刺激 (EA: Electric Acupuncture) は、筋痛や筋損傷に対する治療を目的として行われる。鍼治療現場においては交通事故後のむちうち症状は”頸椎捻挫後遺症”と診断を受けることで、鍼治療費に保険が適応される。しかしながら、「EA が運動後の筋痛・筋損傷を抑制する」報告はなく効果は未知であり、知見の作成が求められる。

1-2 伸張性運動モデルと筋痛・筋損傷

伸張性運動は、運動後に筋痛を生じやすいことが報告されている。過度な骨格筋収縮を伴う高強度の運動や不慣れな運動を行うと、運動 8~24 時間後に筋痛が生じる。この現象は遅発性筋痛と呼ばれる。一般的に遅発性筋痛のピークは運動後 48~72 時間とされており、5~7 日後には消失することが報告されている。

1-3 鍼と筋痛・筋損傷に対する影響

東洋医学における鍼治療は、古くから治療や予防として用いられている。鍼は金属製のニードルを皮膚内に到達させ、深部筋への通電を行うことを可能にする。疼痛のある部位とは離れた間接的な刺鍼部位 (Acupuncture Point) を対象にして鍼単独刺激が遅発性筋痛に与える影響を解析した論文のメタアナリシ

スが行われる一方で、損傷骨格筋に直接鍼通電を行い、治療効果を解析した報告は少ない。

1-4 鍼が遅発性筋痛に及ぼす影響

報告者は「ヒトにおける継続的な EA は、筋痛・筋損傷を抑止する」と仮説を立て、EA が筋損傷に及ぼす効果を予備的に検討した。その結果、伸張性運動による筋損傷前後の EA は運動後の筋痛・筋損傷を抑制する可能性が示唆された (未発表, 図 1)。このデータより、新たな疑問点が得られた。

1. 筋損傷前 7 日間の EA が予防効果を生む可能性
2. 筋損傷後における EA が治療効果を生む可能性

予防効果と治療効果が混在する結果となっていた。

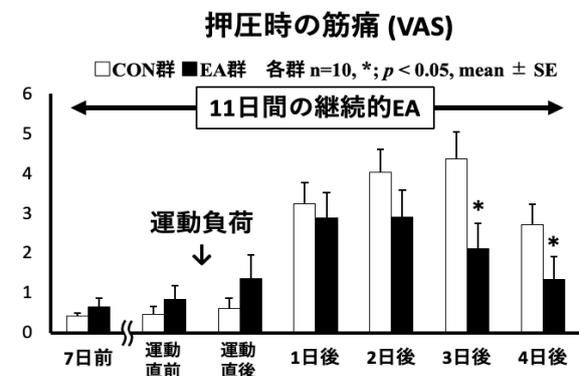


図1 ヒトにおける鍼通電刺激 (EA) は運動負荷後の筋痛を抑止する可能性 (未発表, *: vs. CON).

1-5 むちうちに対する鍼治療の現状

実際、現場においては事故後に治療を目的として鍼通電刺激を行うことが主であり、予防効果を目的として EA を用いることは少ない。

1-6 目的

本研究では対象筋への直接的な鍼通電刺激が伸張性運動による筋損傷後の筋痛に与える影響と、従来型の筋損傷マーカーの変動に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法と経過

2-1 研究倫理

参加者は、本研究に登録する前に、書面によるインフォームドコンセントを行った。本研究プロトコルは、帝京平成大学の人実験倫理委員会（承認番号：2020-100）により承認され実施した。

2-2 被験者と実験スケジュール

実験には、運動習慣、喫煙、投薬のない健康な男性 13 名が参加した。参加者には、1) 運動実験中の上腕部のマッサージ、2) 激しい運動、3) アルコール、4) サプリメントを控えるように指示した。また、3ヶ月前と実験中に別の鍼治療を受けることを禁止した。被験者は、対照群 (CON 群) と鍼刺激群 (EA 群) に無作為に分けられた。両群間で身体的特徴や食習慣に差はなかった。すべての被験者は、研究期間中、激しい運動、飲酒、マッサージ、投薬を避けるように指示された。実験前に、身長、体重、体格指数、脂肪率、筋肉量を体組成計 (タニタ、東京、日本) で測定した。上腕二頭筋の最大随意収縮 (MVC) をモービィ (堺メディックス社、日本) を用いて測定した。

実験スケジュールは図2に示した。運動、採血、測定は全員早朝 (6:00~8:30) に空腹状態で行った。実験当日は、上腕二頭筋の主観的筋痛を VAS で、肘関節可動域評価をした後、最大筋力解析を行いウォッシュアウト期間を2週間設けた。実験初日は、運動前に採血・測定し (Ex-Pre)、その後 30 分以内に運動負荷を実施した。運動直後 (Ex-Post) に採血と上腕二頭筋の測定を行い、鍼通電刺激を行った後、その後 4 日間 (D1~D4) にわたって同様の測

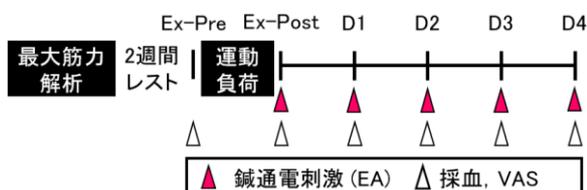


図2 実験プロトコル。

定を行った。すべての測定は、群分けを認識しない同じ評価者によって行われた。

2-3 筋損傷誘導方法

筋損傷誘導方法を示した (図3)。まず、被験者は採血を行い、その後、負荷前に VAS (visual analog scale) を用いた筋痛評価を行った。

運動プロトコルは、非利き腕の上腕屈筋群の伸張性収縮運動とした。負荷強度は 70%MVC に設定し、5 秒×5 回×6 セット行った。セット間は 2 分の休憩を挟んだ。運動は電子メトロノーム (60 拍/分) に合わせて行い、被験者が一人でリズムを維持できない場合は補助を行った。5 秒間の偏心収縮後、3 秒かけて正しい腕の位置に戻し、その後、被験者をリラックスさせた状態で再び同じ位置から開始した。



5回×6セット (セット間休憩2分間)

図3 筋痛を誘導する運動負荷方法。

2-4 鍼通電刺激

鍼通電刺激 (EA) は、運動負荷後の 4 日間継続した。すべての被験者が非利き腕に筋痛が引き起こされる中で、CON 群は利き腕に、EA 群は非利き腕に EA を行った。鍼は直径 0.2mm、深度は約 2cm とし、上腕二頭筋長頭と短頭に、遠位端と近位端の計 4 本とした。鍼通電はオームパルサー LFP4000A (Zen-iryoki Co. Ltd., Japan) を用いて、1Hz、15 分間上腕二頭筋に長軸方向に通電を行った。通電強度は被験者が心地よいと感じる強度とし、で微細な収縮が認められる程度とした。被験者は鍼に知識の無い者とし、本実験が始まる前に「鍼には遠隔的治療と、直接的治療の 2 種類の手法がある」と説明し、刺入部位への影響を極力取り除いた。鍼刺激は群分けの認識を持たない日本の国家ライセンスを持つ者が行った。

2-5 筋痛評価

上腕二頭筋の主観的筋痛は、左端を「痛みなし」、右端を「激痛」とする 100mm の直線からなる VAS により評価した。筋肉痛の評価は、Ex-Pre、Ex-Post、D1 から D4 まで、被験者の主観的な判断に基づき行った。筋肉痛の評価は、触診と自発的 maximum 伸展の 2 種類を行っ

た (Ra et al.) 触診での筋肉痛は、評価者が上腕二頭筋の筋腹を 3 秒間触診した場合に評価した。自発最大伸展時の筋肉痛は、被験者が肘関節を伸ばしたときに評価した。なお、評価の一致を図るため、全ての被験者に対して群分けの認識を持たない同じ評価者が行った。

2-6 血清中筋損傷マーカー解析

採血は肘静脈から行った。真空採血管に採取後、3000rpm で 10 分間遠心分離し上清を血清サンプルとした。株式会社 SRL に検体解析を依頼し、筋損傷マーカー (CK; クレアチンキナーゼ, LDH; 乳酸脱水素酵素, ALD; アルドラーゼ, AST; アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ) を測定した。測定後、血清は-80℃で保存した。

血清中セルフリーDNA (セルフリーDNA) は、Plasma/Serum Cell-Free Circulating DNA Purification Mini Kit (Norgen Biotek Inc.) を用い、説明書にしたがって抽出した。抽出した cfDNA は、High Sensitivity DNA マイクロチップ (Agilent Technologies Inc., USA) を組み合わせたオンチップ電気泳動法による DNA 分析によって測定した。細胞損傷後流出する cfDNA は 180bp 前後であることが知られているため (11), 180bp を中心としたサイズのピークの面積を算出し、二群間を比較した。

2-8 血清中炎症・筋分解マーカー解析

血清中の C 反応性蛋白 (CRP) は Human C-Reactive Protein/CRP QuickKit ELISA (R&D) を用いて、myogrobin は Human Myoglobin ELISA Kit (Abcam) を用いて解析した。それぞれ説明書にしたがって操作した。

2-7 統計解析

統計解析は SPSS version 29 for Windows (IBM, Armonk, NY, USA) で行った。すべてのデータは平均値±標準誤差 (SE) で示した。各サンプリングポイント間の比較は、一元配置分散分析に続いて Tukey の多重比較を用いて行った。2 群の比較には Mann-Whitney U-test を用いた。p 値が 0.05 未満を統計的に有意であるとみなした。アスタリスクは CON 群と EA 群の差、ダガーは群内における Ex-Pre との差を示している。

3. 研究の成果

3-1 主観的筋痛

主観的筋痛を示した (図 4)。運動負荷後、

CON 群における触診時痛は Ex-Pre に比して D2 において有意に高値を示した。一方, EA 群における触診時痛は Ex-Pre に比して D2 と D3 において有意に高値を示した。二群間における差は認められなかった。伸展時痛も同様の推移を示し、二群間における差は認められなかった (未掲載)。

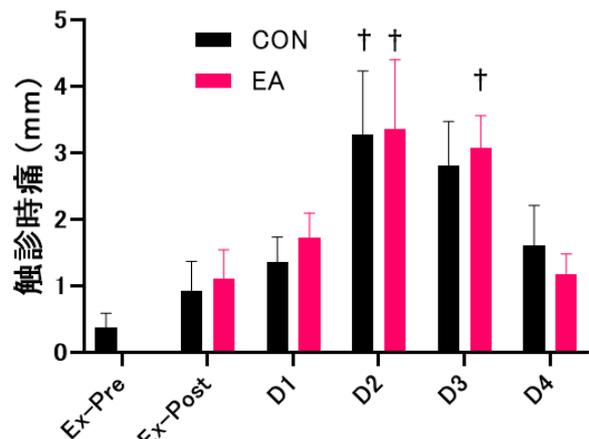


図 4. 触診時痛の推移。

3-2 筋損傷マーカー

筋損傷マーカーである CK は、CON 群と EA 群共に Ex-Pre に比して D3 と D4 で有意に高値を示した (図 5)。2 群間における差は認められなかった。ALD は CON 群において Ex-Pre に比して D4 にて有意に高値であり、EA 群においては Ex-Pre に比して D3 と D4 にて高値であった。AST も同様の推移を示した。LDH に関しては有意な差は認められなかった (未掲載)。また、cfDNA も二群間で差は認められなかった。

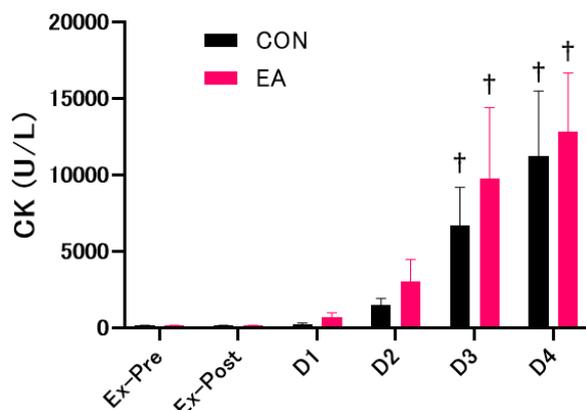


図 5. 血中筋損傷マーカーの推移。

3-3 炎症マーカー

炎症の誘導により血清 CRP が増加する下の旺盛があった。有意な差は認められなかった (未掲載)

3-4 血中ミオグロビンの推移

骨格筋異化マーカーであるミオグロビン濃度を示した(図6)。運動負荷後3日にかけて血中ミオグロビン濃度は増大する傾向が見られたが、有意差は認められなかった。また、二群間における差は認められなかった。TNF- α も同様に差は認められなかった。

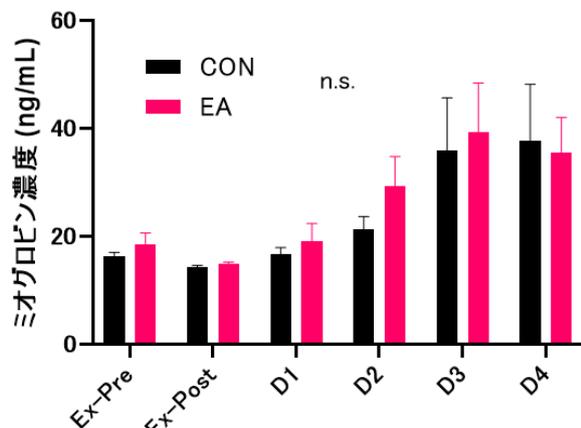


図6 筋異化マーカー。

3-4 cfDNA 濃度

筋損傷が誘導されると、運動後の cfDNA は増加するため、本研究でも解析した。その結果、2群間における cfDNA は両群間で差は認められなかった(未掲載)

3-4 最大筋力の推移

運動負荷後における最大筋力の推移を示した(図7)。CON群において、Ex-Preに比してEx-PostとD4で有意に低値を示した。EA群においてはEx-Preに比してEx-Postで有意に位置を示した。二群間の比較では、運動負荷4日後(D4)にてCON群に比してEA群で有意に高値を示した。

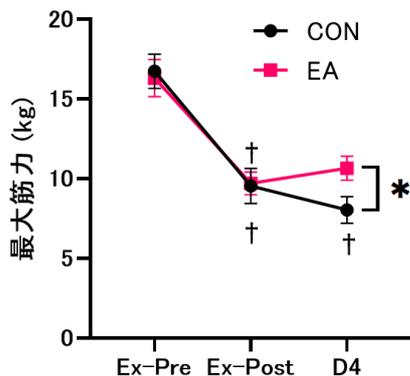


図7 最大筋力の推移。

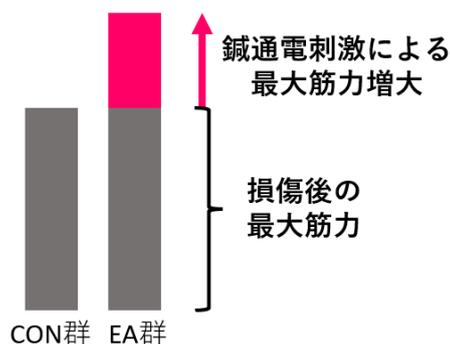
4. 今後の課題

本研究からは、予想に反して、運動負荷後に誘導される触診時痛の抑制効果、筋痛筋損傷マーカーの増大抑制、炎症応答の増大抑制効果の全てが認められなかった一方で、損傷による最

大筋力の回復は認められた(図6)。EAによる筋損傷治療効果は詳細な検討が必要になる一方で、最大筋力が増大した理由の1つには、通電刺激によるものと考えられる。通電刺激は筋線維動員数を増大して、筋発揮張力を誘導する(2)。本研究でも同様の現象が生じたことが考えられるだろう。

本研究は上腕二頭筋の伸張性運動後に誘発される筋痛・筋損傷に対する影響を解析したもので、実際のむちうち傷害の一部を模したものである。本来のむち打ち発症機序と症状は多岐にわたり、疼痛誘導のメカニズムも異なる点は本研究の限界である。従って、実際の治療効果はさらなる検討が必要になるだろう。

本研究の結果から、損傷筋に対するEAによる最大筋力の回復効果が認められた。筋痛が誘導された際の筋保護効果を期待できるだろう。低下した最大筋力を早期に回復させることで、筋負荷に対する最大筋力の幅に余力が生じ、その結果、相対的に負荷が少なくなり痛みの誘発が少なくなる可能性が考えられた(図7)。



鍼通電刺激による最大筋力増加 ≡ “余力の増大”イメージ図

図7 本研究から得た鍼通電刺激(EA)の筋痛抑制効果のイメージ図。

5. 研究成果の公表方法

当研究成果は、サンプル数を増やし、より詳細に検討した上で、国際誌(e.g. *Acupuncture in medicine*)に投稿予定である。

参考文献

- 1) Myofascial-entheseal dysfunction in chronic whiplash injury: an observational study. Bismil et al., 2012, *JRSM Short Rep.*
- 2) Effects of electrical stimulation on muscle power and biochemical markers during hemodialysis in elderly patients: a pilot randomized clinical trial. Miura et al., 2018, *Ren Replace Ther.*

以上

Effects of acupuncture treatment using a model of skeletal muscle injury caused by extension contraction

Primary Researcher: Shoichi KOMINE
Assistant Professor, Teikyo Heisei University

Whiplash injury is a general term for a neurologic injury that is also caused by the eccentric contraction of skeletal muscles. Electroacupuncture (EA) is used to treat myalgia and muscle damage, but its effect on whiplash injury is unknown. In this study, we used a muscle injury induction model to analyze the therapeutic effects of EA after muscle injury.

Thirteen male subjects were randomly divided into two groups. All subjects were subjected to eccentric exercise on the biceps brachii muscle of the non-dominant arm to induce muscle damage. The control group received EA on the dominant arm, and the EA group received EA on the biceps brachii of the non-dominant arm. The duration of the EA was from just after exercise to 4 days after the exercise.

There were no differences in all muscle damage and inflammatory markers between the control and EA groups. There was no difference in all muscle damage and inflammation markers between the control and EA groups. On the other hand, only maximum voluntary contraction was increased by EA stimulation. These results suggest that local EA after eccentric exercise has a muscle-protective effect by increasing maximum voluntary contraction, which may lead to a therapeutic effect.