

2003年度研究助成論文

アジュバント関節炎ラットの後肢に対する高温、低温刺激の影響*

中野 治郎¹⁾ 沖田 実²⁾ 中居 和代³⁾
 片岡 英樹⁴⁾ 豊田 紀香⁵⁾ 友利幸之介⁶⁾
 吉村 俊朗¹⁾ 本村 政勝⁷⁾ 江口 勝美⁷⁾

要旨

本研究では、アジュバント関節炎ラットの後肢に42℃の高温刺激と10℃の低温刺激を負荷し、関節炎の病態におよぼす影響とヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行抑制効果を検討した。7週齢のLewis系雌ラット31匹を生理食塩水を投与する非関節炎群15匹と起炎剤を投与する関節炎群16匹に分け、各々の群を通常飼育群、高温刺激群、低温刺激群に分けた。そして、高温・低温刺激は起炎剤投与1週後から2週間、1日1時間、週5回負荷した。高温刺激ではタイプI・II線維とも廃用性筋萎縮の進行抑制効果を認めたと、低温刺激ではタイプI線維のみでしか効果を認めず、このことから廃用性筋萎縮の進行抑制に対しては低温刺激より高温刺激が効果的であることが示唆された。しかし、関節炎の病態に対しては高温刺激により悪影響があり、これらのことを総合的に判断するとアジュバント関節炎に対しては低温刺激が安全かつ有効な方法と思われる。

キーワード アジュバント関節炎、高温刺激、低温刺激

はじめに

関節リウマチ (Rheumatoid arthritis; 以下, RA) にみられる関節炎の病態は、滑膜の増殖、関節やその周囲組織へのリンパ球浸潤と肉芽組織形成、関節軟骨の破壊などであり、炎症の再燃と寛解を繰り返し、徐々に関節の変形や強直へと進展していく¹⁾。また、RAは炎症

による痛みのために身体活動が減少し、骨格筋は廃用性筋萎縮が進行しやすい状況にある²⁾。そのため、RAの理学療法では炎症を抑えつつ、廃用性筋萎縮の進行を予防することが重要といえる³⁾。しかし、先行研究⁴⁻⁶⁾では関節運動はRAの炎症や浮腫を助長し、痛みの感受性を上昇させ、関節炎の病態を進行させる可能性がある指摘されている。そして、実際の臨床場面でも等張性収縮運動のような関節運動を伴う筋力トレーニングでは痛みを惹起することが多く、十分な効果は得られにくい。加えて、炎症が激しい時期では等尺性収縮運動すら実施困難なことも多く、廃用性筋萎縮が進行しているのが現状であろう⁷⁾。したがって、RAの廃用性筋萎縮を予防するためには、上記のような運動療法ではなく、これに変わる方法を考案する必要があると思われる。

沖田ら⁸⁾によれば、ラットヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行過程で後肢に約42℃の高温刺激を負荷すると、筋細胞にはHeat shock protein (以下, HSP) 70が発現し、これが作用し、筋線維萎縮の進行も抑制されると報告している。つまり、HSP70には新生ポリペプチド鎖の伸張と折り畳みを補助する分子シャペロン機能やタンパク質の凝集抑制、変性タンパク質の修復といった作用があるため、高温刺激によってHSP70を多量に発現させ得れば、廃用性筋萎縮の病因であるタンパク質の合成低下と分解亢進を抑制することが可能であると考えられ

* The Effects of Heat and Cold Exposure on the Adjuvant Arthritis in Lewis Rats

1) 長崎大学医学部保健学科

(〒852-8520 長崎県長崎市坂本町1-7-1)

Jiro Nakano, RPT, Toshiro Yoshimura, MD: School of Health Sciences, Nagasaki University

2) 星城大学リハビリテーション学部リハビリテーション学科

Minoru Okita, RPT, PhD: Faculty of Care and Rehabilitation, Division of Physical Therapy, Seijoh University

3) 田川慈恵病院リハビリテーション科

Kazuyo Nakai, RPT: Department of Rehabilitation, Tagawajikei Hospital

4) 長崎記念病院リハビリテーション部

Hideki Kataoka, RPT: Department of Rehabilitation, Nagasaki Memorial Hospital

5) 長崎北病院総合リハビリテーション部

Norika Toyoda, RPT: Department of Rehabilitation, Nagasaki KITA Hospital

6) 神奈川県立保健福祉大学保健福祉学部リハビリテーション学科

Kounosuke Tomori, OTR: Faculty of Health and Social Work, Division of Occupational Therapy, Kanagawa University of Human Services

7) 長崎大学医学部第一内科

Masakatsu Motomura, MD, Katsumi Eguchi, MD: First Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine

ている⁹⁾。また、われわれの先行研究¹⁰⁾では、42℃の高温刺激のみならず、10℃、20℃の低温刺激でも、ラットヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行抑制効果が認められている。したがって、これらの先行研究⁸⁻¹⁰⁾を参考にすると、高温刺激や低温刺激はRAの関節炎の病態に対して悪影響をおよぼさなければ、廃用性筋萎縮の予防方法として利用できるのではないと思われる。

本研究の目的は、RAの実験モデルであるアジュバント関節炎ラットの後肢に42℃の高温刺激と10℃の低温刺激を負荷し、炎症や関節炎の病態におよぼす影響とヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行抑制効果を明らかにすることである。

材料と方法

1. 材料

実験動物には7週齢のLewis系雌ラット31匹を用い、これらを無作為に非関節炎群15匹と関節炎群16匹に振り分け、関節炎群の各ラットには後述する方法でアジュバント関節炎(Adjuvant arthritis; 以下, AA)を惹起させた。そして、非関節炎群、関節炎群のラットはそれぞれ無作為に1) 通常飼育する群(Cont群: n = 5, AA群: n = 6), 2) 高温刺激を負荷する群(Heat群: n = 5, AA+Heat群: n = 5), 3) 低温刺激を負荷する群(Cold群: n = 5, AA+Cold群: n = 5)に振り分けた。

なお、今回の実験はすべて長崎大学医学部附属動物実験施設で行い、長崎大学が定める動物実験の指針に基づいて実施した¹¹⁾。

2. アジュバント関節炎の作成方法

関節炎群であるAA群、AA+Heat群、AA+Cold群の各ラットには、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/Kg)によって麻酔した後、起炎剤であるフロイント完全アジュバント(Freund's Complete Adjuvant; Wako社)3 mlを背部皮内の数カ所に分散して投与し、アジュバント関節炎を惹起させた。なお、先行研究⁴⁻⁶⁾の多くは起炎剤を尾部や関節内に投与しているが、今回は後述の方法で後肢に温・冷水浴を実施するため、背部皮内の投与とした。また、投与部位の変更によるアジュバント関節炎発症の感度減弱を抑えるため、起炎剤に含まれる不活結核菌を通常⁴⁻⁶⁾の1 mg/mlから5 mg/mlに増量した。一方、非関節炎群であるCont群、Heat群、Cold群には、生理食塩水のみを同様に投与した。

3. 高温刺激、低温刺激の負荷方法

起炎剤投与1週後から2週間にわたり、Heat群、AA+Heat群には42℃の高温刺激を、Cold群、

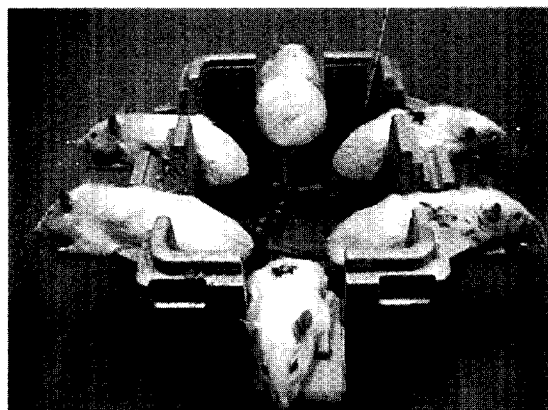


図1 高温・低温刺激の負荷方法

AA+Cold群には10℃の低温刺激を負荷した。具体的には、沖田らの方法⁸⁾に従い、自製の小動物用プールに42℃の温水、ならびに10℃の冷水を溜め、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/Kg)によって麻酔したラットの下腹部から後肢全体を浸漬する方法で実施した。なお、高温・低温刺激の実施時間は1日1時間で、これを週5回の頻度で行った(図1)。

4. 距腿関節内温、下腿三頭筋内温、ならびに直腸温の測定

実験に先立ち、高温・低温刺激の負荷によって距腿関節内、下腿三頭筋内、ならびに直腸の温度がどの程度変化するかを調べるため予備実験を行った。具体的には、7週齢のLewis系雌ラット1匹に対し、熱電対温度計(PTC-301, UNIQUE MEDICAL社)のセンサーを距腿関節内、下腿三頭筋内、ならびに直腸に挿入し、前記と同様な方法で高温・低温刺激を負荷した。そして、刺激前、刺激中1時間、ならびに刺激後1時間の各部位の温度変化を10分間隔で測定した。なお、高温・低温刺激での各部位の温度変化の測定はそれぞれ日を変えて行った。

5. 検索方法

1) ラットの観察

実験期間中は毎日、無麻酔下でラット足部の腫脹や皮膚の状態、ならびに歩容を観察した。

2) 試料採取

起炎剤投与から3週後に、各ラットの腹腔内にペントバルビタールナトリウム(40 mg/Kg)を投与し、麻酔を行った。そして、尾静脈から採血を行い、その後、両側のヒラメ筋と足部(脛骨遠位端から足先部)を採取した。

3) 血液の生化学的検索

血液試料は、3000回転/分で15分間遠心分離を行い、血清を回収した。そして、炎症の指標である血清シア

表1 Histopathological Scale

| 項目 | scale | 判定内容 |
|-------------|-------|--------------------|
| 滑液の滲出量 | 0 | なし |
| | 1 | 少量～中量 |
| | 2 | 多量（関節包の膨張） |
| 滑膜と周囲組織の炎症度 | 0 | 正常 |
| | 1 | 軽度～中度の炎症，線維芽細胞の増殖 |
| | 2 | 重度の炎症，線維芽細胞・肉芽腫の増殖 |
| | 3 | 潰瘍，膿瘍の形成 |
| | 4 | 広範囲の壊死 |
| 軟骨の破壊度 | 0 | 正常 |
| | 1 | 表面の破壊 |
| | 2 | 深い亀裂またはびらん |
| | 3 | 広範囲の破壊 |
| | 4 | 広範囲の壊死または膿瘍形成 |
| 軟骨下骨の破壊度 | 0 | 正常 |
| | 1 | パンススによる表面進入 |
| | 2 | 骨髓領域への侵入 |
| | 3 | 軟骨下骨の膿瘍 |
| | 4 | 広範囲の破壊 |

Mahowaldら¹⁴⁾のScoring system for histopathological in joint infectionを一部改変。

ル酸値を酵素法（シアル酸テスト試薬，極東製薬工業社）で測定した¹²⁾。なお，シアル酸は， α 1酸性タンパク質を代表とする炎症急性期の反応物質に多量に含まれており，血清シアル酸値は，炎症の程度を敏感に反映するとされている¹³⁾。

4) 距腿関節の組織病理学的検索

足部試料は，矢状断で2分割した後，10%ホルマリン液に7日間浸漬し組織固定した。その後は，2日間脱灰液（K-CX，藤沢薬品工業社）に浸漬し，通法に従いパラフィン包埋した。そして，ミクロトームを用いて10 μ m厚の縦断切片を作成し，結合組織を可視化するためにエラスチカ・ワンギーソン染色を施した後，光学顕微鏡で検鏡した。また，表1に示したHistopathological Scale¹⁴⁾を用い，距腿関節の病理所見をスケール化し，関節炎の病態の進行程度を評価した。

5) ヒラメ筋の組織化学的，生化学的検索

筋試料はその中央部分で2分割し，一部は組織化学的検索に，一部は生化学的検索に供した。

組織化学的検索として，試料はまずトラガントゴムに包埋し，液体窒素で冷却したイソペンタン内で急速凍結した。そして，クリオスタットを用いて7 μ m厚の横断切片を作成し，切片の一部は筋線維タイプを分別するためルーチンATPase染色（pH 10.5）を，一部は毛細血管を可視化するためアルカリフォスファターゼ染色を施した。次に，定量解析として，ATPase染色像は100倍の拡大像でパーソナルコンピューターに取り込んだ後，

画像解析ソフト（NIH-Image）を用いてタイプI・II線維の筋線維直径を1筋あたり各々100本以上計測した。また，アルカリフォスファターゼ染色像は1筋あたり200倍の拡大像で5視野，無作為にパーソナルコンピューターに取り込んだ後，各視野内に存在する毛細血管と筋線維をすべてカウントした。そして，各視野の毛細血管の総数を筋線維の総数で除し，1筋線維あたりの毛細血管数を算出した。

一方，生化学的検索として，試料は後述するキット付属の緩衝液を加えてすりつぶし，次いで，遠心加速度12,000gで15分間遠心分離を行い，上清液を回収した。そして，この上清液を試料とし，Enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA）法（HSP70 ELISAキット，Stressgen社）¹⁵⁾でHSP70含有量を測定した。また，Bradford法で試料内の総タンパク質量を測定し，総タンパク質量あたりのHSP70含有量を算出した。

6. 統計処理

各群の血清シアル酸値，ヒラメ筋の筋線維直径，1筋線維あたりの毛細血管数，HSP70含有量の比較には一元配置分散分析（以下，ANOVA）を適用し，ANOVAにて有意差を認めた場合にはFisherのPLSD法によって2群間の比較を行った。また，各群のHistopathological Scaleの比較にはKruskal Wallis検定を適用し，有意差を認めた場合にはノンパラメトリックBonferroni型多重比較（比較回数：15回）によって2群間の比較を行

った。なお、全ての統計手法とも有意水準は5%未満とした。

結 果

1. 距腿関節内温、下腿三頭筋内温、ならびに直腸温の変化 (図2)

高温・低温刺激を負荷する前の距腿関節内温、下腿三頭筋内温、ならびに直腸温はいずれも34~35℃であったが、高温刺激を負荷するとそれぞれ40.1℃、40.9℃、41.0℃まで上昇し、低温刺激を負荷するとそれぞれ

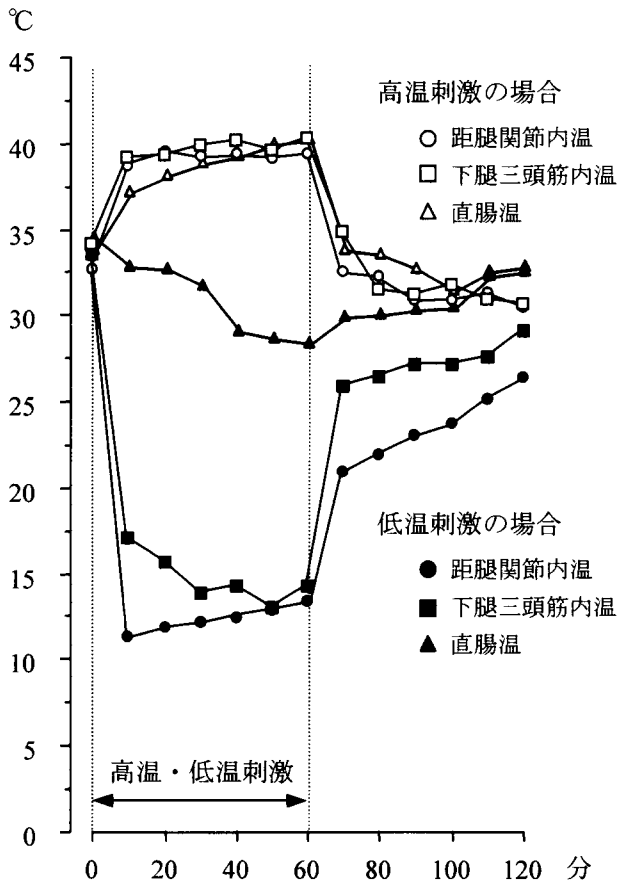


図2 距腿関節内温、下腿三頭筋内温、ならびに直腸温の変化

12.6℃、13.7℃、29.1℃まで低下した。

2. ラットの足部、皮膚の外観と歩容の変化

AA群、AA+Heat群、AA+Cold群には起炎剤投与10日目から徐々に足部の腫脹を認め、腫脹の程度に準拠して後肢の引きずり歩行が出現した。なお、皮膚の状態はアジュバント関節炎の発生による発赤を除いては、熱傷や凍傷などは認められなかった。

3. 血清シアル酸値の変化 (表2)

各群の血清シアル酸値を比較すると、Cont群、Heat群、Cold群の3群間には有意差を認めず、これらの群に比べAA群、AA+Heat群、AA+Cold群はすべて有意に高値を示した。また、AA群に比べAA+Heat群、AA+Cold群は有意に低値であった。

4. 距腿関節の変化

AA群、AA+Heat群、AA+Cold群には炎症細胞や線維芽細胞の増殖、滑膜周囲の浮腫、骨・軟骨の破壊像といったアジュバント関節炎に特徴的な病理所見が認められた (図3)。そして、Histopathological Scaleを各項目で比較するとAA群、AA+Heat群、AA+Cold群の滑液の滲出量、滑膜と周囲組織の炎症度、軟骨下骨の破壊度、ならびにAA+Heat群の軟骨の破壊度はCont群より有意に高値を示した。また、AA群、AA+Heat群、AA+Cold群の3群で比較すると、軟骨の破壊度の項目はAA+Heat群がAA群より有意に高値を示した (図4)。

5. ヒラメ筋の変化

1) 筋線維直径 (表2, 図5-A-D)

各群の平均筋線維直径を比較すると、タイプI・II線維ともAA群、AA+Heat群、AA+Cold群はCont群より有意に低値を示した。また、AA群、AA+Heat群、AA+Cold群の3群を比較すると、タイプI線維はAA

表2 血清シアル酸値、筋線維直径、毛細血管数、ならびにHSP含有量の比較

| 群 | 非関節炎群 | | | 関節炎群 | | | ANOVA (自由度, F値) |
|-----------------------|---------------|----------------------------|---------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------|
| | Cont群 | Heat群 | Cold群 | AA群 | AA+Heat群 | AA+Cold群 | |
| 血清シアル酸値 (mg/dl) | 45.3 ± 24.3 | 45.4 ± 3.3 | 41.7 ± 1.5 | 65.8 ± 16.0 ^{a,c,d} | 54.2 ± 6.8 ^{a,b} | 51.6 ± 9.8 ^{a,b} | p < 0.05 (5, 4.3) |
| 筋線維直径 (μm) | | | | | | | |
| タイプI線維 | 46.6 ± 8.1 | 48.6 ± 8.3 | 45.7 ± 7.5 | 37.7 ± 6.8 ^{a,c,d} | 42.3 ± 8.2 ^{a,b} | 42.1 ± 7.1 ^{a,b} | p < 0.05 (5, 577.0) |
| タイプII線維 | 37.6 ± 7.5 | 38.1 ± 6.4 | 36.4 ± 7.5 | 28.6 ± 6.2 ^{a,c} | 32.7 ± 7.4 ^{a,b,d} | 29.4 ± 5.9 ^{a,c} | p < 0.05 (5, 509.8) |
| 1筋線維あたりの 毛細血管数 (本) | 1.7 ± 0.3 | 1.6 ± 0.2 | 1.8 ± 0.3 | 1.4 ± 0.2 ^{a,d} | 1.6 ± 0.4 ^d | 1.8 ± 0.2 ^{b,c} | p < 0.05 (5, 14.4) |
| HSP70含有量 (ng/μg) | 383.8 ± 139.2 | 676.1 ± 282.9 ^d | 344.3 ± 113.6 | 80.1 ± 45.6 ^{a,c} | 286.6 ± 65.7 ^{b,d} | 155.1 ± 26.1 ^{a,c} | p < 0.05 (5, 9.4) |

平均値 ± 標準偏差

a : Cont群との有意差 (p < 0.05), b : AA群との有意差 (p < 0.05), c : AA+Heat群との有意差 (p < 0.05),

d : AA+Cold群との有意差 (p < 0.05).

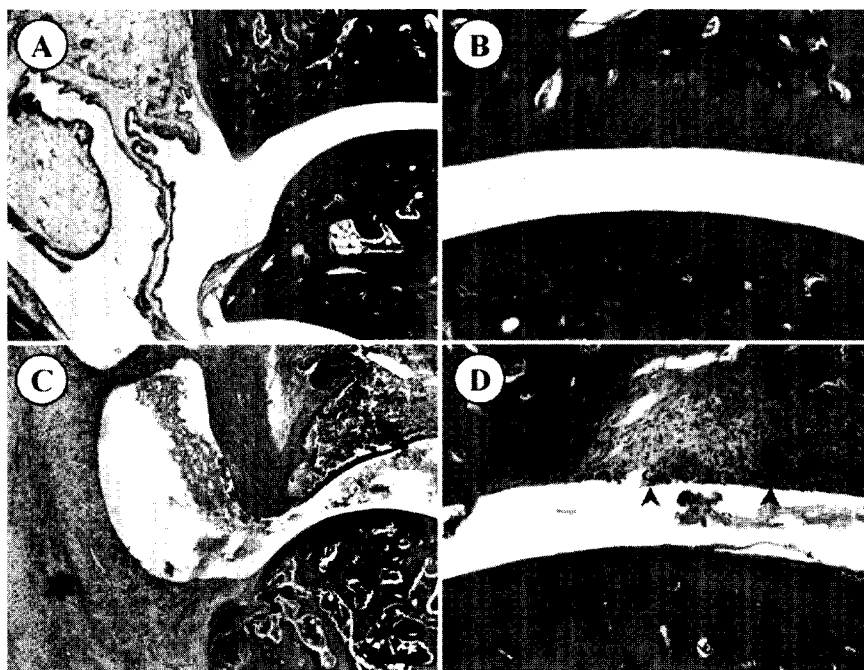


図3 距腿関節の組織学的染色像

写真は距腿関節の縦断切片をエラスチカ・ワンギーソン染色したもので、A、BはCont群、C、DはAA+Heat群の組織像である。また、A、Cは距腿関節アキレス腱側を40倍で、B、Dは関節面中央を100倍で撮影したもので、各写真の上方の骨組織は脛骨を、下方の骨組織は距骨を示す。なお、スケールはすべて250 μ mである。

AA+Heat群には滑膜周囲に線維芽細胞や炎症細胞の増殖を認め (*), 骨破壊像 (矢印) や軟骨破壊 (矢頭) も認められる。

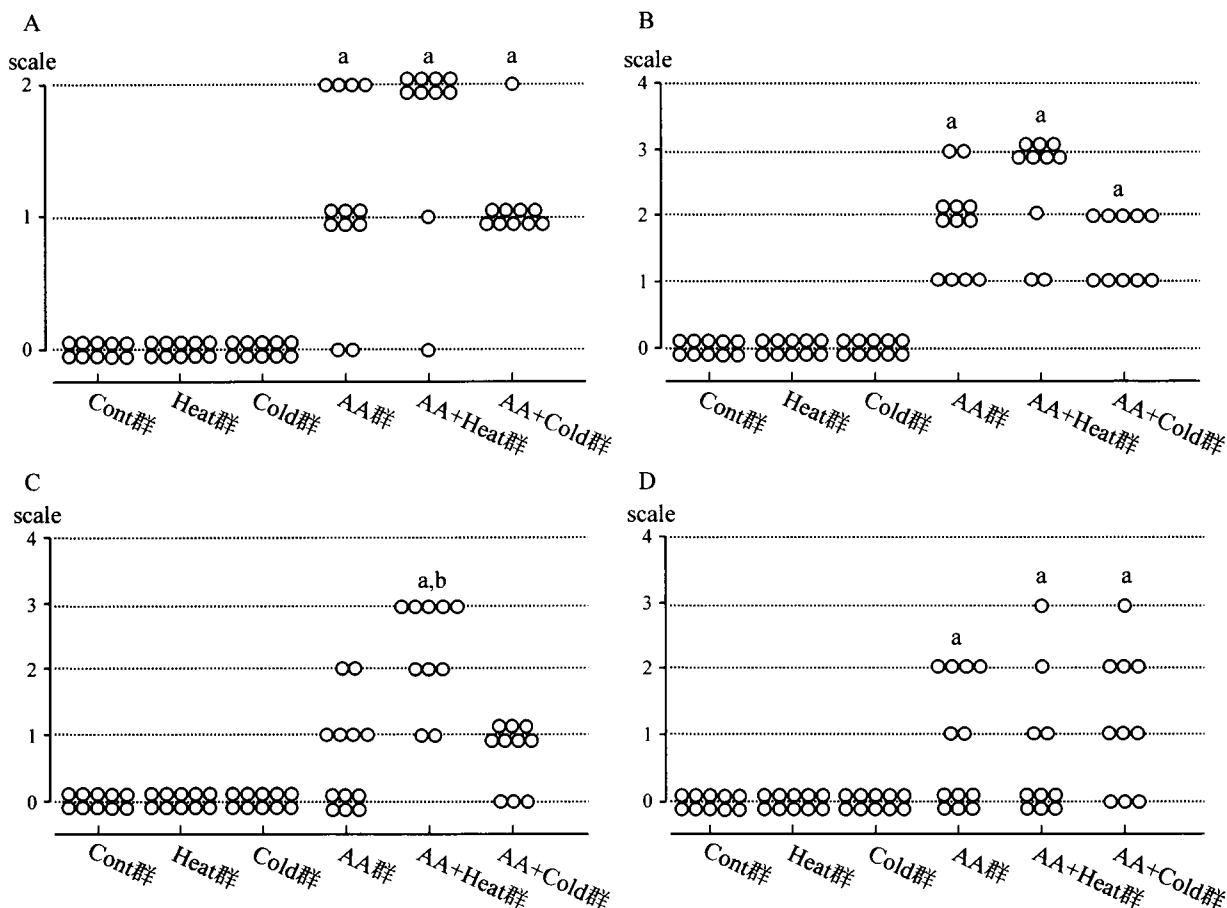


図4 距腿関節のHistopathological Scaleの比較

A: 滑液の滲出量, B: 滑膜と周囲組織の炎症度, C: 軟骨の破壊度, D: 軟骨下骨の破壊度。

a: Cont群との有意差 ($p < 0.05$), b: AA群との有意差 ($p < 0.05$)

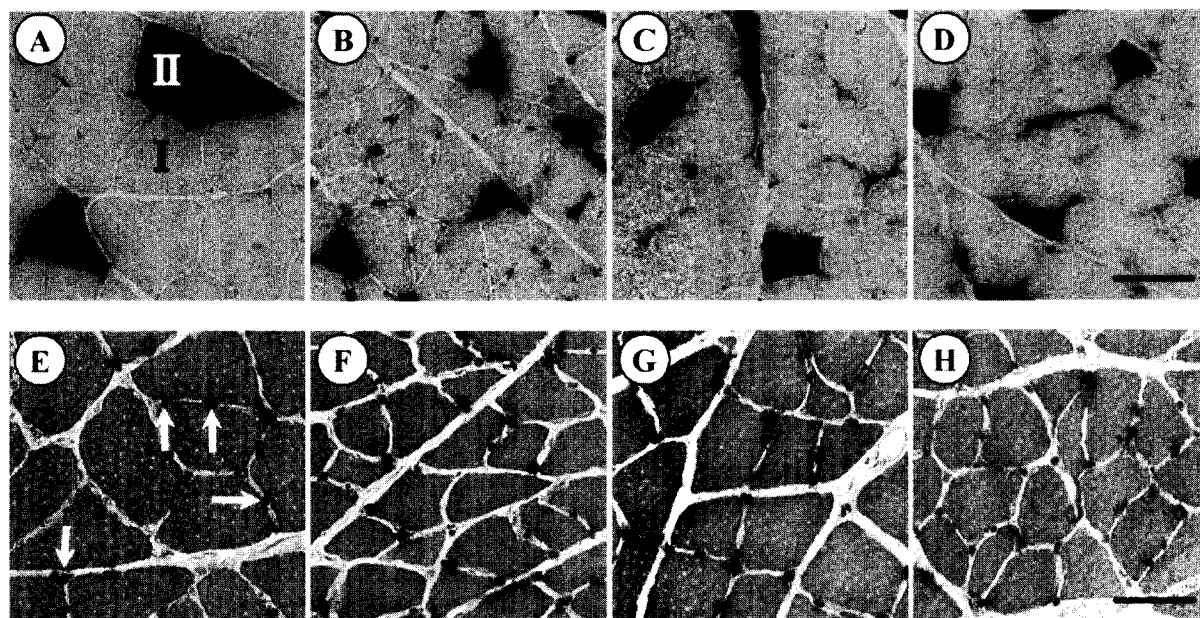


図5 ヒラメ筋の組織化学的染色像

上段 (A-D) は ATPase 染色像, 下段 (E-H) はアルカリフォスファターゼ染色像で, スケールは 50 μm である. A, E : Cont 群, B, F : AA 群, C, G : AA+Heat 群, D, H : AA+Cold 群, I : タイプ I 線維, II : タイプ II 線維, 矢印: 毛細血管.

群に比べ AA+Heat 群, AA+Cold 群が有意に高値で, この2群間には有意差を認めなかった。一方, タイプ II 線維は AA 群に比べ AA+Heat 群は有意に高値を示したが, AA 群と AA+Cold 群には有意差を認めなかった。

2) 毛細血管 (表2, 図5-E-H)

1筋線維あたりの毛細血管数は, Cont 群に比べ AA 群は有意に低値を示したが, AA+Heat 群, AA+Cold 群は Cont 群と有意差を認めなかった。また, AA 群, AA+Heat 群, AA+Cold 群の3群を比較すると, AA+Cold 群は他の2群より有意に高値を示した。

3) HSP70 含有量 (表2)

HSP70 含有量を比較すると, Heat 群は Cont 群, Cold 群より有意に高値を示した。また, AA 群, AA+Cold 群は Cont 群より有意に低値を示したが, AA+Heat 群は Cont 群と有意差を認めなかった。そして, AA+Heat 群は AA 群, AA+Cold 群より有意に高値を示した。

考 察

今回の結果から, AA 群, AA+Heat 群, AA+Cold 群の3群には足部の腫脹が観察され, 血清シアル酸値や Histopathological Scale も Cont 群よりも有意に高値を示した。また, これらの群のヒラメ筋の平均筋線維直径はタイプ I・II 線維とも Cont 群に比べ有意に低値であった。したがって, 起炎剤投与によるアジュバント関節炎の発生は明らかで, ヒラメ筋にも筋線維萎縮が惹起されているといえる。一般に, RA に伴う筋萎縮は廃用性筋萎縮と反射性萎縮の二つが主であるとされるが²⁾¹⁶⁾¹⁷⁾, 今回の AA 群, AA+Heat 群, AA+Cold 群のラットは

後肢の引きずり歩行が観察され, これはアジュバント関節炎によって生ずる痛みを回避するために後肢の関節運動を随意的に制限したためと思われる。また, 先行研究⁹⁾¹⁸⁾によれば廃用性筋萎縮発生時は, 筋内の HSP70 含有量や1筋線維あたりの毛細血管数が正常時よりも減少すると報告されているが, 今回の結果でも AA 群の HSP70 含有量や1筋線維あたりの毛細血管数は Cont 群に比べ有意に低値を示した。つまり, アジュバント関節炎に伴う筋線維萎縮は, 関節運動の制限によって惹起された廃用性筋萎縮であると考えた方が妥当であると思われる。

次に, 高温刺激の影響についてみてみると, 血清シアル酸値は AA 群に比べ AA+Heat 群が有意に低値で, ヒラメ筋のタイプ I・II 線維の平均筋線維直径も AA 群に比べ AA+Heat 群は有意に高値を示した。したがって, 高温刺激は血清シアル酸値を上昇させることはなく, 廃用性筋萎縮の進行抑制にも効果があると推測される。そして, AA+Heat 群の HSP70 含有量は AA 群より有意に高値で, 高温刺激によってもたらされた廃用性筋萎縮の進行抑制効果は HSP70 の作用によるものと思われる。しかしながら, AA+Heat 群の距腿関節においては軟骨で病態の増悪が認められた。Harris ら¹⁹⁾は RA 患者の滑液におけるコラゲナーゼ活性と軟骨性膠原線維の退化との関係を 30, 33, 36 $^{\circ}\text{C}$ の温度環境で調べた結果, 36 $^{\circ}\text{C}$ ではコラゲナーゼ活性が上昇し, 膠原線維の退化も進行すると報告している。そして, 今回の予備実験の結果でも距腿関節内温は 40 $^{\circ}\text{C}$ 以上に達しており, 上記の影響などが作用し, 関節炎の病態進行を助長したので

はないかと考えられる。したがって、今後は高温刺激の温度設定やその負荷方法などについて検討する必要があるといえよう。

一方、低温刺激の影響についてみると、血清シアル酸値はAA群に比べAA+Cold群が有意に低値で、ヒラメ筋のタイプI線維の平均筋線維直径もAA群に比べAA+Cold群は有意に高値を示した。また、距腿関節の病態像はAA群とAA+Cold群に大差はなく、これらのことから、低温刺激は関節炎の増悪を招くことはなく、廃用性筋萎縮の進行抑制にも効果があると推測される。そして、HSP70含有量はAA群とAA+Cold群に有意差を認めず、Lockeら²⁰⁾の報告と同様に低温刺激によるHSP70の発現は認められなかった。つまり、低温刺激による廃用性筋萎縮の進行抑制効果は高温刺激の場合とは異なったメカニズムによって生じると考えられる。この点に関して、Deveciら²¹⁾は、ラットを5℃の低温環境で4週間飼育すると、骨格筋での熱生産を効率化するために筋線維内の毛細血管が増加すると報告している。そして、この変化に準拠して骨格筋における基礎代謝率が亢進し、加えて、甲状腺ホルモンによる同化作用も促進し、筋線維は肥大するとしている。そこで、本実験でも1筋線維あたりの毛細血管数を検索した結果、AA+Cold群のそれは、AA群やAA+Heat群よりも有意に高値であった。したがって、本実験でも低温環境飼育による変化と同様な変化がヒラメ筋に生起していると推測され、低温刺激による廃用性筋萎縮の進行抑制効果は、Deveciらの報告²¹⁾にあるメカニズムが作用しているのではないと思われる。ただ、今回の結果だけでは低温刺激による廃用性筋萎縮の進行抑制効果のメカニズムは明らかでないため、今後検討していきたいと考えている。加えて、今回の結果では、低温刺激によってタイプII線維の筋線維萎縮の進行を抑制することは困難であったが、われわれの先行研究¹⁰⁾では後肢懸垂によって惹起したヒラメ筋の廃用性筋萎縮はタイプI・II線維とも10℃の低温刺激によってその進行が抑制されている。すなわち、実験モデルの違いによって低温刺激の効果が異なっており、今後はこの点についても検討する必要がある。

以上のことから、42℃の高温刺激、10℃の低温刺激ともアジュバント関節炎によって惹起される廃用性筋萎縮の進行抑制に効果があるが、高温刺激の場合がより効果的であることが示唆された。しかし、高温刺激は軟骨の破壊を助長する可能性があり、これらのことを総合的に判断するとアジュバント関節炎に対しては低温刺激が安全かつ有効な方法であると推察される。

文 献

- 1) 極方 久, 澤井高志・他: 慢性関節リウマチの病理組織学的特徴. 日本臨床 50: 483-489, 1992.
- 2) Herbigson GJ, Ditunno JF, *et al.*: Muscle atrophy in rheumatoid arthritis. J Rheumatol 14: 78-81, 1987.
- 3) Hakkinen A, Hakkinen K, *et al.*: Effects of strength training on neuromuscular function and disease activity in patients with recent-onset inflammatory arthritis. Scand J Rheumatol 23: 237-242, 1994.
- 4) 鈴木重行, 井関朋子・他: 運動刺激の炎症性浮腫に対する影響. 環研年報 44: 214-216, 1993.
- 5) Butler SH, Godefroy F, *et al.*: Increase in "pain sensitivity" induced by exercise applied during the onset of arthritis in a model of monoarthritis in the rat. Int J Tissue React 13: 299-303, 1991.
- 6) Stulbarg MS, Einstein LP, *et al.*: Effect of exaggerated movement on the development of lesion in adjuvant disease of rats. Arthritis Rheum 10: 317-318, 1967.
- 7) Richard D, Smith MD, *et al.*: Rest therapy for rheumatoid arthritis. Mayo Clin Proc 53: 141-145, 1978.
- 8) 沖田 実, 中居和代・他: 廃用性筋萎縮の予防としての温熱負荷の影響に関する研究. 理学療法学 31: 63-69, 2004.
- 9) Naito H, Powers SK, *et al.*: Heat stress attenuates skeletal muscle atrophy in hindlimb-unloading rats. J Appl Physiol 88: 359-363, 2000.
- 10) 中居和代, 豊田紀香・他: 異なる温度条件での熱刺激がラットヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行抑制効果におよぼす影響. 理学療法学 30(大会特別号No.2): 105, 2003.
- 11) 長崎大学医学部附属動物実験施設: 動物実験施設利用の手引き, 1995.
- 12) 水田 亘, 福田勝弘・他: 日立726による血清シアル酸の自動測定. 臨床病理 54: 128-134, 1983.
- 13) 坪井紀興: ラットII型コラーゲン関節炎とアジュバント関節炎における炎症・活動性の検討—血清シアル酸・血小板数を指標として—. 東医大誌 50: 559-568, 1992.
- 14) Mahowald ML, Peterson L, *et al.*: Antigen-induced experimental septic arthritis in rabbit after intraarticular injection of *staphylococcus aureus*. J Infect Dis 154: 273-282, 1986.
- 15) 菊池有純, 伊藤要子・他: ストレス蛋白(HSP70)のELISA法による定量法. 臨床病理 44: 351-354, 1996.
- 16) 蜂須賀研二, 緒方 甫・他: 片麻痺および骨・関節障害により生じた筋萎縮の酵素組織化学的所見の検討. リハ医学 29: 39-46, 1992.
- 17) Stokes M, Young A: The contribution of reflex inhibition to arthrogenous muscle weakness. Clin Sci 67: 7-14, 1984.
- 18) Houston ME, Bentzen H, *et al.*: Interrelationships between skeletal muscle adaptations and performance as studied by detraining and retraining. Acta Physiol Scand 105: 163-170, 1979.
- 19) Harris ED, McCroskery PA: The influence of temperature in fibril's stability on degeneration of cartilage collagen by rheumatoid synovial collagenase. New Eng J Med 290: 1-6, 1974.
- 20) Locke M, Celotti C: Cold stress dose not induce stress protein SP25 and SP72 in rat skeletal muscle. Cryobiology 43: 54-62, 2001.
- 21) Deveci D, Egginton S: Differing mechanisms of cold-induced changes in capillary in m. tibialis anterior of rat and hamsters. J Exp Biol 205: 829-840, 2002.

〈Abstract〉

The Effects of Heat and Cold Exposure on the Adjuvant Arthritis in Lewis Rats

Jiro NAKANO, RPT, Toshiro YOSHIMURA, MD
School of Health Sciences, Nagasaki University

Minoru OKITA, RPT, PhD
Faculty of Care and Rehabilitation, Division of Physical Therapy, Seijoh University

Kazuyo NAKAI, RPT
Department of Rehabilitation, Tagawajikei Hospital

Hideki KATAOKA, RPT
Department of Rehabilitation, Nagasaki Memorial Hospital

Norika TOYODA, RPT
Department of Rehabilitation, Nagasaki KITA Hospital

Kounosuke TOMORI, OTR
*Faculty of Health and Social Work, Division of Occupational Therapy,
 Kanagawa University of Human Services*

Masakatsu MOTOMURA, MD, Katsumi EGUCHI, MD
First Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine

The purpose of this study was to examine the effects of heat and cold exposure on inflammation, joint destruction, and skeletal muscle in rats with adjuvant arthritis. Thirty-one Lewis rats (7 week-old, female) were divided randomly into 6 groups: control (n=5), heat-exposed (H, n=5), cold-exposed (C, n=5), adjuvant arthritis (AA, n=6), AA plus heat-exposed (AAH, n=5) and AA plus cold-exposed (AAC, n=5). AA was induced via intradermal injection of complete Freund's adjuvant (3.0 ml) into the center of the back region. One week after the injection, bilateral hindlimbs of the H and AAH groups were immersed in hot water (42°C) for 60 min/day, 5 days/week for 2 weeks. Similarly, bilateral hindlimbs of the C and AAC groups were immersed in cold water (10°C). Upon comparison to the AA group, which were obtained through disuse of skeletal muscle, the AAH group displayed an increase in diameter of types I and II muscle fiber in the form of elevated heat shock protein 70; however, an accelerated ankle joint destruction was observed. On the other hand, the AAC group exhibited decreased inflammation and an increase in diameter of type I muscle fiber characterized by increased capillary number in soleus when compared to the AA group. These results demonstrate that heat and cold exposure afford a preventive effect with respect to muscle atrophy by disuse in AA rats; furthermore, cold exposure may be applied more safely than heat exposure.

〈コメント〉

臨床で何気なく使っている温熱刺激や寒冷刺激の生体反応を確認した貴重な研究である。ただ統計的有意差を確実にするためにも各群の実験動物数を10匹以上に増やしていただきたい。血清シアル酸値により炎症度を確認していたが、炎症経過も同時に確認できればより説得力のある研究になるだろう。組織の血液循環量は毛細血

管数だけではなく血管径も関与しているので、ヘモグロビン量の測定は有効と考えられる。さらに、末梢循環はリンパ循環も含んだ環境を意味しているため、メカニズムを確認するためにも組織学的検討が必要である。

(研究開発部)