超音波フォノフォレーシスによる運動器慢性疼痛の予防効果に関する実験的研究

佐々木遼（PT）[1)2)]，坂本淳哉（PT）[3)]，大賀智史（PT）[2)4)]，本田祐一郎（PT）[3)5)]，片岡英樹（PT）[2)6)]，沖田　実（PT）[3)]

1) 十善会病院リハビリテーション科
2) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻運動障害リハビリテーション学分野
3) 長崎大学生命医科学域・保健学系
4) 日本赤十字社長崎原爆病院リハビリテーション科部
5) 長崎大学病院リハビリテーション部
6) 長崎記念病院リハビリテーション科

キーワード：関節炎，低強度パルス超音波，超音波フォノフォレーシス

背　　景

骨折後の複合性局所疼痛症候群（CRPS）や各種外科術後の遷延性疼痛など，運動器慢性疼痛は組織損傷に起因する急性痛を発端とすることが多い。そのため，急性痛のマネジメントとしては早期からの疼痛管理を目的に非ステロイド性抗炎症鎮痛剤（以下，NSAIDs）をはじめとした薬物療法が第一選択となる[1)]。しかし，高齢者では腎機能障害や消化器系疾患，循環器系疾患を併発していることが多く，そのような対象者ではNSAIDsの投与量が限定的となり，効果が十分に得られないことが多い。そして，このようなケースでは痛みを回避するために身体活動を制限して様々な行動を避けるようになり，結果として，新たに不活動性疼痛も惹起され，慢性疼痛に発展するといった悪循環に陥るリスクが高まってしまう[2)]。そのため，薬物療法と併用することで急性痛を早期に軽減できる理学療法学的介入のエビデンスを構築することは急務であるといえる。

一方，組織損傷の急性期から適用される物理療法のひとつに超音波療法があり，これには炎症反応の早期鎮静効果[3)]に加えて，薬物の経皮浸透を促進するフォノフォレーシス効果[4)]があることから効果的なドラッグデリバリーシステムのひとつとして注目されている。つまり，超音波療法にはNSAIDsの塗布剤と併用することで前述した薬物療法の限界を補填できる可能性があり，急性痛の効果的なマネジメント戦略になりうる可能性がある。しかし，先行研究では急性痛に対する効果について一定の見解は得られておらず，その生物学的効果も明らかになっていない。組織損傷後の急性痛に対する超音波フォノフォレーシスの効果を明らかにすることができれば，急性痛を発端とした運動器慢性疼痛の二次予防戦略に資する薬物療法とのコンビネーションプログラムになり得るのではないかと考えている。

そこで，本研究では，ラット膝関節炎モデルの急性期に適用する超音波フォノフォレーシスが腫脹や痛みにおよぼす影響について検討し，運動器慢性疼痛の二次予防戦略の確立に寄与する基礎データを提示することを目的とした。

対象と方法

1. 実験動物

8週齢のWistar系雄性ラット60匹を用い，3％カラゲニン・カオリン混合液300 μlを右側膝関節に投与し，関節炎を惹起した後に，1）関節炎群（AR；n = 12），2）ジクロフェナク群（DIC；n = 12），3）LIPUS群（LIPUS；n = 11），4）フォノフォレーシス群（PhP；n = 13），5）疑似処置として同量の生理食塩水を投与する対照群（CON；n = 12）の5群に振り分けた。各個体に対する以下の介入は，起炎剤投与1～7日後まで毎日実施した。なお，本研究は長崎大学動物実験委員会に実験計画書を提出し，承認（承認番号：1510051250）を受けた後に，長崎大学先導生命科学センター・動物実験施設を利用して行った。

2. NSAIDsの経皮投与の方法

先行研究[5)]を参考に，ジクロフェナク群およびフォノフォレーシス群の各ラットに対し，麻酔下にて1日1回ボルタレンゲル1％（Novaltis Pharma社）を患部である右膝関節周囲の皮膚に0.4 g塗布した。なお，塗布した薬剤の経口摂取を防ぐため，塗布後はエリザベスカラーを装着して飼育した。

3. 超音波療法の実施方法

LIPUS群およびフォノフォレーシス群の各ラットに対し，麻酔下にてLIPUSを照射した。具体的には，オステオトロンV（伊藤超短波株式会社製）を用い，周波数1.5 MHz，強度60 mW/cm^2，Duty Cycle 1：4の条件で，1日1回10分間，右膝関節外側部にLIPUSを照射した。超音波媒介物質には市販の超音波ゲルを採用した。

4. 超音波フォノフォレーシスの実施方法

超音波フォノフォレーシス群のラットに対しては，前述の方法でボルタレンゲルを塗布した直後に，その直上からLIPUSを照射することで実施した。LIPUSの照射条件はLIPUS群と同様とした。なお，ゲル基材を用いた薬剤を採用したため，超音波ゲルは採用しなかった。

5. 膝関節の腫脹の評価

膝関節の腫脹はノギスを用いて右側膝関節の内外側裂隙間の横径を測定することで評価した。測定は，起炎剤投与後8日目まで毎日行った。

6. 膝関節の圧痛閾値の評価

膝関節の圧痛閾値はRandall-Selitto式鎮痛効果測定装置を用いて右側膝関節の外側裂隙部に圧刺激を加え，逃避反応が出現する荷重量を測定することで評価した。加圧速度は48 g/sとし，7回測定したデータから最大値と最小値を除外した5回の平均値をデータとして採用した。

図 1　膝関節の腫脹の変化
各群における膝関節の横径の経時的な変化を示す．CON ＝対象群，AR ＝関節炎群，DIC ＝ジクロフェナク群，LIPUS ＝ LIPUS 群，PhP ＝フォノフォレーシス群．＊＝対象群との有意差（p<0.05）．＃＝関節炎群との有意差（p<0.05）．†＝ジクロフェナク群との有意差（p<0.05）．‡＝ LIPUS 群との有意差（p<0.05）．

図 2　膝関節の圧痛閾値の変化
各群における膝関節の圧痛閾値の経時的な変化を示す．CON ＝対象群，AR ＝関節炎群，DIC ＝ジクロフェナク群，LIPUS ＝ LIPUS 群，PhP ＝フォノフォレーシス群．＊＝対象群との有意差(p<0.05)．＃＝関節炎群との有意差(p<0.05)．†＝ジクロフェナク群との有意差（p<0.05）．‡＝ LIPUS 群との有意差（p<0.05）．

7. 膝関節の炎症の組織学的評価

起炎剤投与後8日目に，深麻酔下で右膝関節を採取し，マクロファージのマーカーである CD68 に対する免疫組織化学的染色を実施し，滑膜における単位面積あたりの CD68 陽性細胞数を算出した。

8. 統計解析

膝関節の圧痛閾値については，一元配置分散分析を適用し，事後検定には Scheffe 法を採用した。CD68 陽性細胞数については Kruskal-Wallis 法を採用し，事後検定には Steel-Dwass 法を用いた。統計解析には SPSS を用い，有意水準は 5% とした。

結　　果

1. 膝関節の腫脹の変化（図 1）

起炎剤投与後 2 日目以降，ジクロフェナク群，LIPUS 群，フォノフォレーシス群はいずれも関節炎群より有意に低値を示した。また，起炎剤投与後 6 日目以降，フォノフォレーシス群は LIPUS 群よりも有意に低値を示し，7 日目には対照群との間に有意差を認めなかった。

2. 膝関節の圧痛閾値の変化（図 2）

起炎剤投与後 2 日目以降，ジクロフェナク群，LIPUS 群，フォノフォレーシス群はいずれも関節炎群より有意に高値を示した。また，フォノフォレーシス群は起炎剤投与後 2 日目以降，ジクロフェナク群や LIPUS 群よりも有意に高値を示し，7 日目には対照群との間に有意差を認めなくなった。なお，ジクロフェナク群と LIPUS 群の推移には実験期間を通して有意差を認めなかった。

3. 膝関節の滑膜の単位面積あたりの CD68 陽性細胞数（図 3）

関節炎を惹起した 4 群における単位面積あたりの

図 3　膝関節の滑膜の単位面積あたりの CD68 陽性細胞数
各群における起炎剤投与後 8 日目の膝関節の滑膜における単位面積あたりの CD68 陽性細胞数を示す．CON ＝対象群，AR ＝関節炎群，DIC ＝ジクロフェナク群，LIPUS ＝ LIPUS 群，PhP ＝フォノフォレーシス群．＊＝対象群との有意差(p<0.05)．＃＝関節炎群との有意差（p<0.05）．†＝ジクロフェナク群との有意差（p<0.05）．

CD68 陽性細胞は，対照群と比べて有意に高値を示した。次に，関節炎を惹起した 4 群をみると，ジクロフェナク群，LIPUS 群，フォノフォレーシス群はいずれも関節炎群と比べて有意に低値を示し，フォノフォレーシス群はジクロフェナク群と比べて有意に低値を示した。

考　　察

本研究では，ラット膝関節炎モデルの急性期に適用する超音波フォノフォレーシスが腫脹や痛みにおよぼす影響について検討した。

まず，NSAIDs および LIPUS の単独適用の効果についてみると，ジクロフェナク群と LIPUS 群の患部の腫

脹ならびに圧痛閾値は関節炎群のそれらと比べて有意に改善していた。また，滑膜の単位面積あたりの CD68 陽性細胞数について，ジクロフェナク群と LIPUS 群は関節炎群と比べて有意に減少していた。つまり，本研究の条件における NSAIDs および LIPUS の単独の適用は，ラット関節炎モデルの患部の腫脹と痛みの軽減に有用であったといえる。

周知のように，NSAIDs は，炎症性疼痛の発生機序の一端であるアラキドン酸カスケードにおけるシクロオキシゲナーゼ（COX）-2 の活性を阻害するとともに，マクロファージの集積を抑制することで抗炎症・鎮痛効果をもたらす。一方，LIPUS に関する先行研究を概観すると，ラット関節炎モデルの急性期に LIPUS を適用すると，組織では好中球のクリアランスが促進され，これによりマクロファージの浸潤が減少することが示されている[6)]。これらの知見に基づくと，ジクロフェナク群と LIPUS 群では，それぞれ NSAIDs と LIPUS を適用したことでマクロファージの集積抑制といった組織学的な炎症が軽減され，患部の腫脹や痛みが早期に改善したのではないかと推察される。

次に，超音波フォノフォレーシスの効果についてみると，フォノフォレーシス群の患部の腫脹および圧痛閾値はジクロフェナク群および LIPUS 群のそれらと比べて有意に改善していた。また，滑膜における単位面積あたりの CD68 陽性細胞数について，フォノフォレーシス群はジクロフェナク群と比べて有意に減少していた。つまり，これらの結果は，関節炎の急性期に NSAIDs を用いた超音波フォノフォレーシスを適用すると，NSAIDs や低強度パルス超音波を単独で適用するよりも患部の組織学的な炎症が早期に軽減し，腫脹や痛みの改善が促進される可能性を示唆しているといえる。超音波フォノフォレーシスについては，キャビテーションやマイクロストリーミングといった物理的特徴によって細胞膜の透過性亢進といった生物学的作用が得られ，その結果，薬剤の浸透性が高まると考えられている[4)]。つまり，フォノフォレーシス群ではジクロフェナク塗布後に LIPUS を照射したことで薬剤の浸透が促進されたことでマクロファージの集積抑制効果が高まり，その結果，それぞれを単独で適用するよりも患部の腫脹と痛みが早期に改善したのではないかと推察される。

ただ，本研究では，薬剤の経皮浸透が促進されたことで抗炎症・鎮痛効果が得られたことを裏づけるデータを得るには至っていない。一般に，NSAIDs は COX-2 の働きを阻害することでプロスタグランジン（prostaglandin: PG）E2 の合成を抑制し，抗炎症・鎮痛作用を発揮するとされている。つまり，滑膜における COX-2 や PGE2 の発現状況を検索することで NSAIDs の浸透性について推察することが可能であり，今後はこれらの点について検討を進める必要がある。

ま　と　め

本研究では，ラット膝関節炎モデルの急性期に適用する超音波フォノフォレーシスが腫脹や痛みにおよぼす影響について検討した。その結果，NSAIDs を用いた超音波フォノフォレーシスは NSAIDs および LIPUS を単独で適用するよりも患部の腫脹や痛みを早期に軽減することが示唆された。今後は，超音波フォノフォレーシスによる抗炎症・鎮痛効果の生物学的機序についても検討を進め，急性痛を発端とした運動器慢性疼痛の二次予防戦略としての有用性を示すエビデンスの構築につなげたい。

文　　献

1) da Costa BR, Reichenbach S, *et al.*: Effectiveness of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain in knee and hip osteoarthritis: a network meta-analysis. Lancet. 2017; 390: e21–e33.
2) Vlaeyen JW, Linton SJ: Fear-avoidance and its consequences in chronic musculoskeletal pain: a state of the art. Pain. 2000; 85: 317–332.
3) Yan JH, Kim TY, Lee JH, *et al.*: Anti-hyperalgesic and anti-inflammatory effects of ketorolac tromethamine gel using pulsed ultrasound in inflamed rats. Arch Pharm Res. 2008; 31: 511–517.
4) Zhao YZ, Du LN, *et al.*: Potential and problems in ultrasound-responsive drug delivery systems. Int J Nanomedicine. 2013; 8: 1621–1633.
5) Hsieh YL: Effects of ultrasound and diclofenac phonophoresis on inflammatory pain relief: suppression of inducible nitric oxide synthase in arthritic rats. Phys Ther. 2006; 86: 39–49.
6) Chung JI, Min BH, *et al.*: Effect of continuous-wave low-intensity ultrasound in inflammatory resolution of arthritis associated synovitis. Phys Ther. 2016; 96: 808–817.

発表実績

1) 佐々木遼，坂本淳哉，大賀智史，竹下いづみ，石川空美子，西本貴思，本田祐一郎，小泉徹児，沖田　実：ラット膝関節炎の急性期に対するジクロフェナクを用いた低強度パルス超音波フォノフォレーシス療法が腫脹や痛みにおよぼす影響．第 41 回日本疼痛学会（名古屋），2019 年 7 月 12 日～ 7 月 13 日．
2) Sasaki R, Sakamoto J, Kondo Y, Oga S, Takeshita I, Honda Y, Okita M: Therapeutic effect of low-intensity pulsed ultrasound phonophoresis with diclofenac in the acute phase of carrageenan-induced arthritis in rats. 11th Congress of the European Pain Federation (Valencia, Spain), September, 4-7, 2019.
3) 佐々木遼，坂本淳哉，大賀智史，竹下いづみ，沖田　実：ジクロフェナクを用いた低強度パルス超音波フォノフォレーシス療法がラット膝関節炎の急性期の腫脹や痛みにおよぼす影響．第 24 回日本ペインリハビリテーション学会学術大会（名古屋），2019 年 9 月 21 日～ 9 月 22 日，全国的な学会．
4) 佐々木遼，坂本淳哉，大賀智史，竹下いづみ，本田祐一郎，小泉徹児，沖田　実：超音波フォノフォレーシスがラット膝関節炎モデルの腫脹や痛みにおよぼす影響．第 27 回日本物療法学会学術大会（東京），2019 年 10 月 19 日～ 10 月 20 日．