

1995年度研究助成論文

外傷による炎症性浮腫に対する 中周波通電の効果*

平野幸伸¹⁾ 浅井友詞²⁾ 中川 誠³⁾
長谷川祐一⁴⁾ 高木健次⁵⁾ 鈴木重行⁵⁾

要旨

本研究の目的は急性期外傷による炎症性浮腫モデルラットを作成し、この患部に対する中周波通電の効果を検討することである。モデルラットは右足背部にイギリス製ポリプロピレンを置き、23cmの高さから110gの金属球を自由落下させ作成した。

対象は無通電のコントロール群10例、通電群40例とした。通電は周波数の違う市販の中周波刺激装置4機種(A: 11kHz, B: 4kHz, C: 4kHz, D: 5kHz)を用い、受傷後5分から20分の15分間とした。効果の判定は足部体積変化量とエバンスブルー相対量を指標とした。結果、足部体積変化量はAがコントロール群に比べ有意に低かったが、その他は有意差がなかった。エバンスブルー相対量はA, B, Dがコントロール群に比べ有意に低値であった。したがって、中周波通電は周波数4および5kHzに比べ11kHzが外傷性浮腫に対して抑制的に作用することが示唆された。

キーワード ラット, 外傷による炎症性浮腫, 中周波通電

はじめに

近年、急性期の理学療法は中枢神経系疾患を中

心に重要な治療手段の1つとして急速に発展してきている。外傷性疾患における急性期の治療手段は外科的治療や薬物的治療が主体であるが、理学療法では電気治療が比較的早期から行なわれる治療法の1つとして挙げられる。

電気治療の中でも中周波通電は外傷性疾患に対してヨーロッパを中心に広く普及し、日本でも干渉波治療として応用されているが、外傷による炎症性浮腫に対する中周波通電単独での効果の報告はみられない。そこでわれわれは、ラットの外傷による炎症性浮腫モデルを作成し、市販の中周波治療器を用いて、中周波領域の周波数の違いによる急性期外傷による炎症性浮腫への影響について足部体積変化量とエバンスブルーの相対量を指標として比較検討を行なった。

* Effects of Middle Frequency Current Flow on Edema Formation Following Impact Injury

- 1) 愛知県立尾張病院 リハビリテーション科
(〒491 愛知県一宮市大和町荊安賀 2135)
Yukinobu Hirano, RPT: Department of Rehabilitation, Aichi Prefectural Owari Hospital
- 2) 名古屋市立大学病院
Yuuji Asai, RPT: Department of Central Rehabilitation Service, Nagoya City University Medical School Hospital
- 3) 国立名古屋病院
Makoto Nakagawa, RPT: Department of Rehabilitation, National Hospital of Nagoya
- 4) 上林記念病院
Yuichi Hasegawa, RPT: Department of Rehabilitation, Kamibayashi Memorial Hospital
- 5) 名古屋大学医療技術短期大学部
Kenji Takagi, RPT, Shigeyuki Suzuki, RPT: Nagoya University College of Medical Technology

予備実験

1. 外傷による炎症性浮腫モデルの作成

外傷による炎症性浮腫モデルは Mendel ら¹⁾の方法を参考として作成した。エーテル麻酔による瞬目反射消失を確認後、実験者はラットの足底部が台上に全面的に接触するよう体幹と下肢を固定した。外傷は皮膚損傷の防止と外力の緩衝を目的にプラスチック板 (2×2×0.5cm) で挟んだ足部 (後肢足背中央部) に 23cm の高さから、

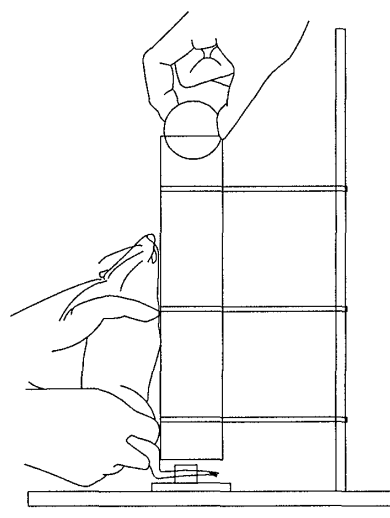


図1 外傷性浮腫モデルの作成

図は Mendel らの方法を参考とした外傷性浮腫モデルの作成場面である。実験者はエーテル麻酔による瞬目反射消失後、ラットを固定し右足部をプラスチック板で挟んだ状態に置いた。外傷は高さ 23cm から 110g の金属球を筒内で自由落下させ引き起こした。

固定した筒内で金属球 (直径 3.0 cm, 重量 110 g) を自由落下させ引き起こした (図 1)。

外傷による炎症性浮腫の程度は足部体積変化量 (外傷後足部体積—外傷前足部体積: ml/kg) により判定した。足部体積はラットの後肢踵毛の生え際を目印にこれより遠位を鈴木ら²⁾³⁾が作成した水銀マンオメータ方式の足部体積測定装置を用い、外傷前と外傷後 60 分まで 10 分毎に各 3 回計測した。それぞれの平均値を算出し、さらに体重 (kg) で除して補正した。

2. プラスチック素材の検討

外傷による炎症性浮腫の程度は、皮膚損傷防止のために用いたプラスチック板の素材により異なることが予測されたので、プラスチック板の素材の検討を行った。あらかじめ 7 匹のラットを用いて 12 種類のプラスチック板に対して行ったスクリーニング (表 1) の結果、足部体積変化量の高かった素材 α (イギリス製ポリプロピレン), β (日本製ポリプロピレン) を選出し、各々 4 匹のラットを用いて足部体積変化量と外傷による皮下出血の有無を指標に検討した。

3. 対象と方法

実験動物は 8 週齢、平均体重 262 ± 3.8 g の Sprague-Dawley 系雄ラット 15 匹を用いた。

足部体積変化量推移は素材 α , β ともに外傷側

表 1 プラスチック板の素材スクリーニング

素 材	足部体積変化量(ml/kg)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 (α)	12 (β)	なし
受 傷 前	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
受傷10分後	0.19	0.19	0.4	0.12	0.44	0.2	0.36	0.25	0.4	0.37	0.8	0.51	1.04
受傷20分後	0.43	0.08	0.2	0.08	0.52	0.24	0.32	0.18	0.51	0.2	1	0.58	1.25
受傷30分後	0.27	0.19	0.12	-0.12	0.32	0.12	0.18	0	0.26	0.37	0.8	0.58	1.04
受傷40分後	0.31	0.27	-0.04	-0.04	0.2	0.04	0	-0.14	0.33	0.2	0.77	0.51	1.04
受傷50分後	0.12	-0.04	-0.24	-0.2	0.32	0.04	0	-0.14	0.15	0	0.57	0.4	0.96
受傷60分後	0.27	0	-0.12	-0.2	0.12	0.04	0	-0.18	0.07	0	0.5	0.15	0.71

表はプラスチック板なしおよび12種類のプラスチック素材を用いて行った足部体積変化量のスクリーニングの結果を示す (n=13)。12種類すべてにおいてプラスチック板なしに比べ低い値を示した。このうち、素材 α と素材 β が足部体積変化量が大きかった。

と非外傷側の経時的变化を比較し、二元配置分散分析法を用い検定し、5%以下を有意な差とした。また、皮下出血の観察は外傷後60分にホルマリン灌流固定を行い、足背部をメスで切開した後、皮下および周辺組織への出血の有無を肉眼的に行った。

4. 結果

外傷による足部体積変化量は素材 α 、 β ともに外傷側は非外傷側に比べ明らかに高く、有意な差が認められた ($p < 0.01$)。ピーク値は素材 β に比べ素材 α の方が高い値を示した (表2)。また、非外傷側では素材 α で外傷による影響がなかった。

肉眼的観察において浮腫部位は両者ともに皮下出血はなかった。

以上より、本実験の外傷による炎症性浮腫モデルの作成に適した緩衝板の素材は α であると判断した。

次に予備実験をもとに、本実験として中周波通電効果の比較を行なった。

中周波通電効果の比較

1. 対象と方法

実験動物は8週齢、体重 258 ± 1.8 g の

Sprague-Dawley 系雄ラット 50 匹を用いた。

コントロール群 ($n = 10$)、中周波通電群 ($n = 40$) とともにイギリス製ポリプロピレンをプラスチック板として用い、予備実験の方法で外傷による炎症性浮腫モデルを作成した。

中周波通電は、市販の4機種 (A社製、B社製、

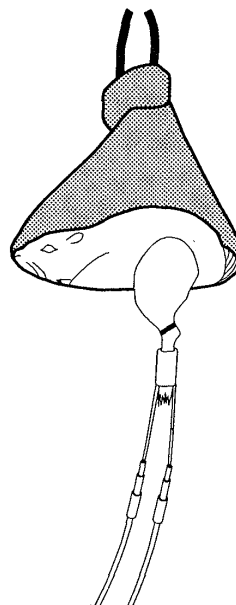


図2 外傷性浮腫モデルに対する中周波通電

図は外傷性浮腫モデルに対する市販の4機種を用いた中周波通電の電極装着場面である。電極は 10×15 mm の導子を2極用いた。導子は専用ゲルを塗布し外傷部を内外側から挟み込むようにベルクロで固定した。通電波形は正弦波を用い、通電時間は外傷後5分から20分までの15分間とした。

表2 プラスチック板素材の違いによる足部変化量の比較

	足部体積変化量 (m ℓ /kg)			
	素材 α	素材 β	素材 α の対側	素材 β の対側
受傷前	0	0	0	0
受傷10分後	0.34 ± 0.104	0.333 ± 0.074	-0.03 ± 0.029	-0.35 ± 0.098
受傷20分後	0.418 ± 0.218	0.391 ± 0.067	-0.02 ± 0.085	-0.27 ± 0.057
受傷30分後	0.628 ± 0.132	0.511 ± 0.013	0.002 ± 0.078	-0.27 ± 0.083
受傷40分後	0.531 ± 0.163	0.472 ± 0.086	0.021 ± 0.081	-0.11 ± 0.088
受傷50分後	0.472 ± 0.165	0.601 ± 0.101	0.059 ± 0.089	-0.13 ± 0.098
受傷60分後	0.289 ± 0.165	0.334 ± 0.026	-0.1 ± 0.078	-0.21 ± 0.066

表は素材 α ($n=4$)、 β ($n=4$) の外傷側と非外傷側の足部体積変化量の経時的变化を示す (平均値 \pm SE)。素材 α 、 β ともに非外傷側に比べ外傷側は有意に高い変化を認めた ($*p < 0.01$)。

C社製, D社製) を用い, 周波数はそれぞれ 11 kHz, 4 kHz, 4 kHz, 5 kHz であった (各 $n=10$)。電極は 10×15 mm の導子を 2 極使用し, 専用ゲルを塗布した後, 右後肢外傷による炎症性浮腫部位を内外側から挟み込むようにベルクロで固定し貼り付けた (図 2)。通電電流は導子と機器の間にテスターを介し, 3 mA の一定値とした。通電は正弦波で外傷後 5 分から 20 分までの 15 分間持続的に行った。

通電効果の比較は足部体積変化量とエバンスブルー相対量の測定により行った。

足部体積の測定は外傷前, 外傷後 20 分および 30 分にそれぞれ行い, 予備実験と同様な方法で足部体積変化量を算出した。

エバンスブルーの投与⁴⁾は灌流固定開始 24 時間以上前に 20 mg/kg の濃度で尾静脈から一回のみ行った。組織の固定は受傷 30 分後に生食で血液を排出した後, 10% に希釈したホルマリン溶液の全身灌流により行った。灌流固定後, 足部内果から 5 mm 近位で下肢を切断し, 切断した足部は断面を入れた後, ホルムアミドに 72 時間浸した。ホルムアミドは 50°C の温度に保ち, 切断した足部が充分浸かるように外傷前足部体積の 3 倍量とした。エバンスブルー絶対量は, ホルムアミド溶液をフィルターで濾過した後, 比色計で濃度を測定し吸光度から算出した。エバンスブルー相対量はエバンスブルー絶対量を体重 (kg) で除した値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) とした。

2. 検定方法

コントロール群と通電群の足部体積変化量の経時的变化の比較は二元配置分散分析法を用いて検定し, 5% 以下を有意な差とした。エバンスブルー相対量の群間比較は Mann-Whitney U テストを用いて検定し, 5% 以下を有意な差とした。

3. 結果

コントロール群における足部体積変化量 (ml/kg) は, 外傷前に比べ外傷後 20 分が 4.81 ± 0.65 , 30 分が 3.56 ± 0.64 の増加を示した。

足部体積変化量はコントロール群に比べ A 社製が有意に低く ($p < 0.05$), 抑制率は外傷後 20 分で 55.8%, 30 分で 70.9% であった。これに対し B 社製, C 社製, D 社製はコントロール群と比べ有意な差はなかったものの B および D 社製ではコントロール群より低い傾向, C 社製は高い傾向を示した (図 3)。

エバンスブルー相対量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) はコントロール群が 1661.8 ± 94.8 , A 社製が 1097.7 ± 118.4 ,

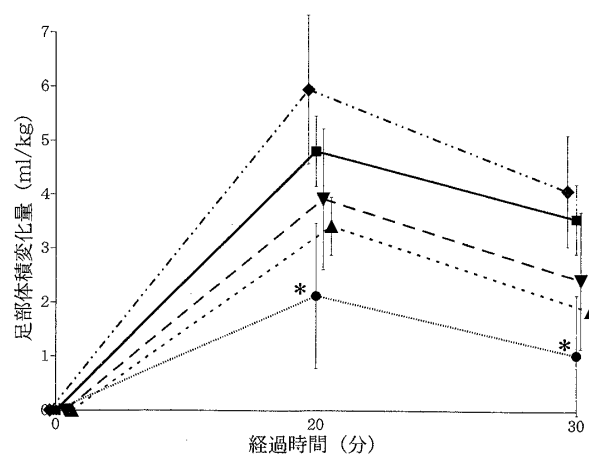


図 3 中周波通電による足部体積変化量の比較 (外傷側)

グラフはコントロール群と A~D 社製群の外傷側足部体積変化量の経時的变化を示す。実線■はコントロール群 ($n=10$), 点線●は A ($n=10$), 点線▲は B ($n=10$), 2点波線◆は C ($n=10$), 波線▼は D 社製 ($n=10$) を示す (平均値 \pm SE)。A 社製はコントロール群と比べ有意な低下が認められた (* $p < 0.05$)。B, C, D 社製は有意さがなかったものの B および D 社製はコントロール群に比べ低い傾向を示したが, C 社製は高い傾向を示した。

表 3 エバンスブルー相対量の比較 (外傷側)

	エバンスブルー相対量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
コントロール	1661.8 \pm 94.8
A 社*	1097.7 \pm 118.4
B 社**	1324.1 \pm 119.2
C 社	1491.0 \pm 101.7
D 社**	1325.5 \pm 150.0

表はコントロール群に対する A~D 社製の外傷側エバンスブルー相対量の比較を表す (各 $n=10$, 平均値 \pm SE)。コントロール群に比べ A 社製は明らかに有意に低い値を示し (* $p < 0.01$), B および D 社製ともに有意に低い値を示した (** $p < 0.05$)。しかし, C 社製は有意な差が認められなかった。

B社製が 1324.1 ± 119.2 , C社製が 1491.0 ± 101.7 , D社製が 1325.5 ± 150.0 であった。エバンスブルー相対量の群間比較ではコントロール群に比べA社製は明らかに有意な差が認められ ($p < 0.01$), BおよびD社製にも有意な差が認められた ($p < 0.05$)。しかしC社製は有意な差が認められなかった(表3)。

4. 考察

中周波帯域はアメリカでは $1001 \sim 10 \text{ kHz}$ ⁵⁾, ヨーロッパでは $1 \text{ k} \sim 100 \text{ kHz}$ ⁶⁾ と定義されているが, 日本での定義は明確ではなく, 高周波が 15 kHz 以上とされているためわれわれは 11 kHz 以下を中周波として取り扱った。

外傷による炎症性浮腫モデルの作成は Suckert ら⁷⁾ が提唱したとされ, Mendel らや Bettany ら⁸⁾ によりラットや牛ガエルを使用し追試されている。われわれは前実験で Cosgrove ら⁹⁾ の方法を参考とし直接ラット足背部に外力を加えたモデルを作成したが, 肉眼的に皮下出血の可能性があったため, 今回, プラスチック板を使用した Mendel らの方法を採用した。

一般に外傷等による刺激を受けた局所は, まず微少循環系の拡張と充血が起こり, 次いで血管の透過性亢進が起こるとされている¹⁰⁾。血管透過性亢進は基本的に即時相と遅延相の2相性を示す。刺激直後から現れる即時相は, 間接作用としてヒスタミンやその類似物質をメディエーターとした反応と, 刺激の直接作用による血管壁の破壊の場合とが考えられている。血管透過性亢進は早期から大量の血漿蛋白が, 主として細静脈から血管外へ透過することを特徴とし炎症性浮腫を引き起こす。われわれが作成した外傷による炎症性浮腫は肉眼的に出血がみられないことから血管壁の破壊はないか, あっても非常に微細であると推察され, 間接作用が主体となり引き起こされる血管透過性亢進によるものと考えられた。

血管透過性の定量にはエバンスブルーなどの色素を用いる方法や, ^{125}I -アルブミンの透過を測定する方法が用いられている¹¹⁾。エバンスブルーは

アルブミンと結合するため, 血管の透過性亢進の指標として量的な血漿蛋白の漏出の測定に広く使用されている。今回の結果からエバンスブルー相対量の増大は周波数が 4 kHz , 5 kHz に比べ 11 kHz の方が抑制されており, 血管の透過性亢進の抑制が大きいと考えられた。実験において中周波は外傷後5分から通電しており, 血管透過性亢進の即時相への通電と考えられる。従って中周波通電はヒスタミンおよびその類似物質であるメディエーターの間接作用を抑制していると考えられるが, 詳細は不明である。

今回われわれは, まずラットの外傷による炎症性浮腫モデルを作成するため, 予備実験として外傷による炎症性浮腫を引き起こす外力に対するプラスチック板の素材を検討した。その結果, プラスチック板はイギリス製ポリプロピレンが適材であった。このモデルを基にわれわれは中周波通電の外傷による炎症性浮腫に対する効果を市販の4機種を用い, 足部体積変化量とエバンスブルー相対量を指標に比較, 検討した。結果として, 中周波通電は 4 kHz , 5 kHz に比べ 11 kHz の周波数の方が血管透過性亢進の抑制が強く, 外傷による炎症性浮腫の抑制に対して効果があることが示唆された。今後, $0 \sim 4 \text{ kHz}$, および $5 \sim 11 \text{ kHz}$ の周波数で外傷による炎症性浮腫に対する効果を検討していく必要があると考える。

文 献

- 1) Frank CM, Juli AW, *et al.*: Influence of high voltage pulsed current on edema formation following impact injury in rats. *Phys Ther* 72 (9): 668-673, 1992.
- 2) 鈴木重行・他: 水銀マンメータ方式によるアジュバントラットにおける足浮腫の測定. *環研年報* 42: 137-139, 1991.
- 3) Suzuki S, Iseki T, *et al.*: Influence of noxious joint movements on foot edema in arthritic rats. *Environ Med* 36: 99-102, 1992.
- 4) Alois S, Jan ML: Evans blue fluorescence: quantitative and morphological evaluation of vascular permeability in animal tissues. *J Neurosci Methods* 8: 41-49, 1983.
- 5) 物理療法研究会: 物理療法セミナー '93 「電気刺激療法」. 物理療法研究会. 1993. IF-1-45.

- 6) Gillert O, Rulffs W, *et al.*: ELEKTRO therapie. Pflaum Verlag Munchen, 1995, pp 60-83.
- 7) Suckert R: Experimental models for traumatic oedema in rat paws. *Med Pharmacol Exp* 17: 43-50, 1967.
- 8) Josette AB, Dale RF: Influence of high voltage pulsed direct current on edema formation following impact injury. *Phys Ther* 70(4): 13-18, 1990.
- 9) Kimberly AC, Gad A, *et al.*: The electrical effect of two commonly used clinical stimulators on traumatic edema in rats. *Phys Ther* 72(3): 70-76, 1992.
- 10) 鳥飼勝行, 塩谷伸幸: 創傷治癒過程—初期過程(炎症期)を中心として—. *整・災外* 29: 367-374, 1986.
- 11) 神原 武: 炎症性血管反応機構, 炎症と感染. 「現代病理学大系 5」飯島宗一(編), 中山書店, 1995, pp 79-94.

〈Abstract〉

Effects of Middle Frequency Current Flow on Edema Formation Following Impact Injury

Yukinobu HIRANO, RPT

Department of Rehabilitation, Aichi Prefectural Owari Hospital

Yuuji ASAI, RPT

Department of Central Rehabilitation Service, Nagoya City University Medical School Hospital

Makoto NAKAGAWA, RPT

Department of Rehabilitation, National Hospital of Nagoya

Yuichi HASEGAWA, RPT

Department of Rehabilitation, Kamibayasi Memorial Hospital

Kenji TAKAGI, RPT, Shigeyuki, SUZUKI, RPT

Nagoya University College of Medical Technology

The purpose of this study was to investigate the effect of the middle frequency current flow on acute edema formation in rats. The edema was produced by dropping a metal ball on the hind paw of rats after sandwiching the paw in English polypropylene. The rats were divided into a control group (n=10) and four electrical stimulation (ES) groups (n=40) of different frequency (A; 11 kHz, B; 4 kHz, C; 4 kHz, D; 5 kHz). Electrical stimulation for 15 min started 5 min after injury was administered to the ES groups. The foot volume of all groups were measured prior to injury and at 20, 30 min post injury. The relative quantity of Evans blue was measured to all rats 30 min after injury. It was found that foot volume changes of the A group and relative quantity of Evans blue of A ($p < 0.01$), B and D ($p < 0.05$), were significantly decreased. The results of this study demonstrated that the middle frequency current flow of 11 kHz curbed edema formation more than that of 4 and 5 kHz.

〈講評〉

本研究では、中周波 11 KHz が、コントロール群並びに 4 KHz、5 KHz の中周波に比べ外傷による炎症性浮腫抑制という点で有意に効果的であることを確認出

来た。今後の課題として中周波による炎症抑制機序を生化学的並びに組織学的レベルで検討すると共に中周波における周波数の大小と炎症抑制効果との関係をより詳細に検討されることを期待したい。(研究開発部)