

局所振動暴露の筋原性酵素に及ぼす影響

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 奥田, 肇 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7726

局所振動暴露の筋原性酵素に及ぼす影響

金沢大学医学部公衆衛生学教室 (主任: 岡田 晃教授)

奥 田 肇

(昭和59年3月17日受付)

振動障害における筋肉系の影響および障害発生機序に関する基礎的知見を得る目的で、実験的研究を行った。本研究では急性および慢性にラットの後脚に種々の振動数の局所振動を暴露した。振動加速度は一定 (50 m/sec^2) とし振動数を 30, 60, 120, 240, 480, および 960 Hz と変化させた振動を、急性暴露実験では 4 時間、慢性暴露実験では 1 日 4 時間の振動を 2 週間連続暴露した。振動暴露後、筋細胞に比較的多量に含有され筋原性酵素ともいわれる血漿 creatine phosphokinase (CPK), aldolase, lactate dehydrogenase (LDH) 活性値および他の血漿諸成分を測定した。その結果、血漿 CPK 活性値は急性暴露群、慢性暴露群ともに対照群に比し、振動数 30 Hz から 480 Hz に有意な高値を示し、その上昇程度は特に 30 Hz で顕著であった。しかし 960 Hz では有意な変化は認められなかった。急性暴露においては振動数の増加とともに血漿 CPK 活性値は順次減少していく傾向を認めたが、慢性暴露ではこのような傾向は認められなかった。血漿 CPK isoenzyme の分析により、血漿 CPK 活性値の上昇は、骨格筋に由来する CPK-MM 分画活性が主なる上昇成分であることが判明した。また血漿 aldolase, LDH 活性値および他の血漿成分には振動による明らかな影響は認められなかった。さらに慢性暴露群について、振動数 30 Hz, 60 Hz, 240 Hz の暴露群および対照群のラットの後脚のヘマトキシリン-エオジン染色による組織標本を作製、観察したが、組織学的に両者の間に何ら差異は認められなかった。以上により急性および慢性暴露で認められた血漿 CPK 活性値の上昇は、筋の形態学的変化によるというより膜の透過性亢進などの別の機序に基づくものと推定され、またその活性値の上昇の程度には変位振幅が関与していることが示唆された。

Key words Local vibration, Frequency, Creatine phosphokinase, Aldolase, Lactate dehydrogenase

チェンソー、削岩機、タイタンパーなどの振動工具使用者にみられる振動障害は 1911 年イタリアの Loriga¹⁾によって始めて報告され、わが国においても昭和の初期よりその報告²⁾があり昭和 40 年代にはいって、いわゆる「白ろう病³⁾」として社会関心がもたれ、この種の研究が活発に展開されるようになった。

振動障害は振動工具使用の際、その手腕系に伝達される振動によって惹起されるものである。その症状はレイノー現象に代表される末梢循環障害や末梢神経障害などを主徴としたものであり、筋、骨、関節系の障害についても種々の報告がある⁴⁻⁷⁾が、それが振動そのものに基づく特有のものなのか、あるいは作業態様による他の原因によるものであるかについては論議のあ

るところでもあり、振動障害に関する研究上の重要な課題として注目を浴びている。

一方、力学量としての振動に関して、振動強度と振動数が問題となるが、振動工具の振動は種々の振動数から構成されていることより、その幅広い振動数のどの振動数の影響が顕著であるかの、それを明らかにすることも振動障害の発生機序の解明およびその対策上甚だ重要といえる。

運動器系の障害のなかで筋力低下、筋萎縮などの筋肉系症状に焦点をあててみると、これまでの研究では疫学的報告⁸⁾⁹⁾、すなわち振動工具の使用時間と関連ある自覚症状、あるいは臨床所見とを対応させて検討したものを中心としており、実験的な研究は皆無である。振動に

The Influence of Local Vibration Exposure on Plasma Sarcoplasmic Enzymes. Hajime Okuda, Department of Public Health (Director: Prof. A. Okada), School of Medicine, Kanazawa University.

よるこの筋肉系への影響を実験的に観察するために本研究では筋原性酵素に着目した。すなわち本研究では局所振動暴露による筋肉系への障害発生機序に関する基礎的知見を得ることを目的として動物実験により、種々の振動数の局所振動を急性あるいは慢性にラットの後脚に暴露して、比較的筋肉中ことに sarcoplasm に高濃度に存在し、筋特異性が強いとされ、筋原性酵素ともいわれる血漿 creatine phosphokinase (以下 CPK と略記)、aldolase (以下 ALD と略記)、lactate dehydrogenase (以下 LDH と略記) を中心として glutamic oxaloacetic transaminase (以下 GOT と略記)、glutamic pyruvic transaminase (以下 GPT と略記) 活性なども測定し、さらに種々の血漿化学成分のうち振動をはじめとした、物理的環境刺激によって影響をうけ得ると思われる成分のいくつかの測定も合わせて行った。各種振動負荷によるこれら血漿酵素および血漿化学成分への影響さらにその程度を比較検討することによってそれら血漿成分の動態から振動暴露による生体への影響およびその程度を追究することを目的としたが、このほか振動暴露したラット後脚の病理組織標本も作製して観察した。

以下その結果について報告する。

材料および方法

1. 材 料

実験動物には急性振動暴露実験として、Wistar 系雄性ラット (体重 246–299 g) 30 匹を用い、対照群としては、同系雄性ラット (体重 252–302 g) 5 匹を用いた。また慢性振動暴露実験として同系雄性ラット (体重 263–312 g) 30 匹を用い、その対照群として同系雄性ラット (体重 282–325 g) 5 匹を用いた。また実験に供したラットは日内リズム調節のため、人工照明可能な動物飼育室で、約 2 週間の調節期間を設定し飼育した。室温は $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ と一定に保ち、ラットには振動暴露直前までオリエンタル MF 固型飼料および水を自由に摂取させた。また各振動条件につき、原則として 5 匹ずつを一群として実験に供した。

2. 方 法

1) 振動暴露方法

電動型加振機 (EMIC 513-A, 新日本測器社製, 加振力 7.5 kg, 使用振動周波数範囲 5–5000 Hz), 増幅器 (TACHIKAWA, TA-100), オシレーター (TORIO, AG202A), 振動計 (EMIC 505-D, 新日本測器社製) より構成された加振装置を使用し、振動台を加振機の振動板上に固定し、振動レベル測定用の加速度型ピックアップ (EMIC 541-A, 新日本測器社製) を取り付け、加振中の振動台の振動レベルを監視した。振動暴露に

際しては、ラット固定用の特殊ケージを作製し、ラットの後脚のみを特殊ケージ外へ出すことを可能にし、またラット後脚部の足底部のみを水平に振動板上に固定し、負荷する振動がラット後脚部のみに伝播されるよう配慮した。暴露した振動は振動数 30 Hz, 60 Hz, 120 Hz, 240 Hz, 480 Hz および 960 Hz の正弦波垂直振動で、加速度は一定の 50 m/sec^2 とし、ラット足底部に垂直に振動を負荷した。振動暴露時間は急性振動暴露実験では 4 時間、慢性振動実験では 1 日 4 時間、連続 2 週間、合計 56 時間とした。

また加振機の駆動の際に騒音が発生するので、対照群はラット固定用特殊ケージ内に入れ振動暴露群と同様な処置を施し、振動板上に足底部のみを固定し、加振機のすぐそばに設置し、加振機駆動の際の騒音のみに暴露したものとした。

なお実験室内の温度は $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ であった。

2) 採血方法

急性振動暴露群のラットは振動負荷直後に、また慢性振動暴露群のラットは振動負荷終了 24 時間後に、それぞれ体重 1 kg につき 0.8 ml 量のネプタールをラットの腹腔に注射し、麻酔下で腹部大動脈を露出し、腹部大動脈より抗凝固剤としてヘパリンを coating した注射筒にて約 6 ml を採血し、 4°C 、2500 rpm、10 分間遠心し約 2.5 ml の血漿を得た。対照群のラットも、急性暴露群および慢性暴露群と同様に処理し血漿を得た。

3) 各血漿成分の測定

血漿 CPK 活性は Worthington 社製 CPK 測定用キットを使用して、血漿総 CPK (total creatine phosphokinase, 以下 t-CPK と略記) 活性、およびそのアイソエンザイムである血漿 CPK-MM 分画 (CPK-muscle muscle 分画, 以下 CPK-MM 分画と略記) 活性を Takahashi ら¹⁰⁾のイオン交換カラム法に基づいて、血漿 ALD 活性測定は Boehringer-Mannheim 社製 ALD 測定用キットを使用して Beisenherz ら¹¹⁾の測定原理に基づいて測定し、また血漿 LDH 活性は和光社製 LDH 測定用キットにて Wróblewski と Ladue¹²⁾の方法に基づいて島津 UV202 型分光光度計にて測定した。この際の測定温度は 37°C 、測定波長は 340 nm と一定にした。なおこれらの酵素活性は採血後 12 時間以内に測定した。

血漿 GOT、GPT 活性は UV rate assay 法¹³⁾、血漿 alkaline phosphatase (以下 ALP と略記) 活性は Kind-King 法¹⁴⁾、総タンパク (以下 TP と略記) 値は Biuret 法¹⁵⁾、総コレステロール (以下 TCH と略記) 値は酵素法¹⁶⁾、中性脂肪 (以下 TG と略記) 値は lipoprotein lipase を用いた全酵素的中性脂肪測定法に基

づいて、採血後 48 時間以内に日立 716 型自動分析器で測定した。

4) ラット後脚部の組織標本の作製

慢性振動暴露群のうち、振動数 30 Hz, 60 Hz, 240 Hz の群および対照群のラットの後脚を採血後、リリーの緩衝ホルマリン液にて固定し所定の手順に従って母趾部、足底部および腫部につきヘマトキシリン-エオジン（以下 H-E と略記）染色を施して組織標本作製し、主に筋肉に関する病理組織学的検査を行った。平均値の差の検定にはすべて、対応のない student の t-test を用いた。

成 績

1. 急性局所振動暴露

図 1 に、急性振動暴露時の血漿 t-CPK 活性値を各振動数ごとに平均値±標準偏差にて示した。振動数 30 Hz の振動暴露群では t-CPK 活性値は 482.4 ± 62.4

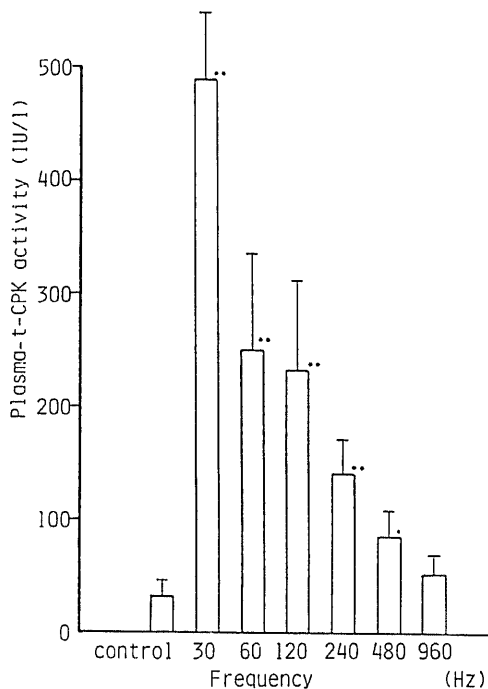


Fig. 1. Effects of different vibration frequencies on total plasma creatine phosphokinase (t-CPK) activity. The hind limbs of rats were exposed for 4 hours to the vibration of different frequencies under the constant acceleration of 50 m/sec². Each group represents a mean±SD of 5 rats. Statistical significance of differences of mean between control and local vibration exposed groups were tested by students t-test (abbreviated to t-test). Values of statistical significances are; *, $p < 0.01$; **, $p < 0.001$.

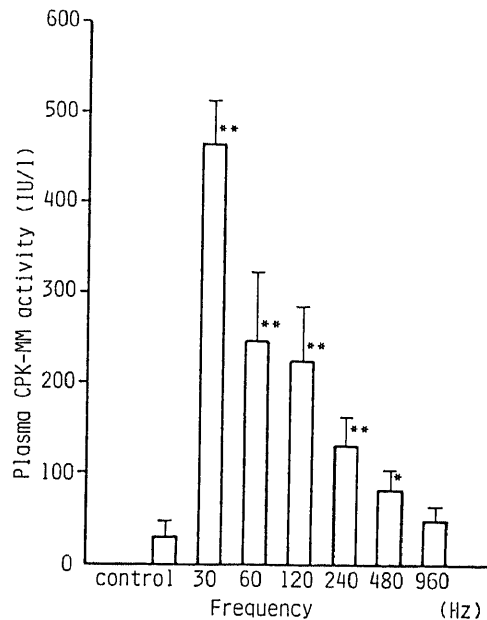


Fig. 2. Effects of different vibration frequencies on plasma CPK-muscle muscle (CPK-MM) fraction activity. The conditions of vibration are the same as those shown in Fig. 1. Each group represents a mean±SD of 5 rats. Values of statistical significances are; *, $p < 0.01$; **, $p < 0.001$; (t-test).

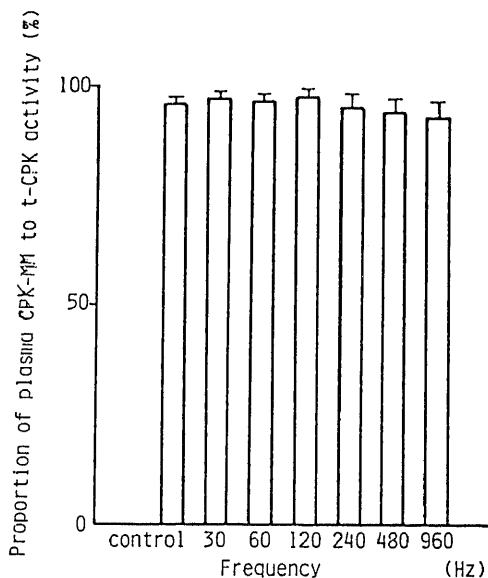


Fig. 3. Effects of different vibration frequencies on the activity proportion of CPK-MM fraction to t-CPK in plasma. The conditions of vibration are the same as those shown in Fig. 1. Each group represents a mean±SD of 5 rats.

IU/l, 60 Hz では 249.0 ± 82.5 IU/l, 120 Hz では 232.4 ± 53.8 IU/l, 240 Hz では 141.9 ± 28.9 IU/l であり対照群の 33.1 ± 14.2 IU/l に比し危険率 0.1% 以下で有意な高値を認めた。また振動数 480 Hz の暴露群では 86.9 ± 22.4 IU/l であり対照群に比し危険率 1% 以下で高値を示していた。960 Hz の振動暴露群においてはその活性値は 51.2 ± 16.4 IU/l で対照群との間に統計的な差異は認められなかった。

図 2 には、血漿 CPK-MM 分画活性値の局所振動暴露群と対照群の平均値±標準偏差を示した。振動数 30 Hz の暴露群でのその活性値は 467.7 ± 50.2 IU/l, 60 Hz では 243.1 ± 81.2 IU/l, 120 Hz では 228.5 ± 53.9

IU/l, 240 Hz では 136.4 ± 29.3 IU/l であり対照群の 31.6 ± 13.6 IU/l に比しそれぞれ危険率 0.1% 以下で有意な高値を示し、また振動数 480 Hz の暴露群では 82.0 ± 19.4 IU/l と対照群に比し危険率 1% 以下で有意な高値を示していたが、振動数 960 Hz の暴露群では対照群に比し有意差は認められなかった。

図 3 には、血漿 CPK-MM 分画活性値の t-CPK 活性値に占める比率 (%) を各暴露振動数ごとに示したが、いずれの振動数においても対照群との間に有意な差異は認められなかった。

図 4, 図 5 に血漿 ALD および LDH 活性値を各振動数ごとに平均値±標準偏差で示した。いずれの振動

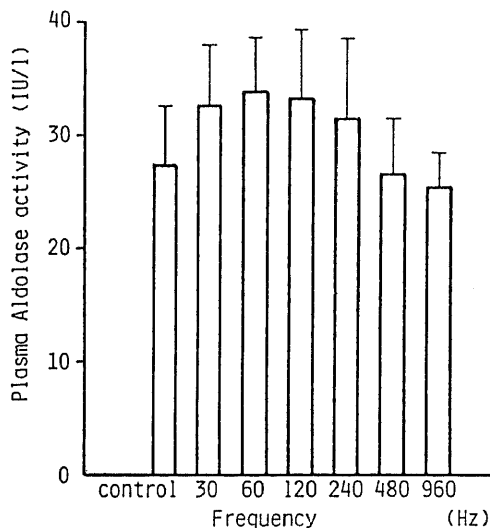


Fig. 4. Effects of different vibration frequencies on plasma aldolase activity. The conditions of vibration are the same as those shown in Fig. 1. Each group represents a mean±SD of 5 rats.

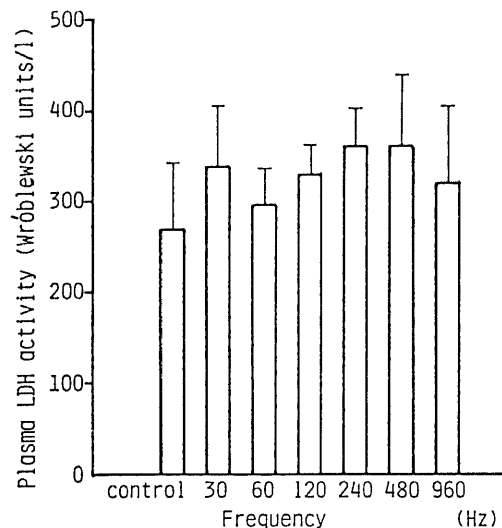


Fig. 5. Effects of different vibration frequencies on plasma LDH activity. The conditions of vibration are the same as those shown in Fig. 1. Each group represents a mean±SD of 5 rats.

Table 1. Effects of different vibration frequencies on plasma ingredients

	Control	30Hz	60Hz	120Hz	240Hz	480Hz	960Hz
GOT (Karmen unit/l)	64.6 ± 9.91	70.4 ± 12.05	64.2 ± 7.63	70.8 ± 7.66	$83.6 \pm 10.40^*$	80.0 ± 15.47	78.2 ± 15.33
GPT (Karmen unit/l)	23.2 ± 2.95	30.8 ± 7.46	24.4 ± 3.29	26.2 ± 2.28	27.0 ± 5.87	27.0 ± 4.58	24.0 ± 4.06
ALP (King-Armstrong unit/l)	25.3 ± 8.59	32.0 ± 7.54	24.9 ± 7.24	34.8 ± 9.05	25.7 ± 7.29	29.1 ± 8.55	27.6 ± 10.01
TCH (mg/dl)	42.0 ± 5.83	53.6 ± 9.61	43.8 ± 4.09	47.6 ± 9.05	49.2 ± 7.87	49.0 ± 8.00	47.0 ± 8.51
TG (mg/dl)	36.6 ± 14.78	35.6 ± 7.64	31.2 ± 4.55	28.6 ± 6.58	16.8 ± 3.90	36.0 ± 10.00	19.4 ± 4.16
TP (mg/dl)	5.46 ± 0.43	5.52 ± 0.31	5.66 ± 0.49	5.72 ± 0.08	5.74 ± 0.03	5.60 ± 0.42	5.82 ± 0.24

Mean±SD

The hind limbs of rats were exposed for 4 hours to the vibration of different frequencies under the constant acceleration of 50m/sec^2 . Each group represents mean±SD of 5 rats. Values of statistical significances are; * $p < 0.05$. (GOT, glutamic oxaloacetic transaminase; GPT, glutamic pyruvic transaminase; ALP, alkaline phosphatase; TCH, total cholesterol; TG, triglycerides; TP, total protein)

数においても対照群との間に有意差は認められなかった。

表1に、血漿 GOT, GPT, ALP 活性値および血漿 TCH, TG, TP 値を各振動数ごとに平均値±標準偏差で示したが、血漿 GOT 活性値は振動数 240 Hz の暴露群において 83.6 ± 10.4 Karmen unit/l と対照群に比し危険率 5% 以下で有意に高値を示していたがそれ以外は、振動暴露群と対照群との間には何ら有意な差は認められなかった。

2. 慢性局所振動暴露

図6に、慢性局所振動暴露時における血漿 t-CPK 活性値を各振動数ごとに平均値±標準偏差で示した。振動数 30 Hz の暴露群では t-CPK 活性値は 430.0 ± 41.9 IU/l, 60 Hz では 204.6 ± 35.2 IU/l, 120 Hz では 181.0 ± 38.4 IU/l, 240 Hz では 186.1 ± 38.4 IU/l, 480 Hz では 249.5 ± 82.5 IU/l であり対照群の 93.8 ± 8.5 IU/l に比し危険率 0.1% 以下で有意な高値

を認めたが、振動数 960 Hz の暴露群ではその活性値は 106.7 ± 34.4 IU/l であり対照群との間に有意な差は認められなかった。

図7に、血漿 CPK-MM 分画活性値を各振動数ごとに平均値±標準偏差で示した。振動数 30 Hz の暴露群での活性値は 422.4 ± 42.5 IU/l, 60 Hz では 198.2 ± 35.2 IU/l, 120 Hz では 175.2 ± 29.4 IU/l, 240 Hz では 178.8 ± 30.0 IU/l, 480 Hz では 240.8 ± 76.4 IU/l であり対照群の 86.5 ± 7.8 IU/l に比し危険率 0.1% 以下でそれぞれ有意な高値を認めた。振動数 960 Hz の暴露の際にはその活性値は 98.9 ± 34.1 IU/l であり、対照群との間に有意な差異は認められなかった。

図8に、血漿 CPK-MM 分画活性の t-CPK 活性に対する比率 (%) を各振動数ごとに示したが、いずれの振動数においても対照群に比し有意な差は認められなかった。

図9には血漿 ALD 活性値を各振動数ごとに平均値±標準偏差で示したが、急性振動暴露の場合と同様、いずれの振動数においても対照群との間に有意な差は認められなかった。

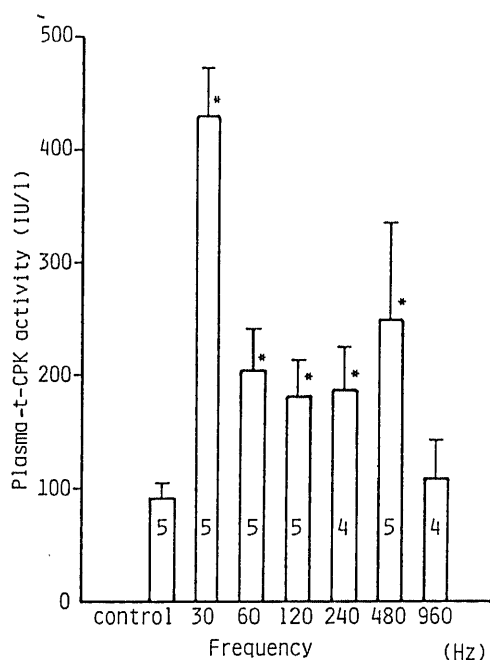


Fig. 6. Effects of different vibration frequencies on plasma t-CPK activity. The rats hind limbs were exposed for 4 hours a day to the vibration of different frequencies under the constant acceleration of 50 m/sec^2 , for 2 weeks. Each group represents a mean \pm SD. The figures in parentheses indicate the number of rats. Values of statistical significances are; *, $p < 0.001$; (t-test).

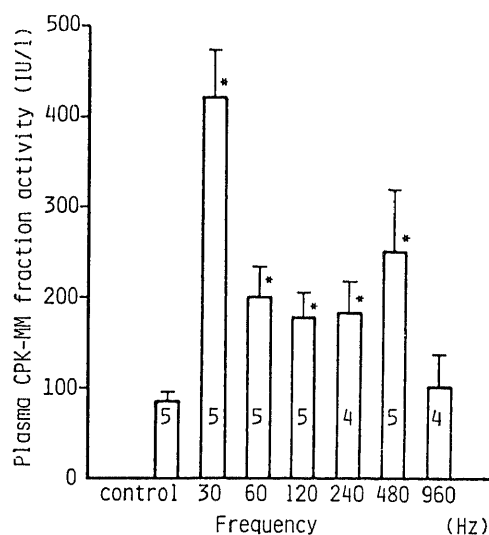


Fig. 7. Effects of different vibration frequencies on plasma CPK-MM fraction activity. The conditions of vibration are the same as those shown in Fig. 6. Each group represents a mean \pm SD. The figures in parentheses indicate the number of rats. Values of statistical significances are; *, $p < 0.001$; (t-test).

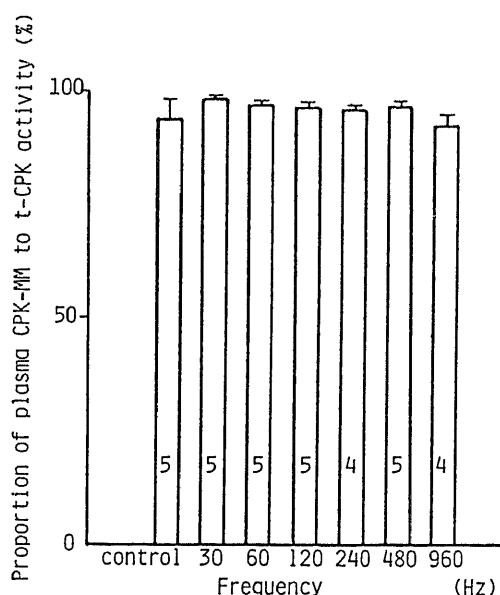


Fig. 8. Effects of different vibration frequencies on the activity proportion of CPK-MM fraction to t-CPK in plasma. The conditions of vibration are the same as those shown in Fig. 6. Each group represents a mean \pm SD. The figures in parentheses indicate the number of rats.

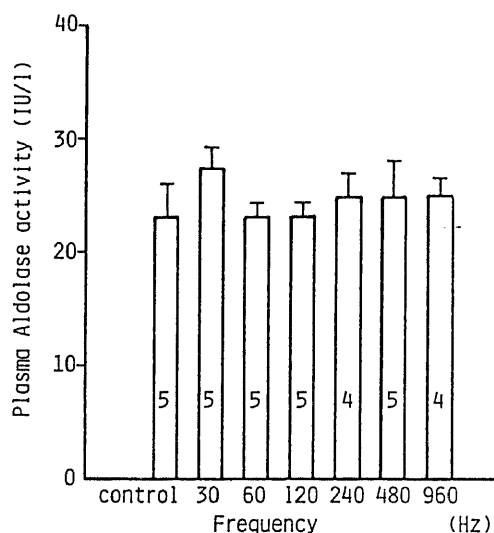


Fig. 9. Effects of different vibration frequencies on plasma aldolase activity. The conditions of vibration are the same as those shown in Fig. 6. Each group represents a mean \pm SD. The figures in parentheses indicate the number of rats.

図 10 に、血漿 LDH 活性値を各振動数ごとに平均値 \pm 標準偏差で示したが振動数 30 Hz の暴露群においてその活性値が 581.0 ± 120.5 Wróblewski unit/l と対照群の 362.0 ± 45.4 Wróblewski unit/l に比し、危険率 5% 以下で有意な高値を認めた。その他の振動数では暴露群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

表 2 に、血漿 GOT, GPT, ALP および TCH, TG, TP の各振動数ごとの値を平均値 \pm 標準偏差で示したが、振動数 120 Hz の暴露群において、血漿 ALP 活性値が 41.2 ± 6.1 King-Armstrong unit/l と、対照群の 27.2 ± 12.0 King-Armstrong unit/l に比し危険率 5% 以下で有意な高値を示していた。その他の振動数においては有意な差は認められなかった。

3. 病理組織学的観察

慢性に振動を暴露したラットの後脚の組織標本を、振動を暴露しない対照群のそれと比較しながら観察し

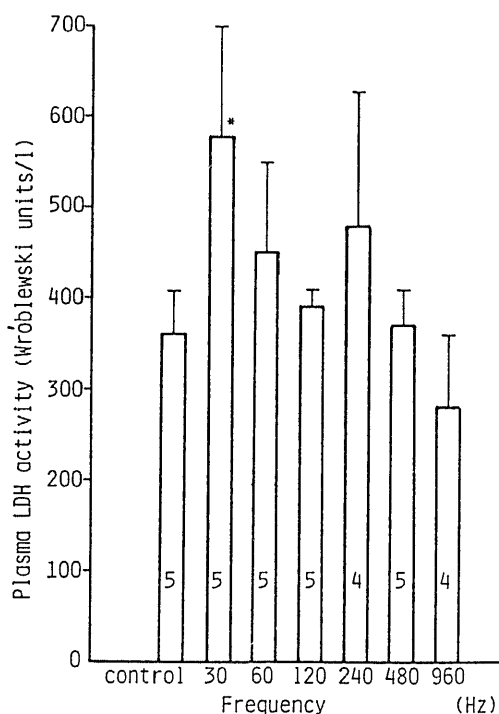


Fig. 10. Effects of different vibration frequencies on plasma LDH activity. The conditions of vibration are the same as those shown in Fig. 6. Each group represents a mean \pm SD. The figures in parentheses indicate the number of rats. Values of statistical significances are; *, $p < 0.05$; (t-test).

たが、その組織標本についての光学顕微鏡下の 200 倍、400 倍の観察では特記すべき所見は認められなかった。その 1 例として振動数 30 Hz の暴露群と対照群のラットの足底部の筋組織を図 11 に示した。

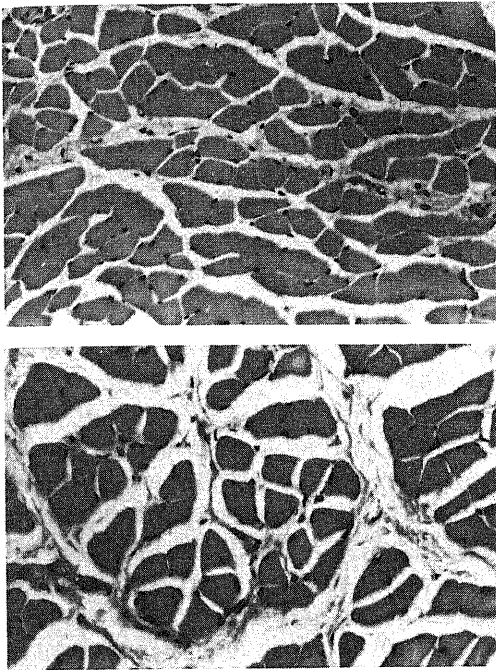


Fig.11. Histological pictures of plantaris of control rat (a) and rat exposed to chronic vibration (b) (Hematoxylin and eosin stain, $\times 400$). The hind limbs of rat were exposed for 4 hours a day to the vibration of frequency of 30 Hz under the acceleration of 50 m/sec^2 for 2 weeks.

考 察

振動工具使用による骨、関節、筋肉系の変化は 1929 年 Holzmann¹⁸⁾が最初に報告して以来、その後幾多の報告^{19)~25)}がある。このうち骨、関節系の障害に関してはレントゲン写真上での変化あるいは自覚症状と振動工具使用歴との関連等についての報告が主なものであり、骨、関節系の障害と振動工具使用との関連を認めるという報告¹⁹⁾²⁰⁾と、骨、関節系障害を単なる加齢による退行現象と考えるもの²¹⁾²²⁾とがある。また筋肉系の変化についても振動工具使用との間に何らかの関連を示唆するような報告⁵⁾²³⁾と、何らの関係もないとする報告²⁴⁾²⁵⁾もあり、これまでの振動障害に関する研究において、必ずしも明確に位置づけられてはいない領域であり、当面する重要な研究課題でもある。また代表的な振動工具であるチェンソーを例にとると、約 10 年前のチェンソーでは 100 m/sec^2 程度の強大な振動加速度を発生するものが一般的に使用されていたが、ごく最近では 10 m/sec^2 という小さな振動加速度のものにまで改良されてきている。このように、振動加速度についてはますます軽減されていくものと考えられ、振動工具の振動強度の基準についても国際的に検討されている実情²⁶⁾にある。このような背景から当面する振動障害に関する研究上の課題としては局所振動の生体影響に関して、とくにその振動数に焦点をあてていく必要があり、局所振動による影響としての、末梢神経障害、末梢循環障害、さらに骨、関節、筋系の障害の発生に関して、どの範囲の振動数が障害発生に効果的ないし特徴的に関与しているかを追究していくことが必須となろう。チェンソー駆動の際の構成振動数のスペクトルは、ほとんどの機種で 30 Hz から 1000 Hz の範囲であるという測定結果²⁷⁾があり、その主要

Table 2. Effects of different vibration frequencies on plasma ingredients

	Control	30Hz	60Hz	120Hz	240Hz	480Hz	960Hz
GOT (Karmen unit/l)	60.4 ± 12.84	66.4 ± 12.22	68.8 ± 8.39	70.8 ± 7.65	63.8 ± 10.94	74.5 ± 9.47	76.8 ± 12.23
GPT (Karmen unit/l)	26.2 ± 8.19	31.6 ± 7.02	21.6 ± 11.52	25.2 ± 3.96	24.5 ± 4.36	24.3 ± 3.50	24.8 ± 4.57
ALP (King-Armstrong unit/l)	27.2 ± 11.97	36.0 ± 8.28	23.7 ± 6.94	$41.2 \pm 6.09^*$	23.7 ± 3.69	22.5 ± 2.71	31.0 ± 12.07
TCH (mg/dl)	43.8 ± 6.83	50.2 ± 11.77	42.2 ± 4.55	48.0 ± 9.30	38.0 ± 3.74	37.5 ± 2.89	51.0 ± 5.83
TG (mg/dl)	35.4 ± 10.74	29.4 ± 11.97	37.2 ± 6.73	21.8 ± 5.98	24.8 ± 7.14	24.8 ± 7.14	24.5 ± 7.18
TP (mg/dl)	5.88 ± 0.19	5.75 ± 0.23	5.70 ± 0.48	5.70 ± 0.45	5.43 ± 0.33	5.00 ± 0.37	5.60 ± 0.12

Mean \pm SD

The hind limbs of rats were exposed for 4 hours a day to the vibration of different frequencies under the constant acceleration of 50 m/sec^2 for 2 weeks. Each group represents a mean \pm SD of 4 or 5 rats. Values of statistical significance are ; *, $p < 0.05$. Refer to the abbreviations in Table 1.

振動数は100ないし125 Hzの帯域に存在する²⁷⁾とされているが、身体の各部位、さらに臓器別ないし組織レベルでもその振動による影響発現の際に効果的に作用する振動数が存在するはずであり、いわゆる共振振動数との関連でも考察することが可能²⁸⁾である。末梢循環系ではAndreeva-Galaninaら²⁹⁾による30-250 Hzの振動数の局所振動暴露において上肢末梢血管に血管攣縮がみられ、その効果は特に100-150 Hzで最も顕著であるという報告を始めとしていくつかの報告³⁰⁻³²⁾がある。当教室の野原³³⁾は局所振動暴露による末梢循環系、末梢神経系への影響を振動数応答という観点から検討しているが、その際、末梢循環機能については指尖血流量を指標とし、振動数30, 60, 480 Hzにおいてその有意な減少を認め、末梢神経系に関しては末梢神経伝導速度を測定し、尺骨神経で120 Hz, 正中神経で30 Hzにおいて伝導速度の低下傾向を認めたと報告している。一方、骨、関節、筋肉系に関するものでは、ソ連における研究の中には11-30 Hzの低周波数領域で神経-筋系に障害が発生し、衝撃的な要素をもった振動では骨-関節に障害が生じるとしており²⁹⁾、またAgate³⁰⁾、de Takatsら³¹⁾は160 Hz以上の高振動数域で神経、筋、骨、関節の症状が現れるとしている。このような研究成果を参照して本研究では筋肉系への影響を追究する上で30 Hzから960 Hzの振動数にわたって実験を行うこととした。振動刺激に対する生体の応答に関する研究を進めていくには振動を規定する振動振幅について変位、速度、加速度、Jerkなどのうちの測定値が生体反応を観察するのに最適であるかという重要な問題があるが、この点に関しては国際的にも加速度を採用することが推奨されている²⁸⁾こと、また主要な振動工具の振動加速度は50 m/sec²程度のものの多いことなどから今回の一連の実験では、加速度に関しては50 m/sec²一定という条件を設定した。なお筋肉系への影響についてはFärkkiläら³⁴⁾の振動数30, 60, 100, 200および400 Hzの局所振動を手腕に5分間伐材業従事者に暴露し、その影響を観察したところ何ら変化を認めなかったという報告や、Sakuraiら³⁵⁾の振動数30, 60, 125および250 Hzの振動を1~6分間暴露した後、前腕の伸筋および屈筋の筋電図において特記すべき変化を認めなかったという実験などがあるが、これらの実験では、振動の暴露時間がいずれも数分間という短いものであり必ずしも実際の作業形態を反映していないばかりでなく、振動障害の防止対策を考えていく上でも参考になるとは考え難い。日本における実際のチェーンソー作業では今日では2時間規制が実施されているが、1日4時間の作業時間が平均的であったという調査もあることから

本研究では急性振動暴露実験として4時間、慢性振動暴露実験として1日4時間を2週間連続に合計56時間の振動暴露時間を設定した。現在の「振動工具の取り扱い業務に係る特殊健康診断の実施手技について³⁶⁾」の通達では、筋肉系の障害に対する検査項目として最大握力、維持握力、つまみ力、タッピングなどがあげられているが、これらの検査項目は測定時の環境条件の相違、被検者の検査に対する努力ないし協力、理解など種々の条件にその結果が左右されやすく客観性に乏しく、また再現性に乏しいと言わざるを得ない。振動工具と筋肉系への障害との関連を追求していくうえでの客観的指標として参考になれるものとしてはKasamatsuら⁴⁰⁾の血清生化学的分析を行い、振動工具使用期間との関連について検討を行った研究があげられる。これによるとGOT, GPT, LDHにおいて、振動工具使用者と非使用者との間にこれら酵素活性値に有意の差があり、さらに振動工具使用期間が長い程、それぞれ高値をとるということが述べられている。また血清中の筋原性諸酵素活性と振動工具使用者の筋力およびいくつかの他覚所見との関連について検討を加え握力および把持力において、これら筋力の低下しているもの程血清中の筋原性酵素がより高い値をとる傾向にあり、特に血清ALD活性にその傾向が著明であったと報告している。そこで本研究でも局所振動暴露による筋系への影響を観察するため筋原性諸酵素に焦点をあてたのであるが、この場合筋に由来する酵素の活性値が振動刺激によって影響をうけるものかどうか、またその影響発現に最も効果的に作用する振動数はどの程度のものであるかを中心に、動物実験によって追究した。その結果血漿t-CPK活性においては、急性および慢性振動暴露ともに振動数30-480 Hzにおいて有意な変化を認め、その活性値の上昇を説明するのに、血漿CPKの分画にまで追究したが、その上昇には主に骨格筋に由来するといわれるCPK-MM分画が関与していることが明らかとなった。また今回の実験条件では血漿ALD, LDH, GOT, GPT, ALP活性値およびTCH, TG, TP値はほとんど影響を受けないということも判明した。いわゆる筋原性諸酵素は筋ジストロフィー症、多発性筋炎などの筋原性疾患、あるいは心筋硬塞などの種々の疾患でその活性値が上昇することは広く知られている³⁷⁾³⁸⁾。またこれらの酵素活性は生理的条件の変化によっても変動することも明らかにされている³⁷⁾³⁸⁾。さらに運動条件との関連³⁹⁻⁴⁵⁾、また温熱条件との関連に関しても本橋らの報告⁴⁶⁾があるが、振動負荷による影響に関する報告は皆無である。今回の振動暴露実験においてこれら筋肉組織に由来する、いわゆる逸脱酵素のうちCPK活性に変化を認めたこ

と、さらに暴露振動数についても特徴的な変化を認めたことは甚だ興味深い知見であったといえよう。CPKは1934年 Lohmann⁴⁷⁾によって発見されたが筋収縮の際 creatinine が creatine phosphate へ転移する反応を可逆的に触媒する酵素であり、生体では骨格筋の sarcoplasm に全量の96%以上が含有され、含有量では心筋、脳がこれに続き他の臓器にはほとんど認められないと言われている。本研究で CPK 活性に振動暴露による影響が顕著に認められたことは、CPK が他の筋原性酵素に比較して骨格筋の sarcoplasm に多量に含まれることから各種振動刺激に対し骨格筋の sarcoplasm が顕著な影響を受けた可能性を示唆するものである。他方運動負荷による血清酵素に及ぼす影響については、運動負荷により血清 CPK、ALD などの活性値は上昇し、運動自身の強度およびその継続時間が増加するほどに、特に血清 CPK 活性値の上昇が増すという報告が多いのであるが、今回のような振動暴露実験は、一面では振動を負荷される側にとっては正弦波垂直振動による反復された強制運動が負荷されたと考ええることもでき、この点から考えても上述の運動刺激によって血清 CPK 活性値に影響するという成績とは、同様の現象に基づくとも考えることができよう。

血漿 CPK 活性の上昇の原因としては局所振動刺激による筋組織崩壊による sarcoplasm の血漿中への漏出、あるいは筋細胞膜の透過性の亢進等³⁹⁾が考えられるが、慢性振動暴露後のラット後脚の筋組織標本の病理組織学的検索でも、筋萎縮、核の大小不同などの器質的变化はなく、CPK 活性上昇については筋細胞膜の透過性亢進に基づくものと推察される。筋細胞膜の透過性の亢進の機序については、局所振動刺激が運動負荷による生理学的変化と同様なものと考えた場合、その明らかな機序は不明であるが交感神経系の緊張によるカテコールアミンの血漿中への増加⁴³⁾⁴⁴⁾、あるいは筋細胞の低酸素状態⁴⁵⁾によることなどが考えられる。また当教室の野原の研究³⁸⁾では振動加速度、振動数および暴露時間等本研究と同条件のもとで動物実験を行い末梢血流量の減少を報告していることより、また CPK の細胞外への逸脱は ATP と関係し、常に細胞内 ATP の涸渇の後に生じることを Thompson ら⁴⁹⁾が証明していることより筋組織に対する血流量減少による低酸素状態下での筋細胞膜の透過性亢進による CPK 活性の増加という機序が示唆されると言えよう。

振動刺激の CPK 活性に及ぼす影響に関してその影響発現に効果的な振動数としては急性暴露および慢性暴露とも今回の実験条件では振動数 30 Hz から 480 Hz に認められるという結果が得られたが、特に 30 Hz においては CPK 活性は急性暴露、慢性暴露ともそ

れぞれ他の振動数に比し最高値を示し、さらに急性暴露では振動数の増加とともにその活性値の上昇の程度が順次低下していくような傾向がうかがえた。一方慢性振動暴露では振動数の増加に対して急性暴露で認められたような傾向は認められなかった。これは振動を受けた筋はその振動により、筋の電気ポテンシャルに何らかの影響をきたし、その結果として筋収縮機構に変化を生じるものとすれば、負荷された振動の変位振幅の変化によって何らかの傾向が発現してくるのかもしれない。すなわち振動特性のうち振動数を fc/s 、振動加速度を acm/sec^2 、変位振幅を Acm とするとその3者の間には $A=a/(2\pi)^2f^2$ という関係が成り立つ²⁸⁾。

この式をこの実験条件に適用してみると、振動数 30 Hz、振動加速度 50 m/sec^2 の場合にはその変位振幅は、0.14 cm となり、振動数を等比級数的に増加させているわけであるから、その変位振幅は用いた振動数の二乗に比例して減少することになる。この振幅の変化が筋収縮機構に何らかの傾向を与えているのかもしれない。急性振動暴露においての振動数増加に対する CPK 活性値の漸減傾向を考えると、用いた振動の変位振幅の変化が筋に対する影響の程度としては反比例的に反映され、ある意味では量一反応関係が認められたということもでき、変位振幅が振動刺激の筋系への影響を評価していく上での客観的指標の一つともなり得る可能性もあり貴重な所見といえよう。また慢性振動暴露実験で合計 56 時間の振動を暴露したにもかかわらず、CPK 活性の上昇程度は急性暴露における活性の上昇の際とほとんど変化なく、急性暴露でみられたような振動数に関し、特徴的な変化は認められなかったのであるが、ラットの刺激に対する順応という説明によって結果を解釈することもできる。

以上のように局所振動刺激により血漿 CPK などに生化学的变化を認めたこと、また振動刺激の影響発現に効果的な振動数に関する知見を基礎として、実際の振動工具使用に見られる筋肉痛、筋力低下などの自、他覚的諸症状は振動刺激の反復暴露によってやがては筋そのものに器質的な障害を招来するという可能性を示唆するものである。

結 論

局所振動刺激の筋肉系への影響を追究するために動物実験によって、急性および慢性にラットの後脚に加速度一定 (50 m/sec^2) の局所振動刺激を暴露し筋原性諸酵素について観察して次のような結果を得た。

1) 局所振動暴露実験における筋原性諸酵素活性の応答では急性暴露および慢性暴露条件とも血漿総 CPK 活性が振動数 30 Hz から 480 Hz の範囲で対照

群に比し有意な高値を認め、特に 30 Hz でそれが顕著であった。

2) 局所振動刺激による血漿総 CPK 活性の上昇は、骨格筋由来の分画である CPK-MM 分画活性の上昇に基づいていた。

3) 急性局所振動暴露では血漿 CPK 活性は、30 Hz から振動数の増加とともにその上昇の程度は低下していく傾向がうかがえた。

4) 慢性局所振動暴露でも、血漿 CPK 活性は 30 Hz で最も上昇が著しかったが、振動数との対応に関しては急性実験結果の如き一定の傾向はうかがえなかった。

5) 急性および慢性局所振動暴露とも血漿 ALD, LDH 活性および血漿 GOT, GPT, ALP 活性、血漿 TCH, TG, TP 値に明らかな影響は認められなかった。

6) 急性および慢性局所振動暴露いずれにおいても振動数 960 Hz では何らの影響は認められなかった。

7) 慢性局所振動暴露におけるラット後脚部の病理組織学的検索において特記すべき器質的变化は認められなかった。

8) 局所振動刺激に基づく血漿 CPK 活性の上昇は、筋細胞膜の透過性亢進によるものと推察された。

謝 辞

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師岡田晃教授に衷心より深甚なる謝意を捧げます。また御指導、御助言を賜りました有泉誠講師、野原聖一助手ならびに御協力をいただきました教室の諸先生方に感謝いたします。

文 献

- 1) Loriga, G.: Il lavoro coi martelli pneumatici. Boll. Ispett. Lavoro., 20, 35 (1913).
- 2) 村越久男: 圧搾空気使用機に因る身体的障害について。臨床医, 26, 506-508 (1938).
- 3) 岡田 晃: いわゆる「白ろう病」, 日本医師会医学講座(昭和42年度), 58-74頁。金原出版, 東京, 1968.
- 4) 木村政長・星 重治・井元正流: 鋼鉄々打作業による上肢末端部の血行障害。医事公論, 1605, 1217-1220 (1943).
- 5) 肝付邦憲: 前腕皮膚温からみた指の運動速度について。産業医, 13, 320 (1971).
- 6) 後藤琢也・高松 誠・江崎広治・二塚 信: Chain saw 使用者における X 線所見と末梢循環機能。産業医, 15, 529-530 (1973).
- 7) Hagen, H. J.: Erkrankungen durch Preßluftwerkzeugarbeit. Johann Ambrosius Barth. Verlag,

Leipzig, 22-27 1947.

- 8) Kasamatsu, T., Miyashita, K., Shiomi, S., Ito, N. & Iwata, H.: Relationships among sarco-plasmic enzymes in serum, muscular strength and subjective symptoms in chain saw operators. Wakayama Med. Rep., 22, 95-102 (1979).
- 9) Kasamatsu, T., Ito, N. & Iwata, H.: Biochemical changes in serum constituents in workers operating chain saws. Wakayama Med. Rep., 22, 53-60 (1979).
- 10) Takahashi, K., Uchikubo, S., Oimomi, H. & Shinko, T.: Creatine phosphokinase isoenzymes of human heart muscle and skeletal muscle. Clin. Chim. Acta, 38, 285-290 (1970).
- 11) Beisenherz, G., Bltze, H. J., Buecher, T., Czok, R., Garbarde, K. H., Meyer-Arendt, E. & Pfeleideren, G.: Diphospho-fructose-aldolase, Phosphoglyceraldehyddehydrogenase, Milchsäuredehydrogenase, Glycerophosphatdehydrogenase und pyruvat Kinase aus Kaninchen-muskulatur in einem Arbeitsgang. Z. Naturforsch., 8, 555-577 (1953).
- 12) Wróblewski, F. F. & La Due, J. S.: Lactic dehydrogenase activity in blood. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 90, 210-213 (1955).
- 13) Karmen, A.: A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood. J. Clin. Invest., 34, 131-133 (1955).
- 14) Kind, P. R. N. & King, E. J.: Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. J. Clin. Path., 7, 322-326 (1954).
- 15) 水野映二・仁科甫啓・北村元仕: 血清総蛋白定量法の改良。臨病理, 19, 427-430 (1971).
- 16) Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. G., Richmond, W. & Paul, C. F. U.: Enzymatic determination of total cholesterol. Clin. Chem., 20, 470-475 (1974).
- 17) 金井正光・野本昭三・北和田修介・石田美智子: 酵素水解を利用した血清トリグリセライドの全自動測定法の検討, テクニコン国際シンポジウム, 60 頁。日本テクニコン社, 東京, 1974.
- 18) Holzmänn, F.: Erkrankungen durch Arbeiten mit Preßluft-werkzeugen. Umschau, 33, 1002 (1929).
- 19) Hellström, B. & Myhre, K. A.: Comparison of diagnosing Raynaud phenomena of occupational

- origin. Br. J. Ind. Med., 28, 272-279 (1971).
- 20) Volte, H.: Gelenkschädigung im Hand-Arm Skeletsystem bei Waldarbeitern. Int. Arch. Gewerbepath. Gewerbehygiene, 24, 121-126 (1967).
- 21) Kumlin, T., Wiikeri, D. & Sumari, P.: Radiological changes in carpal and metacarpal bones and phalanges caused by Chain saw vibration. Br. J. Ind. Med., 30, 71-73 (1973).
- 22) Karjalainen, P., Alhava, E. M. & Valtola, J.: Jhenar muscle blood flow and bone mineral in the forearms of lumberjacks. Br. J. Ind. Med., 32, 11-15 (1975).
- 23) 岩田弘敏: チェンソー, 鋸打機, 打撃工具, 回転工具各取扱者の振動病の比較. 日災害医学会誌, 25, 184-191 (1977).
- 24) 後藤琢也・高松 誠: チッピングハンマー使用者と chain saw 使用者の振動障害における相違について. 産業医, 17, 411 (1975).
- 25) 大崎 純・石居房子・朝枝玄吉: 振動障害の診断項目に対する解析, 第 17 報, 材労働者について. 産業医, 19, 456 (1977).
- 26) ISO/TC 108: Guide for the measurement and the assessment of human exposure to vibration transmitted to the hand. Draft International Standard ISO DIS 5349, ISO/TC 108, Gent, 1982.
- 27) 渡部真也・山川宗位: チェンソー振動の比較. 産業医, 12, 350-351 (1970).
- 28) Coermen, R., Okada, A. & Frieling, I.: Vegetative Reactionen des Menschen bei niederfrequenter Schwingsbelastung. Int. Z. Angew. Physiol. Arbeitsphysiol., 22, 150-168 (1966).
- 29) Дрогичина Э. А., (伊藤史子訳): 産業における振動, 159-188 頁. 労働科学研究所, 東京, 1975.
- 30) Agate, J. N.: An outbreak of cases of Raynaud's phenomenon of occupational origin. Br. J. Ind. Med., 6, 144-163 (1949).
- 31) de Takats, G. & Fowler, E. F.: Raynaud's phenomenon. J. A. M. A., 179, 99-106 (1962).
- 32) Hyvärinen, J., Pyykkö, I. & Sundberg, S.: Vibration frequencies and amplitudes in the aetiology of traumatic vasospastic disease. Lancet, 1, 791-794 (1973).
- 33) 野原聖一: 局所振動暴露による末梢循環系・末梢神経系の振動数応答. 十全医学会誌, 92, 953-966 (1983).
- 34) Färkkilä, M., Pyykkö, I., Korhonen, O. & Starck, J.: Vibration-induced decrease in the muscle force in lumberjacks, Eur. J. Appl. Physiol., 43, 1-9 (1980).
- 35) Sakurai, T.: Vibration effects on hand-arm-system, Part 1. Observation of electromyogram. Ind. Health, 15, 47 (1977).
- 36) 岡田 晃・鈴木勝己: 振動障害, 研究動向と診療の実際, 277-283 頁. 篠原出版, 東京, 1982.
- 37) 長嶺光隆: LDH・CPK. 臨と研, 58, 705-712 (1981).
- 38) 植田啓嗣・畑中良夫・佐々木重雄・和田朋子: アルドラーゼ. 日臨, 38, 852-859 (1980).
- 39) 後藤芳雄・堤 達也: 運動負荷時の血清酵素活性並びに血清電解質の変動. 体力研究, 21, 31-41 (1971).
- 40) Hunter, J. B. & Critz, J. B.: Effect of training on plasma enzyme levels in man. J. Appl. Physiol., 31, 20-23 (1971).
- 41) 小川新吉・井川幸雄・伊藤 朗・中村隆之・中嶋英昭: 運動強度の生化学的研究 (血清中乳酸・ビルビン酸・クレアチン・クレアチニン・乳酸脱水素酵素活性値・トランスアミナーゼ活性値・アルドラーゼ活性値の動態). 東京教育大学体育学部スポーツ研究所報, 10, 1-15 (1972).
- 42) 井川幸雄・伊藤 朗: 運動と血清酵素. 日医師会誌, 71, 695-705 (1974).
- 43) 大野秀樹・渡部秀雄・岸原千秋・谷口直之・高桑栄松: 運動負荷によるヒト血漿 DBH と GOT アイソエンザイム活性値の変動について. 自律神経, 15, 67-73 (1978).
- 44) 大野秀樹・寺山和幸・平田史子・河原林忠男・渡部秀雄・西野守彦・高桑栄松・谷口直之: 運動ストレスに関する研究, 第 1 報, 運動負荷における種々のヒト血漿酵素活性の変動について. 日衛誌, 36, 801-810 (1981).
- 45) Ahlborg, B. & Brohult, J.: Immediate and delayed metabolic reactions in well-trained subjects after prolonged physical exercise. Acta Med. Scand., 182, 41-54 (1967).
- 46) 本橋 豊・宮崎良文・高野健人・野尻忠弘・関根弘: 消防隊員の防火服着用時における高温環境下運動負荷の影響. 日衛誌, 38, 589-597 (1983).
- 47) Lohmann, K.: Über die enzymatische Aufspaltung der kreatinphosphorsäure; zugleich ein Beitrag zum chemismus der Muskelkontraktion. Biochem. Z., 271, 264 (1934).
- 48) 杉田秀夫: 酵素学的 (creatine phosphokinase, aldolase) に見た神経筋疾患の臨床的ならびに実験的研究, [1] 臨床的研究. 精神誌, 62, 106 (1960).
- 49) Thomson, W. H. S., Sweetin, J. C. &

Hamilton, I. J. D. H.: ATP and muscle enzyme efflux after physical exertion. *Clinica Chimica Acta*, 59, 241-245 (1975).

The Influence of Local Vibration Exposure on Plasma Sarcoplasmic Enzymes. Hajime Okuda, Department of Public Health (Director: Prof. A. Okada), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — *J. Jusen Med. Soc.*, 93 361—372 (1984)

Key words: Local vibration, Frequency, Creatine phosphokinase, Aldolase, Lactate dehydrogenase.

Abstract

The influence on muscle function and the mechanism of the occurrence of muscle disorders in vibration hazards were studied on the rats exposed to both acute and chronic local vibration. Rats were exposed to vibration with different frequencies of 30, 60, 120, 240, 480, and 960 Hz under the constant acceleration of 50 m/sec². The hind limbs of rats were exposed to acute and chronic vibration; for 4 hours in the acute cases and 4 hours each day of 2 weeks in the chronic cases. After vibration exposure, the activities of plasma sarcoplasmic enzymes; creatinine phosphokinase (CPK), aldolase and lactate dehydrogenase (LDH) were assayed. In the measurement of plasma CPK activity, the activity of total CPK (t-CPK) and that of CPK-muscle muscle (CPK-MM) fraction originated in skeletal muscle were assayed. And also, the activities of the other plasma enzymes; glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT) and alkaline phosphatase (ALP), were assayed. And the concentration levels of some plasma ingredients; total cholesterol (TCH), triglycerides (TG) and total protein (TP) were measured. The plasma-t-CPK activity showed significantly high value in vibration frequencies of 30 Hz to 480 Hz, especially in 30 Hz at both acute and chronic exposures. However, any significant influence was not observed in 960 Hz. The increase of plasma-t-CPK activity was caused by the increase of plasma CPK-MM fraction. And also, the plasma-t-CPK activity exhibited a tendency to decrease gradually with the increase of vibration frequency in acute exposure, but in chronic exposure this tendency was not observed. Furthermore, the vibration did not distinctly influence the activities of aldolase, LDH and other enzymes, and the concentration of plasma ingredients examined. Histological preparations of the hind limbs of rats were made from the chronic exposed groups (30, 60 & 240 Hz) and the control, and stained by the hematoxylin-eosin method. However, no marked histopathological difference was found between the control and the exposed groups. These results suggest that the increase of plasma CPK activity was not caused by the morphological changes of muscle but by the acceleration of permeability of muscle cell or other mechanisms, and that the displacement amplitude of vibration affected the increase of the activity.