

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19700443
 研究課題名（和文） 中枢性麻痺に伴う関節拘縮の原因となる関節構造内の変性の解明
 研究課題名（英文） Alteration of intraarticular structures during contracture formation following central paralysis
 研究代表者
 森山 英樹（MORIYAMA HIDEKI）
 埼玉県立大学・保健医療福祉学部・講師
 研究者番号：10438111

研究成果の概要：中枢性麻痺に伴う関節拘縮は、臨床での対応に苦慮する合併症である。本研究課題は、関節拘縮の原因となる関節構造の変性の局在を明らかにすることを目的とした。その結果、脊髄損傷後の関節軟骨の変性は、機械的刺激の欠如あるいは除神経の影響のいずれかのみが原因となり生じないことが示された。また関節拘縮の治療において、弛緩性麻痺あるいは痙性麻痺に関わらず、筋の変化を中心に関節構造内の変化にも着目する必要性が示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,300,000	0	2,300,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	300,000	3,600,000

研究分野：理学療法学

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：関節拘縮・中枢性麻痺・脊髄損傷・関節構造・筋緊張

1. 研究開始当初の背景

中枢性麻痺に伴う関節拘縮は、臨床においてリハビリテーション従事者が頻繁に直面し、その対応に苦慮する合併症である。それは臨床的、運動学的、神経生理学的観点から、麻痺肢の筋緊張に関連する二次的な不動により生じると考えられてきた。そのため、その発生機序に関しては、麻痺筋の変化を検討することに主眼が置かれ、関節構造内の変化は、不動が関節拘縮発生の共通因子となることを前提として、関節固定後の関節拘縮動物モデルに基づいてきた。

研究代表者は、脊髄損傷ラットを用いて、中枢性麻痺を有するヒトの膝関節屈曲拘縮の動物モデルを確立し、関節拘縮の発生機序を検討してきた。その結果、関節拘縮の発生に不動以外の別の要因が関与していること、痙性麻痺発生後の関節拘縮の進展は、固定後のそれと異なっていることを立証した。

前述のように、関節拘縮は、麻痺筋の変化により生じると考えられてきたため、麻痺筋の変性はヒトと動物で十分に議論され、多くの報告がある。そこで続く研究で、それまで着目されてこなかった関節構造内の変化の

局在を、組織学的、組織形態計測的、免疫組織化学的、生化学的手法を用いて検討した。その結果、関節構造内には、関節内線維性結合組織における滑膜組織の萎縮、後方関節包の線維配列方向の不規則化、線維増生を伴わない後方滑膜下層と関節包深層の密性化、後方滑膜内膜長の短縮、関節軟骨の内側部における軟骨細胞数の減少、軟骨厚の変化、軟骨基質の染色濃度の減少、I型コラーゲンとII型コラーゲンの局在パターンの異常といった脊髄損傷後に特異的な変化が認められた。

2. 研究の目的

(1) 関節軟骨の変性

これまでの研究成果のうち、特に変化が顕著であった関節軟骨の変化を精査した。

脊髄損傷患者の下肢関節には、長期間荷重が加わらず、運動も制限される。そのため、脊髄損傷後の関節軟骨の変性は、荷重除去や固定により機械的刺激が欠如した状態にある動物モデルでの変性と関連して報告されてきた。しかしながら、先に脊髄損傷後の膝関節内側部の関節軟骨には、機械的刺激の欠如のみでは説明できない変性が生じることを立証した。一方、機械的刺激の欠如後の動物実験において、膝関節の異なる軟骨プレートで異なる変性が生じることが示され、関節軟骨の浅層と深層の変性パターンが異なることが示されている。このことから、関節軟骨の形態学的な特性における部位による可変性のために、膝関節内側部だけを対象とした研究では、機械的刺激の影響を否定するだけの確信を持てる結果を得られなかった。

そこで、脊髄損傷ラットモデルの膝関節における異なる軟骨プレートの組織学的な関節軟骨の変性を定量化した。併せて、関節軟骨の変性に影響を及ぼす要因として、荷重除去や関節固定による機械的刺激の欠如ならびに除神経の影響を検討した。

(2) 関節拘縮の発生に対する筋緊張の影響

関節拘縮の発生に、弛緩性麻痺を呈する急性期では関節の不動が関与し、その後の痙性麻痺を呈する時期では筋緊張亢進が関与していると考えられてきた。すなわち関節拘縮の発生機序は、弛緩性麻痺を呈する時期と痙性麻痺を呈する時期で異なるとされてきたが、弛緩性麻痺から痙性麻痺へ移行する時期の関節拘縮の進行経過は明らかになっていない。またこの時期の関節拘縮の責任病巣が、筋と関節構造内のいずれにあるかも明らかになっていない。

これまで、痙性麻痺発生後の関節拘縮の原因についてのみ検討してきたが、関節拘縮の原因を議論するうえで、筋緊張の影響を検討することは必要不可欠である。そこで、関節

可動域制限を指標に、関節拘縮の進行経過と責任病巣としての筋性と関節性の要因の関係を評価した。

3. 研究の方法

(1) 関節軟骨の変性

① 材料

16匹のWistar系雌性ラットを対照群と脊髄損傷群に分け、左右膝関節を介入後4、8、10、12週で評価した。

② 組織形態計測的分析

各実験期間終了後、左右膝関節を採取した。固定、脱灰、パラフィン包埋、薄切、作製した組織標本において、関節軟骨の変化を定量化した。

③ 測定部位

関節軟骨を大腿骨前方部、大腿骨後方部、脛骨前方部、脛骨後方部に分け、浅層を軟骨表面から下方に30 μ m、深層をtidemarkから上方に30 μ m、中間層をその間の30 μ mの領域と定義した。脊髄損傷後の大腿骨前方部はunappose部（軟骨表面が互いに接触していない部位）にあたり、大腿骨後方部、脛骨前方部、脛骨後方部はappose部（軟骨表面が接触している部位）にあたる。

④ 軟骨厚

トルイジン青で染色した組織切片で、軟骨厚を軟骨表面から骨軟骨接合部の間の距離と定義し、軟骨表面の長さ1mmの範囲の平均の厚さを算出した。

⑤ 軟骨基質の染色性

トルイジン青染色に対する軟骨基質の染色濃度を測定した。標準化した矩形（深さ30 μ m、幅400 μ m）内の10ポイントの平均基質染色濃度を軟骨基質の染色性とした。

⑥ 軟骨表面の不規則性

デジタル化した関節軟骨表面の輪郭を、LabVIEW 8.5でX-Y座標に変換した。基準点と各画素間の距離を測定し、表面不規則性を表す距離の二次微分の絶対値を算出した。

⑦ 軟骨細胞数

サフラニンO/ファースト緑で染色した組織切片に、標準化した矩形を重ね、その矩形内の軟骨細胞数をカウントした。

(2) 関節拘縮の発生に対する筋緊張の影響

① 材料

20匹のWistar系雌性ラットを脊髄損傷前、そして脊髄損傷後3、5、7、14日に4匹ずつに分けた。

② 関節可動域測定

各実験期間終了後、膝関節の屈曲および伸展可動域を測定した。その後、膝関節をまたぐ筋を切断し、再度関節可動域を測定した。測定した関節可動域の値を用いて、筋性要因と関節性要因を以下の式により分離し、分

析した。筋性要因＝筋切断前の関節可動域(脊髄損傷前)－筋切断前の関節可動域(脊髄損傷後実験期間終了時)。関節性拘縮＝筋切断後の関節可動域(脊髄損傷前)－筋切断後の関節可動域(脊髄損傷後実験期間終了時)。

4. 研究成果

(1) 研究の主な成果

本研究課題は、脊髄損傷動物モデルを用いて、それまで固定動物モデルの結果から推測され、議論されてきた中枢性麻痺に伴う関節拘縮の原因となる関節構造の変性の局在を実証した。結果は、関節拘縮に関する書籍や国際誌に引用されている。また、経験的に行われてきた中枢性麻痺に伴う関節拘縮の治療の根拠となるものを明らかにした。

(2) 関節軟骨の変性

脊髄損傷後の軟骨厚の変化は、膝関節内側部でのみ認められ、外側部では認められなかった。膝関節内側部の大腿骨前方部で有意に厚くなり、大腿骨後部、脛骨前方部、脛骨後部で有意に薄くなった。ヒト脊髄損傷後6ヶ月の平均軟骨厚は、脛骨内側部で有意に減少し、脛骨外側部では変化しないことが報告されている。この関節軟骨の菲薄化は本結果と一致するものであるが、本研究ではさらに大腿骨前方部と大腿骨後部の対照的な相違も確認した。

トルイジン青染色に対する基質濃度の減少は、プロテオグリカン量の減少と強く相関する。プロテオグリカン量の減少は、機械的刺激が欠如した状態にある様々な動物モデルで共通して観察される関節軟骨の変性の特徴である。荷重除去を伴う関節固定後の関節軟骨において、unappose部でのプロテオグリカン量の減少は appose部よりも重篤であること、固定後の軟骨基質の染色性は unappose部でのみ減少し、appose部では変化しないことが報告されている。また、固定後の関節の変化が浅層に生じることと対照的に、末梢神経除神経後の変化、特に軟骨基質の染色性の低下は中間層に生じる。しかしながら、脊髄損傷後のプロテオグリカン量は appose部でのみ減少し、さらにその減少は中間層に限定されていなかった。

機械的刺激の欠如に関連する疾患における関節軟骨の変性の一貫した特徴のひとつに、表面不規則性がある。脊髄損傷後の膝関節では内側部と外側部ともに関節軟骨表面の不規則性が全く認められなかった。

脊髄損傷後の軟骨細胞数は、特に unappose部で、膝関節内側部の浅層と深層、膝関節外側部の浅層で減少した。軟骨細胞数は、荷重除去および固定後の appose部で減少し、unappose部では変化しないこと、固定後の

appose部の浅層で減少し、unappose部の深層で減少することが報告されている。いずれの場合でも、これらの結果は脊髄損傷後と異なっていた。

関節軟骨の組織学的観察の結果、特に大腿骨前方部において、脊髄損傷群の軟骨細胞窩は拡大し、その多くで核は濃縮しているか認められなかった。また2～4個の軟骨細胞窩が集塊を形成していた。

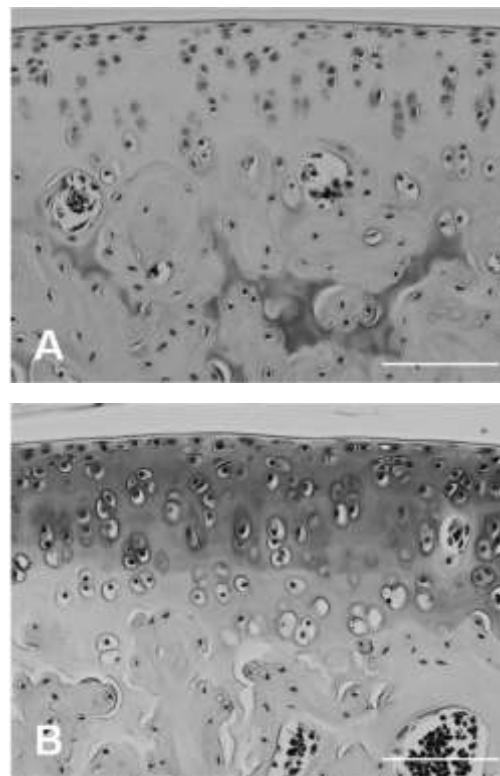


図 実験開始後12週の大腿骨前方部の顕微鏡写真。対照群(A)、脊髄損傷群(B)。サフランインO/ファースト緑染色。スケールバー＝200 μm。

本研究課題の結果は、脊髄損傷後の関節軟骨に特異的なものであり、機械的刺激の欠如あるいは除神経の影響のいずれかのみが原因となり生じないことが示された。またその変性は、内側部でより重篤であり、外側部でより穏やかであった。内側部の変化を検討した場合、結果を過大評価し、外側部の変化を検討した場合、過小評価するため、今後の研究では少なくとも異なる軟骨プレートを別々に検討する必要性が示された。

(3) 関節拘縮の発生に対する筋緊張の影響

脊髄損傷後の関節拘縮は、損傷後3日目の時点ですでに発生し、その進行経過は弛緩性麻痺から痙攣性麻痺への筋緊張の変化に伴い、変化しなかった。さらに関節可動域制限は伸展可動域の制限が主であった。また関節拘縮の発生には、筋性の要因と関節性の要因の両

方が関与しており、特に関節可動域の減少していた伸展可動域においては、筋性の要因がより大きく関与していた。脊髄損傷後早期の関節拘縮において、弛緩性麻痺あるいは痙性麻痺に関わらず、筋の変化を中心に関節構造内の変化にも着目する必要性が示された。

(4) 今後の展望

本研究課題の成果を踏まえて、現在、関節構造内の変化のみならず、筋の関与が大きい弛緩性麻痺から痙性麻痺に移行する時期の筋の変化も対象として、中枢性麻痺に伴う関節拘縮の原因となる関節の変性の解明を進めている。分析方法として、対象が硬組織の関節構造であることから、これまでの組織学的分析は、免疫組織化学的分析等に制限のあるパラフィン包埋と樹脂包埋により標本作製してきた。現在、より実験手法の選択枝の広がる非脱灰凍結標本作製できる環境が整い、新たな視点から関節拘縮の原因を探索している。また、関節の硬さの原因となる関節包内の組織の力学的特性を検討するために、関節の動的スチフネスと静的スチフネスを分析している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

- ① Moriyama H, Nishihara K, Hosoda M, Saka Y, Kanemura N, Takayanagi K, Yoshimura O, Tobimatsu Y, Contrasting alteration patterns of different cartilage plates in knee articular cartilage after spinal cord injury in rats, Spinal cord, 47, 218-224, 2009、査読有
- ② 森山英樹、角田育子、八戸美葉、坂ゆかり、武本秀徳、河野一郎、細田昌孝、高柳清美、伊藤俊一、飛松好子、ラット脊髄損傷後早期の関節拘縮進行過程における筋と関節構成体の関与、理学療法学、35、318-324、2008、査読有
- ③ 森山英樹、吉村理、高柳清美、小林隆司、細田昌孝、金村尚彦、今北英高、白濱勲二、鈴木陽介、荒木智子、須永康代、飛松好子、ラット脊髄損傷後の膝関節における軟骨細胞数とプロテオグリカン量の組織学的変化、専門リハビリテーション、7、34-41、2008、査読有
- ④ Moriyama H, Yoshimura O, Kawamata S, Takayanagi K, Kurose T, Kubota A, Hosoda M, Tobimatsu Y, Alteration in articular cartilage of rat knee joints after

spinal cord injury, Osteoarthritis and cartilage, 16, 392-398, 2008、査読有

- ⑤ Moriyama H, Yoshimura O, Kawamata S, Takemoto H, Saka Y, Tobimatsu Y, Alteration of knee joint connective tissues during contracture formation in spastic rats after an experimentally induced spinal cord injury, Connective tissue research, 48, 180-187, 2007、査読有

[学会発表] (計3件)

- ① Moriyama H, Comparison of muscular and articular factors during joint contracture formation in acute spinal cord injury, 10th International Congress of the Asian Confederation for Physical Therapy (ACPT), 2008年8月30日、幕張メッセ・千葉
- ② 森山英樹、脊髄損傷ラットモデルにおける膝関節軟骨の変性の組織形態計測的分析、第43回日本理学療法学会、2008年5月16日、福岡国際センター・福岡
- ③ Moriyama H, Contrasting alterations of anterior and posterior articular cartilage of rat knee joints after spinal cord injury, 15th International World Confederation for Physical Therapy (WCPT) Congress, 平成19年6月6日、カナダ・バンクーバー

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森山 英樹 (MORIYAMA HIDEKI)
埼玉県立大学・保健医療福祉学部・講師
研究者番号：10438111

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし