

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：25406

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06418・19K21495

研究課題名(和文) 関節拘縮予防を目的とした効果的な電気刺激条件の検討に関する研究

研究課題名(英文) The study of the effective methods of neuromuscular electrical stimulation for prevention on joint contracture

研究代表者

佐藤 勇太 (SATO, YUTA)

県立広島大学・保健福祉学部(三原キャンパス)・助教

研究者番号：30819313

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、電気刺激の適用方法の違いが下肢の非荷重を伴って生じた関節拘縮に与える影響について検討することとした。1週間の関節固定と下肢の非荷重の期間中に30分/回の電気刺激を毎日2回実施する群の関節拘縮は、毎日1回実施する群と比較して発生が軽度であった。関節固定と下肢の非荷重の期間中に60分/日の電気刺激を毎日行う群の関節拘縮は、30分/日の電気刺激を毎日行う群と比較して著明に発生した。このため、電気刺激の関節拘縮に対する予防効果は、1回の刺激時間を延長するよりも刺激頻度を増やす方が有効である可能性があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床に即した下肢の非荷重を伴う関節固定によって生じる関節拘縮では、関節固定のみで関節拘縮と比較して骨格筋の伸張性低下が強く生じる。このため、従来の関節拘縮に対する予防方法は、過負荷となり、かえって関節拘縮を悪化する可能性がある。そこで下肢の非荷重を伴う関節固定によって生じる関節拘縮に対する予防方法を検討することは、実際の臨床における関節拘縮に対する最適な介入方法を見出すことになる。本研究により、関節拘縮の治療に要する時間が短縮化し、患者の健康寿命の延伸、医療費の削減に貢献できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the effect of different methods of applying neuromuscular electrical stimulation on joint contractures caused by joint fixation and unweighting the hind limbs. Performing 30 minutes of neuromuscular electrical stimulation twice a day was more effective in preventing joint contracture than performing that once a day. Performing neuromuscular electrical stimulation for 60 minutes a day was less effective in preventing joint contracture than performing that for 30 minutes a day. Therefore, it was suggested that the preventive effect of neuromuscular electrical stimulation on joint contracture may be more effective when the frequency of stimulation was increased than when the one stimulation time was extended.

研究分野：理学療法学

キーワード：関節拘縮 関節固定 後肢懸垂 電気刺激 骨格筋

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

関節拘縮は、関節固定などによって関節が不動状態となることで骨格筋や皮膚、関節包、靭帯などの関節周囲にある組織が変化し、関節の可動範囲が減少した状態であり、日常生活に支障をきたす。このため、リハビリテーションでは、関節拘縮が主な治療対象となる障害の第2位となっており(仙波ら, 理学療法学, 2010), その治療に多くの時間が費やされていることが考えられる。しかし、一度発生した関節拘縮の完治は難しくなり、回復に長期間を必要とする。関節拘縮が発生した場合、治療には継続した介入が必要であることから、患者の健康寿命の短縮、医療費の圧迫に直結すると言える。そこで関節拘縮の予防は重要である。効果的な関節拘縮の予防方法を検討するためには、関節拘縮の病態の解明、関節拘縮を重症化させる因子の影響の調査、介入方法の検討が必要であると考えられる。これまで関節拘縮の研究では、実験動物の関節を固定し、骨格筋、皮膚、関節包、靭帯など関節周囲の組織に生じる変化が解明されてきた。岡本らは、関節拘縮が1週間の関節固定によって生じ、その際の主な原因組織が骨格筋であることを明らかにした(岡本ら, 理学療法学, 2004)。また、さらに1週間の足関節底屈位での関節固定によって生じる関節拘縮では、ヒラメ筋のコラーゲン量が増加し、伸張性が低下する。このため、1週間の関節固定によって生じる関節拘縮では、主に骨格筋のコラーゲン量の増加に伴う伸張性低下が原因となっていることが推測される。

臨床における患者は、骨折後のギプス固定や寝たきり状態など、関節固定のみでなく、下肢の非荷重が組み合わさっていることがある。この際に生じる関節拘縮は、関節固定のみでなく、下肢の非荷重の影響が組み合わさっていることが推測される。このため、従来の関節固定のみで生じる関節拘縮は、臨床で生じる関節拘縮と異なる病態である可能性がある。そこで我々は、実験動物に対して足関節底屈位での関節固定と下肢の非荷重を再現する後肢懸垂を1週間実施し、関節拘縮を生じさせた。その結果、1週間の関節固定と下肢の非荷重を組み合わせて生じた関節拘縮は、関節固定のみで生じた関節拘縮と比較してヒラメ筋のコラーゲン量がさらに増加し(Matsumoto et al., J Phys Ther Sci, 2017), 伸張性がより低下することで重症化することが明らかとなった(Sato et al., J Phys Ther Sci, 2018)。下肢の非荷重が関節固定によって生じる関節拘縮を重症化させる要因は、下肢が非荷重状態となることで筋収縮が減少することに起因すると推測される。これらの結果から、これまでに考えられてきた関節拘縮の病態は、臨床の症例に当てはまらない可能性がある。関節拘縮の効果的な予防方法と考えられてきた方法も有効であるか不明である。そこで、下肢の非荷重を伴って生じた関節拘縮に対する効果的な予防方法を検討していく必要があるが、ほとんど検討されていない。

これまでに検討されてきた関節拘縮の予防方法は、ストレッチングやトレッドミル走行、物理療法などがあるが、統一した効果が得られておらず、負荷によって悪化する場合もある。最適な関節拘縮の予防方法は、明らかにされていない。中でも電気刺激は、筋収縮を人工的に増加させる方法の一つであり、関節固定によって生じる骨格筋のコラーゲン量の増加を抑制し(Yoshimura et al., Connect Tissue Res, 2017), 伸張性低下を軽減して(沖ら, 運動療法と物理療法, 1997)関節拘縮の予防効果を有することが確認されている。筋収縮の減少に起因して重症化すると推測される非荷重を伴う関節固定によって生じる関節拘縮に対しても電気刺激は有効であると予測される。そこで我々は、これまでに電気刺激が非荷重を伴って生じる関節拘縮に対して予防効果を有するかどうかを調査し、有効性があることを確認した。しかし、最適な刺激条件について十分検討できていない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、電気刺激の適用方法の違いが下肢の非荷重を伴って生じた関節拘縮に与える影響について検討することとした。特に、刺激頻度と1回の刺激時間に着目し、それぞれの刺激条件が関節拘縮に与える影響を調査した。

### 3. 研究の方法

対象は10週齢のWistar系雄ラット84匹とし、(実験1)刺激頻度に関する検討と(実験2)1回の刺激時間に関する検討に振り分けた。各実験において、ラットの群分けは、それぞれ3群とした。

(実験1) 刺激なし群, 1回刺激群, 2回刺激群

(実験2) 刺激なし群, 30分刺激群, 60分刺激群

ラットは、個別にケージ内にて飼育し、水や餌を自由に摂取させた。飼育室の照明は、12時間ごとに点灯と消灯を行い、昼と夜を設定した。また飼育室の温度は、空調を使用して23℃と一定になるように設定した。関節固定や下肢の非荷重を再現する後肢懸垂、関節可動域測定、電気刺激などの処置は、麻酔薬を腹腔内に投与し、十分麻酔が効いた状態で実施した。各実験期間は1週間とした。以下の(1)~(5)の処置は、実験1と実験2の両方において同様に行った。本研究は、県立広島大学保健福祉学部附属の動物実験施設を使用し、県立広島大学動物実験委員会の承認を受けて行った(承認番号: 第18A-029号-1)。

#### (1)関節固定

すべてのラットの右足関節は、麻酔下にて最大底屈位に非伸縮性テープを使用して固定した。テープの緩みや浮腫を確認した際には、適宜巻替えを行った。

#### (2)後肢懸垂

すべてのラットの尾部には、麻酔下にて直径 1.0mm のキルシュナー鋼線を刺入し、三角形を形成した 後肢懸垂は、形成した三角形にナスカンフックを組み合わせ、ケージの天井金網に掛け、後肢を非荷重状態とすることで実施した。

#### (3)足関節背屈角度の測定

すべてのラットの右足関節背屈角度の測定は、実験初日および最終日（以下、1 週間後）の関節固定と後肢懸垂解除後に麻酔下にて行った。まず、すべてのラットは、側臥位にて固定器を用いて股関節と膝関節を最大屈曲位に固定した。次に右腓骨頭と外果にマーキングを行った。ラットの右足関節背屈は、デジタルテンションメーター（KYOWA Co., LTS-1KA）を用いて他動的に行い、その過程を上方からデジタルカメラを使用して動画として撮影した。デジタルテンションメーターが 0.3N を示した瞬間を静止画として抽出した。0.3N は正常なラットの足関節を最大背屈位まで可動させる最小の力である（沖ら、運動療法と物理療法、2004）。足関節背屈角度の測定は、PC 上にて画像解析ソフト（Image J ver. 1.52a）を用いて実施した。基本軸は、腓骨頭と外果を結ぶ直線とし、移動軸は、踵骨底面とした。

#### (4)ヒラメ筋の伸張性評価

1 週間後の足関節背屈角度の測定後、各群のラットは、ヒラメ筋の引張試験を行う個体とコラーゲン量評価を行う個体に分けた。ヒラメ筋の引張試験を実施するラットの右後肢には、直径 0.7mm のキルシュナー鋼線を右踵骨と脛骨に刺入し、足関節最大底屈位にて固定した。麻酔薬の過剰投与による安楽死後、ラットの表皮は切離した。次にラットの右後肢は、足根骨部にワイヤーを刺入し、大腿部から切断して大腿部とワイヤーを介して引張試験機（SHIMADZU Co., AGS-X 5kN）に取り付けた。引張試験機に取り付けたラット右後肢は、ヒラメ筋を残し、その他の組織を切断した。引張試験は、先行研究（Sato et al., J Phys Ther Sci, 2018）を参考に 10mm/min の速度で実施し、10mm 伸張時の抗張力を測定値として採用した。

#### (5)ヒラメ筋のコラーゲン量評価

引張試験を実施していない各群のラットは、1 週間後の足関節背屈角度の測定後に麻酔薬の過剰投与により安楽死させ、右ヒラメ筋を摘出した。摘出したヒラメ筋は、ドライアイスにより冷却したアセトンに浸漬して瞬間凍結し、-80℃ の冷凍庫で保管した。ヒラメ筋組織の標本は、クリオスタットを使用して厚さ 10 $\mu$ m に薄切し、横断切片を作成してスライドガラスに載せた。ヒラメ筋の横断切片は、4%のパラホルムアルデヒドによる組織固定後、Type コラーゲンの一次抗体に浸漬し、一晚恒温保持した。その後、PBS にて洗浄した切片は、蛍光標識を含んだ Type コラーゲンの二次抗体に浸漬した。染色した切片は、200 倍の拡大像としてオールインワン顕微鏡（KEYENCE Co., BZ-X710）を用いて撮影した。撮影した画像は、無作為に 5 視野を選択し、選択した範囲の発光部分の面積を画像解析ソフト（KEYENCE Co., BZ-X Analyzer）を用いて測定し、コラーゲン量とした。

#### (6)電気刺激の方法

麻酔下にて、ラットは関節固定を維持したまま左側臥位とした。使用した電気刺激装置は、PULSECORE-PRO（OG 技研株式会社、KR-7）である。電気刺激部位は、ラットの右坐骨神経直上とし、今回の標的組織であるヒラメ筋の収縮を誘発した。電気刺激の条件は、刺激強度 30 V、周波数 10 Hz、刺激・休止時間 1 秒ごととした。電気刺激は、実験初日から実験最終日前日まで毎日実施した。各実験におけるそれぞれの群の刺激頻度・時間は以下の通りとした。

##### (実験 1) 刺激頻度に関する検討

刺激なし群：麻酔のみ投与

1 回刺激群：麻酔下にて 30 分/回の電気刺激を 1 日 1 回実施

2 回刺激群：麻酔下にて 30 分/回の電気刺激を 1 日 2 回実施

##### (実験 2) 1 回の刺激時間に関する検討

刺激なし群：麻酔のみ投与

30 分刺激群：麻酔下にて 30 分/回の電気刺激を 1 日 1 回実施

60 分刺激群：麻酔下にて 60 分/回の電気刺激を 1 日 1 回実施

#### (7)統計学的解析

足関節背屈角度における統計学的解析は、群と測定時期を独立変数とし、足関節背屈角度を従属変数とする対応のある二元配置分散分析を実施した。その後、交互作用を認めた場合には、単純主効果を求めた。ヒラメ筋の伸張性およびコラーゲン量における統計学的解析は、正規性を確認し、正規性を認めた場合に一元配置分散分析、正規性を認めない場合に Kruskal-Wallis 検定を行った。その後、有意差を認めた場合に事後検定を実施した。有意水準は 5%未満とした。

## 4. 研究成果

### (実験 1)

群と測定時期の間には、交互作用を認めたため、単純主効果を求めた。1 週間後において、すべての群の足関節背屈角度は、実験初日と比較して有意に低下していた。1 週間後における 1 回刺激群および 2 回刺激群の足関節背屈角度は、刺激なし群と比較して低下が有意に軽度であった。1 週間後における 2 回刺激群の足関節背屈角度の結果は、1 回刺激群と比較しても低下が軽度であった。1 回刺激群および 2 回刺激群のヒラメ筋の伸張性は、刺激なし群と比較して有意に低下が軽減された。また、1 回刺激群および 2 回刺激群のヒラメ筋のコラーゲン量は、刺激なし群と比較して有意に増加が抑制された。

## (実験2)

群と測定時期の間には、交互作用を認めたため、単純主効果を求めた。1週間後において、すべての群の足関節背屈角度は、実験初日と比較して有意に低下していた。1週間後における30分刺激群および60分刺激群の足関節背屈角度は、刺激なし群と比較して低下が有意に軽度であった。1週間後における30分刺激群の足関節背屈角度の結果は、60分刺激群と比較しても低下が軽度であった。30分刺激群および60分刺激群のヒラメ筋の伸張性は、刺激なし群と比較して有意に低下が軽減された。また、30分刺激群および60分刺激群のヒラメ筋のコラーゲン量は、刺激なし群と比較して増加が抑制される傾向にあった。

下肢の非荷重を伴う関節固定期間中には、骨格筋の筋収縮は減少していることが推測される。これにより、骨格筋の不動が強く惹起され、関節拘縮は、関節固定のみと比較して重症化すると考えられる。電気刺激は、筋収縮の減少に直接介入できる方法である。従来の関節拘縮に対する電気刺激は、人工的に筋収縮を生じさせることで関節運動を引き起こし、関節の不動を軽減することを目的に実施されてきた。しかし、関節固定期間中に電気刺激を実施した場合、関節固定によって生じる関節拘縮を予防する効果があることが明らかにされた。予備的研究において、我々は、電気刺激が下肢の非荷重を伴う関節固定によって生じる関節拘縮においても予防効果を有することを明らかにした。本研究においても実験1と実験2ともに、電気刺激は、ヒラメ筋のコラーゲン量増加を抑制する傾向を示し、ヒラメ筋の伸張性低下を軽減し、足関節背屈角度の低下を予防する効果を有することが明らかとなった。実験1において、電気刺激の頻度を2回/日とした場合の関節拘縮の予防効果は、電気刺激の頻度を1回/日とした場合と比較して効果が高かった。Williams PEは、1日15分のストレッチングにより関節拘縮の予防効果を認め、1日30分以上のストレッチングにより関節拘縮の発生を完全に予防できると報告した(Williams PE, Ann Rheum Dis, 1990)。このため、関節拘縮の予防効果は、一日の中での介入時間が長い方が良好であることが考えられる。本研究において、実験1の2回刺激群や実験2の60分刺激群は、それぞれ1回刺激群や30分刺激群と比較して関節拘縮の予防効果が高いと仮説を立てた。関節拘縮の予防効果は、実験1では2回刺激群の方が1回刺激群より高く、仮説通りの結果となった。またOno T et al.は、1日連続8時間の関節固定を1週間実施した場合と1日8時間の関節固定を4時間ずつ2回に分けて1週間実施した場合を比較し、関節拘縮の発生について調査した(Ono T et al., J Phys Ther Sci, 2014)。その結果、関節拘縮は、1日連続8時間の関節固定を1週間実施した場合に発生し、1日8時間の関節固定を4時間ずつ2回に分けて1週間実施した場合に発生しなかったことが明らかとなった。この結果から、1日の中で同じ不動時間であっても、1回の不動時間が短くなった方が、関節拘縮の発生を軽減できることが推測される。本研究の実験1における2回刺激群では、電気刺激による筋収縮という骨格筋にとっての不動を軽減する介入が1日に2回実施された。このことから、2回刺激群における関節拘縮の予防効果は、1回刺激群と比較して1回の不動時間が短くなったことで高まったと考えられる。

一方、実験2では60分刺激群における関節拘縮の予防効果は、30分刺激群より低いという結果であり、仮説と異なる結果であった。10~30Hz程度の低頻度刺激では、筋疲労による筋収縮張力の低下からの回復が長時間継続し、場合によっては数十時間要することがあると報告されている(和田ら, 体力科学, 2012)。本研究において、60分刺激群は、30分刺激群の倍程度に低頻度刺激を実施したことになる。このため、60分刺激群における電気刺激後の筋収縮張力の回復は、30分刺激群と比較して長期化したことが推測される。これにより、60分刺激群は、電気刺激により一時的に筋収縮が増加したものの、その後筋疲労によりかえって不活動状態が惹起され、関節拘縮の予防効果が阻害されたと考えられる。

本研究は、特に刺激頻度や1回の刺激時間に着目し、電気刺激条件の適用方法の違いが非荷重を伴う関節固定によって生じる拘縮拘縮に与える影響を明らかにした初めての研究である。一方、本研究には限界がある。実験1と実験2ともにヒラメ筋の伸張性やコラーゲン量は、1回刺激群と2回刺激群の間、30分刺激群と60分刺激群の間に有意差を認めなかった。しかし、関節拘縮の予防効果にはそれぞれ2群間に差があった。このため、電気刺激は、骨格筋以外への影響を生じていた可能性が示唆されるが、本研究では明らかにされていない。また、各刺激頻度・刺激時間を用いても関節拘縮の発生を完全に予防するには至らなかった。今後は、電気刺激による過度の筋疲労のリスクを考慮し、最小限の電気刺激条件を検討していきたいと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	小野 武也  (ONO TAKEYA)		