

機関番号：17301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21800038

研究課題名（和文）：ステロイド筋症由来の筋萎縮に対する温熱刺激の効果と臨床応用の可能性を探る

研究課題名（英文）：Investigation for the effect of heat stress in steroid-induced muscle atrophy and the possibility of clinical application

研究代表者

森本 陽介 (MORIMOTO YOSUKE)

長崎大学・大学病院・理学療法士

研究者番号：40534409

研究成果の概要（和文）：

本研究ではステロイド筋症モデルラットを用い、温熱刺激が筋線維萎縮の予防あるいは進行抑制に有効かを検証した。結果、ステロイド剤の投与と同時に温熱刺激による治療介入を行うと筋線維萎縮の発生を予防することが可能であることが示唆された。一方、ステロイド筋症が発症した後に温熱刺激による治療介入を行っても筋線維萎縮の進行を抑制する効果は乏しいことも明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study was to clarify the effect of heat stress on steroid-induced muscle atrophy in rat extensor digitorum longus muscle. As a result, the occurrence of the muscle atrophy was able to be prevented when heat stress at the same time as administering the steroid. However, it was difficult to control the progress of the muscle atrophy even if heat stress after the steroid-induced myopathy developed.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,060,000	318,000	1,378,000
2010年度	960,000	288,000	1,248,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,020,000	606,000	2,626,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：ステロイド、筋萎縮、温熱刺激、Hsp72

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチや重症筋無力症、気管支喘息などに対してステロイド剤が投与されることは多いが、多岐にわたる副作用が問題となる。中でも運動器の副作用として知られているステロイド筋症の発症は速筋線維優位の筋萎縮が生じることから筋力低下が顕著に認められる。先行研究によれば、ステロイド筋症に対しては筋収縮運動がその進行抑制に有効と報告されているが、疾患

自体が重症化し、筋収縮運動が実施できない症例も存在する。そのため、筋収縮運動に代わる新たな治療方法の開発が必要と考えられ、本研究課題においては温熱刺激の影響について着目した。

2. 研究の目的

(1) 温熱刺激によるステロイド筋症の予防効果の検証

ステロイド剤の投与によってラットにステ

ロイド筋症を発症させ、その過程で温熱刺激を負荷し、筋線維におよぼす影響を検討することで、筋萎縮の予防効果を明らかにする。

(2) 温熱刺激によるステロイド筋症の進行抑制効果の検証

一旦、ラットにステロイド筋症を発症させ、その後、温熱刺激を負荷し、筋線維におよぼす影響を検討することで、筋萎縮の進行抑制効果を明らかにする。

(3) 温熱刺激を利用した治療法の臨床応用の可能性の検証

以上の2点の結果を照合し、ステロイド筋症に温熱刺激を利用した治療方法が適用可能か、また、適用可能な時期と困難な時期が存在するのかなど、臨床応用への示唆を提示する。

3. 研究の方法

1) 実験動物

実験動物には8週齢のWistar系雄性ラットを用い、生理食塩水を投与する群(Control群、以下C群)、ステロイド剤を投与する群(Steroid群、以下S群)、ステロイド剤を投与し温熱刺激を負荷する群(Steroid & Heat群、SH群)の3群を設定した。そして、S群とSH群に対してはステロイド剤としてリン酸デキサメタゾンナトリウムを体重1kgあたり2mgの用量で傍脊柱に皮下注射し(6回/週)、ステロイド筋症を発症させ、C群に対しては同量の生理食塩水を皮下注射する疑似処置を行った。また、SH群に対しては42°Cに設定した温水浴内に60分間(3回/週)、麻酔下で後肢を浸漬することで温熱刺激を負荷した。なお、以下の2つの実験ともデータに採用したラットの匹数はそれぞれ15匹(延べ30匹)で、各群あたりでは5匹のラットのデータである。

2) 温熱刺激によるステロイド筋症の予防効果の検証

実験期間は2週間とし、この実験期間中C群には生理食塩水を、S群にはステロイド剤を投与する実験処置のみを行い、SH群にはステロイド剤を投与する過程において温熱刺激を負荷した。

3) 温熱刺激によるステロイド筋症の進行抑制効果の検証

実験期間は4週間とし、この実験期間中C群には生理食塩水を、S群にはステロイド剤を投与する実験処置のみを行い、SH群にはステロイド剤の投与を2週間継続した後、温熱刺激を開始し、これを2週間実施した。

4) 検索方法

上記の2つの実験ともその期間中はすべてのラットの体重を毎日測定した。そして、実験終了後は麻酔下にて速筋線維で主に構成される長指伸筋を両側から摘出し、以下の検索に供した。すなわち、右側の筋試料は凍結横断切片とした後、その一部はH&E染色を施し、筋病理学的所見の検索を行い、一部はミオシンATPase染色を施し、各筋線維タイプの筋線維直径を計測した。一方、左側の筋試料はホモジェネート、遠心分離後に上清を回収し、抗heat shock protein(以下Hsp)72抗体を用いたWestern blot法を行い、Hsp72含有量を測定した。

4. 研究成果

(1) 温熱刺激によるステロイド筋症の予防効果について

実験中のラットの体重の推移を見ると、ステロイド剤投与の翌日からS群、SH群とも減少を認めたが、実験終了時の体重はこの2群間に有意差を認めなかった。筋病理学的所見としては、S群、SH群いずれにも筋線維の縮小、少数の小径線維や鋭角線維の出現が認められたが、壊死線維は認められなかった。各筋線維タイプの平均筋線維直径を比較すると、タイプI・IIa線維ともS群はC群より有意に低値を示したが、SH群はS群より有意に高値を示し、C群との有意差も認められなかった(図1, 2)。また、タイプIIb線維の平均筋線維直径はS群、SH群ともC群よりも有意に低値を示したが、SH群はS群よりも有意に高値を示した(図3)。次にHsp72含有量はC群やS群に比べSH群は有意に高値を示した(図4)。

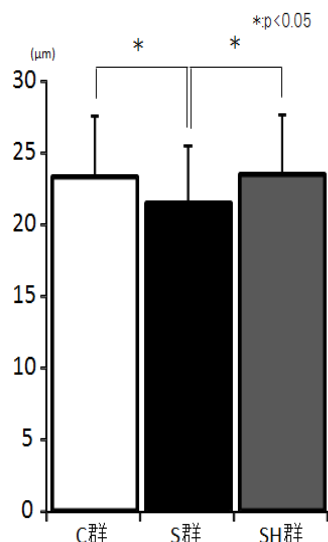


図1. 平均筋線維直径 タイプI線維

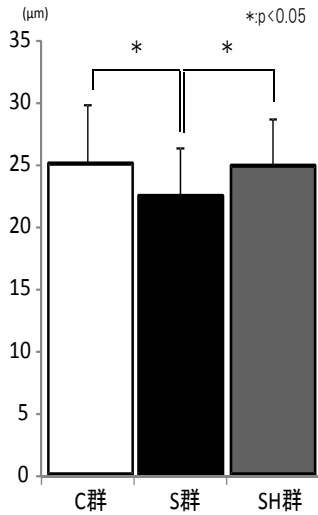


図2. 平均筋線維直径 タイプIIa線維

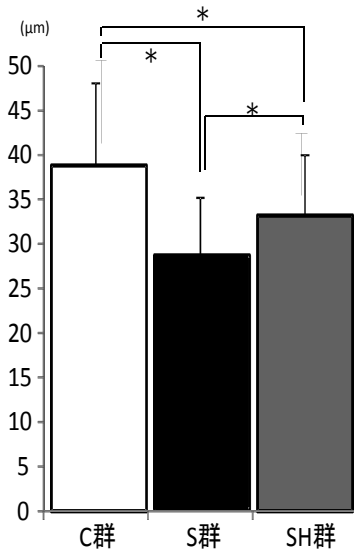


図3. 平均筋線維直径 タイプIIb線維

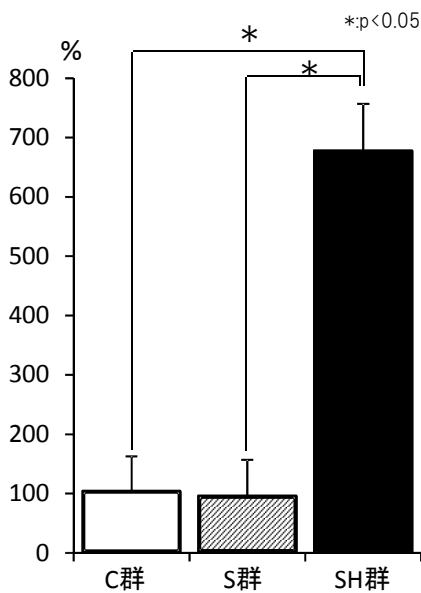


図4. Hsp72含有量

以上の結果から、S群、SH群はステロイド剤投与による体重の減少に加え、筋原性萎縮に特徴的な筋病理学的所見を認め、筋線維萎縮もタイプIIb線維に顕著であることからステロイド筋症の発症が確認されたといえる。そして、S群とSH群の平均筋線維直径を比較すると、すべての筋線維タイプともSH群が有意に高値を示したことから、温熱刺激はステロイド性筋萎縮の発生を予防する効果があるといえる。また、この効果を筋線維タイプ別に比較するとタイプI・IIa線維に比べタイプIIb線維に顕著であり、温熱刺激はステロイド筋症に特徴的な速筋線維優位の筋萎縮に対して効果が高いことが示唆された。加えて、Hsp72含有量はSH群が他の2群より有意に高値を示しており、このことから推察すると温熱刺激によるステロイド性筋萎縮の予防効果にはHsp72の分子シャペロン機能や損傷タンパク質の修復機能が関わっている可能性があるといえよう。

(2) 温熱刺激によるステロイド筋症の進行抑制効果について

3群ともに壊死線維の出現や細胞浸潤などといった筋病理学的所見は認められず、平均筋線維直径を比較すると、すべての筋線維タイプともC群に比べS群、SH群は有意に低値を示した。つまり、S群とSH群にはステロイド筋症が発症しているといえる。次に、S群とSH群の平均筋線維直径を比較するとタイプI・IIa線維においてはSH群が有意に高値を示したが、タイプIIb線においてはSH群が有意に低値を示した(図5,6,7)。また、Hsp72含有量においては、SH群がC群やS群より有意に高値を示した。(図8)。

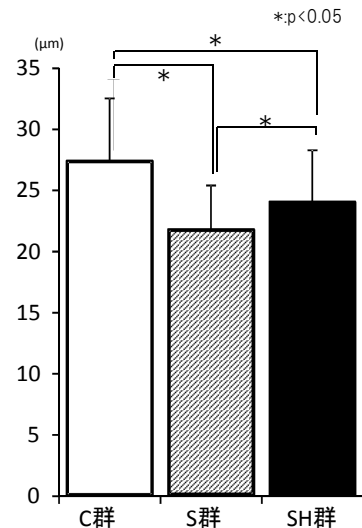


図5. 平均筋線維直径 タイプI線維

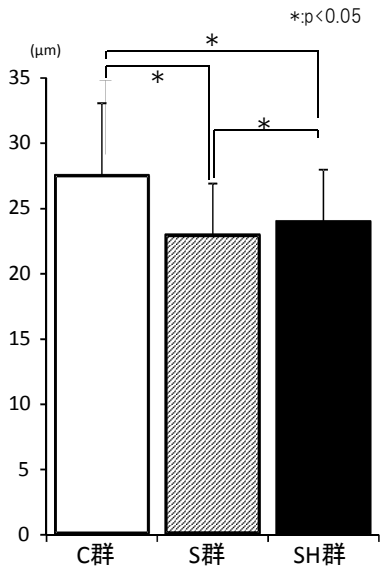


図6. 平均筋線維直径 タイプIIa線維

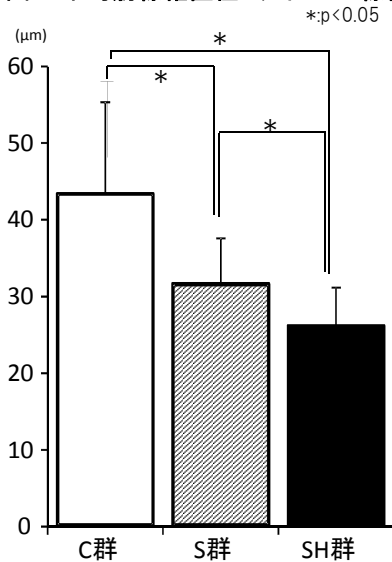


図7. 平均筋線維直径 タイプIIb線維

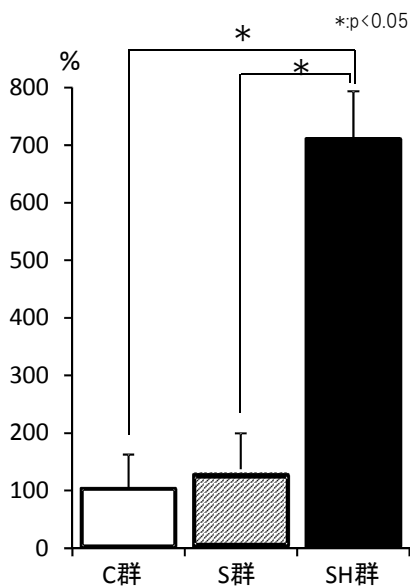


図8. Hsp72含有量

以上の結果から、ステロイド筋症が進行した骨格筋に対して温熱刺激を負荷するとタイプI・IIa線維においてはその後の進行をある程度抑制することは可能であり、これはHsp72の発現が関与していると考えられた。しかし、タイプIIb線維においてはステロイド筋症の病態が最も顕著であるため、温熱刺激を負荷してもその後の進行を抑制することは困難であると結論づけることができると思われる。

(3) 温熱刺激を利用した治療法の臨床応用の可能性について

以上の成果をまとめると、ステロイド筋症の治療として温熱刺激を用いる場合は、ステロイド剤投与と同時に温熱刺激を負荷することで筋線維萎縮の発生を予防することが可能になるといえる。そして、このような温熱刺激の効果は申請者が知る限りでは報告されておらず、新しい治療方法の足掛かりとなり得ると考えられる。しかしながら、ステロイド筋症が発症した後で温熱刺激による治療介入を行っても筋線維萎縮の進行を抑制する効果は乏しく、ステロイド筋症に対する温熱刺激の適用時期には限界があることも示唆された。そのため、今後もさらなる検討を加え、効果的な治療方法の開発に努める予定である。

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2件)

- ① Morimoto Y, Kondo Y, Shimosako J, Kozu R, Kataoka H, Saamoto J, Nakano J, Okita M: Investigation of pain in hip disease patients before and after arthroplasty. J Phys Ther Sc 23(3), 2011(in press), 査読有。
- ② 下迫淳平, 石井 瞬, 川原沙弥香, 森本陽介, 神津 玲, 米倉暁彦, 宮本俊之, スポーツ選手における非接触型前十字靭帯損傷予防に向けた理学療法. 理学療法探求 12: 20-25, 2009, 査読有。

[学会発表] (計9件)

- ① 森本陽介, 吉田奈央, 近藤康隆, 片岡英樹, 坂本淳哉, 神津 玲, 中野治郎, 沖田 実 ステロイド筋症ラットに対する温熱負荷の影響, 第45回日本理学療法学術大会, 2010年5月28日, 岐阜。
- ② 吉田奈央, 片岡英樹, 坂本淳哉, 森本陽介, 中野治郎, 沖田 実, 温熱負荷と筋収縮運動の併用がラット腓腹筋の廃用性筋萎縮におよぼす影響—筋収縮運動の負荷量に着目して—, 第15回理学療法の医学的基

- 礎研究会, 2010年5月26日, 愛知.
- ③ 近藤康隆, 小田太史, 高橋拓哉, 石丸将久, 吉田佳弘, 森本陽介, 片岡英樹, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実, 変形性膝関節症患者の人工膝関節全置換術前後における痛み発生部位の特徴, 第15回理学療法の医学的基礎研究会, 2010年5月26日, 愛知.
- ④ 森本陽介, 下迫淳平, 神津 玲, 近藤康隆, 片岡英樹, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実, 股関節疾患患者の術前後の痛み発生部位に関する実態調査, 第14回痛みを基礎から臨床まで考える会学術集会, 2010年3月14日, 愛知.
- ⑤ 森本陽介, 下迫淳平, 神津 玲, 近藤康隆, 片岡英樹, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実, 股関節疾患患者の術前後の痛み発生部位に関する実態調査, 第2回日本運動器疼痛研究会, 2009年11月7日, 東京.
- ⑥ 瑞慶覧誠, 森本陽介, 江西一成, 起立時循環動態における下肢ポンプ作用の影響, 第44回日本理学療法学会学術大会, 2009年5月28日~30日, 東京.
- ⑦ 近藤康隆, 吉田佳弘, 横山真吾, 片岡英樹, 坂本淳哉, 吉田奈央, 森本陽介, 中野治郎, 沖田 実, 温熱療法と伸張運動の併用が不動終了後の関節可動域の回復状況とラットヒラメ筋の筋内膜コラーゲン線維網におよぼす影響, 第44回日本理学療法学会学術大会, 2009年5月28日~30日, 東京.
- ⑧ 森本陽介, 下迫淳平, 神津 玲, 近藤康隆, 片岡英樹, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実: 股関節疾患患者の術前後の疼痛発生部位に関する実態調査. 第14回理学療法の医学的基礎研究会学術集会, 2009年5月27日, 東京.
- ⑨ 吉田奈央, 片岡英樹, 坂本淳哉, 西川正悟, 森本陽介, 中野治郎, 沖田 実: 温熱負荷と電気刺激による筋収縮運動の併用がラットヒラメ筋の廃用性筋萎縮におよぼす影響. 第14回理学療法の医学的基礎研究会学術集会, 2009年5月27日, 東京.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]
ホームページ等
http://www.am.nagasaki-u.ac.jp/pt/basic_pt/

6. 研究組織

(1)研究代表者

森本陽介 (MORIMOTO YOSUKE)
長崎大学・大学病院・理学療法士
研究者番号 : 40534409

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

(3)連携研究者

沖田 実 (OKITA MINORU)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号 : 50244091
中野治郎 (NAKANO JIRO)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号 : 20380834