

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月22日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22650130

研究課題名（和文） 変形性膝関節症に対する運動療法の生物学的効果とバイオマーカーの開発に関する研究

研究課題名（英文） Biological effects of therapeutic exercise on osteoarthritis of knee and developmental study of biomarker

研究代表者

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

研究成果の概要（和文）：本研究では、変形性膝関節症に対する運動療法の生物学的効果に関する基礎データを提示する目的で、実験的に発症させたラット膝関節炎モデルに対して、機器を用いた持続的他動運動と電気刺激による低負荷の筋収縮運動といった2種類の運動療法による治療介入を行い、痛みや腫脹といった炎症症状におよぼす影響を検討した。結果、いずれの運動療法でも患部である膝関節のみならず、遠隔部にあたる足部の痛みが早期に改善することが明らかとなり、運動療法には生物学的効果があることが示唆された。そして、先行研究の結果を参考にすると、この生物学的効果には関節周囲組織から発現する抗炎症性サイトカインが関与している可能性が見いだされ、病態の進行や治療効果判定に利用できるバイオマーカーとしても有用ではないかと考えられた。

研究成果の概要（英文）：The objective of this study is to present the basic data for biological effects of therapeutic exercise on osteoarthritis of knee. We simulated two kinds of therapeutic exercises like continuous passive motion and low-intensity exercise by neuromuscular electrical stimulation, and examined the effects of therapeutic exercises during the early stages of arthritis on inflammation and pain-related behavior in rat's arthritis model. As a result, therapeutic exercises significantly accelerated the amelioration of joint swelling and pressure withdrawal threshold and increased the mechanical withdrawal threshold immediately after treatment. We hypothesized that the mechanism of such a biological effect by therapeutic exercise related to the up-regulation of anti-inflammatory cytokine on surrounding tissue of joint. Additionally, we assumed that anti-inflammatory cytokine was able to use as the biomarker.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	0	1,500,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	2,900,000	420,000	3,320,000

研究分野：総合領域

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：変形性膝関節症・痛み・運動療法・持続的他動運動・筋力トレーニング・
抗炎症性サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

わが国の急速な高齢化に伴い、運動器の加齢性疾患が急増している。中でも、変形性膝関節症 (osteoarthritis of knee; 以下、膝 OA) についてはわが国の ROAD (research on osteoarthritis against disability) スタディによると患者数は1,000万人にもおよぶとされている。したがって、その治療法は消炎鎮痛剤の内服や関節注射、物理療法などといった伝統的方法から汎用性、経済性、安全性のある方法が求められており、特に注目されているのが運動療法である。そして、このような状況は先進各国でも同様であることから、1990年代後半から膝 OA に対する運動療法のランダム化比較対照試験 (randomized controlled trial; 以下、RCT) の結果が数多く報告されるようになり、そのほとんどで膝 OA の痛みなどの愁訴については運動療法によって改善することが明らかにされている (O'Reilly SC, et al.: Ann Rheum Dis 58: 15-19, 1999. Doi T, et al.: Am J Phys Med Rehabil 87: 258-269, 2008.)。つまり、運動療法は膝 OA に対してエビデンスのある有効な治療手段ということが出来る。しかしながら、運動療法の効果のメカニズムに関しては未だ想像の域を脱していない現状があり、早急に解決すべき課題である。

膝 OA に対する運動療法の効果のメカニズムに関して、従来は運動療法によって膝関節周囲筋の筋力が増強し、その結果としてバイオメカニカルに膝関節への負担が減少し、痛みなどの愁訴が改善するのではないかと考えられてきた。しかし、RCT で効果が認められている運動療法は最大筋力の40%以下の負荷強度によるもので、筋生理学的には筋力増強がみられない程度の低強度の筋力トレーニングである。つまり、従来から考えられてきたメカニズムに基づいて膝 OA の痛みが軽減したとは考えにくく、運動療法自体に生物学的効果があり、膝 OA の痛みの軽減に直接的な影響をおよぼしているのではないかという仮説が成り立つ。

2. 研究の目的

生物学的効果として特に注目しているのは各種の炎症性サイトカインの動態であり、特に、関節炎の発症に関与するとされている腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor; 以下、TNF) α やインターロイキン (interleukin; 以下、IL) \cdot 1 の発現が運動療法の実施によって制御されるか否かを明らかにすることができれば、膝 OA に対する運動療法の生物学的効果が明らかになるだけでなく、病態の進展や治療効果判定に利用できるバイオマーカーの開発につながる可能性がある。

そこで、本研究では膝 OA に対する運動療法の生物学的効果に関する基礎データを提

示する目的で、膝 OA の実験動物モデルに対する2種類の治療介入方法をシミュレーションし、これらの運動療法が痛みや腫脹といった炎症症状ならびに組織学的な膝 OA の病態におよぼす影響を検討した。

3. 研究の方法

本研究課題の目的を明らかにするために、運動療法による治療介入方法として2種類をシミュレーションする研究デザインを組み立てた。そこで、それぞれの研究デザインについて以下に方法を述べる。

(1) ラット膝関節炎モデルに対する持続的他動運動の早期介入が腫脹や痛みにおよぼす影響

実験動物には8週齢のWistar系雄性ラット30匹を用い、①起炎剤である3% λ -カラゲニン (シグマ社) \cdot 3%カオリン (Wako社) 混合液300 μ lを右膝関節に注入し、関節炎を惹起させる関節炎群 (n=10)、②同様に右膝関節に関節炎を惹起させた後、持続的他動運動 (continuous passive motion; 以下、CPM) を実施する CPM 群 (n=10)、③疑似処置として生理食塩水300 μ lを右膝関節に注入する対照群 (n=10) に振り分けた。そして、CPM 群に対しては起炎剤投与4日目からアングルストレッチャー (酒井医療社製) を用い、麻酔下で角速度10 $^{\circ}$ /秒の膝関節屈曲伸展運動を60分間 (週5回) 実施した。

次に、各群に対しては起炎剤もしくは生理食塩水を投与する前日ならびに投与後1 \cdot 3 \cdot 7 \cdot 10 \cdot 14 \cdot 17 \cdot 21 \cdot 24 \cdot 28 \cdot 31日目に右側膝関節の腫脹と圧痛閾値ならびに遠隔部である足背の痛覚閾値を評価した。方法としては、膝関節の横径をノギスで測定することで腫脹を評価し、プッシュプルゲージにて膝関節外側裂隙部に圧刺激を加え、後肢の逃避反応が出現する荷重量を測定することで圧痛閾値を評価した。また、足背の痛覚閾値は4 \cdot 15gのvon Frey filament (VFF) を用いてそれぞれ10回刺激し、その際の後肢の逃避反応の出現回数を測定することで評価した。統計処理としては、評価期日毎に一元配置分散分析を適用し、事後検定には Scheffe 法を用いて各群間の有意差を判定した。

加えて、実験終了後には各群から注射側 (右側) の膝関節を採取し、4%パラホルムアルデヒドにて組織固定を行い、脱灰処理の後にパラフィン包埋を行った。そして、包埋した試料はマイクロームを用いて5 μ m厚の矢状断切片を作製した後、Hematoxylin & eosin (以下、H&E) 染色を施し、光学顕微鏡で検鏡した。そして、この組織学的検索を通して、実験終了時の各群の膝関節組織の炎症を評価した。

(2) ラット膝関節炎モデルに対する患部の不動ならびに低強度の筋収縮運動が痛みや腫脹におよぼす影響

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 21 匹を用い、①起炎剤である 3% λ -カラゲニン (シグマ社)・3%カオリン (Wako 社) 混合液 300 μ l を右膝関節に注入し、関節炎を惹起させる関節炎群 (n=5)、②関節炎の惹起後、右膝関節をギプスで不動化する不動群 (n=5)、③関節炎の惹起後、低強度の筋収縮運動を実施する運動群 (n=6)、④疑似処置として生理食塩水 300 μ l を右膝関節に注入する対照群 (n=5) に振り分けた。そして、不動群に対しては起炎剤投与翌日から右膝関節を最大伸展位で 4 週間不動化し、運動群に対しては、起炎剤投与翌日から膝関節伸展運動を 20 分間 (週 6 回) 実施した。具体的には、麻酔下で低周波治療器トリオ 300 (伊藤超短波製) を使用し、大腿四頭筋を電気刺激することで膝関節伸展運動を誘発させた。なお、実験終了後は筋収縮運動による筋肥大効果を確認するため、大腿直筋の凍結横断切片を H&E 染色し、各群の筋線維直径を比較した。

一方、各群に対しては起炎剤もしくは生理食塩水を投与する前日ならびに投与後 1・7・14・21・28 日目に右側膝関節の腫脹と圧痛閾値ならびに遠隔部である足底の痛覚閾値を評価した。なお、具体的は方法に関しては前述と同様である。

加えて、実験終了後には各群から注射側 (右側) の膝関節を採取し、4%パラホルムアルデヒドにて組織固定を行い、脱灰、パラフィン包埋した試料を H&E 染色し、組織学的検索によって膝関節組織の炎症を評価した。

4. 研究成果

研究の方法と同様に、ここでもそれぞれの研究デザインの成果を述べる。

(1) ラット膝関節炎モデルに対する持続的運動の早期介入が腫脹や痛みにおよぼす影響

関節炎群の腫脹は起炎剤投与後 1 日目をピークに 31 日目まで対照群より有意に増加していた。また、CPM 群の腫脹も起炎剤投与後 1 日目から 3 日目までは対照群より有意に増加し、関節炎群との有意差も認めなかったが、7 日目以降は対照群との有意差は認められず、14・28・31 日目は関節炎群よりも有意に減少していた (図 1)。

関節炎群の圧痛閾値は起炎剤投与後 1 日目をピークに 24 日目まで対照群より有意に低下していた。また、CPM 群の圧痛閾値も起炎剤投与後 1 日目から 17 日目まで対照群より有意に低下していたが、それ以降は対照群

との有意差を認めず、しかも 10 日目から 24 日目は関節炎群より有意に上昇していた (図 2)。

足背の痛覚閾値は 4・15g の VFF とほぼ同様の結果で、関節炎群は起炎剤投与後 1 日目から有意に低下し、これは 31 日目まで持続した。一方、CPM 群は起炎剤投与後 1・3 日目は対照群より有意に低下していたが、それ以降は有意差を認めず、さらに 4g の VFF では 10 日以降、15g のそれでは 14 日目以降において CPM 群の痛覚閾値が関節炎群のそれより有意に上昇していた (図 3)。

実験終了時における注射側 (右側) の膝関節の H&E 染色像では、各群とも明らかな炎症所見は認められなかった。

以上の結果から、関節炎群には患部の腫脹や圧痛閾値の低下といった炎症症状が認められるだけでなく、遠隔部である足背の痛覚閾値の低下が 1 ヶ月以上持続していることから慢性痛に発展している可能性が推測され、この結果は Radhakrishnana ら (Pain 104: 567-577, 2003.) の先行研究と同様であった。そして、この慢性痛発生のメカニズムには炎症に伴う過剰な痛み刺激の持続によって起こる中枢性感作が関与しているとされている。一方、CPM 群においても起炎剤投与後 1・3 日目の評価結果はいずれも関節炎群と有意差を認めず、同程度の炎症が発生していたことがうかがわれる。しかし、CPM 群のそ

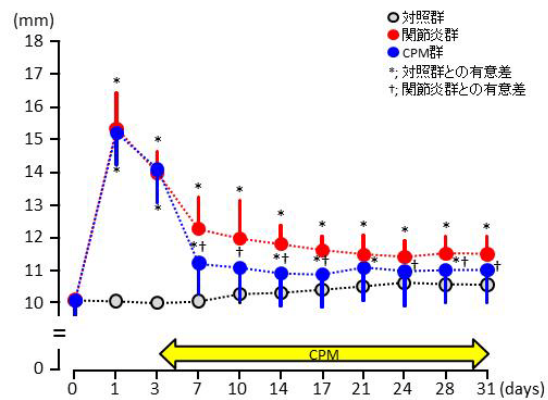


図1 膝関節の腫脹の変化

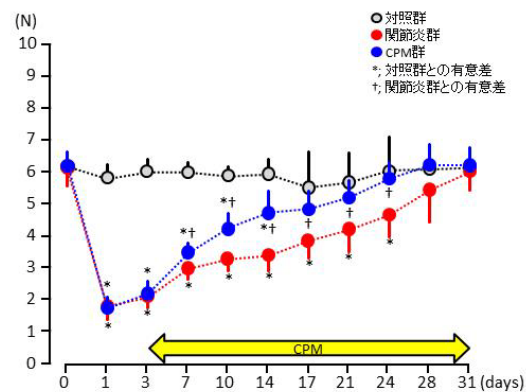


図2 膝関節の圧痛の変化

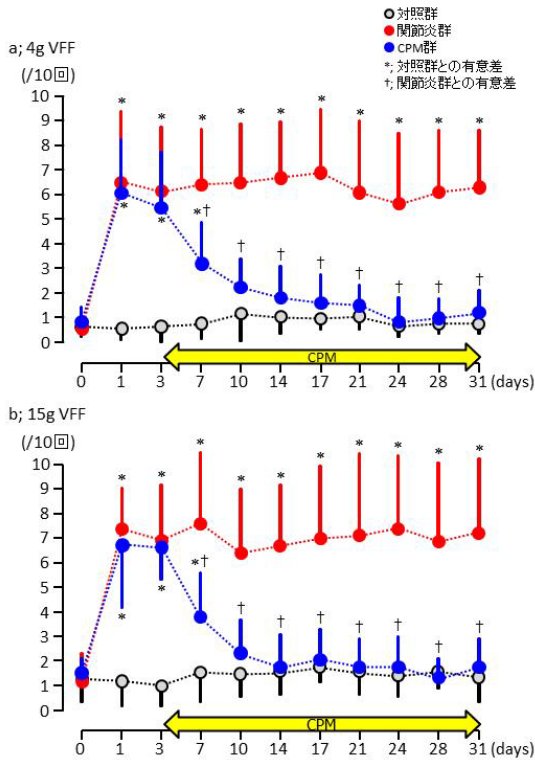


図3 足背の痛覚閾値の変化

の後の評価結果をみると患部の炎症症状のみならず、足背の痛覚閾値の低下も早期に回復しており、これは関節炎発生直後からのCPMの早期介入が慢性痛の発生予防に効果を発揮する可能性を示唆している。そして、このメカニズムには Ferretti ら (J Orthop Res 23: 1165-1171, 2005.) が報告した CPM の抗炎症効果、すなわち抗炎症性サイトカインである IL-10 の発現と炎症性サイトカインである IL-1 β の減少、プロスタグランジンの産生酵素であるシクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase ; COX) -2 の減少などといった生体分子の動態が関与している可能性が推測され、バイオマーカーとしても有力であると推察される。

(2) ラット膝関節炎モデルに対する患部の不動ならびに低強度の筋収縮運動が痛みや腫脹におよぼす影響

大腿直筋の筋線維直径は関節炎群と運動群の間に有意差は認められなかった。腫脹に関しては、関節炎群、不動群、運動群の3群は起炎剤投与後1日目から14日目まで対照群より有意に増加していたが、実験期間を通して3群間に有意差を認めなかった(図4)。

膝関節の圧痛閾値に関しては、関節炎群、不動群、運動群とも起炎剤投与後1日目において対照群より有意に低下し、3群間に有意差を認めなかったが、運動群では7日目から関節炎群、不動群より有意に上昇し、21日目以降は対照群との有意差も認めなかった(図

5)。

足底の痛覚閾値は4・15gのVFFともほぼ同様の結果で、関節炎群は起炎剤投与後1日目から有意に低下し、これは28日目まで持続した。また、不動群は起炎剤投与後1日目から28日目まで対照群より有意に低下し、さらに、21日目以降では、関節炎群のそれより有意に低下していた。一方、運動群は起炎剤投与後1日目から7日目までは対照群より有意に低下していたが、それ以降は有意差を認めず、関節炎群、不動群よりも有意に上昇していた(図6)。

また、注射側である右側膝関節のH&E染色像では、起炎剤を投与した3群全てにおいて滑膜部分に細胞浸潤を伴う炎症所見が認められたが、その程度に違いは認められなかった。

以上の結果から、関節炎群、不動群、運動群の3群における起炎剤投与後1日目の評価結果はいずれも有意差を認めず、これは同程度の関節炎が発症していることを裏付けている。しかし、関節炎群と不動群は遠隔部である足底の痛覚閾値の低下が約1ヶ月持続していることから慢性痛に発展している可能性が推測され、不動群においてはその兆候が顕著であることから、関節炎発症直後からの患部の不動は慢性痛発生に大きく影響すると推察される。一方、運動群においては患部

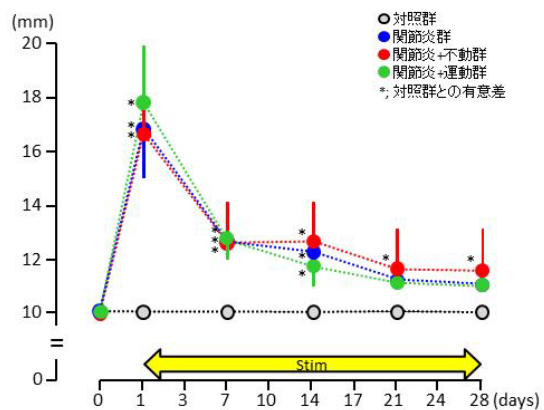


図4 膝関節の腫脹の変化

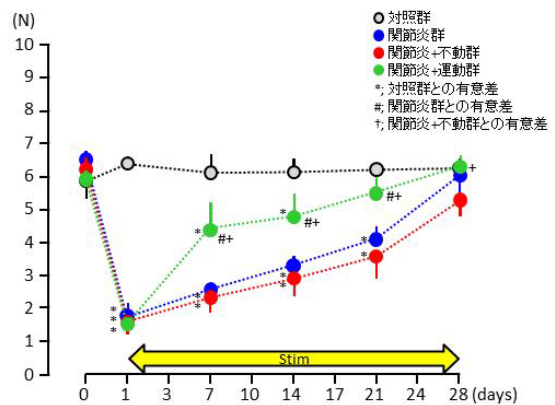


図5 膝関節の圧痛の変化

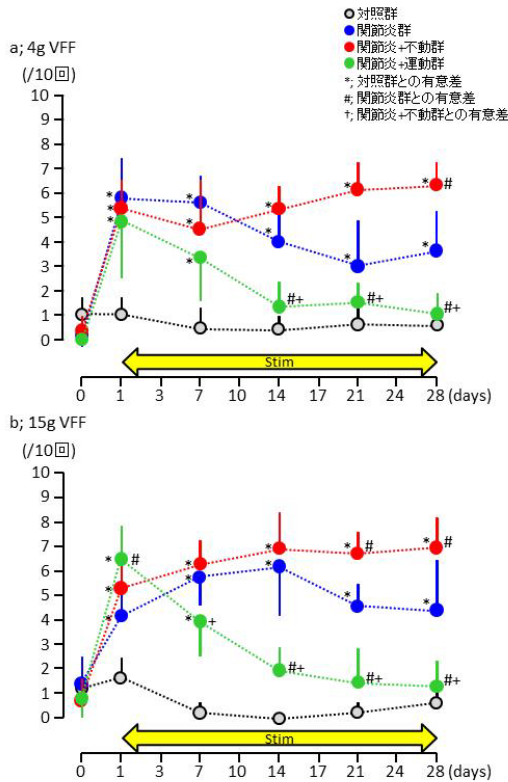


図6 足底の痛覚閾値の変化

の圧痛閾値のみならず、足底の痛覚閾値の低下が関節炎群や不動群と比べ早期に回復しており、この結果は筋収縮運動による痛みの軽減効果ではないかと考えられる。そして、今回検索した大腿直筋の筋線維直径の結果からは、筋収縮運動による筋肥大効果は認められておらず、低強度での運動を再現できていると思われる。つまり、関節炎発症直後の低強度の筋収縮運動は慢性痛の発生予防に好影響をもたらす可能性を示唆している。そして、このメカニズムには Pedersen ら (J Appl Physiol: 1154-1162, 2005.) が報告した筋収縮運動による骨格筋由来の抗炎症作用、すなわち骨格筋産生の抗炎症性サイトカインである IL-6 の発現増加が関与している可能性が推測され、バイオマーカーとしても有力であると推察される。

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 6 件)

- ① 石井 瞬, 下迫淳平, 坂本淳哉, 森本陽介, 上原ひろの, 山下正太郎, 神津 玲, 尾崎 誠, 松坂誠應, 沖田 実: 人工股関節全置換術前後の痛みの発生状況が T 字杖歩行自立日数におよぼす影響. 慢性疼痛 31 :

85-89, 2012. (査読有)

- ② 沖田 実, 矢吹省司, 牛田享宏: 運動器の痛みにおける筋の問題. Practice of Pain Management 2: 4-13, 2011. (査読無)
- ③ 道口康二郎, 森本陽介, 長谷川隆史, 沖田 実: 人工骨頭置換術前・後で膝部から下腿の遠隔部に痛みが長期持続した症例. 慢性疼痛 30: 91-96, 2011. (査読有)
- ④ 沖田 実, 中野治郎, 坂本淳哉, 森本陽介, 近藤康隆, 濱上陽平: 慢性痛の末梢機構. 日本基礎理学療法学雑誌 14: 7-13, 2011. (査読無)
- ⑤ Morimoto Y, Kondo Y, Shimosako J, Kozu R, Kataoka H, Sakamoto J, Nakano J, Okita M: Investigation of pain in hip disease patients before and after arthroplasty. J Phys Ther Sci 23: 535-538, 2011. (査読有)
- ⑥ 沖田 実, 中野治郎, 坂本淳哉, 横山真吾, 近藤康隆, 本田祐一郎, 濱上陽平: 痛みと拘縮—骨格筋の変化からみた拘縮の病態—. 日本運動器疼痛研究会誌 2: 31-38, 2010. (査読有)

[学会発表] (計 10 件)

- ① 寺中 香, 近藤康隆, 片岡英樹, 佐々部陵, 濱上陽平, 関野有紀, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実: ラット膝関節炎モデルに対する患部の不動ならびに低強度の筋収縮運動が痛みや腫脹におよぼす影響. 第 48 回日本理学療法学術大会, 名古屋, 2013. 5.24-26.
- ② 沖田 実: 理学療法士の立場から見た線維筋痛症. 日本線維筋痛症学会第 4 回学術集会, 長崎, 2012.9.15-16.
- ③ 沖田 実: 末梢に対するペインリハビリテーション. 第 17 回日本ペインリハビリテーション学会学術大会, 名古屋, 2012.9.8-9.
- ④ Kondo Y, Yoshino T, Morimoto Y, Sasabe R, Hamaue Y, Sekino Y, Sakamoto J, Nakano J, Yoshida Y, Okita M: Continuous passive motion during the early stages of arthritis reduces joint swelling and improves pain-related behavior in rats. 14th World Congress

on Pain, Milan, Italy, 2012.8.27-31.

- ⑤ 吉野孝明, 近藤康隆, 佐々部陵, 濱上陽平, 関野有紀, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田実: ラット膝関節炎モデルに対する持続的他動運動の早期介入が腫脹や痛みにおよぼす影響. 第 47 回日本理学療法学術大会, 神戸, 2012. 5.25-27.
- ⑥ 片岡英樹, 西川正吾, 渋谷美帆子, 岩佐恭平, 山口紗智, 村上正寛, 中川勇樹, 吉田奈央, 鶴殿紀子, 濱崎 忍, 三村国秀, 山下潤一郎, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田実: 大腿骨近位部骨折術後の痛みの発生状況に関する調査. 第 46 回日本理学療法学術大会, 宮崎, 2011. 5.27-29.
- ⑦ 森本陽介, 近藤康隆, 下迫淳平, 神津 玲, 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 46 回日本理学療法学術大会, 宮崎, 2011. 5.27-29.
- ⑧ 坂本淳哉, 片岡英樹, 吉田奈央, 山口紗智, 西川正吾, 村上正寛, 中川勇樹, 鶴殿紀子, 渋谷美帆子, 岩佐恭平, 濱崎 忍, 三村国秀, 山下潤一郎, 中野治郎, 沖田 実: 大腿骨近位部骨折術後の痛みの発生状況に関する実態調査. 第 45 回日本理学療法学術大会, 岐阜, 2010. 5.27-29.
- ⑨ 沖田 実, 中野治郎, 坂本淳哉, 森本陽介, 濱上洋平: 慢性痛の末梢機構. 第 15 回理学療法の医学的基礎研究会学術集会, 名古屋, 2010. 5.26.
- ⑩ 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学術集会, 名古屋, 2010. 5.26.

[図書] (計 2 件)

- ① 松原貴子, 沖田 実, 森岡 周: Pain Rehabilitation—ペインリハビリテーション, 三輪書店, 2011, 総ページ数 411.
- ② 沖田 実, 松原貴子, 森岡 周 (編): 機能障害科学入門, 九州神稜文庫, 2010, 総ページ数 386.

[その他]

- ① ホームページ
http://www.am.nagasaki-u.ac.jp/pt/basic_pt/
- ② 週刊誌取材報道
週刊文春 4 月 4 日号 (2013), pp48-51.
- ③ 学会賞受賞
第 47 回日本理学療法学術大会奨励賞
演題名: ラット膝関節炎モデルに対する持続的他動運動の早期介入が腫脹や痛みにおよぼす影響
演者: 吉野孝明, 近藤康隆, 佐々部陵, 濱上陽

平, 関野有紀, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田実:

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

坂本淳哉 (SAKAMOTO JYUNYA)
長崎大学・大学病院・理学療法士
研究者番号: 20584080

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