

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790495

研究課題名(和文)皮膚および筋の高線量放射線障害に対してリハビリテーションは有効か？

研究課題名(英文)Is rehabilitation effective for the high-dose radiation induced disorder of skin and muscle in rats?

研究代表者

成田 大一(NARITA, Hirokazu)

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90455733

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、皮膚や筋の放射線障害に対してリハビリテーション(トレッドミル走行)がどのような影響を及ぼすが明らかにすることである。方法として、ラット後肢の放射線障害モデルを作製し、運動負荷実施の有無で群分けし、機能ならびに組織の解析を行った。その結果、放射線を照射された筋においても運動負荷により筋委縮の抑制効果が認められた。しかし皮膚においては血流障害を伴う変性が増悪しており、運動負荷は逆効果になることが示唆された。以上のことから、放射線障害の重症度や対象部位、病期に応じたリハビリテーション介入を選択する必要性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to demonstrate the effect of rehabilitation (treadmill exercise) on the high-dose radiation induced disorder of skin and muscle in rats. Rats were locally irradiated to the hind limbs and randomly allocated into a control group, 50-Gy X-irradiation group and 50-Gy X-irradiation with treadmill exercise group. At 7 weeks after the irradiation, skin and muscle of the rat's hind limbs were histologically examined. As a result, the treadmill exercise was effective to maintain the thickness of the muscle fibers after irradiation. In contrast, in the skin, the exercise was thought to be detrimental because the degree of tissue degeneration with vascular alteration became worse. Therefore, it is necessary to choose a suitable rehabilitation approach depending on the severity, target region and stage of the radiation induced disorder.

研究分野：解剖学

キーワード：放射線障害 リハビリテーション トレッドミル走行 皮膚 筋

1. 研究開始当初の背景

2011年3月11日の東日本大震災に起因する福島第1原子力発電所の事故により、原子力関連の有事に対応する医療、すなわち「緊急被ばく医療」の重要性が再認識されている。緊急被ばく医療における被ばく患者に対する治療は第1に救命、第2に創傷部の治療が目的とされている。しかし、放射線災害の中でも1999年の東海村JCO事故では、高線量の被ばくにより被ばく者の皮膚や筋にも重大な障害が発生し、関節可動域の保持やADLの再獲得のために早期からのリハビリテーション介入が必要であると報告されている¹。

一般的に高線量被ばくによる主な障害としてDNA損傷があげられる。このDNA損傷は、細胞再生が盛んな部位ほど大きな影響を与え、細胞再生能の低下を惹起する。皮膚の場合、表皮の基底層で細胞分裂が盛んにおこなわれているため、基底層で大きな障害を受け、組織のターンオーバーとともに徐々に悪化し、皮膚の硬化などの障害が生じる。筋の場合は、皮膚ほど細胞分裂が盛んではないため比較的放射線に対して耐性があるといわれている。しかし一方で筋細胞の再生の源となる筋サテライト細胞は放射線によって不活性になると報告されており²、いったん筋損傷が生じた場合には筋が再生しない可能性があることが容易に想像される。

果たして、このように放射線障害により細胞の再生能の低下した皮膚や筋にリハビリテーション介入は有効なものであろうか？

これまで我々は、運動器系臓器の放射線障害に対するリハビリテーションの効果について調査を行ってきた³。しかし、近年では放射線治療の副作用として特に皮膚に放射線障害が発生するケースが多く報告されているものの、被ばく患者に対して実際にリハビリテーションを実施した報告は上述のJCO事故における被ばく患者のみで、そのリハビリテーション介入によって皮膚や筋に具体的にどのような変化が起こったのかという効果については検証されていなかった。

以上のことから、放射線障害に対するリハビリテーション介入の効果을明らかにし、その介入効果を示すことが出来たならば放射線障害に対する機能回復のための新たな治療戦略としてリハビリテーションを位置づけることが出来ると考える。

2. 研究の目的

上記の背景をもとに、本研究ではラットを用いた皮膚および筋の放射線障害病態モデルを作製し、リハビリテーション介入(トレッドミル走行)が、関節可動域ならびに皮膚や筋の組織にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、弘前大学動物実験委員会に実験計画書を提出し承認(承認番号:G13001)

を受けた後、同委員会が定める規定に基づき実施した。

(1) ラット後肢の放射線障害モデルの作製

放射線照射は深麻酔下にあるラットの両後肢に局所的に実施した。放射線照射にあたっては、自作の固定器にてラットを背臥位に固定し、両後肢以外を厚さ3mm以上の鉛板にて遮蔽し、後肢のみに放射線が照射されるようにした。放射線の照射にはX線照射装置MBR-1520R(150kV and 20mA, Hitachi Medical Corporation, Tokyo, Japan)を使用し、照射線量は50Gyとした。

(2) 実験動物ならびに実験方法

実験動物には8週齢のWistar系雄性ラット18匹を用い、これらを1週間通常飼育し環境に慣れさせた。その後、無作為に通常飼育する群(Con群, n=7)、X線を照射後、通常飼育する群(50Gy群, n=5)、X線を照射後、トレッドミル走行による運動負荷を実施する群(T群, n=6)の3群に振り分け、50Gy群とT群には上述の方法でX線を照射した。T群にはX線照射翌日から、リハビリテーション介入としてトレッドミル走行(速度12m/min)を1日20分、1週間に5日間行った。実験期間は7週間とし、評価項目として1週間に1度ラット足関節の最大背屈角度を測定するとともに、実験最終日にX線照射部位のヒラメ筋と皮膚を深麻酔下で採取し、組織学的に解析を行った。評価項目の詳細を以下に示す。

足関節最大背屈角度測定

深麻酔下にあるラットの股ならびに膝関節を90度屈曲位にし、検者がラットの足関節を他動的に背屈させ、抵抗を感じた角度を保持し、測定した。基本軸は膝関節裂隙中央と腓骨外果を結ぶ線、移動軸を足根骨の足底面とし、角度は角度計を用いて5°刻みで測定した。

ヒラメ筋の筋線維横断面面積の測定

採取した右ヒラメ筋を長軸方向に対して垂直に2等分し、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液で固定した。続いてパラフィンに包埋後、5μmに薄切し、Hematoxylin-eosin染色を行った。組織像は、顕微鏡用デジタルカメラ(Olympus BX50)にて20倍の拡大像で撮影し、パソコン上にて筋線維の横断面面積を画像解析ソフトImage Jを用いて測定した。測定した筋線維数は1筋につき100本以上とし、その平均値を算出した。

皮膚の組織学的解析

右下腿部から採取した皮膚を凍結包埋した後、10μmに薄切し、Hematoxylin-eosin染色を行った。組織像の病理組織学的評価は病理診断学の経験がある医師が行った。

(3) 統計解析

各群ならびに各測定時における足関節最大背屈角度の比較, および各群の筋横断面積の比較には Tukey-Kramer 法を用いた。全ての統計解析において有意水準は 5%未満とした。

4. 研究成果

(1) 足関節最大背屈角度の結果

各群における群内比較の結果

50Gy 群および T 群の両群で 1 週目以前と比較すると 2 週目以降で有意に足関節背屈角度の低下が認められた(図 1)。このことから照射直後から 1 週目にかけては放射線の影響は少なく, 2 週目以降から徐々に放射線の影響が現れることが明らかになった。

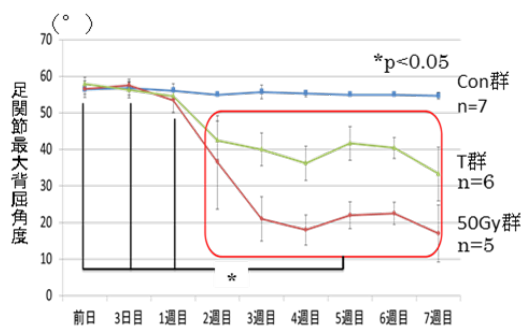


図1 群内比較の結果

群間比較の結果

各測定日における 3 群間の比較の結果, 2 週目で Con 群に比べ, T 群と 50Gy で有意な足関節背屈角度の低下が認められた。3 週目以降は全ての群間で有意差が認められたが, T 群では 50Gy 群ほどの背屈角度の低下は認められなかった(図 2)。

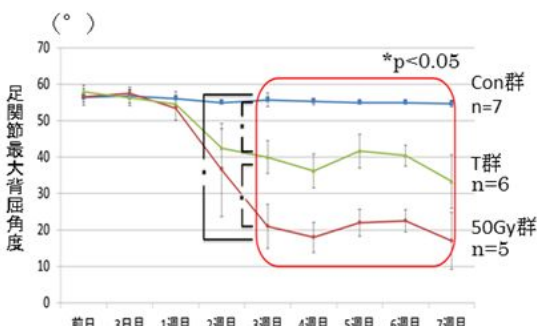


図2 群間比較の結果

(2) ヒラメ筋の筋線維横断面積の結果

ヒラメ筋筋線維の平均横断面積は, Con 群が $2789.0 \pm 260.2 \mu\text{m}^2$, 50Gy 群が $1707.7 \pm 781.4 \mu\text{m}^2$, T 群が $2062.7 \pm 488.5 \mu\text{m}^2$ であった。

群間比較では, 50Gy 群が Con 群に比べ筋線維の横断面積が有意に低下していた。T 群では Con 群ならびに 50Gy 群との間に有意差は認められなかった。このことから T 群では 50Gy 群ほどの筋萎縮は生じず, 運動負荷による筋萎縮抑制効果が示唆された。

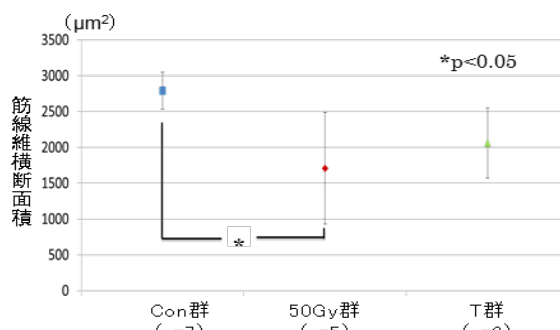


図3 ヒラメ筋筋線維横断面積の比較

(3) 皮膚の病理組織学的解析の結果

表皮に関して, Con 群は正常な表皮構造であったが, 50Gy 群ならびに T 群では非常に薄くなっていた。特に T 群では, 表皮の剥落が認められた。

皮下組織に関しては, 50Gy 群ではコラーゲンが造成し, 慢性炎症による線維化を示す兆候が認められた。T 群も慢性炎症を示す組織像であるが, 50Gy 群より重度で, コラーゲンの構造の崩落も認められた。

皮下の血管構造は, 50Gy 群および T 群の両群で血管の破壊像が認められた。損傷は 50Gy 群より T 群の方が重度であった。

これらのことから T 群では血流障害を伴う組織の変性が助長されていることが考えられた。

(4) 考察

ヒラメ筋の筋線維横断面積の結果より

本研究の結果から, 放射線を照射された筋においても運動負荷により筋萎縮の抑制効果が示され, リハビリテーション介入の効果が認められた。先行研究では, 30Gy の放射線照射により筋肥大や筋の修復に重要な役割をはたす筋サテライト細胞が不活性となることが報告されている²⁾。そのため仮説として運動負荷により筋の損傷を助長してしまう可能性が考えられた。しかし, 本研究では先行研究より高線量である 50Gy の放射線を照射しているにもかかわらず筋損傷は助長されず, 筋萎縮の抑制が認められた。Lowe⁴⁾ は, 筋サテライト細胞に依存しない筋肥大機構が報告しており, これらが関与した可能性が考えられる。

今後はこれらのメカニズムを明らかにするため筋サテライト細胞の活性化の状態を筋分化誘導遺伝子との関連も含め詳細に調査することが課題となる。

足関節最大背屈角度ならびに皮膚の病理組織学的解析の結果より

足関節最大背屈角度の群間比較の結果から 3 週目以降で T 群では 50Gy 群ほどの背屈角度の低下は認められなかった。機能面のみに着目すると運動負荷により関節可動域の低下を抑制できると捉えることが出来る。しかし, 皮膚の病理組織像と合わせて考えた場合, T 群では 50Gy 群に比べ皮膚ならびに皮

下組織における変性が重度であり、コラーゲン構造の崩落も認められている。このことは、関節可動域に影響を与える因子のひとつである軟部組織の構造が維持されていないことを示し、結果として見かけ上関節可動域が増大した可能性が考えられる。また、T群では50Gy群に比べ皮下の血管の損傷も大きく、これにより血流障害を伴い、周辺組織の変性が助長されたことが推測された。

以上のことから、皮膚の放射線障害においては早期からの運動負荷は逆効果となる可能性が高い。

近年臨床の現場では、急性期の皮膚損傷に対する早期リハビリテーションとして、関節可動域運動やストレッチといった他動運動が選択されている。このように対象部位や病期、重症度に応じてリハビリテーションの介入方法が選択されることが必要である。今後は放射線障害においても対象部位や病期、重症度に応じたりハビリテーション介入を選択し、その効果を検証していく必要がある。

<引用文献>

木村雅彦, 他: 急性放射線障害患者に対する早期リハビリテーションの経験. 熱傷 26(4): 192-193, 2000.

Rosenblatt JD, et al. Satellite cell activity is required for hypertrophy of overloaded adult rat muscle. Muscle Nerve 17: 608-13, 1994.

Narita H, et al. Considering necessity and feasibility of rehabilitation for radiation-exposed patients from literature review. J Health Sci Res 1: 49-51, 2011.

Lowe DA, et al. Stretch-induced myogenin, MyoD, and MRF4 expression and acute hypertrophy in quail slow-tonic muscle are not dependent upon satellite cell proliferation. Cell Tissue Res 296: 531-9, 1999.

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)

Koeda S, Narita H, Ito K, Ito K, Tsushima H. Effects of high-dose radiation on rat's skin and muscle: developing an animal model of local radiation damage to the hind limbs (2nd report). The proceedings of the 5th international symposium on radiation emergency medicine at Hirosaki university: 27-30, 2014. 査読無

Narita H, Koeda S, Ito K, Ito K, Tsushima H. Effects of rehabilitation for skin and muscle damage caused by high-dose radiation -Developing an

animal model of local radiation damage to the hind limbs-. The proceedings of the 4th international symposium on radiation emergency medicine at Hirosaki university: 47-50, 2012. 査読無

[学会発表](計3件)

Koeda S, Narita H, Ito K, Ito K, Tsushima H. Effects of the rehabilitation on the skin damage and the range of motion of the rats with X-ray irradiated hind limbs. The 1st educational symposium on radiation and health, 2014.9.21-22, Hirosaki Japan.

Koeda S, Narita H, Ito K, Ito K, Tsushima H. Effects of high-dose radiation on rat's skin and muscle: developing an animal model of local radiation damage to the hind limbs (2nd report). The 5th international symposium on radiation emergency medicine in Hirosaki university, 2013.10.19, Aomori Japan.

Narita H, Koeda S, Ito K, Ito K, Tsushima H. Effects of rehabilitation for skin and muscle damage caused by high-dose radiation -Developing an animal model of local radiation damage to the hind limbs-. The 4th international symposium on radiation emergency medicine in Hirosaki university, 2012.9.30, Hirosaki Japan.

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

成田 大一 (NARITA Hirokazu)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 90455733