

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：33912

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16375

研究課題名(和文) 低出力超音波刺激による関節拘縮の治療と予防

研究課題名(英文) Fundamental research on the treatment and prevention of joint contracture using Low-Intensity Pulsed Ultrasound (LIPUS)

研究代表者

渡邊 晶規 (Watanabe, Masanori)

名古屋学院大学・リハビリテーション学部・准教授

研究者番号：60460549

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：関節拘縮の治療と予防に対する低出力超音波パルス治療(以下LIPUS)の効果を、実験動物を用いて組織学的側面から検討した。LIPUS照射により、不動化によって生じた後部関節包のコラーゲン線維束間の間隙の狭小化が改善を示し、関節拘縮に治療に有効である可能性を明らかにした。一方、関節拘縮予防を目的とした介入結果においては著明な差を認めず、LIPUSの有用性を明らかにすることは出来なかった。

研究成果の概要(英文)：The effect of Low-Intensity Pulsed Ultrasound (LIPUS) on the treatment and prevention of joint contracture was examined from the histological aspect using experimental animals. LIPUS irradiation improved the narrowing of the spaces between the collagen fiber bundles of the posterior joint capsule caused by immobilization and clarified the possibility that joint contracture is effective for treatment. On the other hand, there was no significant difference in the intervention results aimed at prevention of joint contracture and it was not possible to clarify the usefulness of LIPUS.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：LIPUS 関節拘縮 関節包 病理組織

1. 研究開始当初の背景

関節拘縮とは、正常な関節の動きが制限された状態であり、これにより日常生活活動は大きな影響を受ける。これまでに予防的介入や早期介入により、関節拘縮の管理は改善しているにもかかわらず、いまだにリハビリテーションの分野において最も多く直面する問題の一つとなっている。関節拘縮の改善は理学療法士の重要な職務の一つであるが、その発生機序及び改善機構はいまだ十分に解明されておらず、最重要の研究課題である。

実験動物を用いた関節不動化による影響の検証は1960年代から散見されているものの、関節構成体に関する病態には少なからぬ齟齬が存在している。病態の解明が不十分であったことは、当然ながら、その治療についても基礎研究による検証が基盤となって確立された手法はなく、現在普及している理学療法の治療体系のほとんどが経験則から生まれたと言わざるを得ない状況であった。近年になり、ようやく治療方法の基礎研究による検証結果が散見されるようになり、拘縮に対する理学療法の効果は裏付けが進められているものの、まだ十分な状況には至っていない。とりわけ、関節の不動に伴う関節拘縮は、不動期間が長期間に及ぶにつれて責任病巣が筋肉から関節構成体にシフトすることが明らかになっているが、関節構成体に焦点を当てた検証は不十分なままとなっている。我々の研究グループでもこの問題に取り組み、これまでに不動やその後の介入に伴う変化を報告してきたが、関節構成体の組織像を正常に戻すことは出来ていない。

低出力超音波パルス治療（以下 LIPUS）とは、出力 $0.1\text{W}/\text{cm}^2$ 以下の微弱な超音波を照射して組織治癒を促す物理療法であり、1980年代より骨折治療への応用が報告され、以降多くの報告が積み重なり、現在では骨折治癒促進するものとして、難治性骨折や偽関節などの疾患については保険診療として認められているものである。その作用機序は完全に明らかになっていないが、断続的な超音波による機械的刺激が主に作用すると考えられている。LIPUS の効果は骨以外の軟部組織についても多数の検証がなされ、腱や靭帯損傷の治癒を促すことがわかってきている。このため、LIPUS による機械的刺激が拘縮治療または拘縮予防における関節構成体にも作用が期待できることが予想され、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

実験動物を用いて関節拘縮の治療と予防に対する LIPUS の効果を組織学的に検討することである。

関節の強度や伸張性に大きく影響する後部関節包に着目し、関節不動化によって生じたコラーゲン線維束間の間隙の狭小化が LIPUS 介入によりどの程度改善するのか、あ

るいは予防的な LIPUS 介入ではどの程度間隙を維持できるのか観察することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) LIPUS による拘縮治療効果の検証

9週齢の Wistar 系雄ラット 19 匹を用いた。それらを対照群と実験群にわけ、実験群は右後肢に 8 週間のギプス固定を行った。その後無作為に、4 週間の通常飼育を行う非治療群と 4 週間の LIPUS 治療を行う治療群に振り分けた。対照群は 12 週間の通常飼育を行った。

ギプス固定は先行研究に従い、ウレタンで作製した自家製ジャケットを装着させ、ベルクロで背面を固定した後、ギプスによる擦傷を予防するため、予め膝関節を中心に後肢全体をガーゼで覆い、股関節最大伸展位、膝関節最大屈曲位、足関節最大底屈位の状態で骨盤帯から足関節遠位部までギプスで固定した。

LIPUS 照射には超音波治療器を使用し、ラットを吸入麻酔下で側臥位とし、膝関節を内外側から挟むように 2 つの導子を固定して照射を行った。照射条件は周波数 3MHz、強度 $30\text{mW}/\text{cm}^2$ SATA、照射率 20% (2ms on and 8ms off)、照射時間 10 分間とし、1 日 1 回、週 5 日実施した。非治療群は同様の手法でプラセボでの照射を行った。

膝関節の関節可動域の測定には自家製のアタッチメントを取り付けたヒト手指用角度計を用い、吸入麻酔下にて、digital push-pull gage を用いて力を加え約 0.04Nm で牽引した際の角度を読み取った。測定はギプス固定前、固定終了後、介入期間終了後に実施した。得られた角度は固定前の角度を減算し、膝関節の伸展制限角度として示した。

飼育期間終了後、4%パラフォルムアルデヒドにより還流固定した後、右後肢を採取し、同液で 72 時間以上浸透固定を行った。脱灰操作後、膝関節矢状面が観察できるよう切り出しを行い、パラフィン包埋した。HE 染色後、光学顕微鏡下にて観察を行った。

後部関節包組織像を顕微鏡デジタルカメラで取り込み、画像処理ソフトを用いて関節包の厚さ及び密度を計測した。関節包の厚みの計測には、関節全体を 10 倍で撮影した画像を用い、膝蓋靭帯の走行に沿うように基準線を定め、それと直交し、可能な限り大腿骨-脛骨間の間隙を中央で通過する線を引き、その線上の後部関節包の長さを計測した。関節包の密度の算出には、400 倍で取り込んだ画像から、画像処理ソフト Image J を用いて膠原線維束間の間隙の面積を計測し、明らかな血管や関節腔を除いた全体の面積で除し、百分率で示した。

(2) LIPUS による拘縮予防効果の検証

9週齢の Wistar 系雄ラット 12 匹を用いた。それらを無作為に LIPUS 群と Placebo 群に振

り分け、両群ともに4週間右後肢をギプスにより不動化させた。期間中、1日1回ギプスを除去し、右後肢にそれぞれLIPUS介入とPlacebo介入を実施した後、再度ギプスを装着させた。LIPUS介入は、治療効果の検証に用いた設定と同様とした。また同様の手法で期間中毎週1回の関節可動域測定を実施した。期間終了後の組織標本の作成ならびに観察も同様にを行い、関節包の密度を定量化し比較した。

加えて、新たに9週齢のWistar系雄ラット11匹を用い、上記同様に4週間予防的介入を加えた後、2週間の通常飼育期間を設けた場合の可動域ならびに組織像の変化を比較した。

4. 研究成果

(1) LIPUSによる拘縮治療効果

膝関節の制限角度は、LIPUS群で $31.1 \pm 9.2^\circ$ 、非治療群で $42.3 \pm 5.6^\circ$ となり、両群間で有意差を認めた。また、後部関節包コラーゲン線維束間の間隙の密度は対照群 $53.3 \pm 7.5\%$ 、非治療群 $77.2 \pm 5.7\%$ 、LIPUS群 $69.2 \pm 2.9\%$ となり、各群間で有意差を認めた(図1、2)。

LIPUS照射が関節可動域の改善、後部関節包の組織レベルでの改善に有効である可能性が示唆された。これらの知見は、LIPUSが新たな拘縮治療方法に繋がる可能性を示し

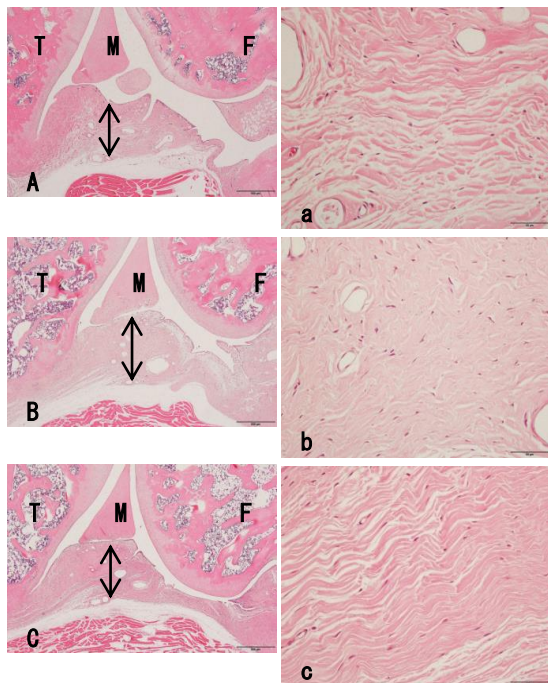


図1 治療介入後の後部関節包の組織所見 A/a: 対照群、B/b: 非治療群、C/c: LIPUS群。右図はそれぞれ左図の拡大所見を示す。LIPUS群でコラーゲン線維束間の間隙の拡大を認める。

(HE染色、T: 脛骨、F: 大腿骨、M: 半月板)

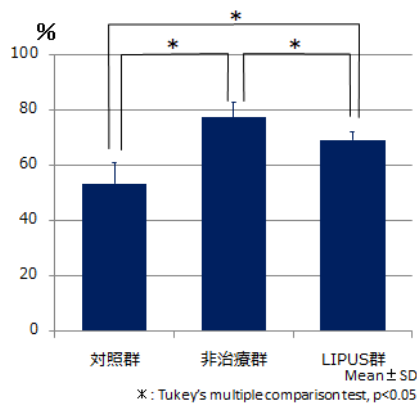


図2 後部関節包の線維密度

ている。関節包への効果が期待できることは、とりわけこれまで治療に難渋してきた関節構成体由来の拘縮への適応が期待でき、より重度な拘縮治療の可能性を広げるものと言える。またLIPUSはその特徴から安全な治療装置であると言え、基本的には目的部位にセットしてからは治療者の手を煩わせることがない。マンパワーの追加を要しないという側面からも優れ、定量的な刺激が可能という利点を有している。総じて価値ある一石を投じたものと考えられた。

(2) LIPUSによる拘縮予防効果

4週間の予防介入の有無で比較した結果、膝関節の制限角度はLIPUS群とPlacebo群で有意な差を認めなかった。後部関節包の組織所見においては、両群共に関節包は肥厚し、膠原線維束間の間隙の狭小化を認めた。その程度は類似しており、明らかな違いを認めなかった。関節包の密度も両群で有意な差を認めなかった(図3)。

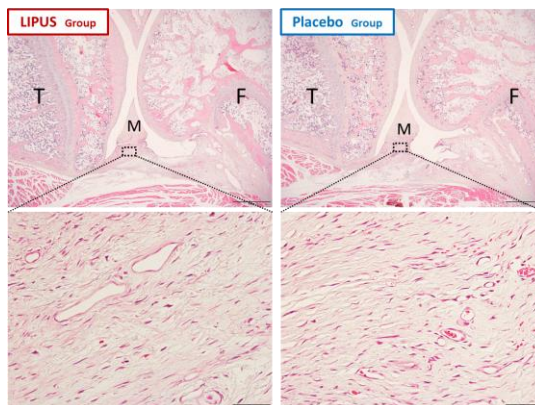


図3 予防介入後の後部関節包の組織所見 左: LIPUS群、右: Placebo群。下段は拡大所見を示す。両群でコラーゲン線維束間の間隙に明らかな差を認めない。

(HE染色、T: 脛骨、F: 大腿骨、M: 半月板)

4 週間の予防介入に続く 2 週間の通常飼育後の比較においても、角度ならびに組織像ともに明らかな差を認めなかった。これらの結果から、LIPUS 照射による拘縮予防効果を明らかにすることは出来なかった。

LIPUS 照射によるメカニカルストレスは extracellular signal-related kinase pathway (ERK 経路) を活性化させることで、細胞増殖を促進することが報告されている一方で、インテグリン/FAK/MAPK 経を介して、これを抑制することが報告されている。細胞の生存とアポトーシスという、相反する調整がどのようになされるのか不明であるが、1 つの可能性として、細胞の環境に応じるように代謝を促進するものと考えられた。治療効果の検証では、関節固定が除去され、より大きな関節運動が必要とされる環境に適応するように作用したことで、関節包組織像は正常に近づくように変化し、一方で予防効果の検証では、介入時間以外は関節固定がなされており、関節運動が不要な環境に適応するように作用したために、関節包組織像は違いを認めなかったものと推察された。本研究結果により、LIPUS の新たな可能性が示されたものの、今後さらなる検証により明らかにする必要がある。

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 5 件)

- ① Watanabe M, Kojima S, Hosono M. Effect of low-intensity pulsed ultrasound therapy on a rat knee joint contracture model. Journal of Physical Therapy Science. 査読有. Vol. 29, 2017, 1567-1572. DOI: 10.1589/jpts.29.1567.
- ② 小島聖、渡邊晶規、佐々木賢太郎. 拘縮予防を目的とした寒冷浴の効果. 金城大学紀要. 査読有. 16 巻、2016、65-70.

[学会発表] (計 12 件)

- ① Watanabe M, Low-Intensity Pulsed Ultrasound (LIPUS) Therapy for Prevention of ROM Limitation and Histopathological Changes in Joint Capsules in the Rat Knee Joint, The 7th WPCT - AWP and PTAT Congress 2017
- ② Watanabe M, Histopathological effect of joint mobilization on knee joint articular capsules in rat immobilized for 8 weeks, The 13th International Congress of Asian Confederation for Physical Therapy, 2016
- ③ 小島聖、不動化中の牽引とモビライゼーションが拘縮の予防に及ぼす影響、第 51 回 日本理学療法学会、2016

- ④ Watanabe M, Histopathological Changes in Joint Components in a Rat Knee Joint Contracture Model Following Low-Intensity Pulsed Ultrasound, World confederation for Physical Therapy Congress, 2015
- ⑤ Kojima S, The effect of cryotherapy for the prevention of contracture, World confederation for Physical Therapy Congress, 2015

[その他]

ホームページ等

<https://www.ngu-kenkyu-db.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 晶規 (WATANABE, Masanori)
名古屋学院大学・リハビリテーション学部・准教授
研究者番号：60460549

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

小島 聖 (KOJIMA, Satoshi)
金城大学・医療健康学部・准教授
研究者番号：30454242

細 正博 (HOSO, Masahiro)
金沢大学大学院・医薬保健学総合研究科保健学・教授
研究者番号：20219182