

機関番号：33920

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007 ~ 2009

課題番号：19603003

研究課題名 (和文) 関節不動化による患肢廃用モデル動物における神経系の機能変化に関する研究

研究課題名 (英文) Neuronal Modulation after long term forepaw immobilization in rats.

研究代表者

牛田享宏 (USIDA TAKAHIRO)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：60304680

研究成果の概要 (和文)：

四肢の不動化(ギプスやシーネの装着あるいは過度のベッド上安静)はしばしば不動化した部位の廃用とそれに伴う痛みが生じる。しかし、この痛みのメカニズムについてはまだ明らかにされていないのが現状である。そこで我々は独自に開発したギプス固定法による前肢拘縮モデルを作製し、痛みの発症のメカニズムに関与する脊髄後角における神経ペプチドである CGRP、転写因子である C-fos およびアストロサイトの活性マーカーである GFAP、ミクログリアの活性マーカーである CD11 b について調査した。また、後根神経節において CGRP 陽性細胞の大きさとその分布について調査を行った。更にこのような拘縮に対する運動療法の有用性を検証する目的での訓練の効果について調べた。

その結果、ギプス除去後にギプス固定側の脊髄後角において CGRP 陽性線維の増加、C-fos タンパク陽性細胞の増加、GFAP および CD11 b の染色性の亢進が観察された。これらのことはギプス固定により、脊髄後角においてミクログリアやアストロサイトの活性化亢進し、それを引き金として炎症性神経ペプチドの増加などが引き起こされていることが示唆された。同時に調べた後根神経節細胞レベルの CGRP 分布パターンの変化は、同部位においても長期のギプス固定により、後根神経節細胞に感作や可塑的变化が引き起こされていることを疑わせるものと考えられた。

今回のモデル動物では、ギプスから解放を行っても治療を行った患肢を使う傾向が乏しい。そこで、水中訓練や反対側のギプス固定などを行ったところ反対側のギプスによって、生活障害が引き起こされると患側を使うようになり自ら動かすようになることが判った。今後はタイミングや運動強度などについても検証を行っていく必要があるものと考えられた。

研究成果の概要 (英文)：

Long-term immobilization by casting can occasionally cause pathologic pain states in the immobilized side. The underlying neurophysiological mechanisms of immobilization-related pain are not well understood. For this reason, we specifically examined changes of calcitonin gene-related peptide (CGRP) expression in the dorsal root ganglion (DRG), spinal dorsal horn and posterior nuclei (cuneate nuclei) in a long-term immobilization model following casting for 5 weeks. A plastic cast was wrapped around the right limb from the forearm to the forepaw to keep wrist joint at 90 degree of flexion. In this model, CGRP in immobilized (ipsilateral) side was distributed in larger DRG neurons compared with contralateral side, even though the number of CGRP-immunoreactive (CGRP-IR) neurons did not differ. Spinal laminae III-V, not laminae I-II in ipsilateral side showed significantly high CGRP expression relative to contralateral side. In addition expression of GFAP and CD11b were increased after long term immobilization. These results suggest that neuronal plastic changes were occurred after long term casting addition to joint contracture. Additional casting to sound forepaw was useful method to improve disuse behavior after the cast treatment. Thus adequate musculoskeletal rehabilitation was essential for the treatment.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：疼痛学（時限付きのため分科無し）

キーワード： 関節拘縮、不動化、運動負荷、
脊髄後角

1. 研究開始当初の背景

骨折を含めた運動器の診療に当たっては、保存療法の一部として局所の安静が必要とされ用いられる事が多かった。しかし近年、四肢の不動化やそれに伴う廃用が筋骨格系の運動機能障害のみならず患肢の痛みなどの発症要因となっていることが指摘されている。我々は関節の不動化が及ぼす神経系への影響を調査するために独自の手関節拘縮モデル動物をギプス固定法で作成し、行動学および電気生理学的な研究を行ってきた。これまでの結果において我々のモデル動物は大変興味深い変化を認めている。すなわち、①：拘縮に陥った前肢（以下患肢）はグルーミング、摂食動作、歩行などのADL動作に用いることはない、②：患肢を触られると逃避行動を示す、③：モデル動物の脊髄後角細胞は関節運動や痛みなどの伝達に関与するWDRニューロンの数が増加している、等のことがわかってきた。このことは関節の不動化が運動神経機能のみならず感覚神経系の機能にも何らかの影響を引き起こしていることを示すものと考えられる。過去の報告では関節の不動化は関節周囲の感覚受容器や筋紡錘などの形態学的な変化を

引き起こすことも知られており、関節不動化に伴って関節周囲の感覚受容器（メカノレセプターなど）から脊髄へ伝達されていた情報に何らかの変調が引き起こされていたことが感覚神経の機能変化の一因になっているものと推察される。

2. 研究の目的

- ①関節拘縮モデル動物の脊髄レベルの神経伝達物質やその受容体の分布および細胞内シグナル伝達物質の変化について調査すること
- ②どのような運動器リハビリテーション的アプローチが関節拘縮に伴う神経機能変化の防止もしくは改善に有効であるかを調査すること

3. 研究の方法

前肢拘縮モデル動物の作製
S-Dラットの体幹部をギプスで固定した後、ギプスをさらに一側の前肢もしくは後肢に延長し手関節を90度屈曲位で3-4週間固定する。

① 脊髄及び後根神経節細胞（Dorsal Root Ganglion:DRG）におけるシグナル伝達物質の変化に関する研究

脊髄後角における Calcitonin Gene

Related Peptide: CGRP および C-fos 陽性細胞の分布を免疫組織学的手法により調査する。また、脊髄後角におけるアストロサイトおよびミクログリアの活性についても GFAP、CD11b を用いて免疫組織学的手法を用いて健側との調査する。更に同部位の脊髄に連絡している DRG については CGRP 陽性 DRG 細胞のサイズの分布について健側との比較調査を行った。

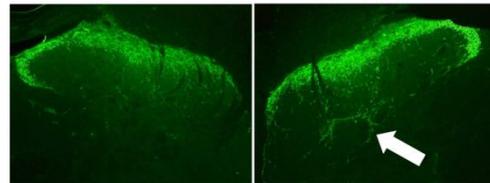
②拘縮モデルにおける運動器リハビリテーションの有用性に関する研究

片側前肢関節拘縮動物は固定から解放後も固定を行った治療側の前肢をグルーミングや歩行などに使うことは無い。そこで、前肢の運動を自律訓練として行う目的で、1) 強制水泳訓練、2) 日常的に患側の前肢を使用しないと、歩行や摂食動作が出来ない様にするために健常側の前肢のギプス固定を行い、拘縮に伴う廃用がどのように変化するかについて調査を行った。

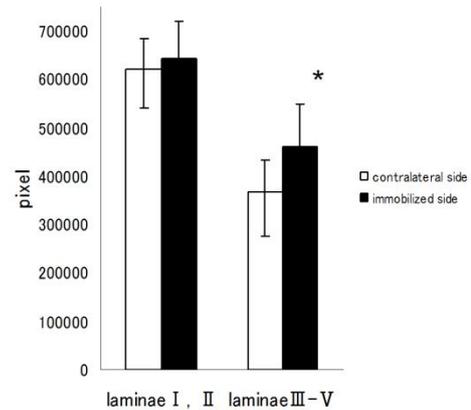
4. 研究成果

① 脊髄及び後根神経節細胞 (Dorsal Root Ganglion: DRG) におけるシグナル伝達物質の変化に関する研究

1) 脊髄後角における CGRP 陽性線維の分布の変化

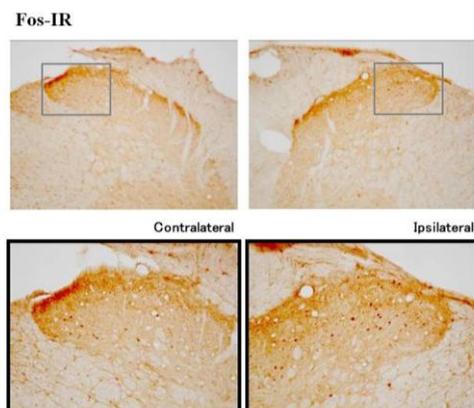


contralateral side immobilized side

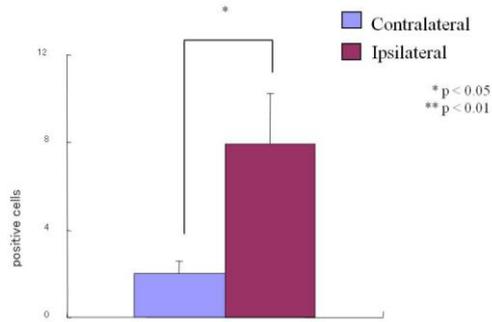


脊髄後角 III-V 層において、CGRP 陽性線維の分布が固定側(患側)で健側と比較して有意に増加していることが明らかとなった。

2) 脊髄後角における C-fos 陽性細胞の分布の変化

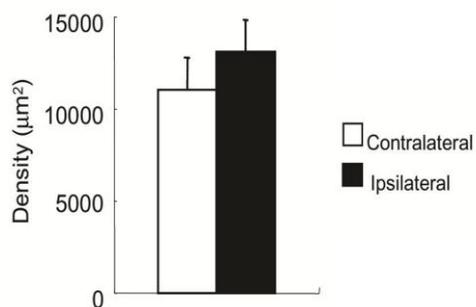
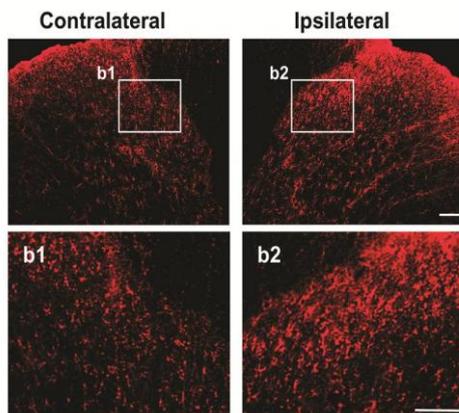


C-fos 陽性細胞はギプス除去後、固定側にて後角において広範囲に増加している傾向が示された。



3) 脊髄後角におけるアストロサイト活性に関する調査

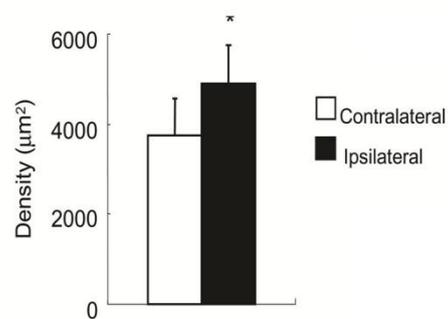
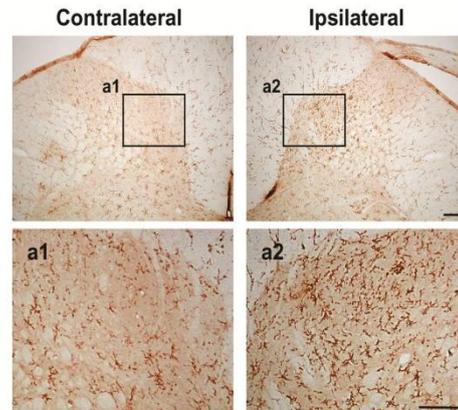
ギプス除去後に行ったアストロサイトのマーカーである GFAP を用いた免疫組織学的検討では、固定側（患側）において健側と比べて GFAP の染色性が亢進していることがみられた。



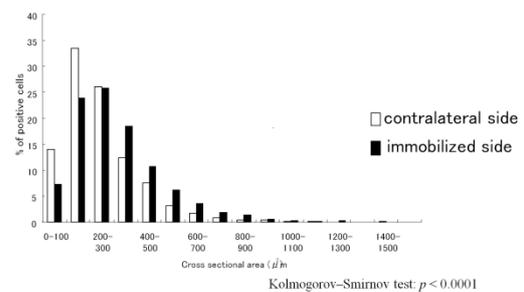
4) 脊髄後角におけるミクログリア活性に関する調査

ギプス除去後に行ったアストロサイトのマ

ーカーである CD11b を用いた免疫組織学的検討では、固定側（患側）において健側と比べて CD11b の染色性が亢進していることがみられた。



5) 後根神経節細胞 (DRG) における CGRP 陽性細胞の大きさと分布の変化



ギプス固定除去後においては、大型 CGRP 陽性 DRG ニューロンの分布の増加がみられた。

② 拘縮モデルにおける運動器リハビリテーションの有用性に関する研究

1) 強制水泳訓練により、能動的に患肢を使う訓練が出来ることを予測していたが、

実際には患肢は使わず、健側前肢だけを
用いて水泳を行うことができ、自動運動
訓練は行えなかった。

2) 健側の前肢をギプス固定することによ
って、患肢を使用しないと摂食動作など
が出来ない状態にさせると、健側にギプ
スを行った早期より、患側の前肢を使用
するようになった。

3) 現在本研究と並行して行っている後肢
の不動化モデルではギプス固定除去後
拘縮は介入を行わなくても改善してく
ることが明らかとなっている。このモデル
においてはギプス除去後に出現した
筋に対する機械的刺激に対する閾値が
トレッドミルによる強制運動で改善し
ていることが示されている。従って、運
動訓練は少なくとも不動化による痛み
の改善効果があると考えられるが、運動
の種類(他動、自動運動など)やその強度
などについては更なる検討が必要と考
えられる。

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 4 件)

牛田享宏、運動器慢性痛に対する学際的／集
学的アプローチの必要性、末梢神経、19 巻、
2008、181-187

牛田享宏、運動器疾患における慢性疼痛治療、
日経メディカル (特別編集編)、2008、38-39

大迫洋治、西上智彦、北村理恵、池本竜則、
由利和也、牛田享宏、運動器の不動化に伴う
神経系の変化、ペインクリニック、30 巻、
2009、1239-1248

Nishigami T, Osako Y, Tanaka K, Yuri K,
Kawasaki M, Ikemoto T, McLaughlin M,
Ishida K, Tani T, Ushida T, Changes in
calcitonin gene-related peptide

expression following joint
immobilization in rats、Neuroscience
Letters、454、2009、97-100

[学会発表] (計 2 件)

牛田享宏、運動器の痛みの神経生理学的評価、
日本臨床神経生理学会、2008. 11. 14、(神戸)

大迫洋治、筋・骨格系の痛みの末梢性機構、
第 31 回日本疼痛学会・第 43 回日本ペインク
リニック学会合同大会、2009. 7. 16、名古屋
国際会議場 (愛知県)

[図書] (計 1 件)

牛田享宏、大迫洋治、西上智彦、池本竜則、
末富勝敏、真興貿易 (株) 医書出版部、動
物モデル実験からみる CRPS、

[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

牛田 享宏 (USHIDA TAKAHIRO)
愛知医科大学・医学部・教授
研究者番号：60304680

(2) 研究分担者

大迫 洋治 (OSAKO YOUJI)
高知大学・医学部・助教
研究者番号：40335922

末富 勝敏 (SUETOMI KATSUTOSHI)
愛知医科大学・客員研究員
研究者番号：70235836

(3) 連携研究者

石田 健司 (ISHIDA KENJI)
高知大学・教育研究部・医療学系・准教授、
研究者番号：10274367

藤原 祥裕 (FUJIWARA YOSHIHIRO)
愛知医科大学・医学部・教授
研究者番号：70238640

神谷 光広 (KAMIYA MITSUHIRO)
愛知医科大学・医学部・講師
研究者番号：10329774

小畑 浩一 (OBATA KOUICHI)
兵庫医科大学・医学部・准教授
研究者番号：70368538