

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30日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500454

研究課題名（和文）病理組織学的手法を用いた関節拘縮の病態解明と理学療法的治療の効果判定

研究課題名（英文）Clarification of pathological condition and evaluation of physiotherapy of joint contracture, a histopathological study

研究代表者

松崎 太郎（MATSUZAKI TARO）

金沢大学・保健学系・助教

研究者番号：10401910

研究成果の概要（和文）：ラット膝関節拘縮モデルを用いて関節拘縮の病態を明らかにし、関節可動域運動を施行する事による効果判定を組織病理学的に観察する事を目的に研究を行った。関節の不動化により、関節後部関節包では膠原線維束の間隙が狭小化し、滑膜細胞の増生、線維芽細胞様の紡錐形細胞が膜様に増生し関節軟骨を覆っている像が観察された。不動期間中に関節可動域運動を施行する事によりこれらの変化は生じるものの軽度であり、関節可動域運動は関節構成体にも影響を及ぼす事が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Histopathological changes of joint components during contracture in rat knee joint were disclosed. The joint capsule of contracture group were showed slightly stiffness, and hyperplasia of the fibroblast-like spindle-shaped cells were observed associated with its infiltration to articular cartilage surface like membrane. In exercise group, these finding was slightly. It shows ROM Ex were not only prevention to muscle shortening, but also inhibit tissue changes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：理学療法学

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：関節拘縮, ラット

1. 研究開始当初の背景

関節可動域制限(以下、拘縮)は、理学療法学にとっては最も頻度の高い治療対象の一つであるとともに、最重要の研究課題の一つと考えられる。関節拘縮の研究はヒトや様々な動物を用いて研究を行った報告が1960年

代より散見されるが、まだ一定の病態像が明らかになっているとは言い難い。これは拘縮の作成される過程がそれぞれ異なること、また病態像の報告基準が一定ではなく、また拘縮の概念が可動域の点からしか捉えられていなかった事を示唆している。また、今後高

齢人口の増大によって更に治療対象者が増える事が予想される長期臥床や関節の安静固定等により引き起こされた拘縮の病態は従来ほとんど解明されておらず、理学療法士の経験に基づいたスキル(可動域運動や温熱療法等)による治療が行われているものの、その評価は可動域の変化だけにとどまっているのが現状である。

関節拘縮には関節構成体内外の様々な要素が複雑に関与していると考えられていたが、近年の動物実験モデルを用いた研究により、初期には筋性の要素が、2週以上の不動/免加では関節性の要素が主因となること(Trudel. et. al:2000)、筋性拘縮は筋節長の短縮と筋内膜コラーゲンに由来する粘弾性の変化が原因と考えられること(Okita. et. al: Effects of reduced joint mobility on sarcomere length, collagen fibril arrangement in the endomysium, and hyaluronan in rat soleus muscle. J Muscle Res Cell Motil. 2004;25(2):159-66)、関節性拘縮は関節包および滑膜(脂肪体)の線維化、関節腔の狭小化、軟骨の癒着によること(渡邊, 他: 関節拘縮における関節構成体の病理組織学的変化ーラット膝関節長期固定モデルを用いた検討ー, 理学療法科学, 22(1):67-75, 2007)等が主張されるようになり、拘縮の病態は少しずつ解明されつつあると考えられるが、治療手技による関節構成体の変化についての検討は全く見られない状況であった。

2. 研究の目的

関節拘縮の成因、肢位の異なる関節拘縮モデルを作製し、関節構成体の変化を病理組織学的に観察し、これにより臨床で見られるさまざまな関節拘縮の病的意義を明らかにする。次に関節拘縮に対して現在行われている

治療手技、予防手技を施行し、関節構成体を組織病理学的に観察して関節可動域のみによって評価されている治療手技が関節構成体に及ぼす効果を明らかにする事を目的とした。

3. 研究の方法

以下の実験は全て金沢大学動物実験委員会の承認を得て行われたものである。

【実験1】

実験動物には9週齢のWistar系雄性ラット18匹を用いた。ラットは8週齢にて入手し、実験期間に使用するケージ内で1匹ずつ飼育し環境に慣れさせた後に実験を開始した。ラットは無作為に3群に分け、ラットを無作為に屈曲群(n=6)、伸展群(n=6)、対照群(n=6)の3群に分け、屈曲群と伸展群のラットはペントバルビタールナトリウム溶液を腹腔内注射(40mg/Kg)し、麻酔下で大腿外側に3mm皮切を加え、大腿骨中央部と脛骨遠位端にKirschner鋼線を刺入した。K-Wire鋼線の先端を曲げ、長ネジとナットを使用して創外固定とし、屈曲群は膝関節屈曲120度、伸展群は膝関節伸展位で関節を不動化した。この時、股関節、足関節には制限がないことを確認し、ラットはケージ内を移動する事が可能であった。水と餌は自由に摂取する事が可能であった。対照群は自由飼育とした。実験期間は2週間とした。飼育期間終了後、麻酔

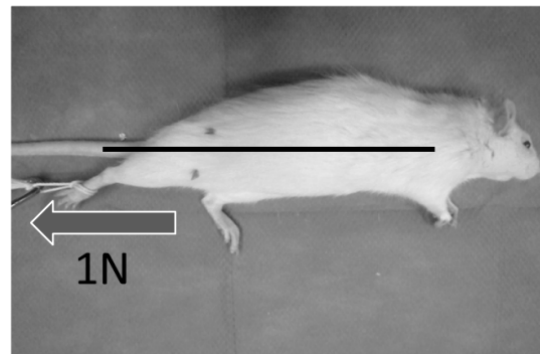


関節不動後の状態

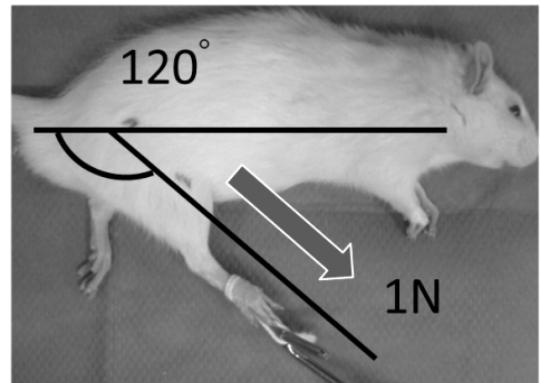
下でラット後肢を 1N で伸張し、膝関節の伸展制限を計測した。牽引力の測定は予備実験で介入を加えないラット後肢を麻酔下で伸展するのに必要な力を測定し決定した。その後ラットを安楽死させ、その後速やかに両下肢を股関節より離断し標本として採取した。採取した両下肢は 4℃に保った 10%中性緩衝ホルマリン液で 72 時間組織固定を行い、ついでプラंक・リュクロ液を用いて脱灰した後に膝関節を切り出し、矢状面で二割した。その後 5%硫酸ナトリウム溶液で 4℃に保ったまま中和後にパラフィン包埋し、組織標本作製した。作製した標本をマイクロトームで 3 μm に薄切し、スライドガラスに貼付、その後ヘマトキシリン・エオジン染色（以下 HE 染色）を行い封入した。観察部位は関節軟骨、後部関節包、滑膜とした。観察にはデジタルカメラ（DP-71 型：オリンパス光学工業）を接続した光学顕微鏡（BX-51 型型：オリンパス光学工業）を用い、画像撮影ソフト（cellSence：オリンパス光学工業）を使用して画像撮影を行った。統計解析には SPSS for Windows (version 19.0.1, IBM SPSS Inc. Chicago, IL, USA) を使用し、対応のない t 検定を行った。有意水準は 5%未満とした。

【実験 2】

実験動物には 9 週齢の Wistar 系雄性ラット 20 匹を用いた。ラットは 8 週で購入し 1 週間当施設の飼育環境に慣れさせた後に実験を開始した。ラットを無作為に治療群 1-1 (n=10)、治療群 1-2 (n=10) の 2 群に分け、両群共に右膝関節をキルシュナー鋼線と長ねじを使用した創外固定を用いて膝関節屈曲 120 度で不動化した。この時、股関節、足関節には制限がないことを確認し、ラットはケージ内を移動する事が可能であり、水と餌は自由に摂取する事が可能であった。両群共に不動化を行った次の日から全身麻酔下で



実験群 1-1



実験群 1-2

膝関節に対し ROM. Ex を行った。ROM. Ex の手法は始めの 5 秒間を膝関節屈曲位で保持し、次の 5 秒はバネばかりを使用して膝関節を約 1N で伸張し保持した。この時、治療群 1-1 は股関節屈曲 0 度、治療群 1-2 は股関節屈曲 120 度で運動を行った。この運動を 3 分間、週に 6 回施行した。実験期間は 2 週間とし、実験期間終了後、実験 1 と同様に膝関節伸展制限の測定、標本作製を行い、画像撮影を行った。

【実験 3】

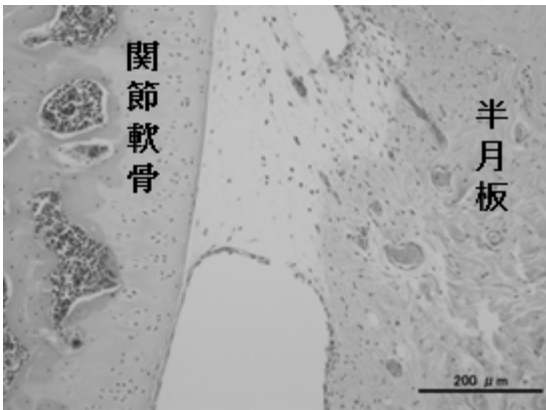
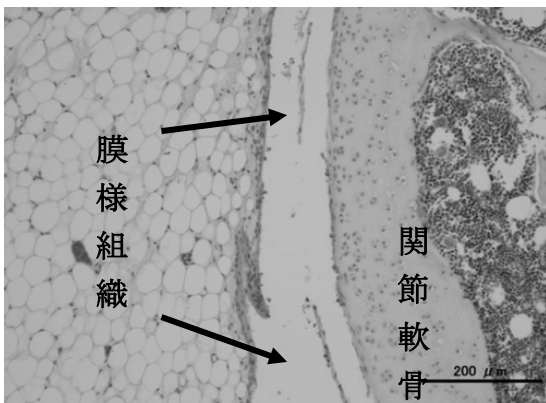
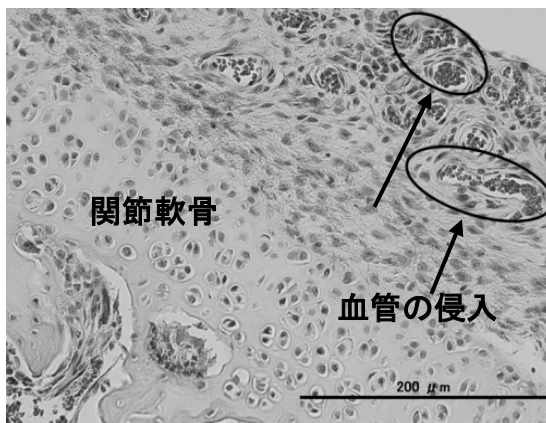
実験動物には 9 週齢の Wistar 系雄性ラット 17 匹を用いた。ラットを無作為に治療群 2-1 (n=9)、治療群 2-2 (n=8) の 2 群に分け、両群共に右膝関節を創外固定を用いて膝関節屈曲 120 度で不動化した。両群共に不動化を行った次の日から全身麻酔下で膝関節に対し ROM. Ex を行った。ROM. Ex の手法は先行研究（実験 2）と同様とし、実験群 2-1 は固定期間中 1 日 2 回、3 分間の ROM. Ex を行い、実験群 2-2 は 1 日 1 回、6 分間の ROM. Ex を施行した。この時、実験群 2-1 は ROM. Ex の

間隔を6時間以上空けて行った。実験期間は2週間とし、実験期間終了後、実験1, 2と同様に膝関節伸展制限の測定、標本作製を行い、画像撮影を行った。

4. 研究成果

【実験1】

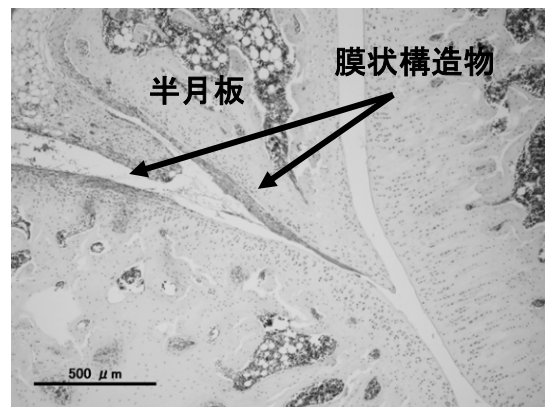
Kirschner 鋼線刺入部では骨硬化像ならびに軟骨による再生が生じ、明らかな感染は観察されなかった。屈曲群の膝関節伸展制限は平均 77.3 ± 7.4 度であり、対照群は 19.3 ± 3.0 度で両者には有意差が見られた。この事から



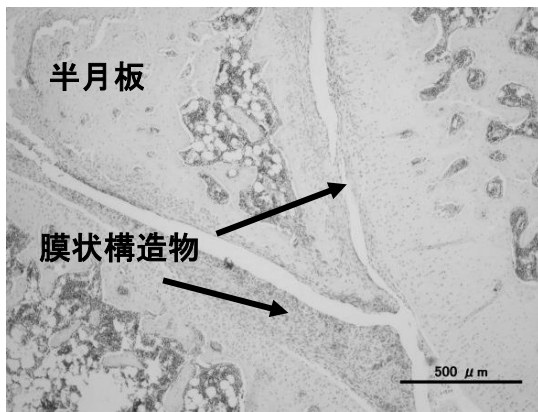
今回の不動化手技が拘縮モデルとして実用的である事が示唆された。組織病理学的な観察では屈曲群、伸展群ともに全例で関節軟骨表層に紡錘型細胞からなる膜様の組織が観察され、関節軟骨への血管の侵入も観察された。肉芽様組織（あるいは滑膜）が関節腔内への侵入が観察され、上記の膜様組織との癒着が観察された。屈曲群、伸展群ともに癒着は脛骨の前面で顕著であり、伸展群では脛骨のみならず関節腔全体に線維性組織の侵入・癒着が観察され、関節腔内に軽度のリンパ球プラズマ細胞浸潤が観察された。屈曲位、伸展位のどちらにおいても類似した滑膜および軟骨の変化を生じたが、関節軟骨の変化は接触面に強く出現し、結果的に固定姿勢の違いによる癒着部位の違いが見られた。

【実験2】

膝関節の伸展制限は、治療群1では平均 50.2 ± 4.3 度、治療群2では平均 48.2 ± 2.4 度であり、両群に有意差は見られなかった。今回の実験結果と実験1で作製した固定群とは有意差を認め($p < 0.05$)、今回施行した可動域運動が可動域制限を抑制した事が明らかとなった。組織病理学的検討では治療群の軟骨表層では膜様の組織は限局的に観察され、肉芽様組織の関節腔内への侵入もほとんど見られなかった。関節腔内に出血を生じたものが見られたが、これは可動域運動に伴う軟部組織の損傷によって生じた可能性が考え



実験群 1-1

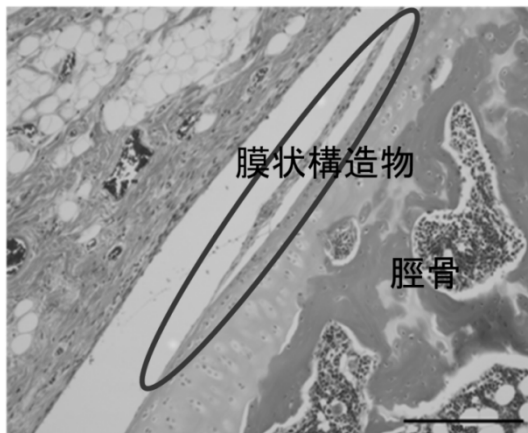


実験群 1-2

られた。今回の実験期間では、可動域制限の要因は筋によるものとする報告があるが、可動域運動を施行する事により筋に対する影響のみならず関節構成体の変化を抑制する可能性が示唆された。

【実験 3】

膝関節の伸展制限は、治療群 2-1 では平均 49.8 ± 7.3 度、治療群 2-2 では 62.9 ± 17.2 度であり、両群に有意差が見られた。関節構成



実験群 2-1



実験群 2-2

体の病理組織学的観察では、運動群 2-1 では関節軟骨表層に膜状構造物が増生し滑膜組織と連続している像が観察された。運動群 2-2 でも運動群 2-1 と同様な膜様構造物の増生が見られ、増生組織による軟骨の置換と関節軟骨、滑膜と半月板の癒着が観察された。これらの事より ROM. Ex は 1 回あたりの時間よりも頻度を増やす方が関節構成体の病的変化を抑制できる可能性が示唆された。

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)

①Yoshida S, Matsuzaki T, Kamiyo A, Araki Y, Sakamoto M, Moriyama S, Hosono M
Histopathological changes in the periphery of the sciatic nerve of rats after knee joint immobilization.

J. Phys. Ther. Sci. 25(2013)623-626(査読有)

<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/jpts>

②松崎 太郎, 小島 聖, 渡邊 晶規, 吉田 信也, 吉村 千尋, 細 正博ラット膝関節拘縮モデルにおける膝蓋下脂肪体の病理学的変化
石川県理学療法学会雑誌 12(2012)11-14(査読有)

<http://www.medicalonline.jp/>

〔学会発表〕(計 7 件)

①松崎 太郎, 吉田 信也, 小島 聖, 渡邊 晶規, 細 正博

ラット膝関節の運動制限と膝蓋下脂肪体の萎縮

第 47 回日本理学療法学会大会 2012 年 5 月 26 日 神戸ポートピアホテル (兵庫県)

②渡邊 晶規, 細 正博, 松崎 太郎, 小島 聖
ラット膝関節拘縮モデルに対するストレッチ及びモビライゼーションの効果

第47回日本理学療法学会大会 2012年5月26日
神戸ポートピアホテル (兵庫県)

③田中 渉, 松崎 太郎, 細 正博
関節の不動化がラット膝関節の膝蓋下脂肪体に及ぼす影響

第47回日本理学療法学会大会 2012年5月26日
神戸ポートピアホテル (兵庫県)

④吉田 信也, 松崎 太郎, 音地 利亮, 佐藤 絵美, 寺島 未菜, 藤樫 和彦, 守山 成則, 細 正博

関節不動期間中の関節可動域運動の違いが坐骨神経周囲組織に与える影響

第47回日本理学療法学会大会 2012年5月26日
神戸ポートピアホテル (兵庫県)

⑤松崎 太郎, 細 正博, 吉田 信也, 小島 聖
関節可動域運動は膝関節不動モデルの関節構成体にどのような影響を及ぼすか?

第46回日本理学療法学会大会 2011年5月28日
シーガイアコンベンションセンター (宮崎県)

⑥石井 健太郎, 細 正博, 松崎 太郎
ラット末梢神経損傷モデルにおける関節構成体の病理組織学的変化

第46回日本理学療法学会大会 2011年5月28日
シーガイアコンベンションセンター (宮崎県)

⑦吉田 信也, 細 正博, 松崎 太郎, 小島 聖
関節不動期間中の関節可動域運動が坐骨神経周囲組織に与える影響

第46回日本理学療法学会大会 2011年5月28日
シーガイアコンベンションセンター (宮崎県)

[その他]

ホームページ等

http://phys_ther.w3.kanazawa-u.ac.jp/staff_09/staff_09.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松崎 太郎 (MATSUZAKI TARO)

金沢大学・保健学系・助教

研究者番号: 10401910

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし