

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24300193

研究課題名(和文) 組織損傷ならびに不活動由来の慢性痛に対する理学療法の生物学的効果を探る

研究課題名(英文) Investigation for the biological effects of physical therapy in tissue injury-induced chronic pain and immobilization-induced chronic pain

研究代表者

沖田 実 (OKITA, Minoru)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(保健学科)・教授

研究者番号：50244091

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ラットの膝関節炎モデルを組織損傷由来の、足関節不動化モデルを不活動由来の慢性痛の実験動物モデルとし、前者には関節運動を、後者には振動刺激の負荷を治療介入手段に用い、理学療法の生物学的効果を検討した。結果、組織損傷後に患部を過度に安静にすると中枢性感作が惹起されるが、早期から関節運動を行うと中枢性感作が抑制され、慢性痛の発生を予防できることが示唆された。一方、不活動のみでも痛みが発生し、その期間が長期化すると中枢性感作が惹起され、慢性痛へと発展することが示唆された。また、不活動の過程で早期から振動刺激を負荷すると痛覚過敏と中枢性感作の発生が抑制されることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study is to clarify the biological effect of physical therapy in tissue injury-induced chronic pain and immobilization-induced chronic pain on experimental animal model. Therapeutic intervention for the former model was continuous passive motion (CPM) therapy, and it to a latter model was a facilitation of the sensory input using the vibratory stimulation. As a result, an excessive rest after the tissue injury causes the central sensitization, and it develops in to the chronic pain when this phenomenon continues. CPM therapy applied during the acute phase of arthritis controlled the generation of the central sensitization and mitigated chronic pain. The findings suggest the central sensitization is caused by prolonging at the immobilization period, and immobilization-induced pain develops in to the chronic pain. The initiation of vibration therapy in the early phase of immobilization may inhibit hypersensitivity and central sensitization.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：組織損傷 不活動 慢性痛 実験動物モデル 理学療法 持続的他動運動 振動刺激 生物学的効果

1. 研究開始当初の背景

厚生労働省から報告されている国民生活基礎調査の中の有訴者率をみると、男女ともに腰痛や肩こり、手足の関節痛が上位を占め、これは多くの国民が運動器の慢性痛に苦しんでいる実態を表している。また、このような慢性痛の発生は先進各国でも同様で、近年は医療費の高騰や労働生産性の低下など、社会経済的にも多大な損出を招くことが明らかになっている。そして、このような状況を受け、慢性痛対策のための様々な研究が世界的に推進され、その成果の一つとして、運動療法を中心とした理学療法が慢性痛に効果が高いことが示され、注目を集めている。

2. 研究の目的

上記したように、慢性痛に対して運動療法を中心とした理学療法が奏効することが明らかになりつつあるが、そのメカニズムは全くといっていいほど解明されていない。そこで、本研究では代表的な慢性痛の発生要因と考えられている組織損傷と不活動を取り上げ、これらに由来した慢性痛の実験動物モデルに対する理学療法の治療介入研究をデザインし、末梢組織ならびに神経系の各種病態に対する理学療法の生物学的効果を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

I. 組織損傷由来の慢性痛に対する運動療法の早期介入効果に関する研究

実験動物は8週齢のWistar系雄性ラット25匹で、3%カラゲニン・3%カオリン混合液を右膝関節に注入することで組織損傷由来の慢性痛の実験動物モデルとされる膝関節炎モデルを作成した。そして、これらのラットを無作為に①関節炎惹起直後から患部の不活動を惹起する目的で、膝関節を伸展位で8週間継続して不動化する不動群(IM群;n=9)、②同様の不動化を行う過程で、持続的他動運動(continuous passive motion; 以下、CPM)装置を用いて1日60分間、週6回の頻度で関節運動による治療介入を行う群(CPM群;n=8)、③不動化や治療介入などは行わず、通常飼育とした対照群(Control;n=8)の3群に振り分けた。そして、8週間の実験期間中は経時的に膝関節の横径を計測することで患部の腫脹の程度を評価し、あわせてプッシュプルゲージを用いて患部の痛覚閾値を、4gならびに15gのvon Fley filamentを用いて患部の遠隔部にあたる足部の痛覚閾値を評価した。また、8週間の実験期間終了後は患部である膝関節の髄節にあたるL2-3レベルの脊髓組織ならびに遠隔部である足部の髄節にあたるL4-5レベルの脊髓組織を採取した。採取した脊髓試料はいずれも、前記した方法と同様にCGRPに対する蛍光免疫染色を施し、その画像解析によって脊髄後角におけるCGRPの発現強度を計測した。

II. 不活動由来の慢性痛に対する感覚入力早期介入効果に関する研究

実験動物は8週齢のWistar系雄性ラット35匹で、これらを無作為に①右側足関節を最大底屈位の状態で8週間不動化する群(IM群;n=10)、②不動直後より振動刺激を用いた感覚入力を促す群(IM+Vib1群;n=10)、③不動4週後より振動刺激を用いた感覚入力を促す群(IM+Vib2群;n=10)、④無処置の対照群(Control,n=5)に振り分けた。振動刺激による感覚入力は振動周波数80Hzのバイブレータを用い、右側足底部に1日15分間、週5回の頻度で行った。そして、実験期間中は4gならびに15gのvon Fley filamentを用いて、経時的に足部の痛覚閾値を評価した。また、両側の足底皮膚、後根神経節(dorsal root ganglion; 以下、DRG)ならびにL4-5レベルの脊髓組織を採取し、その後、皮膚の凍結切片にはH&E染色を、DRGと脊髓の凍結切片にはCGRPに対する蛍光免疫染色を施した。そして、これらの画像解析によって表皮厚、DRGのCGRP陽性細胞数、CGRP陽性細胞の断面積ならびに脊髄後角のCGRPの発現強度を計測した。

4. 研究成果

I. 組織損傷由来の慢性痛に対する運動療法の早期介入効果に関する研究

患部である膝関節の腫脹に関しては、IM群、CPM群、対照群の3群ともに起炎剤投与後1日目をピークに増加し、実験期間を通してこの3群間には有意差は認められなかった(図1)。次に、患部の痛覚閾値ならびに遠隔部である足部の痛覚閾値に関しては、3群とも起炎剤投与後1日目をピークに低下し、対照群のそれらは起炎剤投与後14日目には投与前と同程度まで上昇したのに対し、IM群のそれらは起炎剤投与後14日目において対照群と比べて有意に低下しており、これは起炎剤投与後56日目まで持続していた。一方、CPM群では起炎剤投与後14日目ではいずれも対照群との間に有意差は認めなかったものの、起炎剤投与後56日目では対照群より有意に低下していた。ただ、IM群と比べると有意に上昇していた(図1, 2)。また、IM群のL4-5レベルの脊髄後角浅層におけるCGRPの発現強度は対照群より有意に上昇していたのに対し、CPM群のそれは対照群と有意差は認められなかった(図3)。

以上の結果から、関節炎発症直後から必要以上に患部を不活動状態に曝してしまうと慢性痛に発展すると推測される。一方、関節炎発症後の不活動の過程で関節運動を実施すると、痛覚閾値の低下が早期に回復し、慢性痛への発展を抑制できることが示唆された。そして、このメカニズムには脊髄後角における中枢性感作の抑制が一要因になっていると推察される。

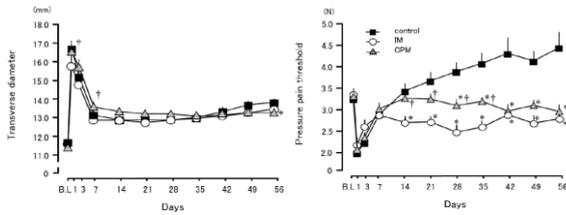


図1 患部の腫脹と痛覚閾値の推移

左図は経時的に膝関節の横径を計測することで患部の腫脹の程度を評価した結果である。右図はプッシュプルゲージを用いて、膝関節の圧痛閾値を経時的に計測することで患部の痛覚閾値を評価した結果である。

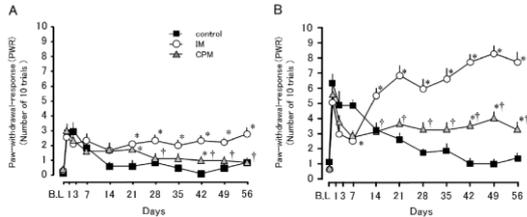


図2 足部の痛覚閾値の推移

von Frey filamentを用いて、患部の遠隔部にあたる足部の痛覚閾値を経時的に計測した結果である。左図は4gのvon Frey filamentの結果で、これはアロデニアの発生状況の評価している。一方、右図は15gのvon Frey filamentの結果で、これは痛覚過敏の発生状況の評価している。

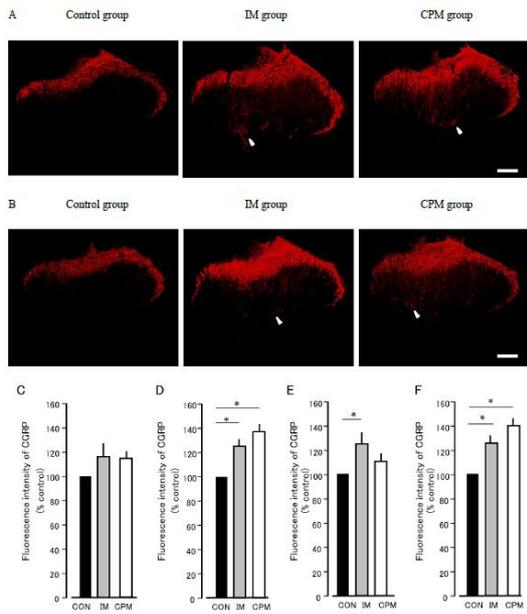


図3 脊髄後角におけるCGRPの発現状況

AはL2-3レベルの脊髄後角におけるCGRPに対する蛍光免疫染色像で、BはL4-5レベルの脊髄後角におけるCGRPに対する蛍光免疫染色像で、左からControl群、Im群、CPM群の結果である。C~Fは蛍光免疫染色像の画像解析によって得られた発現強度の結果であり、CはL2-3レベルの脊髄後角浅層、DはL2-3レベルの脊髄後角深層、EはL4-5レベルの脊髄後角浅層、FはL4-5レベルの脊髄後角深層の結果である。

II. 不活動由来の慢性痛に対する感覚入力 の早期介入効果に関する研究

足部の痛覚閾値は対照群に比べIm群は不

動2週間から有意に低下し、これは不動期間依存的に顕著となった。一方、Im+Vib1群の痛覚閾値は対照群より有意に低下するものの、その程度はIm群より軽度であり、Im+Vib1群とIm群の間には有意差が認められた。しかし、Im+Vib2群の痛覚閾値の低下はIm群と同程度で、この2群間には有意差は認められなかった(図4)。次に、不動側足部の表皮厚は対照群に比べIm群、Im+Vib1群、Im+Vib2群すべて有意に低値を示し、この3群間には有意差は認められなかった(図5)。また、DRGにおけるCGRP陽性細胞数はすべての群間に有意差は認められなかったが、その断面のヒストグラムをみると、対照群とIm+Vib1群は同様な分布を示し、それらに比べIm群とIm+Vib2群は大型の神経細胞にCGRPが発現していた(図6)。加えて、脊髄後角におけるCGRPの発現強度は対照群に比べIm群、Im+Vib1群、Im+Vib2群は有意に高値を示し、この3群を比較するとIm+Vib1群のみIm群より有意に低値を示した(図7)。

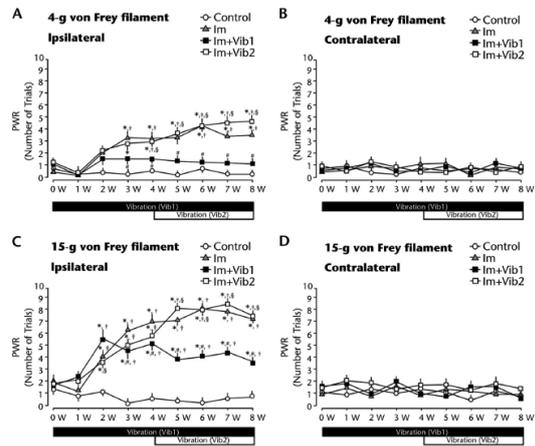


図4 足部の痛覚閾値の推移

von Frey filamentを用いて、足部の痛覚閾値を経時的に計測した結果である。AとCは不動側、BとDは非不動側の結果で、AとBは4gのvon Frey filamentの結果で、これはアロデニアの発生状況の評価している。一方、CとDは15gのvon Frey filamentの結果で、これは痛覚過敏の発生状況の評価している。

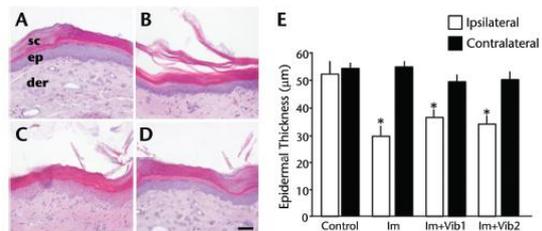


図5 皮膚の組織学的変化

A~Dは不動側足部の皮膚組織におけるH&E染色像で、AがControl群、BがIm群、CがIm+Vib1群、DがIm+Vib2群である。一方、Eは画像解析によって表皮厚を計測した結果で、白抜きの棒グラフが不動側、黒抜きの棒グラフが非不動側を示している。

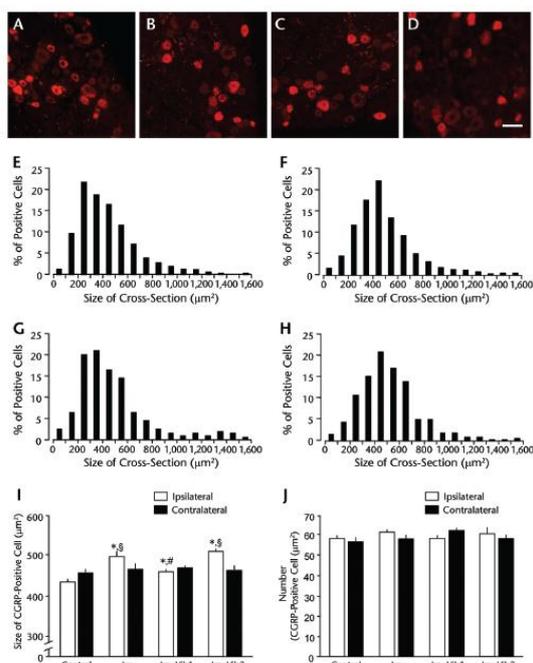


図6 DRGにおけるCGRP陽性細胞の変化

A~DはDRGにおけるCGRPに対する蛍光免疫染色像で、AがControl群、BがIm群、CがIm+Vib1群、DがIm+Vib2群である。E~Hは画像解析によってCGRP陽性細胞の断面積を計測し、そのヒストグラムを描いた結果であり、EがControl群、FがIm群、GがIm+Vib1群、HがIm+Vib2群である。また、IはCGRP陽性細胞の断面積の平均値の結果で、JはCGRP陽性細胞数の平均値の結果で、いずれも白抜きの棒グラフが不動側、黒抜きの棒グラフが非不動側を示している。

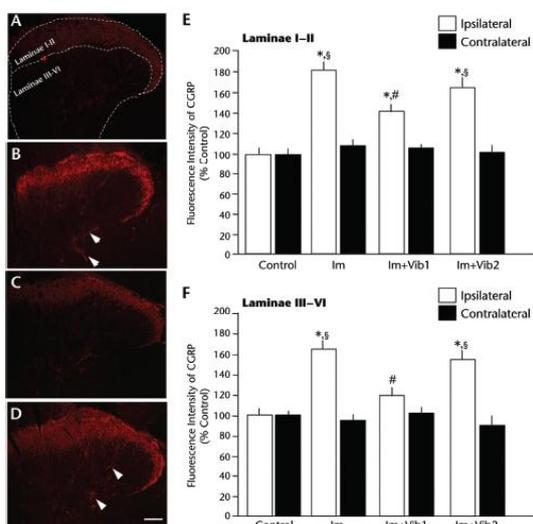


図7 脊髄後角におけるCGRPの発現状況

A~Dは脊髄後角におけるCGRPに対する蛍光免疫染色像で、AがControl群、BがIm群、CがIm+Vib1群、DがIm+Vib2群である。EとFは画像解析によってCGRPの発現強度を計測した結果であり、Eが脊髄後角浅層、Fが脊髄後角深層の結果で、いずれも白抜きの棒グラフが不動側、黒抜きの棒グラフが非不動側を示している。

以上の結果から、不動直後から振動刺激を用いた感覚入力を促すことで、不動によって惹起される痛覚過敏を軽減できることが示

唆された。そして、中枢性感作の指標として検索したDRGのCGRP陽性細胞断面積の分布状況ならびに脊髄後角のCGRP発現強度の結果から、不動直後からの振動刺激を用いた感覚入力の促通は中枢性感作の発生を抑制する効果があることも明らかになった。また、振動刺激を負荷しても不動によって惹起される表皮の菲薄化を抑制する効果は認められないことから、中枢性感作の抑制が痛覚過敏の軽減効果に作用していると推察される。しかしながら、不動4週間後から振動刺激を用いた感覚入力の促通を行っても痛覚過敏の発生を軽減する効果は認められず、このことを裏付けるように中枢性感作の状況は不動化のみの場合と同様に重度化していた。つまり、不活動由来の慢性痛の発生を予防するためには、早期からの感覚入力があることが有効であり、理学療法の一手段としての有用性が示唆された。

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12件)

- 1) Hamaue Y, Nakano J, Sekino Y, Chuganji S, Sakamoto J, Yoshimura T, Okita M, Origuchi T: Effects of vibration therapy on immobilization-induced hypersensitivity in rats. *Phys Ther*. 2015 Feb 5 [Epub ahead of print]. 査読有。
- 2) 寺中 香, 坂本淳哉, 近藤康隆, 濱上陽平, 関野有紀, 片岡英樹, 中野治郎, 沖田 実: ラット膝関節炎モデルに対する患肢の不動ならびに低強度の筋収縮運動が腫脹や痛覚閾値におよぼす影響. *PAIN RES* 29: 152-160, 2014. 査読有。
- 3) 沖田 実, 関野有紀, 濱上陽平, 大賀智史, 寺中 香, 中野治郎, 坂本淳哉: 廃用と痛み. *MB Med Reha* 177: 47-53, 2014. 査読無。
- 4) 大賀智史, 関野有紀, 片岡英樹, 中野治郎, 沖田 実: ラット足関節不動モデルの骨格筋における痛覚過敏と神経成長因子の変化. *日本運動器疼痛学会誌* 6: 107-113, 2014. 査読有。
- 5) Sakamoto J, Morimoto Y, Ishii S, Nakano J, Manabe Y, Okita M, Tsurumoto T: Investigation and macroscopic anatomical study of referred pain in patients with hip disease. *J Phys Ther Sci* 26: 203-208, 2014. 査読有。
- 6) Sekino Y, Nakano J, Hamaue Y, Chuganji S, Sakamoto J, Yoshimura T, Origuchi T, Okita M: Sensory hyperinnervation and increase in NGF, TRPV1 and P2X3 expression in the epidermis following cast immobilization in rats. *Eur J Pain* 18: 639-648, 2014. 査読有。
- 7) 関野有紀, 濱上陽平, 中野治郎, 沖田 実: 不動に伴う痛みと皮膚の組織学的変

化の経時的推移. 日本運動器疼痛学会誌 5: 139-143, 2013. 査読有.

- 8) Hamaue Y, Nakano J, Sekino Y, Chuganji S, Sakamoto J, Yoshimura T, Origuchi T, Okita M: Immobilization-induced hypersensitivity associated with spinal cord sensitization during cast immobilization and after cast removal in rats. *J Physiol Sci* 63: 401-408, 2013. 査読有.
- 9) 沖田 実, 中野治郎, 関野有紀, 濱上陽平: ペイン・リハビリテーション: 不活動と痛み. *Practice of Pain Management* 4: 18-22, 2013. 査読無.
- 10) Tanaka Y, Nakano J, Hamaue Y, Sekino Y, Sakamoto J, Kataoka H, Okita M: Hindlimb suspension does not influence mechanical sensitivity, epidermal thickness, and peripheral nerve density in the glabrous skin of the rat hind paw. *Physiol Res* 62: 119-123, 2013. 査読有.
- 11) 関野有紀, 濱上陽平, 中野治郎, 沖田実: ラット足関節不動モデルの痛みと皮膚における組織学的変化. 日本運動器疼痛学会 14: 20-27, 2012. 査読有.
- 12) Nakano J, Sekino Y, Hamaue Y, Sakamoto J, Yoshimura T, Origuchi T, Okita M: Changes in hind paw epidermal thickness, peripheral nerve distribution and mechanical sensitivity after immobilization in rats. *Physiol Res* 61: 643-647, 2012. 査読有.

[学会発表] (計 21 件)

- 1) Sekino Y, Nakano J, Hamaue Y, Chuganji S, Sakamoto J, Yoshimura T, Origuchi T, Okita M: Temporal histological changes in rat hind paw skin following cast immobilization. Annual Meeting of Society for Neuroscience 2014, 2014.11.15-19, Washington DC, USA.
- 2) 沖田 実, 中野治郎, 坂本淳哉, 関野有紀: 不活動に起因する痛みに対する運動療法の効果: 基礎研究からの分析. 第 36 回日本疼痛学会 (招待講演), 2014.6.20-6.21, KKR ホテル大阪 (大阪府・大阪市).
- 3) 中林紘二, 坂本淳哉, 近藤康隆, 濱上陽平, 関野有紀, 佐々部陵, 中野治郎, 沖田 実: ラット膝関節炎モデルに対する患肢の不動ならびにその過程で実施する持続的他動運動が痛みや腫脹におよぼす影響. 第 49 回日本理学療法学会, 2014.5.30-6.1, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市).
- 4) Sekino Y, Nakano J, Hamaue Y, Chuganji S, Sakamoto J, Yoshimura T, Okita M: Changes in skin tissue modulate immobilization-induced hypersensitivity. XXI World Congress of Neurology, 2013.9.21-9.26, Vienna, Austria.
- 5) 関野有紀, 濱上陽平, 中願寺風香, 中野

治郎, 沖田 実: 不動に伴う痛みの末梢機構—皮膚の組織学的変化から—. 第 18 回日本ペインリハビリテーション学会学術大会, 2013.8.31-9.1, 九州ビルホール (福岡県・福岡市).

- 6) 濱上陽平, 関野有紀, 中願寺風香, 中野治郎, 沖田 実: 不動由来の痛みに対する振動刺激の効果—不動早期からの感覚入力に痛覚過敏の発生を抑制する—. 第 18 回日本ペインリハビリテーション学会学術大会, 2013.8.31-9.1, 九州ビルホール (福岡県・福岡市).
- 7) 近藤康隆, 吉野孝明, 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 18 回日本ペインリハビリテーション学会学術大会, 2013.8.31-9.1, 九州ビルホール (福岡県・福岡市).
- 8) 中林紘二, 坂本淳哉, 近藤康隆, 濱上陽平, 関野有紀, 佐々部陵, 中野治郎, 沖田 実: 炎症に対する不動ならびにその過程で実施する持続的他動運動が痛みや腫脹におよぼす影響—ラット膝関節炎モデルを用いた実験的研究—. 第 18 回日本ペインリハビリテーション学会学術大会, 2013.8.31-9.1, 九州ビルホール (福岡県・福岡市).
- 9) 関野有紀, 濱上陽平, 中願寺風香, 中野治郎, 沖田 実: 不動によって生じる痛みと皮膚の組織学的変化の関連性. 第 35 回日本疼痛学会, 2013.7.12-7.13, 大宮ソニックシティ (埼玉県・さいたま市).
- 10) 濱上陽平, 関野有紀, 中願寺風香, 中野治郎, 沖田 実: ラット足関節不動モデルに対する振動刺激の効果—不動早期からの感覚入力に痛覚過敏の発生を抑制する—. 第 48 回日本理学療法学会, 2013.5.24-5.26, 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市).
- 11) 関野有紀, 濱上陽平, 中願寺風香, 中野治郎, 沖田 実: 不動に伴う痛みと皮膚の組織学的変化の経時的推移. 第 48 回日本理学療法学会, 2013.5.24-5.26, 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市).
- 12) 沖田 実: 末梢組織の変化からみた不活動由来の痛みの発生メカニズム. 第 90 回日本生理学会 (招待講演), 2013.3.27-29, タワーホール船堀 (東京都・江戸川区).
- 13) 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 (招待講演), 2012.9.15-16, 長崎ブリックホール (長崎県・長崎市).
- 14) 関野有紀, 濱上陽平, 中野治郎, 沖田実: 不動に伴う皮膚の組織学的変化の推移と痛覚閾値低下の関連性. 第 5 回日本運動器疼痛学会, 2012.11.17-18, 東京ファッションタウンビル (東京都・江東区).
- 15) 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 (招待講演), 2012.9.8-9.7, 名古屋市中小企業振興会館 (愛知県・名古屋市).

- 16) 関野有紀, 濱上陽平, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実: 不活動由来の痛みの発生メカニズムにおける皮膚の変化. 第 17 回日本ペインリハビリテーション学会学術大会, 2012.9.8-9.7, 名古屋市中小企業振興会館 (愛知県・名古屋市).
- 17) Nakano J, Sekino Y, Hamaue Y, Okita M: Change in mechanical sensitivity and calcitonin gene-related peptide expression during short-and long-term joint immobilization in rats. International Association for the Study of Pain 14th World Congress on Pain, 2012.8.27-31, Milan, Italy.
- 18) Sekino Y, Hamaue Y, Nakano J, Sakamoto J, Honda Y, Okita M: Immobilization induces pain and histological change of cutaneous tissue in the rat. International Association for the Study of Pain 14th World Congress on Pain, 2012.8.27-31, Milan, Italy.
- 19) 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. International Association for the Study of Pain 14th World Congress on Pain, 2012.8.27-31, Milan, Italy.
- 20) 関野有紀, 濱上陽平, 田中陽理, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実: 不動に伴う痛み発生メカニズムの探索—皮膚組織に着目して. 第 47 回日本理学療法学術大会, 2012.5.25-27, 神戸ポートピアホテル (兵庫県・神戸市).
- 21) 濱上陽平, 関野有紀, 田中陽理, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実: 振動刺激による感覚刺激入力はラット足関節不動化モデルの痛覚閾値の低下を抑制する. 第 47 回日本理学療法学術大会, 2012.5.25-27, 神戸ポートピアホテル (兵庫県・神戸市).

[図書] (計 1 件)

- 1) 沖田 実, 坂本淳哉, 本田祐一郎, 中野治郎, 片岡英樹, 近藤康隆: 関節可動域制限第 2 版—病態の理解と治療の考え方. 三輪書店, 2013, 総ページ数 230.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:

番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

http://www.am.nagasaki-u.ac.jp/pt/basic_pt/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

沖田 実 (OKITA, Minoru)

長崎大学・医歯薬学総合研究科 (保健学科)・教授

研究者番号: 50244091

(2) 研究分担者

中野治郎 (NAKANO, Jiro)

長崎大学・医歯薬学総合研究科 (保健学科)・准教授

研究者番号: 20380834

坂本淳哉 (SAKAMOTO, Jyunya)

長崎大学・医歯薬学総合研究科 (保健学科)・准教授

研究者番号: 20584080