

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350582

研究課題名(和文) 運動療法がアポトーシスやアディポカインを介して脳梗塞再発を抑制する機序の解析

研究課題名(英文) The analysis of mechanism of the prevention against stroke recurrence via apoptosis and adipocytokines by therapeutic exercise

研究代表者

倉林 均 (KURABAYASHI, Hitoshi)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：70192036

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)：動脈硬化は血小板活の性化、血管内皮機能の障害、凝固・線溶系の破綻などにより脳梗塞を引き起こす。脳梗塞後には、炎症性サイトカイン、アポトーシス、接着分子、成長因子などにより、梗塞巣周辺の神経細胞には壊死またはアポトーシスが誘発され、神経症状はさらに増悪していく。運動療法がこれらの悪循環を阻止できないかを研究した。本研究では、運動療法が脳卒中におけるアポトーシス、サイトカイン、接着分子、成長因子の指標を減少させることが示された。運動療法の継続は、脳卒中後の神経細胞死の抑制に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Atherosclerosis causes platelet activation, endothelial dysfunction, and coagulation fibrinolytic disorder, resulting in cerebral thrombosis or hemorrhage. After ischemic or hemorrhagic stroke, inflammatory cytokines, apoptosis, adhesion molecules, and growth factors induce neuronal death around the stroke lesion. The aim of this study is to clarify whether the exercise or rehabilitation contributes to the prevention of neuronal death after stroke. This study demonstrated that physical and occupational therapies reduced the parameters of inflammatory cytokines, apoptosis, adhesion molecules, and growth factors in patients with stroke. It is suggested that the therapeutic exercise prevent the neuronal death after stroke.

研究分野：総合領域

キーワード：運動療法 脳卒中 動脈硬化 血管内皮障害 神経細胞死 炎症性サイトカイン アポトーシス 接着分子

1 . 研究開始当初の背景

運動療法は単に運動機能の回復だけではなく免疫、内分泌、凝固・線溶、血管内皮機能などの回復にも有用であるという理念のもとに、私達は運動療法が生体や疾病に及ぼす影響を研究してきた。動脈硬化の進展には内皮細胞、血小板、凝固線溶系、リンパ球、接着分子等が関与し、脳梗塞を引き起こしている。さらに、脳梗塞病巣には種々のサイトカインの産生やアポトーシスの出現がみられ、脳梗塞後の病巣拡大や神経症状の悪化をきたしていく (ischemic cascade)。抗血小板療法や抗凝固療法の有用性が確立されて久しいが、今後は脳梗塞発症後の ischemic cascade の阻止が重要になってくる。

私達は科研費により運動療法が免疫機能を改善すること (H12-13 年度科研費)、運動療法が血小板・内皮・凝固・線溶機能に影響を及ぼすこと (H16-17)、運動療法がインスリン抵抗性を改善すること (H20-22)、運動療法が血小板活性化や血管内皮障害、凝固線溶異常を軽減すること (H23-25) を報告し、運動療法が脳梗塞の 2 次予防に寄与することを示した。

本研究課題では、運動療法が ischemic cascade でみられるサイトカインやアポトーシスに及ぼす影響を解析し、神経細胞死や梗塞病巣拡大の阻止に寄与するか否かを解析した。

2 . 研究の目的

脳卒中後に ischemic cascade を引き起こす炎症性サイトカイン、アポトーシス、接着分子、成長因子、活性酸素分解酵素の指標の変動を解析し、運動療法の継続がサイトカインやアポトーシスを抑制して脳卒中後の神経細胞死の進展の抑制に有用か否かを検討する。リハビリテーション (運動療法) の安全性と有用性が確立している脳卒中を対象とした。

脳卒中の亜急性期において運動療法(理学療法、作業療法)を施行した症例に対して、末梢血中の

炎症性サイトカイン、アポトーシス、接着分子、成長因子、活性酸素分解酵素などの指標を測定し、運動療法が ischemic cascade に及ぼす影響を解析し、運動療法による脳卒中後の神経細胞死の抑制の可能性を検討する。

3 . 研究の方法

脳卒中発症 20-30 日後の亜急性期に運動療法 (理学療法、作業療法) を継続し、末梢血中の炎症性サイトカイン (IL-6, IL-6R, IL-1 β , TNF- α , TNFR-1, TNFR-2)、アポトーシス指標 (sFas)、接着分子 (P-selectin, L-selectin)、成長因子 (PDGF)、活性酸素分解酵 (SOD) の変動を、急性期を脱した発症 20~30 日後と運動障害のほぼ固定した 50~60 日後の 2 時点で測定した。運動療法 (理学療法、作業療法) は病状に合わせて 1 日 40~120 分施行した。研究期間中に施行された運動療法の総時間を上記の 2 時点間の日数で除したものを理学・作業療法施行時間 (min/day) とした。各測定値の変動幅 (2 時点間での測定値の差 = 後値 postvalue - 前値 prevalue) を、各項目に Δ を冠して、 Δ sFas, Δ L-selectin, Δ IL-1 β , Δ IL-6, Δ TNFR などと表示した。2 時点間の各測定値の変動幅 と、1 日当たりの運動療法時間 (min/day) との相関関係を計算した。運動療法による運動機能の評価は motor Functional Independence Measure (mFIM) により評価した。

心原性脳塞栓、重度の意識障害や合併症、病状悪化の症例は除外した。本研究は、本学の IRB により承認され、全症例から Informed Consent を得て、施行された。

相関係数はピアソン法により、2 群間の差は t 検定により計算した。

4 . 研究成果

対象は脳卒中 11 例 (69.6 \pm 17.2 歳; 脳梗塞 5 例、脳出血 6 例; 男 4 人、女 7 人) であった。全 11 症例について、末梢血中の soluble Fas (sFas),

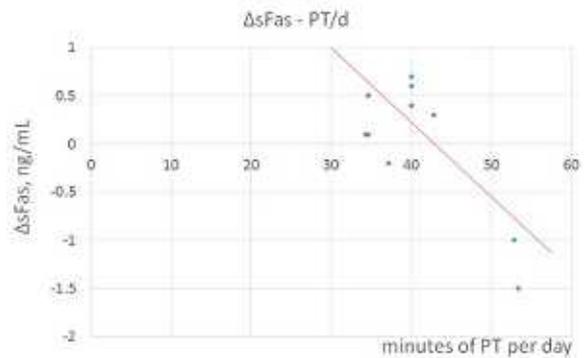
platelet derived growth factor (PDGF), L-selectin, P-selectin, interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-6 receptor (IL-6R), tumor necrotic factor α (TNF- α), tumor necrotic factor receptor 1, 2 (TNFR1, 2), superoxide dismutase (SOD)を、発症後 20 ~ 30 日後および 50 ~ 60 日後の 2 時点で測定した。

1 日当たりの運動療法 (理学療法、作業療法、及び、リハビリ = 理学療法 + 作業療法) の施行時間 (min/day) で示した運動療剂量 (理学療剂量、作業療剂量、及び、リハビリ量) と、上記指標の変動幅 (2 時点間での測定値の差 = 後値 - 前値 : それぞれ Δ sFas, Δ L-selectin, Δ P-selectin, Δ IL-1 β , Δ IL-6, Δ TNFR で表示) との間の相関関係を計算した。

脳卒中患者においては、理学療剂量 (1 日当たりの理学療法時間) と Δ sFas, Δ L-selectin との間に強い負の相関関係が認められ (それぞれ $r = -0.790, -0.729$) (図 1, 2) Δ P-selectin, Δ IL-6 との間に負の相関関係が認められた (それぞれ $r = -0.522, -0.580$) (図 3, 4) また、作業療剂量 (1 日当たりの作業療法時間) と Δ L-selectin との間に負の相関関係が、 Δ IL-1 β との間に正の相関関係が認められ (それぞれ $r = -0.514, 0.540$) (図 5, 6) Δ TNFR2 との間には弱い負の相関関係がみられた ($r = -0.388$)。さらに、リハビリ量 (1 日当たりの理学療法と作業療法の合計時間) と Δ L-selectin, Δ TNFR2 との間に負の相関関係が (それぞれ $r = -0.644, -0.589$) Δ IL-1 β との間に正の相関関係が認められ ($r = 0.530$) (図 7, 8, 9) Δ sFas との間には弱い負の相関関係がみられた ($r = -0.497$)。PDGF, TNFR1, IL-6R, TNF- α , SOD と運動療法時間との間には相関関係は認められなかった。

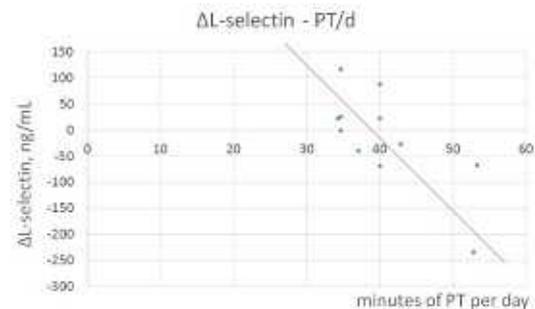
当科転科時 (発症 10 ~ 20 日) と退院時 (発症 40 ~ 60 日) の mFIM は、それぞれ $38.8 \pm 14.9, 66.6 \pm 13.3$ ($p < 0.0001$) であり、運動機能の著名な改善が認められた。研究期間中に脳卒中が悪化または再発した症例はなかった。

図 1 sFas と理学療法時間



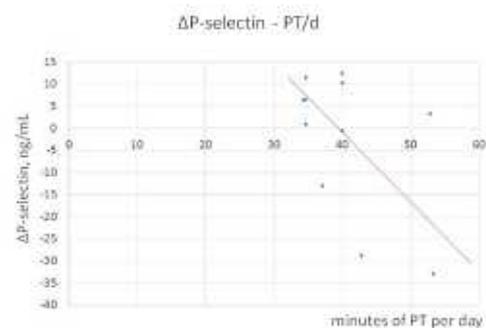
$$r = -0.790$$

図 2 L-selectin と理学療法時間



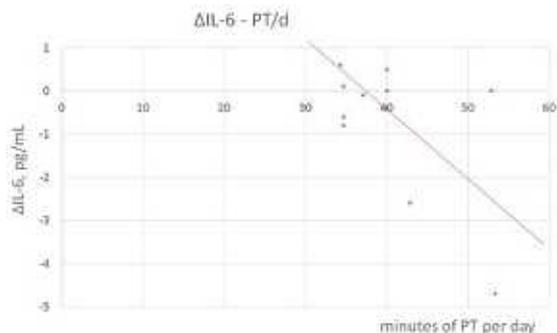
$$r = -0.729$$

図 3 P-selectin と理学療法時間



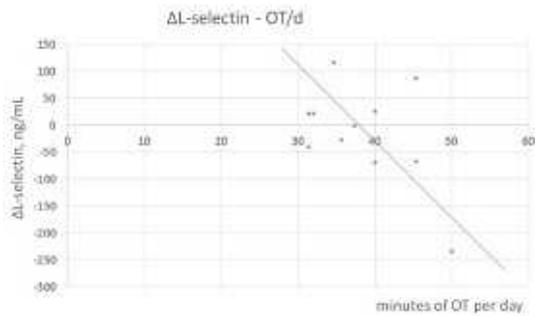
$$r = -0.522$$

図 4 IL-6 と理学療法時間



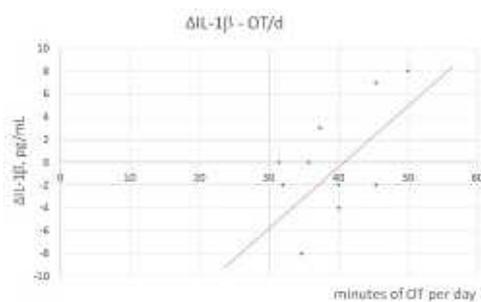
$$r = -0.580$$

図5 L-selectin と作業療法時間



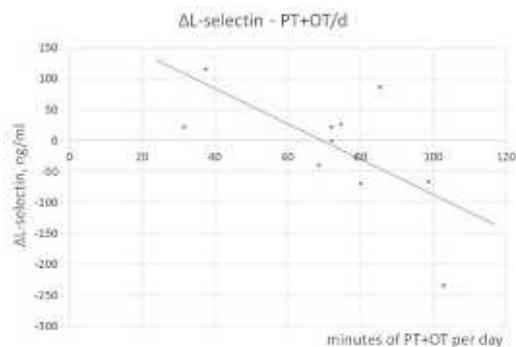
$r = -0.513$

図6 IL-1 と作業療法時間



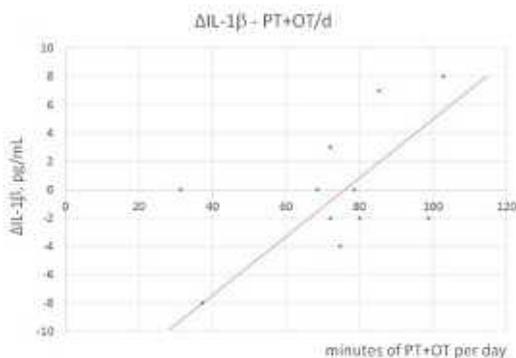
$r = 0.540$

図7 L-selectin とリハビリ時間



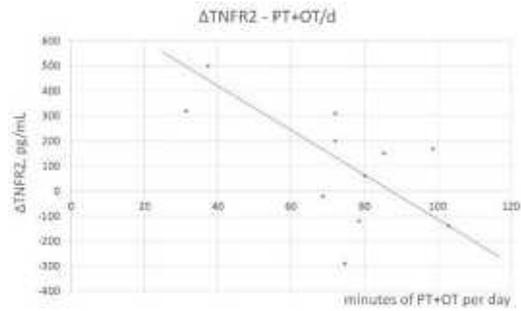
$r = -0.644$

図8 IL-1 とリハビリ時間



$r = 0.530$

図9 TNFR2 とリハビリ時間



$r = -0.589$

<考案>

本研究課題では、運動療法の継続により、脳卒中においては、1日当たりの運動療法施行時間とΔsFas, ΔL-selectin, ΔP-selectin, ΔIL-6, ΔTNFR2との間に負の相関関係がみられ、ΔIL-1βとの間には正の相関関係がみられた。運動療法時間が多くなることにより、sFas, L-selectin, P-selectin, IL-6, TNFR2の変動幅Δは減少し、即ち、正常範囲へ回復していくと思われる。またIL-1βは増大していくと考えられる。運動療法を継続することにより、炎症性サイトカイン、接着分子、アポトーシスは軽減する傾向を示し、運動療法による脳卒中後の神経細胞死の抑制の可能性が示唆された。

本研究課題では、運動療法の継続により、アポトーシス関連抗原やサイトカインに変動がみられたものの、全ての指標の変動を説明できるような一定の結論には至らなかった。しかし、運動療法がアポトーシスや炎症性サイトカインを介して、神経細胞死の抑制に何らかの影響を与えていると考えられた。

先の科研究による研究課題では、運動療法が免疫、内分泌、凝固・線溶、血管内皮の機能異常を軽減させる傾向があり、脳梗塞の2次予防に有用であることを報告した。これらを考え合わせると、運動療法は、脳梗塞予防だけでなく脳卒中進展阻止にも寄与していると考えられた。

<引用文献>

Kurabayashi H, Kubota K, et al: Effects of hyperthermia stress on the ultrastructure of platelets with special reference to the localization of platelet peroxidase and fibrinogen in vivo. *Am J Hematol* 56: 244-247, 1997.

Kurabayashi H, Machida I, et al: Effects of physical therapy on cytokines and two color analysis-lymphocyte subsets in patients with cerebrovascular diseases. *J Med* 30: 31-37, 1999.

Kurabayashi H, Tamura J, et al: Possible existence of platelet activation before the onset of cerebral infarction. *Atherosclerosis* 153: 203-207, 2000.

Kurabayashi H, Kubota K, et al: Platelet activation is caused not by aging but by atherosclerosis. *Arch Gerontol Geriatr* 51: 205-208, 2010.

Hishinuma A, Majima M, Kurabayashi H: Insulin resistance in patients with stroke is related to visceral fat obesity and adipocytokines. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 17: 175-180, 2008.

Hishinuma A, Majima M, Kurabayashi H: Is insulin resistance related to recurrence of stroke or incident of ischemic heart diseases in patients with stroke? *J Stroke Cerebrovasc Dis* 18: 294-297, 2009.

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計5件)

Shizuo Sasazaki, Eiji Yamada, Hitoshi Kurabayashi, Akiko Hishinuma, Jun'ichi Tamura, Kazuo Kubota: Clinical effects of steam rock bathing in Saiboku hot spring for allergic rhinitis. *J Balneol Climatol Phys Med*, 査読有り, 80: 73-79, 2017.

<http://doi.org/10.11390/onki.2306>

Hitoshi Kurabayashi: Special topics from Japan. *Thrombotic and hemostatic reactions to bathing*

in very hot hot-spring. *J Balneol Climatol Phys Med*, 査読有り, 78: 177-186, 2015.

<http://doi.org/10.11390/onki.78.177>

Ayako Komuro, Hitoshi Kurabayashi, Yosie Sasaki, Toru Sugiura, Akiko Hishinuma, Mitsuru Majima: Clinical improvement in higher brain function and rapid functional recovery in a case of cerebellar hemorrhage treated by neurocognitive rehabilitation. *Neurocase*, 査読有り, 20: 260-262, 2014.

doi: 10.1080/13554794.2013.770875.

高田有紀, 間嶋満, 前田恭子, 倉林均: 特発性正常圧水頭症に対する腰椎腹腔短絡術後短期でのリハビリテーション施行の経過. *埼玉県医学会雑誌*, 査読無し, 50(1): 464-467, 2015.

倉林均: 動脈硬化薬における血小板の活性化 - エイジングとの関連について. *Anti-aging Science*, 査読無し, 6: 42-47, 2014.

[学会発表](計12件)

Maeda K, Majima M, Kurabayashi H: Effect of comprehensive rehabilitation during four weeks in patients with disuse syndrome. 27th International Conference on Frailty and Sarcopenia Research, 28 April 2017, Barcelona Fira Center, Barcelona, Spain.

前田恭子, 菱沼亜紀子, 倉林均, 間嶋満: 廃用症候群に対する4週間の包括的リハビリテーションの効果に関する予備的検討. 第54回日本リハビリテーション医学会学術集会 2017年6月8日, 岡山コンベンションセンター(岡山県・岡山市).

倉林均, 前田恭子, 間嶋満: 運動療法が脳梗塞の血管内皮・血小板・凝固線溶機能に及ぼす影響. 第20回日本適応医学会学術集会 2016年12月17日, 東京コンベンションホール(東京都・中央区).

間嶋満, 前田恭子, 倉林均: 脳腎関連が発症の

危険因子となった脳梗塞の1例 - 再発予防にリハ科専門医がなすべきこと - 第65回日本リハビリテーション医学会関東地方会 2016年12月10日, つくば国際会議場(茨城県・つくば市).

間嶋満, 前田恭子, 倉林均, 知念亜紀子: 発症後11月を要して、嚥下障害と発声・発語機能の著しい改善が認められた、重症被殻出血の1例. 第63回日本リハビリテーション医学会関東地方会 2016年3月26日, 帝京大学大講堂(東京都・板橋区).

前田恭子, 菱沼亜紀子, 倉林均, 間嶋満: 橋中心性髄鞘崩壊症による筋緊張亢進にボツリヌス治療・バクロフェン髄注・手術を施行し歩行を獲得した症例. 第52回日本リハビリテーション医学会学術集会 2015年5月29日, 朱鷺メッセ(新潟県・新潟市).

前田恭子, 間嶋満, 倉林均, 知念亜紀子: 食道入口部の開大不全が嚥下障害の主因であったWallenberg Syndromeの1症例~嚥下圧検査からの検討~ 第60回日本リハビリテーション医学会関東地方会 2015年3月28日, 白鷗大学白鷗ホール(栃木県・小山市).

高田有紀, 間嶋満, 前田恭子, 倉林均: 特発性正常圧水頭症に対する腰椎腹腔短絡術後短期でのリハビリテーション施行の経過. 第52回埼玉県医学会総会 2015年2月22日, 埼玉県県民健康センター(埼玉県・さいたま市).

前田恭子, 間嶋満, 倉林均, 知念亜紀子: 抗てんかん薬による低Na血症が意識障害を遷延させた1例. 第58回日本リハビリテーション医学会関東地方会 2014年9月20日, JAとりで総合医療センター講堂(茨城県・取手市).

前田恭子, 菱沼亜紀子, 倉林均, 間嶋満: 廃用症候群に対する4週間の包括的リハビリテーションの効果に関する予備的検討. 第51回日本リハビリテーション医学会学術集会 2014年6月7日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋

市).

間嶋満, 前田恭子, 倉林均, 菱沼亜紀子: 脳卒中患者におけるインスリン抵抗性と骨質劣化との関連(第1報). 第51回日本リハビリテーション医学会学術集会 2014年6月6日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市).

間嶋満, 前田恭子, 倉林均, 菱沼亜紀子: 脳梗塞発症後に発見された耐糖能障害が、回復期前半でのリハビリテーションの帰結に及ぼす影響. 第51回日本リハビリテーション医学会学術集会 2014年6月6日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市).

〔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

<http://www.saitama-med.ac.jp/hospital/division/53rehabilitation/index.html>

<http://www.saitama-med.ac.jp/uinfo/rehabilitation/>

<http://www013.upp.so-net.ne.jp/balneology-res/>

<http://www013.upp.so-net.ne.jp/balneology-res/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

倉林 均 (KURABAYASHI, Hitoshi)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号: 70192036