

機関番号：34509

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20700449

研究課題名(和文) 末梢神経損傷後の神経・皮膚組織に対する物理療法の影響

研究課題名(英文) Influence of physical agents on peripheral nerve regeneration and skin lesion after transection of the mouse sciatic nerve.

研究代表者

小形 晶子(OGATA AKIKO)

神戸学院大学・総合リハビリテーション学部・助教

研究者番号：70411882

## 研究成果の概要(和文):

末梢神経再生においては、神経線維の再生を速やかに行い、再支配が行われるまでの筋や皮膚の性状の維持が重要となる。今研究では、末梢神経再生に対する物理療法の影響とともに、再生神経線維が成熟しやすい環境をつくる手段として物理療法を用いる妥当性について検討した。今研究で作成した皮膚損傷モデルマウスは、除神経皮膚に対する物理療法の影響を検討するのに適しており、また、超音波は損傷皮膚と再生神経に対して形態学的・機能的再生を促す有用な手段となりうることを示唆された。

## 研究成果の概要(英文):

To preserve property of the muscle and skin from degeneration is one of the most important things until peripheral nerve regeneration was completed. In this study, to evaluate the effective of physical agents on peripheral nerve regeneration, we investigate that physical agents, such as electrical stimulation, ultrasound, promoted the environment to be suitable for mature of regenerating nerve fiber.

This study demonstrates that the development of mouse model of pressure ulcer by intensive mechanical loads, and this model was adequate to study the effects of physical agents on wound healing. In addition, we were able to show that ultra sound might be useful tools to accelerate morphological and functional reconstruction on skin lesion and regenerating nerve

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	400,000	120,000	520,000
2010年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：理学療法学，組織学

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：リハビリテーション，物理療法

## 1. 研究開始当初の背景

外傷などにより末梢神経が傷害を受けると、神経そのものの障害だけでなく、その

神経が支配する筋や皮膚などに二次的な障害が発生することが大きな問題となってい

る。医療の面では、組織形態学的な再生と同様に「機能再建」が大きな課題であり、外科的治療、薬物治療をはじめとした多種多様な研究が行われている。

疾病や傷害により失われた機能を再度構築していくのが、医療における理学療法の主たる役割であり、その中でも生体に物理的なエネルギーを加えることによって、組織・細胞に直接的な変化を起こし、治癒促進に働きかけるのが物理療法といわれるものである。現在の理学療法の現場では、電気刺激、磁気刺激、超音波刺激、レーザー刺激など様々な手段が用いられている。

末梢神経傷害においては、神経再支配が完了するまで脱神経筋の性状を維持する事に加えて、神経再支配までの期間をいかに短くするのが傷害後の機能回復には最も重要である。理学療法の臨床場面では、末梢神経の再生が完了するまで脱神経された筋の性状を維持する目的で、主に筋に対する電気刺激療法が用いられている。これらの物理療法が末梢神経の再生にそのものに対してどのような影響を与えるかについては、一定の見解が得られるには至っていない。実際の理学療法場面で用いられている方法が、末梢神経再生に対してどのような影響を与えるのかを組織形態学的に調べた我々の研究では、このような経皮的に電気刺激や磁気刺激を与える方法でも、再生初期の末梢神経の先端である成長円錐に対して、限局した影響を及ぼしている事が明らかとなった(Ogata A, et. al. Influence of Electrical and Electromagnetic Stimulation on Nerve Regeneration in the Transected Mouse Sciatic Nerve: An Electron Microscopic Study. Bulletin of Health Sciences Kobe, 17, 13-22, 2001)。また、より生体深部に電流を

生じさせることが可能な磁気刺激を抑制したマウス坐骨神経に対して与えた場合には、再生神経の数は多いが直径は小さいままであることがわかった。このことより磁気刺激が髄鞘を形成するシュワン細胞に対しても何らかの影響を与えていることが示唆され、磁気刺激は末梢神経の再生に対して、再生神経の発芽やその後の軸索の成熟に対して働きかけることが可能であり、速やかな神経再支配に対して極めて有効な手段になりうる可能性が示された。また、末梢神経損傷により脱神経された皮膚においても膠原線維の増加や表皮組織の形態学的変化が生じることが、マウスの足底皮膚を観察した実験で明らかになった(八田ら、坐骨神経損傷後のマウス足底における神経再生と皮膚の形態変化. 理学療法学. 31(Supplement 2), 2004)。機能再建には神経再生を促進することだけでなく、周囲組織に適した環境を整えることも重要であることがこの実験結果から示された。このような視点より物理療法を用いた研究はほとんどないため、今研究では、末梢神経の再生に対する物理療法の影響を、マウスを用いた実験を行い、組織形態学的側面と機能的側面から検討し、明らかにしようと以下の実験を行った。

## 2. 研究の目的

今研究では、物理療法が細胞・組織に与える影響を組織形態学的な視点から、(1)除神経されたマウスの足底皮膚に対する物理療法の影響、(2)末梢神経再生に対する物理療法の影響、についての観察を行うものとした。

### 3. 研究の方法

(1)についてはマウスの坐骨神経を大腿中央部にて切断または挫滅して除神経を行うことによって、足底皮膚損傷モデルを作成した。その後、超音波を皮膚損傷部位に与え、皮膚の組織学変化を光学顕微鏡にて観察した。(2)については、(1)と同様に坐骨神経損傷モデルを作成し、損傷部位に経皮的に超音波または電気刺激を与え、再生末梢神経の組織学的変化を光学顕微鏡にて観察した。

### 4. 研究成果

(1) 除神経による皮膚傷害マウスの作製  
と、皮膚損傷に対する物理療法の影響  
マウス坐骨神経を大腿中央部で完全に切断した後、足底に圧負荷をかけるために、神経切断3日後よりマウス用トレッドミルを用いて強制的に歩行運動を行わせ、足底皮膚損傷モデルを作成した。トレッドミルによる運動負荷は、斜度0°、速度10m/min、1日30分を5日間とした。足底踵部皮膚の組織学的観察を行った結果、健常側(図A)に比べて表皮が厚くなり角質層の厚みも増していた(図B)。有棘層や顆粒層では大型の明るい細胞が健常側に比べて著明に増加していた。真皮には多数の線維芽細胞が観察され、膠原線維の増加も認められた。小型球形の細胞の増加も確認されたが、これはマクロファージや好中球、リンパ球などの炎症性細胞であると思われるため、現在、抗マクロファージ抗体を用いた免疫組織学的染色を追加し検討を行っている。

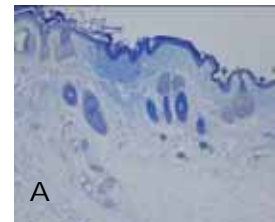


図 A : 正常

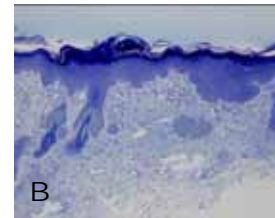


図 B : 損傷足底皮膚

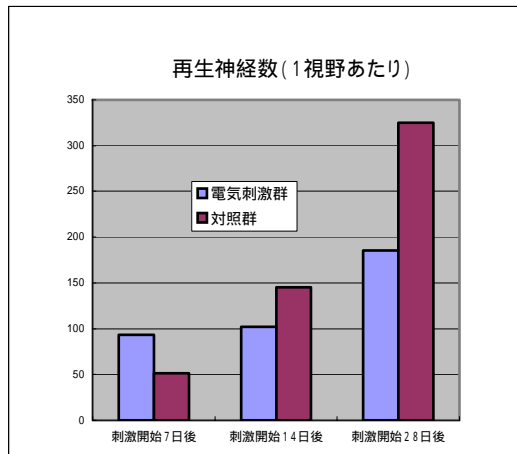
マウスの歩行と足底面の床への接地をデジタルビデオカメラを用いて詳細に観察・分析した結果、このような組織学的変化は、除神経によって踵部への過度の足底接地が生じたことによって歩行様式が変化したことによって引き起こされたことが明らかとなり、皮膚損傷モデルとして有用であることが確認された。この皮膚損傷モデルに対して、損傷部に周波数1MHz、有効照射面積1cm<sup>2</sup>、出力0.7W/cm<sup>2</sup>、1日5分間の条件で週5日、2週間の超音波照射を行ったものについては、一時的に膠原線維の増加が見られるものの、与えていないものに比べると、その量は減少していく傾向が見られ、マクロファージなどの炎症細胞の変化とともに、現在、詳細な組織学的検討を行っている。

#### (2) 末梢神経再生に対する物理療法の影響

マウス坐骨神経を大腿中央部で挫滅し、2日後から損傷部に経皮的に電気刺激(duration300msec, 1MHz, 0.5mA)を与えた。刺激開始7・14・28日後に坐骨神経を採取し挫滅部より5mmの有髄神経断面の神経数と軸索直径を計測したところ、以下の通りとなった。

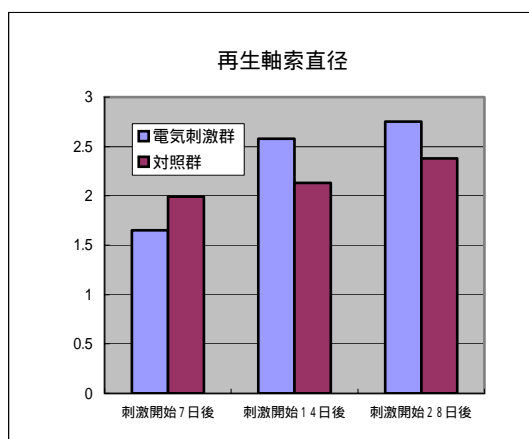
(再生神経数)

再生神経数 (1視野あたり)			
	7日後	14日後	28日後
電気刺激群	93.5 ± 12.3	102.2 ± 5.4	185.6 ± 5.1
対照群	51.6 ± 8.8	145.2 ± 5.0	324.7 ± 7.8



(再生軸索直径(平均))

再生軸索直径の平均 (μm <sup>2</sup> )			
	7日後	14日後	28日後
電気刺激群	1.65 ± 0.06	2.58 ± 0.06	2.75 ± 0.04
対照群	1.99 ± 0.08	2.13 ± 0.07	2.38 ± 0.05



これらの結果より、電気刺激を与えることにより、再生線維数は増加するが、軸索直径は対照群と比較すると小さい。このことより、髄鞘の成熟には電気刺激は抑制的に働くことが示唆された。また、超音波刺激も同様に、損傷神経部に経皮的に照射した(周波数 1 MHz、有効照射面積 1 cm<sup>2</sup>、出力 0.7 W/cm<sup>2</sup>、1日5分間の条件で週5日を2週間)。同様に坐骨神経を採取し、有髄神経線維の数と直径を計測した。再生線維数については、電気刺激の場合とほぼ同様の傾向を示しているが、直径については、増加している傾向が示され、現在詳細に計測を行っている。

今後は、今回の組織形態学的な評価に加えて、機能面の再生も重要となるため、坐骨神経が支配する領域の足底部の皮膚を採取し、再生神経が皮膚でどの程度伸長しているのかを、抗PGP9.5抗体を用いた免疫組織学的観察によって調べ、あわせて足底感覚をTouch-Test Sensory Evaluatorsを用いた機能的評価を行う。現在までの結果に加えて、形態面の再生と機能面の再生を組み合わせた実験を継続し、論文報告ならびに学会発表を行う予定である(現在、論文投稿準備中)。

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)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小形 晶子 (OGATA AKIKO)

神戸学院大学・総合リハビリテーション学部・助教

研究者番号：70411882

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし