

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K11191

研究課題名（和文）運動療法の継続がアポトーシスを抑制し脳梗塞後の神経細胞死を軽減する機序の解析

研究課題名（英文）Analysis of mechanism for decreasing neuronal death and regulating apoptosis by continuing motor exercise after stroke

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） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：免疫担当細胞が血管内皮に浸潤し泡沫細胞を形成し動脈硬化を引き起こし、血小板活性化、血管内皮機能障害、凝固・線溶系障害などにより脳梗塞へ進展する。さらに炎症性サイトカイン、アポトーシス、接着分子、成長因子等により神経細胞死が引き起こされ、非梗塞部の神経細胞は壊死し病状は増悪する。運動療法がこれら悪循環の阻止に寄与できるかを研究した。本研究により運動療法が脳卒中におけるアポトーシス、炎症性サイトカイン、接着分子、血小板や凝固線溶系の指標と関連することが示された。運動療法は脳卒中二次予防だけでなく、脳卒中後の神経細胞死の抑制にも寄与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動療法は運動機能を改善するが、それ以外の効果として、脳梗塞の再発や神経細胞死による病状悪化を防げるかを研究した。本研究により運動療法が血管内皮障害、血小板活性化、線溶機能障害、炎症性サイトカイン低下、アポトーシス抑制などの効果をもち、脳梗塞の予防や進展阻止に寄与することが示唆された。脳梗塞や心筋梗塞などの動脈硬化性疾患の予防には食事療法や薬物療法が確立されているが、運動療法は無料であり、医療施設以外でも継続可能なので医療費削減や疾病予防にも貢献すると思われる。

研究成果の概要（英文）：The immunocompetent cells induce atherosclerosis by invading arterial endothelium to form foam cells. Atherosclerosis causes platelet activation, endothelial dysfunction, and coagulation/fibrinolytic disorder, resulting in cerebral thrombosis. Furthermore, inflammatory cytokines, apoptosis, adhesion molecules, and growth factors induce neuronal death in the non-affected neurons. The aim of this study is to clarify whether the motor exercise 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 prevents the recurrence of stroke and the neuronal death after stroke.

研究分野：脳卒中

キーワード：脳卒中 運動療法 リハビリテーション アポトーシス 神経細胞死 炎症性サイトカイン 血小板 凝固線溶

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

私達の先行研究から運動療法は運動機能だけでなく免疫、内分泌、凝固線溶、血小板、血管内皮等の機能回復にも有用と考え、運動療法が生体に及ぼす影響を研究してきた。動脈硬化は内皮細胞、血小板、凝固線溶、リンパ球、接着分子等が関与し脳梗塞を起こす。脳梗塞病巣には種々のサイトカインやアポトーシスがみられ病巣を拡大する。私達は運動療法が、免疫機能を改善すること(H12-13 年度科研費)、血小板・凝固線溶に影響すること(H16-17)、インスリン抵抗性を改善すること(H20-22)、血管内皮やサイトカインに関与すること(H23-25)、アポトーシスに影響すること(H26-28)、神経細胞死 neuronal death に関係すること(H29-R2)を報告し、運動療法が脳梗塞の予防や増悪阻止に寄与することを示した。本課題では運動療法が脳梗塞後の ischemic cascade におけるサイトカインやアポトーシスを介して神経細胞死や病巣拡大を阻止するかを研究した。

### 2. 研究の目的

脳卒中後に ischemic cascade を起こすサイトカイン、アポトーシス、接着分子、成長因子、血小板・凝固線溶の変動を解析し、運動療法がこれらを介して神経細胞死を抑制するかを検討する。

### 3. 研究の方法

脳卒中の亜急性期に運動療法を施行し、末梢血中の炎症性サイトカイン (IL-6, IL-6R, IL-1, IL-8, TNF- $\alpha$ )、アポトーシス指標 (sFas, Fas Ligand, TNFR, IL-6, IL-1, CD40, CD40L)、接着分子 (P-selectin, L-selectin, ICAM, VCAM, ELAM, NCAM)、成長因子 (PDGF, BDNF, NGF, VEGF)、血管内皮機能 (EC, TM, vWF)、血小板活性化指標 (PF4, TG)、凝固線溶指標 (TAT, PIC, DD)、単球活性化指標 (MCP-1, M-CSF, MIP-1) の変動を発症 1、2 月後の 2 時点で測定した。運動療法は病状に合わせ施行した。研究期間中の運動療法の総時間を上記 2 時点間の日数で除して理学、作業療法時間 (分/日) とした。結果の評価は以下の 3 方法によった: 1) Interventional study: 脳卒中中に運動療法を施行し上記指標の変化を解析した。2) Case-Control study: 脳卒中群と対照群について運動療法による上記指標の変化を解析した。動脈硬化を伴わない脳疾患を対照群とした。3) Dose-dependent study: 1 日当たりの運動療法の時間 (分/日) と上記指標の変動との相関を解析した。2 時点間での測定値の差 (= 後値 - 前値) を各項目に  $\Delta$  を冠し sFas などと表示した。2 時点間の各測定値の変動幅  $\Delta$  と、1 日当たりの運動療法時間 (分/日) との相関関係を解析した。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 IRB により承認され全症例から Informed Consent を得た。相関係数はピアソン法、2 群間の有意差は  $t$  検定で解析した。

### 4. 研究成果

対象は脳卒中 21 例 (67.4 $\pm$ 11.1 歳; 脳梗塞 15 例、脳出血 6 例; 男 16 人、女 5 人)。

1) Interventional study: 運動療法により M-CSF, MCP-1, MIP-1 に有意な変動はみられなかった (図 1)。L-selectin, P-selectin に有意な変動はなかった (図 2)。PDGF に変化はなかったが、plasminogen は有意に低下した (図 3)。IL-6, IL-8 に有意な変動はなかった (図 4)。CD40L は変動せず、CD40 は有意に低下した (図 5)。NGF, BDNF に有意な変動はなかった (図 6)。

図1. 運動療法と成長因子

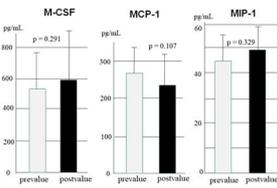


図2. 運動療法と接着分子

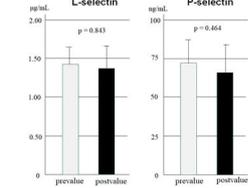


図3. 運動療法と線溶

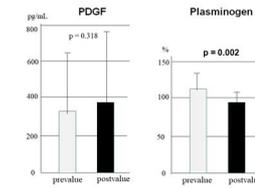


図4. 運動療法とサイトカイン

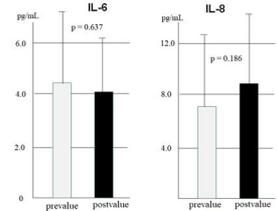


図5. 運動療法と細胞膜受容体

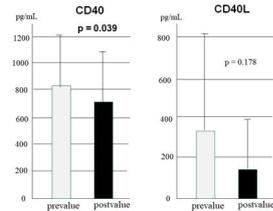
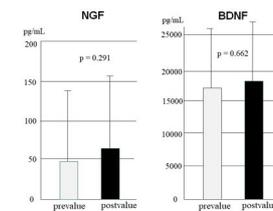


図6. 運動療法と神経成長因子



2) Case-Control study: 運動療法により脳卒中群の VCAM に有意な変化はなかったが、VEGF は有意に低下した (図7)。NCAM に有意な変化はなかったが、ELAM は有意に低下した (図8)。TM, vWF に有意な変化はなかったが、EC は有意に低下した (図9)。TG は有意に低下し PF4 は低下傾向がみられた (図10)。TAT, PIC に有意な変化はなかったが、DD は有意に低下した (図11)。IL-6 は有意に低下したが IL-6R は変化しなかった (図12)。TNFR1 に有意に低下したが、TNFR2 は変化しなかった (図13)。Fas は変化なかったが、FasL は有意に増加した (図14)。

図7. 運動療法と接着分子

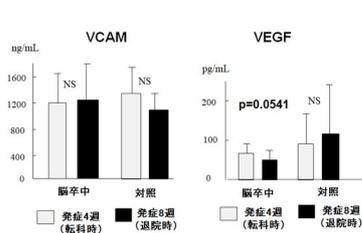


図8. 運動療法と接着分子2

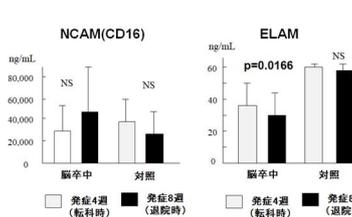


図9. 運動療法と血管内皮

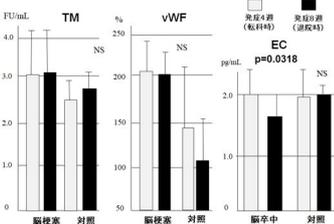


図10. 運動療法と血小板活性化

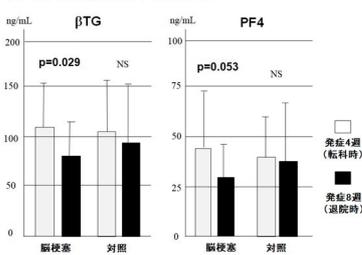


図11. 運動療法と凝固線溶系

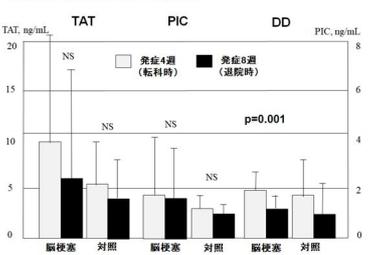


図12. 運動療法とサイトカイン

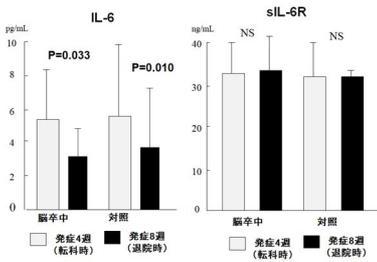


図13. 運動療法と受容体

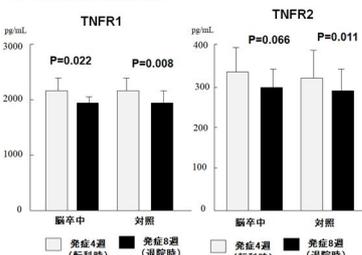
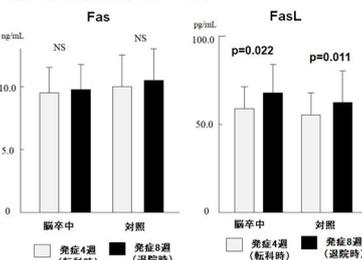


図14. 運動療法とアポトーシス



3) Dose-dependent study: 1日当たりの運動療法（理学療法、作業療法、理学・作業療法 = 理学療法 + 作業療法）の施行時間(分/日)と上記指標の変動幅 との相関関係を解析した。脳卒中群では plasminogen と理学療法時間（分/日）との間に正の相関が認められ ( $r=0.793$ )、作業療法との間にも正の相関が認められた ( $r=0.686$ ) (図 15a, 15b)。 ATIII と理学療法時間及び作業療法時間との間に弱い正の相関がみられた ( $r=0.603, 0.589$ ) (図 16a, 16b)。 PIC と理学療法時間に弱い負の相関がみられたが ( $r=0.508$ )、作業療法時間と相関はなかった (図 17a, 17b)。 TM と理学療法時間に弱い負相関が認められた ( $r = 0. -0.453$ ) (図 18)。 IL-6 と理学療法時間に弱い負の相関が認められた ( $r = 0. -0.580$ ) (図 19)。 IL-1 と作業療法時間、理学・作業療法時間に弱い正相関が認められた ( $r = 0.540, 0.530$ ) (図 20a, 20b)。 また TNFR2 と理学・作業療法時間に負の相関が認められた ( $r = -0.589$ ) (図 21)。 sFas と理学療法時間、理学・作業療法時間に負の相関が認められた ( $r=-0.790, -0.497$ ) (図 22a, 22b)。 P-selectin と理学療法時間に弱い負の相関が認められた ( $r=-0.522$ ) (図 23)。 L-selectin と理学療法時間、作業療法時間、理学・作業療法時間とに負の相関が認められた ( $r=-0.729, -0.514, -0.644$ ) (図 24a, 24b, 24c)。

図 15a. 理学療法時間とPlasminogenの変動  $\Delta$ PIg

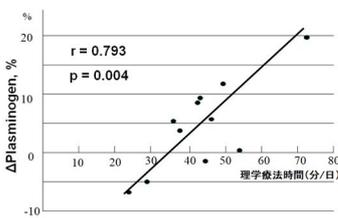


図 15b. 作業療法時間とPlasminogenの変動  $\Delta$ PIg

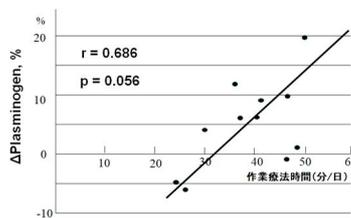


図 16a. 理学療法時間とATIIIの変動  $\Delta$ ATIII

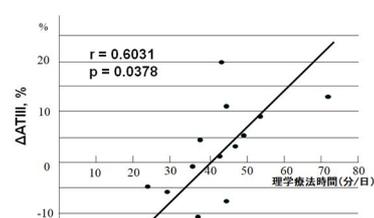


図 16b. 作業療法時間とATIIIの変動  $\Delta$ ATIII

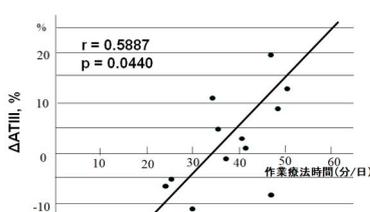


図 17a. 理学療法時間とPICの変動  $\Delta$ PIC

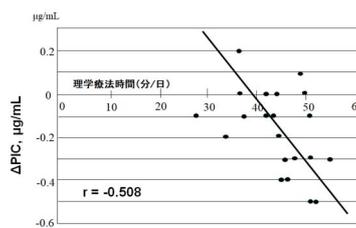


図 17b. 作業療法時間とPICの変動  $\Delta$ PIC

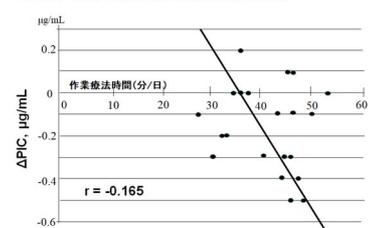


図 18. 理学療法時間とTMの変動  $\Delta$ TM

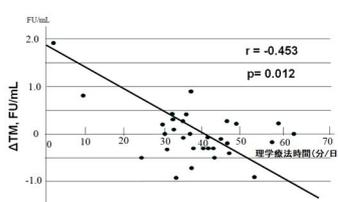


図 19. 理学療法時間とIL-6の変動  $\Delta$ IL-6

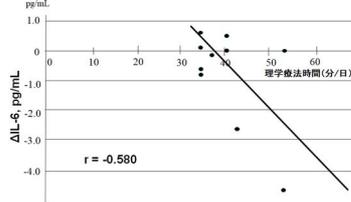


図 20a. 作業療法時間とIL-1βの変動  $\Delta$ IL-1β

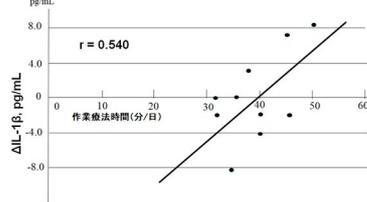


図 20b. 理学・作業療法時間とIL-1βの変動  $\Delta$ IL-1β

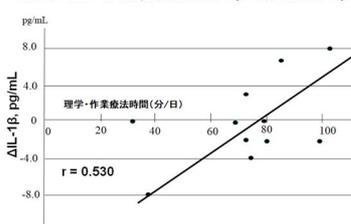


図 21. 理学・作業療法時間とTNFR2の変動  $\Delta$ TNFR2

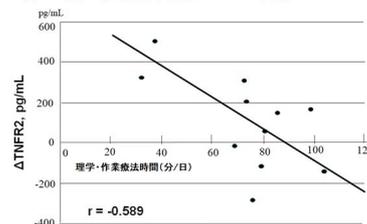


図 22a. 理学療法時間とsFasの変動  $\Delta$ sFas

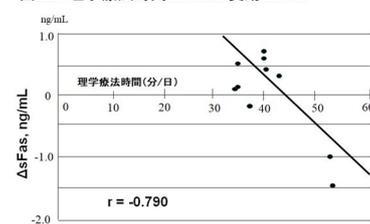


図22b. 理学・作業療法時間とsFasの変動  $\Delta$ sFas

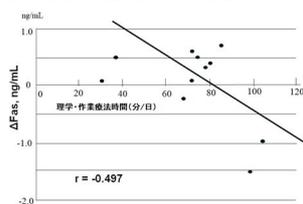


図23. 理学療法時間とP-selectinの変動  $\Delta$ P-selectin

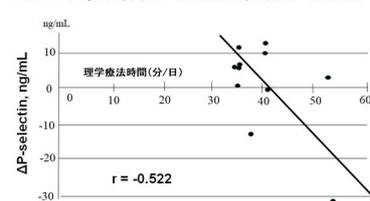


図24a. 理学療法時間とL-selectinの変動  $\Delta$ L-selectin

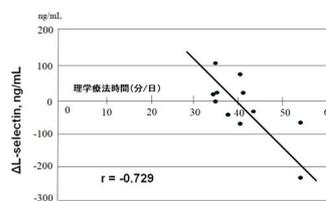


図24b. 作業療法時間とL-selectinの変動  $\Delta$ L-selectin

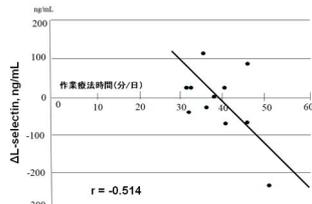
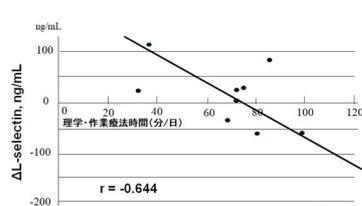
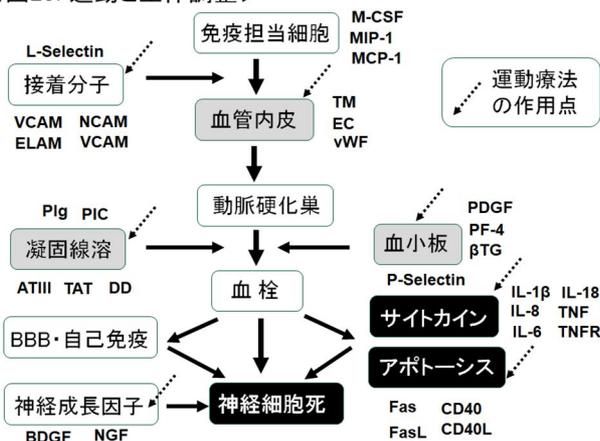


図24c. 理学・作業療法時間とL-selectinの変動  $\Delta$ L-selectin



<図25. 運動と生体調整>



<考案>

脳卒中において1日当たりの運動療法時間と線溶系、血管内皮障害、炎症性サイトカイン、アポトーシス指標の変動 との間に相関がみられた。運動療法の時間が増えると線溶、血小板、血管内皮、接着分子は沈静化し、アポトーシスは軽減傾向を示した。神経や血小板に関連する成長因子に変動はなかった。運動療法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傾向を示し、脳卒中後の神経細胞死が抑制される可能性が示唆された。本研究課題では、運動療法によりアポトーシス指標やサイトカインが変動したが、全ての指標の変動を一元的に説明できる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影響を与えることが示唆された。これまでの科研費課題では、運動療法が免疫、内分泌、凝固線溶、血管内皮の異常を軽減させる傾向があり、脳梗塞予防に有用であると報告した。これらを考え合わせると運動療法は脳卒中の進展阻止にも寄与していると考えられた(図25)。

<引用論文>

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. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 51: 205-208, 2010.

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

倉林均, 前田恭子:運動による生体調節 - 脳梗塞・血小板活性化・神経細胞死の抑制に向けて . *The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine* 58: 1424-1426, 2021.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 倉林 均	4. 巻 59
2. 論文標題 進化する高齢者リハビリテーション医療の最前線 - 高齢者脳梗塞に対する運動療法の多彩な効果 -	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本老年医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 S65-65
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 倉林 均	4. 巻 59
2. 論文標題 温泉医学とリハビリテーション医学 - 温泉を科学する -	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine	6. 最初と最後の頁 S263-263
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山本 悦子, 仲俣 菜都美, 間嶋 満, 倉林 均, 高橋 一司, 荒木 信夫, 山元 敏正	4. 巻 39
2. 論文標題 進行期Parkinson病患者の嚥下障害に関連する因子の検討	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 神経治療学	6. 最初と最後の頁 408-411
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamanouchi Y, Maeda K, Shinoda Y, Majima M, Lee J, Inoue I, Maruyama Y, Kurabayashi H	4. 巻 4
2. 論文標題 Can Outpatient Rehabilitation Be Continued During the COVID-19 Pandemic?	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arch Rehabil Res Clin Transl	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.arrct.2022.100199	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 倉林均、前田恭子	4. 巻 58
2. 論文標題 運動による生体調節－脳梗塞・血小板活性化・神経細胞死の抑制に向けて－	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine	6. 最初と最後の頁 1424-1426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mizoguchi Y, Tanaka S, Matsumoto Y, Urakawa T, Kurabayashi H, Akasaka K, Hall T	4. 巻 33
2. 論文標題 Quality of life and life-space mobility after total knee arthroplasty in patients with rheumatoid arthritis: a pilot case-controlled study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Phys Ther Sci	6. 最初と最後の頁 660-667
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1589/jpts.33.660.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 山本 悦子、仲俣 菜都美、間嶋 満、倉林 均、高橋 一司、荒木 信夫、山元 敏正	4. 巻 37
2. 論文標題 Parkinson病患者の誤嚥性肺炎発症に関わる因子の検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 神経治療学	6. 最初と最後の頁 430 ~ 434
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15082/jsnt.37.3_430	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 倉林 均
2. 発表標題 教育講演：温泉医学とリハビリテーション医学 - 温泉を科学する -
3. 学会等名 第58回日本リハビリテーション医学会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 倉林 均
2. 発表標題 シンポジウム：高齢者脳梗塞に対する運動療法の多彩な効果
3. 学会等名 第64回日本老年医学会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 倉林 均
2. 発表標題 運動器疾患
3. 学会等名 第87回日本温泉気候物理医学会総会・研修会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 倉林 均
2. 発表標題 温熱療法 I・II
3. 学会等名 令和4年度温泉利用指導者養成講習会（日本健康開発財団・環境省主催）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 倉林 均
2. 発表標題 運動による生体調節
3. 学会等名 第58回日本リハビリテーション医学会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 倉林 均
2. 発表標題 運動器疾患の温泉療法
3. 学会等名 第86回日本温泉気候物理医学会総会・研修会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 倉林 均
2. 発表標題 温熱療法 1・2
3. 学会等名 第29回温泉利用指導者養成講習会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 間嶋満、前田恭子、倉林均、原元彦、山内洋子
2. 発表標題 廃用症候群におけるprobable sarcopeniaの検討
3. 学会等名 第57回日本リハビリテーション医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田恭子、間嶋満、原元彦、倉林均
2. 発表標題 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
3. 学会等名 第57回日本リハビリテーション医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三浦早織、高山絵里、名嘉寛、山中徹也、矢島雄介、深野敬之、篠塚望、原元彦、倉林均、間嶋満
2. 発表標題 神経筋電気刺激法を併用した理学療法が有効であったICU-AWの一症例
3. 学会等名 第47回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Welcome to Balneology <a href="http://balneology.sakura.ne.jp">http://balneology.sakura.ne.jp</a>
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------