

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560263

研究課題名(和文) 下肢関節疾患術後に対する上肢運動の鎮痛効果機序解明とバイオマーカー探索

研究課題名(英文) Investigation for the mechanism of hypoalgesia after upper limbs exercise for postoperative patients with lower extremity arthritis

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) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、上肢を中心とした運動が下肢関節疾患の術後痛に効果があるのかを動物実験と臨床研究から検討することである。動物実験ではラットの関節炎誘発疼痛モデルと不動性誘発疼痛モデルを用い、前者には両側上肢のみの運動を、後者には両側上肢ならびに一側下肢の3肢による運動を負荷した。結果、いずれのモデルでも運動誘発性疼痛抑制効果が確認されたが、そのメカニズムに關与する脳内の  $\beta$ -endorphin は後者のモデルのみ増加を認めた。一方、臨床研究では膝十字靭帯再建術後患者を対象に通常の理学療法プログラムに上肢運動を追加して実施した場合の効果を検討したが、その有用性は明らかにできず、検討課題を残した。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to determine the effect of upper limbs exercise for postoperative patients with lower extremity arthritis. An animal experiment and clinical study were performed by this study. Animal models in this study were arthritis-induced pain model and immobilization-induced pain model in rats. Therapeutic intervention for the former model was upper limbs exercise, and it to a latter model was treadmill exercise using non-immobilized limbs. As a result, exercise-induced hypoalgesia confirmed both models. However, upregulation of  $\beta$ -endorphin in the brain tissue was admitted only by the latter model. In clinical study, the effect of the combination therapy with arm ergometer exercise and usual physical therapy programs for patients with anterior and posterior cruciate ligament reconstruction was considered. The utility of the combination therapy was not clear and was future's subject of investigation.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：理学療法学 運動療法 上肢運動 運動誘発性疼痛抑制効果 バイオマーカー

### 1. 研究開始当初の背景

最近の先行研究を概観すると、変形性関節症をはじめとした疼痛を主訴とする多くの疾患群に対して運動療法はエビデンスのある治療方法であることが明らかになっている。また、身体の不活動は慢性痛発生のリスクファクターになることも周知の事実になりつつあり、これらのことから、下肢関節疾患の術後急性期においても運動療法の意義は大きいといえる。しかし、術後急性期は手術侵襲ならびにその後の炎症のために患部の積極的な運動療法の実践は困難なことが多く、結果として患部が不活動状態となり、最悪の場合は術後遷延痛として慢性痛に発展することがある。

### 2. 研究の目的

運動療法の実践によってもたらされる疼痛抑制効果のメカニズムには、下行性疼痛抑制系の賦活化や末梢組織における抗炎症性サイトカインの発現などが関与している可能性が指摘されている。しかし、下肢関節疾患の術後急性期においては、手術侵襲に伴う炎症のため、歩行運動をはじめとした患部の積極的な運動療法の実践は困難なことが多い。

そこで、本研究では患部の遠隔部にあたる上肢を中心とした運動が下肢関節疾患術後の疼痛に対して抑制効果をもたらすのか、また、そのメカニズムを解明することを目的に、動物実験と臨床研究の双方から検討した。

### 3. 研究の方法

#### 1) 動物実験 : 膝関節炎モデルラットに対する上肢運動の効果

動物実験として、ラット膝関節炎モデルを用い、その発生直後から上肢を用いた運動を負荷し、疼痛抑制効果ならびにそのメカニズムを検討した。

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 24 匹を用い、これらが無作為に無処置の対照群 (n=8)、右側膝関節に起炎剤である 3%カラゲニン・カオリン混合液を投与することで関節炎を惹起し、あわせて同部位の自発運動を制限する目的で膝関節を伸展位の状態ではギプスで不動化する非運動群 (n=8)、

非運動群と同様に右側膝関節に対して起炎剤投与と不動化の処置を行い、その過程で上肢運動を負荷する運動群 (n=8) に振り分けた。上肢運動の方法として、運動群の各ラットはまず小動物用トレッドミルに設置した台上に体幹部を固定し、手掌面がその歩行路に接地するように調整した。そして、分速 20m の速度で歩行路を稼働させ、これを上肢のみで追従させることで運動を負荷した。この上肢運動の実施時間は 1 回あたり 20 分間とし、20 分間の休息をはさみ 3 セットを行い、これを週 6 回、述べ 4 週間実施した。なお、非運動群の各ラットは同時間、同頻度で小動物用トレッドミルに設置した台上に体幹部を固

定する処置のみを行い、その際、手掌面は歩行路に接地しないように調整した。なお、動物実験ならびに後述の動物実験は長崎大学が定める動物実験指針に準じ、長崎大学先端生命科学研究支援センター・動物実験施設で実施した。

次に、各群のラットに対しては実験開始前と起炎剤投与後 1 日目ならびにその後は 1 週おきに 4 週目まで、プッシュプルゲージを用いて患部である右側膝関節の痛覚閾値を評価し、あわせて 15g の von Fley filament を用いて患部の遠隔部にあたる右側足部の痛覚閾値を評価した。また、実験期間終了後は各群のラットから視床下部を採取し、その組織抽出液を用い、内因性オピオイドの中でも強い鎮痛作用を有する  $\beta$ -endorphin の含有量を ELISA 法で測定した。

#### 2) 動物実験 : 不動性疼痛モデルラットに対する不動肢以外の 3 肢による運動の効果

動物実験の成果を受け、動物実験では動物実験よりも運動負荷量を増加させるプロトコルを設定した。具体的には、一側下肢を不動化することで疼痛を惹起させる不動性疼痛モデルラットを用い、両側上肢に加え、非不動側下肢の 3 肢による運動を負荷し、疼痛抑制効果ならびにそのメカニズムを検討した。

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 36 匹を用い、これらが無作為に無処置の対照群 (n=10)、右側下肢をギプスで 8 週間不動化する非運動群 (n=10)、非運動群と同様に右側下肢の不動化の処置を行い、その過程で両側上肢と左側下肢にて分速 15m のトレッドミル走行を 1 日 30 分間、週 5 回の頻度で負荷する運動群 (n=16) に振り分けた。そして、8 週間の実験期間中は週 1 回の頻度でギプスを除去し、15g の von Fley filament を用いて右側足部の痛覚閾値を評価した。また、実験期間終了後は脳組織を採取し、視床下部からの組織抽出液を用いて  $\beta$ -endorphin 含有量を ELISA 法で測定した。加えて、中脳中心灰白質を含んだ脳組織の凍結横断切片を用いて  $\beta$ -endorphin に対する蛍光免疫染色を実施し、その画像解析によって中脳中心灰白質における  $\beta$ -endorphin 発現量を検索した。

#### 3) 臨床研究 : 膝靭帯再建術後早期からの上肢エルゴメーターを用いた運動介入の効果

臨床研究として、膝靭帯再建術後患者を対象に術後早期からの上肢エルゴメーターを用いた運動介入がその後の痛みや身体運動機能におよぼす影響について検討した。

対象は前十字靭帯あるいは後十字靭帯損傷後に自家腱を用いた再建術が施行された 23 名 (男性 16 名、女性 7 名) で、その平均年齢は 20.3 歳であった。方法として、対象者を無作為に通常のクリニカルパスに準じ

た理学療法プログラムを実施する群（対照群，n=11），通常のクリニカルパスに準じた理学療法プログラムに加え，上肢エルゴメーターを用いた運動負荷を実施する群（上肢運動群，n=12）の2群に振り分けた．そして，上肢運動群に対しては最大心拍数の40～50%の運動負荷強度で1日10分間，週5回，退院日まで上肢エルゴメーターを用いた運動負荷を通常の理学療法プログラムに追加して実施した．なお，今回の対象者に対する理学療法介入期間は7～10日，平均8.4日であった．

評価には痛み強度として visual analogue scale (VAS) を用い，移乗や歩行などの自立日数に基づいて身体運動機能を評価した．

#### 4. 研究成果

##### 1) 動物実験：膝関節炎モデルラットに対する上肢運動の効果

患部の痛覚閾値に関しては，非運動群，運動群とも起炎剤投与後1日目において対照群より有意に低下し，この2群間には有意差を認めなかった．また，その後の推移をみると4週目まで非運動群，運動群ともに痛覚閾値の上昇を認め，特にこの傾向は運動群で顕著で2週目以降は2群間に有意差を認めた（図1）．次に，遠隔部にあたる足部の痛覚閾値に関しては，非運動群，運動群とも起炎剤投与後1週目以降，対照群に比べ有意に低下していた．しかし，非運動群と運動群を比較すると，運動群は痛覚閾値が上昇する傾向にあり，4週目においては有意差を認めた（図2）．一方，視床下部におけるβ-endorphin含有量は対照群，非運動群，運動群の3群間で有意差を認めなかった（図3）．

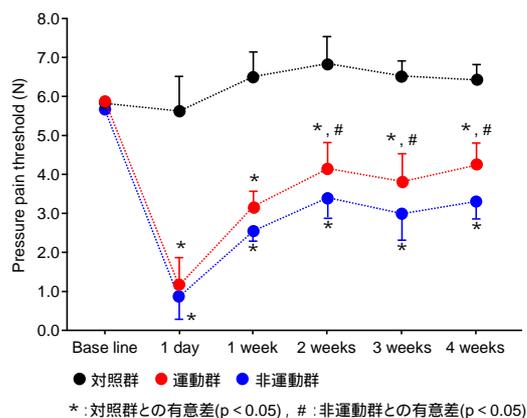


図1 患部(膝関節)の痛覚閾値の推移

図1はプッシュプルゲージを用いて，覚醒下で患部である右側膝関節の外側裂隙部に圧刺激を加え，下肢の逃避反応が出現する荷重量(N)を測定することで痛覚閾値を評価した結果である．なお，この評価ではデータが低値になるほど痛覚閾値が低下することを意味する．

以上の結果から，上肢を用いた運動でも患部である膝関節に疼痛抑制効果を認め，この影響で中枢性感作が減弱し，患部の遠隔部にあたる足部の二次性痛覚過敏が軽減することが示唆された．ただ，そのメカニズムに関与すると予想していたβ-endorphinの動態に

は変化を認めず，その原因の一つとして運動負荷量が不十分であった可能性が示唆された．

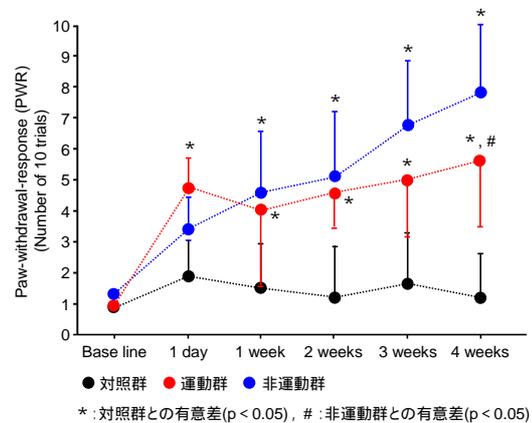


図2 遠隔部(足部)の痛覚閾値の推移

図2は15gのvon Fley filamentを用いて，覚醒下で患部の遠隔部にあたる足部を10回刺激し，その際の下肢の逃避反応の出現回数を測定することで痛覚閾値を評価した結果である．なお，この評価ではデータが高値になるほど痛覚閾値が低下することを意味する．

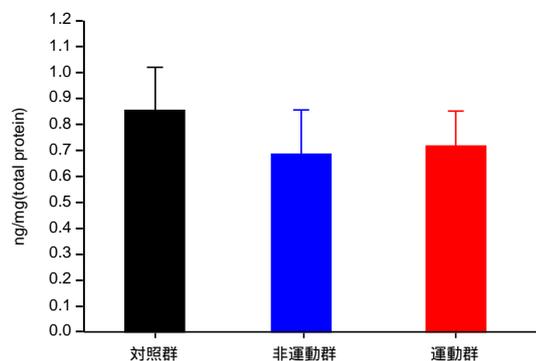


図3 視床下部におけるβ-endorphin含有量

ELISA法にて測定したβ-endorphin含有量は総タンパク質量に依存するため，図3のデータは単位タンパク質量(mg)あたりのβ-endorphin含有量(ng)で示している．

##### 2) 動物実験：不動性疼痛モデルラットに対する不動肢以外の3肢による運動の効果

非運動群の痛覚閾値は不動1週目より対照群より有意に低下し，この傾向は不動期間に準拠して顕著となった．また，運動群の痛覚閾値も不動2週目より対照群より有意に低下していたが，その程度は非運動群より軽度であり，不動4週目以降は非運動群と有意差を認めた（図4）．次に，視床下部におけるβ-endorphin含有量を比較すると，運動群は対照群や非運動群より有意に高値を示した（図5）．また，中脳中心灰白質におけるβ-endorphin発現量も同様の傾向であり，運動群は対照群や非運動群より有意に高値を示した（図6）．

以上の結果から，不動性疼痛モデルラットに対して不動肢以外の3肢によるトレッドミル走行運動を負荷すると，疼痛抑制効果が生じることが明らかとなった．そして，このメカニズムには運動によって視床下部での

β-endorphin 産生が亢進し、これが中脳中心灰白質に投射され、下行性疼痛抑制系が賦活化されたことが影響していると推察される。また、視床下部での β-endorphin 含有量の結果が動物実験とは異なることから、β-endorphin 由来の下行性疼痛抑制系の賦活化は運動負荷量に依存する可能性があり、このことから β-endorphin は運動による疼痛抑制効果を裏づけるバイオマーカーとして有用であると思われる。ただ、最近の先行研究を概観すると、運動による疼痛抑制効果は β-endorphin 以外の生体分子、例えばカンナミノイドなども関与していると報告されており、そのバイオマーカーとしての有用性の検証は今後の課題である。

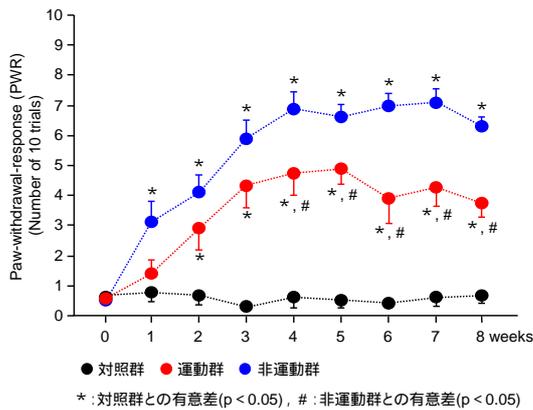


図4 足部の痛覚閾値の推移

図4は15gのvon Fley filamentを用いて、覚醒下で足部を10回刺激し、その際の下肢の逃避反応の出現回数を測定することで痛覚閾値を評価した結果である。なお、この評価ではデータが高値になるほど痛覚閾値が低下することを意味する。

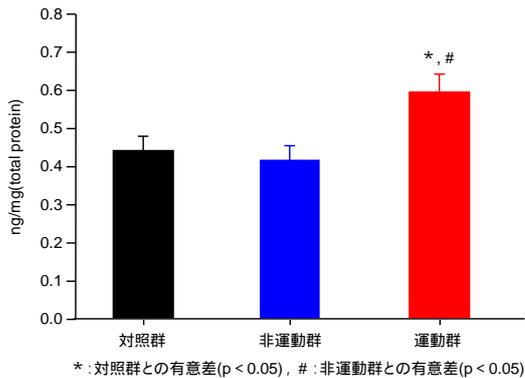


図5 視床下部における β-endorphin 含有量

ELISA法にて測定した β-endorphin 含有量は総タンパク質量に依存するため、図5のデータは単位タンパク質量 (mg) あたりの β-endorphin 含有量 (ng) で示している。

### 3) 臨床研究: 膝靭帯再建術後早期からの上肢エルゴメーターを用いた運動介入の効果

年齢や性別、在院日数、術式などといった基本属性に関しては、対照群と上肢運動群の2群間で有意差は認められなかった。一方、VASに関しては2群とも術後2日目より退院時は有意に低下し、術後痛の軽減効果が認められたが、介入の違いによる有意差は認めら

れなかった(図7)。また、移乗や歩行などの自立日数に基づいて評価した身体運動機能に関しても2群間で有意差は認められなかった。

以上のように、通常の理学療法プログラムのみでも術後痛ならびに身体運動機能の改善効果を認め、上肢運動を追加して実施しても、さらにその効果が高まる結果は得られなかった。この要因としては第一に介入期間の短さがあげられ、今後は主な退院先である回復期リハビリテーション病院とも連携しながら追跡調査を行っていく必要がある。

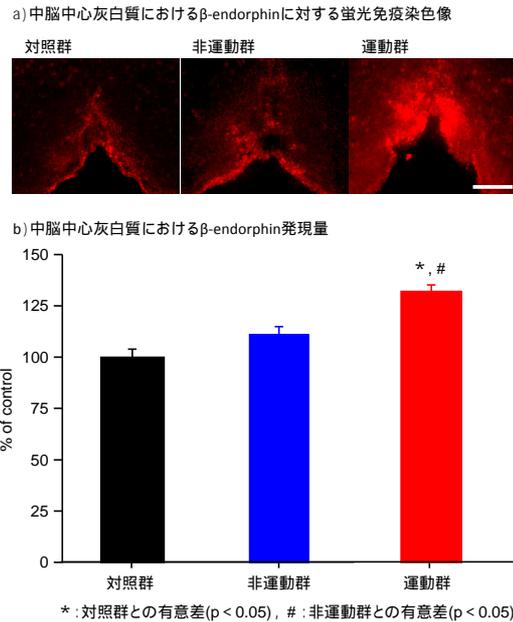


図6 中脳中心灰白質における β-endorphin 発現量

図6のaは中脳中心灰白質における β-endorphin に対する蛍光免疫染色像であり、スケールは100 μmを示す。図6のbは蛍光免疫染色像の画像解析によって得られた発光強度の結果である。

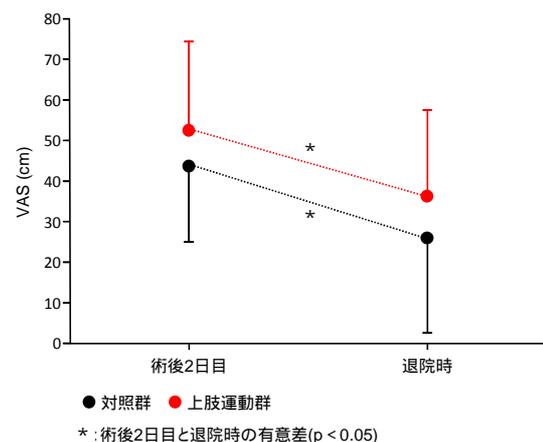


図7 術後痛に対する介入の違いの影響

図7は術後2日目ならびに退院時にVASを用いて痛み強度を評価した結果である。

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 11 件)

- 1) Nakabayashi K, Sakamoto J, Kataoka H, Kondo Y, Hamaue Y, Honda Y, Nakano J, Okita M: Effect of continuous passive motion initiated after the onset of arthritis on inflammation and secondary hyperalgesia in rats. *Physiol Res*. 2016 March 15. [Epub ahead of print]. 査読有.
- 2) 中野治郎, 川内春奈, 坂本淳哉, 沼田悟, 岩崎徹治, 沖田 実: アジュバント誘発炎症モデルラットの皮膚アロディニアに対するリモイス R コートの効果. *日本運動器疼痛学会誌* 2016 (印刷中). 査読有.
- 3) Chuganji S, Nakano J, Sekino Y, Hamaue Y, Sakamoto J, Okita M: Hyperalgesia in an immobilized rat hindlimb: Effect of treadmill exercise using non-immobilized limbs. *Neurosci Lett* 584: 66-70, 2015. 査読有.
- 4) 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* 95(7): 1015-1026, 2015. 査読有.
- 5) 平瀬達哉, 片岡英樹, 井口 茂, 中野治郎, 沖田 実: 地域在住高齢者における痛みによる日常生活活動制限の違いが運動介入効果におよぼす影響 - 痛み, 運動機能, 身体活動量を指標として -. *Pain Rehabilitation* 5(1): 43-48, 2015. 査読有.
- 6) 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.
- 7) 平瀬達哉, 片岡英樹, 井口 茂, 中野治郎, 松坂誠應, 沖田 実: 地域在住高齢者の痛みによる日常生活活動制限に影響を及ぼす因子の検討. *日本運動器疼痛学会誌* 6(2): 99-106, 2014. 査読有.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 渋谷美帆子, 片岡英樹, 西川正悟, 村上正寛, 山下潤一郎, 沖田 実: 高齢者における脊椎圧迫骨折後の痛みに関する実態調査. *Pain Rehabilitation* 3(1): 2-5, 2013. 査読有.
- 11) 沖田 実, 中野治郎, 関野有紀, 濱上陽平: 不活動と痛み. *Practice of Pain Management* 4(2): 18-22, 2013. 査読無.

〔学会発表〕(計 13 件)

- 1) 近藤康隆, 坂本淳哉, 寺中 香, 中野治郎, 沖田 実: 持続的他動運動がラット膝関節炎発症後早期の炎症や痛みにおよぼす影響. 第 8 回日本運動器疼痛学会, 2015.12.12-13, 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)
- 2) 寺中 香, 坂本淳哉, 近藤康隆, 片岡英樹, 佐々部陵, 濱上陽平, 中野治郎, 山下潤一郎, 沖田 実: 電気刺激を用いた感覚刺激入力ならびに筋収縮運動がラット膝関節炎モデルの痛みや炎症におよぼす影響. 第 20 回日本ペインリハビリテーション学会学術大会, 2015.9.26-27, 名古屋学院大学 (愛知県・名古屋市)
- 3) Sakamoto J, Nakano J, Kataoka H, Manabe Y, Tsurumoto T, Okita M: The relation between referral pain and the nerve distribution in hip and knee joints. The 9th Congress of the European Pain Federation. 2015.9.2-5, Vienna, Austria.
- 4) Sasaki R, Nishi Y, Teranaka K, Sakamoto J, Nakano J, Okita M: Effects of cryotherapy and muscle contraction exercises immediately after cryotherapy during acute phase arthritis in rats. The 9th Congress of the European Pain Federation. 2015.9.2-5, Vienna, Austria.
- 5) Kataoka H, Ikemoto T, Yoshimura A, Kakita T, Shibuya M, Yamashita J, Hirase T, Sakamoto J, Nakano J, Okita M: Influence of sedentary time for pain, cognitive and physical functions in patients with acute vertebral compression fractures. The 9th Congress of the European Pain Federation. 2015.9.2-5, Vienna, Austria.
- 6) 佐々木遼, 西 祐樹, 寺中 香, 田中美帆, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実: ラット膝関節炎の急性期における寒冷療法ならびに寒冷療法と運動療法の併用が腫脹や痛みにおよぼす影響. 第 50 回日本理学療法学術大会, 2015.6.5-7, 東京国際フォーラム (東京都・千代田区).
- 7) 平瀬達哉, 片岡英樹, 井口 茂, 松坂誠應, 飯野朋彦, 中野治郎, 沖田 実: 膝痛ならびに腰痛を有する地域在住高齢者の運動機能, 心理面, 身体活動量, 転倒リスクの特性. 第 50 回日本理学療法学術大会, 2015.6.5-7, 東京国際フォーラム (東京都・千代田区).
- 8) Nakano J, Hamaue Y, Sekino Y, Sakamoto J, Okita M: Effects of vibration therapy on immobilization-induced hypersensitivity in rats. World Confederation for Physical

- Therapy Congress 2015, 2015.5.1-4, Singapore.
- 9) 平瀬達哉, 片岡英樹, 中野治郎, 沖田実: 地域在住高齢者における痛みによるADL制限の違いが運動介入効果におよぼす影響. 第7回日本運動器疼痛学会, 2014.10.25-26, ANA クラウンホテルプラザ宇部(山口県・宇部市).
  - 10) 片岡英樹, 平瀬達哉, 井口 茂, 中野治郎, 山下潤一郎, 沖田実: 地域在住高齢者における痛みによるADL制限の違いが運動介入効果におよぼす影響 - 痛み, 運動機能, 身体活動量を指標として -. 第19回日本ペインリハビリテーション学会学術大会, 2014.9.6-7, 大阪市産業創造館(大阪府・大阪市).
  - 11) 田中陽理, 片岡英樹, 渋谷美帆子, 吉村彩菜, 荒木由希子, 山下潤一郎, 沖田実: 多面的評価結果からみた新鮮脊椎圧迫骨折患者の特徴. 第19回日本ペインリハビリテーション学会学術大会, 2014.9.6-7, 大阪市産業創造館(大阪府・大阪市).
  - 12) 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).
  - 13) 青木久実, 橋爪稚乃, 本田祐一郎, 田中美帆, 中願寺風香, 寺中 香, 関野有紀, 中野治郎, 沖田実: ラット膝関節炎モデルに対する前肢を用いた運動が腫脹や痛みにおよぼす影響. 第49回日本理学療法学術大会, 2014.5.30-6.1, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市).

〔図書〕(計2件)

- 1) 沖田実: リハビリテーション. 痛みの Science & Practice 5. 痛み診療キーポイント(川真田樹人(編)), 文光堂, 2013(総ページ数264), pp249.
- 2) 沖田実: 理学療法. 痛みの Science & Practice 8. 臨床に役立つ神経障害性痛の理解(井関雅子(編)), 文光堂, 2015(総ページ数285), pp83-87.

〔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:  
 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](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

森本陽介(MORIMOTO, Yosuke)  
 長崎大学・病院(医学系)・技術職員  
 研究者番号: 40534409