

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：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350615

研究課題名(和文)脳血管障害後のリハビリテーション介入効果の分子学的研究

研究課題名(英文)The effects of early low-intensity exercise after focal cerebral infarction in rats

研究代表者

松田 史代(Fumiyo, Matsuda)

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：70437953

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：中大脳動脈領域の脳梗塞モデルラットを作成し、骨格筋の中枢神経障害後の経時的形態学的変化と、中枢神経障害後の骨格筋に対する低～中強度の定期的な運動介入効果の影響について比較・検討した。運動機能や神経学的評価において4週後で運動群が非運動群に比べ有意な改善を示した。筋質重量は、両群術後7日まで減少したがその後回復し、運動の有無による筋湿重量に有意な差はみられなかった。また、両群ともに、麻痺側・反対側ともに有意な差はみられなかった。H/E所見では、非運動群の麻痺側3日後と14日横断面積はタイプ1繊維が有意に小さく術7日後まで減少し、その後回復を示した。

研究成果の概要(英文)：This study examined the effects of early low-intensity exercise on motor function and neurological deficit, muscle mass, myofibrillar protein content, and type 1 and type 2 fiber cross-sectional area of soleus muscle in a rat stroke model. Adult male Wistar rats were randomly assigned 2 experimental groups. Motor coordination and neurological deficits improved more in the exercised group than in the non-exercised group at 7-28 days. The infarct volume in the exercised group subjected to treadmill running for 28 days was significantly decreased compared with that in the control group. No increase in pathological changes was noted in soleus. The number and proportion of fiber types remained unchanged. There was no difference in muscle fiber size.

研究分野：理学療法学

キーワード：脳梗塞 運動療法

1. 研究開始当初の背景

近年、脳血管障害発症後、早期リハビリテーションを行うことで廃用症候群の予防や身体機能回復などの効果が期待でき、診療報酬面でも発症早期に手厚い体制を整えている。臨床現場では、発症直後よりリハビリテーションが行われるようになってきたが、そのことが本当に効果的であるのか、急性期の身体状態が落ち着かない時期にその程度の負荷であれば増悪を引き起こさないのかといった基本的なところの検証がなされていない状態で臨床現場のセラピストたちはリハビリテーションを施行しているのが現状である。

リハビリテーションの必要性が重要視されているが、リハビリテーションの効果に関するエビデンスはあまりにも少ない。ヒトを対象とした脳血管障害後のリハビリテーション効果を検証する実験研究は、個体差や合併症の有無、発症部位、発症後経過期間などケーススタディが困難であるため、治療法・治療手技は従来臨床経験に基づいて行われてきた領域が多くみられ、全般的にエビデンスの面からは妥当性が十分とは言えない。また、動物を用いた実験的脳血管障害モデル作製も緻密な作業を強いられ、技術獲得が困難であることや成功率の低さなどを理由に敬遠する研究者が多いのも事実であり、リハビリテーションを絡めた動物実験的基礎的研究は、リハビリテーション効果の科学的理論的根拠づけがあまりされておらず、全体的に不明な点が多く、また行う研究者も多くない。

2. 研究の目的

本研究では、リハビリテーションの視点から、リハビリテーション介入が脳血管障害後の脳の可塑性を促せるのか、運動により何故、栄養因子の発現が促進され、梗塞巣修復にどのように関係しているのかを検討する。また、脳血管障害後の MK の機能および神経脱落に対する神経栄養因子 MK の働きについて検討するとともに、他の神経栄養因子との相互関係を検証し、神経栄養因子が神経細胞死や神経修復にどのように働いているのか検討する。

3. 研究の方法

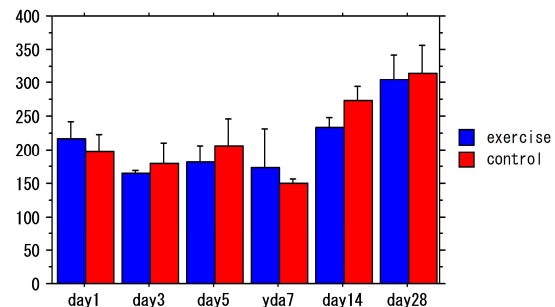
ヒトの脳梗塞病態と類似している中大脳動脈閉塞再開通モデルをラットで作製する。その後、経時的な運動学的・神経学的評価、可能であれば尾静脈より採血を経時的に行い、脳梗塞発症後の病態の変化を探る。また、モデル作製後、動物用トレッドミルによる運動介入を行い、早期から運動を開始した群と非運動群の違いを検討する。詳細を下記に述べる。

実験的脳梗塞を作製する場合、臨床病態に

近く動物への負担が少ないことが最良である。Longa ら(1989)の中大脳動脈閉塞・再開通モデルは、手術的侵襲が少なく、再現性がよく、臨床病態と同じ血流が再開通するモデルであることから、国内外で多くの研究者が実験的脳梗塞を作製する際に用いている方法である。この方法により、ラットの左中大脳動脈から左内頸動脈へ直径 0.2~0.3 mm 長さ約 5 mm の糸付き塞栓系(全長 16 mm)を挿入し、90 分間塞栓系を留置し中大脳動脈領域を虚血状態にする。その後、塞栓系を引き抜き再開通する。術中は低体温による脳保護作用の影響を避ける為、直腸温度を 37 に保つように thermostat 付ブランケットを用いる。

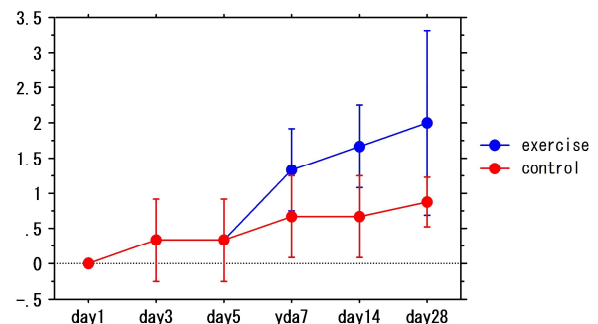
4. 研究成果

実験 1: 中枢神経障害後の活動性の評価
脳梗塞作成後、動物の活動性が運動群と非運動群でどのような差があるのか検討した。



運動群と非運動群、両群ともに脳梗塞直後は脳浮腫の影響もあり、活動性が低下し餌食量も減少し、結果体重も一時的に減少したが、その後脳浮腫の改善とともに、活動量も増し、体重も増加した。

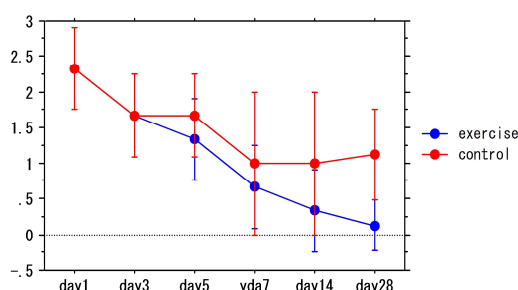
運動群と非運動群の両群間に、有意な差はなかった。



棒上歩行による動作評価では、脳梗塞作成後約 5 日後までは脳浮腫の影響も大きく、運動群・非運動群ともに活動性は低い状態であった。しかし、脳浮腫が改善してくる 1 週間後から、徐々に活動性があがり、とくに運動群では非運動群と比較して、脳梗塞作成 28 日後には有意に運動能力が改善した。

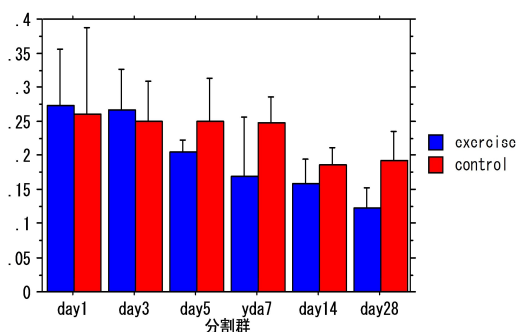
それは、早期からトレッドミル運動で両四肢の協調運動を促進しており、その影響が脳

梗塞後の運動回復にも良好の効果を及ぼしたと示唆できる。



また、神経学的な評価でも、脳浮腫の影響を受けている脳梗塞発症後 5 日間は、運動群・非運動群の両群に差はみられないが、脳浮腫が軽減する 1 週間後より運動群は良好な回復過程を非運動群よりも示した。

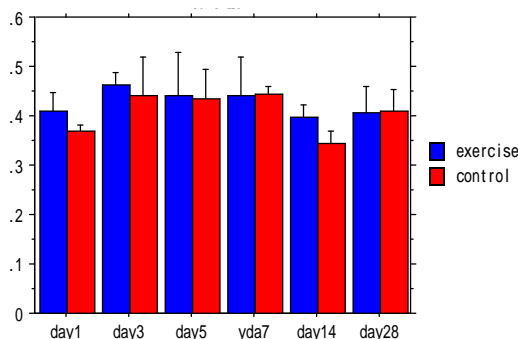
二元配置分散分析の結果でも両群間に有意差があり、その後の多重比較検定では、発症 28 日後に運動群が非運動群と比較して有意に良好な回復をしていた。



脳梗塞作成後からの脳梗塞巣体積の経時的变化では、活動性の評価、運動評価・神経学的評価の結果からも推察されたが、発症 3 ~ 5 日後までは脳浮腫の影響が大きく、脳梗塞巣体積も大きかった。

その後、運動群は脳浮腫の改善により脳梗塞巣体積は減少傾向になるが、非運動群は発症 1 週間後までは、脳浮腫も継続してみられた。

この結果より、早期より運動を開始することで、脳浮腫の早期改善に良い影響を与えるのではないかと示唆された。



また、両群の後肢ヒラメ筋の筋質重量を体重で除した結果では、両群に有意な差はみられなかった。

白筋は病的な一時的影響を受けやすいが、赤筋は、白筋に比べ二次的影響を受けやすいとされている。

そのため、今回は脳梗塞発症後の廃用性筋萎縮を検証するために、赤筋の代表であるヒラメ筋を対象とした。

これにより、赤筋は短期間の病的影響；今回は脳浮腫（発症直後より約 3~7 日後）では、廃用性筋萎縮は起こりにくいことがわかった。

赤筋の著明な廃用性筋萎縮は、巧緻性を求めるような運動ではなく、ケージ内で移動するような基本的な動きが出来ていれば、萎縮は起こりにくい可能性が示唆された。

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 4 件)

Mushfiquddin Khan, Tajinder S Dhammu, Fumiyo Matsuda, Balasubramaniam Annamalai, Tejbir Singh Dhindsa, Inderjit Singh, Avtar K. Singh. Targeting the nNOS/peroxynitrite/calpain system to confer neuroprotection and aid functional recovery in a mouse model of TBI. Brainresearch 1630(2016) 159-170.

Mushfiquddin Khan, Tajinder S Dhammu, Fumiyo Matsuda, Avtar K Singh and Inderjit Singh. Blocking a vicious cycle nNOS/peroxynitrite/AMPK by S-nitrosoglutathione: implication for stroke therapy: BMC Neurosci (2015) 16:42

Mushfiquddin Khan, Tajinder s Dhammu, Fumiyo Matsuda, Mauhammad Baarine, Tejbir singh Dhindsa, nderjit singh, avtar K singh. Promoting endothelial function by S-nitrosoglutathione through the hiF-1 /VegF pathway stimulates neurorepair and functional recovery following experimental stroke in rats. Drug Design, Development and Therapy 2015:9 2233-2247

Mushfiquddin Khan, Anandakumar Shunmugavel, Tajinder S Dhamm, Fumiyo Matsuda, Avtar K Singh, Inderjit Singh. Oral administration of cytosolic PLA2 inhibitor arachidonyl trifluoromethyl ketone ameliorates cauda equina compression injury in rats. Journal of Neuroinflammation 2015:12(94):

〔学会発表〕(計 2 件)

低～中強度の定期的な運動が実験的脳梗塞

ラットのヒラメ筋に及ぼす影響について. 松田史代, 榊間春利, 樋口逸郎, 米和徳. 第51回日本理学療法士学会大会、平成28年5月29日、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)

Effects of preconditioning exercise on brain damage and neurotrophic factor expression after focal Brain ischemia in Rats
Ohtsuka S, Sumizono, M, Matsuda F, Yoshida Y, Sakakima H.
World Confederation for physical therapy conference(WCPT) 2015, 2015年5月3日、シンガポール (Singapore)

〔図書〕(計0件)

〔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

6. 研究組織

(1)研究代表者

松田 史代 (Fumiyo Matsuda)
鹿児島大学・医歯学域医学系・助教
研究者番号：70437953

(2)研究分担者

米 和徳 (Kazunori Yone)
鹿児島大学・医歯学域医学系・教授
研究者番号：40182844

榊間 春利 (Harutoshi Sakakima)
鹿児島大学・医歯学域医学系・教授
研究者番号：10325780