

JAPANESE JOURNAL OF
**PHYSICAL
THERAPY
FUNDAMENTALS**

日本基礎理学療法学雑誌

Volume 21 No 1 2018

特集：再生医療とリハビリテーション

総説：再生医療におけるリハビリテーション—再生リハビリテーション—

末梢神経：末梢神経再生における細胞移植とリハビリテーション	伊藤 明良
関節軟骨：関節軟骨再生における細胞移植とリハビリテーション	河合 秀紀・他
中枢神経：中枢神経再生における細胞移植とリハビリテーション	中畑 晶博・他
骨格筋：骨格筋再生における細胞移植とリハビリテーション	下川 能史・他
	竹中 菜々・他

総説

末梢電気刺激がもたらす神経生理学効果の検証

理学療法のエビデンス構築に向けた運動イメージ・運動模倣の神経基盤の探索

随意筋収縮強度変化が体性感覚誘発磁界に及ぼす影響

難治性疼痛のリハビリテーション研究

原著論文

白血病モデルラットの骨格筋に対する温熱刺激の影響

肩関節後下方関節包の組織弾性と受動張力の関係—未固定凍結人体標本を用いた検討—

前庭感覚による姿勢制御機能と中年期までの加齢の関係

—modified Clinical Test of Sensory Interaction and Balanceと

Galvanic Body Sway Testを用いて—

日本基礎理学療法学会

Japanese Association of Physical Therapy Fundamentals

<http://square.umin.ac.jp/jptf/JPTF/Index.html>

日本基礎理学療法学雑誌

第21巻 1号 2018年

目 次

特 集：再生医療とリハビリテーション

総説：再生医療におけるリハビリテーション —再生リハビリテーション—

.....伊藤 明良..... 2

末梢神経：末梢神経再生における細胞移植とリハビリテーション

.....河合秀紀・他..... 9

関節軟骨：関節軟骨再生における細胞移植とリハビリテーション

.....中畑晶博・他..... 16

中枢神経：中枢神経再生における細胞移植とリハビリテーション

.....下川能史・他..... 23

骨格筋：骨格筋再生における細胞移植とリハビリテーション

.....竹中菜々・他..... 33

総 説

末梢電気刺激がもたらす神経生理学効果の検証

.....齊藤 慧..... 43

理学療法のエビデンス構築に向けた運動イメージ・運動模倣の神経基盤の探索

.....菅田 陽怜..... 55

随意筋収縮強度変化が体性感覚誘発磁界に及ぼす影響

.....菅原 和広..... 63

難治性疼痛のリハビリテーション研究

.....大住 倫弘..... 69

原著論文

白血病モデルラットの骨格筋に対する温熱刺激の影響

.....川内 春奈・他..... 79

肩関節後下方関節包の組織弾性と受動張力の関係 —未固定凍結人体標本を用いた検討—

.....飯田 尚哉・他..... 88

前庭感覚による姿勢制御機能と中年期までの加齢の関係

—modified Clinical Test of Sensory Interaction and BalanceとGalvanic Body Sway Testを用いて—

.....光武 翼・他..... 95

総 説 「特集：再生医療とリハビリテーション」

再生医療におけるリハビリテーション —再生リハビリテーション—

伊藤 明良¹⁾

Rehabilitation in regenerative medicine: regenerative rehabilitation

Akira Ito¹⁾

Abstract

Clinical application of regenerative medicine is steadily advancing nowadays, and some cell therapies have already reached patients in need. However, in many cases, there are issues due to which patients were not able to adequately restore their function by just cell transplantation. Recently, the importance of rehabilitation is being revealed in the field of regenerative medicine; therefore, a new research field, Regenerative Rehabilitation, has emerged. A factor in the success of cell therapy is optimization of microenvironments both at the site of cell transplantation and around it. Rehabilitative approaches will be able to optimize one of the microenvironments such as the environment of mechanical stress and temperature. To put this into practice, we need to verify the effects of physical therapy on transplanted and endogenous cells and its mechanisms, safety, economics, and possibility for clinical application. These are the fields that physical therapists can apply their specialty and experiences on adding or modifying mechanical stress. We hope that many physical therapists will join the field of Regenerative Rehabilitation.

Key words: Regenerative medicine, Rehabilitation, Mechanical stress, Microenvironment, Physical therapy

1. はじめに

再生医療の臨床応用が着実に進んでいる。京都大学医学部附属病院は、2018年8月1日にiPS細胞由来ドパミン神経前駆細胞を用いたパーキンソン病治療に関する医師主導治験を開始し、国際的な注目を集めている。また、骨軟骨欠損症や重症熱傷に対する再生医療では、自家培養軟骨細胞移植術や自家培養表皮移植術がすでに保険収載されており、実際にその恩恵が患者に届いている。

近年、この再生医療分野におけるリハビリテーションの重要性が明らかにされつつある。多くの研究において、細胞を移植するだけでは十分に機能的な組織・臓器を再生させることが難しいことが報告されており、課題となっている¹⁻⁶⁾。これを解決するために、再生リハビリテーション (Regenerative Rehabilitation) という新しい研究領域が萌芽した。本稿では、再生リハビリテーションの概要とその成り立ち、および今後の展望について紹介する。

2. 再生医療とリハビリテーション

再生医療とは、機能が損なわれた組織・臓器に必要な細胞を補う医療のことを広くさす。また、細胞治療とは生きた細胞を用いて行う治療行為全般のことをさす。最も早くから行われている細胞治療として輸血療法があり、幹細胞の概念も造血幹細胞から始まったとされる。その他の組織における治療としては、表皮の

1) 京都大学大学院医学研究科 人間健康科学系
Human Health Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University

投稿責任者：伊藤明良
連絡先：京都府京都市左京区聖護院川原町53
京都大学大学院医学研究科 人間健康科学系
E-mail: ito.akira.4m@kyoto-u.ac.jp

細胞治療から始まり、すでに1980年代には米国で承認されている。日本においても表皮の細胞治療が2007年に初めて薬事承認され、続いて自家培養軟骨細胞移植術が2013年より保険適応となっている。さらに、2014年に医薬品医療機器等法ならびに再生医療等の安全性の確保等に関する法律が施行されたことを契機として、研究、臨床応用が加速している。

再生医療は多くの診療科において全く新しい治療法として期待が高まっているが、現時点では必ずしも万能とは言えない。臓器移植治療と細胞移植治療を比較すると理解しやすい。臓器移植治療の場合は移植される臓器の形態と機能が既に備わっているため、多くの場合移植された臓器の生着が滞りなく進むことが重要であり、理学療法としては機能維持的な役割が主となる。ただし、圧倒的なドナー不足や免疫拒絶による課題がある。一方で細胞移植治療の場合、移植した細胞が生着・生存して成熟した細胞へと分化し、組織を再構築させる必要がある。さらには、組織・臓器として機能化させていく必要がある。よって、単に細胞を注入移植するだけでは、患者の生活機能に対する効果は限定的であると考えられる。例えば、脊髄損傷部位に神経幹細胞を注入しても機能的な神経ネットワークの再構築は不十分であることが想定される⁵⁾。そのため、日常生活活動を取り戻し、社会復帰を果たすためのリ

ハビリテーションがなお必須であり、従来のリハビリテーションアプローチが最大限に発揮される場面である。また、近年ではロボティクスなどの応用が進められており、リハビリテーションアプローチの技術的な発展が生じている。

3. 再生リハビリテーションとは

細胞治療の成功に必要なことは、移植部位の微小環境（ニッチ）を最適化することであると考えられる。つまり、①組織工学的な技術によって細胞の足場となる住処を与えること、②成長因子など栄養を十分に与えること、③ガス濃度、pH、温度などの調整、そして④適度なメカニカルストレスを与えることである（Fig. 1）。細胞移植前の試験管内の環境では、上記4条件については多様な研究がなされ、厳密に管理して最適化できる段階にきている。さらに、細胞移植後の環境についても、足場や栄養に関しては組織工学分野や生化学分野などで最適化が検討されてきた。しかしながら、細胞移植後の温度条件やメカニカルストレス条件における研究はほとんど成されておらず、移植後にどのようにすれば細胞の生着と生存、分化、機能化が図れるのか明らかにされていないことが課題となっている。

① Give a house to cells



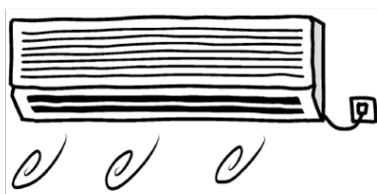
Collagen sponge, etc.

② Give trophic factors to cells



Growth factors, etc.

③ Adjust gas concentration, pH, and temperature



Physical therapy modalities, etc.

④ Load proper stimuli to cells



Exercises, etc.

Fig. 1. Adjustment of microenvironments is the key for success on cell therapy.

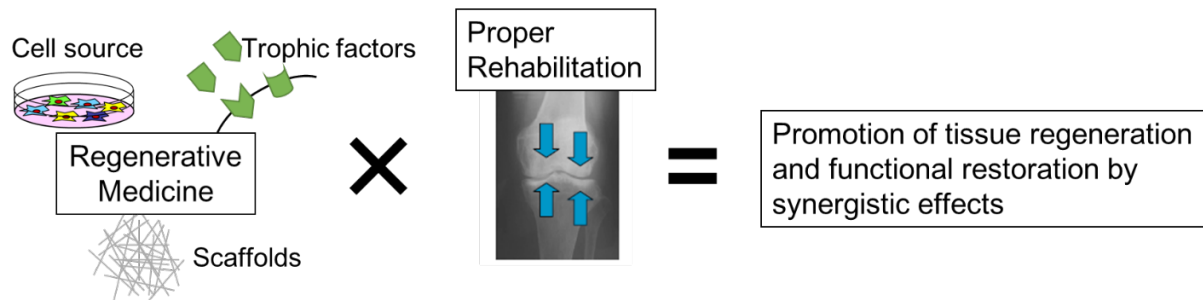


Fig. 2. Regenerative Rehabilitation.

Regenerative Rehabilitation is

A Body of Knowledge in Rehabilitation Medicine that will

- Synergize with Regenerative Medicine,
- Optimize tissue regeneration and functional restoration,
- Maximize therapeutic consequences in daily living.

Fig. 3. Definition of Regenerative Rehabilitation.

上記課題を解決するため、再生リハビリテーションという概念が米国で萌芽した。これは、これまで細胞研究、生化学研究、組織工学研究を中心に発展してきた再生医療研究分野にリハビリテーション医学分野を掛け合わせ、再生医療を効果的に患者に届けることを目的としている (Fig. 2)。米国理学療法協会 (American Physical Therapy Association: APTA) では再生リハビリテーションを以下の通り定義している。“Regenerative Rehabilitation is the integration of principles and approaches from rehabilitation and regenerative medicine with the ultimate goal of developing innovative and effective methods that promote the restoration of function through tissue regeneration and repair.”^{7,8)}。つまり再生リハビリテーションとは、組織再生および機能回復を革新的かつ効果的に促す事を目標に、再生医学と医学的リハビリテーションの原理および実践を統合したものであると解釈できる。これを踏まえ、我々は再生リハビリテーションを以下のように定義している (Fig. 3)。“再生リハビリテーションとは、再生治療技術と相乗することにより、組織再生および機能回復を効果的に促し、生活機能に対する治療効果を最大限引き出すことを目標とした医学的リハビリテーション領域である。”この概念には、従来のリハビリテーションには通常含まれない再生治療技術との相乗作用による組織再生および機能回復の促進が含まれていることが特徴である (Fig. 4)。再生治療技術にリハビリテーションアプローチを効果的に併用させることで、移植 (ドナー) 細胞

の活性化や保護を促し、さらには患者自身 (ホスト) の細胞の活性化や保護、ニッチェの調整を行うことで、組織再生を加速させることが可能であると考えられる。

再生リハビリテーションの概念的段階をFig. 5に示す。細胞移植前から移植される母床を少しでも改善させるために、運動療法や物理療法を行って全身・局所のコンディショニングを開始し、継続的に実施する (ニッチェリハビリテーション)。細胞移植後には、移植細胞の生着と生存を促し、活性化・分化させていく。骨格筋に対する細胞移植治療を例に挙げると、細胞移植後、電気刺激によって細胞生着率が改善することが報告されている³⁾。さらに、例えば筋衛星細胞から筋芽細胞に分化を促し、機能的な筋収縮が再獲得できるように細胞レベルで改善させることが求められる (セルラーリハビリテーション)。そして生活レベルで機能的に組織・臓器が活動できるように成熟化および強化を図り、社会復帰を援助する従来のリハビリテーションへとつなげていく段階を経る。

4. メカニカルストレスによる組織再生の促進

リハビリテーションアプローチで、組織再生を促進させることは可能であろうか？この疑問に答えるためには、生物の発生過程を考えると腑に落ちやすい。我々が有する形態は、様々なメカニカルストレスを発生・成長過程で受けた結果であると考えられる。例えば、血管は血液が流れることで生じるストレスを受けることで血管として成熟し、関節も筋収縮が生じることで適切な関節形態が形成される⁹⁾。また、先天性股関節脱臼に代表されるように、不適切なメカニカルストレスの付与は適切な臼蓋形成を阻害する。つまり、細胞移植治療によってある組織を再生させる場合にも、その組織の発生・成長過程を再現・加速するような適切なメカニカルストレスやニッチェが必要となり¹⁰⁾、それらを提供するのが再生リハビリテーションの役割と

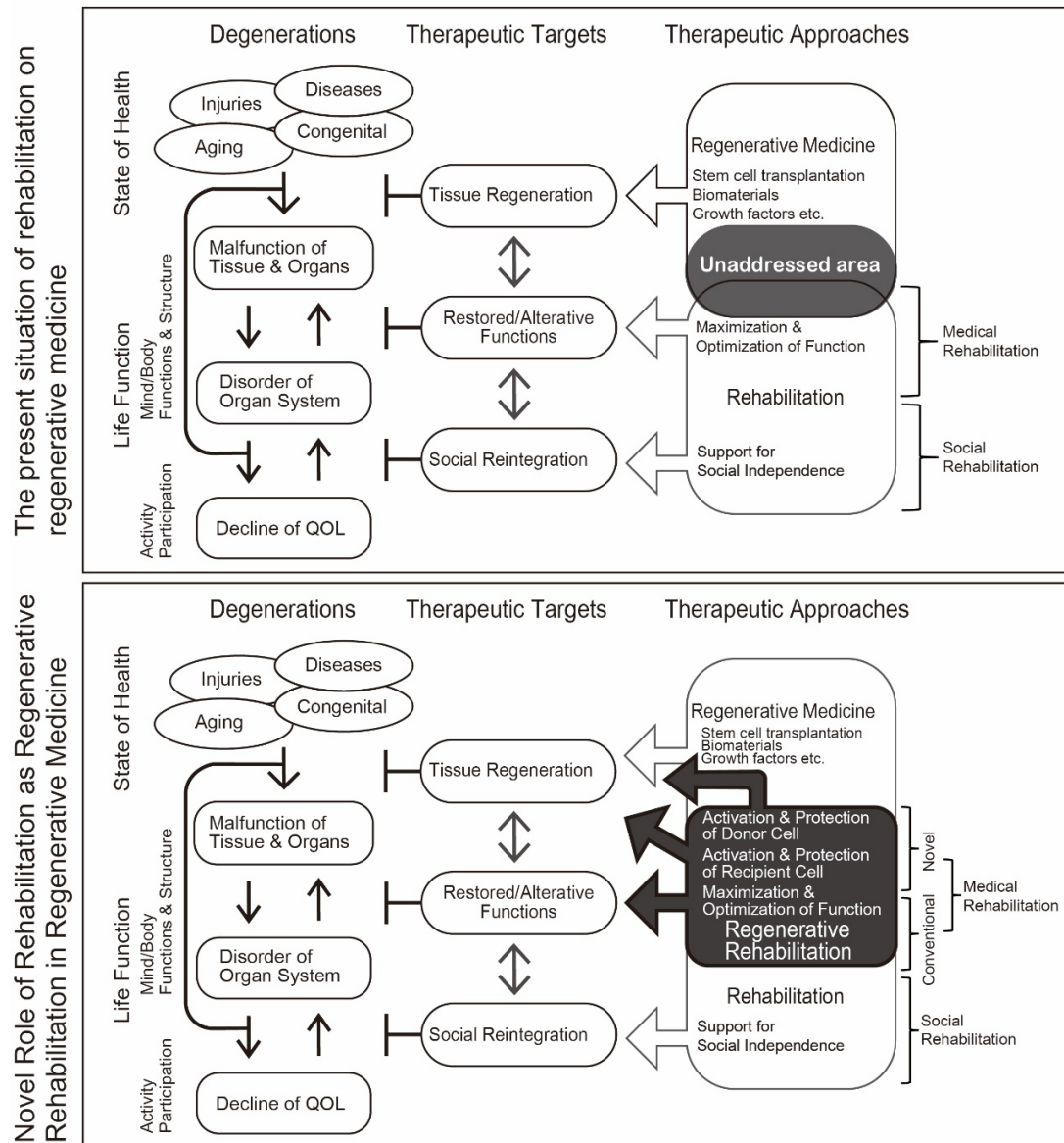


Fig. 4. Proposed concept of Regenerative Rehabilitation.

考える。生体内の細胞は通常細胞外マトリックスに包埋されており、ここに圧縮や伸張、電気的な刺激などが常に加わったり除かれたりしている¹¹⁾。この刺激がインテグリンを代表とする機械的受容器などによって化学的信号に変換され、遺伝子発現や細胞の分化に影響を及ぼす。これによって細胞外マトリックスの産生や変性が惹起されることで組織や細胞自体の力学的特性が変化し、次のメカニカルストレスに対する応答が変化していく¹²⁾。このメカニカルストレスに対する生物学的な反応を治療へと昇華することで、組織再生を促進させ、機能的なアウトカムを導き出すことが可能である¹¹⁾。

5. 再生リハビリテーションにおける理学療法の役割

メカニカルストレスによる組織再生の促進を実現するためには、移植細胞および内在性の細胞に対して、①どんなメカニカルストレスが有効か、強度や頻度はどのくらいが適切か、②その効果とメカニズムの検証、③組織再生効果と安全性、費用対効果、臨床応用の実現性、④長期的観察、患者満足度などを明らかにしていく必要がある (Fig. 6)。これら研究は、生体にメカニカルストレスを負荷もしくは調整する専門的知識と経験を有する理学療法士の専門性が活きる分野である。再生リハビリテーションにおける理学療法の役割は、運動や物理刺激などの様々な介入によって細胞の生物学的反応へと働きかけることで、組織の再生を促

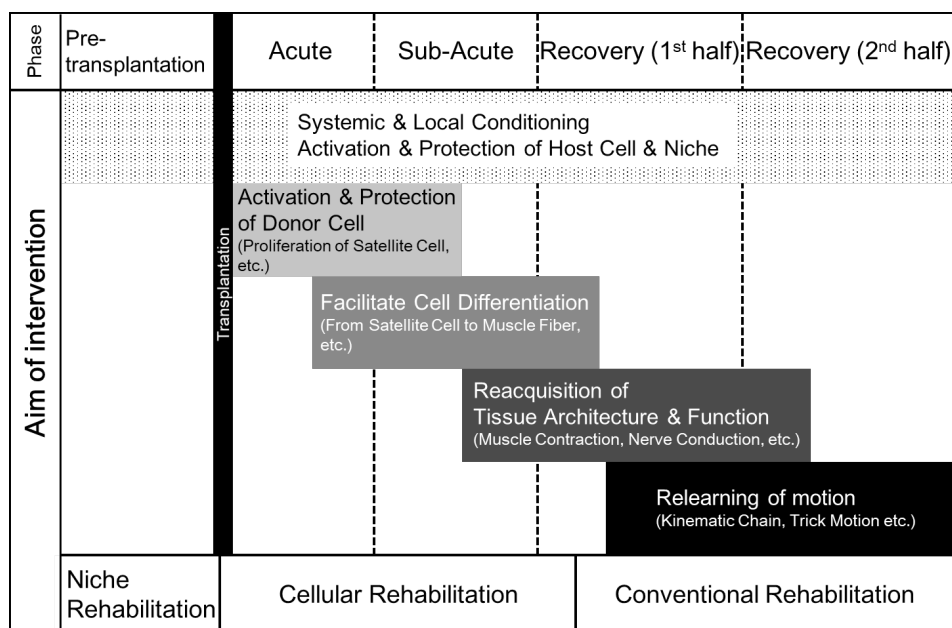


Fig. 5. Conceptual steps of Regenerative Rehabilitation.

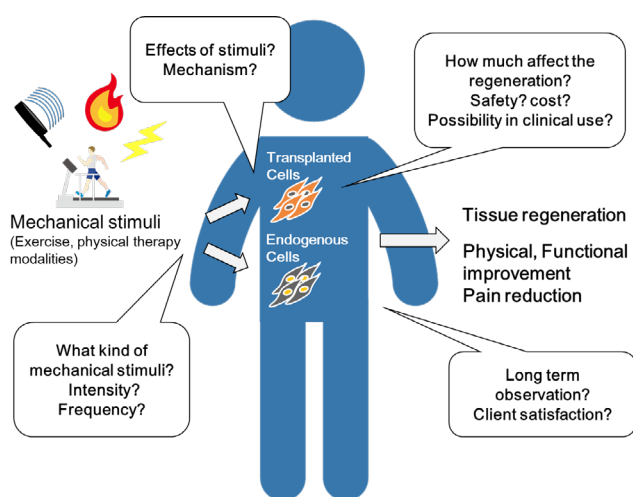


Fig. 6. Roles of physical therapy in the field of Regenerative Rehabilitation.

し、さらに機能回復を図るものである。また、理学療法における再生リハビリテーション研究とは、組織再生を促し、なおかつ機能を改善するための運動や物理刺激などの様々な介入方法とその効果・メカニズムを解明する研究分野であると考えている。より多くの理学療法士が再生リハビリテーション研究分野に参入することを期待している。

6. 再生リハビリテーション研究の歴史

再生リハビリテーション研究分野は、非常に新しい研究分野であると言える。その始まりは、2002年、米

国エモリー大学のSteve Wolf氏がAPTAの年次学会において、生体工学、ゲノム医療、遠隔医療、そして再生リハビリテーションの4つの先端技術を含めたプロジェクトFIRST (Frontiers in Rehabilitative Science Technologies) を提唱したことだとされている。その4年後には、再生リハビリテーション研究で中心的な役割を担っている米国ピッツバーグ大学のAlan Russell氏が、TED Talksにおいて再生リハビリテーションについて述べている¹³⁾。2010年には、Russell氏と同大学のFabrisia Ambrosio氏によって、再生リハビリテーションという概念・名称を世界で初めて記載した論文が公開された¹⁴⁾。2011年にはFirst Annual Symposium on Regenerative Rehabilitationがピッツバーグ大学にて開催され、2013年に再生リハビリテーション国際コンソーシアムがピッツバーグ大学を中心に計8大学で形成された。2018年現在で京都大学を含む計16大学が加盟し、急速な広がりを見せている。また、2016年には、ピッツバーグ大学、スタンフォード大学、メイヨー・クリニック、カリフォルニア大学サンフランシスコ校が中心となって、Alliance for Regenerative Rehabilitation Research and Training (AR³T)¹⁵⁾がアメリカ国立衛生研究所の助成の元に組織され、再生リハビリテーションに関する教育、研究助成金の提供、研究者間の交流促進、技術開発などを行っている。このように、再生リハビリテーションの歴史は非常に浅く、未だ黎明期であると言える。しかしながら、“Regenerative Rehabilitation”という検索ワードを用いてPubMedで検索すると、Ambrosio氏

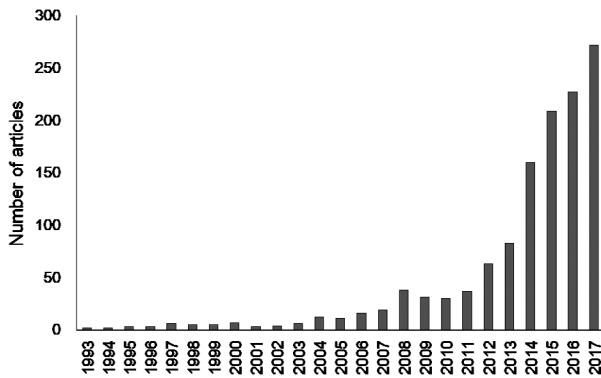


Fig. 7. Number of articles for “Regenerative Rehabilitation”.

が初めて再生リハビリテーションに関する論文を発表した2010年頃から急速にヒット件数が増加していることがわかる (Fig. 7)。今後、さらなる発展が予測される。

筆者が所属する京都大学では、2013年から医学研究科人間健康科学系、医学部附属病院、iPS細胞研究所のメンバーが中心となって再生リハビリテーションユニットを組み、研究およびアウトリーチ活動を行っている¹⁶⁾。2016年にはアジアで唯一再生リハビリテーション国際コンソーシアムに加盟し、アジア圏における国際研究拠点の形成を目指している。

7. 今後の展望

理学療法士の養成課程では運動学と生理学を基軸とした教育がなされており、細胞生物学的、さらには分子生物学的な教育は通常カリキュラムに含まれない。しかしながら、再生医療においては細胞レベルにおける生物学的な反応を理解することが必須となる。このギャップが理学療法士の再生医療分野への参画を阻んでいるような印象を受ける。再生医療を支える理学療法士を育成するためには、このギャップを卒前および卒後教育で埋めていく必要があると考える。また、これを教授できる教員の育成も課題となる。

再生リハビリテーション研究は学際的な分野である。患者の機能的な回復を最大限に引き出すために、より研究の早い段階から基礎科学研究者、医師、リハビリテーション専門職などが協働し、共創することで臨床に還元可能な再生医療を効果的・効率的に実現できると考える。ここで圧倒的に足りないピースはリハビリテーション専門職である。多くの若いセラピストが再生医療に興味を抱きつつも、難しそう、自分とは別世界の話だと考えてしまっていないだろうか？再生医療を安全に効果的に患者に届けるためには、リハ

ビリテーションの発展が重要な鍵となる。それを担うのは次世代のセラピストであるはずである。少しでも興味や関心を持ったなら是非声をかけていただきたい。

文 献

- 1) Suzuki K, Smolenski RT, Jayakumar J, Murtuza B, Brand NJ, Yacoub MH: Heat shock treatment enhances graft cell survival in skeletal myoblast transplantation to the heart. *Circulation* 102: III216–21, 2000
- 2) Imura T, Matsumoto M, Fukazawa T, Khalesi E, Sun Y, Takeda M, Uwatoko H, Nakata K, Tanimoto K, Kajiume T, Kawahara Y, Yuge L: Interactive effects of cell therapy and rehabilitation realize the full potential of neurogenesis in brain injury model. *Neurosci Lett* 555: 73–78, 2013
- 3) Distefano G, Ferrari RJ, Weiss C, Deasy BM, Boninger ML, Fitzgerald GK, Huard J, Ambrosio F: Neuromuscular electrical stimulation as a method to maximize the beneficial effects of muscle stem cells transplanted into dystrophic skeletal muscle. *PLoS One* 8: e54922, 2013
- 4) Sasaki Y, Sasaki M, Kataoka-Sasaki Y, Nakazaki M, Nagahama H, Suzuki J, Tateyama D, Oka S, Namioka T, Namioka A, Onodera R, Mikami T, Wanibuchi M, Kakizawa M, Ishiai S, Kocsis JD, Honmou O: Synergic Effects of Rehabilitation and Intravenous Infusion of Mesenchymal Stem Cells After Stroke in Rats. *Phys Ther* 96: 1791–1798, 2016
- 5) Tashiro S, Nishimura S, Iwai H, Sugai K, Zhang L, Shinozaki M, Iwanami A, Toyama Y, Liu M, Okano H, Nakamura M: Functional Recovery from Neural Stem/ Progenitor Cell Transplantation Combined with Treadmill Training in Mice with Chronic Spinal Cord Injury. *Sci Rep* 6: 30898, 2016
- 6) Quarta M, Cromie M, Chacon R, Blonigan J, Garcia V, Akimenko I, Hamer M, Paine P, Stok M, Shrager JB, Rando TA: Bioengineered constructs combined with exercise enhance stem cell-mediated treatment of volumetric muscle loss. *Nat Commun* 8: 15613, 2017
- 7) American Physical Therapy Association website: Regenerative Rehabilitation. <http://www.apta.org/regenerativerehab/> (2018年8月21日引用)

- 8) Ambrosio F, Boninger ML, Brubaker CE, Delitto A, Wagner WR, Shields RK, Wolf SL, Rando TA: Guest editorial: emergent themes from second annual symposium on regenerative rehabilitation, Pittsburgh, Pennsylvania. *J Rehabil Res Dev* 50: vii–xiv, 2013.
- 9) Nowlan NC, Chandaria V, Sharpe J: Immobilized chicks as a model system for early-onset developmental dysplasia of the hip. *J Orthop Res* 32: 777–85, 2014
- 10) Chandaria VV, McGinty J, Nowlan NC: Characterising the effects of in vitro mechanical stimulation on morphogenesis of developing limb explants. *J Biomech* 49: 3635–3642, 2016
- 11) Rando TA, Ambrosio F: Regenerative Rehabilitation: Applied Biophysics Meets Stem Cell Therapeutics. *Cell Stem Cell* 22: 608, 2018
- 12) Thompson WR, Scott A, Loghmani MT, Ward SR, Warden SJ: Understanding Mechanobiology: Physical Therapists as a Force in Mechanotherapy and Musculoskeletal Regenerative Rehabilitation. *Phys Ther* 96: 560–569, 2016
- 13) TED talks website: The potential of regenerative medicine. https://www.ted.com/talks/alan_russell_on_regenerating_our_bodies (2018年8月21日引用)
- 14) Ambrosio F, Russell A: Regenerative rehabilitation: a call to action. *J Rehabil Res Dev* 47: xi–xv, 2010
- 15) Alliance for regenerative Rehabilitation Research and Training (AR³T) website. <https://ar3t.pitt.edu/> (2018年8月21日引用)
- 16) 京都大学再生リハビリテーションユニットwebsite. <http://regenerative-rehabilitation.com/> (2018年8月21日引用)

総 説 「特集：再生医療とリハビリテーション」

末梢神経再生における細胞移植とリハビリテーション

河合 秀紀¹⁾, 伊藤 明良¹⁾, 青山 朋樹¹⁾

Cell transplantation and rehabilitation for peripheral nerve regeneration

Hideki Kawai¹⁾, Akira Ito¹⁾, Tomoki Aoyama¹⁾

Abstract

Autograft is a gold standard for regeneration after peripheral nerve defect but leads to donor-site dysfunction. Cell transplantation offers an alternative treatment for peripheral nerve injuries. Rehabilitation, such as ultrasound stimulation and exercise, could accelerate peripheral nerve regeneration. Therefore, a combination of rehabilitation and cell transplantation is expected to be a new strategy for peripheral nerve regeneration. In this paper, we review studies that describe rehabilitation after cell transplantation in animal models of peripheral nerve injuries. Ten studies on the combination of cell transplantation and rehabilitation were identified from PubMed. They transplanted Schwann or stem cells and conducted physical or exercise therapies as methods of rehabilitation. Either cell transplantation or rehabilitation could increase neurotrophic factors and promote nerve regeneration and functional recovery, which are better enhanced by their combination. However, there are some limitations. Compared with autograft, the effect of combination therapy is inadequate. Furthermore, differentiation of stem cells into Schwann cells is insufficient in vivo. For further advances of cell therapy to facilitate peripheral nerve regeneration, a study on optimal intensities of rehabilitation is required.

Key words: Peripheral nerve, Peripheral nerve injury, Peripheral nerve regeneration, Cell transplantation, Rehabilitation

1. はじめに

末梢神経損傷に対する治療として既に実臨床の場で自家神経移植が行われているが、そのためには移植に使われる神経の機能を失うことになる。自家神経移植に代わる治療法として、末梢神経損傷に対する細胞移植の基礎研究が進められている。また、末梢神経再生を促進させる取り組みとして超音波照射や運動といっ

たりハビリテーションの手技が用いられており、細胞移植とリハビリテーションの併用が末梢神経再生のための新たな戦略として期待されている。そこで本稿では、細胞治療とリハビリテーションを組み合わせ、動物における末梢神経損傷に対する細胞移植とリハビリテーション効果について考察する。

2. 末梢神経障害の分類

末梢神経の軸索は内側から髄鞘、結合組織（神経内膜、神経周膜、神経外膜）に囲まれており、それぞれの組織の障害の有無によってSeddon¹⁾は一過性神経伝導障害（Neurapraxia）、軸索断裂（Axonotmesis）、神経断裂（Neurotmesis）の3段階に、Sunderland²⁾はGrade I からGrade V の5段階に末梢神経損傷を分類している。1本の軸索は神経内膜に囲まれており、

1) 京都大学大学院医学研究科 人間健康科学系専攻
Human Health Science, Graduate School of Medicine, Kyoto University

投稿責任者：青山朋樹
連絡先：〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町53
京都大学大学院医学研究科 人間健康科学系専攻
E-mail: aoyama.tomoki.4e@kyoto-u.ac.jp

神経周膜は複数の軸索を含んで神経束を形成し、神経外膜には複数の神経束が含まれる (Figure 1)。Seddonの分類における一過性伝導障害はSunderlandの分類のGrade I と対応しており、軸索や結合組織に損傷はなく、局所的な脱髄による一時的な伝導障害である。後述するワラー変性は起こらない。軸索断裂は損傷が及ぶ結合組織によってGrade II からGrade IV に細分化される。Grade II は軸索に損傷があるものの、結合組織の連続性は保たれている状態である。ワラー変性が起こるが、神経内膜が保たれており、軸索が伸張することで元通りの神経支配を獲得することができる。Grade III では神経周膜は保たれており神経束の構造は維持されるが、神経内膜が損傷されているため、軸索が元の神経効果器を支配できず過誤神経支配となり機能回復不全となることがある。Grade IV では神経周膜の損傷を含み、再生する軸索が神経束間の隙に入り込んでしまふことがあり、神経効果器にたどり着くことができず自発的な回復はまれである。そのため神経周膜での縫合が必要となる。神経断裂はGrade V と対応している。神経構造体の全ての連続性が断たれた状態であり、回復には神経縫合が必要となる。

3. 末梢神経の再生

軸索が損傷するとそれより遠位の軸索や髄鞘はシュワン細胞やマクロファージの食作用によって変性、除去される。これをワラー変性と呼ぶ。ワラー変性の初期にはシュワン細胞が、後期にはマクロファージが主に関与する。損傷した末梢神経ではシュワン細胞がマクロファージの浸潤に従って増殖していき、神経内膜に沿ってビュングナー帯と呼ばれる軸索再生の足場を形成し、軸索を神経効果器へ誘導していく³⁾。ビュングナー帯が形成される前には血管新生が起こり、新生血管に沿ってシュワン細胞が移動していく。損傷部に浸潤したマクロファージは低酸素状態になると血管内皮細胞増殖因子を分泌して内皮細胞を集積することで血管新生を促進させる⁴⁾。

4. 末梢神経における細胞治療

シュワン細胞は末梢神経再生に主要な細胞であり、多くの実験で用いられているが、自己シュワン細胞の移植では自家神経移植と同じように自己の神経を採取してからシュワン細胞を分離する必要があるなどの問題が生じている⁵⁾。解決策として幹細胞を用いた移植の実験が行われている。幹細胞として、胚性幹細胞

(embryonic stem cells: ES細胞)、間葉系幹細胞、人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells: iPS細胞) などが用いられている。ES細胞は胚発生の胚盤胞期から派生する多能性幹細胞である。シュワン細胞などへ分化させることができ末梢神経再生の効果が期待されるが、倫理的問題が壁となっている。間葉系幹細胞には骨髓、脂肪組織、羊膜などから採取したものがある。間葉系幹細胞は神経細胞やシュワン細胞といった中胚葉以外の組織にも分化させることができ、末梢神経の再生戦略として用いることができる。シュワン細胞と比べて採取は容易で、ES細胞のような倫理的問題は発生しない。iPS細胞は人工的に作られる多能性幹細胞であり、ES細胞における倫理的問題を回避できる移植用細胞源として期待されている。末梢神経損傷に対する幹細胞移植には、シュワン様細胞への分化、神経栄養因子の分泌、髄鞘形成の促進といった効果が期待される。幹細胞は損傷した神経に移植された後増殖を続け、適切な微小環境においてその場で必要とされている細胞種に分化していく。幹細胞は移植先で自発的にシュワン様細胞へ分化するが、その割合は低く、あらかじめ成長因子を与えることでシュワン様細胞へ分化させてから移植を行うことがある。幹細胞はシュワン様細胞に分化するだけでなく、神経成長因子 (nerve growth factor: NGF) や脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF)、血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) といった成長因子を分泌させる能力も併せ持つため、移植先で神経再生に適切な微小環境を作り出し神経再生を促進させる。また、シュワン様細胞へ分化した幹細胞は損傷した神経において髄鞘形成を制御する転写因子を調整することで髄鞘形成を促進させることも報告されている⁶⁾。

5. 細胞移植とリハビリテーション

検索ワードを作成し (Table 1)、PubMedで検索した結果の1363件から、細胞治療とリハビリテーションを組み合わせた報告を10件抽出した。そのうち、リハビリテーションとして用いられていたのは、物理療法として超音波3件、超短波1件、レーザー1件、磁気刺激1件、高気圧酸素療法1件、運動療法としてトレッドミル1件、水泳2件であった。用いた細胞は、シュワン細胞が4件、iPS細胞由来神経堤幹細胞が1件、骨髓間質細胞が1件、間葉系幹細胞が4件 (ヒト羊水由来が1件、骨髓由来が3件、うち1件はシュワン様細胞へ分化誘導して移植)、であった。損傷モデ

Table 1 Search strategy

# 1	peripheral nerve [MeSH]
# 2	peripheral nervous system disease [MeSH]
# 3	# 1 OR # 2
# 4	cell transplantation [MeSH]
# 5	stem cell [MeSH]
# 6	Schwann cell [MeSH]
# 7	# 4 OR # 5 OR # 6
# 8	nerve regeneration [MeSH]
# 9	functional recovery [MeSH]
#10	# 8 OR # 9
#11	cell [Title] OR cells [Title]
#12	# 3 AND # 7 AND #10 AND #11

ルは、神経欠損（神経断裂）モデルが7件、神経挫滅（軸索断裂）モデルが3件であった（Table 2）。

・細胞移植に対する超音波照射

Changらは2004年の報告⁷⁾では10mmの坐骨神経欠損モデル、2005年の報告⁸⁾では15mmの坐骨神経欠損モデルにシュワン細胞を移植して超音波照射することで、細胞移植単独群、超音波照射単独群と比較して、軸索数の増加といった組織学的な再生が促進されたと報告しており、10mmの切断、15mmの切断のどちらにおいても同様な傾向がみられる。Lvら⁹⁾の、坐骨神経欠損モデルにヒトiPS細胞由来神経堤幹細胞を移植し超音波治療を行った実験では、軸索数の増加、SFI（sciatic functional index）といった運動機能指数や神経伝導速度の改善が報告された。また、より多くの新生血管が見られたとも報告しており、新生血管の増加は移植細胞の血管への分化と超音波照射による血管新生誘発の相乗効果によるものではないかと考察している。末梢神経損傷に対する超音波照射は、Daeschlerらによるメタアナリシスにおいて髄鞘の厚さ、軸索の直径が有意に増加し神経再生を促進させる効果があると報告されており¹⁰⁾、これらが運動機能や神経伝導速度の改善につながったと考えられる。培養細胞での実験では、シュワン細胞に対して超音波照射を行うことによる神経栄養因子の増加、細胞生存率の増加、シュワン細胞の増殖促進が報告されており¹¹⁾、移植細胞に対して超音波照射をすることで軸索の再生が促進されたと考えられる。また、培養中のiPS細胞由来神経堤幹細胞に対して適切な強度の超音波照射を行うことで細胞の生存率増加、増殖、軸索やシュワン様細胞への分化が促進されると報告されており¹²⁾、超音波照射とiPS細胞由来神経堤幹細胞移植の併用効果がみられたと考えられる。

・細胞治療に対する超短波照射

Pangら¹³⁾は、骨髄間質細胞を移植した坐骨神経欠損モデルに超短波照射を行い、組織的、機能的な再生に加え、シュワン様細胞の増加、成長因子の増加がみられたと報告した。成長因子について、血管新生にかかわるとされるVEGFは超短波照射単独群において増加し、細胞移植単独群では増加していない。また、BDNFは超短波照射単独群、細胞移植単独群ともに増加し、超短波照射と細胞移植を併用した群ではさらに増加したため、損傷した末梢神経に対する超短波照射による神経再生と移植した骨髄間質細胞に対する超短波照射による神経再生の相乗効果がみられたと考えられる。

・細胞治療に対するレーザー照射

Yangら¹⁴⁾は骨髄から採取した間葉系幹細胞をシュワン様細胞へ分化させて移植した坐骨神経挫滅モデルに対し、レーザー照射することで、シュワン様細胞の増加といった組織的な再生促進、行動機能改善、複合筋活動電位の改善を報告している。また、細胞移植単独群では炎症細胞が増加したが、レーザー照射を組み合わせることで炎症細胞の増加を抑制することができたと報告した。間葉系幹細胞に対するレーザー照射は間葉系幹細胞の分化や増殖、成長因子の分泌を促進させることはすでに報告があるため¹⁵⁾¹⁶⁾、それに加えて炎症細胞の増加抑制作用も合わさって神経再生が促進されたと考察した。

・細胞治療に対する磁気刺激

Liuら¹⁷⁾は、坐骨神経欠損モデルに対し、シュワン細胞と磁性の神経導管を組み合わせることで移植した後に磁気刺激を与えることで、組織的・行動機能的な再生促進がみられ、また、移植細胞の生存率が増加したと報告した。生体外での実験では、磁気刺激を与えるだけではシュワン細胞に対する効果はなく、磁性の神経導管と磁気刺激を組み合わせることでシュワン細胞の細胞死は抑制され、成長因子が増加するとされており¹⁸⁾、生体内でも同様の効果が得られたと考えられる。

・細胞移植に対する高気圧酸素療法

Panら¹⁹⁾はヒト羊水由来の間葉系幹細胞を移植した坐骨神経挫滅モデルに高気圧酸素療法を行い、組織的、機能的な神経再生促進に加え、マクロファージを誘導するケモカイン、サイトカインが減少したと報告し、炎症細胞が減少したことで移植細胞の生存率が増加し神経再生が促進したと考察した。

・細胞治療に対する運動療法

Goulartら²⁰⁾は坐骨神経欠損モデルのマウスにシュワン細胞を移植しトレッドミルによる運動介入を行

Table 2 Experimental settings and outcomes of studies Database: PubMed, 11th August 2018 (hits: 1363 studies)

Study	Animals	Lesion	Cells	Therapy	Therapeutic regimen	Observation	Histological outcomes	Functional outcomes
Chang, 2004 ⁽⁷⁾	Rat	10 mm	SCs	ultrasound	frequency: 1 MHz	6 weeks	increased axon number(c,d)	N/A
	N=8	defect		24h after surgery	intensity: 0.2 W/cm ² pulse duration: 2 ms duty cycle: 20% 5 min/day X 12 times		increased axon area(c,d)	
Chang, 2005 ⁽⁸⁾	Rat	15 mm	SCs	ultrasound	frequency: 1 MHz	8 weeks	increased axon number(a,b,c)	N/A
	N=8	defect		24 h after surgery	intensity: 0.3 W/cm ² pulse duration: 2 ms duty cycle: 20% 5 min/day X 12 times		increased axon area(a,b,c)	
Lv, 2015 ⁽⁹⁾	Rat	10 mm	iPSCs	ultrasound	frequency: 1 MHz	13 weeks	increased axon number(a,b,c)	improved SFI• SSI(a,b,c)
	N=4	defect		24 h after surgery	Intensity: 0.3 W/cm ² (SATP) pulse duration: 2 ms duty cycle: 20% 5 min/day, 2 weeks			improved nerve conduction velocities(a,b,c)
Pang, 2013 ⁽¹³⁾	Rat	10 mm	BMSCs	ultrashort wave	frequency: 40.68MHz	12 weeks	increased myelinated axon number(a,b,c)	improved SFI(a,b,c)
	N=10	defect		24 h after surgery	maximum export power: 40 W 7 min/day, 12 weeks		increased myelin sheath thickness(a,b,c) increased axon diameter(a,b,c) increased co-expression of S100 and GFAP(a,b,c) increased co-expression of S100 and VEGF(a,b,c) increased weight ratio of tibialis anterior(a,b,c)	decreased latent period(a,b,c) increased conduction velocity(a,b,c) increased wave amplitude(a,b,c)
Yang, 2016 ⁽¹⁴⁾	Rat	Crush	MSCs	laser	energy density: 9 J/cm ²	3 weeks	decreased nuclei(a)	improved SFI(a,b,c)
	N=12	injury		12 h after surgery	irradiation time: 60 s/spot 4 spot (0.2cm ² X 4) 7 consecutive days		decreased vacuole increased S-100 expression	increased VA(a,b,c) increased AA(a,b,c) increased CM AP amplitude(a,b,c) decreased CM AP latency(a)
Liu, 2017 ⁽¹⁷⁾	Rat	15 mm	SCs	magnetic field	frequency: 50 Hz	12 weeks	increased number of live SCs(b)	improved SFI(a,b,c)
	N=6	defect		after surgery	intensity: 2 mT 2 h/day, 12 weeks		increased axon number(a,b,c) increased myelinated axon number(a,b,c) increased diameter of myelinated axons(a,b,c) increased microvessel density(a,b,c) increased weight ratio of gastrocnemius(a,b,c) increased muscle fiber diameter(a,b,c)	improved sensory nociceptive function(a,b,c)
Pan, 2009 ⁽¹⁸⁾	Rat	Crush	MSCs	hyperbaric oxygen	100% oxygen	4 weeks	increased neurofilament expression(a,b,c)	improved SFI(a,b,c)
	N=30	injury		12 h after surgery	2 ATA 60 min/day, 7 days		decreased vacuole(a,b,c) increased vascular density(a,b,c) increased S100 expression(a,b,c) increased apoptotic positive cells(b) decreased macrophage(a,b) decreased MCP-1 and RANTES expression(a,b) decreased TNF- α , IL-1 β and IFN- γ (a,b)	increased AA(a,b,c) increased CM AP amplitude (a,b,c) decreased CM AP latency(a,b,c)
Goulart, 2014 ⁽²⁰⁾	Mouse	3 mm	SCs	treadmill	10 m/min	8 weeks	increased myelinated axon number and area(a)	improved SFI (a,b)
	N=8	defect		3 d after surgery	two 30 min exercise period 3 days/week, 8 weeks		increased blood vessels(a) increased neuromuscular junctions(a,b,c) increased trophic factor(a)	improved GM T(a)
Wang, 2010 ⁽²¹⁾	Rat	2 mm	MSCs	swimming	30 min/day, 7days	4 weeks	no significant difference	improved SFI (a,b)
	N=8	defect		14 h after surgery				increased VA (a,b) increased AA (a,b) increased CM AP amplitude (a,b) decreased CM AP latency (a)
Yang, 2015 ⁽²²⁾	Rat	Crush	MSCs	swimming	10 min/day, 7days	5 weeks	decreased immune cells (a,b)	improved SFI (a,b,c)
	N=10	injury		3 d after surgery			decreased vacuole (a,b)	increased AA (a,b,c) increased VA (a,b,c) increased CM AP amplitude (a,b,c) decreased CM AP latency (a,b,c) improved nerve conduction velocities(a,b,c)

SCs: Schwann cells, iPSCs: induced pluripotent stem cells, BM SCs: bone marrow stromal cells, M SCs: mesenchymal stem cells, GFAP: glial fibrillary acidic protein, VEGF: vascular endothelial growth factor, MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1, RANTES: regulated upon activation normal T cell expressed and secreted, TNF- α : tumor necrosis factor- α , IL-1 β : interleukin-1 β , IFN- γ : interferon- γ , SFI: sciatic functional index, SSI: static sciatic index, VA: vertical locomotor activity, AA: ankle angle, CM AP: compound muscle action potential, GM T: global mobility test, N/A: not available
Comparison showing statistically significant differences between cell transplantation and rehabilitation group and non-treated group(a), only cell transplantation group(b), only rehabilitation group(c), or autograft group(d).

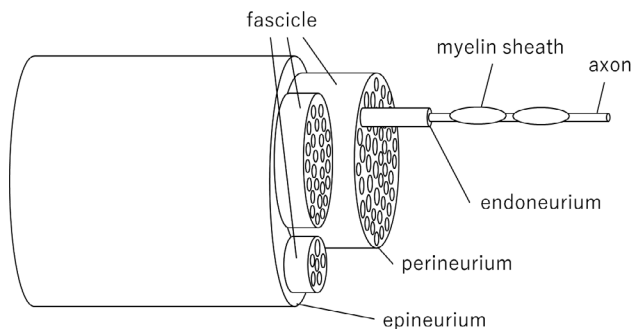


Figure 1 Structure of peripheral nerve

い、細胞治療単独群、トレッドミル介入単独群と比較して組織学的に有意な差はみられなかったが細胞治療とトレッドミル併用群において正常に近い神経筋接合部の形成が観察された。Wangら²¹⁾は坐骨神経欠損モデルのラットに骨髓から採取した間葉系幹細胞を移植し、移植12時間後から30分間の水泳を1週間行わせたが、組織学的な有意差はみられず、運動機能においても細胞治療と水泳による相乗効果はみられなかった。Yangら²²⁾は坐骨神経挫滅モデルのラットに骨髓から採取した間葉系幹細胞を移植し、移植3日後から10分間の水泳を1週間行わせた結果、組織学的には有意な差はなかったが、運動機能、複合筋活動電位の改善がみられたと報告した。細胞移植と水泳を組み合わせたこれら2つの実験の相違点として運動時間の違いが挙げられる。Liaoらは、坐骨神経欠損モデルのラットに水泳を行わせ、1日30分水泳を行った群よりも、10分または20分水泳を行った群で神経再生がみられたと報告しているため²³⁾、運動強度の違いが神経再生の結果に影響したと考えられる。運動をさせた個体では、神経栄養因子の増加と共に軸索など組織的な再生がみられるとされており²⁴⁾、適切な強度の運動において運動による栄養因子の増加が細胞治療の効果を促進させることができると考えられる。

・自家神経移植との比較

細胞移植とリハビリテーションの併用群と自家神経移植を行った群での比較も行われている。Changら⁷⁾はシュワン細胞移植と超音波照射を併用した場合、自家神経移植群より神経再生が促進されたと報告した。Lvら⁹⁾はiPS細胞由来神経堤幹細胞移植を実施した個体に対して超音波照射を実施したが、自家神経移植群の方でより再生していたと報告した。Liuら¹⁷⁾はシュワン細胞移植と磁気刺激を併用し、自家神経移植群と同等の再生が得られたと報告した。これらの先行研究をまとめると、シュワン細胞を移植した実験では自家神経移植と同等かそれ以上の再生が促進され、iPS細胞

由来神経堤幹細胞を移植した実験では自家神経移植ほどの神経再生促進がみられないという結果となった。シュワン細胞移植と、間葉系幹細胞またはシュワン様細胞へ分化させた間葉系幹細胞移植による軸索再生を比較した実験では、シュワン細胞またはシュワン様細胞へ分化させた間葉系幹細胞を移植した群でより軸索再生がみられ、リハビリテーション介入をしない条件ではシュワン細胞移植の方が再生を促進させるという結果となっている²⁵⁾。また、超音波照射によるiPS細胞由来神経堤幹細胞のシュワン細胞への分化は培養細胞での実験で確認されているが、効率の良い分化誘導には適切な強度の超音波照射が必要である¹²⁾。そのため、移植後に生体内で幹細胞をシュワン細胞へ分化させるためのより適切な刺激強度を明らかにしていく必要があると考えられる。

また、今回自家神経移植と比較した報告は全て欠損の長さは10mmから15mmの範囲に限られていた。Sinisらは20mmの欠損モデルにシュワン細胞を移植した場合は神経再生がみられたが、40mmの欠損モデルでは再生がみられなかったと報告している²⁶⁾²⁷⁾。そのため、今後はより欠損の大きなモデルにおいて比較をする必要があると考えられる。

6. まとめ

物理療法では局所的な刺激を、運動療法や高気圧酸素療法では全身的な刺激を与えるという違いはあるものの、どちらも神経栄養因子の増加などによる軸索の再生が促進され、細胞移植とリハビリテーションによる相乗効果が確認された。しかし、自家神経移植との比較を行うとその結果は不十分である。また、幹細胞の使用には、移植後に生体内でシュワン細胞へ分化させることが課題として挙げられる。細胞移植治療後の末梢神経損傷モデルに対するリハビリテーションの介入条件は報告によって異なり併用効果についても一貫性がない。そのため、物理療法においても、運動療法においても、移植細胞にとってより最適な環境作りのためのリハビリテーション条件を設定していくための更なる研究が必要であると考えられる。

文 献

- 1) Seddon HJ: A Classification of Nerve Injuries. Br Med J 2: 237-9, 1942
- 2) Sunderland S: A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. Brain 74:

- 491-516, 1951
- 3) Fu SY, Gordon T: The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol* 14: 67-116, 1997
 - 4) Cattin AL, Burden JJ, Van Emmenis L, MacKenzie FE, Hoving JJA, Garcia Calavia N, Guo Y, McLaughlin M, Rosenberg LH, Quereda V, Jamecna D Napoli I, Parrinello S, Enver T, Ruhrberg C, Lloyd AC: Macrophage-Induced Blood Vessels Guide Schwann Cell-Mediated Regeneration of Peripheral Nerves. *Cell* 162: 1127-39, 2015
 - 5) Oraee-Yazdani S, Hafizi M, Atashi A, Ashrafi F, Seddighi AS, Hashemi SM, Seddighi A, Soleimani M, Zali A: Co-transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells and Schwann cells through cerebral spinal fluid for the treatment of patients with chronic spinal cord injury: safety and possible outcome. *Spinal Cord* 54: 102-9, 2016
 - 6) Jiang L, Jones S, Jia X: Stem Cell Transplantation for Peripheral Nerve Regeneration: Current Options and Opportunities. *Int J Mol Sci* 18, 2017
 - 7) Chang CJ, Hsu SH: The effects of low-intensity ultrasound on peripheral nerve regeneration in poly(dl-lactic acid-co-glycolic acid) conduits seeded with Schwann cells. *Ultrasound Med Biol* 30: 1079-84, 2004
 - 8) Chang CJ, Hsu SH, Lin FT, Chang H, Chang CS: Low-intensity-ultrasound-accelerated nerve regeneration using cell-seeded poly(D,L-lactic acid-co-glycolic acid) conduits: An in vivo and in vitro study. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater* 75: 99-107, 2005
 - 9) Lv Y, Nan P, Chen G, Sha Y, Xia B, Yang L: In vivo repair of rat transected sciatic nerve by low-intensity pulsed ultrasound and induced pluripotent stem cells- derived neural crest stem cells. *Biotechnol Lett* 37: 2497-506, 2015
 - 10) Daeschler SC, Harhaus L, Schoenle P, Boecker A, Kneser U, Bergmeister KD: Ultrasound and shock-wave stimulation to promote axonal regeneration following nerve surgery: A systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *Sci Rep* 8: 1-11, 2018
 - 11) Ren C, Chen X, Du N, Geng S, Hu Y, Liu X, Wu X, Lin Y, Bai X, Yin W, Cheng S, Yang L, Zhang Y: Low-intensity pulsed ultrasound promotes Schwann cell viability and proliferation via the GSK-3 β / β -catenin signaling pathway. *Int J Biol Sci* 14: 497-507, 2018
 - 12) Lv Y, Zhao P, Chen G, Sha Y, Yang L: Effects of low-intensity pulsed ultrasound on cell viability, proliferation and neural differentiation of induced pluripotent stem cells- derived neural crest stem cells. *Biotechnol Lett* 35: 2201-12, 2013
 - 13) Pang CJ, Tong L, Ji LL, Wang ZY, Zhang X, Gao H, Jia H, Zhang LX, Tong XJ: Synergistic effects of ultrashort wave and bone marrow stromal cells on nerve regeneration with acellular nerve allografts. *Synapse* 67: 637-47, 2013
 - 14) Yang CC, Wang J, Chen SC, Hsieh YL: Synergistic effects of low-level laser and mesenchymal stem cells on functional recovery in rats with crushed sciatic nerves. *J Tissue Eng Regen Med* 10: 120-31, 2016
 - 15) Soleimani M, Abbasnia E, Fathi M, Sahraei H, Fathi Y, Kaka G: The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts—an in vitro study. *Lasers Med Sci* 27: 423-30, 2012
 - 16) Hou J, Zhang H, Yuan X, Li J, Wei Y, Hu S: In vitro effects of low-level laser irradiation for bone marrow mesenchymal stem cells: Proliferation, growth factors secretion and myogenic differentiation. *Lasers Surg Med* 40: 726-33, 2008
 - 17) Liu Z, Zhu S, Liu L, Ge J, Huang L, Sun Z, Zeng W, Huang J, Luo Z: A magnetically responsive nanocomposite scaffold combined with Schwann cells promotes sciatic nerve regeneration upon exposure to magnetic field. *Int J Nanomedicine* 12: 7815-32, 2017
 - 18) Liu Z, Huang L, Liu L, Luo B, Liang M, Sun Z, Quan X, Yang Y, Ma T, Huang J, Luo Z: Activation of Schwann cells in vitro by magnetic nanocomposites via applied magnetic field. *Int J Nanomedicine* 10: 43-61, 2015
 - 19) Pan HC, Chin CS, Yang DY, Ho SP, Chen CJ, Hwang SM, Chang MH, Cheng FC: Human Amniotic Fluid Mesenchymal Stem Cells in Combi-

- nation with Hyperbaric Oxygen Augment Peripheral Nerve Regeneration. *Neurochem Res* 34: 1304–16, 2009
- 20) Goulart CO, Jürgensen S, Souto A, Oliveira JT, de Lima S, Tonda-Turo C, Marques SA, de Almeida FM, Martinez AMB: A combination of Schwann-cell grafts and aerobic exercise enhances sciatic nerve regeneration. *PLoS One* 9: e110090, 2014
 - 21) Wang J, Yang CC, Chen SC, Hsieh YL: No synergistic effect of mesenchymal stem cells and exercise on functional recovery following sciatic nerve transection. *Funct Neurol* 25: 33–43, 2010
 - 22) Yang CC, Wang J, Chen SC, Jan YM, Hsieh YL: Enhanced functional recovery from sciatic nerve crush injury through a combined treatment of cold-water swimming and mesenchymal stem cell transplantation. *Neurol Res* 37: 816–26, 2015
 - 23) Liao CF, Yang TY, Chen YH, Yao CH, Way TD, Chen YS: Effects of swimming exercise on nerve regeneration in a rat sciatic nerve transection model. *BioMedicine* 7: 3, 2017
 - 24) Park J-S, Höke A: Treadmill exercise induced functional recovery after peripheral nerve repair is associated with increased levels of neurotrophic factors. *PLoS One* 9: e90245, 2014
 - 25) Keilhoff G, Gohl A, Stang F, Wolf G, Fansa H: Peripheral Nerve Tissue Engineering: Autologous Schwann Cells vs. Transdifferentiated Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Eng* 12: 1451–65, 2006
 - 26) Sinis N, Schaller HE, Schulte-Eversum C, Schlosshauer B, Doser M, Dietz K, Rosner H, Müller HW: Nerve regeneration across a 2-cm gap in the rat median nerve using a resorbable nerve conduit filled with Schwann cells. *J Neurosurg* 103: 1067–76, 2005
 - 27) Sinis N, Schaller HE, Becker ST, Schlosshauer B, Doser M, Roesner H, Oberhoffner S, Müller HW, Haerle M: Long nerve gaps limit the regenerative potential of bioartificial nerve conduits filled with Schwann cells. *Restor Neurol Neurosci* 25: 131–41, 2007

総 説 「特集：再生医療とリハビリテーション」

関節軟骨再生のための細胞治療とリハビリテーション

中畑 晶博¹⁾, 青山 朋樹¹⁾, 伊藤 明良¹⁾

Cell therapy and rehabilitation for articular cartilage regeneration

Akihiro Nakahata¹⁾, Tomoki Aoyama¹⁾, Akira Ito¹⁾

Abstract

Articular cartilage injury affects many people in the world. However, the articular cartilage tissue is difficult to restore because it has not blood vessels and neurons. Recently, cell therapy has been shown to affect cartilage regeneration. Autologous chondrocyte implantation (ACI) is one of the most common therapies and also performed in Japan under the medical insurance coverage. It is reported that ACI for cartilage defects relieves pain, improves function, and restores the cartilage. Mesenchymal stem cell (MSC) therapy is also performed worldwide. MSC therapy also relieves pain, improves function, restores the cartilage like ACI. However, both ACI and MSC therapy are limited to cartilage restoration and functional recovery. Mechanical stress is an important key factor that facilitates cartilage regeneration, so rehabilitation involving mechanical stress could have synergistic effects. However, evidence on the rehabilitation program after cell therapy is still insufficient. Further verification will be necessary in the future.

Key words: Articular cartilage, Regeneration, Cell therapy, Rehabilitation, Mechanical stress

1. はじめに

膝関節などの関節軟骨損傷は多くの人が罹患し、それは主に強い衝撃による外傷性軟骨損傷もしくは変形性関節症 (Osteoarthritis; OA) の2つの原因によって生じる。特に変形性膝関節症は日本国内で約2500万人の罹患者がいることが推定されており¹⁾、痛みや機能障害を引き起こし、ADL制限を及ぼす代表的な疾患となっている。最近では軟骨損傷に対して再生医療が施され始めており、それに合わせたリハビリテーションも実施されている。そこで、本稿では関節軟骨について概説した後に軟骨損傷に対する再生医療とその

リハビリテーションについて述べていく。

2. 関節軟骨とは

関節軟骨は骨端部関節面にあり、主に硝子軟骨からなっている。稀に顎関節などの関節軟骨は線維軟骨よりなるが、今回は硝子軟骨からなる関節軟骨について述べていく。硝子軟骨の構成は軟骨細胞やプロテオグリカンやコラーゲンなどからなっており、それぞれが関節軟骨の恒常性維持や組織再生などに大きく関わっている。正常な関節軟骨には最表層、移行層、深層、石灰化層があり、最表層では扁平で若い軟骨細胞が、深層では球状の老いた細胞が存在している (Fig. 1)。関節軟骨全層にわたって存在する代表的なプロテオグリカンはアグリカンであるが、通常最表層に存在するプロテオグリカン4 (ルプリシン) は滑液中のヒアルロン酸を吸着し潤滑性の向上や関節軟骨再生に関与するといわれている。また、関節軟骨には主にⅡ型コラーゲンが全層に存在している。

1) 京都大学大学院医学研究科人間健康科学系
Human Health Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University

投稿責任者：伊藤明良
連絡先：〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町53
京都大学大学院医学研究科 人間健康科学系
E-mail: ito.akira.4m@kyoto-u.ac.jp

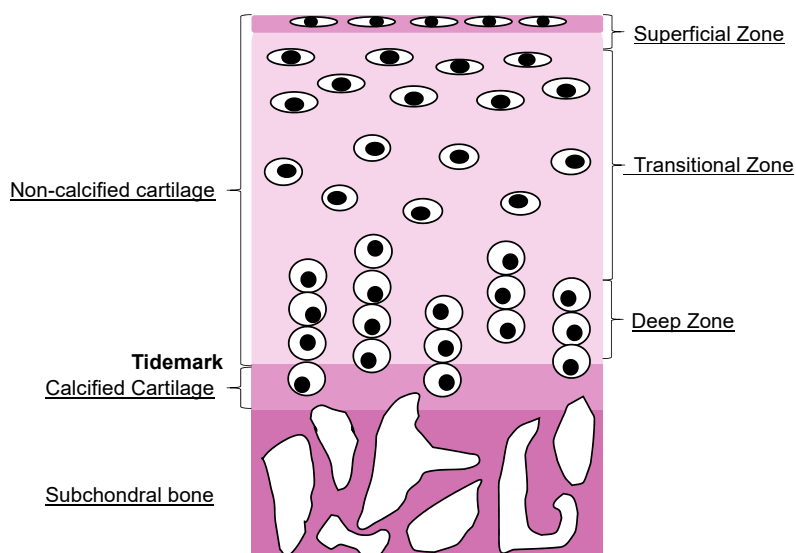


Fig. 1. The morphology of articular cartilage and chondrocyte

Chondrocytes in the superficial zone are small and flattened, immature condition like MSCs. There is also proteoglycan-4 (lubricin) involved in cartilage regeneration. In contrast, chondrocytes in deep zone are large and spherical, mature condition.

3. 関節軟骨再生の取り組み

関節軟骨には血流がないことから軟骨損傷の修復は困難であるとされてきたが、関節軟骨損傷の修復させる治療法として、軟骨損傷部に骨穿孔を施して骨髄内の間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cells; MSCs) を利用するドリリング法やマイクロフラクチャー法、自家軟骨柱を移植するモザイクプラスティ法などが考え出され、関節軟骨再生治療のスタンダードとなった。しかしそれらは一定の成果を示すものの、ドリリング法とマイクロフラクチャー法では硝子軟骨再生が困難であること、モザイクプラスティ法では関節軟骨柱採取の限界があることなどの問題があり、関節軟骨再生には制限があった。そのため、これらに変わる新たな治療法の一つとして、細胞を用いた関節軟骨に対する再生治療研究が盛んに行われていたが、いよいよ本国の臨床現場においても近年、細胞を用いた再生医療が実施されるようになった。特に後述する関節軟骨欠損や離断性骨軟骨炎に対する自家培養軟骨細胞移植 (Autologous Chondrocyte Implantation; ACI) は平成25年より保険収載された。また、MSCs移植も自由診療ではあるが、実施され始めている。

<関節軟骨損傷に対する細胞治療>

・自家培養軟骨細胞移植 (ACI)

ACIとは患者本人の健全な関節軟骨を採取し、そこから軟骨細胞を単離、培養した軟骨細胞を軟骨欠損部

位に移植する方法であり、現在の日本でも保険診療下で軟骨欠損もしくは離断性骨軟骨炎患者に対して実施されている。

ACIには大きく第1～第3世代の方法がある。第1世代ACIは培養軟骨細胞を移植して自家骨膜 (Periosteum) で欠損部をパッチしたもの (ACI-P)、第2世代ACIは骨膜採取や生分解性の問題を解決するためにコラーゲン (Collagen) で欠損部をパッチしたもの (ACI-C)、第3世代ACIはコラーゲン膜に播種した培養軟骨細胞を欠損部に移植し、フィブリン糊で軟骨下骨に直接固定したもの (Matrix-induced ACI; MACI) である。新しい考えであるMACIは軟骨の質的量的な再生を促進し、合併症を減少させることが期待されていた²⁾が、軟骨欠損におけるACI-P、CとMACIを比較した研究では両者の軟骨修復や質に大きな差はなく、ACI-P、CのみならずMACIにおいても一部の患者では硝子軟骨ではなく線維軟骨での置換がみられていた³⁾。これらよりいずれの方法も結果に大きな差はないことが考えられる。軟骨欠損に対しACIを施行することにより、痛みなどの臨床症状やQOLが改善されることは多くの臨床研究により示されている⁴⁾。しかし長期的にみるとNiemeyerらは平均33年の追跡調査で28.6%⁵⁾、Cvetanovichらは2年以上の追跡調査で37.8%の患者の追加手術を行っていたことを報告⁴⁾している。また、ACI後のスポーツアクティビティは術前より減少しやすく、レベルの高いスポーツへの復帰は困難であるとする報告⁶⁾や移植後12ヶ月以内のスポ

ーツ復帰は2年後の機能スコアを悪化させる⁷⁾とした報告もあり、より適切な対象の選定や培養軟骨移植の技術的な問題など今後さらなる開発・研究が必要である。

ここまで軟骨欠損に対するACIの治療成績等を説明してきた。しかし軟骨損傷の多くはOAにより発生し、OA軟骨に対する再生治療が重要な意味を持つため、OA軟骨に対するACIについても紹介する。OA軟骨に対するACIにおいても軟骨欠損に対するものと同様に移植前と比べ、痛みの減少や機能改善がはかられたとする報告⁸⁾が散見される。しかし、ACIにより人工関節などの追加手術を回避できる可能性は対象関節のOAグレードに関連がみられ⁹⁾、Minasらの早期OA (Ahlback stage 0-1) を対象としたACIの調査では11年間で8%が⁸⁾、Firardらの中等度OA (KL grade 2-3) を対象としたACIの調査では10年間で27%が追加手術に至っていた¹⁰⁾。ただし、OAは進行性の疾患であり自然経過においても一定数は手術に至るため、上記の報告だけでは治療効果の判断は困難であり、今後さらなる研究が必要である。

・間葉系幹細胞 (MSCs) 移植

MSCsは中胚葉由来の間葉系幹細胞であり、軟骨や靱帯、骨などの多様な細胞に分化する能力や活発に増殖する能力を持つ。それに加え、MSCsは骨髄をはじめ、脂肪や滑膜、滑液に存在し¹¹⁾、それらの部位から比較的容易に採取することができるため、様々な疾患の治療が行われている。軟骨損傷に対してもMSCs移植研究・治療は盛んに行われており、主にMSCsの関節内注入が行われている。

膝OAに対するMSCs関節内注射は疼痛軽減や臨床

機能改善、軟骨組織再生等がみられること¹²⁻¹⁴⁾が多く報告されており、国内の臨床でも一部行われ始めている。MSCs移植がOA軟骨再生を促進させることが期待される一方で、大量の軟骨再生は困難であるとの見方があり、最近報告されたOAに対するMSCs移植に関する動物実験のシステマティックレビューにおいてもMSCs関節内注射はまだ臨床試験に強く推奨できるものではないとしている¹⁵⁾。MSCsにはOA治療を革新させる可能性を秘めているが、さらなる研究が必要であろう。

・老化細胞除去

多くの疾患において細胞老化の関与が示されているが、OAについても例外ではなくその関係が示唆されている¹⁶⁾。昨今まで関節軟骨の構造維持のためには、いかなる軟骨細胞においてもその存在は必要不可欠であるとの考えが中心であったが、最近では細胞外基質の破綻を招くような老化した細胞などは必要ないとする考えが出てきた。まだ前臨床レベルであるが、OAモデルマウスの関節軟骨内にある軟骨細胞の内、老化した細胞を特殊な薬品の関節内投与により選択的に除去することでOA進行を抑制したことが報告され¹⁷⁾、新しい細胞治療法として注目されている。

＜細胞治療後のリハビリテーション＞

軟骨細胞はメカニカルストレスのような刺激を受けることにより様々な反応を示す。メカニカルストレスは関節軟骨～軟骨下骨の恒常性や変性、細胞外基質(プロテオグリカンやコラーゲン) 産生・分解、炎症、酸化ストレスなどに影響を及ぼす¹⁸⁻²¹⁾。多くのリハビリテーション介入は組織にメカニカルストレスを与える

Postoperative Rehabilitation Phases	Stages of Transplant Tissue Maturation
Phase1: 0-2weeks postsurgery	Implantation and proliferation (0-6 weeks)
Phase2: 2-3 weeks postsurgery	
Phase3: 4-6 weeks postsurgery	
Phase4: 7-12 weeks postsurgery	Transition (6-12 weeks)
Phase5: 3-6 months postsurgery	Remodeling (12-26 weeks)
Phase6: 6-9 months postsurgery	
Phase7: 9 months~ postsurgery	Maturation (26 weeks onward)

Fig. 2. Postoperative Rehabilitation Phases and Stages of Transplant Tissue Maturation

ため、理学療法士は治療するにあたって軟骨細胞などへのミクロな影響を考慮することは非常に重要である。関節軟骨損傷に対する細胞治療後に適切なリハビリテーションを行うことで、軟骨再生を相乗的に促進させることができる。今回は主に軟骨再生を目的としたリハビリテーションについて述べる。

・ACI後のリハビリテーション

ACI後のリハビリテーション介入には、移植軟骨の剥離などのリスクが伴うため慎重になりがちであるが、動物実験や細胞工学的研究では移植部の保護と軟骨細胞の分化などに対して、メカニカルストレスは重要な役割があるとされている。

ACI後の成熟段階は大きく4段階に分けられる (Fig. 2)²²⁾²³⁾。第1段階 (0-6週間) の増殖期では移植軟骨が生着し軟骨細胞が増殖し、第2段階 (6-12週間) の移行期では軟骨細胞がさらに増殖・遊走し、第3段階 (12-26週間) のリモデリング期では軟骨細胞が細胞外基質であるコラーゲンやプロテオグリカン積極的に産生して形態は軟骨様になり、第4段階 (6か月～3年間) の成熟期では移植軟骨は成熟して軟骨細胞と細胞外基質が正常な状態まで増殖していくとされている。リハビリテーションプログラムは上記移植部の成熟段階が考慮されて編成される。

ACI後早期 (増殖期) では移植軟骨の生着・保護が重要になるため、過度にならないよう適切なメカニカルストレスを移植部や周囲に与えることにより移植軟骨に栄養を供給、周囲の炎症を軽減させる必要がある。実際に適時適切なメカニカルストレスを与えることは容易ではないが、骨同士の接触による圧迫力や摩擦力は大きな力が働きやすいため、移植部位に応じた荷重量の調整が必要になる。他動関節可動域訓練などによる関節液流動は移植部表層へ流体摩擦ストレスを与え、栄養供給を行うことができるため移植後超早期より行うことが推奨される。ただし、流体摩擦によるメカニカルストレスでは軟骨下骨や軟骨深層部へは刺激が伝わりにくいため、移植部位へ適切な圧迫刺激を与えることにより細胞外基質産生や恒常性維持をはかることも重要である。ACI術直後からの積極的な荷重は、移植部に対して過負荷となり成熟を妨げるリスクを伴うため慎重にならざるを得ないが、従来より荷重時期を早めることにより臨床症状や機能が改善し、軟骨損傷を伴った患者の割合にも差がみられなかったことが報告されている²⁴⁻²⁷⁾。Edwardsらは大腿骨顆部にACIを行った患者を対象に移植直後から体重の20%以下のつま先歩行を開始し、移植後6週での全荷重 (Full

Weight Bearing; FWB) を目標にした群と移植後8週でのFWBを目標にした群との比較を行った結果、両者に移植部のMRI結果に差はなく、早期にFWBした群の方が早期よりQOL (Quality of Life) スコアが向上したと述べている²⁵⁾。

移植後およそ6～12週時にあたる移行期では荷重量・エクササイズ強度も増加させていく時期ではあるが、まだ移植軟骨はスポンジ様で強度は弱い²²⁾ため過度なストレスでの移植軟骨の損傷等には注意が必要である。

移植後およそ12～26週時にあたるリモデリング期では組織再構成は進み、強度も強くなってきている²²⁾。さらなるコラーゲンやプロテオグリカンの合成に伴う軟骨強度の向上や周囲組織との親和を促すため、運動強度を徐々に増やして刺激を与えることが求められる。

移植後およそ6か月以降の成熟期ではリモデリング期と同様に徐々に運動強度を上げていき、スポーツ動作などのアクティビティを始めていく。ただし、移植患者の12ヶ月以内のスポーツ復帰が2年後の臨床機能を悪くすることが報告されており⁷⁾、組織の成熟には長期間要することが考えられるため、安易なアクティビティレベルの増加には注意が必要である。これらの成熟時期は欠損の大きさや深さ、部位などによって異なるので、個々人に合わせたプログラムが必要になるだろう。

ここまで移植軟骨の成熟を考慮したリハビリについて述べてきたが、移植後の軟骨MRI評価と臨床機能やスポーツアクティビティとの間に関連はないこと^{6) 28)}が報告されており、個々人にあった筋力トレーニングやADL訓練、アスレチックトレーニング等をしていくことは重要である。

・MSCs関節内注射後のリハビリテーション

現在ではOAや軟骨欠損に対するMSCs関節内注射を行っている施設が散見されるが、我々が渉猟する限りMSCs関節内注射後のリハビリテーションに関する臨床報告は限られる。MSCsは適度なメカニカルストレスを与えられることにより軟骨細胞への分化や軟骨器質の合成が促進されるため²⁹⁾、移植後の生着したMSCsに圧迫や摩擦などのメカニカルストレスを与えることは相乗効果をもたらす可能性がある。骨軟骨欠損を作成したラットにMSCs関節内注射を施した後、トレッドミル運動を実施した実験では欠損部の早期軟骨回復を認めたことが報告されている³⁰⁾。適切な運動の種類や強度、時期などはまだ不明確であるが、一定

の効果が期待できる。

またMSCsに対する超音波照射の効果は多く調査されており、軟骨細胞への分化促進やMSCsの生存率向上が報告されている³¹⁻³³⁾。骨軟骨欠損モデルラットを用いた実験では軟骨下骨の修復が促進された³⁴⁾としている。超音波は有害事象が少ない介入法であり、臨床でも積極的に実施可能である。

MSCs移植による損傷軟骨の治癒過程は不明確であるため、的確なりハビリテーションプログラムを考案することは困難である。今後の研究進捗が待たれる。

4. 結語

関節軟骨損傷に対する細胞治療として、ACIとMSCs関節内注射が広く実施されている。特にACIはこれまで多くの研究がなされ、日本においても2013年から保険診療下で施行されている。そして、それら細胞移植後にはリハビリテーションが行われ、治療効果の最大化が図られている。しかし、移植後のリハビリテーション効果検証はあまり行われておらず、いつ、どのようなリハビリテーションを施すことが最適であるかは明らかでない点が多い。今後、軟骨損傷に対する再生治療発展のためには細胞治療技術の向上のみならず、リハビリテーションプロトコルの確立や新しいリハビリテーション開発が必要であると考ええる。

文 献

- 1) Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Mabuchi A, En-Yo Y, Yoshida M, Saika A, Yoshida H, Suzuki T, Yamamoto S, Ishibashi H, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T: Prevalence of knee osteoarthritis, lumbar spondylosis, and osteoporosis in Japanese men and women: The research on osteoarthritis/osteoporosis against disability study. *J Bone Miner Metab* 27: 620-628, 2009
- 2) Nixon AJ, Sparks HD, Begum L, McDonough S, Scimeca MS, Moran N, Matthews GL: Matrix-Induced autologous chondrocyte implantation (MACI) using a cell-seeded collagen membrane improves cartilage healing in the equine model. *J Bone Jt Surg - Am Vol* 99: 1987-1998, 2017
- 3) Bartlett W: Autologous chondrocyte implantation versus matrix-induced autologous chondrocyte implantation for osteochondral defects of the knee: A PROSPECTIVE, RANDOMISED STUDY. *J Bone Jt Surg - Br Vol* 87-B: 640-645, 2005
- 4) Cvetanovich GL, Riboh JC, Tilton AK, Cole BJ: Autologous Chondrocyte Implantation Improves Knee-Specific Functional Outcomes and Health-Related Quality of Life in Adolescent Patients. *Am J Sports Med* 45: 70-76, 2017
- 5) Niemeyer P, Porichis S, Steinwachs M, Erggelet C, Kreuz PC, Schmal H, Uhl M, Ghanem N, Südkamp NP, Salzmänn G: Long-term outcomes after first-generation autologous chondrocyte implantation for cartilage defects of the knee. *Am J Sports Med* 42: 150-157, 2014
- 6) Erdle B, Herrmann S, Porichis S, Uhl M, Ghanem N, Schmal H, Südkamp N, Niemeyer P, Salzmänn GM: Sporting Activity Is Reduced 11 Years after First-Generation Autologous Chondrocyte Implantation in the Knee Joint. *Am J Sports Med* 45: 2762-2773, 2017
- 7) Niethammer TR, Müller PE, Safi E, Ficklscherer A, Roßbach BP, Jansson V, Pietschmann MF: Early resumption of physical activities leads to inferior clinical outcomes after matrix-based autologous chondrocyte implantation in the knee. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc* 22: 1345-1352, 2014
- 8) Minas T, Gomoll AH, Solhpour S, Rosenberger R, Probst C, Bryant T: Autologous chondrocyte implantation for joint preservation in patients with early osteoarthritis. In: *Clinical Orthopaedics and Related Research* 468: 147-157, 2010
- 9) Nawaz SZ, Bentley G, Briggs TWR, Carrington RWJ, Skinner JA, Gallagher KR, Dhinsa BS: Autologous chondrocyte implantation in the knee: Mid-term to long-term results. *J Bone Jt Surg - Am Vol* 96: 824-830, 2014
- 10) Filardo G, Vannini F, Marcacci M, Andriolo L, Ferruzzi A, Giannini S, Kon E: Matrix-assisted autologous chondrocyte transplantation for cartilage regeneration in osteoarthritic knees: Results and failures at midterm follow-up. *Am J Sports Med* 41: 95-100, 2013
- 11) McGonagle D, Baboolal TG, Jones E: Native joint-resident mesenchymal stem cells for cartilage repair in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 13: 719-730, 2017
- 12) Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, Granero-

- Moltó F, Nuñez-Córdoba JM, Sánchez-Echenique C, Bondía JM, Aquerreta JD, Andreu EJ, Ornilla E, Villarón EM, Valentí-Azcárate A, Sánchez-Guijo F, Cañizo MC, Valentí-Nin JR, Prósper F: Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: Multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *J Transl Med* 14: 1–5, 2016
- 13) Jo C, Lee Y, SHIN W: Intra-Articular Injection of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Proof-of-Concept Clinical Trial. *Stem Cells* 32: 1254–1266, 2014
 - 14) Jayaram P, Ikepeama U, Rothenberg JB, Malanga GA: Bone Marrow Derived and Adipose Derived Mesenchymal Stem Cell Therapy in Primary Knee Osteoarthritis: A Narrative Review. *PM R*, 2018
 - 15) Xing D, Kwong J, Yang Z, Hou Y, Zhang W, Ma B, Lin J: Intra-articular injection of mesenchymal stem cells in treating knee osteoarthritis: a systematic review of animal studies. *Osteoarthr Cartil* 26: 445–461, 2018
 - 16) Martin JA, Brown TD, Heiner AD, Buckwalter JA: Chondrocyte senescence, joint loading and osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res*: 96–103, 2004
 - 17) Jeon OH, Kim C, Laberge RM, Demaria M, Rathod S, Vasserot AP, Chung JW, Kim DH, Poon Y, David N, Baker DJ, Van Deursen JM, Campisi J, Elisseff JH: Local clearance of senescent cells attenuates the development of post-traumatic osteoarthritis and creates a pro-regenerative environment. *Nat Med* 23: 775–781, 2017
 - 18) Hamamura K, Zhang P, Zhao L, Shim JW, Chen A, Dodge TR, Wan Q, Shih H, Na S, Lin CC, Sun H Bin, Yokota H: Knee loading reduces MMP13 activity in the mouse cartilage. *BMC Musculoskelet Disord* 14: 312, 2013
 - 19) Iijima H, Ito A, Nagai M, Tajino J, Yamaguchi S, Kiyama W, Nakahata A, Zhang J, Wang T, Aoyama T, Nishitani K, Kuroki H: Physiological exercise loading suppresses post-traumatic osteoarthritis progression via an increase in bone morphogenetic proteins expression in an experimental rat knee model. *Osteoarthr Cartil* 25: 964–975, 2017
 - 20) Rojas-Ortega M, Cruz R, Vega-López MA, Cabrera-González M, Hernández-Hernández JM, Lavalle-Montalvo C, Kouri JB: Exercise modulates the expression of IL-1 β and IL-10 in the articular cartilage of normal and osteoarthritis-induced rats. *Pathol Res Pract* 211: 435–443, 2015
 - 21) Cifuentes DJ, Rocha LG, Silva LA, Brito AC, Rueff-Barroso CR, Porto LC, Pinho RA: Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. *Osteoarthr Cartil* 18: 1088–1095, 2010
 - 22) Reinold MM, Wilk KE, Macrina LC, Dugas JR, Cain EL: Current Concepts in the Rehabilitation Following Articular Cartilage Repair Procedures in the Knee. *J Orthop Sport Phys Ther* 36: 774–794, 2006
 - 23) Edwards PK, Ackland T, Ebert JR: Clinical Rehabilitation Guidelines for Matrix-Induced Autologous Chondrocyte Implantation on the Tibiofemoral Joint. *J Orthop Sport Phys Ther* 44: 102–119, 2014
 - 24) Ebert JR, Robertson WB, Lloyd DG, Zheng MH, Wood DJ, Ackland T: Traditional vs accelerated approaches to post-operative rehabilitation following matrix-induced autologous chondrocyte implantation (MACI): comparison of clinical, biomechanical and radiographic outcomes. *Osteoarthr Cartil* 16: 1131–1140, 2008
 - 25) Edwards PK, Ackland TR, Ebert JR: Accelerated weightbearing rehabilitation after matrix-induced autologous chondrocyte implantation in the tibiofemoral joint: Early clinical and radiological outcomes. *Am J Sports Med* 41: 2314–2324, 2013
 - 26) Wondrasch B, Risberg MA, Zak L, Marlovits S, Aldrian S: Effect of accelerated weightbearing after matrix-associated autologous chondrocyte implantation on the femoral condyle: A prospective, randomized controlled study presenting MRI-based and clinical outcomes after 5 years. *Am J Sports Med* 43: 146–153, 2015
 - 27) Kraeutler MJ, Belk JW, Carver TJ, McCarty EC: Is Delayed Weightbearing After Matrix-Associated Autologous Chondrocyte Implantation in the Knee Associated With Better Outcomes? A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Orthop J Sports Med* 6: 1–10, 2018
 - 28) Salzmänn GM, Erdle B, Porichis S, Uhl M, Ghanem

- N, Schmal H, Kubosch D, Südkamp NP, Niemeyer P: Long-term T2 and qualitative MRI morphology after first-generation knee autologous chondrocyte implantation: Cartilage ultrastructure is not correlated to clinical or qualitative MRI outcome. *Am J Sports Med* 42: 1832–1840, 2014
- 29) Park S-H, Sim WY, Park SW, Yang SS, Choi BH, Park SR, Park K, Min B-H: An Electromagnetic Compressive Force by Cell Exciter Stimulates Chondrogenic Differentiation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Eng* 12: 3107–3117, 2006
- 30) Yamaguchi S, Aoyama T, Ito A, Nagai M, Iijima H, Tajino J, Zhang X, Kiyon W, Kuroki H: The effect of exercise on the early stages of mesenchymal stromal cell-induced cartilage repair in a rat osteochondral defect model. *PLoS One* 11: e0151580, 2016
- 31) Ebisawa K, Hata K, Okada K, Kimata K, Ueda M, Torii S, Watanabe H: Ultrasound Enhances Transforming Growth Factor β -Mediated Chondrocyte Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Eng* 10: 921–929, 2004
- 32) Choi JW, Choi BH, Park SH, Pai KS, Li TZ, Min BH, Park SR: Mechanical stimulation by ultrasound enhances chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells in a fibrin-hyaluronic acid hydrogel. *Artif Organs* 37: 648–655, 2013
- 33) Lee HJ, Choi BH, Min B-H, Park SR: Low-Intensity Ultrasound Inhibits Apoptosis and Enhances Viability of Human Mesenchymal Stem Cells in Three-Dimensional Alginate Culture During Chondrogenic Differentiation. *Tissue Eng* 13: 1049–1057, 2007
- 34) Yamaguchi S, Aoyama T, Ito A, Nagai M, Iijima H, Tajino J, Zhang X, Wataru K, Kuroki H: Effect of Low-Intensity Pulsed Ultrasound after Mesenchymal Stromal Cell Injection to Treat Osteochondral Defects: An In Vivo Study. *Ultrasound Med Biol* 42: 2903–2913, 2016

総 説 「特集：再生医療とリハビリテーション」

中枢神経疾患における細胞移植とリハビリテーション

下川 能史¹⁾, 取越 貞治¹⁾, 高橋 淳¹⁾

Cell transplantation and rehabilitation for central nervous system diseases

Takafumi Shimogawa¹⁾, Sadaharu Torikoshi¹⁾, Jun Takahashi¹⁾

Abstract

Damage to the central nervous system leads to motor dysfunction and a loss of coordination, often resulting in long-lasting nursing care. Current therapeutic options include surgery, drug administration and rehabilitation as a physical therapy for central nervous system diseases, but their effects are limited, and an alternative option, such as a cell-based therapy, is desired. Previous studies suggest that cell transplantation can improve the motor dysfunction that follows central nervous system diseases such as stroke, traumatic brain injury and Parkinson's disease. The cell survival and neuronal formation, however, are not sufficient for substantial behavioral recovery, suggesting that an additional treatment is needed. It has been shown that rehabilitation for brain damage reduces the impairment of motor function and promotes compensatory functional recovery. The therapeutic effect of a combined therapy of cell transplantation and rehabilitation is an expected novel therapeutic strategy for central nervous system diseases because rehabilitation has positive effects on grafted cells. Here, we review studies about cell transplantation, rehabilitation and their combination in animal models of stroke, traumatic brain injury and Parkinson's disease.

Key words: Cell transplantation, Rehabilitation, Stroke, Traumatic brain injury, Parkinson's disease

はじめに

本邦における要介護の原因疾患として、脳卒中が第一位の22%、パーキンソン病が第7位の3%を占める¹⁾。その他にも外傷性脳損傷や先天性脳疾患を含めると、中枢神経疾患に起因する運動機能障害によって、多くの患者が介護を要する現状にあり、その数は増加

傾向にある。中枢神経疾患による運動機能障害に対する治療として、現状では急性期・慢性期を含めて、リハビリテーション治療、薬物治療、機能的手術が三本柱である。近年、新たな治療として、失われた神経回路を再構築でき、より根治的であるという観点から神経細胞移植が注目されている。さらに神経細胞移植治療にリハビリテーションを併用することで、治療効果をより高める可能性を期待されている^{2) 3) 4) 5) 6) 7) 8)}。本稿では、脳卒中および外傷性脳損傷（以下、脳損傷）に対するリハビリテーション併用細胞移植治療と、パーキンソン病に対するリハビリテーション併用細胞移植治療のこれまでの進歩と今後の展開について述べる。

1) 京都大学 iPS 細胞研究所

Department of Clinical Application, Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University

投稿責任者：下川能史

連絡先：〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町53

京都大学iPS細胞研究所

E-mail: shimogawat@cira.kyoto-u.ac.jp

脳損傷に対するリハビリテーション併用細胞移植治療

1. 脳損傷に対するリハビリテーション治療

脳損傷時には、しばしば皮質脊髄路が障害され、四肢の運動麻痺が現れる。実臨床の場において、脳損傷後の運動麻痺に対する治療の中心はリハビリテーション治療である。基礎研究において、リハビリテーションによる運動麻痺の回復機序を示す多くの報告がある。脳梗塞後のトレッドミルトレーニングや、Enriched environment（広い空間での飼育で、様々な玩具で満たされている“豊かな環境”は自発的運動を促すため、運動療法のひとつとされる）は海馬や大脳皮質において神経栄養因子（脳由来神経栄養因子：BDNF、神経成長因子：NGF、インスリン様成長因子：IGF-1等）を促進する^{9) 10)}。脳梗塞後のEnriched environmentやリーチング訓練は、大脳皮質第V層における樹状細胞の数や長さを増強し、また、大脳皮質におけるSynapsin-IやPSD95の発現を増加し、シナプス可塑性を強化する^{11) 12)}。脳梗塞後のホイール強制歩行は、脳室下帯や海馬顆粒細胞下帯における神経新生を促進する¹³⁾。脳出血後の麻痺肢集中使用は、脳機能の再組織化や、代償性神経回路の発現を強化する^{14) 15)}。脳損傷後のリハビリテーション効果としてのこれら①神経栄養因子の促進、②シナプス可塑性の強化、③内因性神経新生の誘導、④脳機能の再組織化、⑤代償性神経回路の発現、が相互に作用し合うことで運動機能回復を得られると考えられている。しかし、一般にリハビリテーションによってある程度の運動機能の回復は見せるものの、リハビリテーション介入のみで、病前と同等までに回復することは少ない¹⁶⁾。

2. 脳損傷に対する細胞移植治療

脳損傷に対する新たな治療として、細胞治療が期待されている。1990年代より、脳損傷に対する細胞治療研究が急速に進んできた。脳梗塞に対する最初の細胞移植治療の臨床試験は、1998年にピッツバーグ大学で行われた奇形腫由来の神経幹細胞様細胞移植であり、慢性期脳梗塞患者を対象に脳梗塞部位への局所細胞移植がおこなわれた。1999年にはハーバード大学にて胎児ブタ由来神経幹細胞移植が行われ、慢性期脳梗塞患者の基底核に局所細胞移植が行われた。いずれの試験でも治療効果は明らかではなかった¹⁷⁾。以後も基礎研究や臨床試験が進み、現在では、①脳損傷後急性期の免疫制御を目的にした経静脈的間葉系幹細胞移植¹⁸⁾、②脳損傷後の亜急性期の血管再生を目的とした経静脈的自己骨髄単核球細胞移植¹⁹⁾、③慢性期の神経栄養因

子などの補充を目的にした、経静脈的ヒト間葉系幹細胞移植²⁰⁾、ヒト間葉系幹細胞の脳局所移植²¹⁾、神経幹細胞様細胞の脳局所細胞移植²²⁾、ヒト中絶胎児神経幹細胞の脳局所細胞移植²³⁾、等の臨床試験および治験が行われており、有望な結果が報告されている。本邦においても、脳卒中に加えて外傷性脳損傷に対する脳局所細胞移植の治験も予定されている。

脳損傷に対する細胞移植治療は、主に脳局所細胞移植治療と経血管的細胞移植治療に分けられる^{24) 25)}。さらに、移植細胞として、主に間葉系幹細胞移植、神経幹細胞移植、大脳皮質神経細胞移植に分けられる^{24) 25)}。間葉系幹細胞や神経幹細胞の脳局所細胞移植治療や経血管的細胞移植治療は、栄養効果を主眼に置いている。栄養効果とは、移植細胞がもたらす液性因子（BDNF、NGF、IGF-1、グリア細胞由来神経栄養因子：GDNF、血管内皮細胞成長因子：VEGF等）による効果であり、これら因子は軸索伸張作用やシナプス新生能、神経細胞保護作用、炎症反応制御作用を有し、神経可塑性の誘導や脳虚血後の血管新生などの周囲脳環境の回復を促す²⁶⁾。一方で、大脳皮質神経細胞の脳局所細胞移植治療は、これら栄養効果に加えて、移植細胞が宿主に生着し、さらにシナプス形成や神経回路の再構築を通じて宿主の神経系に統合されることを期待した治療である^{24) 25) 27)}。大脳皮質神経細胞の脳局所細胞移植治療により、失われた神経回路の再構築を行うことで、運動機能改善が得られると報告されている。2013年にShinoyamaらは、マウス胚性幹細胞（embryonic stem cells：ES細胞）由来の大脳皮質神経細胞を新生児マウス脳虚血モデルの大脳皮質に移植し、内包レベルまで移植片由来神経細胞伸展が得られ、移植後3週に運動機能が改善したことを報告した²⁸⁾。2013年にTorneraらは、ヒト人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cells：iPS細胞）由来の大脳皮質神経細胞を成獣ラット脳梗塞モデルの大脳皮質に移植し、線条体レベルまで移植片由来神経細胞伸展が得られ、移植後8週に運動機能が改善したことを報告した²⁹⁾。これら報告における運動機能の改善は、皮質脊髄路の再構築が部分的であることから、移植細胞による効果よりも栄養効果が大きく作用しているものと考えられている²⁹⁾。2017年にPéronらは、マウス胎児大脳皮質神経組織を成獣マウス脳損傷モデルの大脳皮質に移植し、上位脊髄レベルまで移植片由来神経細胞伸展が得られ、移植後12週に運動機能が改善したことを報告した³⁰⁾。これは、大脳皮質神経細胞の脳局所細胞移植治療により失われた皮質脊髄路の再構築を脊髄レベルまで行うことで運動機能改善を得た初めての報

告であり、移植細胞による神経回路の再構築は運動機能改善に寄与することを示唆している。

3. 脳損傷に対するリハビリテーション併用細胞移植治療

細胞移植治療、リハビリテーション治療の各々の治療効果をさらに高める可能性として、脳損傷に対する細胞移植とリハビリテーションの併用治療が期待されている。しかしながら、その報告は非常に少なく、脳局所細胞移植とリハビリテーションの併用療法として4報、経静脈的細胞移植とリハビリテーションの併用療法としては3報が報告されている (Table)。初めての併用療法の報告は、2007年にHicksらによるもので、成獣ラット脳梗塞モデル作成1週間後にマウス神経幹細胞を傍脳梗塞大脳皮質に移植し、1週間のEnriched environment後に、併用療法群で優位に運動機能が改善した²⁾。運動機能回復機序として、リハビリテーションによる移植細胞の分化促進、移植細胞の遊走促進、内因性神経細胞新生の促進を考察している。その他の報告においても、併用療法群において優位に運動機能は改善しており、運動機能回復機序として、内因性神経細胞新生の促進、移植細胞の分化促進、

血管新生の促進、神経栄養因子発現の促進、アポトーシスの抑制、シナプス可塑性の強化が挙げられている^{2) 3) 4) 5) 6) 7) 8)}。細胞移植とリハビリテーションの併用治療は運動機能改善に有効である可能性が示唆されているが、今後の課題として、疾患別に適切な移植細胞の選択 (神経幹細胞、間葉系幹細胞、大脳皮質神経細胞)、移植方法の選択 (脳局所細胞移植、経血管的細胞移植、移植時期)、移植に伴う免疫抑制の影響、リハビリテーションの選択 (方法、負荷、タイミング、期間) の検討を行い、より効果的な条件を探索する必要がある。

4. 脳損傷における細胞移植とリハビリテーションの今後の展開

脳損傷に対して、細胞移植とリハビリテーションの併用治療は運動機能改善に有効である可能性が期待される。有用性が示されている移植細胞、移植方法は現状では様々であるが、その中でも大脳皮質神経細胞の脳局所細胞移植治療は、細胞移植による栄養効果に加えて、移植細胞による神経回路の再構築を通じて運動機能改善を得られることから、我々は脳損傷に対する根治的治療として、大脳皮質神経細胞の脳局所細胞移

Table 1. Combined cell transplantation and rehabilitation for brain damage

Author	Publication, year	Model, Animal	Grafted cell	Cell transplantation method	Rehabilitation	Period from onset to cell transplantation	Rehabilitation period	Motor function	Recovery mechanism
Hicks et al.	<i>Neuroscience</i> , 2007	Infarction, Adult rat	Mouse Neural stem cell	Local cell transplantation	Enriched environment	1 week	1 week	Recovery	Cellular differentiation, Cellular migration, Endogenous neurogenesis
Lee et al.	<i>Childs Nerv Syst.</i> , 2013	Traumatic brain injury, Adult rat	Human Neural stem cell	Local cell transplantation	Wheel running	1 week	8 week	Recovery	Endogenous neurogenesis
Seo et al.	<i>Cell transplantation.</i> , 2013	Infarction, Adult mouse	Human Mesenchymal stem cell	Local cell transplantation	Enriched environment	5 week	8 week	Recovery	Cellular differentiation
Cho et al.	<i>Int J Mol Sci.</i> , 2016	Infarction, Adult mouse	Human Mesenchymal stem cell	Local cell transplantation	Enriched environment	5 week	8 week	Recovery	Angiogenesis
Imura et al.	<i>Neurosci lett.</i> , 2013	Traumatic brain injury, Adult mouse	Mouse Neural stem cell	Transvenous cell transplantation	Treadmill training	1 week	7 week	Recovery	Cellular differentiation, Neurotrophic factor
Zhang et al.	<i>BMC Neurosci.</i> , 2015	Infarction, Adult rat	Rat Mesenchymal stem cell	Transvenous cell transplantation	Treadmill training	1 day	2 week	Recovery	Anti apoptosis
Sasaki et al.	<i>Physical Therapy.</i> , 2016	Infarction, Adult rat	Rat Mesenchymal stem cell	Transvenous cell transplantation	Treadmill training	6 hours	8 week	Recovery	Synaptic plasticity

植とリハビリテーションの併用治療に特に期待している。将来的に、ES/iPS細胞由来の脳皮質神経細胞を用いた併用療法は、脳損傷に対する有用な治療選択となり得るのではないかと考える。また、細胞移植とリハビリテーションに、運動機能回復に寄与する可能性のある薬剤をさらに併用する治療も新たな治療戦略として期待できる。

パーキンソン病に対するリハビリテーション併用細胞移植治療

1. パーキンソン病の病態と疫学、主な症状、診断基準、一般的治療

パーキンソン病は原因不明の神経変性疾患であり、中脳黒質緻密部に存在するドーパミンニューロンが変性脱落し、その軸索終末が主に分布する線条体においてドーパミンが枯渇することによって引き起こされる³¹⁾。アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン舞踏病など複数の疾患が神経変性疾患に属するが、その中でパーキンソン病はアルツハイマー病について2番目に多い疾患であり、罹患率は14-19人/100000人・年、有病率は100-300人/100000人と推定されており³²⁾、高齢化に伴い2030年には罹患数は倍増することが予想されている³³⁾。

パーキンソン病を確実に診断出来る検査方法は現時点で確立していないため、臨床診断は専ら症状に基づいて行われている。2015年に提唱された新たな診断基準International Parkinson and Movement Disorder Society (MDS) では、まずパーキンソニズムとして運動緩慢がみられることが必須であり、それに加えて静止時振戦か筋強剛のどちらか一方または両方がみられるものと定義されている³⁴⁾。

パーキンソン病に対する治療はL-DOPAを中心とした薬物療法が最も一般的であるが、deep brain stimulation (DBS) や運動療法を中心としたリハビリテーションも有効な治療法として認識されている。また、後述するが、1980年代後半から胎児中脳黒質を使用した細胞移植治療も試験的に実施されており、一定の効果が認められている。しかし、これらの治療はいずれもパーキンソン病を治癒に導くものではなく、症状の軽減、QOLの改善を目指すものであり、これら治療の組み合わせによって効果を持続させることが重要である。

2. パーキンソン病に対する運動療法について、動物実験と実臨床の観点から

パーキンソン病に対する運動療法の効果を検討した動物実験レベルの報告は複数ある^{35) 36) 37)}。用いられるパーキンソン病モデル動物としては、神経毒である1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) を腹腔内投与して作成されたマウスと6-hydroxydopamine (6-OHDA) を脳内投与して作成されたラットが一般的である^{37) 38)}。投与された神経毒がドーパミントランスポーター (DAT) を介して細胞内に取り込まれミトコンドリア損傷が誘導されドーパミンニューロンが死滅する。その結果、線条体で分泌されるドーパミンが減少し症状を呈する。行動評価としては薬剤誘発性回転運動や感覚運動機能評価が可能なcorridor testなどが行われている³⁹⁾。これらモデル動物に行われる運動療法としては、トレッドミルを使用したランニング運動や、患側上肢を強制的に使用させるconstraint-induced movement therapy、さらにはスイミング療法などが挙げられる¹⁶⁾。

これまでの報告をまとめたPetzingerらのレビューによれば、運動療法がモデル動物に及ぼす影響としてneuroprotectionとneuro-restorationという2つの作用がある⁴⁰⁾。

Neuroprotectionは主に運動療法により誘導される、BDNFやGDNFなどのneurotrophic factorsが作用し、神経毒で誘発される細胞ダメージを軽減しドーパミンニューロンの死滅を防ぐ、細胞保護作用と考えられている。さらに、運動療法は細胞内に神経毒を取り込む際にその運び手となるDATを低下させる作用が報告されており、neuroprotectionの作用機序としてneurotrophic factorの上昇以外に、運動療法によるDAT低下によって細胞内への神経毒取り込み自体が減少し細胞ダメージが軽減されている可能性もあるとされている。いずれにせよ、運動療法による細胞保護作用が働くためには、神経毒投与後、細胞死が完成する前に、比較的速やかな運動療法開始が必要である。これまでの報告の多くは神経毒投与後24時間以内の運動療法開始が必要であり、その場合、中脳黒質のドーパミンニューロンの増加、線条体におけるドーパミンニューロン軸索終末の増加、症状の改善が得られるとされている。

Neuroprotectionに対して、neuro-restorationは運動療法が、パーキンソン病の病態を引き起こす神経回路異常を是正する作用と考えられる。モデル動物に対する運動療法が引き起こすneuro-chemicalな変化には以下のようなものが挙げられる。線条体におけるドーパミン放出増加、DAT低下、その結果、シナプス間隙でのドーパミン濃度の上昇が見られる。また、神経

毒投与後、通常では線条体におけるMedium spiny neuronに発現するドーパミンD2受容体は低下するが、運動療法によりその低下が抑制される。その他、運動療法により線条体におけるグルタミン酸受容体の発現増加や、グルタミン酸作動性神経終末におけるグルタミン酸の貯蔵や放出に変化が見られると報告されている。パーキンソン病の病態では基底核神経回路における間接回路が優位になり過興奮の状態となって、動作緩慢などの症状を呈することになる。運動療法によるneuro-chemicalな変化はこの基底核神経回路異常を是正させるように働く変化であり、この作用がneuro-restorationと考えられている。

これまでのパーキンソン病モデル動物を使用した運動療法の検討から、運動療法はneuroprotectionやneuro-restorationといった作用を誘導し、ドーパミンニューロンを保護し、基底核神経回路異常を是正することが可能と言えるかもしれない。

一方、実臨床におけるパーキンソン病に対する運動療法は、複数のエビデンスからその有効性が認められており、臨床現場で積極的に取り入れられている^{41) 42)}。Tomlinsonらは39のランダム化比較試験から1827例の被験者を対象とした運動療法の効果について報告している。運動療法を行った群では、行わない群に比較して歩行速度が速く、2分間及び6分間歩行検査の歩行距離が長く、Timed Up & Goテストで移動・バランスの改善、バランステストでの改善、Unified Parkinson's Disease Rating scale (UPDRS)の改善などが報告されている⁴³⁾。また、最近の報告ではBloemらが運動療法による運動機能と認知機能の改善を示している⁴⁴⁾。Frazzittaらは運動療法による血中BDNFの上昇と運動機能改善について報告している。早期PD患者15人を有酸素運動を28日間行うグループ、10人を行わないグループに分類し、血中BDNF濃度、UPDRSを評価した。結果、有酸素運動を行ったグループで有意に血中BDNF濃度が上昇しUPDRSも改善を認めたと報告している。この結果は、動物実験におけるneuroprotectionが患者にも同様に働いている可能性を示唆したものであり、実臨床と動物実験を繋ぐ重要な報告である⁴⁵⁾。

このようにパーキンソン病に対する運動療法には多くのエビデンスがあり、「パーキンソン病診療ガイドライン2018」⁴⁷⁾にも、「薬物療法や手術療法と共に運動療法を行うことで運動症状の改善が得られ、有用である」と記載されている。また、注意点として「運動療法は患者本人が主体となっていく治療であり、介入方法の選択は、患者が楽しくできるか、継続性はどう

か、患者本人にモチベーションがあるか、提供できる環境にあるかなど、患者個人の状況あるいは介護者の有無を含めた環境の問題が大きく影響してくる」としている。パーキンソン病に対する実臨床での運動療法はエビデンスが確立された治療方法の一つであり、患者主体でその状況や環境に配慮して積極的に行われるべきものである。

3. パーキンソン病に対する細胞移植治療

パーキンソン病に対する標準治療はL-DOPAを中心とした薬物療法である。ドーパミンの前駆物質であるL-DOPAはドーパミンニューロンに取り込まれてドーパミンに変換されその効果を発揮する。特に発症初期においては効果があり運動症状を改善させるが、長期使用となった場合、効果持続時間の短縮や血中濃度の変化により症状が変動するwearing-off、突然症状が悪化するon-off現象、またジスキネジアなどの運動合併症が出現する。病態が進行しドーパミンニューロンが減少し続けると、L-DOPAを取り込むドーパミンニューロンそのものが消失することになりL-DOPAの効果が消失することになる(Lewitt, 2008)。すなわち、パーキンソン病に対する薬物治療には限界があり、それを補う治療の一つとして細胞移植治療が模索されてきた。細胞移植治療はドーパミンニューロンそのものを移植し不足したドーパミンを補うものであり、1980年代からマウスやラットなど齧歯類を用いた移植実験が開始された。1987年に初めてスウェーデンでパーキンソン病患者に対して胎児中脳細胞移植が行われた⁴⁸⁾。その後、複数のオープンラベルの試験が報告され、おしなべて良好な成績であった。その結果を受け、2つのランダム化二重盲検プラセボ対照比較試験が行われた^{49) 50)}。しかし、これら2つのランダム化比較試験では移植群全体ではプラセボ群と比較して有意な運動症状改善が得られなかった。これについては以下のような考察がなされている⁴⁷⁾。L-DOPAへの反応が低下した重症例が含まれており、そもそもこのような症例は移植に適さないと考えられた。また、移植された細胞が成熟し効果を発揮するにはある程度の時間が必要と予想され、移植後の経過観察期間が1年と短く効果判定には不十分であった。移植後の免疫抑制剤について、その使用の有無を含め適切には使用されていなかったことも問題であり、少なくとも1年以上の免疫抑制が必要であると考えられている。また、移植細胞の生着も重要な要素であり、移植細胞数が少なかった症例では症状改善が得られていなかった。これらの考察を踏まえて、2010年に新たな胎児細胞移植試験である

TRANSEUROが開始されている⁵¹⁾。また、近年、胎児移植の長期成績が報告され、移植後18年と20年経過した2症例ともL-DOPAを服用せず自立した生活を送り、PET検査で細胞が生着し機能していることが確認されている⁵²⁾。胎児中脳細胞移植は2つのランダム化比較試験では有意な結果が得られなかったが、少なくとも、慎重に適応を選び、適切な移植が行われれば、一定の効果が期待出来ると考えられている。しかし、胎児中脳細胞移植はドナー細胞の不足が大きな問題であり、一般的な治療にはなっていない。そこで近年は、ES細胞やiPS細胞など多能性幹細胞を利用した細胞移植治療が模索されており、マウスやラットなど齧歯類やサルなど霊長類でその効果が示されている^{53) 54) 55)}。

4. パーキンソン病に対する細胞移植治療と運動療法の併用について期待出来ること

神経変性疾患に限らず、中枢神経疾患に対する細胞移植治療と運動療法を組み合わせた報告は少ない。事実、パーキンソン病に対する細胞移植治療と運動療法を併用しその効果を検討した報告は、我々が論文渉猟し得た範囲では、認められなかった⁵⁶⁾。Dobrossyらは同じ神経変性疾患であるハンチントン舞踏病モデル動物に対して胎児細胞移植を行い、移植後の環境や運動療法による効果を報告している。線条体の一部を神経毒で破壊したハンチントン舞踏病モデルラットに対して、ラット胎生15日目の大脳基底核原基を移植し、移植後enrichな環境 (Environmental enrichment) に置く群と、通常環境に置く群に分けて観察している。Enrichな環境に置かれたラットは通常環境に置かれたラットに比較し、行動評価では有意な改善は認めなかったが、BDNFの上昇、移植片に発現するdendritic spineの増加、さらに移植片体積の増加が見られた⁵⁷⁾。Dobrossyらの報告からは、environmental enrichmentが移植細胞の生着率を改善し、シナプス活動が活発になった可能性が示され、その作用機序としてはneurotrophic factor上昇が関与している可能性がある。Hwangらは中枢神経疾患の一つである脊髄損傷モデル動物に対する細胞移植治療に運動療法を併用した場合の効果を検討しているが、運動療法を行うことで細胞生着率の改善や神経分化の促進、さらに軸索伸長の増進などが得られたと報告している⁵⁸⁾。

パーキンソン病に対する細胞移植治療で大きな問題となるのが、細胞生着率の低さである。動物実験や、胎児組織を用いた臨床応用についてのこれまでの報告では細胞生着率は3-20%程度であり、十分な行動改善や臨床的な回復を得るためにはドーパミンニューロ

ンの生着率改善が鍵とも言われている⁵⁹⁾。DobrossyやHwangらの報告からは、移植後の環境に配慮することや、運動療法を積極的に行うことで細胞生着率が改善する可能性がある。さらに、パーキンソン病においては移植片からの軸索伸長も症状改善に重要な要素であり、運動療法により軸索伸長の増進も期待できる可能性がある。

パーキンソン病に対する細胞移植治療は、多能性幹細胞を利用した臨床応用の段階に入っており、細胞移植後運動療法を併用する可能性は非常に高いものと推測される。現時点では動物実験レベルではその効果や影響は確認されていないが、パーキンソン病以外の疾患モデルに対する報告からは、おそらく有益な効果が期待出来るはずである。当面の課題は、動物実験レベルにおいてパーキンソン病に対する細胞移植治療に運動療法を併用した場合の効果を検討し、どのような運動が適切か、また、どの程度の運動量が適切かなどを確かめていくことである。

おわりに

ヒトiPS細胞の樹立から10年が経過し、モデル動物を用いた細胞移植治療の基礎研究の段階から、臨床応用のステージに入りつつある。中枢神経疾患に対する細胞移植治療の第一歩として、我々は、2018年8月1日にiPS細胞由来ドーパミン神経前駆細胞を用いたパーキンソン病治療に関する医師主導試験を開始し、その有効性・安全性の検証を行う予定である。本稿で示したように、細胞移植治療の臨床応用の現場において、その最大の効果を引き出すためにはリハビリテーションとの併用は不可欠と考えている。将来的には、国民病である脳卒中に対するリハビリテーション併用細胞治療に大いに期待し、現在基礎研究をすすめている。

文 献

- 1) 厚生労働省:平成22年 国民生活基礎調査の概況。
- 2) Hicks AU, Hewlett K, Windle V, Chernenko G, Ploughman M, Jolkonen J, Weiss S, Corbett D: Enriched environment enhances transplanted subventricular zone stem cell migration and functional recovery after stroke. *Neuroscience*. 146: 31-40, 2007
- 3) Lee DH, Lee JY, Oh BM, Phi JH, Kim SK, Bang MS, Kim SU, Wang KC: Functional recovery after injury of motor cortex in rats: effects of re-

- habilitation and stem cell transplantation in a traumatic brain injury model of cortical resection. *Childs Nerv Syst.* 29: 403-411, 2013
- 4) Seo JH, Kim H, Park ES, Lee JE, Kim DW, Kim HO, Im SH, Yu JH, Kim JY, Lee MY, Kim CH, Cho SR: Environmental enrichment synergistically improves functional recovery by transplanted adipose stem cells in chronic hypoxic-ischemic brain injury. *Cell Transplant.* 22: 1553-1568, 2013
- 5) Cho SR, Suh H, Yu JH, Kim HH, Seo JH, Seo CH: Astroglial activation by an enriched environment after transplantation of mesenchymal stem cells enhances angiogenesis after hypoxic-ischemic brain injury. *Int J Mol Sci.* 17: 1550, 2016
- 6) Imura T, Matsumoto M, Fukazawa T, Khalesi E, Sun Y, Takeda M, Uwatoko H, Nakata K, Tanimoto K, Kajiume T, Kawahara Y, Yuge L: Interactive effects of cell therapy and rehabilitation realize the full potential of neurogenesis in brain injury model. *Neurosci Lett.* 555: 73-78, 2013
- 7) Zhang YX, Yuan MZ, Cheng L, Lin LZ, Du HW, Chen RH, Liu N: Treadmill exercise enhances therapeutic potency of transplanted bone mesenchymal stem cells in cerebral ischemic rats via anti-apoptotic effects. *BMC Neurosci.* 16: 56, 2015
- 8) Sasaki Y, Sasaki M, Kataoka-Sasaki Y, Nakazaki M, Nagahama H, Suzuki J, Tateyama D, Oka S, Namioka T, Namioka A, Onodera R, Mikami T, Wanibuchi M, Kakizawa M, Ishiai S, Kocsis JD, Honmou O: Synergic Effects of Rehabilitation and Intravenous Infusion of Mesenchymal Stem Cells After Stroke in Rats. *Phys Ther.* 96: 1791-1798, 2016
- 9) Ploughman M, Granter-Button S, Chernenko G, Tucker BA, Mearow KM, Corbett D: Endurance exercise regimens induce differential effects on brain-derived neurotrophic factor, synapsin-I and insulin-like growth factor I after focal ischemia. *Neuroscience.* 136: 991-1001, 2005
- 10) Dahlqvist P, Zhao L, Johansson IM, Mattsson B, Johansson BB, Seckl JR, Olsson T: Environmental enrichment alters nerve growth factor-induced gene A and glucocorticoid receptor messenger RNA expression after middle cerebral artery occlusion in rats. *Neuroscience.* 93: 527-535, 1999
- 11) Biernaskie and Corbett: Enriched rehabilitative training promotes improved forelimb motor function and enhanced dendritic growth after focal ischemic injury. *J Neurosci.* 21: 5272-5280, 2001
- 12) Pagnussat AS, Simao F, Anastacio JR, Mestriner RG, Michaelson SM, Castro CC, Salbego C, Netto CA: Effects of skilled and unskilled training on functional recovery and brain plasticity after focal ischemia in adult rats. *Brain Res.* 1486: 53-61, 2012
- 13) Lee SH, Kim YH, Kim YJ, Yoon BW: Enforced physical training promotes neurogenesis in the subgranular zone after focal cerebral ischemia. *J Neurol Sci.* 269: 54-56, 2008
- 14) Nudo RJ, Wise BM, SiFuentes F, Milliken GW: Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct. *Science.* 272: 1791-1794, 1996
- 15) Ishida A, Isa K, Umeda T, Kobayashi K, Kobayashi K, Hida H, Isa T: Causal link between the cortico-rubral pathway and functional recovery through forced impaired limb use in rats with stroke. *J Neurosci.* 36: 455-467, 2016
- 16) Svensson M, Lexell J, Deierborg T: Effects of physical exercise on neuroinflammation, neuroplasticity, neurodegeneration, and behavior: what we can learn from animal models in clinical settings. *Neurorehabil Neural Repair.* 29: 577-589, 2015
- 17) 田口明彦: 脳卒中患者に対する細胞治療. *医学のあゆみ.* 7: 563-567, 2017
- 18) Hess DC, Sila CA, Furlan AJ, Wechsler LR, Switzer JA, Mays RW: A double-blind placebo-controlled clinical evaluation of MultiStem for the treatment of ischemic stroke. *Int J Stroke.* 9: 381-386, 2014
- 19) Taguchi A, Sakai C, Soma T, Kasahara Y, Stern DM, Kajimoto K, Ihara M, Daimon T, Yamahara K, Doi K, Kohara N, Nishimura H, Matsuyama T, Naritomi H, Sakai N, Nagatsuka K: Intravenous Autologous Bone Marrow Mononuclear Cell Transplantation for Stroke: Phase1/2a Clinical Trial in a Homogeneous Group of Stroke

- Patients. *Stem Cell Dev.* 24: 2207-2218, 2015
- 20) Honmou O, Onodera R, Sasaki M, Waxman SG, Kocsis JD: Mesenchymal stem cells: therapeutic outlook for stroke. *Trends Mol Med.* 18: 292-297, 2012
- 21) Steinberg GK, Kondziolka D, Wechsler LR, Lunsford LD, Coburn ML, Billigen JB, Kim AS, Johnson JN, Bates D, King B, Case C, McGrogan M, Yankee EW, Schwartz NE: Clinical Outcomes of Transplanted Modified Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Stroke: A Phase 1/2a Study. *Stroke.* 47: 1817-1824, 2016
- 22) Aizman I, Tirumalashetty BJ, McGrogan M, Case CC: Comparison of the neuropoietic activity of gene-modified versus parental mesenchymal stromal cells and the identification of soluble and extracellular matrix-related neuropoietic mediators. *Stem Cell Res Ther.* 5: 29, 2014
- 23) Hassani Z, O'Reilly J, Pearse Y, Stroemer P, Tang E, Sinden J, Price J, Thuret S: Human neural progenitor cell engraftment increases neurogenesis and microglial recruitment in the brain of rats with stroke. *Plos One.* 7: e50444, 2012
- 24) Grade S, Götz M: Neuronal replacement therapy: previous achievements and challenges ahead. *NPJ Regen Med.* 2: 29, 2017
- 25) Ross HH, Ambrosio F, Trumbower RD, Reier PJ, Behrman AL, Wolf SL: Neural stem cell therapy and rehabilitation in the central nervous system: emerging partnerships. *Phys Ther.* 96: 734-742, 2016
- 26) Lunn JS, Sakowski SA, McGinley LM, Pacut C, Hazel TG, Johe K, Feldman EL: Autocrine production of IGF-I increases stem cell-mediated neuroprotection. *Stem Cells* 33: 1480-1489, 2015
- 27) Gaillard A, Prestoz L, Dumartin B, Cantereau A, Morel F, Roger M, Jaber M: Reestablishment of damaged adult motor pathways by grafted embryonic cortical neurons. *Nat Neurosci.* 10: 1294-1299, 2007
- 28) Shinoyama M, Ideguchi M, Kida H, Kajiware K, Kagawa Y, Maeda Y, Nomura S, Suzuki M: Cortical region-specific engraftment of embryonic stem cell-derived neural progenitor cells restores axonal sprouting to a subcortical target and achieves motor functional recovery in a mouse model of neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Front Cell Neurosci.* 7: 128, 2013
- 29) Tornero D, Wattananit S, Grønning Madsen M, Koch P, Wood J, Tatarishvili J, Mine Y, Ge R, Monni E, Devaraju K, Hevner RF, Brüstle O, Lindvall O, Kokaia Z: Human induced pluripotent stem cell-derived cortical neurons integrate in stroke-injured cortex and improve functional recovery. *Brain* 136: 3561-3577, 2013
- 30) Péron S, Droguerre M, Debarbieux F, Ballout N, Benoit-Marand M, Francheteau M, Brot S, Rougon G, Jaber M, Gaillard A: Delay between motor cortex lesions and neuronal transplantation enhances graft integration and improves repair and recovery. *J Neurosci.* 37: 1820-1834, 2017
- 31) Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Goetz CG, Marin C, Kordower JH, Rodriguez M, Hirsch EC, Farrer M, Schapira AH, Halliday G: Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. *Nat Med.* 16: 653-661, 2010
- 32) Wirdefeldt K, Adami HO, Cole P, Trichopoulos D, Mandel J: Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European journal of epidemiology* 26 Suppl 1: S1-58, 2011
- 33) Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Kieburtz K, Marshall FJ, Ravina BM, Schifitto G, Siderowf A, Tanner CM: Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology* 68: 384-386, 2007
- 34) Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, Obeso J, Marek K, Litvan I, Lang AE, Halliday G, Goetz CG, Gasser T, Dubois B, Chan P, Bloem BR, Adler CH, Deuschl G: MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 30: 1591-1601, 2015
- 35) Cohen AD, Tillerson JL, Smith AD, Schallert T, Zigmond MJ: Neuroprotective effects of prior limb use in 6-hydroxydopamine-treated rats: possible role of GDNF. *Journal of neurochemistry* 85: 299-305, 2003
- 36) Tillerson J, Caudle W, Reveron M, Miller G:

- Exercise induces behavioral recovery and attenuates neurochemical deficits in rodent models of Parkinson's disease. *Neuroscience* 119: 899-911, 2003
- 37) Lau YS, Patki G, Das-Panja K, Le WD, Ahmad SO: Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. *The European journal of neuroscience* 33: 1264-1274, 2011
 - 38) Bagga V, Dunnett SB, Fricker RA: The 6-OHDA mouse model of Parkinson's disease - Terminal striatal lesions provide a superior measure of neuronal loss and replacement than median forebrain bundle lesions. *Behav Brain Res.* 288: 107-117, 2015
 - 39) Grealish S, Mattsson B, Draxler P, Bjorklund A: Characterisation of behavioural and neurodegenerative changes induced by intranigral 6-hydroxydopamine lesions in a mouse model of Parkinson's disease. *The European journal of neuroscience* 31: 2266-2278, 2010
 - 40) Petzinger GM, Fisher BE, McEwen S, Beeler JA, Walsh JP, Jakowec MW: Exercise-enhanced neuroplasticity targeting motor and cognitive circuitry in Parkinson's disease. *The Lancet Neurology* 12: 716-726, 2013
 - 41) Corcos DM, Robichaud JA, David FJ, Leurgans SE, Vaillancourt DE, Poon C, Rafferty MR, Kohrt WM, Comella CL: A two-year randomized controlled trial of progressive resistance exercise for Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 28: 1230-1240, 2013
 - 42) Shulman LM, Katzel LI, Ivey FM, Sorkin JD, Favors K, Anderson KE, Smith BA, Reich SG, Weiner WJ, Macko RF: Randomized clinical trial of 3 types of physical exercise for patients with Parkinson disease. *JAMA neurology* 70: 183-190, 2013
 - 43) Tomlinson CL, Patel S, Meek C, Herd CP, Clarke CE, Stowe R, Shah L, Sackley C, Deane KH, Wheatley K, Ives N: Physiotherapy intervention in Parkinson's disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed.)* 345: e5004, 2012
 - 44) Bloem BR, de Vries NM, Ebersbach G: Nonpharmacological treatments for patients with Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 30: 1504-1520, 2015
 - 45) Frazzitta G, Maestri R, Ghilardi MF, Riboldazzi G, Perini M, Bertotti G, Boveri N, Buttini S, Lombino FL, Uccellini D, Turla M, Pezzoli G, Comi C: Intensive rehabilitation increases BDNF serum levels in parkinsonian patients: a randomized study. *Neurorehabilitation and neural repair* 28: 163-168, 2014
 - 46) Lewitt PA: Levodopa for the treatment of Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 359: 2468-2476, 2008
 - 47) 日本神経学会: パーキンソン病診療ガイドライン2018.
 - 48) Lindvall O, Brundin P, Widner H, Rehnström S, Gustavii B, Frackowiak R, Leenders KL, Sawle G, Rothwell JC, Marsden CD: Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease. *Science* 247: 574-577, 1990
 - 49) Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, Dillon S, Winfield H, Culver S, Trojanowski JQ, Eidelberg D, Fahn S: Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 344: 710-719, 2001
 - 50) Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, Stoessl AJ, Sossi V, Brin MF, Shannon KM, Nauert GM, Perl DP, Godbold J, Freeman TB: A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Annals of neurology* 54: 403-414, 2003
 - 51) Evans JR, Mason SL, Barker RA: Current status of clinical trials of neural transplantation in Parkinson's disease. *Progress in brain research* 200: 169-198, 2012
 - 52) Kefalopoulou Z, Politis M, Piccini P, Mencacci N, Bhatia K, Jahanshahi M, Widner H, Rehnström S, Brundin P, Bjorklund A, Lindvall O, Limousin P, Quinn N, Foltynie T: Long-term clinical outcome of fetal cell transplantation for Parkinson disease: two case reports. *JAMA neurology* 71: 83-87, 2014
 - 53) Doi D, Samata B, Katsukawa M, Kikuchi T,

- Morizane A, Ono Y, Sekiguchi K, Nakagawa M, Parmar M, Takahashi J: Isolation of human induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic progenitors by cell sorting for successful transplantation. *Stem cell reports* 2: 337-350, 2014
- 54) Morizane A, Kikuchi T, Hayashi T, Mizuma H, Takara S, Doi H, Mawatari A, Glasser MF, Shiina T, Ishigaki H, Itoh Y, Okita K, Yamasaki E, Doi D, Onoe H, Ogasawara K, Yamanaka S, Takahashi J: MHC matching improves engraftment of iPSC-derived neurons in non-human primates. *Nature communications* 8: 385, 2017
- 55) Kikuchi T, Morizane A, Doi D, Magotani H, Onoe H, Hayashi T, Mizuma H, Takara S, Takahashi R, Inoue H, Morita S, Yamamoto M, Okita K, Nakagawa M, Parmar M, Takahashi J: Human iPS cell-derived dopaminergic neurons function in a primate Parkinson's disease model. *Nature* 548: 592-596, 2017
- 56) Hurtado JDC, Sanchez JPB, Nunes RB, de Oliveira AA: Stem Cell Transplantation and Physical Exercise in Parkinson's Disease, a Literature Review of Human and Animal Studies. *Stem cell reviews* 14: 166-176, 2018
- 57) Dobrossy MD, Dunnett SB: Morphological and cellular changes within embryonic striatal grafts associated with enriched environment and involuntary exercise. *The European journal of neuroscience* 24: 3223-3233, 2006
- 58) Hwang DH, Shin HY, Kwon MJ, Choi JY, Ryu BY, Kim BG: Survival of neural stem cell grafts in the lesioned spinal cord is enhanced by a combination of treadmill locomotor training via insulin-like growth factor-1 signaling. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 34: 12788-12800, 2014
- 59) Hagell P, Brundin P: Cell survival and clinical outcome following intrastriatal transplantation in Parkinson disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 60: 741-752, 2001

総 説 「特集：再生医療とリハビリテーション」

骨格筋再生における細胞移植とリハビリテーション

竹中(蜷川) 菜々^{1,2)}, 後藤 萌¹⁾, 櫻井 英俊¹⁾

Regenerative rehabilitation for skeletal muscle

Nana Takenaka-Ninagawa^{1,2)}, Megumi Goto¹⁾, Hidetoshi Sakurai¹⁾

Abstract

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is one of the most severe forms of muscle disorders. Muscle in DMD patients is extremely fragile and can be damaged even during normal daily activity. The disease is caused by mutations in the *DMD* gene that result in the loss of dystrophin protein expression. There is little in the way of treatment for the disease and no cure. Some investigators have been developing cell therapies for DMD by generating muscle stem cells from human induced pluripotent stem (iPS) cells and other progenitor/stem cells. Although reports have shown the effects of cell transplantation therapy in DMD, optimal methods that maximize the efficacy of the transplantation are still needed. Exercise is expected to enhance the effect of cell therapy for DMD, acting as a form of “regenerative rehabilitation”. We evaluated the efficacy of transplanting human myogenic progenitor cells that can express dystrophin into the skeletal muscle of DMD model mice by histological and functional analysis. We found that optimized muscle contraction training programs enhance the effect of the cell transplantation therapy. Regenerative rehabilitation could be a basis for effective cell therapy towards DMD patients.

Key words: Skeletal muscle, Duchenne muscular dystrophy, Cell transplantation, Rehabilitation

1. はじめに

骨格筋組織は、成人体重の約30～40%を占める最大の臓器であり、収縮により惹起される関節運動、姿勢維持、呼吸活動、熱産生が主な機能であると考えられてきた。関節運動や姿勢維持は、人間のADL・QOLに直結し、呼吸活動は、生命維持に必須である。さらに、近年になって、骨格筋収縮がトリガーとなって分

泌されるマイオカインや代謝性産物が多数発見された。そして、それらの働きによって、骨格筋が全身の代謝調節に重要な役割を果たしていることも明らかとなり、骨格筋はこれまで考えられてきた以上に多くの役割を担っていることが分かってきた。そのため、骨格筋が筋萎縮などの原因により機能不全状態に陥ると、ロコモティブシンドロームや、メタボリックシンドローム等、全身性の病態に結びつく。さらに、筋萎縮の原因には、加齢と関連したサルコペニア、寝たきりや骨折等の不活動状態に伴う廃用症候群、糖尿病などの慢性・代謝性疾患やがん悪液質（カヘキシア）などが挙げられるが、それらに加え、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに代表されるような難治性疾患を含む遺伝性疾患も数多く挙げられる。筋ジストロフィー症の原因遺伝子はすでに50種類以上が解明されており、その原因解明や新規治療法・治療薬開発を目指した研究が盛んに進められている。一部では少しずつ治療効果も示されつつあるが、残念ながら現時点では、どの

-
- 1) 京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門
Center for iPS Cell Research and Application, Department of Clinical Application, Kyoto University
 - 2) 日本学術振興会特別研究員
Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) Postdoctoral Fellow

投稿責任者：竹中(蜷川) 菜々
連絡先：〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町53
京都大学iPS細胞研究所 臨床応用研究部門
E-mail: nana.takenaka@cira.kyoto-u.ac.jp

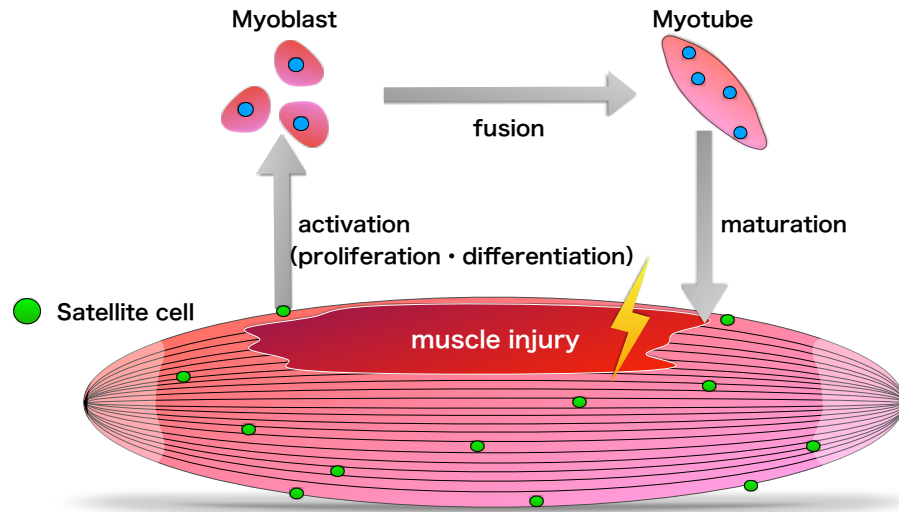


Fig. 1. Mechanism of skeletal muscle regeneration

Normally, satellite cells are in a quiescent state. However, when stimulated by skeletal muscle injury or the like, the satellite cells are activated, partly differentiated while proliferating, and become progenitor cells called myoblasts. The myoblasts become multinuclear myotubes by fusing with other myoblasts differentiated through a similar mechanism. Then these myotubes form new muscle fibers or fuse with existing fibers and skeletal muscle are regenerated.

治療法もそれ単独で十分な治療効果を得ることは難しく、未だに多くの疾患で根治可能な治療法の確立にはいたっていない。そのような流れを受けて、新規治療法開発研究が進められると同時進行で、それぞれの治療法とリハビリテーションとの併用による、治療効果の促進・最大化を目指した研究も少しずつ進められつつある。本稿では、数多く存在する筋疾患の中でも、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する治療研究に焦点をあて、さらに、現在進行している様々な新規治療法開発研究のうち、細胞移植による再生医療研究の現状と、その治療効果を促進もしくは最大化するためのリハビリテーション (exercise) 介入研究についての最新情報を紹介する。

2. 骨格筋疾患に対する再生医療

2-1. 骨格筋の再生メカニズム

骨格筋は多核の巨大細胞である筋線維の束が多数集まってできている。その1本1本の筋線維の細胞膜と基底膜の間には、単核のサテライト細胞 (satellite cells, 衛星細胞) と呼ばれる幹細胞が存在する。これらサテライト細胞は成人の骨格筋組織にも存在し、筋線維1本あたり数個～数十個あるとされている。筋線維は細胞分裂による自己複製や自己修復能力を持たないため、骨格筋組織に損傷が生じた場合、幹細胞であるサテライト細胞が骨格筋組織の修復・再生のカギとなる。

通常、サテライト細胞は静止状態にある。しかし、骨格筋が損傷するなどの刺激を受けると、サテライト細胞が活性化され、増殖しながらその一部が分化し、筋芽細胞 (myoblast) と呼ばれる前駆細胞になる。この筋芽細胞はその後、同様の機序を経て分化してきた他の筋芽細胞と融合して、多核の筋管 (myotube) となる。そしてこれらの筋管が成熟し、新しく筋線維を形成する。もしくは、元から存在している筋線維の損傷部に、筋芽細胞が融合することでも骨格筋の再生が行われる¹⁾ (図1)。

2-2. デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する再生医療の治療戦略

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (Duchenne Muscular Dystrophy : DMD) は小児発症の筋ジストロフィーの中では最も患者数が多く、DMD遺伝子の変異によって引き起こされる遺伝性疾患で、男児の3500人に1人の割合で発症する。DMD患者の筋組織では、筋肉を正常に保つジストロフィン (Dystrophin) タンパクが欠損しているため非常に脆く、日常生活レベルの負荷にも耐えられず、常に筋線維が損傷と再生を繰り返している状態にある。前述したように、骨格筋に損傷が生じるとサテライト細胞が増殖し、損傷した筋線維に融合することで筋線維の修復が行われる。しかし、DMD患者の場合は、その損傷の頻度が高いため修復が追いつかず、また、修復されたとしてもその筋線維も同様にジストロフィンの発現がない脆弱

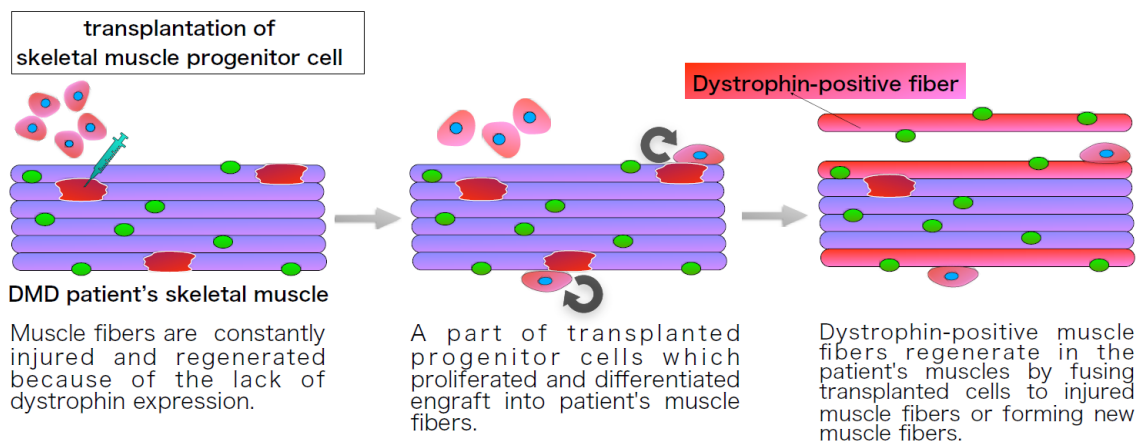


Fig. 2. Strategy of cell transplantation therapy for DMD

なものであるため、またすぐに損傷してしまう。そのため、DMD患者では呼吸筋を含む全身の筋肉で徐々に筋萎縮、筋力低下が進み、10代で歩行不能、20代で人工呼吸器管理となり、多くは40代頃に亡くなってしまふ。現時点で治療法として認められているのはステロイドによる抗炎症作用のみであるが、これもあくまで対症療法にすぎず、根治のためには、なんらかの方法によりDMD患者の筋にジストロフィンタンパクを補充する必要があると考えられている。現在も、世界中の多くの研究者が根治的な治療法の確立に向け、様々な技術を応用した研究を進めているが、未だに有効な治療法は見つかっていない。

そこで、この損傷・再生サイクルが常に活発に生じている状態のDMD筋に、ジストロフィン発現が正常な骨格筋前駆細胞(サテライト細胞もしくは筋芽細胞)を移植して取り込ませ、ホスト筋に融合させることで、ジストロフィンのタンパク発現を補い、DMD患者の筋線維に特有な脆弱性を克服するという戦略に基づいた細胞移植治療が新たな根治治療法の1つとして注目されている(図2)。前述したように、傷ついた筋線維に活性化した幹細胞が融合することで、新たに組織が再生されるという特徴を持つ骨格筋組織では、細胞移植治療による正常なタンパクの補充が比較的容易であるため、遺伝子変異によって発症する様々な筋疾患に対する根治治療法として有効だろうと考えられる。そして実際に、細胞移植治療に関する様々な研究が、これまでもすでに多数報告されてきた。そこで、本稿では臨床研究がすでに行われた筋芽細胞移植治療²⁾と、これからの発展が期待される多能性幹細胞から誘導された骨格筋前駆細胞移植治療について概説する。

2-3-1. サテライト細胞/筋芽細胞移植

1989年にDMDに対する初めての細胞移植治療研究として、DMDモデルマウスの筋肉への野生型マウスのサテライト細胞移植が試みられた。その結果、モデルマウスの骨格筋組織中にジストロフィンを発現した筋線維の存在が確認され、DMDに対する治療法として細胞移植が有効であることが初めて明確に示された³⁾。以上の基礎研究の結果を受け、DMD治療の臨床試験がアメリカとカナダで実施された⁴⁾。これらの臨床試験では、DMD患者の罹患筋に健康な細胞提供者由来のサテライト細胞が筋注にて移植された。その結果、移植された健康な細胞は患者の筋線維と融合し、罹患筋組織にジストロフィンタンパク質が補充されることが確認された。ただし、この細胞移植方法は他家移植であるため、移植片に対する拒絶反応のコントロールが必須であり、免疫抑制剤が十分に効いているか否かが移植の成否に大きく影響を与えることが指摘された。さらに、このときの移植方法による治療効果は、細胞を注入した部位のみに局限していたため、患者の運動機能を回復させるまでには至らなかった。患者の運動機能を十分に回復させるためには、治療対象となる筋の広範囲に行き渡るのに十分な細胞を筋注するか、もしくは血管内投与によって大量の細胞を全身にデリバリーする必要があると考えられ、そのいずれにしても、移植時に大量のサテライト細胞を準備できなくてはならない。しかし、残念ながら生体から採取されたサテライト細胞を生体外で培養し増殖させると、その性質が変化し、増殖能力や分化能力が低下してしまう。現在、生体から採取されたサテライト細胞を、幹細胞としての性質を維持したまま生体外で増やすための研究も進められているが、移植治療に十分な量まで増やす技術は未確立であり、現時点ではまだ、生体

組織に由来するサテライト細胞による移植治療は未だ臨床応用には至っていない。

2-3-2. 多能性幹細胞を用いた骨格筋前駆細胞移植

生体の骨格筋組織から採取したサテライト細胞は、幹細胞としての性質を維持したまま生体外で増殖させることが困難であるという事実から、骨格筋疾患に対する移植用細胞源として多能性幹細胞が期待されている。多能性幹細胞は、幹細胞としての性質を維持したまま自己複製を繰り返すことで、ほぼ無限に増殖することが可能である。そのため、多能性幹細胞の状態で十分な量まで数を増やしてストックし、必要に応じて分化誘導を開始してサテライト細胞を作製することで、フレッシュな状態のサテライト細胞を十分量準備して即座に移植に使用することが可能である。

多能性幹細胞の中でも、ヒト胚性幹細胞 (Embryonic Stem Cells : ES細胞) を用いた骨格筋再生は、臨床応用を目指して現在まで盛んに研究が進められてきた。しかし、筋芽細胞移植と同様にES細胞を用いた移植も基本的には他者細胞の移植であるため、拒絶反応のコントロールが必須である。また、ES細胞の樹立には受精卵を使用する必要があるため、その使用には倫理的な問題が問われる。そこで注目を集めているのが、2007年にTakahashi, Yamanakaによって樹立されたヒト人工多能性幹細胞 (Induced Pluripotent Stem Cells : iPS細胞) である。iPS細胞は自身の体細胞から作ることができるため免疫拒絶の心配がなく、しかもES細胞と同等の自己複製能力と分化能力を有しているため、細胞移植治療への応用が期待されている⁵⁾。

しかし、DMD患者より作成されたiPS細胞は、やはりDMD遺伝子に変異があり、ジストロフィンタンパクを産生する能力が欠如しているため、移植治療に応用するためにはDMD遺伝子を修復する必要がある。DMD遺伝子は巨大な遺伝子であり、かねてより完全な修復は難しいとされていたが、ヒト人工染色体の技術を用いて、患者由来のiPS細胞の遺伝子を完全に修復することにKazukiらが成功した⁶⁾。この技術を用いて正常な遺伝子を発現させたヒト人工染色体を培養細胞内に導入し、この幹細胞を増やしてDMDモデルマウスの動脈に注入すると、運動能力が改善しそれが一定期間保たれるなど、動物実験ではすでに複数の報告がされている^{7,8,9)}。さらに2012年には、細菌のウイルス防御機構の1つであるクラス2タイプII CRISPRのCas 9を用いたゲノム編集方法が報告された¹⁰⁾。ターゲットの配列に相補的なgDNAをデザインするだけで二本鎖切断を誘導できるという簡便性と、種々の生物

において高いDNA切断活性を持つという特徴から、現在最も広く用いられているゲノム編集方法である。2015年には、CRISPRの技術により、DMD患者由来iPS細胞においてDMD遺伝子を修復し、完全長のジストロフィンタンパク質が回復可能であることが報告された¹¹⁾。近年では、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いてCas 9及びgDNAをDMDモデルマウスへ導入することで、ジストロフィンタンパクの発現回復や筋力の改善を報告する論文もすでに上がっている¹²⁾。このような技術の発展も相まって、iPS細胞を用いた幹細胞移植治療研究は臨床応用に向けて大きな期待が寄せられている。

その一方で、iPS細胞を用いた移植治療には懸念もある。それは腫瘍化という副作用の可能性である。腫瘍化を防ぐために現在では分化抵抗性のない適切なiPS細胞クローンを選別することにより、安全性を高める方法が考えられている。したがって実際に臨床応用を想定した場合、患者由来のiPS細胞に遺伝子改変を施し、その後、安全で分化能の高い適切なiPS細胞クローンを選別し、そこからさらに腫瘍化のリスクについて動物実験で評価・検討するという複数の段階をふむ必要がある。しかし、現実的な問題として、これらの過程を全てクリアするためには患者ひとり当たりのコストが膨大になると共に、移植可能な状態まで細胞を準備するのに要する期間も長期間 (半年～一年) となってしまう。したがって、これらの課題を解決すべくHLAタイプの適合した他家iPS細胞移植という方法が現在検討されており、京都大学iPS細胞研究所では「高頻度HLAホモ接合体ドナー由来の医療用iPS細胞ストック構築に関する研究」が開始された。HLAタイプの合ったホモドナーに由来する組織を移植した際に拒絶反応が低く抑えられることは過去の臓器移植等ですでに示されている。日本人でよく認められる頻度の高いHLAタイプをホモで持っているドナーからiPS細胞を作成しておけば、上位75株で日本人の80%をカバーできるという算出がなされている。また、予め品質を評価しておくことができるため、安全性の高いiPS細胞クローンをすぐに患者に届けることができる。それだけでなく、一人当たりのコストも大幅に抑えられるため、臨床応用を想定した場合、非常に現実的であり汎用が期待できる。実際に、現時点で臨床研究段階に進んでいる加齢黄斑変性症に対する細胞移植でも、医療用iPS細胞ストックが使用されており、また、今年度中の臨床研究が計画されているパーキンソン病に対する細胞移植でも、ストック細胞が移植用細胞源として使用されることが決まっている。

DMDモデル動物を用いた多能性幹細胞由来細胞の移植研究の分野では、2012年に相次いで重要な報告がなされた。マウスES/iPS細胞で骨格筋前駆細胞を誘導した方法をヒトES/iPS細胞に応用し、転写因子Pax7を強制発現させることで、効率よくヒトES/iPS細胞から骨格筋前駆細胞が得られたことをDarabiらが報告した¹³⁾。この方法により得られた骨格筋前駆細胞を免疫不全型DMDモデルマウスに移植すると、ヒト核陽性かつヒト・ジストロフィン陽性の筋線維が形成され、筋の再生に移植細胞が寄与することが示された。さらに移植された細胞の一部は、筋線維内にPax7陽性のサテライト細胞として生着しており、移植から約1年経過した後にもヒト・ジストロフィン陽性の筋線維が認められたことから、移植細胞がサテライト細胞として長期間生体内に留まり、筋の再生・修復に寄与している可能性が示唆された。ただし、Darabiらの方法では、遺伝子発現のためにレンチウイルスベクターが用いられているため、臨床応用を想定した場合、より安全性の高い遺伝子発現方法を検討する必要がある。

続いてTedescoらが、ヒトiPS細胞から動脈周囲に存在するメサンジオブラスト(mesangioblast)様の細胞を分化誘導し、細胞移植によって筋の再生に成功したと報告した¹⁴⁾。ヒトiPS細胞由来メサンジオブラスト様細胞は、培養下での自発的な骨格筋形成能は乏しい一方で、DMDモデルマウスへ移植すると罹患マウスの筋線維と融合し、筋再生に寄与する。また移植方法も従来からよく用いられている筋肉への局所注射だけでなく、動脈投与でも骨格筋内に生着することが示されており、全身の骨格筋に対する細胞移植を想定した場合、優れた前駆細胞であることが示唆された。加えて筋ジストロフィー患者由来のiPS細胞からも分化誘導に成功しているが、現時点で生体内でのサテライト細胞への分化は報告されていない。

Goudenegheらは、ヒトES/iPS細胞に筋芽細胞マーカーであるMyoDという転写因子をアデノウイルスベクターを用いて強制発現させることによって、40～60%程度の効率で骨格筋前駆細胞を誘導できたと報告した¹⁵⁾。この研究では、iPS細胞由来の骨格筋前駆細胞は、筋注での移植により筋芽細胞と同程度の筋再生能力を有していることが示された。加えて、筋ジストロフィー患者由来のiPS細胞からの分化誘導にも成功している。しかし、生体内でのサテライト細胞への分化は認められていない。また、遺伝子発現に用いたアデノウイルスベクターはゲノムに組み込まれないというメリットはあるが、その免疫原性は高く、臨床応用

を想定した場合、他のベクターの使用の検討が必要である。

そのような中、Chalらが遺伝子強制発現を用いない筋の分化誘導法によって、ヒトiPS細胞からPax7陽性骨格筋前駆細胞を誘導することに成功した¹⁶⁾。しかしながら、この方法で得られた前駆細胞の生体内での筋再生能は低く、Pax7を強制発現させることで得られた前駆細胞の筋再生能には劣るということがKimらによって報告されている¹⁷⁾。

さらに、我々の研究室でも、遺伝子の強制発現は用いず、化合物と成長因子を加えることで発生段階を模倣した骨格筋分化誘導法を開発し、分化誘導10週以降に筋再生能力を持つ骨格筋前駆細胞が出現することを見出した(論文未発表)。この骨格筋前駆細胞は、DMDモデルマウスへの移植において100本以上のジストロフィン陽性線維を再生することを確認しており、前述のiPS由来細胞より高い筋再生効率であると言える。

しかしながら、いずれの報告でも、モデルマウスの組織解析により筋再生に移植細胞が寄与していることが明らかにされている一方で、筋力や筋持久力などマウスの個体での運動機能については、ほとんど述べられていない。DMD患者に対する臨床応用を考えると、移植治療による運動機能改善は当然目指すべきゴールである。そのため、モデル動物を使った細胞移植研究でも、正確な運動機能評価法による個体レベルでの経時的な解析が必要不可欠である。

3. DMDに対する細胞移植治療とリハビリテーション介入の併用効果

3-1. exerciseによるDMD治療効果

これまで、DMDに対するexerciseは、筋線維の破壊を促進し、炎症状態を悪化させることでDMDの病態を進行させる危険性が高いため、「積極的な運動は禁忌」とする説が有力であった。そのため、臨床のリハビリテーション現場においてもDMD患者に対して積極的なexerciseが指示されることはなく、関節拘縮の予防を目的としたストレッチ等が実施されることが一般的であった。その見解は動物実験でも一致しており、DMDに対するexerciseは病態を進行させるとのネガティブな報告に偏っていた^{18,19)}。それは、DMD研究に用いられてきたモデル動物の特性に起因するものであると考えられる。かつてよりDMDモデル動物として一般的に実験に用いられてきたmdxマウス²⁰⁾は、ヒトのDMD患者と比較して病態が軽く、

病理的な所見も運動機能も野生型のマウスと比べて大きくは劣らない。そのため、これらのマウスの病態を悪化させ、よりヒトのDMD患者の病態に近づけるための手段として用いられてきたのが、遠心性収縮負荷¹⁸⁾や、トレッドミル走行¹⁹⁾といった高強度でかつ強制的なexerciseであった。それゆえ、当時のDMD研究では、病態を悪化させるためのexercise条件にしか焦点が当てられておらず、結果としてDMDモデルマウスに対するexerciseに関連した報告は非常に偏ったものであった。しかしながら、2010年代に入ると、自発運動や、負荷量を適切に調整したexerciseの負荷によってDMDの病態が改善され得るという結果が、動物実験^{21,22,23)}や臨床研究^{24,25)}で少しずつ報告されるようになってきた。さらに、それらの報告の中には、タンパクのカルボニル化や、骨格筋組織中に存在するマクロファージの極性、成長因子やサイトカインの分泌等に着眼し、分子生物学的な視点からexerciseによるDMD治療メカニズムについて述べているものもあり、DMDに対するexerciseのあり方が見直されつつある。しかしながら、いまだその報告数は少ないため、最適なexercise条件（負荷量・介入期間・介入頻度等）を検討するとともに、その治療メカニズムを明らかにするためのさらなる研究が必要である。

3-2-1. DMDモデルマウスの筋機能評価

前述したように、すでに世界中の研究室で、DMDモデルマウスに対する細胞移植研究が進められ、その治療効果が証明されつつあるが、それらの多くは、組織学的にジストロフィンタンパクの発現回復を確認するのみであり、実際に、細胞移植によってジストロフィンタンパクを補うことが、DMDモデルマウスの筋力低下の防止や筋力の改善につながることを証明した研究は、これまでにほとんどなかった。また、DMD筋を構成する全筋線維中の何割の線維にジストロフィン発現を回復させられれば、筋力低下や易疲労性、脆弱性といったDMD特有の病態を克服し得るのかという、細胞移植治療で目指すべき目標値も不明のままであった。過去の研究では、stillwellらがDMDモデルマウスと野生型マウスのキメラマウスを用いた実験により、10~30%の筋線維でジストロフィンが発現している個体では、DMDの病態が抑えられることを報告した²⁶⁾。また、ベッカー型筋ジストロフィー（BMD）やX連鎖拡張型心筋症といったジストロフィン異常症（Dystrophinopathy）患者を対象とした臨床研究では、健常者でのジストロフィン発現量の30%以上にあたる量のジストロフィンを発現している患者では、日常生

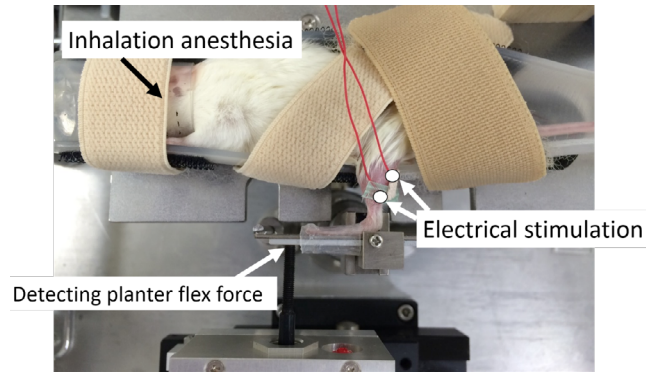


Fig. 3. Method of measuring muscle contraction force

活動（歩行や階段昇降等）が比較的長期間に渡って維持され得ることを報告している^{27,28)}。またその一方で、Godfreyらは、DMDモデルマウスに対する遺伝子治療実験を実施し、その治療効果を筋機能解析からも確認しているが、DMD筋の最大等尺性収縮力を改善するためには、野生型マウスの骨格筋の約50%に相当する量のジストロフィン発現が必要だと報告している²⁹⁾。これらの結果を受け、細胞移植によるDMD治療を目指す我々の研究グループでも、DMDモデルマウスでの筋機能改善を目指すべく、ジストロフィン陽性率の目標値を全線維数の約30%以上と設定し、細胞移植実験に取り組んでいる。

そのためにはまず、DMDマウスの筋力低下や、易疲労性、脆弱性を正確に評価する方法を確立する必要があった。そこで、我々の研究室では、麻酔下のマウスの下腿後面（腓腹筋）に経皮的に電気刺激を加えて骨格筋を収縮させ、その際に発揮された足関節底屈力をマウスの足底に設置されたプレートとひずみセンサーを介してトルク値として検出するシステムを、DMDモデルマウスの骨格筋機能評価方法として採用した（図3）。Itohらは、このシステムで正確にかつ経時的にマウスの底屈筋力が測定できること、さらに、入力する電気刺激の電流値を調整することで、定量的な等尺性収縮運動を負荷できることを、野生型マウスを用いた実験により証明している³⁰⁾。我々は、この評価システムを使用することにより、移植実験の対象筋である腓腹筋の収縮力を正確に測定することが可能となった。さらに、細胞移植治療前後のDMDモデルマウスの筋機能を経時的に評価し続けることで、細胞移植による治療経過を、一頭体ごとに運動機能面から追跡することに初めて成功した（論文未発表）。その結果、我々がDMDモデルとして用いているマウス（DMD-null mouse）では、若週齢からすでに野生型マウスと比較して筋力は低値を示すものの、20週齢前後からは、

さらに顕著に筋力が低下するという傾向が確認できた。そのため、移植による治療効果判定には、20週齢前後まで経過を観察し、筋力低下が抑制されるか否かを一つの基準とすることができると考えている。

3-2-2. DMDマウスに対する細胞移植効率の改善を目指したexercise

我々は、これまでに報告のあった先行研究を参考に設定した目標値である約30%という細胞移植効率の達成を目指し、移植実験を繰り返したが、単発の移植のみでは目標値を達成できなかった。そればかりか、同じ数の細胞を移植した場合であっても、個体によって生着細胞数に大きな変動が生じることもわかった。臨床応用を考えた場合、移植する細胞数は実現可能なレベルまで減らす必要があり、また、なるべく安定した治療成績が得られることが望ましい。そこで、移植効率を改善するための処置として、細胞移植治療前に、治療対象筋に対して等尺性収縮トレーニングを負荷することを試みた。同一個体の右後肢には前述した筋力評価システムの機器を利用して収縮トレーニングを負荷し、左後肢はコントロール肢としてintactな状態で、両後肢に同一数の細胞を移植した実験では、トレーニングを負荷した後肢で有意に移植効率が向上されることが示された。さらに、これらの移植細胞に由来するジストロフィン陽性筋線維は、その後に等尺性収縮の反復負荷を加えても損傷することがなく、その形状を正常に保っていたことから、移植によりジストロフィン発現が回復した線維では、筋の脆弱性も改善されていることも証明された。そこで、これらの結果から、筋収縮トレーニングと細胞移植治療を複数回繰り返すという新たな移植戦略の着想へと至り、その結果、ようやく目標値であるジストロフィン陽性率約30%を達成することとなった(論文未発表)。移植前の収縮トレーニングが、なぜ移植細胞の生着効率を向上させたか、そのメカニズムはまだ明らかとはなっていないが、現時点では二つの仮説を考えている。一つ目は、前述したDMDモデルマウスに対するexerciseについての先行研究で報告されているようなDMD病態改善効果が、我々の筋収縮トレーニング負荷時にも同様に発揮され、それにより移植細胞を受け入れるホスト側の微小環境が良くなったため、移植細胞の生存率や増殖率、分化効率等が改善されたという可能性である。一方で、もう一つの仮説としては、収縮トレーニング負荷により、DMD筋に、より広範囲でより重度な筋損傷が加えられ、それによって単純にDMD筋における損傷再生サイクルがさらに活発化され、結果として移植細胞

の取り込みが向上したという可能性も考えられる。実際に、損傷筋線維のみを青色に染色するエバンスブルー色素(Evans Blue Dye)をマウスの静脈から注入して損傷筋線維を検出し、筋損傷の割合を確認する実験では、intactなDMD筋では、全体の数%でしか筋線維の損傷が起こっていない一方で、等尺性収縮トレーニングを負荷したDMD筋では、筋の損傷領域が広範囲に広がることを確認できている(論文未発表)。現在、移植前に収縮トレーニングを負荷した際のどのような反応が、いかにして移植効率の改善に寄与しているのか、詳細なメカニズムの解明を進めている。

Itohらは、野生型マウスに対して等尺性収縮トレーニングを負荷すると、骨格筋でのタンパク質合成が促進されて筋肥大が起こること、さらには、骨格筋組織に存在するサテライト細胞が活性化され、さらなる筋再生が惹起されることで、最終的に筋力も向上することを報告している³⁰⁾。そのため、細胞移植治療によりジストロフィン発現が回復したDMD筋に対しても同様にトレーニングを負荷すると、移植細胞に由来するジストロフィン陽性線維が肥大化したり、サテライト細胞として残存している移植細胞が活性化され、さらなる新生筋の産生に働くことで、細胞移植による治療効果がさらに促進される可能性は高い。実際に、細胞移植治療後の等尺性収縮トレーニングの効果については、Distefanoらが、mdxマウスを用いた研究により、血管新生の促進と移植細胞の生着率向上の機序を介して、細胞移植による治療効果が促進されることを示している³¹⁾。さらに、その後の報告では、治療効果促進に働いている候補因子のうちの一つとしてKlothoを挙げ、exerciseによる筋再生促進メカニズム解明も進めている³²⁾。ただ、彼らが移植実験に用いた細胞は、マウスの骨格筋組織から採取された初代培養(primary)サテライト細胞であり、数日間の培養期間を経てから移植に使用しているため、これらのサテライト細胞は、移植時にはすでに、そのほぼ全てが筋芽細胞に分化し、幹細胞としての能力は失われていると考えられる。一方、我々の研究室では、細胞移植治療に用いる細胞源にiPS細胞を選び、治療法確立に向けて研究を進めている。前述のように、iPS細胞を用いることの利点は、サテライト細胞の前段階でスケールアップすることが可能であるため、幹細胞としての性質を維持したままのサテライト細胞を、フレッシュな状態で十分量獲得でき、移植に使用できるということである。それらのiPS細胞に由来するサテライト細胞が骨格筋へ移植されると、移植先の筋組織中に生着した後、その一部が筋芽細胞に分化して骨格筋再生に働くと同時に、残り

の一部のサテライト細胞は幹細胞としての性質を維持したままその場にとどまり、続いて起こる損傷に備えて待機することができる。実際に我々のiPS由来細胞を用いた実験系でも、移植後数週間が経過した後でも、移植細胞に由来するサテライト細胞が移植筋内に多数維持され続けていることを確認している。そのため、一度移植を実施すれば、その後に続いて繰り返し負荷されるexerciseがトリガーとなって、サテライト細胞が活性化し増殖分化融合を経て、新しいジストロフィン陽性線維を作り出すという反応が、継続して次から次へと繰り返して起こるため、筋再生効果がより広範囲でかつ（理論上は）永久的に継続して発揮される。こういった特徴から、iPS細胞由来サテライト細胞を移植した実験では、初代培養のサテライト細胞を使用した先行研究よりも、exerciseによる治療促進効果をよりはっきりと確認できる可能性は高い。ただ、移植後のexercise実験を実施するためには、exerciseの負荷に耐えうるだけの高い割合でジストロフィン陽性線維がDMD筋中に回復している必要がある上に、負荷量を相当慎重に検討しなければ、DMDの病態のさらなる進行を招き、慢性炎症状態の悪化から、線維化や脂肪化といった副作用も引き起こしかねない。exerciseを実施しても、慢性炎症状態を引き起こさないようなexercise介入条件の検討を進めるとともに、野生型マウスで効果があるとされているものと同レベルの負荷量でのexerciseにも耐えうる量のジストロフィン発現を回復させられるよう、移植方法をさらに改善向上させていく必要があると考え、現在は引き続き実験を進めている。

4. おわりに

本稿で前述したように、DMDに対する再生医療は、動物実験レベルでは着実に研究が進展し、細胞移植による根治的治療の実現可能性が高いことが示されている。しかし、その一方で、細胞移植治療単独でDMDの病態を改善し、患者の運動機能を改善させることは難しい。そのため、再生医療の治療効果を向上させ、最大化させることを目的としたリハビリテーション介入は必須であると考え。さらに、DMDに対する細胞移植治療の臨床応用を考えたとき、治療効果を正確に判定するための評価方法の検討・開発や、患者のADLやQOLを考慮した上での治療対象筋の選定等、理学療法士を含むリハビリテーションスタッフに求められる役割は多岐に渡る。

ここ数年で様々な疾患に対するiPS細胞移植治療が

患者を対象とした臨床研究の段階に進み、筋ジストロフィー症に対するiPS細胞による再生医療研究も、臨床応用に向けて着実に進行している。そのため、京都大学では、我々iPS細胞研究所の基礎研究者と、人間健康科学科の教員・研究者・学生、及び京都大学医学部附属病院の臨床家からなるチームを結成し、iPS細胞移植によるDMD治療の臨床応用を念頭に置いた、より実践的な取り組みとして、治療対象筋の選定と治療効果評価方法の確立に向け、既に動き始めている。

ヒトiPS細胞の樹立から10年が経過し、モデル動物を用いた細胞移植治療研究の進展により、様々な疾患に対する再生医療の臨床応用が現実のものとなりつつある今、「基礎研究」と平行して、患者のADL・QOLの改善を目指した「より臨床に即した研究」も同時に進めるべく、臨床に携わるリハビリテーションスタッフも積極的に再生医療研究に関わるべき段階に來たと言える。

文 献

- 1) Yin H, Price F, Rudnicki MA: Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev* 93: 23-67, 2013
- 2) Skuk D, Goulet M, Roy B, Chapdelaine P, Bouchard JP, Roy R, Dugré FJ, Sylvain M, Lachance JG, Deschênes L, Senay H, Tremblay JP: Dystrophin expression in muscles of duchenne muscular dystrophy patients after high-density injections of normal myogenic cells. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 65: 371-386, 2006
- 3) Partridge TA, Morgan JE, Coulton GR, Hoffman EP, Kunkel LM: Conversion of mdx myofibres from dystrophin-negative to -positive by injection of normal myoblasts. *Nature* 337: 176-179, 1989
- 4) Law PK, Goodwin TG, Fang Q, Hall TL, Quinley T, Vastagh G, Duggirala V, Larkin C, Florendo JA, Li L, Jackson T, Yoo TJ, Chase N, Neel M, Krahn T, Holcomb R: First human myoblast transfer therapy continues to show dystrophin after 6 years. *Cell transplantation* 6: 95-100, 1997
- 5) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131: 861-872, 2007

- 6) Kazuki Y, Hiratsuka M, Takiguchi M, Osaki M, Kajitani N, Hoshiya H, Hiramatsu K, Yoshino T, Kazuki K, Ishihara C, Takehara S, Higaki K, Nakagawa M, Takahashi K, Yamanaka S, Oshimura M: Complete genetic correction of ips cells from Duchenne muscular dystrophy. *Mol Ther* 18: 386-393, 2010
- 7) Kazuki Y, Hoshiya H, Takiguchi M, Abe S, Iida Y, Osaki M, Katoh M, Hiratsuka M, Shirayoshi Y, Hiramatsu K, Ueno E, Kajitani N, Yoshino T, Kazuki K, Ishihara C, Takehara S, Tsuji S, Ejima F, Toyoda A, Sakaki Y, Larionov V, Kouprina N, Oshimura M: Refined human artificial chromosome vectors for gene therapy and animal transgenesis. *Gene Ther* 4: 384-393, 2011
- 8) Tedesco FS, Hoshiya H, D'Antona G, Gerli MF, Messina G, Antonini S, Tonlorenzi R, Benedetti S, Berghella L, Torrente Y, Kazuki Y, Bottinelli R, Oshimura M, Cossu G: Stem cell-mediated transfer of a human artificial chromosome ameliorates muscular dystrophy. *Sci Transl Med* 3: 96-78, 2011
- 9) Benedetti S, Uno N, Hoshiya H, Ragazzi M, Ferrari G, Kazuki Y3, Moyle LA, Tonlorenzi R, Lombardo A, Chaouch S, Mouly V, Moore M, Popplewell L, Kazuki K, Katoh M, Naldini L, Dickson G, Messina G, Oshimura M, Cossu G, Tedesco FS: Reversible immortalisation enables genetic correction of human muscle progenitors and engineering of next-generation human artificial chromosomes for Duchenne muscular dystrophy. *EMBO Mol Med* 10: 254-275, 2018
- 10) Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E: A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337: 816-21, 2012
- 11) Li HL, Fujimoto N, Sasakawa N, Shirai S, Ohkame T, Sakuma T, Tanaka M, Amano N, Watanabe A, Sakurai H, Yamamoto T, Yamanaka S, Hotta A: Precise correction of the dystrophin gene in duchenne muscular dystrophy patient induced pluripotent stem cells by TALEN and CRISPR-Cas9. *Stem Cell Reports* 4: 143-54, 2015
- 12) Liao HK, Hatanaka F, Araoka T, Reddy P, Wu MZ, Sui Y, Yamauchi T, Sakurai M, O'Keefe DD, Núñez-Delicado E, Guillen P, Campistol JM, Wu CJ, Lu LF, Esteban CR, Izpisua Belmonte JC: In Vivo Target Gene Activation via CRISPR/Cas9-Mediated Trans-epigenetic Modulation. *Cell* 171: 1495-1507, 2017
- 13) Darabi R, Arpke RW, Irion S, Dimos JT, Grskovic M, Kyba M, Perlingeiro RC: Human ES- and iPS-derived myogenic progenitors restore DYSTROPHIN and improve contractility upon transplantation in dystrophic mice. *Cell Stem Cell* 10: 610-619, 2012
- 14) Tedesco FS, Gerli MF, Perani L, Benedetti S, Ungaro F, Cassano M, Antonini S, Tagliafico E, Artusi V, Longa E, Tonlorenzi R, Ragazzi M, Calderazzi G, Hoshiya H, Cappellari O, Mora M, Schoser B, Schneiderat P, Oshimura M, Bottinelli R, Sampaolesi M, Torrente Y, Broccoli V, Cossu G: Transplantation of genetically corrected human iPSC-derived progenitors in mice with limb-girdle muscular dystrophy. *Sci Transl Med* 4: 140-189, 2012
- 15) Goudenege S, Lebel C, Huot NB, Dufour C, Fujii I, Gekas J, Rousseau J, Tremblay JP: Myoblasts Derived From Normal hESCs and Dystrophic hiPSCs Efficiently Fuse With Existing Muscle Fibers Following Transplantation. *Mol Ther* 20: 2153-2167, 2012
- 16) Chal J, Oginuma M, Al Tanoury Z, Gobert B, Sumara O, Hick A, Bousson F, Zidouni Y, Mursch C, Moncuquet P, Tassy O, Vincent S, Miyanari A, Bera A, Garnier JM, Guevara G, Hestin M, Kennedy L, Hayashi S, Drayton B, Cherrier T, Gayraud-Morel B, Gussoni E, Relaix F, Tajbakhsh S, Pourquié O: Differentiation of pluripotent stem cells to muscle fiber to model Duchenne muscular dystrophy. *Nat Biotechnol* 33: 962-969, 2015
- 17) Kim JI, Magli A, Chan SSK, Oliveira VKP, Wu J, Darabi R, Kyba M, Perlingeiro RCR: Expansion and Purification Are Critical for the Therapeutic Application of Pluripotent Stem Cell-Derived Myogenic Progenitors. *Stem Cell Reports* 9: 12-22, 2017
- 18) Weller B, Karpati G, Carpenter S: Dystrophin-deficient mdx muscle fibers are preferentially vulnerable to necrosis induced by experimental

- lengthening contractions. *J Neurol Sci* 100: 9-13, 1990
- 19) Vilquin JT, Brussee V, Asselin I, Kinoshita I, Gingras M, Tremblay JP: Evidence of mdx mouse skeletal muscle fragility in vivo by eccentric running exercise. *Muscle Nerve* 21: 567-576, 1998
- 20) Bulfield G, Siller WG, Wight PA, Moore KJ: X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 1189-1192, 1984
- 21) Gordon BS, Lowe DA, Kostek MC: Exercise increases utrophin protein expression in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 49: 915-918, 2014
- 22) Hyzewicz J, Tanihata J, Kuraoka M, Ito N, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S: Low intensity training of mdx mice reduces carbonylation and increases expression levels of proteins involved in energy metabolism and muscle contraction. *Free Radic Biol Med* 82: 122e136, 2015
- 23) Hyzewicz J, Tanihata J, Kuraoka M, Nitahara-Kasahara Y, Beylier T, Ruegg UT, Vater A, Takeda S: Low-Intensity Training and the C5a Complement Antagonist NOX-D21 Rescue the mdx Phenotype through Modulation of Inflammation. *Am J Pathol* 187: 1147-1161, 2017
- 24) Jansen M, van Alfen N, Geurts AC, de Groot IJ: Assisted bicycle training delays functional deterioration in boys with Duchenne muscular dystrophy: the randomized controlled trial "no use is disuse". *Neurorehabil Neural Repair* 27: 816-27, 2013
- 25) Alemdaroğlu I, Karaduman A, Yilmaz ÖT, Topaloğlu H: Different types of upper extremity exercise training in Duchenne muscular dystrophy: effects on functional performance, strength, endurance, and ambulation. *Muscle Nerve* 51: 697-705, 2015
- 26) Stillwell E, Vitale J, Zhao Q, Beck A, Schneider J, Khadim F, Elson G, Altaf A, Yehia G, Dong JH, Liu J, Mark W, Bhaumik M, Grange R, Fraidenraich D: Blastocyst injection of wild type embryonic stem cells induces global corrections in mdx mice. *PLoS One* 4: e4759, 2009
- 27) Neri M, Torelli S, Brown S, Ugo I, Sabatelli P, Merlini L, Spitali P, Rimessi P, Gualandi F, Sewry C, Ferlini A, Muntoni F: Dystrophin levels as low as 30% are sufficient to avoid muscular dystrophy in the human. *Neuromuscul Disord* 17: 913-8, 2007
- 28) van den Bergen JC, Wokke BH, Janson AA, van Duinen SG, Hulsker MA, Ginjaar HB, van Deutekom JC, Aartsma-Rus A, Kan HE, Verschuuren JJ: Dystrophin levels and clinical severity in Becker muscular dystrophy patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 85: 747-53, 2014
- 29) Godfrey C, Muses S, McClorey G, Wells KE, Coursindel T, Terry RL, Betts C, Hammond S, O'Donovan L, Hildyard J, El Andaloussi S, Gait MJ, Wood MJ, Wells DJ: How much dystrophin is enough: the physiological consequences of different levels of dystrophin in the mdx mouse. *Hum Mol Genet* 24: 4225-37, 2015
- 30) Itoh Y, Murakami T, Mori T, Agata N, Kimura N, Inoue-Miyazu M, Hayakawa K, Hirano T, Sokabe M, Kawakami K: Training at non-damaging intensities facilitates recovery from muscle atrophy. *Muscle Nerve* 55: 243-253, 2017
- 31) Distefano G, Ferrari RJ, Weiss C, Deasy BM, Boninger ML, Fitzgerald GK, Huard J, Ambrosio F: Neuromuscular electrical stimulation as a method to maximize the beneficial effects of muscle stem cells transplanted into dystrophic skeletal muscle. *PLoS One* 8: e54922, 2013
- 32) Avin KG, Coen PM, Huang W, Stolz DB, Sowa GA, Dubé JJ, Goodpaster BH, O'Doherty RM, Ambrosio F: Skeletal muscle as a regulator of the longevity protein, Klotho. *Front Physiol* 5: 1-9, 2014

総 説

末梢神経電気刺激がもたらす神経生理学的変化

齊藤 慧¹⁾

The effect of peripheral nerve electrical stimulation on the corticospinal excitability

Kei Saito¹⁾

Abstract

Increasing excitability of the pathway between the primary motor cortex and the skeletal muscles might play an important role in promote functional motor recovery after central nervous system (CNS) damage. Peripheral nerve electrical stimulation (PES) effectively increases the excitability of this pathway in patients with CNS damage. Furthermore, PES combined with voluntary contraction or motor imagery is more effective than each intervention alone. However, the modulatory effect of PES on corticospinal excitability varies with the type of voluntary contraction performed. In healthy people, shortening contraction with PES increases corticospinal excitability, whereas isometric contraction with PES has no effect on excitability. On the other hand, PES parameter is a crucial factor for determining the extent of modulation of corticospinal excitability after PES. The application of train PES is a new method and is more effective than conventional PES in increasing excitability. In summary, both PES combined with voluntary contraction or motor imagery and train PES may promote functional motor recovery after CNS damage more than conventional PES does. However, further verification of the optimal parameter is necessary.

Key words: Electrical stimulation, Voluntary contraction, Motor imagery, Corticospinal excitability

1. はじめに

末梢電気刺激は皮膚上に貼付した刺激電極を通じて、神経や筋を経皮的に刺激することができる手法である (Fig. 1)。末梢電気刺激を与えることで筋収縮が誘発されるのみならず、末梢神経に発現した感覚入力によって中枢神経系を賦活させることが可能である。そのため、リハビリテーション領域では古くから



Figure 1. Stimulus electrodes for peripheral nerve electrical stimulation (IVES)

When PES is delivered to the extensor carpi radialis (ECR) muscle, stimulus electrodes were arranged on both sides of the motor point of ECR.

1) 新潟医療福祉大学 運動機能医科学研究所
Institute for Human Movement and Medical Sciences, Niigata
University of Health and Welfare

投稿責任者: 齊藤 慧
連絡先: 新潟県新潟市北区鳥見町1398番地
新潟医療福祉大学 運動機能医科学研究所
E-mail: kei-saito@nuhw.ac.jp

この末梢電気刺激を治療として用いており、現在では治療的電気刺激 (Therapeutic electrical stimulation: TES) や機能的電気刺激 (Functional electrical stimulation: FES) として広く普及している。さらに近年では随意的な筋活動量に応じて電気刺激強度が変わる随意運動介助型電気刺激装置 (Integrated volitional control electrical stimulation: IVES)¹⁾やIVESと手関節背屈装具を組み合わせたHANDS (Hybrid assistive neuromuscular dynamic stimulation) 療法²⁾などの新しい治療法が提案されており、いずれの治療法においても、脳卒中をはじめとした中枢神経系疾患患者のリハビリテーション治療の一端を担っている。

末梢電気刺激治療が脳卒中をはじめとした中枢神経系疾患患者のリハビリテーションに応用されるようになった背景には、麻痺肢の運動機能や筋緊張など晩年に至るまで後遺症として残存しやすい症状を改善させる治療効果³⁾があることが関係している。このような末梢電気刺激がもつ治療効果の理解を深めるうえで、刺激によって生じる神経生理学的変化を理解することは必要不可欠である。例えば、末梢電気刺激治療を行うことで、損傷した一次運動野から α 運動ニューロンを経由して筋へと至る神経回路のひとつである皮質脊髄路の興奮性が増大することがわかっている⁴⁾。さらに損傷側の一次運動野内に存在するGABA_A作動性ニューロンの活動性が低下し、一次運動野内の抑制作用が減弱することも明らかとなっている²⁾。他にも運動麻痺からの回復過程において、コリン作動性ニューロンの活動性低下が関与している可能性が指摘されている⁵⁾。

このような一次運動野を中心とした皮質領域の神経生理学的変化を効果的に引き出すためには末梢電気刺激の刺激パラメーターを十分に考慮することが必要である。例えば、刺激強度⁶⁾⁻⁸⁾や刺激周波数⁹⁾¹⁰⁾、刺激時間¹¹⁾¹²⁾は末梢電気刺激による効果に影響をもたらすことが知られており、これらをまとめた文献レビューも存在する¹³⁾⁻¹⁵⁾。さらに近年盛んにリハビリテーション治療に取り入れられている末梢電気刺激を随意運動や運動イメージなどの他の手法との組み合わせについて、それにより皮質領域の神経生理学的変化を誘導させるためには電気刺激に関するパラメーターのみならず、随意運動のパラメーターにも目を向ける必要がある。そこで本稿では末梢電気刺激がもたらす神経生理学的変化に関する知見に触れた後、末梢電気刺激と随意運動などの他の手法との併用による一次運動野の興奮性変化、末梢電気刺激の新たな刺激パラメーターに

よる一次運動野の興奮性の修飾効果に焦点をあて、その最近の知見を紹介する。

2. 末梢電気刺激による神経生理学的変化とその作用機序

末梢電気刺激は感覚神経を介して上行性入力を発現させることで刺激と反対側の一次運動野や一次体性感覚野、二次体性感覚野、補足運動野、刺激と同側の小脳の活動を惹起することがわかっている¹⁶⁾⁻²¹⁾。末梢電気刺激によって生じた感覚入力視床を経由し、刺激肢と反対側の一次体性感覚野に到達する。さらに、一次体性感覚野と一次運動野の間には密な神経連絡があることから²²⁾、末梢電気刺激による感覚入力は刺激肢と反対側の一次運動野へと到達すると考えられている。ここでは、末梢電気刺激によって生じる皮質脊髄路興奮性の変化や一次体性感覚野を介した一次運動野の興奮性の修飾作用、一次運動野における抑制作用がどのように変化するか焦点をあてて、最近の知見を紹介する。

末梢電気刺激を与えることで皮質脊髄路興奮性が増大することが数多く報告されている^{6),7),9),10),11),23)-30)}。それにはいくつかの作用機序が関与している可能性が指摘されている。まず、一次体性感覚野を介して一次運動野の興奮性への抑制作用の変化があげられる。Mangら (2012) は末梢電気刺激とTMSを用いて、末梢電気刺激後に短潜時求心性抑制 (Short-latency afferent inhibition: SAI) が減弱することを明らかにしている³¹⁾。SAIとは末梢に生じた固有受容感覚が一次体性感覚野を介して一次運動野の興奮性を抑制する作用のことであり³²⁾、コリン作動性ニューロンが関与している³³⁾。したがって、末梢電気刺激後にはコリン作動性ニューロンの活動性が低下し、一次体性感覚野を介した一次運動野の興奮性の抑制作用が減弱すると考えられている。次に、一次運動野内における抑制作用の変化があげられる。Golaszewskiら (2012) は2連発TMSを用いて、末梢電気刺激後に短間隔皮質内抑制 (Short intracortical inhibition: SICI) の減弱が生じることを報告している³⁴⁾。SICIとは一次運動野内の抑制性ニューロンが錐体細胞の活動を抑制する作用のことであり、GABA_Aの関与が明らかとなっている³⁵⁾。末梢電気刺激を行うことで、一次運動野内にあるGABA_A作動性ニューロンの活動性が低下し、それにより一次運動野の抑制作用が減弱すると考えられている。一方、末梢電気刺激は抑制性ニューロンのみに作用するのではなく、皮質内促進 (Intracortical

facilitation: ICF)³⁴⁾や求心性促通 (Afferent facilitation: AF)³¹⁾といった一次運動野の興奮性に作用する促通性ニューロンの活動性を増強することで一次運動野の興奮性を増強することもわかってきている。これらの結果は、末梢電気刺激によって生じた感覚入力が中枢神経系を上行し、GABA_Aやコリン作動性の抑制性ニューロンや促通性ニューロンの活動性を調節することで一次運動野の興奮性を増強していることを示唆している。さらに、近年では末梢電気刺激後に半球間抑制が変化することも報告されていることから³⁶⁾、依然として明らかとなっていない効果機序が存在している可能性があり、今後さらなる研究の推進が期待されている。

3. 末梢電気刺激と随意運動・運動イメージの併用効果

末梢電気刺激は単独で使用了際にも皮質脊髄路興奮性を変化することが可能であるが、随意運動や運動イメージと組み合わせることによってさらなる変化を誘導することが期待できる。ここでは、末梢電気刺激が随意運動や運動イメージにもたらす影響を神経生理学的観点から検証した報告例を紹介する。

1) 随意運動

末梢電気刺激を随意運動と組み合わせることで皮質脊髄路興奮性の増大^{37)–44)}や一次運動野における抑制作用を示す皮質内抑制 (SICI) が減弱すること²⁾が明らかとなっている。さらに末梢電気刺激と随意運動を組み合わせたときには脊髄レベルの神経活動の指標であるH反射の振幅は変化しないことから³⁹⁾、2つの併用効果は一次運動野における神経活動の変化、特にGABA_A作動性抑制性ニューロンの神経活動の減弱に起因していると考えられている。また、随意運動と末梢電気刺激の併用効果はターゲットとした筋のみならず、その拮抗筋のSICIを増強することもわかっており⁴²⁾、拮抗筋のGABA_A作動性抑制性ニューロンの神経活動が増強する可能性も指摘されている。

このように末梢電気刺激と随意運動の組み合わせが一次運動野を中心とした神経活動に影響をもたらすことは数多く報告されているが、末梢電気刺激と組み合わせている随意運動は等尺性収縮が多数を占めている。随意運動には等尺性収縮のみならず、求心性収縮や遠心性収縮など異なる収縮様式があり、その収縮様式の違いによって随意運動中の皮質脊髄路興奮性が変化することがわかっている^{45)–52)}。そのため、末梢電気刺激と随意運動を組み合わせる際にはその収縮様式を

考慮する必要があると考えられる。そこで我々は、末梢電気刺激を求心性収縮と等尺性収縮と組み合わせ、その効果を経頭蓋磁気刺激法を用いて検証している⁵³⁾ (Fig. 2)。第一背側骨間筋 (First dorsal interosseus muscle; FDI) を求心性に収縮させながら尺骨神経に対して末梢電気刺激を与えたとき、感覚閾値上刺激は随意運動中の皮質脊髄路興奮性を増大させるが、運動閾値上刺激では興奮性を変化させることができなかった (Fig. 3)。一方、FDIで等尺性収縮を行う場合、末梢電気刺激はその刺激強度に関わらず、随意運動中の皮質脊髄路興奮性は変化しなかった (Fig. 3)。これは、末梢電気刺激が随意運動に画一的な影響をもたらすのではなく、随意運動の収縮様式によってその影

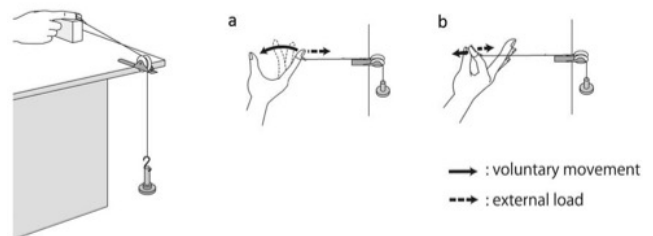


Figure 2. Types of voluntary contraction combined with peripheral nerve electrical stimulation

a) Shortening contraction: The subjects flexed the metacarpophalangeal (MP) joint of the index finger while the finger received an external torque; b) Isometric contraction: The subjects maintained the MP joint at 90° while the index finger received an external torque. From Saito et al.⁽⁵³⁾.

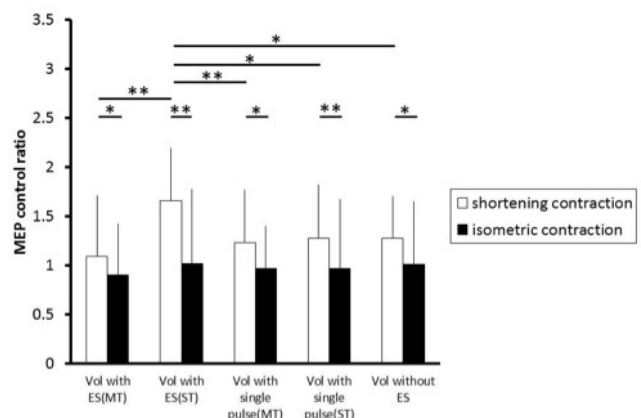


Figure 3. The combined effect of peripheral nerve electrical stimulation (PES) and voluntary contraction

PES above the sensory threshold [ES (ST)] increases corticospinal excitability during a shortening contraction. However, PES has no effect on excitability during an isometric contraction. These results indicate that the modulatory effect of PES on corticospinal excitability differs depending on the type of voluntary contraction being performed. From Saito et al.⁽⁵³⁾.

響が異なる可能性を示唆している。本研究では末梢電気刺激が随意運動にもたらす即時的な影響のみの検証ではあるが、2つを併用して一次運動野から脊髄へと至る皮質脊髄路のシナプス可塑性を誘導して、長期的に興奮性を増強させるときにも考慮すべき知見であると考えている。

また、収縮様式が同じ等尺性収縮であったとしても、その方法によって末梢電気刺激がもたらす効果は変わってくる可能性がある。先に述べた我々の研究では外力に抗して一定の関節角度を維持する等尺性収縮（角度制御課題）を用いたが、末梢電気刺激が随意運動中の皮質脊髄路興奮性を変化させることはなかった。一方、Sugawaraら（2014）の研究では、被験者にピンチメーターを把持させ、既定のピンチ力となるように等尺性収縮を行う課題（力制御課題）を用いて、末梢電気刺激がもたらす影響を検証している⁴³⁾。末梢電気刺激を力制御課題と組み合わせると、皮質脊髄路興奮性が有意に増大することを示している。末梢電気刺激が等尺性収縮にもたらす影響の相違については末梢からの一次運動野へと到達する感覚入力量の相違が関与していると考えられるが、今後のさらなる研究推進による詳細な解明が待たれるところである。

2) 運動イメージ

運動イメージは実際の運動を遂行することなく、運動遂行に関わる脳領域を賦活させることができる手法として注目され、1990年代に脳イメージング法を用いて数多くの研究が行われている。運動イメージはイメージしている肢と反対側の一次運動野や補足運動野、運動前野、頭頂葉および同側小脳などを賦活させることができる^{54)–63)}。さらに経頭蓋磁気刺激法を用いた研究も数多く報告され、運動イメージ中に皮質脊髄路興奮性が増大すること^{64)–78)}や2連発磁気刺激による

SICIが減弱すること⁷⁹⁾がわかっている。この結果は、運動イメージが実際の運動を遂行することなく、GABA_A作動性抑制性介在ニューロンの活動性を低下させ、一次運動野の活動性を増強する可能性を示唆している。しかしながら、運動イメージには随意的に運動を遂行した際に生じる末梢からの感覚入力に欠如している。運動イメージが随意運動よりも皮質脊髄路を賦活させることができないのは、この感覚入力の欠如が原因であると考えられている⁸⁰⁾。

そこで我々は運動イメージに末梢電気刺激を組み合わせることで、運動イメージに欠如している感覚情報を補うことが可能になると考え、その併用効果を経頭蓋磁気刺激法を用いて検証している（Fig. 4）⁴¹⁾。運動イメージとしてFDIを収縮させて示指のMP関節が屈曲する運動を想起させ、それに併せて尺骨神経に対して末梢電気刺激を与えた。その結果、運動イメージに併せて運動閾値上刺激を与えたときに運動イメージ

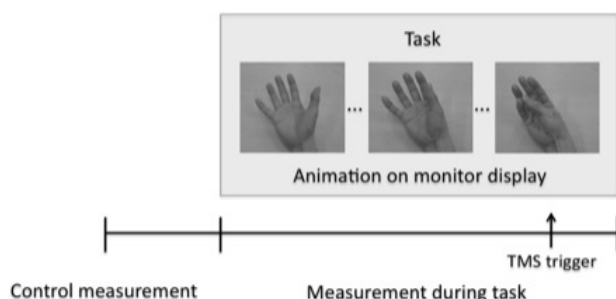


Figure 4. The method used for combined peripheral nerve electrical stimulation and motor imagery

The subjects imagined a movement of touching the right thumb to the little finger while watching a video clip showing the same hand movement. From Saito et al.⁽⁴⁵⁾.

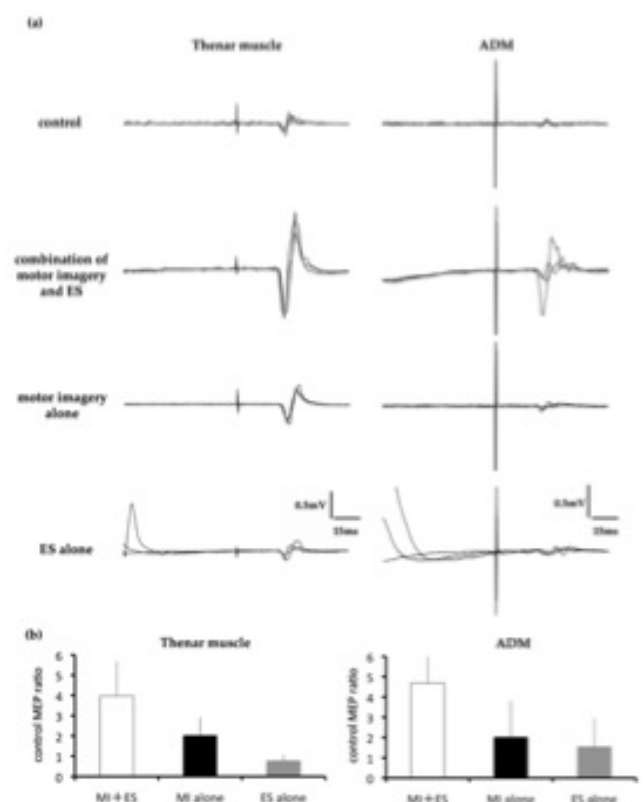


Figure 5. The combined effect of peripheral nerve electrical stimulation (PES) and motor imagery (MI) on corticospinal excitability

a) Typical motor-evoked potential waveform recorded in the thenar muscle and abductor digiti minimi muscle; b) The combination of PES and MI (MI + ES) is most effective in increasing corticospinal excitability among the three interventions [combined PES and MI, MI alone (MI), and PES alone (ES)]. From Saito et al.⁽⁴⁵⁾.

を単独で行ったときよりも皮質脊髄路興奮性が増大することが明らかとなった (Fig. 5). また, Kanekoら (2014) は末梢電気刺激が運動イメージに欠如している感覚情報を補完することができるかどうかを検証している⁸⁰⁾. 末梢電気刺激を運動イメージと併せて行うことで実際に運動を遂行しているときと同程度の皮質脊髄路興奮性を得ることに成功している. これは末梢

電気刺激によって発現した感覚入力に運動イメージに欠如している感覚入力を補完している可能性を示唆するものである.

4. 末梢神経へのトレイン刺激がもたらす修飾作用

末梢電気刺激は一次運動野などに神経生理学的変化

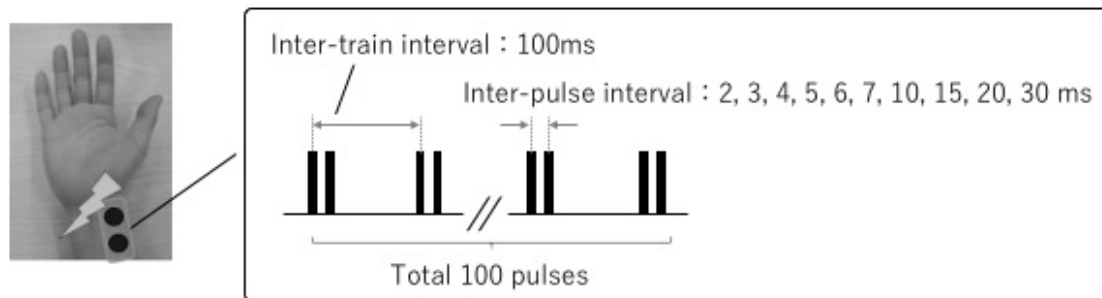


Figure 6. A train (two pulses) of peripheral nerve electrical stimulation (PES)

In this study, train PES with a train of two single pulses at various inter-pulse intervals (2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 15, 20, and 30 ms) was delivered to the right median nerve at the wrist. Methods adopted from Saito et al.⁽³⁰⁾.

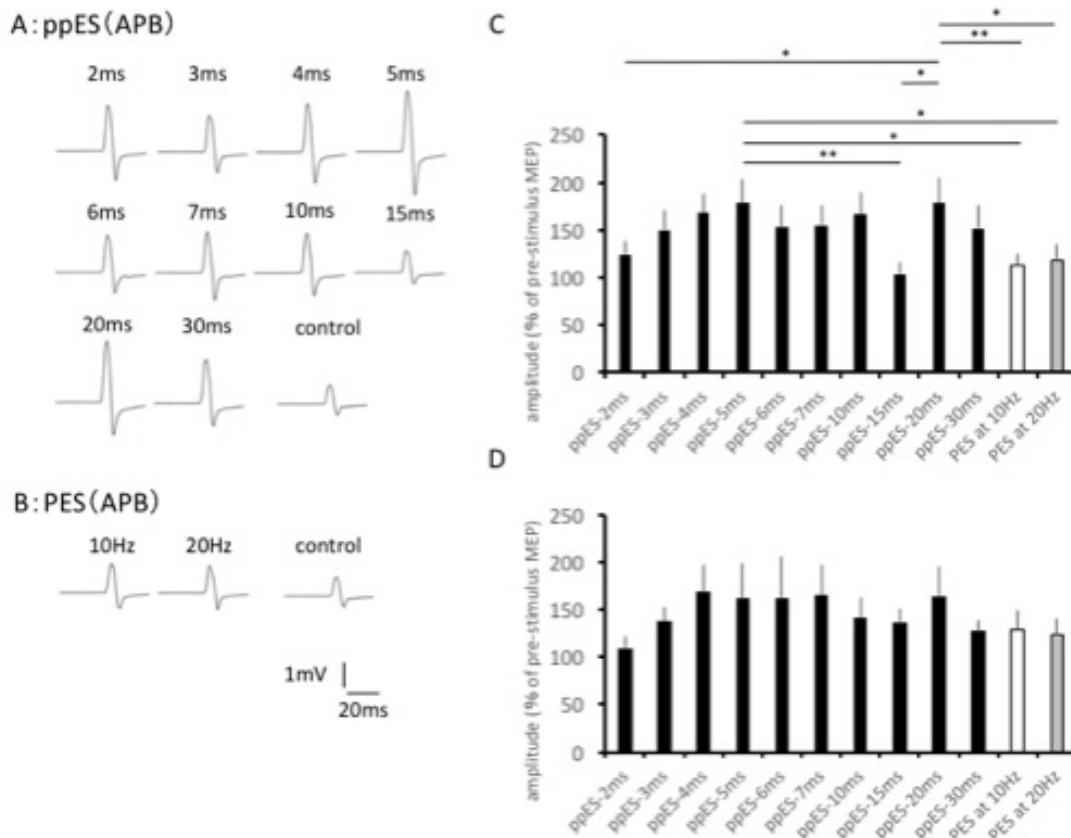


Figure 7. A train (two pulses) of peripheral nerve electrical stimulation (PES) modulates corticospinal excitability

A typical motor-evoked potential waveform recorded in the abductor pollicis brevis muscle (APB) after (A) the delivery of a train of PES (ppES), and (B) conventional PES. A ppES with a train of two single pulses at 5 and 20 ms delivered to the median nerve increases corticospinal excitability of APB; however, it does not modulate the excitability of the abductor digiti minimi muscle. Conventional PESs (PES at 10 and 20 Hz) have no effect on corticospinal excitability. From Saito et al.⁽³⁰⁾.

を誘導することが可能であるが、その効果は刺激強度^{6)–8)}、刺激時間¹¹⁾¹²⁾などの刺激パラメーターによって大きく異なることが以前から知られている。さらに近年では、複数の刺激パルスを組み合わせたトレインを一定の間隔で与えるトレイン刺激が神経生理学的変化を誘導するうえで有効であることが明らかになってきている⁸¹⁾。ここでは、トレイン刺激が皮質脊髄路興奮性にもたらす影響に焦点を当てて、我々が行ってきた研究から得られた知見を紹介する。

まず、我々は2発の刺激パルスからなるトレイン刺激が皮質脊髄路興奮性に及ぼす影響について検証を行

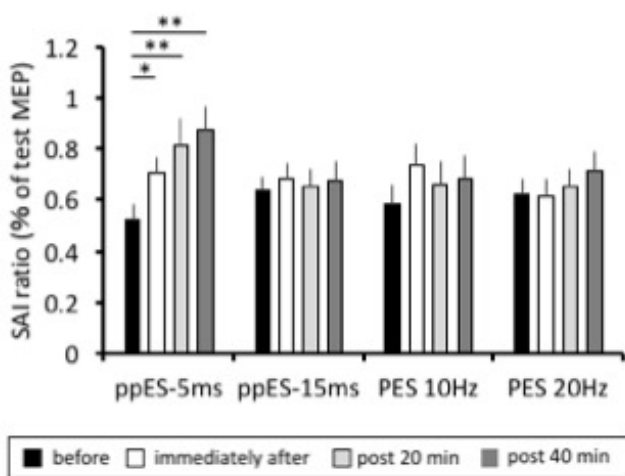


Figure 8. The effect of a train (two pulses) of peripheral nerve electrical stimulation (PES) on short-latency afferent inhibition (SAI)

ppES of 20 min, which includes a train of two single pulses at 5-ms inter-pulse interval (ppES-5ms) applied to the median nerve, reduces SAI recorded in the abductor pollicis brevis muscle for 40 min after stimulation. In contrast, ppES with a train of two single pulses at 15-ms inter-pulse interval (ppES-15ms) and conventional PES (PES at 10 and 20 Hz) have no effect on SAI. Results adopted from Saito et al.³⁰⁾.

った³⁰⁾ (Fig. 6). パルス間隔を 5 ms もしくは 20 ms としたトレイン刺激を 5 秒間実施すると皮質脊髄路興奮性が通常の電気刺激を行ったときよりも増大する (Fig. 7). さらにパルス間隔が 5 ms であるトレイン刺激を 20 分間実施すると刺激終了 40 分後まで SAI が減弱することが明らかとなっている (Fig. 8). これは 2 連発のトレイン刺激が通常の電気刺激よりも一次体性感覚野を介した一次運動野への抑制回路のシナプス可塑性を減弱させ、一次運動野の興奮性を増強させる可能性を示唆しており、トレイン刺激が通常の電気刺激よりも脳卒中後の運動機能回復を促進することが期待される。一方、トレイン内の至適な刺激パルス数についても検証を進めている。トレイン内の刺激パルスを 1, 2, 4, 6, 8, 10 発としたトレイン刺激を 5 秒間行った直後の皮質脊髄路に生じる興奮性変化を検討したところ、刺激パルスが 8 発のときに興奮性が最も増大することが明らかとなっている⁸²⁾ (Fig. 9). これはトレインに含まれる刺激パルス数が多いほど、運動皮質から脊髄へと至る神経回路の活動性が高くなることを示唆している。しかし、トレインに含まれる刺激パルス数が多くなるに従い、5 秒間に生体に与える電気刺激パルスの総数も併せて多くなっており、トレイン刺激後の効果がそのどちらに依存して変化しているのかを検証する必要がある。そこで、5 秒間に与える刺激パルス総数を一定にしたときに、トレインに含まれる刺激パルス数の変化に応じて皮質脊髄路興奮性が変化するかを検証している (Fig. 10). トレイン内の刺激パルスを 4 発と 8 発の 2 条件とし、トレインの刺激パルス数が 4 発のときにはトレイン間隔を 50 ms、トレインの刺激パルス数が 8 発のときにはトレイン間隔を 100 ms とすることで、5 秒間に与える刺激パルス総数がいずれの条件も 400 発となるようにした。その結果、トレイン内の刺激パルス数が 4 発のと

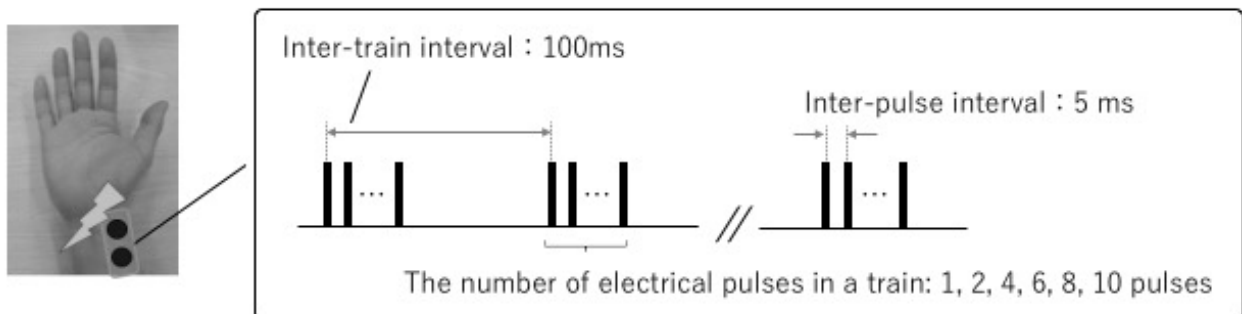


Figure 9. The effect of a train (one to ten pulses) of peripheral nerve electrical stimulation (PES) on corticospinal excitability

In this study, a train of PES (train PES), with one to ten pulses at 5-ms inter-pulse interval, was applied to the right median nerve.

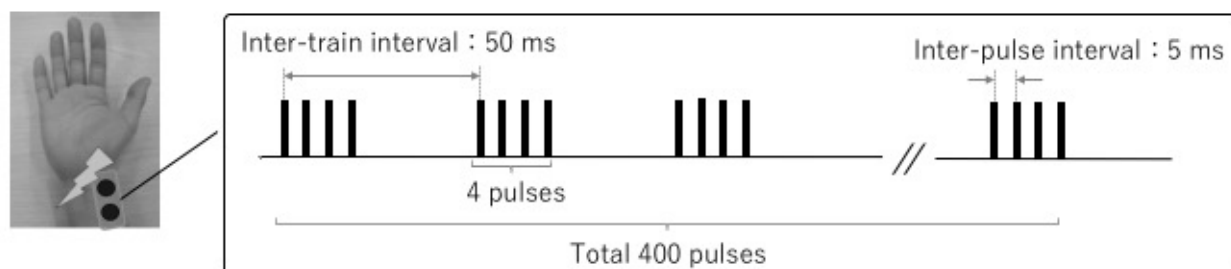
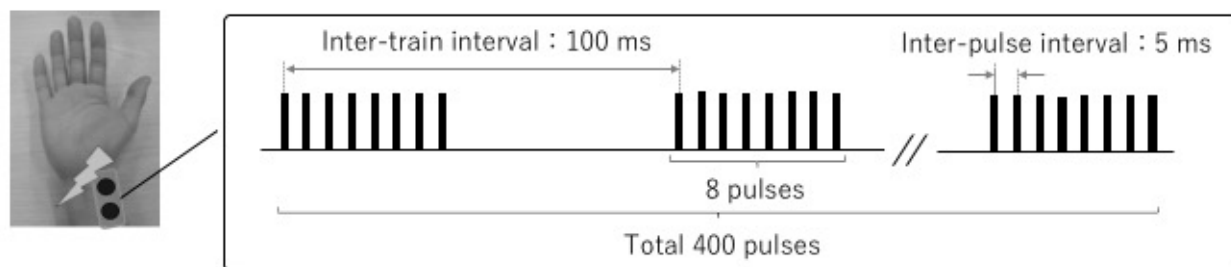
Train (four pulses) of PES**Train (eight pulses) of PES**

Figure 10. The modulatory effect of total electrical pulse on corticospinal excitability after a train of peripheral electrical stimulation (train PES)

In this study, the number of electrical pulses included in a train was set between four and eight. When the number of electrical pulses was four, the inter-train interval (ITI) was set at 50 ms. In contrast, when the number of electrical pulses was eight, the ITI was set at 100 ms. Therefore, the total number of electrical pulses applied for 5 s was set at 400.

きに生じる皮質脊髄路の興奮性増大はトレインの刺激パルス数が8発のときと同程度であった。つまり、皮質脊髄路興奮性を増大させる刺激方法として、トレイン刺激は通常の電気刺激よりも高い効果を有していると考えられるが、トレイン内に含まれる刺激パルス数よりも刺激時間の中で与える刺激パルスの総数を多くすることが重要である可能性を示唆している。しかしながら、なぜトレイン内の刺激パルス数が10発のときではなく、8発のときに最も皮質脊髄路興奮性が増大したのかについては明らかになっておらず、今後の研究が待たれるところである。

5. おわりに

末梢電気刺激治療は古くからリハビリテーション医療の現場で利用されてきており、その有効性は明らかになっている。また、脳卒中後の運動機能回復に中枢神経系の神経ネットワークの再編が関与していることも明らかになってきており、運動機能回復を促進するために神経ネットワークをどの方向性に誘導すべきなのかも徐々に解明されつつある。近年では末梢電気刺激治療がもたらす効果の背景には中枢神経系の神経ネ

ットワークの再編が関与している可能性が示唆されている。しかし、末梢電気刺激治療の刺激パラメーターが神経ネットワークの再編にどのような影響をもたらすのか、末梢電気刺激治療と他の手法をどのように組み合わせれば神経ネットワークの再編を最も効果的に、かつ効率よく誘導することができるのかなどについては依然として議論の最中であり、今後のさらなる研究推進が期待されている。それにより得られた新たな知見をこれまで蓄積されてきた基礎的データや臨床現場で培われてきた経験知と融合することで、末梢電気刺激治療はさらなる発展を遂げ、われわれ理学療法士が中枢神経系疾患患者の運動機能にアプローチするうえで手放すことができない優れた治療法になると信じている。

さらに今後、リハビリテーション医療はiPS細胞をはじめとした再生医療が急速に発展していることを受けて大きな変換点を迎えることは自明である。そのため、今後は末梢電気刺激治療をはじめとした、これまで理学療法士が臨床現場で用いてきた治療法が再生医療によって再構築された神経ネットワークにどのような影響を及ぼし、それを適切に再編するためにはどのように使用すればよいのかについての知見を構築して

いくことも必要であると考え。

文 献

- 1) Muraoka Y, Tanabe S, Yamaguchi T, Takeda K: Specifications of an electromyogram-driven neuromuscular stimulator for upper limb functional recovery. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*: 277-280, 2013
- 2) Fujiwara T, Kasashima Y, Honaga K, Muraoka Y, Tsuji T, Osu R, Hase K, Masakado Y, Liu M: Motor improvement and corticospinal modulation induced by hybrid assistive neuromuscular dynamic stimulation (HANDS) therapy in patients with chronic stroke. *Neurorehabil Neural Repair* 23: 125-132, 2009
- 3) Langhorne P, Coupar F, Pollock A: Motor recovery after stroke: a systematic review. *Lancet Neurol* 8: 741-754, 2009
- 4) Everaert DG, Thompson AK, Chong SL, Stein RB: Does functional electrical stimulation for foot drop strengthen corticospinal connections? *Neurorehabil Neural Repair* 24: 68-177, 2010
- 5) Di Lazzaro V, Profice P, Pilato F, Capone F, Ranieri F, Florio L, Colosimo C, Pravata E, Pasqualetti P, Dileone M: The level of cortical afferent inhibition in acute stroke correlates with long-term functional recovery in humans. *Stroke* 43: 250-252, 2012
- 6) Khaslavskaja S, Ladouceur M, Sinkjaer T: Increase in tibialis anterior motor cortex excitability following repetitive electrical stimulation of the common peroneal nerve. *Exp Brain Res*, 145: 309-315, 2002
- 7) Chipchase LS, Schabrun SM, Hodges PW: Corticospinal excitability is dependent on the parameters of peripheral electric stimulation: a preliminary study. *Arch Phys Med Rehabil* 92: 1423-1430, 2011
- 8) Sasaki R, Kotan S, Nakagawa M, Miyaguchi S, Kojima S, Saito K, Inukai Y, Onishi H: Presence and Absence of Muscle Contraction Elicited by Peripheral Nerve Electrical Stimulation Differentially Modulate Primary Motor Cortex Excitability. *Front Hum Neurosci* 11: 146, 2017
- 9) Fraser C, Power M, Hamdy S, Rothwell J, Hobday D, Hollander I, Tyrell P, Hobson A, Williams S, Thompson D: Driving plasticity in human adult motor cortex is associated with improved motor function after brain injury. *Neuron*, 34: 831-840, 2002
- 10) Mang CS, Lagerquist O, Collins DF: Changes in corticospinal excitability evoked by common peroneal nerve stimulation depend on stimulation frequency. *Exp Brain Res*, 203: 11-20, 2010
- 11) McKay D, Brooker R, Giacomini P, Ridding M, Miles T: Time course of induction of increased human motor cortex excitability by nerve stimulation. *Neuroreport* 13: 1271-1273, 2002
- 12) 齊藤慧, 山口智史, 田辺茂雄, 菅原憲一, 近藤国嗣, 大高洋平: 末梢神経電気刺激の刺激時間が皮質脊髄路の興奮性変化に及ぼす影響. *日本物理療法学会会誌* 20, 43-47, 2013.
- 13) Chipchase LS, Schabrun SM, Hodges PW: Peripheral electrical stimulation to induce cortical plasticity: a systematic review of stimulus parameters. *Clin Neurophysiol* 122: 456-463, 2011
- 14) Veldman MP, Maffiuletti NA, Hallett M, Zijdwind I, Hortobágyi T: Direct and crossed effects of somatosensory stimulation on neuronal excitability and motor performance in humans. *Neurosci Biobehav Rev*, 47: 22-35, 2014
- 15) Jaberzadeh S, Mezhev D, Zoghi M: What is the effect of motor level peripheral electrical stimulation on corticospinal excitability and functional outcome measures in both healthy participants and those with neurological disorders? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Physiotherapy Research* 2(1): 1-14, 2017
- 16) Han BS, Jang SH, Chang Y, Byun WM, Lim SK, Kang DS: Functional magnetic resonance image finding of cortical activation by neuromuscular electrical stimulation on wrist extensor muscles. *Am J Phys Med Rehabil*, 82: 17-20, 2003
- 17) Smith GV, Alon G, Roys SR, Gullapalli RP: Functional MRI determination of a dose-response relationship to lower extremity neuromuscular electrical stimulation in healthy subjects. *Exp Brain Res* 150: 33-39, 2003
- 18) Blickenstorfer A, Kleiser R, Keller T, Keisker B, Meyer M, Riener R, Kollias S: Cortical and subcortical correlates of functional electrical stimulation of wrist extensor and flexor muscles revealed by fMRI. *Hum Brain Mapp* 30: 963-975, 2009

- 19) Francis S, Lin X, Aboushoushah S, White TP, Phillips M, Bowtell R, Constantinescu CS: fMRI analysis of active, passive and electrically stimulated ankle dorsiflexion. *Neuroimage* 44: 469-479, 2009
- 20) Iftime-Nielsen SD, Christensen MS, Vingborg RJ, Sinkjaer T, Roepstorff A, Grey MJ: Interaction of electrical stimulation and voluntary hand movement in SII and the cerebellum during simulated therapeutic functional electrical stimulation in healthy adults. *Hum Brain Mapp* 33: 40-49, 2012
- 21) Wegrzyk J, Ranjeva JP, Fouré A, Kavounoudias A, Vilmen C, Mattei JP, Guye M, Maffiuletti NA, Place N, Bendahan D, Gondin J: Specific brain activation patterns associated with two neuromuscular electrical stimulation protocols. *Sci Rep* 7:2742, 2017
- 22) Jones EG: The nature of the afferent pathways conveying short-latency inputs to primate motor cortex. *Adv Neurol* 39: 263-285, 1983
- 23) Ridding MC, Brouwer B, Miles TS, Pitcher JB, Thompson PD: Changes in muscle responses to stimulation of the motor cortex induced by peripheral nerve stimulation in human subjects. *Exp Brain Res*, 131: 135-143, 2000
- 24) Ridding MC, McKay DR, Thompson PD, Miles TS: Changes in corticomotor representations induced by prolonged peripheral nerve stimulation in humans. *Clin Neurophysiol* 112: 1461-1469, 2001
- 25) Kaelin-Lang A, Luft AR, Sawaki L, Burstein AH, Sohn YH, Cohen LG: Modulation of human corticomotor excitability by somatosensory input. *J Physiol* 540: 623-633, 2002
- 26) Charlton CS, Ridding MC, Thompson PD, Miles TS: Prolonged peripheral nerve stimulation induces persistent changes in excitability of human motor cortex. *J Neurol Sci*, 208: 79-85, 2003
- 27) Knash ME, Kido A, Gorassini M, Chan KM, Stein RB: Electrical stimulation of the human common peroneal nerve elicits lasting facilitation of cortical motor-evoked potentials. *Exp Brain Res* 153: 366-377, 2003
- 28) Mang CS, Clair JM, Collins DF: Neuromuscular electrical stimulation has a global effect on corticospinal excitability for leg muscles and a focused effect for hand muscles. *Exp Brain Res* 209: 355-363, 2011
- 29) Andrews RK, Schabrun SM, Ridding MC, Galea MP, Hodges PW, Chipchase LS: The effect of electrical stimulation on corticospinal excitability is dependent on application duration: a same subject pre-post test design. *J Neuroeng Rehabil* 10: 51, 2013.
- 30) Saito K, Onishi H, Miyaguchi S, Kotan S, Fujimoto S: Effect of Paired-Pulse Electrical Stimulation on the Activity of Cortical Circuits. *Front Hum Neurosci* 9: 671, 2015
- 31) Mang CS, Bergquist AJ, Roshko SM, Collins DF: Loss of short-latency afferent inhibition and emergence of afferent facilitation following neuromuscular electrical stimulation. *Neurosci Lett* 529: 80-85, 2012
- 32) Tokimura H, Di Lazzaro V, Tokimura Y, Oliviero A, Profice P, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell JC: Short latency inhibition of human hand motor cortex by somatosensory input from the hand. *J Physiol*, 523 (2): 503-513, 2000
- 33) Di Lazzaro V, Oliviero A, Profice P, Pennisi MA, Di Giovanni S, Zito G, Tonali P, Rothwell JC: Muscarinic receptor blockade has differential effects on the excitability of intracortical circuits in the human motor cortex. *Exp Brain Res* 135: 455-461, 2000
- 34) Golaszewski SM, Bergmann J, Christova M, Kunz AB, Kronbichler M, Rafolt D, Gallasch E, Staffen W, Trinka E, Nardone R: Modulation of motor cortex excitability by different levels of whole-hand afferent electrical stimulation. *Clin Neurophysiol* 123: 193-199, 2012
- 35) Ziemann U: TMS and drugs. *Clin Neurophysiol* 115: 1717-1729, 2004
- 36) Gueugneau N, Grosprêtre S, Stapley P, Lepers R: High-frequency neuromuscular electrical stimulation modulates interhemispheric inhibition in healthy humans. *J Neurophysiol* 117: 467-475, 2017
- 37) Thompson AK, Stein RB: Short-term effects of functional electrical stimulation on motor-evoked potentials in ankle flexor and extensor muscles. *Exp Brain Res* 159: 491-500, 2004
- 38) Khaslavskaja S, Sinkjaer T: Motor cortex excitability following repetitive electrical stimulation of the common peroneal nerve depends on the voluntary drive. *Exp Brain Res* 162: 497-502, 2005
- 39) Thompson AK, Doran B, Stein RB: Short-term effects of functional electrical stimulation on spinal

- excitatory and inhibitory reflexes in ankle extensor and flexor muscles. *Exp Brain Res* 170: 216-226, 2006
- 40) Yamaguchi T, Sugawara K, Tanaka S, Yoshida N, Saito K, Tanabe S, Muraoka Y, Liu M: Real-time changes in corticospinal excitability during voluntary contraction with concurrent electrical stimulation. *PLoS One* 7: e46122, 2012
 - 41) Saito K, Yamaguchi T, Yoshida N, Tanabe S, Kondo K, Sugawara K: Combined effect of motor imagery and peripheral nerve electrical stimulation on the motor cortex. *Exp Brain Res* 227: 333-342, 2013
 - 42) Sugawara K, Tanabe S, Higashi T, Tsurumi T, Kasai T: Changes of excitability in M1 induced by neuromuscular electrical stimulation differ between presence and absence of voluntary drive. *Int J Rehabil Res* 34: 100-109, 2011
 - 43) Sugawara K, Yamaguchi T, Tanabe S, Suzuki T, Saito K, Higashi T: Time-dependent changes in motor cortical excitability by electrical stimulation combined with voluntary drive. *Neuroreport*, 404-409, 2013
 - 44) Jochumsen M, Niazi IK, Signal N, Nedergaard RW, Holt K, Haavik H, Taylor D: Pairing Voluntary Movement and Muscle-Located Electrical Stimulation Increases Cortical Excitability. *Front Hum Neurosci* 10: 482, 2016.
 - 45) Abbruzzese G, Morena M, Spadavecchia L, Schieppati M: Response of arm flexor muscles to magnetic and electrical brain stimulation during shortening and lengthening tasks in man. *J Physiol* 481 (2): 499-507, 1994
 - 46) Sekiguchi H, Kimura T, Yamanaka K, Nakazawa K: Lower excitability of the corticospinal tract to transcranial magnetic stimulation during lengthening contractions in human elbow flexors. *Neurosci Lett* 312: 83-86, 2001
 - 47) Sekiguchi H, Nakazawa K, Suzuki S: Differences in recruitment properties of the corticospinal pathway between lengthening and shortening contractions in human soleus muscle. *Brain Res* 977: 169-179, 2003
 - 48) Sekiguchi H, Kohno Y, Hirano T, Akai M, Nakajima Y, Nakazawa K: Modulation of corticospinal excitability during lengthening and shortening contractions in the first dorsal interosseus muscle of humans. *Exp Brain Res* 178: 374-384, 2007
 - 49) Gruber M, Linnamo V, Strojnik V, Rantalainen T, Avela J: Excitability at the motoneuron pool and motor cortex is specifically modulated in lengthening compared to isometric contractions. *J Neurophysiol* 101: 2030-2040, 2009
 - 50) Uematsu A, Obata H, Endoh T, Kitamura T, Hortobágyi T, Nakazawa K, Suzuki S: Asymmetrical modulation of corticospinal excitability in the contracting and resting contralateral wrist flexors during unilateral shortening, lengthening and isometric contractions. *Exp Brain Res* 206: 59-69, 2010
 - 51) Duclay J, Pasquet B, Martin A, Duchateau J: Specific modulation of corticospinal and spinal excitabilities during maximal voluntary isometric, shortening and lengthening contractions in synergist muscles. *J Physiol* 589: 2901-2916, 2011
 - 52) Duclay J, Pasquet B, Martin A, Duchateau J: Specific modulation of spinal and cortical excitabilities during lengthening and shortening submaximal and maximal contractions in plantar flexor muscles. *J Appl Physiol* 117: 1440-1450, 2014
 - 53) Saito K, Sugawara K, Miyaguchi S, Matsumoto T, Kirimoto H, Tamaki H, Onishi H: The modulatory effect of electrical stimulation on the excitability of the corticospinal tract varies according to the type of muscle contraction being performed. *Front Hum Neurosci* 8: 835, 2014
 - 54) Roland PE, Larsen B, Lassen NA, Skinhøj E: Supplementary motor area and other cortical areas in organization of voluntary movements in man. *J Neurophysiol* 43: 118-136, 1980
 - 55) Decety J, Sjöholm H, Ryding E, Stenberg G, Ingvar DH: The cerebellum participates in mental activity: tomographic measurements of regional cerebral blood flow. *Brain Res* 535: 313-317, 1990
 - 56) Stephan KM, Fink GR, Passingham RE, Silbersweig D, Ceballos-Baumann AO, Frith CD, Frackowiak RS: Functional anatomy of the mental representation of upper extremity movements in healthy subjects. *J Neurophysiol* 73: 373-386, 1995
 - 57) Porro CA, Francescato MP, Cettolo V, Diamond ME, Baraldi P, Zuiani C, Bazzocchi M, di Prampero PE: Primary motor and sensory cortex activation during motor performance and motor imagery: a functional magnetic resonance imaging study. *J*

- Neurosci 16: 7688-7698, 1996
- 58) Roth M, Decety J, Raybaudi M, Massarelli R, Delon-Martin C, Segebarth C, Morand S, Gemignani A, Décorps M, Jeannerod M: Possible involvement of primary motor cortex in mentally simulated movement: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroreport* 7: 1280-1284, 1996
- 59) Sirigu A, Duhamel JR, Cohen L, Pillon B, Dubois B, Agid Y: The mental representation of hand movements after parietal cortex damage. *Science*, 273: 1564-1568, 1996
- 60) Jueptner M, Ottinger S, Fellows SJ, Adamschewski J, Flerich L, Müller SP, Diener HC, Thilmann AF, Weiller C: The relevance of sensory input for the cerebellar control of movements. *Neuroimage* 5: 41-48, 1997
- 61) Luft AR, Skalej M, Stefanou A, Klose U, Voigt K: Comparing motion- and imagery-related activation in the human cerebellum: a functional MRI study. *Hum Brain Mapp* 6: 105-113, 1998
- 62) Lotze M, Montoya P, Erb M, Hülsmann E, Flor H, Klose U, Birbaumer N, Grodd W: Activation of cortical and cerebellar motor areas during executed and imagined hand movements: an fMRI study. *J Cogn Neurosci* 11: 491-501, 1999
- 63) Naito E, Kochiyama T, Kitada R, Nakamura S, Matsumura M, Yonekura Y, Sadato N: Internally simulated movement sensations during motor imagery activate cortical motor areas and the cerebellum. *J Neurosci* 22: 3683-3691, 2002
- 64) Kasai T, Kawai S, Kawanishi M, Yahagi S: Evidence for facilitation of motor evoked potentials (MEPs) induced by motor imagery. *Brain Res* 744: 147-150, 1997
- 65) Yahagi S, Kasai T: Facilitation of motor evoked potentials (MEPs) in first dorsal interosseous (FDI) muscle is dependent on different motor images. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 109: 409-417, 1998
- 66) Fadiga L, Buccino G, Craighero L, Fogassi L, Gallese V, Pavesi G: Corticospinal excitability is specifically modulated by motor imagery: a magnetic stimulation study. *Neuropsychologia* 37: 147-158, 1999
- 67) Hashimoto R, Rothwell JC: Dynamic changes in corticospinal excitability during motor imagery. *Exp Brain Res*, 125: 75-81, 1999
- 68) Yahagi S, Shimura K, Kasai T: An increase in cortical excitability with no change in spinal excitability during motor imagery. *Percept Mot Skills* 83: 288-290, 1996
- 69) Yahagi S, Kasai T: Motor evoked potentials induced by motor imagery reveal a functional asymmetry of cortical motor control in left- and right-handed human subjects. *Neurosci Lett* 276: 185-188, 1999
- 70) Vargas CD, Olivier E, Craighero L, Fadiga L, Duhamel JR, Sirigu A: The influence of hand posture on corticospinal excitability during motor imagery: a transcranial magnetic stimulation study. *Cereb Cortex* 14: 1200-1206, 2004
- 71) Facchini S, Muellbacher W, Battaglia F, Boroojerdi B, Hallett M: Focal enhancement of motor cortex excitability during motor imagery: a transcranial magnetic stimulation study. *Acta Neurol Scand* 105: 146-151, 2002
- 72) Stinear CM, Byblow WD: Motor imagery of phasic thumb abduction temporally and spatially modulates corticospinal excitability. *Clin Neurophysiol* 114: 909-914, 2003
- 73) Stinear CM, Byblow WD: Modulation of corticospinal excitability and intracortical inhibition during motor imagery is task-dependent. *Exp Brain Res* 157: 351-358, 2004
- 74) Stinear CM, Byblow WD, Steyvers M, Levin O, Swinnen SP: Kinesthetic, but not visual, motor imagery modulates corticomotor excitability. *Exp Brain Res* 168: 157-164, 2006
- 75) Clark S, Tremblay F, Ste-Marie D: Differential modulation of corticospinal excitability during observation, mental imagery and imitation of hand actions. *Neuropsychologia* 42: 105-112, 2004
- 76) Fourkas AD, Avenanti A, Urgesi C, Aglioti SM: Corticospinal facilitation during first and third person imagery. *Exp Brain Res* 168: 143-151, 2006
- 77) Roosink M, Zijdwind I: Corticospinal excitability during observation and imagery of simple and complex hand tasks: implications for motor rehabilitation. *Behav Brain Res*, 213: 35-41, 2010
- 78) Park WH, Li S: No graded responses of finger muscles to TMS during motor imagery of isometric finger forces. *Neurosci Lett* 494: 255-259, 2011
- 79) Abbruzzese G, Assini A, Buccolieri A, Marchese

- R, Trompetto C: Changes of intracortical inhibition during motor imagery in human subjects. *Neurosci Lett* 263: 113-116, 1999
- 80) Kaneko F, Hayami T, Aoyama T, Kizuka T: Motor imagery and electrical stimulation reproduce corticospinal excitability at levels similar to voluntary muscle contraction. *J Neuroeng Rehabil* 11: 94, 2014
- 81) Perez MA, Field-Fote EC, Floeter MK: Patterned sensory stimulation induces plasticity in reciprocal inhibition in humans. *J Neurosci* 23: 2014-2018, 2003
- 82) 齊藤慧, 犬飼康人, 小丹晋一, 佐々木亮樹, 中川昌樹, 大西秀明. : 末梢神経に対するトレイン刺激が皮質脊髓路の興奮性に及ぼす影響. *物理療法科学* 23: 29-34, 2016.

総 説

理学療法のエビデンス構築に向けた運動イメージ・運動模倣の神経基盤の探索

菅田 陽怜¹⁾

Elucidation of neural substrates of motor imagery and imitation for establishing evidence-based physical therapy

Hisato Sugata¹⁾

Abstract

Motor imagery and imitation have been widely used in physical therapy. However, all of their neural mechanisms have been not always clarified. Understanding of their neural substrates leads to not only enhancement of the scientific evidence of physical therapy but also development in new neurorehabilitation. In this review, I would like to introduce achievements of our MEG study focused on motor imagery and imitation. Motor imagery: The relationship between M1 activity representing motor information in real and imagined movements have yet to be fully elucidated. We investigated the similarities and differences in M1 activity during real and imagined movements using MEG. Imitation: Imitation is a complex process that includes higher-order cognitive and motor function. This process requires an observation-execution matching system that transforms an observed action into an identical movement. Although recent studies have demonstrated the relationship between the neural substrate of imitation and the mirror neuron system, few studies have focused on the mechanisms of imitation from the aspect of neural oscillation. We examined oscillatory neural activities associated with imitation.

Key words: Motor imagery, Neural decoding, Imitation, Neural oscillation, Magnetoencephalography

1. はじめに

運動学習トレーニングの一環として運動イメージや運動模倣が理学療法の臨床現場で利用される機会は多い。特に、運動イメージを用いた理学療法については脳卒中理学療法診療ガイドラインにおいてその有用性が示されており、運動イメージを用いた理学療法の今後の発展への期待も高まっている。一方、運動イメージや運動模倣の神経基盤については、すべてが明らか

にされているとは言い難い。そのため、これらの手法が経験則のみに基づいて理学療法場面で使用されている例も少なくない。Evidence-based physical therapy (EBPT) という概念のもと、理学療法のエビデンスを構築・強化していくためには運動イメージや運動模倣に関する神経基盤の解明が重要となる。そこで、本稿では、運動イメージと運動模倣に焦点を当て、非侵襲的脳機能計測法の中で特に高い時空間分解能を有する脳磁図 (MEG) を用いて検討した我々の研究について紹介する。

1) 大分大学福祉健康科学部理学療法コース
Faculty of Welfare and Health Science, Oita University

投稿責任者: 菅田陽怜
連絡先: 〒870-1192 大分県大分市旦野原700番地
国立大学法人大分大学福祉健康科学部理学療法コース
E-mail: hsugata@oita-u.ac.jp

2. 運動イメージに関わる脳情報の変動

運動イメージに関連する脳機能研究は以前から行われている。特に、運動イメージ時の一次運動野や補足運動野などの運動関連領域の活動性について、実際の

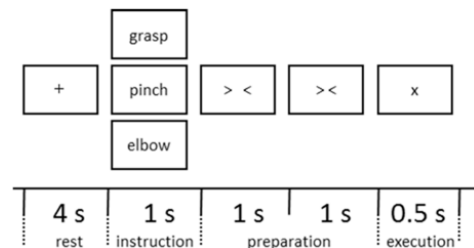
運動（実運動）との関連性に言及した研究が多く報告されている。例えば、fMRIを用いた研究では、実運動で収縮させる筋と同じ筋を収縮するイメージをした際に、実運動時と同様に一次運動野や補足運動野、運動前野で活動がみられることが報告されている^{1) 2) 3)}。また、頭蓋内電極を用いた研究では、運動イメージによって賦活される一次運動野の体性局在が、実運動時と同様の分布を示すことも明らかにされている⁴⁾。これらの研究によって、近年では実運動と運動イメージが共通の神経基盤を有する可能性が示唆されている⁵⁾。一方、これまでの運動イメージ研究において、脳情報、すなわち脳信号が持つ種々の運動情報の観点から運動イメージの神経基盤を詳細に調べた研究はない。前述の通り、運動イメージによって一次運動野の活動性が高まるというエビデンスは頭蓋内電極による研究から明らかになりつつある。しかしながら、運動イメージによって活動性が高まった脳信号の中に、どのような形で運動に関する情報が含まれているかは不明である。この運動イメージ時の脳情報を調べることによって、脳の活動を、fMRIで計測するような血流量の変化といった「量的側面」ではなく、運動イメージ時に一次運動野でどのように運動情報が表出されるのか、といった「質的側面」から明らかにすることができる。このような脳情報の観点、すなわち質的側面から運動イメージの神経基盤を明らかにすることは、運動イメージによって運動機能の向上を図る理学療法においては重要なエビデンスとなる。そこで我々は、運動イメージにより一次運動野に表出される運動関連脳情報を調べることで、運動イメージと実運動との関連性について検討した⁶⁾。

実験では、12人の健常右利き被験者に対し、右上肢の3種類の実運動および運動イメージをそれぞれ60回程度行わせた（図1A）。課題中の脳活動は160チャンネル全頭型MEG（MEG vision NEO, 横河電機）を用いてシールドルーム内で計測した。その後、得られた脳信号に対して脳情報を解読するための解析を行った。解析の関心領域は左の一次運動野とし、同領域に40極の仮想センサを配置した（図1B）。この仮想センサは、空間フィルタ法と呼ばれる適合信号処理技術を用いて脳内の特定の領域の時系列信号を計算論的に抽出する手法である^{7) 8) 9)}。この手法を用いることで、特定の脳領域のデータを詳細に解析することが可能となる。また、脳情報を解読するための方法には種々のアルゴリズムが報告されているが^{10) 11)}、今回我々は40極の仮想センサから得られた一次運動野のデータに対してsupport vector machine (SVM) という機械学

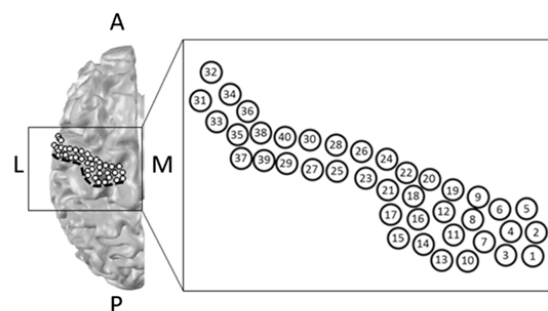
習法を用いた。このSVMは、弁別空間上に存在する複数個の群を弁別平面で分離する際に、互いの距離が最大になるように重み係数を調整することにより、高い弁別能を得ようとする手法である¹²⁾（図1C）。

SVMを用いた脳情報解読の結果、運動イメージ・実運動とも開始直後から一次運動野の体性局在にしたがって運動関連脳情報が有意に増大することが明らか

(A) Visual stimulation



(B) Location of the virtual sensor



(C)

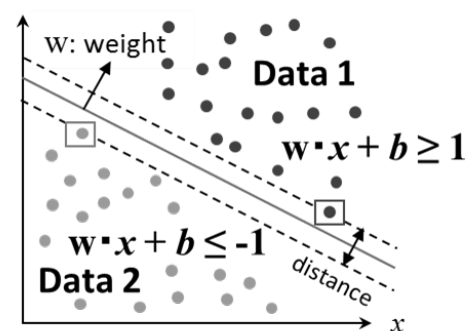


Figure 1. Experimental paradigm.

(A) Subjects performed the motion and imagined tasks in the same sequence. The trial consisted of four phases; the rest phase, instruction phase, preparation phase, and execution phase. (B) Forty virtual channels were located on the left M1 at intervals of 2.5 mm. The black dotted line indicates the location of the central sulcus. A, anterior; L, lateral; M, medial; P, posterior. (C) Schematic illustration of support vector machine (SVM).

となった (図2 A矢印). さらに, 運動イメージと実運動における脳情報の空間分布を経時的に比較すると, 課題の開始前後で運動関連脳情報の空間分布が有意に相関することが分かった (図2 B). これは, すなわち運動関連脳情報の体性局在が運動イメージと実運動で共通の特徴を持つことを示している. さらに, 運動イメージ・実運動時の脳情報の時間的変動の関連

性 (時間相関) についても検討を行った. その結果, 運動イメージ・実運動開始の200ms前から運動関連脳情報の変動性が有意に相関し始め, それは特に一次運動野の手の領域において認められた (図2 C). この脳情報の時間的関連性は課題開始後にいったん消失したが, その後再び手の領域周辺で有意な相関が出現した.

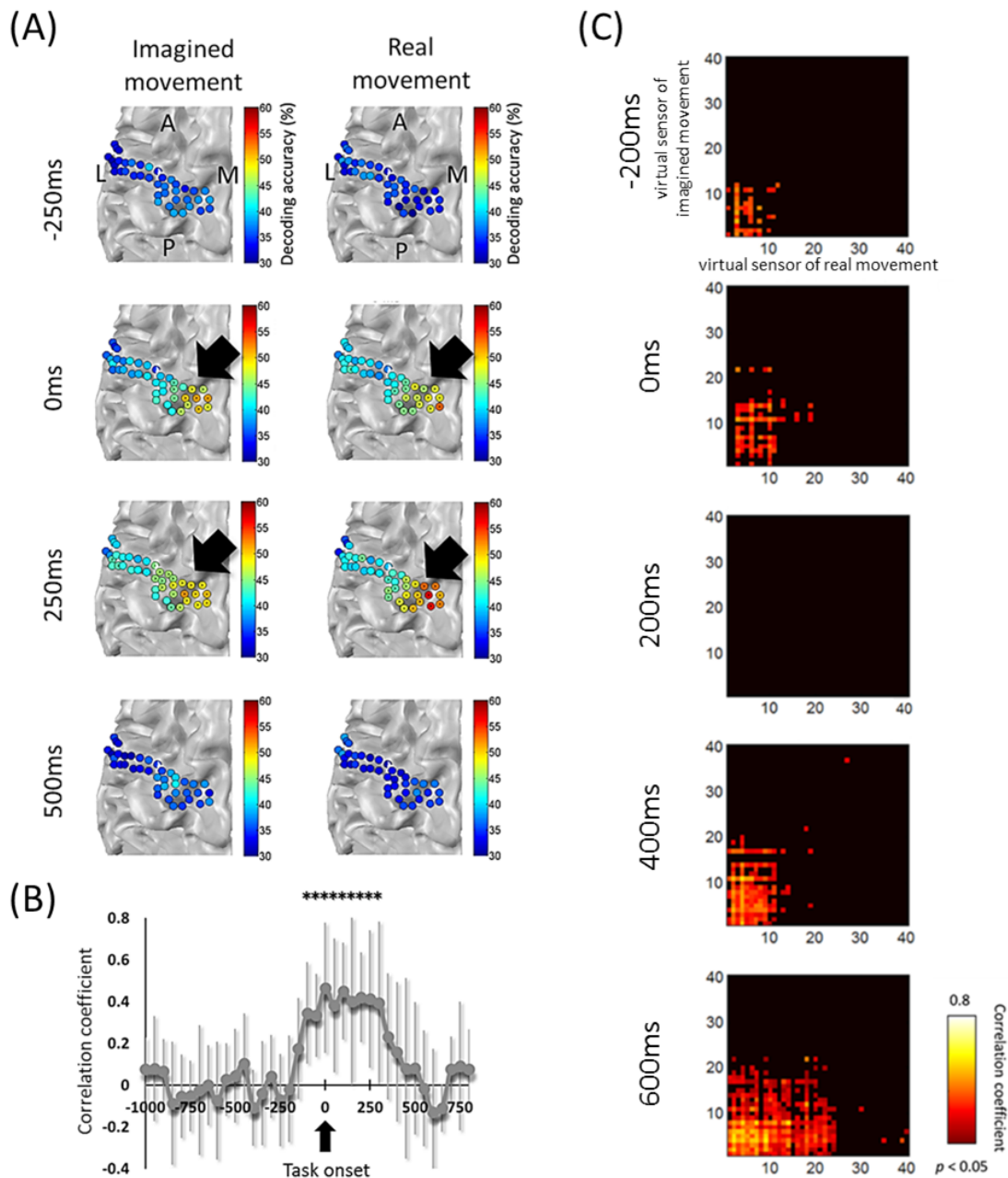


Figure 2. Spatial and temporal profiles of decoding accuracies during imagined and real movements.

(A) Significant decoding accuracies were observed around hand and arm areas during both real and imagined movements (arrows, binomial test, $p < 0.05$). (B) Significant spatial correlations were observed around response onset (Pearson's test, * $p < 0.05$). (C) Temporal correlation began to increase significantly from -200 around the hand and arm areas. These significant correlations disappeared around response onset and reappeared from 400 ms. (Spearman's rank correlation test, $p < 0.05$, FDR-corrected).

以上の結果から、運動イメージ時には実運動時と同様に、運動関連脳情報が一次運動野の体性局在にしたがって表出されることが示された。一方で、運動イメージと実運動における脳情報の時間的な関連性は課題開始200ms後にいったん消失した。この潜時は、実運動時に筋紡錘から一次体性感覚野へ感覚フィードバックが到達するタイミングとおおよそ一致する^{13) 14)}。つまり、この200msでの時間相関の崩れは、末梢からの感覚フィードバックの有無による運動-感覚統合処理の差によるものと考えられる。言い換えると、末梢からの感覚フィードバックが一次運動野における運動関連脳情報の生成に影響しているといえる¹⁵⁾。

以上の結果をもとに、運動イメージを用いた理学療法について再考したい。末梢からの感覚フィードバックが一次運動野における運動情報生成に影響する、という本研究の結果は、運動イメージ時に適切な感覚フィードバックを付加することで鮮明な運動情報を意図的に生成できる、と言い換えることも出来る。つまり、運動イメージトレーニングに感覚フィードバックを付加することで運動関連脳情報が増大し、理学療法の効果を向上できる可能性がある。その感覚フィードバックを付加する方法としては、例えばtendonバイブレーションや視覚刺激を用いた運動錯覚などが考えられる^{16) 17) 18)}。このように、運動イメージと感覚フィード

バックを適切に組み合わせることで運動イメージを用いた理学療法の効果をより一層向上できる可能性がある。

3. 運動模倣に関わる脳律動変化

臨床現場において運動観察が有用であることは知られている。しかし、実際には、目的とする運動の手本をセラピストが示して、患者がその動きを「真似る」という場面も多い。したがって、そこには「運動模倣」の要素が少なからず含まれている。模倣は、他者の意図を推論することによって、運動、コミュニケーションおよび社会スキルを学ぶための中心システムであり¹⁹⁾、ヒトの成長・発達において重要な要素を占めている^{20) 21) 22)}。しかしながら、この運動模倣のメカニズムについて脳律動の側面から調べた研究はあまり見られない。

この脳律動については、閉眼時に後頭部優位に出現する α 波をはじめ²³⁾、いくつかの脳領域において特有の同期性脳活動（基礎律動）が観察されることが知られている²⁴⁾。特に、これらの基礎律動が脳賦活に伴い脱同期して信号強度が減弱する現象は事象関連脱同期（event-related desynchronization; ERD）、あるいは逆に同期して信号強度が増強する現象は事象関連同期

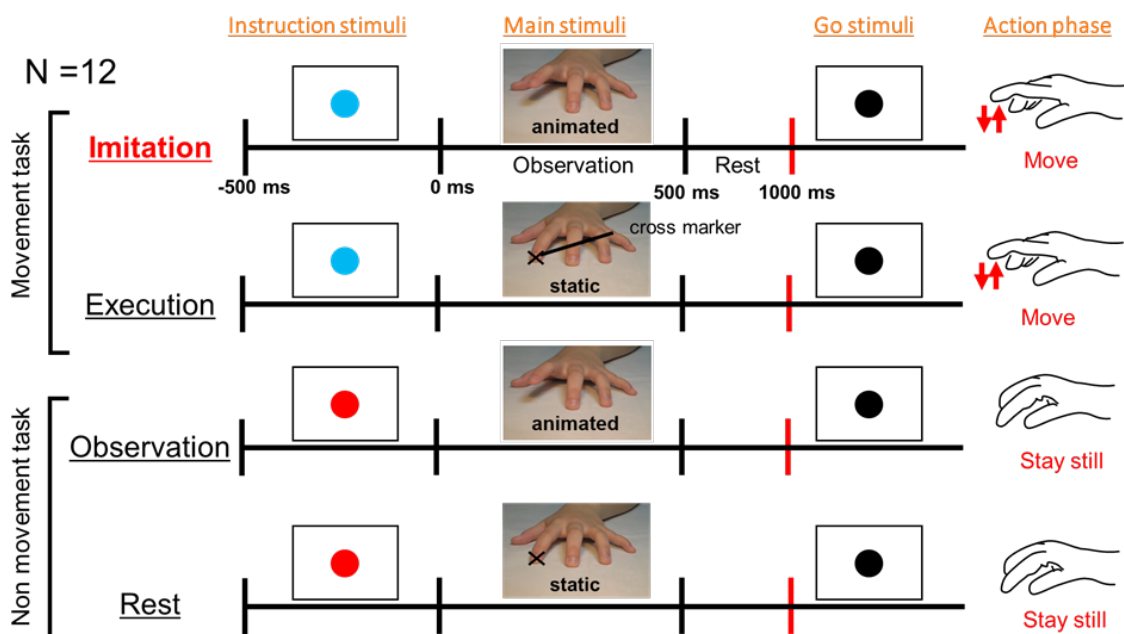


Figure 3. Sequence of images used in the tasks and the schema of the tasks.

A blue (indicating movement tasks) or a red dot (indicating non-movement tasks) was presented for the first 500 ms. Then, two types of visual stimuli were presented for 500 ms as follows: an animated hand and a static hand. Participants performed the finger movement in the movement task and did nothing in the non-movement task in response to the presentation of go stimuli.

(event-related synchronization; ERS)として知られている^{25) 26) 27)}。近年ではこのERDやERSが運動^{28) 29)}や体性感覚処理³⁰⁾、言語活動^{31) 32)}や記憶³³⁾など、さまざまな情報処理における脳内表現の基本的な単位の一つとして考えられつつある。特に、近年ではアルファ帯域脳律動 (8–13Hz) は体性感覚機能を³⁴⁾、ベータ帯域脳律動 (13–25Hz) は運動機能を^{28) 29) 35)}、そしてローガンマ帯域 (25–50Hz) は注意、認知、言語などの高次認知機能を反映するといった報告も見られ^{31) 36) 37)}、特定の脳律動の成分が種々の脳機能の情報処理を反映しているといった考えも広がりつつある。

そこで、我々はこの脳律動に着目して運動模倣の神経基盤について検討した³⁸⁾。12人の健常右利き被験者に対し、右指の挙上運動の動画を観察させた後、その指運動の模倣を行わせた (模倣課題) (図3)。また、コントロール課題として、指運動の観察のみの課題 (観察課題)、静止画を観察した後、指の挙上運動を行う課題 (実行課題)、静止画の観察のみの課題 (安静課題)

を用意した。課題遂行時の脳活動をMEGにて計測し、開口合成脳磁図 (synthetic aperture magnetometry; SAM) 解析を行った。このSAM解析は、得られたMEG信号に対して、データに応じて最適な処理を施すことができる開口合成フィルタ (空間フィルタ) を導入する手法である³⁹⁾。これにより、関心領域外からの信号がノイズとして除去され、S/N比が増大されることで妨害信号に埋もれた弱い信号を検出することが可能となる。また、SAM法ではデータを加算平均しないため、従来の等価電流双極子法では失われがちな高周波成分も中・長潜時まで記録できる。そのため、高次脳機能との関連が示唆されている高周波数成分の律動変化も捉えることができる。本研究では、指挙上運動の動画開始直後から1300ミリ秒後まで、200ミリ秒間の解析区間を100ミリ秒間隔ですらしてSAM解析を行った。なお、解析対象の周波数帯域は高次認知機能との関連が多く報告されているローガンマ帯域 (25–50 Hz) とした^{31) 36) 37)}。

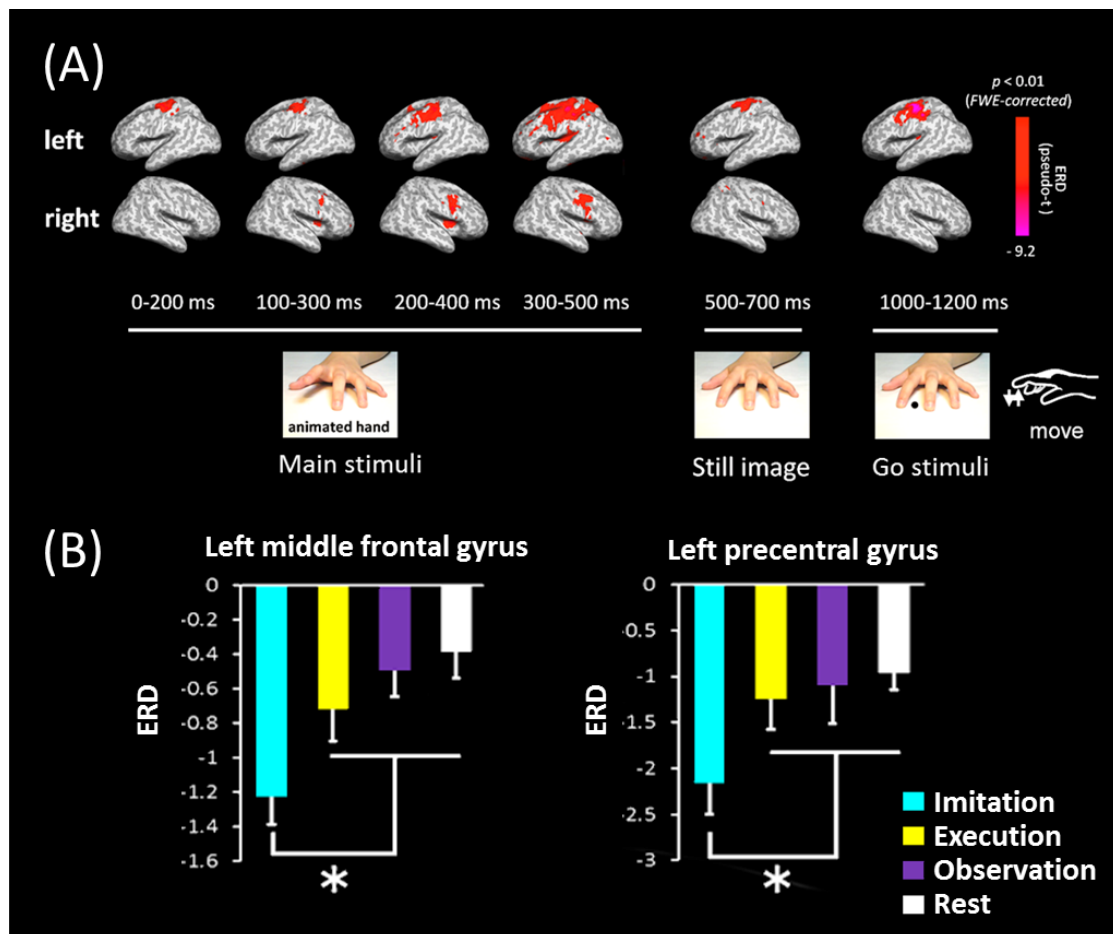


Figure 4. Oscillatory neural activities during the imitation condition.

(A) Significant ERDs were observed at the left sensorimotor area and middle frontal gyrus (MFG) during the presentation of Main stimuli. (B) ERDs during imitation were significantly stronger than those during the other three conditions at the left precentral gyrus and MFG (*p < 0.05, ANOVA and Tukey's method).

SAM解析の結果、模倣課題において動画開始直後から左の一次運動野で有意なERDが認められた(図4A)。また、この一次運動野のERDは動画の経過に伴い前頭および頭頂領域へと拡大した。特に、動画開始後300-500msにおいてERDのピークが認められたため、同時帯でコントロール課題(実行課題、観察課題、安静課題)と比較した。その結果、模倣課題では他の条件と比較して、左の中前頭回および一次運動野でERDが有意に増強していた(図4B)。

今回検討した運動模倣は、単なる運動の観察や実行と異なり、観察した運動を実際の運動へと変換するプロセスが必要となる。そのため、運動模倣時には高次の運動認知機構が動因される必要がある^{40) 41)}。前述したとおり、ローガンマ帯域は注意、認知、言語などの高次認知機能を反映するという報告がある^{31) 36) 37)}。このことから、本研究で得られた運動模倣時のローガンマ帯域の脳律動変化、すなわち中前頭回および一次運動野のERDは、この「観察-運動変換プロセス」を反映する高次運動認知機構の活性を反映している可能性が高い³⁸⁾。

これまで、一定の効果が得られるという背景のもと、理学療法場面において経験的に行われてきた運動模倣について、上記のような高次の運動認知機構が関与していたとなれば、その理学療法効果についてうなずける部分も多い。以上のことから、本結果は、運動模倣を併用した理学療法の効果について、その科学的エビデンスの一端を提供するものであると考える。

4. おわりに

臨床的に広く使用されている運動イメージや運動模倣について、我々の知見を交えて紹介した。EBPTという概念が広がる中、現在でも十分なエビデンスが得られないまま経験則のみで行われているアプローチは多い。理学療法のエビデンスを構築・強化し、より高度な学術体系につなげるためには、経験則のみで行われているアプローチの根源にあるもの、すなわちそのアプローチに関わる神経基盤を明らかにしていくことが重要である。特に、運動イメージや運動模倣については、理学療法場面で広く利用されるアプローチ法であるため、今後さらにこれらの神経機序を明らかにするための基礎的研究が増えていくことが望まれる。

文 献

1) Gerardin E, Sirigu A, Lehericy S, Poline JB,

Gaymard B, Marsault C, Agid Y, Le Bihan D: Partially overlapping neural networks for real and imagined hand movements. *Cereb Cortex* 10: 1093-1104, 2000

2) Guillot A, Collet C: Contribution from neurophysiological and psychological methods to the study of motor imagery. *Brain Res Brain Res Rev* 50: 387-397, 2005

3) Roth M, Decety J, Raybaudi M, Massarelli R, Delon-Martin C, Segebarth C, Morand S, Gemignani A, Decors M, Jeannerod M: Possible involvement of primary motor cortex in mentally simulated movement: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroreport* 7: 1280-1284, 1996

4) Miller KJ, Schalk G, Fetz EE, den Nijs M, Ojemann JG, Rao RP: Cortical activity during motor execution, motor imagery, and imagery-based online feedback. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 4430-4435, 2010

5) Jeannerod M: Neural simulation of action: a unifying mechanism for motor cognition. *Neuroimage* 14: S103-109, 2001

6) Sugata H, Hirata M, Yanagisawa T, Matsushita K, Yorifuji S, Yoshimine T: Common neural correlates of real and imagined movements contributing to the performance of brain-machine interfaces. *Sci Rep* 6: 24663, 2016

7) Dalal SS, Guggisberg AG, Edwards E, Sekihara K, Findlay AM, Canolty RT, Berger MS, Knight RT, Barbaro NM, Kirsch HE, Nagarajan SS: Five-dimensional neuroimaging: localization of the time-frequency dynamics of cortical activity. *Neuroimage* 40: 1686-1700, 2008

8) Sekihara K, Nagarajan SS, Poeppel D, Marantz A, Miyashita Y: Application of an MEG eigenspace beamformer to reconstructing spatio-temporal activities of neural sources. *Hum Brain Mapp* 15: 199-215, 2002

9) Sekihara K, Sahani M, Nagarajan SS: Localization bias and spatial resolution of adaptive and non-adaptive spatial filters for MEG source reconstruction. *Neuroimage* 25: 1056-1067, 2005

10) Besserve M, Jerbi K, Laurent F, Baillet S, Martinerie J, Garnero L: Classification methods for ongoing EEG and MEG signals. *Biol Res* 40:

- 415-437, 2007
- 11) Lotte F, Congedo M, Lecuyer A, Lamarche F, Arnaldi B: A review of classification algorithms for EEG-based brain-computer interfaces. *J Neural Eng* 4: R1-R13, 2007
- 12) Kamitani Y, Tong F: Decoding the visual and subjective contents of the human brain. *Nat Neurosci* 8: 679-685, 2005
- 13) Cheyne D, Bakhtazad L, Gaetz W: Spatiotemporal mapping of cortical activity accompanying voluntary movements using an event-related beamforming approach. *Hum Brain Mapp* 27: 213-229, 2006
- 14) Kristeva-Feige R, Walter H, Lutkenhoner B, Hampson S, Ross B, Knorr U, Steinmetz H, Cheyne D: A neuromagnetic study of the functional organization of the sensorimotor cortex. *Eur J Neurosci* 6: 632-639, 1994
- 15) Ono T, Shindo K, Kawashima K, Ota N, Ito M, Ota T, Mukaino M, Fujiwara T, Kimura A, Liu M, Ushiba J: Brain-computer interface with somatosensory feedback improves functional recovery from severe hemiplegia due to chronic stroke. *Front Neuroeng* 7: 19, 2014
- 16) Kaneko F, Blanchard C, Lebar N, Nazarian B, Kavounoudias A, Romaguere P: Brain Regions Associated to a Kinesthetic Illusion Evoked by Watching a Video of One's Own Moving Hand. *PLoS One* 10: e0131970, 2015
- 17) Kaneko F, Shibata E, Hayami T, Nagahata K, Aoyama T: The association of motor imagery and kinesthetic illusion prolongs the effect of transcranial direct current stimulation on corticospinal tract excitability. *J Neuroeng Rehabil* 13: 36, 2016
- 18) Naito E, Ehrsson HH: Somatic sensation of hand-object interactive movement is associated with activity in the left inferior parietal cortex. *J Neurosci* 26: 3783-3790, 2006
- 19) Iacoboni M, Woods RP, Brass M, Bekkering H, Mazziotta JC, Rizzolatti G: Cortical mechanisms of human imitation. *Science* 286: 2526-2528, 1999
- 20) Meltzoff AN: 'Like me': a foundation for social cognition. *Dev Sci* 10: 126-134, 2007
- 21) Meltzoff AN: The 'like me' framework for recognizing and becoming an intentional agent. *Acta Psychol (Amst)* 124: 26-43, 2007
- 22) Saby JN, Marshall PJ, Meltzoff AN: Neural correlates of being imitated: an EEG study in preverbal infants. *Soc Neurosci* 7: 650-661, 2012
- 23) Adrian ED, Matthews BH: The interpretation of potential waves in the cortex. *J Physiol* 81: 440-471, 1934
- 24) Makeig S, Debener S, Onton J, Delorme A: Mining event-related brain dynamics. *Trends Cogn Sci* 8: 204-210, 2004
- 25) Pfurtscheller G: Graphical display and statistical evaluation of event-related desynchronization (ERD). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 43: 757-760, 1977
- 26) Pfurtscheller G: Event-related synchronization (ERS): an electrophysiological correlate of cortical areas at rest. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 83: 62-69, 1992
- 27) Pfurtscheller G, Brunner C, Schlogl A, Lopes da Silva FH: Mu rhythm (de)synchronization and EEG single-trial classification of different motor imagery tasks. *Neuroimage* 31: 153-159, 2006
- 28) Pfurtscheller G, Graimann B, Huggins JE, Levine SP, Schuh LA: Spatiotemporal patterns of beta desynchronization and gamma synchronization in corticographic data during self-paced movement. *Clin Neurophysiol* 114: 1226-1236, 2003
- 29) Taniguchi M, Kato A, Fujita N, Hirata M, Tanaka H, Kihara T, Ninomiya H, Hirabuki N, Nakamura H, Robinson SE, Cheyne D, Yoshimine T: Movement-related desynchronization of the cerebral cortex studied with spatially filtered magnetoencephalography. *Neuroimage* 12: 298-306, 2000
- 30) Baker SN: Oscillatory interactions between sensorimotor cortex and the periphery. *Curr Opin Neurobiol* 17: 649-655, 2007
- 31) Goto T, Hirata M, Umekawa Y, Yanagisawa T, Shayne M, Saitoh Y, Kishima H, Yorifuji S, Yoshimine T: Frequency-dependent spatiotemporal distribution of cerebral oscillatory changes during silent reading: a magnetoencephalographic group analysis. *Neuroimage* 54: 560-567, 2011
- 32) Hirata M, Goto T, Barnes G, Umekawa Y, Yanagisawa T, Kato A, Oshino S, Kishima H,

- Hashimoto N, Saitoh Y, Tani N, Yorifuji S, Yoshimine T: Language dominance and mapping based on neuromagnetic oscillatory changes: comparison with invasive procedures. *J Neurosurg* 112: 528-538, 2010
- 33) Burke JF, Zaghoul KA, Jacobs J, Williams RB, Sperling MR, Sharan AD, Kahana MJ: Synchronous and asynchronous theta and gamma activity during episodic memory formation. *J Neurosci* 33: 292-304, 2013
- 34) Salmelin R, Hamalainen M, Kajola M, Hari R: Functional segregation of movement-related rhythmic activity in the human brain. *Neuroimage* 2: 237-243, 1995
- 35) Salmelin R, Hari R: Spatiotemporal characteristics of sensorimotor neuromagnetic rhythms related to thumb movement. *Neuroscience* 60: 537-550, 1994
- 36) Hirata M, Kato A, Taniguchi M, Saitoh Y, Ninomiya H, Ihara A, Kishima H, Oshino S, Baba T, Yorifuji S, Yoshimine T: Determination of language dominance with synthetic aperture magnetometry: comparison with the Wada test. *Neuroimage* 23: 46-53, 2004
- 37) Pulvermuller F, Birbaumer N, Lutzenberger W, Mohr B: High-frequency brain activity: its possible role in attention, perception and language processing. *Prog Neurobiol* 52: 427-445, 1997
- 38) Sugata H, Hirata M, Tamura Y, Onishi H, Goto T, Araki T, Yorifuji S: Frequency-dependent oscillatory neural profiles during imitation. *Sci Rep* 7: 45806, 2017
- 39) Robinson SE, Vrba J: Functional neuroimaging by synthetic aperture magnetometry (SAM). In *Recent Advances in Biomagnetism*. T. Yoshimoto, M. Kotani, S. Kuriki, H. Karibe and N. N (Ed.). Japan, Tohoku Univ Press, pp. 302-305, 1999
- 40) Cochin S, Barthelemy C, Roux S, Martineau J: Observation and execution of movement: similarities demonstrated by quantified electroencephalography. *Eur J Neurosci* 11: 1839-1842, 1999
- 41) Muthukumaraswamy SD, Johnson BW: Changes in rolandic mu rhythm during observation of a precision grip. *Psychophysiology* 41: 152-156, 2004

総 説

随意筋収縮強度変化が体性感覚誘発磁界に及ぼす影響

菅原 和広¹⁾

Effect of muscle contraction strength on gating effect —An MEG study—

Kazuhiro Sugawara¹⁾

Abstract

Afferent somatosensory information is modulated before the afferent input arrives at the primary somatosensory cortex during voluntary movement. We investigated the changes in gating effect by muscular contraction strength and innervated and non-innervated muscles in human using 306-channel magnetoencephalography. SEFs were recorded following the right median nerve stimulation in a resting condition and during isometric muscular contractions from 10% electromyographic activity (EMG), 20% EMG, and 30% EMG of the right extensor indicis muscle and abductor pollicis brevis muscle. Our results showed that the equivalent current dipole (ECD) strength for P35m decreased with increasing strength of muscular contraction of the right abductor pollicis brevis muscle. However, changes were observed only at 30% EMG contraction level of the right extensor indicis muscle, which was not innervated by the median nerve. There were no significant changes in the peak latencies and ECD locations of each component in all conditions. The ECD strength did not differ significantly for N20m and P60m regardless of the strength of muscular contraction and innervation. Therefore, we suggest that the gating of SEF waveforms following peripheral nerve stimulation was affected by the strength of muscular contraction and innervation of the contracting muscle.

Key words: Gating effect, Somatosensory evoked magnetic fields,
Strength of muscular contraction, Peripheral nerve stimulation

随意運動に伴う体性感覚誘発電位・体性感覚誘発磁界の減弱 (Gating Effects)

ヒトが随意運動を行う際には体性感覚情報の変化が生じることが周知の事実であるが、中でも随意運動側と同側の末梢神経を刺激して体性感覚誘発電位 (Somatosensory evoked potentials; SEPs) を記録す

ると、安静時よりもSEP振幅値が減少するgatingが生じる¹⁻³⁾。哺乳類を対象とした研究において、四肢の随意運動中では一次体性感覚野 (Primary somatosensory cortex; S1) 領域に存在する錐体細胞の興奮性が低下することが報告され、随意運動中にS1へ求心性入力に到達する前に末梢感覚情報の調節が行われることが示唆されている⁴⁾。

脳磁界計測装置 (Magnetoencephalography; MEG) を用いた研究においてもSEPの報告と同様に、随意運動中に末梢電気刺激を行った際には体性感覚誘発磁界 (Somatosensory evoked fields; SEFs) のN20m, P35mが安静時と比較して減少することが報告されている⁵⁻⁷⁾。MEGを用いて末梢電気刺激を行った際に観察されるN20mは求心性入力に伴う3b野のEPSPを反映しているとされ、P35mは3b野のIPSPもしくは4野

1) 札幌医科大学保健医療学部理学療法学科 理学療法第一講座
Department of Physical Therapy, School of Health Sciences,
Sapporomedical University

投稿責任者: 菅原和広

連絡先: 〒060-8556 北海道札幌市中央区南3条西17丁目
札幌医科大学保健医療学部理学療法学科 理学療法第一講座

E-mail: kaz.sugawara@sapmed.ac.jp

の活動を反映しているとされている⁸⁻¹⁰⁾。霊長類を対象とした先行研究において一次運動野 (Primary motor cortex; M1) への微小電極刺激後に触覚刺激を行うと、触覚刺激時におけるSEPが減少することが報告され、M1の興奮性はS1に影響を与えることが示唆されている⁴⁾。また、Jiang, Chapman¹¹⁾はM1への微小電極刺激強度を変化させた際の前肢へのair-puffによる刺激後のS1の興奮性変化を調査し、M1への刺激強度が増加するとS1における触覚刺激に対する反応が低下することを報告している。以上のことから、随意運動強度変化がS1における体性感覚情報処理に変化を与える可能性が示唆される。

P35m成分は随意運動中または随意運動開始前に振幅値が減弱する現象 (Gating) が見られることが多く

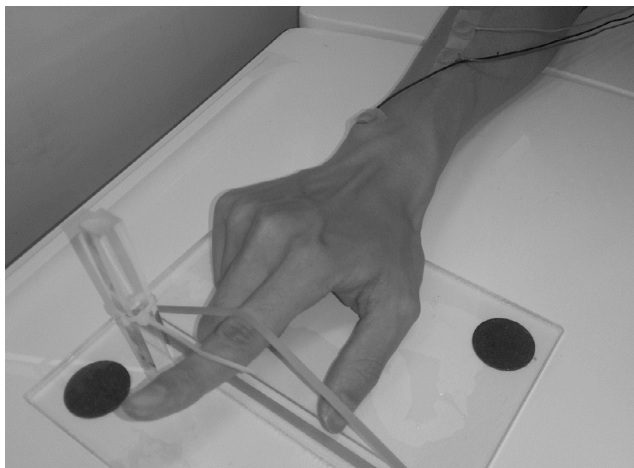


Fig. 1 Appearance during contraction of the right extensor indicis muscle.

Fixation of plastic band to the proximal phalange of the right index finger .

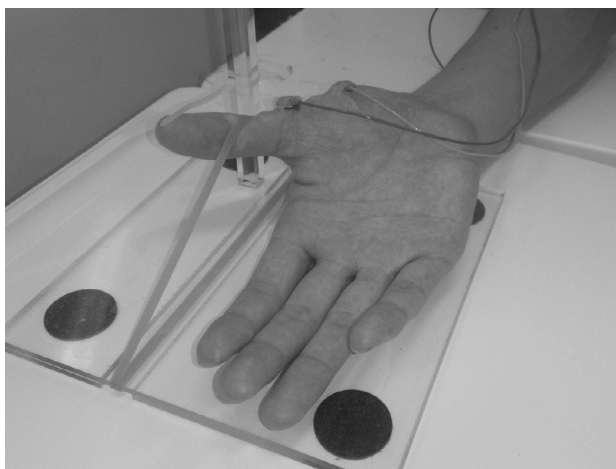


Fig. 2 Appearance during contraction of the right abductor pollicis brevis muscle.

Fixation of plastic band to the proximal phalanx of the thumb.

の先行研究で報告されている。しかし、N20m成分に関してはKakigi, Koyama⁵⁾が4指の運動中に正中神経刺激をした際に減弱することを報告しているが、Huttunen and Lauronen¹²⁾は一側の母指対立運動中に正中神経刺激を行い、P35m成分は安静時と比較し減弱するものの、N20m成分には変化が認めなかったことを報告している。以上のことから、P35m成分に関しては安静時と比較して随意運動前や随意運動中に減弱することは一致した見解が得られているが、N20m成分に関しては一定の見解が得られていない。

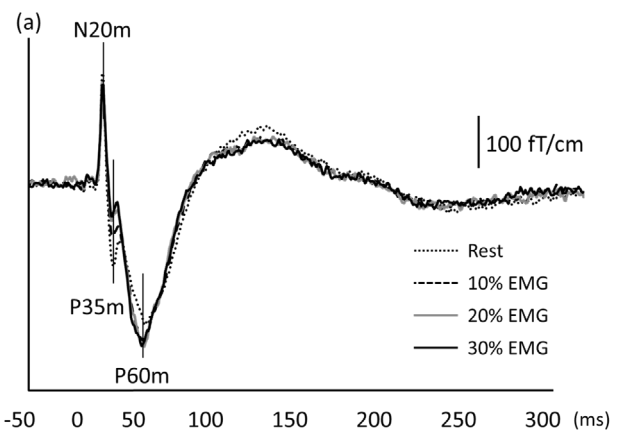


Fig. 3 The grand averaged waveforms after stimulation of the right median nerve during contraction of the right extensor indicis muscle.

The responses consisted of three deflections peaking at N20m, P35m, and P60m, respectively, after stimulus onset. Dotted line: rest. Dashed line: 10% EMG condition. Gray line: 20% EMG condition. Black line: 30% EMG condition.

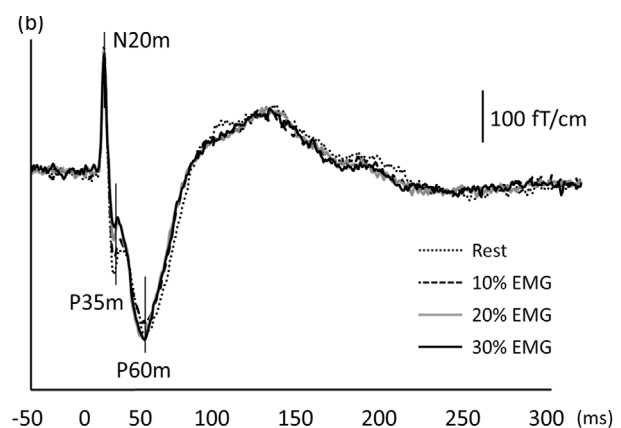


Fig. 4 The grand averaged waveforms after stimulation of the right median nerve during contraction of the abductor pollicis brevis muscle.

The responses consisted of three deflections peaking at N20m, P35m, and P60m after stimulus onset. Dotted line: rest condition. Dashed line: 10% EMG condition. Gray line: 20% EMG condition. Black line: 30% EMG condition.

この一つの要因として、各先行研究間での筋収縮様式や運動強度が異なっていることが挙げられる。また、末梢神経電気刺激後50 ms～100 msに観察されるP60m成分はSEF波形の中で著明に観察される成分であり、その電流発生源は体性感覚野の1野もしくは2野の活動を反映していることが報告されている¹⁰⁾。しかし、随意運動時におけるN20mやP35mなど早期成分のGatingについての報告は多々あるが、中期成分であるP60mについてのGatingの報告はほとんどない。そこで我々は随意運動時における運動強度がSEFsに及ぼす影響と神経支配領域での筋収縮と神経非支配領域での筋収縮のGating effectの違いを明らかにすることを目的に、安静時の正中神経刺激時のSEF波形と等尺性収縮強度を変化させた際のSEF波形の変化を調査した¹³⁾。

運動課題として示指伸展等尺性運動（示指伸筋）と母指掌側外転等尺性運動（短母指外転筋）の二種類を設定した（図1, 2）。各筋の10%EMG, 20%EMG, 30%EMGの運動強度で等尺性収縮をしてもらい、その最中に右正中神経を電気刺激することでSEFを計測した（図3, 図4）。随意運動開始前の運動準備期においてもGatingが生じることや、関節運動速度の変化によってGating量が変わることが報告されていることから、本研究では筋収縮強度変化とGating変化の関係を詳細に調査するため、筋収縮様式を等尺性収縮とし正中神経刺激を筋収縮開始約1秒後に実施した。その結果、正中神経支配領域である母指外転筋の収縮時においてP35mが運動強度の増強に伴う電流強度の減弱が認められ、非正中神経支配である示指伸筋の収縮時においては30%収縮時にのみ電流強度の減弱が認められた。しかし、N20mおよびP60mは運動強度、神経支配筋に関わらず電流強度の変化は認められなかった。

随意運動に伴うGatingには2つの要因によって生じることが報告されている。一つは、随意運動に関するM1やSMAなどの脳領域からの出力が末梢神経刺激によって生じた求心性インパルスが皮質もしくは皮質下レベルで抑制する中枢遠心性のメカニズムであるCentrifugal gatingと、もう一つは運動に伴って生じた固有感覚などの求心性インパルスと末梢神経刺激によって生じた求心性インパルスとの干渉作用によって起こる中枢求心性のメカニズムであるCentripetal gatingがある^{1, 14-16)}。本研究では随意筋収縮時に末梢電気刺激を行い、P35mの電流強度の減弱が認められたことから、Centrifugal gatingとCentripetal gatingの両方が生じていた可能性がある。

Gantchev, Gavrilenko¹⁷⁾は筋収縮時におけるSEPの減少について調査し、ある一定強度までの収縮中のSEP amplitudeはRestと比較して減少するが、筋収縮保持（等尺性収縮）時ではSEP amplitudeの減弱は認められないことを報告し、随意運動のPhase（筋出力増加または筋出力保持）によってSEPの変化が異なることを報告している。

正中神経刺激により誘発されるN20mは3b野を起源とする反応であることが報告され¹⁸⁾、随意運動時にamplitudeの減弱が認められないことが多くの先行研究で示されている¹⁹⁾。Gantchev, Gavrilenko¹⁷⁾は疲労によって早期成分（N20-P30）が減弱することを報告しているが、本研究においては等尺性収縮の持続時間は5秒と短く、収縮課題間に休息を行ったことから疲労が出現していなかったと考えられる。したがって、先行研究と同様に筋収縮強度の増加によるN20mの減弱は認められなかったと考えられる。

P35mの電流発生源については未だ議論が続いており、4野もしくは3b野の活動を反映していると報告されている¹⁰⁾。本研究では正中神経支配である短母指外転筋の運動強度の増加に伴いN20m, P60mの電流強度は変化しないものの、P35mの電流強度が安静時と比較し、20%EMGおよび30%EMGにおいて減弱する結果が得られた。随意運動とP35mの減少との関連性についてはSMAの活動が影響していることや3b野におけるIPSPの減弱によるものが報告されている。本研究では等尺性収縮強度の増加に伴うP35m減弱についてはいくつかの要因が考えられる。一つめは、随意運動中にはM1だけでなく、S1やSMAなど様々な脳領域において変化が認められ²⁰⁻²³⁾、随意運動強度の増加に伴い、M1のみならずSMAの活動も増加することが報告されていることから、運動強度の増加に伴うSMAの活動量増加が3野のIPSPに対して影響し、P35mの電流強度が減弱したことが考えられる。二つめはP35mのECD directionは後向きであり、随意運動時の4野の活動では前向きのECD directionであることから²⁴⁾、運動強度が増加したことに伴う4野の前向きのECD directionの増加によってP35mの後向きのECD directionが相殺され、運動強度の増加に伴うP35mの電流強度の減弱が生じたと考えられる。そして、三つ目として短母指外転筋の収縮強度増加に伴うIa求心性入力増加（centripetal gating）による影響が考えられる。等尺性収縮では筋収縮によるIa求心性入力と筋出力保持中のproprioceptive feedbackが生じるため^{1, 25, 26)}、正中神経刺激と筋収縮強度増加に伴う求心性入力干渉し、P35mの電流強度が減弱したと考

えられる。

先行研究においてGatingには選択性があることが報告され、Tapia, Cohen²⁷⁾は正中神経や母指に対して電気刺激をして誘発したSEP amplitudeは母指の随意運動によって低下するが、小指の運動では低下しないこと、また尺骨神経や小指を刺激して誘発したSEPのamplitudeは小指の運動によって低下するが、母指の運動では低下しないことを報告している。本研究では示指伸筋の収縮時において、安静時と比較し10%EMGおよび20%EMGではP35mの電流強度の減弱は認められなかったものの、30%EMG時においてのみ有意な減弱が認められた。この結果から、ある一定以上の運動強度では非神経支配領域の筋収縮時においてもGatingが生じることが推察される。非神経支配領域である示指伸筋の30%EMGでの収縮では、4野の活動量増加と3b野の活動が相殺されたことにより、正中神経の非支配領域である示指伸筋においてもP35mの減弱が生じた可能性が示唆される。しかしながら、Gatingは様々な要因で生じることが報告され、またGatingの選択性のメカニズムについては十分に解明されておらず、本研究から得られた結果のみで非神経支配領域に生じたGatingについて言及することは困難である。したがって、今後運動強度の増加と非神経支配領域におけるGatingについてさらなる調査が必要であると考えられる。

本研究ではP60mの電流発生源については未だ議論中であり、GABA_B由来のIPSPを反映しているとした報告や1野または2野の活動を反映しているとした報告がある²⁸⁾。Kristeva-Feige, Rossi¹⁹⁾は示指の随意運動時に末梢電気刺激を行い、電気刺激後100 msまでSEF amplitudeの減少が認められたことを報告しているが、本研究ではP60mは運動強度に関わらず電流強度の変化は認められなかった。先行研究では筋収縮課題を等張性収縮とし、また末梢神経電気刺激は筋活動開始時に行っており、本研究とは収縮様式および末梢神経への電気刺激を行うタイミングが異なる。先行研究において収縮様式や筋収縮のphaseによってGatingの効果が異なることが報告されていることから^{17, 25, 29)}、P60mにおいて本研究とKristeva-Feige, Rossi¹⁹⁾の行った研究とで異なる結果が得られたと考えられる。本研究により等尺性収縮時に誘発されたSEFでは神経支配筋および収縮強度に関わらず3b野のlate IPSP、もしくは1野・2野に対して影響しないことが示唆された。

文 献

- 1) Kirimoto H, Tamaki H, Suzuki M, Matsumoto T, Sugawara K, Kojima S, et al. Sensorimotor modulation differs with load type during constant finger force or position. *PloS one* 9: e108058, 2014
- 2) Nakata H, Inui K, Wasaka T, Nishihira Y, Kakigi R. Mechanisms of differences in gating effects on short-and long-latency somatosensory evoked potentials relating to movement. *Brain Topogr* 15: 211-222, 2003
- 3) Ogata K, Okamoto T, Yamasaki T, Shigeto H, Tobimatsu S. Pre-movement gating of somatosensory-evoked potentials by self-initiated movements: the effects of ageing and its implication. *Clin Neurophysiol* 120: 1143-1148, 2009
- 4) Courtemanche R, Sun GD, Lamarre Y. Movement-related modulation across the receptive field of neurons in the primary somatosensory cortex of the monkey. *Brain Res* 777: 170-178, 1997
- 5) Kakigi R, Koyama S, Hoshiyama M, Watanabe S, Shimojo M, Kitamura Y. Gating of somatosensory evoked responses during active finger movements magnetoencephalographic studies. *J Neurol Sci* 128: 195-204, 1995
- 6) Kida T, Wasaka T, Inui K, Akatsuka K, Nakata H, Kakigi R. Centrifugal regulation of human cortical responses to a task-relevant somatosensory signal triggering voluntary movement. *NeuroImage* 32: 1355-1364, 2006
- 7) Wasaka T, Hoshiyama M, Nakata H, Nishihira Y, Kakigi R. Gating of somatosensory evoked magnetic fields during the preparatory period of self-initiated finger movement. *NeuroImage* 20: 1830-1838, 2003
- 8) Wikstrom H, Huttunen J, Korvenoja A, Virtanen J, Salonen O, Aronen H, et al. Effects of interstimulus interval on somatosensory evoked magnetic fields (SEFs): a hypothesis concerning SEF generation at the primary sensorimotor cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 100: 479-487, 1996
- 9) Kawamura T, Nakasato N, Seki K, Kanno A, Fujita S, Fujiwara S, et al. Neuromagnetic

- evidence of pre- and post-central cortical sources of somatosensory evoked responses. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 100: 44-50, 1996
- 10) Sugawara K, Onishi H, Yamashiro K, Kojima S, Miyaguchi S, Kirimoto H, et al. The effect of anodal transcranial direct current stimulation over the primary motor or somatosensory cortices on somatosensory evoked magnetic fields. *Clin Neurophysiol* 126: 60-67, 2015
 - 11) Jiang W, Chapman CE, Lamarre Y. Modulation of somatosensory evoked responses in the primary somatosensory cortex produced by intracortical microstimulation of the motor cortex in the monkey. *Exp Brain Res* 80: 333-344, 1990
 - 12) Huttunen J, Lauronen L. Intracortical modulation of somatosensory evoked fields during movement: evidence for selective suppression of postsynaptic inhibition. *Brain Res* 1459: 43-51, 2012
 - 13) Sugawara K, Onishi H, Yamashiro K, Kotan S, Kojima S, Miyaguchi S, et al. Effect of muscle contraction strength on gating of somatosensory magnetic fields. *Exp Brain Res* 234: 3389-3398, 2016
 - 14) Jones SJ, Halonen JP, Shawkat F. Centrifugal and centripetal mechanisms involved in the 'gating' of cortical SEPs during movement. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 74: 36-45, 1989
 - 15) Cheron G, Borenstein S. Mental movement simulation affects the N30 frontal component of the somatosensory evoked potential. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 84: 288-292, 1992
 - 16) Kakigi R, Jones SJ. Effects on median nerve SEPs of tactile stimulation applied to adjacent and remote areas of the body surface. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 62: 252-265, 1985
 - 17) Gantchev G, Gavrilenko T, Concek V. Somatosensory evoked potentials modification related to isometric voluntary contraction. *Int J Psychophysiol* 17: 191-196, 1994.
 - 18) Forss N, Hari R, Salmelin R, Ahonen A, Hamalainen M, Kajola M, et al. Activation of the human posterior parietal cortex by median nerve stimulation. *Exp Brain Res* 99: 309-315, 1994
 - 19) Kristeva-Feige R, Rossi S, Pizzella V, Lopez L, Erne SN, Edrich J, et al. A neuromagnetic study of movement-related somatosensory gating in the human brain. *Exp Brain Res* 107: 504-514, 1996
 - 20) Onishi H, Oyama M, Soma T, Kirimoto H, Sugawara K, Murakami H, et al. Muscle-afferent projection to the sensorimotor cortex after voluntary movement and motor-point stimulation: an MEG study. *Clin Neurophysiol* 122: 605-610, 2011
 - 21) Onishi H, Sugawara K, Yamashiro K, Sato D, Suzuki M, Kirimoto H, et al. Neuromagnetic activation following active and passive finger movements. *Brain Behav* 3: 178-192, 2013
 - 22) Sugawara K, Onishi H, Yamashiro K, Kirimoto H, Tsubaki A, Suzuki M, et al. Activation of the human premotor cortex during motor preparation in visuomotor tasks. *Brain Topogr* 26: 581-590, 2013
 - 23) Sugawara K, Onishi H, Yamashiro K, Soma T, Oyama M, Kirimoto H, et al. Repeated practice of a Go/NoGo visuomotor task induces neuroplastic change in the human posterior parietal cortex: an MEG study. *Exp Brain Res* 226: 495-502, 2013
 - 24) Onishi H, Soma T, Kameyama S, Oishi M, Fujimoto A, Oyama M, et al. Cortical neuromagnetic activation accompanying two types of voluntary finger extension. *Brain Res* 1123: 112-118, 2006
 - 25) Rushton DN, Rothwell JC, Craggs MD. Gating of somatosensory evoked potentials during different kinds of movement in man. *Brain* 104: 465-491, 1981
 - 26) Harrison PJ, Jankowska E. Do interneurons in lower lumbar segments contribute to the presynaptic depolarization of group I muscle afferents in Clarke's column? *Brain Res* 295: 203-210, 1984
 - 27) Tapia MC, Cohen LG, Starr A. Selectivity of attenuation (i.e., gating) of somatosensory potentials during voluntary movement in humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 68: 226-230, 1987

- 28) Huttunen J, Kahkonen S, Kaakkola S, Ahveninen J, Pekkonen E. Effects of an acute D2-dopaminergic blockade on the somatosensory cortical responses in healthy humans: evidence from evoked magnetic fields. *Neuroreport* 14: 1609-1612, 2003
- 29) Jiang W, Lamarre Y, Chapman CE. Modulation of cutaneous cortical evoked potentials during isometric and isotonic contractions in the monkey. *Brain Res* 536: 69-78, 1990

総 説

難治性疼痛のリハビリテーション研究

大住 倫弘^{1,2)}, 住谷 昌彦³⁾, 大竹 祐子³⁾, 森岡 周^{1,2)}

Rehabilitation research of pain

Michihiro Osumi^{1,2)}, Masahiko Sumitani³⁾, Yuko Otake³⁾, Shu Morioka^{1,2)}

Abstract

Goal-directed movements involve representative sensorimotor control, planning, and execution, both sequentially and cyclically. An optimal motor control is necessary to minimize jerk, torque change, variance, interaction torques. Disturbance of optimal motor control may cause or exacerbate pathological pain in patients with complex regional pain syndrome (CRPS). The present review article demonstrated abnormal kinematic feature in CRPS indicating sensorimotor disturbance and pain-related fear. Then, we also demonstrated rehabilitation strategy for them based on analyzing kinematic data. While, phantom limb pain is exacerbated through altered movement representations of their phantom limb, for example, 'my phantom limb is frozen in one or more peculiar positions'. Previously study hypothesized that visual feedback using a mirror restored the voluntary movement representation of such a 'paralysed' phantom limb and simultaneously improved phantom limb pain. This observation generated a working hypothesis 'distorted movement representation of a phantom limb induces pathological pain as the alarm sign of the limb abnormality'. In the present review article, we demonstrated process of verifying the working hypothesis by using the bimanual circle-line coordination task and rehabilitation with virtual reality system. We suggest the importance of evaluating the movement representations in a quantitative way, and that structured movement representations of the phantom limb are necessary for alleviating phantom limb pain.

Key words: Complex regional pain syndrome, Phantom limb pain, Motor control, Sensorimotor integration

はじめに

これまでの疼痛についての理学療法評価／介入研究は、症例ごとの重症度分類・予後予測・自立度判定・アプローチを発展させてきた。しかしながら、本稿で取り上げるような「疼痛を有する肢の運動がぎこちない」「患肢が痛くて動かすこともできない」、「四肢が欠損されているのに痛みを感じる」という症例に対しては、どのような理学療法が最適であるのかは不明確である。このような症例に対する理学療法評価／介入を考える上では、認知神経科学、計算論的神経科学、バイオメカニクスなどの基礎研究で確立された計測技術や運動制御モデルの応用が有用である。本稿では、

-
- 1) 畿央大学ニューロリハビリテーション研究センター
Neurorehabilitation Research Center, Kio University, Nara, Japan.
 - 2) 畿央大学大学院健康科学研究科
Graduate School of Health Science, Kio University, Nara, Japan.
 - 3) 東京大学医学部附属病院緩和ケア診療部 / 麻酔科・痛みセンター
Department of Pain and Palliative Medicine, The University of Tokyo Hospital, Japan.

投稿責任者：大住倫弘

連絡先：〒635-0832 奈良県北葛城郡広陵町馬見中4-2-2

畿央大学ニューロリハビリテーション研究センター

E-mail: m.ohsumi@kio.ac.jp

基礎研究を参考した疼痛についての理学療法評価／介入研究のプロセスを、難治性疼痛とされている複合性局所疼痛症候群 (Complex Regional Pain Syndrome: CRPS) および幻肢痛 (Phantom Limb Pain: PLP) に絞って紹介する。

1) 複合性局所疼痛症候群 (Complex Regional Pain Syndrome: CRPS) のリハビリテーション研究

CRPSとは、痛みを伴う四肢の外傷 (骨折・捻挫だけでなく些細な外傷でも発症し得る) や不動によって、強い痛みやアロディニア (触れただけでも痛みを感じる)、痛覚過敏が遷延する症候群である。当然のことながら、急性期CRPSでは熱感・腫脹などの炎症が主たる病態であることは分子生物学研究で明らかにされている¹⁾。しかしながら、慢性期CRPSの病態は複雑化しており、筋力低下や関節可動域制限だけでは説明ができない特有の運動制御異常が観察される。本稿では、基本的なヒトの運動制御理論を概説した上で、CRPSにおける運動制御の特徴とその定量的評価およびリハビリテーション (以下、リハビリ) について紹介する。

1. 1) 運動制御システム-フィードフォワード運動制御とフィードバック運動制御-

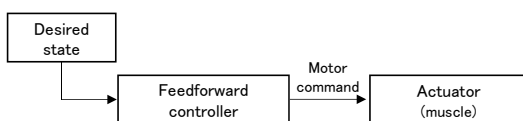
ヒトの運動指令はフィードバック運動制御とフィードフォワード運動制御の支配を受けている。フィードバック運動制御では、予測された身体状態と実際の感覚フィードバックとの間に生じる誤差情報を利用して

運動指令を形成する (図1)²⁾。ヒトの運動はフィードバック運動制御のおかげで、運動指令の不正確さ、神経ノイズによって生じる誤差、対象物の予期せぬ変化に難く対応することができている。しかしながら、ヒトの感覚運動系には一定の時間遅延が内在しているため、フィードバック運動制御のみでは運動が間欠的になってしまう。これを解決してくれるのがフィードフォワード運動制御である。フィードフォワード運動制御は、運動開始前に決定した目標とする身体状態に基づいて運動指令が生成され、感覚フィードバックを利用する感覚運動ループを形成しないため、フィードバック運動制御のような誤差修正に要する時間遅延は生じない (図1)²⁾。ただし、運動開始前に計画された運動指令には必ず不正確さがつきまとうため、フィードフォワード運動制御だけではやはり不正確な運動となってしまう。そのため、運動の難易度に応じてフィードバック運動制御とフィードフォワード運動制御を調整していく必要があり、運動の最適化にはどちらの制御様式も重要である。

1. 2) CRPSに出現する運動制御システムの破綻

古くから、慢性期CRPSには関節可動域制限や筋力低下では説明できない運動のぎこちなさや失調症状が出現することが報告されている³⁾。このような運動制御異常の観察では、上肢到達運動の運動学的データを時系列に沿って分析することが重要である⁴⁾。上肢到達運動の運動学的分析では、運動開始から運動速度がピークになった時点まで (= 加速期) をフィードフォワード運動制御が反映されているフェーズ、運動速度ピークから運動終了まで (= 減速期) をフィードバック運動制御が反映されているフェーズとされている^{4,5)} (図2)。つまり、動き始めのフェーズでは運動発現前に計画された運動プログラムの正確性が反映されており、対象物と手が近づいてきたフェーズでは視覚-体性感覚のフィードバック情報に基づく誤差修正機能が反映されているということである。このような運動学的分析は、先行研究でCRPS症例10名に実施されており、CRPSでは減速期に運動失調が認められたことから、CRPSにはフィードバック運動制御の異常が存在することが明らかにされている⁵⁾ (図2)。一方で、ヒトの上肢到達運動の軌跡は、直線軌跡よりも円弧状の運動軌跡の方がスムーズさの保証に最適であることが計算論的手法によって明らかにされており、加速期での外側へ逸脱する運動軌跡 (Initial Direction Error) がスムーズな運動の特徴である⁶⁾。筆者らは上記の先行研究の解析手法を参考にして、過度に痛み

A. Feedforward control



B. Feedback control

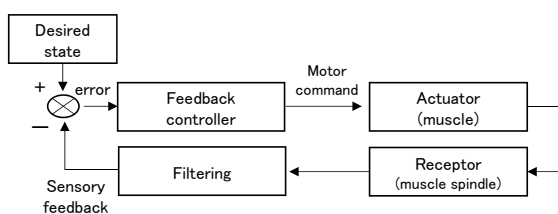


Fig. 1 Feedforward control and feedback control.

(A) Feedforward controller output motor command based on desired state. The error is not monitored during movement execution.

(B) Error signal is detected after comparison between desired state and sensory feedback. The error signal achieves to generate motor command.

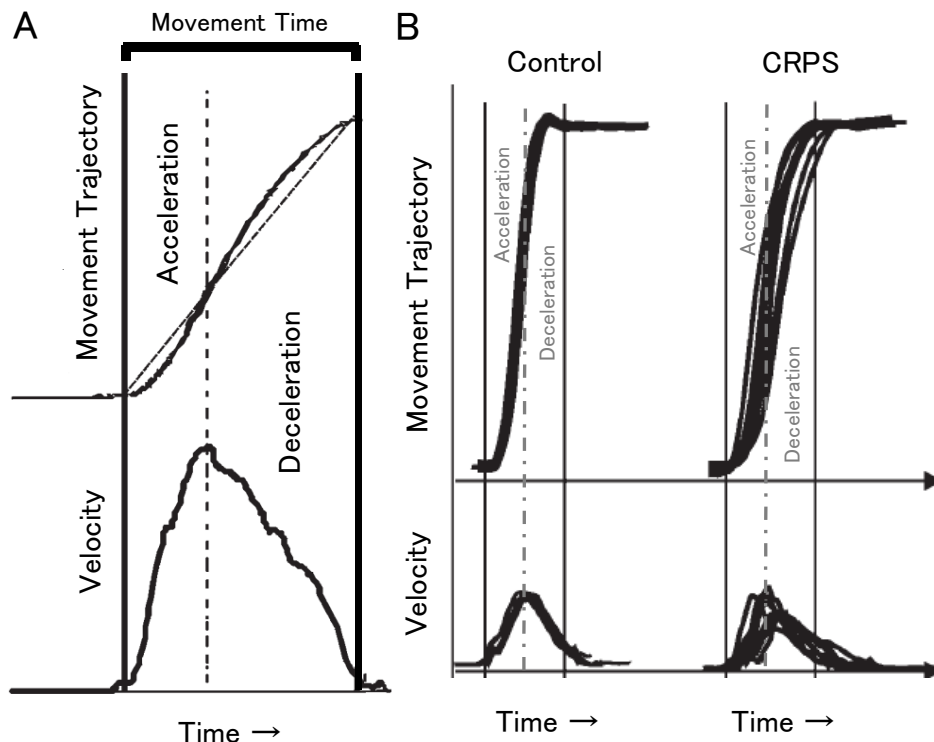


Fig. 2 Kinematic variables of the reach movement.

(A) The trajectory of the wrist with the corresponding velocity profile is shown. The total movement time is divided into an acceleration and deceleration phase.

(B) Superimposed traces from successive reach movement are shown. Reach movement paths are less constant in the patient. The peak velocity is decreased in comparison to the control.

／運動に恐怖心を訴える上肢CRPS症例の上肢到達運動の運動学的解析を実施した⁷⁾。そこでは、減速期の運動失調（＝フィードバック運動制御の破綻）が観察されただけでなく、運動のスムーズさを保証するための加速期のInitial Direction Errorが小さく、過剰な直線軌道が確認された（＝フォードフォワード運動制御の破綻）（図3）。また、減速期の運動失調に関しては、局所静脈内ブロック治療による疼痛緩和後でも残存したことから、本症例のフィードバック運動制御の異常は、単なる痛みの影響では片づけられるものではなく、感覚運動ループの破綻が密接に関係していると考えられた。その一方で、加速期における過度な直線軌道は、局所静脈内ブロック治療によって改善した（正常なInitial Direction Errorが認められた）ことから（図3）、本症例のフィードフォワード運動制御の異常に関しては、痛み／運動に対する恐怖心に由来するものであり、恐怖心が運動プログラムを破綻させていたことが考えられた。筋電計測などは実施していないため飛躍的な解釈になることは否めないが、おそらく過度な恐怖心が肩・肘関節の屈筋／伸筋を同時に収縮させ、スー

スな到達運動が損なわれていたのであろう。このように、CRPS症例の運動制御システムの異常を運動学的データから考察することは、運動制御異常が存在するという事実を定量的に捉えることは勿論のこと、感覚運動ループのどこに異常が生じているのかまでも把握することができるため、症例に応じたりハビリ指針の決定に繋がり易い。以下からは、フィードバック運動制御およびフィードフォワード運動制御に対するリハビリにはどのようなものが過去に報告されているのかを紹介する。

1. 3) フィードバック運動制御に対するリハビリテーション

先にも述べたように、ヒトは視覚-体性感覚フィードバック情報を手掛かりに最適なフィードバック運動制御を実現させる。そのため、フィードバック運動制御に対するリハビリでは触覚・固有感覚などの体性感覚機能に着目すべきである。実際に、痛覚過敏を有するCRPSでは体性感覚が鈍麻／機能低下していることは多く報告されている⁸⁾。それだけでなく、体性感覚

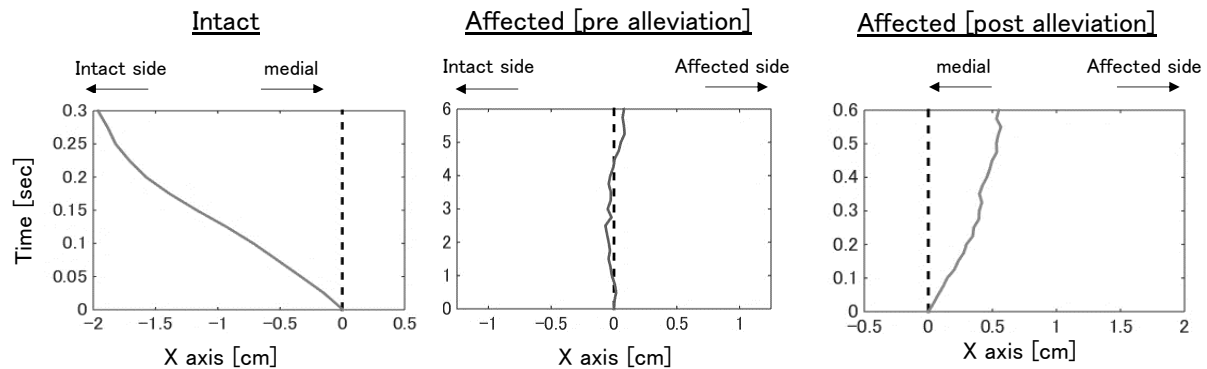


Fig. 3 Examples of goal-directed movement trajectories in the intact upper limb and in the affected limb before and after pain alleviation during the initial movement phase.

機能の異常はCRPSの発症要因になることまで報告されている^{9,10}。例えば、「どの指を触られているか」を閉眼で回答するタスクの成績が不良である運動器疼痛患者はCRPSへ移行し易いことが前向きコホート研究で明らかにされている⁹。また、「患肢を自分の身体の一部のように感じない」、「患肢だけ過度に大きく感じる」などの身体知覚異常を評価するBody Perception Disturbance Scale (BPD)のスコアが不良な四肢骨折患者は、痛みが慢性化しやすいことも報告されている¹⁰。体性感覚機能の低下は患肢の長期間の不使用によって生じている要素も大きいので、リハビリでは積極的に体性感覚を入力することが必須となってくる。20名のCRPS患者を対象に、1日45分間の電気刺激 (High-Frequency Repetitive Sensory Stimulation) を痛みの出現しない強度で5日間実施すると、2点識別覚閾値の改善が認められたことが報告されている¹¹。このようなシンプルな体性感覚入力に加えて、入力される体性感覚刺激を「識別する」という認知負荷を与えることによって、さらに効果が高まることも明らかにされている¹²。筆者らも、下肢CRPS症例に対して、触覚部位の識別という認知負荷と運動療法を組み合わせ実施したところ、二点識別覚閾値、身体知覚異常、疼痛範囲、主観的疼痛強度が改善したことを報告している¹³。蛇足となるが、我々が報告したCRPS症例に対する触覚識別トレーニングでは、体性感覚機能の改善に伴って、過剰に拡大していた疼痛範囲が徐々に縮小してきた経過が観察されていた。CRPSで頻繁に観察される「患部以外への疼痛範囲の拡大」は、1次体性感覚野の誤った身体マッピングによることから¹⁴、触覚識別トレーニングは体性感覚野の不適切な可塑的变化を是正し、疼痛範囲の縮小化に良い効果をもたらす可能性が考えられる。

これらの先行研究から、CRPSにおけるフィードバ

ック運動制御の改善のためには、積極的な体性感覚入力に加えて、体性感覚識別という認知負荷を与えることが重要になってくると考えられる。しかしながら、体性感覚刺激をすることだけで痛み／不快感を抱くCRPS症例が多いことや、体性感覚の識別は大きな心的ストレスになること、在宅での体性感覚トレーニングでは効果がないことが報告されていることも事実である¹⁵。CRPSに特有とされる心理的側面の問題や、CRPSは外来リハビリが主体となる現状を考慮すると、リハビリ現場での導入には慎重にならないといけない。

1. 4) フィードフォワード運動制御に対するリハビリテーション

フィードフォワード運動制御は運動のプログラムが反映されているわけであるが、CRPSでは痛みに対するネガティブ感情や運動に対する恐怖心が運動プログラムを変容させることが報告されている¹⁶。特に“運動恐怖 (kinesiophobia)”は、運動プログラムを変容させる代表的な情動要素であると考えられている。20名のCRPS患者に対して運動をイメージすることを求めた臨床研究では、「動くことを考えただけで痛い」と訴える患者は、運動恐怖心 (Tampa scale for kinesiophobia: TSK) のスコアが高得点だったと報告されている¹⁶。実際にCRPS患者が「動くことを考えただけで痛いのか？」を脳機能イメージング装置で検証している研究では、上肢CRPS患者が把握運動映像を観察するだけで、2次体性感覚野・島皮質・眼窩前頭前野などの痛みの感覚・情動に関連する脳領域が過度に活動することを明らかにしている¹⁷。つまり、身体を動かすことに恐怖心を抱いているCRPS症例は、患肢を動かそうとするだけで脳内レベルでの仮想的な痛みを生成してしまっており、その仮想的な痛みが運

動プログラムを修飾し、フィードフォワード運動制御に悪影響を与えていることが想定される。加えて、運動恐怖はCRPSの身体機能面の予後を不良にする大きな要因であることも明らかにされており^{18,19)}、リハビリ現場では見逃すことのできない情動要素である。では、運動恐怖はどのようなリハビリ手続きによって解消されていくのであろうか。この点については、「適度な痛みで曝しながら運動する」ということが近年の研究で共通している見解である^{20,21)}。過剰に痛みを訴えるCRPS症例に運動を課することは困難に思われがちであるが、適度な痛みで曝すことの方がむしろ効果的であることに加えて、その安全性まで報告されている²¹⁾。当然のことながら、これらの先行研究は、闇雲に痛みを我慢して患部を動かすことが効果的であると主張しているのではなく、実際には「慢性の痛みは組織損傷による痛みでない」という教育的介入を併せて実施している。近年に報告されたCRPSに対する“適度な痛みで曝露させる理学療法”では、理学療法実施前に、急性痛と慢性痛との違い・中枢性疼痛・痛みの記憶についての神経生理学知見を教育し、「痛みは組織損傷のサインではなくて誤った警告サイン」であるという認識を持ってもらうように介入している²²⁾。その上で、患者自らが目標設定（身体的・社会的目標）をしてリハビリをスタートしている。そして結果的に、コントロール群（痛みだけに焦点をあてた理学療法を実施した群）よりも、恐怖心・痛み・機能障害が有意に改善したと報告している²²⁾。このように、「患者教育」と「運動療法」の組み合わせ・積み重ねが、患者の誤った痛みの認識および運動恐怖を是正させ、フィードフォワード運動制御における運動の最小化／緩慢化を解消させると思われる。

以上のことから、体性感覚機能の低下および情動的要素がCRPSにおける運動制御システム（フィードバック・フィードフォワード運動制御）を破綻させていることが考えられるため、個々の症例の病態や重症度に合わせた体性感覚トレーニング・患者教育・運動療法が、現時点では最善の理学療法であるといえる。

2) 幻肢痛 (Phantom Limb Pain) のリハビリテーション研究

幻肢痛は、四肢切断後あるいは求心路遮断後に、(感覚が) 欠損されたはずの四肢に耐えがたい痛みを伴って患者に襲いかかる痛みであり、痙攣性の痛み、疼く痛み、灼けつく痛み、ナイフで切られるような痛み、締めつけられるような痛み、押しつぶされるような痛み、ビーンと走るような痛みである²³⁾。本稿では、幻

肢痛の発生機序とリハビリに関する作業仮説を簡潔に解説した上で、背景となる基礎研究を含めて我々の検証プロセスを紹介する。

2. 1) 幻肢の随意運動の獲得が幻肢痛を緩和させる

古くから、幻肢痛が強い者は、「幻肢が固まって同じ肢位のまま動かない」と訴えることが多いと報告されてきた²⁴⁾。このような幻肢の麻痺（幻肢の運動表象の損失）を鏡療法というリハビリで改善させると、幻肢痛が緩和するだけではなく、幻肢と反対側の一次運動野の活動も増大することも明らかにされている^{25,26)}。これらの臨床研究から、「疼痛は身体の異常を知らせるための警告系として身体に備え付けられた神経システムであり、運動表象の欠損は四肢の異常を知らせるアラームとして幻肢痛を発生させる」という作業仮説が立てられた²⁵⁾。つまり、幻肢を随意的にコントロールできれば“脳にとって健常な肢”として存在するようになり、病的な痛みである幻肢痛が生じないと考えられるようになった。我々は、幻肢痛の発生機序に関する作業仮説を検証するべく、まずは幻肢の運動表象を健肢運動によって定量評価した上で、バーチャルリアリティシステムを用いたリハビリの効果を観察した。以下からは、その検証プロセスを紹介する。

2. 2) 両手干渉作用を利用した幻肢の運動表象の定量化

幻肢痛の作業仮説を検証するためには、まずは幻肢の随意運動を定量化する必要がある。これまでの研究でも、幻肢の随意運動を主観的に評価することだけでは不十分であることは指摘されてきており、筋電計や脳波計を用いた定量的評価が報告されている。筋電計を用いた幻肢の随意運動の観察では、上肢切断患者に幻肢の手関節屈曲／伸展の周期運動を要求すると、断端に残存している屈筋／伸筋の収縮・弛緩が周期的に認められたことが報告されている²⁷⁾。また、鏡療法によって幻肢運動の主観的な鮮明度が高くなるのと同時に、断端の筋活動量が増大することも報告されている²⁸⁾。これらのことから、断端の筋の保存状態が良好な場合は、幻肢の随意運動を残存筋で定量評価することができるとされている。一方で、脳波計を用いた幻肢運動の定量評価では、幻肢を動かそうとする300msec前に減衰する β 波に着目している²⁹⁾。この β 波の減衰は健肢を動かそうとする直前でも生じることから、幻肢の随意運動が残存しているバイオマーカーとしての有用性が示唆されている。このように、幻肢の随意運動を主観的に捉えるだけでなく、残存した筋活動や脳波活動で定量的に評価することが試みられて

いる。しかしながら、いずれにしても筋活動や脳波活動などの生体反応を計測する機器が必要となり、臨床現場での汎用性は決して高いとは言えない。

一方で、特殊な機器を使用せずとも簡便に幻肢運動を定量評価した研究も報告されている³⁰⁾。その報告では、ヒトの両手運動は、単一の運動パターンに収束してしまう（右手で△を描きながら左手で○を描くと右手も○を描くようになる）という特性を利用して、幻肢で円を描きながら健肢で直線を描かせて、健肢の直線の歪み度合を算出することによって幻肢運動を定量的に評価している。実際に、幻肢を動かすことができない上肢切断者D.Sは健肢で描く直線が歪まずに、幻肢を動かすことができる上肢切断者F.Aは健肢で描く直線が歪んでいたと報告された³⁰⁾。この両手干渉タ

ク (Bimanual Coupling Task: BCT) は幻肢の随意運動の評価だけではなく、運動無視や病態失認などの高次脳機能障害患者の運動表象の評価にも用いられている。例えば、運動麻痺が重度であるにも関わらず「自分の手は何の問題もなく正常に動く」という病態失認患者に対して、(実際には動かすことのできない) 麻痺肢で円運動をしながら健肢で直線運動をするように要求すると、健肢の直線軌道が楕円形に大きく歪むことが確認されている³¹⁾。これは、病態失認患者には運動表象が実存していることを意味しており、麻痺肢が実際には動かないというフィードバック情報と比較照合をする機能の障害が本態的な病態であることを明確にしている。それとは対照的な症状として位置づけられている運動無視 (運動麻痺は軽度であるにも関わら

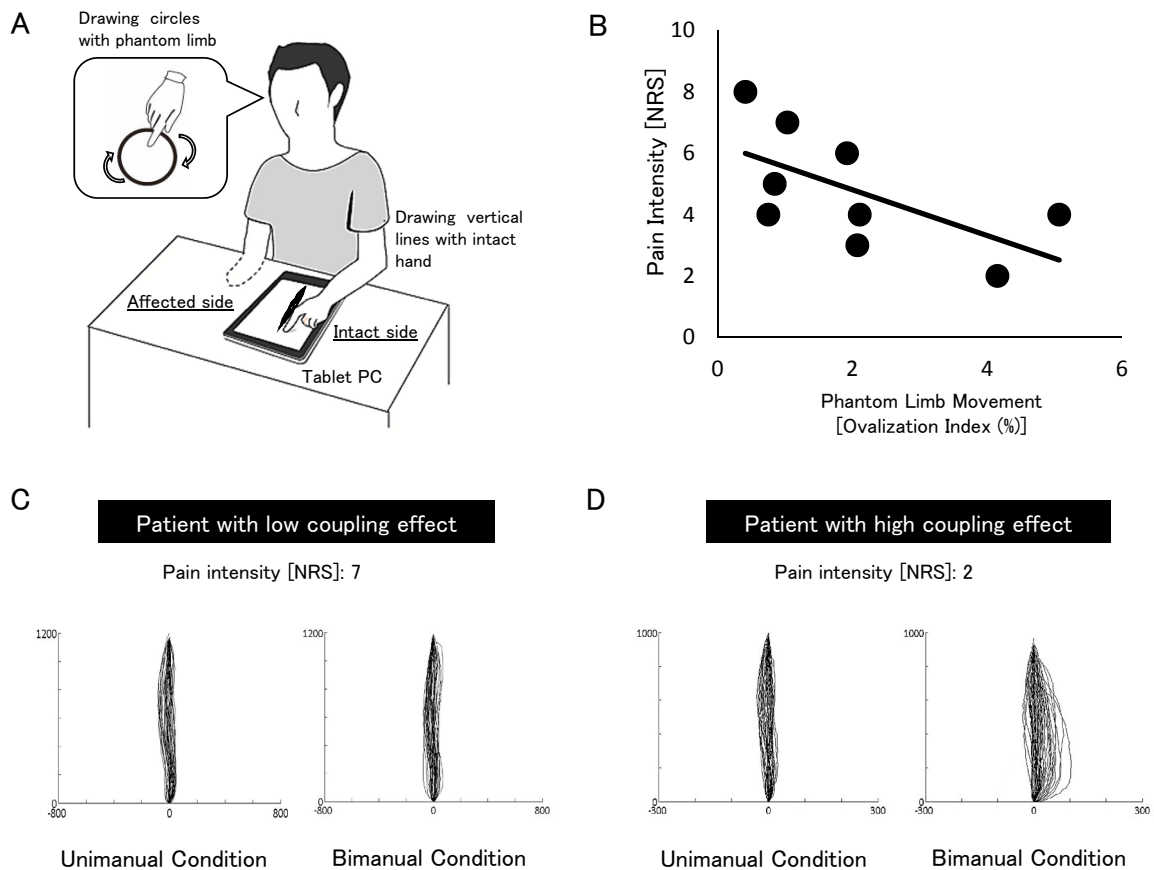


Fig. 4 The relationship between the result of bimanual circle-line coordination task and phantom limb pain.

(A) The experiment image of bimanual circle-line coordination task. The patients sat comfortably in a chair and put their intact index finger on a tablet PC that was on a table in front of the patients. Patients intend to draw circles with their phantom limb while drawing vertical lines with intact hand in the bimanual condition.

(B) Relationship between PLP and movement representation of phantom limb. A significant negative correlation was observed between pain intensity and OI ($r = -0.66, p < 0.05$).

(C and D) Examples of trajectories in the bimanual circle-lines coupling task. In a patient, the OI value comparable between unimanual and bimanual conditions. This result indicated low bimanual coupling effect (C). In contrast, a patient demonstrated more circular transfiguration (i.e., high OI value) under the bimanual condition, compared with trajectories under the unimanual condition, indicating a high coupling effect (D).

ず、患肢を日常生活で使用しない)では、両手干渉タスクでの健肢の直線はほとんど歪まないと報告されており、運動表象そのものが欠損していることが運動無視を引き起こしていると考えられている。このように、健肢運動で患肢の運動表象の評価をすることは、非常に簡便な評価方法であるため、臨床現場での汎用性は非常に高い。我々は、幻肢の運動表象の損失が幻肢痛を引き起こすという作業仮説を検証するために、幻肢痛を有する者に対して両手干渉タスクを実施し、幻肢痛の重症度との相関関係を調査した³²⁾。両手干渉タスクでは、健肢でタブレットパソコンに直線を描いてもらいながら幻肢で円運動をするように要求し(図4)、健肢の直線の歪み程度を定量化するために、タブレットパソコンに記録された直線軌跡の歪みを $[(X軸データの標準偏差/Y軸データの標準偏差) \times 100]$ で算出されるOvalization Index (OI)によって定量化した。OIが100に近づけば近づくほど正円になっていることを示しており、0に近づけば直線になっていることを示している。すなわち、OIが高い値になればなるほど、健肢の直線が楕円形に歪んでいるということであり、幻肢の運動表象が残存していることを意味している。幻肢痛を有する腕神経叢引き抜き損傷患者9名を対象に実施した結果、主観的に訴える幻肢痛の重症度とOIとの間に有意な負の相関関係が認められた。このことは、幻肢の運動表象を損失している者は幻肢痛が重度であることを意味しており、幻肢痛の発生機序に関する作業仮説の一端を検証することができたこととなる。また我々は、「損なわれている幻肢の運動表象を再構築させれば幻肢痛も緩和するであろう」という着想に基づいてリハビリ介入研究を実施した。以下からは、幻肢の運動表象の再構築のために必要なことを解説した上で、我々が試みているバーチャルリアリティシステムを用いたリハビリを紹介する。

2. 3) 幻肢の運動表象改善のためのリハビリテーション

ヒトの運動表象は、運動予測系(予測された感覚)と実際の感覚フィードバックとの比較照合プロセスによって構築されていく³³⁾。つまり、幻肢を動かすという運動指令を出力したにも関わらず、幻肢が動いたというフィードバック情報が得られない状況が続くと、徐々に幻肢の運動表象が損なわれていくことになる。このことは“学習された麻痺”とも呼ばれることもあり、「幻肢が固まって動かない」と訴えるに至るプロセスを分かりやすく示している³⁴⁾。実際に、運動に関する視覚フィードバックを数ミリ秒250msec遅延させ、「思ったように肢が動かない」という状況を実験

的に設定すると、時間遅延に伴って筋出力が低下していくことが報告されている³⁵⁾。運動表象が変容していくこのようなプロセスを考慮すれば、幻肢が動いたというフィードバックを付加することが幻肢の運動表象を再獲得させることに有効であることは合点がいく。しかしながら、腕神経叢引き抜き損傷では固有感覚・触覚が欠損しているため、体性感覚フィードバックによって幻肢運動を経験することは困難である。そのため、幻肢に関する視覚情報(映像)を活用することが最も効率的なフィードバック手段となる。このような理論背景から、我々は幻肢の運動表象を再構築させるための治療として、Virtual Reality (VR: 仮想現実)システムを用いた。VRシステムでは、三次元赤外線カメラで健肢の関節情報を取得し、その情報を左右反転させVR空間に幻肢の映像を映し出すことによって、健肢運動で幻肢運動の視覚フィードバックを生成することが可能となる(図5)。このVRシステム内で健肢と幻肢を同時に動かすタスクを実施すれば、あたかも幻肢が健肢と同じように動いている体験ができる。過去の研究でも、右手運動を反転させた映像(仮想的な左手運動の映像)をフィードバックさせると、あたかも左手を動かしているような錯覚が生じ、左手と対側の運動関連脳領域も活性化することや³⁶⁾、左手の運動学習が促進されることが報告されている³⁷⁾。我々は、腕神経叢引き抜き損傷後の幻肢痛を有する者8名に対してVRシステムを用いた幻肢運動リハビリを実施したところ、幻肢運動の定量評価である両手干渉タスクのOIが有意に改善するだけでなく、幻肢痛も有意に軽減した。加えて、OIの改善率と幻肢痛の軽減率との間には有意な相関関係が認められた³⁸⁾(図5)。これらの結果は、幻肢の運動表象の再構築が幻肢痛のリハビリに重要であるということを示している。我々は、これらの幻肢の運動表象の定量評価からリハビリ効果検証を通して、幻肢痛と幻肢運動との密接な関係を明らかにしてきた。とはいうものの、我々が用いたVRリハビリで全ての幻肢痛が改善するというわけではなく、神経損傷に伴う末梢神経および脊髄レベルでの異常も考慮していかないといけない。今後は、個々の症例に応じた問題点を明確に抽出できる評価システムを考案していくとともに、より効果の高い幻肢痛リハビリを開発していく。

おわりに

本稿では、複合性局疼痛症候群と幻肢痛といった難治性疼痛患者におけるリハビリのための定量評価およ

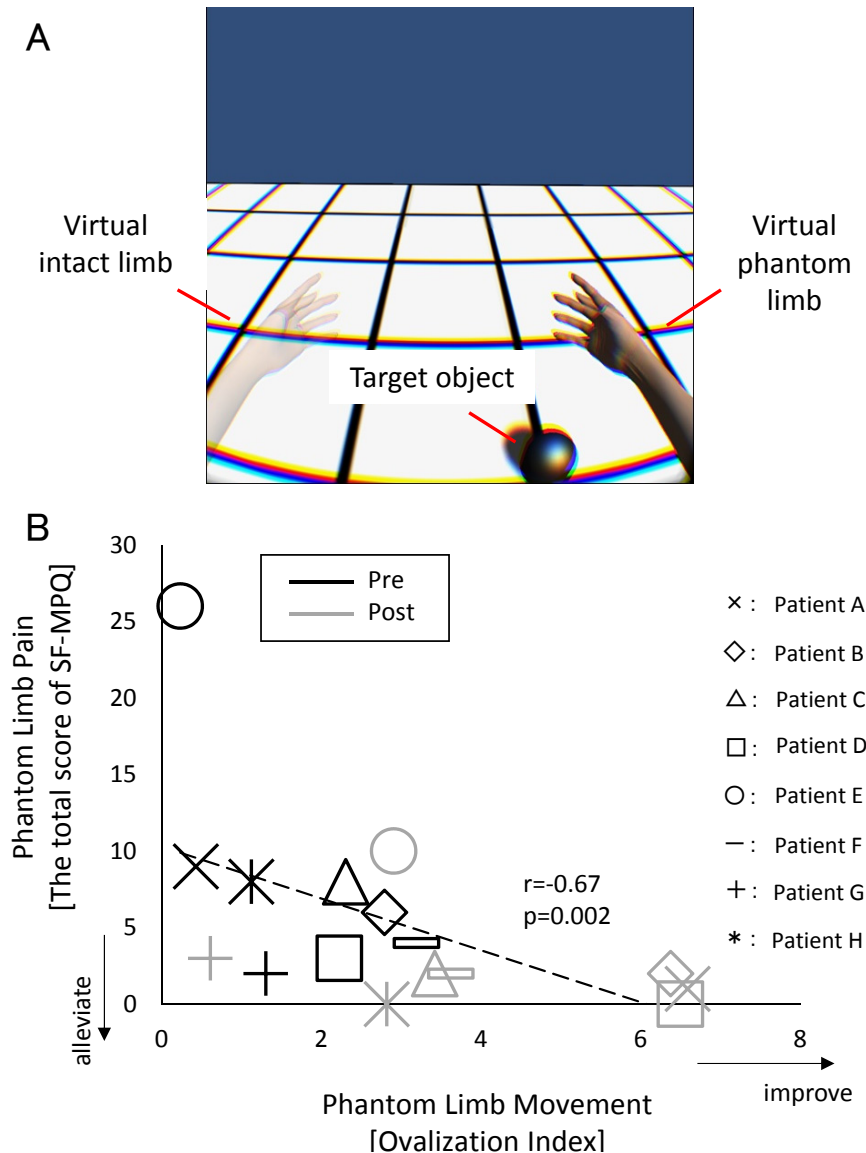


Fig. 5 (A) Demonstration of our virtual reality environment through a head-mounted display.

Participants moved the virtual phantom limb, which is a mirror-reversed image of the intact limb by moving their intact limb, and then tried to reach and touch a target object. When touching the object, auditory feedback was provided to the participants.

(B) Correlation between the ovalization index and phantom limb pain including pre- and post-virtual reality rehabilitation training. Black lines indicate pre-VR rehabilitation and grey lines indicate post-VR rehabilitation.

びアプローチを、運動制御理論あるいは知覚運動協応の視点から解説した。難治性疼痛のリハビリテーションでは、痛みを増悪させている要因を的確に評価していくことが重要であるため、それを実現するためには基礎研究で確立された計測・解析技術を網羅的に体得しておくこと、運動制御モデルを理解すること、それに加えて臨床現場に応用させる工夫が必要である。理学療法に関する基礎研究が発展するとともに、臨床現場でのリハビリ効果を相乗的に向上させることが我々の役割であると考えている。

謝 辞

東京大学大学院情報理工学系研究科知能機械情報学國吉康夫教授、佐野佑子氏、和気尚希氏、一ノ瀬晶路氏、東京大学先端科学技術研究センター 熊谷晋一郎准教授

JSPS科研費 15K16381

文 献

- 1) Birklein F, Schlereth T: Complex regional pain syndrome-significant progress in understanding. *Pain* 156: S94-103, 2015
- 2) Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ (編), 金澤一郎, 宮下保司 (日本語監修): カンデル神経科学 Fifth Edition. メディカル・サイエンス・インターナショナル: 731-754, 2014
- 3) Veldman PH, Reynen HM, Arntz IE, Goris RJ: Signs and symptoms of reflex sympathetic dystrophy: prospective study of 829 patients. *Lancet* 342: 1012-1016, 1993
- 4) Deuschl G, Wenzelburger R, Löffler K, Raethjen J, Stolze H: Essential tremor and cerebellar dysfunction clinical and kinematic analysis of intention tremor. *Brain* 123: 1568-1580, 2000
- 5) Maihöfner C, Baron R, DeCol R, Binder A, Birklein F, Deuschl G, Handwerker HO, Schattschneider J: The motor system shows adaptive changes in complex regional pain syndrome. *Bran* 130: 2671-2687, 2007
- 6) Mistry M, Theodorou E, Schaals, Kawato M: Optimal control of reaching includes kinematic constraints. *J Neurophysiol* 110: 1-11, 2013
- 7) Osumi M, Sumitani M, Kumagaya SI, Morioka S: Optimal control of reaching is disturbed in complex regional pain syndrome: a single-case study. *J Pain Res* 10: 167-173, 2017
- 8) Di Pietro F, McAuley JH, Parkitny L, Lotze M, Wand BM, Moseley GL, Stanton TR: Primary somatosensory cortex function in complex regional pain syndrome: a systematic review and meta-analysis. *J Pain* 14: 1001-1018, 2013
- 9) Kuttikat A, Shaikh M, Oomatia A, Parker R, Shenker N: Novel Signs and Their Clinical Utility in Diagnosing Complex Regional Pain Syndrome (CRPS): A Prospective Observational Cohort Study. *Clin J Pain* 33: 496-502, 2017
- 10) Hall J, Llewellyn A, Palmer S, Rowett-Harris J, Atkins RM, McCabe CS: Sensorimotor dysfunction after limb fracture - An exploratory study. *Eur J Pain* 20: 1402-1412, 2016
- 11) David M, Dinse HR, Mainka T, Tegenthoff M, Maier C: High-Frequency Repetitive Sensory Stimulation as Intervention to Improve Sensory Loss in Patients with Complex Regional Pain Syndrome I. *Front Neurol* 6: 242, 2015
- 12) Moseley GL, Wiech K: The effect of tactile discrimination training is enhanced when patients watch the reflected image of their unaffected limb during training. *Pain* 144: 314-319, 2009
- 13) Osumi M, Okuno H, Nishigami T, Ueta K, Morioka S: Tactile localization training for pain, sensory disturbance, and distorted body image: a case study of complex regional pain syndrome. *Neurocase* 21: 628-634, 2015
- 14) Büntjen L, Hopf JM, Merkel C, Voges J, Knappe S, Heinze HJ, Schoenfeld MA: Somatosensory Misrepresentation Associated with Chronic Pain: Spatiotemporal Correlates of Sensory Perception in a Patient following a Complex Regional Pain Syndrome Spread. *Front Neurol* 8: 142, 2017
- 15) Ryan C, Harland N, Drew BT, Martin D: Tactile acuity training for patients with chronic low back pain: a pilot randomised controlled trial. *BMC Musculoskelet Disord* 15: 59, 2014
- 16) Moseley GL, Zalucki N, Birklein F, Marinus J, van Hilten JJ, Luomajoki H: Thinking about movement hurts: the effect of motor imagery on pain and swelling in people with chronic arm pain. *Arthritis Rheum* 59: 623-631, 2008
- 17) Hotta J, Saari J, Koskinen M, Hlushchuk Y, Forss N, Hari R: Abnormal Brain Responses to Action Observation in Complex Regional Pain Syndrome. *J Pain* 18: 255-265, 2017
- 18) de Jong JR, Vlaeyen JW, de Gelder JM, Patijn J: Pain-related fear, perceived harmfulness of activities, and functional limitations in complex regional pain syndrome type I. *J Pain* 12: 1209-1218, 2011
- 19) Bean DJ, Johnson MH, Heiss-Dunlop W, Lee AC, Kydd RR: Do psychological factors influence recovery from complex regional pain syndrome type 1? A prospective study. *Pain* 156: 2310-2318, 2015
- 20) den Hollander M, Goossens M, de Jong J, Ruijgrok J, Oosterhof J, Onghena P, Smeets R, Vlaeyen JW: Expose or protect? A randomized controlled trial of exposure in vivo vs pain-contingent treatment as usual in patients with

- complex regional pain syndrome type 1. *Pain* 157: 2318-2329, 2016
- 21) van de Meent H, Oerlemans M, Bruggeman A, Klomp F, van Dongen R, Oostendorp R, Frölke JP: Safety of “pain exposure” physical therapy in patients with complex regional pain syndrome type 1. *Pain* 152: 1431-1438, 2011
- 22) Barnhoorn KJ, Staal JB, van Dongen RT, Frölke JP, Klomp FP, van de Meent H, Samwel H, Nijhuis-van der Sanden MW: Are pain-related fears mediators for reducing disability and pain in patients with complex regional pain syndrome type 1? An explorative analysis on pain exposure physical therapy. *PLoS One* 10: e0123008, 2015
- 23) Choi JY, Kim HI, Lee KC, Han ZA: Atypical supernumerary phantom limb and phantom limb pain in a patient with spinal cord injury: case report. *Ann Rehabil Med* 37: 901-906, 2013
- 24) Ramachandran VS, Rogers-Ramachandran D: Synaesthesia in phantom limbs induced with mirrors. *Proc Biol Sci* 263: 377-386, 1996
- 25) Sumitani M, Miyauchi S, McCabe CS, Shibata M, Maeda L, Saitoh Y, Tashiro T, Mashimo T: Mirror visual feedback alleviates deafferentation pain, depending on qualitative aspects of the pain: a preliminary report. *Rheumatology* 47: 1038-1043, 2008
- 26) Diers M, Christmann C, Koeppe C, Ruf M, Flor H: Mirrored, imagined and executed movements differentially activate sensorimotor cortex in amputees with and without phantom limb pain. *Pain* 149: 296-304, 2010
- 27) Reilly KT, Mercier C, Schieber MH, Sirigu A: Persistent hand motor commands in the amputees’ brain. *Brain* 129: 2211-2223, 2006
- 28) Kawashima N, Mita T, Yoshikawa M: Inter-individual difference in the effect of mirror reflection-induced visual feedback on phantom limb awareness in forearm amputees. *PLoS One* 8: e69324, 2013
- 29) Walsh E, Long C, Haggard P: Voluntary control of a phantom limb. *Neuropsychologia* 75: 341-348, 2015
- 30) Franz EA, Ramachandran VS: Bimanual coupling in amputees with phantom limbs. *Nat Neurosci* 1: 443-444, 1998
- 31) Garbarini F, Rabuffetti M, Piedimonte A, Pia L, Ferrarin M, Frassinetti F, Gindri P, Cantagallo A, Driver J, Berti A: ‘Moving’ a paralysed hand: bimanual coupling effect in patients with anosognosia for hemiplegia. *Brain* 135: 1486-1497, 2012
- 32) Osumi M, Sumitani M, Wake N, Sano Y, Ichinose A, Kumagaya S, Kuniyoshi Y, Morioka S: Structured movement representations of a phantom limb associated with phantom limb pain. *Neurosci Lett* 605: 7-11, 2015
- 33) Wolpert DM, Ghahramani Z, Jordan MI: An internal model for sensorimotor integration. *Science* 269: 1880-1882, 1995
- 34) Ramachandran VS, Altschuler EL: The use of visual feedback, in particular mirror visual feedback, in restoring brain function. *Brain* 132: 1693-1710, 2009
- 35) Imaizumi S, Asai T, Kanayama N, Kawamura M, Koyama S: Agency over a phantom limb and electromyographic activity on the stump depend on visuomotor synchrony: a case study. *Front Hum Neurosci* 8: 545, 2014
- 36) Diers M, Kamping S, Kirsch P, Rance M, Bekrater-Bodmann R, Foell J, Trojan J, Fuchs X, Bach F, Maaß H, Cakmak H, Flor H: Illusion-related brain activations: A new virtual reality mirror box system for use during functional magnetic resonance imaging. *Brain Res* 1594: 173-182, 2015
- 37) Ossmy O, Mukamel R: Neural Network Underlying Intermanual Skill Transfer in Humans. *Cell Rep* 17: 2891-2900, 2016
- 38) Osumi M, Ichinose A, Sumitani M, Wake N, Sano Y, Yozu A, Kumagaya S, Kuniyoshi Y, Morioka S: Restoring movement representation and alleviating phantom limb pain through short-term neurorehabilitation with a virtual reality system. *Eur J Pain* 21: 140-147, 2017

原 著

白血病モデルラットの骨格筋に対する温熱刺激の影響

川内 春奈¹⁾, 中野 治郎²⁾, 井上慎太郎³⁾, 松崎 敏郎⁴⁾, 坂本 淳哉²⁾, 沖田 実⁵⁾

Effects of thermal therapy on skeletal muscle atrophy in leukemia model rat

Haruna Kawachi¹⁾, Jiro Nakano²⁾, Shintaro Inoue³⁾, Matsuzaki Toshiro⁴⁾,
Junya Sakamoto²⁾, Minoru Okita⁵⁾

Abstract

The purpose of this study was to clarify the safety and the effects of thermal therapy on skeletal muscle atrophy with leukemia by using model rats. Thirty Wistar rats (4 weeks old; male) were used. The rats were divided randomly into three groups; Control (n = 10), leukemia (L, n=10), and leukemia plus thermal therapy groups (L+T, n = 10). Leukemia was induced by injection of 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene in the L and L+T groups, injection was carried out 4 times with 10 days interval. Infrared therapy device was used for thermal therapy on hindlimbs in the L+T groups. Thermal therapy was begun after end of the injection and was performed for 4 weeks (40min/day, once per 2 days). Weight, erythrocyte sedimentation rate (ESR), hematocrit, and number of white blood cell (WBC), plasma concentrations of tumor necrosis factor alpha (TNF α), plasma concentrations of LDL receptor related with 11 binding repeats (LR11), muscle RING fiber protein 1 (MuRF1), heat shock protein 72 (HSP72) and muscle fiber diameter were measured. As the result, although HSP72 level was increased in the L+T group compared with the L group, MuRF1 level and muscle fiber diameter were not changed after thermal therapy. The change of progress of leukemia by thermal therapy was not observed from the results of weight, ESR, hematocrit, WBC, TNF α , LR11. In conclusion, thermal therapy on skeletal muscle might not prevent and recover the muscle atrophy with leukemia, though thermal therapy on skeletal muscle do not affect a progress of leukemia.

Key words: Leukemia, Thermal therapy, Skeletal muscle, Cachexia, Heat shock protein 72

-
- 1) 地方独立行政法人 佐賀県医療センター好生館 リハビリテーションセンター
Rehabilitation Center, Saga-Ken Medical Center Koseikan
 - 2) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 理学療法学分野
Department of Physical Therapy Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences
 - 3) 社会医療法人大成会 福岡記念病院 リハビリテーション科
Department of Rehabilitation, Fukuoka Kinen Hospital
 - 4) 日本赤十字社 長崎原爆病院 リハビリテーション部
Department of Rehabilitation, The Japanese Red Cross Nagasaki Genbaku Hospital

- 5) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 運動障害リハビリテーション学分野
Department of Locomotive Rehabilitation Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

投稿責任者：中野治郎

連絡先：〒852-8520 長崎県長崎市坂本1-7-1

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 理学療法学分野

E-mail : nakano-j@nagasaki-u.ac.jp

緒 言

がん患者に見られる筋力低下の要因は、廃用性筋萎縮だけでなくがん悪液質が大きく影響しているといわれている¹⁾。がん悪液質とは、進行性の体重減少と筋肉量減少を伴う複合的な栄養不良の症候群である。しかし、単純な摂取不足によるものだけでなく²⁾、炎症性サイトカインの作用が関与していると報告されている^{3,4)}。具体的には、腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor- α ; 以下, TNF α) を代表とする炎症性サイトカインが、ユビキチンプロテアソーム系のユビキチンリガーゼであるMuscle RING-Finger Protein-1 (以下, MuRF1) を誘導し⁵⁾、筋肉と脂肪の分解を促進すると考えられている。実際に、がんモデルマウスを用いた基礎研究においては、TNF α とMuRF1の発現増加とともに腓腹筋の筋線維横断面積が減少することや⁶⁾、抗TNF α 抗体を皮下投与してMuRF1の作用を抑制させると腓腹筋、肝臓、心臓のタンパク質分解が軽減することが報告されている⁷⁾。このように、がん患者は全身倦怠感のため身体活動量が減少し、食欲不振のため栄養不足であることに加えて、骨格筋は筋萎縮が惹起されやすい状態にある。これに対するリハビリテーションとして有酸素運動やレジスタンストレーニングといった骨格筋に対するアプローチが主に行われている^{8,9)}。しかしながら、血液がんの一種である白血病患者では、貧血などの疾患自体の症状に加え、化学療法や放射線療法の治療による倦怠感や嘔気などの副作用により積極的な運動療法が困難なケースが多い。また、骨髄移植を行う白血病患者では活動範囲が制限されるため¹⁰⁾、効果的な運動療法が行えず、廃用性筋萎縮の進行を許してしまうのが現状である。したがって、運動以外にも筋萎縮の進行を抑制するような介入の開発が求められている。

一方、長期臥床といった身体活動量の減少によって惹起される廃用性筋萎縮に関しては、運動以外の介入方法がいくつか提唱されており、その1つとして温熱刺激によりHeat shock protein 72 (以下, HSP72) を誘導する方法があげられる。HSP72とは、細胞内でタンパク質が正しく機能するように補助する分子シャペロンの1つであり、ポリペプチド鎖の伸長や折りたたみを補助してタンパク質の合成を促進する。また、HSP72には変性過程に至ったタンパク質を修復する機能や¹¹⁾、アポトーシスを招くタンパク質凝集体の形成を抑制して筋細胞を保護する機能もあることが知られている¹¹⁾。そして、渡部ら¹²⁾の報告によれば、後肢懸垂法による廃用性筋萎縮モデルラットのヒラメ筋に対

して42℃、60分間の温水浴による温熱刺激を7日間負荷すると、筋内のHSP72発現量が増加し、廃用性筋萎縮の進行が抑制されたとされている。また、下肢をギブス固定した廃用性筋萎縮モデルラットのヒラメ筋に対して、HSP72の発現を促進させるプラスミドを筋内投与すると、タンパク質分解を促進させるMuRF1の発現が抑制され、筋線維横断面積の減少が軽減したという報告¹³⁾もみられる。つまり、温熱刺激によって骨格筋内にHSP72を誘導すれば、タンパク質合成を促進、また分解を抑制し、廃用性筋萎縮の進行が抑制されると考えられており、この方法はがん悪液質による筋萎縮にも応用できるのではないかと期待される。現在のところ、骨格筋に対するがん悪液質の影響に関しては、その程度にがん種の間に差があるとしても¹⁴⁾、メカニズムに違いがあるとの報告はされておらず、白血病も例外ではない。つまり、温熱刺激により白血病患者に伴う筋萎縮を抑制できる可能性はある。

ただし、白血病患者の病態自体が温熱刺激の影響を受けのかどうかを確認することが重要と考えられる。一般の成書では、腫瘍部位に対する温熱療法はがん細胞の増殖を促進するなどの理由から禁忌とされている¹⁵⁾。近年では、腫瘍病巣を避けた表在性の温熱刺激であれば適応できるという見解に変わりつつあるが¹⁶⁾、温熱刺激の安全性を検討した報告は見あたらない。

そこで本研究では、化学物質誘導の白血病モデルラットを用い、白血病患者に伴う筋萎縮が温熱刺激によって抑制できるかどうか、ならびに白血病患者の病態が温熱刺激の影響を受けるかどうかを血液学的、組織学的、生化学的に検討した。

材料と方法

本研究は長崎大学動物実験委員会の承認を得た後 (承認番号: 1404301143)、定められた動物実験指針に従って長崎大学先端生命科学支援センター動物実験施設で実施した。実験プロトコルを図1に示し、詳細は後述する。

1. 実験動物

実験動物には4週齢のWistar系雄性ラット30匹を用い、通常飼育する群 (対照群, n=10)、白血病患者を惹起させた後通常飼育する群 (L群, n=10)、白血病患者を惹起させた後、8週齢の時点から温熱刺激を負荷する群 (L+T群, n=10) の3群に振り分けた。すべてのラットは室温24℃、明暗サイクル12時間の飼育室で飼

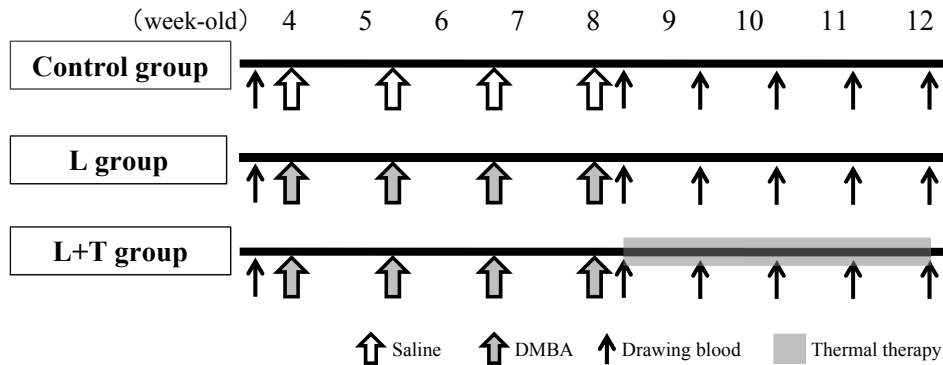


Fig. 1 Experiment Protocol

L: Leukemia, L+T: Leukemia plus thermal therapy.

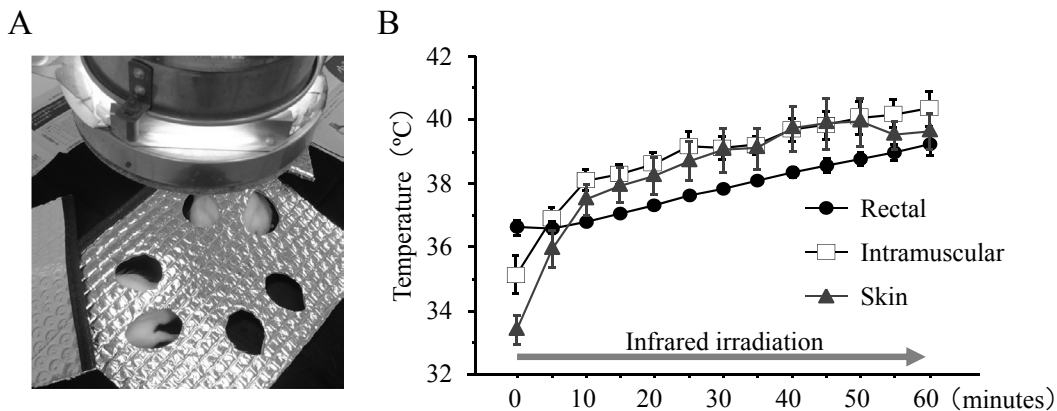


Fig. 2 Thermal therapy

A: Far infrared treatment device (EL-30, OG-Giken) was used as the thermal therapy. The far infrared light was irradiated to limited area of hindlimb.

B: Temperature change caused by infrared irradiation were shown. Rectal, intramuscular, and skin temperature of Wister male rats (n = 5) were measured as the pilot experiment.

育し、水と餌は自由摂取させた。また、実験開始時と温熱刺激期間中の週に1回、すべてのラットの体重測定を行った。

2. 白血病モデルの作成方法

白血病モデルは、先行研究によって作成方法が確立されている7,12-dimethylbenz-[a]anthracene (以下, DMBA) を用いた化学物質誘導モデル^{17,18)}を採用した。DMBAは油性であるため、DMBAをオリーブ油に溶解した後、生理食塩水と界面活性剤の大豆レシチンを混合させて乳液を作成し、これを起癌剤としてラットに投与した。具体的には、4週齢のL群とL+T群の各ラットに対してガス麻酔を行った後、DMBA油性乳液 (25mg/kg) を10日に1回の頻度でラット尾静脈から計4回投与した。なお、対照群にはDMBAを含まないオリーブ油と生理食塩水から作成した乳液を同量投与した。

3. 温熱刺激の方法

臨床において白血病患者に温熱療法を行う場合は、感染防止のため非接触型の温熱療法ツールが適していると考えられる。このことを踏まえ、本研究のL+T群に行う温熱刺激には赤外線装置 (EL-30, OG技研) をツールとして採用した。温熱刺激はDMBA投与が終了する8週齢の時点から開始し (図1), ペントバルビタールナトリウム (40mg/kg) 腹腔内投与による麻酔下で後肢を剃毛した後、後肢背側の20cm上方から赤外線を40分間照射した (図2-A)。温熱刺激の頻度は2日に1回、期間は4週間とした。赤外線の照射条件については、骨格筋内のHSP72発現量を増加させるには40℃以上に加温する必要があることを踏まえ¹⁹⁾、予備実験を行って照射位置、照射時間を決定した。そして、今回の照射条件による直腸温度、筋内温度、表皮温度の変化を測定し、筋内温度が40℃に達していることを確認した (図2-B)。

4. 材料採取

本研究では、血液と腓腹筋を試料として採取した。血液は実験開始時（4週齢時）と温熱刺激期間中（8, 9, 10, 11, 12週齢時）に尾静脈から採取（0.4ml）し、抗凝固剤のヘパリン（0.1ml）を加えて血液学および生化学的解析に供した。一方、腓腹筋は実験期間終了後（12週齢時）に麻酔下で採取し、筋試料は中央で2分割した後、近位1/2は組織学的解析に、遠位1/2は生化学的解析に供した。

5. 血液学的解析

すべての血液試料を用い、炎症の指標として血球沈降速度、赤血球の指標としてヘマトクリット値、白血球の指標として白血球数を測定した。血球沈降速度は毛細管に血液試料を注入し、遠心分離器（400 rpm, 5分）を用いて血球沈降を加速させ、上清層の幅を記録した。その後、毛細管をさらに遠心分離器で高速回転させ（3,000 rpm, 20分）、血漿と赤血球の分離を行い、全体に対する赤血球の割合をヘマトクリット値とした。また、血液試料の一部はチュルク液と混合（1:25）させた後、ビルケルチュルク血球盤に添加して顕微鏡（×50）でパーソナルコンピュータに取り込み、画像解析ソフト（Image-J）を用いて1μlあたりの白血球数をカウントした。

6. 生化学的解析

12週齢時の血液試料を用い、炎症の指標として血漿中TNF α 濃度を測定した⁶⁾。TNF α の測定にはELISAキット（RSD-RTA00, R&D systems）を利用した。また、白血球の指標として血漿中LDL receptor related with 11 binding repeats（以下、LR11）濃度をWestern blot法により測定した。LR11とは、白血球表面に発現する低比重リポタンパク質（LDL）受容体の1つであり、白血球細胞に高発現することから、白血球の発症とその進行を捉えるためのマーカーとして報告されている²⁰⁾。具体的な方法としては、白血球数を基準にして血漿の濃度を補正した後、SDS Sample Buffer（BioRad）、ならびに0.05M Dithiothreitol（DTT）を加えて95℃で10分間加熱し、これをWestern blot法の試料とした。そして、試料10 μlを7.5%アクリルアミドゲル（e-PAGE；アトー）の各レーンに添加し、定電流（20mA）の条件で90分間、電気泳動を行った。電気泳動後のゲルは、セミドライプロットティング装置を用いて定電圧（12V, 10Watt）で40分間通電し、PVDF膜へ転写を行った。転写後のPVDF膜は、TBS/Casein Blocker（アトー）にて1時間以上のブ

ロッキング処理を行い、その後、一次抗体に抗LR11モノクローナル抗体（ORI-TA305805, Goat, ORIGENE, 1:500）を用い、室温で1時間反応させた。二次抗体にはペルオキシダーゼ標識抗Goat IgG（1:2,000）を用い、室温で1時間反応させ、化学発光検出システム（ECL Select Western blotting Detection; GEヘルスケア）にてLR11のバンドを検出した。検出したバンド像はパーソナルコンピュータに取り込み、画像解析ソフト（Image-J）にてその濃度を数値化し、対照群の平均値を100%としてそれに対する割合を算出した。

一方、筋試料を用いた生化学解析としては、適量のリン酸緩衝生理食塩水を加えてホモジネートし、12,000 rpmにて15分間遠心分離した後、その上清をWestern blot法の試料として回収し、MuRF1発現量ならびにHSP72発現量を測定した。電気泳動には12.5%アクリルアミドゲル（e-PAGE；アトー）、一次抗体には抗MuRF1モノクローナル抗体（SC-27642, Santa Cruz Biotechnology Inc., 1:2,000）ならびに抗HSP72モノクローナル抗体（SC-1060, Santa Cruz Biotechnology Inc., 1:2,000）を用い、その他は上記のLR11と同様な方法で行った。タンパク質濃度の内因性コントロールとしては、GAPDH（SC-20357, Santa Cruz Biotechnology Inc., 1:2,000）を同様に検出し、MuRF1およびHSP72の数値をGAPDHのそれで除して補正を行った。

7. 組織学的解析

筋試料の組織学的解析では、急速凍結した後、7μm厚の連続横断切片を作製し、一部の切片にはHematoxylin & Eosin（以下、HE）染色を施して筋病理学的所見の有無を検鏡した。また、一部の切片には酸性前処置（pH4.3~4.4）によるミオシンATPase染色を施し、腓腹筋をType I・IIa・IIb線維に分別した。そして、Type IIb線維が全てを占めている浅層と、Type I・IIa・IIb線維が混在している深層を区別し、筋線維直径をそれぞれ100本以上測定した。なお、筋線維直径は短径とし、筋線維の中心を通りかつ筋線維を二分割する線の距離を測定した^{21,22)}。

8. 統計処理

統計学的解析には一元配置分散分析を適応し、有意差を認めた場合はFisher's PLSD法にて多群間比較を行った。なお、すべての統計学的手法において有意水準を5%未満とした。

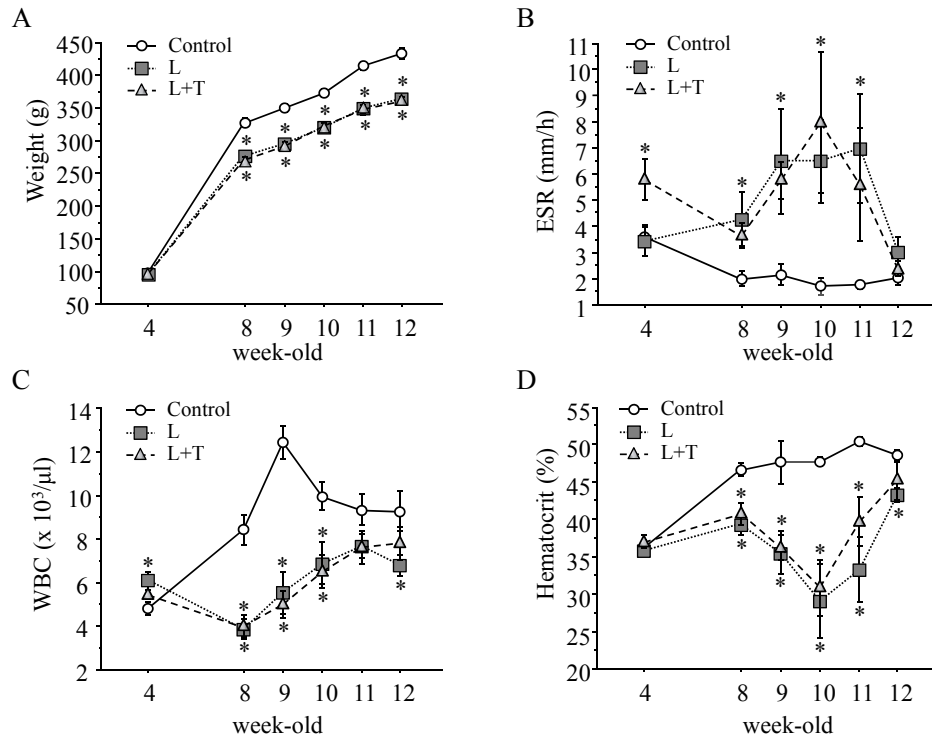


Fig. 3 Changes of weight and hematological parameters

A: Weight, B: Erythrocyte sedimentation rate (ESR), C: Number of white blood cell (WBC), D: Hematocrit. L: Leukemia, L+T: Leukemia plus thermal therapy. Data are means $\pm$ SE. *: $p < 0.05$.

結果

1. 体重と血液学的指標の推移

各週齢時の体重を比較すると、DMBA投与を終えた8週齢時以降のL群、L+T群は対照群と比較して有意に低値を示した。しかし、すべての週齢においてL群とL+T群の2群間に有意差は認めなかった(図3-A)。次に、血球沈降速度、白血球数、ヘマトクリット値の推移をみると増加する時期および減少する時期が見受けられる。そこで、各週齢時において3群を比較した結果、血球沈降速度は8週齢時から11週齢時まで対照群と比較してL群、L+T群は有意に高値を示した(図3-B)。一方、8、9、10、11週齢時の白血球数を見ると、対照群と比較してL群、L+T群は有意に低値を示した(図3-C)。ヘマトクリット値も同様に8、9、10週齢時において対照群と比較してL群、L+T群は有意に低値を示した(図3-D)。また、すべての週齢時において、L群、L+T群の2群間に血球沈降速度、白血球数、ヘマトクリット値の有意差は認められなかった。

2. 血漿中TNF α およびLR11濃度の比較

12週齢時の血漿中TNF α 濃度は、対照群、L群、

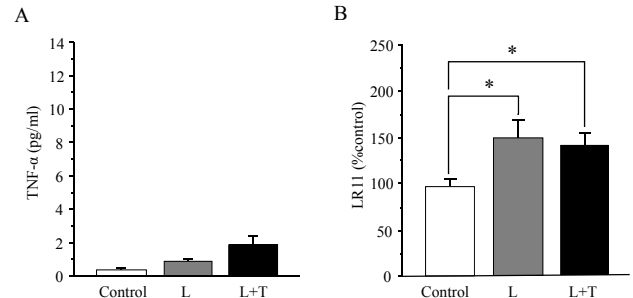


Fig. 4 Concentrations of TNF α and LR11 in plasma

A: Concentrations of TNF α in plasma, B: Concentrations of LDL receptor related with 11 binding repeats (LR11) in plasma. L: Leukemia, L+T: Leukemia plus thermal therapy. Values are means $\pm$ SE. *: $p < 0.05$.

L+T群の3群間に有意差を認めなかった(図4-A)。血漿中LR11濃度は、対照群と比較してL群とL+T群が有意に高値を示し、L群とL+T群の間には有意差を認めなかった(図4-B)。

3. 腓腹筋MuRF1およびHSP72発現量の比較

腓腹筋MuRF1発現量は、対照群と比較してL群とL+T群が有意に高値を示し、L群とL+T群の2群間に有意差は認められなかった(図5-A)。腓腹筋HSP72発現量は、対照群およびL群の2群と比較してL+T群

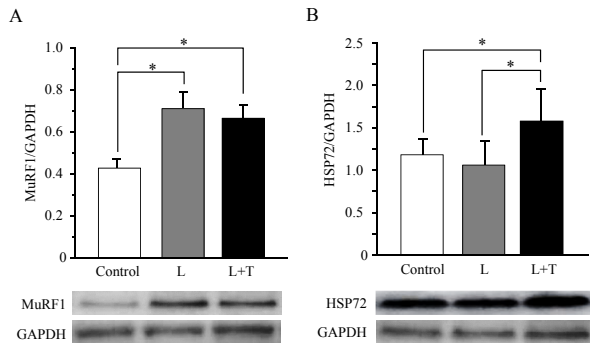


Fig. 5 Concentrations of MuRF1 and HSP72 in the gastrocnemius muscle

A: Muscle RING fiber protein 1 (MuRF1) in the gastrocnemius muscle. B: Heat shock protein 72 (HSP72) in the gastrocnemius muscle. L: Leukemia, L+T: Leukemia plus thermal therapy. Values are means $\pm$ SE. *: $p < 0.05$.

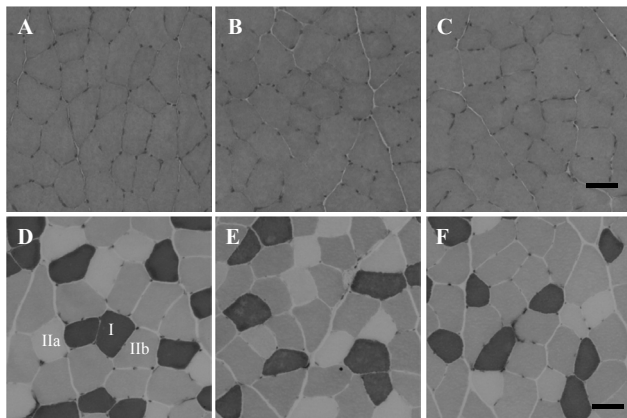


Fig. 6 Results of histological staining

Cross-sections of gastrocnemius muscle were stained for hematoxylin and eosin (A-C). Some section were stained for myosin ATPase activity after acid (pH4.3) pre-incubations (D-F). A and D: Control, B and E: Leukemia (L), C and F: Leukemia plus thermal therapy (L+T). Scale=50 μ m.

が有意に高値を示した (図5-B)。

4. 腓腹筋の病理所見と筋線維直径の比較

腓腹筋組織のHE染色像を検鏡した結果, すべての群において炎症や浮腫といった異常所見は認めなかった (図6-A~C)。また, ミオシンATPase染色像を見ると, 浅層にはType IIb線維のみが分布し, 深層にはType I・IIa・IIb線維が混合しており, その分布は3群間に大きな違いは見受けられなかった (図6-D~F)。次に, 各筋線維タイプの直径を比較すると, 浅層と深層のすべての筋線維タイプとも対照群と比較してL群が有意に低値を示した。また, 対照群

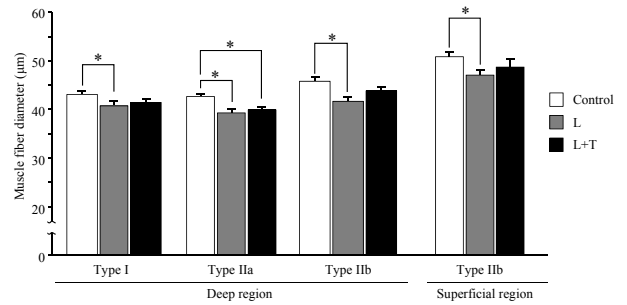


Fig. 7 Muscle fiber diameter in the gastrocnemius muscle

L: Leukemia, L+T: Leukemia plus thermal therapy. Values are means $\pm$ SE. *: $p < 0.05$.

とL+T群を比較すると, 深層のType IIa線維のみL+T群の方が有意に低値を示した。他の筋線維タイプに関しては対照群とL+T群の2群間に有意差は認めなかった。しかしながら, L+T群をL群と比較すると, 浅層と深層のすべての筋線維タイプとも2群間に有意差を認めなかった。つまり, 深層のType IIa線維以外は, L+T群は対照群とL群の中間の値を示していた (図7)。

考 察

本研究では, DMBA誘導の白血病モデルラットを作成し, その骨格筋に対する温熱刺激の筋萎縮抑制効果と安全性について検討を行った。DMBAはがん遺伝子の一種であるras遺伝子の変異を誘導し, 白血病を惹起することが知られており, Osakaら²³⁾の報告によれば, DMBAをラットに投与して遺伝子解析を行った結果, 白血病細胞のほとんどでN-rasの61番コドンのCAA→CTA変異が存在することが示されている²³⁾。白血病モデルの発症率に関しては, Sugiyamaら¹⁷⁾の報告によれば, DMBAの投与プロトコルの違いにより発症率は異なり, 発症率が100%になるのは10日間隔で4回のDMBA投与とされている。そこで本研究では, Sugiyamaら¹⁷⁾の報告に従い, 白血病モデル作成のためにDMBAを10日間隔で4回, L群およびL+T群に投与した。その結果, L群のすべてのラットは, 8週齢の時点で血球沈降速度の上昇, 白血球数とヘマトクリット値の低下を示した。これらの変化は, それぞれ炎症, 免疫力低下, 貧血をうかがわせる変化であり, 白血病患者でよくみられる所見である。ただ, 血液学的指標の変動にはヒト白血病と異なる点もあり, 先行研究^{17,23)}ではこれらの変化は示されていない。DMBAを用いた白血病モデルラットの血球沈降速度, 白血球数, ヘマトクリット値の推移および骨格筋の組

組織学的変化を示したのは本研究が最初であり、これらの指標のみから白血病の発症を確認することはできない。そこで本研究では、白血病マーカーとして提唱されている血漿中LR11濃度を採用した。結果、L群の血漿中LR11濃度は対照群に比べ有意に増加しており、白血病が発症していたことが裏付けられた。

一方、12週齢においては、L群の血球沈降速度は対照群とほぼ同値であることから炎症症状の鎮静がうかがえる。L群の血漿中TNF α 濃度が対照群のそれと変わらなかったのはそのためであろう。これに対して、対照群に比べL群の血漿中LR11濃度と腓腹筋MuRF 1発現量は高値を示している。浅層と深層のすべての筋線維タイプとも、L群の方が有意に低値を示した。これらの結果から推測すると、L群は8週齢時以降にTNF α がMuRF 1を賦活化してタンパク質の分解が亢進するというがん悪液質の状態に陥り、12週齢時までの4週間で筋萎縮が進行したと考えられる。加えて、結果には示していないが対照群に対するL群の筋萎縮率を各筋線維タイプで計算すると、浅層のType IIb線維は7.65%、深層のType I線維は5.06%、Type IIa線維は7.75%、Type IIb線維は8.94%であり、速筋線維であるType II線維の筋萎縮率が高かった。これは、がん悪液質の影響による筋萎縮は速筋優位に生じるという特徴と一致する²⁴⁾。以上のことから、DMBA誘導の白血病モデルラットの骨格筋がん悪液質の影響を反映するモデルであることが示された。

次に、L+T群に対しては、赤外線照射による温熱刺激を1回40分間、1回/2日行った。予備実験によれば、照射開始から40分後の時点で骨格筋は約40℃、体温は約38℃に達していたと思われる(図2-B)。そして、L+T群の腓腹筋HSP72発現量は他群より有意に高値を示していた。骨格筋に温熱刺激が加わるとHSP72が発現することは周知の事実であり^{12,19)}、L+T群の骨格筋に対して、温熱刺激によるストレスが負荷されたことはまず間違いない。その温熱刺激の安全性に関しては、皮膚、骨格筋の血管内または骨内の白血病細胞が温熱刺激を受けて分裂、増殖する可能性があった。今回のL+T群とL群の体重、血球沈降速度、白血球数、ヘマトクリット値の結果をみると、2群ともほぼ同じ推移を示し、各週齢時において2群間に有意差は認められなかった。また、12週齢時の血漿中TNF α 濃度および血漿中LR11濃度もL+T群とL群の間に有意差は認められていない。筋組織像を見ても、特に異常所見は見あたらなかった。したがって、L+T群とL群における血液学的な病態は変わらなかったと考えられ、温熱刺激による悪影響はなかったと推測できる。ただ、

今回用いたLR11という指標は白血病細胞の動態を間接的に捉えたものに過ぎず、より正確に評価するためには、フローサイトメトリー技術¹⁹⁾または骨髓や血球の病理解析が必要であり、検討を加える必要がある。

一方、温熱刺激により誘導されるHSP72は、分子シャペロンによりタンパク質合成を促進するとともに、タンパク質分解を抑制し、筋肥大を促進する効果があることがよく知られている。実際に、渡部ら¹²⁾は、2週間の後肢懸垂法によりラットヒラメ筋に廃用性筋萎縮を惹起させ、その期間中に温熱刺激を負荷すると、腓腹筋のHSP72発現量が増加し、その作用によって廃用性筋萎縮の進行が抑制されたと報告している。本研究で用いた白血病モデルラットの場合は、どの時点で白血病が発病したのかは定かではないが、DMBA投与を終えた8週齢時から12週齢時の間にがん悪液質による筋萎縮が進行していたと推測される。そして、L+T群に対しては8週齢時から12週齢時の間に温熱刺激を負荷した。つまり、L+T群ではHSP72発現量増加による筋萎縮の進行抑制効果が期待された。しかしながら、L+T群とL群の腓腹筋を比較すると、HSP72発現量はL+T群の方が有意に高値を示しているにも関わらず、すべての筋線維タイプの筋線維直径は2群間に有意差を認めなかった。この結果は、温熱刺激によりHSP72発現量が増加すると廃用性筋萎縮の進行が抑制されるという先行研究^{12,25)}と一致しない。ただ、L+T群の筋線維直径は、L群との有意差はないが対照群との有意差もなく、L群と対照群の中間に位置していたことを考慮すると、温熱刺激による効果が全くなかったとも言いきれない。対照群に対するL群の各筋線維タイプの萎縮率は5~8%と全体的に軽度であったため、L+T群とL群の間に統計学的な差が得られなかった可能性がある。また、温熱刺激の効果が不十分であったためL+T群とL群の間の有意差が明らかにならなかったと解釈することもできる。片岡ら¹¹⁾の報告では、2週間ギプス固定したラット下肢に対して42℃の温水浴を60分間負荷したところ、腓腹筋HSP72発現量は対照群の約2倍に増加し、廃用性筋萎縮の進行抑制効果が得られたとされているが、本研究のL+T群の腓腹筋HSP72発現量は、対照群の約1.4倍程度にしか増加していなかった。したがって、今回は筋内温度が40℃に達する程度の温熱刺激を赤外線照射により40分間行っているが、この温熱刺激条件では、筋萎縮の進行抑制効果が得られるのに十分なHSP72を誘導できなかった可能性がある。加えて、L+T群の腓腹筋MuRF 1発現量がL群のそれと有意差がなかったという結果から考えると、がん悪液質による筋萎縮では、温熱刺激によ

る筋萎縮の進行抑制効果が得られにくかった可能性も考えられる。すなわち、がん悪液質では、TNF α などの炎症性サイトカインの働きにより、筋タンパク質分解を促進するMuRF1の発現が亢進され、筋萎縮が惹起されやすい^{5,6)}状態にあるため、温熱刺激によりHSP72が誘導されたとしても、タンパク質の分解を誘導するMuRF1の発現量が増加しているため、筋萎縮の進行抑制効果が得られにくかった可能性がある。いずれにしても、本研究の結果のみから結論を導くことは困難であり、今後、温熱刺激の条件を変更することや、他のがん悪液質の指標を追加するなどして検討を加える必要がある。

結 語

今回の結果、白血病モデルラットの後肢に対する温熱刺激は白血病の病態を悪化させることはなかった。筋萎縮抑制効果に関しては明らかにすることはできなかったが、条件さえ整えば筋萎縮の進行を抑制する可能性はうかがわれた。これらのことから、積極的な運動療法が行えないような白血病患者において、温熱療法は運動療法の補助手段になるのではないかと期待される。今後は運動負荷と温熱刺激を併用した場合の効果についても検討していきたい。

文 献

- 1) Fouladiun M, Körner U, Gunnebo L, Sixt-Amilon P, Bosaeus I, Lundholm K: Daily physical-rest activities in relation to nutritional state, metabolism, and quality of life in cancer patients with progressive cachexia. *Clin Cancer Res* 13: 6379-6385, 2007
- 2) Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, Jatoi A, Loprinzi C, MacDonald N, Mantovani G, Davis M, Muscaritoli M, Ottery F, Radbruch L, Ravasco P, Walsh D, Wilcock A, Kaasa S, Baracos VE: Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol* 12: 489-495, 2011
- 3) 上田政和: 癌悪液質とサイトカイン. *医学のあゆみ* 198: 893-896, 2001
- 4) 奥村利勝, 高後 裕: サイトカインと悪液質. *Biotherapy* 12: 1117-1123, 1998
- 5) Kumar A, Takada Y, Boriek AM, Aggarwal BB: Nuclear factor-kappaB: its role in health and disease. *J Mol Med (Berl)* 82: 434-448, 2004
- 6) Zhang L, Tang H, Kou Y, Li R, Zheng Y, Wang Q, Zhou X, Jin L: MG132-mediated inhibition of the ubiquitin-proteasome pathway ameliorates cancer cachexia. *J Cancer Res Clin Oncol* 139: 1105-1115, 2013
- 7) Costelli P, Carbó N, Tessitore L, Bagby GJ, Lopez-Soriano FJ, Argilés JM, Baccino FM: Tumor necrosis factor-alpha mediates changes in tissue protein turnover in a rat cancer cachexia model. *J Clin Invest* 92: 2783-2789, 1993
- 8) Stene GB, Helbostad JL, Balstad TR, Riphagen II, Kaasa S, Oldervoll LM: Effect of physical exercise on muscle mass and strength in cancer patients during treatment—a systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol* 88: 573-593, 2013
- 9) Mishra SI, Scherer RW, Snyder C, Geigle P, Gotay C: Are exercise programs effective for improving health-related quality of life among cancer survivors? A systematic review and meta-analysis. *Oncol Nurs Forum* 41: E326-342, 2014
- 10) Mello M, Tanaka C, Dulley FL: Effects of an exercise program on muscle performance in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 32: 723-728, 2003
- 11) 片岡英樹, 中野治郎, 坂本淳哉, 西川正悟, 坂井孝行, 近藤康隆, 吉村俊朗, 沖田 実: 温熱刺激による廃用性筋萎縮の進行抑制効果について. *理学療法探求* 11: 15-21, 2008
- 12) 渡部由香, 吉川紗智, 片岡英樹, 片岡紀香, 坂本淳哉, 中野治郎, 沖田 実: 温熱負荷方法の違いがラットヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行抑制におよぼす影響—温水浴と電気プレートと比較—. *理学療法学* 33: 355-362, 2006
- 13) Senf SM, Dodd SL, McClung JM, Judge AR: Hsp70 overexpression inhibits NF-kappaB and Foxo3a transcriptional activities and prevents skeletal muscle atrophy. *FASEB J* 22: 3836-3845, 2008
- 14) Laviano A, Meguid MM: Nutritional issues in cancer management. *Nutrition* 12: 358-371, 1996
- 15) 片岡英樹: 物理療法 第2版. 沖田 実 (編). 神陵文庫, 福岡, pp91-92, 2010
- 16) 辻 哲也: がんのリハビリテーションマニュアル. 周術期から緩和ケアまで. 辻 哲也 (編), 医学書院, 東京,

pp262, 2010

- 17) Sugiyama T, Osaka M, Koami K, Maeda S, Ueda N: 7,12-DMBA-induced rat leukemia: a review with insights into future research. *Leuk Res* 26: 1053-1068, 2002
- 18) Galván N, Page TJ, Czuprynski CJ, Jefcoate CR: Benzo (a) pyrene and 7,12-dimethylbenz(a)anthracene differentially affect bone marrow cells of the lymphoid and myeloid lineages. *Toxicol Appl Pharmacol* 213: 105-116, 2006
- 19) Ruell PA, Hoffman KM, Chow CM, Thompson MW: Effect of temperature and duration of hyperthermia on HSP72 induction in rat tissues. *Mol Cell Biochem* 267: 187-194, 2004
- 20) 中世古知昭: 細胞機能から新たな病体解明へー白血病幹細胞と可溶型受容体. *The lipid* 23: 93-100, 2012
- 21) Brooke MH: The pathological interpretation of muscle histochemistry. *The Striated Muscle*. Wilkins, Baltimore, pp86-122, 1973
- 22) 中野 治郎, 沖田 実: マスターの要点 計測学 (第18回) 組織学的計測. *理学療法* 26 (9): 1150-1158, 2009
- 23) Osaka M, Matsuo S, Koh T, Liang P, Kinoshita H, Maeda S, Sugiyama T : N-ras mutation in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced erythroleukemia in Long-Evans rats. *Cancer Lett* 91: 25-31, 1995
- 24) Roberts BM, Ahn B, Smuder AJ, Al-Rajhi M, Gill LC, Beharry AW, Powers SK, Fuller DD, Ferreira LF, Judge AR: Diaphragm and ventilatory dysfunction during cancer cachexia. *FASEB J*, 27: 2600-2610, 2013
- 25) Naito H, Powers SK, Demirel HA, Sugiura T, Dodd SL, Aoki J: Heat stress attenuates skeletal muscle atrophy in hindlimb-unweighted rats. *J Appl Physiol* 88: 359-363, 2000

原 著

肩関節後下方関節包の組織弾性と受動張力の関係
—未固定凍結人体標本を用いた検討—

飯田 尚哉¹⁾, 谷口 圭吾²⁾, 渡邊 耕太²⁾, 宮本 浩樹¹⁾, 谷口 達也¹⁾, 藤宮 峯子³⁾, 片寄 正樹²⁾

Relationship between the shear elastic modulus and passive force in
posteroinferior shoulder capsules –A cadaveric study–

Naoya Iida¹⁾, Keigo Taniguchi²⁾, Kota Watanabe²⁾, Hiroki Miyamoto¹⁾, Tatsuya Taniguchi¹⁾,
Mineko Fujimiya³⁾, Masaki Katayose²⁾

Abstract

Although shear wave elastography (SWE) has been used to indirectly measure passive force in muscle tissues, it is unknown whether SWE can be utilized to evaluate passive force in capsule tissues. This study investigated the relationship between the shear elastic modulus and passive force in posteroinferior shoulder capsules using SWE. Six posteroinferior shoulder capsules were dissected from six fresh-frozen cadavers; then, humeral head-capsule-glenoid specimens were created from each capsule. The humeral head and glenoid were each immobilized with clamps of a custom-built device. Passive force (0-400 g in 25 g increments) was applied to each capsule via a pulley system, and elasticity was measured simultaneously using SWE. Our data revealed that the relationship between the shear elastic modulus and passive capsule force was highly linear for all six tested capsules ($p < 0.01$). The mean ($\pm$ standard deviation) coefficient of determination was 0.933 (± 0.030 ; range 0.883 and 0.963). Our study demonstrated that SWE is a valid and useful method for indirectly and noninvasively evaluating the passive force of the posteroinferior shoulder capsule.

Key words: Shear wave elastography, Capsule, Stiffness, Mechanical stress,
Throwing shoulder injury

緒 言

生体軟組織に加わる力学的なストレスの定量化は、運動器障害の病態解明や治療法の開発に不可欠である。近年、超音波剪断波エラストグラフィ法を用いて筋弾性を筋伸長時に記録した結果、弾性率と受動張力の間に強い関連があることが報告された^{1,2)}。これらの研究結果を根拠に、超音波剪断波エラストグラフィ法により筋の受動張力を非侵襲的に推定評価できることが認められつつある。しかしながら、関節疾患と関連の深い関節包においては、本イメージング技術での弾性計測による力学ストレス評価の妥当性は明らかにされていない。関節包は、組織の組成や機械的特性が筋とは異なるため³⁻⁶⁾、受動張力を与えた際の弾性変

-
- 1) 札幌医科大学大学院保健医療学研究科
Graduate School of Health Sciences, Sapporo Medical University
 - 2) 札幌医科大学保健医療学部理学療法学第二講座
Second Division of Physical Therapy, School of Health Sciences,
Sapporo Medical University
 - 3) 札幌医科大学医学部解剖学第二講座
Second Division of Anatomy, School of Medicine, Sapporo
Medical University

投稿責任者：谷口圭吾
連絡先：〒060-8556 北海道札幌市中央区南1条西17丁目
札幌医科大学保健医療学部理学療法学第二講座
E-mail: ktani@sapmed.ac.jp

化は関節包と筋とは同等ではない可能性がある。

関節包のなかでも、肩甲上腕関節後方関節包の拘縮は様々な肩関節疾患に関連すると考えられている。未固定凍結人体標本を用いて後方関節包拘縮モデルを作成し、肩屈曲運動中のキネマティクスを調べた研究では、上腕骨頭が前上方に偏位すること^{7,8)}、烏口肩峰アーチと上腕骨頭の接触圧が増加すること⁸⁾が報告されている。また、同じく未固定凍結人体標本の後方関節包拘縮モデルを対象に、投球動作を再現させた研究では、肩外転外旋位において上腕骨頭が後上方に偏位すること⁹⁻¹¹⁾、関節窩と上腕骨頭の接触圧が増加すること¹¹⁾が示されている。以上の研究結果は、後方関節包の拘縮が肩峰下インピンジメントやインターナルインピンジメントを引き起こしやすくすることを示し、腱板や関節唇損傷の一因となることを示唆している。後方関節包拘縮による上腕骨頭の異常偏位の一因に obligate translation という概念がある⁷⁾。これは最終可動域に達する前に関節包が過度に緊張することで上腕骨頭を反対側へ偏位させる力が働くという現象である。したがって、上述した病態を有する患者を対象に理学療法を実施する場合、運動中に関節包にかかる力学ストレスの程度や治療介入による変化を客観的に評価することが重要である。超音波剪断波エラストグラフィ法により、関節包に加わる受動張力の客観的評価が可能であることが示されれば、このような疾患の詳細な病態解明やストレッチなどの運動療法の開発に繋がる基礎データとなると考えられる。さらに、組織の張力-弾性関係は材料力学試験機で検証するのが一般的であるが、力学試験機に比して簡便で非侵襲的な超音波剪断波エラストグラフィ装置で検証を試みることは、今後の生体応用の観点からも意義深いと考える。

本研究の目的は、組織の性状特性が生体とほぼ同等である未固定凍結人体標本を対象とし、超音波剪断波エラストグラフィ法により計測した肩関節後下方関節包の組織弾性と受動張力との関係を検証することとした。

方法

1. 研究対象

肩甲上腕関節およびその関節包に損傷や変形のない未固定凍結人体標本の6体6肩を用いた。標本の性別は男性4名、女性2名、死亡時平均年齢は 84.3 ± 8.6 歳であった。献体は、死亡後24時間以内に本学医学部解剖学講座に搬送され、遺族の同意とともに本人の生前

同意が得られている。また、本研究は、本学倫理委員会の承認を得たうえで実施した（承認番号：29-2-30）。

2. 標本の準備

上肢を肩甲胸郭関節、肘関節で離断し、肩甲上腕関節を挙上・内外転・内外旋 0° 位に保持して -20°C で冷凍保存した。実験の前に標本を冷凍庫から取り出し、 22°C の室温で12時間かけて解凍した。解凍後の標本準備は先行研究に準拠した^{3,12,13)}。まず、肩甲上腕関節の関節包を除いたすべての軟組織を切除した³⁾。次に、上腕骨は外科頸で、関節窩は肩甲骨基部のレベルでそれぞれ切断した³⁾。続いて、後方関節包のみを残し、それ以外の関節包組織は切除した³⁾。後方関節包の上部を右肩関節の肩甲骨関節窩をアナログ時計の文字盤に見立てた場合の10時半に相当する部位、中部を9時に相当する部位、下部を7時半に相当する部位と定義し^{12,13)}、それぞれが幅約1cmとなるよう後方関節包を切離した。次に、関節窩を後方関節包上・中・下部がそれぞれ付着している部分で3つに分割した³⁾。すなわち、上腕骨頭側には後方関節包の上・中・下部がそれぞれ付着しているが、関節窩側では後方関節包は上・中・下部それぞれに分枝し、分割された関節窩に付着する上腕骨頭-後方関節包-関節窩標本が作成された (Fig.1)。本研究では、肩関節運動中の上腕骨頭異常偏位と関連が深い^{10,11)}後方関節包の下部（以下、後

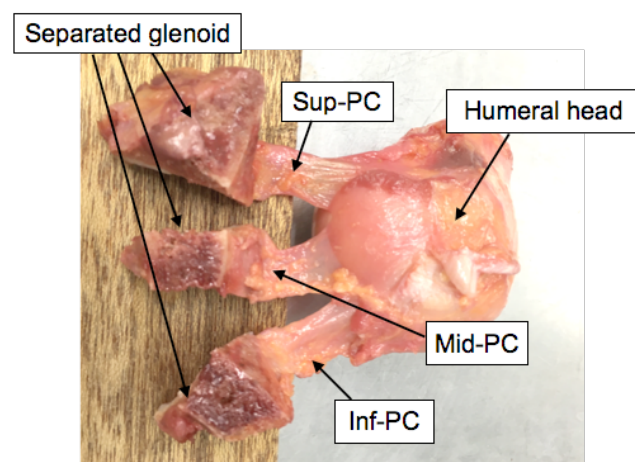


Fig. 1. Posterior capsules specimens of the right shoulder.

The posterior capsule was divided into the Sup-PC, the Mid-PC, and Inf-PC parts. The glenoid was cut according to the incisions between the Sup-PC and Mid-PC and between the Mid-PC and Inf-PC to create bone-capsule-bone specimens with a width of approximately 10 mm. Sup-PC: superior posterior capsule. Mid-PC: middle posterior capsule. Inf-PC: inferior posterior capsule.

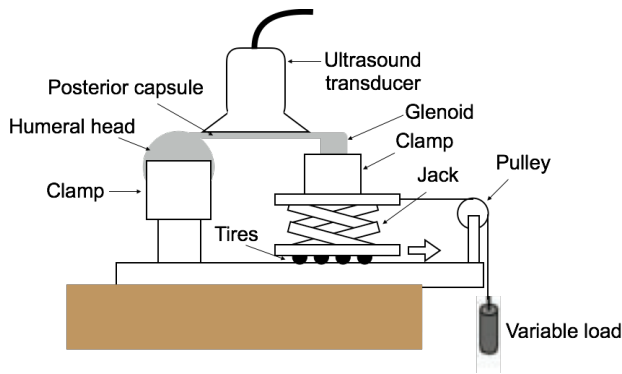


Fig. 2. Experimental setup.

The humeral head and the glenoid were fixed. Passive force for the capsules was applied to the glenoid through a pulley system.

下方関節包)のみをデータ計測の対象とした。実験中は10～15分毎に生理食塩水を散布して標本の乾燥を防止した。また、標本の組織性状特性が温度変化の影響を受けないよう実験中の室温を22℃に維持した。

3. 標本の固定

後下方関節包に受動張力を与えるため、標本をオーダーメイドの力学試験機に固定した。この試験機は筋の受動張力と剪断弾性率の関係を検証した先行研究¹⁾に準じて作成されており、2つのクランプと、滑車、紐で構成されている (Fig.2)。それぞれのクランプで上腕骨頭と関節窩を固定した。関節窩を固定するクランプには紐が取り付けられ、滑車を介し、紐の端にペットボトル容器を吊るした。ペットボトル容器に水を足すことで、関節包への受動張力の負荷を調整した。また、関節窩を固定するクランプの下にはジャッキを取り付け、関節包の長軸が床面と平行になるよう、クランプの高さを調節できるようにした。さらに、ジャッキの下には低摩擦のタイヤが取り付けられ、受動張力により関節包が伸長し関節窩側のベースが上腕骨頭側のベースから引き離される際、タイヤと土台の間で摩擦力が発生するのを極力軽減させた。

4. 受動張力の設定

関節包への受動張力は、0 gから400gまで、25gずつ水を継ぎ足すことで漸増させた¹⁾。受動張力を長時間与え続けることによる組織のクリープ現象やヒステリシス効果を最小限にするため、各受動張力での弾性の計測時間は10秒以内とした¹⁾。計測後すぐに負荷を外し、十分な時間を設けた後で次の負荷を与えた。

5. 剪断弾性率の計測

剪断弾性率の計測には、剪断波エラストグラフィ機能搭載の超音波画像診断装置 (AixPlover Ver. 6. MSK mode, SuperSonic Imagine社, フランス) を使用し、リニアアレイプローブ (50 mm, 4-15 MHz) を用いた。剪断波エラストグラフィは組織内を伝播する横波 (剪断波) から絶対的な弾性評価をする方法であり、その原理は以下の通りである¹⁴⁾。まず、強い超音波を集束させた圧力ビーム (音響放射圧) を目的とする関心領域に与える。それにより発生した微細振動により剪断波を誘発する。誘発された剪断波を超高速度なフレームレートで取得し、その伝播速度を算出する。そして、剪断波の伝播速度に基づき、速度分布を定量的にカラーマップ画像化することで、剪断弾性率を得るというものである。剪断弾性率は剪断波伝播速度の二乗に組織密度を乗じた以下の計算式 (波動方程式) で算出される。筋組織においては、弾性計測の高い妥当性^{15, 16)}と信頼性^{16, 17)}が担保されている。

$$G = \rho c^2$$

Gは剪断弾性率、 ρ は組織密度 (生体軟組織は1000 kg/m³で一定)、cは剪断波伝播速度

後下方関節包の直上と直下にそれぞれ厚さ5 mm, 30 mmのエコーパッド (超音波診断用エコーパッド, 八十島プロシード株式会社, 日本) を設置した。関節包直上のエコーパッドの上にエコー用ゲルを塗布し、その上にプローブを関節包の長軸と平行になるように設置した。フレキシブルアーム型のクランプにプローブを固定することで、試技間のプローブ位置および傾斜角度を統一した。また、本研究では、受動張力を頻回に与えることによる関節包組織のヒステリシス効果が生じている可能性がある。そこで、ヒステリシス効果の弾性への影響を確認するため、400gまでの受動張力を与え終えた後に、再度100gの受動張力で弾性計測を実施した。各受動張力につき剪断弾性率を3回計測し、超音波画像診断装置にエラストグラフィ画像を記録した。

6. データ解析

解析はすべてオフラインで実施した。本研究で使用した超音波画像診断装置内蔵の解析ソフトウェアでは、最小でも直径1 mmの円形の関心領域しか設定できない。厚さが1 mm以下の関節包もしばしば存在するため、本研究では剪断波エラストグラフィ画像データをJPEG形式で書き出し、オーダーメイドの弾

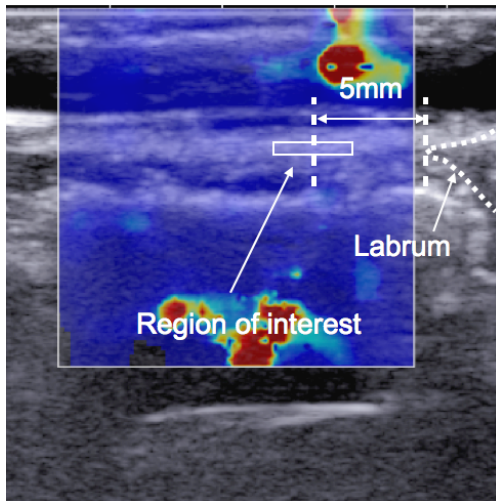


Fig. 3. Location of the ROI.

The ROI, which had a width of 3 mm and a height of 0.5 mm, was set at 5 mm lateral to the edge of the labrum. ROI: region of interest.

性画像解析プログラム (S-14133 Ver.1.2, 竹井機器工業, 日本) で解析を実施した。このソフトウェアは、エラストグラフィ画像上で任意の大きさ、形の関心領域を任意の場所に設置でき、カラーマップスケールを基に剪断弾性率を算出することが可能である。本研究では、関心領域の大きさは幅を 3 mm、高さを 0.5 mm の長方形とし、先行研究¹⁸⁾に準じ関節唇遠位端から 5 mm 遠位に設置した (Fig.3)。また、関心領域の短辺の中央と関節包の厚さの中央が一致するように、関心領域の上下位置を調整した。関心領域内の剪断弾性率の平均値を計測 1 回分の代表値とした。計測 3 回分において、それぞれ上述した関心領域の設定を行い、3 回の平均値を統計学的解析に使用した。

統計処理には統計解析ソフト (SPSS Statistics Ver. 15.0 J for Windows, IBM社) を使用した。6 つの標本それぞれで、受動張力を目的変数、剪断弾性率を説明変数とした直線回帰分析を実施した。また、ヒステリシス効果が弾性へ与える影響を確認するため、漸増負荷課題中に 100g の受動張力で計測した剪断弾性率と、全負荷での計測終了後 100g の受動張力で再計測した剪断弾性率の 6 標本の平均値を対応のある t 検定で比較した。いずれも有意水準は 5 % とした。さらに、同一受動張力での計測 3 回分の再現性を検証するため、級内相関係数 (intraclass correlation coefficient: 以下 ICC (1,3)) を算出した。

結 果

6 標本すべてにおいて回帰式は有意 ($p < 0.01$) で、

Table 1. Regression coefficient (R^2) for shear elastic modulus.

Specimen ID	R^2	p value
1	0.926	< 0.01
2	0.921	< 0.01
3	0.963	< 0.01
4	0.960	< 0.01
5	0.945	< 0.01
6	0.883	< 0.01
Mean	0.933	

Table 2. The ICC (1,3) for three times of measurement at each load.

ICC: intraclass correlation coefficient.

Load (g)	ICC (1,3)	Load (g)	ICC (1,3)
0	0.989	225	0.996
25	0.997	250	0.996
50	0.999	275	0.996
75	0.998	300	0.992
100	0.995	325	0.999
125	0.984	350	0.997
150	0.990	375	0.992
175	0.992	400	0.994
200	0.997	Mean	0.994

受動張力と剪断弾性率の間には正の相関関係を認めた。全 6 標本の回帰式の決定係数 R^2 は 0.933 ± 0.030 (0.883 - 0.963) であった。全 6 標本の決定係数と典型例をそれぞれ Table 1 と Fig. 4, 5 に示す。また、漸増負荷課題中に 100g の受動張力で計測した剪断弾性率 (87.5 ± 37.5 kPa) と、全負荷での計測終了後に 100g の受動張力で再計測した剪断弾性率 (98.9 ± 37.0 kPa) に有意差はなかった ($p = 0.324$)。

すべての受動張力の弾性計測において ICC (1,3) は高く、平均すると 0.994 であった (Table 2)。

考 察

本研究では、後下方関節包において受動張力と剪断弾性率の間に強い相関を認め、回帰式の決定係数 R^2 の平均値は 0.933 であった。このことは、剪断弾性率で後下方関節包の受動張力を 93% 説明できることを示し、超音波剪断波エラストグラフィにより、後下方関節包の受動張力を高い精度で推定可能であることを示している。

これまで、受動張力と剪断弾性率との関連は、筋組

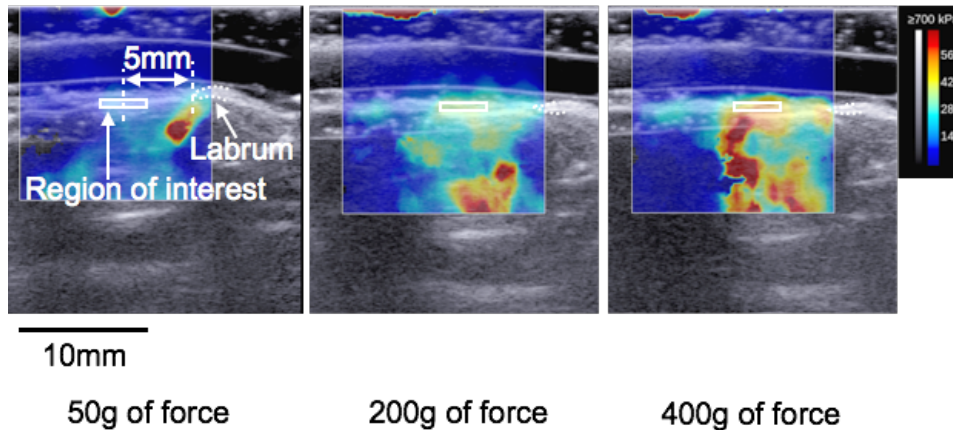


Fig. 4. A typical example of a SWE image.

Red indicates tissue is stiff and blue indicates tissue is soft. SWE: shear wave elastography.

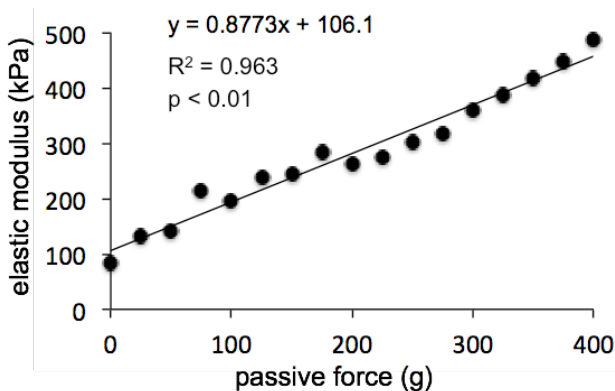


Fig. 5. A typical elasticity-load plot.

It indicates the data of specimen ID 3 (91 years, female).

組織を対象に検証されてきた。Maisettiら²⁾は、ヒト生体の腓腹筋を対象に、足関節他動背屈運動中の弾性-筋長曲線は、受動張力-筋長曲線と強い相関にあることを示した。また、Kooら¹⁾は、トリの腓腹筋と前脛骨筋を対象に、受動張力と弾性の間に強い相関（決定係数 $R^2 = 0.988$ ）があることを報告した。これらの先行研究は、超音波剪断波エラストグラフィは筋組織の受動張力を高い精度で間接的に計測可能であることを示している。関節包を対象にした本研究では、決定係数 R^2 は 0.933 で筋組織ほど高くはないが、剪断弾性率は受動張力を十分に説明可能な変数であることが示された。関節包においては、静的な環境下で弾性評価をした報告は散見されるものの^{3,5)}、受動張力増加に伴う弾性変化を検証した報告は渉猟する限り本研究が初めてである。本研究結果は、関節包における超音波剪断波エラストグラフィを用いた受動張力の推定評価の妥当性を示すものであり、今後は運動器疾患の病態解明や、運動療法中の関節包にかかる力学ストレスの定量評価などの臨床応用が期待できる。

近年では、ヒト生体の筋組織を対象に、超音波剪断波エラストグラフィを用いて弾性計測をすることで受動張力を推定評価し、力学ストレスの定量化を試みた研究が散見される。なかでもストレッチング肢位の検証に本手法が用いられることが多く、これまでハムストリングス¹⁹⁾や大腿筋膜張筋²⁰⁾、小胸筋²¹⁾といった臨床上その硬さが問題となりやすい筋組織を対象に、受動張力が最も加わる効果的なストレッチング肢位が検証されている。本研究結果は、関節包でも同様の検討が可能であることを示した。

関節包のなかでも肩関節後下方関節包は、野球選手などのオーバーヘッドアスリートの利き腕側に拘縮が生じやすい^{18,22,23)}。後下方関節包の拘縮により、投球動作中に上腕骨頭が異常偏位することが示されており^{10,11)}、この異常偏位が投球障害肩の一因であると考えられている。したがって臨床場面では、後下方関節包の拘縮を治療あるいは予防するための理学療法として、ストレッチングを実施することが多い。これまで、後下方関節包の効果的なストレッチング肢位が主に屍体研究により検証されてきた^{12,13)}。しかしながら、これらの屍体研究では、関節包に歪みゲージを取り付けて組織の伸長率を計測している。すなわち、関節包の伸長といった組織の機械特性変化を計測しているため、どの程度の強度でストレッチングされているかを直接的に示す力学ストレスの評価という点では不十分であったと考える。また、関節包に歪みゲージを取り付けるために棘下筋や小円筋、三角筋後部といった筋組織や、皮膚、皮下組織がすべて切除されているため、関節の可動性に大きく影響するとされる筋や皮膚、皮下組織がストレッチングに与える影響が考慮されていなかった。さらに、侵襲的な手法であることから、生体では検証できないことも欠点であった。今後は、本

研究で得られた結果を根拠に、超音波剪断波エラストグラフィを使用し後下方関節包のストレッチング部位の再検証が必要である。

本研究の限界として、以下の点が挙げられる。1つ目は研究対象とした屍体標本が高齢(死亡時平均年齢: 84歳)であった点である。関節包を構成するコラーゲン線維は、発達・成長に伴い伸長性は高いが脆弱なタイプⅢから、強度は高いが伸長性に乏しいタイプⅠへ移行する²⁴⁾。したがって、本研究で用いた標本は、後下方関節包の拘縮が問題となるオーバーヘッドアスリートと後下方関節包の伸長性が異なる可能性がある。しかしながら、本研究は静的な環境下での弾性評価ではなく、受動張力を加えた際の弾性変化を検証していることから、標本の年齢は本研究の結果に大きな影響を与えないものと推察される。2つ目は、実験中に受動張力を長時間与え続けることによる関節包組織のヒステリシス効果である。そこで本研究では、ヒステリシス効果を最小限にするため、各受動張力での弾性の計測時間は10秒以内とした¹⁾。また、計測後すぐに負荷を外し、十分な時間を設けた後で次の負荷を与えた。さらに、本研究での受動張力の最大値は400gであるが、後方関節包の力学試験を実施したMurakiら²⁵⁾の報告によると、この受動張力は一時的な組織伸長を引き起こす程度の伸長負荷で、関節包の持続的な物性変化を引き起こす効果は少ないとされている。また、本研究では、ヒステリシス効果の弾性への影響を確認するため、400gまでの受動張力を与え終えた後に、再度100gの受動張力で弾性計測をした。結果は、2回の計測における剪断弾性率に統計学的な差はなかった。したがって、本研究では張力-弾性結果に影響を与えるようなヒステリシス効果が生じている可能性は低いと考えられる。3つ目は、本研究では屍体から関節包のみを剖出したため、関節包の表層に筋や皮膚がある生体でも同様の結果となるかが不明な点である。今後は、これら表層組織の有無による関節包の弾性の違いを検証する必要がある。最後に、本研究では対象とした標本数が6体と少ないため、今後は標本数を増やし、標本の個体差に関わらず同様の結果となるかを検証する必要がある。

以上、本研究結果をまとめると、超音波剪断波エラストグラフィを用いて、肩関節後下方関節包の受動張力と剪断弾性率の関係を検証した結果、両者の間に強い相関を認めた。この知見は、関節包への力学ストレスの定量化が可能であることを示す基礎データであり、投球障害肩をはじめとする様々な肩関節疾患の病態解明や治療法開発に応用可能であると考えられる。

文 献

- 1) Koo TK, Guo JY, Cohen JH, Parker KJ: Relationship between shear elastic modulus and passive muscle force: an ex-vivo study. *J Biomech* 46: 2053-2059, 2013
- 2) Maisetti O, Hug F, Bouillard K, Nordez A: Characterization of passive elastic properties of the human medial gastrocnemius muscle belly using supersonic shear imaging. *J Biomech* 45: 978-984, 2012
- 3) Bey MJ, Hunter SA, Kilambi N, Butler DL, Lindenfeld TN: Structural and mechanical properties of the glenohumeral joint posterior capsule. *J Shoulder Elbow Surg* 14: 201-206, 2005
- 4) Dashottar A, Borstad J: Posterior glenohumeral joint capsule contracture. *Shoulder Elbow* 4: 1-13, 2012
- 5) Itoi E, Grabowski JJ, Morrey BF, An KN: Capsular properties of the shoulder. *Tohoku J Exp Med* 171: 203-210, 1993
- 6) Massoud SN, Levy O, de los Manteros OE, Musa F, Even T, Sinha J, Copeland SA: Histologic evaluation of the glenohumeral joint capsule after radiofrequency capsular shrinkage for atraumatic instability. *J Shoulder Elbow Surg* 16: 163-168, 2007
- 7) Harryman DT, 2nd, Sidles JA, Clark JM, McQuade KJ, Gibb TD, Matsen FA, 3rd: Translation of the humeral head on the glenoid with passive glenohumeral motion. *J Bone Joint Surg Am* 72: 1334-1343, 1990
- 8) Muraki T, Yamamoto N, Zhao KD, Sperling JW, Steinmann SP, Cofield RH, An KN: Effects of posterior capsule tightness on subacromial contact behavior during shoulder motions. *J Shoulder Elbow Surg* 21: 1160-1167, 2012
- 9) Gates JJ, Gupta A, McGarry MH, Tibone JE, Lee TQ: The effect of glenohumeral internal rotation deficit due to posterior capsular contracture on passive glenohumeral joint motion. *Am J Sports Med* 40: 2794-2800, 2012
- 10) Huffman GR, Tibone JE, McGarry MH, Phipps BM, Lee YS, Lee TQ: Path of glenohumeral articulation throughout the rotational range of motion in a thrower's shoulder model. *Am J Sports*

- Med 34: 1662-1669, 2006
- 11) Mihata T, Gates J, McGarry MH, Neo M, Lee TQ: Effect of posterior shoulder tightness on internal impingement in a cadaveric model of throwing. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 23: 548-554, 2015
- 12) Borstad JD, Dashottar A: Quantifying strain on posterior shoulder tissues during 5 simulated clinical tests: a cadaver study. *J Orthop Sports Phys Ther* 41: 90-99, 2011
- 13) Izumi T, Aoki M, Muraki T, Hidaka E, Miyamoto S: Stretching positions for the posterior capsule of the glenohumeral joint: strain measurement using cadaver specimens. *Am J Sports Med* 36: 2014-2022, 2008
- 14) 谷口圭吾: 【骨格筋研究の最前線】超音波エラストグラフィによる筋組織弾性の可視化. *Journal of Training Science for Exercise and Sport* 26: 51-60, 2015
- 15) Eby SF, Song P, Chen S, Chen Q, Greenleaf JF, An KN: Validation of shear wave elastography in skeletal muscle. *J Biomech* 46: 2381-2387, 2013
- 16) Yoshitake Y, Takai Y, Kanehisa H, Shinohara M: Muscle shear modulus measured with ultrasound shear-wave elastography across a wide range of contraction intensity. *Muscle Nerve* 50: 103-113, 2014
- 17) Tas S, Onur MR, Yilmaz S, Soylu AR, Korkusuz F: Shear Wave Elastography Is a Reliable and Repeatable Method for Measuring the Elastic Modulus of the Rectus Femoris Muscle and Patellar Tendon. *J Ultrasound Med* 36: 565-570, 2017
- 18) Takenaga T, Sugimoto K, Goto H, Nozaki M, Fukuyoshi M, Tsuchiya A, Murase A, Ono T, Otsuka T: Posterior Shoulder Capsules Are Thicker and Stiffer in the Throwing Shoulders of Healthy College Baseball Players: A Quantitative Assessment Using Shear-Wave Ultrasound Elastography. *Am J Sports Med* 43: 2935-2942, 2015
- 19) Umegaki H, Ikezoe T, Nakamura M, Nishishita S, Kobayashi T, Fujita K, Tanaka H, Ichihashi N: The effect of hip rotation on shear elastic modulus of the medial and lateral hamstrings during stretching. *Man Ther* 20: 134-137, 2015
- 20) Umehara J, Ikezoe T, Nishishita S, Nakamura M, Umegaki H, Kobayashi T, Fujita K, Ichihashi N: Effect of hip and knee position on tensor fasciae latae elongation during stretching: An ultrasonic shear wave elastography study. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 30: 1056-1059, 2015
- 21) Umehara J, Nakamura M, Fujita K, Kusano K, Nishishita S, Araki K, Tanaka H, Yanase K, Ichihashi N: Shoulder horizontal abduction stretching effectively increases shear elastic modulus of pectoralis minor muscle. *J Shoulder Elbow Surg*, 2017
- 22) Thomas SJ, Swanik CB, Higginson JS, Kaminski TW, Swanik KA, Bartolozzi AR, Abboud JA, Nazarian LN: A bilateral comparison of posterior capsule thickness and its correlation with glenohumeral range of motion and scapular upward rotation in collegiate baseball players. *J Shoulder Elbow Surg* 20: 708-716, 2011
- 23) Thomas SJ, Swanik CB, Kaminski TW, Higginson JS, Swanik KA, Bartolozzi AR, Nazarian LN: Humeral retroversion and its association with posterior capsule thickness in collegiate baseball players. *J Shoulder Elbow Surg* 21: 910-916, 2012
- 24) Walton J, Paxinos A, Tzannes A, Callanan M, Hayes K, Murrell GA: The unstable shoulder in the adolescent athlete. *Am J Sports Med* 30: 758-767, 2002
- 25) Muraki T, Yamamoto N, Berglund LJ, Sperling JW, Steinmann SP, Cofield RH, An KN: The effect of cyclic loading simulating oscillatory joint mobilization on the posterior capsule of the glenohumeral joint: a cadaveric study. *J Orthop Sports Phys Ther* 41: 311-318, 2011

原 著

前庭感覚による姿勢制御機能と中年期までの加齢の関係 —modified Clinical Test of Sensory Interaction and Balanceと Galvanic Body Sway Testを用いて—

光武 翼^{1,2)}, 岡 真一郎³⁾, 坂本麻衣子²⁾, 森田 義満⁴⁾, 沖田 光紀⁵⁾, 堀川 悦夫²⁾

The relationship between modified clinical test of sensory interaction and balance and galvanic body sway test

Tsubasa Mitsutake^{1,2)}, Shinichiro Oka³⁾, Maiko Sakamoto²⁾, Yoshimitsu Morita⁴⁾,
Mitsunori Okita⁵⁾, Etsuo Horikawa²⁾

Abstract

The vestibular sensory plays an important role in coordinated movement of postural stability; however, there have been few studies evaluating the vestibular function related to standing postural stability. The purposes of this study were to clarify the relationship between the modified Clinical Test of Sensory Interaction and Balance (mCTSIB) and the Galvanic Body Sway Test (GBST), and to quantitatively evaluate whether aging would have synergic effects on mCTSIB and GBST among healthy subjects. Forty-four healthy subjects underwent the mCTSIB and the GBST to examine the vestibular information related to standing postural control function. There were no significant differences between the mCTSIB and the GBST. Aging showed no significant correlated with the mCTSIB; however, aging was significantly correlated with the sway velocity in GBST ($\rho = -0.413$, $p = 0.005$). The GBST was used to assess the vestibulo-spinal reflex (VSR). This study suggested that aging might diminish the VSR function by the middle-age.

Key words: Vestibular sensory, Standing postural control, Aging, mCTSIB, GBST

-
- 1) 白石共立病院 リハビリテーション部
Department of Rehabilitation, Shiroishi Kyoritsu Hospital, Saga, Japan
 - 2) 佐賀大学 医学部 地域医療科学教育研究センター
Research and Education Center for Comprehensive Community Medicine, Faculty of Medicine, Saga University, Saga, Japan
 - 3) 国際医療福祉大学 福岡保健医療学部 理学療法学科
Department of Physical Therapy, School of Health Sciences at Fukuoka, International University of Health and Welfare, Fukuoka, Japan
 - 4) 高木病院 リハビリテーション部
Department of Rehabilitation, Takagi Hospital, Fukuoka, Japan
 - 5) 白石共立病院 神経内科
Department of Neurology, Shiroishi Kyoritsu Hospital, Saga, Japan

投稿責任者: 光武 翼
連絡先: 〒849-1112 佐賀県杵島郡白石町大字福田1296
白石共立病院 リハビリテーション部
E-mail: mitutuba1012@gmail.com

緒 言

立位姿勢を保持するためには様々な要因が関係しており, その中でも, 視覚, 体性感覚, 前庭覚が状況に応じて各感覚の比重を変えることで, 姿勢の安定性を維持している¹⁾. 特に, 前庭覚は内耳に存在する耳石器と三半規管によって頭部の動きを感知していることで姿勢保持に貢献している. そのため, 理学療法において前庭覚に関わる姿勢制御機能を評価することは, 転倒を予防する上で重要である. 前庭機能は, 末梢前庭障害²⁾や中枢神経疾患³⁾だけでなく年齢による変化も認められており⁴⁻⁶⁾, 加齢に伴い前庭神経核の神経細胞⁵⁾や半規管の有毛細胞⁶⁾が減少する. これらの先行研究から高齢者だけでなく, 青年期から中年期でも

加齢によって前庭覚に関わる姿勢制御機能が低下する可能性があり、この年代の前庭覚に関わる姿勢制御機能を評価することは転倒予防の観点から重要な意味合いを持つ。

前庭覚の姿勢制御機能の評価方法として、modified Clinical Test Sensory Interaction and Balance (以下、mCTSIB) と Galvanic Body Sway Test (以下、GBST) がある。mCTSIBは4つの異なる条件での立位保持能力を計測することで、立位の姿勢制御機能に関わる視覚、体性感覚、前庭覚の優位性を評価する方法である⁷⁾。視覚情報は閉眼することで統制し、体性感覚は床面が柔らかくなるクッションを用いて足底からの情報を変化させる。前庭機能が低下している対象者は、低下していない対象者と比較して、閉眼した状態で柔らかい床面での立位保持時の身体動揺が増大する⁸⁾。

一方、GBSTは、乳様突起を介して低強度の前庭直流電気刺激によって前庭器官を刺激し、安静立位時の身体動揺を計測することで、前庭脊髄反射を評価することができる^{9,10)}。具体的には、前庭刺激に対して身体動揺が減少するほど前庭脊髄反射機能が低下しているとみなされる。先行研究¹¹⁾では、前庭刺激に対して加齢に伴う身体動揺の減少と、前庭障害患者における更なる身体動揺の減少が示されている。前庭脊髄反射は、外乱刺激時に姿勢を正中位に保持する反射の一つであり、立位姿勢を制御する働きがある。

GBSTは前庭脊髄反射を介して前庭覚による姿勢制御機能を直接的に評価するが、mCTSIBは視覚や体性感覚からの情報を制限することで前庭覚による姿勢制御機能を推定する。従って、両評価は異なるメカニズムを有しているものの、その関係性は明らかにされていない。前庭刺激装置などの特殊な装置を必要としないmCTSIBは比較的容易に臨床でも評価が可能である。両評価間の関係性を明らかにすることで、mCTSIBにおける前庭脊髄反射の影響を明確にできる可能性がある。

本研究の目的は、小型無線センサを用いてmCTSIBとGBSTの身体動揺の関係性を明らかにするとともに、青年期から中年期における加齢がこれらの姿勢制御機能に及ぼす影響を検証することである。本研究の仮説としては、前庭機能を反映すると考えられるmCTSIBの柔らかい床面で閉眼立位時の身体動揺値とGBSTの身体動揺値との間に負の相関が認められ、また加齢と両評価における姿勢動揺値との間に相関関係が認められることが推測される。

対象と方法

1. 対象

中枢神経系疾患、整形外科的疾患の既往がない健康者53名(男性18名、女性35名)、年齢 44.5 ± 12.8 歳(20~63歳)が実験に参加した。除外基準は、閉眼した状態で柔らかい床面での立位が30秒以上保持できない者、前庭直流電気刺激時にめまいや吐き気、気分不良が誘発される者、閉眼での前庭刺激時に立位が保持できない者、糖尿病や末梢神経障害、下肢切断などの立位保持能力に影響を及ぼす病歴がある者とした。本研究はヘルシンキ宣言に基づき、当病院倫理委員会にて承認を得て実施した(承認番号20170号)。各対象者には実験に関する十分な説明を口頭および書面を用いて行い、同意書に署名を得た後に実験を開始した。

2. 身体動揺計測

身体動揺は小型無線センサ(TSND121, size; 37 mm × 46 mm × 12 mm, weight; 22 g, ATR-Promotions)を用いて計測した。センサは身体動揺を計測するために第7頸椎棘突起上に設置した¹¹⁾。解析時に計測する立位保持姿勢を、視覚的に確認するためにパーソナルコンピュータ(SVE14A38CJB webcam, VAIO)で動画を撮影した。立位保持の動画と第7頸椎棘突起上に設置したセンサから得た情報は、解析ソフト(SyncRecord(T), ATR-Promotions)を用いて同期させ、200 Hzのサンプリング周波数で記録した。mCTSIBとGBSTともに同様の記録方法で計測した。各計測は解析ソフト上で頸部に装着したセンサの波形が10秒間50 m/s以下の変動で立位保持が可能であることを計測者が視覚的に確認して開始した。計測時に足の位置が動いた場合には計測を中止し、休憩を行った後、再度計測した。

3. modified Clinical Test Sensory Interaction and Balance (mCTSIB)

対象者は4つの条件で立位保持を行った。条件1: 床面で開眼立位(Eyes open/firm surface, 以下EO firm)、条件2: 床面で閉眼立位(Eyes closed/firm surface, 以下EC firm)、条件3: 床面に設置したクッション(フォームラバー, size; 450 mm × 450 mm × 35 mm, 引張強度2.1 Kg/cm², 密度0.06 g/cm², Anima)上で開眼立位(Eyes open/foam pad, 以下EO foam)、条件4: 床面に設置したクッション上で閉眼立位(Eyes closed/foam pad, 以下EC foam)を行った(図1A~D)。対象者は閉脚立位を保持し、

両上肢を下垂した状態で各条件ともに60秒間の立位保持を行った。

4. Galvanic Body Sway Test (GBST)

対象者への前庭直流電気刺激は経頭蓋直流刺激装置 (DC-STIMULATOR Plus, neuroConn) を使用した (図1 E)。前庭刺激の条件は、両側の乳様突起上に 5×7 cmのラバー電極を設置し、刺激強度を1.2 mAとした。電極配置は右陽極—左陰極および左陽極—右陰極で各1回ずつ計測し、刺激順序は無作為に行った。GBSTは、対象者が課題開始時の身体動揺が解析ソフト上で頸部に装着したセンサの波形が50 m/s以下の変動であることを計測者が視覚的に確認して、閉眼立位で10秒間の安静立位を行った後、30秒間の前庭刺激を行った。計測時に足の位置が動いた場合には計測を中止し、休憩を取らせた後、再計測した。それでも前庭刺激時に立位保持できなかった9名に関しては、実験を中止した。

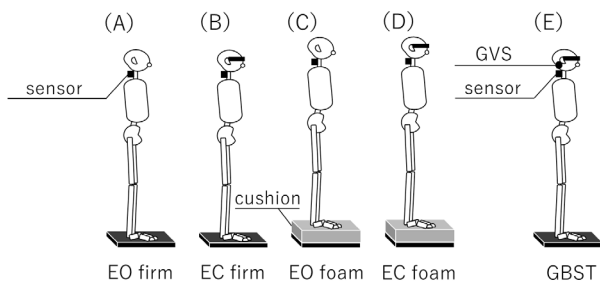


Fig. 1. The modified clinical test sensory interaction and balance (mCTSIB) performed a postural stability test focus on sensory strategy using a head sensor.

There were four different conditions; (A) eyes open on a firm surface (EO firm), (B) eyes closed on a firm surface (EO firm), (C) eyes open on foam pad (EO foam), (D) eyes closed on foam pad (EC foam). (E) the galvanic body sway test (GBST) performed a postural stability test focus on vestibulo-spinal reflex using a head sensor. Vestibular-evoked whole-body movement was measured postural stability during galvanic vestibular stimulation (GVS).

5. データ解析

mCTSIB, GBSTから得られた速度波形はy軸 (左右方向), z軸 (前後方向) に10Hzのローパスフィルタリングを行い、前後左右方向の動揺速度の和のroot mean squareを算出して指数を定量化して身体動揺値とした。mCTSIBでは各4つの条件における身体動揺値の他に、より前庭覚の感覚情報を基にした姿勢制御機能を評価するためのEO firmとEC foamの変化率 (以下、EC foam/EO firm) を算出した。GBSTでは計測したデータから、閉眼安静立位時の身体動揺の平均値と前庭刺激実施時30秒間の身体動揺の平均値を取得した。前庭刺激時の身体動揺から安静時の身体動揺を除いた値を算出し、左右行った刺激の平均を実測値とした。

6. 統計解析

本研究では、GBSTが実施困難だった9名を除く44名 (男性16名, 女性28名), を解析した。平均年齢は 42.5 ± 13.1 歳 (20~63歳) であった。

Shapiro-Wilk検定を用いて正規性を検討した上でノンパラメトリック検定を行った。mCTSIB, GBSTと年齢の関係について、まず、mCTSIBとGBSTをSpearmanの順位相関を用いて検証した。次に、年齢とmCTSIB, GBSTの各項目をSpearmanの順位相関を用いて検証した。さらに、mCTSIBの各条件とGBSTは、各年代 (20~29歳, 30~39歳, 40~49歳, 50~59歳, 60~63歳) に分類して一元配置分散分析を用いて年代間の比較を行った。

統計学的検定にはSPSS (statistics 23, IBM) を使用した。なお、有意水準は5%とした。

結 果

mCTSIBにおいて、EO firmは 14.78 ± 3.96 cm/s, EC firmは 15.31 ± 5.38 cm/s, EO foamは 17.98 ± 4.62 cm/s, EC foamは 23.18 ± 4.92 cm/sであった。GBSTは 4.13 ± 1.49 cm/sであった。mCTSIBとGBSTの関係

Table 1. Correlations between measured the mCTSIB, and age and the GBST

	mCTSIB				
	EO firm	EC firm	EO foam	EC foam	EC foam/EO firm
age	0.291	-0.148	0.273	0.181	-0.117
GBST	0.010	0.128	0.006	-0.038	-0.017

mCTSIB, the modified Clinical Test Sensory Interaction and Balance; GBST, the Galvanic Body Sway Test; EO firm, eyes open on a firm surface; EC firm, eyes closed on a firm surface; EO foam, eyes open on foam pad; EC foam, eyes closed on foam pad

について、すべての項目で有意な相関関係は認められなかった(表1)。一方、年齢に関して、mCTSIBは有意な関係が認められなかったが、GBSTは中等度の負の有意な相関関係を認めた($\rho = -0.413, p = 0.005$)(図2)。各年代間の比較については、すべての項目において有意差が認められなかった(表2)。

考 察

本研究は、前庭覚に焦点を当てた姿勢制御機能の評

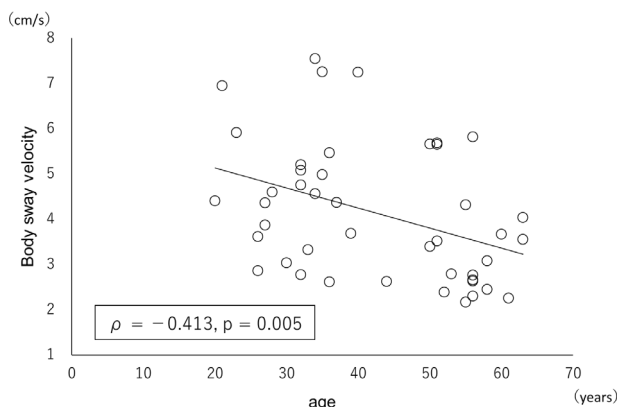


Fig. 2. Scatter plot depicting the relationship between aging and the body sway velocity in the galvanic body sway test (GBST).

The body sway velocity indicates the difference in value between the galvanic vestibular stimulation and the static standing.

価であるmCTSIBとGBSTの関係性を調査するとともに、これらの測定値に年齢が及ぼす影響を調査した。mCTSIBとGBSTの関係について、本研究ではすべての項目において有意な相関関係が認められなかった。従って、本研究の前庭機能をみる両評価で得られた身体動揺値に関係があるとした仮説の一部は否定された。mCTSIBのEC foamやEC foam/EO firmは感覚戦略の中でも前庭覚優位の姿勢保持能力を評価できる。一方、GBSTは直接的に前庭脊髄反射を評価する方法である。本研究の結果は、mCTSIBにおける感覚戦略としての前庭覚優位の姿勢保持能力とGBSTから得られる前庭脊髄反射機能は直接的な関係が認められないことを示唆している。

また、年齢と前庭覚に関わる姿勢制御機能の関係について、mCTSIBでは有意な相関関係は認められなかった。さらに、各年代に分類したmCTSIBの各条件でも有意差は認められなかった。先行研究では、EO firm, EC firm, EO foam条件において若年者と高齢者では身体動揺に有意差が認められなかったが、EC foam条件では高齢者の身体動揺が若年者と比べ有意に大きかったことを報告している¹²⁾。一方、他の先行研究では柔らかい床上での身体動揺は年齢によって増加することが示されている¹³⁾。本研究で有意差が認められなかった要因として、各年代の人数にばらつきが生じたことが考えられる。さらに、本研究では第7頸椎棘突起上にセンサを設置し、頸部から身体動揺を計測しているのに対し、先行研究では重心動揺計を用い

Table 2. The comparisons in body sway velocity for the mCTSIB and the GBST in each age group

		Age group					F value	P value
		20-29 (n = 8)	30-39 (n = 14)	40-49 (n = 4)	50-59 (n = 14)	60-63 (n = 4)		
mCTSIB (cm/s)	EO firm	12.74 ± 2.50 (9.08 – 16.53)	14.23 ± 4.48 (8.97 – 22.48)	14.66 ± 4.32 (11.26 – 20.38)	15.75 ± 3.82 (10.79 – 23.33)	17.48 ± 3.86 (12.36 – 20.52)	1.309	0.283
	EC firm	17.25 ± 5.98 (9.49 – 29.17)	14.49 ± 5.14 (9.27 – 29.42)	17.88 ± 9.33 (8.82 – 26.67)	14.16 ± 3.75 (8.74 – 21.16)	15.79 ± 6.44 (9.99 – 24.99)	0.716	0.586
	EO foam	13.90 ± 2.17 (11.77 – 17.74)	19.31 ± 4.99 (12.32 – 27.96)	19.27 ± 4.19 (14.01 – 23.56)	18.14 ± 4.51 (13.49 – 28.47)	19.60 ± 4.82 (14.55 – 26.11)	2.302	0.076
	EC foam	21.60 ± 6.41 (12.03 – 31.76)	23.10 ± 5.33 (15.24 – 31.88)	24.74 ± 2.57 (21.16 – 27.25)	23.84 ± 4.57 (16.79 – 31.14)	22.71 ± 4.39 (17.38 – 27.12)	0.358	0.837
GBST (cm/s)		4.57 ± 1.30 (2.86 – 6.95)	4.61 ± 1.51 (2.61 – 7.54)	4.73 ± 2.11 (2.62 – 7.25)	3.44 ± 1.35 (2.16 – 5.82)	3.38 ± 0.77 (2.25 – 4.03)	1.844	0.140

Values are given as mean ± SD (min-max)

mCTSIB, the modified Clinical Test Sensory Interaction and Balance; GBST, the Galvanic Body Sway Test; EO firm, eyes open on a firm surface; EC firm, eyes closed on a firm surface; EO foam, eyes open on foam pad; EC foam, eyes closed on foam pad

て足圧中心の変動を計測している¹³⁾。身体を安定させるためには、足関節を支点とする倒立振り子でモデル化されている。しかし、頸部は足圧中心と動揺が一致するとは限らず、頸部と足圧中心では身体動揺に相違が生じる可能性があり、本研究の結果に影響したのかもしれない。

年齢とGBSTは有意な中等度の負の相関関係を示し、加齢に伴い前庭刺激時の身体動揺が減少する結果が認められた。前庭神経節内の細胞数は30歳から60歳にかけて徐々に減少する傾向がある¹⁴⁾。加齢による前庭機能低下は、めまいや姿勢不安定性を引き起こす可能性があり¹⁵⁾、転倒により股関節を骨折した高齢者は、転倒したことがない高齢者と比較して前庭機能の低下が示されている¹⁶⁾。器質的には前庭機能の加齢変化は認められていることから、前庭機能障害だけでなく加齢でも前庭直流電気刺激に対する刺激の感受性が低下することで、姿勢制御反応が鈍くなる可能性がある。一方、加齢による身体動揺変化に関して、筋電図を用いた生理学的研究では、前庭刺激実施直後は、下腿の筋活動によって一時的な身体動揺を引き起こす¹⁷⁾。その後、これらの筋活動は減少し、他の身体部位によって反射的もしくは意識的に姿勢維持するための身体動揺が生じる¹⁷⁾。前庭直流電気刺激後の下腿の筋活動反応は加齢によって低下することが示されている¹⁸⁾。そのため、本研究において計測した対象者の年齢と、小型無線センサを用いて計測した頸部の身体動揺との間に中等度の負の相関関係が認められたと考えられる。以上のことから、mCTSIBでは前庭覚が関わる姿勢制御機能の青年期から中年期での加齢変化を捉えることが難しいが、GBSTでは高齢者に限らず青年期から中年期までの前庭機能低下による姿勢制御機能を評価できる可能性がある。本研究の結果、高齢期の前段階でも、すでに前庭脊髄反射の姿勢制御機能が衰退することが示された。

本研究の限界として、感覚戦略に焦点を当てた姿勢制御機能を小型無線センサによって調査しているものの、筋電図などを用いた運動生理学的観点からの計測を行っていない。今後は、mCTSIBやGBST時に下腿三頭筋や前脛骨筋の筋出力を計測することで、mCTSIB時のEC foam条件で足関節運動を含む姿勢制御戦略に影響したのか、また、GBST時の立ち直り反応で下腿での筋活動がどのように生じているのかを明らかにする必要がある。

結 論

本研究は、20～60歳代の青年から中年期までの健常者を対象とし、mCTISBとGBSTの関係性を調査するとともに、年齢と両評価との関係性を検証した。mCTSIBとGBSTとの関係が認められなかったため、mCTSIBでは前庭脊髄反射の影響をみることはできなかった。GBSTのみ年齢と有意な相関関係を示したことから、高齢者ではなく中年期まででも加齢に伴って前庭脊髄反射を含む姿勢制御機能が低下することが示唆された。

本研究は、JSPS科研費17K13055の助成を受けて実施した。すべての著者は、開示すべき利益相反はなかった。

文 献

- 1) Shumway-Cook A, Woollacott MH: Motor control. Normal postural control. 4th ed, Wolters Kluwer. 2010, pp. 315-347.
- 2) Whitney SL, Marchetti GF, Pritcher M, Furman JM: Gaze stabilization and gait performance in vestibular dysfunction. *Gait Posture* 29: 194-198, 2009
- 3) Mitsutake T, Sakamoto M, Ueta K, Oka S, Horikawa E: Poor gait performance is influenced with decreased vestibulo-ocular reflex in poststroke patients. *Neuroreport* 28: 745-748, 2017
- 4) Honaker JA, Lee C, Shepard NT: Clinical use of the gaze stabilization test for screening falling risk in community-dwelling older adults. *Otol Neurotol* 34: 729-735, 2013
- 5) Tang Y, Lopez I, Baloh RW: Age-related change of the neuronal number in the human medial vestibular nucleus: a stereological investigation. *J Vestib Res* 11: 357-363, 2001
- 6) Rauch SD, Velazquez-Villaseñor L, Dimitri PS, Merchant SN: Decreasing hair cell counts in aging humans. *Ann N Y Acad Sci* 942: 220-227, 2001
- 7) Cohen H, Blatchly CA, Gombash LL: A study of the clinical test of sensory interaction and balance. *Phys Ther* 73: 346-351, 1993
- 8) Park MK, Kim KM, Jung J, Lee N, Hwang SJ, Chae SW: Evaluation of uncompensated unilateral vestibulopathy using the modified clinical test for

sensory interaction and balance. *Otol Neurotol* 34: 292-296, 2013

- 9) Coats AC, Stoltz MS: The recorded body-sway response to galvanic stimulation of the labyrinth: a preliminary study. *Laryngoscope* 79: 85-103, 1969
- 10) Goldberg JM, Fernández C, Smith CE: Responses of vestibular-nerve afferents in the squirrel monkey to externally applied galvanic currents. *Brain Res* 252: 156-160, 1982
- 11) Tax CM, Bom AP, Taylor RL, Todd N, Cho KK, Fitzpatrick RC, Welgampola MS: The galvanic whole-body sway response in health and disease. *Clin Neurophysiol* 124: 2036-2045, 2013
- 12) Woollacott MH, Shumway-Cook A, Nashner LM: Aging and posture control: changes in sensory organization and muscular coordination. *Int J Aging Hum* 23: 97-114, 1986
- 13) Lord SR, Ward JA: Age-associated differences in sensori-motor function and balance in community dwelling women. *Age Ageing* 23: 452-460, 1994
- 14) Park JJ, Tang Y, Lopez I, Ishiyama A: Age-related change in the number of neurons in the human vestibular ganglion. *J Comp Neurol* 431: 437-443, 2001
- 15) Matheson AJ, Darlington CL, Smith PF: Further evidence for age-related deficits in human postural function. *J Vestib Res* 9: 261-264, 1999
- 16) Kristinsdottir EK, Jarnlo GB, Magnusson M: Asymmetric vestibular function in the elderly might be a significant contributor to hip fractures. *Scand J Rehabil Med* 32: 56-60, 2000
- 17) Fitzpatrick R, Burke D, Gandevia SC: Task-dependent reflex responses and movement illusions evoked by galvanic vestibular stimulation in standing humans. *J Physiol* 478: 363-372, 1994
- 18) Welgampola MS, Colebatch JG: Selective effects of ageing on vestibular-dependent lower limb responses following galvanic stimulation. *Clin Neurophysiol* 113: 528-534, 2002

日本基礎理学療法学雑誌 投稿規定

改訂：2018（平成30）年4月17日

1. 目的

日本基礎理学療学会の会誌として、理学療法に関する学術的情報公開の場を提供し、理学療法の基礎研究を通して理学療法学の発展に貢献することを目的とする。

2. 投稿記事の種類

原著、症例報告、短報、総説、その他編集委員会で掲載を承認されたものとする。投稿原稿は他紙に掲載予定がなく未発表の邦文とし、他紙への同時投稿は認めない。また、総説は編集委員会からの依頼原稿を原則とする。

3. 投稿者の資格

本誌への投稿記事は、理学療法学の発展に寄与する論文であれば会員に限らず受理する。

4. 本文の字数および図表の枚数

〔原著、症例報告〕

原則として文献を含め12000字以内とする（図表は含めない）。図表は10枚以内とする。

〔短報〕

原則として文献を含め6000字以内とする（図表は含めない）。図表は4枚以内とする。

〔総説〕

依頼時に規定する。

5. 執筆要項

- 1) 原稿はWindows版のMicrosoft word、またはテキストファイルを用いてA4判の用紙に横書きで作成する。用紙には左端に通しで行番号を入れ、一段組み12ポイントの文字で、ダブルスペースにて40字×20行（1ページ当たり800字）で入力する。また、下部中央にはページ番号を挿入する。常用漢字、ひらがな、現代かなづかいを用い、文献、人名、薬品名、生物学名などは原語を用いる。
- 2) 英数文字や記号は半角とし、原則として特殊文字は使用しない。ただし、特殊文字で表記せざるをえないものについては、表記文字とその表記場所を記載したリスト（1部）を添付し、提出する原稿にもその表記場所を朱字でマークする。
- 3) 数字は算用数字を用い、度量衡単位は国際単位系（SI単位）を用いる（長さ：m、質量：kg、時間：s、温度：℃、周波数：Hz等）。
- 4) 原著、症例報告、短報については原則として緒言（はじめに）、対象と方法（症例

報告)、結果(経過)、考察、文献等の小見出しをつけ、これらの順に構成・記載する。

- 5) 表紙には論文タイトル、著者氏名(著者の資格を示すもの、例えば PhD、PT など)、所属および投稿責任者 (Corresponding author) の連絡先(住所、電話番号、FAX 番号、E-mail address)、専門領域(別紙1: 論文の分野における、学術領域別及び理学療法領域別の専門領域をそれぞれ1つ以上)、投稿記事の種類、原稿の枚数、図表の枚数、5つ以内のキーワードを記載する。
- 6) 英文で表題、著者名、所属、要旨(200語前後)と5つ以内のキーワードを記載する。
- 7) 図表は本文とは分けて記載する。図表および図表説明は、すべて英語表記とする。記載順序は、文献の後に、図表説明、表、図の順とする。また、図表はそれぞれ各1枚に記載すること。
- 8) 図表の説明には、図表の番号、タイトルおよび簡潔な説明を含む。
- 9) 図の中の線(直線、曲線など)、文字、数字、記号などは、縮小印刷した場合にも判読可能な大きさとする。特に、写真に関しては縮小・拡大しても印刷に耐える程度の解像度を有すること。
- 10) 引用文献は必要最小限にとどめ、引用順に通し番号をつけ、本文の最後に「文献」として引用順に列挙する。番号は本文中の引用箇所の右肩上に右片カッコにしてつける(すべて半角文字を用いる)。著者は全て連記する。
- 11) 文献の記載方法は以下の例に従う。

(雑誌の場合)

- 1) Yoshimura A, Fujitsuka C, Kawakami K, Ozawa N, Ojala H, Fujitsuka N: Novel myosin isoform in nuclear chain fibers of rat muscle spindles produced in response to endurance swimming. J Appl Psychol 73:1925-1931, 1992
- 2) 曾我部正博, 成瀬恵治, 曾我浩之: 膜伸展によって活性化されるイオンチャンネル. 心臓 24: 333-343, 1992

(書籍の場合)

- 3) King A, Cavanaugh JM: Neurophysiologic basis of low back pain. In The Lumbar Spine. Wiesel SW, Weinstein JN, Herkowitz H (Ed.). Philadelphia, WB Saunders, pp 74-80, 1996
- 4) 熊沢孝朗: 痛みのメカニズム. 新医科学大系 7. 星猛(編). 東京, 中山書店, pp 153-167, 1995

6. 倫理

実験はヘルシンキ宣言に基づく倫理基準、あるいはわが国の医学系研究に関する倫理指針・動物実験関連法規を遵守して実施されなければならない。当該研究がこれらのガイド

ラインに従って実施されたことを投稿論文内に明記し、さらに所属機関の倫理委員会、あるいは実験動物委員会等が発行した承認書の承認番号を論文中に記載するものとする。

7. 利益相反

利益相反がある場合は、その旨原稿に明記すること。なお、利益相反に関しては、厚生労働省の指針を参照すること。

8. 投稿手続

Microsoft word で作成した投稿原稿（原稿ならびに図表）を、メールに添付し、編集委員会 (jjptf.edit@gmail.com) 宛に送付する。なお、原稿受付年月日は原稿が編集委員会に到着した日とし、受理年月日は原稿の審査が終了し、掲載可能となった日とする。

9. 引用・転載の許諾について

他著作物からの図表の引用・転載については、著作権保護のため原出版社および原著者の許諾が必要である。引用・転載を行う場合は投稿者があらかじめ許諾を得て、その旨を図表説明に明記すること。

10. その他

- ・ 掲載された論文等の著作権は日本基礎理学療法学会に属する。
- ・ 採用された原稿の印刷校正は投稿者の責任において行い、初稿のみとする。

日本基礎理学療法学雑誌 編集委員会

〒060-8556

札幌市中央区南1条西17丁目

札幌医科大学 保健医療学部 理学療法学科

TEL : 011-611-2111 (内線28760)

FAX : 011-611-2150

E-mail: jjptf.edit@gmail.com

論文の分類

I. 学術領域別

I-1 解剖学

I-1-a 肉眼解剖

I-1-b 組織学

I-1-c 画像解剖

I-2 生理学

I-2-a 神経（認知科学含）

I-2-b 運動器（筋・骨格）

I-2-c 呼吸・循環

I-2-d 血液・免疫

I-2-e 体液・内分泌

I-2-f 加齢・性差

I-2-g 疼痛

I-3 運動学

I-4 公衆衛生・健康科学

I-5 生化学

I-6 分子生物学

I-7 福祉工学

I-8 再生医療

I-9 その他

II. 理学療法領域別

II-1 神経

II-2 運動器

II-3 内部障害

II-4 物理療法

II-5 予防

II-6 高齢者

II-7 小児

II-8 ガン

II-9 その他

編集委員会

編集委員長

山田 崇史

副編集委員長

岩本えりか

編集委員（アイウエオ順）

縣 信秀	石田 和人	今北 英高	金井 章	菊池 真
肥田 朋子	坂本 淳哉	島田 裕之	白銀 暁	菅原 憲一
高橋 真	竹中 菜々	谷口 圭吾	玉木 彰	中 徹
中野 治郎	藤野 英己	李 相潤		

日本基礎理学療法学雑誌

第21巻第1号

2018年12月18日 発行

編集
発行

日本基礎理学療法学雑誌 編集委員会

〒060-8556

札幌市中央区南1条西17丁目

札幌医科大学 保健医療学部 理学療法学科

TEL：011-611-2111 FAX：011-611-2150

E-mail：jptfedit@gmail.com

印刷
製本

株式会社 総北海

〒065-0021

北海道札幌市東区北21条東1丁目4番6号

TEL：011-731-9500 FAX：011-731-9515
