

# 脳卒中超急性期理学療法の適切な介入方法の探索

## —モデル動物を用いた検証—

玉越敬悟 (PT)<sup>1)</sup>, 前田まどか (PT)<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 新潟医療福祉大学リハビリテーション学部理学療法学科

<sup>2)</sup> 桑名病院

キーワード：脳卒中, 超急性期リハビリテーション, 炎症

### はじめに

発症後早期からのリハビリテーションは機能改善を促進させることが多くの臨床研究で確かめられており、脳卒中ガイドライン 2015 においても強く推奨されている。そのため、多くの医療機関で、病状が安定している場合、できるだけ早期からリハビリテーションを開始することが一般化している。しかし、大規模な臨床研究で、脳卒中患者における発症 24 時間以内の超早期リハビリテーションは、通常のリハビリテーションより機能予後を悪化させることが報告されている<sup>1)</sup>。また、脳卒中モデル動物を用いた基礎研究においても、脳卒中後の超急性期リハビリテーションが機能障害を悪化させ、脳内改善過程に悪影響を及ぼすことが報告されている<sup>2-6)</sup>。Fengwu らは、脳梗塞モデルラットを用いて、発症 6 時間後の運動の効果を検証した。その検証で、発症 6 時間後の運動介入は発症 24 時間後や 3 日後と比較して、梗塞体積を増大させることを示した。さらにアポトーシス関連因子や炎症促進因子の増加促進に伴い、神経細胞死が促進されることを示した<sup>2-4)</sup>。これらの結果から、脳梗塞後の超急性期リハビリテーションは、脳組織に悪影響を及ぼし、機能障害を悪化させる可能性がある。

我々は、脳出血モデルラットを用いて、超急性期リハビリテーションの効果を検証してきた。コラゲナーゼ注入法により線条体出血モデルラットを作製し、発症 6 時間後と 24 時間後に運動介入を行ったところ、非介入群と比較して運動機能障害が悪化した。脳組織解析を行ったところ、血種および脳浮腫の増大促進は認めなかったが、線条体における炎症関連因子 (IL-1 $\beta$ : Interleukin-1 beta) が非介入群より有意に増加促進し、神経細胞数を減少促進させる傾向にあった。脳出血後も脳梗塞後と同様に超急性期リハビリテーションは、脳組織に悪影響を及ぼす可能性が考えられる。しかし、安静を強いることは身体機能に悪影響があるため、超急性期リハビリテーションの適切な介入方法を探索する必要がある。そこで、本研究では、超急性期リハビリテーションの適切な介入方法の探索をするために、運動介入方法の違いによる運動機能障害および脳組織に与える影響について検証した。

### 対象と方法

#### 1. 実験動物と実験群

本研究には、Wistar 系雄性ラット (n=47) を用いた。全ラットは 12 時間の明暗サイクルの下、餌と水を自由摂取できる標準ケージで飼育した。すべての処置は新潟医療福祉大学動物実験委員会の承認を得て行った。実験群には偽手術 + 非介入群 (SHAM 群; n=4), 脳出血 + 非介入群 (ICH 群; n=11), 脳出血 + 超早期 60 分介入群 (ICH+VET60; n=20), 脳出血 + 超早期 30 分介入群 (ICH+VET30; n=12) の 4 群を設けた。

#### 2. 脳卒中モデルラットの作製

ペントバルビタールナトリウム腹腔内投与麻酔下にて、ラットを脳定位固定器に固定した。頭部の皮膚を切開して頭蓋骨を露出させた後、ドリルでプレグマ縫合から左外側 3.6 mm の位置に小穴を開けた。ステンレス製カニューレを頭蓋骨表面から深度 6.0 mm まで挿入した。血管壁を脆弱化させるコラゲナーゼ (TypeIV, 200 U/min, 1.6  $\mu$ l, Sigma 社) を、マイクロシリンジポンプ (Eicom 社) を用いて 0.2  $\mu$ l/min の流速で 8 分間注入した。注入終了後、切開した頭部の皮膚を縫合し、切開部を消毒した。

#### 3. 運動介入条件

運動介入にはトレッドミル走行を用いて、発症 6 時間後と 24 時間後に実施した。走行速度は、発症 6 時間後は 9 m/分、24 時間後は 11 m/分とした。ICH+VET60 群は、走行時間を 60 分とし、ICH+VET30 群は、走行時間を 30 分とした。

#### 4. 運動機能評価

ラット前肢の協調性を評価するため、Horizontal ladder test を行った。直径 3 mm の金属棒を無作為に配置した梯子の上をラットに横断させ、前肢の掴み方を評価する。梯子を毎回ランダムに配置し、3 回実施した。ビデオカメラを用いて麻痺側前肢を評価し、全ステップ数に対する前肢の Correct 数、Error 数の割合を解析した。本テストは術前 3 日から事前トレーニングを行い、運動機能評価は、手術 1 日前、手術 4 時間後、運動後 1 時間後に行った。

#### 5. 脳浮腫解析

脳浮腫の評価は脳水分含有量で評価した。脳水分含有量は脳摘出直後の脳重量 (wet weight) および 100°C で 24 時間乾燥させた後の脳重量 (dry weight) を用いた。Wet-dry 法による計算式: 脳水分含有量 (%) = (wet weight-dry weight)  $\times$  100/wet weight により算出した。

#### 6. mRNA 発現解析

実験終了 3 時間後に傷害側感覚運動野を採取し、リアルタイム PCR 法を用いて、IL-1 $\beta$ ・TGF- $\beta$ 1・IGF-1 の mRNA 発現量を  $\Delta\Delta$ Ct 法にて定量化した。

### 結 果

ICH 群, ICH+VET30 群, ICH+VET60 群の脳水分含

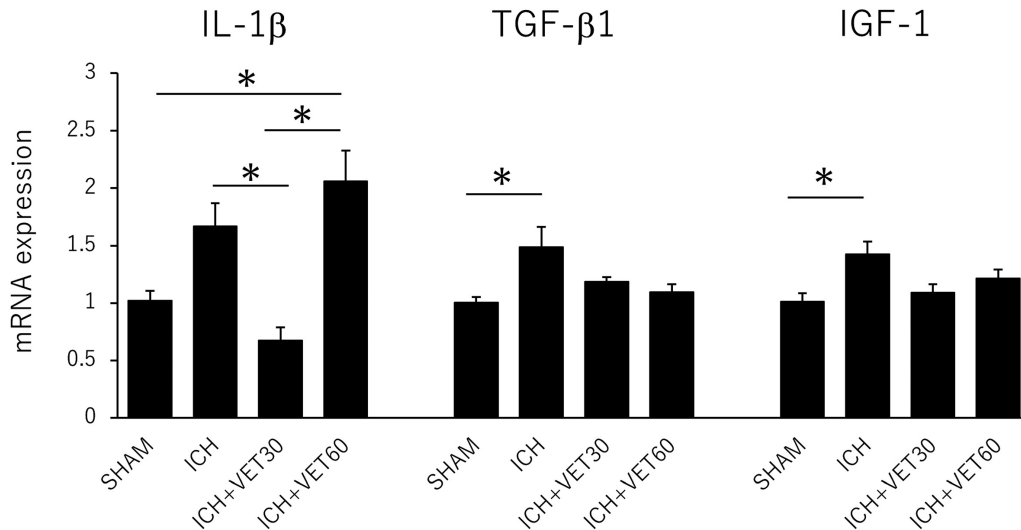


図1 IL-1 $\beta$ ・TGF- $\beta$ 1・IGF-1 の mRNA 発現量

有量は SHAM 群と比較して有意に高かった。IL-1 $\beta$  の mRNA 発現量において ICH+VET60 群は SHAM 群、ICH+VET30 群と比較して有意に高値を示した。また、ICH+VET30 群は ICH 群と比較して有意に低値を示した。TGF- $\beta$ 1、IGF-1 の mRNA 発現量では、ICH 群は SHAM 群と比較して有意に高値を示した (図1)。

## 考 察

本研究は、線条体出血ラットを用いて発症 24 時間以内のトレッドミル運動介入の介入時間の違いが運動機能障害および脳浮腫、炎症関連因子、神経成長因子に与える影響について検証した。その結果、麻痺側前肢の運動機能への影響は認められなかったが、30 分の運動介入は 60 分の運動介入により、傷害側感覚運動野における IL-1 $\beta$  mRNA 発現量が有意に低下した。中大脳動脈閉塞モデルラットを用いた基礎研究によると、超早期からの運動介入は、脳損傷体積の増大や IL-1 $\beta$  発現量の増加を促進すると報告されている<sup>3)</sup>。脳出血後の超急性期介入も脳梗塞同様に炎症因子を促進させる作用があると考えられる。脳卒中後の強制的運動は脳内にストレスを与え、神経細胞死を増加促進させることが報告されている<sup>7)</sup>。ストレスは脳内の IL-1 $\beta$  の発現と因果関係があるため<sup>8)</sup>、時間依存的な運動ストレスの違いによって、IL-1 $\beta$  の発現量が増加した可能性が考えられる。本研究は、運動介入時間の比較検証に留まっているが、今後、介入頻度や運動強度を含めた比較検証を行い、超急性期リハビリテーションの適切な介入方法を探索する必要がある。

## 文 献

- 1) group ATC: Efficacy and safety of very early mobilisation within 24 h of stroke onset (AVERT): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2015; 386: 46-55.
- 2) Li F, Shi W, *et al.*: Enhanced apoptosis from early

physical exercise rehabilitation following ischemic stroke. *J Neurosci Res*. 2017; 95: 1017-1024.

- 3) Li F, Pendy JT, *et al.*: Exercise rehabilitation immediately following ischemic stroke exacerbates inflammatory injury. *Neurol Res*. 2017; 39: 530-537.
- 4) Li F, Geng X, *et al.*: Exacerbation of Brain Injury by Post-Stroke Exercise Is Contingent Upon Exercise Initiation Timing. *Front Cell Neurosci*. 2017; 11: 311.
- 5) Okabe N, Himi N, *et al.*: Very Early Initiation Reduces Benefits of Poststroke Rehabilitation Despite Increased Corticospinal Projections. *Neurorehabil Neural Repair*. 2019; 33: 538-552.
- 6) Piao CS, Stoica BA, *et al.*: Late exercise reduces neuroinflammation and cognitive dysfunction after traumatic brain injury. *Neurobiol Dis*. 2013; 54: 252-263.
- 7) Svensson M, Rosvall P, *et al.*: Forced treadmill exercise can induce stress and increase neuronal damage in a mouse model of global cerebral ischemia. *Neurobiol Stress*. 2016; 5: 8-18.
- 8) Norman GJ, Karelina K, *et al.*: Stress and IL-1 $\beta$  contribute to the development of depressive-like behavior following peripheral nerve injury. *Mol Psychiatry*. 2010; 15: 404-414.

## 発表実績

- 1) Tamakoshi K, Hayao K, Takahashi H, Tamaki H: Early rehabilitation inhibits inflammation of the sensorimotor cortex and promotes motor function recovery in intracerebral hemorrhage rats. *BRAIN & BRAIN PET 2019 (Yokohama)*, 2019.7.4-7
- 2) Tamakoshi K, Hayao K, Takahashi H, Tamaki H: Early exercise inhibits dendritic atrophy and aid motor function recovery after intracerebral hemorrhage in rats. *Neuro2019 (Niigata)*, 2019.7.25-28
- 3) 玉越敬悟, 早尾啓志, 高橋英明: 脳出血モデルラットにおける超早期リハビリテーションは炎症促進因子の発現を促進し、運動機能回復を遅延させる。第 24 回日本基礎理学療法学会学術大会 (新潟), 2019.11.30-12.1