

深層学習を用いたキャプチャーモーションによる 大脳皮質—指運動コヒーレンス解析

○前澤 仁志^{1,3)}, 畑 豊²⁾, 平田 雅之³⁾

- 1) 関西医科大学 リハビリテーション学部
- 2) 兵庫県立大学 シミュレーション学研究所
- 3) 大阪大学 医学系研究科脳機能診断再建学共同研究講座

【目的】大脳皮質—運動コヒーレンス(Cortico-kinematic Coherence, CKC)解析は一次感覚運動野(Primary Sensorimotor Cortex, SM1)の同定や機能評価に有効である。従来のCKC計測は加速度計で計測した指運動と脳磁場信号とのカップリングを解析していた。しかし、従来のCKC計測では磁性体である加速度計が脳磁場計測のアーチファクト源となるという課題があった。また、加速度計がスムーズな指の動きを妨げることがあった。そこで本研究では指運動時の動画をビデオ撮像し、深層学習を用いたキャプチャーモーションシステムによる皮質—指運動のコヒーレンス解析を行った。

【方法】成人12名(男性10名, 女性2名; 平均年齢25.0歳 (21-35歳))を対象に全頭型脳磁図計測装置 (Neuromag 360, Elekta Neuromag, Finland)を用いて右示指運動時の脳磁図計測を行った。被験者は一定のリズムで右示指反復運動を行い、指運動を加速度計で計測した。また、指運動はビデオカメラで同時計測し、深層学習を用いたキャプチャーモーションで解析した。

【結果】キャプチャーモーションと加速度計による右示指CKCはすべての被験者において対側(左)半球に認められた。キャプチャーモーションと加速度計によるCKCの周波数帯域は、それぞれ1.8-7.3 Hzと1.8-7.5 Hzであり、指運動の周波数帯域ならびにハーモニックな周波数帯域にピークを認めた。また、キャプチャーモーションから得られたCKCの最大振幅(平均値: 0.474)は、加速度計から得られたCKCの最大振幅(平均値: 0.530)の89.4%であった。さらに、キャプチャーモーションと加速度計により得られた電流源はともに左側大脳皮質中心溝の指SM1に同定され、キャプチャーモーションと加速度計による電流源の位置に有意差を認めなかった。

【考察】キャプチャーモーションによるCKCの値は、従来の加速度計を用いたCKC値と高い類似性(89.4%)を認め、電流源の位置にも有意差を認めなかったことから、深層学習を用いたキャプチャーモーションによるCKC計測手法は指運動の脳機能評価に有用であることが示唆された。深層学習を用いたキャプチャーモーションによるCKC計測は、加速度計等のデバイスを必要とせず、多指運動時など多点からの運動評価も可能であるという特徴を有する。

【結語】深層学習を用いたキャプチャーモーションによるCKC計測は指SM1同定に有効である。

【倫理的配慮、説明と同意】本研究は、発表者が所属する施設の研究倫理委員会(承認番号: 16469-2)の承認を得て実施した。

膝蓋下脂肪体との共培養が前十字靭帯由来線維芽細胞の靭帯治癒関連指標に及ぼす影響

○寺田 秀伸^{1,2)}, 小島 拓真^{1,3)}, 高須 千晴^{1,2)}, 川端 空^{1,3)}, 森下 佑里⁴⁾, 峯岸 雄基^{1,5)}, 加納 拓馬^{1,2,3)}, 高柳 清美⁶⁾, 金村 尚彦^{1,7)}, 村田 健児^{1,7)}

- 1) 埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究所
- 2) 医療法人やつか整形外科内科 リハビリテーション部
- 3) 医療法人東西医会 草加整形外科内科 リハビリテーション部
- 4) 東京家政大学 健康科学部 リハビリテーション学科
- 5) 日本学術振興会 特別研究員DC
- 6) 東都リハビリテーション学院
- 7) 埼玉県立大学 保健医療福祉学部 理学療法学科

【目的】

膝蓋下脂肪体(Infrapatellar Fat Pad: 以下IFP)の炎症や線維化は、関節可動域制限や膝前面部痛を引き起こし臨床上問題になることがある。しかし、これらのIFPの変化が軟骨や靭帯、半月板などの周辺組織に対して与える影響に関する知見は乏しい。本研究ではIFPが靭帯に及ぼす影響を調査することを目的として、前十字靭帯(以下ACL)から培養した線維芽細胞との共培養を実施し、靭帯構成組織であるコラーゲンや線維芽細胞の増殖に関与するトランスフォーミング増殖因子β(以下TGF-β)の遺伝子発現量の変化、創傷治癒試験について検証した。

【方法】

4週齢のWistar系雄性ラット2匹からACLを切離し、コラーゲンゼン散法で初代線維芽細胞を採取した。細胞は10%FBSを含むα-MEM培地で、5%CO₂、37℃、飽和湿度環境下で培養し、第3継代時に単培養(Mono-culture群)のほか、生体から採取したIFPとの共培養(Co-culture群)を0.4μm孔のセルカルチャーインサート(Thermo Fisher Scientific, 日本)を用いて開始した。遺伝子発現量は共培養開始から48時間後にACL由来細胞よりTotal RNAを抽出し、リアルタイム定量PCR法によってコラーゲン(COL1a1, COL3a1)、TGF-βについて調査した。創傷治癒試験は共培養開始から48時間後に均一な幅の直線傷を作成し、12、24、36、48時間後の時点で同一区域を撮像、創傷浸潤面積を算出した。統計学的解析は、遺伝子発現量は内因性コントロールであるGAPDHで補正したΔCT値について、創傷治癒試験は同一時点での細胞浸潤面積について、対応のないt検定を採用し、危険率は5%とした。

【結果】

Mono-culture群と比較してCo-culture群でCOL3a1およびTGF-βのmRNA発現量に有意差は認めなかったものの、増加傾向を示した(COL3a1:1.31倍(p=0.403), TGF-β:1.46倍(p=0.571))。創傷治癒試験は、すべての解析時点でCo-culture群の細胞浸潤面積の有意な向上を認めた(12h: p=0.010, 24h: p=0.003, 36h: p=0.029, 48h: p=0.001)。

【考察】

IFPがACLに及ぼす影響として、血流に乏しいACLのわずかな血管構造はIFPや滑膜に由来(Arnoczky, 1979)し、IFPの切除によって血流量は2分の1に減少する(J.Dunlap, 1989)との報告がある。しかし、共培養によりACL由来線維芽細胞の動態変化が認められた本研究結果は、細胞間相互作用をはじめとする分子相互作用といった、血流以外の要因が作用した可能性を示唆している。また、創傷治癒試験は細胞の遊走能や増殖能を評価する試験であり、ACLの損傷時やホメオスタシスにIFPが重要な役割を持つ可能性がある。今後、免疫蛍光細胞染色によるタンパク質レベルの追加検証や、IFPの炎症や線維化などの変性に着目した検証を進めていく。

【結語】

IFPとの共培養によりACL由来線維芽細胞の創傷治癒試験結果は有意に向上した。

【倫理的配慮、説明と同意】

本研究は本学動物実験倫理委員会(承認番号: 2021-2)の承認を得て実施した。



前十字靭帯損傷後の保存的治療過程におけるリハビリテーションは靭帯治癒を阻害しない

○齊藤 陸^{1,2)}, 相澤 幸夏³⁾, 宇佐美 優奈¹⁾, 荒川 航平⁴⁾, 榎本 沙彩¹⁾, 国分 貴徳^{5,6)}

- 1) 埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究所 博士前期課程
- 2) 竹の塚脳神経リハビリテーション病院 リハビリテーション部
- 3) 医療法人 名圭会 白岡整形外科 リハビリテーション科
- 4) 埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究所 博士後期課程
- 5) 埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究所
- 6) 埼玉県立大学 理学療法学科

【目的】膝前十字靭帯(ACL)損傷では、自己治癒能の低さから外科的再建術が一般的な治療選択だが、我々のグループでは小動物モデルにおいて、ACL完全損傷後の脛骨前方変位の制動によって損傷ACLが保存的に自己治癒することを明らかにした。同時に、単なるCage Activity (CA)では回復に限界があることも示唆された。それに対し理学療法は、治癒ACLの強度回復や筋萎縮などの予防・改善が期待でき、保存療法の中核をなす可能性があるがその効果は未解明である。よって、本研究ではマウスモデルを用いてリハビリテーションが治癒ACLの組織・機械特性に及ぼす影響を検証した。

【方法】8週齢の雌性C57BL/6マウス32匹を対象とした。全てのマウスでACLを非外科的に切断し、完全損傷ACLを自己治癒に導く脛骨前方変位制動(CATT)術を実施した。ACL損傷後、4週時点で2種類のリハビリテーション介入(CATTの除去(de-CATT)・トレッドミル運動(Ex))を実施した。介入内容の組み合わせによりCA/CATT、CA/de-CATT、Ex/CATT、Ex/de-CATTの4群に分類した。損傷後8週時点で膝関節を採取した。解析は、(1)HE染色(ACLの連続性評価)およびピクロシウスレッド染色(靭帯の成熟度を示すグレースケールの算出)、(2)脛骨前方引き出し試験による膝の弛緩性評価、(3)力学試験によるACL力学的強度の計測を実施した。

【結果】HE染色では、全群でACLの治癒が観察された。グレースケールは、CA/CATT群:103.5±20.8、CA/de-CATT群:117.4±17.4、Ex/CATT群:149.3±22.2、Ex/de-CATT群:141.5±15.9であり、Ex群で高い傾向を示したが、有意差は認めなかった。前方引き出し試験では、脛骨前方変位量がCA/CATT群:1.13±0.19mm、CA/de-CATT群:1.22±0.20mm、Ex/CATT群:1.02±0.25mm、Ex/de-CATT群:1.03±0.37mmであり、膝の弛緩性に有意差は認めなかった。ACLの力学的強度は、CA/CATT群2.03±0.68N、CA/de-CATT群2.44±0.86N、Ex/CATT群2.43±0.64N、Ex/de-CATT群4.20±0.48Nであり、Ex/de-CATT群で高い傾向を示したが、有意差は認めなかった。

【考察】結果として、損傷後4週時点での運動介入は、治癒ACLの再断裂や成熟度・力学的強度の低下などの有害事象を及ぼすことはなかった。また有意差はないものの、Ex群ではACLの組織・機械特性が改善した傾向を示した。靭帯損傷後の運動介入では、運動開始のタイミング・速度・継続時間といった様々な要素が治癒反応に大きく影響を及ぼす。よってこの知見をもとに、より早期もしくは高負荷の運動介入実験を行うことでACL損傷の保存的治療法の可能性を広げる、適切なリハビリテーションプログラム確立が期待できる。

【結語】ACL損傷後4週時点のマウスに対するリハビリテーションは、ACLの再断裂や力学的強度の低下などの有害事象を及ぼすことはなかった。

【倫理的配慮、説明と同意】所属施設の動物倫理委員会の承認を受け、学内動物実験指針を厳守し実施した(承認番号:2021-9)。

アキレス腱断裂後の運動療法における筋収縮の必要性の解明

○米野 萌恵^{1,2)}, 峯岸 雄基¹⁾, 高橋 花奈¹⁾, 高島 啓¹⁾, 宇佐美 優奈¹⁾, 宮本 ひまり³⁾, 国分 貴徳^{1,3)}

- 1) 埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究所博士後期課程
- 2) 松田整形外科 リハビリテーション科
- 3) 埼玉県立大学 保健医療福祉学部理学療法学科

【目的】

損傷後治癒過程の腱成熟にはメカニカルストレスが必要である。アキレス腱断裂後の運動療法では腱延長予防の観点から積極的な筋収縮は行わず、段階的な関節可動域の拡大が優先される。しかし、腱の治癒過程で生じる周囲組織との癒着を考慮すると、術後早期の関節可動域拡大は筋の伸長で達成されると考えられ、腱への伸長負荷は僅かである。更に、筋過伸張による張力低下が筋力回復の遅延を招くと考えられる。そこで、他動関節運動では筋力低下と腱治癒不全をもたらす、筋収縮運動では筋力低下の予防且つ腱治癒促進に寄与すると仮説を立て、腱断裂後の筋収縮が腱治癒かつ筋力回復へもたらす効果を明らかにすることを目的とした。

【方法】

10週齢のC57BL/6雄性マウス(n=60)を使用し、外科的にアキレス腱の離断、縫合を行った。術直後より足関節固定を施し介入時以外は固定を継続した。術後2週から他動背屈ストレッチを行うStretch(St)群、腓腹筋に経皮的電気刺激を行うElectrical muscle stimulation(EMS)群、運動介入を行わないNon-Exercise(NE)群と、その対照肢のSham群の4群に割り当てた。術後3、5週時点で対象組織を採取した。アキレス腱の組織学的解析としてPicrosirius red染色の偏光組織像をグレースケール化し、コラーゲン線維配向を定量評価した。また、引張試験により力学的強度を比較した。腓腹筋の組織学的解析として、横断切片のMyosin Heavy Chain Type I, II a, II bおよびLamininの4重免疫染色より筋線維構造変化を観察した。

【結果】

アキレス腱のグレースケールスコアは介入群間で有意差を示さなかったが術後3週時点の腱の最大破断強度及び応力はEMS群がSt群より有意に高値となった(p<0.05)。腓腹筋の筋線維最小フェレー径はEMS群において、術後3週でNE群に対し有意に高値であった(p<0.05)。しかし、術後5週ではNE群、St群に対し有意に低値となった(p<0.05)。筋線維組成については、腱断裂を生じさせた全ての群において筋線維の速筋化が観察された。

【考察】

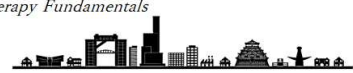
St群では腱治癒促進効果をもたらさず、EMS群でより腱強度が改善した。これは、他動関節運動では腱へのメカニカルストレスは不十分であり、筋が優先的に伸長されていることが示唆され、腱治癒促進には筋収縮を伴うより高強度なメカニカルストレスが有効であることを示す結果であった。一方、経皮的電気刺激による筋肥大効果は一時的であった。また、筋線維タイプ組成は3つの介入群間で類似した傾向であり、運動の違いによる質的变化は生じていなかった可能性が高い。しかしながら、群間で実際に張力変化が生じていたかは不明であり、筋肥大に効果的な運動方法についてはさらなる検討が必要である。

【結語】

腱治癒促進には筋収縮が効果的であり、より早期に筋力回復が得られる可能性が示唆された。

【倫理的配慮、説明と同意】

本研究は大学動物実験倫理委員会の承認のもと実施した(2020-9)。



ラット膝関節の術後癒着に対する超音波照射強度と時間の影響の検証

○中原 峻^{1,2)}, 伊藤 明良¹⁾, 谷間 桃子¹⁾,
河合 秀紀^{1,2)}, 趙 梓汐¹⁾, 徐 仕軒¹⁾, 戴 嘉¹⁾,
安孫子 幸子³⁾, 青山 朋樹¹⁾, 黒木 裕士¹⁾

- 1) 京都大学大学院 医学研究科人間健康科学系専攻
- 2) 京都大学大学院医学研究科 日本学術振興会特別研究員 DC
- 3) 伊藤超短波株式会社 学術部

【目的】関節内の癒着は関節可動域などの運動機能を制限し、日常生活動作に大きな影響を与える。我々は2021年同学術大会にて、ラット膝関節癒着モデルにおいて、低出力超音波パルス療法(以下、超音波照射)による膝関節内癒着形成の抑制効果を報告した。しかし癒着予防治療における超音波照射の重要なパラメータは未だ不明なままである。本研究では超音波照射の強度と時間の影響を明らかにすることを目的として実験を行った。

【方法】12週齢Wistar系雄性ラット30匹に対し、内側関節包を切開後に膝関節を深屈曲位で固定することにより、膝関節癒着モデルを作製した。それらを超音波照射の強度(空間平均時間平均)と時間により、30 mW/cm²-5分(I群)、30 mW/cm²-20分(II群)、120 mW/cm²-5分(III群)、120 mW/cm²-20分(IV群)、疑似照射(疑似群)の5群に無作為に振り分け、2週間固定した(各群n=6)。固定開始翌日より、膝前方から膝蓋靭帯へ向けて週5回の超音波照射(UST-770、伊藤超短波社製)を実施した。超音波の出力周波数は1 MHzとした。2週後、軟部組織除去前後の膝関節の伸展可動域を測定した(伸展可動域、関節構成体伸展可動域)。また組織学的解析として、膝関節前方の癒着と後方関節包の長さを定量的に測定した。統計手法は超音波照射を行った4群で二元配置分散分析を用いて強度と時間の影響を検証した。また疑似照射群を対照群としてDunnnett検定を行った。有意水準は5%とした。

【結果】伸展可動域は照射強度の増加により有意に増加した(p<0.05)。また疑似群に比べIII群とIV群で有意に増加した(p<0.01)。関節構成体伸展可動域は強度と時間ともに効果は認めず、交互作用も認めなかった。また疑似群に比べI群を除く3群で有意に増加した(p<0.05)。癒着長は強度または時間の増加により有意に減少した(p<0.05)。強度と時間の交互作用は認めなかった。また疑似群に比べIV群で有意に減少した(疑似群;11.7 mm±3.3、IV群;6.9 mm±0.8(SD)、p<0.05)。後方関節包は照射時間の増加により短縮抑制効果が減少した(p<0.01)。強度の効果や交互作用は認めなかった。また後方関節包の長さは疑似群に比べすべての超音波照射群で有意に短縮を抑制した(p<0.01)。

【考察】強度120 mW/cm²または時間20分では癒着が有意に軽減することが示され、強度や時間の増加により癒着形成の抑制効果が增大することが示唆された。超音波照射による断続的なメカニカルストレスによって炎症や線維化を抑制した可能性があり、今後はより詳細な機序の解明を要する。

【結語】超音波照射により膝関節内の癒着は減少し、強度と時間の増加は癒着形成抑制に相加的な効果があることが示された。

【倫理的配慮、説明と同意】本研究は、発表者が所属する組織の動物実験倫理委員会(承認番号: MedKyo21081)の承認を得て実施した。

不動性筋萎縮後のラットヒラメ筋に対する協働筋腱切除による影響

○田中正二, 間所 祥子, 山崎 俊明
金沢大学医薬保健研究域 保健学系

【目的】不動性萎縮筋に対する早期からの強度な運動負荷は筋損傷を助長させるが、筋機能を回復させるための運動療法は重要であり、その最適な負荷や介入方法を明らかにすることは理学療法の基盤構築につながる。これまでに再荷重後の介入時期を比較した研究は乏しく、介入時期の違いが筋機能に与える影響は明らかではない。不動性萎縮筋に対する早期からの高負荷運動が筋損傷を助長させることから、再荷重早期からの負荷が筋収縮張力や持久力の回復を障害させるとの仮説のもと、ヒラメ筋の協働筋である足底筋腱切除モデルを用いて、不動性筋萎縮後の協働筋腱切除時期の違いによるヒラメ筋収縮機能特性および組織変化を明らかにすることを目的として本研究を実施した。

【方法】7週齢のWistar系雄性ラット42匹は、無作為に対照群(n=4)、14日間の尾部懸垂後に再荷重する群(n=8)、再荷重後0, 3, 7, 14日に両足底筋腱を切除する群(各n=8, 8, 8, 6)に振り分けた。両足底筋腱は麻酔下で下腿末梢部の腱を5mm程度切除した。再荷重の5週間後に両ヒラメ筋を採取し、筋湿重量を測定した後、右ヒラメ筋を用いて筋収縮機能を測定した。左ヒラメ筋は凍結横断切片を作成してヘマトキシリン-エオジン染色を行い、観察した。それぞれの定量値は、一元配置分散分析の後、Bonferroniの検定を用いて比較した。なお、有意水準は5%未満とした。

【結果】最大単収縮張力、最大強縮張力はすべての群間で有意な差は認められなかったが、筋持久力は対照群に比べて再荷重後0日に足底筋腱を切除した群において有意に向上していた(P<0.05)。組織染色画像において、再荷重した群では組織中に中心核線維が観察され、再荷重後7日および14日に協働筋腱を切除した群では壊死線維が観察された。

【考察】再荷重によって筋損傷が生じたが、仮説に反して再荷重後0日に協働筋腱を切除した群は筋持久力を向上させた。筋再生や老化によって遅筋線維比率が増加することが知られていることから、筋再生過程における筋線維タイプ変化が関与しているのかもしれない。また、再荷重のみの群、再荷重後0および3日に協働筋腱を切除した群においては、壊死線維はほぼ消化吸収されていたが、再荷重後7, 14日に協働筋腱を切除した群においては壊死線維が確認されたことは、repeated bout effectと呼ばれるような損傷耐性が向上したことを示していると推測された。これらの結果は、不動性萎縮筋に対する荷重負荷時期による違いはないものの、早期からの負荷が有効である可能性が示唆された。

【結語】不動性筋萎縮後早期からの協働筋腱切除による負荷は筋持久力を向上させ、筋損傷耐性を早期化する可能性がある。

【倫理的配慮、説明と同意】本研究は、発表者が所属する組織の動物実験委員会(承認番号: AP-204170)の承認を得て実施した。

