

## 報 告

運動負荷時間の違いがラット廃用性  
筋萎縮の回復過程に及ぼす影響\*山崎俊明<sup>1)</sup> 立野勝彦<sup>1)</sup> 灰田信英<sup>1)</sup> 出口恵美子<sup>2)</sup>

## 要旨

廃用性筋萎縮の回復過程に及ぼす運動負荷の影響を、運動持続時間の違いから検討した。ラット 20 匹 (体重 203～227 g) を各 4 匹の 5 群に分け、その内 4 群を実験群、1 群を対照群とした。実験群には 2 週間の後肢懸垂により廃用性筋萎縮を惹起した。その後、懸垂をはずし 2 週間の回復過程とし、その間、1) 通常飼育、2) 1 日 10 分運動負荷、3) 30 分運動負荷、4) 90 分運動負荷を実施した。なお、運動負荷はトレッドミルによる走行運動を週 5 日行った。分析はヒラメ筋を材料とし、組織化学的に行った。

ヒラメ筋の相対重量比は、90 分運動負荷群が他実験群より有意に大きかった。さらに、対照群とは差がなく、運動による回復を示した。しかし、筋線維タイプ構成比率および断面積は、実験群間に差はなかった。また、断面積の分布状況より、実験群のタイプ II 線維で小さいサイズの線維群が観察され、一時的筋傷害の可能性が示唆された。以上より、廃用性筋萎縮の回復過程における運動負荷では、持続時間が一つの規定因子であるが、そのみでは効果を規定できないと考えられた。さらに運動負荷による効果と筋傷害の両面を考慮したプログラムの必要性が示唆された。

キーワード 廃用性筋萎縮、回復過程、運動持続時間

## はじめに

長期臥床または安静により、臨床的に見られる二次的障害として著しいものが骨格筋の萎縮と筋力低下であり、一般的に廃用性筋萎縮といわれ

る<sup>1)</sup>。その現象を検索するために、従来より関節固定、脊髄横切、運動神経の機能的ブロック、後肢懸垂 (hindlimb suspension, HS) 法などが動物実験で用いられている。特に、HS は筋の運動学的活用や代謝物質の動態から、安静臥床に近似したモデルと考えられている<sup>2)</sup>。

灰田<sup>2)</sup>は、HS による廃用性筋萎縮の病態と、萎縮の軽減を目的とする走行運動の有効性について、生理学的、組織化学的、および超微形態学的に検索している。それによると萎縮進行中の運動負荷により、萎縮を軽減させることが可能であったと報告している。筆者らの研究においても、萎縮進行中に他動的伸張刺激<sup>3)</sup>、短時間筋伸張位保

\* Effect of Exercise Duration on Recovery from Disuse Atrophy in Rat Soleus Muscle

1) 金沢大学医学部保健学科

(〒920-0942 石川県金沢市小立野 5-11-80)

Toshiaki Yamazaki, RPT, Katsuhiko Tachino, MD, Nobuhide Haida, RPT: School of Health Sciences, Faculty of Medicine, Kanazawa University

2) 映寿会病院 リハビリテーション科

Emiko Deguchi, RPT: Department of Rehabilitation Medicine, Eijukai Hospital

(受付日 1998年4月4日/受理日 1998年7月9日)

持<sup>4-6)</sup>、荷重刺激<sup>7)</sup>を介入することで完全ではないが、萎縮を抑制できた。また、長期間の無重力環境における生活で生じる筋萎縮への対策に関しては、米国航空宇宙局 (NASA) やロシア (旧ソ連) などの研究業績が多い。実際、宇宙船内で飛行士は工夫された器具を使い、運動を実施している<sup>8)</sup>。よって、萎縮発現の背景に違いはあるものの、萎縮予防という観点から、宇宙医学の知見は大変参考になるとと思われる。

廃用進行中のなるべく早期から、運動負荷の介入が可能ならば、回復に要する期間も少なく、経済的にも効率的と考えられる。しかし、臨床的には一定期間、臥床を余儀なくされ廃用性萎縮発生後に理学療法を処方される場合が多い。しかも萎縮筋では、訓練のために行ってよい筋運動の負荷量と筋の収縮様式の許容量が狭いことが報告されている<sup>9)</sup>。よって、萎縮筋の回復過程における適切な運動処方に関する基礎データを得ることは、理学療法にとって重要と考えられる。けれども、随意筋を廃用の状況に設定することの困難さも影響し、回復期における効果的運動負荷方法に関する統一した見解は得られていない。

運動負荷が筋に及ぼす要因としては、運動強度、持続時間、頻度、種類などが考えられる。しかも、廃用性筋萎縮の臨床実験あるいは動物実験の条件設定の困難さを鑑みれば、方法論の違いにより実験結果にばらつきがでてくるのは当然と考えられる。そこで、本研究では、運動負荷量を規定する条件として、運動持続時間に焦点をおいた。そし

て、廃用性筋萎縮の回復過程における、運動負荷の影響を毎日の運動負荷時間の違いから検討し、廃用筋に対する適切なプログラム処方の基礎データを得ることを目的とした。

方 法

1. 実験材料

実験動物として、Wistar系雄ラット20匹 (体重203~227g) を準備した。対象筋としては、非荷重による影響を受けやすい抗重力筋としてヒラメ筋を選択した<sup>10)</sup>。

2. 実験手順

まず、ラットを各4匹の5群に分け、その内4群を実験群、1群を対照群 (CON) とした。対照群は実験期間 (4週間) を通して、通常飼育とした。なお、本実験は金沢大学宝町地区動物実験指針に従った。

実験群には2週間、HSにて後肢筋に廃用性萎縮を惹起させた。具体的には先行研究<sup>5)</sup>と同様に、特製ジャケットにてラットの骨盤帯を懸垂し、後肢が床に触れない程度に調節した。なお、餌・水の摂取は自由とした。

HS後の2週間を回復期間とし、実験群の1群は通常飼育 (HS-F) とした。他の3群には、1日10分 (HS-10)・30分 (HS-30)・90分 (HS-90) の運動を負荷し、運動以外の時間は通常飼育とした (図1)。

群	n	実験内容		
		(開始) 0	2 W	(終了) 4 W
実験群	HS-10	4	----->	10分/日 ----->
	HS-30	4	----->	30分/日 ----->
	HS-90	4	----->	90分/日 ----->
	HS-F	4	----->	.....>
対照群	CON	4	.....>	.....>

-----> : 懸垂 , -----> : 運動 , .....> : 通常飼育

図1 各群の実験内容

### 3. 運動負荷方法

運動負荷としては、トレッドミル（実験動物強制運動測定器：シナノ製作所 SN-460）走行を5日/週で2週間、計10回実施した。走行速度は、1回目は5 m/分、2回目は10 m/分、3回目は13 m/分、4回目は15 m/分、5回目以降は20 m/分とした。

### 4. 分析方法

実験期間（4週間）終了後、ラット腹腔内にpentobarbital sodium（50 mg/kg）を注射し麻酔状態とした。体重測定後、両側後肢からヒラメ筋を摘出し、筋湿重量を測定した。筋は摘出直後に液体窒素で冷却したイソペンタン内で急速凍結し、分析まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。

組織化学的分析のため、まず凍結横断切片（10  $\mu\text{m}$ ）を作製した。その後、筋線維タイプ分類（タイプ I・II）のためにルチーン ATPase 染色（pH 10.6）を行った。後日、染色切片の顕微鏡写真（ $\times 216$ ）をもとに、各筋あたり100本以上の筋線維を対象に横断面積の測定およびタイプ構成比率の計算を実施した<sup>3)</sup>。

### 5. 統計学的検定

各群間の比較には一元配置の分散分析を用い、有意差を認めた場合は Scheffe の方法にて検定した。なお、測定値は平均値 $\pm$ 標準偏差で示し、有意水準は5%とした。

## 結 果

#### 1. 走行状態について

四足動物に対してトレッドミルの速度を漸次増加させると、走行の様式は速足（trot）から、駆け足（gallop）に変わるといわれ<sup>2)</sup>、本研究の5回目以降の速度（20 m/分）では、速足様の走行形態を示していた。

#### 2. 分析結果について

ヒラメ筋湿重量は、CON 群に比し、HS-10 群、HS-30 群および HS-F 群で有意な低下を示した

表 1 筋湿重量および相対重量比

群	ヒラメ筋湿重量 (mg)	相対重量比
HS-10	91 $\pm$ 8*	0.33 $\pm$ 0.02*
HS-30	85 $\pm$ 10*	0.31 $\pm$ 0.04*
HS-90	106 $\pm$ 12	0.39 $\pm$ 0.04 <sup>#</sup>
HS-F	94 $\pm$ 9*	0.33 $\pm$ 0.03*
CON	116 $\pm$ 12 <sup>#</sup>	0.40 $\pm$ 0.02 <sup>#</sup>

平均値 $\pm$ SD, 相対重量比=ヒラメ筋湿重量(mg)/体重(g).

\*: p<0.05 (CON 群との有意差), #: p<0.05 (HS-F 群との有意差).

表 2 各群の筋線維タイプ構成比率

群	タイプ I	タイプ II
HS-10	70.0 $\pm$ 10.5	30.0 $\pm$ 10.5
HS-30	63.6 $\pm$ 8.4	36.4 $\pm$ 8.4
HS-90	72.5 $\pm$ 3.5	27.5 $\pm$ 3.5
HS-F	66.4 $\pm$ 6.2	33.6 $\pm$ 6.2
CON	73.1 $\pm$ 9.1	26.9 $\pm$ 9.1

平均値 $\pm$ SD, 単位: %, 各群間に有意差なし.

表 3 各群の筋線維断面積

群	タイプ I	タイプ II
HS-10	2,170 $\pm$ 676*	1,595 $\pm$ 835*
HS-30	1,926 $\pm$ 581*	1,608 $\pm$ 544*
HS-90	2,254 $\pm$ 955*	1,780 $\pm$ 662*
HS-F	1,895 $\pm$ 598*	1,594 $\pm$ 499*
CON	2,958 $\pm$ 894 <sup>#</sup>	2,308 $\pm$ 736 <sup>#</sup>

平均値 $\pm$ SD, 単位:  $\mu\text{m}^2$ ,

\*: p<0.05 (CON 群との有意差), #: p<0.05 (HS-F 群との有意差).

が、HS-90 群とは差がなかった。また、HS-F 群と HS-90 群間には差を認めなかった。相対重量比では、HS-10 群および HS-30 群は、HS-F 群と差がなかった。また、HS-90 群は HS-F 群、HS-10 群および HS-30 群より有意に大きく、しかも CON 群と差がなかった（表 1）。

筋線維タイプの構成比率は、CON 群のタイプ I 線維が多く（73.1%）、実験群で少ない（63.6～72.5%）傾向にあったが、有意差は認めなかった（表 2）。

筋線維断面積の結果を表 3 に示す。タイプ I・II 線維ともに、CON 群に比較し、実験群で有意に低い値（各々 64～76%・69～77%）を示した。しかし、実験群間に差は認めなかった。

## 考 察

本研究では廃用性筋萎縮の回復過程に及ぼす運動負荷の影響を、持続時間の違いから検討した。その結果、相対重量比では、1日10分および30分の運動負荷では、HS-F群と差がなく、効果を認めなかったが、1日90分の運動負荷はHS-F群より有意に大きく効果的であった。しかし、筋線維タイプ構成比率および線維断面積に関しては、実験群間に統計学的有意差を認めず、運動負荷持続時間による影響を明らかにできなかった。そこ

で、筋線維の大きさをより詳細に分析するため、断面積の分布状況を各群で比較した(図2)。このグラフは各群の計測全線維数を100%として、その分布比率をプロットしたものである。対照群はタイプI・IIともに中間付近に最大値をもつ、一峰性の分布を示している。実験群は、対照群に比し全体的に狭い範囲で左方に偏位し、萎縮を示した。特徴的な点は、実験群のタイプII線維で、最大値付近の大きなピークと1000 $\mu\text{m}^2$ 以下のより小さい線維にもうひとつ小さいピークをもつ、二峰性の分布を示したことである。特に、10分

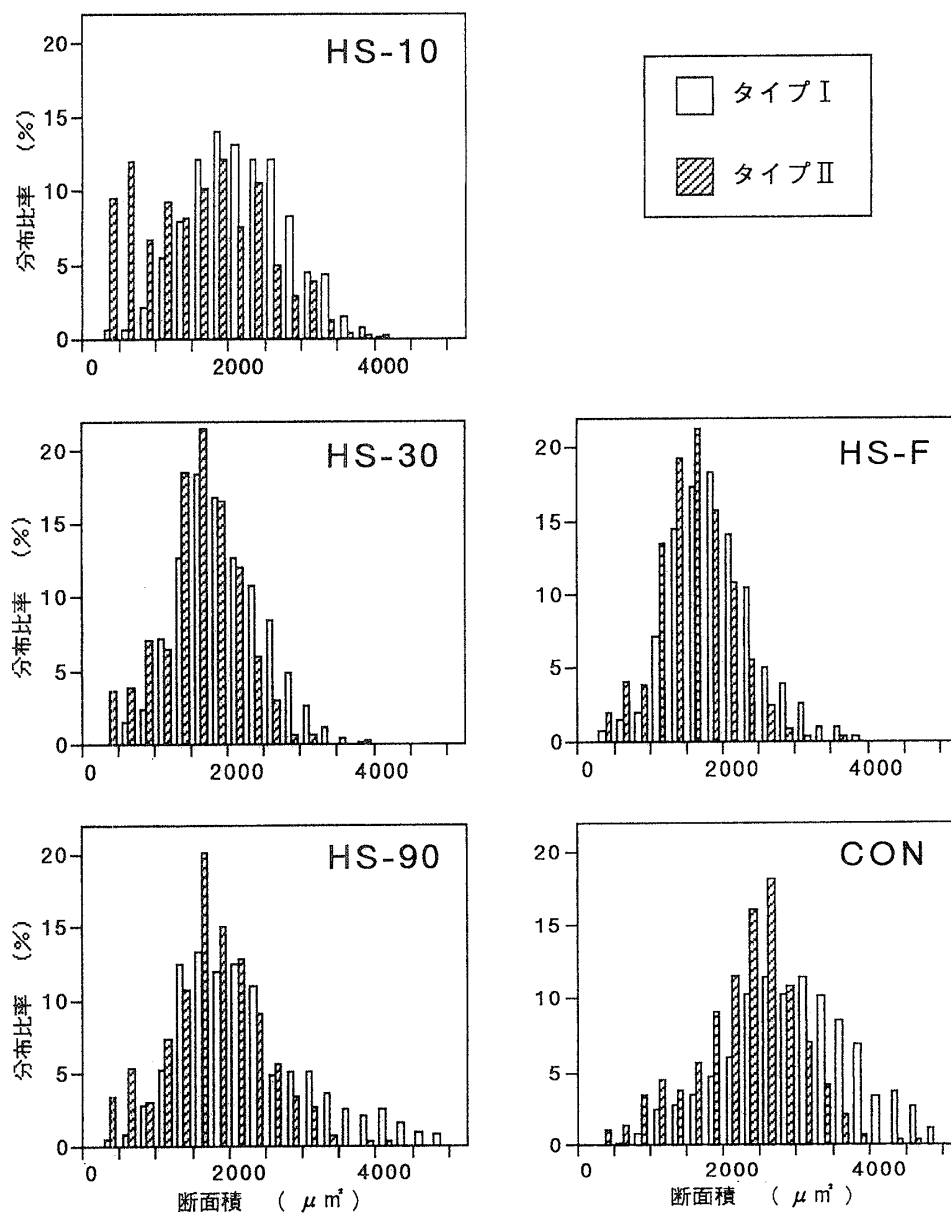


図2 筋線維断面積の分布比率

の運動負荷群でより顕著となっている。この点に関して、Stauber ら<sup>11)</sup>はラットヒラメ筋における反復伸張の影響を検索し、伸張スピードによる違いを報告している。特に速い伸張では、小さいサイズの線維群が出現し、正常線維の一部が失われ、結合組織や再生線維に置きかわったことを示唆している。また、Kasper ら<sup>12)</sup>は、HS 後の回復過程において、ヒラメ筋に小さいサイズのタイプ II c 線維が出現することを観察している。それによると、運動負荷がなくても出現しているが、走行運動で有意な増加を示しており、一時的筋傷害の可能性を報告している。本研究結果も同様な傾向を示したことから、懸垂後の再荷重および走行運動による筋原線維レベルの微細な傷害<sup>2)</sup>の発生が推測される。また、HS-F 群における小さいサイズの線維出現に関しては、懸垂によるヒラメ筋の短縮状態が、荷重により急激に伸張され、さらに筋仕事量が増加したこと<sup>7)</sup>が原因の一つと考えられる。以上より、萎縮筋に対する運動負荷は、運動負荷による効果と筋傷害の両面を考慮する必要があると考えられる。

本研究では運動負荷装置としてトレッドミルを用いた。走行速度に関しては、2 週間の後肢懸垂による非荷重後であることを考慮し、5 m/分から漸増し、5 回目以降 20 m/分とした。20 m/分の走行速度でみられた速足形態では、自発行動時に比べヒラメ筋の活動量は約 1.4 から 1.8 倍に増加すると報告されている<sup>2)</sup>。また、Riley ら<sup>13)</sup>はラットについて非荷重後の再荷重状態をビデオ記録により観測し、移動は正常ラットの約 1/3 であったと報告している。実際、運動負荷初日は、5 m/分のスピードでも、かろうじて追従していた。臨床的に考えても、臥床直後の患者には運動負荷量を漸増することは適切と思われる。さらに、本研究では非荷重による影響をうけやすい抗重力筋としてヒラメ筋を選択したが、伸張スピードによる反応の違い<sup>11)</sup>を考えるならば、よりゆっくりとした歩行形態での検討も必要であると考えられる。

D'Aunno ら<sup>14)</sup>は無重力環境を想定し、ラット

ヒラメ筋の非荷重による萎縮予防対策として、機械的な遠心方法を利用した人工的重力 (1.5 G, 2.6 G) を用いている。それによると、運動強度よりも、運動頻度・運動持続時間・筋の収縮状態といった要因が、萎縮予防に影響することを示唆している。本研究では持続時間の観点より検討した結果、確かに 1 日 90 分で効果的な点もあったが、単に持続時間のみでは解釈できない点もあった。非荷重筋に対する運動負荷には、ストレスの影響を考慮する必要がある、持続時間より頻度がより重要な要因とする報告<sup>15)</sup>もある。また、灰田<sup>2)</sup>は筋萎縮の予防・軽減に与える要素には、運動強度と持続時間があり、それらの相乗で萎縮防止発現の閾値が決定されると述べている。さらに、本研究では成長期のラットを用いたが、年齢による影響も考慮する必要がある。山下ら<sup>16)</sup>は加齢に伴う筋の蛋白質合成能力の低下を示唆し、青年期では萎縮後の回復期における低強度運動負荷は筋機能の向上を促すが、老年期では筋の機能維持に必要な不可欠であるとし、至適運動強度は年齢により異なると述べている。山内ら<sup>17)</sup>は廃用後の筋機能回復に及ぼす等尺性運動の効果を若齢期と老齢期で検討している。それによると、収縮・弛緩時間の回復は若齢期に比べ老齢期で遅延し、運動により促進された。以上のように、運動負荷が筋に及ぼす要因には種々考えられるため、今後は各要因の影響を明確にすることが重要と思われる。

## 文 献

- 1) 千野直一: 廃用性筋萎縮の発生機序, 「リハビリテーション基礎医学, 第 2 版」, 上田 敏・他 (編), 医学書院, 1994, pp 203-212.
- 2) 灰田信英: マウスヒラメ筋の廃用性萎縮の病態ならびに運動負荷効果に関する研究. 十全医会誌 99: 1050-1067, 1990.
- 3) 山崎俊明, 灰田信英・他: ラットヒラメ筋の廃用性萎縮に対する他動的筋伸張刺激の効果. 組織化学的分析. 理学療法学 20: 87-92, 1993.
- 4) 山崎俊明, 立野勝彦・他: 廃用性筋萎縮の予防に対する短時間筋伸張位保持の効果. 理学療法学 21: 213-217, 1994.
- 5) 山崎俊明, 立野勝彦・他: 麻酔下における短時間筋伸張位保持がラットの廃用性筋萎縮予防に及ぼ

- す効果. PTジャーナル 29: 135-138, 1995.
- 6) Yamazaki T, Tachino K, *et al.*: Effect of short duration stretching for prevention of disuse muscle atrophy in mature rats. *Rigaku ryohogaku* 23: 349-354, 1996.
  - 7) 山崎俊明: ラットの廃用性筋萎縮に対する荷重刺激の効果. *理学療法学* 23: 417-420, 1996.
  - 8) 井川幸雄: 宇宙生活の体力医学 (序説). *臨床スポーツ医学* 10: 1-4, 1993.
  - 9) 灰田信英: 廃用性筋萎縮の基礎科学. *理学療法学* 21: 94-97, 1994.
  - 10) Riley DA, Slocum GR, *et al.*: Rat hindlimb unloading: soleus histochemistry, ultrastructure, and electromyography. *J Appl Physiol* 69: 58-66, 1990.
  - 11) Stauber WT, Miller GR, *et al.*: Adaptation of rat soleus muscles to 4 wk of intermittent strain. *J Appl Physiol* 77: 58-62, 1994.
  - 12) Kasper CE, White TP, *et al.*: Running during recovery from hindlimb suspension induces transient muscle injury. *J Appl Physiol* 68: 533-539, 1990.
  - 13) Riley DA, Ellis S, *et al.*: In-flight and postflight changes in skeletal muscles of SLS-1 and SLS-2 spaceflown rats. *J Appl Physiol* 81: 133-144, 1996.
  - 14) D'Aunno DS, Thomason DB, *et al.*: Centrifugal intensity and duration as countermeasures to soleus muscle atrophy. *J Appl Physiol* 69: 1387-1389, 1990.
  - 15) D'Aunno DS, Robinson RR, *et al.*: Intermittent acceleration as a countermeasure to soleus muscle atrophy. *J Appl Physiol* 72: 428-433, 1992.
  - 16) 山下勝正, 代田琢彦・他: 加齢に伴い低下した筋機能に及ぼす運動トレーニングの意義と適切な負荷方法. *体力研究* 85: 6-17, 1994.
  - 17) 山内秀樹, 米本恭三: 老齢期の廃用性萎縮筋の機能回復に及ぼす運動負荷の影響: ヒラメ筋の変化. *リハ医学* 34: 212-217, 1997.

## 〈Abstract〉

**Effect of Exercise Duration on Recovery from Disuse Atrophy  
in Rat Soleus Muscle**

Toshiaki YAMAZAKI, RPT, Katsuhiko TACHINO, MD, Nobuhide HAIDA, RPT  
*School of Health Sciences, Faculty of Medicine, Kanazawa University*

Emiko DEGUCHI, RPT  
*Department of Rehabilitation Medicine, Eijukai Hospital*

The purpose of this study was to investigate the effect of exercise duration on recovery from disuse atrophy in rat soleus muscle. Twenty male Wistar rats (weight: 203–227 g) were divided into experimental and control groups. In the experimental group, disuse muscle atrophy was induced by hindlimb suspension for two weeks. Upon termination of the suspension, these rats were made to run for 10, 30, or 90 min/day on a treadmill during the subsequent recovery period (2 wk).

The soleus muscle weight-to-body weight ratio for the 90 min-group was significantly higher than that for the other experimental groups, but not different from that for the control group, indicating that this group had recovered as a result of exercise. No differences in cross-sectional area of muscle fiber or percentage distribution of muscle fiber type were observed among the experimental groups. Frequency distribution analysis of the cross-sectional area revealed a population of small-sized fibers with type II fiber in the experimental groups, indicating that exercise may cause transient muscle injury. These findings suggest that the effect of exercise during recovery from disuse muscle atrophy can't be controlled by only duration and that it is necessary to consider both the effect of and muscle injury caused by exercise.