

荷重休止間隔がラットヒラメ筋の 廃用性萎縮予防に及ぼす影響

山崎 俊明 灰田 信英 立野 勝彦

要 旨

廃用性筋萎縮の進行抑制に関して、近年の社会的状況として定着しつつある週休2日制の影響、特に2日連続休日の影響が多大であることが推測される。本研究では単純化した実験モデルを用い、その影響を荷重効果の観点から調べ、臨床に役立つ基礎データを得ることを目的とした。Wistar系雄ラット28匹のヒラメ筋を実験材料とした。ラットを4群(各7匹)に分け、1群を対照群(C群)、他3群を実験群とした。実験群は2週間の後肢懸垂を実施し、その間に1日1時間の荷重を週5日実施し2日連続休止する群(A群)、同様な荷重を2日連続実施し1日休止する群(B群)、および懸垂のみで荷重しない群(S群)に分類した。

S群のタイプI線維断面積は、C群と比較し49%に減少したが、A群は58%、B群は63%で、すべての群間に有意差を認めた。タイプII線維の断面積においても同様な傾向を認めたが、A群とS群間に差はなかった。筋線維断面積はA群よりB群が有意に大きく、荷重休止間隔が萎縮抑制に影響することが示唆された。本研究における1日1時間荷重は、毎日実施すれば翌日の開始までは24時間間隔であり、休日を考慮したA群の荷重休止間隔は72時間、B群は48時間である。つまり、廃用性筋萎縮の進行抑制に関しては、荷重休止間隔は72時間より48時間の方が効果的と考えられる。臨床的には、本研究結果を加味した対策を工夫し、理学療法の効果をより明確にする必要がある。

KEY WORDS

atrophy prevention, disuse atrophy, weight bearing interval, soleus muscle

はじめに

リハビリテーション領域、特に理学療法分野では、骨格筋萎縮の治療・予防方法の確立が重要な課題である。骨格筋萎縮の主な原因としては、筋原性、神経原性および廃用性が報告されている¹⁾。なかでも、廃用性筋萎縮は、いわゆる『寝たきり』の状況で発生する他、脳卒中患者の非麻痺側、整形外科手術後の免荷状態など疾患を問わずみられることが多い^{2,3)}。その改善には多大な時間および医療費を要するため、治療状態に陥る前の予防、あるいは可能な限りの進行抑制が必須と考えられる。しかし、その効率的方法に関する理学療法学視点からの研究は少なく、その基礎データの集積が求められている。

下肢筋の廃用性萎縮に影響を及ぼす主要因は非荷重(免荷)であり^{4,5)}、荷重可能な状況であれば、

早期かつ長時間の荷重が最も安全で有効な対策と考えられる。文献的には、廃用状況における運動負荷の効果調べた報告⁶⁾、長時間の荷重効果を検索した報告⁷⁾もあるが、いずれの条件も臨床場面では実施困難な場合が多い。筆者らは、廃用性筋萎縮の実験モデルとして後肢懸垂法(hindlimb suspension)を使い、短時間の荷重による効率的萎縮抑制方法を動物実験により検索、報告してきた⁸⁾。具体的に1日1時間程度の荷重を、廃用性萎縮進行中に間欠的に導入(間欠的荷重)し、抑制程度を組織化学的手法により比較した。その結果、1日1時間の荷重で萎縮を完全に予防することは困難であるが、下骨格筋(ヒラメ筋)萎縮の進行抑制は可能であり、その際の条件として、荷重時間⁹⁾、頻度^{10,11)}、間隔¹²⁾および開始時期¹³⁾が重要な因子であった。

本研究では、近年の社会的状況として定着しつつある週休2日制の影響を検討した。特に廃用性筋萎縮の進行抑制に関しては、2日連続休日の影響が多大であると推測されるが、その点に関する基礎的研究報告はみられない。そこで、単純化した実験プロトコルを用い、荷重効果の観点からその影響を調べ、理学療法の臨床に役立つ基礎データを得ることを目的とした。

方 法

実験材料として、Wistar系雄ラット28匹（7週齢、平均体重 219 ± 4 g）のヒラメ筋を使用した。

廃用性筋萎縮の作製には、後肢懸垂法を用いた。具体的には、懸垂用ジャケット（図1-A）をラットに装着し、骨盤背側部を懸垂、後肢指先部が床に触れない程度に調整し非荷重状態とした（図1-B）。懸垂状態のラットは、前肢を使い移動でき、水および餌の摂取は可能である。

実験方法は、まずラットを4群（各7匹）に分け、1群を通常飼育の対照群（C群）、他3群を実験群とした。実験群には2週間の後肢懸垂を実施し、1日1時間の荷重を週5日実施し2日連続休止する群（A群）、同様な荷重を2日連続実施し1日休止する群（B群）、および懸垂のみで荷重しない群（S群）に分類した（図2）。荷重は懸垂をはずした四肢荷重状態とした（図1-C）。なお、荷重が運動負荷とならないよう配慮し、夜行性のラットが比較的低活動である日中（light on時）に実施した。実験期

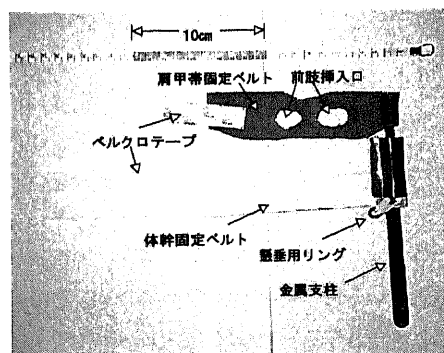
間（2週間）におけるA群とB群の荷重、休止回数および総荷重時間は、同じに設定した（図2）。

本研究で使用する荷重休止間隔という用語について、その概念を図示した（図3）。厳密には荷重間隔と荷重休止間隔は同様な事項を示すが、本研究の目的が週休2日制、つまり2日連続休止の影響を検索することであり、必要上敢えて違う事項として使用した。つまり、毎日1時間の荷重を定時に実施する場合、開始時から翌日の開始時までの間隔は24時間であり、このような定期的間隔を本研究では荷重間隔とした。さらに、休日が入ることにより荷重間隔が変わる場合の違いを明確に表現するため、その場合を荷重休止間隔とした。つまり、A群における2日連続休止の場合は荷重休止間隔が72時間、B群における1日休止の場合は荷重休止間隔が48時間となる。

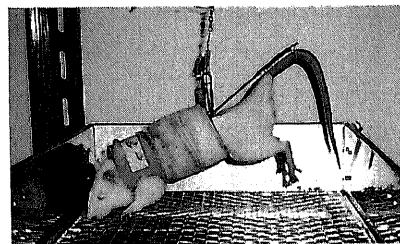
実験期間終了後、体重を測定し、右側ヒラメ筋を摘出した。筋湿重量測定後、液体窒素で冷却したイソペンタン内で急速凍結し、分析まで -80°C で保存した。組織化学的分析のため、筋腹中央部における凍結横断切片（ $10\mu\text{m}$ ）を作製した。筋線維タイプ分類（タイプI・II線維）のために、ルチーンATPase染色（ $\text{pH}10.3$ ）を行った。後日、染色切片の顕微鏡写真をもとに、各筋あたり200本以上の筋線維を対象に、横断面積の測定およびタイプ構成比率の計算を実施した¹⁰⁾。

統計学的分析は、一元配置分散分析を行い、有意差を認めた場合はScheffeの方法にて検定した。測

(A) 懸垂用ジャケット



(B) 懸垂中のラット



(C) 荷重中のラット

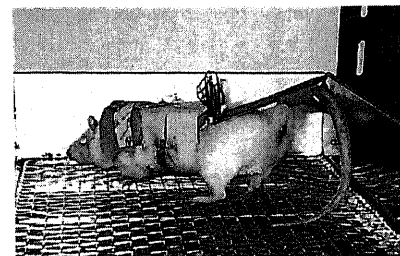


図1 懸垂用ジャケットおよび懸垂・荷重中のラット

	開始	1w	2w	回数 (荷重) (休止)
対照群 (C)	通常飼育 (コントロール)			
実験群 (A)	後 肢 懸 垂	* * — — * * * * * — — * * *		10 4
(B)		* * — * * — * * — * * — * *		10 4
(S)		-----		0 14

* : 1時間荷重 - : 荷重休止

図2 各群の実験内容

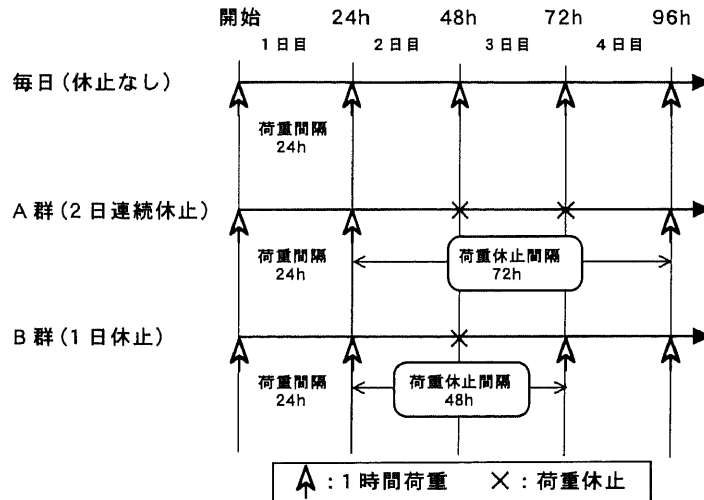


図3 荷重休止間隔の概念図

定値は平均値±標準偏差 (SD) で示し、有意水準は5%とした。

結 果

1. 体重および筋湿重量 (表1)

実験終了時の体重は、実験群に比しC群が有意に大きく、実験群間に差はなかった。ヒラメ筋湿重量および相対重量比 (筋湿重量/体重) は、実験群に比しC群が有意に大きかった。実験群間では、荷重群 (A群とB群) 間を除き有意差を認め、荷重群はS群より有意に大きな値を示した。

2. 筋線維タイプ構成比率 (表2)

タイプI線維の構成比率は、C群>B群>A群>S群の順で、荷重群間を除き有意差を認めた。タイプII線維の構成比率は、タイプI線維と逆の傾向を示し、S群>A群>B群>C群の順で、荷

重群間を除き有意差を認めた。

3. 筋線維横断面積 (表2)

タイプI線維横断面積の平均値は、C群に比しS群は49%に減少したが、A群は58%、B群は%で各群間に有意差を認めた。タイプII線維横断面積の平均値は、C群に比しS群は58%に減少したが、A群は59%、B群は69%で、A群とS群を除き有意差を認めた。

筋線維横断面積の分布状況を各群で比較するため、計測全線維数当たりの比率をグラフ化し (図4, 5)。タイプI線維では、C群に比べ実験群は左側 (面積小) に偏位し分布幅が狭く、萎縮状態を示した。実験群間では、S群に比し荷重のピーク位置が低く、若干C群側に位置し、荷による萎縮抑制効果を示した。タイプII線維でピーク高 (A群>S群>B群) に、特徴的な点

表1 ヒラメ筋湿重量および相対重量比

群	体重 (g)	ヒラメ筋湿重量 (mg)	相対重量比 (筋湿重量/体重)
C	254±7#	110±5#	0.43±0.02#
A	199±7*	63±4*#	0.31±0.02*#
B	201±9*	67±3*#	0.33±0.01*#
S	199±4*	56±2*	0.29±0.01*

* : p<0.05 (C群との有意差), # : p<0.05 (S群との有意差)

表2 タイプ構成比率および筋線維横断面積

群	タイプ構成比率 (%)		筋線維横断面積 (μm^2)	
	タイプI	タイプII	タイプI	タイプII
C	75.5±1.9#	24.5±1.9#	2243±948#	1918±849#
A	70.4±2.4*#	29.6±2.4*#	1290±447*#	1138±441*
B	71.4±1.5*#	28.6±1.5*#	1407±502*#	1320±567*#
S	65.4±2.2*	34.6±2.2*	1097±463*	1108±449*

* : p<0.05 (C群との有意差), # : p<0.05 (S群との有意差)

観察された。

考 察

ヒラメ筋湿重量および相対重量比の結果は、対照群 (C群) に比し実験群 (A群・B群・S群) が有意に小さく、後肢懸垂処置による廃用性萎縮の進行が実験群において顕著であった。また、荷重群 (A群・B群) 間に有意差はなく、筋重量に関しては荷重休止間隔による影響は検出できなかったが、荷重群が懸垂のみのS群より大きな値を示したことは、荷重による萎縮進行の抑制効果と考えられる。ラットヒラメ筋の線維タイプ構成比率は、タイプI線維優位であり、後肢懸垂処置によりタイプII線維比率が増加する¹⁴⁻¹⁶⁾。本研究においてもその傾向を認め、タイプI線維比率はC群 (75.5%) で多く、S群 (65.4%) で少なかった。荷重群はその間に位置し、荷重による効果を示したが荷重群間に差はなく、筋線維タイプ構成比率に関しては荷重休止間隔による影響は検出できなかった。

タイプI線維の断面積結果は、各群間に有意差を認め (C群>B群>A群>S群)、本研究の荷重方法では萎縮の進行を完全に予防することはできないが進行抑制が可能であり、先行研究の結果⁸⁻¹³⁾を支持した。さらにA群よりB群が有意に大きいことから、荷重休止間隔が廃用性筋萎縮の進行抑制に影響を及ぼすことが示唆された。タイプII線維の断面積結果は、A群に荷重効果を認めなかった (C群>B

群>A群=S群)。その点に関しては、分布比率 (図5) でみられたピーク高の違い (A群はS群より高い) から、A群ではより小さい線維の比率が多いと考えられる。Kasperら¹⁷⁾は、後肢懸垂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、一時的筋傷害の可能性を報告している。また、懸垂後の再荷重状態における特異的マクロフェージ反応^{18,19)}、および懸垂中の走行運動による筋原線維レベルの微細な損傷の発生⁶⁾も報告されている。よって本研究期間 (2週間) における、A群の荷重休止間隔では筋傷害が惹起されやすい可能性が考えられ、結果的に荷重効果がみられなかったと推測される。タイプI線維ではA群においても荷重効果を認めており、これら反応の違いは、筋線維タイプ特異性によるものと考えられる。つまり、廃用性筋萎縮の進行抑制に関しては、筋のタイプ特性を十分考慮して、荷重方法を設定することが重要であると思われる。

非荷重間の間欠的荷重に関しては、Brownら²⁰⁾も懸垂翌日からの毎日1日1時間の荷重効果を検索し、治療手段としての有用性を示唆しており、本研究結果もその内容を支持した。しかし、臨床における週休2日制を考慮し、荷重休止間隔に焦点をおいた研究はみられないことから、本研究の知見は基礎データとして有用と考えられる。1日1時間荷重は、毎日実施すれば翌日の開始時刻までは24時間間隔であり、2日連続の休日を想定したA群の荷重休止間隔

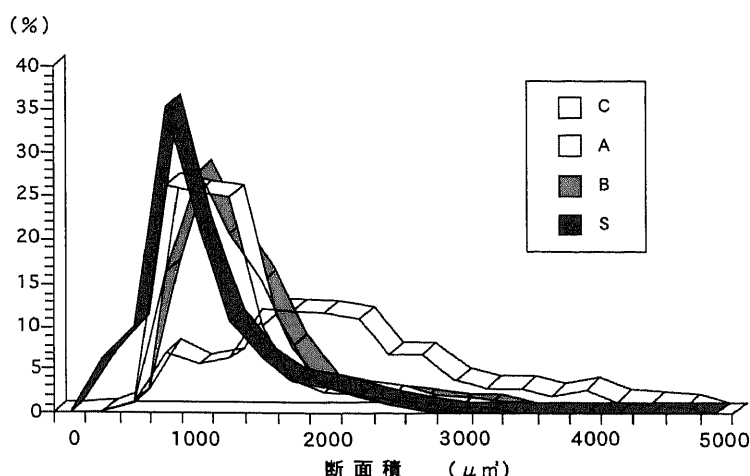


図4 タイプI線維横断面積の分布比率

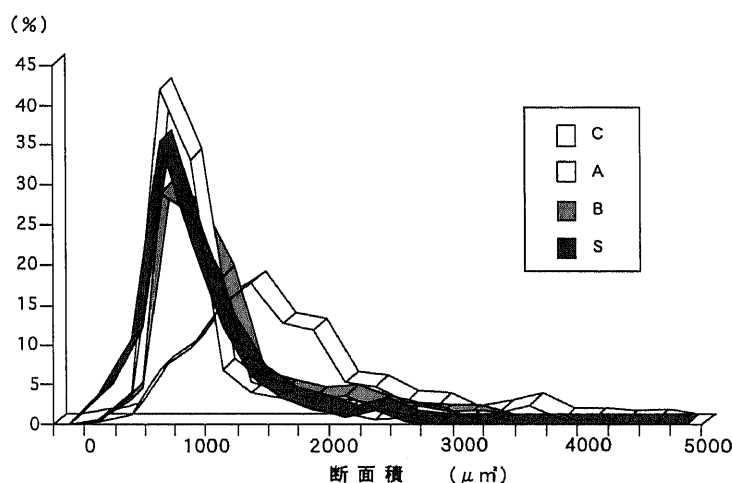


図5 タイプII線維横断面積の分布比率

は72時間、1日の休日を想定したB群の荷重休止間隔は48時間である。つまり、廃用性筋萎縮の進行抑制に関しては筋線維断面積の結果から、荷重休止間隔は72時間より48時間の方が効果的と考えられる。理想としては毎日荷重が最も望まれるが、現実には困難な場合も多い。その際は、一回の荷重時間や1日における荷重頻度を増やすなど、他の要因で対応すべきであろう。臨床的には、本研究結果を加味した対策を工夫し、理学療法効果をより明確なものにしていく必要がある。

文 献

1) 岡崎哲也 他：廃用性筋萎縮の病態と臨床. 総合リハ, 30: 107-112, 2002.
 2) 猪飼哲夫：廃用性筋力低下・筋萎縮の病態生理と予防. MB Med Reha, 10: 7-13, 2001.

3) Hachisuka, K. et al.: Disuse muscle atrophy of lower limb in hemiplegic patients. Arch Phys Med Rehabil, 78: 13-1 1997.
 4) 山崎俊明：筋力改善の理学療法, 廃用性筋萎縮の予防中心に, 望月 久 他編, 筋機能改善の理学療法とそのカニズム, 1版, 23-44, ナップ, 東京, 2001.
 5) St-Pierre, D. et al.: Recovery of muscle from tetrodotoxin induced disuse and the influence of daily exercise. Contractile properties. Exp Neurol, 98: 472-488, 1987.
 6) 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: 1050-10 1990.
 7) Someya, F. et al.: Effects of various daily weight-bearing periods on rat soleus muscle during hindlimb suspensive. Histochemical and mechanical properties. Jpn J Rehabil Me 34: 410-417, 1997.
 8) 山崎俊明：ラットの廃用性筋萎縮に対する荷重刺激の果. 理学療法学, 23: 417-420, 1996.
 9) 山崎俊明 他：ラット廃用性筋萎縮に対する荷重刺激

- 効果, 一日の荷重時間からの検討. 金大医短紀要, 17: 63-67, 1993.
- 10) 山崎俊明 他: 荷重がラット後肢筋の廃用性萎縮予防に及ぼす効果, 週内頻度からの検討. 理学療法学, 22: 108-113, 1995.
- 11) 山崎俊明 他: 荷重日内頻度がラットヒラメ筋の廃用性萎縮予防に及ぼす影響. PT ジャーナル, 30: 53-57, 1996.
- 12) Yamazaki, T. et al.: Effects of weight bearing intervals on disuse atrophy of rat soleus muscle. J Jpn Phys Ther Assoc, 1: 19-24, 1998.
- 13) Yamazaki, T. et al.: Influence of the time when weight bearing is started on disuse atrophy in rat soleus muscle. J Jpn Phys Ther Assoc, 4: 13-18, 2001.
- 14) Talmadge, R.J. et al.: Distribution of myosin heavy chain isoforms in non-weight-bearing rat soleus muscle fibers. J Appl Physiol, 81: 2540-2546, 1996.
- 15) Saitoh, A. et al.: Age effect on expression of myosin heavy and light chain isoforms in suspended rat soleus muscle. J Appl Physiol, 86: 1483-1489, 1999.
- 16) Thomason, D.B. et al.: Atrophy of the soleus muscle by hindlimb unweighting. J Appl Physiol, 68: 1-12, 1990.
- 17) Kasper, C.E. et al.: Running during recovery from hindlimb suspension induces transient muscle injury. J Appl Physiol, 68: 533-539, 1990.
- 18) St-Pierre, B.A. et al.: Differential response of macrophage subpopulations to soleus muscle reloading after rat hindlimb suspension. J Appl Physiol, 77: 290-297, 1994.
- 19) Krippendorf, B.B. et al.: Distinguishing unloading- versus reloading-induced changes in rat soleus muscle. Muscle Nerve, 16: 99-108, 1993.
- 20) Brown, M. et al.: Weight-bearing effects on skeletal muscle during and after simulated bed rest. Arch Phys Med Rehabil, 76: 541-546, 1995.

Influence of Weight Bearing Intervals on the Prevention of Disuse Atrophy in Rat Soleus Muscle

Yamazaki Toshiaki, Haida Nobuhide, Tachino Katsuhiko

ABSTRACT

The five-day working week system has recently been spreading widely in Japan. This system, especially where two consecutive days holiday a week are provided, seems to have a large impact on the reduction in progression of disuse muscle atrophy. The present study was undertaken to examine this impact from the viewpoint of weight bearing, using a simplified protocol, and to obtain basic data, which would be useful clinically. The soleus muscles of 28 male Wistar rats were used for this study. The rats were divided into four groups (7 rats/group), i.e., one control group (Group C) and three experimental groups (Group A, B and S). For all three experimental groups, hindlimb suspension was performed for 2 weeks. In Group A, the limb bore weight for one hour each day on 5 consecutive days of the week, this weight bearing was then discontinued for two consecutive days of the week. In Group B, weight bearing (one hour a day as in Group A) was allowed at intervals of one day, with each session lasting for two days. In Group S, no weight bearing was allowed.

In Group S, the cross-sectional area (CSA) of type I fibers decreased to 49% of that in Group C. In Groups A and B, it was 58% and 63%, respectively. Thus there were significant differences in the type I fiber CSA between any two of the four groups. The CSA of muscle fibers was significantly greater in Group B than in Group A, suggesting that the interval of weight bearing affects the suppression of muscle atrophy. If weight bearing is allowed for one hour every day, the interval between each two neighboring sessions of weight bearing will be 24 hours. In the present study, the interval was 72 hours in Group A and 48 hours in Group B, if we take into account the days on which no weight bearing was allowed. The results suggest that the interval of 48 hours is more useful than the interval of 72 hours in suppressing the progression of disuse muscle atrophy. It is desirable that this finding from the present study is utilized clinically to devise an improved method of physical therapy so that the therapy can be more effective.