

ラット廃用性筋萎縮に対する荷重刺激の効果

— 一日の荷重時間からの検討 —

山崎 俊明* 立野 勝彦* 灰田 信英* 荻原新八郎*
濱出 茂治* 洲崎 俊男* 浅井 仁* 須釜 聡*
三秋 泰一*

要 旨

廃用性筋萎縮の進行抑止に及ぼす荷重の効果をも、一日の荷重時間の違いから検討した。ラットを対象に、寡運動法により後肢を懸垂し非荷重とし、廃用性筋萎縮を作製した。その間、一日一時間荷重群と二時間荷重群（一時間を二回）は懸垂をはずし荷重した。二週間後、ヒラメ筋と長指伸筋を摘出し組織化学的に分析した。

その結果、非荷重および荷重刺激による影響は、長指伸筋に比べヒラメ筋で著明であった。筋湿重量および筋線維断面積は、ヒラメ筋のタイプ1に関し、一日一回荷重より二回荷重の方が、廃用性筋萎縮の進行抑止に効果的なことを示唆した。

KEY WORDS

Disuse muscle atrophy, Muscle fiber type, Non-weight-bearing, Weight-bearing time

はじめに

廃用性筋萎縮は、特に高齢者において安静臥床により短期に進行し、その予防・治療方法の確立は理学療法における重要な課題の一つと考えられる。さらに近年の研究では、リハビリテーション治療を行っていても、脳卒中片麻痺患者の健側下肢に廃用性筋萎縮が起こりうる事が指摘されている¹⁾。

従来の筋萎縮予防に関する研究から、下肢では荷重をかけることが重要とされており²⁾、また萎縮筋にトレッドミルによる運動負荷を加えると、萎縮を半減できるという報告³⁾がある。また筋力低下の予防・改善に与える要素には、強度・持続時間・頻度などがある^{3,4)}。しかし、現実には安静臥床状態にある患者に、強い強度の運動負荷を課すことは困難なことが多い。そのため理学療法では早期から起立台などを使い、下肢に荷重をかけることも行われるが、その際の訓練時間・頻度に関しては、全身状態の制限もあり、殆ど経験的に実施されている。

そこで本研究では、萎縮進行中のラット後肢筋に対し、

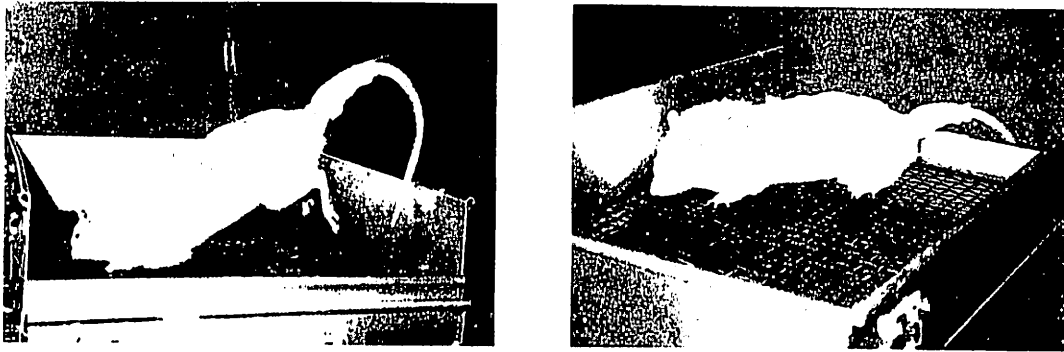
初期から荷重負荷を加え、一日の荷重時間の違いが筋萎縮進行の抑止に及ぼす影響を組織化学的に検索し、臨床における廃用性筋萎縮防止に関する基礎データとすることを目的とした。

対象と方法

対象は Wistar 系雄ラット（体重 243 ± 26 g）16匹で、対象筋はヒラメ筋（SOL）および長指伸筋（EDL）とした。

廃用性筋萎縮は、Moreyの方法⁵⁾を参考に、一部改変し作製した⁶⁾。具体的には、体幹から骨盤帯・尾部にかけてギプスを巻き、骨盤帯背側部にジョイントを取りつけ、後肢が床に触れない程度に懸垂した（図1-a）。なおラットは前肢を使い移動でき、餌・水は自由に摂取可能である。寡運動法は懸垂することで後肢体重負荷を除去するもので、後肢の活動は荷重以外制限されず、筋の活動や物質代謝の面から安静臥床状態に近似したモデルである³⁾。しかも懸垂をはずせば正常な四肢荷重が可能となる。

* 金沢大学医療技術短期大学部・理学療法学科



(a) 寡運動実施中のラット (b) 荷重負荷中のラット

図1 寡運動および荷重負荷方法

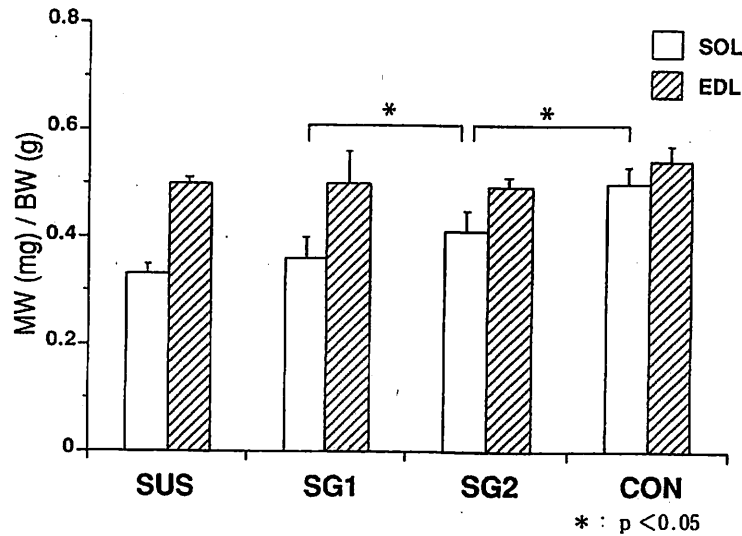


図2 体重 (BW) に対する筋湿重量 (MW) の比

実験方法は、まず対象を4匹ずつ四群に分け三群を実験群、一群を対照群 (CON) とした。実験群は寡運動群 (SUS)、寡運動実施中に一日一時間懸垂をはずし荷重負荷を加えた群 (SG1)、および寡運動実施中に一時間荷重を一日二回 (午前・午後) 加えた群 (SG2) とした (表1)。また、荷重はラットが比較的低活動であるライト ON 時に実施し、特に運動負荷は加えなかった。具体的には図1-(b)に示すように、寡運動実施中のラットのジョイント部で懸垂をはずし、四肢で正常な荷重ができるようにした。なお、対照群には実験群と同様に体幹にギプスを巻いたが、懸垂はしなかった (表1)。

荷重負荷は一週間に5日実施し、実験期間は二週間とした。実験終了後、体重を測定し対象筋を左右両側から摘出した。各筋湿重量測定後、組織化学的に分析するため、まず凍結切片 (厚さ: 10 μ m) を作製し、その後ルチーン ATPase 染色⁷⁾を実施した。各筋あたり約200本の筋

表1 各群の実験内容

群	実験内容
実験群 SUS	寡運動
SG1	寡運動+1時間荷重 (1回/日)
SG2	寡運動+1時間荷重 (2回/日)
対照群 CON	ギプスのみ

線維を、白いタイプ1と濃く染まったタイプ2に分類し、構成比率を計算した。さらに筋萎縮の程度を知るため、筋線維断面積を三次元画像解析システム COSMO ZONE 98 (日本光学工業社製) を使い、デジタイザー (グラフィック社製マイタレットII) で入力し測定した。

なお、統計検定には t 検定を用い、有意水準は5%とした。

表2 各群の筋湿重量 (MW) および相対重量比 (MW/BW)

群	SOL		EDL	
	MW (mg)	MW/BW	MW (mg)	MW/BW
SUS	75±15	0.33±0.02	114±17	0.50±0.01
SG1	95±18*	0.36±0.04	131±29	0.50±0.06
SG2	96±11*	0.41±0.04*	115±8	0.49±0.02
CON	165±11*	0.50±0.03*	179±10*	0.54±0.03*

* : p<0.05, SUS 群との有意差

結果

1. 筋湿重量について (表2, 図2)

寡運動によりヒラメ筋の筋湿重量は対照群の45%に、長指伸筋は64%に減少し、ヒラメ筋に及ぼす影響が大きかった。

また、筋湿重量は体重の影響をうけるため、体重 (g) に対する筋湿重量 (mg) の比 (以下、相対重量比) を計算した。その結果、ヒラメ筋では SUS 群は CON 群の66%に減少したが、SG1 群では72%、SG2 群では82%にとどまった。統計的には SUS 群と SG1 群間に差はなかったが、SG 2 群は SG 1 群より有意に大きかった。長指伸筋では、実験群が CON 群の91~93%で、実験群間に差はなかった。

2. 筋線維タイプ構成比率について (図3)

ヒラメ筋では、SUS 群と SG1 群でタイプ1が少く (72.4~73.2%)、SG2 群と CON 群がともに76.2%と多い傾向にあったが、群間に有意差は認めなかった。

長指伸筋では、各群ともタイプ2が大部分を占め (92.4~93.3%)、ヒラメ筋同様群間に差はなかった。

表3 各群の筋線維断面積

群	SOL		EDL	
	タイプ1	タイプ2	タイプ1	タイプ2
SUS	1275±292	1592±379	1107±235	1321±457
SG1	1638±460*	1739±397*	1316±324*	1673±605*
SG2	1711±430*	1576±370	1187±302*	1434±526*
CON	2990±758*	2190±590*	1332±272*	1932±780*

* : p<0.05, SUS 群との有意差

(単位 : μm^2)

3. 筋線維断面積について (表3)

平均値と比較すると、ヒラメ筋の大部分を占めるタイプ1では、SUS 群が CON 群の43%に、SG1 群が55%に、SG2 群が57%に減少した。統計的には、SG2 群が SG1 群より有意に大きかった。分布比率をみると荷重群 (SG 1 群と SG2 群) は、SUS 群と CON 群の中間に位置し、荷重による筋萎縮予防の効果が認められた (図4)。

しかし、ヒラメ筋のタイプ2および長指伸筋のタイプ1・2では、SG2 群より SG1 群が有意に大きく、ヒラメ筋のタイプ1とは逆の現象を示した。

考察

非荷重および荷重負荷による影響は、遅筋であるヒラメ筋が、速筋である長指伸筋に比べ著明であったことは、従来の研究結果⁸⁻¹⁰⁾を支持するものであった。

荷重による廃用性筋萎縮防止の対策としては、できるだけ荷重時間を増やせば効果が期待できると考えられる。しかし、現実問題として長期臥床患者などには、長時間の荷重負荷は困難である。D'anno ら⁴⁾は非荷重間のヒラメ筋萎縮対策として、遠心 (1.5G, 2.6G) による効果

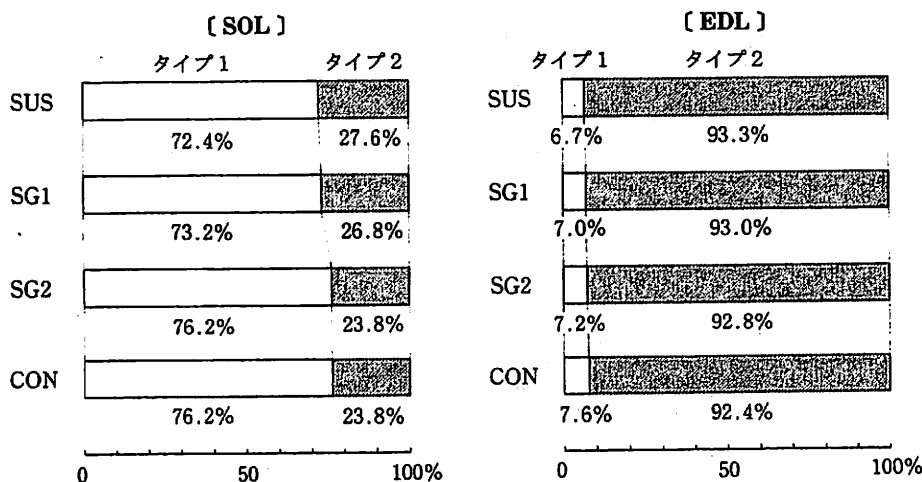


図3 各群の筋線維タイプ構成比率 (平均値)

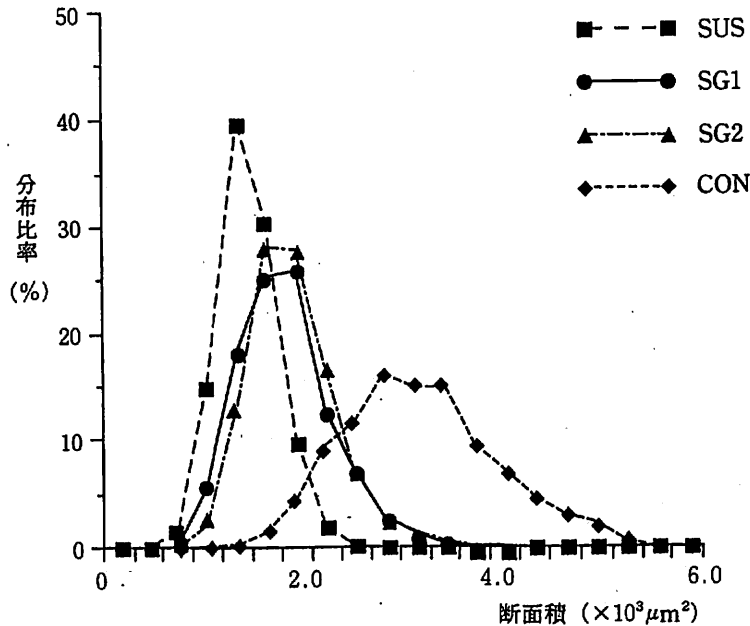


図4 ヒラメ筋のタイプ1線維の断面積分布

を調べたが、1Gで一日2時間の地上荷重より効果的とはいえなかったと報告している。Thomasonら⁸⁾はラットを4週間懸垂し、その間一日2時間荷重した群と4時間荷重した群では筋重量に差はなかったが、非荷重のみの群より有意に大きかったと報告している。そこで本研究では臨床的応用を考慮し、一回一時間の荷重を採用（一日二回で計二時間荷重となる）した点が、従来の研究との違いである。

実験群の筋線維タイプ構成比率に関しては、ヒラメ筋および長指伸筋ともに、Rileyら¹¹⁾の報告と同様、対照群との間に有意差を認めなかった。つまり、非荷重および荷重刺激は筋線維タイプに影響しなかった。しかし、ヒラメ筋においては、SG2群とCON群の平均値が等しく、SUS群やSG1群に比しタイプ1が多い傾向があった。二週間という実験期間の短さを考えるならば、一日二回荷重がヒラメ筋のタイプ構成比率を維持する可能性が推測される。

ラットの安静荷重状態では、足関節は約30度背屈位、可動範囲は30-180度であるが、懸垂により90-180度に減少する¹¹⁾。つまり非荷重によりヒラメ筋は短縮位となる。また、非荷重中の筋EMG活動は離床直後減少するが、徐々に回復し7-28日後には懸垂前と同程度となる¹²⁾。しかし、大平¹³⁾は筋重量の減少などから筋活動は正常ではないことを示唆している。Houlbrookeら¹⁴⁾はヒツジの関節軟骨のグリコサミノグリカン量測定から、関節の

機能維持には荷重と関節の動きが重要であることを示唆している。本研究においては、非荷重により減少していた可動範囲と筋収縮が、荷重刺激により筋、特にヒラメ筋がストレッチされ、また筋収縮が増加したことが筋萎縮進行の抑止に影響した要因と考えられる。

筋線維断面積の結果では、ヒラメ筋のタイプ1は、荷重時間が増せば効果的であった。しかし、ヒラメ筋のタイプ2および長指伸筋では、一日二回荷重で荷重時間が2倍になっているにもかかわらず、逆に一回荷重の方が効果的であった。以上のような荷重刺激に対する反応の違いの要因としては、第一に酸素タイプによる荷重刺激感受性の違いが考えられる。つまりタイプ1が多いヒラメ筋は感受性が高く、タイプ2が主成分である長指伸筋は低いことが推測される。第二に急激な筋使用による炎症の可能性である。Krippendorfら¹⁵⁾は非荷重から再荷重による筋変性の程度は、再荷重時間に依存していることを示唆している。第三に実験処置によるストレスが刺激効果を上回った^{6,16)}ことが考えられる。今後は、効果的荷重負荷方法の検索のため、荷重時間と頻度の関係をより詳細に検討する必要がある。

以上より、本研究の結論として、荷重刺激は完全ではないが、ある程度萎縮の進行を抑止できること、さらに筋湿重量および筋線維断面積の結果より、ヒラメ筋のタイプ1に関しては、一日一回荷重より二回荷重の方が効果的なことが示唆された。

まとめ

ラット廃用性筋萎縮の進行抑止に及ぼす荷重刺激の効果をも、一日の荷重時間の違いから検討した。その結果、非荷重および荷重刺激による影響は、長指伸筋に比べヒラメ筋で著明であった。筋線維タイプ構成比率に変化はなかった。筋湿重量および筋線維断面積は、ヒラメ筋のタイプ1に関し、一日一回荷重より二回荷重の方が効果的なことを示唆した。

本研究は平成5年度文部省科学研究費補助金(奨励研究A, 課題番号05771064)の助成を受けて実施したもの的一部分である。

文 献

- 1) 大川弥生: 廃用性筋萎縮. 総合リハ, 19: 775-780, 1991.
- 2) St-Pierre, D. et al.: Recovery of muscle from tetrodotoxin-induced disuse and the influence of daily exercise. 1. contractile properties. Exp. Neurol., 98: 472-488, 1987.
- 3) 灰田信英: 運動療法の科学的基礎. 1. 末梢神経・筋障害を中心として. PTジャーナル, 23: 203-209, 1989.
- 4) D'ainno, D.S. et al.: Centrifugal intensity and duration as countermeasures to soleus muscle atrophy. J. Appl. Physiol., 69: 1387-1389, 1990.
- 5) Morey, E.R.: Spaceflight and bone turnover: correlation with a new rat model of weightlessness. Bioscience, 29: 168-172, 1979.
- 6) 山崎俊明 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.
- 7) 埜中征哉: 臨床のための筋病理入門. 10-21, 日本医事新報社, 1987.
- 8) Thomason, D.B. et al.: Activity influences on soleus muscle myosin during rodent hindlimb suspension. J. Appl. Physiol., 63: 138-144, 1987.
- 9) Haida, N. et al.: Effect of hind-limb suspension on young and adult skeletal muscle. 1. normal mice. Exp. Neurol., 103: 68-76, 1989.
- 10) Riley, D.A. et al.: Hypogravity-induced atrophy of rat soleus and extensor digitorum longus muscles. Muscle Nerve, 10: 560-568, 1987.
- 11) Riley, D.A. et al.: Rat hindlimb unloading: soleus histochemistry, ultrastructure, and electromyography. J. Appl. Physiol., 69: 58-66, 1990.
- 12) Alford, E.K. et al.: Electromyography of rat soleus, medial gastrocnemius, and tibialis anterior during hindlimb suspension. Exp. Neurol., 96: 635-649, 1987.
- 13) 大平充宣: 宇宙環境における筋肉: 無重力環境に対する骨格筋の適応機序の検討. 臨床スポーツ医学, 10: 19-24, 1993.
- 14) Houlbrooke, K. et al.: Effects of movement and weightbearing on the glycosaminoglycan content of sheep articular cartilage. Aust. J. Physiother., 36: 88-91, 1990.
- 15) Krippendorf, B.B. et al.: Distinguishing unloading versus reloading-induced changes in rat soleus muscle. Muscle Nerve, 16: 99-108, 1993.
- 16) 染矢富士子 他: 不動性筋萎縮に対する振動刺激の効果. 総合リハ, 14: 277-281, 1986.

Effect of weight-bearing on disuse muscle atrophy in rats

— Study of weight-bearing time in a day —

Toshiaki Yamazaki, Katsuhiko Tachino, Nobuhide Haida, Shimpachiro Ogiwara, Shigeharu Hamade, Toshio Susaki, Hitoshi Asai, Satoshi Sugama, Hiroichi Miaki

Summary

The purpose of this study was to investigate the effects of weight-bearing simulation on disuse muscle atrophy. Hindlimb suspension for 2 weeks was used to produce atrophy in rats (n=16). Weight-bearing was stationary ground support, 1h/day (SG1) and 2h/day (SG2; 1h/day × 2), 5 times/week. Bilateral soleus (SOL) and extensor digitorum longus (EDL) were weighted.

Muscle ATPase histochemical staining, followed by morphometrical analysis, demonstrated that SOL markedly responded to non-weight-bearing and weight-bearing than EDL. The percentage distribution of muscle fiber type did not change.

In type 1 fibers of SOL, the results of muscle wet weight and cross-sectional area indicate that prevention of disuse muscle atrophy in rats is more effective in SG2 than SG1.