

## 報 告

## 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\*——

山崎俊明\*\* 灰田信英 立野勝彦

## 要旨

荷重が廃用性筋萎縮の進行抑制に及ぼす効果を、週内頻度（隔日と毎日）の違いから検討した。24匹のラットを4群に分けた。実験群は①2週間の寡運動（非荷重）中に荷重しない群、②寡運動中に1時間荷重を隔日に加えた群、③寡運動中に1時間荷重を毎日実施した群とし、1群を対照群とした。その後、ヒラメ筋と長指伸筋を摘出し重量を測定した。さらにATP染色により筋線維タイプを分類（I・II）し、断面積を測定した。その結果、①非荷重および荷重による影響は、長指伸筋よりヒラメ筋で著明であった。②ヒラメ筋の相対重量比およびタイプ構成比率は、毎日1時間荷重することで維持可能であった。③ヒラメ筋断面積は、荷重しないより隔日、隔日より毎日荷重の方が有意に大きかった。以上より、一日1時間の荷重は、廃用性筋萎縮の進行抑制が可能であり、隔日荷重より毎日荷重の方が効果的なことが示唆された。

キーワード 廃用性筋萎縮、荷重頻度、ラット

## はじめに

下肢筋の廃用性萎縮予防に関しては、荷重の重要性が報告されている<sup>1)</sup>。術後免荷中の患者等では、荷重以外の方法により萎縮を抑制するしかない<sup>2)</sup>が、荷重が可能な患者では、荷重時間を増やせば効果的と考えられる。しかしながら臨床において、長期臥床患者に長時間の荷重を負荷することは困難なことが多い。そこで我々は、廃用性筋萎縮対策の臨床応用を考慮した荷重による効果を検索している。

荷重の効果に関して、Thomasonら<sup>3)</sup>は懸垂中のラットを一日2時間荷重した結果、筋湿重量は非荷重のみの群より有意に大きかったと報告している。また、我々は

一回1時間の荷重が萎縮抑制に及ぼす影響を検討し、ラットヒラメ筋のタイプIに関しては、一日1回荷重より2回荷重の方が効果的なこと、さらに筋線維タイプによる反応の違いがあることを報告した<sup>4)</sup>。そして本研究では、荷重の週内頻度に関して検討する。その理由は、萎縮予防の観点からすれば、頻度を多くした方が効果を期待できるが、過用や疲労等の問題が考えられる<sup>5)</sup>こと、そして萎縮進行筋に関する荷重頻度の報告が少ない<sup>6)</sup>ことなどからである。

本研究の目的は、荷重がラット後肢筋の廃用性萎縮予防に及ぼす効果を、週内頻度（隔日と毎日）の違いから、組織化学的に検索することである。

## 対象と方法

対象はWistar系雄ラット（体重 $223 \pm 17$ g）24匹で、対象筋は遅筋としてヒラメ筋、速筋として長指伸筋を選択した。

廃用性筋萎縮は、先行論文<sup>2)4)</sup>と同様に体幹から骨盤帯にかけてギプスを巻き、非侵襲的に後肢を懸垂する寡運動法（図1）により作製した。なお、後肢の活動は荷重

\* Effect of Weight-bearing in Prevention of Disuse Atrophy in Rat Hindlimb Muscles  
—Study of Weight-Bearing Frequency in a Week—

\*\* 金沢大学医療技術短期大学部  
(〒920 石川県金沢市小立野5-11-80)  
Toshiaki Yamazaki, RPT, Nobuhide Haida, RPT,  
Katsuhiko Tachino, MD: School of Allied Medical  
Professions, Kanazawa University  
(受付日 1994年6月24日/受理日 1995年3月7日)

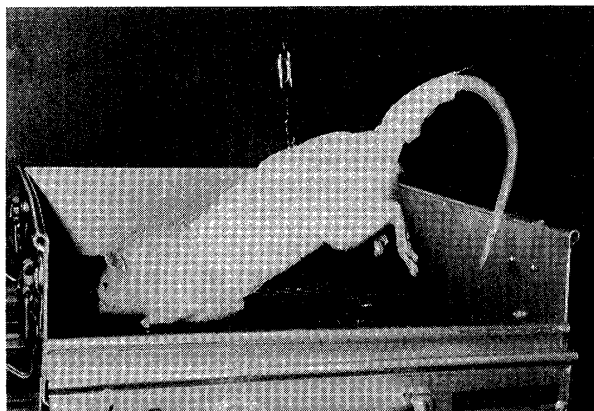


図1 寡運動中のラット

以外制限されず、餌・水の摂取は自由に可能である。また、懸垂をはずせば正常な四肢荷重が可能となる。

実験方法は、まず対象を4群に分け3群を実験群、1群を対照群（C群：n=5）とした。実験群は寡運動群（H群：n=5）、寡運動中に1時間荷重を隔日に加えた群（A群：n=7）、および寡運動中に1時間荷重を毎日加えた群（B群：n=7）とした。また、荷重はラットが比較的低活動である昼間に実施し、特に運動負荷は加えなかった。なお、ギプスの重量（体重の約10%）が負荷となる可能性があるため、対照群にも実験群と同様に体幹部にギプスを巻き、懸垂はしなかった。

実験期間は2週間とした。実験終了後に、体重を測定し、対象筋を右下肢から摘出した。さらに各筋湿重量測定後、組織化学的分析を行った。まず、各筋の筋腹中央部をコルク片上に垂直に立てて、液体窒素で冷却したイソペンタン内で急速に凍結固定し、 $-80^{\circ}\text{C}$ で密封保存した。次に凍結切片（厚さ： $10\mu\text{m}$ ）を作成し、その後ATPase染色（routine）を実施した<sup>7)</sup>。そして各筋あたり約200本の筋線維を淡染したタイプIと、濃染したタイプII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、筋線維横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、測定結果は全て平均値±標準偏差で示した。

統計学的検定には分散分析を行い、有意水準は5%とした。

## 結 果

### 1. 筋湿重量について（表1）

筋湿重量は体重の影響を受けるため、体重（g）に対

表1 体重（g）に対する筋湿重量（mg）の比

群	(n)	ヒラメ筋	長指伸筋
	H群 (5)	$0.31 \pm 0.03$	$0.54 \pm 0.02$
実験群	A群 (7)	$0.35 \pm 0.02$	$0.55 \pm 0.02$
	B群 (7)	$0.41 \pm 0.03$	
対照群	C群 (5)	$0.43 \pm 0.02$	$0.54 \pm 0.02$

n：対象ラット数，\*： $p < 0.05$ 。

する筋湿重量（mg）の比（以下、相対重量比）を計算し各群間で比較した。ヒラメ筋ではH群が $0.31 \pm 0.03$ 、A群が $0.35 \pm 0.02$ 、B群が $0.41 \pm 0.03$ 、C群が $0.43 \pm 0.02$ であり、A群とB群間に有意差を認めたが、H群とA群間およびB群とC群間に差はなかった。

長指伸筋では、H群が $0.54 \pm 0.02$ 、A群が $0.55 \pm 0.02$ 、B群が $0.55 \pm 0.01$ 、C群が $0.54 \pm 0.02$ であり、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2、図3）

ヒラメ筋では、対照群に比べ実験群のタイプIが少なく、タイプIIが多い傾向にあった。統計学的にはH群とC群間、およびA群とC群間に有意差を認めたが、H群とA群間、A群とB群間、およびB群とC群間に差はなかった。

長指伸筋では、各群ともタイプIIが大部分を占め（ $94.2 \sim 94.9\%$ ）、群間に差はなく、ヒラメ筋ほど非荷重および荷重負荷による影響を受けていなかった。

### 3. 筋線維断面積について（表2、図2）

平均値で比較すると、ヒラメ筋のタイプIでは、C群に比べH群が47%に、A群が59%に、B群が70%に減少した。特に、A群とB群間においても統計学的有意差を認めた。そこで断面積の分布比率を各群で比較したものが図4である。C群と比較するとH群は左に偏移し、分布幅も狭くなっており、著しく萎縮していることが分かる。また、荷重群（A群とB群）はC群とH群の間に位置し、完全ではないがある程度萎縮の進行を抑制できたこと、さらにA群よりB群が効果的なことを示唆している。

ヒラメ筋のタイプIIでは、C群に比べH群が61%に、A群が81%に、B群が84%に減少し、タイプIと同様にA群とB群間においても有意差を認めた。

長指伸筋のタイプIでは、C群に比べH群が87%に、A群が93%に、B群が97%に減少した。タイプIIでは同様にH群が72%に、A群が83%に、B群が85%に

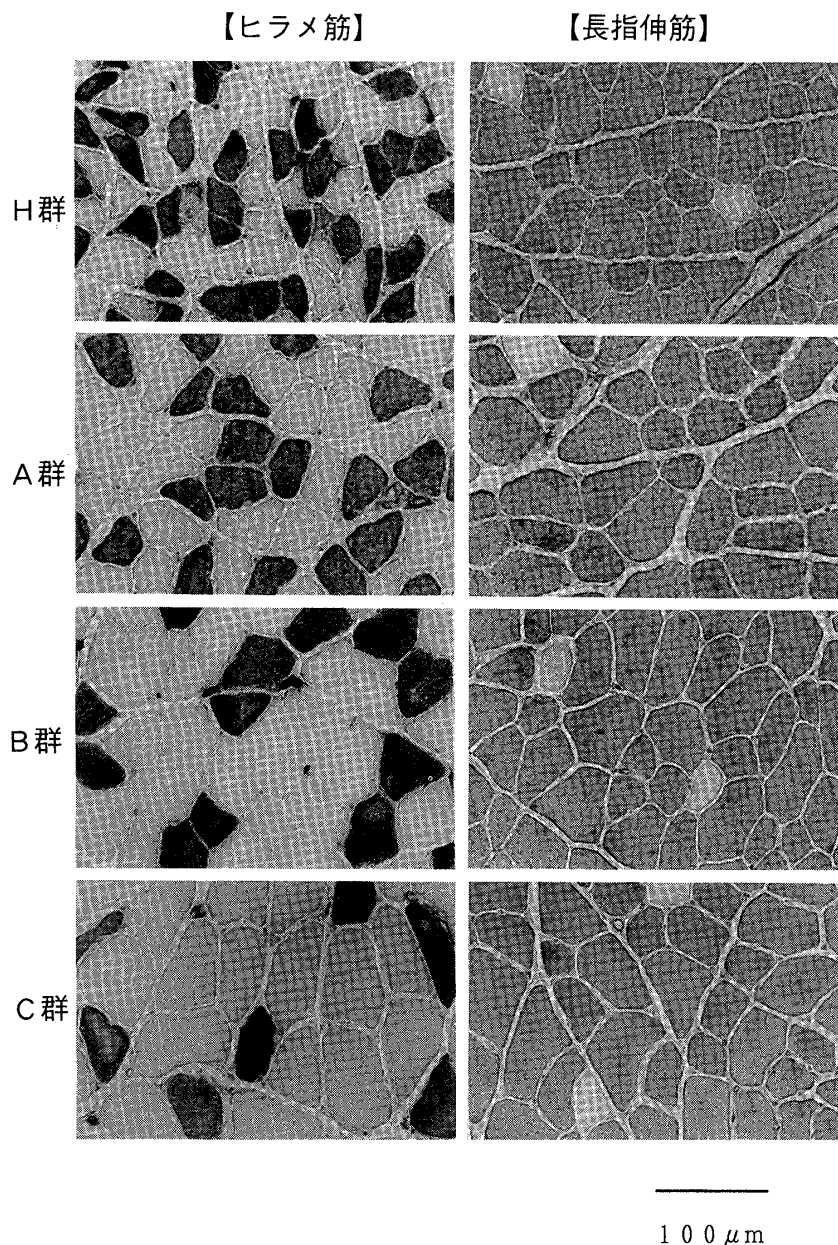


図2 ATPase染色による筋組織像  
 淡染された線維はタイプIを、濃染された線維はタイプIIを示す。

減少した。長指伸筋の両タイプとも、A群とB群間に差はなく、タイプ構成比率と同様に、ヒラメ筋ほど非荷

重および荷重負荷の影響を受けていなかった。

考 察

本研究では臨床応用を考慮し、荷重のみの効果を検索した。ところが対象ラットは何ら神経損傷もなく、荷重中は自由にケージ内を移動できるため運動負荷となる可能性があった。そのため夜行性のラットが比較的low活動である日中に荷重を実施した。実際、荷重直後は移動したが、その後はほとんど移動していなかった。また、荷重中のラット足関節は実験期間が長くなるほど底屈位となり、踵接地までに時間を要していた。Rileyら<sup>8)</sup>は、

表2 各群の筋線維断面積 (平均値±標準偏差)

群	ヒラメ筋		長指伸筋	
	タイプI	タイプII	タイプI	タイプII
H	907±295	894±189	788±164	1137±444
A	1154±359*	1171±320*	842±185	1312±593*
B	1370±387*	1223±352*	878±168*	1338±552*
C	1948±502*	1455±383*	903±206*	1573±731*

\* : p<0.05, H群との有意差。

(単位 : μm<sup>2</sup>)

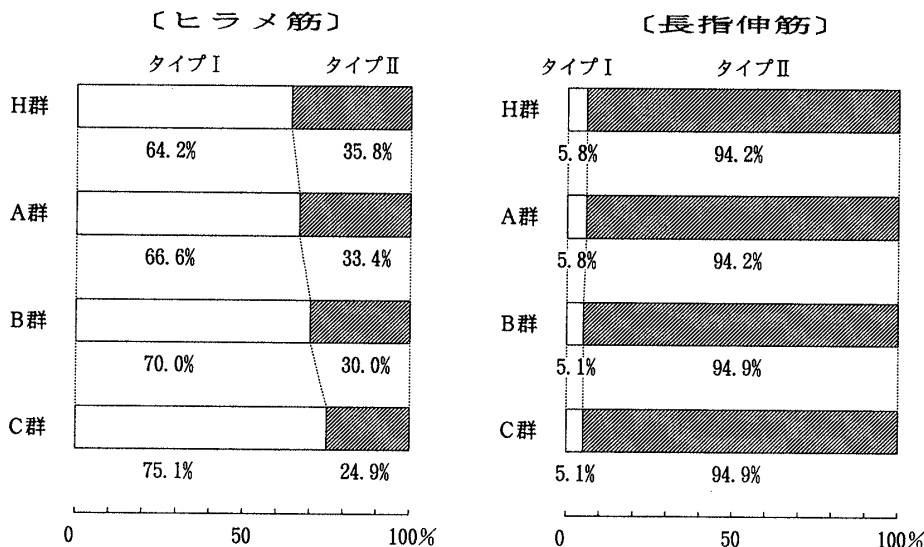


図3 各群の筋線維タイプ構成比率 (平均値)

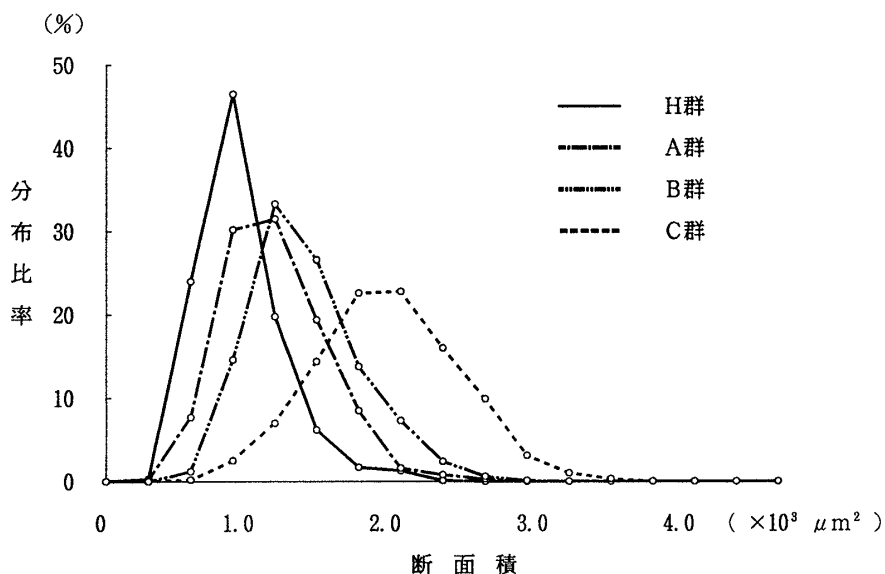


図4 ヒラメ筋タイプI線維の断面積分布

ラットの安静荷重状態では、足関節は約 60° 背屈位、可動範囲は背屈 60° ~ 底屈 90° であるが、懸垂により背屈 0° ~ 底屈 90° に減少すると報告している。以上より今回の方法が廃用性筋萎縮に及ぼす主要な因子としては、懸垂中よりも体重を支えるための筋収縮が増加したこと、さらに短縮したヒラメ筋が荷重により伸張されたことなどが重要であると考えられる。

非荷重および荷重負荷による影響が、長指伸筋よりヒラメ筋で著明であったことは、従来の報告<sup>9-12)</sup>を支持するものであった。この点から考えるならば、臥床や非荷重により廃用性筋萎縮を生じやすい下肢筋があるといえ

る。特に人間では、抗重力筋が相当すると予想され、それらの筋に対する選択的治療が将来的に可能となるかもしれない。

ヒラメ筋の筋線維タイプ構成比率に関しては、寡運動群および隔日荷重群のタイプIが少ない傾向にあった。その原因を考えると、第一に、本研究で使用した週齢のラットは、正常な状態であれば当然成長するが、寡運動は未熟な筋の成長を一時的に停滞させる可能性が報告されている<sup>12)13)</sup>ことから、長指伸筋に比べタイプ分化が遅いヒラメ筋<sup>14)</sup>が分化の途中で停滞したことが推測される。第二に、不使用によって成長が阻害された結果現れた変

性であり、脱分化（タイプ移行）が考えられる<sup>15)</sup>。タイプⅡ線維の分類を実施していないので明確なことは言えないが、これら原因が複合的に生じたと考えられる。また、毎日荷重群と対照群間に差がなかったことは、筋の形質維持には毎日の荷重が重要なことを示唆しており、臨床的にも参考になるとと思われる。Krippendorfら<sup>16)</sup>はラットヒラメ筋について、非荷重後の再荷重は萎縮筋に病理的变化をおこし、その程度は再荷重時間に依存していると述べている。また、Schultzら<sup>12)</sup>は、ラットを対象とした研究から、非荷重は24時間以内に骨格筋衛星細胞の分裂活動に反応をもたらすことを示唆している。つまり細胞周期に関係した時間的要素が関与している可能性が考えられ、毎日つまり24時間以内に再荷重することが形質維持には重要と思われる。

筋の萎縮に関しては、ヒラメ筋の筋線維断面積の結果から、一日1時間の荷重では完全に萎縮の進行を抑止することは困難であった。けれども、荷重しないより隔日、隔日より毎日荷重の方が効果的であった。当然の結果のようだが、正常筋と異なり萎縮筋では安全な運動許容範囲が狭いことが予想される<sup>17)</sup>ことから、本研究の荷重方法（すなわち強度は体重、持続時間は1時間に一定とし、頻度のみ変化させた方法）は、萎縮の抑制が可能でかつ過用に至らない程度であったと考えられ、今後の効果的荷重荷重方法に関する研究にとって有用な方法と思われる。

なお、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であり、本論文の要旨は、第29回日本理学療法士学会において発表した。

## 文 献

- 1) St-Pierre D, Leonard 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.
- 2) 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伸張刺激の効果. 組織化学的分析. *理学療法学* 20 : 87-92, 1993.
- 3) Thomason DB, Herrick RE, *et al.* : Activity influences on soleus muscle myosin during rodent hindlimb suspension. *J Appl Physiol* 63 : 138-144, 1987.
- 4) 山崎俊明, 立野勝彦・他 : 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. *金大医短紀要* 17 : 63-67, 1993.
- 5) 池上晴夫 : 運動処方, 理論と実際. 朝倉書店, 1990, pp. 213-215.
- 6) St-Pierre D, Gardiner PF : The effect of immobilization and exercise on muscle function : a review. *Physiotherapy Canada* 39 : 24-36, 1987.
- 7) 埜中征哉 : 臨床のための筋病理入門. 日本医事新報社, 1987, pp. 10-21.
- 8) Riley DA, Slocum GR, *et al.* : Rat hindlimb unloading : soleus histochemistry, ultrastructure, and electro-myography. *J Appl Physiol* 69 : 58-66, 1990.
- 9) Martin TP, Edgerton VR, *et al.* : Influence of spaceflight on rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 65 : 2318-2325, 1988.
- 10) Riley DA, Ellis S, *et al.* : Hypogravity-induced atrophy of rat soleus and extensor digitorum longus muscle. *Muscle Nerve* 10 : 560-568, 1987.
- 11) Musacchia XJ, Steffen JM, *et al.* : Skeletal muscle response to spaceflight, whole body suspension, and recovery in rats. *J Appl Physiol* 69 : 2248-2253, 1990.
- 12) Schultz E, Darr KC, *et al.* : Acute effects of hindlimb unweighting on satellite cells of growing skeletal muscle. *J Appl Physiol* 76 : 266-270, 1994.
- 13) Haida N, Tachino K : Effect of hindlimb suspension on young and adult gastrocnemius muscle in mouse. *理学療法学* 16 : 3-9, 1989.
- 14) 岡田理美, 埜中征哉・他 : ラット筋線維の発育・分化に関する組織化学的研究. *神経内科* 15 : 363-370, 1981.
- 15) 板井美浩, 戸塚 学・他 : Rat ヒラメ筋廃用性萎縮後の回復過程における組織化学的变化. *体力科学* 40 : 298-306, 1991.
- 16) Krippendorf BB, Riley DA : Distinguishing unloading-versus reloading-induced changes in rat soleus muscle. *Muscle Nerve* 16 : 99-108, 1993.
- 17) 灰田信英 : 廃用性筋萎縮の基礎科学. *理学療法学* 21 : 94-97, 1994.

1) St-Pierre D, Leonard D, *et al.* : Recovery of muscle from tetrodotoxin-induced disuse and the influence of

**<Abstract>****Effect of Weight-Bearing in Prevention of  
Disuse Atrophy in Rat Hindlimb Muscles  
—Study of Weight-Bearing Frequency in a Week—**

Toshiaki YAMAZAKI, RPT, Nobuhide HAIDA, RPT, Katsuhiko TACHINO, MD  
*School of Allied Medical Professions, Kanazawa University*

The purpose of this study was to investigate the effect of weight-bearing frequency in a week in prevention of disuse muscular atrophy.

Hindlimb suspension (HS) was used to produce muscular atrophy in Wistar rats (n=24). Weight-bearing (WB) was stationary ground support (1 hour/day). Groups were 1) HS only, 2) HS+WB (every other day), 3) HS+WB (everyday), and 4) control. After 2 weeks, right soleus muscle (SOL) and extensor digitorum longus muscle (EDL) were weighed. Muscle ATPase histochemical staining, followed by morphometrical analysis, demonstrated that SOL responded more markedly to non-WB and WB than EDL. The muscle-to-body weight ratio and the percentage distribution of muscle fiber type in SOL were maintained by everyday WB. Muscular atrophy could not be prevented perfectly. But cross-sectional area in SOL indicated that it is possible to delay the progression of disuse muscular atrophy by WB (1 hour/day), and that everyday WB is more effective compared with every other day WB.