

間歇的伸張運動と持続的伸張運動によるマウスヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行抑制効果について

Effects of Intermittent and Continuous Stretching Exercise on Prevention of Disuse Atrophy in Mouse Soleus Muscle

友利幸之介¹⁾ 中野 治郎²⁾ 沖田 実³⁾ 中居 和代¹⁾
大久保篤史¹⁾ 吉村 俊朗³⁾

KOUNOSUKE TOMORI¹⁾, JIRO NAKANO²⁾, MINORU OKITA³⁾, KAZUYO NAKAI¹⁾, ATSUSHI OKUBO¹⁾, TOSHIRO YOSHIMURA³⁾

¹⁾ Department of Rehabilitation, Nagasaki Kita Hospital: 5-4-61 Nameshi, Nagasaki City, Nagasaki, 852-8061, Japan. TEL+81 95-857-0001

²⁾ Department of Rehabilitation, Inoue Hospital

³⁾ Nagasaki University, School of Health Sciences

Rigakuryoho Kagaku 19(1): 31-35, 2004. Submitted Mar. 18, 2003. Accepted Aug. 27, 2003.

ABSTRACT: This study was done to investigate the preventive effects of intermittent and continuous stretching exercise on disuse muscle atrophy in mice. Eighteen male ICR mice, aged 8 weeks and weighing 35.2 g, were divided randomly into control (n=6) and experimental (n=12) groups. Hindlimbs were suspended for 2 weeks in the latter group. In the experimental group 3 different exercises were performed: intermittent stretching of the right soleus muscle (group IS, n=6), continuous stretching of the right soleus muscle (group PS, n=6), and suspension of the left soleus muscle without stretching (group HS, n=12). Mean muscle fiber diameters in groups IS and PS were significantly larger than the mean diameter in group HS, but there was no significant difference between groups IS and PS. The results suggest that both intermittent and continuous stretching of disused muscles inhibits the progress of disuse muscle atrophy, but there is no difference in effects between them.

Key words: disuse muscle atrophy, intermittent stretching exercise, continuous stretching exercise

要旨: 本研究の目的は、間歇的伸張運動と持続的伸張運動によるマウスヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行抑制効果を組織学的に比較検討することである。8週齢のICR系雄マウス18匹を対照群6匹と後肢懸垂法を2週間実施する実験群12匹に振り分け、実験群はさらに後肢懸垂の期間、右側ヒラメ筋に間歇的伸張運動を実施する群（間歇群、n=6）と同様に持続的伸張運動を実施する群（持続群、n=6）に分けた。また、これらの群の左側後肢は後肢懸垂のみの群（懸垂群；n=12）とした。結果、間歇群、持続群の平均筋線維直径は懸垂群より有意に大きかったが、この2群間には有意差は認められなかった。したがって、間歇的伸張運動、持続的伸張運動は、ともに廃用性筋萎縮の進行抑制に効果があることが示唆されたが、その効果には差はないと推察された。

キーワード: 廃用性筋萎縮、間歇的伸張運動、持続的伸張運動

¹⁾ 特別医療法人春回会 長崎北病院総合リハビリテーション部：長崎市滑石5丁目4番61号（〒852-8061） TEL 095-857-0001

²⁾ 特別医療法人春回会 井上病院リハビリテーション科

³⁾ 長崎大学医学部保健学科

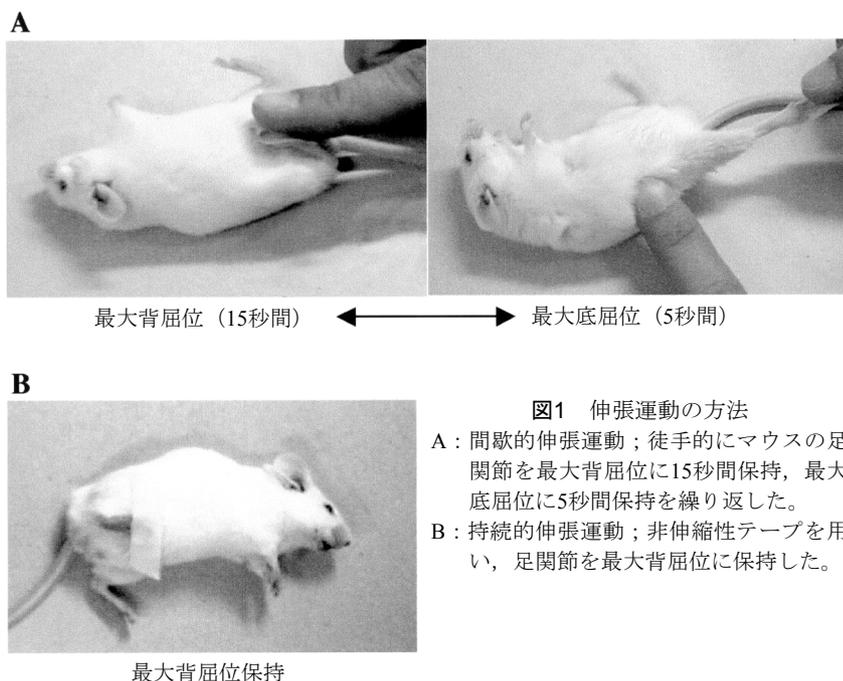


図1 伸張運動の方法

- A: 間歇的伸張運動; 徒手的にマウスの足関節を最大背屈位に15秒間保持, 最大底屈位に5秒間保持を繰り返した。
 B: 持続的伸張運動; 非伸縮性テープを用い, 足関節を最大背屈位に保持した。

I. はじめに

日常の理学療法で行われる筋伸張運動の目的には、骨格筋の柔軟性の維持・改善や筋緊張の緩和、筋萎縮の予防・治療などがあげられ^{1,2)}、この中でも筋萎縮に対しては、以下のような諸家²⁻⁵⁾の実験結果からその有効性が示唆されている。すなわち、正常な骨格筋を数日間持続的に伸張すると筋内のタンパク質合成が亢進するだけでなく、筋細胞の成長因子であるインスリン様成長因子1 (IGF-1) や線維芽細胞成長因子 (FGF) も発現し、筋線維が肥大するからである²⁻⁵⁾。しかしながら、一つの骨格筋を数日間にわたって持続的に伸張するという事は、その拮抗筋は弛緩位での不動状態が惹起され、筋萎縮の発生につながる。そのため、この方法を直接臨床に応用することは困難であり、Goldspinkら²⁾は短時間の持続的伸張運動や間歇的伸張運動が臨床において推奨される方法であると述べている。そして近年の動物実験の結果として、Williams⁶⁾や山崎ら⁷⁾は、短時間の持続的伸張運動が廃用性筋萎縮の進行抑制に有効であることを示しており、Okitaら⁸⁾は、関節固定後の廃用性筋萎縮に対し、短時間の持続的伸張運動を行うと、筋萎縮の改善が促進されたと報告している。このように、廃用性筋萎縮に対する持続的伸張運動の影響については、数多くの報告がなされており、その有効性が示唆されている。一方、間歇的伸張運動の影響については、ラット長趾伸筋の脱神経

筋線維萎縮の進行抑制に効果があるとした報告⁹⁾のみで、廃用性筋萎縮に対する効果を検討した報告は見あたらない。また、筋伸張運動の方法の違いによる廃用性筋萎縮に対する影響を検討した報告もなく、間歇的伸張運動と持続的伸張運動ではどちらの方法が効果的であるかは不明である。

そこで今回われわれは、後肢懸垂法によってマウスヒラメ筋に廃用性筋萎縮を惹起させ、その過程で間歇的伸張運動、ならびに持続的伸張運動を実施し、筋線維におよぼす影響を組織学的に比較検討した。

II. 材料と方法

1. 材料

実験動物には、8週齢のICR系雄マウス18匹 (平均体重; 35.2 ± 1.3 g) を用い、これらが無作為に無処置のままの対照群6匹と後肢懸垂法 (Hindlimb Suspension; 以下, HS)¹⁰⁻¹²⁾を実施する実験群12匹に振り分けた。そして、実験群はさらにHSの期間、右側ヒラメ筋に間歇的伸張運動を実施する群 (以下, 間歇群; n=6) と同様に持続的伸張運動を実施する群 (以下, 持続群; n=6) に振り分け、これらの群の左側後肢については、特に実験処置は行わず、HSのみの群 (以下, 懸垂群; n=12) とした。

今回行ったHSの具体的な方法は、マウスの尾部を厚手の粘着性テープで包み、テープごと尾部を懸垂、後肢を

表1 平均筋湿重量, 平均筋線維直径の比較

条件 (n)	筋湿重量 (mg)	筋線維直径 (μm)
対照群 (n=2962)	9.6 \pm 0.9	41.3 \pm 9.7
懸垂群 (n=6966)	6.3 \pm 1.0*	32.3 \pm 8.0*
間歇群 (n=3234)	7.0 \pm 1.1*	33.9 \pm 7.9*,#
持続群 (n=2485)	6.6 \pm 1.5*	34.3 \pm 8.5*,#

*: 対照群との有意差 ($p < 0.05$) # : 懸垂群との有意差 ($p < 0.05$)

平均筋湿重量は, 懸垂群, 間歇群, 持続群は対照群に比べて有意に小さかった。また懸垂群, 間歇群, 持続群の3群間には有意差は認められなかった。平均筋線維直径は, 懸垂群, 間歇群, 持続群は対照群に比べて有意に小さかった。また間歇群, 持続群は懸垂群に比べ有意に大きかったが, この2群間の有意差は認められなかった。

無荷重状態とするもので, これを2週間継続して実施することでヒラメ筋に廃用性筋萎縮を惹起させた。なお, HS後もマウスは前肢によって飼育ケージ内を移動でき, 水と餌は自由に摂取させた。

次に, 実験群の各マウスに対しては, HSを解除した後, 筋の随意収縮を除くためペントバルビタール腹腔内注入 (30 mg/kg) による麻酔を行った。そして, 間歇群には20秒間に1回のサイクルで徒手的にマウスの右側足関節を最大背屈位に15秒間保持, 最大底屈位に5秒間保持を繰り返し, ヒラメ筋に間歇的伸張運動を実施した (図1-A)。また, 持続群には非伸縮性のテープで右側足関節を最大背屈位に保持し, ヒラメ筋に持続的伸張運動を実施した^{7,8)} (図1-B)。そして, どちらの方法とも運動の実施時間は1日20分間とし, 実施頻度は週5回とした。また, 麻酔による全身状態への影響を考慮し, 対照群のマウスにも同期間, 同頻度で麻酔のみを行った。

なお, 今回の実験は長崎大学が定める動物実験指針¹³⁾に準じて実施した。

2. 組織学的検索

2週間の実験期間終了後は, ペントバルビタール腹腔内注入 (30 mg/kg) による麻酔を行い, 各マウスの両側ヒラメ筋を採取した。採取したヒラメ筋は, 電子天秤にて筋湿重量を測定した後液体窒素で冷却したイソペンタン液内で急速凍結させ, クライオスタットを用いて7 μm 厚で横断に薄切した。そして筋線維の組織学的観察のためHematoxylin-eosin染色を施し, 光学顕微鏡を用いて検鏡した。

次に, 顕微鏡用デジタルカメラ (FUJI HC-300Z) を用いて, ヒラメ筋横断切片の全視野をパーソナルコンピュータ (Apple Power Macintosh 8500/180) に取り込

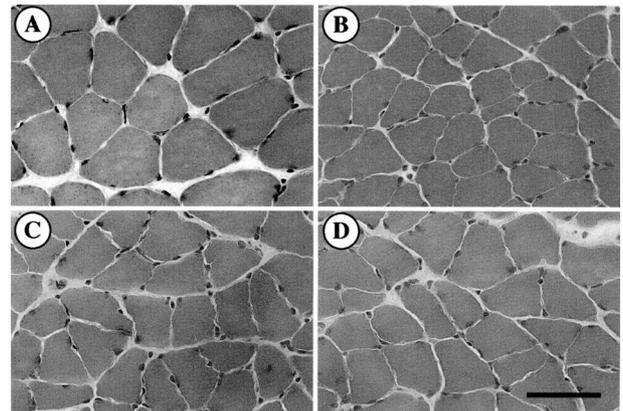


図2 ヒラメ筋横断切片の光学顕微鏡像

A : 対照群, B : 懸垂群, C : 間歇群, D : 持続群

対照群に比べ, 懸垂群, 間歇群, 持続群は筋線維径の縮小が認められたが, その程度は懸垂群が最も著しかった。Bar=50 μm 。

んだ。そして画像解析ソフト (NIH-Image) を用いて, 全筋線維の直径を計測し, 平均筋線維直径と筋線維直径分布を求めた。なお, 筋線維直径の計測はBrookeら¹⁴⁾の短径法に従い行った。

統計処理として, 各群の平均筋湿重量と平均筋線維直径の比較には, 一元配置分散分析を適用し, 有意差を判定した。そして事後検定としてScheffeの検定にて2群間の有意差を判定した。なお, すべての統計手法とも有意水準は5%未満とした。

III. 結果

1. 筋湿重量 (表1)

各群の平均筋湿重量は, 対照群が9.6 \pm 0.9 mg, 懸垂群

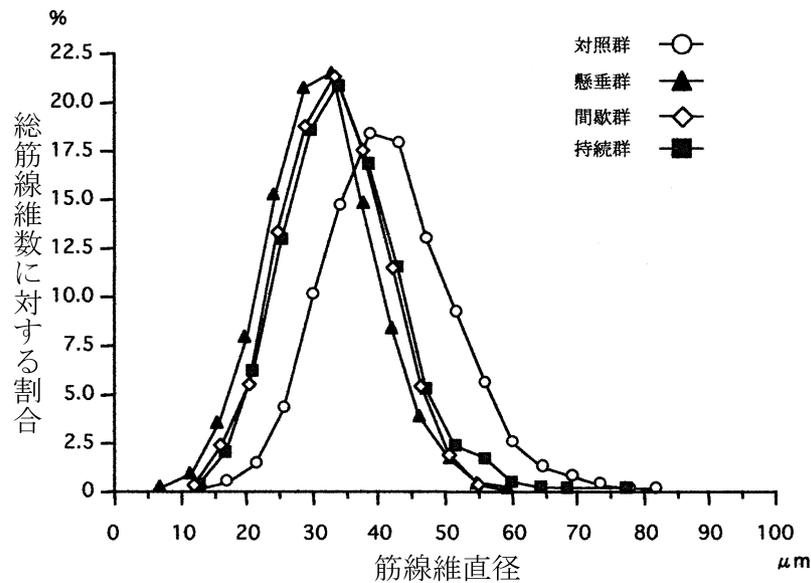


図3 筋線維直径分布

が 6.3 ± 1.0 mg, 間歇群が 7.0 ± 1.1 mg, 持続群が 6.6 ± 1.5 mgであり, 懸垂群, 間歇群, 持続群の3群は対照群に比べ有意に小さかった。しかし, 懸垂群, 間歇群, 持続群の3群間に有意差は認められなかった。

2. 組織学的所見 (図2)

懸垂群, 間歇群, 持続群の3群では明らかな筋線維径の縮小が観察され, その程度は懸垂群で著しかった。また, すべての群において小径線維や中心核線維, 筋細胞への貪食細胞の浸潤といった筋線維壊死が疑われる病理所見は観察されなかった。

3. 筋線維直径

各群の平均筋線維直径は, 対照群が 41.3 ± 9.7 μ m, 懸垂群が 32.3 ± 8.0 μ m, 間歇群が 33.9 ± 7.9 μ m, 持続群が 34.3 ± 8.5 μ mであり, 懸垂群, 間歇群, 持続群の3群は対照群に比べ有意に小さかった。そして懸垂群, 間歇群, 持続群の3群を比較すると, 間歇群, 持続群は懸垂群に比べ有意に大きかったが, この2群間には有意差は認められなかった (表1)。

次に, 筋線維直径分布が各群で異なるかどうかを検討したところ, 懸垂群の分布は対照群のそれより左方に位置しており, 筋線維直径の縮小は明らかであった。一方, 間歇群, 持続群の分布はほぼ同様で, 懸垂群と対照群の間に位置していた。つまり, この2群の筋線維直径は懸垂

群より大きいといえる (図3)。

IV. 考 察

先行研究において, 持続的伸張運動による筋萎縮の進行抑制効果を検討した動物実験は, ギプス固定^{2,4,6,8)}やHS⁷⁾といったモデルが多く用いられているが, 間歇的伸張運動については, 脱神経モデルを用いて検討した報告⁹⁾があるのみにすぎない。また, 伸張運動の方法についても実施する時間や頻度, 期間など, それぞれの報告で異なっている。そのため, 持続的伸張運動と間歇的伸張運動のどちらが廃用性筋萎縮の進行抑制に効果的であるかは, これまでの先行研究の結果からは明らかではない。そこで今回われわれは, 伸張運動の方法の違いに着眼し, マウスヒラメ筋の廃用性筋萎縮の進行過程において, 持続的伸張運動と間歇的伸張運動を同時間, 同頻度で実施し, その進行抑制効果を比較検討した。

今回の結果から, 懸垂群の平均筋重量, ならびに平均筋線維直径は対照群より有意に小さく, 筋線維直径分布も対照群より左方に位置していた。すなわち, 懸垂群のヒラメ筋はHSにより廃用性筋萎縮が惹起されたといえる。一方, 間歇群, 持続群の平均筋線維直径は懸垂群のそれより有意に大きく, 筋線維直径分布も懸垂群より右方に位置していた。したがって, 懸垂群の廃用性筋萎縮の進行状況に比べ間歇群, 持続群のそれは軽度であり,

このことは間歇的伸張運動、持続的伸張運動ともに廃用性筋萎縮の進行抑制に効果があることを示唆している。

次に、間歇群と持続群の平均筋湿重量、ならびに平均筋線維直径を比較すると、どちらの指標とも有意差は認められず、この2群の筋線維直径分布も同様な分布状況であった。したがって、今回の結果においては、廃用性筋萎縮の進行抑制効果は間歇的伸張運動と持続的伸張運動で大差はなかったと考えられる。ただ、先に示したHaidaら⁹⁾の報告では、ラット長趾伸筋の脱神経筋萎縮の進行過程で、間歇的伸張運動を2週間にわたって毎日30分間行うと、タイプII線維のみに、筋線維萎縮の進行が抑制されたとしている。また、山崎ら⁷⁾の報告では、2週間のHSの過程で、ラットヒラメ筋に対し1日20分間持続的伸張運動を行うと、タイプI・II線維の両方に筋線維萎縮の進行が抑制されたとしている。これら2つの報告^{7,9)}では、筋萎縮の実験モデルや検索した筋が異なるため一概に比較できないが、間歇的伸張運動と持続的伸張運動では、筋線維タイプによって異なった影響をおよぼす可能性も示唆される。そのため、今後は組織化学的染色法を用いた筋線維タイプ別の検討が必要である。

一方、諸家の報告によれば¹⁵⁻¹⁷⁾、間歇的伸張運動は持続的伸張運動に比べ筋線維損傷の発生が著しく、その安全性を疑問視する見解も示されている。またStaubarら¹⁷⁾は、5秒間に10回という速いサイクルで間歇的伸張運動を繰り返すと正常なラットヒラメ筋にも筋線維損傷が惹起され、逆に13秒間に10回のゆっくりとしたサイクルで行えば筋線維損傷の発生は認められず、筋線維は肥大したと報告している。そして今回、間歇的伸張運動を20秒間に1回という極めてゆっくりとしたサイクルで行ったところ、間歇群に筋線維壊死を疑わせる所見は観察されなかった。つまり、間歇的伸張運動による筋線維損傷の発生は筋伸張のサイクルの速さに依存している可能性が高く、このサイクルの速さが適切であれば、間歇的伸張運動でも筋線維損傷を惹起することは、持続的伸張運動と同等に廃用性筋萎縮の進行抑制効果が得られると考える。

しかしながら、対照群に比べ間歇群、持続群は平均筋湿重量、平均筋線維直径ともに有意に小さく、どちらの運動方法でも廃用性筋萎縮の進行を完全に予防することはできなかった。ただ、Williams⁶⁾は、マウス足関節を最大底屈位で2週間ギプス固定する過程で毎日30分以上、ヒラメ筋に持続的伸張運動を実施すると筋湿重量の減少は認められなかったと報告している。つまり、Williams⁶⁾の報告と今回の実験では廃用性筋萎縮の実験モデルが異なっているものの、今回の実験で廃用性筋萎縮の進行を完全に予防できなかった要因には、運動の実施時間や

実施頻度が不十分であったことが影響している可能性があり、この点についても今後検討を加える必要がある。

引用文献

- 1) 鈴木重行, 肥田朋子, 井神玲子・他: ID ストレッチングとは. 鈴木重行編, IDストレッチング—個別的筋ストレッチング—, 三輪書店, 東京, 1999, pp15-25.
- 2) Goldspink G, Williams P: Muscle fibre and connective tissue changes associated with use and disuse. In: Ada L, Canning C (eds), Key Issue in Neurological Physiotherapy, Butterworth-Heinemann LTD, Oxford, 1990, pp197-218.
- 3) Goldspink DF: The influence of immobilization and stretch on protein turnover of rat skeletal muscle. *J Physiol*, 1977, **264**: 267-282.
- 4) Yang S, Alnaqeeb M, Simpson H, et al.: Change in muscle fiber type, muscle mass and IGF-I gene expression in rabbit skeletal muscle subjected to stretch. *J Anat*, 1997, **190**: 613-622.
- 5) Goldspink G: Changes in muscle mass and phenotype and the expression of autocrine and systemic growth factors by muscle in response to stretch and overload. *J Anat*, 1999, **194**: 323-334.
- 6) Williams PE: Use of intermittent stretch in the prevention of serial sarcomere loss in immobilized muscle. *Annals of Rheumatic Diseases*, 1990, **49**: 316-317.
- 7) 山崎俊明, 立野勝彦, 灰田信英・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の予防に及ぼす効果. *PTジャーナル*, 1995, **29**: 135-138.
- 8) Okita M, Yoshimura T, Nakano J, et al.: Effects of short duration stretching on disuse muscle atrophy in immobilized rat soleus muscles. *J Jpn Phys Ther Assoc*, 2000, **14**: 1-5.
- 9) Haida N, Yamazaki T, Tachino K, et al.: Preventive effect of passive range of motion exercise on denervation-induced muscle atrophy. *Memoirs Health Sci Med Kanazawa Univ*, 1999, **23**: 55-58.
- 10) Goldspink DF, Morton AJ, Loughna P, et al.: The effect of hypokinesia and hypodynamia on protein turnover and the growth of four skeletal muscles of the rat. *Pflugers Arch*, 1986, **407**: 333-340.
- 11) Thomason DB, Booth FW: Atrophy of the soleus muscle by hind-limb unweighting. *J Appl Physiol*, 1990, **68**: 1-12.
- 12) 灰田信英: 運動療法の科学的基礎・1. *PTジャーナル*, 1989, **23**: 203-209.
- 13) 長崎大学医学部附属動物実験施設: 動物実験施設利用の手引き. 1995.
- 14) Brooke MH: The pathologic interpretation of muscle histochemistry. *The Striated Muscle*. Wilkins, Baltimore, 1973, pp86-122.
- 15) Prentice WE: Maintaining and improving flexibility. In: Prentice WE (ed), Rehabilitation Techniques in Sports Medicine, 2nd ed., Mosby, St. Louis, 1994, pp41-52.
- 16) 中野治郎, 沖田 実, 大久保篤史・他: アジュバント関節炎ラットに対する他動的伸張運動が骨格筋におよぼす影響. *長崎理学療法*, 2002, **3**: 13-18.
- 17) Stauber WT, Miller GR, Grimmer JG, et al.: Adaptation of rat soleus muscle to 4 wk of intermittent strain. *J Appl Physiol*, 1994, **77**: 58-62.