

## 短 報

## ラットの脱神経筋萎縮に対する持続的筋伸張運動の影響\*

深堀 栄一<sup>1)</sup> 中村 仁哉<sup>2)</sup> 沖田 実<sup>3)</sup>  
吉村 俊朗<sup>4)</sup> 加藤 克知<sup>3)</sup> 中野 治郎<sup>5)</sup>

## 要旨

本研究の目的は、脱神経筋萎縮の進行抑制に持続的筋伸張運動が有効かを検討することである。実験動物は8週齢のWistar系雄ラット18匹で、右坐骨神経を切断後、9匹ずつ伸張群と非伸張群に分けた。伸張群には、脱神経を施した翌日より麻酔下にて非伸縮性のテープを用い1日30分間(週6回)、右側のヒラメ筋と長趾伸筋をそれぞれ伸張位に保持し、非伸張群には麻酔のみをかけた。脱神経後2, 3, 4週目に両側からヒラメ筋と長趾伸筋を採取し、その凍結切片をATPase染色した。ヒラメ筋のタイプI・II線維、長趾伸筋のタイプII A線維は、脱神経後2, 3週目で、長趾伸筋のタイプII B線維は脱神経後2週目で、伸張群の平均筋線維直径が非伸張群のそれに比べ有意に大きく、持続的筋伸張運動による筋萎縮進行の抑制効果を認めた。しかし、両筋ともに脱神経後4週目は、伸張群と非伸張群で平均筋線維直径に有意差はなく、持続的筋伸張運動では、継続して脱神経筋萎縮の進行を抑制することは困難であった。

キーワード 脱神経, 筋萎縮, 筋伸張運動

## はじめに

先行研究<sup>1-3)</sup>によれば、筋を弛緩位で固定すると筋内のタンパク質量が減少するが、これはその分解速度の急激な促進と合成速度の低下によるもので、合成速度の低下は翻訳過程にある活性型リボゾーム量の低下が主因であり、これにより筋は萎縮するとされている。これに対し、伸張位固定では、筋に加わる張力がタンパク合成の促進を招き、さらにはインスリン様成長因子(IGF)や線維芽細胞成長因子(FGF)などの発現も促進され、結果的に筋肥大が生じるといわれている。したがって、これらの先行研究<sup>1-3)</sup>に基づけば、われわれが臨床の

場で用いている筋伸張運動でも、筋萎縮の予防や改善が可能であると推測される。現に、山崎ら<sup>4-6)</sup>やWilliams<sup>7)</sup>は、廃用性筋萎縮の進行抑制に持続的筋伸張運動が有効であることを報告している。

一方、筋は末梢神経損傷などによって、筋線維への神経インパルスである活動電位および微小電位が消失し、神経栄養因子の分泌不全が起こると、その形態と機能を維持することができなくなり、著しく萎縮する<sup>8)</sup>。そして、この筋萎縮は、一般に脱神経筋萎縮と呼ばれ、理学療法においては、いかにして筋萎縮の進行を最小限にとどめるかが重要となる。脱神経筋萎縮の進行抑制の具体的方策としては、電気刺激による筋収縮の誘発や前記のメカニズムを利用した筋伸張運動などが考えられ、電気刺激の影響については、これまでも数多く報告されている<sup>9-11)</sup>。しかしながら、脱神経筋萎縮に対する筋伸張運動の影響を検討した報告はほとんど見受けられず、その有効性については明らかではない。そこで、本研究では脱神経筋萎縮の進行抑制に持続的筋伸張運動が有効かを組織化学的に検討した。

## 対象と方法

実験動物には8週齢のWistar系雄ラット18匹を用いた。ラットの右後肢は、殿筋部で皮膚を切開、坐骨神経を露出させた後、約1.5 cmに渡って切断した。また、左後肢は殿筋部で皮膚を切開、坐骨神経を露出させた後

\* Effects of Stretching on Denervation Atrophy in Rats

- 1) 誠愛リハビリテーション病院 リハビリテーション部  
(〒816-0955 福岡県大野城市上大利724-1)  
Eiichi Fukahori, RPT: Department of Rehabilitation, Seiai Rehabilitation Hospital
- 2) 寺沢病院 リハビリテーション部  
Yoshichika Nakamura, RPT: Department of Rehabilitation, Terasawa Hospital
- 3) 長崎大学医療技術短期大学部 理学療法学科  
Minoru Okita, RPT, Katsutomo Kato, Ph.D: Department of Physical Therapy, School of Allied Medical Sciences, Nagasaki University
- 4) 同 作業療法学科  
Toshiro Yoshimura, MD: Department of Occupational Therapy, School of Allied Medical Sciences, Nagasaki University
- 5) 広島大学大学院 医学系研究科保健学専攻  
Jiro Nakano, RPT: Department of Pathology, Institute of Health Science, Faculty of Medicine, Hiroshima University  
(受付日 2000年3月16日/受理日 2000年10月28日)

表1 平均筋線維直径の比較

筋	脱神経後の期間	筋線維タイプ	対照群	非伸張群	伸張群	ANOVA
ヒラメ筋						
2週目		I	43.7±10.3	21.6±6.2*	31.4±8.1*、#	p<0.05
		II	31.1±9.3	22.1±5.2*	26.1±7.6*、#	p<0.05
3週目		I	52.0±11.3	19.7±7.3*	23.5±5.7*、#	p<0.05
		II	41.1±9.5	14.6±6.6*	18.9±5.1*、#	p<0.05
4週目		I	52.9±11.1	19.5±5.1*	16.1±5.1*	p<0.05
		II	41.7±8.3	12.4±4.2*	11.3±4.1*	p<0.05
長趾伸筋						
2週目		I	28.9±7.6	25.4±5.5	26.3±5.9	NS
		II A	30.6±6.2	27.9±7.3*	31.9±6.5 #	p<0.05
		II B	39.1±9.6	24.9±6.2*	31.0±8.2*、#	p<0.05
		I	30.8±6.4	29.1±5.3	32.8±5.8	NS
3週目		II A	32.9±5.9	22.7±6.9*	27.4±6.5*、#	p<0.05
		II B	44.5±10.1	24.3±5.9*	24.9±6.3*	p<0.05
4週目		I	25.2±5.9	31.2±6.9*	34.8±7.9*	p<0.05
		II A	28.2±6.9	22.9±6.5*	23.6±6.5*	p<0.05
		II B	40.6±9.7	22.4±6.9*	23.7±6.6*	p<0.05

平均値±標準偏差。

NS；有意差なし，\*対照群との有意差 (p<0.05)，#；非伸張群との有意差 (p<0.05)。

に縫合した（以下，対照群という）。これらの実験処置後に9匹ずつラットを伸張群と非伸張群に振り分けた。伸張群には，脱神経を施した翌日より麻酔下にて非伸縮性のテープを用い，右足関節を最大背屈位に30分間（週6回）保持しヒラメ筋を伸張した。さらに，ヒラメ筋を伸張した後に同様な方法で右足関節を最大底屈位に30分間（週6回）保持し長趾伸筋を伸張した。また，非伸張群に対しては，伸張群と同期間麻酔のみをかけた。なお，今回の実験は，長崎大学医学部附属動物実験施設を使用し，長崎大学が定める動物実験指針<sup>12)</sup>に基づいて行った。

脱神経後2，3，4週目に各群より3匹ずつ無作為にラットを屠殺し，右殿筋部の皮膚を切開，坐骨神経の神経再支配が生じていないことを確認した。そして，両側のヒラメ筋と長趾伸筋を採取し，液体窒素で冷却したインペタン液内で急速凍結後，液体窒素内に保存した。試料は，クライオスタットを用いて10μm厚の連続横断切片を作製した後，ATPase染色（pH 4.3，4.5，10.8）し，ヒラメ筋をタイプI・II線維に，長趾伸筋をタイプI・II A・II B線維に分別した。

検鏡像については，パソコン（Apple Power Machintosh 9500/132）に取り込んだ後に画像解析ソフト NIH Image Ver 1.59を用い，各タイプ別の筋線維直径を計測した。統計処理には，一元配置分散分析（以下，ANOVA）を用い，各タイプ別の平均筋線維直径を対照群，伸張群，非伸張群の3群間で比較した。また，

ANOVAにて有意差を認めた場合は，Scheffeの方法にて2群間の検定を行った。なお，全ての統計手法とも有意水準は5%未満とした。

## 結 果

### 1. ヒラメ筋

タイプI線維の平均筋線維直径を3群間で比較すると，脱神経後のすべての期間とも対照群に比べ非伸張群，伸張群が有意に小さく，タイプII線維も同様の結果であった（表1）。また，非伸張群と伸張群で平均筋線維直径を比較すると，脱神経後2，3週目はタイプI・II線維とも非伸張群に比べ伸張群が有意に大きかったが，4週目はどちらのタイプとも2群間に有意差を認めなかった。

### 2. 長趾伸筋

タイプI線維の平均筋線維直径を比較すると脱神経後2，3週目は3群間で有意差はなく，4週目は対照群に比べ，非伸張群と伸張群が有意に大きかった（表1）。一方，タイプII A線維の平均筋線維直径を比較すると脱神経後2週目は対照群に比べ非伸張群は有意に小さいものの，伸張群は対照群と有意差を認めなかった。また，3週目は対照群に比べ非伸張群，伸張群ともに有意に小さかったが，伸張群のそれは非伸張群より有意に大きかった。しかし，4週目は非伸張群と伸張群に有意差を認めなかった。次に，タイプII B線維の平均筋線維直径

を比較すると、脱神経後のすべての期間とも対照群に比べ非伸張群、伸張群が有意に小さかった。しかし、2週目においては伸張群のそれが非伸張群より有意に大きかった。

## 考 察

今回の結果において、ヒラメ筋のタイプ I・II 線維および長趾伸筋のタイプ II A・II B 線維には、脱神経後、明らかに筋線維萎縮の発生を認められたが、長趾伸筋のタイプ I 線維には筋線維萎縮は認められなかった。Ishiura<sup>13)</sup> は、長趾伸筋内の一部のタイプ I 線維は、神経支配がなくても肥大するが、これは真の赤筋ではなく、成熟後にもまだ白筋の myosin の要素をもつためであると報告している。すなわち、今回の結果もこの影響が考えられるが、詳細については不明であり、今後検討する必要がある。

次に、持続的筋伸張運動の実施時間について、Williams<sup>7)</sup> は、マウスヒラメ筋を2週間、弛緩位で不動化する過程で、麻酔下で1日に30分間ヒラメ筋を最大伸張位に保持すると、筋湿重量の減少は9%にとどまり、1時間以上保持すると筋湿重量の減少は認められないと報告している。そして、本研究では、Williams の報告<sup>7)</sup> を参考に持続的筋伸張運動の実施時間を30分間に設定した。

今回の結果から、脱神経後2、3週目では、ヒラメ筋のタイプ I・II 線維および長趾伸筋のタイプ II A 線維の平均筋線維直径は、伸張群が非伸張群より有意に大きく、同様の結果は、脱神経後2週目の長趾伸筋のタイプ II B 線維にも認められた。すなわち、脱神経後の初期の段階では、30分間の持続的筋伸張運動によってある程度、萎縮進行を抑制できると考えられる。また、Goldspink<sup>11,14)</sup> は、脱神経筋を伸張位で固定すると、筋内のタンパク質分解が抑制されると報告しており、このことは今回の結果を支持するものである。しかしながら、脱神経後4週目においてはヒラメ筋のタイプ I・II 線維および長趾伸筋のタイプ II A・II B 線維すべてにおいて、その平均筋線維直径は非伸張群と伸張群に有意差を認めなかった。したがって、30分間の持続的筋伸張運動では、長期間、継続して脱神経筋萎縮の進行を抑制す

ることは困難であると推察される。そのため、今後は、筋伸張運動の実施時間を再検討するとともに、電気刺激などの影響についても検討する必要がある。

## 文 献

- 1) Goldspink DF: The influence of immobilization and stretch on protein turnover of rat skeletal muscle. *J Physiol* 264: 267-282, 1977.
- 2) Perrone CE, Fenwick-Smith D, *et al.*: Collagen and stretch modulate autocrine secretion of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein from differentiated skeletal muscle cell. *J Biol Chem* 270: 2099-2106, 1995.
- 3) Yang S, Alnaqeb M, *et al.*: Changes in muscle fibre type, muscle mass and IGF-I gene expression in rabbit skeletal muscle subjected to stretch. *J Anat* 190: 613-622, 1997.
- 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の予防に及ぼす効果. *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. *理学療法学* 23: 349-354, 1996.
- 7) Williams PE: Use of intermittent stretch in the prevention of serial sarcomere loss in immobilised muscle. *Annals of Rheumatic Diseases* 49: 316-317, 1990.
- 8) 内田成男: 筋萎縮と筋力低下. *理学療法評価. そのクリニカルアプローチ*. 嶋田智明 (編). メディカルプレス, 東京, 1998, pp 76-83.
- 9) Pachter BR, Eberstein A, *et al.*: Electrical stimulation effect on denervated skeletal myofibers in rats: A light and electron microscopic study. *Arch Phys Med Rehabil* 63: 427-430, 1982.
- 10) 原田義昭, 藤原 誠・他: 除神経筋に対する電気刺激の影響に関する実験的研究. 特に刺激頻度に関して. *リハ医学* 20: 43-45, 1983.
- 11) Al-Amood WS, Lewis DM, *et al.*: Effects of chronic electrical stimulation on contractile properties of long-term denervated rat skeletal muscle. *J Physiol* 441: 243-256, 1991.
- 12) 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.
- 13) Ishiura S, Nonaka I, *et al.*: Effect of denervation on neonatal rat sciatic nerve on the differentiation of myosin in a single muscle fiber. *Exp Neurol* 73: 487-495, 1981.
- 14) Goldspink DF: The effects of denervation on protein turnover of rat skeletal muscle. *Biochem J* 156: 71-80, 1976.