

理学療法基礎系 1

59 廃用性筋萎縮に対する低出力レーザーの筋線維肥大効果

— そのメカニズムについて生化学的解析から —

中野治郎¹⁾, 片岡英樹^{1,2)}, 坂本淳哉^{1,3)}, 沖田 実⁴⁾, 吉村俊朗(MD)¹⁾

1) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科保健学専攻, 2) 長崎記念病院リハビリテーション部
3) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻, 4) 星城大学リハビリテーション学部

key words 低出力レーザー・線維芽細胞成長因子・廃用性筋萎縮

【目的】

これまで我々は、ラット後肢懸垂後の回復過程において腓腹筋に低出力レーザー（レーザー）を照射すると、筋の浅層、深層に関わらず筋線維肥大効果が得られることを報告した。また、そのメカニズムは、浅層では毛細血管が増加し、深層では筋衛生細胞の分裂が促進されたことから、筋の深度によって異なると思われた。そこで今回、筋線維肥大機構の要因の中でレーザー照射との関連性が報告されている線維芽細胞増殖因子（FGF）、インスリン様成長因子I（IGF-I）、Heat shock protein72（HSP72）に着目し、上記のレーザーの効果のメカニズムを追求した。

【材料と方法】

7週齢のWistar系雄ラット10匹を1) 腓腹筋にレーザー照射する群（L群、n=5）、2) 2週間の後肢懸垂法により腓腹筋に廃用性筋萎縮を惹起させた後、通常飼育とし、同筋にレーザー照射する群（HS+L群、n=5）に振り分けた。レーザー照射は右側腓腹筋に対して行った（照射側）。具体的には、麻酔下で右側腓腹筋を覆う皮膚全体に1部位あたり3秒間、延べ3分間、半導体レーザー（60mW）を照射し、その実施期間は2週間、頻度は週5回とした。また、左側腓腹筋にはレーザー照射を行わず比較対照とした（非照射側）。なお、予備実験で今回のレーザー照射の透過性を調べた結果、皮膚下では約20mW、皮膚・腓腹筋下では約5mWのレーザー出力を感知した。実験終了後、麻酔下で両側の腓腹筋内側頭を摘出した。そして、筋試料の一部を凍結切片とし、ATPase染色を行い、白筋である浅層と混在筋である深層を区別して、各筋線維タイプの筋線維直径を測定した。また、

筋試料の一部は浅層と深層に分割し、それぞれのFGF、IGF-I、HSP72含有量をELISA法、Western Blot法により測定した。今回の実験は長崎大学動物実験倫理委員会が定める規定に従って行った。

【結果】

L群の照射側と非照射側を比較すると、浅層のFGF含有量のみ照射側の方が有意に高値を示した。一方、HS+L群の照射側と非照射側を比較すると、各筋線維タイプの平均筋線維直径は浅層、深層とも、FGF含有量は浅層のみ照射側の方が有意に高値を示した。しかし、IGF-I、HSP72含有量は、浅層、深層とも変わらなかった。

【考察】

今回の結果、IGF-I、HSP72の発現量はレーザー照射の影響を受けなかった。次に、筋浅層においてレーザー照射によるFGFの発現増加が認められ、このことから、廃用性筋萎縮の回復過程に対するレーザー照射の筋線維肥大効果にはFGFが関与することが示唆された。一方、筋深層においては、筋線維肥大効果は認められたもののFGFの発現増加は認められなかった。したがって、レーザー照射による筋線維肥大効果のメカニズムが筋の深度によって異なることは明らかで、今後は筋深層について検討を加えていきたい。

理学療法基礎系 1

60 関節不動化によるラット関節軟骨基質の変化に対する持続的他動運動の影響

坂本淳哉^{1,2)}, 坂井孝行^{2,3)}, 折口智樹(MD)³⁾, 片岡英樹^{1,3)}, 西川正悟¹⁾, 近藤康隆⁴⁾, 中野治郎³⁾, 沖田 実⁵⁾, 江口勝美(MD)⁶⁾

1) 長崎記念病院リハビリテーション部, 2) 虹ヶ丘病院リハビリテーション科, 3) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科保健学専攻
4) 日本赤十字社長崎原爆病院リハビリテーション科, 5) 星城大学リハビリテーション学部
6) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻

key words 関節不動化・軟骨基質・持続的他動運動

【目的】

これまで我々は、関節を4週間不動化すると軟骨基質の減少が生じ、その進行は持続的他動運動（Continuous passive motion；CPM）によって抑制されることを報告した。一方、先行研究によれば、変形性関節症における関節軟骨の軟骨基質変性には、基質分解酵素であるMatrix metalloproteinase（MMP）の発現増加や血管様構造の侵入が関与するとされている。このことから推すと、上記の関節不動化による関節軟骨基質の変化にもMMPや血管様構造が関与すると思われるが、この点に着目してCPMの効果を検討した報告は見あたらない。そこで今回、ラット距腿関節をギプスで4週間不動化し、その過程でCPMを行い、関節軟骨基質のMMPと血管様構造におよぼす影響について検討した。

【方法】

実験動物には12週齢のWistar系雄ラット13匹を用い、これらを1) 対照群（C群、n=5）、2) 両側後肢を足関節最大底屈位で4週間ギプス固定する群（I群、n=4）、3) ギプス固定の過程でCPMを施す群（CPM群、n=4）に振り分けた。CPMは、週6回の頻度でギプス固定を解除し、ヒト用アングルストレッチャーを用いて1日1回30分行った。実験期間終了後、麻酔下で両側足関節を採取した。右側試料は10%ホルマリン固定、K-CX脱灰後に矢状断のパラフィン切片とし、HE染色、トルイジンブルー染色を施して検鏡した。また、左側試料は4%パラホルムアルデヒド固定、10% EDTA脱灰後、右側試料と同様に切片とし、MMP-3、-9、-13に対する免疫組織化学的染色を施した。そして、

脛骨遠位端関節軟骨における血管様構造の出現数、軟骨基質の染色度スケール、ならびにMMP-3、-9、-13陽性細胞数について検討した。なお、本実験は長崎大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。

【結果】

各群の血管様構造の出現率を比較すると、C群に比べI群は有意に高値を示したが、CPM群とC群の間には有意差はなかった。また、軟骨基質の染色度スケールはI群、CPM群、C群の順に高値を示し、I群とC群の間に有意差が認められた。一方、各群のMMP-3、-9、-13の陽性細胞数を比較すると、C群に比べI群、CPM群は有意に高値を示し、この2群間には有意差は認められなかった。

【考察】

今回の結果、I群の軟骨においてMMP陽性細胞数と血管様構造の増加が認められ、このことが関節不動化に伴う軟骨基質減少に関与していると推測される。また、I群に比べCPM群の軟骨基質の染色性は保たれ、血管様構造の進入も少なかったことから、CPMは軟骨基質減少に対して有効であると思われた。しかしながら、MMP陽性細胞数はI群とCPM群の間に差は認めず、この点に関しては生化学的分析やMMPインヒビターなどの検討を加える必要がある。