

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 7 月 10 日現在

機関番号：32672

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02124

研究課題名(和文) 伸張性収縮後の筋肉痛・筋力低下の神経科学的研究

研究課題名(英文) Neurological approach for muscle damage induced by eccentric contractions

研究代表者

中里 浩一 (NAKAZATO, Koichi)

日本体育大学・保健医療学部・教授

研究者番号：00307993

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,400,000円

研究成果の概要(和文)：筋が力を発揮しながらその筋長が引き延ばされる伸張性収縮は運動後数日を経て発生する運動誘発性の筋肉痛や筋力低下の原因とされる。運動誘発性の筋痛や筋力低下はときにリハビリテーションのための運動実施において障害となる。ただしその発生原因は不明であった。本研究は動物を用いた基礎的検討から腓腹筋の伸張性収縮が坐骨神経およびその神経筋接合部の破綻と神経伝導速度低下を誘発することを示した。さらにヒトを対象とした臨床研究により短母指屈筋における伸張性収縮が正中神経における神経伝導速度低下を誘発することを示した。以上から、伸張性収縮による神経損傷が筋肉痛や筋力低下の直接的な原因となることを結論した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

伸張性収縮が主原因とされる運動誘発性の筋肉痛あるいは筋力低下は骨格筋そのものの損傷が原因であるとされてきた。実際伸張性収縮によって骨格筋は損傷するものの、筋肉痛や筋力低下を結びつける直接的な証拠は得られてこなかった。本研究によって神経損傷が筋力低下および筋痛の原因となる可能性を示唆する証拠を提示できた。我々は難治性で再発率が高い肉離れ損傷においても筋ではなく神経機能低下がその難治性の原因である可能性を得ている。

以上のように主訴が発生している組織以外に原因が存在することを示すことで、筋損傷、筋痛、筋機能低下の全く新しい原因を提示できた点に本研究の学術的意義や社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Eccentric muscle contractions (ECs) are defined as muscle lengthening with force production. ECs are regarded as one of the main causes for exercise-induced muscle pain and strength loss. Although muscle pain and strength loss are problem for obtaining exercise habits, it had not been clear why exercise-induced pain and strength loss occurred. In this study, we firstly showed that ECs of rat gastrocnemius induced structural and functional damage in sciatic nerve. We, next, showed that ECs of human flexor pollicis brevis induced functional damage in median nerve. Based on these basic and clinical studies, we conclude that nerve damage induced by ECs are main cause for exercise-induced muscle pain and strength loss.

研究分野：分子運動生理学

キーワード：伸張性収縮 神経損傷 筋肉痛 筋力低下

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

筋が力を発揮しながらもその筋長が引き延ばされる伸張性収縮は運動後数日を経て発生する運動誘発性の筋肉痛や筋力低下の原因とされる。一方で伸張性収縮は発揮筋力が大きいにも関わらず心肺機能に対する負荷が小さいことや脂質代謝に有効であることから運動療法への応用可能性が期待されている。ただし運動誘発性の筋痛や筋力低下はときにリハビリテーションのための運動実施において障害となるため、筋痛および筋力低下を防ぐことが重要である。

運動誘発性筋痛、筋力低下発生時に骨格筋自体が損傷することは報告されていたが、骨格筋損傷と筋痛、筋力低下の明確な関連性は示されていない。我々は麻酔下のラット腓腹筋を電気刺激すると同時に強制的に足関節を背屈させる伸張性収縮モデルを用いて運動誘発性筋損傷の解析を行ってきた。その結果、ラット腓腹筋での伸張性収縮は、腓腹筋損傷のみならず、坐骨神経の順行性の伝導速度低下と神経変性、軸索の狭小化や変形をもたらすことを報告した。ただし伸長性収縮が神経損傷を誘発するメカニズムは未解明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は以下の2つであった。

(1) 伸張性収縮動物モデルを用いた運動誘発性神経損傷発生機序の解明

本研究では運動誘発性筋損傷および筋力低下の原因は神経の損傷であることを仮定し、運動時の神経損傷発生メカニズムを解明することを第一の目的とした。筋ジストロフィーモデルマウスにおいて伸張性収縮により筋腱接合部が損傷することが報告されていたことから、本研究においても運動誘発性の神経損傷においても筋腱接合部が損傷発生起点であることを仮定した。また我々の基礎的な研究から神経伝導速度によって観察される神経機能は運動後数日を経て発生し、その経時的変化は運動誘発性筋痛と類似していた。このことから神経軸索における損傷発生は二次的損傷であることを仮定した。

(2) ヒトにおける新規短母指屈筋伸張性収縮モデルの確立と運動誘発性神経損傷の誘発

本研究の最終的な目標はヒトにおけるリハビリテーション動作への応用であり、運動誘発性筋損傷が神経機能低下を併発する現象をヒトで観察することは重要である。本研究の二番目の目的はヒトにおける運動誘発性神経損傷発生の再現であった。本目的を達成するために我々は短母指屈筋を対象とした伸張性収縮モデルを新たに構築した。従来ヒト伸張性収縮モデルには上腕二頭筋が使われている。ただし上腕二頭筋の支配神経は短母指屈筋は正中神経を支配神経としており、神経機能評価が容易ではない。一方正中神経の神経機能測定は容易であるため、本研究においては優れた実験モデルとなる。

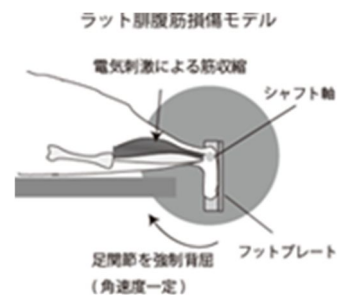
3. 研究の方法

以下に研究の目的ごとに方法を述べる。

(1) 伸張性収縮動物モデルを用いた運動誘発性神経損傷発生機序の解明

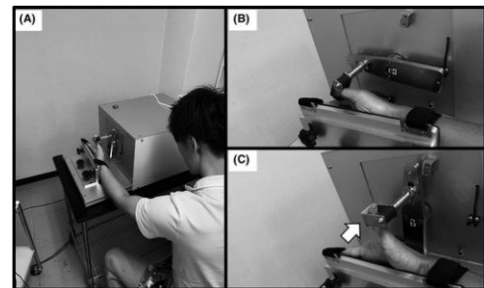
対象はWistar系ラット(オス、10週齢)とした。伸張性収縮は電気刺激にて腓腹筋を強制的に強縮させながら $180^\circ/s$ にて強制的に足関節を背屈させることによって課した(右図)。関節可動域は足関節 90° の位置を開始位置として 45° とした。5回収縮を1セットとして5分間の休憩をはさんで4セット行った。

伸張性収縮後、腓腹筋および坐骨神経を摘出した。病理組織用サンプルは組織摘出前日にエバンスブルーを投与した。組織は摘出後、ウエスタンブロッティング用サンプルはそのまま、病理組織標本はOCTコンパウンドに包埋後液体窒素で急速凍結した。



(2) ヒトにおける新規短母指屈筋伸張性収縮モデルの確立と運動誘発性神経損傷の誘発

12人の成人男性を対象とした。今回短母指屈筋伸張性収縮を行うにあたり自作の運動モデルを作製した。測定器の様子を右図に示す。母指の関節可動域は 90° とし最大内転位から伸張性収縮を課した。伸張性収縮は10回を1セットとして10セット行わせた。セット間休憩は60秒とした。また関節角速度は 90° とした。なお、本装置は運動中のトルクをリアルタイムでモニタ可能である。



伸張性収縮後の評価は、本装置を用いた随意最大発揮トルク、ゴニオメーターによる関節可動域、Visual Analogue Scaleによる筋痛、サーモグラフィによる皮膚温、超音波による筋硬度、誘発M波の潜時および振幅、そしてそれらを用いて算出される運動神経伝導速度などを用いた。

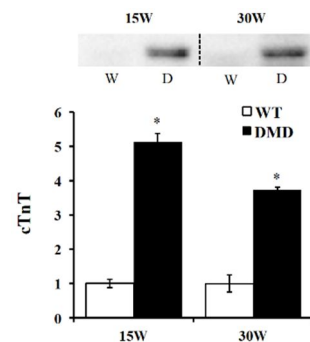
4. 研究成果

(1) 伸張性収縮は筋腱接合部の損傷を引き起こす

近年、通常時の骨格筋には存在しない心筋型トロポニンT(cTnT)が不活動や加齢による筋萎

縮時に速筋の神経筋接合部 (NMJ) にて発現し、NMJ の修復に関与することが報告された。そこで伸張性収縮後の骨格筋中に cTnT 発現が見られるかをウエスタンブロッティングによって検討することとした。

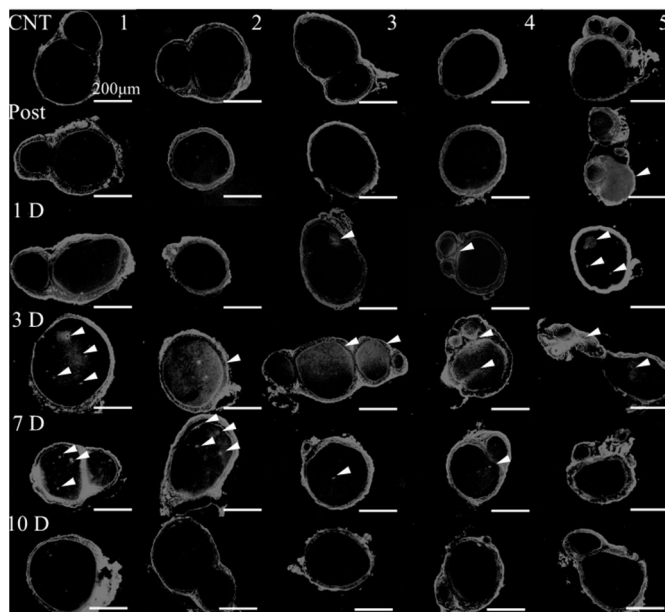
まずすでに NMJ の萎縮・変性が進行することがわかっている筋ジストロフィーモデルマウスの結果を基に CRISPR/Cas9 法を用いた遺伝子編集によって作成した筋ジストロフィーラットモデルにて cTnT 発現を検討した。その結果、15 週齢および 30 週齢の筋ジストロフィーラットにおいて cTnT の高発現が観察された (右図 WT: 野生型、DMD: 筋ジストロフィーモデルラット)。さらに共焦点レーザー顕微鏡での観察の結果、野生型では神経終板 (赤色) が NMJ 特有の構造をとどめていたのに対して、DMD では神経終板が散在している様子が観察された。またニューロフィラメントによって描出される神経軸索も DMD では萎縮退行している様子が観察された。以上の結果は筋ジストロフィーモデルマウスにおける NMJ 変性を示唆するものである。



さらに伸張性収縮後の骨格筋標本を用いて同様の解析を行った。その結果、筋ジストロフィーモデルラットほどの明確な差は観察されなかったものの、伸張性収縮によって cTnT 発現が高値を示す傾向が観察された。さらなる詳細な解析が必要ではあるが、現時点では伸張性収縮が NMJ の損傷を引き起こすことが神経損傷発生の引き金となる可能性が高いと考えている。

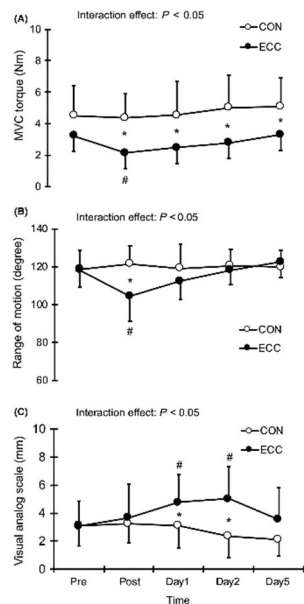
(2) 伸張性収縮による神経損傷は逆行性に進行する

伸張性収縮後に進行する神経損傷の損傷部位の詳細な検討を行うために、伸張性収縮前に損傷部に浸潤するエバンスブルーを投与し、伸張性収縮後のエバンスブルー陽性部位から損傷部位を検討することとした。その結果、右図の通り神経損傷部位 (図中矢じり) は近位 (図中 5) から遠位 (図中 1) の方向に向かって日を追うごと (1D~10D) に移動していくことが分かった。なお、個のエバンスブルー陽性部位は神経レクチン染色と一致しており、神経の局在と一致することは確認済みである。以上の結果から、伸張性収縮による神経損傷は神経筋接合部にて発生し、その後逆行的に進行していくと結論した。



(3) 短母指屈筋伸張性収縮モデルの確立

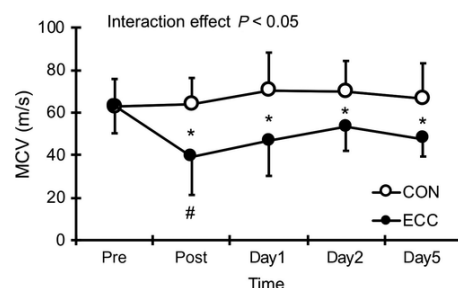
実験動物において確認された伸張性収縮に誘発される神経損傷がヒトにおいて再現されるかを検討することを目的に、我々は新規に短母指屈筋伸張性収縮モデルを作製した。伸張性収縮誘発性筋損傷ではトルクの低下、筋痛の発生、関節可動域の低下が観察されるのが特徴であり、我々のモデルで同様の現象が再現されるかを検討した。その結果、伸張性収縮直後より発揮トルクの低下、関節可動域の低下、筋痛の発生などが観察された (右図、CON: コントロール、ECC: 伸張性収縮モデル、MVC: 発揮トルク、Range of Motion: 関節可動域、Visual Analog Scale: VAS による筋痛評価)。これらの結果は非常によく用いられるヒト上腕二頭筋伸張性収縮モデルと同様であり、短母指屈筋伸張性モデルの確立に成功したことを示している。



(4) 短母指屈筋の伸張性収縮運動は正中神経の機能低下を引き起こす

本モデルを用いて短母指屈筋の支配神経である正中神経の伝導速度を測定した。その結果正中神経伝導速度は伸張性収縮直後より低下し、その低下は実験期間中持続することが分かった。この結果はこれまでの動物実験で結果を支持しており、ヒトにおいても伸張性収縮は神経損傷を誘発することを示唆するものである。

さらにこの時電気刺激によって誘発される M 波の振幅は変化することがなかった。すなわち伝導速度の低下は軸索損傷に起因するものではなく、髄鞘の損傷が主であることが示唆された。この結果はやはり動物実験において髄鞘の損傷が主であるとの我々の報告を支持する結果となった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ochi Eisuke, Ueda Hisashi, Tsuchiya Yosuke, Kouzaki Karina, Nakazato Koichi	4. 巻 30
2. 論文標題 Eccentric contraction induced muscle damage in human flexor pollicis brevis is accompanied by impairment of motor nerve	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports	6. 最初と最後の頁 462 ~ 471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/sms.13589	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomiya Shigeto, Tamura Yuki, Kouzaki Karina, Kotani Takaya, Wakabayashi Yuka, Noda Masafumi, Nakazato Koichi	4. 巻 317
2. 論文標題 Cast immobilization of hindlimb upregulates sarcolipin expression in atrophied skeletal muscles and increases thermogenesis in C57BL/6J mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 R649 ~ R661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00118.2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takegaki Junya, Ogasawara Riki, Kotani Takaya, Tamura Yuki, Takagi Ryo, Nakazato Koichi, Ishii Naokata	4. 巻 7
2. 論文標題 Influence of shortened recovery between resistance exercise sessions on muscle-hypertrophic effect in rat skeletal muscle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14155 ~ e14155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14155	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ato Satoru, Tsushima Daisuke, Isono Yurie, Suginozaki Takeshi, Maruyama Yuki, Nakazato Koichi, Ogasawara Riki	4. 巻 10
2. 論文標題 The Effect of Changing the Contraction Mode During Resistance Training on mTORC1 Signaling and Muscle Protein Synthesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 ecollection
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2019.00406	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kubo Y, Watanabe K, Nakazato K, Koyama K, Hakkaku T, Kemuriyama S, Suzuki M, Hiranuma K.	4. 巻 66
2. 論文標題 The Effect of a Previous Strain Injury on Regional Neuromuscular Activation Within the Rectus Femoris.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Hum Kinet	6. 最初と最後の頁 89-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2478/hukin-2018-0066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuchiya Y, Nakazato K, Ochi E.	4. 巻 118
2. 論文標題 Contralateral repeated bout effect after eccentric exercise on muscular activation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur J Appl Physiol	6. 最初と最後の頁 1997-2005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00421-018-3933-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takagi R, Ogasawara R, Takegaki J, Tamura Y, Tsutaki A, Nakazato K, Ishii N.	4. 巻 6
2. 論文標題 Past injurious exercise attenuates activation of primary calcium-dependent injury pathways in skeletal muscle during subsequent exercise.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiol Rep	6. 最初と最後の頁 e13660
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kouzaki K, Nakazato K, Mizuno M, Yonechi T, Higo Y, Kubo Y, Kono T, Hiranuma K.	4. 巻 38(11)
2. 論文標題 Sciatic Nerve Conductivity is Impaired by Hamstring Strain Injuries.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Sports Med.	6. 最初と最後の頁 803-808
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/s-0043-115735	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kotani Takaya, Takegaki Junya, Takagi Ryo, Nakazato Koichi, Ishii Naokata	4. 巻 126
2. 論文標題 Consecutive bouts of electrical stimulation-induced contractions alter ribosome biogenesis in rat skeletal muscle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 1673 ~ 1680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jappphysiol.00665.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Yuki, Tsutaki Arata, Tamura Yuki, Kouzaki Karina, Sashihara Koichi, Nakashima Shohei, Tagashira Motoyuki, Tatsumi Ryuichi, Nakazato Koichi	4. 巻 6
2. 論文標題 Dietary apple polyphenols increase skeletal muscle capillaries in Wistar rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e13866 ~ e13866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.13866	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maekawa Takahiro, Ogasawara Riki, Tsutaki Arata, Lee Kihyuk, Nakada Satoshi, Nakazato Koichi, Ishii Naokata	4. 巻 43
2. 論文標題 Electrically evoked local muscle contractions cause an increase in hippocampal BDNF	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism	6. 最初と最後の頁 491 ~ 496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/apnm-2017-0536	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kikuchi Naoki, Nakazato Koichi	4. 巻 15
2. 論文標題 Low-load bench press and push-up induce similar muscle hypertrophy and strength gain	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Exercise Science & Fitness	6. 最初と最後の頁 37 ~ 42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jesf.2017.06.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takegaki Junya, Ogasawara Riki, Tamura Yuki, Takagi Ryo, Arihara Yuki, Tsutaki Arata, Nakazato Koichi, Ishii Naokata	4. 巻 5
2. 論文標題 Repeated bouts of resistance exercise with short recovery periods activates mTOR signaling, but not protein synthesis, in mouse skeletal muscle	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e13515 ~ e13515
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.13515	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takagi Ryo, Ogasawara Riki, Takegaki Junya, Tsutaki Arata, Nakazato Koichi, Ishii Naokata	4. 巻 124
2. 論文標題 Influence of past injurious exercise on fiber type-specific acute anabolic response to resistance exercise in skeletal muscle	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 16 ~ 22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jappphysiol.00480.2017	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計2件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Koichi Nakazato, Kihyuk Lee and Karina Kouzaki
2. 発表標題 Muscle injury induce functional and structural damage in nerve
3. 学会等名 The 30th International Sport Science Congress in Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鴻崎香里奈、竹垣淳也、田村優樹、小林正利、中村桂一郎、太田啓介、中里浩一
2. 発表標題 デュシェンヌ型筋ジストロフィーモデルラットにおける筋機能と骨格筋内ミトコンドリアの特徴
3. 学会等名 第3回日本筋学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

日本体育大学運動生理学研究室 https://www.nittai.ac.jp/department/exphys/ 日本体育大学体育研究所 https://www.nittai.ac.jp/kenkyujo/index.html

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	越智 英輔 (OCHI Eisuke) (90468778)	法政大学・生命科学部・准教授 (32675)	