

令和 2 年 4 月 29 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01501

研究課題名(和文) 骨格筋損傷に有効な寒冷・温熱療法の刺激条件とは？

研究課題名(英文) Studies of stimulus condition of the cryotherapy and heat treatment

研究代表者

荒川 高光 (Arakawa, Takamitsu)

神戸大学・保健学研究科・准教授

研究者番号：90437442

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：筋の挫滅損傷後の寒冷療法により、マクロファージの集積が抑制された。この現象に先んじて、好中球の損傷部への集積、CCL2陽性細胞(の集積も減少していた。今回明らかとなったこの現象は好中球の集積後に起こるマクロファージの集積が筋再生に影響していることを示している。  
温熱療法の結果、CCL2陽性衛星細胞の出現が早期化した。このことは温熱療法が筋再生を促進する可能性を持つことを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

筋損傷後に常識とされてきた寒冷療法は、筋再生を遅延、抑制させてしまう。そのことのメカニズムが明らかとなってきた。すなわち、筋損傷後に筋再生を促すためには温熱療法が優れていることを示していると考えられる。理学療法、およびスポーツの現場における対処法における常識を考え直す必要がある。

研究成果の概要(英文)：Owing to the icing application for 20min soon after the muscle crush injury, accumulation of the macrophages was inhibited until 12h after injury. Numbers of the neutrophils at 3h after the injury and the MCP-1+ cells at 6h and later after the injury in the icing group were significantly lower than those in the non-icing group, suggesting that these phenomena contribute to the retardation of macrophage migration.

研究分野：理学療法学

キーワード：寒冷療法 温熱療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

激しい運動や外傷によって起こる骨格筋損傷に対し、患部への寒冷療法が現在でも広く行われている。特に、急性期の対処は、スポーツ選手のその後の選手生命を大きく左右する。しかし、骨格筋損傷に対する寒冷療法を実際に動物実験で検証した研究は非常に乏しい。骨格筋損傷や痛みに対し、実際の臨床現場で行われる寒冷療法や温熱療法のプロトコルが明らかでない。動物実験での検証も少ないため、寒冷・温熱療法による痛みへの治療効果や、筋再生を促進、阻害するメカニズムも明らかではない。

われわれはこれまで、寒冷療法と温熱療法が骨格筋の再生に及ぼす影響を形態学的、免疫組織化学的、生化学的に観察してきた。ラットの骨格筋に挫滅損傷を与え、損傷5分後から20分間経皮的に寒冷療法を行い、筋の再生過程を観察した。すると、骨格筋損傷後の寒冷療法は、骨格筋の再生過程を遅延させることがわかった (Takagi et al., 2011; Hatade et al., 2014)。

### 筋再生促進

#### 筋再生関連因子の活性化

Pax7 (畑出ら, 2013),  
MyoD, myogenin ↑ (Hatade et al., 2014)

再生の早期化, 横断面積↑ (Takauchi et al., 2014), 中心核線維↓ (Hatade et al., 2014)

#### 溶解、変性、壊死の早期化

マクロファージ遊走 ↑ (Takeuchi et al., 2014)



#### 溶解、変性、壊死の遅延

マクロファージ遊走 ↓ (Takagi et al., 2011)

#### 筋再生関連因子の発現遅延

Pax7, IGF-I ↓ (Takagi et al., 2011),  
MyoD, myogenin ↓ (Hatade et al., 2014)  
TGFβ-1発現遅延 (Takagi et al., 2011)

### 筋再生遅延、阻害

再生の遅延, 横断面積↓ (Takagi et al., 2011),  
中心核線維↑ (畑出ら, 2013)

そこでわれわれは逆に、ホットパックによる温熱療法を試みた。すると、血中の IL-6 が上昇して炎症反応が促進し (畑出ら, 2013)、その後の再生過程は早まった (Takeuchi et al., 2014; Hatade et al., 2014)。これは、骨格筋損傷後の再生過程には、寒冷療法ではなく、温熱療法が優れていることを示している。

<論文>

- 1) Takagi et al. (2011) Journal of Applied Physiology, 110(2):382-388.
- 2) Takeuchi et al. (2014) Acta histochemica, 116 (2): 327-334.
- 3) Hatade et al. (2014) J Musculoskelet Neuronal Interact, 14(3): 325-33.

### 2. 研究の目的

本研究により、寒冷・温熱療法が骨格筋損傷に有効であることを明らかにする。再生関連因子のマーカーを用いて動物の寒冷・温熱療法による骨格筋再生効果を明らかにする。

これら個別の研究成果を総合させて、筋損傷の治療効果を解明する。

骨格筋再生過程において、CCL2(MCP-1; 単球走化性タンパク質-1)がマクロファージの誘引因子として着目されている (Peake et al., 2017; Kuhlenhoelter et al., 2016)。しかし、筋損傷後の温度刺激に対する両ケモカインリガンドの動態は明らかでないので、本申請研究の一連の実験の中でその動態を明らかにする。

<論文>

- 1) Peake JM et al. (2017) J Physiol. 595(3):695-711.
- 2) Kuhlenhoelter AM et al. (2016) Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. ; 311(2): R377-91.

### 3. 研究の方法

- 1) Wistar系オスラット(8週齢)の長趾伸筋を鉗子で圧挫して骨格筋挫滅損傷状態を作成する。

- 2) 1)の動物に対し経皮的にアイスパックを当てて寒冷療法を行う群と、ホットパック(40℃の湯を入れたナイロン袋、適宜交換する)を当てる群をつくる。
- 3) 刺激後 12 時間ごとに各群の動物の長趾伸筋の H-E 染色切片を作成し観察する。
- 4) 免疫組織化学として CD68、CD206 で炎症性、抗炎症性マクロファージの分布を経時的に解明する。マクロファージ誘引因子として新規に CCL2 の動態を調べ、筋の再生への治療効果の有無とともにそのメカニズムを解明する。

#### 4. 研究成果

筋の挫滅損傷後、20 分間の寒冷療法により、損傷後 12 時間後に起こるマクロファージの集積が抑制された(図 1)。この現象に先んじて、損傷 3 時間後の好中球の損傷部への集積数(図 2)

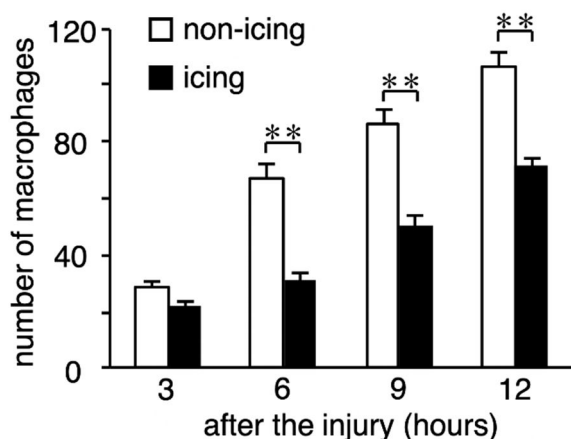


図 1 マクロファージ数

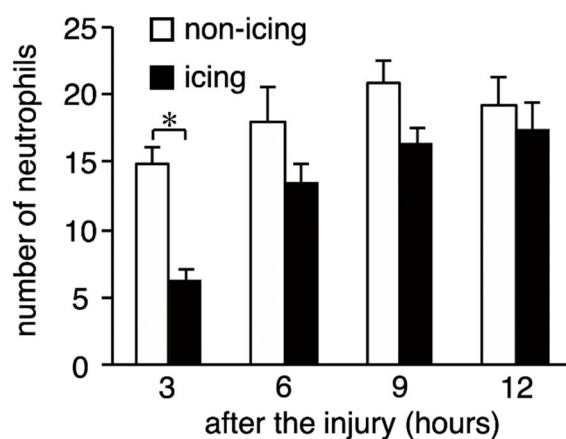


図 2 好中球数

損傷 6 時間後の CCL2 陽性細胞(おそらくマクロファージ)の損傷部への集積数(図 3)も、寒冷療法を施すことで対照群よりも減少していた。挫滅損傷後の 20 分間の寒冷療法は筋の再生を遅延、抑制させることが分かっている。よって今回明らかとなったこの現象は好中球の集積後に起こるマクロファージの集積が筋再生に影響していることを示している。

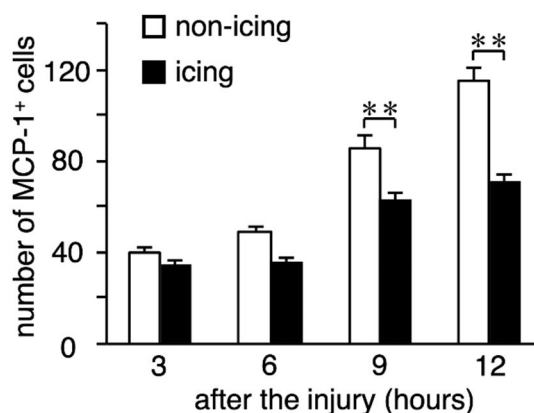


図 3 CCL2 (MCP-1) 陽性細胞数

同様の挫滅損傷モデル動物に対し、温熱療法を行った結果、CCL2陽性の筋衛星細胞の出現が早期化し、マクロファージの集積も促進されていた(図4)。挫滅損傷後の20分間の温熱療法は筋の再生を促進させることが分かっている。よって温熱療法により、マクロファージ集積が促進すること、その前段階として衛星細胞がCCL2を発言することが筋再生の促進と関連する可能性を明らかにした。

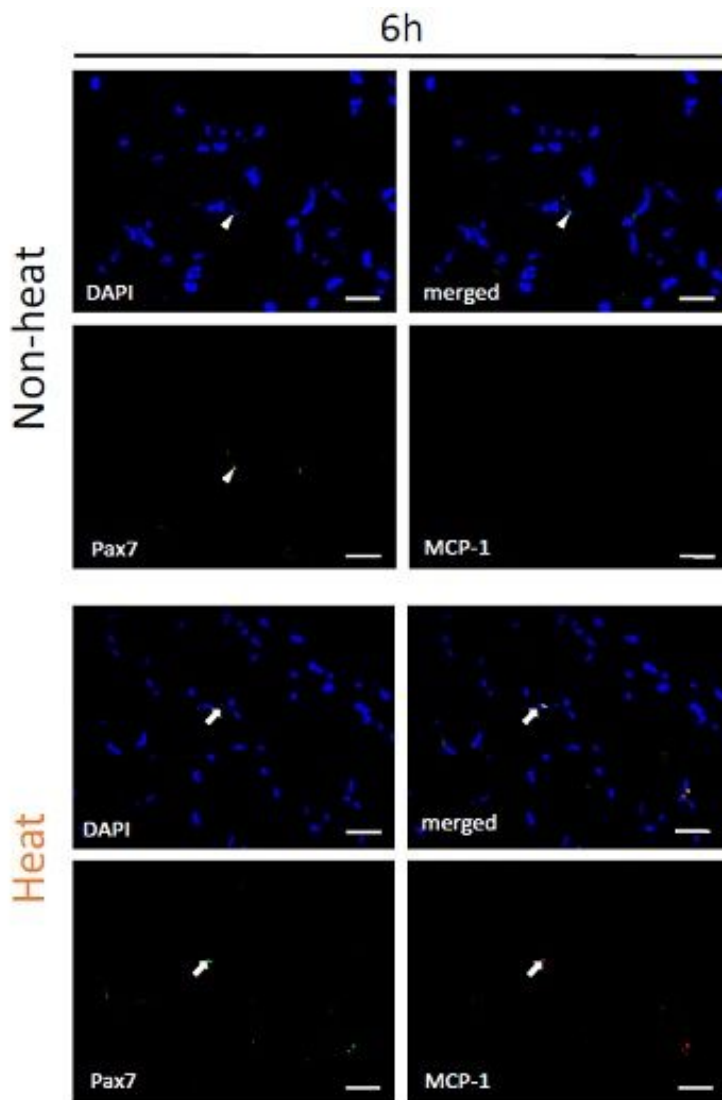


図4 CCL2 (MCP-1) 陽性衛星細胞損傷6時間後。温熱群(heat)の衛星細胞(Pax7)にMCP-1(CCL2)が発言しているが、非温熱群(Non-heat)にはMCP-1の発現は観察されない。

## 5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Motoi Miyakawa1, Masato Kawashima, Daijiro Haba, Megumi Sugiyama, Kaho Taniguchi, Takamitsu Arakawa	4. 巻 122
2. 論文標題 Inhibition of the migration of MCP-1 positive cells by icing applied soon after crush injury to rat skeletal muscle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Histochem	6. 最初と最後の頁 151151
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） /10.1016/j.acthis.2020.151511	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 Haba Daijiro, Minami Chie, Miyagawa Miki, Arakawa Takamitsu, Miki Akinori	4. 巻 119
2. 論文標題 Morphological study on the pressure ulcer-like dermal lesions formed in the rat heel skin after transection of the sciatic nerves	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Acta Histochem	6. 最初と最後の頁 39～47
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.acthis.2016.11.005	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 Emura Kenji, Arakawa Takamitsu, Terashima Toshio	4. 巻 300
2. 論文標題 Anatomical Study of the Brachial Plexus in the Common Marmoset (Callithrix Jacchus)	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Anatomical Record	6. 最初と最後の頁 1299～1306
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ar.23568	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 Arakawa Takamitsu, Kondo Takahiro, Tsutsumi Masahiro, Watanabe Yuko, Terashima Toshio, Miki Akinori	4. 巻 92
2. 論文標題 Multiple muscular variations including tenuissimus and tensor fasciae suralis muscles in the posterior thigh of a human case	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anatomical Science International	6. 最初と最後の頁 581～584
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12565-017-0396-8	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 Haba Daijiro, Emura Kenji, Watanabe Yuko, Kageyama Ikuo, Kikkawa Satoshi, Uemura Mamoru, Arakawa Takamitsu	4. 巻 Epub ahead of print]
2. 論文標題 Constant existence of the sensory branch of the nerve to the pyramidalis distributing to the upper margin of the pubic ramus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anatomical Science International	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12565-018-0428-z	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 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 杉山恵美、川島将人、宮崎安奈、荒川高光
2. 発表標題 骨格筋損傷後の温熱刺激は抗炎症性マクロファージの増加に影響を及ぼす。
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮川基、川島将人、杉山恵美、荒川高光
2. 発表標題 骨格筋損傷直後のアイシングは好中球とMCP-1陽性細胞の集積を阻害する。
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川島将人、杉山恵美、宮崎安奈、荒川高光
2. 発表標題 骨格筋損傷後の寒冷刺激がマクロファージの表現型転換に関与するIGF-1発現に及ぼす影響。
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Arakawa T
2. 発表標題 Animal experiment for the RICE treatment (rest, ice, compression and elevation) to the acute skeletal muscle injury.
3. 学会等名 APSBMS 2019 Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kawashima M, Sugiyama M, Miyakawa M, Taniguchi K, Arakawa T
2. 発表標題 Unloading stress retards satellite cell migration by delayed macrophage recruitment after skeletal muscle injury in rats.
3. 学会等名 ECSS (European College of Sport Science) 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sugiyama M, Kawashima M, Miyakawa M, Taniguchi K, Arakawa T
2. 発表標題 Influence of Heat Stress on Monocyte Chemoattractant Protein-1 Expression by Satellite Cells after Rat Skeletal Muscle Injury.
3. 学会等名 Experimental Biology 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷口佳穂、宮川基、川島将人、杉山恵美、荒川高光
2. 発表標題 骨格筋損傷後のMCP-1発現パターンと骨格筋の二次的な損傷の形態学的検討
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川島将人, 宮川基, 杉山恵美, 谷口佳穂, 荒川高光
2. 発表標題 骨格筋損傷後の尾部懸垂が筋衛星細胞におけるマクロファージの遊走因子 (MCP-1) の発現に与える影響
3. 学会等名 第23回基礎理学療法学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮川基, 幅大二郎, 荒川高光
2. 発表標題 ラット骨格筋挫滅損傷後に異なる刺激時間で寒冷療法を実施した際の筋再生過程の相違
3. 学会等名 第52回日本理学療法学会学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	河上 敬介  (Kawakami Keisuke)  (60195047)	大分大学・福祉健康科学部・教授   (17501)	
研究 分担者	田口 徹  (Taguchi Toru)  (90464156)	新潟医療福祉大学・リハビリテーション学部・教授   (33111)	