

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：33930

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K19854

研究課題名（和文）体外衝撃波を用いた新規骨格筋治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel skeletal muscle therapy method using extracorporeal shock waves.

研究代表者

横山 真吾（Yokoyama, Shingo）

豊橋創造大学・保健医療学部・講師

研究者番号：30706859

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：関節可動域制限ならびに筋萎縮に対する体外衝撃波治療（ESWT）の効果を明らかにすることを目的とした。8週齢のC57BL/6J雄性マウスを、右側足関節を最大底屈位で固定する群（I群）、固定後に設けた回復過程でESWTを実施する群（E群）とその擬似操作を行う群（S群）に振り分けた。左側は無処置の対照側とし、実験モデル作製後に両側の足関節背屈可動域およびヒラメ筋重量を測定した。足関節背屈可動域およびヒラメ筋重量は対照側に対しI群で最も低値を示し、次いでS群、E群の順で高値を示した。以上より、ESWTには不動化に伴う関節可動域制限ならびに筋萎縮からの回復を促進するはたらきがあることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって関節可動域制限や廃用性筋萎縮の治療法としてESWTが有効であることが示された。現在までに報告されているESWTに関する研究は疼痛軽減目的に使用するためのものがほとんどであり、関節可動域制限や廃用性筋萎縮の治療法としてESWTが有効であることを基礎的に示した報告は少ない。ESWTは理学療法士が使用することができる物理療法であるため、本研究の成果は広く臨床に波及し、これら障害に苦しむ患者様の治療に貢献できるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to clarify the effects of extracorporeal shock wave therapy (ESWT) on limitation in joint range of motion and muscle atrophy. 8-week-old male C57BL/6J mice were divided into three groups: group I, in which the right ankle joint was fixed in the maximum plantar flexion position; group E, in which ESWT was performed during the recovery process after fixation; and group S, in which ESWT was simulated. The left side was the untreated control side, and after the experimental model was created, the bilateral ankle dorsiflexion range of motion and soleus muscle weight were measured. The ankle dorsiflexion range and soleus weight were lowest in Group I, followed by Group S and Group E, in that order. These results suggest ESWT may promote recovery from immobilization-induced limitation in joint range of motion and muscle atrophy.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：体外衝撃波 骨格筋 関節可動域制限 廃用性筋萎縮

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 本邦における関節可動域制限と廃用性筋萎縮の位置づけ

関節可動域制限や廃用性筋萎縮は我が国にリハビリテーション医療が導入された時期から問題となっている機能障害である。しかし、理学療法白書 2016 においても「理学療法士が最近治療した最も問題となった障害」として、2 位に筋力低下 (18.9%)、4 位に関節可動域障害 (13.1%) がランクインしており、予防・治療のニーズは依然として高い状態が続いている。その背景には 関節可動域制限ならびに廃用性筋萎縮からの回復メカニズムには不明な点が多く残されていること、これらの機能障害を劇的に改善するような物理的刺激的の検討が十分になされていないことが挙げられる。

(2) 関節可動域制限と廃用性筋萎縮の回復メカニズム

我々はこれまでにラット足関節を最大底屈位でギプス固定するとヒラメ筋の伸張性が低下し、その原因には筋膜のタイプ コラーゲンの増加を特徴とする、いわゆる線維化が関与していることを報告した。また、Honda らはその線維化のメカニズムに成長因子である transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) や線維芽細胞から筋線維芽細胞への形質転換を示す alpha smooth muscle actin (α -SMA) の発現増加が関与していることを報告している。つまり、固定に伴う関節可動域制限の病態には骨格筋の線維化が深く関与しており、この線維化を改善することが関節可動域制限を治療するうえで重要であることが示唆される。

廃用性筋萎縮からの回復過程においては筋衛星細胞の活性化をトリガーとする筋形成過程が重要とされている。筋衛星細胞を効率よく活性化できる物理的刺激が見つければ、廃用性筋萎縮からの回復を早めることができるかもしれない。

(3) 体外衝撃波治療 (extracorporeal shock wave therapy ; ESWT) の現状

ESWT は 1980 年代から結石破碎治療器として尿路結石などの治療に用いられている。近年、足底腱膜炎、石灰沈着性腱板炎など多くの疼痛性疾患に対して疼痛軽減効果を認めることが明らかになり、今後整形外科分野への応用がさらに期待されている。衝撃波とは“音速以上の速さで伝わる強烈な圧力変化の波”であり、Zissler らは損傷筋に照射することで筋衛星細胞を活性化し、組織修復を促進することを報告している。また、Cui らは皮膚の癒痕組織に由来する線維芽細胞に照射することで TGF- β 1 および α -SMA の発現を抑制し、タイプ コラーゲンの増加を軽減することが報告している。

2. 研究の目的

本研究の目的は関節可動域制限と廃用性筋萎縮が惹起される動物実験モデルを用いて、関節可動域制限ならびに廃用性筋萎縮の対抗策として ESWT が有効であることを明らかにし、ESWT を用いた新規骨格筋治療法を確立するための基礎資料を得ることである。

3. 研究の方法

(1) 足関節固定モデルの作製

実験動物は 8 週齢 C57BL/6j 雄性マウス 21 匹とした。これらを、片側足関節を非伸縮性のテープを用いて最大底屈位で 2 週間固定する Im 群 (n=7)、固定期間終了後に 1 週間の通常飼育の期間を設け 2 日に 1 回の頻度で ESWT を実施する ESWT 群 (n=7) と ESWT の疑似操作を実施する Sham 群 (n=7) に振り分けた。なお、Im 群の非固定側を対照群 (Con 群) として使用した。

実験期間終了後、足関節背屈可動域を測定した後にヒラメ筋を採取した。採取したヒラメ筋は筋湿重量を測定した後、筋タンパク含有量の測定と分子生物学的解析に供した。

(2) ESWT の方法

使用機器は MASTERPULS® MP100 (STORZ MEDICAL AG) でトランスミッターは F15 を用いた。ハンドピースを器具で固定し、マウスに麻酔をかけ剃毛した後、下腿中央最大膨隆部に超音波ジェルを塗布し 1bar、10Hz、2000shot の条件で照射した。

(3) 分子生物学的解析

定量 real time RT-PCR 法を用いて筋形成関連遺伝子 (Pax7、Myf5、Myod1、Myog、Myf6) ミオシン重鎖 (Myh7、7b、2、4、3、8) 線維化関連遺伝子 (Col1a1、Col1a2、Col3a1、Tgfb1、Acta2) の mRNA 発現量を評価した。

4. 研究成果

(1) 体重の変化

Sham 群、ESWT 群ともに固定期間に減少し、その後の通常飼育で回復する傾向にあった。実験期間中の 2 群の体重の推移を比較したところ、有意な差は認められなかった。また、Im 群、Sham 群、ESWT 群のヒラメ筋採取時の体重を比較したところ、こちらも有意な差は認められなかった。

以上より、今回用いた ESWT の方法がマウスにとって過度なストレスになっている可能性は低いものと考えられる。

(2) 足関節背屈可動域の変化

ヒラメ筋採取時の足関節背屈可動域は Con 群で $71.9 \pm 1.9^\circ$ 、Im 群で $50.2 \pm 2.9^\circ$ 、Sham 群で $54.9 \pm 3.0^\circ$ 、ESWT 群で $59.4 \pm 2.7^\circ$ であった。Con 群に対して、Im 群、Sham 群、ESWT 群が有意に低値を示し、Im 群に対して Sham 群、ESWT 群が有意に高値を示した。Sham 群と ESWT 群を比較すると、ESWT 群が有意に高値を示した。

以上より、ESWT には固定に伴う関節可動域制限からの回復を促進するはたらきがあることが示唆された。

(3) ヒラメ筋重量およびヒラメ筋含有タンパク量の変化

体重あたりのヒラメ筋重量は Con 群で 0.39 ± 0.04 mg/g、Im 群で 0.21 ± 0.01 mg/g、Sham 群で 0.29 ± 0.07 mg/g、ESWT 群で 0.33 ± 0.02 mg/g であった。また、ヒラメ筋タンパク含有量は Con 群で 1.11 ± 0.09 mg、Im 群で 0.58 ± 0.06 mg、Sham 群で 0.67 ± 0.16 mg、ESWT 群で 0.86 ± 0.12 mg であった。Con 群に対して、Im 群、Sham 群、ESWT 群が有意に低値を示し、Im 群に対して Sham 群、ESWT 群が有意に高値を示した。Sham 群と ESWT 群を比較すると、ESWT 群が有意に高値を示した。

以上より、ESWT には固定に伴う筋萎縮からの回復を促進するはたらきがあることが示唆された。

(4) 筋形成関連遺伝子の発現量変化

Pax7、Myf5、Myod1、Myog、Myf6 発現量は Con 群に対して Sham 群と ESWT 群で高値を示した。Sham 群と ESWT 群を比較すると Myog 発現量のみ ESWT 群が高値を示した。

以上より、ESWT には固定に伴う筋萎縮からの回復過程において筋形成を促進するはたらきがある可能性が示唆された。

(5) ミオシン重鎖のタイプ別発現量変化

胎児型 (Myh3) および新生児型 (Myh8) 発現量は Con 群に対して Sham 群と ESWT 群で高値を示し、Sham 群と ESWT 群を比較すると ESWT 群が高値を示した。遅筋型 (Myh7 および 7b) 発現量は Con 群に対して Sham 群で高値を示し、中間筋型 (Myh2) 発現量は Con 群に対して Sham 群と ESWT 群で高値を示した。速筋型 (Myh4) 発現量は Con 群に対して Im 群で高値を示し、Sham 群と ESWT 群を比較すると ESWT 群が低値を示した。

以上より、ESWT には固定に伴う筋萎縮からの回復促進メカニズムには微細損傷が関係している可能性が示唆された。

(6) 線維化関連遺伝子の発現量変化

タイプ コラーゲン mRNA (Colla1 および Colla2) 発現量は Con 群に対して Im 群で低値を示し、Sham 群と ESWT 群で高値を示した。TGF- β 1 mRNA (Tgfb1) 発現量は Con 群に対して Sham 群と ESWT 群で高値を示し、 α -SMA mRNA (Acta2) 発現量は Con 群に対して Im 群で高値を示した。

以上より、本実験で使用したモデルで生じた関節可動域制限に骨格筋の線維化が関与している可能性は低く、今回認められた ESWT による関節可動域制限回復促進メカニズムには他の要因の関与が考えられた。

< 引用文献 >

Honda Y et al. Upregulation of interleukin-1 β /transforming growth factor- β 1 and hypoxia relate to molecular mechanisms underlying immobilization-induced muscle contracture. *Muscle Nerve*. 52(3). 419-427. 2015

Zissler A et al. Extracorporeal Shock Wave Therapy Accelerates Regeneration After Acute Skeletal Muscle Injury. *Am J Sports Med*. 45(3). 676-684. 2017

Cui HS et al. Extracorporeal Shock Wave Therapy Alters the Expression of Fibrosis-Related Molecules in Fibroblast Derived from Human Hypertrophic Scar. *Int J Mol Sci*. 19(1). 124. 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Ortuste Quiroga Huascar Pedro, Ganassi Massimo, Yokoyama Shingo, Nakamura Kodai, Yamashita Tomohiro, Raimbach Daniel, Hagiwara Arisa, Harrington Oscar, Breach-Teji Jodie, Asakura Atsushi, Suzuki Yoshiro, Tominaga Makoto, Zammit Peter S., Goto Katsumasa	4. 巻 11
2. 論文標題 Fine-Tuning of Piezo1 Expression and Activity Ensures Efficient Myoblast Fusion during Skeletal Myogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 393 ~ 393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells11030393	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 該当する
1. 著者名 Yokoyama Shingo, Ohno Yoshitaka, Egawa Tatsuro, Ohashi Kazuya, Ito Rika, Ortuste Quiroga Huascar Pedro, Yamashita Tomohiro, Goto Katsumasa	4. 巻 21
2. 論文標題 MBNL1-Associated Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis in C2C12 Myotubes and Mouse Skeletal Muscle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6376 ~ 6376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21176376	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 Ohno, Ando, Ito, Suda, Matsui, Oyama, Kaneko, Yokoyama, Egawa, Goto	4. 巻 11
2. 論文標題 Lactate Stimulates a Potential for Hypertrophy and Regeneration of Mouse Skeletal Muscle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 869 ~ 869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu11040869	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 Egawa Tatsuro, Ohno Yoshitaka, Yokoyama Shingo, Yokokawa Takumi, Tsuda Satoshi, Goto Katsumasa, Hayashi Tatsuya	4. 巻 8
2. 論文標題 The Protective Effect of Brazilian Propolis against Glycation Stress in Mouse Skeletal Muscle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 439 ~ 439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/foods8100439	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 横山真吾、大橋和也、萩原ありさ、伊藤理香、後藤勝正
2. 発表標題 胃抑制性ペプチドはマウスヒラメ筋の廃用性筋萎縮ならびに速筋化を軽減する 蛍光免疫染色を用いた検討
3. 学会等名 第77回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横山真吾、大橋和也、萩原ありさ、伊藤理香、後藤勝正
2. 発表標題 胃抑制性ペプチドがマウスヒラメ筋の廃用性筋萎縮ならびにミオシン重鎖発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大野善隆、須田陽平、安藤孝輝、松井佑樹、伊藤貴史、金子陽加里、大山明子、横山 真吾、江川達郎、後藤 勝正 .
2. 発表標題 乳酸受容体刺激が骨格筋量に及ぼす影響
3. 学会等名 第24回日本体力医学会東海地方会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 萩原ありさ、山下智大、Ortuste Quiroga, H.P.、伊藤理香、大野善隆、横山真吾、後藤勝正
2. 発表標題 持続的なTRPV4チャネルの活性化と不活性化による筋管細胞の適応
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 山下智大、Ortuste Quiroga, H.P.、萩原ありさ、横山真吾、大野善隆、杉浦崇夫、大平充宣、吉岡利忠、後藤勝正
2. 発表標題 筋細胞の分化におけるHSP70特異的核輸送体Hikeshiの役割
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 Ortuste Quiroga, H.P., Yamashita Y, Hagawara A, Yokoyama S, Suzuki Y, Tominaga M, Goto K.
2. 発表標題 Some aspects of mechanosensitive ion channels in myogenesis.
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 江川達郎、大野善隆、横山真吾、小川岳史、後藤勝正、林達也
2. 発表標題 自発走運動によるマウス骨格筋適応に対する糖化ストレスの影響
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 Ortuste Quiroga, H.P., Yamashita T, Hagiwara A, Yokoyama S, Suzuki Y, Tominaga M, Goto K.
2. 発表標題 Functional properties of a novel mechanosensitive Ca ²⁺ -permeable channel in mouse muscle satellite cells.
3. 学会等名 Frontiers in Myogenesis, Skeletal Muscle: Development, Regeneration and Disease. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamashita T, Ortuste Quiroga, H.P., Hagiwara A, Yokoyama S, Ohno Y, Sugiura T, Ohira Y, Yoshioka T, Goto K.
2. 発表標題 HSP70-specific nuclear transporter Hikeshi in myogenic differentiation.
3. 学会等名 Frontiers in Myogenesis, Skeletal Muscle: Development, Regeneration and Disease. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 萩原ありさ、大野善隆、横山真吾、後藤勝正
2. 発表標題 骨格筋細胞可塑性発現におけるTRPV4と機械的刺激の受容
3. 学会等名 第65回日本宇宙航空環境医学会大会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------