

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 7日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22700531

研究課題名（和文） 廃用性筋萎縮における伸張運動効果－放射性トレーサーによるモニタリング－

研究課題名（英文） Effect of Stretching exercise in muscle disuse atrophy evaluated by radiotracer

研究代表者

稲岡 プレイアデス 千春（INAOKA PLEIADES TIHARU）

金沢大学・保健学系・助教

研究者番号：90507386

研究成果の概要（和文）：

本研究は廃用性筋萎縮の予防及び治療に用いられている持続的伸張運動と間歇的伸張運動による運動療法の効果を²⁰¹Tlトレーサー法で検討した。その結果、持続的伸張運動も血流を促すが間歇的伸張運動より速効性がやや劣ることが判明した。また伸張運動の方法、強度、頻度によって血流の改善部位（筋の近位、中間位、遠位）が変化することが示唆されたが、これらの伸張運動法の廃用性筋萎縮予防効果に関する有意な違いは認められなかった。

研究成果の概要（英文）：

This work researched the effect of continuous stretching and intermittent stretching in muscle blood flow assessing by Thallium-201 radiotracer. These stretching methods are common techniques used in muscle disuse atrophy prevention and recovery. The investigation on stretching methods showed that intermittent stretching had faster effects on increasing the muscle blood flow than the continuous stretching. The blood flow increasing effect in single muscle longitudinal areas (proximal, medial and distal) were not homogeneous in a single muscle, varying according to the stretch method, intensity and frequency. However there was no statistical difference between the stretching methods in relation to the atrophy preventive effects.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：理学療法学

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：廃用性筋萎縮、伸張運動、血流、タリウム-201、ラット、後肢懸垂、ヒラメ筋

1. 研究開始当初の背景

^{201}Tl による骨格筋の生理活性測定やその廃用性筋萎縮の回復評価の研究は国内外にこれまで全くない。しかし ^{201}Tl はヒトに安全に投与可能であり有用性が示され、臨床応用できる可能性が極めて高い。すでに核医学診療で使用されている放射性トレーサーを応用し筋の病態生理を解明した試みはほとんどない。非侵襲的な核医学の特徴を生かした研究がリハビリテーション科学に有効であると考えてきた。伸張運動は筋線維肥大や筋線維の柔軟性の維持や改善に有効であると考えられ、筋の機能を改善する目的で理学療法で多く用いられている。我々はすでに基礎検討を開始し夢ある結果を手に行っている。すなわち、まず正常ラットの後肢筋肉群内の5つの筋：ヒラメ筋 (Soleus)、腓腹筋 (Gastrocnemius)、浅趾屈筋 (Plantaris)、長指伸筋 (Extensor Digitorum Longus)、前頸骨筋 (Tibialis Anterior) での ^{201}Tl の取込挙動を調べた。その結果内には筋線維タイプ I (重力筋、赤筋又は遅筋) が比較的に多いヒラメ筋と筋線維タイプ II (白筋、速筋) が多い長指伸筋の ^{201}Tl の取込挙動が異なることを検証し、その上、後肢懸垂モデルラットのヒラメ筋では長指伸筋に比べ ^{201}Tl の取込挙動が逆転することを確認している。先行研究において、ヒラメ筋は廃用性筋萎縮時に最も萎縮が著しいと報告されている理由から ^{201}Tl がその生理活性低下を表すことができたと考えられる。この考察は、 ^{201}Tl トレーサーが $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプ活性に依存して K^+ の類似性で筋組織に取込まれることで、筋の活性度、血流と $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプの用量及び疲労抵抗力がその取り込み挙動に影響を与えると前提した。 ^{201}Tl トレーサーからの放射線を体外から測定できること、すなわち臨床内、インビボで心筋を非侵襲的に細かく測定できることから廃用性筋萎縮の進行過程及び回復過程をインビボ病態生理学の非侵襲測定法の着想に至った。

2. 研究の目的

核医学診療で心筋検査に使用されるタリウム-201 (^{201}Tl) トレーサーが、新たに骨格筋の生理活性を局所の筋分別測定できることを発見した。本研究の目的は廃用性筋萎縮の予防及び治療に用いられている伸張運動 (ストレッチ) による運動療法の効果を ^{201}Tl トレーサー法で検討を目指した。

3. 研究の方法

第1実験では間歇的伸張法と持続的伸張法を、筋血流量の観点から比較し、その違いを調査した。8~10週齢のWistar系雄ラット (n=5) を用い、両後肢のヒラメ筋・足底筋・腓腹筋・長指伸筋を対象とした。55匹のラットを対照群 (C群) と伸張群 (図1) に振り分け、伸張群はさらに後述する伸張方法で間歇的伸張群と持続的伸張群に振り分けた。間歇的伸張群は血流量測定時刻をずらし、伸張直後 (IS0群)、5分後 (IS5群)、10分後 (IS10群)、15分後 (IS15)、30分後 (IS30) に分けた。持続的伸張群も同様に振り分け、伸張直後 (CS0群) 5分後 (CS5)、10分後 (CS10)、15分後 (CS15)、30分後 (CS30) とした。間歇的伸張刺激は、10秒間伸張・10秒間弛緩のサイクルで20分間行い、持続的伸張刺激は20分間連続で伸張刺激を与えた。 $^{201}\text{TlCl}$ トレーサーの腹腔投与30分後に安楽死を行い、両側の後肢筋肉群内の5つの筋を摘出し、オートウェルガンマカウンターで放射能測定を行い、オートラジオグラフィ法で筋内のタリウム集積のイメージングを得た。

手動で最大背屈位

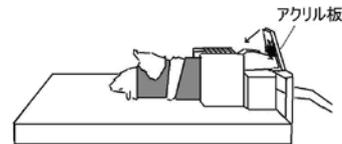


図1. 伸張運動法

第2実験では異なる持続的ストレッチ強度および頻度が廃用性萎縮筋の血流動態に与える影響を検討することとした。Wistar系雄ラットを無作為に対照群 (C群)、3週間の後肢懸垂 (図2) を行う群 (HS群)、および後肢懸垂開始2週目から2週間伸張運動を行うA3群 (自重の50%の負荷、週3回)、A5群 (自重の50%の負荷、週5回)、B3群 (最大背屈位まで伸張、週3回)、B5群 (最大背屈位まで伸張、週5回) に区分した。実験期間終了後 $^{201}\text{TlCl}$ トレーサーを投与し、その30分後に両後肢のヒラメ筋 (Sol) ・足底筋 (Pla) ・腓腹筋 (Gas) ・長指伸筋 (EDL) ・前脛骨筋 (TA) を解剖摘出した。右後肢筋は湿重量を測定後、放射濃度測定をおこなった。また左後肢筋は凍結試料とし、オートラジオグラフィ法 (ARG) によって、近位・中間・遠位における ^{201}Tl の取り込みの濃度を測定した。各群間での筋の相対重量比の比較、群内での筋ごとの ^{201}Tl 取り込み率、部位別の ^{201}Tl 取り込み率を比較した。

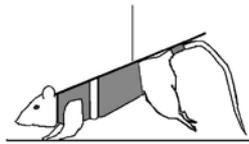


図2. 後肢懸垂法

さらに、第3実験では廃用性筋萎縮モデルラットを用いて、伸張運動（ストレッチ）による筋の活性を²⁰¹Tlトレーサー法と並行に細胞の増殖活性を蛋白質レベルで調査することとした。Wistar系雄ラットを無作為に対照群（C群）、2週間の後肢懸垂を行う群（HS群）、後肢懸垂開始から2週間持続的伸張運動を行うCS群（足関節の最大背屈位を15分間、週5回）および後肢懸垂開始から2週間間歇的伸張運動を行うIS群（足関節の最大背屈位を1分間に2回の頻度で15分間、週5回）に区分した。実験期間終了後²⁰¹TlC1トレーサーを投与し、その30分後に両後肢のヒラメ筋（Sol）と長指伸筋（EDL）を解剖摘出した。右後肢筋は湿重量を測定後、放射濃度測定を行い、オートラジオグラフィ法（ARG）によって、近位・中間・遠位における²⁰¹Tlの取り込みの濃度を測定した。また左後肢筋はReal Time PCR法による遺伝子発現（MyoD, MuRF1, Atrogin1）の分析を行った。

4. 研究成果

第1実験の²⁰¹Tl 取込率の群間比較に関しては、対照群において、ヒラメ筋の取込率は長指伸筋より有意に高かった。間歇的伸張群では、IS0群とIS5群において、ヒラメ筋の取込率が他の3筋より有意に増加していた。IS10群、IS15群、IS30群では群内に有意な差は見られなかった。持続的伸張群では、CS5群とCS10群において、ヒラメ筋の取込率が他の3筋より有意に増加していた。CS0群、CS15群、CS30群では群内での有意差は見られなかった（図3）。ARGで得られた²⁰¹Tlの分布はガンマカウンターの結果と同様、ヒラメ筋の取込率が高いことが示唆された。また腓腹筋深部への取込率が高いことも観察された。間歇的伸張法では、持続的伸張法よりも血流促進効果が早く出現するという結果となった。

伸張群ではヒラメ筋の取込率が他の3筋よりも優位に増加したことより、ストレッチによるヒラメ筋の血流促進効果が認められた。間歇的伸張法では伸張直後から5分後にかけて、持続的伸張群では、伸張5分後から10分後にかけて血流増大のピークを迎え

ることが分かった。これより、持続的伸張法に比べて間歇的伸張法では血流の変動が早く出現することが示唆された。

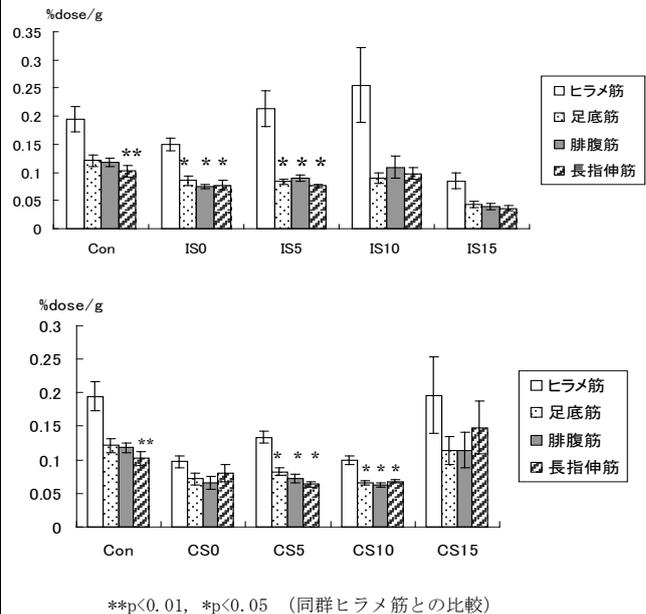
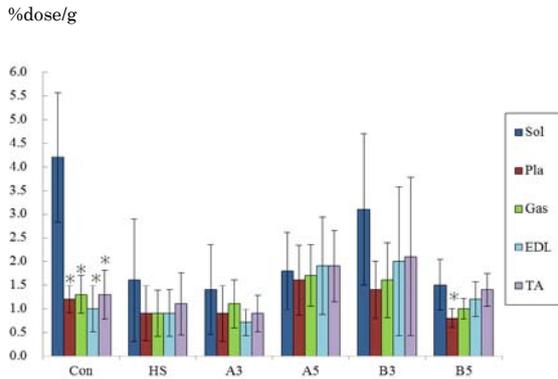


図3. 第1実験の²⁰¹Tl 取り込み率

第2実験ではC群にくらべ、全群で体重およびヒラメ筋の相対重量比が有意に低下していた。PlaもSolと同様の傾向をしめした（図4）。EDLでは、C群と比べて、HS群・A5群・B3群で有意に増加していた。放射濃度測定の結果では、C群では他の4つの筋に対してSolの取込率が有意に高い結果であった。B5群ではPlaに対するSolの取込率が有意に高い結果となった。ARGによって行われた部位別比較では、C群Solでは近位部の取込率が有意に高いが、HS群、A5群、B5群では近位部の取込率が低下した。A3群、B3群では異なる傾向をしめした。Plaにおいては、Con群では中間部の取込率が最も高かったが、その他の群では近位<中間<遠位の分布を示した。EDLでは全群で、遠位部の取込率が高くなり、近位部が低い結果となった。

各筋の取込率から、伸張群ではB5群でのみヒラメ筋の²⁰¹Tl 取込率が他の筋より有意に高く最大背屈位での伸張方法は単関節筋であるヒラメ筋の筋血流量改善に影響を与えていることが示唆された。

ヒラメ筋の部位別取込率結果から単一筋内の筋血流分布は一定ではなく非荷重で変化した。また伸張運動の方法、頻度によって血流の改善部位が変化することが示唆された。

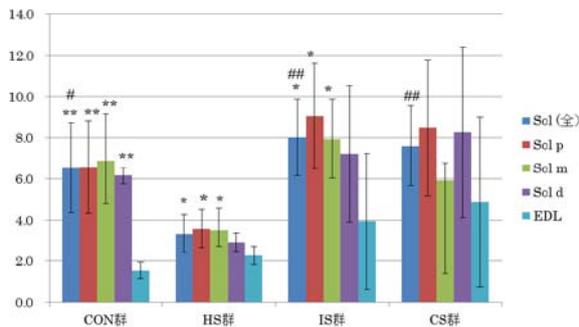


* : p<0.05 (同群のSol との比較)
図4. 第2実験の²⁰¹Tl 取り込み率

第3実験のヒラメ筋全体の²⁰¹Tl 取り込み率は、HS群と比較して、IS群とCS群では有意に高値を示した。ヒラメ筋の部位別取り込み率は、Sol p (近位)、Sol m (中間位)、Sol d (遠位)、対照筋の長指伸筋はEDLと図5で表している。ほとんどの部位に有意差があったものの、IS群では近位と中間位、CS群では近位と遠位で高い傾向にあった。²⁰¹Tl の取り込み率の比較から、筋血流量に関して廃用性萎縮筋に対する伸張運動の効果は見られたが、伸張運動の頻度による違いに有意差は見られなかった。

遺伝子発現レベルでは伸張運動法による差は認められなかった。しかし、HS群及びC群と比較して伸張運動を行った群 (IS群とCS群) は筋細胞の分化を活性化するMyoDの発現量が多く、筋タンパク分解を誘導するMuRF1とAtrogin1の発現量は低くなる傾向であった。

今後、伸張運動の条件を変更することや、筋組織レベルでの分析など異なる検討が必要と考えられた。



: p<0.05, ## : p<0.01 (HS群ヒラメ筋全体の群間比較)
図5. 第3実験の²⁰¹Tl 取り込み率

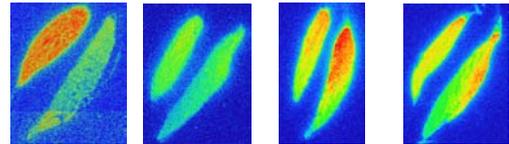


図5. 第3実験のARGでの²⁰¹Tlの分布

今回ラットを用いて伸張運動法の効果を検討した結果、持続的伸張運動も血流を促すが間歇的伸張運動より速効性がやや劣ることが判明した。また伸張運動の方法、強度、頻度によって血流の改善部位が変化することが示唆されたが、これらの伸張運動法の廃用性筋萎縮予防効果の有意な違いは認められなかった。

本研究は理学療法に筋血流改善の目的で間歇的及び持続的に伸張運動を行う方法を支持し、伸張方法により異なる筋部位への効果の違いを示唆する研究となった。今後、伸張運動法による部位別血流増加効果と廃用性筋萎縮予防効果を分子学的に明らかにしたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Kimura S, Inaoka PT, Yamazaki T. Influence of Passive Stretching on Inhibition of Disuse Atrophy and Hemodynamics of Rat Soleus Muscle. Journal of the Japanese Physical Therapy Association. 15 (2012), 9-14. 査読有
http://dx.doi.org/10.1298/jjpta.Vol15_002

[学会発表] (計4件)

- ① 稲岡プレイアデス千春, 澁谷 寿代, 大平 真樹, 山崎 俊明, ラット後肢筋群の廃用性筋萎縮における伸張運動効果—放射性トレーサーによる筋血流の評価—, 第37回日本運動療法学会, 2012年6月24日, 三鷹産業プラザ (東京都)
- ② 木村繁文, 石川琢麻, 栗山敬弘, 稲岡プ

レイアデス千春, 山崎 俊明, 廃用性萎縮筋に対する伸張刺激が血流動態と筋線維横断面積に及ぼす影響—筋の長軸部位別検討—, 第 47 回日本理学療法学術大会, 2012 年 5 月 27 日, 神戸ポートピアホテル (兵庫県)

③ 木村繁文, 山崎俊明, 稲岡プレイアデス千春, 栗山敬弘, 廃用性萎縮筋に対する伸長刺激が血流量に与える影響—縦断面における筋の部位別検討—, 第 46 回日本理学療法学術大会, 2011 年 5 月 27 日, シーガイアコンベンションセンター (宮崎県)

④ 稲岡プレイアデス千春, 山崎俊明, 篠原麻衣, 中島由貴, 天野良平, ラット骨格筋における間歇的伸張運動による筋血流分布の変化—放射性トレーサーを用いた評価—, 第 45 回日本理学療法学術大会, 2010 年 5 月 27 日, 長良川国際会議場 (岐阜県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲岡 プレイアデス 千春
(INAOKA PLEIADES TIHARU)
金沢大学・保健学系・助教
研究者番号: 90507386

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし