

機関番号：32683

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21700663

研究課題名 (和文) 肉離れ損傷後の結合組織癒痕形成の基礎的解析

研究課題名 (英文) The basic analysis of connective tissue fibrosis after muscle strain injury

研究代表者

越智 英輔 (OCHI EISUKE)

明治学院大学・教養教育センター・専任講師

研究者番号：90468778

研究成果の概要 (和文)：

本研究では、スポーツ現場において頻発する肉離れ損傷のメカニズムを解明することを目的とした。ラットエキセントリック筋収縮装置を用いて様々な条件下で筋損傷を誘発した結果、骨格筋萎縮を伴う比較的重度の肉離れ損傷モデルを作成することができた。さらに、タンパク質・遺伝子発現を検討した結果、修復に伴いミオスタチン・タンパク質分解系シグナル発現が増加し、骨格筋萎縮・結合組織癒痕化への関与が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

The purpose of this study was to investigate the repetitive effects of contraction-induced injury on muscular mass, function, structure, and protein expressions. We employed our originally developed device with lengthening contractions (LCs) mode used in rat gastrocnemius muscle. The results showed that both medial and lateral gastrocnemius muscle were significantly smaller than those in control. The muscle content of myostatin was significantly higher in LCs than in control. In addition, FOXO1 and FOXO3 showed significantly enhanced expression in LCs than in control. These results suggest that repeated bouts of LCs in our model induced decreases in muscular mass and strength. We also observed the activation of protein degradation signaling pathways and myostatin while inactivation of protein synthesis. We conclude that the LCs-induced atrophy and torque deficit are associated with activation of the protein degradation process not apoptosis process.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学

キーワード：筋損傷、エキセントリック収縮、結合組織、癒痕化、肉離れ

## 1. 研究開始当初の背景

肉離れ損傷はスポーツ場面で頻発する損傷

であり、再受傷および重篤化も散見されるため、その病態と治癒の理解は重要である。特に、重症度の高い肉離れ損傷では、結合組織

の癒痕化が観察されている。しかし、肉離れ損傷の多くは非観血的に処置されるため、組織・分子レベルでの病態は必ずしも明らかではない。我々の研究グループは、これまでにラット腓腹筋を対象とした*in vivo*筋損傷モデルを作成し、その病態、力学的変化を報告している。しかし、このモデルは、筋力低下が2-3日と比較的短期間であり、かつ筋重量に関してはコントロール群との比較において有意な差が認められないという状況であった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、1) ラットエキセントリック筋収縮装置を用いた重度肉離れ損傷モデルの作成と、2) その修復時におけるタンパク質及び遺伝子発現量の変化(結合組織癒痕化の分子機構)、を検討することとした。

## 3. 研究の方法

1) 実験には Wistar 系ラットを用いた(n = 20, 11 週齢、体重 280-300)。エキセントリック筋損傷は、腓腹筋への経皮電気刺激とサーボモーターを用いた強制背屈の組み合わせとした。上記エキセントリック収縮を 5 回×4 セットを 1 セッションとし、頻度・回数を以下の通り分けた。具体的には、a) 同条件の肉離れ収縮を 1 週間おきに 2 度実施する(実験期間は 2 週間)、b) 同条件の肉離れ収縮を 2 日おきに 4 度実施する(実験期間は 1 週間)、の 2 条件であった。

2) 作成したモデルを使用し、修復時のタンパク質・遺伝子発現量の変化について検討した。具体的には a) 電気泳動解析による Myosin Heavy Chain アイソフォーム分析、b) TdT-mediated dUTP-biotin nick-end labeling

(TUNEL) 法によるアポトーシス分析、c) western blotting 法によるタンパク質発現量の変化について解析した。

## 4. 研究成果

1) 条件 a) では、有意な筋力低下(解剖直前)及び筋湿重量の減少が認められなかった。一方、条件b) では、有意な筋力低下及び筋湿重量の有意な減少を観察した(図1及び2)。以上から、スポーツ現場との直接比較が困難となっていた過去のモデルを改変することで、重度肉離れ損傷モデルを作成できた。本モデルを用いることで、筋損傷に伴う筋機能低下・筋萎縮・癒痕化・その修復時の応答メカニズムについて新たな知見を得ると同時に、肉離れ損傷の発症の予防と回復を促進する上での基礎データを提示するものと考えられる。

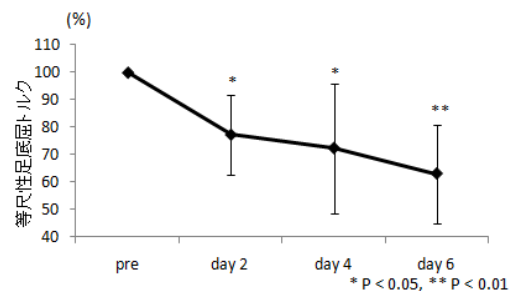


図1 重度肉離れ損傷(ECC)による筋力低下

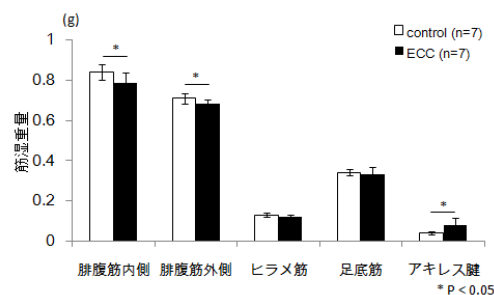


図2 重度肉離れ損傷による筋湿重量の減少

2) 1)で確立した筋萎縮・筋力低下を引き起こすモデルを用いて解析した。a) 筋線維組成を解析した結果、筋線維タイプIIxが増加した一方、IIbが減少していた。さらに、本研究で用いたモデルにおける筋萎縮はアポトーシスではなく、タンパク質分解によって引き起こされることが示唆された。特にFOXO1, 3, myostatin (TGF/smad系)の発現は顕著であり、筋湿重量の減少と深く関連するものと考えている。

本モデルで観察した結果は、スポーツ現場において頻発する肉離れ損傷のメカニズムの解明に新たな知見を得え、かつ肉離れ損傷の発症の予防と回復を促進する上での基礎データを提示するものといえる。特に、myostatin のタンパク質量が顕著に増加していたことは、骨格筋の萎縮のみならず結合組織癒痕化にも関与する可能性を示唆しており、今後更なる検討が必要であると考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者には下線、連携研究者には破線)

〔雑誌論文〕(計 10 件)

- ① 甲斐健悟, 越智英輔, 森田淳悟, 平沼憲治. 大学男子バレーボール選手におけるジャンパー膝の発症要因に関する研究. 日本臨床スポーツ医学会誌. 査読有 17. 2009, 522-530.

- ② Min SK, Nakazato K, Okada T, Ochi E, Hiranuma K. The cartilage intermediate layer protein gene is associated with lumbar disk degeneration in collegiate judokas. *International Journal of Sports Medicine*. 査読有 30. 2009, 691-694
- ③ Nakazato K, Ochi E, Waga T. Dietary apple polyphenols have preventive effects against lengthening contraction-induced muscle injuries. *Molecular Nutrition & Food Research*. 査読有 54. 2009, 364-372
- ④ Ochi E, Hirose T, Hiranuma K, Min SK, Ishii N, Nakazato K. Elevation of myostatin and FOXOs in prolonged muscular impairment induced by eccentric contractions in rat medial gastrocnemius muscle. *Journal of Applied Physiology*. 査読有 108. 2010, 306-313
- ⑤ 中里浩一, 越智英輔, 平沼憲治. 肉離れ損傷発生および進行の分子メカニズムに関する仮説 整形・災害外科. 査読無 (総説) 53. 2010, 212-213
- ⑥ 若松健太, 越智英輔, 廣瀬立朗, 関石基, 中里浩一, 平沼憲治. 大学女子サッカーにおけるハムストリング肉離れの発生要因について. *日本臨床スポーツ医学会誌*. 査読有 18 2010, 314-319
- ⑦ Ochi E, Ishii N, Nakazato K. The time course of activation of Akt-mTOR-p70S6K signaling pathway in rat gastrocnemius muscle after repeated bouts of eccentric exercise *Journal of Sports Science and Medicine*. 査読有 9. 2010, 170-175
- ⑧ 富永梨紗子, 越智英輔, 根本研, 森田淳悟, 中里浩一, 平沼憲治. 大学女子バレーボール選手におけるアキレス腱炎の発症要因に関する研究 *日本臨床スポーツ医学会誌*. 査読有 18. 2010, 456-461
- ⑨ 櫻井規子, 中里浩一, 越智英輔, 若松健太, 関根義雄, 平沼憲治. 大学バドミントン競技における腹筋肉ばなれの発生要因. *日本臨床スポーツ医学会誌*. 査読有 (印刷中).
- ⑩ Ochi E, Nakazato K, Ishii N. Muscular hypertrophy caused by repeated bouts of eccentric exercise and changes in cytokine production in the rat medial gastrocnemius muscle. *Journal of Strength and*

Conditioning Research. 査読有 (*in press*)

[学会発表] (計 8 件)

- ① 櫻井規子, 中里浩一, 越智英輔, 若松健太, 関根義雄, 平沼憲治. 大学バドミントン競技における腹筋肉ばなれの発生要因 第 64 回 日本体力医学会大会 2009 年 9 月 新潟県
- ② 廣瀬立朗, 越智英輔, 関石基, 中里浩一. 尾部懸垂ラット筋萎縮におけるデコリンの役割 第 64 回 日本体力医学会大会 2009 年 9 月 新潟県
- ③ Ochi E, Hirose T, Hiranuma K, Tsutaki A, Seokki M, Ishii N, Nakazato K. Differential expressions of protein synthesis and degradation signal pathways after fast/slow velocity eccentric contractions in rat hindlimb. 2010 Northeast Asia Conference on Kinesiology 2010 年 5 月 Seoul, Korea
- ④ Hirose T, Ochi E, Tsutaki A, Seokki M, Nakazato K. The effect of myoD, myogenin, and myostatin expression on apoptosis during hindlimb suspension. *Physiology* 2010 2010 年 7 月 Manchester, UK.
- ⑤ Ochi E, Hirose T, Hiranuma K, Tsutaki A, Seokki M, Ishii N, Nakazato K. Effects of lengthening contraction velocity on protein synthesis/degradation signal pathways in rat medial gastrocnemius muscle. *Physiology* 2010 2010 年 7 月 Manchester, UK.
- ⑥ 蔦木新, 越智英輔, 廣瀬立朗, 関石基, 中里浩一. トレッドミル走の走速度がラット内側腓腹筋における PGC-1 タンパク質発現に及ぼす影響. 第 65 回 日本体力医学会大会 2010 年 9 月 千葉県
- ⑦ 越智英輔, 廣瀬立朗, 平沼憲治, 石井直方, 中里浩一. 伸張性収縮時の角速度の違いが骨格筋内 tenomodulin 発現に与える影響. 第 65 回 日本体力医学会大会 2010 年 9 月 千葉県
- ⑧ 若松健太, 桜庭景植, 丸山麻子, 鹿倉二郎, 越智英輔. 大学ラクロス選手における骨代謝マーカーおよび骨質関連マーカーに関する研究. 第 21 回日本臨床スポーツ医学会学術集会 2010 年 11 月 茨城県

〔その他〕

ホームページ

- ① <http://mgu-cfla.cc-town.net/modules/staff/staffsingle.php?id=44>
- ② <http://gyoseki.meijigakuin.ac.jp/mguhp/KgApp?kyoinId=ymdmgdgyggy>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

越智 英輔 (OCHI EISUKE)

明治学院大学・教養教育センター・専任講師

研究者番号：90468778

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

中里 浩一 (NAKAZATO KOICHI)

日本体育大学・大学院体育科学研究科・教授

研究者番号：00307993

石井直方 (ISHII NAOKATA)

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：20151326