

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K13186

研究課題名(和文) 骨格筋損傷後のアイシングが線維化を増悪するメカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanisms of fibrosis progression induced by icing treatment after skeletal muscle injury

研究代表者

芝口 翼 (Shibaguchi, Tsubasa)

金沢大学・GS教育系・助教

研究者番号：40785953

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)：本研究では、筋損傷後のアイシング(ICE)によって線維化が助長される機序、ならびにその負の影響を相殺し得る方策について検証を行った。筋損傷後のICEによってヒラメ筋と足底筋で異なる遺伝子発現応答が認められた。また、ICEと温熱刺激(HOT)を併用するとICEによるヒラメ筋の線維化の亢進は減弱され、その効果はHOTをより早期に開始した条件で大きかった(ただし、線維化の程度は損傷のみ場合と同等)。以上の結果から、筋損傷後のICEがもたらす生理作用は遅筋と速筋で異なること、ICEとHOTの併用はHOTの開始時期を早めることで線維化の程度を無処置の場合と同等のレベルまで抑制でき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

「アイシング処置が損傷した骨格筋の再生を妨げる」という発見は、従来のスポーツ医学の常識を覆すものであるが、そのメカニズムについては未だ明らかでない。本研究では、筋損傷に対するアイシング処置がその後の回復過程において遅筋と速筋の場合で異なる遺伝子発現応答を引き起こす可能性があること、ならびに筋損傷後のアイシング処置と温熱刺激の併用が温熱刺激の開始時期を早めることでアイシングによって促進する線維化を無処置の場合と同レベルまでは減弱できることが示唆された。これらの成果は、今後のアイシング処置の在り方の再考や、治癒期間の短縮や完治を目指した新たな方策を見出すための基礎資料になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate possible mechanisms of fibrosis progression induced by icing (ICE) treatment after skeletal muscle injury and possible countermeasure against its negative phenomenon. ICE treatment after the injury induced different responses in gene expression between soleus and plantaris muscles. ICE with intermittent heat stress (HOT) starting from both 1-day and 2-day after the injury attenuated the ICE-related promotion of fibrosis in soleus muscle, and its inhibitory effect was stronger in the 1-day than in the 2-day conditions. However, the degree of fibrosis in the 1-day condition was similar to the non-treated injured muscle. These findings indicated that physiological action of ICE to injured skeletal muscle might be different between slow and fast muscles. Our data also suggested that ICE with intermittent HOT after skeletal muscle injury could attenuate the ICE-related acceleration of fibrosis at the same level as a non-therapeutic condition.

研究分野：運動生理学生化学

キーワード：筋再生 アイシング 線維化 温熱刺激

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

打撲や肉離れ等によって生じる骨格筋損傷はスポーツ現場で頻発する外傷の一つであり、特にその損傷の程度が大きい場合には治癒するのに数週～数ヵ月以上を要する。この骨格筋損傷に起因した身体活動量の低下は、競技力の低下を引き起こすのみならず、昨今問題視されるメタボリックシンドロームやロコモティブシンドロームの誘導因子となり得る。したがって、損傷した骨格筋の再生を促す方策の検証は、一般人における健康の維持・増進や、東京オリンピックを間近に控えたアスリートの競技力向上の観点から我が国における喫緊の課題である。

骨格筋損傷を含むスポーツ外傷が発生した場合、スポーツ現場では従来、急性期の応急処置として冷却療法(アイシング)を行うことで炎症・疼痛を抑え、正常な組織の二次的損傷を防ぐことで組織再生が促進されると考えられてきた。しかし、筋再生を促進させる観点からは、炎症細胞の浸潤による損傷組織の除去と、その後の筋衛星細胞の活性化プロセスを介した筋線維の再生と再構築が必須であるため、アイシングが筋再生に悪影響を及ぼす可能性も指摘され始めている。そこで、近年我々は、ラットヒラメ筋を損傷させた直後にアイシングを行い、その影響について検証したところ、特に質的な再生が妨げられることを報告した(例:線維化の進行とその程度が助長される、筋線維組成の正常な分布への回復が遅延する)。

しかしながら、こうした骨格筋損傷後のアイシングによる線維化の増悪が、アイシングによる再生応答の遅延化(炎症細胞の浸潤や筋衛星細胞活性化の遅延等)に起因するという状況的証拠は示唆されているものの、それらが損傷骨格筋にアイシングを行うことによって生じる“どのような生理応答や細胞応答”によって調節されているかについては未だ明らかでない。また、スポーツ・臨床の現場では、アイシングの疼痛緩和作用を活かしてリハビリテーション期間の短縮を図る試みがなされているが、そのことによる組織再生への是非については十分な検討がなされていない。

2. 研究の目的

本研究では、損傷した骨格筋の再生過程において、筋の質的な再生を妨げる“線維化”という事象に着目し、骨格筋損傷後のアイシングが線維化を増悪するメカニズムを明らかにするとともに、アイシングの負の影響を相殺し得る介入法(温熱刺激)の妥当性について検証を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 骨格筋損傷後のアイシングがもたらす生理作用の検証

10週齢のWistar系雄性ラットを筋損傷群と筋損傷+アイシング群に群分けし、全てのラットのヒラメ筋(遅筋)と足底筋(速筋)に塩酸プピバカインを筋注し、筋損傷を惹起させた。筋損傷+アイシング群には、後肢下腿部をアイスパック(0℃)で挟み込むアイシング処置(20分)を筋損傷直後に1回のみ施した。損傷1日後、3日後、7日後、14日後、28日後にヒラメ筋と足底筋を摘出し、マイクロアレイ解析並びに組織化学的分析に供した。

(2) 筋再生に対するアイシングの負の影響を相殺する方策の検証

骨格筋損傷後のアイシングと温熱刺激の併用に際して、温熱刺激の開始時期の違いがその後の筋再生能の違いを生じさせるか否かについて検証した。10週齢のWistar系雄性ラットを筋損傷群と筋損傷+アイシング群、筋損傷+アイシング+温熱刺激(1日後～or2日後～)群に群分けした後、全てのラットのヒラメ筋(遅筋)と足底筋(速筋)に塩酸プピバカインを筋注し、筋損傷を惹起させた。アイシング処置(20分)は筋損傷直後に1回のみ、後肢下腿部をアイスパック(0℃)で挟み込む形で施した。温熱刺激(42℃,30分)は、損傷1日後あるいは2日後から覚醒下で隔日に最大2週間行った。損傷7日後および28日後にヒラメ筋と足底筋を摘出し、組織化学的分析に供した。

4. 研究成果

(1) 骨格筋損傷後のアイシングがもたらす生理作用の検証

筋損傷後のヒラメ筋・足底筋の筋重量(体重比)は、いずれも損傷1日後に一時的に増加した後、損傷7日後をピークに減少し、その後は回復期間の経過に伴い非損傷筋レ

ベルへ向けて回復した。しかしながら、いずれの筋においても筋量の回復の程度にアイシング処置の影響は認められなかった。

ヒラメ筋の線維化面積は損傷7日後をピークに増加し、その後は回復期間の延長に伴い徐々に減少した。損傷28日後に限った場合、筋損傷+アイシング群の線維化面積の値は筋損傷群よりも有意に高い値であった。

ヒラメ筋の筋線維のジストロフィン周辺局在は損傷1日後で完全に消失し、損傷3日後においても再生筋管/筋線維のジストロフィン周辺局在は確認できなかった。その後、損傷7日後ではほぼ全ての再生筋線維にジストロフィンの周辺局在が認められた。しかしながら、本研究で検討した回復期間内では再生筋線維におけるジストロフィン周辺局在の動態にアイシング処置の影響は認められなかった。

マイクロアレイ解析の結果、損傷3日後、7日後、14日後のヒラメ筋において、線維化や筋発生、筋分化に関わる遺伝子群がアイシング処置によって有意に発現上昇していた。一方、ヒラメ筋の再生過程において、アイシング処置によって有意に発現低下する遺伝子群は認められなかった。また、足底筋において、本研究で設定した回復期間内で遺伝子発現が有意に変動する遺伝子群は認められなかった。

以上の結果から、損傷したヒラメ筋の線維化がアイシングによって刺激される一因として、アイシングが特に線維化や筋発生、筋分化に関わる遺伝子群の発現動態を狂わせる（不適切なタイミングで発現増加させる？）可能性が示唆された。また、筋損傷後のアイシングがもたらす遺伝子発現に対する生理作用は、遅筋と速筋で異なる可能性も示唆された。今後は今回明らかとなった遺伝子群の詳細な解析や、さらなるメカニズムの追求が必要である。

(2) 筋再生に対するアイシングの負の影響を相殺する方策の検証

損傷7日後および28日後のヒラメ筋と足底筋の筋重量(体重比)の回復の程度に、アイシング処置のみ及び温熱刺激併用処置の影響は認められなかった。

損傷28日後において、アイシング処置によってヒラメ筋の線維化面積は有意に増大した。しかしながら、温熱刺激を併用した場合、いずれの併用条件においてもアイシングによる線維化の亢進が減弱され、その効果は特に温熱刺激を1日後から開始した条件で大きかった。ただし、両併用条件の線維化の程度は、損傷のみによって生じる線維化の程度を下回らなかった。

以上の結果から、骨格筋損傷後のアイシングと温熱刺激の併用は、温熱刺激の開始時期を早めることによってアイシングによる線維化の亢進を抑制できるが、その線維化の程度は無処置の場合と同等であることが示唆された。今後はこの背景となるメカニズムの検証や、アイシング処置と併用した場合でも無処置の場合以上に筋再生を促進できる方策についての検討が必要である。

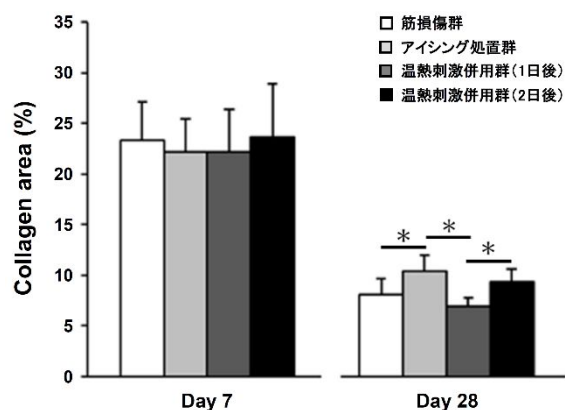


図1. 骨格筋損傷後のアイシング処置と温熱刺激の併用が線維化面積に及ぼす影響 (*: P < 0.05)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shibaguchi T, Perez-Lopez C, Sugiura T, and Masuda K
2. 発表標題 Negative impact of icing treatment on qualitative recovery of injured soleus muscle in rats
3. 学会等名 American College of Sports Medicine (ACSM) 66th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 芝口翼, Claudia Perez-Lopez, 杉浦崇夫, 増田和実
2. 発表標題 骨格筋損傷後のアイシングが再生過程における線維芽細胞の動態に及ぼす影響
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会
4. 発表年 2018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