

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：34521

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500488

研究課題名（和文）物理的刺激が哺乳類の骨格筋収縮機能にどのような影響を与えるのか？

研究課題名（英文）Effects of physical stimulation on contractile properties of skeletal muscle in the mammals

研究代表者

石井禎基（ISHII YOSHIKI）

姫路獨協大学・医療保健学部・教授

研究者番号：40441331

研究成果の概要（和文）：

本研究では、哺乳動物であるラット用の実験システムを立ち上げた後に、物理的刺激である温度刺激がラットの骨格筋収縮機能に与える影響について検討した。ラットのヒラメ筋に生体内で直接刺激および神経刺激を行い、それぞれの単収縮張力および強収縮張力を 6 温度条件下で測定をした。その結果、すべての温度条件間において神経刺激による単収縮張力に差はなかった。このことは、哺乳類の神経-筋接合部の伝達効率は温度に依存しないことを示していた。

研究成果の概要（英文）：

The present study was investigated to know the effects of temperature on neuromuscular junction in the mammals. Twitch and tetanic force induced by electrical direct and indirect stimulation were studied under six conditions of temperature, after we established a system for measuring contractile force in rat *in vivo*. The twitch forces induced by indirect stimulation were not different significantly under the conditions examined. This result suggests that the efficiency of neuromuscular transmission in the mammals may not depend on temperature.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

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：骨格筋・温度・神経-筋接合部・伝達効率

1. 研究開始当初の背景

両棲類であるトノサマガエルの後脚筋の神経-筋標本を用いた実験において、物理的刺激である温度刺激および伸張刺激（いわゆるストレッチ）により神経-筋接合部の伝達効率に変化をする現象が報告をされた（Ishii Y et

al.: J Exp Biol 207, 2004)。その報告の中で、両棲類の神経-筋接合部の伝達効率は温度が低いほど低下し、骨格筋の収縮張力は小さくなること、また、筋長の伸張程度が大きくなればなるほどその伝達効率は高くなり、骨格筋の収縮張力は増大することが示された。

変温動物である両棲類においては、神経-筋接合部の伝達効率に温度依存性および長さ依存性が存在することが明らかにされたが、恒温動物である哺乳類の神経-筋接合部にそれらの性質が存在するのかは明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、両棲類で明らかにされた神経-筋接合部の伝達効率の可塑性が普遍的な現象であるのかを検討することである。両棲類と爬虫類は共通祖先から古生代デボン期（約4億年前）に系統が分岐し、哺乳類は爬虫類の系統より古生代石炭紀（約3億5千万年前）に分岐したといわれている（岩槻邦男・馬渡峻輔監修：脊椎動物の多様性と系統、裳華房）。もし、その現象が約4億年前に分岐し別々に進化した哺乳類（ラット）にも存在したら、その普遍性が示唆され、哺乳類の一種であるヒトにも存在する可能性がある。

本研究において、その目的達成ためにラットの骨格筋収縮張力測定用の新しい実験系の構築も行った。

3. 研究の方法

本研究を実施するにあたり、いろいろな温度条件で哺乳類の骨格筋の収縮張力を測定する実験システムが必要不可欠であったため、その実験システムの構築を行った。実験に用いた動物は、哺乳類のラットである。実験系構築に先立ち、まず実験に使用する標本の検索を行った。

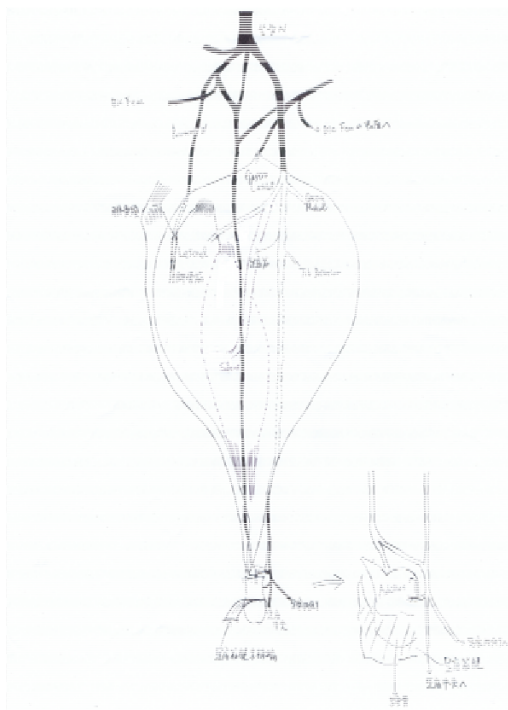


図1 ラットの下腿三頭筋の支配神経

(1) 実験に使用する神経-筋標本の検索

実験に適した標本の条件は、標本骨格筋を十分に直接電気刺激できること、その標本の支配神経が同定でき神経刺激により筋収縮を起こすことができることが不可欠である。

当初、先行研究で用いられたカエルの神経-筋標本と同じ大腿二頭筋を用いることを考えていたが、標本検索過程でラットの大腿二頭筋は解剖学上全く異なった構造をしており、本研究における実験系には不向きであることが判明した。解剖を重ねた結果、条件を満たしていたヒラメ筋を骨格筋標本と定めた。図1にヒラメ筋の神経支配を示した。

(2) 実験システムの構築（図2）

ラットの生体内でヒラメ筋の筋収縮張力測定するための実験システムを構築した。

ラットの固定

ラットにウレタン（1.1g / kg）を腹腔内注射して麻酔した。体温を37°Cで維持するために体温コントローラー（日本光電、ATB-1100）のプレート上に側臥位に置き、大腿骨遠位端を自作した固定治具で固定した。

張力測定用の実験システム

本研究で用いたラットヒラメ筋を収縮させる電気刺激は、ヒラメ筋を直接電気刺激する直接刺激および坐骨神経を電気刺激して神経-筋接合部を介してヒラメ筋を収縮させる神経刺激を用いた。直接刺激用電極は白金プレートを用いて自作し、神経刺激用電極にはステンレスワイヤーを使用した。直接刺激および神経刺激ともに電気刺激装置（日本光電、SEN-3301）とアイソレータ（日本光電、SS-202J）を用いて十分な強度の電気刺激を与えた。

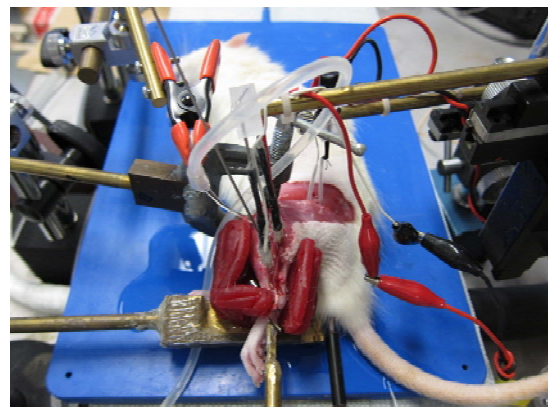


図2 実験風景

ラットの解剖は、後脚の外側から行った。大腿四頭筋と大腿二頭筋の間から坐骨神経を露出させ、ワイヤー電極を取り付けた。下腿のヒラメ筋標本を作製する際、ヒラメ筋の起始部は脛骨に付着させたまま残し、遠位部のアキレス腱は腓腹筋腱を剥離したヒラメ筋腱のみにし、その腱にフックを取り付けた。ヒラメ筋の筋腹は血液循環を確保したまま腓腹筋および脛骨から剥離した。そのヒラメ筋を挟むように直接刺激用電極を外側より挿入した。ヒラメ筋腱のフックを張力計に取り付けた後、機械刺激装置（フィジオテック、DPS-280F）を用いてヒラメ筋を静止長に固定した。収縮張力および静止張力の測定は、データ収集システム（ユニークメディカル、UAS-108S）にて行った。

実験温度を維持するシステム

標本の温度を変化させ、その温度を一定に維持するために、恒温水循環装置（EYELA、CTP-3000）を用いた。実験温度を確認するために下腿外側面からヒラメ筋部に温度計を設置した。実験温度に保った生理食塩水を下腿外側面よりヒラメ筋に環流し実験温度を維持した。

(3) 実験方法

実験には、リタイヤした Wister 系ラット 6 匹（体重 $392 \pm 31\text{g}$ ）を用いた。収縮張力は、直接刺激および神経刺激のそれぞれの刺激方法で、単収縮張力および強収縮張力（100Hz、0.5s）を 6 つの温度条件下（ $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ； $n=4$ 、 $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ； $n=4$ 、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ； $n=4$ 、 $34 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ； $n=6$ 、 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ； $n=6$ 、 $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ； $n=6$ ）で測定した。

直接刺激による発生張力はヒラメ筋の筋線維すべてが収縮した発生張力とみなすことができる。そこで、それぞれの温度条件が神経刺激による発生張力に与える影響を比較するために、神経刺激による発生張力を直接刺激による発生張力で除した値で表し、その値をそれぞれの温度における神経-筋接合部の伝達効率として評価した。

(4) 統計

統計解析には、統計パッケージソフト PASW Statistics Ver. 18 を用いて一元配置分散分析を行い、post hoc 検定は scheffé 法で行った。

なお、本研究は姫路獨協大学動物実験委員会の承認を受けて行った。

4. 研究成果

単収縮張力測定結果（図 3）

神経刺激による単収縮張力には、それぞれの温度条件間で有意な差は見られなかった。

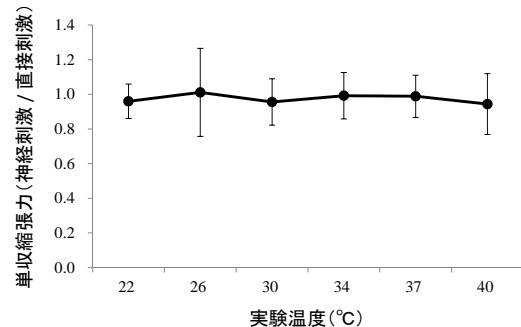


図 3 温度条件が神経刺激によるヒラメ筋の単収縮張力に与える影響

強収縮張力測定結果（図 4）

神経刺激による強収縮張力には、それぞれの温度条件においても有意な差は見られなかった。また、神経刺激による発生張力が直接刺激よりもより大きかった。

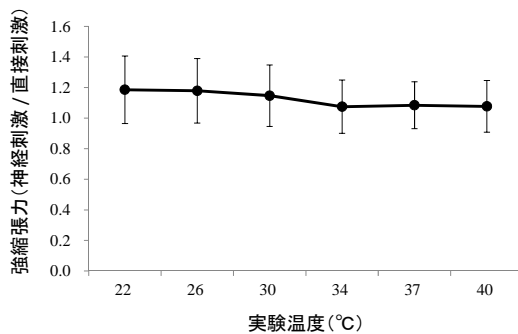


図 4 温度条件が神経刺激によるヒラメ筋の強収縮張力に与える影響

変温動物の両棲類（トノサマガエル）を用いた先行研究では、神経-筋接合部の伝達効率には温度依存性があり、外気温の変化にとっても敏感であった。一方、恒温動物である哺乳類（ラット）を用いて単収縮張力を測定した本研究結果は、神経-筋接合部の伝達効率は温度に影響を受けないことを示していた（図 3）。これは、ラットでは多少外気温が低下し筋温に影響を及ぼしても、中枢から神経を伝導してきたシグナルは効率よく骨格筋に伝達されることを示唆している。

しかし、直接刺激による強収縮張力が、神経刺激のそれよりも小さいことは、直接刺激がすべての筋線維を刺激していないことを示唆している（図 4）。そのために、温度変化により神経-筋接合部の伝達効率に差が出なかった可能性もある。今後、直

接刺激の実験システムの改良を行ってこの疑問を解決し、神経-筋接合部の伝達効率の温度依存性が、動物種に関係なく普遍的な現象であるかどうかを詳しく検討していく。改良の結果、温度依存性が確認された場合は、その長さ依存性（ストレッチの効果）についても実験を行っていく予定である。

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 6 件)

1. 石井禎基, 崎田正博, 笹井宣昌, 笠松大輔, 米井信二, 福田智之, 土屋禎三: 筋膜による筋間連結の機能的役割 — ウィンゲル膝伸筋を用いた研究 —. 理学療法学 40(1): 16-23, 2013 (査読有)
2. 山野薫, 石井禎基, 秋山純和: リスクマネジメントにおける急性期病院の理学療法部門の類型化. 理学療法科学 28(2): 171-181, 2013 (査読有)
3. Sakita M, Ishii Y, Takasugi S, Saito T, Kumagai S: Effects of short and medium latency reflexes of the plantae muscle with ankle vibration during sudden foot movement. Journal of Physical Therapy Science 24(1): 83-87, 2012 (査読有)
4. 石井禎基, 崎田正博, 笹井宣昌, 村上慎一郎, 松本愛香, 朴浩司, 赤阪英樹, 丸川達矢, 土屋禎三: 羽状筋としての膝伸筋の機械的収縮特性: 長さ-張力関係における二峰性について. 理学療法兵庫 17: 24-27, 2012 (査読有)
5. 崎田正博, 石井禎基, 上阪雄介, 土手愛美, 中村泰章, 齋藤貴文, 熊谷秋三: 児童の性差と年齢における静的立位足圧中心動揺変数の発達の変化. ヘルスプロモーション理学療法研究 1(1): 39-50, 2011 (査読有)
6. Ishii Y, Tsuchiya T: Prolonged Relaxation after Stimulation of the Clasping Muscle of Male Frog, *Rana japonica*, during the Breeding Season. Zoological Science 27(7): 595-601, 2010 (査読有)

[学会発表] (計 13 件)

1. 石井禎基, 崎田正博, 笹井宣昌, 福田智之, 佐野俊, 前河大輝, 吉岡春香, 土屋禎三: 筋膜による骨格筋間連結が膝伸筋に及ぼす作用について. 第 48 回日本理学療法学会大会. 2013 年 5 月 25 日 (名古屋)
2. Ishii Y, Sakita M, Sasai N, Tsuchiya

T: Functional role of the connection between skeletal muscles by fasciae. 第 90 回日本生理学会大会. 2013 年 3 月 27 日 (東京)

3. 石田真也, 角谷拓, 竹中明夫, 赤坂宗光, 下田路子, 角野康郎, 石井禎基, 高村典子: 長期消長データに基づく水生植物の絶滅リスク評価とため池の保全優先順位付け. 第 60 回日本生態学会大会. 2013 年 3 月 8 日 (静岡)
4. 山野薫, 石井禎基, 秋山純和: クラスタ分析を用いた急性期病院の理学療法部門におけるリスクマネジメントの現状把握. 第 7 回医療の質・安全学会学術集会. 2012 年 11 月 23 日 (さいたま)
5. 石井禎基, 崎田正博, 笹井宣昌, 福田智之, 佐野俊, 前河大輝, 吉岡春香, 土屋禎三: 筋膜連結が膝伸筋に及ぼす作用について. 第 47 回日本理学療法学会大会. 2012 年 5 月 26 日 (神戸)
6. Ishii Y, Sakita M, Sasai N, Tsuchiya T: Functional role of fasciae in a pennate muscle of frog. 第 89 回日本生理学会大会. 2012 年 3 月 30 日 (松本)
7. 崎田正博, 石井禎基, 齊藤貴文, 熊谷秋三: 幼児・学童児の静的立位における足圧中心動揺の各変数正規化方法別に関する妥当性の検討. 第 66 回日本体力医学会大会. 2011 年 9 月 17 日 (下関)
8. 石井禎基, 崎田正博, 笹井宣昌, 土屋禎三: 膝伸筋筋膜の生体内における機能的役割. 第 66 回日本体力医学会大会. 2011 年 9 月 18 日 (下関)
9. 石井禎基, 崎田正博, 笹井宣昌, 土屋禎三: 生体内における筋膜連結の機能的役割 — 膝伸展筋について —. 第 1 回日本基礎理学療法学会学術集会. 2011 年 5 月 26 日 (宮崎)
10. 石井禎基, 笠松大輔, 米井信二, 福田智之, 崎田正博, 笹井宣昌, 土屋禎三: 膝伸展筋における筋膜連結の機能的役割. 第 46 回日本理学療法学会大会. 2011 年 5 月 27 日 (宮崎)
11. Ishii Y, Sakita M, Sasai N, Tsuchiya T: Functional role of fasciae in a whole skeletal muscle of frog. 第 88 回日本生理学会大会. 2011 年 3 月 29 日 (横浜)
12. 石井禎基, 赤阪英樹, 朴浩司, 松本愛香, 丸川達矢, 笹井宣昌, 土屋禎三: 膝伸筋の力学的特性 — 長さ - 張力関係における二峰性 —. 第 45 回日本理学療法学会大会. 2010 年 5 月 27 日 (岐阜)
13. Ishii Y, Matsumoto A, Sasai N, Tsuchiya T: Mechanical properties of extensor muscle in knee joint in a whole muscle preparation of frog.

第 87 回日本生理学会大会. 2010 年 5 月
19 日 (盛岡)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石井 禎基 (ISHII YOSHIKI)
姫路獨協大学・医療保健学部・教授
研究者番号: 40441331

(2) 研究分担者

土屋 禎三 (TSUCHIYA TEIZO)
帝京平成大学・健康メディカル学部・教授
研究者番号: 30091036
(H23→H24: 連携研究者)

笹井 宣昌 (SASAI NOBUAKI)
鈴鹿医療科学大学・保健衛生学部・准教授
研究者番号: 20454762
(H23→H24: 連携研究者)

(3) 連携研究者

崎田 正博 (SAKITA MASAHIRO)
京都橘大学・健康科学部・准教授
研究者番号: 10582190
(H23→H24: 連携研究者)