

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 24 年 5 月 29 日現在

機関番号：24403

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700546

研究課題名（和文） 肉離れの再発要因について

研究課題名（英文）

The factor of muscle strain recurrence

研究代表者

岩田 晃 (IWATA AKIRA)

大阪府立大学・総合リハビリテーション学部・准教授

研究者番号：90382241

研究成果の概要（和文）：

肉離れ損傷の再発率の高さの要因が、損傷時の基底膜の変性にある、との仮説を立て、本研究を実施した。Wistar 系ラットを用いて、電気刺激によって肉離れ損傷を誘発し、免疫組織染色法を用いて、基底膜の観察を行った。その結果、肉離れ損傷によって、基底膜の不整および肥厚が観察された。再生の主役である筋衛星細胞が、基底膜と形質膜の間に存在することを考慮すると、この基底膜の変性が不完全な再生につながり、再発率を高めている可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Background and purpose: Muscle strain is one of the most common soft tissue injuries, and has a high recurrence rate. We hypothesized that damage of the basal lamina of the muscle cells at the injury site causes these re-injuries. The purpose of this study was to determine whether strain injury damages the basal lamina of muscle cells or not.

Methods and results: Eighteen Wistar adult male rats were divided into three groups: strain injury group, contusion injury group, and control group. Two days after injury, the gastrocnemius muscles were removed and the basal lamina and plasma membrane of these muscle cells were identified by immunohistochemical staining using laminine and dystrophin antibodies. The basal lamina of strain injured muscle cells was thick and irregular. The basal lamina ratio (basal lamina area / cross-sectional area) of these muscle cells was significantly larger than those of controls.

Conclusion: The present study indicated that the basal lamina of muscle cells was damaged by strain injury, and these results suggest that the damage of basal lamina may involve inhibition of satellite cell activities and delay the muscle regeneration processes. This may enhance the odds for re-injury.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
総計	1,700,000	510,000	2,210,000

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：肉離れ, 再発, 基底膜

1. 研究開始当初の背景

肉離れは発生頻度が高く、また再発率の高さは特に大きな問題となる。しかし、その治療法や予防法が確立しているとは言い難い。その原因として、なぜ再発率が高いのかという要因が明らかにされていないことが考えられる。

筋損傷を誘発する刺激（打撲、肉離れ、凍傷など）に関わらず、損傷筋の再生が同じメカニズムで起こることが先行研究で示されているが、この点を考慮すると、損傷後の再生過程において肉離れ特有のイベントが起こっていることは考えにくい。そこで、再生過程ではなく、損傷自体に肉離れ固有の特徴があると考え、中でも筋にストレスが加わる方向に着目した。打撲や裂傷など、筋に直接ストレスが加わる場合にストレスが横断的に加えられるのに対して、肉離れは牽引される方向から縦断的にストレスがかかる。縦断的なストレスは、筋の実質部だけでなく、膜組織にも大きな損傷が起こることが考えられる。

筋細胞は筋形質膜と基底膜に包まれていて、この二つの膜の間に再生過程において最も重要な役割を果たす筋サテライト細胞が存在する。先行研究において、打撲に伴う損傷では筋形質膜は破壊されるが、基底膜はほとんど損なわれずに残存することが示されている。損傷筋細胞の再生過程において、筋サテライト細胞が、この基底膜内で増殖、分化、融合することによって進行することを考慮すると、基底膜は再生の足場として非常に重要な役割がある。肉離れによって基底膜の

損傷が起こり易いとすれば、再生に時間が必要となることや、再発率が高い原因として、説明がつく。

2. 研究の目的

肉離れによる膜組織（筋形質膜、基底膜）の損傷の特徴を明らかにすること。

3. 研究の方法

12週齢のWistar系雄ラットを実験動物、対象筋を下腿三頭筋として、肉離れ群、打撲群、コントロール群の3群に分け、筋形質膜と基底膜の特徴について、組織化学的解析により、検討を行った。

損傷方法として、肉離れは、電気刺激によって足関節底屈を起こし、同時に徒手にて背屈を起こす遠心性収縮のモデルにより実施した（図1A）。また、打撲には、錘を自由落下させるDrop Mass Methodを用いて損傷を起こした（図1B）。

損傷2日後に、免疫組織化学的分析として、抗ラミニン抗体、抗ジストロフィン抗体、およびDAPIを用いた3重蛍光染色を行い、光学顕微鏡での観察を実施した。その後、画像解析ソフト（ImageJ）を用いて、肉離れ群およびコントロール群について、細胞面積、抗ラミニン抗体によって染色される基底膜の面積を測定し、さらに、基底膜比（基底膜面積/細胞面積）を算出し、対応の無いt検定を用いて、コントロール群と肉離れ群の比較を行った。

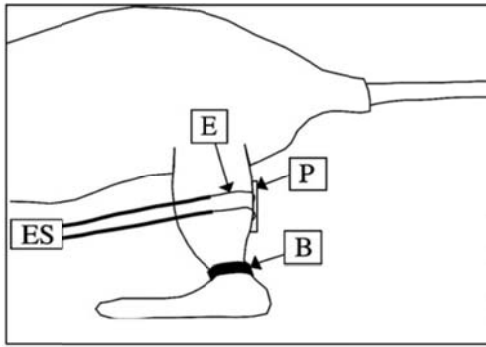


図 1A. 肉離れ損傷誘発装置

ES: 刺激装置, E: 電線, P: プラスチック板,
B: 固定用バンド

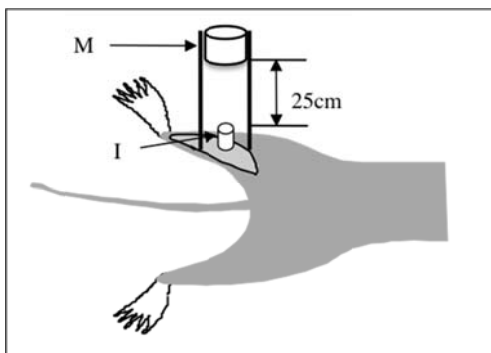


図 1B. 打撲装置

M: 錘 (630g), I: インパクトター

4. 研究成果

先行研究において、肉離れモデルによる筋損傷では、散在性に損傷筋細胞が認められることが示されており、本研究のモデルにおいても同様の結果が得られたことから (図 2A、図 2B)、肉離れが起こっていたことが確認出来た。また、肉離れ筋について免疫組織化学染色によって観察を行った結果、損傷筋細胞の基底膜には肥厚や波打つような不整が観察された (図 2A)。一方、筋形質膜では大きな損傷が観察された (図 2B)。

また、正常筋細胞との比較の結果、筋細胞面積に差が認められず (図 3A)、基底膜面積が有意に大きく (図 3B)、また、細胞面積に

対する基底膜面積の割合が有意に高くなることが確認された (図 3C)。これらの結果から、肉離れによって、基底膜においても何らかの損傷や変性が起こっていることが確認できた。再発率の高さの一要因となる可能性が示唆された。

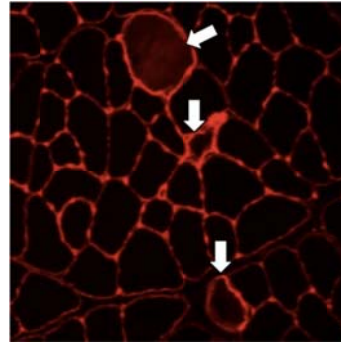


図 2A. ラミニン染色 (基底膜)

矢印: 損傷筋細胞

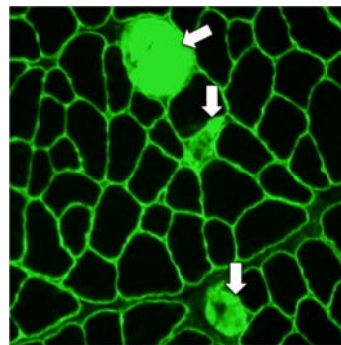


図 2A. ジストロフィン染色 (筋形質膜)

矢印: 損傷筋細胞

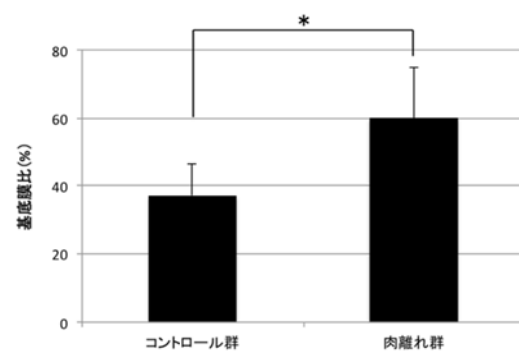


図 3. 基底膜比の比較

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 2 件)

- ① 岩田晃, 野中紘士、上勝也、肉離れ損傷における基底膜の特徴 -ラットを用いた基礎的研究 -、Journal of Rehabilitation and Health Science、査読有、(in press)
- ② 岩田晃, 野中紘士、樋口由美、木村大輔、上勝也、筋損傷に関する臨床研究の成果と今後の課題、理学療法、査読無、27 巻、2010、838-845

[学会発表] (計 2 件)

- ① 岩田晃、野中紘士、ラット肉離れモデルにおける筋形質膜、基底膜の組織学的検討、第 47 回日本理学療法学術大会、2012 年、5 月 27 日、神戸
- ② 岩田晃、筋から考える臨床、第 1 回大阪府南河内ブロック学術大会、2011 年、2 月 13 日、大阪

6. 研究組織

(1)研究代表者

岩田 晃 (IWATA AKIRA) 大阪府立大学・総合リハビリテーション学部・准教授

研究者番号 : 90382241