

理学療法基礎系 18

707 熱刺激がラット廃用性筋萎縮の回復過程に与える影響

— 後肢懸垂モデルの再荷重時における組織病理学的変化から —

片岡英樹¹⁾, 中野治郎²⁾, 吉川紗智¹⁾, 渡部由香³⁾, 坂本淳哉¹⁾, 沖田 実⁴⁾, 吉村俊朗(MD)²⁾

1) 長崎記念病院リハビリテーション部, 2) 長崎大学医学部保健学科, 3) 春回会訪問看護ステーションひまわり
4) 星城大学リハビリテーション部

key words 廃用性筋萎縮・熱刺激・荷重

【目的】 日常の臨床において、安静臥床直後の立位訓練は安易に行われているが、動物実験による知見では、進行した廃用性筋萎縮筋に荷重を行うと筋損傷が惹起されたという報告もなされている。一方、これまで我々は熱刺激で誘導される Heat shock protein(Hsp)72のタンパク質合成促進作用に着目し、それによる廃用性筋萎縮の進行抑制効果について報告してきた。このHsp72は、タンパク質合成を促進するだけでなく、変性タンパク質を修復し細胞の機能保全にも重要な役割を果たす。したがって、廃用性筋萎縮筋に荷重を行う際、事前に熱刺激を負荷すれば筋線維肥大促進と筋損傷予防の両面で有益な効果が期待できる。そこで今回、ラット後肢懸垂モデルのヒラメ筋に熱刺激を負荷した後、再荷重し、その後生じる筋線維の変化を組織病理学的に検討した。

【対象と方法】 実験動物には7週齢のWistar系雄ラットを用い、対照群と実験群に振り分けた。実験群には後肢懸垂法(HS)を実施し、ヒラメ筋に廃用性筋萎縮を惹起させた。そしてHS期間終了後、実験群をさらに1)HSのみの群(HS群)、2)再荷重し5日間通常飼育する群(HS+R群)、4)熱刺激を負荷した後、再荷重し5日間通常飼育する群(HSH+R群)に振り分けた。HSの期間は1週間と2週間に設定し、熱刺激の負荷はHS終了2日前に両下肢を42℃の温水に1時間浸漬する方法で実施した。実験終了後、両側ヒラメ筋から凍結横断切片を作成し、HE染色、ATPase染色を施した後、検鏡した。定量解析として、タイプ別の筋線維直径と壊死線維数、中心核線維数を測定した。なお、

本実験は長崎大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。

【結果】 1週間のHSでは、すべての群において筋線維萎縮以外の病理所見は殆ど認められなかった。各タイプの平均筋線維直径を比較すると、HS群に比べHS+R群、HSH+R群は有意に高値を示し、HSH+R群はHS+R群よりも有意に高値を示した。次に、2週間のHSでは、HS+R群、HSH+R群において浮腫や筋線維の大小不同が認められ、その程度はHSH+R群の方が軽度であった。また、HS+R群の壊死線維、中心核線維はHS群、HSH+R群のそれよりも有意に多く、HS群とHSH+R群は変わらなかった。各タイプの平均筋線維直径を比較すると、HS群とHS+R群の間には有意差はなく、これらの2群と比較してHSH+R群は有意に高値を示した。

【考察】 今回、無荷重により惹起したラットヒラメ筋の廃用性筋萎縮筋に荷重を行う際、あらかじめ熱刺激を負荷すれば壊死線維や中心核線維の出現が抑えられた。また、熱刺激による筋線維萎縮の回復促進効果も認められた。これらの効果は、熱刺激により筋細胞内に誘導されたHsp72が荷重による筋損傷を防ぎ、加えて、タンパク質合成を促進したものと推察される。しかし、再荷重後に生じる筋組織内の浮腫が熱刺激により軽減したことに関してはHsp72のみでは説明できず、その他の要因について検討する必要がある。

理学療法基礎系 18

708 ギプス固定終了後の再荷重によって起こるラットヒラメ筋の筋線維損傷に対する熱刺激の影響

坂野裕洋¹⁾, 沖田 実¹⁾, 井上貴行²⁾, 鈴木重行²⁾

1) 星城大学リハビリテーション学部, 2) 名古屋大学院医学系研究科

key words 再荷重・筋線維損傷・熱刺激

【目的】 St. Pierreらは、後肢懸垂後の再荷重によってラットヒラメ筋に筋線維損傷が発生すると報告しており、共同演者もラット後肢のギプス固定終了後に再荷重を行うと筋線維損傷が発生すると報告している。また、ギプス固定などで廃用性筋萎縮を呈した症例でも過度な運動負荷や歩行訓練後に筋痛が発生することがあり、これは上記の所見と関連していると思われる。一方、非致死的なストレスが一端暴露された骨格筋はその後に致死的なストレスが加わっても細胞障害は軽度であるといわれ、この細胞防御に作用するのがHeat shock protein (Hsp) 70で、これは熱によって最も発現する。すなわち、後肢懸垂やギプス固定終了後の再荷重前に熱刺激によってHsp70を大量に発現させ得れば、その後起こる筋線維損傷の発生を予防できるのではないかと仮説できる。そこで、本研究では4週間のラット後肢のギプス固定モデルを用い、この仮説を検証した。

【方法】 8週齢のWistar系雄ラットを対照群と実験群に分け、実験群は両側足関節を最大底屈位で4週間ギプス固定し、以下の2群を設定した。すなわち、ギプス固定終了の2日前に麻醉下で41℃の全身温熱暴露を60分間行い、固定期間終了後、3日間再荷重する群(熱刺激群)と全身温熱暴露は行わず、同様に3日間再荷重する群(再荷重群)である。実験終了後は、ヒラメ筋を採取し、試料の一部は凍結切片とし、H&E染色を施した後、病理学的検索と筋線維横断面積の計測を行った。また、試料の一部はWestern blot法でHsp70含有量を定量した。なお、本実験は星城大学が定める動物実験指針に準じて行った。

【結果】 病理所見として、再荷重群は筋細胞の円形化や壊死線維、

間質の拡大や間質での単核細胞の増加などが多く認められたが、熱刺激群はこれらの所見は軽度で、壊死線維数も再荷重群より有意に低値であった。また、再荷重群の筋線維横断面積は熱刺激群より有意に高値を示した。一方、Hsp70含有量は再荷重群と熱刺激群に有意差を認めなかった。

【考察】 再荷重群は筋細胞が円形化し、筋線維横断面積も熱刺激群より有意に高値を示したことから浮腫の発生が窺われ、加えて、壊死の発生も顕著であった。したがって、ギプス固定終了後に再荷重を行うと筋線維損傷が発生することは明らかである。一方、熱刺激群はこれらの所見は軽度で、壊死線維数も自然回復群より有意に低値であった。つまり、再荷重を開始する前に骨格筋に熱刺激を暴露すると筋線維損傷の発生をある程度抑えることが可能であると思われる。また、Hsp70の発現量は熱刺激を暴露した2日後に最大となると報告されており、今回の実験ではこれを参考にギプス固定終了時にHsp70が最大となるよう熱刺激を暴露した。そのため、再荷重群と熱刺激群のHsp70含有量に有意差を認めなかったと思われ、今後はギプス固定終了時のHsp70含有量についても検討する必要があると思われる。