

## 理学療法基礎系 6

### 465 マウスの坐骨神経切断後に生じる足底踵部の褥瘡様皮膚損傷

小形晶子<sup>1)2)</sup>, 八田京子<sup>3)</sup>, 栢原哲郎<sup>1)</sup>, 三木明德(MD)<sup>4)</sup>

1) 神戸学院大学総合リハビリテーション学部医療リハビリテーション学科, 2) 神戸大学大学院医学系研究科保健学専攻, 3) 神戸海星病院  
4) 神戸大学医学部保健学科

**key words** 褥瘡・褥瘡モデル・マウス

【目的】褥瘡は長期臥床者や、脊髄損傷や糖尿病による末梢神経障害などを持つ患者に多く発生し様々な治療が行われているが、有効な治療法は確立されていない。物理療法や運動療法などは褥瘡の予防や治療法の1つとして効果が期待されているが、まだ十分な検証は行われていない。我々の研究グループで神経再生や脱神経による筋の廃用性萎縮に関する実験を行ったところ、坐骨神経を挫滅または切断したマウスでは、高頻度に足底踵部に褥瘡様の皮膚傷害が観察された。そこで今回、マウスの坐骨神経を切断し姿勢や歩行を観察するとともに、損傷が生じた足底踵部皮膚を光学顕微鏡で観察し、皮膚損傷の原因を調べた。

【方法】 ddY系雄マウスを6匹使用した。麻酔した後、左坐骨神経を大腿中央部付近で切断した。坐骨神経切断5日後と7日後に、マウスをアクリル製ケースに1匹ずつ入れ、底面と側面から静止時と歩行時の左右の足底の接地状態をデジタルビデオカメラを用いて記録し足底皮膚を撮影した。その後マウスを4%パラホルムアルデヒドと2.5%グルタルアルデヒドの混液で灌流固定して足底踵部の皮膚を採取し、1%四酸化オスミウム溶液で後固定しエポキシ系樹脂に包埋した。厚さ1 $\mu$ mの皮膚横断切片を作製し1%トルイジンブルーで染色した後、光学顕微鏡にて観察した。

【結果】マウスの姿勢と歩行の観察では、健側の足底踵部は静止時でも歩行時でも常に床から離れているが、坐骨神経切断側では足底踵部は常に床に接地しており常時圧迫された状態になっていた。切断後5日目頃から切断側の足底踵部に皮膚の発赤や

表皮の剥離が始まり、7日後では足底全体に顕著な腫脹が見られた。光学顕微鏡で観察すると、切断後7日目には最も圧迫される部分の表皮層で膨化変性した細胞が観察された。また、健側の同部位に比べて表皮や真皮が肥厚し、繊維芽細胞が増加しており、トルイジンブルーに濃染される小型球形細胞が多数認められた。

【考察】マウスの足底踵部は表皮が薄く、皮下組織も少ない有毛型皮膚で通常では接地しない部位である。坐骨神経切断によって下肢の骨格筋が麻痺し、この部位に体重がかかり摩擦や衝撃も加わるようになることが、高頻度で皮膚損傷が起こる主な理由であると思われる。神経切断後の表皮層の膨化変性した細胞は、圧迫によって表皮細胞が壊死に陥ったものと考えられる。真皮全層に見られた小型球形細胞はマクロファージや好中球、リンパ球などの炎症性細胞であろうと思われる。これらの形態学的変化は褥瘡でみられる病変と非常によく似ていた。今回の実験で行った方法は、これまで提唱されている褥瘡モデルと異なり、皮膚損傷を作る部位には人為的処置を加えていないことから、神経傷害を持つ患者に起こりやすい褥瘡の発症プロセスにより近いモデルであり、褥瘡の発生機序や治療効果を検証する上で、1つの実験モデルとして利用できる可能性がある。

## 理学療法基礎系 6

### 466 培養骨格筋細胞に電気刺激を与えると p70S6k がリン酸化される

西浜かすり<sup>1)</sup>, 服部真里<sup>2)</sup>, 岩田全広<sup>3)</sup>, 平澤 純<sup>4)</sup>, 鈴木重行<sup>1)</sup>

1) 名古屋大学大学院医学系研究科リハビリテーション療法学専攻, 2) 名古屋大学医学部保健学科理学療法学専攻  
3) 広島大学大学院保健学研究科保健学専攻, 4) 公立陶生病院中央リハビリテーション部

**key words** 電気刺激・培養骨格筋細胞・筋肥大

【目的】骨格筋を肥大させる刺激のひとつに電気刺激がある。しかし、電気刺激がどのようにして筋肥大を引き起こすか、その分子メカニズムは明らかにされていない。我々は先行研究において、培養骨格筋細胞に電気刺激を与えることができる実験システムを構築し、電気刺激により筋肥大が起こることを確認した。さらに、その筋肥大の分子メカニズムが、細胞内のタンパク質キナーゼである mammalian target of rapamycin (mTOR) を介して引き起こされることまでを明らかにした(第41回日本理学療法学会)。しかし、骨格筋に電気刺激を与えると、なぜ筋肥大が起こるのか、その詳細なメカニズムの解明にはまだ至っていない。一方、成長因子のひとつである insulin-like growth factor 1 (IGF-1) による筋肥大については、IGF-1 により mTOR を介して蛋白質合成を亢進させる p70 S6 kinase (p70S6k) がリン酸化されることが重要であると考えられている。そこで電気刺激による筋肥大と mTOR / p70S6k 経路の関連について探るため、電気刺激による培養骨格筋細胞の p70S6k のリン酸化と、その p70S6k のリン酸化への mTOR の関与について検討した。

【材料と方法】培養骨格筋細胞はマウス骨格筋由来の筋芽細胞株 C2C12 を用いた。細胞外基質である collagen type I をコーティングした細胞培養皿に筋芽細胞を播種し、筋管細胞に分化させた。電気刺激は培養開始後 7 日目の筋管細胞に与えた。刺激条件は 100 Hz のバースト波、刺激持続時間 0.2 msec、刺激頻度 1 pulse / sec、電圧 50 V、刺激時間 60 分とした。対照群は同じ期間に電気刺激を与えず、通常培養した細胞とした。p70S6k のリ

ン酸化の指標は、刺激終了直後、5、10、15、30、60 分後の細胞の全抽出物を電気泳動した後、western blot 法にて全 p70S6k とリン酸化 p70S6k を検出し、全 p70S6k の検出値に対するリン酸化 p70S6k の検出値の割合(リン酸化 p70S6k / 全 p70S6k)を算出したものとした。

【結果】リン酸化 p70S6k / 全 p70S6k は対照群に比較して電気刺激終了直後で約 1.8 倍に増加し、5-15 分後までその傾向は維持され、30 分後には対照群のレベルまで減少した。

【考察】今回、培養骨格筋細胞の p70S6k は電気刺激によりリン酸化されることが分かった。今後、mTOR / p70S6k 経路の不活化が電気刺激による筋肥大を抑制するか確かめたい。以上のような筋肥大に関わる分子メカニズムが明らかにされることは、筋力低下の予防や筋力増強のための科学的根拠に基づく効果的で効率的な理学療法の開発に繋がると考える。