

理学療法基礎系 6

467 伸張性収縮を負荷したモデルラットにおける筋痛発現時期の検討

馬渡敬介¹⁾, 鈴木勝也²⁾, 鈴木重行²⁾

1) 名古屋大学医学部保健学科学療法学専攻, 2) 名古屋大学大学院医学系研究科

key words 遅発性筋痛 (DOMS)・伸張性収縮・圧痛閾値

【目的】激しい運動や、慣れない運動をした際に生じる筋肉痛(遅発性筋痛: 以下DOMS)は圧痛を主な特徴とし、その痛みは運動後数時間から24時間で発現し、約48時間後にピークを迎え、5~7日後に消失すると報告されている。DOMSのメカニズムは未だ不明であるが、ラットに伸張性収縮(Eccentric Contraction: 以下ECC)を負荷することで、DOMSの特徴である圧痛が出現することが報告されている。しかし、このモデルラットの筋痛の発現時期は運動負荷当日の圧痛閾値の変化を検討していないため不明である。そこで本研究はDOMSのメカニズム解明に有用なモデルであるかを検証するために、ECC運動負荷後の筋痛発現時期について行動学的、免疫組織化学的手法を用いて検討することとした。

【方法】本実験は名古屋大学医学部動物実験倫理委員会の許可を得て行った。実験には7週齢のSD雄性ラットを用いた。ECC運動負荷はラットに対し麻酔下で絶縁針電極を経皮的に坐骨神経(+極)と総腓骨神経(-極)の近傍に刺入し、繰り返し電気刺激を与えて長趾伸筋(以下、EDL)を収縮させると同時に、小動物用他動運動装置を用いて足関節を底屈方向に動かすことによって負荷した。行動学的実験では運動負荷をしたECC群(n=6)と、繰り返し伸張のみを行ったSHAM群(n=6)の2群に分け、Randall・Selitto式鎮痛効果測定装置を用いて運動終了から2時間ごとにEDLの圧痛閾値を測定した。免疫組織化学の実験では、運動後EDLに圧迫刺激を行い、その2時間後にラットを灌流固定し、L4部の脊髄後角表層に発現するc-Fos陽性細胞の発現を調べた。

【結果】行動学的実験では、圧痛閾値がECC群において運動負荷8時間後から有意に低下し、24,48時間後にピークを迎え、7日後に消失した。免疫組織化学の実験では、運動負荷4時間後と比較して6時間後でc-Fos陽性細胞の増加傾向がみられた。

【考察・まとめ】行動学的実験の結果から、ECC運動負荷1~7日後まで先行研究と同様の経過を示しており、モデルラットの作成が確認された。一方、運動負荷6時間後までは圧痛閾値の低下は確認されなかった。また免疫組織化学の実験において、約6時間後で細胞数の増加がみられたことから、圧痛の発現は遅発性のものであることが示唆された。このことより、このモデルラットは筋痛が遅れて発現するというDOMSの特徴と一致するため、DOMSモデルとして適切であると考えられた。しかし、行動学的実験と免疫組織化学の実験の結果は完全には一致せずに時間的なずれが生じていた。脊髄後角2次ニューロンにおけるc-Fos陽性細胞の発現と痛み行動の間にどのような関連があるのか、今後検討が必要である。

理学療法基礎系 6

468 伸張刺激による培養骨格筋細胞肥大の分子メカニズム

— MEK/ERK 経路を抑制しても筋細胞が肥大した —

笹井宣昌¹⁾, 縣 信秀¹⁾, 宮津真寿美¹⁾, 河上敬介¹⁾, 早川公英²⁾, 小林邦彦³⁾

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) 科学技術振興機構・SORST・細胞力覚プロジェクト
3) 中部大学生命健康科学部生命医科学科

key words 筋肥大・伸張刺激・培養細胞

【目的】適度な運動により骨格筋が肥大して、筋力が増強される。運動中、筋が収縮すると、収縮力に対する応力(張力)が筋に働く。この張力が筋肥大を引き起こすことに重要であると考えられる。しかし、その分子メカニズムは十分に解明されていない。既に我々は、培養骨格筋細胞の伸張刺激による肥大モデルにおいて、phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/target of rapamycin 経路は関与するが、calcineurin/nuclear factor of activated T cells 経路の関与は小さいことを明らかにした。他に関与が予想される経路としてはMEK/ERK経路が挙げられる。MEK阻害により機械刺激負荷による心筋肥大が抑制される事や、運動した筋組織で同経路が活性化することが示されている。今回、本実験系におけるMEK/ERK経路の関与について検討した。

【方法】鶏胚胸筋由来の筋芽細胞を、collagen type I をコートした薄いシリコン膜上に初代培養した。筋線維様に成長した筋細胞(筋管細胞)が一定方向に並ぶように工夫をした。筋管細胞に、その長軸方向の周期的伸張刺激(周期1/6 Hz、伸張率10%)を、培養5日目から72時間加えて伸張群とした。同じ期間に、伸張刺激を加えず培養した細胞を対照群とした。各群と、それぞれにMEKの阻害剤U0126(10 μM)を加えた群の計4群における筋管直径を、次の手順で計測した。4%パラフォルムアルデヒドで固定した細胞の位相差顕微鏡像を、デジタルカメラで、シリコン膜全域に亘り任意に撮影した。画像解析ソフトScion imageを用いて、画像における任意の筋管直径を、可能な限り多く計測した。

【結果】対照群の筋管直径が $13.0 \pm 4.8 \mu\text{m}$ (mean \pm SD 以下略, n = 168) に対し、伸張群の筋管直径は $14.9 \pm 5.1 \mu\text{m}$ (n = 172) であり、伸張刺激により筋管細胞が肥大した。阻害剤を加えた場合、対照群の筋管直径は $16.7 \pm 7.5 \mu\text{m}$ (n = 146)、伸張群の筋管直径は $19.4 \pm 9.1 \mu\text{m}$ (n = 185) であり、共に阻害剤を加えない場合より肥大した(p < 0.05)。この阻害剤による効果は、両群で同じ程度であった。つまり阻害剤により、伸張刺激による肥大は影響されなかった(p < 0.05)。

【考察】今回の伸張刺激による筋管細胞肥大において、MEK/ERK 経路の関与は小さい。また同経路が、伸張刺激に関わらず筋管細胞肥大に抑制的に働くことが示唆された。機械的負荷による骨格筋肥大の分子メカニズムを明らかにすることは、科学的根拠に基づく筋力増強や筋力低下を抑制する方法を開発することにつながると思われる。

【略称】MEK: mitogen-activated protein kinase/ERK kinase, ERK: extracellular signal-regulated kinase