



ラット骨格筋再生過程における歩行動作と筋組織の特徴

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2009-08-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 岩田, 晃, 上, 勝也 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24729/00005780

速報

ラット骨格筋再生過程における歩行動作と筋組織の特徴

岩田 晃¹, 上 勝也²

¹大阪府立大学総合リハビリテーション学部理学療法学専攻
583-8555 大阪府羽曳野市はびきの3-7-30

²大阪体育大学大学院 スポーツ科学研究科
590-0496 大阪府泉南郡熊取町朝代台1-1

受付: 2005年9月30日, 受理: 2005年12月5日

Characteristics of Locomotion and Muscle Tissue in the Rats' Regeneration of Skeletal Muscle

Akira IWATA¹ and Katsuya KAMI²

¹Department of Physical Therapy, Faculty of Comprehensive Rehabilitation, Osaka Prefecture University, 3-7-30 Habikino, Habikino-city, Osaka 583-8555, Japan

²Department of Health Science, Osaka University of Health and Sports Sciences, 1-1 Asashirodai, Kumatori-cho, Sennan-gun, Osaka 590-0496, Japan

Received September 30, 2005; accepted December 5, 2005

Key words: ラット; 歩行動作; 筋損傷; 再生; 筋組織

1 はじめに

ラットの骨格筋損傷は、その動作にも影響を及ぼすと考えられるが、損傷筋を対象とした研究は組織・細胞レベルでの検討が多く^{1,2}、動作レベルの変化に着目した研究はあまり行われていない。また、損傷後の再生過程における組織・細胞と動作の関係について明らかにする研究は行われていない。そこで本実験は、ラットの骨格筋損傷の再生段階での歩行動作と筋組織の特徴を捉えること、およびその両者の関係について明らかにすることを目的として行った。

2 方法

2.1 実験動物および条件

9週齢ウイスター系雄ラット15匹を実験動物とし、損傷群4群(損傷2日後, 1週間後, 2週間後, 3週間後)およびコントロール群の計5群に分け、各群3匹にて実験を行った。また、本実験にて用いたラットは日本生理学会の定める動物実験に関する基本方針に従い取り扱った。

2.2 筋損傷

筋の損傷には、直径1 cm, 質量640 gの鉄製の重りを高さ25 cmから自由落下させるマス・ドロップ法³を用い、左下腿三頭筋を対象筋とした(Fig. 1)。

2.3 歩行動作分析

ラットの正常歩行速度とされる分速20 mにトレッドミルを設定し⁴、ラットを歩行させ、2方向からハイスピー

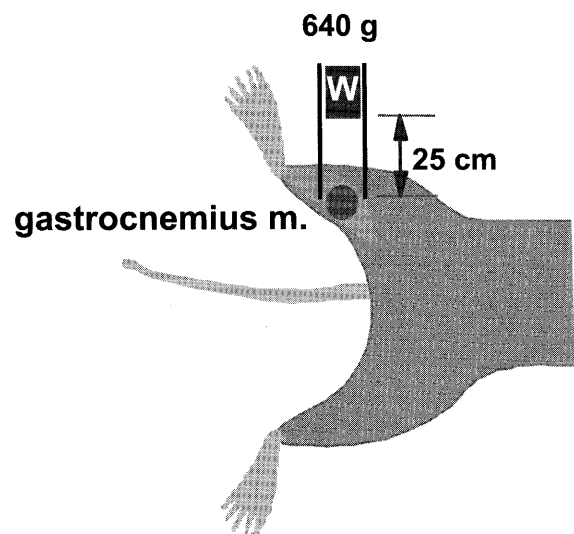


Fig. 1 マス・ドロップ法

¹連絡著者 E-mail: iwata@rehab.osakafu-u.ac.jp

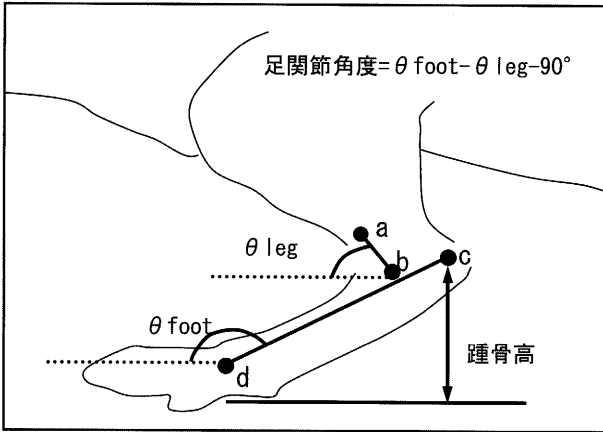


Fig. 2 足関節角度および踵骨高

ドカメラ (200 images/sec) 2台を用いて、それぞれ5秒間撮影した。撮影の際には先行研究⁵と同様に三次元解析のため左下肢の下腿外側 (a)、外果 (b)、踵骨 (c)、第4中足骨 (d) の計4点にカラーペンを用いてマーキングを行った。解析には三次元解析ソフト (ToMoCo, 東総システム社) を用いた。足関節角度は、踵骨、第4中足骨を結ぶ線と水平線をなす角を足部角度 ($\theta \text{ foot}$)、下腿外側、外果を結ぶ線と水平線のなす角を下腿角度 ($\theta \text{ leg}$) とし、足部角度から下腿角度及び 90° を除算した値とした。足関節角度は、負の値ならば足関節は底屈位、正の値ならば背屈位であることを表している。踵骨高は床から踵骨までの垂直距離とした (Fig. 2)。また、ラットの正常歩行といわれている⁶立脚相の時間が150 msから400 msを外れた場合や、両側後肢が同時に地面を離れるいわゆるギャロップやトロットになった場合は解析の対象

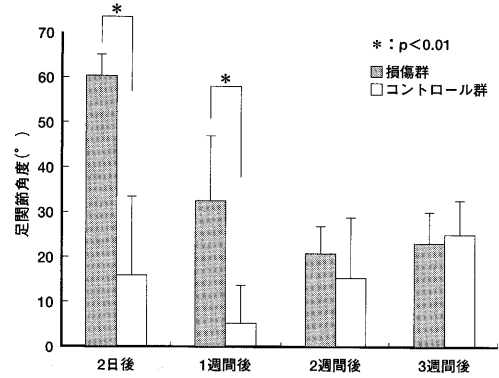


Fig. 3 最大背屈角度

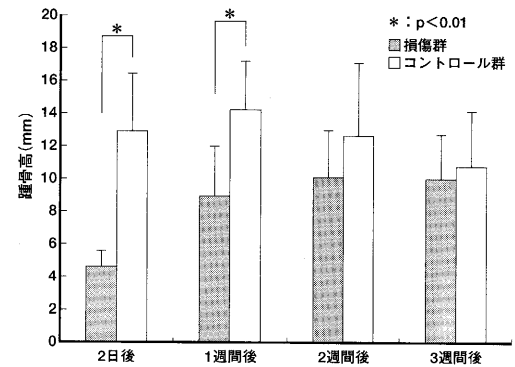


Fig. 4 最小踵骨高

から除外した。

解析された全ての歩行周期における立脚期での足関節最大背屈角度および最小踵骨高の平均値について、対応のない t 検定を用いて損傷群とコントロール群の2群間の比較を行い、危険率1%をもって有意とした。また、損傷群のこれらの項目についての値がコントロール群の

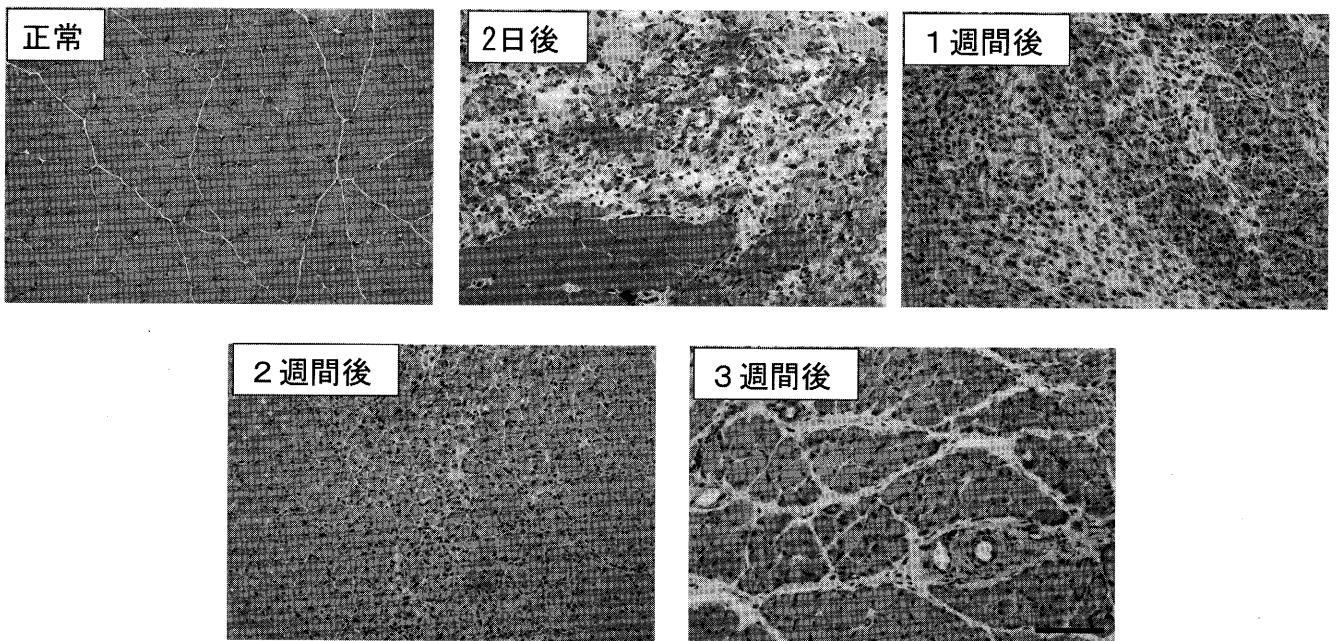


Fig. 5 筋組織 (×50)

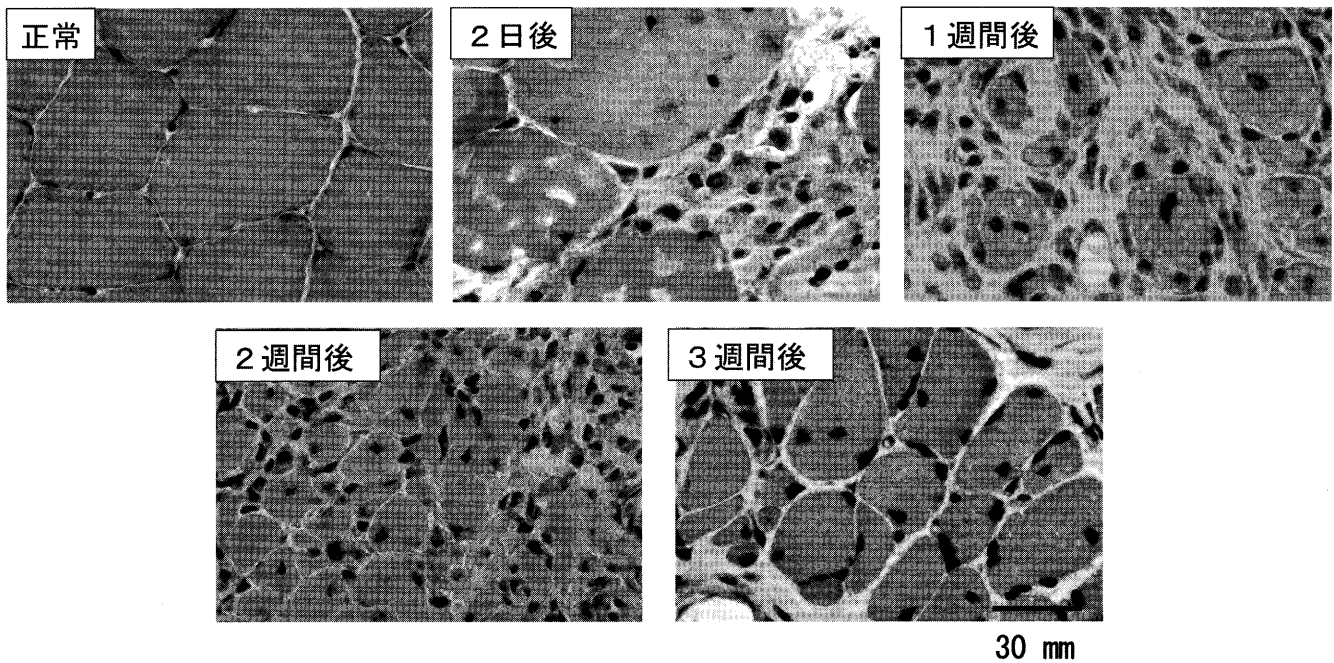


Fig. 6 筋組織 (×200)

平均値±1SD以内に戻った場合を正常と定義した。

2.4 筋組織

それぞれの時期に解剖によって両側の下腿三頭筋を摘出し、ヘマトキシリン&エオジン⁷によって染色し、光学顕微鏡を用いて筋組織の観察を行った。

3 結果

3.1 足関節角度の比較

立脚期における足関節角度の背屈角度の最大値は、損傷2日後および1週間後には損傷群はコントロール群と比較し有意に高い値を示したが、2週間後、3週間後には有意な差は認められなかった (Fig. 3)。また、2週間後、3週間後には、損傷群の最大背屈角度の平均値が、コントロール群の平均値+1SD以内に回復した。

3.2 踵骨高の比較

立脚期における踵骨高の最小値は、2日後、1週間後では損傷群はコントロール群と比較し有意に低い値を示したが、2週間後、3週間後には有意な差は認められなかった (Fig. 4)。また、2週間後、3週間後には、損傷群の最小踵骨高の平均値が、コントロール群の平均値-1SD以内に回復した。

3.3 筋組織の比較

弱拡大 (50倍) では、損傷2日後は、壊死せずに残ったいわゆるsurviving fiberも観察されるが、全体的には激しい筋線維の壊死が認められた。1週間後には再生筋細胞が認められ、2週間後にはこの細胞数の増加が観察さ

れた。3週間後になると、再生筋細胞数が更に増加し、筋周膜がはっきりと形成されてくるが、コントロール群と比較すると結合組織の増殖が観察された (Fig. 5)。

強拡大 (200倍) では、損傷2日後に多くの単核細胞が観察された。1週間後には細胞の中心に核を持つ筋管細胞が現れるが、この細胞のサイズは不均一で、細胞間隙も広いことが観察された。2週間後には1週間後と比較すると筋管細胞のサイズの均一化や細胞間隙の狭小化が進むが、3週間経過後もサイズの不均一や細胞間隙の広がりには残っていた (Fig. 6)。

4 考察

歩行動作分析において、損傷2日、1週間後に最大背屈角度の増加と最小踵骨高の低下が認められたのは、筋損傷によって下腿三頭筋の発揮張力が低下した結果、荷重反応期に自分の体重を支えることが出来なかったためだと考えられる。この傾向が2週間、3週間後には改善され、歩行動作が正常化したのは、荷重反応期に自重を支えられる程度にまで発揮張力が回復していることを表している。このように経時的にラットの歩行動作を捉えることが可能であることから、足関節角度および踵骨高を観察することは、下腿三頭筋損傷後の歩行動作の特徴を捉える際には有効な手段であることが示唆された。

一方で、筋組織の分析における損傷2日後には多くの核が観察されるが、これらはおそらく好中球やマクロファージなどの単核細胞であると考えられ、打撲によって

強い損傷が起こったことが推察された。また、3週間後には、筋管細胞が観察されること、筋細胞のサイズが不均一であること、細胞間隙が広いこと、筋周膜が肥厚していることなどから、筋組織の再生が十分に完了していないことが明らかになった。

このように歩行動作は損傷2、3週間後には正常に回復していたが、筋組織は3週間経過後も再生が完了していなかったことから、歩行動作の正常化は筋組織の完全な再生に先行して起こることが明らかとなった。これは、組織・細胞が完全に再生していなくてもある程度の張力を発揮できるということを表している。一方で、完全に再生していない組織・細胞は、様々な刺激に対して脆弱であることが推測されるため、動作の正常化から再生を判断することは危険を伴う可能性があると考えられる。

文献

- 1 Järvinen TA, Järvinen TL, Kääriäinen M, et al. (2005) Muscle injuries: biology and treatment. *Am J Sports Med*, 33:745-764.
- 2 上勝也 (2002) 骨格筋の適応変化. *バイオメカニクス研究*, 6:208-219.
- 3 Kami K, Senba E (2002) In vivo activation of STAT3 signaling in satellite cells and myofibers in regenerating rat skeletal muscles. *J Histochem Cytochem*, 50:1579-1589.
- 4 Gillis GB, Biewener AA (2001) Hindlimb muscle function in relation to speed and gait: in vivo patterns of strain and activation in a hip and knee extensor of the rat. *J Exp Biol*, 204:2717-2731.
- 5 Varejão AS, Cabrita AM, Meek MF (2003) Ankle kinematics to evaluate functional recovery in crushed rat sciatic nerve. *Muscle Nerve*, 27:706-714.
- 6 Varejão AS, Cabrita AM, Meek MF (2002) Motion of the foot and ankle during the stance phase in rats. *Muscle Nerve*, 26:630-635.
- 7 埜中征哉 (1999) “臨床のための筋病理”, 日本医事新報社, 東京, p.2-39.