

ラット後肢ギプス固定における Cross-Education が骨格筋に及ぼす影響

鈴木 英樹* 北浦 孝**

* 保健体育講座

** 福山大学経済学部

Effects of Cross-Education on Skeletal Muscles of Cast-Immobilized Hindlimb Leg in Rats

Hideki SUZUKI* and Takashi KITAURA**

**Department of Health and Physical Education, Aichi University of Education, Kariya 448-8542, Japan*

***Faculty of Economics, Fukuyama University, Fukuyama 729-0292, Japan*

Abstract

Cross-education is defined as the performance improvement in the untrained limb after unilateral exercise training. We investigated whether cross-education action prevents muscle atrophy during casted-immobilization in rat hindlimb muscles. Adult male F344 rats were assigned to unilateral immobilization control (IM) and unilateral immobilization with exercise (IMEX) groups. The right hindlimb of the rat in both groups was fixed in a natural position with a cast. Rats of the IMEX group performed an isometric contraction exercise in which the body was supported in an inclined tube. After two weeks of immobilization and exercise, the hindlimb muscles were removed and the muscle weights were compared.

In both groups, hindlimb muscle mass on the immobilized side was decreased compared to the free side. The relative weights of most muscles on the immobilized side were higher in the IMEX group than in the IM group. However, in the slow-twitch soleus muscle, no differences in the relative weight of the immobilized side were observed between the two groups. These results suggested that cross-education action may prevent muscle atrophy during casted immobilization and that its action differs among skeletal muscles.

キーワード：クロスエデュケーション, ギプス固定, 筋萎縮, ラット

Keywords : Cross-education, Casted-immobilization, Muscle atrophy, rat

I 緒言

Cross-educationとは、片側の筋力トレーニングにより、対側の非トレーニング肢の同種の筋の筋力が増加する現象であり、Scriptureら（1894）により初めて報告された。それらを媒介すると考えられる神経メカニズムは完全には解明されてはいないが、皮質脊髄興奮性の増加、皮質抑制の減少、半球間抑制の減少、随意活性化の変化および新たな皮質部位の活性化等の中枢神経などの変化による可能性が高いと考えられている（Carroll et al. 2006, 2008, Frazer et al. 2018）。一方で、Cross-education に関しては、随意動的収縮、伸張性収縮、電気刺激、全身振動、さらに最近ではミ

ラーフィードバックトレーニングを含む様々な活動刺激により、筋力だけでなく筋形態における変化も確認されている（Frazer et al. 2018）。

これまでにCross-educationの臨床応用を目的とした研究がヒトを対象に行われており、片側肢のトレーニングにより固定された対側の手足の筋力低下を軽減し、筋サイズの低下の抑制についても報告がなされている（Andrushko et al. 2018, Farthing 2009, Magnus et al. 2013, Papandreou et al. 2013, Pearce et al. 2013）。しかし、手足を動かす骨格筋は複数あるにもかかわらず、異なる骨格筋間におけるCross-educationの影響は検討されていない。これは、ヒトを対象にした研究では、筋を個別に観察できない方法上の限界の

ためと考えられる。一方で、動物実験を用いた研究において、固定による骨格筋の萎縮は筋の種類によって異なることが知られていることから（辻本と鈴木2023）、Cross-educationによる固定脚の骨格筋の萎縮の抑制作用も、骨格筋の種類によって異なる可能性が考えられる。

そこで、本研究では、実験動物を用いて、片側に後肢固定を行い、対側に運動負荷を課してCross-educationによる筋萎縮の抑制作用が骨格筋間で異なるかを検討した。

II 方法

実験動物として9週齢のFischer344系雄ラット（日本クレア社）を用いた。飼育は室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ 、昼夜逆転12時間の明暗サイクルの環境下にて一週間の予備飼育を行った。飼料は固形飼料CE-2（日本クレア株式会社）を用い、飲水ともに24時間自由摂取とした。実験手順と動物の飼育・管理は、愛知教育大学動物委員会の承諾を得て、1964年のヘルシンキ宣言にも基づく日本生理学会の生理学領域における「動物実験に関する基本指針」（日本生理学会2002）に従って行われた。

予備飼育後の10週齢時に、群間の体重の平均が等しくなるように右側後肢固定群（Immobilized group: IMM群）及び右側後肢固定+運動群（Immobilized and exercised group: IMEX群）の二群（各群 $n=5$ ）に分けた。固定はBooth and Kelseo (1973)の方法に従い、麻酔下の弛緩した状態で後肢の膝関節と足関節に包帯式ギプス（スコットキャスト：3M社）を用いて行った。全てのラットの固定時の足関節角度を揃えるため、底屈位10度になるように紙粘土で作成した副木を用いて固定を行った。運動はExner et al.(1973)の方法に従い、金網で作成したチューブ内にラットを入れ、ずり落ちないように体支持をする等尺性運動を行った（Fig. 1）。なお、本研究では固定した脚の指先が使用できないようにするために、つま先まで包帯式ギプスで覆った。用いたチューブの直径は、ラットが壁に背を押し付けて体支持をできないサイズとした。また、ラットの尾には針金で作成したフックをスコッチテープ（3M社）で取り付け、そのフックに錘を釣り糸で取り付けた。錘の重量は徐々に重くしていき、最終的には体重の25%の負荷に至った。運動は1セット10分間で、5分の休憩をはさみ3セットで、その運動を1日一回、週6日行った。また、ラットがチューブからずり落ちそうになったり、反転して下向きになった場合は、チューブの下から圧縮空気を吹き掛けて体支持を持続させた。

固定及び運動負荷の2週間後、体重を測定後、長指伸筋、前脛骨筋、ヒラメ筋、外側腓腹筋、内側腓腹筋

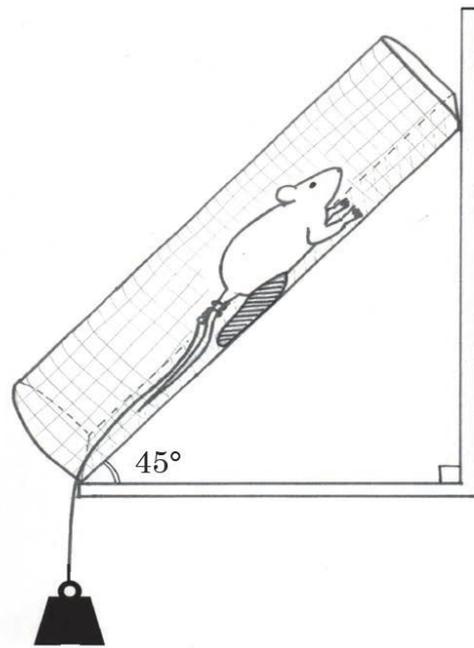


Fig.1. Apparatus for isometric training of rats

を摘出し、秤量した。

体重および筋重量は群ごとに平均値、標準偏差及び標準誤差を求め、統計学的な検定を行った。体重および筋重量は、分散の検定にF検定法を用い、分散が等質であった場合は平均値の検定にt検定法を用いた。分散が等質でなかった場合はAspin-Welchの検定法を用いた。それぞれの分散分析では、主効果が有意となった場合の多重比較と交互作用が有意となった場合の単純主効果の検定における多重比較に、統計量をt値とするRyan法を用いた。全ての検定において有意水準は5% ($p < 0.05$) 未満とした。

III 結果

IM群 ($234 \pm 11\text{g}$) とIMEX群 ($221 \pm 14\text{g}$) の体重には有意な差が認められなかった。

Fig. 2には筋重量を示した。IM群の筋重量は左側自由肢の筋に比べて、右側固定肢でいずれの筋も有意に低値を示した。IMEX群の筋重量も、左側自由肢の筋に比べて、右側固定肢で長指伸筋（Extensor digitorum longus）以外の筋で有意に低値を示した。IM群とIMEX群の左側自由肢間と右側固定肢間の筋重量には違いはみられなかった。

Fig. 3には体重100gあたりの相対的筋重量を示した。IM群の相対的筋重量は左側自由肢の筋に比べて、右側固定肢のいずれの筋も有意に低値を示した。また、IMEX群の相対的筋重量も左側自由肢の筋に比べて、右側固定肢でいずれの筋も有意に低値を示した。IMEX群の左側自由肢の相対的筋重量は、足底筋（Plantaris）を除くいずれの筋もIM群に比べて高値を

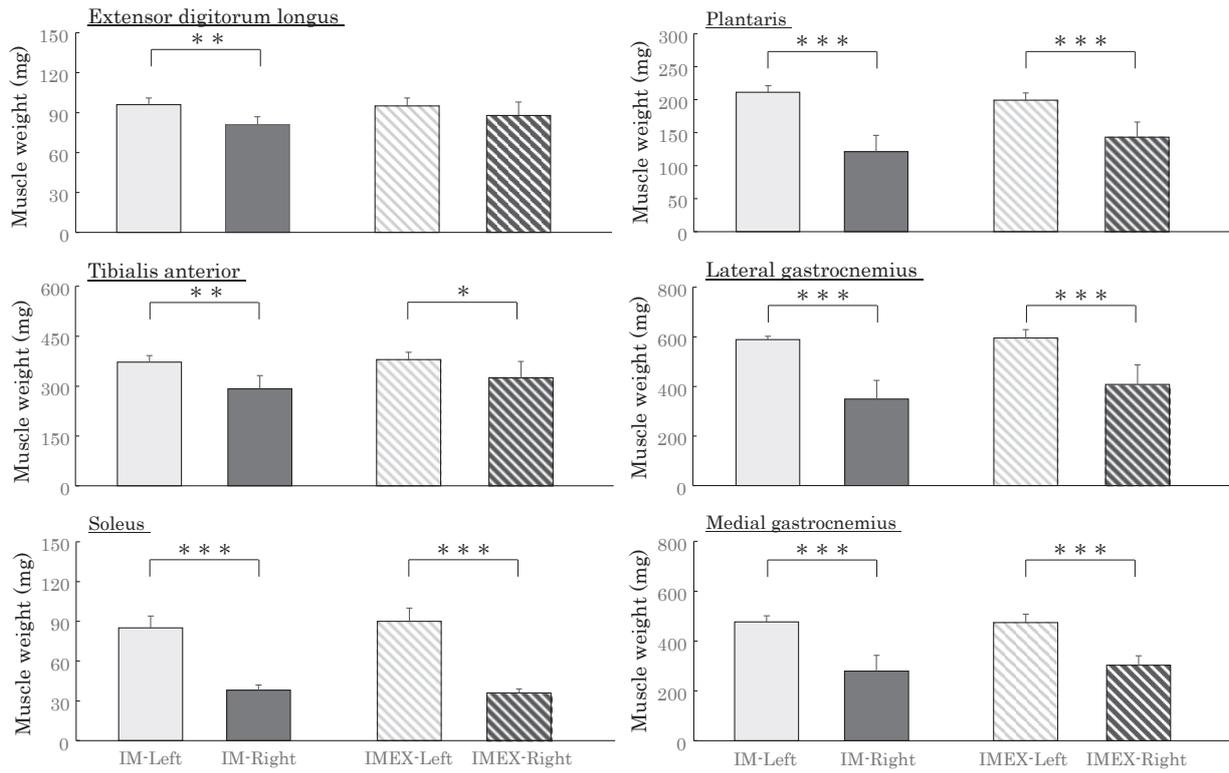


Fig. 2. Effects of immobilization and/or exercise on muscle weight of hindlimb muscles. Values are presented as the mean \pm SD (n = 5). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

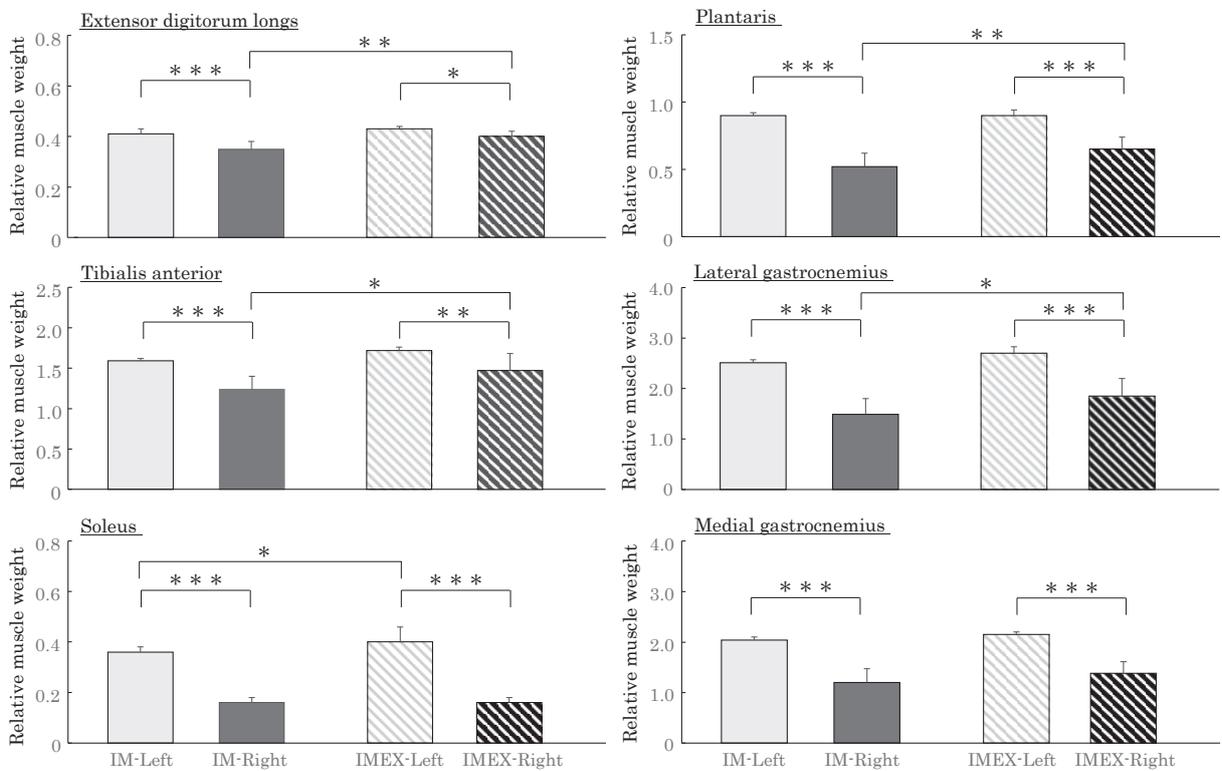


Fig. 3. Effects of immobilization and/or exercise on relative muscle weight (mg / 100g body weight) of hindlimb muscles. Values are presented as the mean \pm SD (n = 5). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

示し、ヒラメ筋 (Soleus) では有意差が認められた。IMEX 群の右側固定肢の相対的筋重量は、ヒラメ筋を除くいずれの筋も IM 群に比べて高値を示し、内側腓腹筋 (Medial gastrocnemius) 以外の筋では有意差が認められた。

IV 考 察

本研究では、片側後肢の等尺性運動が対側の固定した後肢骨格筋の萎縮に及ぼす Cross-education の影響を検討した。

ラットやラビットを用いた 10 日間から 8 週間の固定実験では、15 から 70% の筋重量の低下が報告されている (大石 2000)。本研究の IM 群においても、右側固定肢の筋重量は左側自由肢の筋に比べて 14.6 から 55.6% 低値を示した。さらに、筋肥大や筋萎縮の指標としてよく用いられる相対的筋重量も 7.0 から 60.0% 低値を示した。活動量の減少に伴う骨格筋の萎縮はタンパク質合成速度の低下、タンパク質分解の亢進またはその両方の変化に起因する筋タンパク質の減少によるものであると考えられる (Goldspink 1977, Hayase & Yokogoshi 1991, Jackman and Kandarin 2004, Nakai et al. 2012, Ito et al. 2013)。本研究で採用したギプス固定は二週間と比較的短期間であったが、筋タンパク質の合成と分解に影響を与える十分な不活動状態であったと考えられた。

非固定側の骨格筋の相対的筋重量は IM 群に比べて IMEX 群の足底筋以外の骨格筋で高値を示し、さらにヒラメ筋では有意な差が認められた。山内ら (1997) も、ラットを用いて同様な等尺性収縮運動により、相対的筋重量での効果を報告している。これらのことから、本研究で採用した等尺性運動はタンパク質合成を亢進させ、筋肥大が誘発されていたと考えられた。

Cross-education は、片側の筋力トレーニングにより対側の非トレーニング肢の同種の筋の筋力が増加、筋肥大する現象である。本研究では右側固定肢の相対的筋重量がヒラメ筋以外の骨格筋で IM 群に比べて IMEX 群で高値を示していた。これは、左側自由肢に等尺性運動を課したことによる Cross-education の筋肥大作用が筋萎縮の抑制に働いていたと考えられた。しかしながら、ヒラメ筋では左側自由肢の筋で肥大が観察されたのにもかかわらず、対側の右側固定肢で筋萎縮の抑制は観察されなかった。その理由は、ヒラメ筋では他の筋と異なる作用が発生していたと推察される。

機能的磁気共鳴画像法 (functional magnetic resonance imaging: fMRI) や経頭蓋磁気刺激法 (Transcranial magnetic stimulation: TMS) を用いた研究では、片側の筋力トレーニング中であっても両側の運動皮質が活性化されることが報告されている (Carroll et al. 2008, Farthing et al. 2011)。例えば

Farthing et al. (2007) は 6 週間の片側筋力トレーニング介入後、トレーニングを受けていない対側の筋力が 47% 向上すると共に、感覚運動皮質と両側 M1 の活性化が持続的に増加し、側頭葉と左右の小脳の活性化パターンの増加を伴ったことを報告している。このことは M1 が中枢から末梢へのシグナルであることから、片側トレーニング中であっても非トレーニング側の筋へもシグナルが送られていることを示唆している。さらに、片側筋力トレーニング中のトレーニングを受けていない四肢を調べた研究でも、わずかな程度であるが筋活動の発生も報告されている (Farthing et al. 2005, Houston et al. 1983, Zijdwind & Kernell 2001)。また、片側の強縮中に不活動の対側の筋で 20% の EMG 活動も観察されている (Farthing et al. 2011)。これらのことは片側トレーニング中、対側の筋に顕著な収縮活動が起こらなかったとしても、筋に対しては神経刺激が送られていることを示している。Hendy & Lamon (2017) は Cross-education によるこれらの神経調節がタンパク質合成に関わる AKT (Protein kinase B の別称) および Mammalian target of rapamycin (mTOR) 経路などをアップレギュレートしていると推察している。また、これらの一部の筋の活動は Interleukin-6 (IL6) や Interleukin-15 (IL15) のようなマイオカインの生成と分泌を促進し、他の筋へ影響し、筋肥大を誘導するような影響を及ぼす事が推察される (Pedersen et al. 2003)。

筋線維の動員は Slow-twitch and oxidative (SO) < Fast-twitch, oxidative and glycolytic (FOG) < Fast-twitch and glycolytic (FG) 線維の順に動員されることが知られている (Walmsley et al. 1978)。また、ヒラメ筋は主に遅筋線維 (SO) で構成されている抗重力筋であり、動員頻度が高く、他の筋に比べて神経刺激が頻繁に送られていると考えられる。したがって、Cross-education による不活動筋に送られる神経刺激に対するタンパク質合成を亢進させる閾値がヒラメ筋と他の骨格筋では異なり、ヒラメ筋では中枢からの刺激がその閾値に至らず、タンパク質合成が亢進されなかったため、萎縮の抑制作用がみられなかった可能性が考えられた。

以上のことから、片側固定中の自由肢への等尺性収縮筋力トレーニングは Cross-education の作用により固定側の筋萎縮を軽減するが、その作用は骨格筋間では異なることが示唆された。しかし、片側固定中の運動負荷の増減により、筋萎縮抑制作用も異なる可能性も考えられることから、今後、様々な運動条件での研究を行う必要が考えられた。

本研究は、令和 5 年度科学研究費助成事業 (学術研究助成金、基盤研究、課題番号: 23K10608, 研究代表者: 鈴木英樹) の交付を受けて行った研究である。

利益相反自己申告

著者全員について利益相反はない。

著者の資格と著作貢献

著者HSと著者TKは研究計画を立案し実行した。著者HSと著者TKはデータの採取と分析及びその解釈を担当した。著者HSは草稿を、著者TKは原稿の推敲を担当した。全ての著者は最終原稿を熟読し吟味した上で投稿を承認した。

V 参考文献

Andrushko, J. W., Lanovaz, J. L., Bjorkman, K. M., Kontulainen, S. A., Farthing, J.P. (2018) Unilateral strength training leads to muscle-specific sparing effects during opposite homologous limb immobilization. *J. Appl. Physiol.* 124: 866-876.

Booth, F. W., Kelso, J. R. (1973) Production of rat muscle atrophy by cast fixation. *J. Appl. Physiol.*, 34: 404-406.

Carroll, T. J., Herbert, R. D., Munn, J., Lee, M., Gandevia, S. C. (2006) Contralateral effects of unilateral strength training: evidence and possible mechanisms. *J. Appl. Physiol.* 101: 1514-1522.

Carroll, T. J., Lee, M., Hsu, M., Sayde, J. (2008) Unilateral practice of a ballistic movement causes bilateral increases in performance and corticospinal excitability. *J. Appl. Physiol.* 104: 1656-1664.

Exner, G.U., Staude, H. W., Pette D. (1973) Isometric training — Effects upon fast and slow muscle and modification by an anabolic hormone (Nandrolone decanoate) I. Female rats. *Pflüger Arch.* 345: 1-14.

Farthing, J. P., Borowsky, R., Chilibeck, P. D., Binsted, G., Sarty, G. E. (2007) Neuro-physiological adaptations associated with cross-education of strength. *Brain Topogr.* 20: 77-88.

Farthing, J. P., Chilibeck, P. D., Binsted, G. (2005) Cross-education of arm muscular strength is unidirectional in right-handed individual. *Med. Sci. Sports Exerc.* 37: 1594-1600.

Farthing, J. P. (2009) Cross-education of strength depends on limb dominance: implications for theory and application. *Exerc. Sport Sci Rev* 37: 179-187.

Farthing, J. P., Krentz, J. R., Magnus, C. R. A., Barss, T. S., Lanovaz, J. L., Cummine, J., Esopenko, C., Sarty, G. E., Borowsky, R. (2011) Changes in functional magnetic resonance imaging cortical activation with cross education to an immobilized limb. *Med. Sci. Sports Exerc.* 43: 1394-1405.

Frazer, A. K., Pearce, A. J., Howatson, G., Thomas, K., Goodall, S., Kidgell, D. J. (2018) Determining the potential sites of neural adaptation to cross-education: implications of the cross-education of muscle strength. *Eur. J. Appl. Physiol.* 118: 1754-1772.

Goldspink, D. F. (1977) The influence of immobilization and stretch on protein turnover of rat skeletal muscle. *J. Physiol. (London)* 264: 267-282.

Hayase K., Yokogoshi H. (1991) Effects of suspension hypokinesia/hypodynamia on tissue turnover in rats.

Jap. J. Physiol. 41 (3): 473-482.

Hendy, A. M., Lamon, S. (2017) The cross-education phenomenon: Brain and beyond. *Front. Physiol.* 8: 297.

Houston, M. E., Froese, E. A., Valeriote, S. P., Green, H. J., Ranney, D. A. (1983) Muscle performance, morphology and metabolic capacity during strength training and detraining: a one leg model. *Eur. J. Appl. Physiol.* 51: 25-35.

Ito N., Miyagoe-Suzuki Y., Takeda S. (2013) Molecular basis of muscle hypertrophy and atrophy: potential therapy for muscular dystrophy. *J. Phys. Fitness Sports Med.* 2 (2): 179-184.

Jackman, R. W., Kandarian, S. C. (2004) The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 287: C834-843.

Magnus, C. R., Arnold, C. M., Johnston, G., Dal-Bello Haas, V., Basran, J., Krentz, J. R., Farthing, J. P. (2013) Cross-education for improving strength and mobility following distal radius fractures: a preliminary randomized controlled trial. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 94: 1247-1255.

Nakai N., Kawano F., Ohira Y. (2012) Control of muscle protein synthesis in response to exercise and amino acids. *J. Phys. Fitness. Sports Med.* 1 (2): 297-306.

日本生理学会 (2002) 生理学領域における動物実験に関する基本的指針. *日本生理学雑誌*, 64 (7-8) : 140-146.

大石康晴 (2000) : 不活動と筋の適応. 93-103, 勝田茂樹 : 運動と筋の科学. 朝倉書店 : 東京.

Papandreou, M., Billis, E., Papatheanasiou, G., Spyropoulos, P., Papaioannou, N. (2013) Cross-exercise on quadriceps deficit after ACL reconstruction. *J. Knee. Surg.* 26: 51-58.

Pedersen, B. K., Steensberg, A., Fischer, C., Keller, C., Keller, P., Plomgaard, P., Febbraio, M., Saltin, B. (2003) Searching for the exercise factor-is IL-6 a candidate. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 24: 113-119.

Pearce, A. J., Hendy, A., Bowen, W.A., Kidgell, D. J. (2013) Corticospinal adaptations and strength maintenance in the immobilized arm following 3 weeks unilateral strength training. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 23: 740-748.

Scripture, E. W., Smith, T. L., Brown, E. M. (1894) On the education of muscular control and power. *Studies Yale Psychol. Lab.* 2: 114-119.

辻本尚弥, 鈴木英樹 (2023) ラット後肢骨格筋重量に対する2種類の不活動モデルの影響. *久留米大学人間健康学部紀要*, 4 : 1-12.

山内秀樹, 米本恭三 (1997) 高齢期の廃用性萎縮筋の機能回復に及ぼす運動負荷の影響 : ヒラメ筋の変化. *リハビリテーション医学*, 34 : 212-217.

Walmsley, B., Hodgson, J. A., Burke, R. E. (1978). Forces produced by medial gastrocnemius and soleus muscles during locomotion in freely moving cats. *J. Neurophysiol.* 41 (5): 1203-1216.

Zijdewind, I., Kernell, D. (2001) Bilateral interactions during contractions of intrinsic hand muscles. *J. Neurophysiol.* 85: 1907-1913.

(2023年9月25日受理)