

筋収縮時伸長にともなう筋線維の傷害発生  
——発育期の収縮特性と構造変化——

伊藤 晶生 春日 規克

INJURY OF MOUSE SKELETAL MUSCLE FIBERS FOLLOWING  
QUICK STRETCHING DURING TETANIC CONTRACTION.  
——CONTRACTILE AND STRUCTURAL CHANGES  
DURING POSTNATAL DEVELOPMENT——

AKIO ITO and NORIKATSU KASUGA

Abstract

A study was conducted to investigate the influence of a series of quick stretches during tetanic stimulation of skeletal muscle fibers in growing mice.

Mice were anesthetized with pentobarbital sodium. The distal tendon of the extensor digitorum longus muscle was attached to a servomotor. The effects on the muscles of a series of isometric contractions (ISO), a series of quick stretches during contractions (ST), and a sham operation for 1 h were assessed in terms of changes in tetanic tension, serum creatine kinase and lactate dehydrogenase activities, and the histological appearance of the muscle.

The data indicated the following; 1) Serum enzyme activities were not altered in any of the experiments. 2) ST resulted in a decrease in tetanic tension compared with ISO values in mice of all ages. The rate of decrease in tetanic tension for 1 h ST was higher in muscles of young mice than in those of mature mice. 3) Muscle histology demonstrated numerous areas of localized sarcomere widening immediately after the series of ST.

These observations suggest that muscle stretching during contraction causes greater injury to developing skeletal muscles.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1990, 39 : 324~330)

**key words** : skeletal muscle, quick stretching during contraction, muscle injury

1. 緒 言

骨格筋の発育にともなう構造的変化を調べた場合、マウスの下腿筋では基本的構造は成熟筋と変わりはないが、筋小胞体、T管、筋原線維占有率が生後から3週齢にかけて徐々に増加すること<sup>13)</sup>、筋線維(筋原線維)の成長にともない新しい筋節が筋線維端で産生されること<sup>5)</sup>などが報告されている。我々は過去に、マウスの急速な発育期において、筋節の規則的な並びに不均一が生じ<sup>9)</sup>、同時期に張力の一過性の低下がみられることを報告した<sup>10)</sup>。さらに、筋節の不均一は、発育期の筋節の新生が、筋線維の成長に追いつかなくなるため、

筋線維中央部の筋節長の伸張として現れ、中央部筋節長とこの張力の低下には相関関係があることを示した<sup>11)</sup>。一方、激しい運動、特に伸張性収縮をとこな運動後には、筋線維の崩壊が起こることが報告されている<sup>4,6,16)</sup>。筋線維の崩壊の原因は強い連続したストレスにより筋細胞膜に亀裂が生じることが原因と考えられているが<sup>16)</sup>、構造的に未成熟な発育期の筋において、また筋節の構造に不均一が生じるような時期においては、連続した収縮張力の発揮により筋線維の崩壊や傷害がより多く起こる可能性が考えられる。

そこで、発育期の筋において、収縮時に筋の伸長が繰り返された際の、筋線維の張力と構造

変化との関係を基礎的実験より検討した。

## II. 実験方法

実験動物として生後3, 5, 7, 9, 12週齢のICR系雄性マウスを用いた。各週齢のマウスは15匹であった。ネンプタル(60 mg/kg BW)麻酔下において、血流を維持したまま、長指伸筋(EDL)を露出させ、筋の末梢腱を切断し、ストレインゲージに接続した。実験中は筋を36~37℃に保ち酸素95%, 二酸化炭素5%の混合ガスで飽和したロック液に浸漬した。溶液は毎分20 mlの割合で新しい溶液と交換した。支配神経である腓骨神経からの間接電気刺激にて筋を収縮させた。電気刺激の強度は極大、持続時間は0.1 msecの矩形波パルスとした。強縮張力の測定は最大張力が得られる刺激頻度により行い、足関節角度が90度の時の筋長(静止長)と最大単縮張力が得られる筋長(至適長)について測定した。

実験動物を3群各5匹に分け、1群は最初の張力測定後、静止長にて350 msecの完全等尺性強縮を4秒毎に1時間行う群(Isometric群)とした。次の群は筋の遠位腱を牽引モータに接続し、350 msecの強縮を4秒毎に一時間繰り返しながら、

刺激開始から100 msec後に筋の伸長をモータにより行った(Stretch群)。EDLは足関節を最大伸展した際に、静止長より約10%筋長が延びる。そこで生体内における筋の最大伸長範囲である10%を強縮時の伸長幅とした。伸長時には強縮張力の2~2.5倍の張力が得られた。その他の一群は露出させた筋を1時間、ロック液に浸漬しておくだけの対照群とした(Control群)。これらの方法をモデル化し、図1に示した。

1時間後の張力を測定した後、筋を摘出し静止長にて24時間のホルマリン固定(4℃)、次にオスミウムにより2時間固定し、脱水後エポン包埋を行った。次に筋の縦断面を厚さ1.5~2 μmにて連続切片を作成した。切片はトルイジンブルーにより染色し、光学顕微鏡下で横紋構造の変化を観察した。また、頸動脈より採血し、血清中CK, LDH活性をUV法にて測定した。

群ごとに算出された各測定項目平均値の差の検定はStudent's t testにより行った。

## III. 結果

表1には各週齢、各群の体重、筋重量、筋長、脛骨長を示した。体重は測定された12週齢まで、

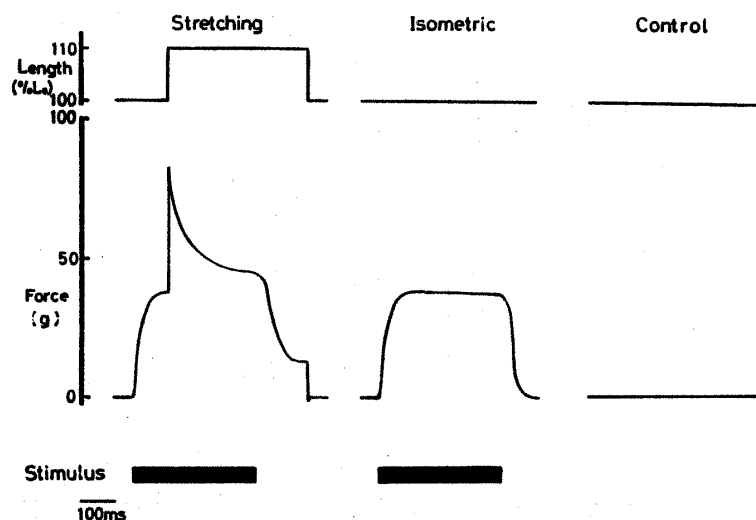


Fig. 1. Representative recording of muscle length(upper traces)and force(lower traces) for stretching, isometric contractions and no stimulation. Stretching and isometric contractions, tetanic stimulation at 200 Hz was administered in 350 ms periods, interrupted by 4 s rest for 1 hr. For all traces, muscle length were adjusted at resting length. For stretching contraction, after 100 ms of stimulation was stretched by 10% of muscle length. To obtain the influence of the treatment, the muscle was immersed in Ringer solution without stimulation (control).

Table 1. Body weight, muscle weight, muscle length and tibia length. (Mean±S.D.)

Age (weeks)	Group	n	Body (total)	Weight (g) (each group)	Muscle (total)	weight (mg) (each group)	Muscle (total)	length (mm) (each group)	Tibia (total)	length (mm) (each group)
3	control	5		15.28±2.30		6.60±1.02		10.15±0.54		13.19±0.75
	isometric	5	14.59±2.25	13.92±2.00	6.27±1.27	5.76±2.00	10.33±0.69	10.38±0.76	13.17±0.68	12.98±0.78
	stretching	5		14.57±2.23		6.42±1.03		10.45±0.72		13.27±0.40
5	control	5		32.22±0.92		13.33±1.52		12.93±0.68		17.58±0.78
	isometric	5	30.82±2.12	30.18±1.80	12.11±1.47	11.30±1.03	12.54±0.61	12.18±0.52	17.22±0.60	16.98±0.37
	stretching	5		29.97±2.49		11.55±0.78		12.42±0.26		17.04±0.31
7	control	5		35.62±1.39		14.12±1.17		14.48±0.27		18.57±1.07
	isometric	5	35.63±1.57	34.93±1.15	14.36±0.94	14.68±0.75	14.23±0.43	13.81±0.39	18.81±0.67	18.71±0.40
	stretching	5		36.46±1.77		14.20±0.75		14.47±0.05		19.06±0.46
9	control	5		39.82±2.19		15.60±1.09		14.72±0.12		19.15±0.29
	isometric	5	39.67±2.01	39.24±1.80	15.67±1.32	15.20±0.98	14.59±0.39	14.42±0.33	18.88±0.46	18.59±0.57
	stretching	5		39.96±1.96		16.20±1.60		14.62±0.55		19.02±0.12
12	control	5		42.42±0.72		14.84±1.76		14.73±0.42		18.88±0.12
	isometric	5	42.29±1.95	41.98±2.18	16.15±1.62	16.00±0.63	14.88±0.58	14.75±0.75	19.07±0.27	19.10±0.25
	stretching	5		42.43±2.32		17.20±1.25		15.07±0.48		19.22±0.31

★ P<0.05, ★★ P<0.01, ★★★ P<0.001

Table 2. Twitch tension, tetanic tension at resting length and tetanic tension at optimal length per muscle weight. (Mean±SD)

Age (weeks)	Group	n	Twitch (total)	tension (g/mg) (each group)	Tetanic tension at L <sub>0</sub> (g/mg) (total)	(each group)	Tetanic tension at optimal length (g/mg) (total)	(each group)
3	control	5		0.420±0.053		2.082±0.241		2.282±0.199
	isometric	5	0.423±0.056	0.405±0.067	1.984±0.203	1.879±0.035	2.230±0.207	2.206±0.213
	stretching	5		0.440±0.042		1.991±0.076		2.207±0.195
			ns		ns		ns	
5	control	5		0.452±0.091		2.079±0.418		2.265±0.426
	isometric	5	0.454±0.081	0.454±0.095	2.088±0.322	2.086±0.352	2.261±0.299	2.250±0.236
	stretching	5		0.457±0.052		2.101±0.126		2.265±0.161
			ns		★		ns	
7	control	5		0.424±0.089		1.719±0.230		2.092±0.235
	isometric	5	0.417±0.076	0.434±0.068	1.748±0.175	1.752±0.111	2.054±0.236	2.067±0.238
	stretching	5		0.390±0.044		1.773±0.168		1.997±0.217
			ns		★		★	
9	control	5		0.471±0.055		2.141±0.172		2.335±0.185
	isometric	5	0.464±0.053	0.455±0.037	2.117±0.297	2.104±0.181	2.355±0.245	2.335±0.139
	stretching	5		0.466±0.063		2.106±0.447		2.396±0.350
			ns		ns		ns	
12	control	5		0.482±0.077		2.114±0.273		2.353±0.260
	isometric	5	0.489±0.083	0.507±0.085	2.110±0.198	2.101±0.081	2.401±0.265	2.471±0.117
	stretching	5		0.429±0.091		2.113±0.192		2.379±0.318

★★ P<0.01, ★★★ P<0.001

各週齢間に有意な増大がみられた。筋重量と筋長は、3～5週齢間、5～7週齢間においては0.1%水準で、7～9週齢間には1%と5%水準で有意な増加がみられた。ただし、筋長の7～9週齢間の2週間の増加は0.36 mmと7週齢の筋長のわずか2.5%の増加であった。EDLの筋長に強く影響を及ぼすであろう脛骨長の増加は、7週齢までにみられ、それ以後はほぼ停止した。

表2には、単収縮張力、静止長と至適長における強縮張力を示した。前回の報告同様<sup>11)</sup>に、静止長により求められた強縮張力に7週齢時に低下が認められた。その他の各群間の測定値には差がみられなかった。次に各群の1時間刺激後の変化を比較する。

表3に示した各酵素活性値には各週齢のいずれの群間にも有意な差がみられなかった。

図2は各週齢における、1時間の繰り返し等尺性収縮、収縮時伸長及び対照群の前の強縮張力に対する後の値を相対値で示した。いずれの週齢においても、1時間筋を露出させたままの対照群では、張力の低下が認められなかった。等尺性収縮を連続した Isometric 群の値は初期値に対して50～75%であった。収縮時に筋を伸長した場合

(Stretch 群)には、張力は20～40%にまでに減少した。12週齢以外 Isometric 群と Stretch 群間には有意な差が認められ、その中でも7週齢におけ

Table 3. Serum LDH and CK immediately after 1 hr of the last stimulation period.  
(Mean  $\pm$  S. D.)

Age (weeks)	Group	n	LDH (IU/l)	CK (IU/l)
3	control	5	75.84 $\pm$ 21.71	142.39 $\pm$ 31.89
	isometric	5	69.39 $\pm$ 11.30	154.56 $\pm$ 26.77
	stretching	5	51.64 $\pm$ 20.91	145.63 $\pm$ 10.53
5	control	5	124.44 $\pm$ 41.67	76.87 $\pm$ 15.92
	isometric	5	111.42 $\pm$ 18.86	109.94 $\pm$ 39.32
	stretching	5	84.72 $\pm$ 25.04	71.56 $\pm$ 13.71
7	control	5	74.23 $\pm$ 17.28	82.96 $\pm$ 29.37
	isometric	5	85.19 $\pm$ 19.10	90.06 $\pm$ 43.84
	stretching	5	72.08 $\pm$ 29.48	76.15 $\pm$ 47.42
9	control	5	106.50 $\pm$ 34.30	107.70 $\pm$ 30.17
	isometric	5	116.18 $\pm$ 36.63	124.13 $\pm$ 35.31
	stretching	5	114.03 $\pm$ 22.49	125.05 $\pm$ 27.31
12	control	5	124.79 $\pm$ 5.49	86.81 $\pm$ 22.00
	isometric	5	90.37 $\pm$ 38.73	75.45 $\pm$ 16.27
	stretching	5	108.65 $\pm$ 7.61	111.79 $\pm$ 28.25

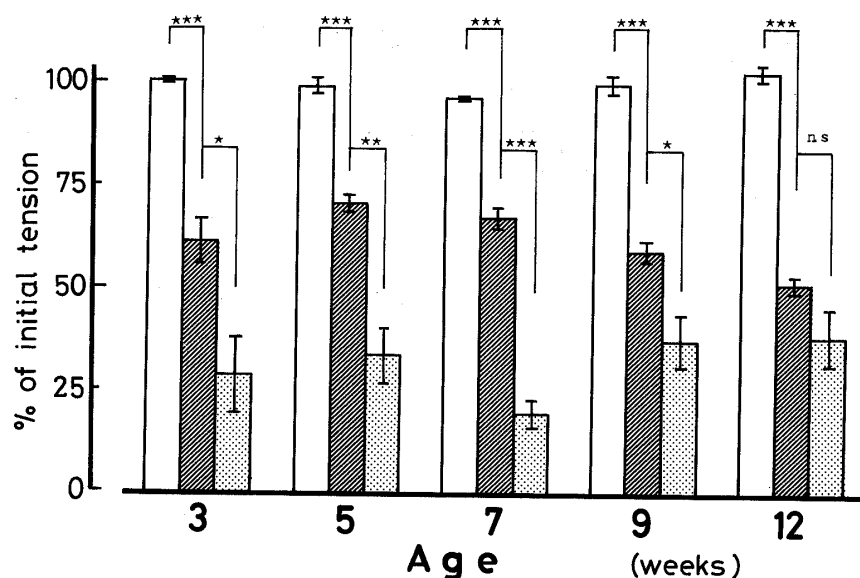


Fig. 2. Changes in tetanic tension after 1 hr of the last stimulation.  $\square$ ; control, muscle was immersed in Ringer solution without stimulation.  $\blacksquare$ ; isometric, muscle was stimulated for 350 ms at 200 Hz with no imposed length change.  $\square$ ; stretching, muscle was stimulated for 350 ms at 200 Hz and after 100 ms of stimulation, muscle was stretching by 10% of muscle length. Each bar shows mean and SE of 5 muscles.

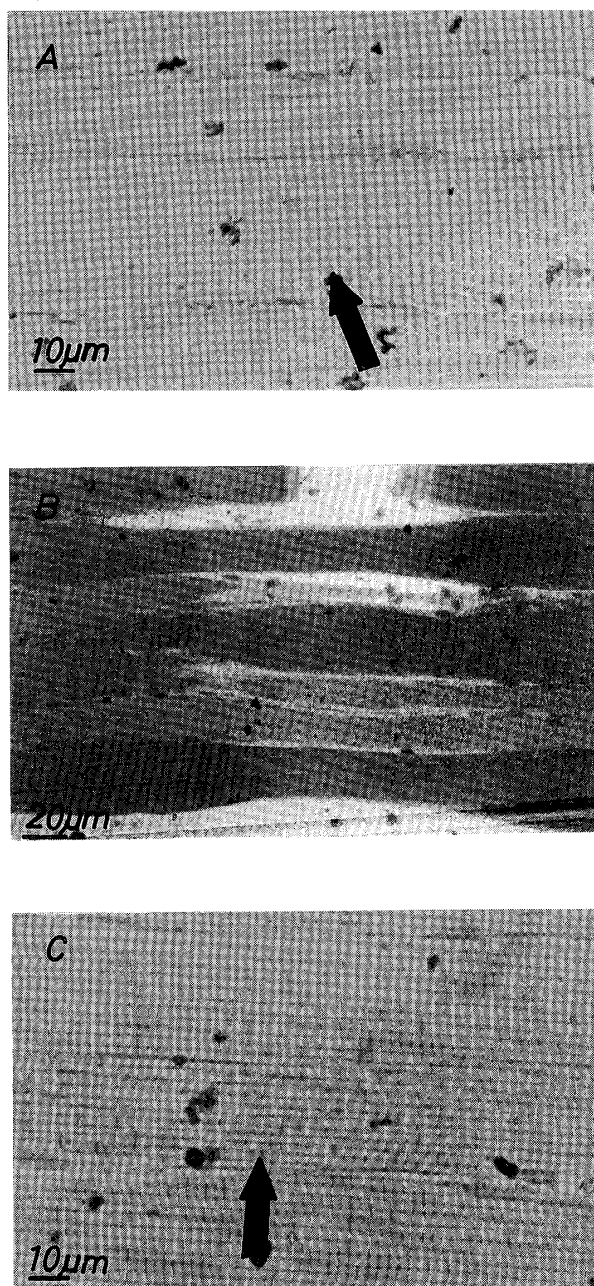


Fig. 3. Longitudinal sections from extensor digitorum longus muscle immediately after experimental protocol for stretching (A, B) and isometric (C).

る Stretch 群の張力値に最も大きな減少が認められた。

図 3 は 7 週齢 Stretch 群の筋の縦断面を光学顕微鏡にて撮影したものである。矢印で示された筋線維の一部に過伸展(図 3-A), 断裂(図 3-B)が見られる。対照群ではこのような筋節の構造変化は全く認められなかったのに対し, Stretch 群

では頻繁にみられた。Isometric 群においても一部に横紋構造の不均一が認められたが(図 3-C), その量は少なく, 筋節の拡張率も Stretch 群ほど大きなものではなかった。この不均一性を量的に比較することは, 筋全体の切片作成が困難である理由より行わなかった。

#### IV. 考 察

激しい運動が筋に傷害を与え, 筋肉痛<sup>18)</sup>, 筋中酵素活性の増大<sup>20)</sup>, 筋からの逸脱酵素の増加<sup>7, 18)</sup>, 筋線維の崩壊などが起こることが知られている<sup>1)</sup>。このような運動後の傷害は, 筋ジストロフィーなどの筋病の進行過程や形態的变化と類似している<sup>3, 15)</sup>。筋線維の崩壊過程は, 最初に筋細胞膜の傷害か透過性の亢進にともなう筋中酵素の逸脱が起こり, 同時に細胞外液の流入が起こる。外液中の高濃度  $\text{Ca}^{2+}$  は細胞内のカルシウム依存性プロテアーゼの活性を高め  $\alpha$ -アクチニンの流出と Z 膜の破壊を引き起こす<sup>2, 19)</sup>。筋線維の一部分の形態的崩壊は, 貪食細胞の侵入から中心核を持つ単核細胞の出現, 再生現象と続く<sup>14, 15)</sup>。運動後の筋の傷害発生は, 運動時の筋の収縮様式で大きく異なり, 等尺性収縮, 短縮性収縮, 伸張性収縮で比較した場合, 伸張性収縮時の傷害発生率が顕著に高いことが報告されている<sup>1, 15, 16)</sup>。伸張性収縮と等尺性収縮において, 同程度の仕事をする場合, 随意運動下では伸張性収縮の方が酸素消費や ATP 消費が少なく<sup>8, 12)</sup>, 運動単位の活動参加は約 2 分の 1 であることが報告されている<sup>17)</sup>。このため筋力発揮に参加している少ない筋線維に負荷が加わり構造崩壊につながると考えられる<sup>15)</sup>。Newham ら<sup>16)</sup> は, 人の伸張性運動後に得た筋生検の電顕像に筋節の片側のみの伸張による構造崩壊が起きていることを示している。このことから, 伸張性収縮にともなう筋線維の崩壊は, 収縮時に結合しているアクチンとミオシンフィラメントが引き裂かれることが筋線維の一部に起こり, これが膜への傷害と細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  の流入, プロテアーゼの活性上昇に結び付くと考察している。本実験においては, 筋自体が発揮する力は同じであるが, 伸長時間には等尺性収縮よりも大きな力が筋に加わ

り、これが図3に示されるような構造の乱れを起こす原因になると考えられる。また、今回行った1時間の連続等尺性収縮と収縮時伸長後の張力低下率の差は、この構造の乱れにともなう筋線維の崩壊が主な原因であろう。

筋細胞膜に異常が起きた場合、血液中にCK, LDHなどの濃度が上昇することが知られている<sup>1,18)</sup>。しかし、本研究ではこれらの酵素濃度に対照群を含め差がみられなかった。この違いは、EDLのみの収縮とそれにとまなう筋線維の崩壊であり、全体の血液濃度をあげるには流出した酵素が少なすぎたこと、逸脱酵素の上昇は筋活動からかなり遅れてみられること<sup>1,18)</sup>が原因であると思われる。

連続等尺性収縮後の張力残存率に対する収縮時伸長後の張力残存率を发育過程でみた場合、各3, 5, 7, 9, 12週齢でそれぞれ、47.4%, 48.0%, 29.4%, 63.2%, 75.6%であった。このことから7>3>5>9>12週齢の順で収縮時に伸長を与えた方が、張力の低下が大きかった。本実験は、電気刺激にとまなう最大強縮張力発揮時の急速な筋伸長であった。伸長量も生体内の最大可能変化量であり、随意運動下では起こり得ない条件と考えられる。また、過度な収縮後の筋の崩壊は、成熟筋<sup>1)</sup>や成人の運動後<sup>4,6,16)</sup>にもみられており、发育時期に特定して起こるものではない。しかし、发育初期の未成熟な筋<sup>18)</sup>や发育速度に関連して横紋構造に不均一が起こる時期<sup>9)</sup>ほど張力低下が大きいことは、筋の形態的・構造的発達が完了するまでは筋に対する過荷重が筋細胞の崩壊を引き起こしやすいことを示す結果と考えられた。

筋の構造の乱れは1週間程度で回復し<sup>4)</sup>、筋線維の崩壊後には速やかに再生が進み、約30日後には構造的にも機能的にも回復することが報告されている<sup>15)</sup>。しかし、これらの実験では一回の筋線維の構造変化や崩壊後における経過を調べたものであり、繰り返し起きた筋線維の破壊に対する再生変化、筋の发育に対する影響は知られていない。以上、これまでの報告や今回の結果をふまえた際、发育期において過度の運動やその継続は控えるべき事が示唆された。

## V. 結 語

发育期のマウスの長指伸筋に対して、間接電気刺激により張力を発揮させ、1時間の等尺性収縮と収縮時伸長後の変化を測定した。測定項目は血清中CK, LDHと筋線維構造及び強縮張力であった。

1時間収縮後の血清中酵素活性値には変化がみられなかった。収縮時に伸長を加えた場合、筋線維の一部に筋節の延長をおこしている箇所が多く確認された。等尺性収縮後においても筋節のわずかな延長は観察された。等尺性収縮に比べ、収縮時伸長を行った後の張力の低下は著しく、また发育初期と7週齢において大きな低下がみられた。

収縮時に伸長を与えた場合には、収縮張力に加え大きな受動的力が筋にかかるため、筋の規則構造を乱し崩壊を導くものであり、著しい張力低下の原因となることが考えられた。また、このような力に対して、未成熟な筋や構造的に不安定な時期の筋ほど影響を受けやすいことが示された。

(受付 平成元年11月15日)

## 参 考 文 献

- 1) Armstrong, R. B., Ogilvie, R. W. and Schwane, J. A. (1983): Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, **54**, 80-93.
- 2) Busch, W. A., Stromer, M. H., Goll, D. E. and Suzuki, A. (1972):  $\text{Ca}^{2+}$ -specific removal of Z lines from rabbit skeletal muscle. *J. Cell Biology.*, **52**, 367-381.
- 3) Cullen, M. J. and Fulthorpe, J. J. (1975): Stages in fibre breakdown in duchenne muscular dystrophy. *J. Neurol. Scie.*, **24**, 179-200.
- 4) Fridén, J., Sjöström, M. and Ekblom, B. (1983): Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *Int. J. Sports Med.*, **4**, 170-176.
- 5) Griffin, G., Goldspink, G. and Williams, P. E. (1971): Region of longitudinal growth in striated muscle fibre. *Nature London New Biol.*, **232**, 28-29.
- 6) Hikida, R. S., Staron, R. S., Hagerman, F. C., Sherman, W. M. and Costill, D. L. (1983): Muscle

- fiber necrosis associated with human marathon runners. *J. Neurol. Scie.*, **59**, 185-203.
- 7) Hunter, J. B. and Critz, J. B. (1971) : Effects of training on plasma enzyme levels in man. *J. Appl. Physiol.*, **31**, 20-23.
  - 8) Infante, A. A., Klaupicks, D. and Davies, R. E. (1964) : Adenosin triphosphate changes in muscles doing negative work. *Science* **144**, 1577-1578.
  - 9) 春日規克, 馬詰良樹(1983) : 生後発育にともなうマウス骨格筋線維長と筋節長の変化. *体力科学*, **32**, 134-139.
  - 10) 春日規克(1984) : 生後発育にともなうマウス骨格筋の筋力特性 : 形態変化との関係. *体力科学*, **33**, 229-234.
  - 11) 春日規克, 加藤 勝, 金丸香津子(1988) : 発育期マウス骨格筋の筋節長, 筋節数及び筋張力の変化. *体力科学*, **37**, 46-50.
  - 12) Knuttgen, H. G. and Klausen, K. (1971) : Oxygen debt in short-term exercise with concentric and eccentric muscle contractions. *J. Appl. Physiol.*, **30**, 632-636.
  - 13) Luff, A. R. and Atwood, H. L. (1971) : Changes in the sarcoplasmic reticulum and transverse tubular of fast and slow skeletal muscle development. *J. Cell Biol.*, **51**, 369-383.
  - 14) Mastaglia, F. L., Papadimitriou, J. M. and Kakulas, B. A. (1970) : Regeneration of muscle in duchenne muscular dystrophy. An electron microscope study. *J. Neurol. Scie.*, **11**, 425-444.
  - 15) McCully, K. K., and Faulkner, J. A. (1985) : Injury to skeletal muscle fibers of mice following lengthening contractions. *J. Appl. Physiol.*, **59**, 119-126.
  - 16) Newham, D. J., McPhail, G., Mills, K. R. and Edwards, R. H. T. (1983 a) : Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *J. Neurol. Scie.*, **61**, 109-122.
  - 17) Newham, D. J., Mells, K. R., Quigley, B. M. and Edwards, H. T. (1983 b) : Pain and fatigue after concentric and eccentric muscle contractions. *Clin. Science*, **64**, 55-62.
  - 18) Schwane, J. A. Johnson, S. R., Vandenkcker, C. B. and Armstrong, R. B. (1983) : Delayed-onset muscular soreness and plasma CPK and LDH activities after downhill running. *Med. Scie. Sports Ex.*, **15**, 51-56.
  - 19) 杉田秀夫(1977) : Z線構成蛋白とカルシウム依存性蛋白分解酵素. *日本臨床*, **35**, 33-39.
  - 20) Vihko, V., Salminen, A. and Rantamaki, J. (1979) : Exhaustive exercise, endurance training, and acid hydrolase activity in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, **47**, 43-50.