

ラットの後肢骨格筋における固定とサスペンションの影響

鈴木英樹* 辻本尚弥**

*保健体育講座

**久留米大学, 健康スポーツ科学センター

Effect of Immobilization and Suspension on Hindlimb Muscle in Rats

Hideki SUZUKI* and Hisaya TSUJIMOTO**

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

** The institute of Health and Sports Science, Kurume University, Kaurume 893-8502, Japan

Abstract

The effect of immobilization and suspension on hindlimb muscle was investigated in the rat. Both groups of immobilization and suspension for first week resulted in the decrease of the weight of hindlimb muscles. In the later two weeks, the group of immobilization resulted in decrease of muscle weights sequentially. However, the suspension resulted in the increase of the weight of other muscles except the soleus muscle adversely.

These results showed that the atrophy by the immobilization was not same as the suspension. Furthermore, it was suggested that the effects of those models were different by the skeletal muscle.

I 緒 言

骨格筋の萎縮変化は、老齢、整形外科手術後の回復、脊椎損傷、疾患による慢性的なベットレスト等による身体活動の低下が引き金になって起こることは広く知られている。これらによる筋萎縮の予防や萎縮からの早期回復を図るために様々な不使用モデルを用いた動物実験が行われている。その中でも広範に行われているのが固定^{1, 7, 11)}と無加重実験^{3, 5, 6, 10)}である。脚の固定は一般的にはギプスを用いて膝関節や足関節を固定して筋を不使用状態にするのに対して、無加重は尾部を懸垂したり、ジャケットを着用させて吊るすことにより脚に体重が掛からない状態にして筋を不使用状態にするモデルである。

ギプス固定においては速筋と遅筋は同様な萎縮を示すが、無加重の場合はその萎縮は必ずしも同様でないことが報告されている^{2, 5)}。また、ギプス固定に関しても固定された筋長によって、筋の萎縮の程度は異なることが報告されている^{2, 9)}。したがって、筋萎縮に関する研究を行う場合は、その目的に応じたモデルを採用する必要がある。しかしながら、これらの過去の報告は同じ実験系で行われた結果ではないため、両モデルに対する筋の萎縮応答を正確に把握しておく必要がある。また、両モデルに対する骨格筋の適応変化を

明らかにすることは、リハビリテーションやスペースフライトでの筋線維の萎縮防止の点からも意義あることである。

そこで、本研究では、同週齢のラットにギプスによる固定または尾部懸垂を同期間行って、この二つのモデルにおける数種類の後肢骨格筋の重量変化を調べた。

II 方 法

実験動物として Fischer344系雌ラットを用いた。飼育は室温 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60\pm 5\%$ 、昼夜逆転12時間の明暗サイクルの環境下で行った。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。なお、実験動物の取り扱いについては「実験動物の飼育および保管等に関する基準」⁴⁾に沿って行った。

実験動物は1週間の予備飼育後の15週齢時に、群間の体重の平均が等しくなるように7群(5-6匹)に分けた。その内の二群には、ペントバルビタール麻酔下(50mg/kg)にて、弛緩した状態で後肢の膝関節と足関節を包帯式ギプス(スコッチキャスト社)により固定(ギプス固定群)した。また他の二群には、ペントバルビタール麻酔下(50mg/kg)にて、ステンレス

* Fischer 344 female rat ; 15 wk of age

* Group ; 15wk-, 16wk- and 18wk control groups
16wk- and 18wk-suspended groups
16wk- and 18wk-casted groups

* Life time (wk)

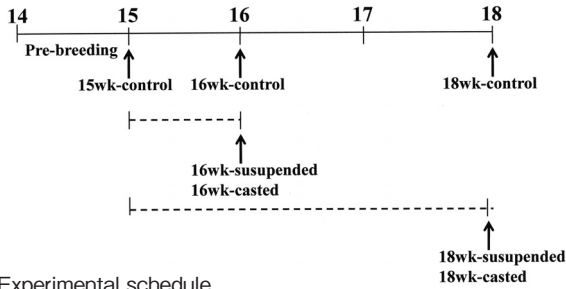


Fig. 1. Experimental schedule

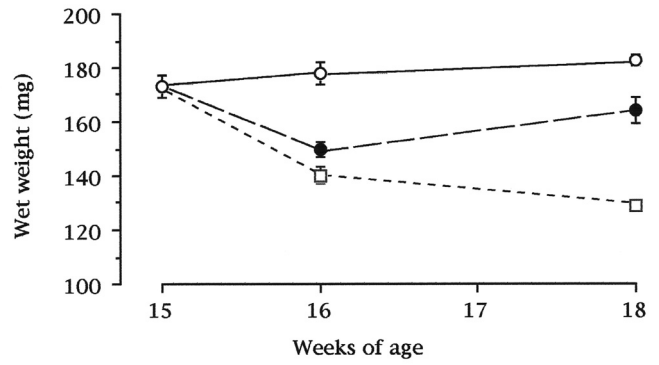


Fig. 2. Changes in the body weight in control (○), suspended (●) and casted (□) rats.

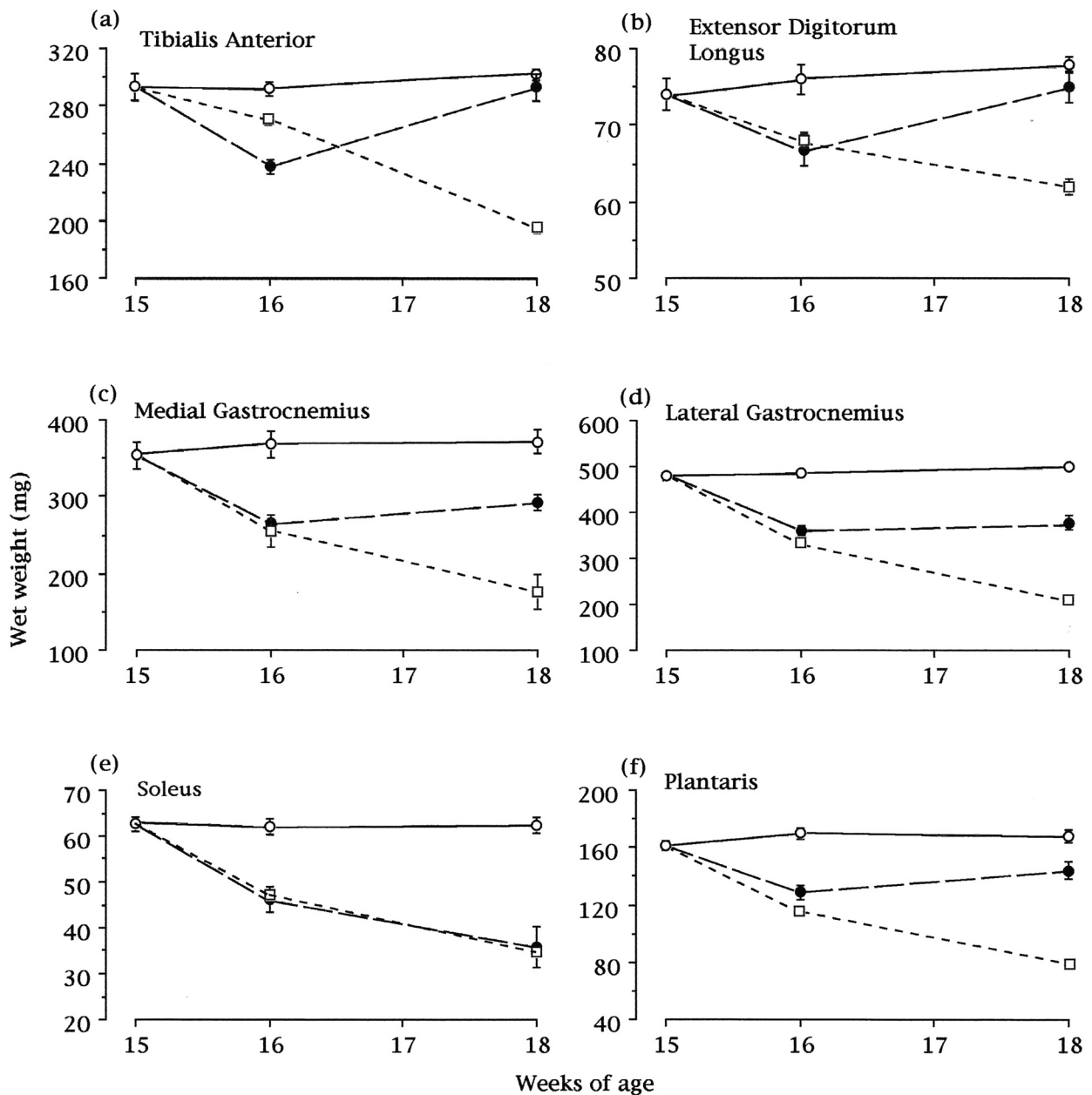


Fig. 3. Changes in the weight of 6 muscles in control (○), suspended (●) and casted (□) rats.

製のキルシュナー鋼線を用いて尾部にサル環を装着し、麻酔から覚めた後に飼育ケージの上部から吊るして後肢を無加重の状態（後肢懸垂群）にした。ギプス固定と後肢懸垂の各1群は不使用の開始1週間目の16週齢時に、また両群のもう1群は不使用の3週間目の18週齢時にペントバルビタールを過投与した上で断頭屠殺し、筋を摘出して秤量した。なお、被検筋は前頸骨筋、長指伸筋、内側腓腹筋、外側腓腹筋、ヒラメ筋、足底筋とした。(Fig. 1)

各測定値は群ごとに平均値、標準偏差及び標準誤差を求め統計学的な検定を行った。各データは二要因（実験条件×不活動期間）の分散分析にて検定した。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%以下（ $p < 0.05$ ）とした⁸⁾。

III 結 果

1. 体重の変化

Fig.2に各群の体重変化を示した。両モデルにおいて、体重は不使用開始1週間で有意な低下を示した。不使用の1週目から3週目では、ギプス群の体重は有意な低下を示したのに対して、後肢懸垂群の体重は有意に増加した。その結果、18週齢では後肢懸垂群はギプス固定群に比べて高値を示した。

2. 前頸骨筋の重量の変化

Fig. 3 (a)に前頸骨筋の重量を示した。両モデルにおいて、前頸骨筋の重量は不使用開始1週間で有意な低下を示した。不使用の1週目から3週目では、ギプス群の筋重量は有意な低下を示したのに対して、後肢懸垂群では有意に増加した。その結果、18週齢では後肢懸垂群の筋重量はギプス固定群に比べて高値を示し、またコントロールと間に違いがみられなくなった。

3. 長指伸筋の重量の変化

Fig. 3 (b)に長指伸筋の重量を示した。両モデルにおいて、長指伸筋の重量は不使用開始1週間で同様な低下を示した。不使用の1週目から3週目では、ギプス群の筋重量は有意な低下を示したのに対して、後肢懸垂群では有意に増加した。その結果、18週齢では後肢懸垂群の筋重量はギプス固定群に比べて高値を示し、コントロールと間に違いがみられなくなった。

4. 内側腓腹筋の重量の変化

Fig. 3 (c)に内側腓腹筋の重量を示した。両モデルにおいて、内側腓腹筋の重量は不使用開始1週間で同様な低下を示した。不使用の1週目から3週目では、ギプス群の筋重量は有意な低下を示したのに対して、後肢懸垂群では有意に増加した。その結果、18週齢では筋重量はコントロール、後肢懸垂群、ギプス固定群の順に高値を示した。

5. 外側腓腹筋の重量の変化

Fig. 3 (d)に外側腓腹筋の重量を示した。両モデルにおいて、外側腓腹筋の重量は不使用開始1週間で同様な低下を示した。不使用の1週目から3週目では、ギプス群の筋重量は有意な低下を示したのに対して、後肢懸垂群では変化がみられなかった。その結果、18週齢では筋重量はコントロール、後肢懸垂群、ギプス固定群の順に高値を示した。

6. ヒラメ筋の重量の変化

Fig. 3 (e)にヒラメ筋の重量を示した。両モデルにおいて、ヒラメ筋の重量は不使用開始1週間で同様な低下を示した。また、不使用の1週目から3週目においても、両モデルで筋重量は有意な低下を示し、18週齢で筋重量は両モデル群ともにコントロールに比べて低値を示した。

7. 足底筋の重量の変化

Fig. 3 (f)に足底筋の重量を示した。両モデルにおいて、足底筋の重量は不使用開始1週間で同様な低下を示した。不使用の1週目から3週目では、ギプス群の筋重量は有意な低下を示したのに対して、後肢懸垂群では増加傾向を示した。その結果、18週齢では筋重量はコントロール、後肢懸垂群、ギプス固定群の順に高値を示した。

IV 考 察

本研究では萎縮モデルであるギプス固定と後肢懸垂における骨格筋の萎縮応答の違いを筋重量の変化の違いから検討した。

不使用開始1週間目で、ギプス固定群では下腿前方の前頸骨筋と長指伸筋の筋重量はコントロール群に比べてそれぞれ7.5、10.5%の低値を示したが、下腿後方の内側腓腹筋、外側腓腹筋、ヒラメ筋および足底筋はそれぞれ29.8、30.9、28.1、31.0%と脚前方部の筋より低値を示した。これは下腿前方の筋に比べて下腿後方の筋の委縮が大きかったことを意味している。固定を行った場合、萎縮応答に影響するのは静止長に対する固定された時の筋長である。静止長またはそれより短い筋長で固定された場合には筋は委縮しやすいが、逆に長い筋長で固定された場合は委縮が少ないことが報告されている^{2,9)}。したがって、本研究では下腿前方の筋に比べて下腿後方の筋がより短縮された状態で固定されていたと考えられ、これは麻酔下の後肢の弛緩状態では足関節が底屈状態にあり、後方の筋がより短縮されている状態であると考えられた。一方、後肢懸垂においても下腿前方の前頸骨筋と長指伸筋の重量はコントロール群に比べてそれぞれ18.8、11.8%と低値を示し、下腿後方の内側腓腹筋、外側腓腹筋、ヒラメ筋、足底筋はそれぞれ28.1、26.4、26.6、23.2%と低値を示し、ギプス固定と同様な結果であった。Goldspink

ら³⁾は、サスペンションを行ったラットは後肢が底屈ポジションになるため、前頸骨筋と長指伸筋は普段よりストレッチされた状態になり下腿後方の筋に比べて萎縮しにくいことを報告している。これらのことから、本研究の後肢懸垂群においてもギプス固定と同様な現象が起こっていたと考えられた。

不使用開始1週目から3週目にかけて、ギプス固定群においてすべての骨格筋の重量は低下した。これはギプス固定による不使用の継続は更なる筋萎縮をもたらすものと考えられた。一方、後肢懸垂群においては筋重量の低下を示したのはヒラメ筋だけで、その他の筋重量は逆に増加傾向がみられた。ギプス固定と後肢懸垂の大きな違いは後肢懸垂ではアイソトニックな収縮活動が可能なことである³⁾。後肢懸垂群での筋重量の回復は、この収縮活動が筋タンパクの合成の亢進の引き金になったと考えられた。しかし、後肢懸垂群では不使用開始1週間では筋重量は低下していた。これは、後肢懸垂の早期には収縮活動によって高まるタンパク合成以上にタンパク分解の亢進が起こっていた可能性が考えられた⁵⁾。また、後肢懸垂群ではヒラメ筋だけは他の筋と異なり、ギプス固定群と同様に更なる重量の低下がみられた。ヒラメ筋は典型的な遅筋で抗重力筋であり、この筋は持続的な姿勢維持の役割を果たしている³⁾。そのために、固定や後肢懸垂によって姿勢維持で要求される持続的力発揮の必要がなくなるために、他の筋に比べて萎縮が進行していたと考えられた。これはヒラメ筋の萎縮過程では、他の筋とは異なる要因が関与している可能性も考えられる。

以上のことから、同じ萎縮モデルであるギプス固定と後肢懸垂で起こる萎縮は同様ではなく、また筋によってもその影響が異なることが明らかになった。

immobilization of hindlimbs in rats. *J. Appl. Physiol.*, 43 (4) : 656-661

- 2) Booth FW, Linderman JK, Christopher RK (1992) Molecular mechanisms of muscle disuse atrophy (and strategies of prevention). In: Hebbelinck M, Shephard RJ (eds) *Integration of medical and sports sciences. 8th international biochemistry of exercise conference*, Nagoya
- 3) Goldspink DF, Morton AJ, Loughna P, Goldspink G (1986) The effect of hypokinesia and hypodynamia on protein turnover and the growth of four skeletal muscles of the rat. *Pflugers Archiv*, 407 : 333-340
- 4) 実験動物飼育保管研究 (1980) 実験動物飼養及び保管等に関する基準の解説, 総理府内閣総理大臣官房管理室, ぎょうせい: 東京
- 5) Hayase K, Yokogoshi H (1991) Effect of suspension hypokinesia/hypodynamia on tissue protein turnover in rats. *Japan. J. Physiol.*, 42 : 473-482
- 6) Imaizumi K, Tachiyashiki K (1994) Effects of feeding levels and body weight loading on muscle mass and visceral organ size in rats. *Adv. Exerc. Sports Physiol.*, 1 : 41-50
- 7) Krawiec BJ, Frost RA, Vary TC, Jefferson LS, Lang CH (2005) Hindlimb casting decreases muscle mass in part by proteasome-dependent proteolysis but independent of protein synthesis. *Am. J. Endocrinol. Metab.*, 298 : E969-980
- 8) 森 敏昭, 吉田寿夫 (1990) 心理学のためのデータ解析テクニカルブック 1 版. 北大路書房: 京都
- 9) Spector SA, Simard CP, Fournier M, Sternlicht E, Edgerton VR (1982) Architectural alterations of rat hind-limb skeletal muscles immobilized at different length. *Exp. Neurol.*, 76 : 94-110
- 10) Vermaelen M, Marini JF, Chopard A, Benyamin Y, Mercier J, Astier C (2005) Ubiquitin targeting of rat muscle proteins during short periods of unloading. *Acta Physiol. Scand.*, 185 : 33-40
- 11) Vermaelen M, Sirvent P, Raynaud F, Astier C, Mercier J, Lacampagne A, Cazorla O (2007) Differential localization of autolyzed calpain 1 and 2 in slow and fast skeletal muscles in the early phase of atrophy. *Am. J. Cell Physiol.* 292 : C1723-C1732

V 参考文献

(2009年9月17日受理)

- 1) Booth FW (1977) Time course of muscular atrophy during