

第1章 筋活動量及び血流量に関係した 神経・筋の変性と運動の影響

石原 昭彦

Effects of exercise on activity-and blood flow-related neuromuscular degeneration

By

Akihiko ISHIHARA

Abstract: Effects of running exercise with increasing loads on hindlimb unloading-induced neuromuscular degeneration in male rats were investigated. Ten-week-old male rats were hindlimb suspended at horizontal position for 2 weeks and thereafter were rehabilitated by voluntary running exercise with increasing loads for 2 weeks. A decreased percentage of type I fibers and atrophy and decreased oxidative enzyme activity of all types of fibers in the soleus muscle were observed after hindlimb unloading. In contrast, an improvement in the decreased percentage of type I fibers, decreased fiber cross-sectional area, and decreased fiber oxidative enzyme activity was observed after recovery with running exercise, but not without running exercise. There were no changes in the number, cell body size, or oxidative enzyme activity of spinal motoneurons innervating the soleus muscle after hindlimb unloading, while an increased oxidative enzyme activity of motoneurons was observed after recovery with running exercise, but not without running exercise. It is concluded that running exercise with increasing loads is beneficial for the recovery of neuromuscular degeneration, which was induced by hindlimb unloading.

Keywords: hindlimb unloading, muscle fiber, rat, recovery, running exercise, soleus muscle, spinal motoneurons

概 要

生後10週齢の雄ラットに水平状態で2週間にわたり後肢懸垂を施した。その後、2週間にわたり実験動物用の加負荷式運動装置で自発的な走運動を施した。後肢懸垂後、ヒラメ筋でtype I線維の割合の減少、すべてのタイプの筋線維で萎縮と酸化系酵素活性の減少が認められた。後肢懸垂後に普通飼育で回復させた場合、筋線維の萎縮や変性は改善されなかった。一方、回復期に走運動を負荷した場合、type I線維の割合の減少や筋線維の萎縮と酸化系酵素活性の減少は改善された。後肢懸垂後、ヒラメ筋を神経支配する運動ニューロンの総数、細胞体サイズ、酸化系酵素活性に変化はみられなかった。一方、回復期に走運動を負荷した場合、運動ニューロンの酸化系酵素活性に増大が認められた。これらの結果より、加負荷を伴う走運動は、神経・筋の萎縮や変性を効果的に改善することが明らかになった。

1. は じ め に

無重力への曝露により骨格筋線維は萎縮して、筋線維タイプの移行（遅筋線維から速筋線維への変化）が生じる[1]。さ

らに、骨格筋線維を神経支配する脊髄の運動ニューロンや後根神経節の感覚ニューロンでは、酸化系酵素活性の減少が認められる[2-5]。後肢懸垂や固定により筋活動を抑制すると、無重力への曝露と同様に筋線維は萎縮して変性する[6]。

走運動は神経・筋の代謝を増大させて、筋線維の肥大や持久能力の向上をもたらす[7]。したがって、筋線維の萎縮や変性が生じた後に走運動を負荷することによって筋線維の萎縮や変性を効果的に回復できると期待される。本研究では、後肢懸垂を施すことによって生じた神経・筋の萎縮や変性が、その後の回復期に行う走運動によりどのように改善するのかを検討した。

2. 実験方法

生後10週齢のWistar系雄ラット25匹を5グループに分けた（各グループ5匹）。10匹は、一般の飼育ケージで飼育する12週齢の対照群と14週齢の対照群に分けた。15匹には、生後10週齢から12週齢にかけて水平状態で後肢懸垂を施した。その中の5匹は、後肢懸垂後に直ちに犠牲にした。残りの10匹については、2週間にわたり一般の飼育ケージで普通飼育により回復させた群と実験動物用の加負荷式運動装置で走運動を自発的に行わせた群に分けた。加負荷式運動装置を使用した群では、2週間にわたり漸増的に負荷を増大させた。また、走行時間は1日12時間とした。すべての群で水と餌は自由摂取とした。

犠牲にする1日前にヒラメ筋に蛍光色素である nuclear yellow を注入した[8-10]。1日後、ネンプタール麻酔下でヒラメ筋を摘出した。その後、断頭して脊髄（腰膨大部）を摘出した。クリオスタットを使用して、筋については厚さ20 μ mの横断切片を、脊髄については厚さ10 μ mの縦断切片を作成した。筋の切片については、myosin heavy chain のアイソホームである抗体を使用した免疫組織化学染色、adenosine triphosphatase (ATPase), succinate dehydrogenase (SDH) 活性をみるための酵素組織化学染色を施して、筋線維タイプ構成比、筋線維タイプ別の横断面積と酸化系酵素活性を測定した。脊髄の切片については、SDH 染色を施して運動ニューロンの総数、横断面積、酸化系酵素活性を算出・測定した。

3. 成果の概要

後肢懸垂による神経・筋の変性

後肢懸垂後、ヒラメ筋で type I 線維の割合の減少、さらに、すべてのタイプの筋線維で萎縮と酸化系酵素活性の減少が認められた（図1）。

後肢懸垂後、ヒラメ筋を神経支配する運動ニューロンの総数、細胞体サイズ、酸化系酵素活性に変化はみられなかった（図2）。

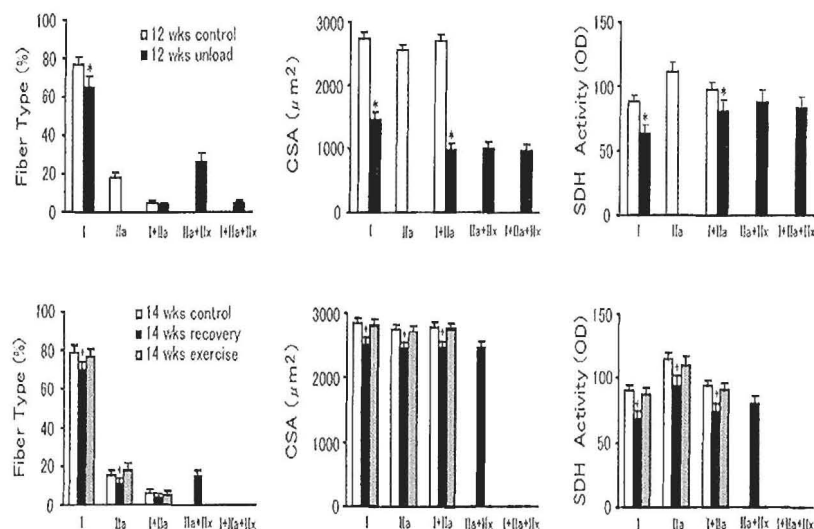


Fig. 1 Fiber type distributions (left), cross-sectional areas (middle), and succinate dehydrogenase (SDH) activities (right) of the rat soleus muscle. Values are expressed as mean and standard deviation taken from five rats. *p < 0.05 compared with the value of 12 wks control; +p < 0.05 compared with the value of 14 wks control and 14 wks exercise.

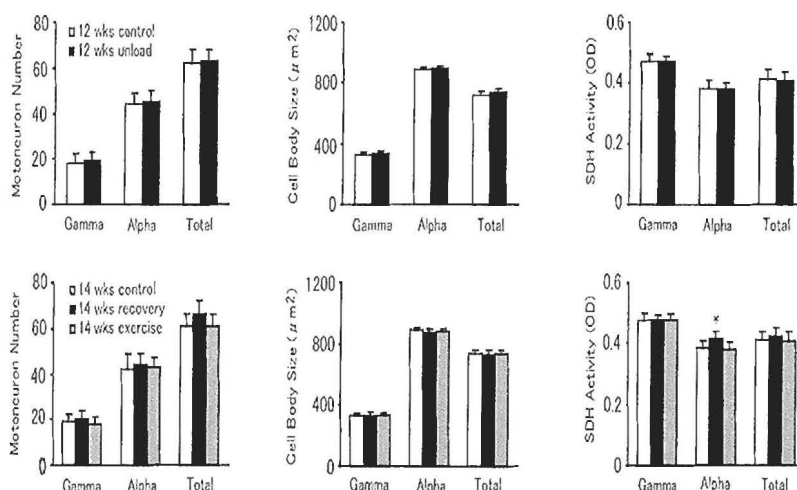


Fig. 2 Numbers (left), cross-sectional areas (middle), and succinate dehydrogenase (SDH) activities (right) of spinal motoneurons innervating the rat soleus muscle. Values are expressed as mean and standard deviation taken from five rats. * $p < 0.05$ compared with the value of 14 wks control and 14 wks exercise.

回復期に行う走運動の効果

後肢懸垂後に普通飼育で回復させた場合、type I 線維の割合の減少、筋線維の萎縮や酸化系酵素活性の減少は改善されなかった (図 1)。一方、回復期に走運動を負荷した場合、type I 線維の割合の減少、筋線維の萎縮と酸化系酵素活性の減少は改善された。

回復期に走運動を負荷した場合、ヒラメ筋を神経支配す運動ニューロンにおいて酸化系酵素活性の増大が認められた (図 2)。

4. ま と め

本研究では、後肢懸垂によりヒラメ筋で type I 線維の割合の減少、さらに、すべてのタイプの筋線維で萎縮と酸化系酵素活性の減少が認められた。先行研究では、実験動物の後肢を吊り上げて懸垂するために、後肢への血流が減少していたと考えられる [10]。本研究では、後肢懸垂中は実験動物を水平状態に維持して後肢への血流を確保した。しかしながら、後肢の筋線維は萎縮して、遅筋線維から速筋線維へのタイプ移行が生じた。したがって、筋線維の萎縮や変性には血流量よりも筋活動量がより影響を及ぼしていると考えられる。

後肢懸垂後の回復期に走運動を負荷することによって筋線維の萎縮や変性を効果的に改善できた。これは、萎縮した筋線維で代謝が増大して回復を早めたものと考えられる。宇宙飛行士は、宇宙環境において定期的に運動を行って筋や骨の萎縮や脆弱を防いでいる。しかしながら、宇宙空間での運動は、長時間にわたるために仕事の時間が少なくなること、運動により汗をかくことを嫌うことなどから有効とはいえない。研究室では、高気圧と高濃度酸素を併用する方法により末梢の細胞で代謝を増大できる装置を開発した [11]。この装置によって、睡眠中でも細胞の代謝を活発にできると期待される。来年度は、高気圧と高濃度酸素を併用した方法で変性した神経・筋を効果的に改善できるかどうかを検討する予定である。

成 果 発 表

- [1] 石原昭彦, 大平充宣. 脊髄運動ニューロンの可塑性. 第 60 回日本体力医学会総会シンポジウム, 2005, 岡山.
- [2] 石原昭彦, 河野史倫, 栗山可奈, 東端晃, 石岡憲昭, 鈴木ひろみ, 嶋津 徹, 大平充宣. 宇宙飛行によるラット前後肢の骨格筋を神経支配する脊髄運動ニューロンの細胞体サイズと酸化系酵素活性の変化. 日本宇宙生物科学会第 19 回大会, 2005, 東京.
- [3] 石原昭彦, 栗山可奈, 東端 晃, 石岡憲昭, 鈴木ひろみ, 嶋津 徹, 大平充宣. 後肢懸垂後の高気圧・高濃度酸素へ

の曝露がラットのヒラメ筋に及ぼす影響. 宇宙利用シンポジウム, 2006, 東京.

- [4] Ishihara A, Yamashiro J, Matsumoto A, Higashibata A, Ishioka N, Shimazu T, Ohira Y. Comparison of cell body size and oxidative enzyme activity in motoneurons between the cervical and lumbar segments in the rat spinal cord after spaceflight and recovery. *Neurochem Res*, in press.

参 考 文 献

- [1] Ohira Y. Neuromuscular adaptation to microgravity. *Jpn J Physiol*, 50, 303–314, 2000.
- [2] Ishihara A, Ohira Y, Roy RR, Nagaoka S, Sekiguchi C, Hinds WE, Edgerton VR. Influence of spaceflight on succinate dehydrogenase activity and soma size of rat ventral horn neurons. *Acta Anat*, 157, 303–308, 1996.
- [3] Ishihara A, Ohira Y, Roy RR, Nagaoka S, Sekiguchi C, Hinds WE, Edgerton VR. Effects of 14 days of spaceflight and nine days of recovery on cell body size and succinate dehydrogenase activity of rat dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience*, 81, 275–279, 1997.
- [4] Ishihara A, Ohira Y, Roy RR, Nagaoka S, Sekiguchi C, Hinds WE, Edgerton VR. Comparison of the response of motoneurons innervating perineal and hind limb muscles to spaceflight and recovery. *Muscle Nerve*, 23, 753–762, 2000.
- [5] Ishihara A, Ohira Y, Roy RR, Nagaoka S, Sekiguchi C, Hinds WE, Edgerton VR. Succinate dehydrogenase activity in rat dorsolateral ventral horn motoneurons at L 6 after spaceflight and recovery. *J Grav Physiol*, 9, 39–48, 2002.
- [6] Ishihara A, Oishi Y, Roy RR, Edgerton VR. Influence of two weeks of non-weight bearing on rat soleus motoneurons and muscle fibers. *Aviat Space Environ Med*, 68, 421–425, 1997.
- [7] Ishihara A, Roy RR, Ohira Y, Ibata Y, Edgerton VR. Hypertrophy of rat plantaris muscle fibers after voluntary running with increasing loads. *J Appl Physiol*, 84, 2183–2189, 1998.
- [8] Ishihara A, Hori A, Roy RR, Oishi Y, Talmadge RJ, Ohira Y, Kobayashi S, Edgerton VR. Perineal muscles and their innervation: metabolic and functional significance of the motor unit. *Acta Anat*, 159, 156–166, 1997.
- [9] Ishihara A, Ohira Y, Tanaka M, Nishikawa W, Ishioka N, Higashibata A, Izumi R, Shimazu T, Ibata Y. Cell body size and succinate dehydrogenase activity of spinal motoneurons innervating the soleus muscle in mice, rats, and cats. *Neurochem Res*, 26, 1301–1304, 2001.
- [10] Ishihara A, Kawano F, Ishioka N, Oishi H, Higashibata A, Shimazu T, Ohira Y. Effects of running exercise during recovery from hindlimb unloading on soleus muscle fibers and their spinal motoneurons in rats. *Neurosci Res*, 48, 119–127, 2004.
- [11] Ishihara A, Kawano F, Okiura T, Morimatsu F, Ohira Y. Hyperbaric exposure with high oxygen concentration enhances oxidative capacity of neuromuscular units. *Neurosci Res*, 52, 146–152, 2005. 2. 成果の概要.