

JAPANESE JOURNAL OF

PHYSICAL

THERAPY

FUNDAMENTALS

日本基礎理学療法学雑誌

Volume 15 No 2 March 2012

総説 「最新の研究から考えた筋力低下に対する治療法とは？」

機械刺激による筋肥大および筋萎縮抑制の分子メカニズム	縣 信秀
関節リウマチにおける筋力低下のメカニズムとその対策	山田 崇史
身体不活動による運動機能低下は運動せずに予防できるか？	金子 文成

原著

自然発症2型糖尿病ラットの血糖及び骨格筋内微小血管障害に対する持久運動の予防効果	森藤 武・他
運動習熟過程における大脳皮質運動関連領野の酸素化ヘモグロビン濃度変化について-近赤外分光法 (NIRS) による検討-	大関 麻帆・他

日本基礎理学療学会

Japanese Association of Physical Therapy Fundamentals

<http://square.umin.ac.jp/mbpt/>

総 説

「最新の研究から考えた筋力低下に対する治療法とは？」

機械刺激による筋萎縮軽減の分子メカニズム

縣 信秀¹⁾

キーワード：筋萎縮，機械刺激，分子メカニズム

1. はじめに

一般に，筋は運動すると太くなり，身体不活動状態になると細くなる．筋が発揮できる張力は，筋に含まれる筋線維の横断面積の総和に比例すると言われている．つまり，筋が太くなれば筋力は増強され，細くなれば筋力は低下すると言える．また，筋線維の太さは，アクチンやミオシンなどの筋線維を構成するタンパク質の合成と分解のバランスによって決まり，この合成や分解は細胞内情報伝達系により制御されている．運動による筋萎縮軽減は，運動時に骨格筋に加わる様々な刺激（機械刺激，ホルモン，成長因子，熱，pHなど）に対する細胞内情報伝達分子の応答を介して，タンパク質合成の亢進もしくは分解の抑制によって生じている．そこで本稿では，これらの刺激の中で機械刺激に着目し，その筋萎縮軽減効果と分子メカニズムについて報告し，筋力低下に対する治療法について考える．

2. 機械刺激によっておこる筋萎縮軽減

骨格筋は，さまざまな環境によってその大きさを変える，可塑性に富んだ器官である．例えば，長期臥床などによって骨格筋がほとんど使用されない環境に晒されれば，筋は萎縮する．一方，スポーツ選手のように毎日トレーニングを行っているとき，筋は肥大する．筋が収縮力を発生しているときに，その筋には収縮力の反対方向に同じ大きさの応力として，機械刺激（mechanical stress）の一種である張力刺激が加わる．

よって，筋肉は機械刺激が加わることにより肥大して強くなり，機械刺激が加わらないと萎縮して弱くなると考えることができる．実験的に，筋に持続的な機械刺激を加えた時の筋萎縮軽減の効果を調べた報告は多くある¹⁻⁸⁾．Williams は，1990年に，ギプス固定によ

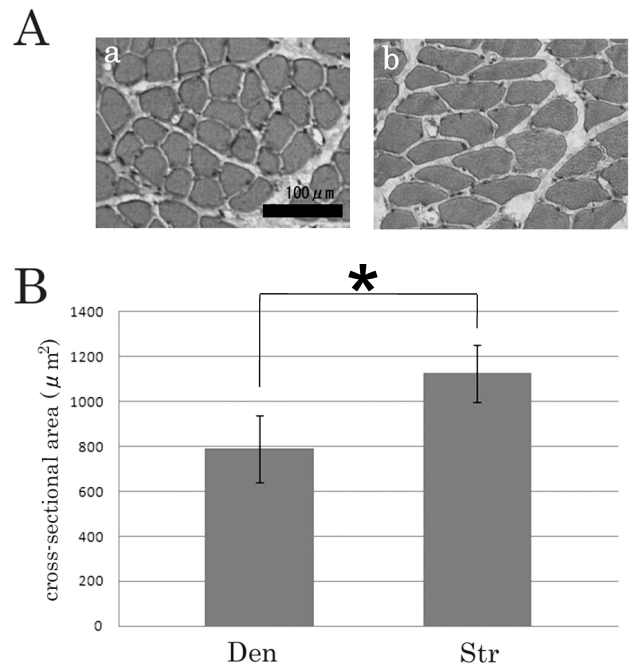


図1 機械刺激による筋萎縮軽減効果（文献8より引用）
坐骨神経を切除した8週齢のラットの足関節を，徒手により他動的に間欠的伸張刺激（足関節最大背屈位5秒，中間位5秒を繰り返す）を行った．Aaは，除神経術を行ったが，周期的伸張刺激を加えなかったラットのヒラメ筋の横断切片像，Abは除神経術1日後から周期的伸張刺激を1日15分間，2週間加えた後のラットのヒラメ筋の横断切片像である．Bは各群の筋線維横断面積を測定し，平均値を示したグラフである（Mean ± SD）．間欠的伸張刺激を加えたヒラメ筋（Str）の筋線維断面積は，間欠的伸張刺激を加えていないヒラメ筋（Den）に比べ約43%大きい．*p<0.05.

1) 浜松大学保健医療学部
（〒431-2102 静岡県浜松市北区都田町1230）

て短縮位に固定されたヒラメ筋に対して、1日30分間の持続的伸張刺激を加えると、筋萎縮を軽減できたことを報告している¹⁾。この持続的伸張刺激による筋萎縮軽減効果は、後肢懸垂⁴⁾や除神経⁷⁾による筋萎縮モデルラットでも確認されている。また、我々は、運動時のように骨格筋に繰り返して加わる機械刺激による筋萎縮軽減の効果を調べる為に、坐骨神経を切除したラットのヒラメ筋に対して、間欠的な伸張刺激を加え、筋萎縮軽減の効果を調べた。間欠的伸張刺激は、徒手によりラット足関節の最大背屈5秒間、中間位5秒間を繰り返し行うことで与え、除神経術1日後から、1日15分間、2週間行った。その結果、1日1回15分間の間欠的伸張刺激は、除神経による筋萎縮を軽減させることがわかった⁸⁾(図1)。以上のことから、筋に対して機械刺激を加えると、萎縮を軽減できることが分かる。

3. 機械刺激による筋萎縮軽減の分子メカニズム

生体の組織を構成するタンパク質は、一方では一定の速度で合成され、他方では一定の速度で分解されており、常に新しいタンパク質の置き換えが行われている。骨格筋は、収縮タンパク質であるアクチンフィラメントやミオシンフィラメントをはじめとする、筋線維を形成する多数のタンパク質(筋構成タンパク質)から構成されており、この筋構成タンパク質も絶えず合成され、かつ分解されている。除神経などにより筋線維が萎縮する現象は、筋構成タンパク質の分解量が合成量よりも多くなり、トータルの筋構成タンパク質量が減少することによって生じる。つまり、筋萎縮を軽減する為には、筋構成タンパク質の分解量を減少させる、もしくは合成量を増加させる必要がある。

すべてのタンパク質の合成は、DNAに記録されている遺伝情報がRNAに転写され、さらにリボソームでRNAの情報を元にタンパク質へと翻訳されていくセントラルドグマといわれる一連の流れによって起こる^{9, 10)}。一方、細胞内のタンパク質の分解機構はたくさんあるが^{11, 12)}、主な分解機構として非選択的タンパク質分解を担うリソソーム系(lysosome/vacuole system)と、選択的タンパク質分解を行うユビキチン・プロテアソーム系(ubiquitin-proteasome system)がある。

機械刺激による筋萎縮軽減に関する情報伝達経路に関しては、ここ数年、多くの事実が明らかになってきた。そこで、筋構成タンパク質の合成と分解の分子メカニズムについて概説するとともに、機械刺激との関

係について説明する。

1) 機械刺激による筋構成タンパク質合成促進の分子メカニズム

肝臓や骨格筋などで産生される成長因子であるインシュリン様成長因子(IGF-1: insulin-like growth factor-1)は、筋肉の肥大を引き起こす因子として有名である。2001年Rommelら¹³⁾は、このIGF-1により引き起こされる筋肥大に関わる、筋構成タンパク質の合成促進に関与する細胞内情報伝達分子を、世界で初めて厳密に示した。まず、筋細胞外にIGF-1を添加すると、IGF-1は筋細胞膜に存在するIGF-1受容体に結合する。IGF-1が結合したIGF-1受容体は、細胞内に存在する分子脂質キナーゼであるPI3K(phosphatidylinositol 3-kinase)を介して、タンパク質キナーゼであるAkt(別名 protein kinase B)を活性化させる。活性化したAktはその下流でmTOR(mammalian target of rapamycin)を介してp70S6K(70-kDa ribosomal protein S6 kinase)に情報を伝え、

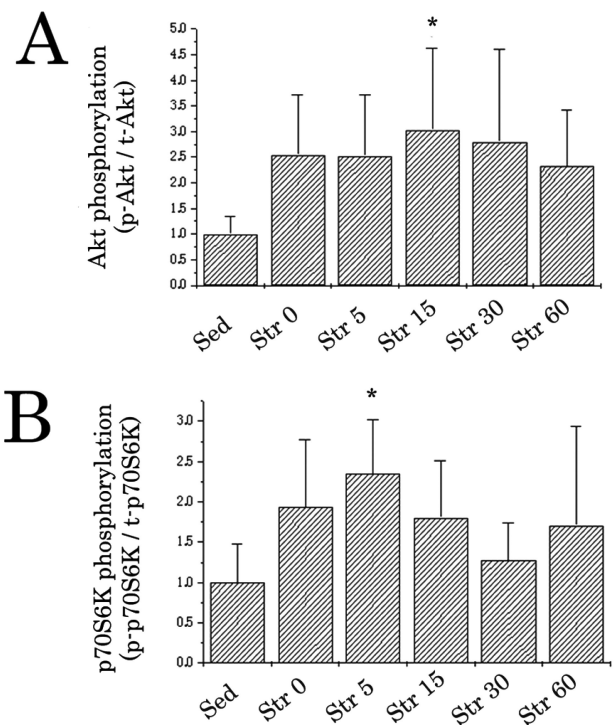


図2 機械刺激によるAkt, p70S6Kのリン酸化(文献8より引用)

坐骨神経を切除した8週齢のラットのヒラメ筋に対して間欠的伸張刺激(足関節最大背屈位5秒, 中間位5秒を繰り返す)を15分間行った。伸張刺激後、直後、5, 15, 30, 60分後に筋を採取し、ウェスタン・ブロッティングを用いて、Akt(A)とp70S6K(B)のリン酸化の割合を算出した。伸張刺激後にAkt, p70S6Kともにリン酸化の割合が増加している。

*p<0.05vs. Sed

リボゾームにおけるタンパク質の翻訳を活性化する。その結果、タンパク質の合成量が増加し、筋肥大が生じるわけである。

我々は、このAkt/mTOR経路が、筋肥大に関与するだけでなく、機械刺激による筋萎縮軽減にも関与しているかどうかを調べる為に、次の実験を行った。まず、除神経を施したヒラメ筋に15分間の間欠的伸張刺激を加え、伸張刺激直後、5、15、30、60分後に筋を採取し、ウェスタン・ブロッティング法を用いて、Aktとp70S6Kのリン酸化の割合を算出した。その結果、除神経を施したヒラメ筋に間欠的伸張刺激を加えると、Akt、p70S6Kが活性化することがわかった⁸⁾(図2)。さらに、伸張刺激により活性化したこれらの分子が、筋萎縮軽減に関与しているのかどうかを調べる為に、mTORの阻害剤であるrapamycinを用いた実験を行った。坐骨神経の除神経術1日後から、1日15分間、2週間、伸張刺激を行い、毎回伸張刺激を加える前に、rapamycinを腹腔内投与した。その結果、rapamycin投与により、伸張刺激による筋萎縮軽減効果は見られなくなった(図3)。以上の事から、機械刺激による萎縮軽減には、Akt/mTOR経路の活性

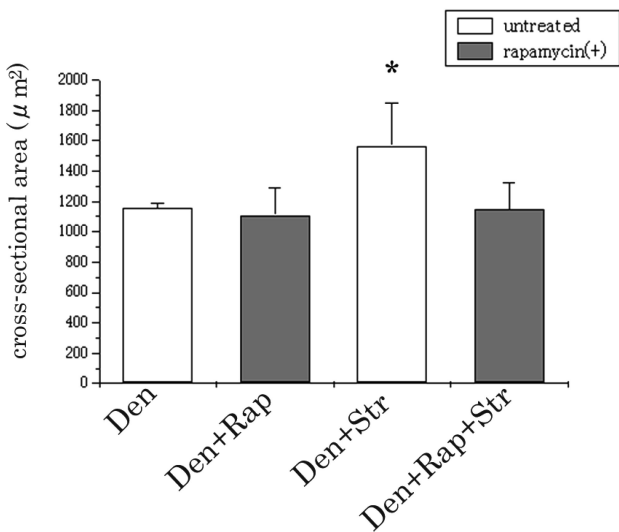


図3 mTOR経路の障害が機械刺激による筋萎縮軽減効果に与える影響 (文献8より引用)

坐骨神経を切除した8週齢のラットのヒラメ筋に間欠的伸張刺激(足関節最大背屈位5秒、中間位5秒を繰り返す)を2週間行い、毎回伸張刺激を加える前に、rapamycinを腹腔内投与したときの、各群の筋線維横断面積を測定し、平均値を示したグラフである(Mean ± SD)。間欠的伸張刺激を加えたヒラメ筋(Den+Str)の筋線維断面積は、間欠的伸張刺激を加えていないヒラメ筋(Den)に比べ大きく伸張刺激による筋萎縮軽減効果がみられた。一方、伸張刺激の前にrapamycinを投与したDen+Rap+Str群では、Den群と同様の値であり、筋萎縮軽減効果はみられなかった。*p<0.05。

化が関わっていると考えられる。

しかし、このAkt/mTOR経路を活性化する情報伝達の入口は明らかになっていないが、次のようなことが考えられている。実はIGF-1は、機械刺激によって筋細胞自身から(自己分泌)、あるいは周辺の細胞から(傍分泌)から分泌されることが知られている。しかし、機械刺激により分泌されたIGF-1が筋肥大や萎縮軽減を起こすといった一連の証拠が示されているわけではない。一方、機械刺激によるIGF-1の分泌量は、機械刺激が加わると1時間以内に増加するという報告¹⁴⁾や、Invivoでも筋肉に機械刺激を加えると2-4日以内にIGF-1の発現が上昇することが報告されている^{15, 16)}。このことから、機械刺激によりIGF-1が分泌され、IGF-1受容体を介して、前述したAkt/mTOR経路が活性化し、タンパク質の翻訳が活性化し、筋肥大が起こると考えている研究者が多い。もう一方で、この件に関して、2008年にSpangenburgら¹⁷⁾によって機械刺激によるIGF-1の分泌が筋肥大に必須ではないという報告がなされた。この研究によると、遺

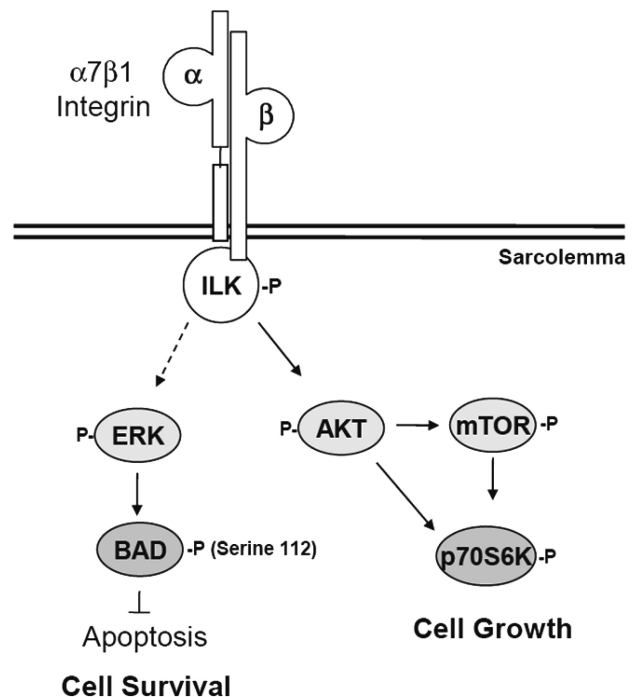


図4 Duchenne型筋ジストロフィーマウスの筋におけるインテグリンを介する情報伝達系 (文献20から抜粋)

図の矢印は因子の活性化を示し、-Pはリン酸化を示している。インテグリン-ILK複合体は、細胞外マトリックスと連結することで活性化され、その結果、Akt、p70S6Kのリン酸化を引き起こし、その結果細胞の成長を促進する。一方、インテグリン-ILK複合体が、ERKを介してBADのリン酸化を引き起こし、アポトーシスを抑制する可能性がある。

伝子工学的操作によってIGF-1が結合しないように組み替えたIGF-1受容体を持つマウスに運動負荷を加えると、Akt/mTOR経路は活性化し、筋肥大が生じた。つまり、機械刺激によってIGF-1が分泌されたとしてもIGF-1受容体に結合できないので、IGF-1受容体を介さずAkt/mTOR経路が活性化され筋肥大が生じたことを示唆している。

IGF-1を介さず、Akt/mTOR経路を活性化させる因子の候補として、細胞接着分子であるインテグリンが挙げられる。筋線維と細胞外基質の間には、細胞外の力を伝達する役割を持つ、コストメア構造がある^{18, 19)}。コストメア構造を形成するタンパク質分子群の一つに、筋細胞膜を貫通し、細胞外では細胞外基質と接続部位を持つインテグリンと各種タンパク質分子の集合がある。インテグリンを中心としたタンパク質群には、骨格筋細胞における力の伝達機構として、さらには機械刺激を化学的な細胞内情報へ変換する機構として働く可能性があるが、そのメカニズムについては、ほとんどは不明である。2011年にBoppartらは、Duchenne型筋ジストロフィーマウスにおいて、 $\alpha 7 \beta 1$ インテグリンが、integrin linkage kinase (ILK) やAkt, p70S6K, Extracellular Signal-regulated Kinase (ERK)の活性を高め、筋細胞の成長を促進し、筋のアポトーシスを抑制することを報告した²⁰⁾。このことから、機械刺激によるAkt/mTOR経路の活性にもインテグリンが関与していることが考えられるが、その詳細については今後の研究を待たねばならない。

2) 機械刺激による筋構成タンパク質分解の抑制の分子メカニズム

前述したように筋の太さは筋構成タンパク質の合成量と分解量のバランスにより決定される。よって筋構成タンパク質の分解量を抑えることは、筋肥大や萎縮軽減につながる重要な因子となる。

タンパク質はタンパク質分解酵素（プロテアーゼ）により分解される。骨格筋のタンパク質の分解に関わるシステムとしては、カテプシン（リソソームに局在するプロテアーゼの総称）により分解を行うリソソーム系や、カルシウム依存性プロテアーゼにより分解を行うカルパイン系などが関与すると考えられてきた。しかし近年、筋構成タンパク質の分解において注目されているのは、ユビキチン-プロテアソーム系による分解である。

ユビキチンとはアミノ酸76個からなる小さなタンパク質である。ユビキチンは、細胞の中で分解されるべきタンパク質に「目印」として数珠状に結合する（ユ

ビキチン化)。ユビキチン化は、ユビキチン活性化酵素 (E 1)、ユビキチン結合酵素 (E 2)、ユビキチンリガーゼ (E 3) という3つの酵素による一連のATP依存的反応を介して行われる。ユビキチン化されたタンパク質は、タンパク質分解酵素の巨大な複合体であるプロテアソーム (proteasome) で分解される。この一連の過程における、タンパク質の分解過程をユビキチン-プロテアソーム系と呼ぶ。

ユビキチン-プロテアソーム系は、分解するタンパク質を厳密に選択することができる分解システムであり、先に述べたリソソーム系などのようにタンパク質を非選択的に分解するシステムとは異なる。分解するタンパク質を選択するのに重要な役割を担うのが、前述した酵素のうちユビキチンリガーゼ (E 3) 酵素群である。ユビキチンリガーゼ (E 3) 酵素には1000種類を超える亜型があると言われている。その中で、筋萎縮に関わるユビキチンリガーゼがMuRF-1, Atrogin-1 (MAFbx: muscle atrophy F-box) である

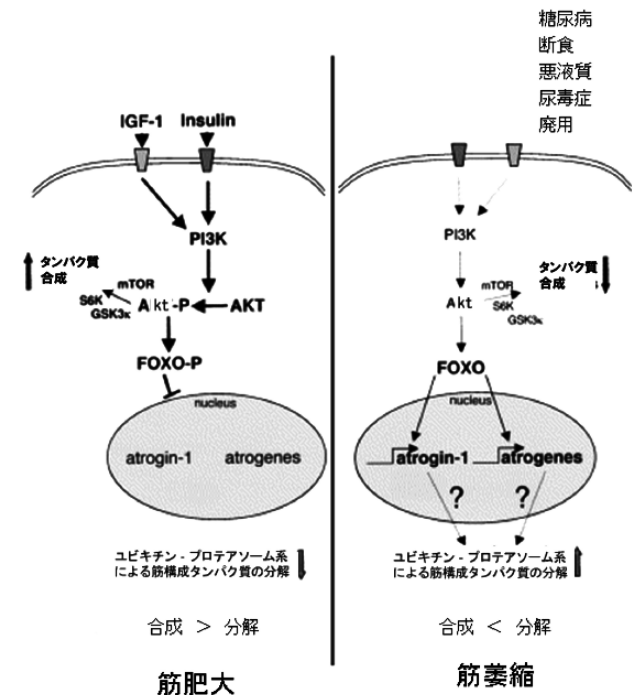


図5 筋肥大の時(左図)と筋萎縮時(右図)のIGF-1/Akt経路とFOXOの役割のまとめ (文献23を改変)

太字での因子や矢印は活性化していることを示している。IGF-1などによる筋肥大時、PI3Kを介してAktがリン酸化(活性化)し、タンパク質合成が亢進する。Aktがリン酸化していると、転写因子であるFOXOがリン酸化し、FOXOは細胞質内にとどまる。筋萎縮時、Aktは脱リン酸化(不活性化)し、タンパク質合成シグナルは減少すると同時にFOXOが脱リン酸化し、核内へ移行する。移行したFOXOは転写因子として働き、atrogin-1や他の筋萎縮関連遺伝子が発現し、タンパク質分解が促進する。

ということが近年明らかになった²¹⁾。

近年、筋肥大に関わる情報伝達分子として紹介したAktを介する細胞内情報伝達経路が、このMuRF-1, Atrogin-1の発現に関与していることが明らかになった。2004年Sandriら²²⁾は、培養骨格筋細胞を低栄養状態の環境に晒すと、Atrogin-1が発現し萎縮することや、その培養骨格筋にIGF-1添加すると、Atrogin-1の発現が抑えられることを示した。さらには、Aktを不活性化すると、FOXO (forkhead box O) が脱リン酸化されること、脱リン酸化されたFOXOは核内へ移行し、atrogin-1を発現し、筋萎縮を引き起こすことを示した (図5)。機械刺激による筋肥大や萎縮軽減にAktが関与することがすでに分かっており、Aktは筋の肥大と萎縮の両方を規定する筋線維サイズ決定因子として注目されるようになってきている²³⁾。

4. おわりに

今回紹介した、機械刺激による筋萎縮軽減に関わるメカニズムは、ほんの一部であり、まだまだ我々の知らない事が沢山あるはずである。ただ、ここ数年、筋の大きさや、機械刺激に対する骨格筋応答の研究の数は、飛躍的に増加している。いずれはその全貌が明らかになり、明らかになった細胞内情報伝達経路を基に、効果的で効率的な理学療法が確立されることを願っている。

【文 献】

- 1) Williams, P. E : Use of intermittent stretch in the prevention of serial sarcomere loss in immobilised muscle. *Ann Rheum Dis* 49: 316-317, 1990
- 2) Adachi R, Yabusaki K, Obinata T: Uptake of albumin is coupled with stretch-induced hypertrophy of skeletal muscle cells in culture. *Zoolog Sci* 20: 557-565, 2003
- 3) Vandeburgh H, Kaufman S: in vitro model for stretch-induced hypertrophy of skeletal muscle. *Science* 203: 265-268, 1979
- 4) Baewer D.V. et al.: Passive stretch inhibits central corelike lesion formation in the soleus muscles of hindlimb-suspended unloaded rats. *J Appl Physiol* 97: 930-934, 2004
- 5) Coutinho E. L., DeLuca C, Salvini T. F. et al: Bouts of passive stretching after immobilization of the rat soleus muscle increase collagen macromolecular organization and muscle fiber area. *Connect Tissue Res* 47: 278-286, 2006
- 6) Goldspink D. F., Easton J, Winterburn S. K. et al.: The role of passive stretch and repetitive electrical stimulation in preventing skeletal muscle atrophy while reprogramming gene expression to improve fatigue resistance. *J Card Surg* 6: 218-224, 1991
- 7) Goldspink D. F.: The influence of passive stretch on the growth and protein turnover of the denervated extensor digitorum longus muscle. *Biochem J* 174, 595-602, 1978
- 8) Agata N. et al.: Repetitive stretch suppresses denervation-induced atrophy of soleus muscle in rats. *Muscle Nerve* 39: 456-462, doi: 10.1002/mus.21103, 2009
- 9) 竹縄忠臣：タンパク質がわかる。東京,羊土社.2003
- 10) 谷口直之：医学を学ぶための生物学。東京,南江堂.1998
- 11) 鈴木紘一：タンパク質分解－分子機構と細胞機能－。東京,シュプリンガー・フェアラーク東京.2000
- 12) 第15回「大学と科学」公開シンポジウム組織委員会：タンパク質分解の不思議：こわれてなくてもこわれすぎてもいけない。東京,クバプロ (2001)
- 13) Rommel, C. et al. : Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI (3) K/Akt/mTOR and PI (3) K/Akt/GSK3 pathways. *Nat.Cell Biol* 3: 1009-1013, 2001
- 14) Perrone, C. E., Fenwick-Smith, D. & Vandeburgh, H. H. Collagen and stretch modulate autocrine secretion of insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding proteins from differentiated skeletal muscle cells. *J Biol.Chem.* 270: 2099-2106, 1995
- 15) McKoy, G. et al. Expression of insulin growth factor-1 splice variants and structural genes in rabbit skeletal muscle induced by stretch and stimulation. *J Physiol* 516 (Pt 2) : 583-592, 1999
- 16) Yang, H., Alnaqeeb, M., Simpson, H. & Goldspink, G. Changes in muscle fibre type, muscle mass and IGF-I gene expression in rabbit skeletal muscle subjected to stretch. *J Anat.* 190 (Pt 4) : 613-622, 1997
- 17) Spangenburg, E. E., Le Roith, D., Ward, C. W. & Bodine, S. C. A functional insulin-like growth

factor receptor is not necessary for load-induced skeletal muscle hypertrophy. *J Physiol* 586: 283-291, 2007

- 18) Patel, T. J. & Lieber, R. L. Force transmission in skeletal muscle: from actomyosin to external tendons. *Exerc Sport Sci Rev* 25, 321-363, 1997
- 19) Pardo, J. V., Siliciano, J. D. & Craig, S. W. A vinculin-containing cortical lattice in skeletal muscle: transverse lattice elements ("costameres") mark sites of attachment between myofibrils and sarcolemma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80: 1008-1012, 1983
- 20) oppart, M. D., Burkin, D. J. & Kaufman, S. J. Activation of AKT signaling promotes cell growth and survival in alpha7beta1 integrin-mediated alleviation of muscular dystrophy. *Biochim Biophys Acta* 1812: 439-446, 2011.
- 21) Bodine, S. C. et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 294, 1704-1708, 2001
- 22) Sandri, M. et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 117: 399-412, 2004
- 23) Hoffman, E. P. & Nader, G. A. Balancing muscle hypertrophy and atrophy. *Nat Med* 10: 584-585, 2004

総 説

「最新の研究から考えた筋力低下に対する治療法とは？」

関節リウマチにおける筋力低下のメカニズムとその対策

山田 崇史¹⁾

キーワード：カヘキシー，筋弱化，炎症性サイトカイン，活性酸素種，高強度運動

1. はじめに

関節リウマチ (Rheumatoid Arthritis: RA) 患者の内およそ3分の2では、健常者に比べ筋力が25～50%程度低下することが示されており、関節の変形や疼痛とともに日常生活活動を制限する重大な要因の1つとなっている¹⁾。RAでは筋炎を伴う症例も認められるが²⁾、多くの場合、炎症細胞の浸潤などの病理学的な異常所見は観察されないことから³⁾、筋力の低下は主に筋量の減少に起因すると考えられてきた。この考えは、骨格筋の発揮張力が、その横断面積に比例するという知見に基づいている。しかしながら、RA患者において認められる筋力の低下は、筋量の減少だけでは説明できないことを示す報告が存在する。Helliwell & Jackson⁴⁾は、RA患者の握力および前腕の筋横断面積を健常者と比較したところ、筋横断面積の減少とともに、単位断面積当たりの張力 (固有張力) が顕著に低下することを明らかにした。つまり、当該疾患では、筋の量的な減少だけでなく、筋の質的な機能障害により筋力低下が引き起こされることが示唆される。この報告を支持するように、我々は、RAの実験動物モデルとして広く用いられているコラーゲン誘因性関節炎 (Collagen-Induced Arthritis: CIA) マウスから採取したヒラメ筋において、筋重量の減少とともに、固有張力の著しい低下を観察している⁵⁾。慢性心不全患者^{6,8)} や敗血症⁹⁾ などの種々の疾患においても認められるこのような固有張力の低下は、国際的にはMuscle weakness (筋弱化) と称され、量的な

減少を指すMuscle wastingとは区別して用いられる。すなわち、RAでは、筋量の低下と筋弱化が複合的に生じることで、筋力が著しく低下するものと考えられる。本稿では、RAに伴う筋力低下とそれに対する運動効果の分子メカニズムについて、近年の我々の研究成果を含む最新の知見について概説する。

2. RAに伴う筋量低下のメカニズム

骨格筋は、生体内で最も豊富に存在する組織である。RAでは、全身性の筋量の低下により体重が減少する、いわゆるリウマチ性カヘキシーと呼ばれる症例が認められる¹⁰⁾。我々の用いたCIAマウスにおいても、筋重量とともに体重の低下が観察された⁵⁾。先行研究において、このような筋量の低下は、活動量の低下とともに、循環性あるいは局所性の炎症性サイトカイン量の増加に起因することが示唆されている^{10,11)}。

筋量の低下は、筋タンパク質の合成と分解との間に存在する動的平衡が崩壊することで引き起こされる。炎症性疾患では、筋タンパク合成量の低下と分解量の亢進が生じるが、合成量の低下率よりも分解量の増加率の方が高いことが示されている¹²⁾。哺乳類の骨格筋では、リソソーム系¹²⁾、カルパイン系¹³⁾、ユビキチン-プロテアソーム系¹⁴⁾の異なる3つの系がタンパクの分解に関与している¹⁵⁾。これらの内、炎症性サイトカインの増加が引き金となる主なものは、ユビキチン-プロテアソーム系であると考えられている^{12,16)}。カヘキシーにおいて、筋量の低下との関連性が示されている炎症性サイトカインには、tumor necrosis factor- α (TNF- α) や、interleukin (IL) -1およびIL-6などが挙げられる¹⁷⁾。中でも、TNF- α はその関与が最も明確に示されている炎症性サイトカインである。循環

1) 札幌医科大学保健医療学部理学療法学科
(〒060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目)

性のTNF- α が、筋細胞膜上に存在する受容体に結合すると、転写因子であるnuclear factor (NF)- κ Bの働きにより、筋特異的ユビキチン転移酵素の発現が増大する。この酵素は、ユビキチンと標的となるタンパク質の両者を捕捉し、ユビキチンの受け渡しを触媒する。ユビキチン化されたタンパク質は、プロテアソームと呼ばれる巨大な酵素複合体により分解される¹⁸⁾。RA患者では、TNF- α 遮断薬の投与により、除脂肪体重の増加が観察されていることから¹⁹⁾、RAに伴う筋量の低下に、TNF- α を上流因子とするタンパク質分解系が関与することが示唆される。

3. RAに伴う筋弱化的メカニズム

3.1 興奮収縮連関における障害部位の特定

我々はRAで認められる筋弱化的要因をより詳細に検討するために、単一筋線維を対象とした実験を行った。細胞膜で発生した活動電位は、横行小管を経て筋小胞体からのCa²⁺放出を引き起こす。これにより細胞内遊離Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i)は10-100倍程度上昇するため、Ca²⁺がトロポニンへ結合する。これが引き金となりトロポミオシンの構造変化が生じ、アクチンとミオシンによるクロスブリッジサイクルが作動する。興奮収縮連関と呼ばれるこれら一連の過程において、筋弱化的原因は、①筋小胞体からのCa²⁺放出能力の低下、②筋原線維のCa²⁺感受性の低下、③クロスブリッジの張力産生能力の低下の大きく3つに分けられる²⁰⁾(図1)。

これらの可能性を絞り込む上で、収縮時の [Ca²⁺]_iを測定する方法は極めて有効な手段である。なぜならば、張力の低下が収縮時の [Ca²⁺]_iの低下を伴う場合、その原因は①筋小胞体のCa²⁺放出機能にあり、一方、張力の低下が収縮時の [Ca²⁺]_iの低下を伴わない場合、その原因は②筋原線維のCa²⁺感受性あるいは③クロスブリッジにおける張力産生能力にあると判断することができるからである。そこで我々は、CIAマウスのヒラメ筋から採取した単一筋線維にCa²⁺蛍光指示薬であるIndo-1を注入し、測定した収縮時の [Ca²⁺]_iの値を対照群の値と比較した。その結果、CIA群では、特に高頻度の電気刺激により誘引される収縮時の [Ca²⁺]_iが対照群に比べ高値を示すことが明らかとなった。また、筋原線維のCa²⁺感受性の指標である、最大張力の50%を引き起こすために必要な [Ca²⁺]_iの値には両群間で差異が認められなかった。これらの知見は、CIA群のヒラメ筋では、①筋小胞体のCa²⁺放出機能および②筋原線維のCa²⁺感受性は低下しないことを

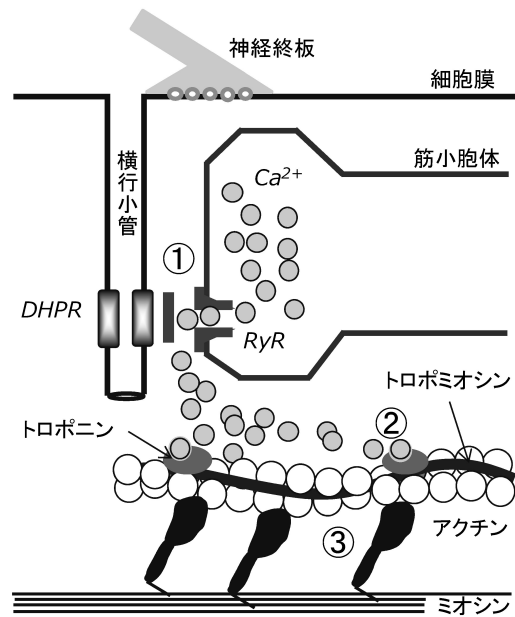


図1 興奮収縮連関

細胞膜において発生した活動電位は、細胞膜を伝わり横行小管に存在する電位依存性Ca²⁺チャネル(DHPR)の立体構造変化を引き起こす、①DHPRと筋小胞体Ca²⁺チャネル(RyR)の機能共役により細胞内Ca²⁺濃度が上昇する、②Ca²⁺がトロポニンへ結合する、③クロスブリッジサイクルと呼ばれるアクチンとミオシンの反応が生じる。①～③の過程の何れかに障害が生じると筋弱化的が誘引される。関節リウマチでは、主に③における機能不全により筋力低下が誘引されると考えられる。

示しており、③クロスブリッジにおける張力産生能力の低下が筋弱化的の主な原因であることが示唆される。それでは、クロスブリッジの機能不全は、どのようなメカニズムで生じているのだろうか。

3.2 ミオシンの選択的な減少

カヘキシーでは、細胞質タンパク質に比べ、筋原線維タンパク質の分解が亢進すること²¹⁾、また、固有張力の低下がミオシンの選択的な減少を伴うことが報告されている^{22,23)}。そこで我々は、RAにおいても、筋原線維タンパク質の減少がクロスブリッジ機能の低下に関与すると仮定し検討を行った。採取した筋から抽出した筋原線維タンパク質を、電気泳動法により分離した結果、CIA群では、筋原線維タンパク質全体におけるアクチンの占有率に変化は認められなかったが、ミオシンの占有率が7%程度低下することが明らかとなった。先行研究において、分化した筋管細胞を炎症性サイトカインであるTNF- α およびinterferon (IFN) - γ を含む溶液へ曝露すると、NF- κ Bが活性化することで、筋特異的転写因子であるMyoDの発現が抑制されミオシンの発現量が減少することが報告さ

れている²⁴⁾。また、炎症性サイトカイン誘因性のユビキチン-プロテアソーム系の活性化により、ミオシン分子の分解が亢進することが示されている¹⁶⁾。この分解の過程では、ミオシン分子が分解される前段階として、ミオシンフィラメントからのミオシン分子の解離が生じるが、その過程には、ユビキチン-プロテアソーム系に加え²⁵⁾、カルパイン系¹³⁾、カスパーゼ系²⁶⁾が関与することが示されている。したがってこれらの知見から、RAでは、炎症性サイトカインを上流因子とするシグナル伝達系が活性化することにより、ミオシンの選択的な減少が生じ、クロスブリッジ機能の低下が誘引されると考えられる。しかしながら、CIA群における固有張力の低下率は、ミオシンの減少率を大きく上回ることから、ミオシンの減少以外にも筋弱화를誘引する要因があると考えられる。

3.3 活性酸素種によるタンパク酸化

炎症性疾患では、骨格筋における活性酸素種 (reactive oxygen species : ROS) の生成量が増加することが示されている²⁷⁾。筋線維を炎症性サイトカイン溶液に曝露すると、ROS生成が促進されること^{28,29)}、また、遺伝子操作により炎症性サイトカインを過剰に発現させたマウスにおいて、ROSの生成量が増大することから³⁰⁾、炎症性サイトカインは、タンパク分解系とともに、ROSの生成系の働きを促進すると考えられる。ROSが筋収縮機能を調節する因子であることは多くの報告により示されており、それらの知見を基にReid³¹⁾は骨格筋の収縮力と酸化還元動態との関連性について、釣鐘曲線モデルを提唱している(図2)。また、近年、その分子メカニズムについても徐々に明らかにされており、タンパク質のシステイン残基に存在する遊離チオール基が重要な役割を果たすことが示されている³²⁾。例えば、ミオシンの重鎖には、機能上重要な2つのシステイン残基が含まれる。過剰に生成されたROSにより、これらのシステイン残基に含まれる高反応性の遊離チオール基が酸化的修飾を受けると、収縮時のクロスブリッジの結合力が弱化的ことが示されている³³⁾。すなわち、特定のタンパク質では、ROSによる立体構造の変化により機能の低下が誘引される。これまでの研究により、筋原線維タンパク質の中では、トロポニン、トロポミオシン、ミオシン、アクチンが、ROSの標的であることが報告されている^{27,32)}。

そこで我々は、まず、骨格筋のROS代謝において重要な役割を果たす一酸化窒素合成酵素 (nitric oxide synthase : NOS) およびスーパーオキシドディ

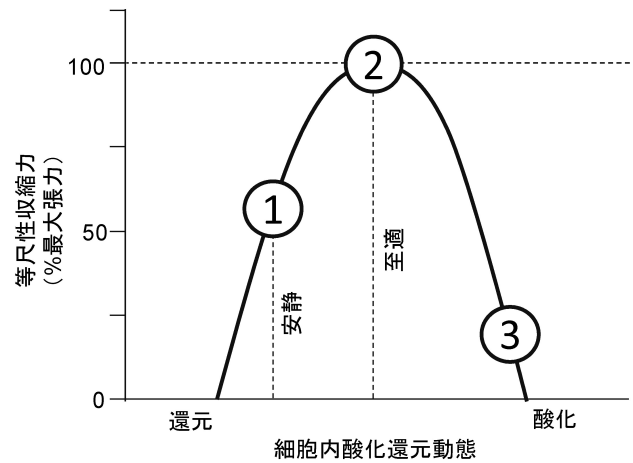


図2 細胞内酸化還元動態と等尺性収縮力の関係

①安静状態において、筋線維の内部は還元状態に保たれている。一方、②細胞内が軽度酸化されると張力は最も発揮されやすい状態となり、③長時間あるいは高濃度の酸化ストレスを受けると張力は低下する。(Reid (31) を改変)

スムターゼ (superoxide dismutase : SOD) の発現量を調査した。CIA群では、対照群に比べ、神経型NOSの増加およびマンガンSOD (SOD2) の減少が認められた。筋線維では、収縮活動に伴いミトコンドリアやキサンチンオキシダーゼ、NADPHオキシダーゼを通じ、スーパーオキシドの生成が増加する。スーパーオキシドが一酸化窒素 (NO) と反応すると、毒性の強いパーオキシナイトライトが発生する。この反応速度は、スーパーオキシドがSODにより代謝される速度よりも約3倍速いことが示されている。これらの知見から、NOの合成量が増加し、さらにSOD2によるスーパーオキシドの代謝量が低下したCIA群では、パーオキシナイトライトが過剰に生成される可能性が高いと考えられる。この仮説のもと我々は、パーオキシナイトライトによるタンパク酸化の有無を検討したところ、CIA群では、筋原線維タンパク質における3-ニトロチロシン、マロンジアルデヒド、カルボニル基、S-ニトロチオールの量が増加することが明らかとなった。なかでも、タンパク質の遊離チオール基における翻訳後修飾の一種であるS-ニトロチオールが、ミオシンおよびトロポニンIにおいて増加することが示された。これらの変化は、ミオシンATPase (mATPase) の活性化を抑制し、クロスブリッジ機能の低下を誘引することが報告されている^{34,35)}。したがって、RAでは、パーオキシナイトライトによる筋原線維タンパク質の翻訳後修飾が、筋弱化的要因の一つであることが示唆される。

さらに、CIAマウスのヒラメ筋では、全筋を対象と

して電気生理学的に測定した収縮特性において、著しい筋弱化和ともに、最大収縮速度の低下が観察された。筋の最大収縮速度は、mATPase活性に依存することから、その活性の低下が最大収縮速度の低下の要因であると考えられる。mATPase活性はミオシン重鎖アイソフォームの種類により異なるが、CIAマウスのヒラメ筋におけるミオシン重鎖アイソフォームの分布に変化は認められなかった。したがって、CIA群で認められた最大収縮速度の低下は、発現しているmATPaseの種類の変化ではなく、酸化ストレスによるmATPase活性の抑制が主要な要因である可能性が考えられる。

4. RAに対する理学療法効果の分子メカニズム

物理的負荷量の増大による関節の変形や疼痛の悪化を危惧するあまり、RA患者では運動療法の積極的な介入が長い間実施されずにいた。しかしながら、1975年に、運動が関節の炎症症状を増悪させることなく、運動能力を向上させることがEklblomら³⁶⁾により初めて示されると、RA患者に対する運動療法の有益性が徐々に関心を集め始めた。その後、明らかにされた数多くの知見により、運動は、筋力の向上のみならず、関節の腫脹や疼痛などで判断される疾病活性指数を低下させることが示され³⁷⁾、現在では、RAに対する標準的な治療手段の一つとなっている。さらに近年、比較的高強度の負荷量を用いたレジスタンストレーニング（抵抗運動）がRA患者の筋力強化に効果的であることが注目されている³⁾。Häkkinenら³⁸⁾は、最大随意収縮力の50～70%程度の抵抗運動を45分間ずつ、週2回のペースで2年間RA患者に負荷したところ、最大筋力の顕著な増加とともに、歩行速度が改善することを示している。また、その後彼らは抵抗運動の効果を追試し、その有益性を再確認している³⁹⁾。これら2つの報告では、炎症症状の指標として評価された赤血球沈降速度や疼痛が低減することが示されており、高強度の運動を負荷することで、RA患者において、より高い筋力強化効果が得られるとともに、抗炎症効果が招来されるものと考えられる。

4.1. タンパク分解に対する作用

本稿で示したように、RAに伴う筋機能の低下は、タンパク質の退行性変化の亢進により主に引き起こされ、炎症性サイトカインを上流因子とするシグナル伝達系が、そのメカニズムの一因であると考えられる(図3)。したがって、運動による筋力増強効果は、図3

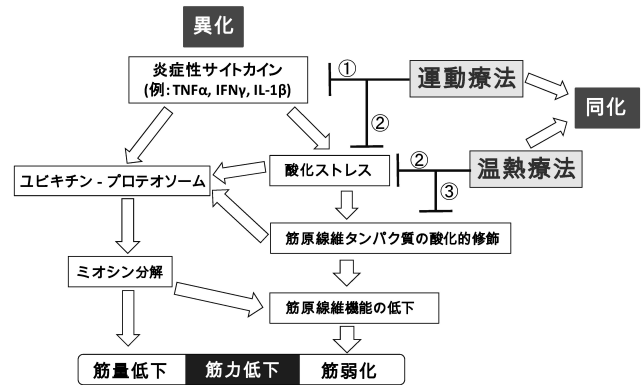


図3 関節リウマチに伴う筋力低下に対する理学療法効果の分子メカニズム

関節リウマチでは、炎症性サイトカインを上流因子とするシグナル伝達系が活性化されることで、タンパク質の分解や酸化修飾などの退行性変化が促進される。運動療法や温熱療法は、①抗炎症作用、②抗酸化作用、③タンパク質修復作用を通じて、タンパク質変性過程に拮抗するように働くとともに、タンパク合成系を賦活化することで筋機能の改善に寄与すると考えられている。

に示したタンパク質変性過程の何れかに拮抗する作用により生じるものと推察される。この考えを支持するように、RA患者において、最大筋力の80%の負荷量で、2週間に1回ずつ、合計で12週間の筋力トレーニングを行うと、運動前には健常者よりも高値を示したタンパク分解速度が正常化することが示されている⁴⁰⁾。これまでのところ、RA患者を対象とした検討は行われていないが、健常者やⅡ型糖尿病患者において、運動により炎症性サイトカインの発現量が抑制されることが示されており⁴¹⁻⁴⁴⁾、この作用がRA患者に対する運動効果に寄与する可能性が指摘されている³⁾。また、知見は限られているが、炎症性サイトカインへの曝露により誘引される関節軟骨細胞の退行性変化が、細胞の反復性伸展刺激により抑制されることを示す報告は⁴⁵⁾、運動が炎症による関節組織の破壊を防止する効果があることを期待させるものであり、今後の研究のさらなる進展が望まれている。

運動は骨格筋において抗酸化能力を向上させることが広く認められている^{46,47)}。酸化ストレスは様々なタンパク質の翻訳後修飾を引き起こすが、この修飾はジスルフィド結合やS-ニトロシル化などの可逆的な反応と、カルボニル化やニトロ化などの不可逆的な反応に大別される⁴⁸⁾。運動により抗酸化能力が向上すれば、可逆的な修飾により生じるタンパク質の機能不全や、不可逆的な修飾によるタンパク質の分解を未然に防止できると考えられる⁴⁹⁾。また、Ⅰ型糖尿病モデルラットにおいて、酸化ストレスが筋特異的ユビキチン転移

酵素の発現の増加を介してミオシンの分解を促進すること、また、運動により抗酸化能力が向上するとこの反応が抑制されることが示されている⁵⁰⁾。したがって、運動は、抗酸化機能の向上を介し、酸化ストレス誘因性のタンパク変性過程に対抗することで筋機能向上に寄与することが示唆される。一方、タンパク質の可逆的な翻訳後修飾に関しては、熱ショックタンパク質がその修復に関与することが知られている。温熱刺激の負荷による熱ショックタンパク質の増加が、不活動による筋量の低下の抑制と連関することを示す報告は⁵¹⁾、重度のRAにより十分な運動負荷が実施できない患者への対抗手段として温熱療法が利用できる可能性を示唆するものである。

4. 2. タンパク合成に対する作用

一方、健常者において、運動は成長ホルモン (growth hormone : GH) などの同化促進ホルモンの増加を引き起こすことで、タンパク合成系を活性化し筋力を増強させる。GHは、肝臓においてインスリン様成長因子 (insulin-like growth factor : IGF) -1の分泌を促進することで、同化促進作用の大部分を担うと考えられている。RA患者⁵²⁾あるいは実験モデルラット⁵³⁾では、IGF-1の発現量が低下することが示されており、タンパク合成の低下を招く要因であると考えられる。年齢や性別に関わらず、運動強度とGHの生成量には相関関係が認められていることから⁵⁴⁾、RAにおいても、運動強度に比例して同化促進ホルモンの量が増大し、運動の効果が高まることが推察される。しかしながら、RA患者に対して30分間の持久性トレーニングと、最大随意収縮力の50~80%の負荷の筋力トレーニングを組み合わせ、2週間に3回ずつ21週間負荷すると、筋肥大とともに筋力の増強が認められるが、GHやIGF-1には変化が認められないことが報告されている⁵²⁾。この報告では、採血により濃度が測定されているが、血漿中と組織中におけるGHやIGF-1の発現量は必ずしも一致するわけではなく、妥当な結論を導くためには、さらに詳細な検討が必要となると考えられる。

5. おわりに

本稿で概説した通り、近年、抵抗運動などの筋力トレーニングがRA患者の筋機能向上に効果的であることが注目されている。しかしながら、リスクに対する消極性を払拭し、その実施が一般化されるためには、運動の安全性と有効性に関するさらなる科学的な裏付

けが必要となるだろう。新たな知見あるいは着想は、往々にして臨床現場に端を発する。一方、基礎的な研究手法は、因果関係の有無を検討するために極めて有用である。臨床と基礎の双方が持ちつ持たれつとの関係性を理解した上で、それぞれの役割を最大限に果たすことが、より効果的な理学療法プログラムを具現化するために今後よりいっそう強く求められるだろう。

【文 献】

- 1) Sokka T, Häkkinen A, Kautiainen H, Maillefert JF, Toloza S, Mørk-Hansen T, Calvo-Alen J, Oding R, Liveborn M, Huisman M, Alten R, Pohl C, Cutolo M, Immonen K, Woolf A, Murphy E, Sheehy C, Quirke E, Celik S, Yazici Y, Tlustochowicz W, Kapolka D, Skakic V, Rojkovich B, Müller R, Stropuviene S, Andersone D, Drosos AA, Lazovskis J, Pincus T: Physical inactivity in patients with rheumatoid arthritis: data from twenty-one countries in a cross-sectional, international study. *Arthritis Rheum* 59: 42-50, 2008
- 2) Halla JT, Koopman WJ, Fallahi S, Oh SJ, Gay RE, Schrohenloher RE: Rheumatoid myositis. Clinical and histologic features and possible pathogenesis. *Arthritis Rheum* 27: 737-743, 1984
- 3) Lundberg IE, Nader GA: Molecular effects of exercise in patients with inflammatory rheumatic disease. *Nat Clin Pract Rheumatol* 4: 597-604, 2008
- 4) Helliwell PS, Jackson S: Relationship between weakness and muscle wasting in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 53: 726-728, 1994
- 5) Yamada T, Place N, Kosterina N, Östberg T, Zhang SJ, Grundtman C, Erlandsson-Harris H, Lundberg IE, Glenmark B, Bruton JD, Westerblad H: Impaired myofibrillar function in the soleus muscle of mice with collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 60: 3280-3289, 2009
- 6) Dalla-Libera L, Ravara B, Gobbo V, Danieli-Betto D, Germinario E, Angelini A, Vescovo G: Skeletal muscle myofibrillar protein oxidation in heart failure and the protective effect of Carvedilol. *J Mol Cell Cardiol* 38: 803-807, 2005
- 7) Szentesi P, Bekedam MA, van Beek-Harmsen BJ, van_der_Laarse WJ, Zaremba R, Boonstra

- A, Visser FC, Stienen GJ: Depression of force production and ATPase activity in different types of human skeletal muscle fibers from patients with chronic heart failure. *J Appl Physiol* 99: 2189-2195, 2005
- 8) Coirault C, Guellich A, Barbry T, Samuel JL, Riou B, Lecarpentier Y: Oxidative stress of myosin contributes to skeletal muscle dysfunction in rats with chronic heart failure. *Am J Physiol* 292: H1009-H1017, 2007
 - 9) Lanone S, Mebazaa A, Heymes C, Henin D, Poderoso JJ, Panis Y, Zedda C, Billiar T, Payen D, Aubier M, Boczkowski J: Muscular contractile failure in septic patients: role of the inducible nitric oxide synthase pathway. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 2308-2315, 2000
 - 10) Walsmith J, Roubenoff R: Cachexia in rheumatoid arthritis. *Int J Cardiol* 85: 89-99, 2002
 - 11) Roubenoff R, Roubenoff RA, Cannon JG, Kehayias JJ, Zhuang H, Dawson-Hughes B, Dinarello CA, Rosenberg IH: Rheumatoid cachexia: cytokine-driven hypermetabolism accompanying reduced body cell mass in chronic inflammation. *J Clin Invest* 93: 2379-2386, 1994
 - 12) Voisin L, Breuille D, Combaret L, Pouyet C, Taillandier D, Arousseau E, Obled C, Attaix D: Muscle wasting in a rat model of long-lasting sepsis results from the activation of lysosomal, Ca²⁺-activated, and ubiquitin-proteasome proteolytic pathways. *J Clin Invest* 97: 1610-1617, 1996
 - 13) Smith IJ, Lecker SH, Hasselgren PO: Calpain activity and muscle wasting in sepsis. *Am J Physiol* 295: E762-E771, 2008
 - 14) Lecker SH, Solomon V, Mitch WE, Goldberg AL: Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Nutr* 129: 227S-237S, 1999
 - 15) Nader GA: Molecular determinants of skeletal muscle mass: getting the "AKT" together. *Int J Biochem Cell Biol* 37: 1985-1996, 2005
 - 16) Acharyya S, Guttridge DC: Cancer cachexia signaling pathways continue to emerge yet much still points to the proteasome. *Clin Cancer Res* 13: 1356-1361, 2007
 - 17) Moldawer LL, Copeland EM 3rd: Proinflammatory cytokines, nutritional support, and the cachexia syndrome: interactions and therapeutic options. *Cancer* 79: 1828-1839, 1997
 - 18) Ladner KJ, Caligiuri MA, Guttridge DC: Tumor necrosis factor-regulated biphasic activation of NF-kappa B is required for cytokine-induced loss of skeletal muscle gene products. *J Biol Chem* 278: 2294-2303, 2003
 - 19) Marcora SM, Chester KR, Mittal G, Lemmey AB, Maddison PJ: Randomized phase 2 trial of anti-tumor necrosis factor therapy for cachexia in patients with early rheumatoid arthritis. *Am J Clin Nutr* 84: 1463-1472, 2006
 - 20) Westerblad H, Place N, Yamada T: Mechanisms of skeletal muscle weakness. *Adv Exp Med Biol* 682: 279-296, 2010
 - 21) Hasselgren PO, James JH, Benson DW, Hall-angerås M, Angerås U, Hiyama DT, Li S, Fischer JE: Total and myofibrillar protein breakdown in different types of rat skeletal muscle: effects of sepsis and regulation by insulin. *Metabolism* 38: 634-640, 1989
 - 22) van Hees HW, van der Heijden HF, Ottenheijm CA, Heunks LM, Pigmans CJ, Verheugt FW, Brouwer RM, Dekhuijzen PN: Diaphragm single-fiber weakness and loss of myosin in congestive heart failure rats. *Am J Physiol* 293: H819-H828, 2007
 - 23) Yamada T, Mishima T, Sakamoto M, Sugiyama M, Matsunaga S, Wada M: Oxidation of myosin heavy chain and reduction in force production in hyperthyroid rat soleus. *J Appl Physiol* 100: 1520-1526, 2006
 - 24) Guttridge DC, Mayo MW, Madrid LV, Wang CY, Baldwin AS Jr: NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia. *Science* 289: 2363-2366, 2000
 - 25) Cohen S, Brault JJ, Gygi SP, Glass DJ, Valenzuela DM, Gartner C, Latres E, Goldberg AL: During muscle atrophy, thick, but not thin, filament components are degraded by MuRF1-dependent ubiquitylation. *J Cell Biol* 185: 1083-1095, 2009
 - 26) Du J, Wang X, Miereles C, Bailey JL, Debigare R, Zheng B, Price SR, Mitch WE: Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. *J Clin*

- Invest 113: 115-123, 2004
- 27) Supinski GS, Callahan LA: Free radical-mediated skeletal muscle dysfunction in inflammatory conditions. *J Appl Physiol* 102: 2056-2063, 2007
 - 28) Williams G, Brown T, Becker L, Prager M, Giroir BP: Cytokine-induced expression of nitric oxide synthase in C2C12 skeletal muscle myocytes. *Am J Physiol* 267: R1020-R1025, 1994
 - 29) Bedard S, Marcotte B, Marette A: Cytokines modulate glucose transport in skeletal muscle by inducing the expression of inducible nitric oxide synthase. *Biochem J* 325: 487-493, 1997
 - 30) Li X, Moody MR, Engel D, Walker S, Clubb FJ Jr. , Sivasubramanian N, Mann DL, Reid MB: Cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha causes oxidative stress and contractile dysfunction in mouse diaphragm. *Circulation* 102: 1690-1696, 2000
 - 31) Reid MB: Redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J Appl Physiol* 90: 724-731, 2001
 - 32) Ferreira LF, Reid MB: Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. *J Appl Physiol* 104: 853-860, 2008
 - 33) Lowe DA, Surek JT, Thomas DD, Thompson LV: Electron paramagnetic resonance reveals age-related myosin structural changes in rat skeletal muscle fibers. *Am J Physiol* 280: C540-C547, 2001
 - 34) Horwitz J, Bullard B, Mercola D: Interaction of troponin subunits. The interaction between the inhibitory and tropomyosin-binding subunits. *J Biol Chem* 254: 350-355, 1979
 - 35) Nogueira L, Figueiredo-Freitas C, Casimiro-Lopes G, Magdesian MH, Assreuy J, Sorenson MM: Myosin is reversibly inhibited by S-nitrosylation. *Biochem J* 424: 221-231, 2009
 - 36) Ekblom B, Lövgren O, Alderin M, Fridström M, Satterström G: Effect of short-term physical training on patients with rheumatoid arthritis I. *Scand J Rheumatol* 4: 80-86, 1975
 - 37) Stenström CH, Minor MA: Evidence for the benefit of aerobic and strengthening exercise in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 49: 428-434, 2003
 - 38) Häkkinen A, Sokka T, Kotaniemi A, Hannonen P: A randomized two-year study of the effects of dynamic strength training on muscle strength, disease activity, functional capacity, and bone mineral density in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 44: 515-522, 2001
 - 39) Häkkinen A, Hannonen P, Nyman K, Lyyski T, Häkkinen K: Effects of concurrent strength and endurance training in women with early or longstanding rheumatoid arthritis: comparison with healthy subjects. *Arthritis Rheum* 49: 789-797, 2003
 - 40) Rall LC, Rosen CJ, Dolnikowski G, Hartman WJ, Lundgren N, Abad LW, Dinarello CA, Roubenoff R: Protein metabolism in rheumatoid arthritis and aging. Effects of muscle strength training and tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum* 39: 1115-1124, 1996
 - 41) Fischer CP, Berntsen A, Perstrup LB, Eskildsen P, Pedersen BK: Plasma levels of interleukin-6 and C-reactive protein are associated with physical inactivity independent of obesity. *Scand J Med Sci Sports* 17: 580-587, 2007
 - 42) Olson TP, Dengel DR, Leon AS, Schmitz KH: Changes in inflammatory biomarkers following one-year of moderate resistance training in overweight women. *Int J Obes (Lond)* 31: 996-1003, 2007
 - 43) Dekker MJ, Lee S, Hudson R, Kilpatrick K, Graham TE, Ross R, Robinson LE: An exercise intervention without weight loss decreases circulating interleukin-6 in lean and obese men with and without type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 56: 332-338, 2007
 - 44) Ogawa K, Sanada K, Machida S, Okutsu M, Suzuki K: Resistance exercise training-induced muscle hypertrophy was associated with reduction of inflammatory markers in elderly women. *Mediators Inflamm* 2010: 171023, 2010
 - 45) Xu Z, Buckley MJ, Evans CH, Agarwal S: Cyclic tensile strain acts as an antagonist of IL-1 beta actions in chondrocytes. *J Immunol* 165: 453-460, 2000
 - 46) Smuder AJ, Kavazis AN, Min K, Powers SK: Exercise protects against doxorubicin-induced oxidative stress and proteolysis in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 110: 935-942, 2011

- 47) Reid WD, Rurak J, Harris RL: Skeletal muscle response to inflammation--lessons for chronic obstructive pulmonary disease. *Crit Care Med* 37: S372-S383,2009
- 48) Sheehan D: Detection of redox-based modification in two-dimensional electrophoresis proteomic separations. *Biochem Biophys Res Commun* 349: 455-462, 2006
- 49) Grune T, Blasig IE, Sitte N, Roloff B, Haseloff R, Davies KJ: Peroxynitrite increases the degradation of aconitase and other cellular proteins by proteasome. *J Biol Chem* 273: 10857-10862, 1998
- 50) Chen GQ, Mou CY, Yang YQ, Wang S, Zhao ZW: Exercise training has beneficial anti-atrophy effects by inhibiting oxidative stress-induced MuRF1 upregulation in rats with diabetes. *Life Sci* 89: 44-49, 2011
- 51) Selsby JT, Dodd SL: Heat treatment reduces oxidative stress and protects muscle mass during immobilization. *Am J Physiol* 289: R134-R139, 2005
- 52) Häkkinen A, Pakarinen A, Hannonen P, Kautiainen H, Nyman K, Kraemer WJ, Häkkinen K: Effects of prolonged combined strength and endurance training on physical fitness, body composition and serum hormones in women with rheumatoid arthritis and in healthy controls. *Clin Exp Rheumatol* 23: 505-512, 2005
- 53) Granado M, Martín AI, Villanúa MA, López-Calderón A: Experimental arthritis inhibits the insulin-like growth factor-I axis and induces muscle wasting through cyclooxygenase-2 activation. *Am J Physiol* 292: E1656-E1665, 2007
- 54) Wideman L, Weltman JY, Hartman ML, Veldhuis JD, Weltman A: Growth hormone release during acute and chronic aerobic and resistance exercise: recent findings. *Sports Med* 32: 987-1004, 2002

総 説

「最新の研究から考えた筋力低下に対する治療法とは？」

身体不活動による運動機能低下は運動せずに予防できるか？ －神経科学的観点から－

金子 文成¹⁾

キーワード：不活動，運動，神経科学

1. はじめに

これまで我々は、ヒトの運動感覚系機能が関節固定などの身体不活動によってどのように変化するかという現象をとらえ、その機序について考察してきた。それらの知見と、近年の神経科学的研究によって示されてきた研究結果を考え合わせると、これまでの理学療法を更に発展させる方策を練り直す必要性が見えてきた。本稿では、筋萎縮や骨量などの解剖学的局所における機能の変化ではなく、筋出力という運動系と感覚系が統合されたシステムとしての機能低下を防ぐための方策について、近年の知見から得られた考え方を示す。

2. 身体不活動によって生じる肉眼的形態および機能の変化

2.1. 筋量に関わる変数

蛋白質代謝の近似的指標である窒素平衡は、通常、健康な成人では0になる。ベッドレスト後1週間でこの値が負となり、この時点ですでに除脂肪体重が減少する方向に傾いていると推察される¹⁾。それに対して、筋断面積は、関節固定後に1週間を経過しても変化しない^{2,4)}。このことから、局所的な筋萎縮という外見上の変化として捉えられるまでと、除脂肪体重の変化との間には時間差があるということがわかる。

2.2. 筋出力機能

1) 末梢筋出力機能

我々は、3-6週間のギプス固定を行った整形外科的手術後の症例を対象に、尺骨神経に対する最大上電気刺激を行い、手関節屈筋群から記録した最大上M波の振幅を計測した⁵⁾ (図1左)。最大上M波を健康な対照群、および症例が機能回復した状態の時に計測したものと比較した場合、ギプス除去直後の最大上M波は低下していなかった。この結果は、整形外科的に手術を行った後にギプス固定を実施した症例でさえ、末梢神経よりも末梢では筋出力機能の潜在能力として正常に近い状態を保持していることを示している。

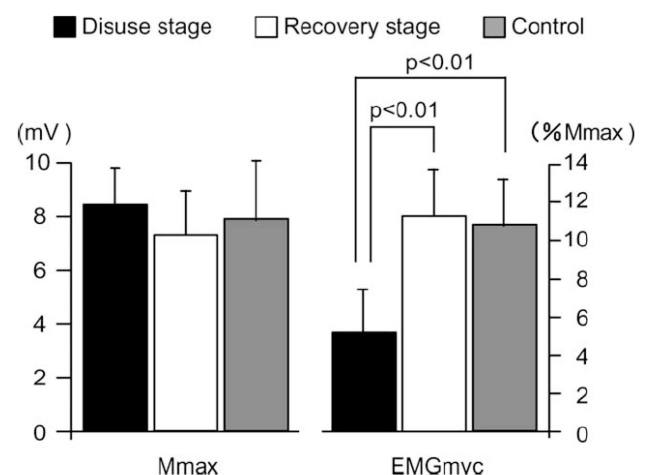


図 1

末梢神経最大上刺激によるM波振幅(左), および等尺性最大随意筋出力中の表面筋電図積分値を規格化した数値(右). 整形外科症例のギプス固定後と3ヶ月間の理学療法後, および健康な被験者での比較. (文献5より)

1) 札幌医科大学 保健医療学部 理学療法学第二講座
(〒060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目)

2) 随意筋出力機能

先に述べた末梢神経電気刺激を実施した症例と共通の群に対し、等尺性最大随意収縮 (MVC) を行わせた場合に記録した表面筋電図積分値の結果が図1右である⁵⁾。末梢神経電気刺激の場合とは異なり、ギプス固定除去後には筋電図積分値が明らかに低下していることが示された。すなわち、末梢の筋出力ポテンシャルが残存している状態であっても、随意的に筋出力させた場合には十分に筋出力ができない状態となっていることが示唆される。このような末梢の筋出力ポテンシャルと、随意運動による筋出力ポテンシャルを比較するためには、単収縮補完法が有効である⁶⁾。最大随

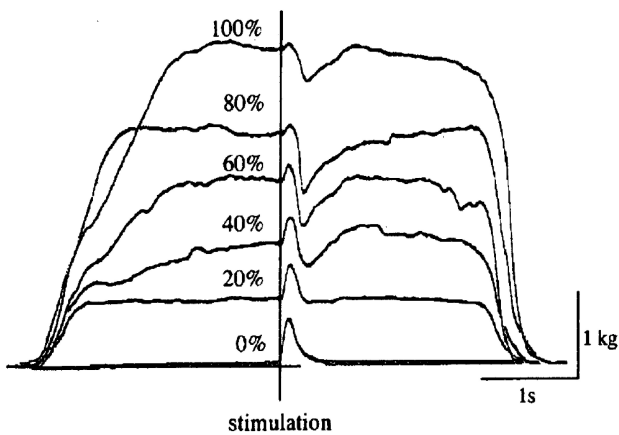


図2

等尺性筋出力中に末梢神経電気刺激を行った単収縮補完法による生データの一例。(文献6より)

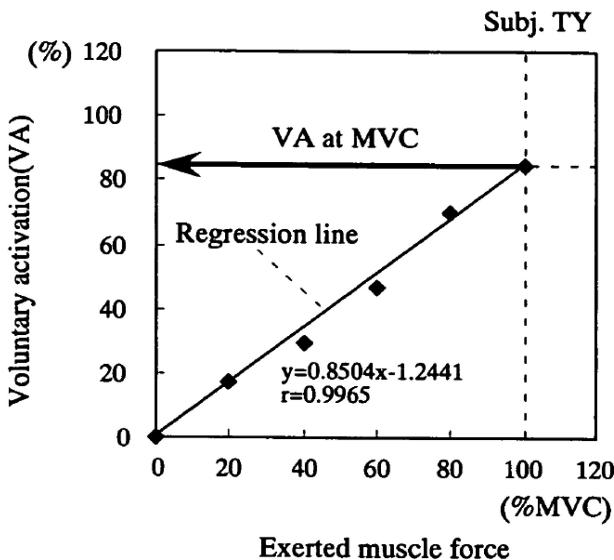


図3

最大随意筋出力の相対値とVA = [1 - (重畳単収縮力/安静時単収縮力)] 100で求められた推定随意的動員度との関係。(文献2より)

意筋出力中に末梢神経の最大上電気刺激を与えることによって、随意出力された筋力に単収縮力を重畳することができる(図2)。この重畳単収縮力は随意収縮力の増大に伴って次第に小さくなり、最大随意収縮時に全ての運動単位を動員できた場合には消失する。被験者内で、随意筋出力の値と重畳単収縮力は直線関係にあることを基にすると(図3)、潜在的な最大筋出力能力に対する随意的な動員度を推定することができる。この方法を用いた実験からも、1週間のギプス固定によって随意的な筋出力機能は低下していることが示された²⁾。その程度は、固定前に比べて25.5%低下していた。

3. 中枢神経系機能と身体不活動

これまで述べてきたことから、末梢の筋出力機能ではなく、中枢神経系に起因する機能低下が存在することは明らかである。それでは、具体的にどのような現象がとらえられているのか、随意運動を制御する中核となる皮質脊髄路については、1週間程度の短期関節固定であっても、入力と出力の利得が変化し、興奮性が増大した状態となっていた⁴⁾。さらに長期になると、マッピングされた皮質一次運動野の機能的支配領域が縮小されることが示されている⁷⁾。詳細は、身体不活動に対する上位中枢の適応に関して、最近まとめた総説があるので⁸⁾、そちらを参照されたい。

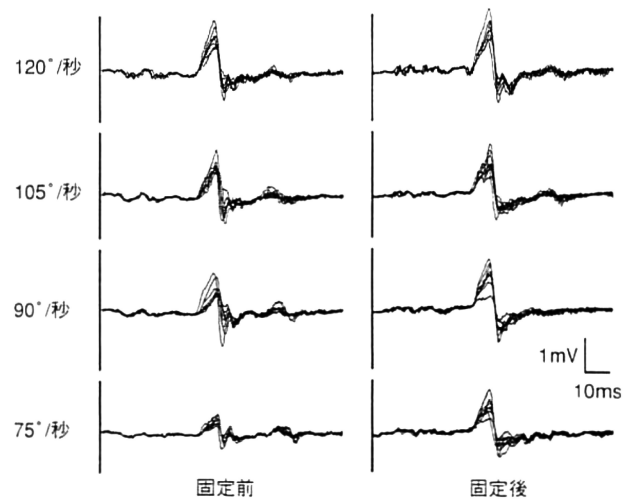


図4

関節固定前、および固定後に記録された伸張反射の生波形。伸張反射誘発のための伸張速度が速いと、伸張反射波の振幅が飽和しており、関節固定前後での振幅に差はみられないが、伸張速度が遅い場合には、関節固定後に振幅が大きくなることが検出された。これは、関節固定後に伸張反射の利得が大きくなったことを示す。(文献9, 10より)

脊髄レベルについて、我々は、脊髄運動ニューロンプールへの入出力関係を示すH波の振幅値について検索し、その結果として1週間の関節固定では変化していなかったことを報告した。しかし、H波で標的となる神経回路に、さらに筋紡錘機能を反映する伸張反射について調べると、その振幅が有意に増大していた(図4)。これは、伸張反射に関わる神経回路に筋紡錘を含む場合には利得が変化しており、精密な運動出力において不利な状況となっていることが示された^{9,10)}。

4. 低負荷運動は筋力低下予防に有効か

これまで述べてきた1週間のギプス固定を行った実験結果を対照とし、固定期間中に1日40分間の低負荷筋出力調節運動を行った場合の筋出力機能を調べた¹¹⁾。この実験における低負荷とは、平均で最大随意収縮の20%であり、一般的な筋力強化運動の負荷量と比較して、明らかに低いものであった。その結果、筋出力調節機能そのものが低下することを予防できたのみならず、最大の筋出力機能が低下することを予防することが出来た。この結果は、臨床においても、どのような運動を実施しているかということを経験例に十分に考えさせながら筋出力運動を行わせることで、最大随意筋力の低下を予防することにまでつながることを示している。

5. 脳への負荷、運動イメージ想起は筋出力機能低下に有効か

5.1. 運動イメージ想起で何が起こるか

運動イメージ想起によって上位中枢でどのような活動が起こっているかは、Roland¹²⁾以降多くの研究がある。簡単に述べると、機能的磁気共鳴画像による研究から、実際の運動遂行時に活動する多くの脳部位において、運動指令を仮想現実的に発しているかのように活動が認められることが報告されてきた¹³⁾(図5)。我々は、脊髄レベルで起こっている生理学的現象を明らかにしたため¹⁴⁾、ここではその点を解説する。過去には、運動イメージ想起は、上位中枢においては生理学的影響があるものの、脊髄レベルでは明確でないことが示されてきた^{3,15)}。それらの研究では、H波を用いた探索をしていることから、Ia線維からの入力による脊髄運動ニューロンプールの応答を調べたものであった。そこで我々は、筋紡錘機能を含めた検査となる伸張反射刺激を使用して、伸張反射弓の利得を検索した。その結果、運動イメージ想起によって、有意に

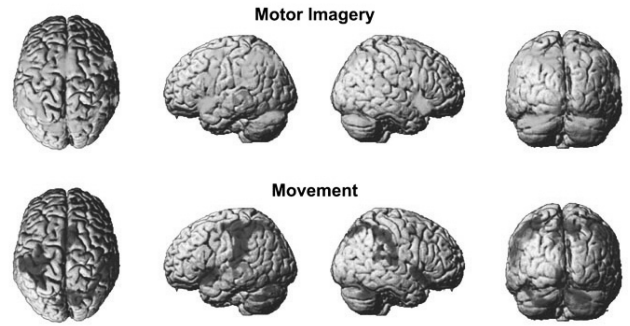


図5

運動イメージを想起した時(上段)と、実際に運動した時(下段)の脳活動。運動イメージ想起時には一次運動野や体性感覚野での活動がみられないものの、多くの運動関連領域と頭頂葉に重複した活動がみられる。(文献12より)

伸張反射振幅が増大していることが明らかとなった。H波との比較から、運動イメージ想起は脳内で運動を再生するというだけでなく、 γ 運動ニューロンの活動に関わる伸張反射弓の利得調節に関しても影響することが明らかとなった。

5.2. 関節固定による筋出力機能と運動イメージ想起

我々は、整形外科的手術後の症例を対象に、運動イメージ想起を実行する機能に対する関節固定の影響を調べた⁵⁾。通常、経頭蓋磁気刺激を実施して安静時に得られる運動誘発電位の振幅値(MEP)を基準とした場合、運動イメージを想起させると、その最中に記録される運動誘発電位の振幅は増大する。そのMEPの増大程度が、関節固定によってどのように変化するかを探索した。我々の研究では、健康な被験者で起こる運動誘発電位の増大や、症例が回復したときの検査

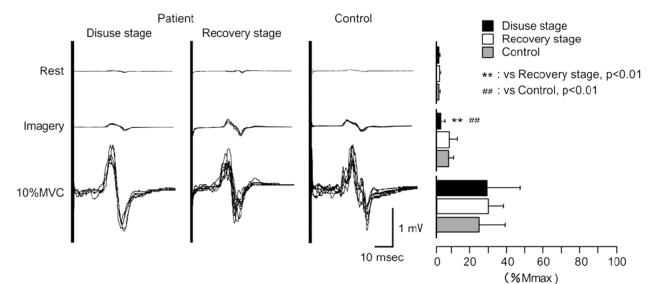


図6

ギプス固定後の症例について、ギプス除去後(Disuse stage)とリハビリテーションにより筋力が回復した後(Recovery stage)、および健康な被験者から記録されたMEP。安静時と10% MVC最中に記録されたMEPは3群で差がないにも関わらず、運動イメージ想起中のMEPはギプス除去後に低くなっていた。(文献5より)

結果と比較して、関節固定を実施した後には有意に運動誘発電位の増大の程度が低下していた(図6)。すなわち、健康な場合には、運動イメージ想起によって皮質脊髄路の興奮性の増大がある程度の量で起こるが、関節固定をすることによって、その興奮性の増大が有意に低下するということが明らかとなった。

5.3. 運動イメージ想起を補完する方法

運動イメージの想起による生理学的な影響の程度は、運動経験に依存する¹⁶⁾。一方で、身体運動を記録した映像を用いることで、それを見せるだけで対象者の脳内で運動に関わる領域の活動を誘起する。さらに、その映像が自己身体位置におかれると、あたかも自らが運動をしているかのような運動錯覚を生じ、皮質脊髄路の興奮性が増大する¹⁷⁾。さらに、最近我々は、自己運動錯覚誘起中の脳活動を調べた結果から、映像を見せた場合の自己運動錯覚は、いわば受動的運動イメージ想起といえるのではないかとこの結果を得た(金子ら未発表)。このことから、何らかの理由によって運動を実行させることができない場合に脳活動を選択的に行わせるような脳コンディショニングの一介入手段として、視覚刺激による自己運動錯覚を用いて、さらに運動イメージ想起を実施させるような方法が考えられる意義があるのではないかと考えている。

5.4. 筋力低下を予防するために自己運動錯覚を用いた実験

関節固定による筋力機能の変化に対して、運動イメージが効果を持つかどうかについて、我々は、健康な成人を被験者として、示指と母指をキャストで12時間固定する実験を行った¹⁸⁾。固定を終了した直後は、

示指の外転最大筋力が有意に低下しており、低下率は約12%であった。その関節固定によって筋出力機能が低下する群を対照とし、関節固定中に動画により自己運動錯覚を誘起させる介入を行った群の筋出力機能と比較した。その結果、最大随意筋出力値は、自己運動錯覚を行った群で低下が見られなかった(図7)。すなわち、非常に短期間の関節固定に関する結果ではあるものの、12時間で変化する筋出力機能の低下を、運動イメージ想起を実施することによって予防することができた。しかし、筋出力レベルを一定に保つような軌跡追従課題の成績については、低下を予防することはできなかった。現在、この時の運動単位のふるまい(リクルートメントや発火頻度など)などを解析しており、詳細な背景はそれらの結果を待たれたい。

まとめ

身体不活動によって生じる運動機能の低下予防に関する研究は、筋や腱に対するもの、あるいは神経系機能に対するものというような解剖学部位に対応した考え方や、運動機能を分類して、その運動機能毎にアプローチを考える方法など、多方面に及ぶ。その中で、本稿では身体不活動で低下するヒトの神経系機能という観点で我々が示してきた研究を中心に解説した。以前から我々は、運動イメージ想起を行なうことで皮質運動野の興奮性を高める機能が、関節固定によって低下することを示してきた。それとは逆に、運動イメージ想起を行っておくことによって、非常に短期間に関する研究ではあるものの、筋出力機能が変化することを抑えることができた結果を紹介した。筋腱に対するトレーニング理論として過負荷の法則があるように、神経系機能に対しても、どのように介入することで適切な過負荷となるのかというような観点からさらに研究を進めたいと考えている。

【文 献】

- 1) LeBlanc AD, Schneider VS, Evans HJ, Pientok C, Rowe R, Spector E: Regional changes in muscle mass following 17 weeks of bed rest. *J Appl Physiol* 73: 2172-2178, 1992
- 2) 山田洋, 木塚朝博, 増田正, 関和彦, 横井孝志, 金子文成, 岡田守彦: 短期筋固定が最大随意収縮力に与える影響のTwitch Interpolation法による解析. *体力科学* 52: 51-64, 2003
- 3) 木塚朝博, 山田洋, 金子文成, 横井孝志, 関和彦,

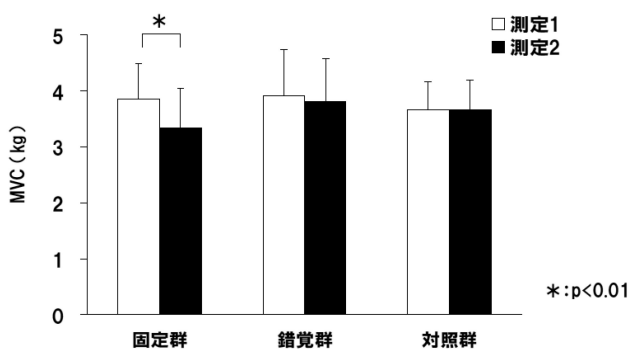


図7

12時間の関節固定前後および対照群における最大示指外転筋力。示指と母指とを固定していたことで、固定後のMVCは低下したが、運動錯覚介入を実施した群では、MVCが低下しなかった。(文献12より)

- 金子公宏, 増田正: 短期筋不活動に伴う示指外転出力レベルと機能低下の特性. *バイオメカニズム* 17: 37-48, 2004
- 4) 金子文成, 木塚朝博, 山田洋, 増田正: ヒトの下肢関節固定による皮質脊髄路の入力-出力関係変化. *臨床神経生理学* 32: 12-20, 2004
- 5) Kaneko F, Murakami T, Onari K, Kurumadani H, Kawaguchi K: Decreased cortical excitability during motor imagery after disuse of an upper limb in humans. *Clin Neurophysiol* 114: 2397-2403, 2003
- 6) 山田洋, 金子公宏, 木塚朝博, 金子文成, 横井孝志, 増田正, 塩崎知美, 岡田守彦: Twitch interpolation法と表面筋電図解析を用いたヒトの絶対筋持久力の評価. *バイオメカニズム学会誌* 27: 197-203, 2003
- 7) Liepert J, Tegenthoff M, Malin JP: Changes of cortical motor area size during immobilization. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 97: 382-386, 1995
- 8) 金子文成: 経頭蓋磁気刺激 (TMS) を用いた廃用性筋出力機能低下の評価. *理学療法ジャーナル* 41: 767-773, 2007
- 9) 八十島崇, 金子文成, 山田洋, 増田正, 木塚朝博: 1週間の下肢関節固定による短潜時伸張反射応答及び筋腱複合体の機械的特性の変化. *臨床神経生理* 34: 159-169, 2006
- 10) 金子文成: 短潜時伸張反射応答からみた関節固定による運動出力機能の低下機序. *関節外科* 25: 27-33, 2006
- 11) 木塚朝博, 金子文成, 山田洋, 横井孝志, 増田正: 短期不活動に伴う運動機能低下を予防するためのエクササイズの提言. 第18回生体・生理工学シンポジウム抄録集: 95-96, 2003
- 12) Roland PE, Skinhøj E, Lassen NA, Larsen B: Different cortical areas in man in organization of voluntary movements in extrapersonal space. *J Neurophysiol* 43: 137-150, 1980
- 13) Hanakawa T, Dimyan MA, Hallett M: Motor planning, imagery, and execution in the distributed motor network: a time-course study with functional MRI. *Cereb Cortex* 18 (12): 2775-2788, 2008
- 14) Aoyama T, Kaneko F: The effect of motor imagery on gain modulation of the spinal reflex. *Brain Res* 1372: 41-48, 2010
- 15) Kasai T, Kawai S, Kawanishi M, Yahagi S: Evidence for facilitation of motor evoked potentials (MEPs) induced by motor imagery. *Brain Res* 744: 147-150, 1997
- 16) 林司佳子, 長谷川善樹, 矢作晋, 笠井達也: 運動イメージによる運動誘発電位の出現動態. *体育学研究* 46: 47-59, 2001
- 17) Kaneko F, Yasojima T, Kizuka T: Kinesthetic illusory feeling induced by a finger movement movie effects on corticomotor excitability. *Neuroscience* 149: 976-984, 2007
- 18) 稲田亨, 金子文成, 速水達也: 動画を用いた視覚的運動錯覚介入は短期間の関節固定による筋出力低下を予防する パフォーマンスと運動単位活動動態からの解析. *理学療法学* 38 (Suppl. 2): OS2-008, 2011

原 著

自然発症2型糖尿病ラットの血糖及び骨格筋内微小血管障害に対する持久運動の予防効果

森藤 武^{1) 2)}, 村上慎一郎^{1) 3)}, 椎名 祥子⁴⁾
藤田 直人¹⁾, 近藤 浩代⁵⁾, 藤野 英己¹⁾

キーワード：2型糖尿病, 血糖値, 微小血管障害, 持久運動

緒 言

近年, 2型糖尿病の発症は急増し, 世界中で深刻な問題となっており¹⁾, この2型糖尿病の発症には遺伝的要因だけでなく生活習慣などの環境要因が関与するとされている²⁾. また, 発症後における2型糖尿病の完全な治癒は困難であるため, 耐糖能異常が出現する以前から介入し, 糖尿病の発症を予防する必要がある. 2型糖尿病の予防には食事コントロールや適度の運動が推奨されているが, 厳密に発症以前から介入し, 経時的な観察をおこない, その効果を十分に検証した報告は少ない. そのため, 2型糖尿病の遺伝的素因を有するものに対して発症前から介入し, 発症予防効果を明らかにする必要がある.

糖尿病は微小血管障害や大血管障害等の重篤な合併症を引き起こすため^{3,6)}, 血糖の上昇予防を基本として, 血管障害も予防する必要がある. 糖尿病の骨格筋では筋線維単位の毛細血管数を表す毛細血管/筋線維比 (capillary-to-fiber ratio, C/F比) が減少し, 骨格筋内微小血管障害が生じるとされている⁷⁾. インスリン感受性は骨格筋における微小血管の変化に依存するため⁸⁾, 糖尿病における骨格筋内微小血管障害を予防することはインスリン感受性の改善につながる可能性がある. また, 骨格筋における微小血管に関して, 継続的な筋活動量の増加は毛細血管数を増加させることが知られている⁹⁾. 一方, 2型糖尿病に対する治療として, 持久運動はインスリン感受性の改善¹⁰⁾, 及び血糖値のコントロールに有効であるとされている¹¹⁾. 加えて, 持久運動は骨格筋における毛細血管数の増加に有効であるとの報告も多く見られる¹²⁻¹⁴⁾. しかし, 糖尿病に付随する骨格筋内微小血管障害に対する持久運動の効果は意見が分かれており, 糖尿病に対する持久運動は骨格筋内微小血管障害を改善することができたとする報告と¹⁵⁾, 改善することができなかったとする報告^{16,17)}がある. 糖尿病の合併症である骨格筋内微小血管障害に対する継続的な持久運動の効果は十分に解明されていないと言える.

そこで, 本研究では日本人に多く見られる非肥満型で, 加齢とともに2型糖尿病を自然発症するモデルである Spontaneously Diabetic Torii ラット (SDT ラット)¹⁸⁾ を使用し, 病期の進行に伴う血糖の上昇に対する継続的な持久運動の予防効果を経時的に観察した. 加えて, 継続的な持久運動の骨格筋内微小血管障害に対する予防効果を検証した.

- 1) 神戸大学大学院保健学研究科
(Department of Rehabilitation Science, Kobe University Graduate School of Health Sciences)
- 2) 関西医科大学専門学校理学療法学科
(Department of Physical Therapy, Kansai Medical College) (〒530-0053 大阪市北区末広町3-27)
- 3) 姫路獨協大学医療保健学部理学療法学科
(Department of Physical Therapy, Himeji Dokkyo University)
- 4) 兵庫県立リハビリテーション中央病院リハビリテーション科
(Department of Physical Therapy, Hyogo Rehabilitation Center Hospital)
- 5) 名古屋女子大学食物家政学部食物栄養学科
(Department of Food Sciences and Nutrition, Nagoya Women's University)

(受付日：2012年1月4日 受理日：2012年2月9日)

対象および方法

1. 実験動物

実験動物には11週齢の雄性SDTラット10匹を使用し、非運動群 (DB, n=5) と運動群 (DBEx, n=5) に振り分けた。また、同一週齢の雄性Sprague-Dawleyラットを用いて対照群 (Con, n=5) とした。DBEx群には、トレッドミルによる持久的走行運動 (速度15m/分, 60分間, 勾配0°) を週5回の頻度にて、25週齢時点までの14週間継続して実施した。運動強度に関して運動前後にて尾静脈より採血し、血中乳酸測定器 (Lactate Pro, Arkray) で乳酸値を測定した結果、運動後の値は血中乳酸濃度が上昇し始めるとされている2 mmol/l以下であり¹⁹⁾、今回行ったトレッドミル走行は有酸素運動であることを確認した。尚、3群間の給餌量は均等に調整し、飲水は自由とした。ラットは室温22±1°C, 12時間の明暗周期の環境下で飼育した。全ての実験は所属施設における動物実験に関する指針に従い、神戸大学動物実験委員会の許可を得たうえで実施した。

2. 血液生化学的解析

運動開始前の10週齢時点から24週齢時点まで2週間ごとに尾静脈より1μl採血し、微量の血液で簡易に使用することができる血糖値測定器 (Precision exceed, Abbot Lbs) にて全血より血糖値を測定した。尚、DBEx群においては運動前に採血を行った。25週齢時点では、ペントバルビタール (50mg/kg) を腹腔内に投与して、深麻酔下で開腹し、下大静脈より5ml採血した。尚、空腹時血糖値を測定するため採血前9時間以上を絶食とした。採血した全血からグリコヘモグロビン (HbA1c) を測定した (DCA Vntage Analyzer, Siemens)。尚、HbA1cは総ヘモグロビンに対するグリコヘモグロビンの割合として測定した。その後、残りの全血を室温にて10分間、3000回転で遠心分離した後、上清を回収した。より正確な値を測定するため、得られた血漿から血清グルコース濃度測定キット (Glucose CII-Test Wako kit, Wako) を用いてムタローゼ・GOD法にて空腹時血糖値を測定した。

3. 組織学的解析

上記の採血処置を終えた後、引き続き麻酔下で足底筋を摘出し筋湿重量を測定後、ドライアイスで冷却したイソペンタンで急速凍結し、-80°Cで凍結保存した。得られた筋試料はクリオスタット (CM1510S, Leica Microsystems) を使用して12μm厚に薄切

した。切片は毛細血管を観察するためにHansen-Smithらの方法²⁰⁾に従って、アルカリフォスファターゼ (alkaline phosphatase; AP) で染色した。すなわち、4% paraformaldehydeで前固定後、0.02% 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl phosphate toluidine salt と0.1% nitroblue tetrazoliumを加えた0.2 M borate bufferにて60分間室温で反応させた。その後、4% paraformaldehydeで再度固定し、アルコールとキシレンにて脱水、及び透徹を行い、非水溶性の封入剤 (Mount quick, Daido Sangyo) で封入した。AP染色した切片は、速筋と遅筋が混合している深層部 (type 1線維21%, type 2A線維21%, type 2B線維58%) における顕微鏡視野を1切片当たり2箇所任意に選択し、光学顕微鏡 (BX-51, Olympus) に接続したCCDカメラ (VB-7000, Keyence) を用いて撮影条件を一定にして撮影 (×200) し、明視野像をパーソナルコンピュータに取り込んだ。AP染色画像からは、画像解析ソフト (Image J, NIH) を用いてC/F比を算出した。

4. 統計処理

得られた測定値は平均値±標準誤差で表示した。各群間の比較には一元配置分散分析、及びpost-hocテストとしてTukey法を使用し、有意水準を5%とした。

結果

実験終了時 (25週齢) の体重は、DB群はCon群と比較して有意に低値を示したが、DBEx群とCon群の間には有意差を認めなかった (表1)。また、足底筋の筋湿重量は、3群間に有意差を認めなかった (表1)。

経時的な血糖値の変化を図1に示す。10週齢から16週齢までの血糖値は、3群間に有意差を認めなかったが、18週齢では、DB群の血糖値はCon群の242%まで上昇し、両群間に有意差を認めた。一方、DBEx群の血糖値はDB群と比較して有意に低値を示し、Con群との間に有意差を認めなかった。

実験終了時における空腹時血糖値は、Con群の161.8±16.6 mg/dlと比較して、DB群では347.2±16.1 mg/dl

表1 体重と足底筋の筋湿重量

	Con	DB	DBEx
Body mass (g)	480.2 ± 6.4	435.0 ± 13.8*	474.2 ± 11.2
Plantaris muscle mass (mg)	492.8 ± 4.7	465.7 ± 8.8	508.8 ± 15.3

Con, 対照群; DB, 非運動群; DBEx, 運動群。値は平均値±標準誤差。*はCon群との有意差 (P < 0.05)。

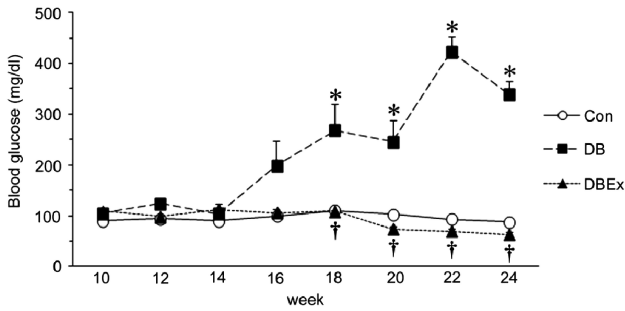


図1 血糖値の経時的変化

Con, 対照群; DB, 非運動群; DBEx, 運動群. 値は平均値±標準誤差. *と†はそれぞれCon群, DB群との有意差 ($P < 0.05$).

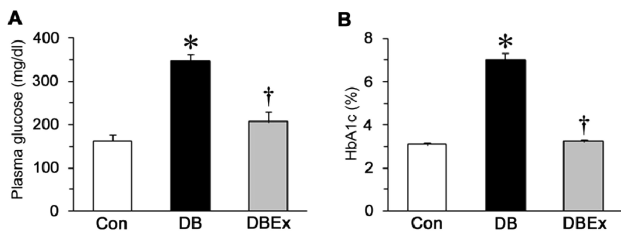


図2 空腹時血糖値 (A) と HbA1c (B)

Con, 対照群; DB, 非運動群; DBEx, 運動群. 値は平均値±標準誤差. *と†はそれぞれCon群, DB群との有意差 ($P < 0.05$).

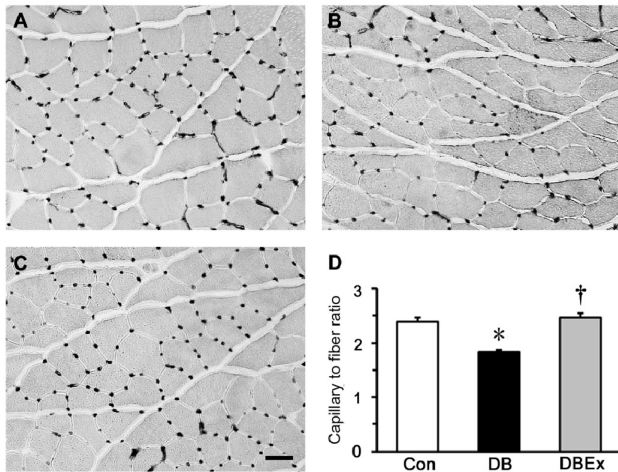


図3 足底筋のアルカリフォスファターゼ染色画像と capillary-to-fiber ratio

A: 対照群, B: 非運動群, C: 運動群. 毛細血管は筋線維周囲に濃染されて点在している. スケール=50 μ m. D: Capillary-to-fiber ratio. Con, 対照群; DB, 非運動群; DBEx, 運動群. 値は平均値±標準誤差. *と†はそれぞれCon群, DB群との有意差 ($P < 0.05$).

dlと有意に高値を示した. 一方, DBEx群の空腹時血糖値は 207.2 ± 22.6 mg/dlであり, DB群と比較して有意に低値を示し, Con群との間に有意差を認めなかつ

た (図2 A). HbA1cも同様に, Con群の $3.04 \pm 0.05\%$ と比較して, DB群では $7.08 \pm 0.25\%$ と有意に高値を示した. 一方, DBEx群のHbA1cは $3.32 \pm 0.06\%$ であり, DB群と比較して有意に低値を示し, Con群との間に有意差を認めなかつた (図2 B).

足底筋の深層におけるAP染色像を図3に示す. 濃染された毛細血管は筋線維周囲に点在しており, DB群 (図3 B) のそれはCon群 (図3 A) とDBEx群 (図3 C) に比べて減少していることが観察された. C/F比は, DB群では 1.83 ± 0.04 であり, Con群の 2.39 ± 0.07 に比べて有意に低値を示した. 一方, DBEx群の値は 2.46 ± 0.07 であり, DB群と比較して有意に高値を示し, Con群との間に有意差を認めなかつた (図3 D).

考察

今回の結果, SDTラットでは18週齢時から血糖値が上昇し始め, 実験終了時の25週齢時点で空腹時血糖値とHbA1cの増加が認められたが, 継続的な持久運動によって予防することができた. また, 足底筋の毛細血管数は減少し, 2型糖尿病による骨格筋内微小血管障害を認めたが, これも持久運動により予防することができた. つまり, 2型糖尿病の発症には遺伝要因と環境要因が関与するが²⁾, 持久運動の継続という環境要因への介入により, 遺伝要因を有していてもその発症を予防できたといえる.

SDTラットは20週齢前後から血糖値が上昇するとされており¹⁸⁾, 本研究においてもDB群は18週齢時から血糖値の上昇を認めた. SDTラットの糖尿病発症に関しては複数の原因遺伝子が確認されており²¹⁾, 高血糖を呈する主な機序は加齢に伴う膵臓ランゲルハンス島の形態変化によるインスリン分泌量の減少にあるとされている¹⁸⁾. その他, 糖尿病ではインスリン刺激によるGLUT4の細胞膜表面へのtranslocateが減少することで, インスリン抵抗性を生じることが知られており²²⁾, DB群においてもGLUT4の細胞膜表面へのtranslocateが減少した可能性がある. 本研究ではDB群が上述の機序にて糖尿病を発症したと推測されるが, 継続的な持久運動を行なったDBEx群は18週齢以降においても血糖値の上昇を認めなかつた. 先行研究において, 持久運動は1型²³⁾及び2型糖尿病¹⁰⁾に伴う膵臓ランゲルハンス島の形態変化を予防したと報告されており, 本研究においても継続的な持久運動が膵臓ランゲルハンス島に作用し, インスリン分泌量を維持した可能性が考えられる. また, インスリン感受性は骨格筋における毛細血管密度と強く相関する

とされており⁸⁾、本研究のDBEx群では糖尿病に伴う骨格筋内微小血管障害が生じなかったため、インスリン感受性が保持されたことも血糖値の上昇予防に関与したと考えられる。さらに継続的な持久運動はグルコースの細胞内取込みを高める酵素であるAMP活性化プロテインキナーゼ (AMP-activated protein kinase: AMPK) を活性化し、GLUT 4の細胞膜へのtranslocationを促すと報告されており²⁴⁾、DBEx群においてはインスリン抵抗性が改善された可能性が考えられる。

DB群では足底筋のC/F比が減少し、これはSextonらの先行研究と一致する⁷⁾。DB群は18週齢から血糖値が上昇しており、微小血管が長期間高血糖に暴露されたことによりC/F比の減少が生じたと考えられる。糖尿病では、血管内皮細胞に特異的に作用する血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) の発現量の減少^{17,25)} や血管内皮細胞への終末糖化産物 (advanced glycosylation end products, AGEs) の蓄積²⁶⁻²⁸⁾ などが血管障害を引き起こすと報告されており、本研究のDB群においてもこれらの機序により骨格筋内微小血管障害が惹起されたと推測される。一方、DBEx群では、DB群と比較して足底筋のC/F比は有意に高値を示しており、糖尿病モデルラットに対する継続的な持久運動が骨格筋のC/F比の減少を予防するとしてLashらの先行研究と一致した¹⁵⁾。DBEx群では糖尿病に伴う血糖値とHbA1cの上昇が抑制されたため、微小血管は高血糖に暴露されず、骨格筋内微小血管障害が予防されたと考えられる。また先行研究では、継続的な持久運動は骨格筋におけるVEGFの発現を増加させ²⁹⁾、AGEsを減少させる³⁰⁾と報告されており、DBEx群ではこれらの機構によって骨格筋内微小血管障害が予防された可能性がある。

本研究では、遺伝的素因により2型糖尿病を自然発症するモデル動物に対して継続的な持久運動を実施し、その効果を経時的に観察した。継続的な持久運動は血糖値の上昇及び微小血管障害を予防したことから、糖尿病の発症予防に対する継続的な持久運動の有効性が示唆された。しかし、本研究では、継続的な持久運動が血糖値の上昇、及び微小血管障害を予防した作用機序に関して検証しておらず、今後、持久運動が腓臓のランゲルハンス島の形態学的変化、骨格筋におけるGLUT 4の細胞膜へのtranslocation、及び微小血管障害の発症に関与するVEGF、AGEsなどの因子に及ぼす影響に対して更なる検証が必要である。

謝 辞

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金 (課題番号19300196, 22300189ともに基盤研究B) の助成を受けたものである。

【文 献】

- 1) Zimmet P, Alberti KG, Shaw J: Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414: 782-727, 2001
- 2) Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, Willett WC: Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *The New England journal of medicine* 345: 790-797, 2001
- 3) Kannel WB, McGee DL: Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA* 241: 2035-2038, 1979
- 4) The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *The New England journal of medicine* 329: 977-986, 1993
- 5) Lehto S, Ronnemaa T, Haffner SM, Pyorala K, Kallio V, Laakso M: Dyslipidemia and hyperglycemia predict coronary heart disease events in middle-aged patients with NIDDM. *Diabetes* 46: 1354-1359, 1997
- 6) Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D: Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes care* 16: 434-444, 1993
- 7) Sexton WL, Poole DC, Mathieu-Costello O: Microcirculatory structure-function relationships in skeletal muscle of diabetic rats. *The American journal of physiology* 266: H1502-1511, 1994
- 8) Lillioja S, Young AA, Culter CL, Ivy JL, Abbott WG, Zawadzki JK, Yki-Järvinen H, Christin L, Secomb TW, Bogardus C: Skeletal muscle capillary density and fiber type are possible determinants of in vivo insulin resistance in man. *The Journal of clinical investigation* 80:

- 415-424, 1987
- 9) Hudlicka O, Brown M, Egginton S: Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiological reviews* 72: 369-417, 1992
 - 10) Pold R, Jensen LS, Jessen N, Buhl ES, Schmitz O, Flyvbjerg A, Fujii N, Goodyear LJ, Gotfredsen CF, Brand CL, Lund S: Long-term AICAR administration and exercise prevents diabetes in ZDF rats. *Diabetes* 54: 928-934, 2005
 - 11) Boule NG, Haddad E, Kenny GP, Wells GA, Sigal RJ: Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *JAMA* 286: 1218-1227, 2001
 - 12) Gute D, Fraga C, Laughlin MH, Amann JF: Regional changes in capillary supply in skeletal muscle of high-intensity endurance-trained rats. *J Appl Physiol* 81: 619-26, 1996
 - 13) Gute D, Laughlin MH, Amann JF: Regional changes in capillary supply in skeletal muscle of interval-sprint and low-intensity, endurance-trained rats. *Microcirculation* 1: 183-193, 1994
 - 14) Hermansen L, Wachtlova M: Capillary density of skeletal muscle in well-trained and untrained men. *J Appl Physiol* 30: 860-863, 1971
 - 15) Lash JM, Sherman WM, Hamlin RL: Capillary basement membrane thickness and capillary density in sedentary and trained obese Zucker rats. *Diabetes* 38: 854-860, 1989
 - 16) Wallberg-Henriksson H, Gunnarsson R, Henriksson J, Ostman J, Wahren J: Influence of physical training on formation of muscle capillaries in type I diabetes. *Diabetes* 33: 851-857, 1984
 - 17) Kivela R, Silvennoinen M, Touvra AM, Lehti TM, Kainulainen H, Vihko V: Effects of experimental type I diabetes and exercise training on angiogenic gene expression and capillarization in skeletal muscle. *The FASEB journal* 20: 1570-1572, 2006
 - 18) Shinohara M, Masuyama T, Shoda T, Takahashi T, Katsuda Y, Komeda K, Kuroki M, Kakehashi A, Kanazawa Y: A new spontaneously diabetic non-obese Torii rat strain with severe ocular complications. *International journal of experimental diabetes research* 1: 89-100, 2000
 - 19) Schwaberg G, Pessenhofer H, Schmid P: Anaerobic threshold: physiologic significance and practical use. In *Cardiovascular System Dynamics: Models and Measurements*. Kenner T, Busse R, Hinghofer-Szalkay H (ed.) .New York and London, Plenum Press, pp 561-567, 1982
 - 20) Hansen-Smith FM, Blackwell LH, Joswiak GR: Expression of muscle capillary alkaline phosphatase is affected by hypoxia. *J Appl Physiol* 73: 776-780, 1992
 - 21) Masuyama T, Fuse M, Yokoi N, Shinohara M, Tsujii H, Kanazawa M, Kanazawa Y, Komeda K, Taniguchi K: Genetic analysis for diabetes in a new rat model of nonobese type 2 diabetes, Spontaneously Diabetic Torii rat. *Biochemical and biophysical research communications* 304: 196-206, 2003
 - 22) Zierath JR, He L, Guma A, Odegaard Wahlstrom E, Klip A, Wallberg-Henriksson H: Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Diabetologia* 39: 1180-1189, 1996
 - 23) Coskun O, Ocakci A, Bayraktaroglu T, Kanter M: Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *The Tohoku journal of experimental medicine* 203: 145-154, 2004
 - 24) Hayashi T, Hirshman MF, Kurth EJ, Winder WW, Goodyear LJ: Evidence for 5' AMP-activated protein kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport. *Diabetes* 47: 1369-1373, 1998
 - 25) Rivard A, Silver M, Chen D, Kearney M, Magner M, Annex B, Peters K, Isner JM: Rescue of diabetes-related impairment of angiogenesis by intramuscular gene therapy with adeno-VEGF. *The American journal of pathology* 154: 355-363, 1999
 - 26) Brownlee M, Cerami A, Vlassara H: Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *The New England journal of medicine* 318: 1315-1321, 1988
 - 27) Monnier VM, Kohn RR, Cerami A: Accelerated age-related browning of human collagen in diabetes mellitus. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences of the United States of America 81: 583-587

- 28) Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM: Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine reviews* 23: 599-622, 2002
- 29) Li Y, Hazarika S, Xie D, Pippen AM, Kontos CD, Annex BH: In mice with type 2 diabetes, a vascular endothelial growth factor (VEGF) - activating transcription factor modulates VEGF signaling and induces therapeutic angiogenesis after hindlimb ischemia. *Diabetes* 56: 656-665, 2007
- 30) Waters RE, Rotevatn S, Li P, Annex BH, Yan Z: Voluntary running induces fiber type-specific angiogenesis in mouse skeletal muscle. *American journal of physiology Cell physiology* 287: C1342-1348, 2004

Preventive Effects of Endurance Exercise Training on Hyperglycemia and Microangiopathy of Skeletal Muscle in Spontaneous Type 2 Diabetic Rats

Abstract

The purpose of this study was to examine whether endurance exercise training can prevent hyperglycemia and microangiopathy of plantaris muscle in animal models that spontaneously develop type 2 diabetes. Eleven-week-old male Spontaneously Diabetic Torii (SDT) rats and age-matched male Sprague-Dawley rats (Con) were used in the present study. SDT rats were randomly assigned to non-exercise (DB) and exercise (DBEx) groups. The rats assigned to DBEx group were trained on a treadmill 5 times a week for 14 weeks, with the running for 60 min at 15 m/min. After 18 weeks old, the blood glucose level of DB group was significantly higher than that of the Con and DBEx groups, whereas there was no significant difference between the Con and DBEx groups. At 25 weeks old, the levels of blood glucose and HbA1c in the DB group significantly increased by 2.1-fold and 2.3-fold compared to the Con group, respectively. While those of the DBEx group were significantly lower than that of the DB group. In addition, the capillary-to-fiber ratio of plantaris muscle in the DB group was significantly lower than those of the Con and DBEx groups, whereas there was no significant difference between the Con and DBEx groups. These results suggest that endurance exercise training prevents the onset of type 2 diabetes and the microangiopathy in plantaris muscle.

Key words: Type 2 diabetes, Blood glucose, Microangiopathy, Endurance exercise training

原 著

運動習熟過程における大脳皮質運動関連領野の 酸素化ヘモグロビン濃度変化について — 近赤外分光法 (NIRS) による検討 —

大関 麻帆¹⁾, 小島 翔²⁾, 椿 淳裕^{1) 2)}, 大西 秀明^{1) 2)}

キーワード：近赤外線分光イメージング, 運動学習, 筋電図, NIRS, motor learning, EMG

はじめに

医工学技術の進歩に伴い人の大脳皮質活動を非侵襲的に計測できるようになり, 運動学習過程における運動関連領野の役割が明らかになりつつある^{1,6)}. Seitzら³⁾は運動学習の早期には小脳歯状核が強く活動し, 後期には両側運動前野の活動が強くなることを明らかにし, Penhuneら⁴⁾は運動学習の早期には小脳が関与し, 中期には大脳基底核, 後期には大脳皮質の一次運動野, 運動前野, 頭頂葉が関与すると報告している. また, Kawashimaら⁵⁾は, 手のひらで2個のボールを回すという複雑な運動を遂行する際には両側半球の一次運動野および運動前野と対側半球の補足運動野が活動すること, 運動習熟度合いと運動前野の活動との間に相関があることを明らかにしている. しかし, これらの報告はいずれも陽電子放射断層撮影法 (Positron emission tomography, PET) を利用して運動学習前と運動学習過程のある時期での脳活動を比較したものであり, 運動学習過程の経時的な脳活動を明らかにしているものではない.

一方, Hatakenakaら⁶⁾は脳活動の経時的変化を捉えることができる近赤外線分光イメージング装置

(Near infrared spectroscopy : NIRS) を利用して運動学習過程における脳活動の経時的変化を計測し, 運動学習初期には前補足運動野が強く活動し, 運動習熟に伴い補足運動野の活動が増加すること, 運動学習過程において対側半球の一次運動野と運動前野の活動は一定であることを報告している. しかし, 運動習熟度合いと運動前野の活動との間に相関が認められるという報告や⁴⁾, 運動習熟に伴って一次運動野や運動前野, 補足運動野の活動が減少してくるとの報告もあり⁷⁻¹⁰⁾ 未だ一定の見解が得られていないのが現状である.

このように運動学習過程の大脳皮質活動に関して一定の見解が得られていないのは, PETや機能的MRI, NIRSなどそれぞれの報告で使用している脳機能計測装置の特徴が異なっていることや実験プロトコルが統一されていないことなどが要因の一つとして考えられる. これら脳機能計測装置のうち, Hatakenakaら⁶⁾が用いているNIRSは他の装置と比較して被験者の身体拘束が少なく, 座位姿勢などでの運動遂行中の脳活動を計測できるということと, 比較的長時間の皮質活動を継続的に捉えることができるというのが最大の利点であり, 運動学習過程における大脳皮質活動の経時的変化を捉えることに最も適している装置といえる. しかし, Hatakenakaら⁶⁾が利用している課題は運動前野の活動が要求される視覚誘導性運動課題であり, 運動学習過程の脳活動と視覚誘導性運動遂行のための脳活動を分離することが困難である.

そこで, 本研究では複雑動作であり視覚情報を手掛かりとしない手掌での2個のボール回し運動遂行中の皮質活動を経時的に計測し, 運動学習過程における皮質活動の変動を明らかにすることを目的とした.

1) 新潟医療福祉大学理学療法学科
(Department of Physical Therapy, Niigata University of Health and Welfare)

2) 新潟医療福祉大学大学院 理学療法学分野
(Field of Physical Therapy, Graduate school of Health and Welfare, Niigata University of Health and Welfare)
(〒950-3198 新潟市北区鳥見町1398)

(受付日：2012年2月6日 受理日：2012年3月6日)

対象および方法

1. 対象

対象は右利き健常女性7名であり、年齢は 21.2 ± 0.78 歳（平均値 \pm 標準偏差）であった。実験に先立ち実験の目的と概要を説明して実験参加の同意を得た。また、本実験計画は当大学の倫理審査で承認を得た（承認番号：17277-111012）。

2. 使用機器

実験には、NIRS装置（OMM-3000/16、島津製作所）、筋電計（DPA-10P およびDPA-2008、ダイヤモンドメディカルシステムズ）、AD変換器（Power Lab 8/30、AD Instruments）、メトロノーム、ゴルフボール2個、ストップウォッチ、パーソナルコンピューターを使用した。

3. 課題動作

課題動作遂行肢位は椅子に腰掛けた端座位姿勢とし、肘関節を屈曲して前腕回外位で前腕部を肘掛に乗せた状態とした。また、実験は雑音の入りにくい実験室で行い、実験中被験者は前方に設置したモニター上の黒点を凝視するように説明した。

課題動作は2個のゴルフボールを右手掌の上で反時計回りに転がす動作とし、50秒間の連続したボール回し動作と10秒間の休憩を1セットとして、連続して10セット行った。課題開始に先立ち300秒間の安静を行い、課題終了後にも300秒間の安静を設定した（図1）。

事前に最大努力でのボール回し課題を1分間実施し（学習前最大努力回数）、課題動作時には50秒間で学習前最大努力回数の半数の回転数になるようにメトロノームを利用して調節しながら遂行した。また、課題終了後に再び最大努力でのボール回し課題を1分間行い練習後の最大努力回数を記録した。

4. 筋電図計測・解析方法

課題遂行中の総指伸筋および橈側手根屈筋の筋活動を計測した。筋電図の導出には表面電極を用い電極間距離を2cmとした。総指伸筋は前腕背側面で前腕長の近位3分の1の箇所まで総指伸筋を触擦にて確認して電極を貼付した。また、橈側手根屈筋は前腕掌側面で肘窩から4横指遠位の箇所まで橈側手根屈筋を触擦にて確認して電極を貼付した。筋電信号は前置増幅器（DPA-10P、ダイヤモンドメディカルシステム）と増幅器（DPA-2008、ダイヤモンドメディカルシステム）を用いて増幅し、サンプリング周波数1kHzでパーソナルコ

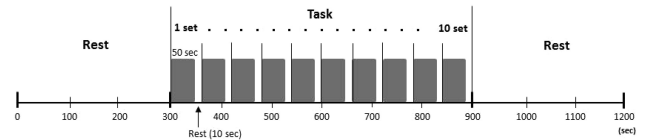


図1. 運動課題の模式図

運動課題は50秒間のボール回し運動と10秒間の安静を1セットとして連続して10セット行う課題とした。また、運動課題開始前および課題終了後に300秒間の安静を設けた。ボール回しの回数は、最大努力で1分間ボール回しを行った際の1/2の回数を50秒間で行うように設定した。

コンピューターに取り込んだ。筋電図の解析には生体信号解析ソフト（Lab Chart 6, AD Instruments）を使用し、10Hz から300Hz のバンドパスフィルタ処理を行った後、全波整流処理を行い、1001ポイントの移動平均処理を行って平滑化した。また、全ての課題終了後に各筋の最大随意収縮を5秒間行い、導出された筋電図信号を全波整流して1001ポイントの移動平均処理を行い、1秒目から4秒目までの平均値を最大筋活動（100% EMG）と規定した。

課題動作時における平滑化筋電図から最大値を示した時間（ピーク時間）と筋活動の経時的変化を求めた。ピーク時間の算出にはボール回し1回毎の平滑化筋電図の最大値（EMG max）を利用し、筋活動の経時的変化には1分毎のEMG maxの平均値を利用した。

5. NIRS計測・解析方法

本実験には照射プローブ8本および受光プローブ8本を被験者の左頭部に4×4の配列で3cm間隔で配置した（図2）。被験者間でプローブ位置のバラツキを減少させるために、国際10-20法に基づいたCz上に照射プローブ8（T8）が位置するようにプローブ固定用ホルダを装着した（図3 a）。照射プローブとそれに隣接する受光プローブの間がヘモグロビン濃度の計測部位になるため合計24チャンネルの計測部位となる。先行研究⁶⁾を参考にし、24チャンネルのうち関心領域として19chと23chを一次感覚運動領野（Sensorimotor area: SM）とし、12chと16chを運動前野（Premotor area: PM）、7chと14chを補足運動野（Supplementary motor area: SMA）と規定した（図3 a, b）。

NIRS装置で計測することができる酸素化ヘモグロビン（Oxygenated hemoglobin, OxyHb）、脱酸素化ヘモグロビン、総ヘモグロビンのうち脳活動を最も反映しやすいと言われているOxyHbを解析対象とした¹¹⁾。計測されたOxyHbデータは130msのサンプリング間隔でパーソナルコンピューターに取り込んだ



図2. 近赤外線分光用光ファイバ装着位置

近赤外線分光イメージング用の照射プローブと受光プローブを各8本用いて、左半球を覆うように固定した。

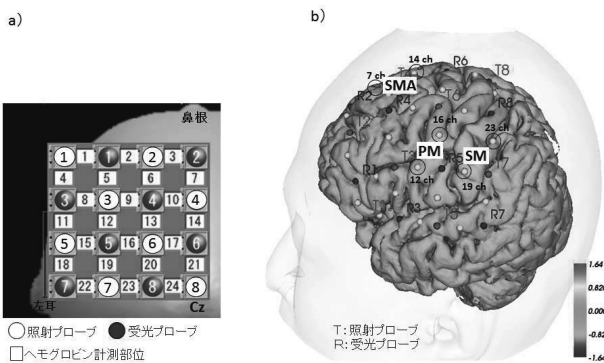


図3. 照射・受光プローブ位置とヘモグロビン濃度変化測定チャンネル

a) 照射プローブおよび受光プローブとヘモグロビン濃度変化測定チャンネル

照射プローブと受光プローブの間隔は3 cmとして4列×4行の配置とした。また、照射プローブの8番目 (T8) に位置するように固定した。照射プローブと受光プローブの間がヘモグロビン測定チャンネルになる。

b) 被験者1名のMRI画像に照射・受光プローブを重畳した図19chと23chを一次感覚運動領野 (SM), 12chと16chを運動前野領域 (PM), 7chと14chを補足運動野領域 (SMA) と規定した。

後、各関心領域として規定したそれぞれ2チャンネルのデータを加算平均して各関心領域のデータとして扱った。

6. 統計処理

試行前後のボール回転数の比較には対応のあるt検定を用いた。OxyHbおよび筋活動のピーク時間の比較および筋活動の経時的変化には一元配置分散分析を

用い、事後検定にはTukey-Kramer法による多重比較検定を使用した。なお有意水準は5%とした。

結果

最大努力でのボール回転数は運動学習前 (13.6 ± 3.4 回) に比べて、運動練習後 (21.7 ± 5.1 回) に有意に増加した ($P < 0.01$)。

総指伸筋および橈側手根屈筋の代表的な筋電図平滑化波形を図4に示す。50秒間のボール回し運動とその後の10秒間の安静状態が10セット繰り返されており、両筋ともセット数が増えるに従い徐々に筋活動が減少することが観察された。セット毎に平均値を算出して経時の変化をみると、総指伸筋は運動開始後の1セッ

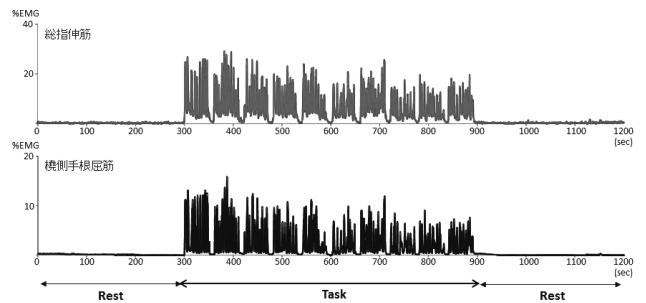


図4. 総指伸筋および橈側手根屈筋の平滑化筋電図波形の代表例

被験者1名の課題動作遂行中の平滑化筋電図波形を示している。上段は総指伸筋、下段は橈側手根屈筋の波形である。課題前および課題後の300秒間の安静時と課題途中の10秒間の安静時には筋活動が観察されていない。

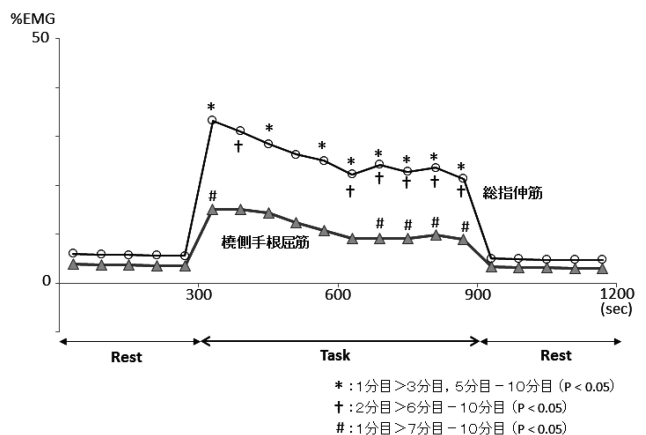


図5. 筋活動の経時の変化

1分毎の経時の変化を示している。総指伸筋では運動開始直後の1分目の値が3分目および5分目以降の値に比べて有意に大きく、2分目の値は6分目以降の値より有意に大きな値を示した。橈側手根屈筋では運動直後の1分目の値が7分目以降の値より有意に大きかった。

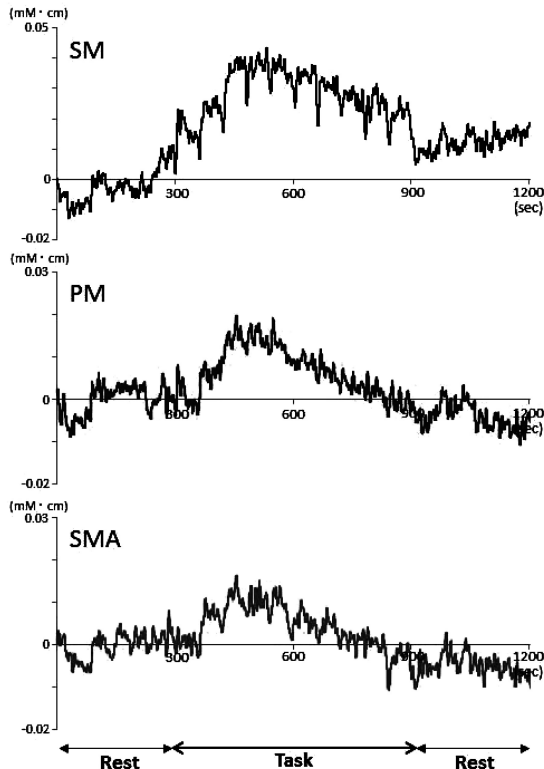


図6. 関心領域のOxyHbの経時的変化

上段は一次感覚運動領域 (SM), 中段は運動前野領域 (PM), 下段は補足運動野領域 (SMA) で導出されたOxyHbデータを示している。

表1. OxyHb波形およびEMG波形のピーク時間

	総指伸筋	橈側手根屈筋	SM	PM	SMA
subject1	98	98	410	135	225
subject2	65	36	231	192	156
subject3	23	23	186	155	202
subject4	42	48	306	215	244
subject5	39	24	354	145	80
subject6	127	67	129	132	333
subject7	5	88	264	205	130
mean	57.0 *1, *2	54.7 *1, *2	268.6	168.4 *3	195.7
SD	43.0	30.4	96.9	34.9	83.1

(sec)

* 1 : SMおよびSMAにおけるOxyHbピーク時間よりも有意に早い. (P<0.01)

* 2 : PMにおけるOxyHbピーク時間よりも有意に早い. (P<0.05)

* 3 : SMのピーク時間よりも有意に早い. (P<0.05)

ト目に最も強く活動し (33.1±14.2%), その後セット数が増えるに従って減少して行くことが示された。橈側手根屈筋は1セット目が15.1±9.1%であり, その後徐々に減少する結果となった (図5)。

関心領域であるSM, PMおよびSMAにおけるOxyHbの経時的変化をみると, ボール回し課題動作の開始に伴い急激に増加しその後徐々に減少していく

ことが示された (図6)。

平滑化筋電図およびOxyHbの値が最大値を示した時間を表1に示す。筋電図は運動開始から57.0±43.0秒 (総指伸筋) および54.7±30.4秒 (橈側手根屈筋) 後に最大値を示した。一方, OxyHbはSMでは運動開始から268.6±96.9秒後に最大値を示し, PMでは168.4±34.9秒後, SMAでは195.7±83.1秒後に最大値を示した。各領域におけるピーク時間を比較すると, 総指伸筋および橈側手根屈筋の筋活動ピーク時間はどちらも各関心領域におけるOxyHbピーク時間に比べて有意に早かった (SM, P<0.01; PM, P<0.05; SMA, P<0.01)。また, PMのOxyHbピーク時間はSMのピーク時間に比べて有意に早い値を示した (P<0.05)。

考 察

本実験において2個のボール回し課題を600秒間行うことにより, 課題終了後に最大努力のボール回し回数が有意に増加したことから, ボール回し運動が十分学習されていたと判断できる。また, 一定速度で同じ動作を繰り返しているにもかかわらず, 前腕筋群の活動が課題開始早期に最大値を示し, その後徐々に減少したことから, 少しずつ運動が学習されていたことがわかる。Kawashimaらは100秒間の鉄球ボール回し課題を7回行い, 運動学習により徐々にボール回転数が増加したことを報告している⁵⁾。また, 内藤らは6日間のボール回し練習により, 練習前後でボール回しの最大回転数は増加し, 回転数を練習前と等しくした場合は少ない筋活動で動作を遂行できることを報告している¹²⁾。本実験においても, 練習前後で最大回転数が増加し, かつ, 一定の回転数で動作を遂行している際には筋活動量が徐々に減少したことから, 先行研究と同様にボール回し運動が学習されていたものと考えられる。さらに, 筋活動が運動開始から約60秒で最大値を示していたことから, 運動課題の早い段階から運動学習が始まっていたと考えられる。

運動学習課題遂行中の大脳皮質各関心領域のOxyHbの変化量は, 運動開始に伴い増大し運動継続中に減少することが示された。本実験で用いた課題は最大努力でボール回し運動を継続するのではなく, 一定速度でボール回し運動を行い続ける課題であったため, 運動が学習されるとともに動作はスムーズになり, 動作遂行に必要な筋活動が減少してくる¹²⁾。そのため, 各関心領域におけるOxyHbの減少には運動継続中における運動量の減少が影響を及ぼしていると考えられるが, 筋活動が減少するタイミングと各関心領域の

OxyHbの変化のタイミングが異なっていたことから、本実験におけるOxyHbの変化には単に運動出力としての皮質活動だけでなく、運動習熟過程での皮質活動を含んでいると考えられる。この結果は、運動学習過程においてSMやPM、SMAなどの運動関連領域の活動が重要であるとの報告^{5,7,9,13})を支持するものである。

SMのOxyHbの変化量は運動開始とともに増大し、運動開始後300秒程度で最大値を示した。一方、筋活動は前腕屈筋群および伸筋群ともに60秒程度で最大値を示した。このことは、動作遂行に必要な筋活動が減少しているにもかかわらず、SMの活動が増加し続けていたことを意味している。すなわち、SMでの活動が単に筋活動を引き起こす運動出力のための活動だけでなく、複雑な巧緻動作を学習する過程で必要な活動であったと考えられる。一次運動野の活動が運動学習過程で重要であることや^{13,14})、学習に伴って活動が減少してくることも報告されており^{7,9})、本実験においてもこれらの先行研究を支持する結果であったと考えられる。

PMのOxyHbも運動開始とともに増大し、SM領域のピーク時間よりも早く最大値を示し、運動開始から約170秒後に最大値を示した。PMの役割については、視覚情報と動作との連合に重要な役割を担っていることや^{15,16})、運動学習過程においても役割が大きいことが報告されている^{7,9,17})。また、運動習熟に伴いPMの活動が減少してくることや^{7,9})、習熟運動と非習熟運動を比較して、非習熟運動においてPMはより活動することなどが報告されている¹⁸)。本実験においてもこれらの研究報告と同様に、運動学習の進行によって一旦増大していたPMの活動が運動習熟に伴って減少したものと考えられる。

Hatakenakaらは運動学習過程において、運動前野の活動が変動しないことを報告しているが⁶)、彼らが用いた運動課題は一定の速度で移動するターゲットポイントにペン先をあてるという課題であり、ペン先がターゲットポイントにあたっている時間を計測することにより運動習熟度合いを評価する手法を用いている。このような課題を利用した場合、筋活動量を一定に維持しながら運動学習度合いを評価できるという利点があるが、常に視覚情報に基づいた運動を行う必要があるため運動前野の活動が要求される課題であると推察できる^{15,16})。Hatakenakaら⁶)は運動前野の活動について考察していないが、この視覚情報と運動との連携課題ということが原因で、運動前野の活動が常に一定であったものと考えられる。本実験では、視覚情報に頼らない複雑動作を課題としたため、Hatakenaka

らの報告⁶)と異なり、運動前野の活動が運動開始の早期に増加し、その後減少していったものと考えられる。

SMAにおけるOxyHbの最大値はPMとSMとの間に観察され、どちらの領域とも有意な差は認められなかったが、運動開始から200秒程度で最大値を示し、その後減少していくことが示された。補足運動野や前補足運動野は運動学習過程で重要であることは明らかとなっており^{1,2,19,21})、本研究結果も同様であったと考えられる。ただし、本実験ではNIRSの照射プローブと受光プローブの間隔が3 cmと比較的長かったため、補足運動野と前補足運動野を明確に区別することは困難であり、本実験結果で示したSMAには前補足運動野の活動も含んでいる可能性が考えられる。

NIRSで計測されたOxyHbには、大脳皮質の血液量だけでなく、頭皮血流量の変動や、体循環の変動も含まれると報告されており^{22,23})、これらの影響を完全に無視することはできない。しかし、頭皮血流量や体循環の影響は全てのチャンネルで同様の変動を引き起こす可能性が高く、計測部位によってOxyHbの増減に時間的な差は生じにくいと考えられる。さらに、ボール回し課題は粗大運動ではないため体循環に大きな変動を及ぼすことは想定しにくい。これらのことから、本実験で得られたOxyHbの変動は皮質領域での変動を反映しているものと考えられる。

結 論

一定の運動を10分間継続した際の脳皮質OxyHb濃度変化と運動に参与する筋活動の継時的変化を同時に計測し、運動学習過程における皮質活動の変動を解析した。その結果、運動習熟に伴い筋活動の減少と皮質OxyHbの減少が認められた。しかし、筋活動が減少するタイミングに比べて各運動関連領域のOxyHbが減少してくるタイミングが有意に遅いことが明らかとなった。また、運動関連領域の中ではPMのOxyHbが最も早期に最大値を示し、SMで最大値を示す時間に比べて有意に早い時間であった。これらの結果は、運動学習過程における各運動関連領域の役割の違いを示していると考えられた。

【文 献】

- 1) Hikosaka O, Nakamura K, Sakai K, Nakahara H: Central mechanisms of motor skill learning. *Curr Opin Neurobiol* 12: 217-222, 2002
- 2) Doyon J, Penhune V, Ungerleider LG: Distinct

- contribution of the cortico-striatal and cortico-cerebellar systems to motor skill learning. *Neuropsychologia* 41: 252-262, 2003
- 3) Seitz RJ, Canavan AG, Yágüez L, Herzog H, Tellmann L, Knorr U, Huang Y, Hömberg V: Successive roles of the cerebellum and premotor cortices in trajectory learning. *Neuroreport* 5: 2541-2544, 1994
 - 4) Penhune VB, Doyon J: Dynamic cortical and subcortical networks in learning and delayed recall of timed motor sequences. *J Neurosci* 22: 1397-1406, 2002
 - 5) Kawashima R, Matsumura M, Sadato N, Naito E, Waki A, Nakamura S, Matsunami K, Fukuda H, Yonekura Y: Regional cerebral blood flow changes in human brain related to ipsilateral and contralateral complex hand movements-a PET study. *Eur J Neuroscience* 10: 2254-2260, 1998
 - 6) Hatakenaka M, Miyai I, Mihara M, Sakoda S, Kubota K: Frontal regions involved in learning of motor skill--A functional NIRS study. *Neuroimage* 34: 109-116, 2007
 - 7) Wise SP, Moody SL, Blomstrom KJ, Mitz AR: Changes in motor cortical activity during visuomotor adaptation. *Exp Brain Res* 121: 285-299, 1998
 - 8) Floyer-Lea A, Matthews PM: Changing brain networks for visuomotor control with increased movement automaticity. *J Neurophysiol* 92: 2405-2412, 2004
 - 9) Floyer-Lea A, Matthews PM: Distinguishable brain activation networks for short- and long-term motor skill learning. *J Neurophysiol* 94: 512-518, 2005
 - 10) Ikegami T, Taga G: Decrease in cortical activation during learning of a multi-joint discrete motor task. *Exp Brain Res* 191: 221-236, 2008
 - 11) Hoshi Y, Kobayashi N, Tamura M: Interpretation of near-infrared spectroscopy signals: a study with a newly developed perfused rat brain model. *J Apply Physiol* 90: 1657-1662, 2001
 - 12) 内藤幾愛, 大西秀明, 古沢アドリアネ明美: 単純動作と複雑動作時における脳活動の比較 - 近赤外分光法 (NIRS) による検討 - .*理学療法学* 35 : 50-55, 2008
 - 13) Sanes JN: Motor cortex rules for learning and memory. *Curr Biol* 10: R495-497, 2000
 - 14) Kawashima R, Roland PE, O'Sullivan BT: Fields in human motor areas involved in preparation for reaching, actual reaching, and visumotor learning: a positron emission tomography study. *J Neurosci* 14: 3462-3474, 1994
 - 15) Moll L, Kuypers HG: Premotor cortical ablations in monkeys: contralateral changes in visually guided reaching behavior. *Science* 198: 317-319, 1977
 - 16) Mushiaki H, Inase M, Tanji J: Neuronal activity in the primate premotor, supplementary, and precentral motor cortex during visually guided and internally determined sequential movements. *J Neurophysiol* 66: 705-718, 1991
 - 17) Inoue K, Kawashima R, Satoh K, Kinomura S, Sugiura M, Goto R, Ito M, Fukuda H: A PET study of visuomotor learning under optical rotation. *Neuroimage* 11: 505-516, 2000
 - 18) 崎原ことえ, 平田雅之, 加藤天美, 吉峰俊樹, 依藤史郎: シークエンス運動に伴う局所的脳律動変化の脳磁図解析: 習熟運動と非習熟運動の違い. *脳波・筋電図の臨床* 49 : 497-500, 2007
 - 19) Hikosaka O, Sakai K, Miyauchi S, Takino R, Sasaki Y, Pütz B: Activation of human presupplementary motor area in learning of sequential procedures: A functional MRI study. *J Neurophysiol* 76: 17-621, 1996
 - 20) Sakai K, Hikosaka O, Miyauchi S, Takino R, Sasaki Y, Pütz B: Transition of brain activation from frontal to parietal areas in visuomotor sequence learning. *J Neurosci* 18: 1827-40, 1998
 - 21) Grafton ST, Mazziotta JC, Presty S, Friston KJ, Frackowiak RS, Phelps ME: Functional anatomy of human procedural learning determined with regional cerebral blood flow and PET. *J Neurosci* 12: 2542-2548, 1992
 - 22) Takahashi T, Takikawa Y, Kawagoe R, Shibuya S, Iwano T, Kitazawa S: Influence of skin blood flow on near-infrared spectroscopy signals measured on the forehead during a verbal fluency task. *Neuroimage* 57: 991-1002, 2011
 - 23) Minati L, Kress IU, Visani E, Medford N, Critchley HD: Intra- and extra-cranial effects of

transient blood pressure changes on brain near-infrared spectroscopy (NIRS) measurements. *J Neurosci Methods* 197: 283-288, 2011

Oxygenation changes of cortical motor areas during motor skill learning. -A functional NIRS study-

Abstract

The purpose of this study was to investigate the cortical motor areas activated in relation to complex hand movements, and the motor area related to motor skill learning. Regional cerebral oxygenated hemoglobin (OxyHb) was measured in seven right-handed healthy female volunteers using near-infrared spectroscopy (NIRS) during a two-ball-rotation task using the right hand. In the two-ball-rotation tasks, subjects were required to rotate the same two golf balls either with the right hand for 50-s alternated with 10-s rest for 10 repetitions. Performance improved significantly after the motor learning task. Maximum EMG value of the common digital extensor and the flexor carpi radialis muscles during one cycle decreased gradually with repetitions of the task cycles. Peak EMG values observed at 57.0 ± 43.0 sec in the common digital extensor muscle and 54.7 ± 30.4 sec in the flexor carpi radialis muscle. Task-related increases of OxyHb were observed in the channels covering the sensorimotor area (SM), premotor area (PM) and supplemental motor area (SMA). However, the OxyHb peaked at 268.6 ± 96.9 sec in the SM, 168.4 ± 34.9 sec in the PM, and 195.7 ± 83.1 sec in the SMA. The peak times of EMGs were earlier than those of OxyHb in motor related cortical areas (SM and SAM, $P < 0.01$; PM, $P < 0.05$). In addition, the peak time of the OxyHb in PM was observed earlier than that in SM ($P < 0.05$). Our findings indicate that OxyHb changes in the motor areas are not related simply to movement. These data suggest that SM, PM and SMA plays an important role in the early phase of motor learning and the PM might be more involved in the early learning phase of the motor skill.

Key words: Type 2 diabetes, Blood glucose, Microangiopathy, Endurance exercise training