

筋損傷後の運動介入が治癒過程に及ぼす影響

村上生馬*・西平賀昭**・沼田 治*・武政 徹**

The Effect of Exercise Following Muscle Injuries on Healing Process

MURAKAMI Ikuma*, NISHIHIRA Yoshiaki**, NUMATA Osamu* and TAKEMASA Tohru**

Abstract

Muscle injury is one of the most frequent traumas in sports. There are various types of muscle injury. Following injury, Muscle fibers have the ability to regenerate, but the healing process is very slow and often results in incomplete functional recovery. The healing process comprises several phases, including degeneration and inflammation, regeneration, and fibrosis. Some injured muscles are repaired by muscle tissues themselves (regeneration), however, others are repaired by connective tissues (fibrosis), which make discontinuity of muscle. Fibrotic tissues cause incomplete recovery of muscle strength and sometimes induce repeating injury. Thus, enhancement of muscle regeneration and prevention of muscle fibrosis should be preferable for healing.

Among many curing methods, we focus on exercise therapy. Once muscle is injured, it takes at least 4 weeks to repair histologically, but effect of exercise on healing process is unclear. Thus, whether we should work out or take a rest after muscle injury is controversial. Up to today, few reports show that exercise improves healing process, but its detailed mechanism is still obscure. Therefore, this study aims to reveal the effect of exercise on muscle injury. We forced mice to swim (60 minutes swimming for 3 days in 4 days) after 7 days of muscle injury caused by eccentric stimulation. We showed that the cross sectional area of the regenerating myofibers in exercise muscle was larger than that in non-exercise muscle and the level of fibrosis in the exercise muscle was lower than that in non-exercise muscle. Taken together, exercise improves muscle healthy healing.

Key words: 骨格筋、筋損傷、再生、線維化、運動介入

1. 背景

打撲や肉離れに代表される筋損傷はスポーツ現場でおこりうる最も頻度の高い外傷の1つである。一度、骨格筋の損傷が生じると、その完全な回復は困難であり、かつ再発の頻度が高いと言われている。また打撲と比較して、肉離れは再発の頻度が特に高いことが知られている。

損傷した骨格筋は、炎症、変性、再生の3つの段階を順次重複しながら治癒が進行する。また重度の筋損傷の場合は線維化 (fibrosis) が生じることが知られている。筋損傷後に損傷された筋が筋組織によ

り復元されることを再生といい、結合組織により修復されることを線維化という。この線維化の結果として生じた結合組織は、損傷した筋線維を支えるために存在するが、この組織の過剰増殖は、筋線維の再生成長を制限することや、密度の高い線維性組織が筋の弾性力不足を招き、再損傷が起こりやすいことが知られている。そのため、筋損傷後の治療に関する研究は、いかに線維化を抑え、再生を促進できるかという視点で研究が進んでいる。

臨床現場で適用可能な筋損傷後の治療例として、早期運動介入がある。裂傷や薬剤 (トキシシン) 投与、

* 筑波大学生命環境科学研究科
Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

** 筑波大学体育系
Faculty of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba

打撲による筋損傷後に早期運動介入を行うと、再生が促進され、線維化が抑えられるという先行研究が存在するものの¹⁻³⁾、その詳細なメカニズムは明らかになっていない。また、肉離れ後に早期運動介入が治癒過程に及ぼす影響は明らかになっていない。そこで本実験では、エキセントリック収縮による筋損傷（肉離れ実験モデル）を用いて臨床現場に使用可能な早期運動介入（水泳）が損傷した筋の治癒過程に及ぼす影響について検討を行った。

2. 方法

実験は7週齢のICR系マウスの雄を用いた。損傷後の早期運動介入の効果を検討するために、Control群（Con群）と筋損傷後運動介入を行わないInjury群（Inj群）、損傷後運動介入を行うInjury + Exercise群（Inj+Ex群）の3群を設定した（各群n = 8）。Inj群とInj+Ex群には、電気刺激①（周波数：150 Hz、電流：10 mA、刺激時間：1時間）により筋肉を疲労させた5分後に電気刺激②（周波数：

200 Hz、電流：10 mA、収縮回数100回）によりエキセントリック収縮をさせ、エキセントリック収縮による筋損傷（肉離れ）を誘発させた。電気刺激には、電気刺激装置（日本光電工業株式会社）とアイソレータ（日本光電工業株式会社）を用い、エキセントリック収縮は徒手筋力発揮により関節の動きをコントロールした。Inj+Ex群は、損傷1週間後から泳運動（1時間）による早期運動介入をおこない、21日後に3つの群のサンプリングをし、解析を行った。解析は、組織切片画像の解析とRT real time-PCRを行った。組織切片は、筋サンプルから凍結切片を作成し、切片をHE染色とマッソントリクローム染色により染色し、染色画像を用いて形態観察と再生筋の筋線維面積測定、線維化面積の測定をおこなった。RT real time-PCRは、線維化の指標として*Collagen5a3*、線維化促進因子として*TGF-β1*の発現を調べた。

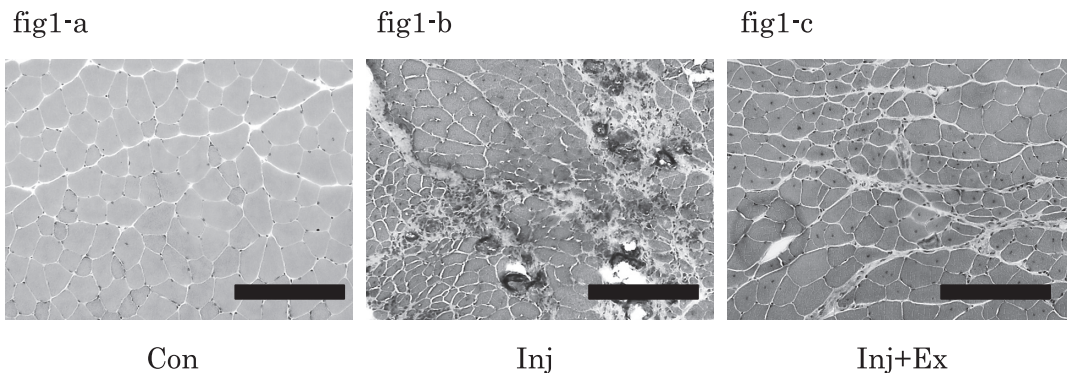


fig1-d

再生筋線維面積

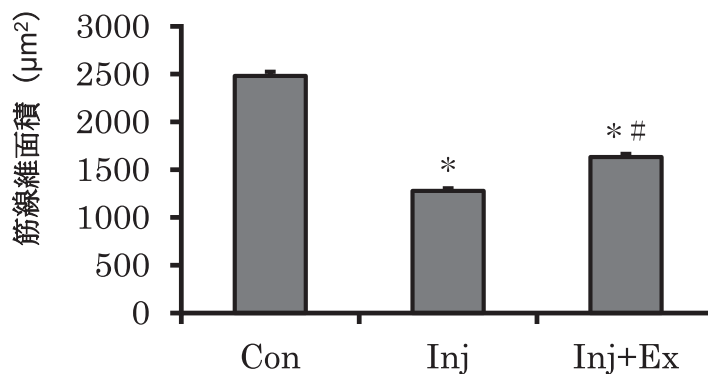


Fig. 1 HE 染色画像と再生筋の筋線維面積

顕微鏡写真中の bars = 200 μm

平均値 ± 標準誤差 * : p < 0.05 (Con 群との有意差), # : p < 0.05 (Inj 群との有意差)

3. 結果

再生の評価として、切片を HE 染色した画像を解析し、再生筋の筋線維面積を測定した結果、Inj 群に比べ Inj+Ex 群の筋線維面積は有意に増加していた (Fig. 1)。続いて線維化の評価として、切片をマッソントリクローム染色した画像を解析し、線維化面積 (結合組織面積) を測定した結果、Inj 群に比べ、Inj+Ex 群の線維化面積は有意に減少していた (Fig. 2)。また、線維化組織の主な構成成分である *collagen5a3* の発現量を RT real time PCR で調べたところ、Inj+Ex 群が Inj 群に比べ有意に発現量が減少していることが確認された (Fig. 3)。さらに線維化を誘導するサイトカインとして知られている *TGF-β1* についても RT real time PCR で発現量を調べた結果、Inj+Ex 群での発現量が Inj 群に比べ有意に減少していることが確認された (Fig. 4)。

4. 考察

運動が再生に及ぼす影響について着目すると、再生筋の線維面積が Inj 群に比べ Inj+Ex 群で増加していたことから、運動介入が肉離れ後の筋再生を促進したことが示唆された。また運動が線維化に及ぼす影響に着目すると、切片の解析により線維化面積が Inj+Ex 群で Inj 群に比べ有意に減少していたこと、また RT real time PCR の結果により *collagen5a3* の発現が Inj 群に比べ Inj+Ex 群で有意に減少していたことから、運動介入が線維化を抑制することが示唆された。また、線維化を促進することで知られている *TGF-β1* の発現が、Inj 群に比べ Inj+Ex 群で低値であったことから、筋損傷後の早期運動介入は、*TGF-β1* の抑制を介しての線維化を抑制している可能性が示唆された。

本研究により、エキセントリック収縮による筋損傷 7 日後からの早期運動介入 (泳運動) が再生を促進し、線維化を抑制することで治癒過程を改善することが示唆された。今後、筋損傷後の最適な運動開

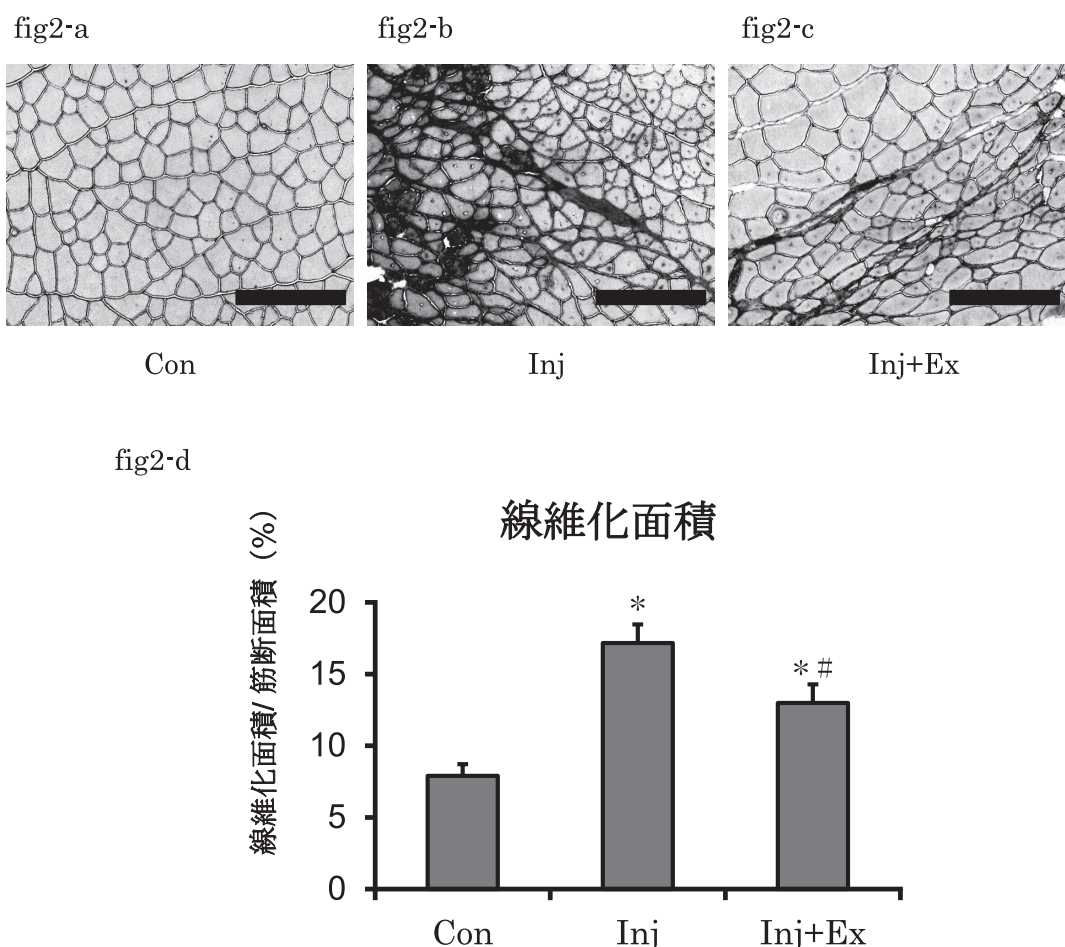


Fig. 2 マッソントリクローム染色画像と線維化面積

顕微鏡写真中の bars = 200 μ m

平均値 + 標準誤差 * : $p < 0.05$ (Con 群との有意差), # : $p < 0.05$ (Inj 群との有意差)

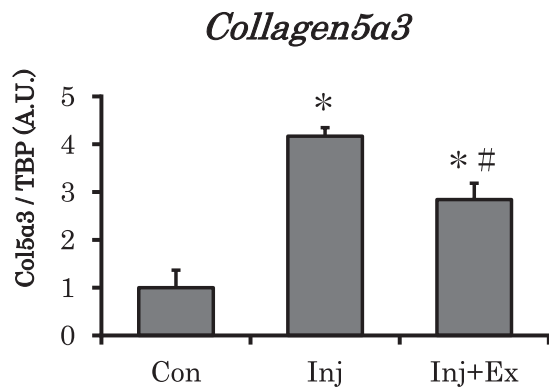


Fig. 3 *Collagen5a3* の mRNA の発現量
 平均値 + 標準誤差 * : $p < 0.05$ (Con 群との有意差), # : $p < 0.05$ (Inj 群との有意差)

始日や、運動が再生を促進し線維化を抑制する詳しいメカニズムについて明らかにする必要がある。

文 献

- 1) Faria FE et al. (2008): The onset and duration of mobilization affect the regeneration in the rat muscle. *Histol Histopathol* 23: 565-571
- 2) Hwang JH et al. (2006): Therapeutic effect of passive mobilization exercise on improvement of

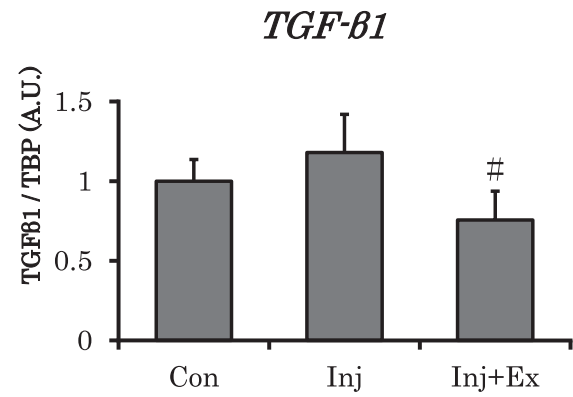


Fig. 4 *TGF-beta1* の mRNA の発現量
 平均値 + 標準誤差 # : $p < 0.05$ (Inj 群との有意差)

muscle regeneration and prevention of fibrosis after laceration injury of rat. *Arch Phys Med Rehabil* 87: 20-26

- 3) Lehto M et al. (1985): Collagen and fibronectin in a healing skeletal muscle injury. An immunohistological study of the effects of physical activity on the repair of injured gastrocnemius muscle in the rat. *J Bone Joint Surg Br* 67: 820-828