

スポーツ分野における骨格筋障害に対する鍼治療の効果

宮本俊和 (筑波大学人間総合科学研究科スポーツ医学専攻理療科教員養成施設)

1. はじめに

鍼治療は、ステンレスなどの鍼治療用の針を用いて生体内に刺入して、生体反応を期待する治療法である。鍼治療は、皮膚、皮下組織、筋、神経などの組織を直接刺激できる特長を持っている。本シンポジウムでは、鍼刺激を皮下や筋に行なった場合の臨床効果や生体反応について、①スポーツ選手の外傷・障害の鍼治療状況、②円皮鍼の筋疲労や筋痛の軽減の効果、③マウスを対象とした廃用性筋萎縮の鍼刺激の効果を取り上げて私たちの行なって来た研究を紹介する。

2. スポーツ外傷・障害に対する鍼治療の効果

筑波大学で鍼治療を受けた14,741名のスポーツ選手の治療部位をみると、腰痛が42.5%と一番多く次に多いのは、大腿部の肉離れ10.7%である[1]。このように、スポーツ選手は、筋性腰痛や肉離れなどの骨格筋損傷に伴う疼痛の軽減を目的に鍼を利用している。私たちは、骨格筋の痛みに対しては、疼痛部の筋に鍼を刺入して、周波数1Hzで筋収縮が起きる強さの電流量で15分間の低周波鍼通電療法を行い臨床効果を得ている。

3. 筋痛および筋疲労に対する円皮鍼の効果

円皮鍼は、長さ0.6mm程度の鍼で皮内に貼付したまま運動できるため、スポーツ選手に利用されている。また、刺入感がほとんどないため二重盲検ランダム化比較試験に用いられている。

①マラソン後の筋痛と筋硬度に対する円皮鍼の効果 [2]

マラソンに初めて参加する15名を対象に、円皮鍼と装丁を同様にした鍼のない偽円皮鍼(プラセボ鍼)を作製して、円皮鍼群8名とプラセボ群7名に無作為に割付した。円皮鍼またはプラセボ鍼は下肢の経穴8箇所、マラソンスタート前に貼付し、5日後に抜去した。測定項目は、筋痛のVisual Analogue Scale (以下VAS)、CK値、LDHアイソザイム、立位体前屈、筋硬度とし、マラソンスタート前、ゴール後、5日後に測定した。その結果、1. 円皮鍼はマラソン後の筋痛を軽減させた。2. CK値とLDHアイソザイムのLDH4、LDH5は、マラソンゴール後に上昇したが、円皮鍼の効果はみられなかった。3. 立位体前屈、筋硬度の差はみられなかった。

②陸上競技長距離選手の合宿中の筋疲労に対する円皮鍼の効果

大学陸上競技長距離のトレーニング合宿に参加

した33名を、円皮鍼群17名、プラセボ群16名に無作為に割付した。円皮鍼またはプラセボ鍼は経穴10箇所、合宿2日目の朝の検査後に貼付し、合宿7日目の夕方の検査後に抜去し、4日目と6日目に貼り替えた。測定項目は、自覚的疲労の程度VAS、練習状況のVAS、筋硬度、CK値、POMSとし、朝食後、夕食後に測定した。なお、CK値、POMSは合宿初日の夜と7日目の夜のみ測定した。その結果、円皮鍼は合宿中の長距離走者の自覚的な疲労を軽減させ、練習状態を維持させると共に、大腿後側の筋硬度を軽減することが示された。しかし、CK値やPOMSの項目には影響を与えなかった。

4. 骨格筋萎縮に対する低周波鍼通電療法の効果

骨格筋に対する鍼治療の研究は、筋血流や筋出力の研究が中心であり、組織学的な研究はほとんどない。また、鍼治療が、不活動によって生じる廃用性筋萎縮を抑制できるか検討した研究もほとんどない。私たちが行った後肢懸垂マウスを用いた廃用性筋萎縮に対する低周波鍼通電の効果を紹介する。

①鍼通電刺激が廃用性の骨格筋萎縮を抑制する分子メカニズム [3]

8週齢のICR系雄性マウスを用い、7日間の後肢懸垂を行い、その間に隔日に低周波鍼通電刺激を下腿三頭筋に10Hzで30分行う鍼通電群と鍼通電をしない群と実験開始前の非処置群とを比較した。その結果、鍼通電刺激は、廃用性骨格筋萎縮を抑制し、Mstn、MuRF-1、MAFbxの遺伝子発現を低下させ、タンパク質の合成と分解を拮抗させる分子メカニズムにより、筋萎縮抑制に働く可能性を明らかにした。

②後肢懸垂により引き起される筋萎縮の回復過程における鍼通電刺激の効果 [4]

上記の方法で14日間の後肢懸垂後からマウスを再接地させ、筋萎縮の回復過程において、低周波鍼通電刺激を行ったところ、鍼通電刺激は不活動による筋萎縮からの筋の回復促進作用があると共にマクロファージ浸潤数が増加し、筋衛生細胞の活性化が関与することが示唆された。

なお、本研究による利益相反はない。

1. 宮本俊和：筑波大学におけるスポーツ外傷・障害に対する鍼治療。日本臨床スポーツ医学誌 **19** (2): 228-230, 2011
2. 宮本俊和ら：マラソン後の筋痛と筋硬度に対する円皮鍼の効果—ランダム化比較試験による検討—。日本東洋医学雑誌 **54** (4): 939-944, 2003
3. 池宗佐知子ら：鍼通電刺激が廃用性の骨格筋

萎縮を抑制する分子メカニズム. 日本温泉気候物理医学会雑誌 74 (2): 103-111, 2011

4. 池宗佐知子ら: 後肢懸垂により引き起される筋萎縮の回復過程における鍼通電刺激の効果. 全日本鍼灸学会雑誌 60 (4): 707-715, 2010

骨格筋可塑性を制御する分子基盤

小野悠介 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・幹細胞生物学研究分野)

世界で先駆けて超高齢社会を迎えた我が国では、自立した生活が困難な運動器障害が急増している。加齢にともなう急激な筋力・筋量の低下は、加齢性筋肉減弱症 (サルコペニア) とよばれる。骨格筋は運動器としてのみならず、生体内最大のエネルギー代謝臓器であることから、筋量の低下は、糖尿病などのメタボリックシンドローム発症のリスクファクターとなる。そのため、骨格筋量を規定する筋可塑性メカニズムを解明することは、日常生活動作 (ADL) の改善や生活習慣病の予防治療という点において重要な課題となっている。

骨格筋は、筋力トレーニングにより負荷をかければ肥大し、逆に使わなければ急速に萎縮するユニークな特性をもっている。また骨格筋は、損傷しても速やかに修復・再生される極めて可塑性に富んだ組織である。この修復・再生には、基底膜と筋線維の間に位置している骨格筋組織幹細胞であるサテライト細胞の働きが欠かせない。サテライト細胞は健全な骨格筋では通常、休止期の状態で眠っているが、筋損傷などの刺激が入ると急速に活性化し増殖を繰り返す。増殖後、サテライト細胞は筋分化し、互いにあるいは既存の筋線維に融合することで多核筋線維を産出する。一方、一部のサテライト細胞は、筋分化せずに自己複製し、再び休止期の状態に戻り幹細胞プールを維持する。近年の研究から、サテライト細胞は、強力な筋再構築能を保持していることがわかってきたが、増殖、分化、自己複製能等の運命決定を制御する分子機構に関しては不明な点が多く残されている。

我々は、筋可塑性制御の基盤的分子として細胞膜貫通タンパク質である Notch に着目した。Notch は、哺乳類では 1-4 のファミリーで構成され、様々な組織幹細胞の増殖や分化などの運命決定を調節することで知られている。我々は、サテライト細胞特異的に、Notch1 または Notch2 の単独欠損、Notch1/2 の二重欠損マウスを作出し解析したところ、サテライト細胞の数は、野生型に比べ単独欠損でそれぞれに減少がみられ、二重欠損

ではほぼ完全に枯渇することを見出した。筋損傷を誘導すると、各欠損マウスのサテライト細胞数の減少程度依存的に線維質が沈着する筋再生能の低下が惹起された。初代培養系によりサテライト細胞の運命決定を評価したところ、単独欠損のサテライト細胞は未分化状態を維持できず、早熟な筋分化が誘導された。一方、サテライト細胞特異的に活性化型 Notch2 を過剰発現するマウスのサテライト細胞では、自己複製が亢進しており、増殖および筋分化が阻害されることで、結果的に各欠損マウスと同様に筋再生不全が引き起こされた。このことから、Notch1 および Notch2 は、サテライト細胞の未分化状態を制御することで筋幹細胞プールの保持に貢献し、Notch シグナルの適切なタイミングでの活性化-不活性化の制御が、骨格筋の修復・再生に重要であることが示された。

Notch による幹細胞制御に関する研究は枚挙に暇が無いが、増殖や分化能を失った成熟細胞における報告はほとんどない。我々は、サテライト細胞に加え、最終分化を遂げた筋線維において Notch が発現することを見出した。そこで、骨格筋特異的に活性化型 Notch を恒常的に発現するトランスジェニックマウスを用いて解析したところ、前脛骨筋および腓腹筋などの速筋において筋萎縮および遅筋化が起こることがわかった。遅筋化をとともなう筋萎縮はサルコペニアの特徴であることから、骨格筋線維における Notch シグナルの活性化は、サルコペニア発症機序の新たなメカニズムとなる可能性が示唆された。

以上の結果から、骨格筋における Notch シグナルは、幹細胞と筋線維レベルで複雑かつ巧妙に筋可塑性を制御しているものと考えられる。本シンポジウムでは、筋可塑性を制御する基盤的分子として Notch に着目し、我々の最新知見を交えて紹介した。

利益相反なし。

鍼通電刺激による骨格筋幹細胞の活性化の分子メカニズムとその治療応用に向けて

高岡 裕 (神戸大学医学部附属病院医療情報部、神戸常盤大学ライフサイエンス研究センター (兼任))

1. 鍼通電刺激が誘導する遺伝子発現の変化

1997 年に筆者は、鍼通電刺激が遺伝子発現の変化を引き起こし鍼治療の効果を生じさせるという仮説について、mRNA fingerprint 法で網羅的遺伝子発現解析による検証を開始した。以前、筆者はギラン・バレー症候群のリハビリ期の患者への鍼通電治療で骨格筋肥大が促進される現象を経験

しており [1], 骨格筋を対象とした. 実験では, 麻酔下のマウス下腿三頭筋へ 1.2Hz, 15 分間刺激し, 無刺激, 刺激直後, 刺激 1, 3, 24 時間後に全 RNA を抽出した. また毎日反復刺激し, 鍼通電刺激 1 日目, 1 週間目, 1 ヶ月目の試料も解析した. 発現変化していた様々な遺伝子について, バイオインフォマティクス解析とジーンオントロジーで解析し, 鍼通電刺激が骨格筋の肥大を引き起こす可能性を見出した. 実際, 1 ヶ月間毎日鍼通電刺激を行うと骨格筋衛星細胞に増殖像が認められた. また鍼通電刺激により, 筋衛星細胞の増殖を抑制しているミオスタチンの遺伝子発現が有意に発現低下しており (図 1a), これが骨格筋衛星細胞増殖を引き起こすことが示唆された [2]. ミオスタチンはタンパク合成を抑制しており, その機能欠損は骨格筋を異常に発達させる [3].

2. 筋萎縮マウスモデルへの治療実験

次に, 鍼通電の筋萎縮抑制効果を実験動物による治療実験, すなわち7日間および13日間の後肢懸垂法により廃用性筋萎縮マウスモデルを作出し, 懸垂翌日から2日毎に鍼通電刺激を行い解析に供した. その結果, 後肢懸垂による下腿三頭筋の相対筋量の低下と筋線維径の縮小が阻止された. 次に, ミオスタチンと MuRF-1, MAFbx, Cbl-b をリアルタイム PCR 解析した. なお, 本実験のリアルタイム PCR 解析に際しては, 廃用性萎縮処置と鍼通電刺激という2つの生理条件を組み合わせた実験系ゆえに, 常に同一の発現量を示すハウスキーピング遺伝子が存在せず (図 1b), 通常のように単一の内在性コントロール遺伝子を補正に使用出来ない事に留意すべきである. このような場合は, 複数のハウスキーピング遺伝子の組み合わせから幾何平均によりデータ補正值を算出し, 解析に供する [4]. 解析の結果, 後肢懸垂時であってもミオスタチンとタンパク質分解系の遺伝子群の発現が鍼通電刺激で有意に低下しており (図 1c), そのメカニズムとして筋タンパクの合成促進と分解抑制から筋萎縮が抑制されていることが示された [5]. 前臨床段階の治療実験で有効性が確認され, 今後は臨床的な有効性の検証の段階に駒が進む. エビデンスに基づく医療応用も, そう遠くないと期待される.

3. 謝辞および利益相反

本研究は大田美香博士 (神戸常盤大学 特命講師) と共同で行った. 筋萎縮マウスの飼育は, 主に筑波大学の池宗佐知子博士が宮本俊和教授と担当した. いずれの研究も, 研究実施期間の委員会から許可を得て行われた. 本研究は, 科学研究費補助金基盤研究 C (課題番号 22590653 および

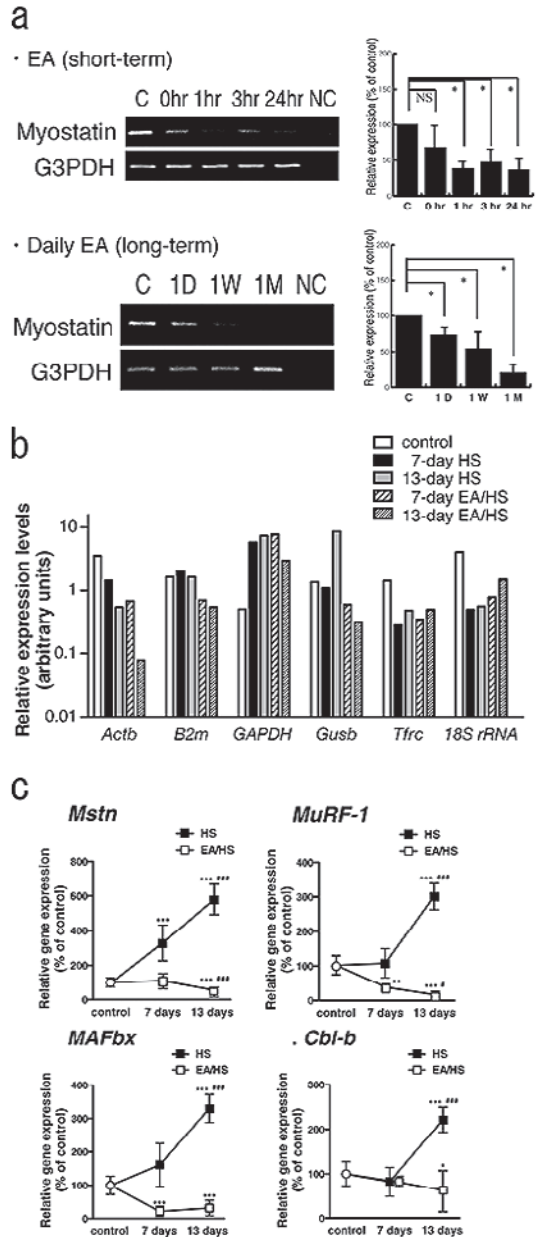


図1. a. ミオスタチンの半定量 RT-PCR 解析結果 (文献[1]より引用); b. 6 種類のハウスキーピング遺伝子の発現量; c. リアルタイム PCR 解析結果 (文献[5]より改変. 一部未発表データ), ■は後肢懸垂 (HS) 群, □は後肢懸垂に鍼通電治療した (EA/HS) 群 (各 n=7)

24590884), 第20回および第25回中富健康科学振興財団研究助成金による研究成果の一部である。

なお, 本研究に利益相反はない。

1. 高岡 裕: 全日本鍼灸学会雑誌 **57** (2): 94-109, 2007
2. Takaoka Y et al: *Physiol Genomics* **30** (2): 102-110, 2007
3. Lee S-J: *PLoS ONE* **2** (8): e789, 2007
4. Vandesompele J et al: *Genome Biol* **3**: research0034.1-research0034.11, 2002
5. 池宗佐知子ら: 日温気物医誌 **74**(2): 103-111, 2011

骨格筋研究をめぐる混乱を疲労を手掛かりに振り返って最近の発展を眺めてみよう

竹森 重 (東京慈恵会医科大学・分子生理学)

骨格筋は収縮に特化した特異な生体組織であるが, その機能実現のためには生命体の多くの基本戦略が凝縮して注ぎ込まれている。骨格筋が人類の関心を永く集め続けてきているのには, いくつかの要因が挙げられる。

骨格筋は旨い, 生命体の基本戦略を凝縮しているからか, 高密度のタンパク質があり, 糖質・脂質もある。内臓に比べてとにかく動物に必要な成分が凝縮されている。しかも保存がきき, 多少保存してアミノ酸に分解されるとさらにうまい。このことがまず骨格筋に対する人類の関心を高めていただろう。

骨格筋は動力源だ。ヒトを含む動物の視覚は動きを敏感にとらえることで他の動物との関係を構築している。動くものを見れば, 私たちはとりあえず動物ではないかと思うようだ。ロバート・ブラウンが花粉から弾け出た粒子の動きを観てそこに生命を感じたのも, 動きが生命の表象と捉えられていたからだろう。このようなわけで, 動物の動力源である骨格筋は, 鼓動を刻む心臓と共に生命を象徴するものと捉えられたに違いない。人類が力学をベースに物理学を発展させたのにも, 動きに対する人類の深い関心があっただろう。

骨格筋の出力は熱力学の対象だ。物理学に牽引されて科学文明が発達すると, 骨格筋の力発生と短縮という力学的な出力と熱発生とは, 格好の研究対象となった。熱発生はまた, ヒトをはじめとする恒温動物にあっては動きに並ぶ生命の表象である。今日のみで見ても, 太陽光に始まるエントロピー増大の連鎖を食物連鎖で利用する生命の在り方を骨格筋は正に象徴しているといえる。

骨格筋は美しい。筋肉美の感性をすべての人が共有するとは限らないが, 顕微鏡下に見る骨格筋

の規則構造は誰の目にも美しい。光学顕微鏡下の美しい横紋はそれだけで驚きを誘うが, 電子顕微鏡下に見る筋節の結晶(液晶)様規則構造はさらに美しい。この規則周期は, 筋組織全体の特性を, 筋節という小さな単位構造(筋節単位胞)の特性に還元することを可能にする。この故に骨格筋は, 理工学的手法を医・生物学分野に適用する格好な対象となった。

このように深い関心を集め続けてきている骨格筋だが, その素性はいまだに十分にはわからない。筋肉がどうして縮むのか, ミオシンとアクチンの分子構造が解かれた今になっても, 1957年にアンドリュウ・ハクスレーが突いた筋肉における化学—力学エネルギー変換のからくりの本質以上のことはわかっていない。

そもそも, 筋収縮のエネルギー源がATPの加水分解にあるとされるまでの道のりも決して単調なものではなかった。当初はブドウ糖から乳酸ができることが筋収縮のエネルギー源と思われたが, この代謝経路を止めても骨格筋はずいぶん収縮し続けることがわかり, このときに減るクレアチンリン酸が収縮のエネルギー源かと思われた。ところがクレアチンリン酸がADPをATPに再生していることが知れて, ATPこそが直接のエネルギー源と思われるようになった。先に触れたハクスレーのモデルでは, ATPは確率的な分子運動にバイアスを掛けているだけだということになるから, 直接のエネルギー源はまた闇に入ったことにもなる。

鍼灸に関して骨格筋に向けられる関心は, 凝りと疲労とは何かということであろう。骨格筋研究が専門だと言うと大抵聞かれることでもある。残念ながらどちらも専門家として責任をもった明快な回答ができない。ただ, 疲労については色々な疲労がにわかにごっちゃまぜにされ出して, 世間を大きな混乱に陥れているということだけは指摘できる。

疲労は色々なレベルで起こる。嫌気性代謝で溜まる乳酸やATPの分解で溜まるリン酸は収縮タンパクのパフォーマンスを低下させる。筋細胞の疲労だ。神経筋接合部のアセチルコリンが枯渇すれば伝達が障害される。接合部の疲労だ。さらに中枢を遡るにつれて様々なレベルの疲労が起こる。

これらは私たちが疲れたと思うときの疲労とはそもそも次元の異なるものである。乳酸はまだまだエネルギー源となるピルビン酸を有効に細胞間でシェアするための有益な物質であるが, 筋細胞レベルでのパフォーマンスを低下させる作用を持つことには変わりがない。この乳酸が疲労感の原

因物質というわけではもともとないのだが、筋細胞が披露するような状況では私たちは往々にして疲労感を感じ、そんな体験の繰り返しは元かどうかはわからないが私たちは疲労感を筋肉に投射して知覚することがしばしばなものだから混同が起こったのに違いない。

トランスレーショナルリサーチを志向するとき、何がわかっていないか、何が混乱であるかをしっかり見据えて取り組むことは大切なことだと、筋研究におけるこんな混乱の歴史を振り返る時、いつも感じる。

利益相反なし。