

# 基礎理学療法学

2022

VOL. 25

No.1

**研究論文 (原著)**

腰背部への持続的押圧刺激が腸蠕動音、自律神経活動に与える影響  
・・・岡 真一郎・他

3次元相同モデルを用いた現代日本人における肩甲骨形態変異の解明  
・・・時田 諒・他

発達に伴うメカニカルストレスの変化はアキレス腱の組織成熟に関与する  
・・・宇佐美 優奈・他

補足運動野への一過性機能脱落が予測的姿勢調整に及ぼす影響  
・・・久保 大輔・他

社会的敗北ストレスモデルラットでは侵害刺激に対する脊髄後角表層ニューロンの興奮性が増大する  
・・・井上 創太・他

**総説 (U39)**

リハビリテーションと分子標的の併用による脳損傷後の機能回復  
・・・田中 貴士・他

運動制御時の運動主体感を定める手がかり統合戦略  
・・・宮脇 裕・他

足関節底屈筋筋力調節能力と姿勢制御機能との関連  
・・・廣野 哲也

骨格筋の再生と細胞老化  
・・・齋藤 悠城・他

中高齢者における習慣的な運動と栄養摂取が遂行機能に及ぼす影響  
・・・新藤 愛

運動による慢性腎臓病進行抑制の可能性  
・・・山越 聖子

# 基礎理学療法学 第25巻 第1号 2022年

## 目 次

### 原 著

- 腰背部への持続的押圧刺激が腸蠕動音, 自律神経活動に与える影響…………… 岡 真一郎・他・1
- 3次元相同モデルを用いた現代日本人における肩甲骨形態変異の解明…………… 時田 諒・他・10
- 発達に伴うメカニカルストレスの変化はアキレス腱の組織成熟に関与する…………… 宇佐美優奈・他・18
- 補足運動野への一過性機能脱落が予測的姿勢調整に及ぼす影響…………… 久保 大輔・他・27
- 社会的敗北ストレスモデルラットでは侵害刺激に対する  
脊髄後角表層ニューロンの興奮性が増大する…………… 井上 創太・他・35

### 総 説

- リハビリテーションと分子標的の併用による脳損傷後の機能回復…………… 田中 貴士・他・43
- 運動制御時の運動主体感を決める手がかり統合戦略…………… 宮脇 裕・他・50
- 足関節底屈筋筋力調節能力と姿勢制御機能との関連…………… 廣野 哲也・56
- 骨格筋の再生と細胞老化…………… 齋藤 悠城・他・61
- 中高齢者における習慣的な運動と栄養摂取が遂行機能に及ぼす影響…………… 新藤 愛・69
- 運動による慢性腎臓病進行抑制の可能性…………… 山越 聖子・80

- 投稿規程…………… 86

原 著

## 腰背部への持続的押圧刺激が腸蠕動音、 自律神経活動に与える影響\*

岡 真一郎<sup>1) #</sup> 新郷 怜<sup>2)</sup> 濱地 望<sup>1)</sup>  
池田拓郎<sup>3)</sup> 光武 翼<sup>3)</sup>

### 要旨

腰部への持続的圧迫刺激（以下、CPS）後の自律神経活動が腸音（以下、BS）の変化に与える影響を検討した。対象者は健康な若年成人男性10名とした。BSは、左下腹部に聴診器をあて録音し、周波数解析により音圧を算出した。自律神経活動の評価は、心電図RR間隔を用いて心拍変動解析を行った。循環動態は血圧を測定した。CPSは、T12からL2棘突起の3.5 cm外側に50 mmHgで押圧を開始し、10分間持続した。CPS後10分で313 HzのBSの音圧が上昇した。CPS後5分のBS、LF/HF、DBPの変化がCPS後10分のBSの上昇に影響していた（ $CMIN = 1.214$ ,  $p = 0.750$ ,  $GFI = 0.941$ ,  $RMSEA < 0.001$ ）。これらの結果は、CPSが心臓や末梢血管の副交感神経活動を修飾し、腸の蠕動運動を促進することを示唆している。

キーワード 腸蠕動運動, 持続的押圧刺激, 自律神経, 体性自律神経反射, 排泄障害

### はじめに

排便障害のひとつである便秘は、リハビリテーション対象患者から高齢者、勤労世代の若年者まで、多くの人が抱える共通の機能的消化管障害である<sup>1)</sup>。脳血管障害患者では発症12週後のアウトカムに影響し<sup>2)</sup>、糖尿病患者では排便に関するQOLが低下すること<sup>3)</sup>に加え、慢性化により勤労世代の経済損失を生じることが報告されている<sup>4)</sup>。また、腹部術後患者は、一過性の腸管運動低下後の機能的腸閉塞を予防するため、腸管運動を速やかに回復させる必要がある<sup>5)</sup>。このように、腸蠕動運動を誘発し排泄を促す方法を検討することは、便秘による諸問題や術後合併症を予防するうえで重要な課題である。

慢性便秘症に対する保存的治療について、本邦で初め

て発刊された慢性便秘症ガイドライン（2017）<sup>1)</sup>では、薬物療法、生活習慣の改善、リハビリテーション、腹部マッサージの有効性が報告されている。薬物療法について、浸透圧性下剤に対する効果はエビデンスレベルA、刺激性下剤はエビデンスレベルBであるが、長期服用による副作用、刺激性下剤では服薬後の日常生活で制約を受けるなどの課題がある。また、生活習慣の改善、リハビリテーション、腹部マッサージは、エビデンスレベルCの「提案」に留まっている。このうち、大腸通過遅延型の便秘に対して排泄を促す腹部マッサージは<sup>6)</sup>、専門家による特殊な技術を要すること、腹部術後患者に対して適応できないことが課題である。さらに慢性便秘を含む排便障害患者に対して、便失禁患者に用いられている仙骨神経電気刺激の有効性が検討されているが、課題として電気刺激デバイス留置部の感染症が生じること<sup>7)</sup>、一定の効果が得られず標準的治療として推奨されていないこと<sup>8)</sup>が挙げられている。そのため、腹部以外への刺激を用いて、簡便に腸蠕動運動を促す方法を開発できれば、便秘の改善と慢性化を予防し、腹部術後患者の腸蠕動運動を早期に回復させる一助となると考える。

腸管運動を支配する自律神経系の生理的作用として、皮膚への体性感覚刺激が体性求心性神経を介して中枢神経系で統合された後、末梢効果器を反射的に変化させる体性自律神経反射がある<sup>9)</sup>。我々は、胸背部T2-4レベ

\* Factors Associated with the Effects of Continuous Pressure Stimulus to the Lower Back in the Autonomic Nerve Activity and Bowel Sounds

1) 国際医療福祉大学福岡保健医療学部理学療法学科  
(〒831-8501 福岡県大川市榎津137-1)

Shinichiro Oka, PT, PhD, Nozomi Hamachi, PT, PhD: Department of Physical Therapy, School of Health Sciences at Fukuoka, International University of Health and Welfare (137-1, Enokizu, Okawa-shi, Fukuoka 831-8501, Japan)

2) 高木病院リハビリテーション部  
Rei Shingo, PT, MS: Department of Rehabilitation, Takagi Hospital

3) 福岡国際医療福祉大学医療学部理学療法学科  
Takuro Ikeda, PT, PhD, Tsubasa Mitsutake, PT, PhD: Department of Physical Therapy, Fukuoka International University of Health and Welfare

# E-mail: s.oka@iuhw.ac.jp

(受付日 2021年4月5日/受理日 2021年10月20日)

[J-STAGEでの早期公開日 2022年2月4日]

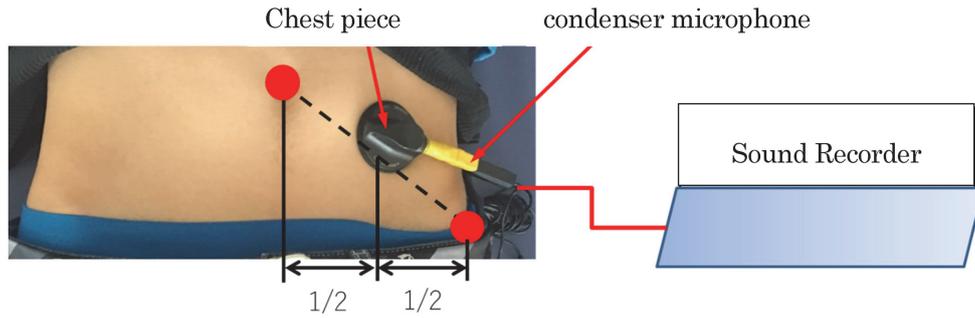


図1 腸蠕動音の測定

腸蠕動音の測定は、臍部と左上前腸骨棘の midpoint にチェストピースを設置し、サウンドレコーダーで1分間録音した。

ルの皮膚への持続的押圧刺激 (Continuous pressing stimulus; 以下, CPS) が自律神経活動と皮膚温の変化を誘発したことを報告している<sup>10)</sup>。大腸の交感神経支配は, T5-T9の大内臓神経およびT10-T12の小内臓神経から腹腔神経節を経由した上腸間膜神経節, L1-L3の最小内臓神経を経由した下腸管膜神経節と広範囲に及んでいる<sup>9)</sup>。そのため, T5-L3の皮神経領域に対するCPSは, 大腸を支配する交感神経活動に影響を与え, 腸蠕動運動を賦活できる可能性がある。脊髄の皮神経は, T5レベルから脊椎の分節レベルより尾側へ分布していることが知られている<sup>11)12)</sup>。そのため, 本研究では, 大腸の神経支配領域でCPSが可能な部位として, T12からL2棘突起の外側皮膚を刺激部位とした。

腸蠕動運動を非侵襲的に評価する方法として聴診器による腸蠕動音 (Bowel Sound; 以下, BS) を録音, 分析する方法がある。BSは, ダイアフラム型 (100~500 Hz) チェストピースを使用して録音<sup>13)</sup>した後, 周波数解析によるパワー値やピーク様波形の音圧が用いられている<sup>14)</sup>。また, 体性自律神経反射が自律神経中枢の応答を介して末梢の自律神経効果器の活動を修飾することから, 自律神経の評価は心電図R-R間隔を用いた心拍変動解析 (Heart Rate Variability; 以下, HRV) を利用できる。臨床研究では, 過敏性腸症候群患者の直腸膨満とHRVの相関<sup>15)</sup>, 糖尿病患者の脳腸相関の胃腸症状とHRVの関係を報告したものが<sup>16)</sup>ある。そのため, BSおよびHRVを用いることで, CPSによる腸蠕動運動と自律神経の反応について, 間接的な指標ではあるが非侵襲的かつ客観的に示すことができると考える。

本研究の目的は, 腸蠕動運動を誘発する簡便な方法を検討するため, 健常若年男性を対象にT12からL2棘突起上皮膚の外側部に対してCPSを行い, 自律神経活動がBSの変化に与える影響について調査した。

## 対象・方法

### 1. 対象

対象は, 健常若年成人男性10名 (21.6 ± 0.5歳) とした。体格は, 身長 1.71 ± 0.10 m, 体重 64.9 ± 10.7 kg, BMI 22.1 ± 2.6 kg/m<sup>2</sup>であった。除外基準として, ①心電図の異常波形を指摘された経験があるもの, ②消化器系に外科的治療の既往歴があるものとした。なお, 本研究は, 所属施設の倫理委員会の承認 (承認番号: 15-Ith-28) を得た後, 対象者に文書を用いて研究目的, 内容を説明し, 書面で同意を得た後に開始した。測定前の注意事項として, 測定前日の過度なアルコールの摂取を避け, 十分な睡眠を取ること, 測定当日は, カフェインの摂取, 激しい運動, 喫煙を避け, 検査2時間前までに食事を済ませるよう指示した。

### 2. 方法

静音な個室で備え付けの冷暖房設備を使用し, 室温を25°前後に調整した。

#### 1) 腸蠕動音の測定

BSの測定は, 聴診器 3M<sup>TM</sup> リットマン<sup>TM</sup> ステテスコブマスタークラシック II (3M社製) を使用した。BSを收音するチェストピースは, 心音や呼吸音から区別する必要があるため, 高周波数帯域が聴診可能なダイアフラム型 (100~500 Hz)<sup>13)</sup> を使用し, 対象者の臍部と左上前腸骨棘の midpoint にサージカルテープで固定した (図1)。BSの記録は, 聴診器のチェストピースと繋がるチューブに3.5 mm コンデンサマイク HS-MC06BK (ELECOM社製) を挿入し, コンデンサマイクをパーソナルコンピュータ LIFEBOOK WU2/B3 (富士通社製) に接続して簡易音声処理ソフトウェアサウンドレコーダー (Microsoft社製) で1分間録音した (図1)。

#### 2) 心拍数の測定

心拍数 (以下, HR) の測定は, メモリー心拍計 LRR-03 (GMS社製) を使用した。電極は, 3点誘導法で右鎖骨

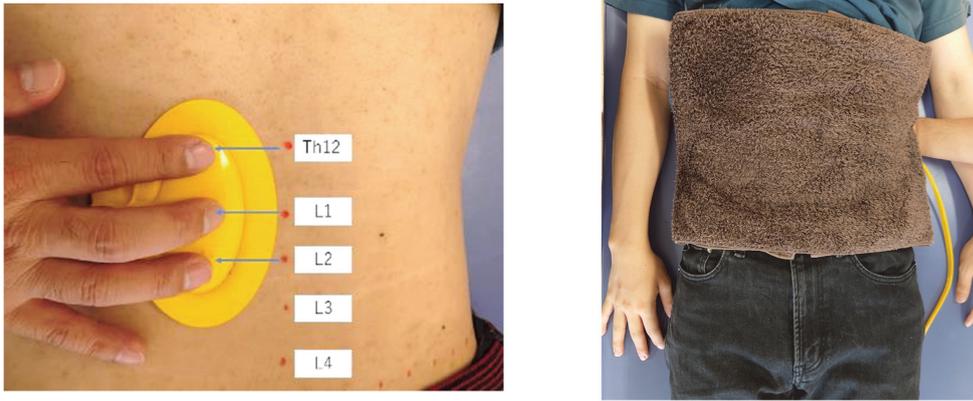


図 2-1 CPS の方法

圧力センサーは、第 12 胸椎棘突起から第 2 腰椎棘突起の外側 3.5 cm に接着した。開始時の押圧力は 50 mmHg に調整した。

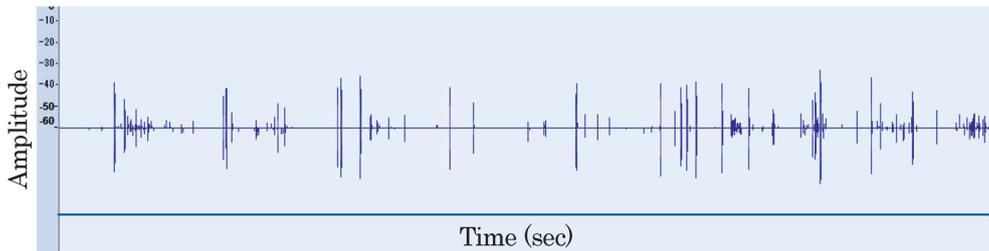


図 2-2 腸蠕動音の例

腸蠕動音はノイズが少なく、腸蠕動運動時のピーク様波形が確認できた。

下に陰極，左第 5-6 肋間と腋窩線上の交点に陽極，右肋骨下部にアースを接地して，サンプリング周波数 1 kHz で R-R 間隔を測定し，HR を算出した。

### 3) 心拍変動解析

HRV は，ノイズを除外し短時間データの分析に適しているリアルタイム心拍ゆらぎ解析器 Mem-calc/Tarawa (GMS 社製)<sup>17)</sup> を使用した。心電図 R-R 間隔の周波数解析は，MEM-Calc 法を用いて 2 秒間隔で分析し，Total Power (以下，TP)，低周波数帯域 (Low Frequency；以下，LF) 0.04 ~ 0.15 Hz および高周波数帯域 (High Frequency；以下，HF) 0.15 ~ 0.40 Hz のパワー値，LF を HF で除した値 (LF/HF) および R-R 間隔の変動係数 (Coefficient of Variance of R-R intervals；以下，CVRR) を算出した。HRV における自律神経活動の指標は，TP が自律神経の活動，LF 成分が心臓迷走神経と心臓血管交感神経の活動，HF 成分が迷走神経 (心臓副交感神経) 活動，LF/HF が交感神経活動と副交感神経活動のバランス，CVRR が迷走神経 (心臓副交感神経) 活動とされている。

### 4) 血圧の測定

血圧 (Blood Pressure；以下，BP) の測定は，小型生体情報モニタ LIFEMATE N OPV1510 (日本光電社製) を使用し，収縮期血圧 (Systolic BP；SBP) および

拡張期血圧 (Diastolic BP；以下，DBP) を記録した。

### 5) 押圧刺激の方法

CPS は，簡易式体圧・ズレ力同時測定器プレディア MEA (molten 社製) を使用し，T12-L2 脊椎棘突起の 3.5 cm 左側に圧力センサーを接着した。CPS は，指圧により末梢循環が影響を受ける圧力<sup>18)</sup> を基準に 50 mmHg とし，圧力センサーの頭側に示指，中央に中指，尾側に環指を置き押圧した。

### 6) 実験手順

実験は，午前 8 時から 12 時の間で行った。対象者には，覚醒を維持しながらメトロノームの音に合わせて呼吸，吸気を行い，呼吸数を毎分 12 回で行うよう指示した。そして，対象者が毎分 12 回で呼吸することを確認してから測定を開始した。測定開始後は，対象者が覚醒を維持し呼吸のリズムを維持していることを確認しながら実施した。測定手順は，10 分間の安静後に BS および BP を測定し，10 分間の CPS を開始した。CPS 終了後の安静 5 分および 10 分に BS および BP を測定した。

### 7) データ処理

すべてのデータは平均値 ± 標準誤差で表した。HR，HRV の TP，LF，HF，LF/HF および CVRR は，安静 10 分間のうち安静が終了するまでの 5 分間を CPS 前，CPS 後から安静 5 分間を CPS 後 5 分，CPS 後 5 分から

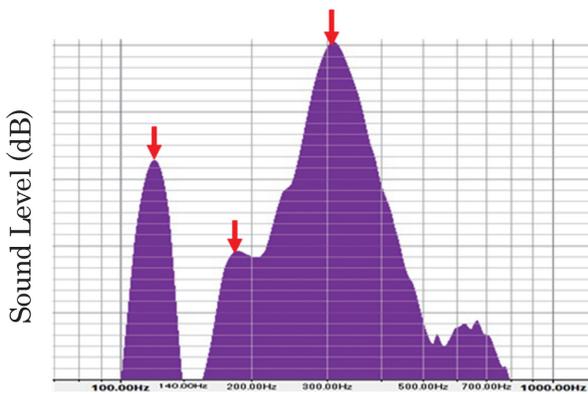


図3 腸蠕動音の周波数解析

腸蠕動音の解析は、高速フーリエ変換による周波数解析で分析した後、ピーク様波形の周波数帯の音圧を算出した。

10分までの5分間をCPS後10分とした。

聴診器で聴取したBSの特徴として、個人差が大きく、BSの解釈が主観的になりやすいことが指摘されている<sup>14)</sup>。そのため、BSの定量的に評価するため、高速フーリエ変換 (Fast Fourier Transfer; 以下、FFT) による周波数解析が用いられている<sup>14)</sup>。本研究におけるBSの分析は、音声録音編集ソフト audacity2.1.3 (audacity team) を使用し、FFTによる周波数解析を行った (図3)。FFTは、健康人のBSの周波数帯が100 Hzから530 Hzと報告されていることから<sup>14)</sup>、下限値を100 Hz、上限値を500 Hzとし、窓関数はHamming窓で1分間のデータを分析した<sup>15)</sup>。すべての対象者の周波数解析結果でピーク様波形を認めた周波数帯域での音圧を算出し、周波数帯域ごとの平均値を代表値とした。

#### 8) 統計解析

統計学的分析はSPSS statistics 25.0 (IBM社製) を使用した。正規性の確認は、Shapiro Wilk検定を用いて分析した。押圧前とCPS後5分およびCPS後10分の比較について、一元配置反復測定分散分析 (ANOVA) で解析し、有意差を認めた場合はFisher's PLSDによるpost-hoc testを行った。また、正規分布していない変数については、Friedman検定で有意差を認めた場合に、Bonferroni法によるpost-hoc testを行った。CPS開始時と終了時の圧力の比較は、対応のあるt検定を行った。有意水準は5%とした。

BSの変化に影響を与えた因子について、腸蠕動運動の生理学的機序をもとに仮説モデルを構築する。腸蠕動運動は、交感神経活動により抑制、副交感神経活動により増加し、上行結腸、横行結腸、下行結腸、S状結腸、直腸へ毎秒1 cmの速さで食物を移動させる<sup>9)</sup>。そのため、パス解析による仮説モデル作成において、CPS後10分のBS (BS10) に影響する因子を選択することを目的として、BS10の変化を従属変数とした重回帰分析を

行った。独立変数は、CPS後10分および5分のHR、TP、LF、HF、LF/HFおよびCVRRの変化に加え、腸蠕動運動が結腸から直腸へと伝播することからCPS後5分のBS (BS5) をステップワイズ法で投入した。また、自律神経の応答を介した腸蠕動運動の変化は、CPS後からBS5までの自律神経活動の変化が影響していることが予測される。そのため、BS5の変化に対する関連因子の分析では、CPS後5分のHR、TP、LF、HF、LF/HFおよびCVRRの変化をステップワイズ法で投入した。重回帰分析では、CPSによる反応の個人差を考慮し、CPS開始時と終了時の圧力変化量を制御変数とした。これらの重回帰分析で選択された変数を用いて仮説モデルを作成した。

仮説モデルの妥当性は、構造方程式モデリングのうちパス解析 (IBM社製、SPSS Amos Graphics) にて検証した。モデルの妥当性を評価する適合度判定は、CMIN ( $\chi^2$  値)、CMIN/DF、Good of Fitness Index (以下、GFI)、Comparative Fit Index (以下、CFI)、Root Mean Square Error of Approximation (以下、RMSEA)、Akaike Information Criterion (AIC) を用いた。各指標の判定基準として、CMINは、モデルが適合するという帰無仮説を分析するため、統計学的に有意でなくCMIN/DFが小さいほど適合度が高いモデル、GFIは0.900以上で1に近いほどよいモデル、CFIは1に近いほどよいモデルとされる。また、RMSEAは0.08以下であれば高い適合度であるが、0.1以上では採択すべきではないといった判断基準が示されている。

## 結 果

### 1. 押圧力

CPSの押圧力は、押圧開始時50 mmHgから押圧終了時に $33.8 \pm 2.1$  mmHgまで低下した ( $p < 0.001$ )。

### 2. 腸蠕動音 (表1)

BSは、ピーク様波形を認めた7帯域の音圧をCPS前とCPS後5分および10分で比較した。その結果、313 HzのBSにおいて $F(2,18) = 3.860$ と有意差を認め ( $p = 0.040$ ) 押圧前 $-76.7 \pm 4.9$  dBからCPS後10分 $-65.7 \pm 2.9$  dB ( $p = 0.049$ ) で有意に上昇した。

### 3. 自律神経活動の変化 (表2)

血圧は、DBPで $F(2,18) = 3.795$ と有意差を認め ( $p = 0.042$ )、押圧前 $65.0 \pm 3.7$  mmHgからCPS後5分 $69.0 \pm 3.5$  mmHg ( $p = 0.041$ ) で有意に上昇した。心拍数は、 $F(2,18) = 7.772$ と有意差を認め ( $p = 0.004$ )、押圧前 $71.3 \pm 2.8$  bpmから5分後 $67.4 \pm 2.8$  bpm ( $p = 0.002$ )、10分後 $67.5 \pm 2.7$  bpm ( $p = 0.022$ ) と有意に低下した。

表 1 CPS 後 5 分および 10 分の腸蠕動音の比較

	CPS 前	CPS 後 5 分	CPS 後 10 分	p-value
BS				
120 Hz (dB)	-72.9 ± 0.7	-72.5 ± 0.6	-73.4 ± 0.8	0.752
188 Hz (dB)	-69.1 ± 2.4	-68.4 ± 1.9	-68.4 ± 2.6	0.963
240 Hz (dB)	-76.0 ± 2.8	-72.6 ± 2.9	-73.4 ± 3.2	0.624
289 Hz (dB)	-76.2 ± 4.8	-68.1 ± 3.2	-67.0 ± 2.9	0.092
313 Hz (dB)	-76.7 ± 4.9	-67.8 ± 3.9	-65.7 ± 2.9*	0.040
369 Hz (dB)	-75.1 ± 2.7	-70.9 ± 2.0	-69.3 ± 2.5	0.109
419 Hz (dB)	-84.0 ± 3.6	-80.3 ± 3.1	-76.9 ± 2.6	0.164

平均値 ± 標準誤差, 一元配置反復測定分散分析, post-hoc test; Fisher's PLSD, \* : p < 0.05  
BS: Bowel Sound

表 2 CPS 後 5 分および 10 分の BP, HR および HRV の比較

	CPS 前	CPS 後 5 分	CPS 後 10 分	p-value
BP				
SBP(mmHg)	116.4 ± 5.3	120.7 ± 5.0	118.3 ± 3.7	0.107
DBP(mmHg)	65.0 ± 3.7	69.0 ± 3.5*	68.7 ± 3.2	0.042
HR(bpm)	71.3 ± 2.8	67.4 ± 2.8**	67.5 ± 2.7*	0.004
HRV				
TP( $\times 10^3 \text{msec}^2$ ) #	1.75 ± 0.52	3.06 ± 0.89**	2.74 ± 0.78**	0.008
LF( $\times 10^3 \text{msec}^2$ ) #	0.75 ± 0.23	1.71 ± 0.50**	1.71 ± 0.53**	0.002
HF( $\times 10^3 \text{msec}^2$ ) #	1.00 ± 0.34	1.35 ± 0.45	1.03 ± 0.27	0.061
LF/HF#	1.3 ± 0.3	2.0 ± 0.5	2.2 ± 0.4	0.121
CVRR(%)	5.2 ± 0.7	6.6 ± 0.9**	6.6 ± 0.8**	0.001

平均値 ± 標準誤差, 一元配置反復測定分散分析, post-hoc test; Fisher's PLSD

#Friedman test, post-hoc test; Bonferroni

\*, p < 0.05, \*\*, p < 0.01

SBP; Systolic Blood Pressure, DBP; Diastolic Blood Pressure

HR; Heart Rate, TP; Total Power, LF; Low Frequency, HF; High Frequency

心拍変動解析のうち Friedman 検定で有意差を認めたものは TP ( $p = 0.008$ ), LF ( $p = 0.002$ ) であった。Bonferroni 法による post-hoc test による比較では, TP は CPS 前  $1.75 \pm 0.52$  ( $\times 10^3 \text{msec}^2$ ) から CPS 後 5 分 (TP5) に  $3.06 \pm 0.89$  ( $\times 10^3 \text{msec}^2$ ) ( $p = 0.022$ ), CPS 後 10 分 (TP10)  $2.74 \pm 0.78$  ( $\times 10^3 \text{msec}^2$ ) ( $p = 0.022$ ) で有意に上昇し, LF は CPS 前  $0.75 \pm 0.23$  ( $\times 10^3 \text{msec}^2$ ) から CPS 後 5 分 (LF5)  $1.71 \pm 0.50$  ( $\times 10^3 \text{msec}^2$ ) ( $p = 0.011$ ), CPS 後 10 分 (LF10)  $1.71 \pm 0.53$  ( $\times 10^3 \text{msec}^2$ ) ( $p = 0.005$ ) で有意に上昇した。CVRR は, ANOVA で  $F(2,18) = 10.697$  と有意差を認め ( $p = 0.001$ ), CPS 前  $5.2 \pm 0.7\%$  から 5 分後  $6.6 \pm 0.9\%$  ( $p < 0.001$ ), 10 分後  $6.6 \pm 0.8\%$  ( $p < 0.001$ ) と有意に上昇した。

#### 4. BS 上昇の仮説モデルの検証 (図 4)

BS10 の関連因子は, BS5 が選択され ( $\beta = 0.841$ ,  $p = 0.002$ ), 調整済み  $R^2 = 0.670$  であった。BS5 の関連

因子は DBP5 ( $\beta = 0.824$ ,  $p = 0.004$ ) と LF/HF5 ( $\beta = -0.545$ ,  $p = 0.025$ ) が選択され調整済み  $R^2 = 0.688$  であった。また, 各変数間の多重共線性は認められなかった。仮説モデルは,  $\chi^2$  検定において帰無仮説が棄却された ( $\text{CMIN} = 1.214$ ,  $p = 0.750$ ,  $\text{CMIN}/\text{DF} = 0.405$ )。その他の適合度の指標は,  $\text{GFI} = 0.941$ ,  $\text{CFI} = 1.000$ ,  $\text{RMSEA} < 0.001$ ,  $\text{AIC} = 15.214$  と修正モデルの適合度は判定水準を満たし, すべてのパス係数は有意な関連を認めた。

#### 考 察

本研究では, 下腸間膜神経節がある T12-L2 棘突起左側の皮膚に CPS を用いて, 押圧部の圧力, BS および自律神経活動の変化を観察した。その結果, 腰背部への CPS 後の変化は, ①押圧部の圧力の低下, ②周波数 313 Hz での CPS 後 10 分の BS 上昇, ③ CPS 後 5 分の HR 低下, DBP 上昇, TP, LF, CVRR の上昇と CPS 後 10 分の HR

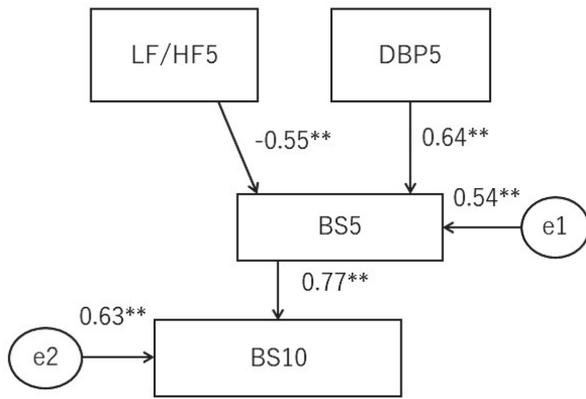


図4 仮説モデルのパス解析

LF/HF5: CPS後5分のLF/HF, DBP5: CPS後5分のDBP  
BS5: CPS後5分のBS, BS10: CPS後10分のBS  
\*\*:  $p < 0.01$

仮説モデルの適合度は判定基準を満たしており、すべてのパス係数が有意な関連性を示し、適合度の高いモデルとなった。

低下, TP, LF, CVRRの上昇であった。また, CPS後10分のBS上昇に対する影響は, CPS後5分のBSが直接的に影響し, LF/HF5とDBP5はBS5を介して間接的に影響した。

T12-L2の棘突起左側に対するCPS後のBSは, 周波数313 HzにおいてCPS後10分で有意に上昇した。BSに関する先行研究では, 健常人の腸蠕動音を電子聴診器で収録し, 周波数解析したところ最も主要な周波数が325 Hzであったと報告されており<sup>14)</sup>, 本研究で有意な上昇を認めた313 Hzと近似した値であった。また, 超音波診断装置による腸蠕動運動とBSを同時に測定した研究では, 腸管腔内で割れたガス胞の大きさがBSの周波数の高さと同相関係していたことが報告されている<sup>19)</sup>。そのため, 本研究で記録したBSは, 聴診器設置部位近傍である下行結腸遠位部からS状結腸の近傍で腸蠕動運動を反映していると推察する。

CPSの圧力は, 10分後に低下した。皮膚の圧力が変化する因子として, 皮膚の緊張および皮下末梢循環の変化が挙げられる。CPSによる圧力と変位は, 速順応受容器(以下, FA)と遅順応受容器(以下, SA)により受容される。ヒトの手背部皮膚を押圧時の機械受容器求心性神経活動を検討した研究では, 皮膚にひずみが生じている場合, FAとSAが発火し, ひずみ変位が停止した後はSAのみで発火が持続することが報告されている<sup>20)</sup>。また, SAの神経活動は, 電気的および機械的刺激に対して非侵襲性の強度でも発射活動を認められ<sup>21)</sup>, 皮膚の変位に依存することが報告されている<sup>22)</sup>。皮膚の感覚ニューロンの発火頻度は刺激強度に応じて増加することから<sup>23)</sup>, SAの発火が消失した順応後は, 皮膚の緊張が低下すると考えられる。また, 体表から生体組織硬度を測定した先行研究では, 生体組織硬度が末梢循環

血流の変化と相関すると報告されており<sup>24)</sup>, 押圧による末梢循環血流の変化が影響した可能性も考えられる。ヒトの指腹に圧迫刺激した際の皮膚血流の増加は, FAの発火と負の相関, SAの発火と正の相関があることから, 機械受容器の応答に伴う交感神経活動の変化により血管運動が誘発された可能性が指摘されている<sup>25)</sup>。これらのことから, 本研究におけるCPS後の圧力低下は, FAの放電減少による押圧部皮膚の緊張低下とSAの放電増加による末梢静脈循環が増加により引き起こされたと考えられる。

CPS後の変化としてHRの低下, DBPの上昇, HRVではTP, LF, LF/HFおよびCVRRの上昇を認めた。抑制性の体性交感神経反射についての動物実験では, まず脊髄レベルの変化として, 新生児ラットの胸腰髄スライスに対して後根求心性神経を刺激すると, 逆行性に交感神経節前ニューロンの抑制性シナプス後電位が誘発されることが報告されている<sup>26)</sup>。そして, 中枢レベルでは, 麻酔下ウサギで同定された延髄腹外側野の心臓血管の圧感覚ニューロンにおける自発的活動が, III群とIV群皮膚求心性線維の刺激によって抑制されることが報告されている<sup>27)</sup>。さらに, 麻酔下ラットへの皮膚刺激について, 柔らかいエラストマーの微小突起ではC反射が最大40%抑制され<sup>28)</sup>, 温熱棒によるマッサージ様刺激が心拍数および血圧を低下させることが報告されている<sup>29)</sup>。これらの報告は, C反射を誘発する皮膚への体性感覚刺激が, 脊髄と延髄領域で交感神経活動を抑制し, 末梢効果器に波及することを示唆している。ヒトを対象とした研究では, 他動的な関節運動による機械受容器への刺激が交感神経と副交感神経活動のバランスに影響を及ぼし<sup>30)</sup>, 脊柱へのマニピュレーション後の交感神経皮膚反応の低下<sup>31)</sup>, 背部への軽擦後にHRと交感神経活動の低下<sup>32)</sup>が報告されている。したがって, 本研究におけるCPSは, 自律神経活動全体を高めるとともに抑制性の体性交感神経反射が相対的な副交感神経活動を誘発し, 末梢血管の拡張によりHRが低下し, DBPが上昇したと考える。また, HRVは, 呼吸回数の影響により心臓迷走神経活動とは無関係に心拍数変動する呼吸性洞性不整脈の存在が知られている<sup>33)</sup>。そのため, 心臓迷走神経活動を評価する研究では, 呼吸パラメータを制御するか, 評価指標を呼吸パラメータで統計的に調整することが推奨されている<sup>34)</sup>。本研究では呼吸数を12回, すなわちHFの周波数帯域内(0.15~0.40 Hz)となる0.2 Hzに設定した。その結果, CPS後のHFは変化がなかったことから, Mayer波の周期変動(0.15 Hz)により規定されているLF(0.04~0.15 Hz)に対して, 呼吸による心拍変動の影響を制御できたと推察する。

CPSがBSを上昇させるモデルについて, 重回帰分析により関連因子の選択を行った後, 仮説モデルを構築し

て適合度を検証した。その結果、BSの上昇にはCPS後5分でのLF/HFとDBPが影響した。腸蠕動運動は、交感神経と副交感神経の相反的なバランスと2層の平滑筋層の間にある壁内神経叢を介して調節されている<sup>8)</sup>。自律神経の刺激は、壁内神経叢を介して腸蠕動運動に影響し、交感神経の刺激は腸蠕動運動を抑制し、副交感神経活動は腸蠕動運動を増加させる<sup>35)</sup>ことから、LF/HFの変化がBSに関連した因子として選択されたと考えられる。体性感覚刺激が腸蠕動運動に与える影響について、ラットに体性感覚刺激を行った場合は結腸直腸膨満反応に反応するニューロンの応答が減少したことから、体性内臓反射の相互作用は薄束核に至るまでの後索-内側毛体路における複数のレベルで行われていることが示唆されている<sup>36)</sup>。ヒトを対象とした研究では、経皮的電気刺激による体性感覚刺激が腸膨満感の知覚を低下させることが報告されている<sup>37)</sup>。さらに、大腸の血管収縮を引き起こす交感神経節後線維は、血管平滑筋を直接支配しているため、腸管への循環動態が腸蠕動運動に影響する可能性がある。ラットによる先行研究において、腸蠕動運動時には腸間膜動脈血圧が上昇し<sup>38)</sup>、左側結腸への栄養血管である辺縁動脈を結紮すると、腸蠕動運動が低下することが報告されている<sup>39)</sup>。これらのことから、CPS後10分のBSの上昇は、CPS後5分のBSが直接的に影響し、CPSによる自律神経活動のバランスの変化と末梢循環の変化によるDBPの増加がCPS後5分のBSを介して間接的に影響していることが示唆された。

## 結 論

本研究の結果、T12-L2棘突起左外側皮膚へのCPSは、副交感神経活動の上昇と末梢循環血流の増加により、下行結腸遠位部からS状結腸近傍の腸蠕動運動を誘発することが示唆された。しかし、本研究では健常若年男性CPSが腸蠕動運動の指標となる帯域での音圧を上昇させることが示唆されたにすぎない。今後の課題として、コントロール条件の設定、性別、刺激部位、刺激強度、刺激時間の検討に加え、対象者の生活状況や排泄習慣など排泄機能に影響を及ぼす関連因子についても検討する必要がある。

## 利益相反

すべての著者は、開示すべき利益相反はない。

本論文の要旨の一部は第71回日本自律神経学会(2018年10月26日、於埼玉)で発表した。

## 文 献

- 1) 日本消化器病学会関連研究会 慢性便秘の診断・治療研究会(編):慢性便秘症診療ガイドライン2017. 東京, 南江堂, pp 60-61, 66-70, 2017
- 2) Su Y, Zhang X, Zeng J, Pei Z, Cheung RTF, Zhou QP, Ling L, Yu J, Tan J, Zhang Z: New-onset constipation at acute stage after first stroke: incidence, risk factors, and impact on the stroke outcome. *Stroke* 40: 1304-1309, 2009
- 3) Christie J, Shroff S, Shahnavaz N, Carter AL, Harrison MS, Dietz-Lindo KA, Hanfelt J, Srinivasan S: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial to Examine the Effectiveness of Lubiprostone on Constipation Symptoms and Colon Transit Time in Diabetic Patients. *Am J Gastroenterol* 112: 356-364, 2017
- 4) 木下芳一, 東海林真吾, 林 俊宏, 奥村広之: 慢性便秘が日本人の健康関連 quality of life および労働生産性に与える影響の検討. *日本消化器病学会雑誌* 6: 504-513, 2020
- 5) 片桐美和, 長尾二郎, 中村陽一: 術後イレウス. *外科治療* 104: 238-242, 2011
- 6) Lämås K, Lindholm L, Stenlund H, Engström B, Jacobsson C: Effects of abdominal massage in management of constipation — a randomized controlled trial. *Int J Nurs Stud* 46: 759-767, 2009
- 7) Gortazar de Las Casas S, Rubio-Pérez I, Saavedra Ambrosy J, Sancho de Avila A, Álvarez-Gallego M, Marijuan Martín JL, Pascual Miguelañez I: Sacral nerve stimulation for constipation: long-term outcomes. *Tech Coloproctol* 23: 559-564, 2019
- 8) Maeda Y, Kamm MA, Vaizy CJ, Matzel KE, Johansson C, Rosen H, Baeten CG, Laurberg S: Long-term outcome of sacral neuromodulation for chronic refractory constipation. *Tech Coloproctol* 21: 277-286, 2017
- 9) 鈴木郁子: やさしい自律神経生理学 命を支える仕組み. 東京, 中外医学社, pp 48-52, 75, 127-131, 2015
- 10) 岡真一郎, 中元 唯, 池田拓郎, 光武 翼, 濱地 望: 健常成人男性の胸背部に対する持続的圧迫刺激が軟部組織硬度, 自律神経活動および手指皮膚温に与える影響. *徒手理学療法* 17: 45-49, 2017
- 11) 伊藤樹史: 痛みの逆探知—新デルマトームの作成と応用, ツボとの関係 古代人はツボに触れ神経や内臓に想いを巡らしていた 一本の帯から全てが見えてくる. *Comprehensive Medicine* 13: 25-38, 2014.
- 12) 下津浦宏之, 井上聖啓: デルマトーム図. *Spinal Surgery* 26: 147-161, 2012
- 13) Ching SS, Tan YK: Spectral analysis of bowel sounds in intestinal obstruction using an electronic stethoscope. *World J Gastroenterol* 18: 4585-4592, 2012
- 14) Allwood G, Du X, Webberley KM, Osseiran A, Marshall BJ: Advances in Acoustic Signal Processing Techniques for Enhanced Bowel Sound Analysis. *IEEE Rev Biomed Eng* 12: 240-253, 2019
- 15) Kano M, Yoshizawa M, Kono K, Muratsubaki T, Morishita J, Oudenhove LV, Yagihashi M, Mugikura S, Dupont P, Takase K, Kanazawa M, Fukudo S: Parasympathetic activity correlates with subjective and brain responses to rectal distension in healthy subjects but not in non-constipated patients with irritable bowel syndrome. *Sci Rep* 14: 7358, 2019
- 16) Brock C, Søfteland E, Gunterberg V, Frøkjær JB, Lelic D, Brock B, Dimcevski G, Gregersen H, Simrén M, Drewes AM: Diabetic autonomic neuropathy affects symptom generation and brain-gut axis. *Diabetes Care* 36: 3698-3705, 2013
- 17) 丹波文俊, 栗山長門: 自律神経検査法 第5版. 日本自律神経学会(編). 東京, 文光堂, pp 185-189, 2015
- 18) Hsiu H, Hsu WC, Chen BH, Hsu CL: Differences in the Microcirculatory Effects of Local Skin Surface Contact Pressure Stimulation Between Acupoints and Nonacupoints:

1) 日本消化器病学会関連研究会 慢性便秘の診断・治療研究会(編):慢性便秘症診療ガイドライン2017. 東京, 南江

- Possible Relevance to Acupressure. *Clinical Trial Physiol Meas* 31: 829-841, 2010
- 19) Liu CJ, Huang SC, Chen HI: Oscillating gas bubbles as the origin of bowel sounds: a combined acoustic and imaging study. *Chin J Physiol* 53: 245-254, 2010
  - 20) Edin BB: Quantitative Analyses of Dynamic Strain Sensitivity in Human Skin Mechanoreceptors. *J Neurophysiol* 92: 3233-3243, 2004
  - 21) Abraira VE, Ginty DD: The sensory neurons of touch. *Neuron* 79: 618-639, 2013
  - 22) Wang Y, Marshall KL, Baba Y, Lumpkin EA, Gerling GJ: Natural Variation in Skin Thickness Argues for Mechanical Stimulus Control by Force Instead of Displacement. *Joint Eurohaptics Conf Symp Haptic Interfaces Virtual Environ Teleoper Syst* 645-650, 2013
  - 23) Grander EP, Johnson KO: カンデル神経科学 5ed. In: Kandel ER, Schwartz JH, *et al.* (eds): 感覚の符号化. 東京, メディカル・サイエンス・インターナショナル, pp 446-447, 2014
  - 24) Okudera Y, Matsunaga T, Sato M, Chida S, Hatakeyama K, Watanabe M, Shimada Y: The Impact of High-Frequency Magnetic Stimulation of Peripheral Nerves: Muscle Hardness, Venous Blood Flow, and Motor Function of Upper Extremity in Healthy Subjects. *Biomed Res* 36: 81-87, 2015
  - 25) Elam M, Macefield VG: Does Sympathetic Nerve Discharge Affect the Firing of Myelinated Cutaneous Afferents in Humans? *Auton Neurosci* 111: 116-126, 2004
  - 26) Dun NJ, Mo N: Inhibitory postsynaptic potentials in neonatal rat sympathetic preganglionic neurones in vitro. *J Physiol* 410: 267-281, 1989
  - 27) Terui N, Saeki Y, M Kumada: Confluence of barosensory and nonbarosensory inputs at neurons in the ventrolateral medulla in rabbits. *Can J Physiol Pharmacol* 65: 1584-1590, 1987
  - 28) Hotta H, Schmidt RF, Uchida S, Watanabe N: Gentle mechanical skin stimulation inhibits the somatocardiac sympathetic C-reflex elicited by excitation of unmyelinated C-afferent fibers. *Eur J Pain* 14: 806-813, 2010
  - 29) 藤田和花子, 下重里江, 江幡芳枝, 黒澤美枝子: 温熱棒を用いたマッサージ様皮膚刺激によるラットの動脈圧・心拍数反応とその機序—イトオテルミー療法効果の基礎検討—. *自律神経* 55: 38-45, 2018
  - 30) De Meersman RE, Zion AS, Weir JP, Lieberman JS, Downey JA: Mechanoreceptors and autonomic responses to overment in humans. *Clin Auton Res* 8: 201-205, 1998
  - 31) Desmarais A, Descarreaux M, Houle S, Piché M: Tuning the gain of somato-sympathetic reflexes by stimulation of the thoracic spine in humans. *Neurosci Lett* 490: 107-111, 2011
  - 32) 半田直子, 下重里江, 目黒和子, 黒澤美枝子: 若年健常女性における背部への軽擦に温熱刺激が心拍数に及ぼす影響とその自律神経機序. *自律神経* 56: 175-184, 2019
  - 33) Hayano J, Mukai S, Sakakibara M, Okada A, Takata K, Fujinami T: Effects of respiratory interval on vagal modulation of heart rate. *Am J Phys* 267(1 Pt 2): H33-H40, 1994
  - 34) Hayano J, Yuda E: Pitfalls of assessment of autonomic function by heart rate variability. *J Physiol Anthropol* 38: 3, 2019
  - 35) Hu X, Yuan M, Yin Y, Wang Y, Li Y, Zhang N, Sun X, Yu Z, Xu B: Electroacupuncture at LI11 promotes jejunal motility via the parasympathetic pathway. *BMC Complement Altern Med* 17: 329-339, 2017
  - 36) Rong PJ, Zhang JL, Zhang HQ: Interactions between tactile and noxious visceral inputs in rat nucleus gracilis. *Neurosci Lett* 362: 162-165, 2004
  - 37) Coffin B, Azpiroz F, Malagelada JR: Somatic stimulation reduces perception of gut distention in humans. *Gastroenterology* 107: 1636-1642, 1994
  - 38) Humenick A, Chen BN, Wiklendt L, Spencer NJ, Zagorodnyuk VP, Dinning PG, Costa M, Brookes SJH: Activation of intestinal spinal afferent endings by changes in intra-mesenteric arterial pressure. *J Physiol* 593: 3693-3709, 2015
  - 39) Seo Y, Satake Y, Kaminaga N, Fujita R: Significance of Measurement of Mucosal Blood Flow in Experimental Colonic Ischemia in Rats. *Showa Univ J Med Sci* 11: 231-237, 1999

## Factors Associated with the Effects of Continuous Pressure Stimulus to the Lower Back in the Autonomic Nerve Activity and Bowel Sounds

Shinichiro Oka,<sup>1\*</sup> Rei Shingo,<sup>2</sup> Nozomi Hamachi,<sup>1</sup> Takuro Ikeda,<sup>3</sup> Tsubasa Mitsutake<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Physical Therapy, School of Health Sciences at Fukuoka, International University of Health and Welfare

<sup>2</sup> Department of Rehabilitation, Takagi Hospital

<sup>3</sup> Department of Physical Therapy, Fukuoka International University of Health and Welfare

We investigated the autonomic nerve activity affecting changes in bowel sounds (BS) after continuous pressure stimulation (CPS) of the lumbar region. The subjects were ten healthy young adult men. Recordings of BS were acquired from each subject using a stethoscope positioned on the left lower abdomen before and 5, 10 minutes after CPS. CPS was applied to 3.5 cm lateral from the Th12 to L2 spinous processes at 50 mmHg for 10 minutes. We then calculated the BS pressure level. Heart rate variability was also assessed using RR interval of electrocardiogram. Circulatory dynamics were measured based on blood pressure (BP). We revealed that BS power of 313 Hz increased 10 minutes after CPS was applied (BS10). The BS of 313 Hz was increased after 10 minutes in CPS. The changes in BS at 10 min after CPS directly and indirectly affected the changes in BS, LF/HF, and DBP at 5 min after CPS (CMIN = 1.214,  $p = 0.750$ , GFI = 0.941, RMSEA < 0.001). These results suggest that CPS induces intestinal peristalsis which would be effected to increased cardiac parasympathetic nerve activity and peripheral artery circulation.

**Key words:** Intestinal peristalsis, Continuous pressure stimulus, Autonomic nerve, Somato-autonomic reflex, Constipation

---

\* Department of Physical Therapy, School of Health Sciences at Fukuoka, International University of Health and Welfare  
137-1, Enokizu, Okawa-shi, Fukuoka 831-8501, Japan  
E-mail: s.oka@iuhw.ac.jp

原 著

## 3次元相同モデルを用いた現代日本人における 肩甲骨形態変異の解明\*

時田 諒<sup>1) #</sup> 佐藤尚輝<sup>2)</sup> 谷尻豊寿<sup>3)</sup> 戸田 創<sup>4)</sup>

### 要旨

3次元相同モデルを用いて現代日本人における肩甲骨全体形状のバリエーションの抽出を試みた。全頂点の3次元座標に対する主成分分析の結果、第1から第5主成分までで累積寄与率が約50%となった。第1主成分は、肩甲骨体部の彎曲が強まるにつれて、関節窩や烏口突起の前方への傾きが強まる成分であった。第2主成分は、肩甲骨体部が頭尾方向に長くなるにつれて、棘上窩に対する棘下窩の面積が大きくなる成分であった。第3主成分は、肩峰の前傾に伴い棘上窩の幅が小さくなる成分であった。第4主成分は、肩峰が外側に張り出すにつれて棘上窩の幅が大きくなる成分であった。第5主成分は、肩甲骨から肩峰にかけての前傾に関する成分であった。肩甲骨には多くのバリエーションが存在し、全体形状を包括的に解析する重要性が示唆された。今後は同手法を用いることで、肩甲骨全体形状と肩関節疾患の関連性の解明などが期待できる。

キーワード 肩甲骨, 3次元相同モデル, 形態変異, 表面形状, 現代日本人

### 緒 言

霊長類から現生人類への進化の過程において、生存に有利な形質が残される淘汰圧のもと、骨格形態は様々な変異を遂げた。肩甲骨形態の変異もその1つであり、四足歩行や樹上性の霊長類と比較した場合、ヒトの肩甲骨は関節窩が側方を向き、肩甲骨の上角上端と下角下端を結んだ線に対して肩甲骨がほぼ垂直に交わり、棘上窩に対して棘下窩の面積が大きく発達している<sup>1)</sup>(図1)。こうした肩甲骨形態の変異は、常習的な直立二足歩行の獲得に伴い、投擲動作などに上肢を使用するようになった結果と考察されている<sup>2)3)</sup>。このように人類進化の歴史において、肩甲骨形態は上肢機能に適応するように変

異し(“Form follows function”), またその変異は肩甲骨全体形状に生じている。

一方、現生人類を対象とした肩甲骨形態の調査では、肩関節疾患のリスク因子となり得る形態が多く報告されている。関節窩の上方への傾きと肩峰の外側への張り出しの程度を反映したCritical shoulder angle(以下, CSA)は、肩腱板断裂の発生にかかわる肩甲骨形態を表した指標として考案され、CSAが大きいほど肩腱板断裂が発生しやすいとする報告がある<sup>4)</sup>。彼らは、CSAが大きいほど上腕骨頭が上方偏位しやすく、肩峰下インピンジメントが生じることで肩腱板断裂が発生すると考察している。このように、特定の肩甲骨形態が関節運動をはじめとした肩関節機能に影響を及ぼし、器質的な破綻が生じることで肩関節疾患が発症することは、肩関節機能が肩甲骨形態の影響を受けている一例と考える(“Function follows form”)。肩甲骨形態と肩関節疾患における同様の関連性は、他の指標でも報告されている<sup>5)6)</sup>。

以上のように肩甲骨形態と肩関節機能は相互にかかわり合っていることから、肩関節に対して理学療法を行う場合、個々の肩甲骨形態による影響を考慮した機能的介入を行うべきであると我々は考えている。肩甲骨形態の特徴を捉える簡便な方法としてCSAをはじめとした様々な指標があるが、肩関節疾患の関連性について否定

\* Morphological Variation of Modern Japanese Scapula Described using 3D Homologous Modeling Method

1) 札幌医科大学大学院保健医療学研究科  
(〒060-8556 北海道札幌市中央区南1条西17丁目)  
Ryo Tokita, PT, MSc: Graduate School of Health Sciences, Sapporo Medical University (South 1, West 17, Chuo-ku, Sapporo-shi, Hokkaido 060-8556, Japan)

2) 札幌清田整形外科病院リハビリテーション科  
Naoki Sato, PT: Department of Rehabilitation, Sapporo Kiyota Orthopedic Hospital

3) 株式会社メディックエンジニアリング  
Toyohisa Tanijiri: Medic Engineering Inc.

4) 札幌医科大学保健医療学部理学療法第二講座  
Hajime Toda, PT, PhD: Second Division of Physical Therapy, School of Health Sciences, Sapporo Medical University

# E-mail: tokita@sapmed.ac.jp  
(受付日 2021年8月6日/受理日 2021年10月22日)  
[J-STAGEでの早期公開日 2022年2月5日]

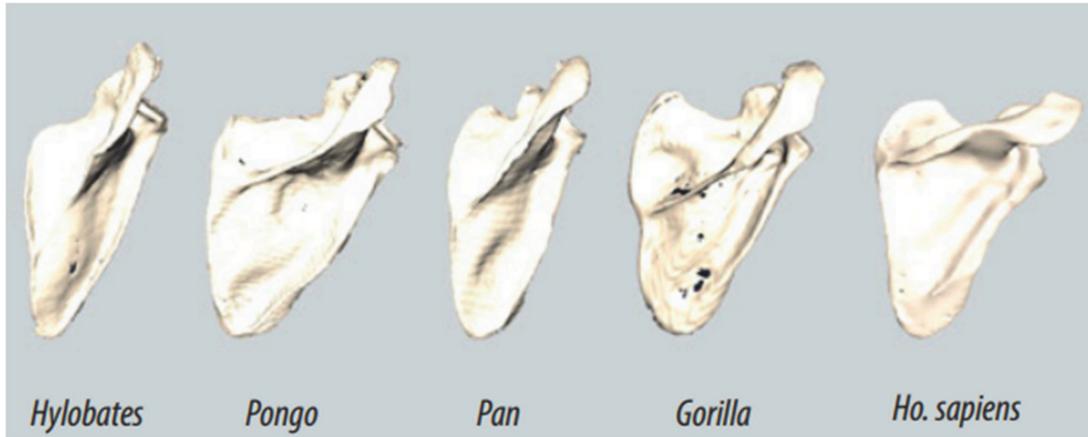


図1 高等霊長類の肩甲骨形状（背側）

ヒトの肩甲骨は、他の種と比較して関節窩が外側を向き、肩甲棘が肩甲骨の上角上端と下角下端を結んだ線に対して垂直に交わっている。また、棘上窩に対して棘下窩の面積が大きく発達している。Proc Natl Acad Sci USA より許諾を得たうえで、Young NM, *et al.* (2015) より転載。

的な報告<sup>7-9)</sup>が散見され、十分なコンセンサスが得られている指標はない。従来の報告<sup>4-9)</sup>は、関節窩、肩峰、烏口突起などの部分形状の検討に留まっているが、人類進化の過程で機能適応が肩甲骨全体形状に生じたことを踏まえると、現生人類における肩甲骨のバリエーションもまた肩甲骨全体形状に表れている可能性がある。しかし、これまでに肩甲骨全体形状を3次的に解析した報告は限られ<sup>10)</sup>、全体形状のバリエーションに関する知見は不足している。

近年、共通のランドマークに基づいて物体の3次元形状データを標準化する「相同モデル」という手法が考案された<sup>11)</sup>。任意のランドマークをもとに、同一のテンプレートを各対象にそれぞれフィッティングし、全対象の表面形状を同一数で対応関係のある頂点に再構成することで、対象の3次的な全体形状に対して統計処理を行うことが可能になった。

肩甲骨形態の解析に相同モデルを応用した報告はないが、下顎骨<sup>12)</sup>や骨盤<sup>13)</sup>などの複雑な骨形態の解析に応用した報告があり、肩甲骨への応用も十分可能であると想定できる。本研究の目的は、相同モデルを用いて現代日本人の肩甲骨全体形状の解析を行い、そのバリエーションを捉えることである。本研究は、様々な肩関節疾患における新たな形態学的特徴の解明や、肩甲骨形態を考慮したオーダーメイドの理学療法を展開するための基礎情報を提供する。

## 対象と方法

札幌医科大学に保管されている骨標本のうち、現代日本人の右肩甲骨59体を使用した。1900年代後半に献体された骨標本であり、性別および既往歴等は不明である。著しい骨変形の認められる個体は除外した。

## 1. 3次元データの収集

3次元スキャナ Einscan-Pro（スキャン精度 0.05 mm, SHINING 3D, 中国）を用いて全ての肩甲骨をスキャンし、表面形状のポリゴンデータを取得した。各3次元データをSTL形式で保存した（以下、スキャンデータ）。

## 2. 相同モデルの作成

相同モデル化支援ソフトウェア HBM-Rugle（Medic Engineering, 日本）および mHBM（Medic Engineering, 日本）を使用。肩甲棘三角のうち内側縁上の最内側点（以下、肩甲棘基部）が原点、肩甲棘基部と関節窩中央を結ぶ直線がX軸、肩甲棘基部、関節窩中央、下角の3点がXY平面を通るように各スキャンデータの座標系（以下、肩甲骨座標系）を設定した（図2）。肩甲骨座標系において、XY平面を肩甲骨における前額面（以下、肩甲骨前額面）、YZ平面を肩甲骨における矢状面（以下、肩甲骨矢状面）、XZ平面を肩甲骨における水平面（以下、肩甲骨水平面）とした。

テンプレートには、4,458頂点で構成された肩甲骨3次元モデルを使用。任意の28点のランドマーク（図3）をテンプレートデータと各スキャンデータにそれぞれ打点した。その後、相同モデルの精度を高めるため、テンプレートデータ、スキャンデータのランドマークを使用し、各ランドマーク間における直線距離の2乗の総和が最小となるように、テンプレートデータのサイズと姿勢を調整した。最後に、サイズと姿勢調整後のテンプレートデータとそのランドマーク、スキャンデータとそのランドマークを使用して、各スキャンデータにフィットするようにテンプレートデータを変形させた。

## 3. 相同モデルの精度検証

同一個体のスキャンデータと相同モデルを重ね合わせ

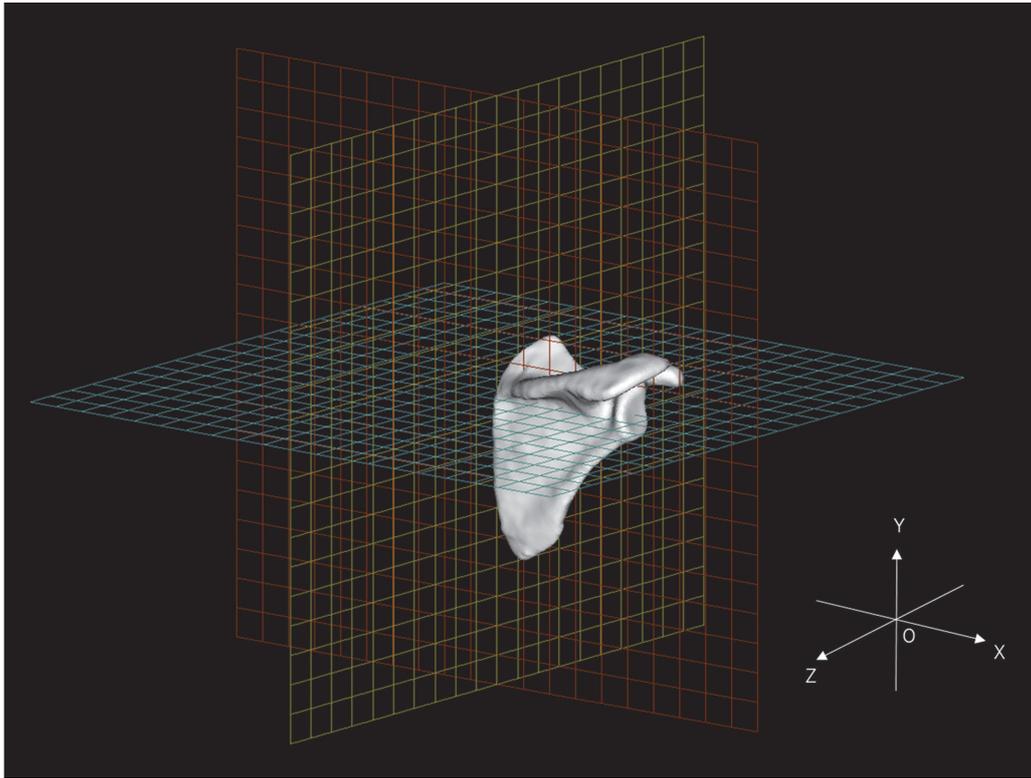


図 2 設定した肩甲骨の座標系 (肩甲骨座標系)

肩甲棘三角のうち内側縁上の最内側点 (肩甲棘基部) が原点, 肩甲棘基部と関節窩中央を結ぶ直線が X 軸, 肩甲棘基部, 関節窩中央, 下角の 3 点が XY 平面を通るように座標系を設定した. 赤色の平面が肩甲骨前額面, 黄色の平面が肩甲骨矢状面, 青色の平面が肩甲骨水平面を示す.

No.	定義
1	肩甲骨座標系において, 関節窩辺線の最上方点
2	関節窩辺線において, No1から最も遠い点
3	No1とNo2を結んだ直線の垂線と関節窩前縁の交点のうち, No1とNo2を結んだ直線から最も遠い点
4	No1とNo2を結んだ直線の垂線と関節窩後縁の交点のうち, No1とNo2を結んだ直線から最も遠い点
5	肩甲骨座標系において, 肩峰の最前方点
6	肩甲骨座標系において, 肩峰の最後方点
7	肩甲骨座標系において, 肩峰の最外側点
8	肩峰下面におけるNo.5とNo.6の midpoint
9	肩甲棘三角のうち内側縁上の最内側点 (肩甲棘基部)
10	肩甲骨座標系において, 烏口突起の最下方点
11	肩甲骨座標系において, 下角の最下方点
12	肩甲骨座標系において, 上角の最上方点
13	棘窩切痕の最凹点
14	肩甲切痕の最凹点
15	棘上窩において, No.9とNo.13の midpoint
16	外側縁上におけるNo.2とNo.11の midpoint
17	内側縁上におけるNo.9とNo.11の midpoint
18	肩甲棘背側辺線上におけるNo.6とNo.9の midpoint
19	外側縁上におけるNo.2とNo.16の midpoint
20	外側縁上におけるNo.11とNo.16の midpoint
21	内側縁上におけるNo.11とNo.17の midpoint
22	内側縁上におけるNo.9とNo.17の midpoint
23	内側縁上におけるNo.9とNo.12の midpoint
24	上縁上におけるNo.12とNo.14の midpoint
25	肩甲棘背側辺線上におけるNo.9とNo.18の midpoint
26	肩甲棘背側辺線上におけるNo.6とNo.18の midpoint
27	棘下窩において, No.16とNo.22を結んだ直線とNo.17とNo.19を結んだ直線の交点
28	肩甲下窩において, No.16とNo.22を結んだ直線とNo.17とNo.19を結んだ直線の交点

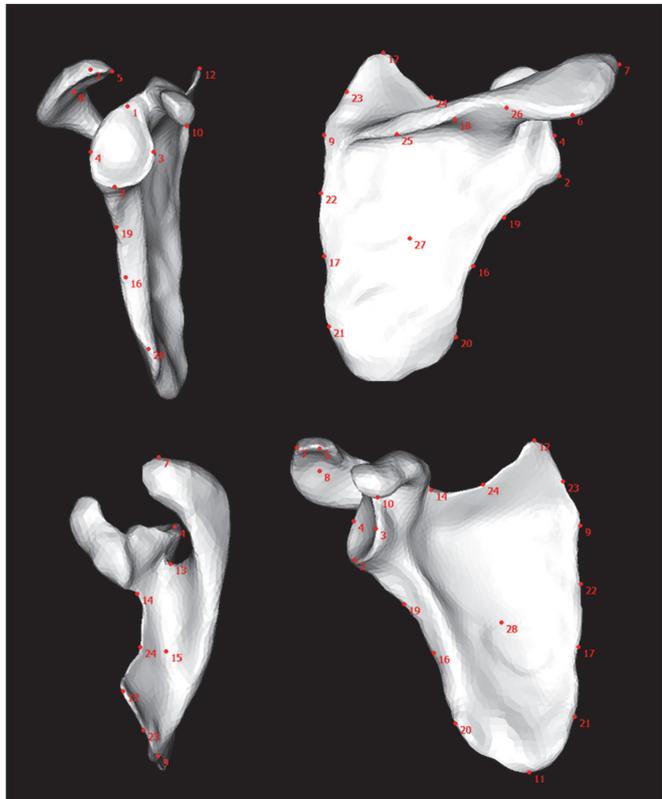


図 3 肩甲骨に設定した任意のランドマーク 28 点の定義と位置

相同モデルを作成する際のランドマークの定義と打点する位置を示す. 棘窩切痕: 棘上窩の外側に位置し, 関節窩と肩甲棘の間にある切痕.

たとき、相同モデル化後のそれぞれの頂点から、スキャンデータの頂点のうち最近傍点までの直線距離を計測し、全頂点の平均をとった数値を平均面間距離と言う。平均面間距離が小さいほど、スキャンデータから相同モデルを作成する過程で起こり得る形状の変化が小さく、相同モデルの精度が高いことを意味する。本研究ではHBM-Rugleを使用して各相同モデルの平均面間距離を計算し、全ての相同モデルにおける平均面間距離の平均と標準偏差を算出した。

#### 4. サイズと姿勢の正規化

主成分分析を行う際、全体のサイズや姿勢に関する主成分が抽出されないように、全ての相同モデルを対象に以下の手順でサイズと姿勢の正規化を行った。

まず、相同モデル化後の各頂点の座標をもとに平均形状を作成した。平均形状と各相同モデルにおける重心から各頂点までの距離の総和を算出し、各相同モデルに対する平均形状の比率を求めた。この比率を各相同モデルに乗じることで、全ての相同モデルのサイズを正規化した。その後、平均形状とサイズ正規化後の各相同モデルを対象に、各頂点間における距離の2乗の総和が最小となるように各相同モデルの姿勢を調整した。

#### 5. 統計学的処理

相同モデルでは、対象物の全頂点の3次元座標 (X, Y, Z) のそれぞれを変数として考え、これに対して主成分分析を行う。算出された各主成分得点は新たに全体形状の特徴を表す変数となる。加えて、主成分分析により算出される固有ベクトルと主成分得点から、X, Y, Z座標が計算できる。これにより各主成分における任意の主成分得点の仮想形状が作成できるため、各主成分の表す形態変異を視覚的に解釈可能となる。

本研究では、統計ソフトウェア Human Body Statistica (HBS, 産業技術総合研究所, 日本) を使用し、サイズと姿勢を正規化した全ての相同モデルにおける全頂点の3次元座標に対し、主成分分析を実施した。各主成分における主成分得点の-3SDから+3SDまでの仮想形状を元に、各主成分の表す形態変異を解釈した。

#### 結 果

平均面間距離は、平均0.28 mm (標準偏差:  $\pm 0.03$  mm) であった。主成分分析の結果を表1に示す。第20主成分までが抽出され (累積寄与率84.6%)、第1主成分から第5主成分で累積寄与率は約50%となった。これらの主成分における主成分得点の-3SDから+3SDの仮想形状をそれぞれ図4から図8に示す。

第1主成分は、肩甲骨体部の肩甲骨矢状面における後彎が大きくなるほど、肩甲骨矢状面における関節窩や烏

表1 現代日本人男性の肩甲骨相同モデル4,458頂点座標に対する主成分分析の結果 (サンプル数 n=59)

PC	固有値	寄与率 (%)	累積寄与率 (%)
1	2,116.2	15.8	15.8
2	1,511.4	11.3	27.1
3	1,196.2	8.9	36.1
4	965.1	7.2	43.3
5	817.2	6.1	49.4
6	659.6	4.9	54.3
7	600.7	4.5	58.8
8	497.0	3.7	62.5
9	427.6	3.2	65.7
10	401.6	3.0	68.7
11	322.4	2.4	71.1
12	274.0	2.0	73.2
13	237.1	1.8	75.0
14	226.4	1.7	76.7
15	211.4	1.6	78.2
16	202.0	1.5	79.8
17	181.6	1.4	81.1
18	166.9	1.2	82.4
19	154.5	1.2	83.5
20	142.2	1.1	84.6
Total	13,374	84.6	

PC: 主成分。全頂点の3次元座標に対する主成分分析の結果、20の主成分が抽出された (累積寄与率84.6%)。

口突起の前方への傾きが大きくなる成分であった (図4)。第2主成分は、肩甲骨体部が頭尾側方向に長いほど、棘上窩に対する棘下窩の面積が大きくなる成分であった (図5)。第3主成分は、肩甲骨矢状面における肩峰の前傾に伴い、棘上窩の幅が小さくなる成分であった (図6)。第4主成分は、肩峰が外側に張り出すにつれて棘上窩の幅が大きくなる成分であった (図7)。第5主成分は、肩甲骨から肩峰にかけての前傾に関する成分であった (図8)。

#### 考 察

本研究は、現代日本人の肩甲骨全体形状の解析に相同モデルを応用した最初の研究である。Biwasakaらは骨盤の全体形状を相同モデル化し、平均面間距離は約1 mmであったと報告した<sup>13)</sup>。本研究の平均面間距離は0.28 mmであり、先行研究と比較して十分に精度の高い相同モデルが作成できたと考える。

一般に、生物の形態を扱った主成分分析では全体のサイズによる影響が強く表れる。Casierらが報告した肩甲骨全体形状のバリエーションにおいても、第1主成分にサイズの成分 (寄与率72%) が抽出されている<sup>10)</sup>。本研究では、純粋な形状のバリエーションを検討するために、全ての肩甲骨のサイズを正規化し、全体のサイズによる

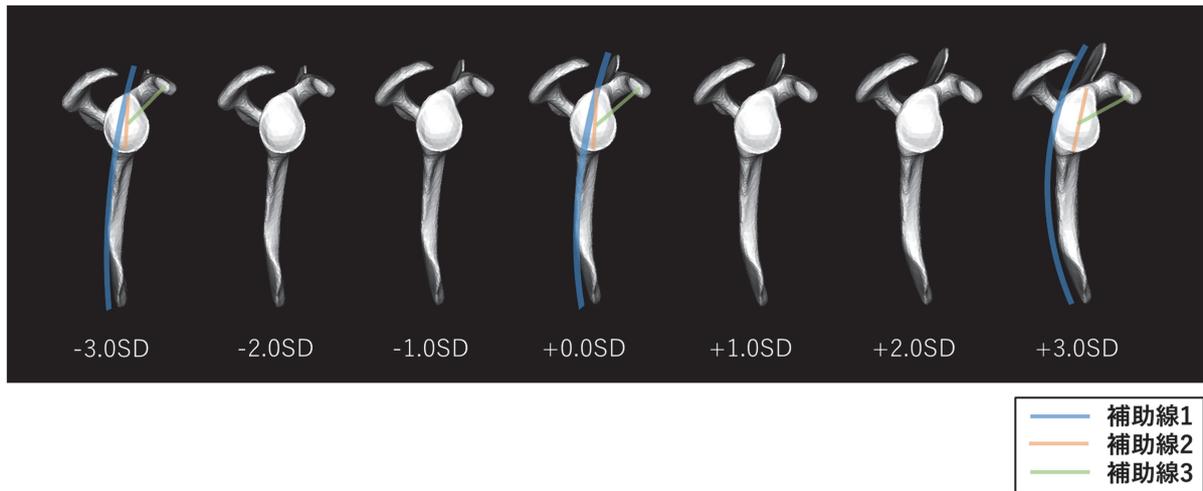


図4 第1主成分の表す肩甲骨の形態変異  
第1主成分の主成分得点における-3SDから+3SDの仮想形状を示す。外側から見た肩甲骨体部の彎曲を補助線1，外側から見た関節窩の長軸を補助線2，外側から見た烏口突起の傾斜を補助線3で示す。

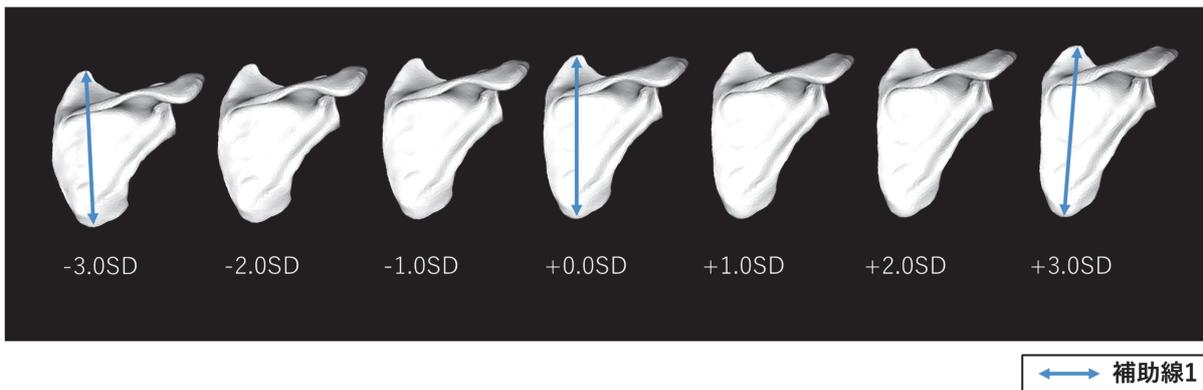


図5 第2主成分の表す肩甲骨の形態変異  
第2主成分の主成分得点における-3SDから+3SDの仮想形状を示す。後方から見た肩甲骨の上角上端と下角下端の長さを補助線1で示す。

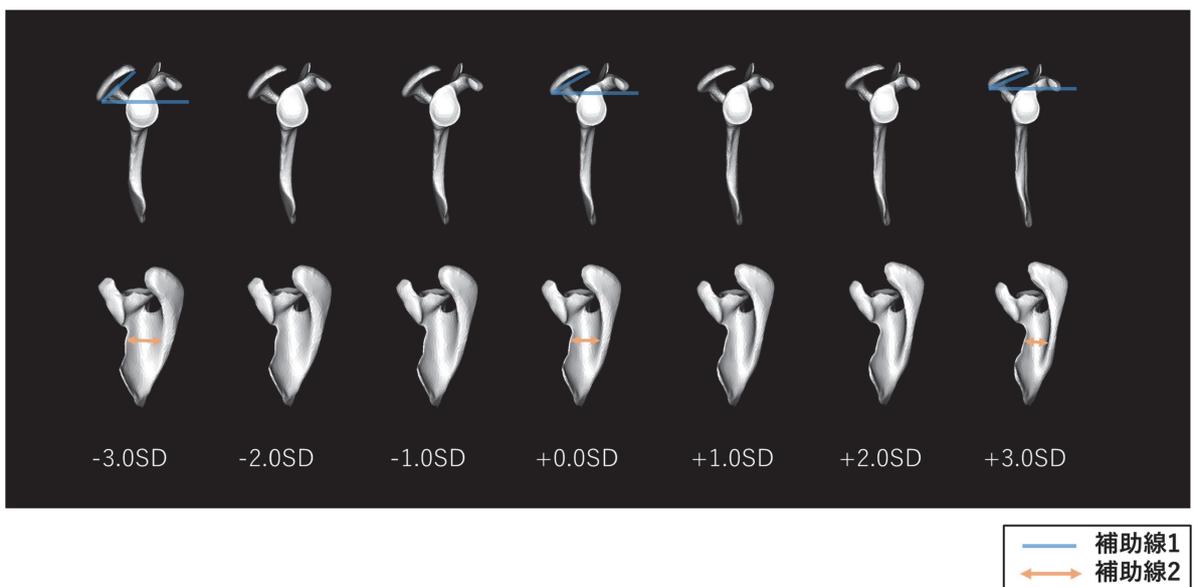


図6 第3主成分の表す肩甲骨の形態変異  
第3主成分の主成分得点における-3SDから+3SDの仮想形状を示す。外側から見た肩峰の傾斜を補助線1，上方から見た棘上窩の前後幅を補助線2で示す。

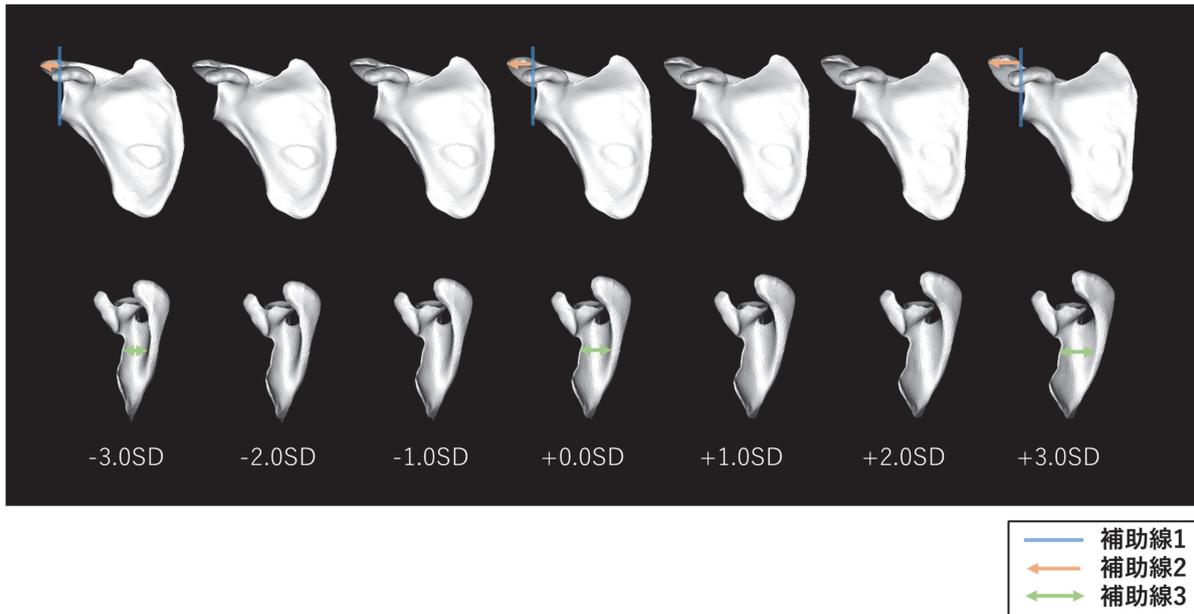


図7 第4主成分の表す肩甲骨の形態変異  
第4主成分の主成分得点における-3SDから+3SDの仮想形状を示す。前方から見た関節窩の長軸を補助線1, 前方から見た肩峰の外側への張り出しを補助線2, 上方から見た棘上窩の前後幅を補助線3で示す。

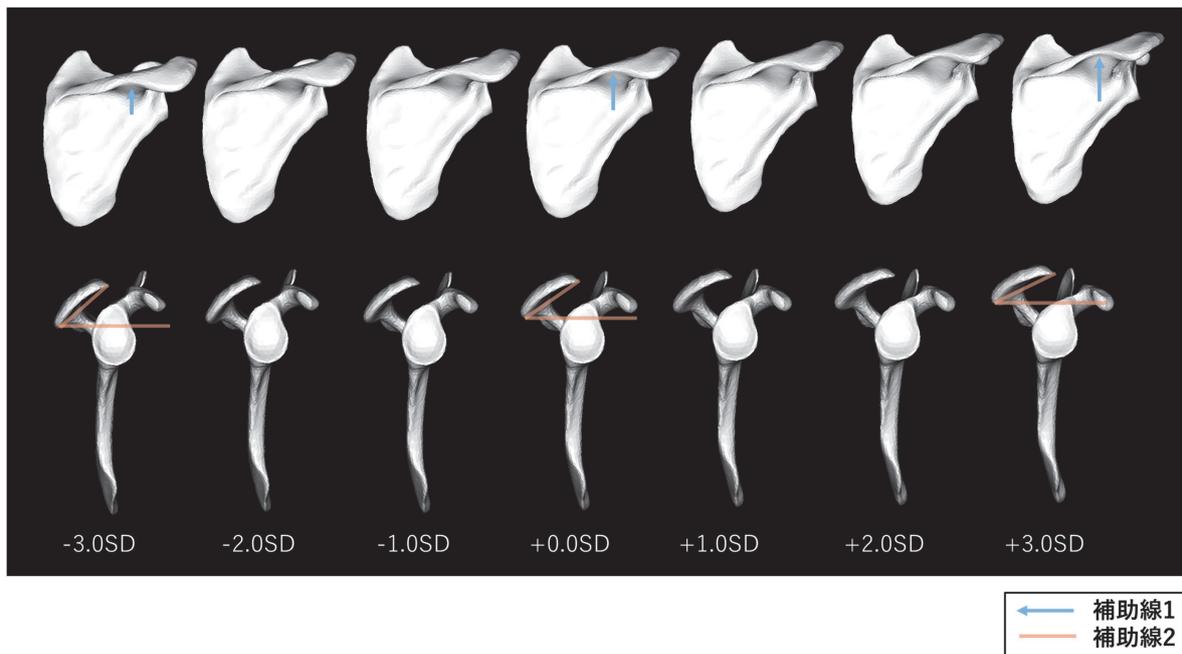


図8 第5主成分の表す肩甲骨の形態変異  
第5主成分の主成分得点における-3SDから+3SDの仮想形状を示す。後方から見た肩甲骨棘の前傾を補助線1, 外側から見た肩峰の前傾を補助線2で示す。

影響が生じないように主成分分析を行った。その結果、Casierらの報告では第3主成分までの累積寄与率が81%であったのに対し、本研究では累積寄与率が80%を超えるまでに17つの主成分が抽出された(表1)。この結果により、サイズの影響を除いた肩甲骨の純粋な形状には、多くのバリエーションが存在することが新たに示された。

本研究で作成した相同モデルは、全ての肩甲骨が4,458頂点で構成された3次元モデルである。各頂点の

3次元座標に対して主成分分析を行うことで、肩甲骨の細部にわたる形態の特徴を捉えることができるうえ、それらの相互関係を検討できる。例えば第1主成分では、肩甲骨体部の彎曲の程度が変化するとともに、関節窩や烏口突起の向きも連動して変化している(図4)。肩甲骨胸郭関節を構成する肩甲骨体部の形態にバリエーションが存在することが示され、さらに肩甲上腕関節周囲の骨形態と連動して変異する可能性が示唆された。

第3, 第4主成分はともに, 肩峰と棘上窩の形態が連動して変化する成分であった(図6, 図7)。第3主成分では棘上窩が大きいほど肩甲棘から肩峰にかけて後傾し, 第4主成分では棘上窩が大きいほど肩峰が外側に張り出している。この結果は, 部分的には同じ形態変異でも, 連動する他部位の形態変異が異なる可能性を示している。これまでに肩峰形態と肩関節疾患の関連を検討した報告は多数あるが<sup>4)6)8)9)14)15)</sup>結果は一致せず十分なコンセンサスは得られていない。従来の報告は肩峰単独の形態に着目しており, 肩甲骨の他部位との相互関係は検討されていなかった。本研究の結果は, 肩甲骨形態の検討において部分形状のみの解析では不十分である可能性を示すものであり, 肩甲骨の形態学的特徴を検討する場合は全体形状を包括的に解析する必要があると考えられる。

本研究における研究限界は2つある。まず, 使用した骨標本は既往歴等の生前情報が不足しているため, 疾患による影響が結果に含まれている可能性がある。また, 肩甲骨形態を単独で解析しているため, 上腕骨, 鎖骨, 胸郭形状といった隣接骨との関連性を検討できない。なお, ここまで第1主成分から第5主成分までの解釈を中心に記載したが, これらの主成分は本研究で抽出された肩甲骨全体形状のバリエーションの一部である(累積寄与率49.4%)。

本研究により, 肩甲胸郭関節をなす肩甲骨体部の彎曲をはじめ, 従来の解析では明らかにされなかった肩甲骨のバリエーションが数多く抽出された。またその中で, 従来の部分形状の解析では検討されていない, 肩甲骨の複数部位が連動して変異する可能性が示唆された。本研究の結果は肩甲骨全体形状を包括的に解析する重要性を示すものであり, その手法の1つとして相同モデルが有用であったと考えられる。相同モデルで抽出された形態変異を表す主成分は1つの変数として扱うことができるため, 肩甲胸郭関節や肩甲上腕関節などの関節運動を表す変数や, 筋力をはじめとした筋組織の特性を表す変数とともに分析することができる。今後は, 肩甲骨全体形状と肩関節機能の関連性を検討していくことで, 骨形態に合わせた肩関節疾患の予防方法の考案やオーダーメイドの理学療法の発展が期待される。

### 利益相反

開示すべき利益相反関係にある企業および団体はない。

謝辞: 札幌医科大学保健医療学部の松村博文氏からは, 本研究への貴重な助言と激励をいただいた。ここに記して感謝の意を表す。

### 文 献

- 1) Young NM, Capellini TD, Roach NT, Alemseged Z: Fossil hominin shoulders support an African ape-like last common ancestor of humans and chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA* 112(38): 11829-11834, 2015
- 2) Roach NT, Venkadesan M, Rainbow MJ, Lieberman DE: Elastic energy storage in the shoulder and the evolution of high-speed throwing in *Homo*. *Nature* 498(7455): 483-486, 2013
- 3) Green DJ: Ontogeny of the hominoid scapula: The influence of locomotion on morphology. *Am J Phys Anthropol* 152(2): 239-260, 2013
- 4) Moor BK, Bouaicha S, Rothenfluh DA, Sukthankar A, Gerber C: Is there an association between the individual anatomy of the scapula and the development of rotator cuff tears or osteoarthritis of the glenohumeral joint?: A radiological study of the critical shoulder angle. *Bone Joint J* 95-B(7): 935-941, 2013
- 5) Hughes RE, Bryant CR, Hall JM, Wening J, Huston LJ, Kuhn JE, Carpenter JE, Blasler RB: Glenoid inclination is associated with full-thickness rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res* 407: 86-91, 2003
- 6) Nyffeler RW, Werner CM, Sukthankar A, Schmid MR, Gerber C: Association of a large lateral extension of the acromion with rotator cuff tears. *J Bone Joint Surg Am* 88(4): 800-805, 2006
- 7) Kandemir U, Allaire RB, Jolly JT, Debski RE, McMahon PJ: The relationship between the orientation of the glenoid and tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br* 88(8): 1105-1109, 2006
- 8) Miyazaki AN, Itoi E, Sano H, Fregoneze M, Santos PD, da Silva LA, Sella Gdo V, Martel EM, Debom LG, Andrade ML, Checchia SL: Comparison between the acromion index and rotator cuff tears in the Brazilian and Japanese populations. *J Shoulder Elbow Surg* 20(7): 1082-1086, 2011
- 9) Bjarnason AO, Sørensen TJ, Kallemose T, Barfod KW: The critical shoulder angle is associated with osteoarthritis in the shoulder but not rotator cuff tears: a retrospective case-control study. *J Shoulder Elbow Surg* 26(12): 2097-2102, 2017
- 10) Casier SJ, Van den Broecke R, Van Houcke J, Audenaert E, De Wilde LF, Van Tongel A: Morphologic variations of the scapula in 3-dimensions: a statistical shape model approach. *J Shoulder Elbow Surg* 27: 2224-2231, 2018
- 11) Mochimaru M, Kouchi M, Dohi M: Analysis of 3-D human foot forms using the Free Form Deformation method and its application in grading shoe lasts. *Ergonomics* 43(9): 1301-1313, 2000
- 12) Inoue K, Nakano H, Sumida T, Yamada T, Otawa N, Fukuda N, Nakajima Y, Kumamaru W, Mishima K, Kouchi M, Takahashi I, Mori Y: A novel measurement method for the morphology of the mandibular ramus using homologous modelling. *Dentomaxillofac Radiol* 44(8): 20150062, 2015
- 13) Biwasaka H, Aoki Y, Takahashi Y, Fukuta M, Usui A, Hosokai Y, Saito H, Funayama M, Fujita S, Takamiya M, Dewa K: A quantitative morphological analysis of three-dimensional CT coxal bone images of contemporary Japanese using homologous models for sex and age estimation. *Leg Med (Tokyo)* 36: 1-8, 2019
- 14) Zuckerman JD, Kummer FJ, Cuomo F, Simon J, Rosenblum S, Katz N: The influence of coracoacromial arch anatomy on rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg* 1(1): 4-14, 1992
- 15) Balke M, Schmidt C, Dedy N, Banerjee M, Bouillon B, Liem D: Correlation of acromial morphology with impingement syndrome and rotator cuff tears. *Acta Orthopaedica* 84(2): 178-183, 2013

## Morphological Variation of Modern Japanese Scapula Described using 3D Homologous Modeling Method

Ryo Tokita,<sup>1\*</sup> Naoki Sato,<sup>2</sup> Toyohisa Taniiri,<sup>3</sup> Hajime Toda<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Health Sciences, Sapporo Medical University

<sup>2</sup> Department of Rehabilitation, Sapporo Kiyota Orthopedic Hospital

<sup>3</sup> Medic Engineering Inc.

<sup>4</sup> Second Division of Physical Therapy, School of Health Sciences, Sapporo Medical University

We analyzed morphological variations of the Japanese scapula using 3-dimensional (3D) homologous modeling based on surface data recorded using a 3D scanner. Principal component (PC) analysis was applied to polygon mesh datasets of homologous vertices (X, Y, and Z points), which detected 20 components with a cumulative proportion at 84%. The first five components can describe approximately 50% of scapula variations in the samples used. The interpretation of these components are summarized as follows: PC1, anterior inclination of the glenoid fossa and coracoid process increased as the curvature of the scapular body increased; PC2, area of the infraspinatus fossa relative to the supraspinatus fossa increased as the vertical length of the scapular body increased; PC3, width of the supraspinatus fossa decreased with the forward tilt of the acromion; PC4, width of the supraspinatus fossa increased as the acromion overhung outward; and PC5, forward tilt from the scapular spine to the acromion. This study extracted several variations of the scapula, demonstrating the importance of comprehensively analyzing the overall shape of the scapula. We hope to elucidate the relationship between the overall scapular shape and shoulder disease using 3D homologous modeling.

**Key words:** Scapular morphological variation, 3D homologous modelling, Surface shape

---

\* Graduate School of Health Sciences, Sapporo Medical University  
South 1, West 17, Chuo-ku, Sapporo-shi, Hokkaido 060-8556, Japan  
E-mail: tokita@sapmed.ac.jp

原 著

## 発達に伴うメカニカルストレスの変化は アキレス腱の組織成熟に關与する\*

宇佐美優奈<sup>1)</sup> 船越逸生<sup>1)</sup> 国分貴徳<sup>1) #</sup>

### 要旨

【目的】正常発達過程において、下肢に加わるメカニカルストレスの変化が筋腱複合体における遺伝子発現および形態学的発達に及ぼす影響を探索した。【方法】胎生期および生後早期 C57BL/6 を対象として、立ち直り反応試験、歩行観察による行動評価を行った。併せて、下腿三頭筋とアキレス腱における成長関連因子である TGF- $\beta$ 、腱細胞に発現する転写因子 Scx の mRNA 発現レベルを確認した。組織学的解析では Alcian Blue, HE 染色, Picrosirius Red 染色にて形態発達を観察した。【結果】行動発達により、筋収縮と自重により生じる関節運動によるメカニカルストレスの増大に伴い、腱成熟に關連する因子の発現と段階的組織成熟を認めた。【結論】未熟な組織の成熟に、メカニカルストレスの変化が影響している可能性が示唆された。本研究における知見は、小児期発達や損傷腱の治癒過程における理学療法介入への応用可能性が期待される。

キーワード アキレス腱, メカニカルストレス, 発達, 腱成熟

### はじめに

筋骨格系は組織の集合体として協調して働くことで、関節運動を可能にするとともに構造の安定化に寄与している。中でも腱組織は筋と骨付着部を接続しており、筋が生み出す張力を骨に伝達して関節を駆動し、かつ身体に加わる外力に抗する役割を持つ。腱発達においては、腱前駆細胞に特異的に発現する Scleraxis (以下, Scx) の発見<sup>1)</sup> に代表される生物学的因子の解明が進み、それら因子の発現とメカニカルストレスの關連が注目されている。一般的に四肢の腱の発達は誘導・分化・成熟の過程を辿るとされており、初期には腱細胞の誘導は独立して行われるが、腱細胞が分化し拡張していく段階では筋と骨からのメカニカルストレスが重要な役割を果たしている。これに關連して、筋形成に關与する Pax3 の遺伝子操作により筋機能を喪失させたマウスでは、短い腱

原基の誘導は確認されるが、後に腱原基は欠落するとの報告がある<sup>2)</sup>。興味深いことに、同様に胎生期において麻痺した肢では腱の伸張が起きることから、分化の段階では筋と腱の間の骨格と關連した伸張ストレス、すなわち骨格成長によるメカニカルストレスが腱組織の成長に關与する可能性が示唆されている<sup>3)</sup>。

以上のように、腱の発生・発達過程においては、組織に対して筋収縮を介したメカニカルストレスが負荷されることで細胞がストレスに応答し、生物学的反応が誘発されることで器官として成熟していくとされている。その中で、胎生期から生後早期にかけては中枢神経系の発達や運動機能発達に伴いダイナミックな姿勢変化および移動様式の変化が起きる。しかしながら、これまでの in vivo 研究においては Pax3<sup>Spd/Spd</sup> KO マウスによる筋欠損モデル<sup>2)</sup>, the muscular dysgenesis mutant (mdg) による筋収縮阻害モデル<sup>2)</sup>, d-tubocurarine<sup>4)</sup>, Decamethonium bromide (DMB: デカメトニウム) による筋痙性誘発モデル<sup>5)</sup> など、筋収縮の有無にフォーカスした研究が主であった。これに対し、我々は in vivo において四肢に加わる力は、筋収縮のみではなく、荷重や外部との接触により受動的に生じる関節運動という外的要因も考慮し、定性・定量が困難なメカニカルストレスを、運動様式や機能から評価する理学療法の視点が重要

\* The Change of Mechanical Stress in the Embryo and Postnatal Developmental Phase Related to the Achilles Tendon Maturity

1) 埼玉県立大学大学院保健医療福祉学研究科  
(〒343-8540 埼玉県越谷市三野宮 820)  
Yuna Usami, PT, BSc, Hayase Funakoshi, PT, BSc, Takanori Kokubun, PT, PhD: Graduate School of Saitama Prefectural University, Graduate Course of Health and Social Services (820 Sannomiya, Koshigaya-Shi, Saitama 343-8540, Japan)

# E-mail: kokubun-takanori@spu.ac.jp  
(受付日 2021年10月2日/受理日 2021年11月18日)  
[J-STAGEでの早期公開日 2022年2月6日]

であると考えている。四肢の筋収縮を阻害した場合でも、発達に伴う体動により、足部接地による四肢への荷重から受動的な足関節運動は生じる。これは筋収縮ではなく、自重により関節運動が引き起こされることで筋腱複合体に長さ変化を生じさせるメカニカルストレスが負荷されることになり、筋腱複合体へのメカニカルストレスを除外したとは言い切れない。このことは、これまでメカニカルストレスの減少モデルとして扱われてきた筋機能障害モデルで見られたバイオロジカルな変化の中には、荷重下での自重により生じる関節運動による筋腱へのメカニカルストレスによる影響が含まれている可能性を示唆しており、メカニカルストレスの再定義が必要と考えている。以上より、腱発達におけるメカニカルストレスの役割を捉えるうえで、筋収縮という内的要因に加え、自重により生じる外力による関節運動という外的要因を考慮し、腱の発達過程への影響を明らかにする必要がある。

今回我々は、胎生期から生後早期にかけての腱組織における未熟な細胞群が、発達・成熟していく過程における既存の腱発達関連因子の発現を、四肢に加わるメカニカルストレスの変化との関連から分析することで、腱発達過程における因子発現の意義を再定義できるのではないかと着想した。本研究では、四肢の腱に加わるメカニカルストレスを、筋収縮という生体内からの要因と、荷重環境や外部接触といった生体外からの要因の相互が関与しているとの前提に基づき、それぞれが腱成熟に影響を及ぼしていると仮説を立てた。以上より、本研究の目的は、マウスの正常発達過程において下肢に加わるメカニカルストレスの変化と筋腱複合体における成長関連因子、腱特異的転写因子の発現および腱組織の形態学的変化の関連を探索することである。

## 対象および方法

### 1. 実験動物

本研究は、所属施設の動物実験倫理委員会の承諾を受け、学内動物実験指針を厳守し実施した（承認番号：2019-10）。対象はC57BL/6マウス72匹とし、組織学的および分子生物学的実験には、胎生（Embryo：以下、E）15, 17, 19, 21日齢、生後（Postnatal：以下、P）0, 1, 3, 5, 7, 9, 14日齢の全11タイムポイントで各6匹から両側のサンプルを採取し12肢、計66匹132肢を解析対象とした。これとは別に行動学的解析では、6個体をP0からP14までの15タイムポイントで継続的に観察に用いた。よって本実験に供したマウスの総数は72匹となる。

飼育環境は、気温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12時間サイクルで明暗を設定、マウスの移動はプラスチックケージ内で自由とし、餌や給水は自由に摂取できる環境

とした。妊娠を制御するために、野生型マウスを一晩交配後した。交配徴候が確認された母体は雄とケージを分け単独飼育とし、仔マウスの出生を確認した後も母体と仔は同ケージ内での飼育とした。日齢の換算においては分離日の正午をE0.5と見なし、分娩日をP0とした。各時点においてコロニー内からランダムに抽出した6匹を行動観察した後、P7未満は未麻酔での断頭にて、P7以降および胎児サンプル採取のための母体安楽死の際にはイソフルランによる吸入麻酔（3%）後、頸椎脱臼を実施し、組織採取を実施した。組織学的解析用に下肢大腿部より遠位部を、分子生物学的探索用に下腿三頭筋およびアキレス腱を供した。分子生物学的探索に関し、E17では腓腹筋とヒラメ筋の分離が困難であり、採取時期による組成の違いが生じないように全タイムポイントにおいてヒラメ筋および腓腹筋を含めた下腿三頭筋全体を採取した。なお、下腿三頭筋起始部を大腿骨および脛骨から離脱し、アキレス腱部分から近位方向に筋をそぎ取ることと筋内腱から下腿三頭筋を分離し、腱全体を解析に用いた。

### 2. 立ち直り反応と歩行観察による行動評価

先行研究<sup>6)</sup>に従い、P0～P7まで毎日に8のタイムポイントで立ち直り反応テストを、P8～P14までの7タイムポイントで移動形式の観察を行った。本実験には、全てのタイムポイントで6匹の同じ個体を使用し、経時的に評価を行った（ $n=6$ /各タイムポイント）。体重計測後、シャーレ上で頭部および腹部を支え、背臥位を保持した。5秒間静止後、支持を解放し、1分を上限に腹臥位を獲得できるか観察した。この時、肢の手掌部、足底部の四肢全てのシャーレ表面との接触を腹臥位姿勢と定義した。本研究においては立ち直り反応出現前の背臥位を、末端（足部）が自由であり各関節を自由に運動することができる状態であるOpen Kinetic Chain（以下、OKC）の運動、立ち直り反応出現後の腹臥位を、両側の末端が自重により抑止された状態であるClosed Kinetic Chain（以下、CKC）<sup>7)</sup>の運動と定義した。観察開始後、手足の動きが起こらない場合、動きの疲労や活性の低下による結果への影響を除外するために体幹もしくは尾をピンセットで刺激することで反応を促進した。この際、観察対象である上下肢は生後早期の虚弱な組織であるため触れないように注意した。必要に応じて最大1分間の時間を与え、合計3回の試行を繰り返し、背臥位から寝返りによる腹臥位への姿勢変換の可否を確認した。

P8以降は矢状面での歩行観察を行った。立ち直り反応の確認と同様に、身体の動きが起こらない場合、尾をピンセットで刺激することで反応を促進した。最大観察時間は3分間とし、Feather-Schussler DNらの報告<sup>6)</sup>を

元に0. 動きなし, 1. 非対称性四肢運動によるクロール, 2. 対称性四肢運動であるが遅いクロール (足底全面が地面に触れる動作), 3. 早いクロール/歩行 (頭部および尾部の挙上, 後肢前足部のみの接地) の4段階で点数を付けた。

### 3. 組織学的分析

E15, 17, 19, 21 および P0, 1, 3, 5, 7, 9, 14 のタイムポイント (n=6/タイムポイント) にて下腿を採取し, 4% パラホルムアルデヒド溶液で浸漬固定した (4°C, 24~48時間)。脱灰は, 10%EDTA を用いて4°C (0日~2週間) にて行った。脱灰終了後, 5% スクロース (4時間), 30% スクロース (12時間) 溶液に浸潤させた後, OCT Compound で包埋した。凍結包埋した組織は, 外側から矢状断で下腿部を 12  $\mu$ m 厚に薄切し, 形態把握のため Alcian Blue, Hematoxylin and Eosin (以下, Alcian Blue, HE) 染色を, コラーゲン線維合成度の観察のため Picrosirius Red (以下, PSR) 染色を実施した。顕微観察には, オールインワン蛍光顕微鏡 BZ-X710 (KEYENCE, 大阪) を使用し, PSR 染色の観察には偏光観察用モジュールを追加し実施した。

### 4. 分子生物学的検索

E15, 17, 19, 21 および P0, 1, 3, 5, 7, 9, 14 のタイムポイント (n=6/タイムポイント) で下腿三頭筋ならびにアキレス腱を採取し real time qPCR 解析に供した。RNA 抽出薬は ISOGEN (ニッポンジーン株式会社, 東京) を使用して Total RNA 採取後, High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いて逆転写反応により cDNA を合成した。合成された cDNA は, TaqMan プローブ法にて, StepOnePlus™ (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems™ StepOnePlus™ Real-Time PCR System) を用いて発現解析を実施した。ターゲット遺伝子は, 筋腱の成長関連因子である Transforming Growth Factor- $\beta$  (以下, TGF- $\beta$ ) (Mm01178820\_m1), 腱細胞に発現する転写因子 Scx (Mm01205675\_m1) とし, 内在性コントロールには glyceraldehyde3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (Mm9999915\_g1) を用いた。算出された Ct 値は, 比較 Ct 法によって筋, 腱ごとに E17 で検出された値に対する相対値を算出した。内在性コントロール遺伝子とターゲット遺伝子の Ct 値の差 ( $\Delta$ Ct) を求め, E17 から各タイムポイントの  $\Delta$ Ct の差 ( $\Delta\Delta$ Ct) を算出し, 遺伝子発現の量比について E17 が 1 となるよう  $2^{-\Delta\Delta$ Ct に代入し, 相対値を求めた。

### 5. 統計学的解析

プログラミング言語 Python (version 3.0) を用いて,

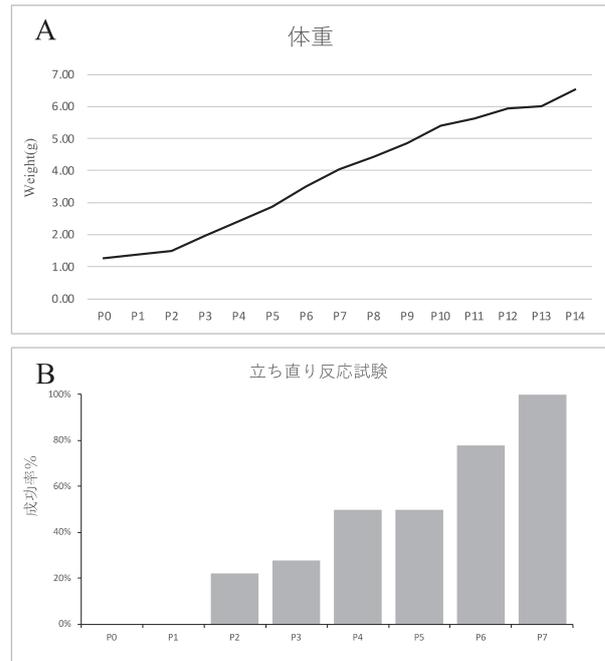


図1 体重推移および立ち直り反応テスト結果  
立ち直り反応は P2 から出現し, P7 にてすべてのマウスが寝返り可能となり腹臥位を獲得した. (n=6/タイムポイント)

Real time PCR から得られた  $\Delta\Delta$ Ct 値の統計解析を行った。各因子の筋, 腱組織内における発現量をタイムポイントごとに比較するために one-way ANOVA 検定の後, Tukey 検定による多重比較検定を行った。有意水準は 0.05 未満とした。

## 結 果

### 1. 行動観察

P0~P14 までの間において体重は漸増した (図 1A)。出生直後の P0~P1 は背臥位で四肢を動かす OKC の運動のみであったが, P2 以降は立ち直り反応出現により, 腹臥位を取ることで CKC での運動へと変化した。その後徐々に立ち直り反応出現回数が増加し, P7 にてすべてのマウスが寝返りを獲得した (図 1B)。一方, P2~P7 にかけて腹臥位になるものの, 荷重下での関節運動が見られず, 腹臥位のまま移動できない様子が見られ, P8 以降から歩行機能向上を認めた (図 2A)。P8 では非対称性の肢単独で歩行を進めるような動作であったが (図 2B), 日齢の増加とともに対称性の運動 (2点) となり, 踵挙上を伴う足部関節運動を認め (図 2C), P14 では踵および尾の挙上を伴った定常歩容 (3点) に変化した (図 2E)。

### 2. 組織学的分析

Alcian Blue, HE 染色において, 日齢経過とともに腱の長さが長くなり, 筋組織との分画が顕著になっていっ

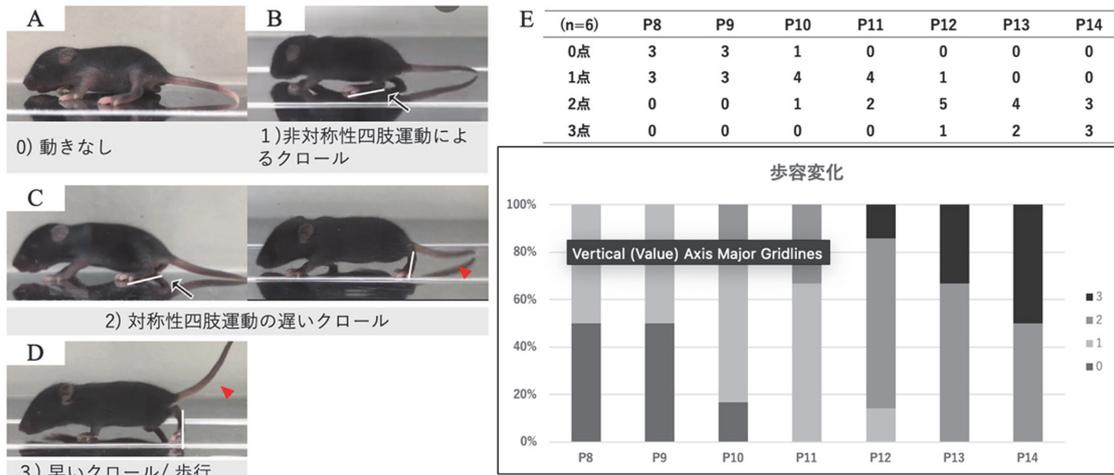


図2 歩行機能評価結果

P8以降のマウスの歩行を0. 動きなし, 1. 非対称性四肢運動によるクロール, 2. 対称性四肢運動であるが遅いクロール, 3. 早いクロール/歩行の4段階で点数を付けた. P8では非対称性の肢単独で歩行を進めるような動作であったが (B), 日齢の増加とともに3点を獲得する個体が増加した (E). (n=6/タイムポイント)

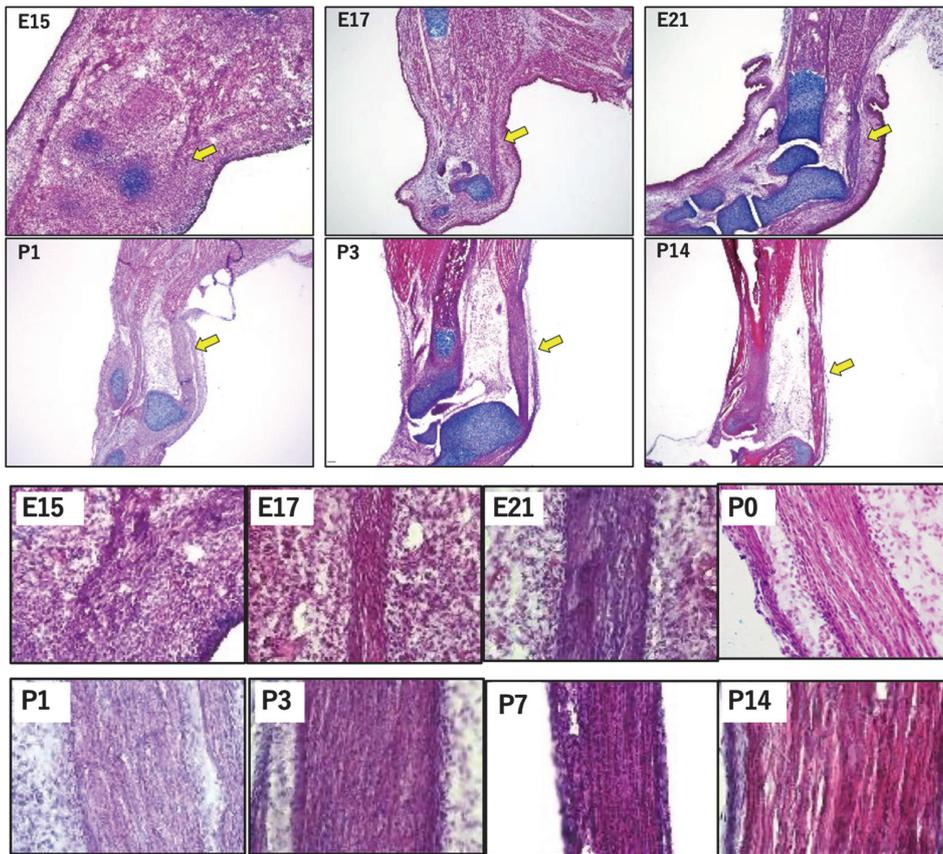


図3 Alcian Blue, HE Stain

E15では細い腱組織 (矢印) が多くの細胞集団として筋骨を接続していたが日齢とともにECMの合成が確認された. P14にかけて細胞は長軸方向に配列と核の楕円化が観察された.

た. E15では腱組織が形成される部位に細胞凝集が見られたが, この時点ではEosinで染色される細胞外マトリックス (Extracellular matrix: 以下, ECM) は観察されなかった. E17になると細胞密度が増加し, 腱組織と周囲組織の境界が明確になった. 胎生期では腱組織の

線維配列は未形成で単純な細胞凝集像であったが, P0以降の組織では腱細胞の楕円化が起き, 長軸方向に整列した. P14ではECMの長軸方向へのECM増加に伴う線維化が進み, 核の減少が確認された. 筋組織は, 腱同様に胎生期は細胞凝集による組織形成であったが, P3

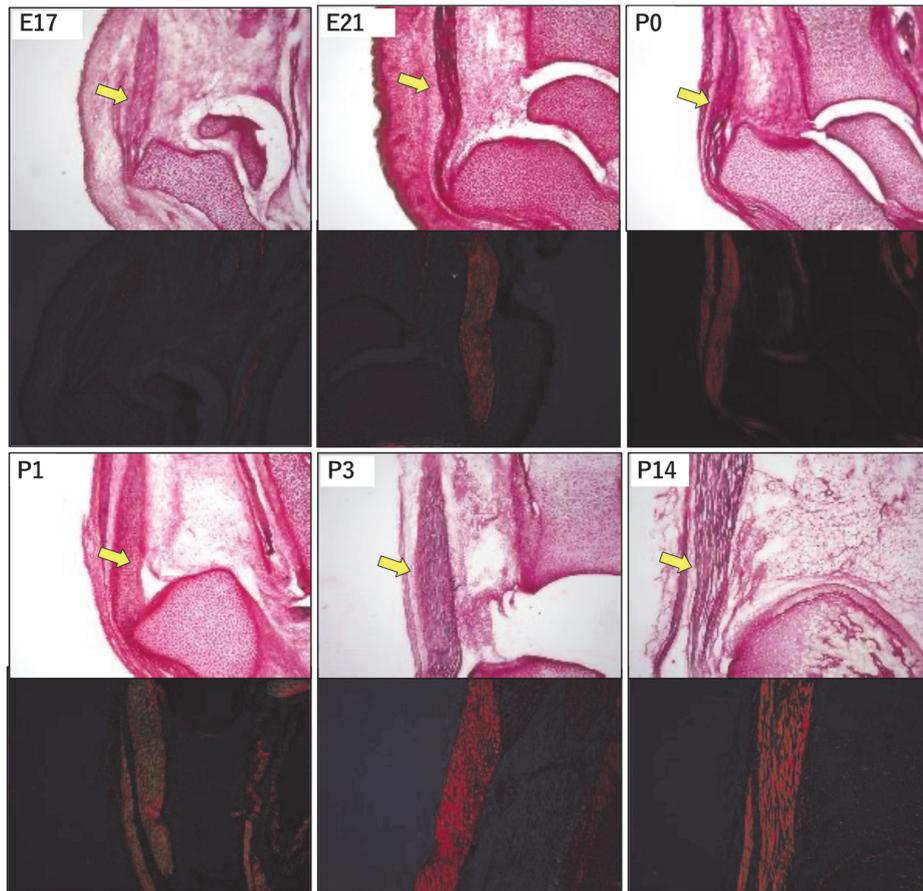


図4 Picosirius Red Stain

E17では偏光下でコラーゲン線維の確認は困難であったが、E21からコラーゲン線維の発現が観察され、その後日齢経過とともに発現が増強した。明視野画像の矢印は腱組織を示す。

になると筋腱移行部が明白となり組織の線維配列が形成していた(図3)。

偏光顕微鏡下でのPSR染色の観察では、E21以降でコラーゲン合成の進行が確認された(図4)。E21から見られたコラーゲン線維が、P1にはその合成がより明確となり、その後日齢を重ねる毎に観察できる複屈折の強度が増加した。これはAlcian, HE染色で見られたECM増加と同様の結果となり、段階的な組織学的成熟を示す結果となった。

### 3. 分子生物学的検索

E15に関して、組織が未成熟のため、筋腱の分離が困難であり解析対象からは除外した。受精からの時間経過が同様のE21, P0間では腱組織におけるScx, TGF- $\beta$ の発現量に著明な差は見られなかった(図5)。24時間経過後のP1のTGF- $\beta$ およびScxの発現は、胎生期(E21), 出生日(P0)と比較し約10倍の増加傾向を認めた。その後P3, P5で発現量は低下し、P7ではP0と比較し約5.8倍までの上昇傾向、P9, P14ではそれぞれ約33倍、約65倍以上の急激な発現量の増加を認めた。

腱組織でのTGF- $\beta$ 発現はP0と比較しP1では約8倍にまで上昇、その後は比較的低値を示した。

### 考 察

腱は、身体運動に伴い生体内で常時伸張、圧縮、剪断、静水圧といった4種のメカニカルストレスにさらされている<sup>8)</sup>。本研究では、発達過程における腱組織成熟プロセスを、母体内と出生後の環境の違い、生後の神経系発達による姿勢変化、歩行獲得と筋機能向上による関節運動の増大という、腱組織にとって大きな転換となる生後早期ライフイベントを、四肢に加わるメカニカルストレスの変移という視点から分析し解明を目指した。結果として、四肢の動きは出生を機に母胎内環境から解放され、背臥位でのOKCの運動を開始し、本時点でTGF $\beta$ , Scx mRNA発現量の上昇が見られた。その後立ち直り反応獲得とともにCKCでの運動となり、P8以降で歩行様の動作が確認され、Scx mRNAの上昇と組織学的にはECMの増加が見られた。我々は、行動学的観察により確認された自重による外力と身体機能の発達に伴い増大する腱に長さ変化を生じさせるメカニカルストレス

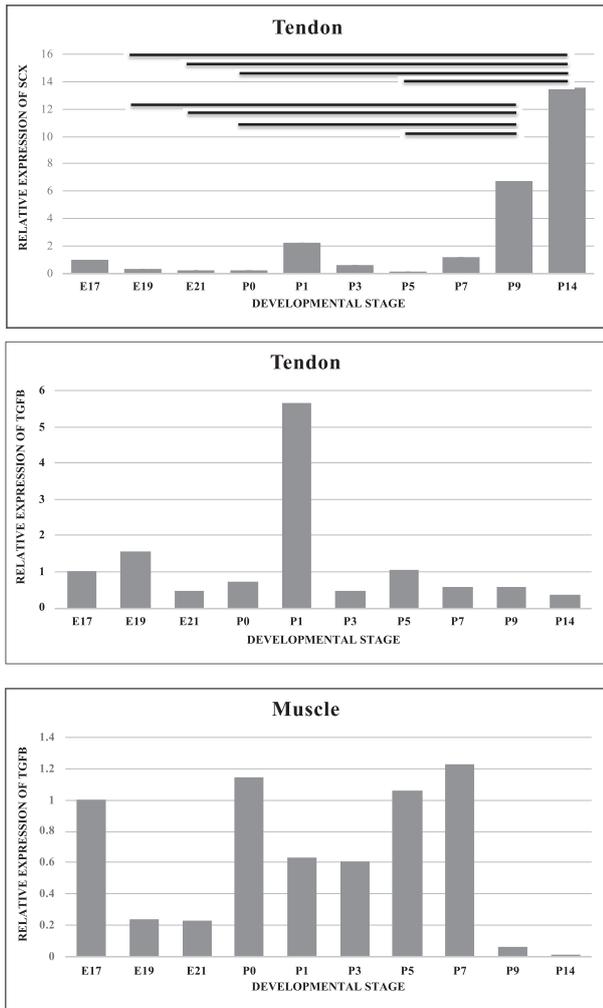


図5 qPCR結果

腱の Scx は P1 で増加傾向、さらに P9、P14 で統計学的有意差を持つ増加が見られた。同様に TGF-β も P1 時点にて約 8 倍の上昇が見られた。平行バーは有意差を表す (p < 0.05)。

が、腱発達へ影響を与える可能性を提示した。

胎生後期の四肢運動は、母胎内で水中抵抗、限られた子宮環境下での空間的制限、未成熟な筋・中枢神経による制限下での運動である<sup>9)</sup>。その後、母胎内で屈曲していた四肢は、出生を期に空間的制限から解放される。本研究において出生直後から背臥位で手足をばたつかせる OKC での運動が観察され、環境変化により筋活動の増大が起きる。立ち直り反応が出現すると、腹臥位を獲得し四肢は CKC 運動となった。CKC では、OKC で見られる純粋な筋収縮による関節運動のみならず、足部が接地した際の自重による外的な関節運動が生じる。OKC から CKC への移行は、自動関節運動に求める筋負担の急激な増大を意味する。立ち直り反応出現早期 (P2 ~ P7) では腹臥位で身体を支持することはできても、関節運動を引き起こすだけの筋張力発揮は起きず、移動はできない。CKC で関節運動が起きない場合、自重による外力に抗して関節を動かすだけの抗重力的筋収縮が不

十分な状態である。この時、筋腱の弾性係数の違いから、自重により生じる従重力的な関節運動によるメカニカルストレスは腱ではなく、より柔らかい組織である筋への伸張ストレスとして負荷される。事実、P2 ~ P7 においては、立ち直り反応獲得後も下肢の動きが見られない状態が観察されているため、OKC から CKC への運動様式の変化により、関節運動に必要なとされる筋発揮が十分でなく、自重により生じる従重力的な関節運動による筋腱複合体への伸張ストレスは筋組織に加わり、弾性係数の高い腱組織への伸張ストレスは低値となることが示された。その後、P8 以降での歩行機能獲得は、自重に抗する程度まで筋組織が成熟したことを示唆し、P7 までとは異なり抗重力下で関節運動を引き起こすまでに筋収縮は増大し、弾性係数は静的状態から逆転することで、腱組織には大きな伸張ストレスが生じる (図6)。

本研究における mRNA 発現は、E21 ~ P1 で Scx は約 10 倍、TGF-β は約 8 倍の増加傾向を認めた。また生後の Scx 発現量は P0 と比較しそれぞれ P7 で約 5.8 倍、P9 で約 33 倍 (有意差あり)、P14 では約 66 倍 (有意差あり) もの増加を認めた。発達過程における Scx は胎生期の腱前駆細胞から発現が確認され、腱組織の成熟に貢献し<sup>10)</sup>、ECM 合成を促進する。筋活動開始のタイミングで腱組織の延長が起き<sup>11)</sup>、筋収縮を阻害すると弾性率の低下といった機械的特性に変化が見られることが報告されている<sup>12)</sup>。TGF-β は *in vivo*, *in vitro* 両者において Scx 誘導能力が明らかになっており、マウスの肢では TGF-β シグナル伝達の喪失により腱組織の欠落が起きる<sup>13)</sup>。*In vivo* で筋収縮を阻害すると Scx の発現が低下し<sup>5)</sup>、*In vitro* においても周期的ストレスの減少により Scx 発現の減少が見られている<sup>14)</sup>。TGF-β/SMAD2/3 シグナル経路が Scx 発現に関与することで腱形成を促進し、筋収縮によるメカニカルストレスの下流因子として機能する<sup>5)</sup> といった報告から、腱組織において TGF-β、Scx はメカニカルストレスに応答し発現の upregulate が起きるとされている。Scx、TGF-β ともに mRNA の増加傾向を認めた E21 ~ P1 は、胎生期から生後の重力下環境に変化し、OKC での筋活動により腱へのメカニカルストレスが増加した時点である。自重により生じる従重力的な関節運動による筋の伸張が惹起される P3 ~ P7 は、前後のタイムポイントと比較し、Scx が低値の傾向を示している。Scx の上昇が見られた P9、P14 は歩行機能が向上している段階であり、歩行で見られた重力に抗する筋活動の発揮による腱へのメカニカルストレスの増加が P9、14 での Scx の増加を誘発したと考えられる。このことから、上記した身体活動変化と同期し、mRNA 発現の変動が起きたことは、筋収縮という内的要因のみならず、重力下環境や荷重といった生体外からの要因の相互が、腱成熟に影響を及ぼしたと

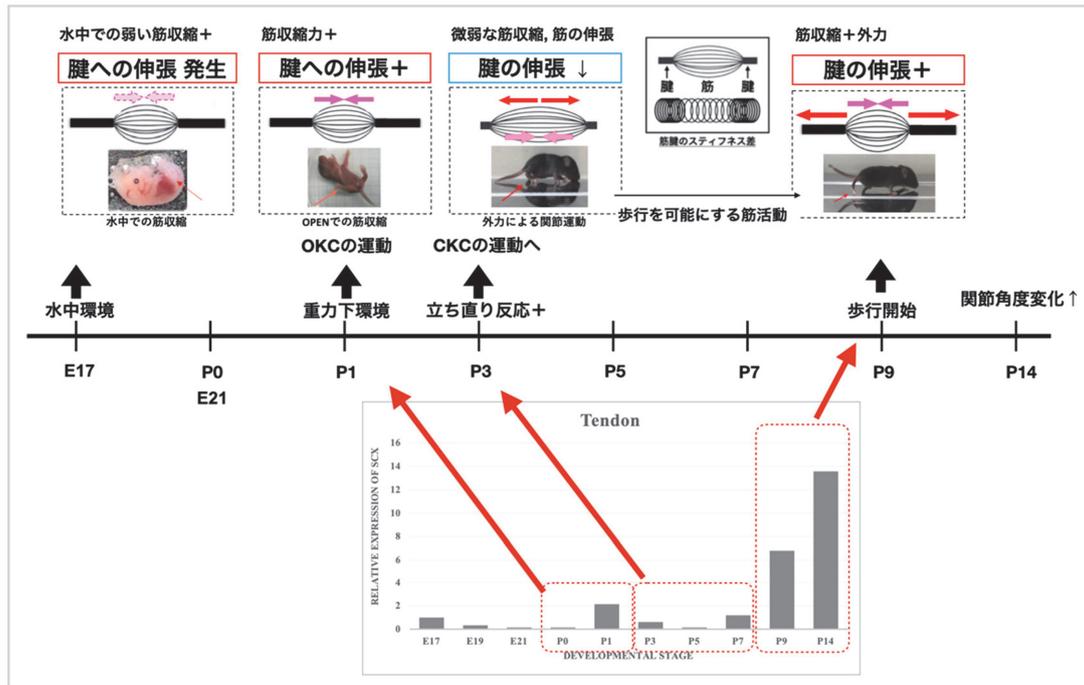


図6 メカニカルストレスの変化と腱発達との関連

環境変化、姿勢変化が筋収縮と荷重による関節運動を生じさせ、腱へのメカニカルストレスが推移していく。

考えられる。これらのメカニカルストレスにより誘導される分子生物学的反応の結果として、組織学的解析において日齢とともにECMの増加や核の減少といった構造体としての成熟が得られていた(図3, 4)。

本研究はこれまで筋活動の有無のみに焦点が当てられてきた腱組織に対するメカニカルストレスの定義に、荷重といった外的接触による筋腱複合体の長さ変化や筋活動により変化する歩容への着目が必要であることを示した。腱細胞においてTGF- $\beta$ がメカニカルストレスの下流因子として機能する報告がある一方で、P7の腱前駆細胞に伸長ストレスを加えたところ、Scxが5日目に上昇する一方でTGF- $\beta$ は1日目に減少し、その後増加しなかったことが報告されている<sup>15)</sup>。このことから、腱組織においてTGF- $\beta$ がメカニカルストレスへの応答<sup>5)16)</sup>や腱細胞の維持<sup>17)</sup>に貢献する一方で、過剰もしくは不足したメカニカルストレスによってはTGF- $\beta$ 以外の経路の活性がScxをupregulateした可能性が示唆される。これらの知見は、腱組織成熟過程において、筋収縮による腱への伸張ストレスと荷重などの外力による筋腱複合体へのメカニカルストレスが相互に影響を及ぼしていることを示唆している。今後、さらにメカニカルストレスを分離したモデルによる解析を進めていくことで、筋収縮と外力のそれぞれが腱組織成熟に及ぼす影響を明らかにすることができ、小児期の腱組織の発達促進や、成人での腱傷害予防や損傷後治癒過程での理学療法介入の根拠となるデータを提示できると考えている。

本研究にはいくつかの限界がある。まず身体内での筋収縮動態のデータ観察が行えていない点である。本研究においては身体外から観察された運動から身体内で起きている筋腱複合体へのメカニカルストレスを論理立てて推察した。筋腱の収縮と伸張状態については、ヒトを対象とした研究では超音波装置を用いて、関節角度変化に対する筋収縮動態の視覚的な解析が進んでいる。本研究の知見をより深めるためには、そのような身体内部活動のデータ化や外部固定や筋収縮有無の操作により、自重により生じる外力による関節運動の要因と内部からの筋収縮の要因を区別し精査することが求められる。また、筋活動の他に骨の長軸方向の成長に伴い腱組織には静的な伸長ストレスが加わることになるため今後は考慮していく必要がある。本研究で見られた未成熟な細胞が成熟していく過程は、腱治癒過程と似たような経過を辿る。本研究は発達期の小児患者への発展のみならず、腱損傷後のリハビリテーション介入への応用も期待される。しかしながら実際の腱損傷後のデータと検証できておらず、本研究を理学療法分野へ応用するためにさらなる検証が必要である。

本研究は胎生期から生後早期の腱組織の発生発達を身体機能の向上と関連づけて、組織学的・分子生物学的側面から経時的に観察した最初の研究である。今後は筋活動と関節運動をより詳細に評価し、腱成熟への貢献メカニズムを解明することで、損傷腱において発生発達期と共通の未成熟な腱細胞成熟の促進へ寄与することが可能

である。

## 結 論

本研究では発生発達段階の腱組織成熟をメカノバイオロジーの観点から分析することで、筋腱複合体の成長関連因子発現には筋収縮と自重による外力に伴うメカニカルストレスの変化が関連する可能性を示唆した。発達期の未熟な細胞にいかにしてメカニカルストレスが加わることで成熟していくのかという知見は、小児期発達や筋機能障害をもつ小児患者の二次的障害の予防、成長期以降の腱障害予防や損傷腱の治療過程における理学療法介入への応用可能性が期待される。

## 利益相反

開示すべき利益相反はない。

## 文 献

- 1) R Schweitzer, LC Murtaugh, AE Brent, V Rosen, EN Olson, A Lassar, CJ Tabin: Analysis of the tendon cell fate using Scleraxis, a specific marker for tendons and ligaments. *Development* 128: 3855-3866, 2001
- 2) AH Huang, TJ Riordan, B Pryce, JL Weibel, SS Watson, F Long, V Lefebvre, BD Harfe, HS Stadler, H Akiyama, SF Tufa, DR Keene, R Schweitzer: Musculoskeletal integration at the wrist underlies the modular development of limb tendons. *Development* 142: 2431-2441, 2015
- 3) V Arvind, AH Huang: Mechanobiology of limb musculoskeletal development. *Ann N Y Acad Sci* 1409: 18-32, 2017
- 4) C Beckham, R Dimond, TK Greenlee Jr: The Role of Movement in the Development of a Digital Flexor Tendon. *Am J Anat* 150: 443-460, 1977
- 5) E Havis, MA Bonnin, J Esteves de Lima, B Charvet, C Milet, D Duprez: TGFbeta and FGF promote tendon progenitor fate and act downstream of muscle contraction to regulate tendon differentiation during chick limb development. *Development* 143: 3839-3851, 2016
- 6) DN Feather-Schussler, TS Ferguson: A Battery of Motor Tests in a Neonatal Mouse Model of Cerebral Palsy. *J Vis Exp* (117): 53569, 2016
- 7) Steindler A: *Kinesiology of the human body under normal and pathological conditions*. Springfield, Charles C Thomas, pp 63-64, 1955
- 8) E Gracey, A Burssens, I Cambre, G Schett, R Lories, IB McInnes, H Asahara, D Elewaut: Tendon and ligament mechanical loading in the pathogenesis of inflammatory arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 16: 193-207, 2020
- 9) T Suzue: Rat Fetus in Late Gestation can be kept in vitro. *Proc Japan Acad* 66: 1990; Q Huang: Intravital imaging of mouse embryos. *Science* 2020
- 10) AH Huang, SS Watson, L Wang, BM Baker, H Akiyama, JV Brigande, R Schweitzer: Requirement for scleraxis in the recruitment of mesenchymal progenitors during embryonic tendon elongation. *Development* 146: dev182782, 2019
- 11) A Subramanian, LF Kanzaki, JL Galloway, TF Schilling: Mechanical force regulates tendon extracellular matrix organization and tenocyte morphogenesis through TGFbeta signaling. *Elife* 7: e38069, 2018
- 12) XS Pan, J Li, EB Brown, CK Kuo: Embryo movements regulate tendon mechanical property development. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 373: 20170325, 2018
- 13) BA Pryce, SS Watson, ND Murchison, JA Staverosky, N Dunker, R Schweitzer: Recruitment and maintenance of tendon progenitors by TGFbeta signaling are essential for tendon formation. *Development* 136: 1351-1361, 2009
- 14) JP Brown, TV Galassi, M Stoppato, NR Schiele, CK Kuo: Comparative analysis of mesenchymal stem cell and embryonic tendon progenitor cell response to embryonic tendon biochemical and mechanical factors. *Stem Cell Res Ther* 6: 89, 2015
- 15) JP Brown, VG Finley, CK Kuo: Embryonic mechanical and soluble cues regulate tendon progenitor cell gene expression as a function of developmental stage and anatomical origin. *J Biomech* 47: 214-222, 2014
- 16) T Maeda, T Sakabe, A Sunaga, K Sakai, AL Rivera, DR Keene, T Sasaki, E Stavnezer, J Iannotti, R Schweitzer, D Ilic, H Baskaran, T Sakai: Conversion of mechanical force into TGF-beta-mediated biochemical signals. *Curr Biol* 21: 933-941, 2011
- 17) GK Tan, BA Pryce, A Stabio, JV Brigande, C Wang, Z Xia, SF Tufa, DR Keene, R Schweitzer: Tgfbeta signaling is critical for maintenance of the tendon cell fate. *Elife* 9: e52695, 2020

## The Change of Mechanical Stress in the Embryo and Postnatal Developmental Phase Related to the Achilles Tendon Maturity

Yuna Usami,<sup>1\*</sup> Hayase Funakoshi,<sup>1</sup> Takanori Kokubun<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Saitama Prefectural University, Graduate Course of Health and Social Services

**Purpose:** We hypothesized that the relationship between mechanical stress during development and embryonic and neonatal tendon formation in the mouse model might be applied to prevent disease and treat tendon regeneration in humans. In this study, we focused on movement, particularly exercise. This study aimed to explore changes in mechanical stress and reactions of muscle-tendon complexes.

**Methods:** We used Wild-type C57BL/6 mice. **Motor Tests:** the neurobehavioral development of the mouse pups was tested to evaluate their general motor function, including surface righting and ambulation. **qPCR:** The muscle and tendon responses were examined to determine the expression of genes associated with growth factor at nine-time points. **Histology:** For histological evaluation, the limbs were sectioned focus on the Achilles Tendon at 12  $\mu\text{m}$  thickness, and stained with Alcian blue, Hematoxylin and eosin, and Picrosirius red to visualize collagen.

**Results:** We showed that movement is critical for the development of molecular mechanisms at different stages of growth. We captured four phases of changes in the mechanical force of the limbs. We suggest that tendon response to mechanical stimulation is fundamentally altered by biochemical signals. Collectively, these results show that the neonatal tendon development process goes through a continuous change in mechanical force followed by the expression of growth factor markers.

**Conclusion:** The results of this study demonstrated the importance of mechanical stress in TGF- $\beta$  and Scx expression for tendon development. These findings may provide a therapeutic target for a disorder in children and tendon-related diseases.

**Key words:** Achilles Tendon, Mechanical force, Development, Tendon Maturity

---

\* Graduate School of Saitama Prefectural University, Graduate Course of Health and Social Services  
820 Sannomiya, Koshigaya-Shi, Saitama 343-8540, Japan  
E-mail: kokubun-takanori@spu.ac.jp

原 著

# 補足運動野への一過性機能脱落が予測的姿勢調整に及ぼす影響\*

久保大輔<sup>1) #</sup> 高木武蔵<sup>2) 3)</sup> 鈴木智高<sup>4)</sup> 菅原憲一<sup>4)</sup>

## 要旨

【目的】本研究の目的は、予測的姿勢調整を制御するために補足運動野が活動するタイミングを経頭蓋磁気刺激 (Transcranial magnetic stimulation: 以下, TMS) を用いて検討することである。【方法】健康成人11名は、ビーブ音に反応して上肢を挙上する課題を行った。課題中、ビーブ音から0 ms, 30 ms, 50 ms, 70 ms後のタイミングで補足運動野へTMSを付与し、三角筋と大腿二頭筋から筋電図を記録した。【結果】三角筋の筋活動開始のタイミングから前100 msの時間帯にTMSが補足運動野へ付与された場合、TMSのない試行と比較して大腿二頭筋の筋活動開始のタイミングが有意に遅延した。【結論】立位での上肢挙上課題において、補足運動野が活動するタイミングは三角筋の筋活動開始から前100 msの時間帯にあると推察された。

キーワード 予測的姿勢調整, 先行随伴性姿勢調節, 補足運動野, 経頭蓋磁気刺激, 一過性機能脱落, 仮想障害

## はじめに

予測的姿勢調整 (Anticipatory Postural Adjustments: 以下, APA) は、運動によって引き起こされる外乱を予測して、フィードフォワード的に姿勢制御筋を活動させる姿勢制御であり<sup>1)</sup>、上位中枢神経によって制御されている<sup>2)</sup>。APAは主動作による外乱の影響を最小限にし、姿勢の安定化に寄与する<sup>2)</sup>。しかし、脳卒中<sup>3) 4)</sup>、パーキンソン病<sup>5)</sup>、多発性硬化症<sup>6)</sup>、脳性麻痺<sup>7)</sup>では姿勢制御筋における筋活動の減弱や消失、さらには姿勢制御筋の活動するタイミングの遅延が生じ、中枢神経疾患患者のAPAは障害されていることが報告されている。特に、脳卒中では姿勢制御筋である麻痺側の腹直筋

における筋活動の低下と日常生活動作の指標であるBarthel Indexの低下が関連することから<sup>4)</sup>、APAの障害は姿勢の安定化を阻害し、日常生活動作の障害を引き起こす一因である可能性がある。このことから、日常生活動作の再獲得を目指すリハビリテーションにおいてAPAは重要な姿勢調節機能の要素を含んでいると考えられる。よって、APAの神経生理学的知見に関する理解は、中枢神経障害のリハビリテーションを行ううえで機能的な動作との関連が強いことから重要なことであると考えられる。

ヒトが随意運動を行うとき、上位運動中枢での調整がなされている。健常者を対象にした上肢の先行研究<sup>8)</sup>では、主動作筋の筋活動開始の直前に一次運動野の興奮性が増大することが報告されている。これは不随意的制御であるAPAにおいても同様であり、姿勢制御筋の活動する約40 ms前に一次運動野の興奮性が増大することが経頭蓋磁気刺激 (Transcranial Magnetic Stimulation: 以下, TMS) 法を用いた研究によって報告されている<sup>9)</sup>。一方で、補足運動野 (Supplementary Motor Area: 以下, SMA) の活動も上肢挙上課題や両手荷上げ課題、歩行開始課題におけるAPAの実行に関与することが指摘されている<sup>10-13)</sup>。しかし、APAの実行中におけるSMAの活動する時間的要因について調査した報告は少ない。単関節運動である両手荷上げ課題中に脳磁図と脳波で大脳の活動部位を記録した先行研究<sup>10)</sup>では、

\* Effects of Virtual Lesion to the Supplementary Motor Area on Anticipatory Postural Adjustments

1) 東海大学医学部付属病院リハビリテーション技術科 (〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋143)  
Daisuke Kubo, PT, MSc: Department of Rehabilitation Services, Tokai University Hospital (143 Shimokasuya, Isehara-shi, 259-1193, Kanagawa, Japan)  
2) 神奈川県立保健福祉大学大学院  
Musashi Takagi, PT, MSc: Kanagawa University of Human Services Graduate School  
3) イムス横浜東戸塚総合リハビリテーション病院リハビリテーション科  
Musashi Takagi, PT, MSc: Department of Rehabilitation, IMS Yokohama Higashi Totsuka General Rehabilitation Hospital  
4) 神奈川県立保健福祉大学リハビリテーション学科  
Tomotaka Suzuki, PT, PhD, Kenichi Sugawara, PT, PhD: Department of Rehabilitation, Kanagawa University of Human Services

# E-mail: d.bokukubo@tokai.ac.jp  
(受付日 2021年9月30日/受理日 2022年4月25日)  
[J-STAGEでの早期公開日 2022年6月21日]

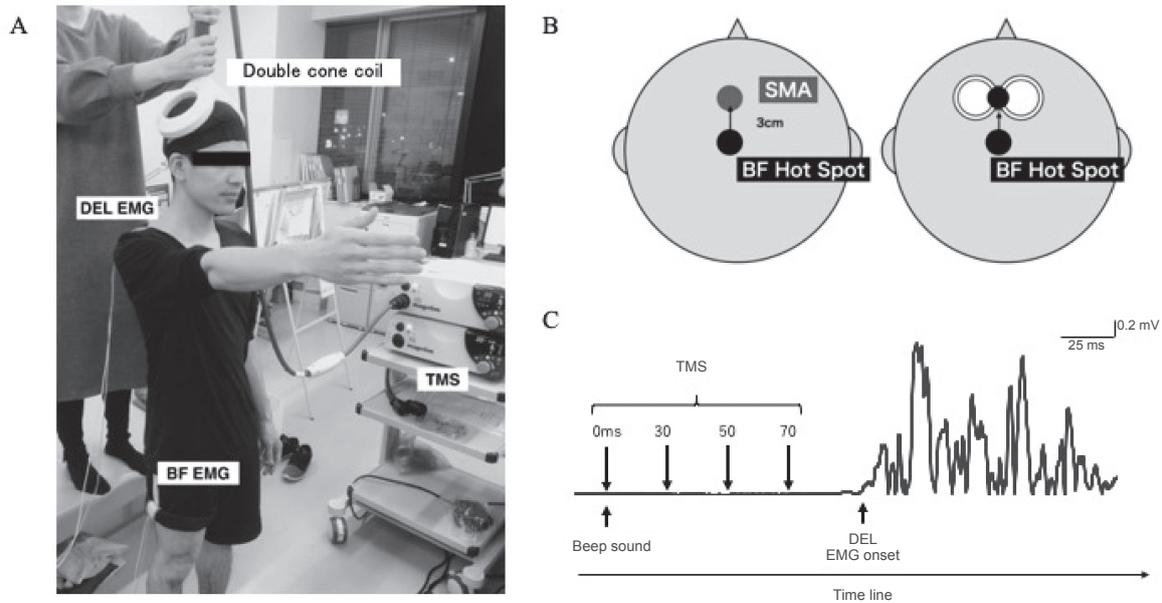


図1 研究のセッティング

DEL：三角筋，BF：大腿二頭筋，EMG：筋電図，TMS：経頭蓋磁気刺激，SMA：補足運動野  
A：上肢挙上課題，B：TMSの刺激部位，C：TMSのタイミング

APAを観察する姿勢制御筋の活動が変化する約50ms前にSMAにおける $\beta$ 帯域の脱同期反応が観察されることから、このタイミングがAPAの実行に関与している可能性が示唆されている。しかし、この両手荷上げ課題は背臥位での単関節の運動課題であり<sup>10)</sup>、多関節制御が必要とされる立位での上肢挙上課題においても同様であるかは不明である。また、両手荷上げ課題と立位での上肢挙上課題ではAPAの制御方法が異なる可能性も指摘されており<sup>14)</sup>、上肢動作の安定を担保するために働く下肢の抗重力筋の活動において、APAを実行するために必要なSMAの活動するタイミングは明らかになっていない。SMAの活動するタイミングが明らかとなれば、姿勢制御筋の筋活動のタイミングや強さの改善を目指すリハビリテーションプログラムの設計に貢献する可能性があり、重要な課題と考える。

皮質の活動するタイミングと、ある運動との関連を検討する際、一過性機能脱落と呼ばれる現象をTMSで引き起こし、調査する方法が使用されることがある。これは、ある運動に関連する脳領域に単発のTMSを付与することで関連する運動が阻害される現象として確認できる<sup>15)</sup>。先行研究<sup>15)</sup>では、主動作筋の筋活動が生じる直前に単発のTMSが運動野へ付与されると、反応時間が遅延することが報告されている。この一過性機能脱落はAPAにおいても活動するタイミングを特定するために、有用である可能性がある。

以上より、本研究の目的は立位での上肢挙上課題中にTMSを用いて、一過性機能脱落を引き起こすことで、APAの実行にかかわるSMAの活動するタイミングを特定し、その機能的な要因を検討することである。

## 対象と方法

### 1. 対象

中枢神経疾患や整形外科的疾患の既往がない20歳以上の健康成人11名（男性5名）、平均年齢〔標準偏差〕23.2〔2.5〕歳が本研究に参加した。本研究はヘルシンキ宣言に基づき、神奈川県立保健福祉大学研究倫理審査委員会の承認（承認番号：保大第71-42）を得たうえで実施した。対象者には、研究内容について十分に内容を説明し、理解したことを確認したうえで、書面にて同意を得た。

### 2. 運動課題

運動課題には立位姿勢から予告音に続く、反応音に対応して、素早く右側上肢を前方水平位まで挙上する反応時間課題を採用した（図1-A）。予告音と反応音にはビーブ音（周波数500Hz、持続時間50ms）を使用した。予告音と反応音の時間間隔は、システム開発ソフトウェア（National Instruments社製、Labview2010）にて1.0～5.0秒でランダムに変化させ、予告音から次の予告音の時間間隔は10.0秒とした。予告音と反応音は、対象者に十分に聞こえることを計測前に確認した。

開始肢位は体幹を直立にし、上肢を身体の側面に安楽な状態で下垂する立位姿勢とした。このときの足間距離は、肩峰間距離と同じ距離に設定し、視線は3m前方にある壁面上の目印を注視するように対象者へ指示した。対象者は予告音に続く、反応音に対応して、素早く右側上肢を前方水平位まで挙上し、終了肢位を約3秒間保持する課題を行った。最初にTMSを付与しないコン

トロールを15回計測した後、反応音から0 ms, 30 ms, 50 ms, 70 ms後にTMSを付与する課題を各15回、合計60回の計測を行った。

### 3. 筋電図とTMS

APAを評価するために表面筋電図計測を行い、誘発電位・筋電図検査装置Neuropack（日本光電社製、ME B-2306）を使用した。電極はディスプレイ電極（積水化成工業社製、バイオロードSDC-V）を使用した。対象者の皮膚へ電極を貼り付ける前に、皮膚処理としてアルコール綿を用いて清拭処理を行った。筋電図を測定する筋は反応を行う右三角筋前部線維（Deltoid Anterior：以下、DEL）とAPAを観察する左大腿二頭筋（Biceps Femoris：以下、BF）とし、電極を筋腹へ貼り付けた。また、アース電極は右側腓骨の外果へ貼り付けた。筋電図波形はバンドパスフィルタでフィルタリングし（5 Hz～2,000 Hz）、サンプリング周波数4,000 Hzで、TMS刺激および反応音と共にA/D変換を行い、Power Labシステム（AD Instruments社製）を使用して、コンピュータに記録した。

APAの制御中枢であるSMAに対して攪乱を与えるため、TMS（Magstim社製、Magstim 200）を用いた。TMSにはダブルコイルを使用した。対象者は水泳帽を着用し、鼻根と後頭結節を結ぶ線と左右の耳介前点を結ぶ線の交点（Cz）を同定し、計測するBFと反対側の脳半球に5 cm × 5 cmの格子状の目印をマスキングテープで作成した。これは先行研究<sup>11)</sup>で、計測するBFと反対側のSMAがAPAの実行に関与していることが報告されているためである。刺激するSMAは運動誘発電位が最も誘発される部位から約3 cm前方であることから<sup>16)</sup>、本研究では右側BFの運動誘発電位が最も誘発される位置から3 cm前方の位置とした（図1-B）。また、TMSによって発生する渦電流が後方から前方に向かって流れるよう、2つのコイルの中心が正中矢状面に位置するように配置した。なお、同一部位を刺激することを確実にするため、刺激コイルの位置を水泳帽にマーキングした。SMAを刺激する際の刺激強度には、運動閾値下の強度を用いた（平均値 [標準偏差]：47.5 [4.5] %）。運動閾値下の設定手順は、BFの運動誘発電位が最も誘発される部位における運動閾値（50%の確率で50  $\mu$ V以上の運動誘発電位が誘発される強度）を定め、その後1%ずつ刺激強度を漸減し、100%の確率で運動誘発電位が出現しない強度に設定した。なお、この強度設定は安静立位の状態で行った。この刺激強度に設定した理由として、SMAへの電気刺激で誘発筋電図が出現する例があることから<sup>17)</sup>、SMAをTMSで刺激した際に、筋電図波形に運動誘発電位が混入することで正確な筋活動開始時間を特定できない可能性があること

考えたためであった。その後、上述した反応音から0 ms, 30 ms, 50 ms, 70 ms後のタイミングにSMAをTMSで刺激した（図1-C）。TMSが付与されたタイミングは、Power Labシステムを使用し、筋電図波形と同期させ、記録した。

### 4. 解析方法と統計処理

記録した筋電図波形は全て全波整流化を行った。各筋の筋活動開始時間（Electromyography onset：以下、EMG onset）を求めるために、まず基準となる安静立位時の筋電図波形である各反応音前500 msの区間の平均値と標準偏差（Standard deviation：以下、SD）を求めた。その安静時筋電図に対して平均値+3SDを超えたタイミングをEMG onsetとして定義した。データはDELのEMG onsetとTMSが付与されたタイミングから2群に分類した。姿勢制御筋にAPAとしての筋活動が観察される時間帯は、DELのEMG onsetから-100 msの時間帯（time window）であることから<sup>2)</sup>、この時間帯にSMAがAPAを実行するために活動する可能性が高いと考え、DELのEMG onsetから前100 msの区間にTMSの刺激が付与された試行をAPA-windowとし、これよりも以前の時間帯にTMSの刺激が付与された試行をAPA-outとして分類した。その後、DELのEMG onsetに対するBFのEMG onsetの時間を求めるため、DELのEMG onsetからBFのEMG onsetの時間差を試行毎に算出し、これを $\Delta$ APAとして定義した。算出された試行毎の $\Delta$ APAは平均し、対象者の代表値とした。

また、積分筋電図比（Integrated Electromyography Ratio：以下、iEMG ratio）を用いて各筋の筋活動の振幅の程度をコントロール、APA-out、APA-windowで比較し、検討した。iEMG ratioは、各筋のEMG onsetから後50 msの区間の筋電図積分値を、安静状態の筋電図積分値（反応音から-500 msの区間）で除した値とし、試行毎に算出した。算出した各試行のiEMG ratioの平均値を代表値として採用した。

統計解析ソフトには、R studioを使用した。個人差を考慮した分析を行うため、線形混合モデルによる反復測定の一元配置分散分析を採用した。反応音からTMSが付与されたタイミング別の分析では、従属変数を、 $\Delta$ APA、DELのEMG onset、各筋におけるiEMG ratioとし、変量効果を被験者内変動、固定効果 [水準] をTMSが付与されたタイミング [コントロール、反応音から0 ms, 30 ms, 50 ms, 70 ms] とした。また、DELのEMG onsetからTMSが付与されたタイミング別の分析では、従属変数を、DELのEMG onset、 $\Delta$ APA、各筋におけるiEMG ratioとし、変量効果を被験者内変動、固定効果 [水準] をTMSが付与されたタイミング [コントロー

表1 分散分析における主効果の結果

	DF 1	DF 2	F 値	P 値
反応音から TMS が付与されたタイミング別の比較				
△APA [ms]	4	40	6.59	< 0.01
DEL EMG onset [ms]	4	40	13.35	< 0.01
DEL iEMG ratio	4	40	4.46	0.01
BF iEMG ratio	4	40	1.84	0.14
コントロール, APA-out, APA-window での比較				
△APA [ms]	2	17.1	9.87	< 0.01
DEL EMG onset [ms]	2	16.5	27.16	< 0.01
DEL iEMG ratio	2	17.5	2.74	0.09
BF iEMG ratio	2	17.0	1.28	0.30

△APA：三角筋の筋活動開始時間と大腿二頭筋の筋活動開始時間の差, DEL EMG onset：三角筋の筋活動開始時間, DEL iEMG ratio：三角筋の積分筋電図比, BF iEMG ratio：大腿二頭筋の積分筋電図比, DF：自由度.

表2 反応音から TMS が付与されたタイミング別における固定効果の結果

	推定値	標準誤差	自由度	T 値	P 値
△APA [ms]					
切片	-23.26	5.87	23.60	-3.96	< 0.01
0 ms	4.25	5.70	40.00	0.75	0.46
30 ms	12.06	5.70	40.00	2.12	0.04
50 ms	23.46	5.70	40.00	4.12	< 0.01
70 ms	21.64	5.70	40.00	3.80	< 0.01
DEL EMG onset [ms]					
切片	112.72	8.88	12.59	12.69	< 0.01
0 ms	-28.59	4.67	40.00	-6.13	< 0.01
30 ms	-26.76	4.67	40.00	-5.73	< 0.01
50 ms	-23.93	4.67	40.00	-5.13	< 0.01
70 ms	-12.17	4.67	40.00	-2.61	0.01
DEL iEMG ratio					
切片	2.94	0.45	26.35	6.61	< 0.01
0 ms	1.03	0.46	40.00	2.25	0.03
30 ms	-0.37	0.46	40.00	-0.80	0.43
50 ms	-0.69	0.46	40.00	-1.51	0.14
70 ms	-0.50	0.46	40.00	-1.10	0.28

△APA：三角筋の筋活動開始時間と大腿二頭筋の筋活動開始時間の差, DEL EMG onset：三角筋の筋活動開始時間, DEL iEMG ratio：三角筋の積分筋電図比. 切片は, TMS が付与されていない試行 (コントロール) を意味する.

ル, APA-window, APA-out] とした。いずれも, 統計学的有意水準は 5% とした。

## 結 果

△APA の平均値 [SD] は, コントロールが -23.3 [23.5] ms, 反応音から 0 ms, 30 ms, 50 ms, 70 ms の順に -19.0 [16.9] ms, -11.2 [19.3] ms, 0.20 [19.3] ms, -1.62 [17.5] ms であった。また, APA-out と APA-window における △APA の平均値は, それぞれ -30.8 [18.5] ms, -3.75 [11.5] ms であった。なお, 負の値は BF の EMG onset が DEL の EMG onset よりも先行していることを

示す。表 1 に分散分析の主効果の結果を示す。また, 分散分析における主効果で有意な差を認めた項目における固定効果の結果を表 2 に示す。△APA は, コントロール (切片) と比較して 30 ms, 50 ms, 70 ms で有意な差を認め, TMS の付与されるタイミングが反応音から遅くなるに従い, DEL の EMG onset に対する BF の EMG onset が先行しなくなる傾向があった (表 2, 図 2-A)。最も BF の EMG onset が先行しなかったのは, 反応音から 50 ms 後に TMS が付与された試行であった。

図 3 に上肢挙上課題中に大腿二頭筋から記録した BF の EMG onset の代表例を示す。また, コントロール,

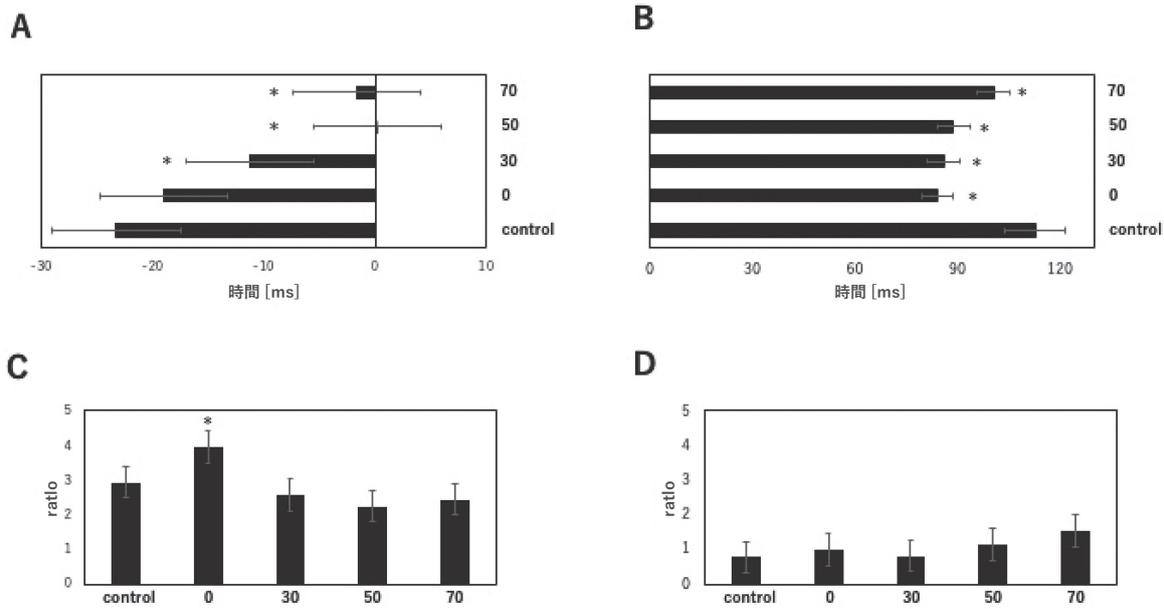


図2 反応音から TMS が付与されたタイミング別の結果

A :  $\Delta$ APA, B : DEL の EMG onset, C : DEL iEMG ratio, D : BF iEMG ratio

値は各指標の推定値と標準誤差を示す。  $\Delta$ APA において、黒グラフは DEL の EMG onset (0 ms) に対する BF の EMG onset を示す。負の値は、BF の EMG onset が DEL の EMG onset よりも先行していることを意味する。DEL の EMG onset において、0 は反応音を示す。アスタリスク (\*) は、コントロールと比較して有意な差 ( $P < 0.05$ ) があることを示す。

APA-window, APA-out に対する分散分析の主効果で有意な差を認めた項目における固定効果の結果を表 3 に示す。  $\Delta$ APA はコントロール (切片) と APA-out では有意な差を認めなかったが、コントロールと APA-window の間に有意な差を認めた (表 3, 図 4-A)。すなわち、DEL の EMG onset に近いタイミングに TMS が SMA へ付与されると、BF の EMG onset は遅延する結果となった。また、DEL の筋活動の程度を示す DEL の iEMG ratio は条件間で有意な差を認めなかった (表 1, 図 4-C)。これは、各条件間で運動による外乱が同程度であったことを示す。また、BF の iEMG ratio においても条件間に有意な差を認めなかった (表 1, 図 4-D)。これは、各条件間で APA としての BF の筋活動は同程度であったことを示す。

## 考 察

本研究結果は、姿勢制御筋の先行的な筋活動が生じる DEL の EMG onset から前 100 ms の区間 (APA-window) に TMS が付与されると、コントロールと比べて BF の EMG onset が遅延する結果となった。すなわち、DEL の EMG onset から前 100 ms の時間帯は、APA のプログラムを実行するために SMA が特異的に活動する時間帯である可能性が示唆された。その論拠を以下に述べる。

先行研究<sup>18)</sup>では、健常者を対象に随意的な調節がなされる主動筋の EMG onset の直前に TMS を頭頂部あるいは運動野に付与すると、EMG onset が遅延することが報告されている。これは、TMS が付与された部

位に生じるべき皮質の活動を TMS が阻害するために EMG onset が遅延すると考えられている。一方、不随意的な調節がなされる姿勢制御筋の活動と皮質の活動部位・タイミングを脳波と脳磁図を使用して調査した先行研究<sup>10)</sup>では、健常者の両手荷上げ課題において、姿勢制御筋の筋活動の変化が生じる約 50 ms 前に SMA における  $\beta$  帯域の脱同期反応がみられることが明らかにされている。本研究のコントロールにおける BF の EMG onset の平均値は、DEL の EMG onset の前 23.3 ms であることから、SMA の活動する時間帯は APA-window 内である可能性が考えられ、先行研究<sup>10)</sup>を部分的に支持する結果となった。このことから、立位の上肢挙上課題における SMA の活動する時間は DEL の EMG onset から前 100 ms の時間内にあると考えられた。

また、本研究ではコントロールと APA-out, APA-window の間で主動筋や姿勢制御筋の筋活動の大きさに統計学的な有意な差は認めなかった。TMS による EMG onset の遅延は、筋活動のパターンを変化させることなく、反応時間のみを変化させることが報告されている<sup>15)</sup>。これは、本研究で用いた手法が EMG onset のみを変化させる手法であることから、本研究においても筋活動の大きさに影響を与えなかったと推察された。また、BF の EMG onset は、上肢を挙上する加速度によって変化するが<sup>19)</sup>、本結果では随意的主動筋である DEL の筋活動の大きさにも統計学的に有意差がなかった。これは、本結果で得られた条件間の EMG onset の差異が、パフォーマンスの変化に伴うものではなく、

SMA に付与された TMS が SMA の活動を攪乱したことによって生じた結果であると推察された。

本研究の限界は、足圧中心の位置が規定できていない点である。姿勢制御筋の EMG onset は、足圧中心の位

置によって変化することが報告されているが<sup>20)</sup>、EMG と同期して計測することができなかったため、計測しなかった。従って、本研究における BF の EMG onset の結果が、足圧中心の位置が変化したことによる結果であるかは不明である。

中枢神経疾患患者では主動作筋に先行する姿勢制御筋の EMG onset の遅延や筋活動が減弱することが報告されており<sup>3-7)</sup>、APA に着目したりハビリテーション手法の開発が進められている<sup>21)</sup>。本研究の結果は、APA に起因する中枢神経疾患患者の諸問題を解決するリハビリテーション手法の開発において、重要な神経生理学的メカニズムである可能性が考えられる。

## 結 論

本研究では、立位における APA を制御するために SMA が活動するタイミングを特定することを目的に TMS を用いた検討を行った。BF の先行的な活動が生じる DEL の EMG onset から前 100 ms の区間に TMS が付与されると、BF の EMG onset は遅延した。このことから、立位での上肢挙上課題の APA において、SMA の活動するタイミングは主動作筋の活動開始から前 100 ms の時間内に存在することが推定された。

## 利益相反

本報告において開示すべき COI はない。

謝辞：本報告を快く承諾していただいた対象者の皆様に深謝申し上げます。

## 文 献

- 1) Woollacott M: Anticipatory postural responses. In Encyclopedia of Neuroscience, Binder MD, Hirokawa N, Windhorst U (Ed). Heidelberg, Springer-verlag, pp 134-135, 2009
- 2) Massion J: Movement, posture and equilibrium: interac-

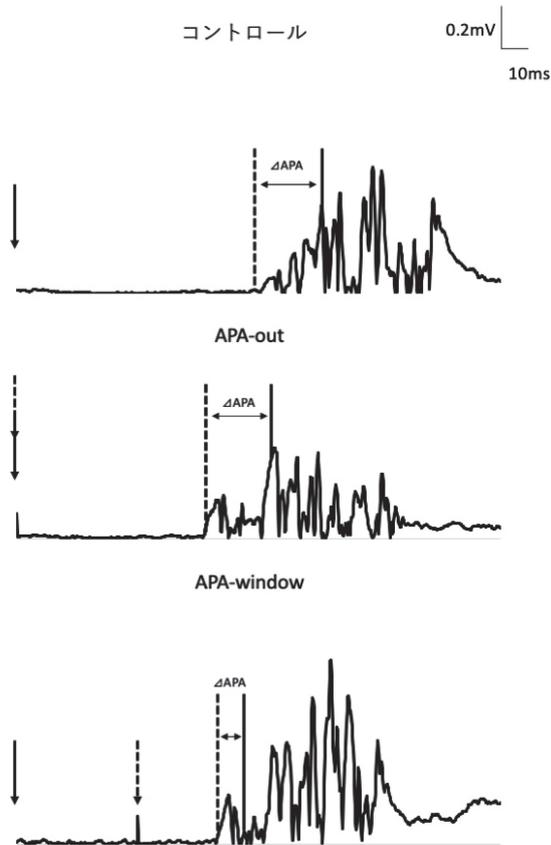


図3 上肢挙上課題中に記録された大腿二頭筋の筋活動の代表例

実線矢印は反応音を示し、破線の矢印は TMS が付与されたタイミングを示す。破線は大腿二頭筋の筋活動開始のタイミング、実線は三角筋の筋活動開始のタイミングを示す。Δ APA は、三角筋の筋活動開始のタイミングと大腿二頭筋の筋活動開始のタイミングの差を示す。APA-out は DEL の EMG onset から前 100 ms よりも早期に TMS が付与された試行であり、APA-window は DEL の EMG onset から前 100 ms の範囲内に TMS が付与された試行である。

表3 DEL の EMG onset から TMS が付与された各タイミングにおける固定効果の結果

	推定値	標準誤差	自由度	T 値	P 値
ΔAPA [ms]					
切片	-23.26	5.50	18.60	-4.23	< 0.01
APA-out	-5.47	6.40	17.48	-0.85	0.40
APA-window	19.51	5.44	16.48	3.58	< 0.01
DEL EMG onset [ms]					
切片	112.72	6.79	14.59	16.60	< 0.01
APA-out	16.54	6.22	16.70	2.66	0.017
APA-window	-26.84	5.25	16.14	-5.11	< 0.01

ΔAPA：三角筋の筋活動開始時間と大腿二頭筋の筋活動開始時間の差、DEL EMG onset：三角筋の筋活動開始時間。切片は、TMS が付与されていない試行（コントロール）を意味する。DEL EMG onset は、反応音から DEL の EMG onset までの反応時間を示す。APA-out は TMS が DEL の EMG onset から前 100 ms よりも早期に付与された試行、APA-window は TMS が DEL の EMG onset から前 100 ms の範囲内に付与された試行を示す。

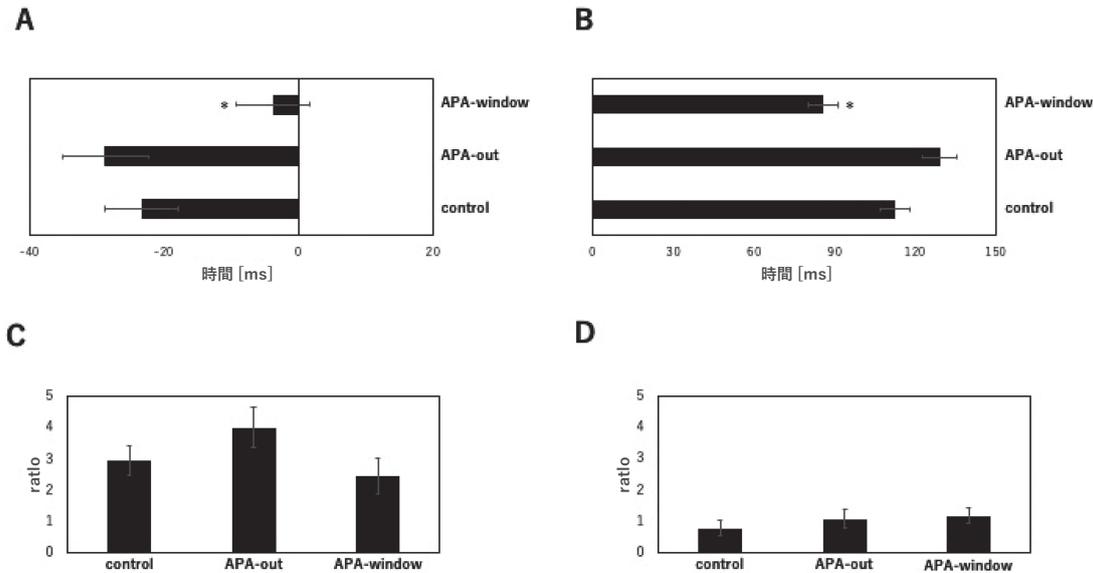


図4 DELのEMG onsetからTMSが付与されたタイミング別の結果

A:  $\Delta$ APA, B: DELのEMG onset, C: DEL iEMG ratio, D: BF iEMG ratio. 値は各指標の推定値と標準誤差を示す。 $\Delta$ APAにおいて、黒グラフはDELのEMG onset (0 ms) に対するBFのEMG onsetを示す。負の値は、BFのEMG onsetがDELのEMG onsetよりも先行していることを意味する。DELのEMG onsetにおいて、0は反応音を示す。アスタリスク (\*) は、コントロールと比較して有意な差 ( $P < 0.05$ ) があることを示す。

- tion and coordination. *Prog Neurobiol* 38: 35–56, 1992
- 3) Slijper H, Latash ML, Rao N, Aruin AS: Task-specific modulation of anticipatory postural adjustments in individuals with hemiparesis. *Clin Neurophysiol* 113: 642–655, 2002
  - 4) Dickstein R, Shefi S, Marcovitz E, Villa Y: Anticipatory postural adjustment in selected trunk muscles in poststroke hemiparetic patients. *Arch Phys Med Rehabil* 85: 261–267, 2004
  - 5) Viallet F, Massion J, Massarino R, Khalil R: Performance of a bimanual load-lifting task by parkinsonian patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 50: 1274–1283, 1987
  - 6) Krishnan V, Kanekar N, Aruin AS: Feedforward postural control in individuals with multiple sclerosis during load release. *Gait Posture* 36: 225–230, 2012
  - 7) Shiratori T, Girolami GL, Aruin AS: Anticipatory postural adjustments associated with a loading perturbation in children with hemiplegic and diplegic cerebral palsy. *Exp Brain Res* 234: 2967–2978, 2016
  - 8) Chen R, Yaseen Z, Cohen LG, Hallett M: Time course of corticospinal excitability in reaction time and self-paced movements. *Ann Neurol* 44: 317–325, 1998
  - 9) Chiou SY, Hurry M, Reed T, Quek JX, Strutton PH: Cortical contributions to anticipatory postural adjustments in the trunk. *J Physiol* 596: 1295–1306, 2018.
  - 10) Ng THB, Sowman PF, Brock J, Johnson BW: Premovement brain activity in a bimanual load-lifting task. *Exp Brain Res* 208: 189–201, 2011
  - 11) Nomura T, Kirimoto H: Anodal transcranial direct current stimulation over the supplementary motor area improves anticipatory postural adjustments in older adults. *Front Hum Neurosci* 12: 1–7, 2018
  - 12) Richard A, Van Hamme A, Drevelle X, Golmard JL, Meunier S, Welter ML: Contribution of the supplementary motor area and the cerebellum to the anticipatory postural adjustments and execution phases of human gait initiation. *Neuroscience* 358: 181–189, 2017
  - 13) Viallet F, Massion J, Massarino R, Khalil R: Coordination between posture and movement in a bimanual load lifting task: putative role of a medial frontal region including the supplementary motor area. *Exp Brain Res* 88: 674–684, 1992
  - 14) Aruin A: The organization of anticipatory postural adjustments. *J Autom Control* 12: 31–37, 2002
  - 15) Day BL, Rothwell JC, Thompson PD, De Noordhout AM, Nakashima K, Shannon K: Delay in the execution of voluntary movement by electrical or magnetic brain stimulation in intact man. *Brain* 112: 649–663, 1989
  - 16) Matsunaga K, Maruyama A, Fujiwara T, Nakanishi R, Tsuji S, Rothwell JC: Increased corticospinal excitability after 5 Hz rTMS over the human supplementary motor area. *J Physiol* 562: 295–306, 2005
  - 17) Kikuchi T, Matsumoto R, Mikuni N, Yokoyama Y, Matsumoto A, Ikeda A, Fukuyama H, Miyamoto S, Hashimoto N: Asymmetric bilateral effect of the supplementary motor area proper in the human motor system. *Clin Neurophysiol* 123: 324–334, 2012
  - 18) Berardelli A, Inghilleri M, Polidori L, Priori A, Mercuri B, Manfredi M: Effects of transcranial magnetic stimulation on single and sequential arm movements. *Exp Brain Res* 98: 501–506, 1994
  - 19) Lee WA, Buchanan TS, Rogers MW: Effects of arm acceleration and behavioral conditions on the organization of postural adjustments during arm flexion. *Exp Brain Res* 66: 257–270, 1987
  - 20) Fujiwara K, Maeda K, Toyama H: Influences of illusory position perception on anticipatory postural control associated with arm flexion. *J Electromyogr Kinesiol* 13: 509–517, 2003
  - 21) Curuk E, Lee Y, Aruin AS: Individuals with stroke improve anticipatory postural adjustments after a single session of targeted exercises. *Hum Mov Sci* 69: 102559, 2020

## Effects of Virtual Lesion to the Supplementary Motor Area on Anticipatory Postural Adjustments

Daisuke Kubo,<sup>1\*</sup> Musashi Takagi,<sup>2,3</sup> Tomotaka Suzuki,<sup>4</sup> Kenichi Sugawara<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Rehabilitation Services, Tokai University Hospital

<sup>2</sup> Kanagawa University of Human Services Graduate School

<sup>3</sup> Department of Rehabilitation, IMS Yokohama Higashi Totsuka General Rehabilitation Hospital

<sup>4</sup> Department of Rehabilitation, Kanagawa University of Human Services

**Purpose:** The purpose of this study was to use transcranial magnetic stimulation (TMS) to estimate the time period during which the supplementary motor area is active to generate anticipatory postural adjustments (APA).

**Methods:** Electromyograms (EMG) were recorded from the deltoid and biceps femoris muscles of eleven healthy subjects, and a reaction time task was performed by raising the right upper limb in a standing position. During the task, TMS was applied to the supplementary motor area at 0 ms, 30 ms, 50 ms, and 70 ms after the reaction sound. The trials were classified into two groups: trials in which TMS was administered in the 100-ms time period before the onset of deltoid muscle activity (APA-window) and trials with a earlier interval (APA-out). The EMG activities of the deltoid and biceps femoris muscles were also integrated to compare the muscle activities.

**Results:** TMS administered in the APA-window period significantly delayed the onset time of muscle activity of the biceps femoris compared to control.

**Conclusion:** In a standing arm raising task, the time at which the supplementary motor cortex is active to generate APAs was estimated to be within 100 ms before the onset of deltoid muscle activity.

**Key words:** Anticipatory Postural Adjustments, Anticipatory Postural Control, Supplementary Motor Area, Transcranial Magnetic Stimulation, Virtual Lesion

---

\* Department of Rehabilitation Services, Tokai University Hospital  
143 Shimokasuya, Isehara-shi, 259-1193, Kanagawa, Japan  
E-mail: d.bokukubo@tokai.ac.jp

原 著

## 社会的敗北ストレスモデルラットでは侵害刺激に対する 脊髄後角表層ニューロンの興奮性が増大する\*

井上 創太<sup>1)</sup> 太田 大樹<sup>1)2)</sup> 田口 徹<sup>1)2) #</sup>

### 要旨

社会的敗北ストレス (以下, SDS) は痛覚過敏を惹起するが, その病態機構は未解明である。本研究では, SDS 誘発性疼痛の脊髄機構の解明を試みた。SDS 誘発性疼痛モデルは, Sprague-Dawley ラットに対し, 体格の大きな Long-Evans ラットを直接および間接的に接触させて作製した。ホルマリンテストを用い, モデルラットの疼痛関連行動を調べた。また, ホルマリンによる痛み刺激後の脊髄ニューロンの興奮性を定量化するため, 神経活性化マーカーである c-Fos 陽性細胞の L3～L5 腰髄後角での分布と数を調べた。SDS モデルでは, ホルマリンテストの第 II 相において疼痛関連行動が顕著に亢進し, 侵害受容に重要な後角表層における c-Fos 陽性細胞数が増加した。これらの結果より, SDS 誘発性疼痛モデルラットでは痛み刺激に対する脊髄後角表層ニューロンの興奮性が増大し, これが疼痛関連行動の亢進にかかわると考えられた。

キーワード 社会的敗北ストレス, ストレス誘発性疼痛, 脊髄後角表層, ホルマリンテスト, c-Fos

### はじめに

一般に, 急性ストレスは侵害受容を抑制し, 痛みの知覚を緩和する。これをストレス誘発性鎮痛 (Stress-induced analgesia: SIA) という<sup>1)</sup>。一方, 近年, 長期間の持続的ストレスが痛みを発症・増悪することが報告されており, これをストレス誘発性疼痛 (stress-induced pain: 以下, SIP) とよぶ<sup>2)3)</sup>。SIP やストレスが引き金となる線維筋痛症では, 炎症や神経損傷のような特定の病変が明らかでなく, その診断に有用なバイオマーカーや決定的な治療法・治療薬はない。近年, このような慢性難治性の痛みを「痛覚変調性疼痛 (nociplastic pain)」として分類し, その病態機構解明や有効薬物の探索を目的とした基礎研究が展開されている。これまで

に, 強制水泳 (水回避) ストレス<sup>4)</sup> や慢性拘束ストレス<sup>5)</sup>, 繰り返し寒冷ストレス<sup>6)</sup>, サウンドストレス<sup>7)</sup>, 複合持続ストレス<sup>8)</sup>, 母子分離ストレス<sup>9)</sup> など, 多様な肉体的・精神的ストレスの持続的負荷により, 痛覚過敏をはじめ, 精神症状や自律神経症状のような SIP に特徴的な臨床症状を呈する基礎研究モデルが報告されている。

近年, 上記のストレスモデルに加え, 社会的敗北ストレス (social defeat stress: 以下, SDS) が SIP 研究に有用なモデルとして報告されている<sup>10)</sup>。SDS は, 職場や学校でのいじめなど, 社会的に立場の弱い者が, 立場の強い者から受けるストレスであり, 不安や抑うつなどの気分障害, 睡眠障害, 自律神経症状などの様々な臨床症状を呈するだけでなく, 慢性痛の有訴率を高めると報告されている<sup>11-13)</sup>。その詳細な実態調査はないものの, 高ストレス環境下での長時間労働などを背景に, SDS を含む様々なストレスが痛覚変調性要素の強い難治性疾患を発症し, 理学療法をはじめとするリハビリテーション医療の妨げになっていると推測される。これまでにごっ歯類を用いた基礎研究においても, SDS 負荷が機械および熱痛覚過敏やアロディニア, 抑うつや不安, 心因性発熱 (ストレス性発熱) など, SIP 患者に類似した症状を示すことがわかっている<sup>14-17)</sup>。また, SDS モデ

\* Hyperexcitability of Superficial Dorsal Horn Neurons in the Spinal Cord of a Rat Social Defeat Stress-induced Pain Model

1) 新潟医療福祉大学運動機能医科学研究所  
Sota Inoue, Hiroki Ota, PT, DSc, Toru Taguchi, PT, DSc: Institute for Human Movement and Medical Sciences (IHMMMS), Niigata University of Health and Welfare

2) 新潟医療福祉大学リハビリテーション学部理学療法学科  
(〒950-3198 新潟県新潟市北区島見町1398)  
Hiroki Ota, PT, DSc, Toru Taguchi, PT, DSc: Department of Physical Therapy, Faculty of Rehabilitation, Niigata University of Health and Welfare (1398 Shimami-cho, Kita-ku, Niigata 950-3198, Japan)

# E-mail: tagu@nuhw.ac.jp  
(受付日 2022年3月25日/受理日 2022年5月26日)  
[J-STAGEでの早期公開日 2022年6月27日]

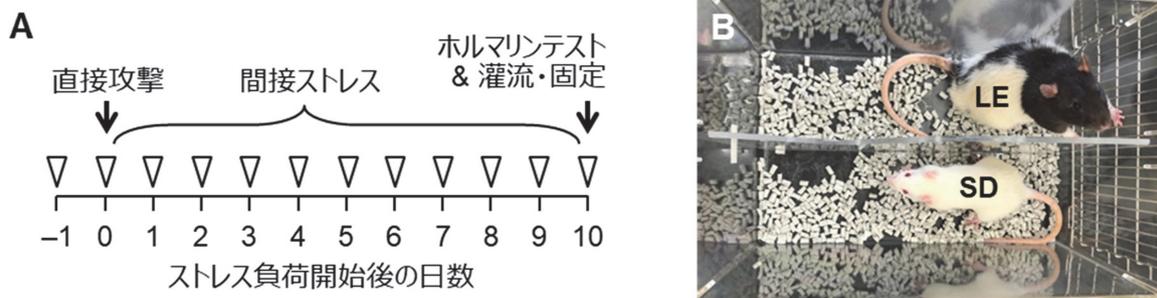


図1 実験スケジュールおよび社会的敗北ストレス (SDS) モデルの作製

A: 実験スケジュール. SDS 負荷開始当日 (0 日目) に Sprague-Dawley (SD) ラットと Long-Evans (LE) ラットを 10 分間身体的に接触させ、LE ラットに SD ラットを攻撃させた (直接攻撃). その後 10 日間、SD ラットに対して間接ストレスを与え、SDS モデルを作製した. 期間中、ラットの全身状態を調べるため、毎日体重を測定した (▽印). B: 間接ストレス負荷の様子. 直接攻撃後、写真のように中央を透明なアクリル板で仕切ったケージ内で両者を飼育した. 同様に、飼育ケージ内で LE ラットが不在のまま 10 日間飼育し、直接攻撃を与えない個体を対照群とした. 対照群と SDS 群のラットに対し、10 日目にホルマリンテストを実施後、灌流・固定を行った.

ルマウスでは、脊髄ミクログリアの活性化による種々の炎症性サイトカインの産生・放出が疼痛関連行動の亢進にかかわると報告されている<sup>18)</sup>。しかしながら、これまでに、SDS モデルの痛覚受容や伝達にかかわる脊髄ニューロンの興奮性変化は明らかでない。そこで本研究では、SDS 負荷モデルラットを用い、ホルマリンテストによる痛覚行動試験 (行動実験)、および痛み刺激により脊髄後角に発現する c-Fos 陽性細胞の免疫組織化学染色より、SDS 誘発性疼痛の脊髄機構の解明を試みた。なお、c-Fos タンパク質は最初期遺伝子の 1 つである *c-fos* からコードされ、その発現量は痛み刺激の強さとよく相関することが知られている<sup>19)</sup>。また、c-Fos タンパク質は痛み刺激により中枢神経系の侵害受容ニューロンの核内に発現するため、痛みの局在 (somatotopy) や強度を定量化するための神経マーカーとして汎用されている<sup>20)</sup>。

## 対象と方法

### 1. 実験動物

雄性 Sprague-Dawley (以下、SD) ラットを 12 匹、および、雄性 Long-Evans (以下、LE) ラットを 2 匹用いた。すべてのラットは室温を 22～24℃、12 時間ごとの明暗サイクル (明期: 7～19 時) に設定した部屋で飼育した。実験期間中、エサと水は自由に摂取させた。すべての実験手順は国際疼痛学会の指針<sup>21)</sup> に則り、新潟医療福祉大学動物実験委員会の承認 (承認番号: 29019) を得て行った。

### 2. SDS モデルの作製

SDS モデルラットの作製は先行研究<sup>10)</sup> に準じた。被攻撃者として雄性 SD ラットを用いた (ストレス負荷開始日: 7 週齢, 体重: 244～291 g)。一方、攻撃者として雄性 LE ラットを用いた (ストレス負荷開始日: 16

～23 週齢, 体重: 523～604 g)。SD ラットを対照群 (CTR 群, 6 匹) と社会的敗北ストレス負荷群 (SDS 群, 6 匹) に分けた。すべての SD ラットおよび LE ラットはストレス負荷開始の前日まで、飼育ケージに 1 匹ずつ飼育した。

ストレス負荷開始当日、新しい床敷を敷いた未使用のケージを用意し、ケージ内に SD ラットを入れ、順化させた (5～10 分間)。次に、この SD ラットの入ったケージ内に LE ラットを入れ、10 分間の身体的接触 (直接攻撃) 期間を設けた (図 1A)。その後、SD ラットと LE ラットを透明なアクリル板で仕切った飼育ケージに移し、直接的な身体接触はないが、同一ケージ内で互いが近距離にみえる状態で 10 日間飼育した (※間接ストレス, 図 1B)。この間、全身状態を確認するためラットの体重を毎日測定し、ストレス負荷前後での体重の増減を経時的に調べた。なお、CTR 群の SD ラットには LE ラットとの直接接触や間接ストレスを与えず、SDS 群のラットと同様、透明なアクリル板の仕切りのついた飼育ケージで 10 日間飼育した。

### 3. ホルマリンテスト

SDS 負荷モデルラットにおける疼痛関連行動の変化を調べるため、痛みの基礎研究で汎用されるホルマリンテストを実施した<sup>22)</sup>。テスト 30 分前から SD ラットをチャンバー (縦: 21 cm, 横: 21 cm, 高さ: 12.5 cm) に入れ、環境に順化させた。30 ゲージの注射針を装着したシリンジを用い、5% ホルマリン溶液 (50  $\mu$ l) を左足底部皮下に約 15～20 秒かけて投与した。投与後、ラットを速やかにテストチャンバーに戻し、2 台のビデオカメラで疼痛関連行動を撮影した。ホルマリン投与部位を舐める (licking)、噛む (biting)、挙上する (lifting) 動作を疼痛関連行動と定義し、その 5 分ごとの積算時間を投与後 60 分まで記録・算出した。

#### 4. 免疫組織化学

末梢への痛み刺激により惹起される痛覚シグナルの脊髄内投射が、SDS モデルラットで亢進するかを明らかにするため、ホルマリンによる痛み刺激後に脊髄後角で発現する c-Fos タンパクの免疫組織化学染色を行った。

本研究では、ホルマリンテストを実施した個体を用い、ホルマリン投与から2時間後（つまり、ホルマリンテスト終了から1時間後）、ペントバルビタールナトリウム（80 mg/kg）を腹腔内投与し、ラットに深麻酔をかけた。0.01 M リン酸緩衝生理食塩水（phosphate-buffered saline：以下、PBS）および10%ホルマリン液を左心室より投与し、灌流・固定を行った。腰髄を取り出し、分節ごとに切り分けた後、後固定した（4℃、一晚）。組織サンプルを10%および20%スクロース液で段階的に置換後、OCT コンパウンドにて包埋し、ディープフリーザー（-80℃）で冷凍保存した。

ホルマリンを投与した足底部のデルマトーム<sup>23)</sup>に相当するL3～L5腰髄をクライオスタット（CM3050S, Leica）を用い、40 μm厚に薄切した。1個体1髓節あたり、2枚の切片を染色・解析した。染色手順は先行研究に準じた<sup>24)</sup>。薄切切片をPBSで洗浄後、内在性ペロオキシターゼの不活化および非特異的染色のブロッキングを実施し、c-Fos に対する1次抗体（1:5000, sc-52, Santa Cruz）に反応させた（4℃、3日間）。その後、ビオチン化2次抗体（BA-1000, Vector Laboratories）およびアビジン-ビオチン複合体に順次反応させ、最後にニッケルを添加したジアミノベンジジン（DAB-Ni）を用い、c-Fos タンパクを可視化した。切片をスライドガラスに貼り付け、脱水・透徹後、カバーガラスを用いて封入した。

#### 5. c-Fos 陽性細胞の分布および数の解析

L3～L5腰髄において、1個体1髓節あたり2枚ずつ（2枚×3髓節×6匹×2群＝合計：72枚）の切片を解析した。切片を光学顕微鏡（CX23, オリンパス）にて観察し、1枚の切片におけるc-Fos 陽性細胞の局在を標準化した脊髄チャートにプロットした。Molanderらの分類<sup>25)</sup>に倣い、脊髄後角をI-II層、III-IV層、V-VI層、X層の4領域に分け、c-Fos 陽性細胞数をカウントした。カウントの際、検者に対してブラインドをかけ、解析対象のスライドがCTR群またはSDS群のいずれに属するかを判別できないようにして実施した。

#### 6. 統計処理

データは平均±標準誤差で示す。ストレス負荷前後の経時的な体重変化量の群間比較には、反復二元配置分散分析後、Sidakの多重比較を実施した。ホルマリンテストにおける疼痛関連行動の群間比較には、対応のないt

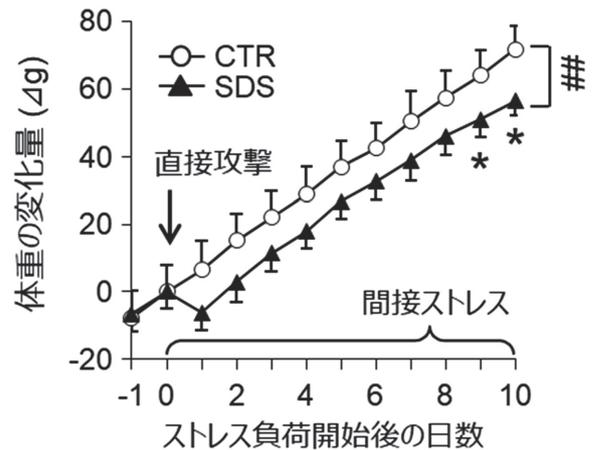


図2 ストレス負荷期間中の体重変化  
対照群（CTR群）および社会的敗北ストレス負荷群（SDS群）におけるラットの体重を経時的に測定し、その変化量をΔgで示す（※ストレス負荷開始、つまり、直接攻撃直前を基準としている）。CTR群では経時的な体重増加を示すのに対し、SDS群の体重は直接攻撃により一過性に低下し、その後、CTR群より低く推移している。##p < 0.01, CTR群 vs. SDS群, 反復二元配置分散分析. \*p < 0.05, CTR群 vs. SDS群, Sidakの多重比較。

検定を用いた。脊髄後角I-II層、III-IV層、V-VI層のc-Fos 陽性細胞数は、反復二元配置分散分析後、Sidakの多重比較を実施した。X層のc-Fos 陽性細胞数は対応のないt検定を用いて比較した。

## 結 果

### 1. ストレス負荷期間中の体重変化

SDS負荷開始当日の直接攻撃期間（10分間）において、LEラットからSDラットへの攻撃回数は2～6回であった。ストレス負荷によるラットの全身状態を確認するため、実験期間中の体重を経時的に測定したところ、CTR群のラットでは経時的な体重増加を示すのに対し、SDS群のラットの体重は直接攻撃後に低下し、その後、ストレス負荷を終了する10日目までCTR群より低く推移した（図2）。反復二元配置分散分析の結果、ストレス負荷開始後の日数 [F<sub>(10, 100)</sub> = 426.7, p < 0.001] および群 [F<sub>(1, 10)</sub> = 7.084, p = 0.0238] の主効果、さらに、日数×群の相互作用 [F<sub>(10, 100)</sub> = 3.144, p = 0.0016] に有意差をみとめた。また、ストレス負荷開始後9日目と10日目においてCTR群に比べSDS群の体重変化量の値が有意に低かった（\*p < 0.05, Sidakの多重比較, 図2）。

### 2. ホルマリンテストにおける疼痛関連行動

図3Aにホルマリンテストにおける疼痛関連行動の経時変化を示す。CTR群ではホルマリンテストでみられる典型的な反応、つまり、第I相（0～5分）および第II相（10～60分）からなる2相性の疼痛関連行動がみ

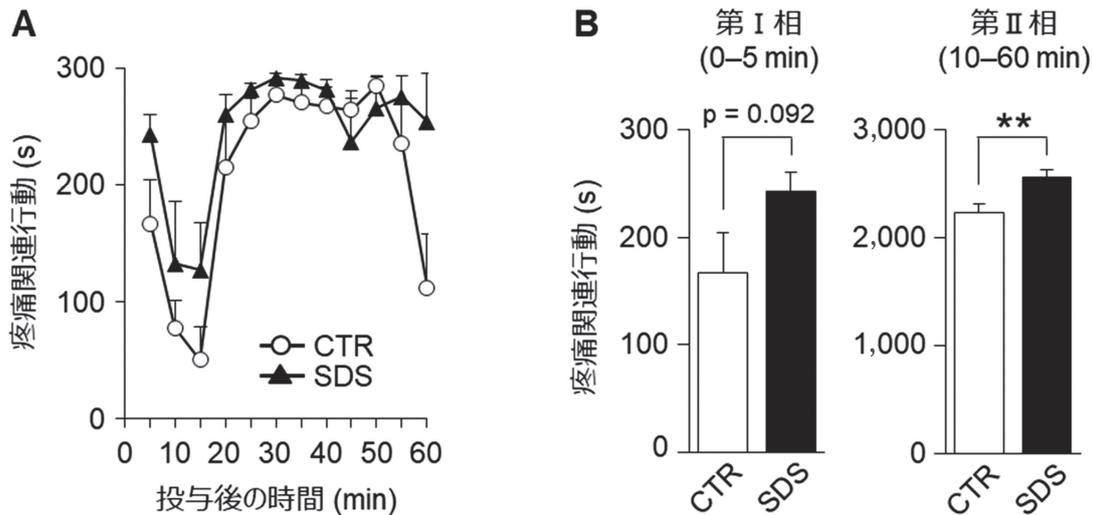


図3 ホルマリンテストにおける疼痛関連行動

A: 疼痛関連行動の経時変化。ホルマリン投与部位を舐める、嘔む、挙上する動作を疼痛関連行動と定義し、5分ごとの合計時間を投与後60分間記録した。各群6匹ずつ。B: ホルマリンテストの第I相(0~5分間)および第II相(10~60分間)における疼痛関連行動。第I相における疼痛関連行動はCTR群に比べSDS群で長い傾向がみられた( $p = 0.092$ , 対応のないt検定)。第II相における疼痛関連行動はCTR群に比べSDS群で有意に延長した( $**p < 0.01$ , 対応のないt検定)。

られた。一方、SDS群ではCTR群と同様に推移するものの、その時間は観察期間中全体的に長かった。また、CTR群の第II相の疼痛関連行動は60分後には急激に消退するものの、SDS群の疼痛関連行動は60分後も持続していた。各相での疼痛関連行動を定量化したところ、第I相における疼痛関連行動はCTR群に比べSDS群で長い傾向がみられた( $p = 0.092$ , 対応のないt検定, 図3B)。また、第II相における疼痛関連行動はCTR群に比べSDS群で有意に長かった( $**p < 0.01$ , 対応のないt検定, 図3B)。

### 3. 脊髄後角におけるc-Fos陽性細胞の分布

図4A, BにSDS群のラットのL4腰髄後角を撮影した典型的な光学顕微鏡写真を示す。ホルマリン投与側(左)の後角表層の中央から内側にかけてc-Fos陽性細胞の密な分布がみられた。また、投与側の後角深層(Ⅲ-Ⅳ層およびⅤ-Ⅵ層)においてもc-Fos陽性細胞が広く散在していた。一方、ホルマリン投与反対側(右)では後角全体(Ⅰ-Ⅵ層)においてc-Fos陽性細胞の顕著な発現はみられなかった。

次に、CTR群およびSDS群の各髄節より、合計12枚分(6匹×2枚)の切片からc-Fos陽性細胞の分布を重ね合わせ、その発現パターンの全体像を可視化した(図4C)。CTR群のホルマリン投与側におけるc-Fos陽性細胞の発現はL3~L5腰髄において、反対側に比べ明らかに多かった。SDS群でも同様の発現パターンを示したが、その発現増加はCTR群に比べ顕著であった。

そこで、c-Fos陽性細胞数をカウントしたところ、

SDS群のホルマリン投与側のⅠ-Ⅱ層では、c-Fos陽性細胞数がCTR群に比べ有意に多かった( $*p < 0.05$ , 反復二元配置分散分析後、Sidakの多重比較を実施)。一方、ホルマリン投与反対側のⅠ-Ⅱ層における数に有意差はなかった。また、ホルマリン投与側および反対側のいずれにおいても、Ⅲ-Ⅳ層およびⅤ-Ⅵ層における群間差はなかった(図4D)。X層においても同様に群間差はみられなかった(図4D)。

## 考 察

### 1. SDSモデルラットの体重変化

本研究では、SDS負荷開始の翌日にモデルラットの体重が低下し、SDS群の体重はストレス負荷期間中、CTR群に比べ低いまま推移した。一般にSIPや線維筋痛症モデルラットでは体重増加の鈍化や体重低下を生じ<sup>5)26)</sup>、SDSをラットに負荷した先行研究でも、本研究と同様の体重変化が報告されている<sup>27)28)</sup>。このことより、本研究で用いたSDSにより、先行研究のSIPモデルと同等のストレス負荷がラットに加わったと考えられる。

### 2. ホルマリンテストにおけるSDSモデルラットの疼痛関連行動の亢進

一般に、ホルマリンテストにおける疼痛関連行動は、ホルマリン投与直後~5分後までの第I相と10~60分後までの第II相からなる2相性を示し、第I相と第II相の間には疼痛関連行動が一時的に消失する間期が存在する。第I相はホルマリンによる侵害受容体の化学的興

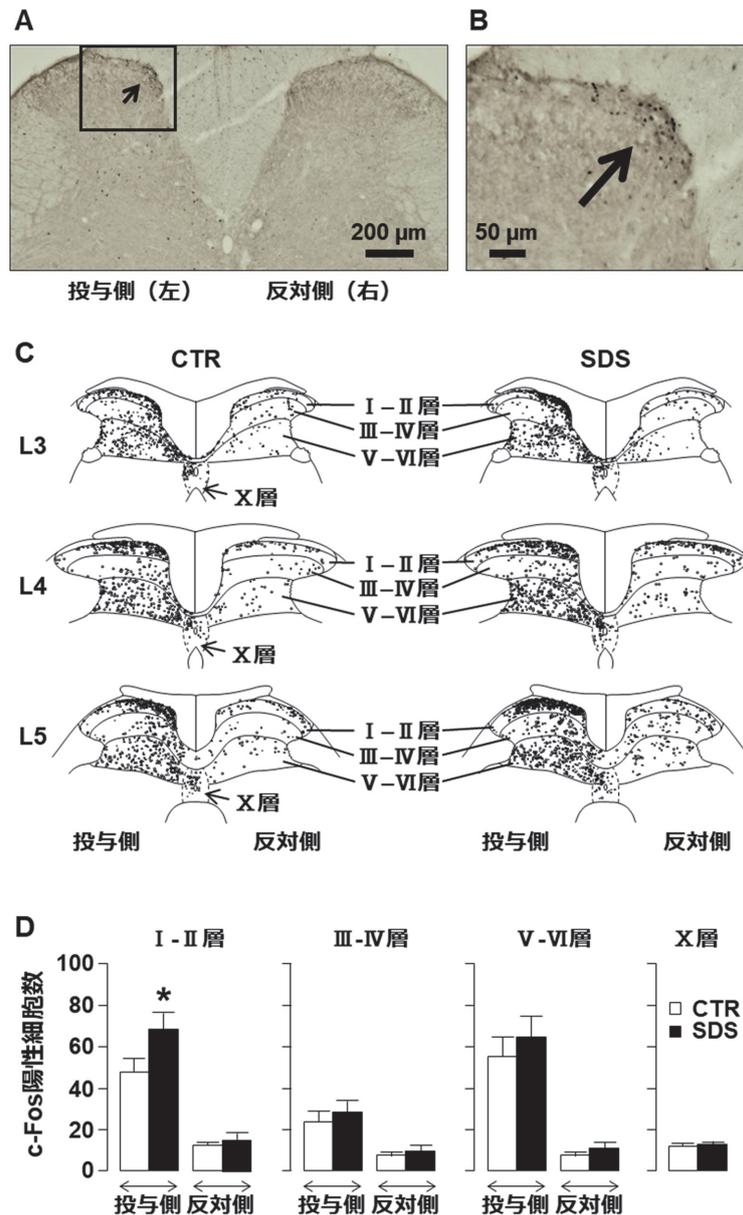


図4 脊髄後角における c-Fos 陽性細胞の分布

A: SDS 群のラットの L4 脊髄後角を撮影した典型的な光学顕微鏡写真。B: A においてホルマリン投与側の選択領域を拡大したもの。矢印が指す黒いドットは後角表層の内側に密集して分布する c-Fos 陽性細胞を示す。C: L3 ~ L5 脊髄後角における c-Fos 陽性細胞の分布。分布図は各群 6 匹のラットから 2 枚ずつのスライド、つまり合計 12 枚の切片を重ね合わせて作製した。CTR 群の L3 ~ L5 脊髄後角 (I-VI 層) において、ホルマリン投与側の c-Fos 陽性細胞は、反対側に比べて密に分布している。SDS 群の分布も同様であるが、CTR 群に比べ I-II 層における陽性細胞数が多いように見える。D: L3 ~ L5 脊髄後角における c-Fos 陽性細胞数。I-II 層において、SDS 群の陽性細胞数は CTR 群に比べ有意に多い (\* $p < 0.05$ , 反復二元配置分散分析後, Sidak の多重比較を実施)。

奮による痛みを反映し、この侵害受容器の興奮には、TRPA1 チャネルの活性化<sup>29)</sup> や TRPA1 非依存的に筋小胞体からカルシウムが放出する機構が想定されている<sup>30)</sup>。一方、ホルマリンテストの第 II 相はホルマリンによる組織の壊死やそれに伴う炎症、また中枢感作に起因すると考えられている<sup>22)</sup>。実際、ホルマリン投与後の侵害受容器と脊髄後角ニューロンの反応は、ホルマリンテストの第 I 相および第 II 相の疼痛関連行動と類似し

た時間経過を示す<sup>31)32)</sup>。本研究では、ホルマリンテストにおける SDS 群の疼痛関連行動は、CTR 群に比べ、第 I 相では延長傾向にあり、第 II 相では有意に延長していた。このようなホルマリンテストにおける疼痛関連行動の増大は、強制水泳ストレス<sup>4)</sup> や慢性拘束ストレス<sup>5)</sup> を負荷した SIP モデルや、生体アミンの枯渇材であるレセルピンを投与した線維筋痛症モデルラット<sup>26)</sup> でも同様に報告されている。以上より、SDS モデルラット

ではホルマリン投与による侵害受容器の興奮が亢進する傾向にあり、それに続く組織の壊死や炎症、中枢感作がより顕著に生じた結果、疼痛関連行動が亢進したと考えられる。

### 3. 脊髄後角表層における c-Fos 陽性細胞数の増加

本研究では、CTR 群のラットへのホルマリン投与により、投与側の L3～L5 脊髄後角表層（I-II 層）の中央から内側にかけて c-Fos 陽性細胞が顕著に発現増加し、この発現パターン（somatotopy）は先行研究の報告とよく一致していた<sup>33)34)</sup>。SDS モデルラットでも類似の c-Fos 陽性細胞の発現パターンがみられたが、その発現数は CTR 群に比べ有意に増加していた。通常、無処置ラットの脊髄後角では c-Fos タンパク質はほとんど発現しておらず、その発現は強い神経活動を伴う誘発刺激により惹起される<sup>19)20)</sup>。これらの知見は、CTR 群のホルマリン投与側で観察された c-Fos 陽性細胞はホルマリンによる化学的痛み刺激により惹起されたものであり、SDS 群では同じホルマリンによる痛み刺激により、脊髄後角表層ニューロンがより強く興奮したことを意味している。このようなホルマリンテストにおける脊髄後角表層ニューロンの興奮性増大は、線維筋痛症モデルラットでも同様に報告されている<sup>26)</sup>。その詳細なメカニズムは不明であるが、ニューロンを取り巻くミクログリアを介した炎症性シグナルの亢進による可能性が強く示唆される。Sawicki らは、SDS モデルマウスにおいて、1) 脊髄後角ミクログリアが活性化しアロディニアを呈すること、2) 脊髄後角では単球や好中球の蓄積はみられないものの、Interleukin (IL)-1 $\beta$ 、Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ 、Chemokine C-C motif ligand (CCL) 2、Toll-like receptor (TLR) 4 などの炎症関連遺伝子の mRNA が発現増大すること、3) ミクログリアの活性化を薬理的に阻害すると、それら炎症関連遺伝子の mRNA 発現量が低下し、アロディニアが減弱することを報告している<sup>18)</sup>。また、慢性痛を呈する神経障害性疼痛モデルでは、神経損傷に伴う末梢からの痛み入力が脊髄後角ミクログリアを顕著に活性化し、活性化ミクログリアから放出される炎症性シグナル分子（サイトカインやケモカインなど）が後角ニューロンの感受性を増大することで疼痛行動を促進することがわかっている<sup>35)</sup>。さらに、拘束と強制水泳による混合ストレスモデルラットでは、c-Fos 発現をそのアンチセンスデオキシヌクレオチドの投与により抑制すると、完全フロイントアジュバント投与（炎症性侵害刺激）に伴うミクログリアの活性化が阻害され、疼痛関連行動が減弱した<sup>36)</sup>。逆に、ミクログリアの活性化抑制は c-Fos 発現を抑制し、疼痛関連行動を減弱したと報告されている。このように、ニューロンでの c-Fos 発現とミクログリアの活性化は互いにクロス

トークし、SIP の発症にかかわると考えられる。本研究でも同様に、このような脊髄後角におけるミクログリアとニューロン間の相互増幅作用が SDS 誘発性疼痛モデルの病態形成にかかわったものと考えられる。

## 結 論

社会的敗北ストレスモデルラットでは、痛み刺激に対する脊髄後角表層ニューロンの興奮性が増大し、これにより疼痛関連行動が亢進する可能性がある。研究成果はストレス誘発性疼痛の脊髄機構の一端を実証するものであり、リハビリテーション領域におけるストレス誘発性疼痛の発症予防や、その理学療法アプローチの確立に貢献する基礎的知見であると考えられる。

## 利益相反

開示すべき利益相反はない。

謝辞：本研究は JSPS 科研費（JP19H03987）、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED-CREST, JP20gm0810010h0605）、新潟医療福祉大学（2019 年度研究奨励金 A, R01B30）による助成を受けて実施した。

## 文 献

- 1) Butler RK, Finn DP: Stress-induced analgesia. *Prog Neurobiol* 88: 184-202, 2009
- 2) Johnson AC, Greenwood-Van Meerveld B: Stress-induced pain: A target for the development of novel therapeutics. *J Pharmacol Exp Ther* 351: 327-335, 2014
- 3) Olango WM, Finn DP: Neurobiology of stress-induced hyperalgesia. *Curr Top Behav Neurosci* 20: 251-280, 2014
- 4) Nazeri M, Zarei MR, Pourzare AR, Ghahregh-Chahi HR, Abareghi F, Shabani M: Evidence of altered trigeminal nociception in an animal model of fibromyalgia. *Pain Med* 19: 328-335, 2018
- 5) Bardin L, Malfetes N, Newman-Tancredi A, Depoortere R: Chronic restraint stress induces mechanical and cold allodynia, and enhances inflammatory pain in rat: Relevance to human stress-associated painful pathologies. *Behav Brain Res* 205: 360-366, 2009
- 6) Nasu T, Taguchi T, Mizumura K: Persistent deep mechanical hyperalgesia induced by repeated cold stress in rats. *Eur J Pain* 14: 236-244, 2010
- 7) Khasar SG, Dina OA, Green PG, Levine JD: Sound stress-induced long-term enhancement of mechanical hyperalgesia in rats is maintained by sympathoadrenal catecholamines. *J Pain* 10: 1073-1077, 2009
- 8) Yasui M, Yoshimura T, Takeuchi S, Tokizane K, Tsuda M, Inoue K, Kiyama H: A chronic fatigue syndrome model demonstrates mechanical allodynia and muscular hyperalgesia via spinal microglial activation. *Glia* 62: 1407-1417, 2014
- 9) Green PG, Chen X, Alvarez P, Ferrari LF, Levine JD: Early-life stress produces muscle hyperalgesia and nociceptor sensitization in the adult rat. *Pain* 152: 2549-2556, 2011
- 10) Golden SA, Covington HE 3rd, Berton O, Russo SJ: A standardized protocol for repeated social defeat stress in

- mice. *Nat protoc* 6: 1183-1191, 2011
- 11) Huhman KL: Social conflict models: Can they inform us about human psychopathology? *Horm Behav* 50: 640-646, 2006
  - 12) Takaki J, Taniguchi T, Fukuoka E, Fujii Y, Tsutsumi A, Nakajima K, Hirokawa K: Workplace bullying could play important roles in the relationships between job strain and symptoms of depression and sleep disturbance. *J Occup Health* 52: 367-374, 2010
  - 13) Takaki J, Taniguchi T, Hirokawa K: Associations of workplace bullying and harassment with pain. *Int J Environ Res Public Health* 10: 4560-4570, 2013
  - 14) Kataoka N, Shima Y, Nakajima K, Nakamura K: A central master driver of psychosocial stress responses in the rat. *Science* 367: 1105-1112, 2020
  - 15) Marcinkiewicz CA, Green MK, Devine DP, Duarte P, Vierck CJ, Yezierski RP: Social defeat stress potentiates thermal sensitivity in operant models of pain processing. *Brain Res* 1251: 112-120, 2009
  - 16) Piardi LN, Pagliusi M, Bonet I, Brandão AF, Magalhães SF, Zanelatto FB, Tambeli CH, Parada CA, Sartori CR: Social stress as a trigger for depressive-like behavior and persistent hyperalgesia in mice: Study of the comorbidity between depression and chronic pain. *J Affect Disord* 274: 759-767, 2020
  - 17) Sawicki CM, Kim JK, Weber MD, Jarrett BL, Godbout JP, Sheridan JF, Humeidan M: Ropivacaine and Bupivacaine prevent increased pain sensitivity without altering neuroimmune activation following repeated social defeat stress. *Brain Behav Immun* 69: 113-123, 2018
  - 18) Sawicki CM, Kim JK, Weber MD, Faw TD, McKim DB, Madalena KM, Lerch JK, Basso DM, Humeidan ML, Godbout JP, Sheridan JF: Microglia promote increased pain behavior through enhanced inflammation in the spinal cord during repeated social defeat stress. *J Neurosci* 39: 1139-1149, 2019
  - 19) Hunt SP, Pini A, Evan G: Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature* 328: 632-634, 1987
  - 20) Coggeshall RE: Fos, nociception and the dorsal horn. *Prog Neurobiol* 77: 299-352, 2005
  - 21) Zimmermann M: Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16: 109-110, 1983
  - 22) Coderre TJ, Abbott FV, Sawynok J: Formalin Test. In *Encyclopedia of Pain*. Gebhart GF, Schmidt RF (Ed.). Berlin, Heidelberg, Springer, pp 1303-1308, 2013
  - 23) Takahashi Y, Nakajima Y: Dermatomes in the rat limbs as determined by antidromic stimulation of sensory C-fibers in spinal nerves. *Pain* 67: 197-202, 1996
  - 24) Taguchi T, Matsuda T, Tamura R, Sato J, Mizumura K: Muscular mechanical hyperalgesia revealed by behavioural pain test and c-Fos expression in the spinal dorsal horn after eccentric contraction in rats. *J Physiol* 564: 259-268, 2005
  - 25) Molander C, Xu Q, Grant G: The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat. I. The lower thoracic and lumbosacral cord. *J Comp Neurol* 230: 133-141, 1984
  - 26) Ejiri Y, Uta D, Ota H, Mizumura K, Taguchi T: Nociceptive chemical hypersensitivity in the spinal cord of a rat reserpine-induced fibromyalgia model. *Neurosci Res* 181: 87-94, 2022.
  - 27) Arora V, Martin TJ, Aschenbrenner CA, Hayashida K, Kim SA, Parker RA, Eisenach JC, Peters CM: Psychosocial stress delays recovery of postoperative pain following incisional surgery in the rat. *Neuroscience* 382: 35-47, 2018
  - 28) Meerlo P, Overkamp GJ, Daan S, Van Den Hoofdakker RH, Koolhaas JM: Changes in behaviour and body weight following a single or double social defeat in rats. *Stress* 1: 21-32, 1996
  - 29) McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, Siemens J, Deranian KL, Zhao M, Hayward NJ, Chong JA, Julius D, Moran MM, Fanger CM: TRPA1 mediates formalin-induced pain. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 13525-13530, 2007
  - 30) Fischer MJ, Soller KJ, Sauer SK, Kalucka J, Veglia G, Reeh PW: Formalin evokes calcium transients from the endoplasmic reticulum. *PLoS One* 10: e0123762, 2015
  - 31) Puig S, Sorkin LS: Formalin-evoked activity in identified primary afferent fibres: Systemic lidocaine suppresses phase-2 activity. *Pain* 64: 345-355, 1995
  - 32) Dickenson AH, Sullivan AF: Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurones in the rat: Differential response to an intrathecal opioid administered pre or post formalin. *Pain* 30: 349-360, 1987
  - 33) Abbadie C, Taylor BK, Peterson MA, Basbaum AI: Differential contribution of the two phases of the formalin test to the pattern of c-fos expression in the rat spinal cord: studies with remifentanyl and lidocaine. *Pain* 69: 101-110, 1997
  - 34) Presley RW, Menétrey D, Levine JD, Basbaum AI: Systemic morphine suppresses noxious stimulus-evoked Fos protein-like immunoreactivity in the rat spinal cord. *J Neurosci* 10: 323-335, 1990
  - 35) Tozaki-Saitoh H, Tsuda M: Microglia-neuron interactions in the models of neuropathic pain. *Biochem Pharmacol* 169: 113614, 2019
  - 36) Qi J, Chen C, Meng QX, Wu Y, Wu H, Zhao TB: Crosstalk between activated microglia and neurons in the spinal dorsal horn contributes to stress-induced hyperalgesia. *Sci Rep* 6: 39442, 2016

## Hyperexcitability of Superficial Dorsal Horn Neurons in the Spinal Cord of a Rat Social Defeat Stress-induced Pain Model

Sota Inoue,<sup>1</sup> Hiroki Ota,<sup>1,2</sup> Toru Taguchi<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Institute for Human Movement and Medical Sciences (IHMMMS), Niigata University of Health and Welfare

<sup>2</sup> Department of Physical Therapy, Faculty of Rehabilitation, Niigata University of Health and Welfare

Long-lasting exposure to stress is known to develop and aggravate chronic pain, depression, and autonomic dysfunction, although the pathological mechanisms remain to be elucidated. Social defeat stress (SDS) is one of the psychological stress associated with nociceptive hypersensitivity. In this study, we examined whether noxious chemical stimuli enhanced pain-related behaviors and neuronal activation in the spinal dorsal horn to characterize nociceptive hypersensitivity in the SDS-induced pain model. To establish the SDS model, Sprague-Dawley (SD) rats were exposed to Long-Evans (LE) rats (aggressor) for 10 min on the first day followed by indirect stress without physical contacts for 10 days. The formalin test was performed to characterize pain-related behaviors to noxious chemical stimuli (i.e., 5% formalin). Neuronal activation to the chemical stimuli was visualized using immunohistochemical staining of c-Fos-immunoreactive nuclei in the spinal dorsal horn. In the SDS model rats, the duration of pain-related behaviors induced by formalin tended to prolong in phase I, and the duration was significantly prolonged in phase II, compared to the control rats. The number of c-Fos-immunoreactive nuclei increased in laminae I-II, but not in laminae III-IV and V-VI, on the side ipsilateral to formalin injection at the spinal segments L3-L5. The numbers in the contralateral dorsal horn (laminae I-VI) were unchanged. These results demonstrate that facilitated pain-related behaviors to noxious chemical stimuli exist in a rat SDS-induced pain model, and that the hyperactivation of spinal dorsal horn neurons are associated with behavioral hypersensitivity to the stimuli.

**Key words:** Social defeat stress, Stress-induced pain, Spinal cord, Formalin test, c-Fos

---

\* Department of Physical Therapy, Faculty of Rehabilitation, Niigata University of Health and Welfare  
1398 Shimami-cho, Kita-ku, Niigata 950-3198, Japan  
E-mail: tagu@nuhw.ac.jp

## 総 説

# リハビリテーションと分子標的の併用による脳損傷後の機能回復\*

田中貴士<sup>1)2)#</sup> 上野将紀<sup>3)</sup>

### 要旨

脳損傷はしばしば重篤な運動機能障害を引き起こし、自立した社会生活を困難にする。傷害された神経回路の再編は機能回復に重要であるが、成体の中枢神経における再編能力は限定的である。脳損傷後において、神経分子を標的とした治療やリハビリテーション等、様々なアプローチが試行されてきたが、未だ十分な機能回復は達成されていない。したがって、再編と機能回復を強化する新しいコンセプトの治療法が求められている。例えば我々は、神経軸索の伸長を阻害しているチロシン脱リン酸化酵素 (src homology 2-containing phosphatase-1: 以下, SHP-1) に着目し、遺伝学的な SHP-1 の欠損と自発的運動の併用が脳損傷モデルマウスの神経回路の再編や機能回復を相乗的に高めることを報告してきた。本稿では、中枢神経損傷のモデル動物における神経回路の再編についての知見を整理し、リハビリテーションや分子標的がもたらす再編や機能回復への効果とその機序について概説する。

キーワード 脳損傷, 皮質脊髄路, 神経回路再編, 機能回復, リハビリテーション

### はじめに

外傷や血管障害により脳が一旦損傷を受けると、神経回路の破綻に伴う重篤な機能障害が生じる。我が国では、2017年時点で脳血管疾患の患者数は約112万人と推計されており<sup>1)</sup>、患者自身とその家族の生活や社会的な損失は計り知れない。成体の中枢神経の再生能力は乏しく、根本的な治療法は未だ確立されていないのが現状である。脳損傷後の機能回復には、残存した神経回路を活かし、その再編をいかに促すかが重要な治療戦略の1つとなる。壊された神経回路の再編を促す方法として、神経分子を標的とする遺伝学的・薬理的介入やリハビリテーションが長く研究されてきたが、未だ十分な回復をもたらすには至っておらず、より効果の高い治療

方法の開発が望まれている。筆者らは、中枢神経の軸索伸長の阻害作用をもつチロシン脱リン酸化酵素 (src homology 2-containing phosphatase-1: 以下, SHP-1) や、機能回復を促す身体運動に着目し、その回復メカニズムを検証してきた。本稿では、我々の研究を含め、中枢神経損傷モデル動物における神経系応答の文献を整理し、機能障害の克服に寄与しうる知見を概説する。

### 中枢神経損傷後の神経回路の再編

一度死滅した中枢神経は再生できないため、損傷後に機能的な神経回路を再構築するには、残存した神経の可塑性が重要となる。近年、損傷を免れた皮質脊髄路<sup>2)3)</sup>や網様体脊髄路<sup>4)</sup>、皮質赤核路<sup>5)</sup>等の神経軸索から新たな側枝が形成される「発芽」が神経回路の再編に重要なことが分かってきた。これらの報告では、損傷側あるいは非損傷側の神経路の再編が機能回復に寄与することが示されている。実際に我々は、脳損傷モデルマウスにおいて、脊髄における非損傷側皮質脊髄路の軸索発芽が回路再編や機能回復に寄与することを見出してきた (図1)<sup>3)6)</sup>。また、損傷側で残存した皮質脊髄路にも再編が起こるケースがある<sup>7)</sup>。機能的な神経回路の再編をもたらすためには、①ニューロンの生存、②長距離におよぶ軸索の再伸長、③標的とのシナプス接続、④髄鞘形成、⑤新しく形成された神経回路の経験依存的な精緻化、の

\* Voluntary Exercise and Molecular Targeting to Promote Motor Recovery After Brain Injury

1) 熊本保健科学大学保健科学部リハビリテーション学科

(〒861-5598 熊本県熊本市北区和泉町325)

Takashi Tanaka, PT, PhD: Department of Rehabilitation, Faculty of Health Sciences, Kumamoto Health Science University (325 Izumimachi, Kita-ku, Kumamoto-shi, Kumamoto 861-5598)

2) 金沢医科大学医学部解剖学II

Takashi Tanaka, PT, PhD: Department of Anatomy II, Kanazawa Medical University

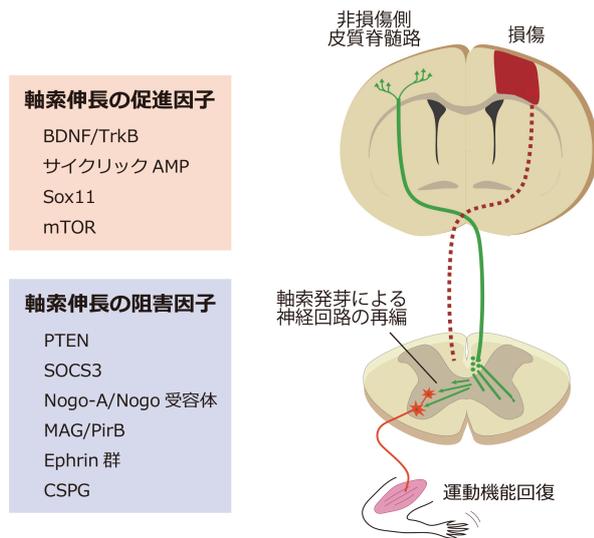
3) 新潟大学脳研究所システム脳病態学分野

Masaki Ueno, DVM, PhD: Department of System Pathology for Neurological Disorders, Brain Research Institute, Niigata University

# E-mail: tanaka.ts@kumamoto-hsu.ac.jp

(受付日 2022年6月1日)

[J-STAGEでの早期公開日 2022年8月26日]



**図1** 脳損傷後の脊髄における神経回路の再編と制御因子  
損傷を免れた皮質脊髄路の軸索から新たな側枝が発芽し、麻痺側へ侵入する。麻痺筋を支配するニューロンとの新たな接続により、代償的な神経回路へと再編され運動機能が回復する。再編は、中枢神経内に存在する軸索伸長の促進あるいは阻害因子により制御される。

プロセスが必要となる<sup>8)</sup>。軸索にとって、標的までの長い道程は大きな障壁であるため、局所での伸長や発芽がより有効となる。脊髄における再編は、近傍に残存した神経軸索が麻痺側へ侵入し、脊髄固有・分節介在ニューロンと新たに接続することで、麻痺筋・肢を制御する回路網へと再構築される<sup>2)3)</sup>。このことは、損傷後に残された神経回路網の再編が、重要な治療標的となりうることを示している。治療へ向けた課題の1つとして、中枢神経内での軸索の伸長能がきわめて低いことが挙げられる<sup>9)</sup>。

一方、中枢神経と比べ末梢神経は、損傷に対して固有の応答を示し、驚くべき再生能力をもっている<sup>10)</sup>。損傷早期の脊髄神経節ニューロンでは、転写因子 (activating transcription factor 3: 以下, ATF3) の活性により軸索再生が促進される<sup>11)</sup>。また、坐骨神経の絞扼損傷後の軸索においては、mammalian target of rapamycin (以下, mTOR) が強力な再生シグナルである signal transducer and activator of transcription 3 (以下, STAT3) を増大させることが報告されている<sup>12)</sup>。対照的に、中枢神経ではこれらの反応が生じず、軸索伸長能の減弱につながっている。中枢神経の軸索再生能が限定的である主な要因は、これら転写因子等の神経細胞内の反応に起因する内的要因と、損傷した軸索が遭遇する環境がもたらす外的要因に分けられている<sup>13)</sup>。

#### 中枢神経の軸索伸長を制御する内的要因

軸索伸長を促す代表的な因子として、脳由来神経栄養

因子 (brain-derived neurotrophic factor: 以下, BDNF) とその受容体 tropomyosin receptor kinase B (以下, TrkB) が挙げられる。BDNF/TrkB は、軸索伸長<sup>14)</sup> やスパイン・シナプス形成<sup>15)16)</sup>、神経回路の再編<sup>3)</sup> を促進する重要な因子である (図1)。筆者らは、脳挫傷モデルマウスにおいて神経栄養因子や軸索ガイダンス因子を網羅的にスクリーニングした結果、再編の起こる脊髄ニューロンで BDNF が発現し、皮質脊髄路の軸索発芽に BDNF が必要であることを明らかにした<sup>3)</sup>。しかし、TrkB は神経細胞体やシナプス前終末、樹状突起のシナプス後部等に広範囲に存在するものの<sup>17)</sup>、成体では神経再生に十分な BDNF の発現が通常みられないことが問題として残っている。

内的要因としては、TrkB 下流の細胞内シグナル<sup>14)</sup> の他、サイクリック AMP<sup>18)</sup> や Sox11<sup>19)</sup>、強力な神経再生シグナルの起点となる mTOR が挙げられる。mTOR は phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10 (以下, PTEN) により負の調節を受けているため、PTEN 遺伝子の欠損により強力な再生応答が得られる<sup>20)</sup>。また、PTEN の抑制は、suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) を介したシグナルとともに、損傷後の皮質脊髄路の再生を強力に促進することも報告されている (図1)<sup>21)</sup>。

別のアプローチとして、エピジェネティクス (DNA の配列変化を伴わない遺伝子発現の制御システム) を変化させることで、可塑性の高い発達期の回路網へ近づける方法も開発されてきた。10-11 転座メチルシトシンジオキシゲナーゼ (translocation methylcytosine dioxygenase: 以下, Tet) は、ゲノムの CpG 部位の脱メチル化を促進する酵素のファミリーとして知られる。興味深いことに、坐骨神経損傷は脊髄神経節ニューロンの Tet3 発現を増加させ、ATF3 や STAT3 など再生関連遺伝子の発現を活性化させる<sup>22)</sup>。Tet3 の抑制や Tet1 自体は、mTOR の軸索再生効果の促進に必要であり、Tet1 および Tet2 依存的な再プログラミングによる再生促進効果も報告されている<sup>23)</sup>。

#### 中枢神経の軸索伸長を阻害する外的要因

末梢神経では、神経軸索の伸長に影響を及ぼす外的要因として、軸索を取り巻くシュワン細胞の果たす役割が大きい。シュワン細胞は、マクロファージとともに損傷後の髄鞘 (ミエリン鞘) の残骸を速やかに取り除き、伸長の足場となることで軸索の再生を促進する<sup>24)25)</sup>。中枢神経の場合、ミエリン鞘を構成するオリゴデンドロサイトは傷害で生じるミエリン残骸を貪食せず、ミクログリアや浸潤したマクロファージのみがその役割を担う。この中枢神経におけるミエリン除去能力の不足は、軸索再生の障壁となり、神経回路の再編を妨げる<sup>26)</sup>。

中枢神経におけるミエリンには、Nogo-A や myelin-associated glycoprotein (以下、MAG), oligodendrocyte myelin glycoprotein 等の軸索伸長を阻害する因子が含まれている<sup>27)</sup>。また、その受容体として Nogo 受容体や paired immunoglobulin-like receptor B (以下、PirB) 等が見出されている<sup>27)28)</sup>。これらは、アクチン細胞骨格を制御する Rho 経路を介して、軸索の成長円錐を退縮させ、軸索伸長を抑制する。さらに、軸索の反発因子である Ephrin 群もミエリンに発現し、軸索発芽を抑制する(図1)<sup>29)</sup>。実際、脳や脊髄損傷のモデル動物において、ミエリン関連タンパク質を阻害することで軸索発芽は促進されるようである。しかし、いずれの場合も機能回復には不十分であり<sup>29)30)</sup>、神経再生の難しさが突き付けられている。我々は以前、損傷早期の脳内は SHP-1 が増加することで回路の再編に不適な環境になることを示し、SHP-1 の抑制が皮質脊髄路の軸索発芽を促すことを報告した<sup>6)</sup>。SHP-1 の抑制は、MAG とその受容体 PirB による軸索伸長阻害作用をキャンセルするとともに、軸索伸長に主要な役割を果たす BDNF/TrkB の強化により得られることが分かった<sup>6)31)</sup>。

中枢神経の再生を阻害するもう1つの要因として、損傷部の周囲に形成されるグリア瘢痕がある<sup>32)</sup>。グリア瘢痕は、線維芽細胞やコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(chondroitin sulfate proteoglycans: 以下、CSPG)等の細胞外マトリックス分子の沈着、炎症性細胞で構成され、反応性アストロサイトに囲まれている<sup>33)34)</sup>。これらが障壁となり、軸索伸長を阻害すると考えられている<sup>34)</sup>。げっ歯類や霊長類の損傷モデルでは、コンドロイチナーゼ ABC (以下、chABC) による CSPG の分解により、軸索伸長が増大し、運動機能が回復することが数多く報告されている<sup>35)</sup>。さらに、chABC と細胞移植または chABC 輸送の最適化などの組み合わせにより、軸索の再生能や機能回復が大幅に促進するようである<sup>36)37)</sup>。

### リハビリテーションによる機能回復

上述のように、軸索の伸長能を増大させる試みから、神経回路の再編に有効な手立てが徐々に解明されてきている。しかし、軸索発芽の増大が機能回復に有効である一方、神経栄養因子や軸索ガイダンス因子の過度な供給は、標的外のニューロンへの異常な神経回路を構築してしまうことが懸念される<sup>38)39)</sup>。遺伝的介入による過剰な軸索伸長の促進により、運動機能が回復するどころか悪化を示す報告もある<sup>39)40)</sup>。機能的な回路へと再編するには、軸索の伸長に加え、適切な標的ニューロンへのシナプス接続や神経伝達効率の変化等のプロセスが必要であり<sup>41)</sup>、Hebb 則に基づいたニューロンの同期的・機能的な活動を引き起こすことが重要と考えられる<sup>42)</sup>。これらの点で、リハビリテーションは優れた介入法とし

て近年再注目されている。

モデル動物においては、例えば、課題指向性の運動は神経回路の再編を強化し、運動機能回復を促進させることが報告されている<sup>43)</sup>。我々も、脳損傷モデルマウスにおける両側肢の運動トレーニングが、残存した神経回路の再編を強化し、麻痺側の前肢機能の改善を促すことを示した<sup>44)</sup>。但し、偏った運動トレーニングを行っても、特定の運動機能は回復させるが、他の運動機能に異常をもたらすケースがあることには注意されたい<sup>45)</sup>。

神経回路の再編法としてリハビリテーションの有用性が示されてきたが、どのような身体運動、どの程度の運動量が機能回復に有効であるか詳細な検証は不十分であった。我々は、脳損傷モデルマウスにおいて、運動機能の回復に効果的な運動の種類や運動量を検証した結果、強制的な走行運動や協調性運動と比較し、自発的な走行運動が高い機能回復効果を得られることを示した<sup>46)</sup>。自発的運動は、軸索伸長の阻害作用をもつ SHP-1 の発現を減弱させるとともに、BDNF/TrkB の発現を増加させることで、脳損傷後の軸索発芽を顕著に高め、回路の再編に寄与することが明らかになった(図2)。以上から、自発的運動が機能回復に効果的であること、また SHP-1 が神経回路の再編を促すうえでの重要な標的因子であることが示された<sup>46)</sup>。一方、現時点では1日の運動量と運動機能回復との間に相関関係は認められなかったため、引き続き機能回復に効果的な運動量が存在するの否か検証を進める必要がある。これまで、様々な運動介入によって、神経軸索の伸長やシナプス形成に重要である BDNF の増加が示されており<sup>47)48)</sup>、BDNF/TrkB シグナルはリハビリテーションによる再編と機能回復に広くかかわることが示唆される<sup>49)50)</sup>。

### リハビリテーション+ $\alpha$ による機能回復の相乗効果

神経分子を標的とした治療法やリハビリテーションは、一定の効果を示してきたものの、いずれにおいても未だ完全な回復が得られているとは言い難い。そこで近年、遺伝学的または薬理的介入とリハビリテーションを併用し、より効果的な機能回復を目指す取り組みが増えている。例えば、脳卒中モデルマウスでは、軸索発芽の阻害作用をもつ Ephrin-A5 の遮断と麻痺肢の強制使用を組み合わせることで、脳内神経回路の発芽や接続が有意に増加することが報告された<sup>51)</sup>。我々は、脊髄損傷モデルマウスにおいて、反発性の軸索ガイダンス因子 repulsive guidance molecule-a の抑制と反復的頭蓋磁気刺激の併用が、脳内の神経活動を高め運動機能回復を促すことを示した<sup>52)</sup>。また、脳損傷モデルマウスでは、SHP-1 の抑制と自発的な走行運動を組み合わせることで、皮質脊髄路の軸索発芽や運動機能回復を増大させることに成功した<sup>46)</sup>。さらに、脊髄損傷モデルラットでは、

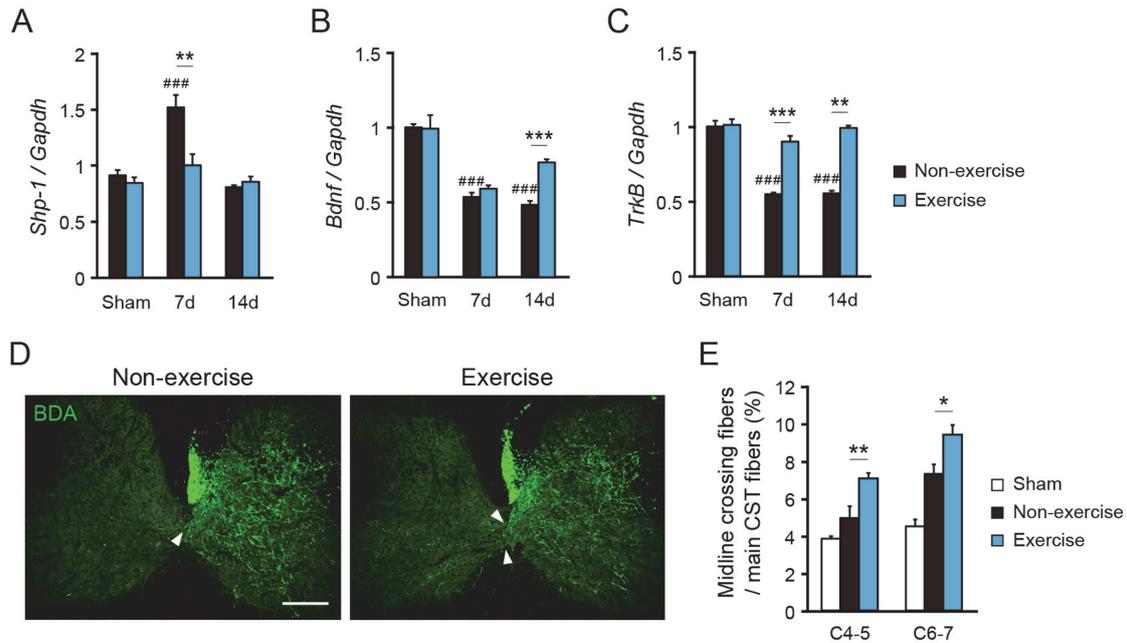


図2 自発的運動による神経分子の変動と軸索発芽

(A-C) 継続的な脳損傷前後の自発的運動により、軸索伸長の阻害作用をもつ SHP-1 が減少し、軸索伸長に重要な BDNF/TrkB が増加する。(D) 損傷後の頸髄における BDA 標識した非損傷側皮質脊髓路の麻痺側への軸索発芽(矢頭)。(E) 自発的運動により麻痺側へ侵入する軸索が増大する。平均±標準誤差。### p < 0.001 (vs Sham)。\* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001。スケールバー：500 μm。

薬理的な介入に加え、電気刺激や免荷歩行を実施することで、神経回路の再編や運動機能の大幅な改善が得られることも報告されている<sup>43)</sup>。この研究グループは、脊髄損傷患者を対象とした臨床研究において、脊髄への硬膜外電気刺激とリハビリテーションの併用療法の体幹・下肢機能の回復に有用であることも示している<sup>53)</sup>。神経分子の遺伝学的・薬理的な操作や神経活動の制御、リハビリテーションを組み合わせるアプローチは、機能的な神経回路の再編と運動機能の回復を高いレベルで促進できることを示唆する。

最後に、脳梗塞モデルラットを用いた研究により、大変興味深い知見が報告されている。脳梗塞後の早期に Nogo-A の中和抗体を投与することで軸索伸長を増加させる時期を設定し、その後にリハビリテーションを実施することで、脊髄における皮質脊髓路の再編が亢進し、機能回復の効果が高まることが示された<sup>54)</sup>。その反面、Nogo-A の中和抗体の投与とリハビリテーションを併用すると、皮質脊髓路の再編は亢進するが、機能回復は得られない。この場合、軸索が異所性に過剰に侵入する像が観察され、異常な神経回路の形成が示唆されている<sup>54)</sup>。再編の過程は、軸索の伸長が起こった後、神経活動により回路が精緻化する脳の発達過程に類似するものと考えられる。神経回路の発達過程を模して、適切な時期に適切な量、適切な接続をもたらすことが、機能回復の達成に重要といえる。

## まとめ

脳損傷後に神経可塑性を誘導する方法が様々に示され、残された神経回路を活かす治療法の開発へ希望がみえてきている。なかでも、残存した神経軸索による回路の再編は、機能回復に重要な可塑的変化の1つといえる<sup>2-5)</sup>。一方で、神経回路の無秩序な再編は、連合反応や筋緊張異常等を引き起こし、機能回復を遠ざける要因にもなることから、適切なリハビリテーション法の重要性が今後さらに唱えられていくと予測される。本稿で紹介した、薬理的手法や神経活動制御による介入とリハビリテーションの併用は、これまでの機能回復効果を相乗的に高め、かつ選択的に神経回路を活性化できるため、筋緊張異常等の副作用も軽減しうる。また、効果的な機能回復を得るには、モチベーションや精神障害の有無、心理・ストレス状況など、複合的な因子の影響も考慮していく必要がある<sup>55)56)</sup>。基礎研究のさらなる発展が、今後、ヒトの臨床研究へとつながり、患者自身の機能回復や健康寿命の延長、さらにはその家族の生活の質の向上、社会経済的な負担軽減へ貢献していくと期待される。

謝辞：本総説には、文部科学省科学研究費補助金(15K16377, 17K13079)、日本理学療法士学会研究助成(19-A19)および中富健康科学振興財団研究助成によって支

援された研究内容が含まれる。

## 文 献

- 1) 平成 30 年版厚生労働白書. 厚生労働省.
- 2) Chen M, Zheng B: Axon plasticity in the mammalian central nervous system after injury. *Trends Neurosci* 37: 583-593, 2014
- 3) Ueno M, Hayano Y, Nakagawa H, Yamashita T: Intraspinal rewiring of the corticospinal tract requires target-derived brain-derived neurotrophic factor and compensates lost function after brain injury. *Brain* 135: 1253-1267, 2012
- 4) Bachmann LC, Lindau NT, Felder P, Schwab ME: Sprouting of brainstem-spinal tracts in response to unilateral motor cortex stroke in mice. *J Neurosci* 34: 3378-3389, 2014
- 5) Ishida A, Isa K, Umeda T, Kobayashi K, Kobayashi K, Hida H, Isa T: Causal link between the cortico-rubral pathway and functional recovery through forced impaired limb use in rats with stroke. *J Neurosci* 36: 455-467, 2016
- 6) Tanaka T, Fujita Y, Ueno M, Shultz LD, Yamashita T: Suppression of SHP-1 promotes corticospinal tract sprouting and functional recovery after brain injury. *Cell Death Dis* 4: e567, 2013
- 7) Sato T, Nakamura Y, Takeda A, Ueno M: Lesion area in the cerebral cortex determines the patterns of axon rewiring of motor and sensory corticospinal tracts after stroke. *Front Neurosci* 15: 737034, 2021
- 8) Varadarajan SG, Hunyara JL, Hamilton NR, Kolodkin AL, Huberman AD: Central nervous system regeneration. *Cell* 185: 77-94, 2022
- 9) Raineteau O, Schwab ME: Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci* 2: 263-273, 2001
- 10) Hoffman PN: A conditioning lesion induces changes in gene expression and axonal transport that enhance regeneration by increasing the intrinsic growth state of axons. *Exp Neurol* 223: 11-18, 2010
- 11) Renthall W, Tochitsky I, Yang L, Cheng YC, Li E, Kawaguchi R, Geschwind DH, Woolf CJ: Transcriptional reprogramming of distinct peripheral sensory neuron subtypes after axonal injury. *Neuron* 108: 128-144, 2020
- 12) Terenzio M, Koley S, Samra N, Rishal I, Zhao Q, Sahoo PK, Urisman A, Marvaldi L, Oses-Prieto JA, Forester C, Gomes C, Kalinski AL, Pizio AD, Doron-Mandel E, Perry RBT, Koppel I, Twiss JL, Burlingame AL, Fainzilber M: Locally translated mTOR controls axonal local translation in nerve injury. *Science* 359: 1416-1421, 2018
- 13) Crair MC, Mason CA: Reconnecting eye to brain. *J Neurosci* 36: 10707-10722, 2016
- 14) Hollis ER 2nd, Jamshidi P, Löw K, Blesch A, Tuszynski MH: Induction of corticospinal regeneration by lentiviral trkB-induced Erk activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 7215-7220, 2009
- 15) Kowianski P, Lietzau G, Czuba E, Waskow M, Steliga A, Morys J: BDNF: a key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. *Cell Mol Neurobiol* 38: 579-593, 2018
- 16) Harward SC, Hedrick NG, Hall CE, Parra-Bueno P, Milner TA, Pan E, Laviv T, Hempstead BL, Yasuda R, McNamara JO: Autocrine BDNF-TrkB signalling within a single dendritic spine. *Nature* 538: 99-103, 2016
- 17) Frisén J, Verge VM, Fried K, Risling M, Persson H, Trotter J, Hökfelt T, Lindholm D: Characterization of glial trkB receptors: differential response to injury in the central and peripheral nervous systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 4971-4975, 1993
- 18) Cai D, Qiu J, Cao Z, McAtee M, Bregman BS, Filbin MT: Neuronal cyclic AMP controls the developmental loss in ability of axons to regenerate. *J Neurosci* 21: 4731-4739, 2001
- 19) Wang Z, Reynolds A, Kirry A, Nienhaus C, Blackmore MG: Overexpression of Sox11 promotes corticospinal tract regeneration after spinal injury while interfering with functional recovery. *J Neurosci* 35: 3139-3145, 2015
- 20) Liu K, Lu Y, Lee JK, Samara R, Willenberg R, Sears-Kraxberger I, Tedeschi A, Park KK, Jin D, Cai B, Xu B, Connolly L, Steward O, Zheng B, He Z: PTEN deletion enhances the regenerative ability of adult corticospinal neurons. *Nat Neurosci* 13: 1075-1081, 2010
- 21) Jin D, Liu Y, Sun F, Wang X, Liu X, He Z: Restoration of skilled locomotion by sprouting corticospinal axons induced by co-deletion of PTEN and SOCS3. *Nat Commun* 6: 8074, 2015
- 22) Weng YL, An R, Cassin J, Joseph J, Mi R, Wang C, Zhong C, Jin SG, Pfeifer GP, Bellacosa A, Dong X, Hoke A, He Z, Song H, Ming GL: An intrinsic epigenetic barrier for functional axon regeneration. *Neuron* 94: 337-346, 2017
- 23) Lu Y, Brommer B, Tian X, Krishnan A, Meer M, Wang C, Vera DL, Zeng Q, Yu D, Bonkowski MS, Yang JH, Zhou S, Hoffmann EM, Karg MM, Schultz MB, Kane AE, Davidsohn N, Korobkina E, Chwalek K, Rajman LA, Church GM, Hochedlinger K, Gladyshev VN, Horvath S, Levine ME, Gregory-Ksander MS, Ksander BR, He Z, Sinclair DA: Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. *Nature* 588: 124-129, 2020
- 24) Lutz AB, Chung WS, Sloan SA, Carson GA, Zhou L, Lovelett E, Posada S, Zuchero JB, Barres BA: Schwann cells use TAM receptor-mediated phagocytosis in addition to autophagy to clear myelin in a mouse model of nerve injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114: E8072-E8080, 2017
- 25) Jessen KR, Mirsky R: The repair Schwann cell and its function in regenerating nerves. *J Physiol* 594: 3521-3531, 2016
- 26) Filbin MT: Myelin-associated inhibitors of axonal regeneration in the adult mammalian CNS. *Nat Rev Neurosci* 4: 703-713, 2003
- 27) Geoffroy CG, Zheng B: Myelin-associated inhibitors in axonal growth after CNS injury. *Curr Opin Neurobiol* 27: 31-38, 2014
- 28) Atwal JK, Pinkston-Gosse J, Syken J, Stawicki S, Wu Y, Shatz C, Tessier-Lavigne M: PirB is a functional receptor for myelin inhibitors of axonal regeneration. *Science* 322: 967-970, 2008
- 29) Duffy P, Wang X, Siegel CS, Tu N, Henkemeyer M, Cafferty WBJ, Strittmatter SM: Myelin-derived ephrinB3 restricts axonal regeneration and recovery after adult CNS injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 5063-5068, 2012
- 30) Lee JK, Geoffroy CG, Chan AF, Tolentino KE, Crawford MJ, Leal MA, Kang B, Zheng B: Assessing spinal axon regeneration and sprouting in Nogo-, MAG-, and OMgp-deficient mice. *Neuron* 66: 663-670, 2010
- 31) Fujita Y, Endo S, Takai T, Yamashita T: Myelin suppresses axon regeneration by PIR-B/SHP-mediated inhibition of Trk activity. *EMBO J* 30: 1389-1401, 2011
- 32) Sofroniew MV: Molecular dissection of reactive astrogli-

- osis and glial scar formation. *Trends Neurosci* 32: 638–647, 2009
- 33) Adams KL, Gallo V: The diversity and disparity of the glial scar. *Nat Neurosci* 21: 9–15, 2018
  - 34) Silver J, Miller JH: Regeneration beyond the glial scar. *Nat Rev Neurosci* 5: 146–156, 2004
  - 35) Barritt AW, Davies M, Marchand F, Hartley R, Grist J, Yip P, McMahon SB, Bradbury EJ: Chondroitinase ABC promotes sprouting of intact and injured spinal systems after spinal cord injury. *J Neurosci* 26: 10856–10867, 2006
  - 36) Muir E, Winter FD, Verhaagen J, Fawcett J: Recent advances in the therapeutic uses of chondroitinase ABC. *Exp Neurol* 321: 113032, 2019
  - 37) Rosenzweig ES, Salegio EA, Liang JJ, Weber JL, Weinholtz CA, Brock JH, Moseanko R, Hawbecker S, Pender R, Cruzen CL, Iaci JF, Caggiano AO, Blight AR, Haenzi B, Huie JR, Havton LA, Nout-Lomas YS, Fawcett JW, Ferguson AR, Beattie MS, Bresnahan JC, Tuszynski MH: Chondroitinase improves anatomical and functional outcomes after primate spinal cord injury. *Nat Neurosci* 22: 1269–1275, 2019
  - 38) Pernet V, Schwab ME: Lost in the jungle: new hurdles for optic nerve axon regeneration. *Trends Neurosci* 37: 381–387, 2014
  - 39) Lu P, Blesch A, Graham L, Wang Y, Samara R, Banos K, Haringer V, Havton L, Weishaupt N, Bennett D, Fouad K, Tuszynski MH: Motor axonal regeneration after partial and complete spinal cord transection. *J Neurosci* 32: 8208–8218, 2012
  - 40) Wang Z, Reynolds A, Kirry A, Nienhaus C, Blackmore MG: Overexpression of Sox11 promotes corticospinal tract regeneration after spinal injury while interfering with functional recovery. *J Neurosci* 35: 3139–3145, 2015
  - 41) Tuszynski MH, Steward O: Concepts and methods for the study of axonal regeneration in the CNS. *Neuron* 74: 777–791, 2012
  - 42) Carmichael ST, Chesselet MF: Synchronous neuronal activity is a signal for axonal sprouting after cortical lesions in the adult. *J Neurosci* 22: 6062–6070, 2002
  - 43) van den Brand R, Heutschi J, Barraud Q, DiGiovanna J, Bartholdi K, Huerlimann M, Friedli L, Vollenweider I, Moraud EM, Duis S, Dominici N, Micera S, Musienko P, Courtine G: Restoring voluntary control of locomotion after paralyzing spinal cord injury. *Science* 336: 1182–1185, 2012
  - 44) Nakagawa H, Ueno M, Itokazu T, Yamashita T: Bilateral movement training promotes axonal remodeling of the corticospinal tract and recovery of motor function following traumatic brain injury in mice. *Cell Death Dis* 4: e534, 2013
  - 45) Fawcett JW: Recovery from spinal cord injury: regeneration, plasticity and rehabilitation. *Brain* 132: 1417–1418, 2009
  - 46) Tanaka T, Ito T, Sumizono M, Ono M, Kato N, Honma S, Ueno M: Combinational approach of genetic SHP-1 suppression and voluntary exercise promotes corticospinal tract sprouting and motor recovery following brain injury. *Neurorehabil Neural Repair* 34: 558–570, 2020
  - 47) Ying Z, Roy RR, Zhong H, Zdunowski S, Edgerton VR, Gomez-Pinilla F: BDNF-exercise interactions in the recovery of symmetrical stepping after a cervical hemisection in rats. *Neuroscience* 155: 1070–1078, 2008
  - 48) Cotman CW, Berchtold NC: Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 25: 295–301, 2002
  - 49) MacLellan CL, Keough MB, Granter-Button S, Chernenko GA, Butt S, Corbett D: A critical threshold of rehabilitation involving brain-derived neurotrophic factor is required for poststroke recovery. *Neurorehabil Neural Repair* 25: 740–748, 2011
  - 50) Ploughman M, Windle V, MacLellan CL, White N, Doré JJ, Corbett D: Brain-derived neurotrophic factor contributes to recovery of skilled reaching after focal ischemia in rats. *Stroke* 40: 1490–1495, 2009
  - 51) Overman JJ, Clarkson AN, Wanner IB, Overman WT, Eckstein I, Maguire JL, Dinov ID, Toga AW, Carmichael ST: A role for ephrin-A5 in axonal sprouting, recovery, and activity-dependent plasticity after stroke. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: E2230–E2239, 2012
  - 52) Nakanishi T, Fujita Y, Tanaka T, Yamashita T: Anti-repulsive guidance molecule-a antibody treatment and repetitive transcranial magnetic stimulation have synergistic effects on motor recovery after spinal cord injury. *Neurosci Lett* 709: 134329, 2019
  - 53) Rowald A, Komi S, Demesmaeker R, Baaklini E, Hernandez-Charpak SD, Paoles E, Montanaro H, Cassara A, Becce F, Lloyd B, Newton T, Ravier J, Kinany N, D'Ercole M, Paley A, Hankov N, Varescon C, McCracken L, Vat M, Caban M, Watrin A, Jacquet C, Bole-Feysot L, Harte C, Lorach H, Galvez A, Tschopp M, Herrmann N, Wacker M, Geernaert L, Fodor I, Radevich V, Keybus KVD, Eberle G, Pralong E, Roulet M, Ledoux JB, Fornari E, Mandija S, Mattera L, Martuzzi R, Nazarian B, Benkler S, Callegari S, Greiner N, Fuhrer B, Froeling M, Buse N, Denison T, Buschman R, Wende C, Ganty D, Bakker J, Delattre V, Lambert H, Minassian K, van den Berg CTA, Kavounoudias A, Micera S, Ville DVD, Barraud Q, Kurt E, Kuster N, Neufeld E, Capogrosso M, Asboth L, Wagner FB, Bloch J, Courtine G: Activity-dependent spinal cord neuromodulation rapidly restores trunk and leg motor functions after complete paralysis. *Nat Med* 28: 260–271, 2022
  - 54) Wahl AS, Omlor W, Rubio JC, Chen JL, Zheng H, Schröter A, Gullo M, Weinmann O, Kobayashi K, Helmchen F, Ommer B, Schwab ME: Asynchronous therapy restores motor control by rewiring of the rat corticospinal tract after stroke. *Science* 344: 1250–1255, 2014
  - 55) Tanaka T, Shimizu S, Ueno M, Fujihara Y, Ikawa M, Miyata S: MARCKSL1 regulates spine formation in the amygdala and controls the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and anxiety-like behaviors. *EBioMedicine* 30: 62–73, 2018
  - 56) Sawada M, Kato K, Kunieda T, Mikuni N, Miyamoto S, Onoe H, Isa T, Nishimura Y: Function of the nucleus accumbens in motor control during recovery after spinal cord injury. *Science* 350: 98–101, 2015

## Voluntary Exercise and Molecular Targeting to Promote Motor Recovery After Brain Injury

Takashi Tanaka,<sup>1,2\*</sup> Masaki Ueno<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Rehabilitation, Faculty of Health Sciences, Kumamoto Health Science University

<sup>2</sup> Department of Anatomy II, Kanazawa Medical University

<sup>3</sup> Department of System Pathology for Neurological Disorders, Brain Research Institute, Niigata University

Brain injury often causes severe motor dysfunction, which interferes with patients' independence and social life. Although injured neural circuits need to be reconstructed for functional recovery, the adult central nervous system shows limited ability to restore neuronal connections. Various therapeutic approaches, including molecular targeting and rehabilitative exercise have been investigated to promote reorganization of spared neural circuits and recovery in animal models; however, these strategies were not shown to achieve complete recovery. Therefore, a novel therapeutic concept or combinational approaches need to be developed. For example, we previously investigated src homology 2-containing phosphatase-1 (SHP-1), an inhibitor of brain-derived neurotrophic factor (BDNF)/tropomyosin receptor kinase B (TrkB) signaling, as a molecule that can promote reorganization. We observed that rehabilitative exercise decreased SHP-1 and increased BDNF/TrkB expression in the spared motor cortex after brain injury in mice. Furthermore, genetic reduction of SHP-1 and rehabilitative training operate synergistically to promote reorganization of motor circuits and functional recovery. In this review, we discuss advances in therapeutic approaches and the underlying mechanisms that enhance neuronal reorganization and recovery after brain injury.

**Key words:** Brain injury, Corticospinal tract, Neuronal reorganization, Functional recovery, Rehabilitation

---

\* Department of Rehabilitation, Faculty of Health Science, Kumamoto Health Science University  
325 Izumi-machi, Kita-ku, Kumamoto-shi, Kumamoto 861-5598  
E-mail: tanaka.ts@kumamoto-hsu.ac.jp

総 説

## 運動制御時の運動主体感を決める手がかり統合戦略\*

宮脇 裕<sup>1) #</sup> 村井昭彦<sup>1) 2)</sup> 大谷武史<sup>3)</sup> 森岡 周<sup>4)</sup>

### 要旨

運動主体感 (Sense of agency) とは、自分が自分の運動を制御しているという感覚を指す。この感覚は、運動の感覚フィードバックに対しフィードバック制御を駆動する役割をもち、感覚入力と運動出力を紐付ける Mediator の役割を担っていると考えられている。運動主体感の誘起には、運動に伴う内的予測などを含む感覚運動手がかりと、運動に直接関連しない知識や信念などの認知的手がかりが関与する。手がかり統合理論によると、状況に応じたこれら手がかりの信頼性に基づき、運動主体感への貢献度を決める重み付けが変化する。この理論に基づき、我々は運動制御時に感覚運動手がかりと認知的手がかりがどのように利用され運動主体感が導かれるのか、その重み付け変化 (i.e., 手がかり統合戦略) の実態について検証を進めてきた。これらの研究成果を中心に、本稿では、運動主体感について運動制御との関係性を概観し、手がかり統合理論の観点からそのメカニズムを議論する。

キーワード 運動主体感, 運動制御, 自他帰属, 手がかり統合

### はじめに

運動主体感 (Sense of agency) とは、自分が自分の運動を制御しているという感覚を指す<sup>1)</sup>。この感覚は、人が運動を遂行する際のモチベーションなどに影響するだけでなく<sup>2)</sup>、運動制御においても重要な役割を担うことが知られている。随意的な運動に運動主体感が生じた場合、その運動に伴う感覚は自分の身体運動により生じた「自己由来」の感覚とラベリングされ運動制御に利用される<sup>3)</sup>。このラベリングは、自己運動を他者や外界から区別したことを意味し、この自他帰属 (Self-other attribution) を通し自己に帰属された運動に対し、フィードバック制御が駆動されると考えられている。このよう

な自他帰属と運動制御の関係性は、古くから、心理物理学的手法を用いた実験により示されている<sup>4)</sup>。

Nielsen<sup>4)</sup> は、運動の視覚フィードバックを実験的に操作することで、感覚の誤った自他帰属 (誤帰属) が運動制御を乱すことを明らかにした。この研究では、参加者は鏡に映る自身の運動を視覚フィードバックとして参照し、上肢のリーチングを実行した。このとき、実験者は参加者に気付かれないように、鏡に映る運動を他者の運動に置き換え、本来の運動軌跡から逸脱する運動を参加者に提示した。その結果、参加者はその鏡に映る他者運動を修正するように、逸脱方向とは反対側にリーチングを行った (i.e., 補償運動)。この結果は一当時に運動主体感という言葉はなかったが一参加者が他者の運動を自分の運動だと誤って信じたことで、その感覚結果に基づき運動を制御しようとしたことを示している。

この古典的実験に示されるように、私たちは、自分がその運動を制御していると感じる限り、たとえそれが実際には自分の運動ではなくても、その運動から得られる感覚結果に基づき運動を制御しようとするのが考えられる。これらの知見から、運動主体感は感覚入力と運動出力を紐付ける Mediator の役割を担っていると考えられている<sup>3)</sup>。そうであれば、運動主体感が生じるメカニズムを解明し、そのメカニズムに基づき運動主体感を操作する手法を確立することで、運動主体感という主観的

\* Cue Integration Strategy for Sense of Agency in Motor Control

1) 産業技術総合研究所人間拡張研究センター  
(〒277-0882 千葉県柏市柏の葉6-2-3 東京大学柏IIキャンパス内)  
Yu Miyawaki, PT, PhD, Akihiko Murai, PhD: Human Augmentation Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (Kashiwa II Campus, University of Tokyo, 6-2-3 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882)  
2) 科学技術振興機構さきかけ研究者  
Akiko Murai, PhD: PRESTO, Japan Science and Technology Agency  
3) 仁寿会石川病院リハビリテーション部  
Takeshi Otani, PT: Department of Rehabilitation, Ishikawa Hospital  
4) 畿央大学ニューロリハビリテーション研究センター  
Shu Morioka, PT, PhD: Neurorehabilitation Research Center, Kio University

# E-mail: yu.miyawaki@aist.go.jp

(受付日 2022年6月9日)

[J-STAGEでの早期公開日 2022年8月27日]

な経験だけでなく、運動制御さえも操作することが可能になるかもしれない。この可能性を実証できれば、運動障害に対する新たな治療提案へと波及することも期待できる。これらを実証するために、我々は複数の心理物理学の実験を通して、運動主体感のメカニズムについて検証してきた。

本稿では、これらの研究成果を中心に紹介し、運動主体感について、運動制御との関係性を概観するとともに、そのメカニズムを議論する。最後に、それらの知見に基づき、運動障害を有する人がどのように運動主体感を得ているのかについて、現在進めている研究の途中経過を交えて言及する。

### 運動主体感のメカニズム

運動のフィードバック制御を駆動するために、人はまず得られた感覚が自己由来か外界由来かを区別する必要があると述べた。この自他帰属は、運動実行時に利用できる様々な認知・感覚運動情報を手がかりとして、それらが統合的に処理された結果として達成されると考えられている<sup>5)</sup>。これらの手がかりは、運動に伴う予測や感覚フィードバックを含む感覚運動手がかりと、運動に直接関連しない知識や信念などの認知的手がかりに大別することができる<sup>6)</sup>。そして、これらの手がかりの効果を包括的に説明する理論として、手がかり統合理論が提唱されている<sup>5)</sup>。以下、まずは感覚運動手がかりと認知的手がかりの理論および先行研究を概観し、それらを包括する手がかり統合理論について説明するとともに、本理論を運動制御の枠組みで検証した我々の研究成果を紹介する。

#### 1. 感覚運動手がかり

感覚運動手がかりの効果は、運動主体感にかかわる要因として最も広く検証されており、その効果を支持する知見が数多く報告されている。感覚運動手がかりとは、運動から得られる感覚フィードバックとその内的予測の照合から得られる内受容的な情報 (i.e., 予測誤差) を指す<sup>6)</sup>。この手がかりは、比較器モデル (Comparator model) に基づき、運動主体感の誘起に関与する<sup>7)8)</sup>。このモデルによると、脳は運動指令の遠心性コピーに基づき、実際にその運動を行った場合にどのような感覚が得られるのかを事前に予測している<sup>9)10)</sup>。この内的予測は、運動の実行により得られた感覚フィードバックと比較され、これらがおおよそ一致する場合 (i.e., 予測誤差が小さい場合) に運動主体感が誘起されると考えられている<sup>11)12)</sup>。

このような感覚運動手がかりの効果は、運動制御課題を用いた研究により支持されている<sup>3)</sup>。この研究では、参加者はモニタ上の波線 (ターゲットライン) を出来る

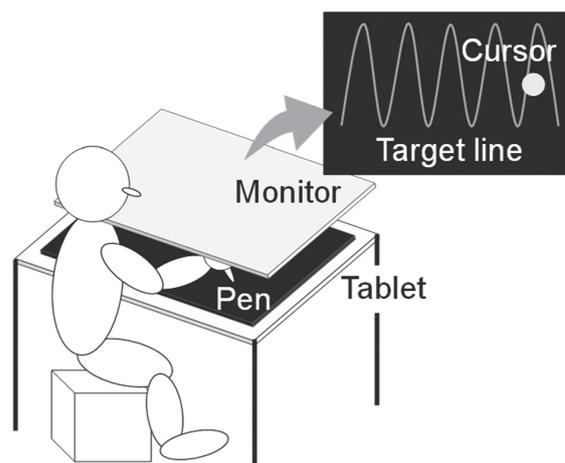


図1 実験セットアップ

限り正確になぞるように、タブレット上でペンを操作した (図1)。このとき、視覚フィードバックとしてカーソルが提示された。カーソルの動きには、自分の実際のペン運動が反映されている条件と、事前に記録した運動が反映されている条件があった。参加者は、自分の運動とその視覚フィードバックであるカーソル運動の時空間的な一致性に基づき、カーソルの運動を自分が制御していると感じる場合に、そのカーソルを操作してターゲットラインをなぞることを求められた。その結果、自分の運動とカーソル運動の時空間的な誤差 (予測誤差) が小さい場合、たとえそれが実際には事前に記録した運動でも、参加者はそのカーソルを操作しようとした。この結果は、フィードバック制御が感覚の自己帰属により駆動されることを示した Nielsen<sup>4)</sup> の知見を支持しており、自他帰属が感覚運動手がかりの比較照合処理、つまり Comparator model に基づくことを示唆している。

#### 2. 認知的手がかり

感覚運動手がかりは、自分自身が実際に運動を実行しており、その運動に伴う情報として自他帰属に利用されるが、知識や思考、信念<sup>13)14)</sup> などの認知的手がかりは、たとえ自分自身が運動を実行していない状況でも、自他帰属に影響することが報告されている。たとえば、二人羽織と同様の手続きを用いた先行研究は、事前に思考を付与することで、参加者が実際に運動していない状況でも、参加者が錯覚的に運動を起こしたかのように感じることを明らかにした<sup>15)</sup>。

この実験では、二人羽織の状況を模し、顔役である参加者の背後から、腕役である実験者が手を動かし、参加者はその運動を観察した。このとき、参加者に認知的手がかりを与えるために、参加者は観察する運動を事前に予告された (e.g., 腕役が敬礼をする場合は事前にそのこ

とを知らされる)。この予告は、プライミングという手続きに基づいており、事前に与えられた情報により参加者はその情報に関する思考が付与されたと解釈できる。この手続きの結果、参加者は事前に予告された運動を観察した場合に、自分がその運動を起こしたかのように感じる事が明らかになった。この知見は、人は思っていることや考えていることが実際に起こった場合に、たとえ自分が運動を実行していなくとも、あたかも自分がその結果を引き起こしたかのように感じることを示唆している。

このような認知的手がかりの効果について、Wegnerら<sup>15-17)</sup>は、結果の自己帰属は実際の因果関係によって決まるのではなく、自分の思考が結果に先行しているかどうか(先行性)、思考と結果が一致しているかどうか(一致性)、他に結果の原因になるものが存在するかどうか(排他性)の3原則(先行性・一致性・排他性)が、結果を自己に帰属することの要件であると論じている。この理論に基づく、たとえ自分が実際に運動を実行しておらず、結果の原因が自分ではなくても、3原則に該当さえすれば、その結果は自分が起こしたものとして自己帰属される可能性があると考えられる。

### 3. 手がかり統合理論

自己帰属には、感覚運動手がかりや認知的手がかりが関与することが報告されているが、これら手がかりがどのように相互作用し、自己帰属を決めるのかについては十分に明らかになっていない。たとえば、感覚運動手がかりの観点ではその感覚結果は自分由来と判定されるが、認知的手がかりの観点では外界由来と判定されるような場合、最終的に人はその感覚結果を自他のどちらに帰属するのだろうか? この疑問に対し、各手がかり間の相互関係を説明するための包括的な理論として手がかり統合(Cue integration)と呼ばれる仮説が提唱された<sup>5)18)</sup>。この理論によると、各手がかりの自己帰属にかかわる重み付けは、その状況における手がかりの信頼性に応じて決定される。たとえば、ある手がかりが自己帰属にとって十分な情報を含んでいない、またはその情報にノイズを含んでおり、その情報源としての信頼性が低い場合、他の手がかりがより重み付けされ自己帰属の決定に貢献する。つまり、自己帰属にかかわる各手がかりの貢献度は、その人が置かれている状況や文脈に依存して変化すると考えられている。

手がかり統合理論は、明示的な指標である主観的な自己判断<sup>19)20)</sup>や暗黙的な指標であるIntentional binding<sup>21)22)</sup>を用いた先行研究により支持されている。しかし、これらの研究では、運動の変化については測定しておらず、課題にはボタン押し<sup>21)</sup>などの単発的な運動が採用されている。リーチング運動など連続的な運動制

御が求められる課題状況では、運動制御に直接関与する感覚運動手がかりの重み付けが強くなり、この手がかりのみで自己帰属が決定される可能性が考えられる。これまでに、運動制御時の自己帰属に認知的手がかりが及ぼす効果を明らかにした研究は報告されておらず、運動制御時に感覚運動手がかりと認知的手がかりがどのように自己帰属に利用されるのか、その手がかり統合戦略は明らかになっていない。この疑問を解決するために、我々は、運動制御課題を用いた3つの心理物理学の実験により、運動制御時の自己帰属における認知的手がかりの効果を検証した<sup>23)</sup>。

#### 運動制御における手がかり統合戦略

運動制御時の自己帰属を可視化するために、我々はAsai<sup>3)</sup>の運動制御課題(図1)を応用した。この課題では、参加者は正弦曲線運動を遂行し、その視覚フィードバックとしてカーソルを提示された。このカーソルの「動き」を感覚運動手がかり、「形」を認知的手がかりとして実験的に操作した。カーソルの動きには、自分の実際のペン運動を反映している条件と、事前に記録した運動を反映している条件があり、参加者は自分のペン運動とカーソル運動間の誤差を参照し自己帰属を行った。認知的手がかりを操作するために、ターゲットラインの前半はカーソルの形を動きに対応付け、形を参照して自己帰属させることで、動きと形の対応関係に関する知識・思考を与えた(e.g., 丸形のカーソルは自分の動きを反映)。ターゲットラインの後半では、このカーソルの動きと形の対応関係が変化することがあり、この際に、参加者が動きと形どちらの情報を利用して自己帰属するかを検証した。まとめると、本実験では、正弦曲線運動という運動制御が求められる状況において、事前に形の情報を認知的手がかりとしてプライミングし、その認知的手がかりが後半の自己帰属に及ぼす影響を検証した。

各手がかりをどの程度自己帰属に利用したかについて、運動の変化を指標として実験間で比較した。その結果、たとえ前半に認知的手がかりを与えられていても、その影響は後半には認められず、参加者は「動き」の誤差情報(i.e., 感覚運動手がかり)に基づいて自己帰属したことを認めた。この結果は、運動制御時の自己帰属が感覚運動手がかりに基づくことを示唆する。この結果に対し我々は、手がかり統合理論に基づき、感覚運動手がかりの情報量を減少させることで、認知的手がかりの効果が出現するかを実験2で検証した。実験2では、基本的な手続きは実験1と同じであったが、感覚運動手がかりの情報量を減少させるためにカーソルを8 Hzで点滅させた。その結果、興味深いことに、参加者は後半にカーソルの動きに加えて、形も利用し自己帰属を行った(図2)。これらの結果は、運動制御において、感覚運動

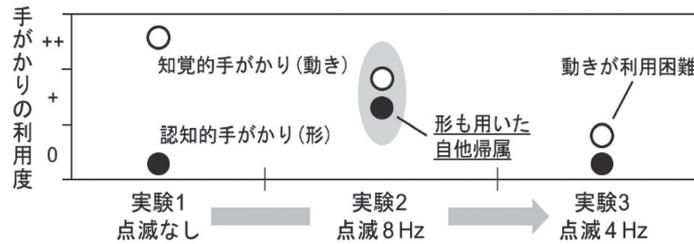


図2 結果の概要図

手がかりが利用できる状況では、その手がかりのみが自他帰属に利用されるが、感覚運動手がかりの情報量が十分でない状況では、認知的手がかりが補完的に利用され自他帰属が達成されることを示唆している。

しかし、重要なこととして、実験2では依然、動きの主効果が有意であった。この結果は、やはり運動制御時の自他帰属は感覚運動手がかりに基づいており、認知的手がかりはあくまでも補完的にしか利用されないという可能性を示唆している。この可能性を精査するために、我々はさらに実験3を実施した。実験3では、カーソルを4 Hzで点減させることで、さらに感覚運動手がかりの情報量を減少させた。その結果として、2つの可能性が想定された。1つは、感覚運動手がかりと認知的手がかりは単なるシーソーのような関係で自他帰属に影響しており、感覚運動手がかりの情報量を減少させる程、認知的手がかりの効果は強くなるという可能性である。もう一方は、運動制御時の自他帰属は感覚運動手がかりに基づいており、この手がかりが利用できる状況においてのみ、補完的にしか認知的手がかりは効果を発揮しないという可能性である。結果は、4 Hzの点減によりカーソルの動きの情報を自他帰属に利用困難な状況では、実験2で認めた形の効果を認めなくなり、単に動きの情報量が減少する程、形の効果が上がるわけではないことを示した。これらの結果は後者の仮説を支持しており、運動制御の状況では、感覚運動手がかりが自他帰属の基盤になっていることが示唆された。

まとめると、これらの結果は、運動制御時の自他帰属が感覚運動手がかりを基になされておられ、感覚運動手がかりを利用できるがその情報量が十分でない場合に、認知的手がかりが補完的に利用されるという運動制御時の手がかり統合戦略を示唆した。これらの知見から、脳は、手がかり間の情報量に応じて単に利用手がかりを切り替えているわけではなく、状況に応じて最適な戦略を柔軟に選択し、最終的な自他帰属を導いている可能性が示唆される。この可能性を明らかにするためには、様々な状況を設定した上で、その状況においてどのような戦略を取り自他帰属が達成されるのか、さらなる検証が必要である。

## まとめと展望

自他帰属には、運動に直接関連する感覚運動手がかりや、運動には直接関連しない認知的手がかりが利用される<sup>6)</sup>。特に、運動制御時には、感覚運動手がかりが主に利用されるが、この情報量が十分でない場合、認知的手がかりが補完的に利用される可能性がある<sup>23)</sup>。このように、手がかり統合戦略は、その対象者が置かれた状況に応じて柔軟に変化することが考えられる<sup>5)</sup>。

これらの知見を考慮すると、感覚運動障害などを有する患者では、健常者とは異なる戦略によって自他帰属をなしているかもしれない。実際に我々は、脳卒中後運動障害を有する患者では、健常者に比べ、自他帰属課題においてより大きな誤帰属を認めることを明らかにした<sup>24)</sup>。さらにこの誤帰属は、運動障害が強い患者において、脳卒中の発症から一定期間経過後に出現する可能性を縦断的な検証により示した<sup>25)</sup>。

これらの知見について本稿では詳述しないが、我々は、感覚運動障害が患者の手がかり統合戦略を次第に変容させ、その結果として誤帰属が起るようになるのではないかと考え、この仮説の検証を現在進めている。この仮説を明らかにできれば、手がかり統合戦略が変容するメカニズムの解明へと繋がり、そのメカニズムを考慮した運動主体感を与える手法の構築に貢献するものと期待している。これまで見てきたように、運動主体感は、運動のフィードバック制御を駆動する上で重要な役割をもつため、フィードバック制御をリハビリテーション医療として患者に実践する理学療法士が、この運動主体感のメカニズムを理解することは重要と考えられる。我々の研究がこの理解に貢献できるように、今後さらなる検証を進めていく。

## 文 献

- 1) Gallagher S: Philosophical conceptions of the self: implications for cognitive science. *Trends Cogn Sci* 4: 14-21, 2000
- 2) Wulf G, Lewthwaite R: Optimizing performance through intrinsic motivation and attention for learning: The OPTIMAL theory of motor learning. *Psychon Bull Rev*

- 23: 1382-1414, 2016
- 3) Asai T: Feedback control of one's own action: Self-other sensory attribution in motor control. *Conscious Cogn* 38: 118-129, 2015
  - 4) Nielsen TI: Volition: A New Experimental Approach. *Scand J Psychol* 4: 225-230, 1963
  - 5) Synofzik M, Vosgerau G, Voss M: The experience of agency: an interplay between prediction and postdiction. *Front Psychol* 4: 127, 2013
  - 6) Synofzik M, Vosgerau G, Newen A: Beyond the comparator model: A multifactorial two-step account of agency. *Conscious Cogn* 17: 219-239, 2008
  - 7) Blakemore SJ, Wolpert DM, Frith CD: Abnormalities in the awareness of action. *Trends Cogn Sci* 6: 237-242, 2002
  - 8) Frith CD, Blakemore SJ, Wolpert DM: Abnormalities in the awareness and control of action. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 355: 1771-1788, 2000
  - 9) Wolpert DM, Ghahramani Z, Jordan MI: An internal model for sensorimotor integration. *Science* 269: 1880-1882, 1995
  - 10) Wolpert DM, Miall RC, Kawato M: Internal models in the cerebellum. *Trends Cogn Sci* 2: 338-347, 1998
  - 11) Sato A, Yasuda A: Illusion of sense of self-agency: discrepancy between the predicted and actual sensory consequences of actions modulates the sense of self-agency, but not the sense of self-ownership. *Cognition* 94: 241-255, 2005
  - 12) Blakemore SJ, Wolpert D, Frith C: Why can't you tickle yourself? *Neuroreport* 11: R11-R16, 2000
  - 13) van der Weiden A, Aarts H, Ruys KI: Prime and probability: Causal knowledge affects inferential and predictive effects on self-agency experiences. *Conscious Cogn* 20: 1865-1871, 2011
  - 14) Desantis A, Roussel C, Waszak F: On the influence of causal beliefs on the feeling of agency. *Conscious Cogn* 20: 1211-1220, 2011
  - 15) Wegner DM, Sparrow B, Winerman L: Vicarious Agency: Experiencing Control Over the Movements of Others. *J Pers Soc Psychol* 86: 838-848, 2004
  - 16) Wegner DM: The mind's best trick: how we experience conscious will. *Trends Cogn Sci* 7: 65-69, 2003
  - 17) Wegner DM, Wheatley T: Apparent mental causation: Sources of the experience of will. *Am Psychol* 54: 480-492, 1999
  - 18) Moore JW, Fletcher PC: Sense of agency in health and disease: A review of cue integration approaches. *Conscious Cogn* 21: 59-68, 2012
  - 19) Wen W, Yamashita A, Asama H: The Sense of Agency during Continuous Action: Performance Is More Important than Action-Feedback Association. *PLOS ONE* 10: e0125226, 2015
  - 20) Gentsch A, Kathmann N, Schütz-Bosbach S: Reliability of sensory predictions determines the experience of self-agency. *Behav Brain Res* 228: 415-422, 2012
  - 21) Moore JW, Wegner DM, Haggard P: Modulating the sense of agency with external cues. *Conscious Cogn* 18: 1056-1064, 2009
  - 22) Wolpe N, Haggard P, Siebner HR, Rowe JB: Cue integration and the perception of action in intentional binding. *Exp Brain Res* 229: 467-474, 2013
  - 23) Miyawaki Y, Morioka S: Confusion within feedback control between cognitive and sensorimotor agency cues in self-other attribution. *Atten Percept Psychophys* 82: 3957-3972, 2020
  - 24) Miyawaki Y, Otani T, Morioka S: Agency judgments in post-stroke patients with sensorimotor deficits. *PLOS ONE* 15: e0230603, 2020
  - 25) Miyawaki Y, Otani T, Morioka S: Dynamic Relationship between Sense of Agency and Post-Stroke Sensorimotor Deficits: A Longitudinal Case Study. *Brain Sci* 10: 294, 2020

## Cue Integration Strategy for Sense of Agency in Motor Control

Yu Miyawaki,<sup>1\*</sup> Akihiko Murai,<sup>1,2</sup> Takeshi Otani,<sup>3</sup> Shu Morioka<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Human Augmentation Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

<sup>2</sup> PRESTO, Japan Science and Technology Agency

<sup>3</sup> Department of Rehabilitation, Ishikawa Hospital

<sup>4</sup> Neurorehabilitation Research Center, Kio University

Sense of agency refers to the feeling of controlling one's actions. It acts as a “mediator” between sensory input and motor output as it can drive feedback control based on sensory feedback of movement. Sense of agency can occur using sensorimotor cues, including sensory feedback and its internal prediction or cognitive cues, such as knowledge or beliefs. The relationship between these cues is explained based on a cue integration theory in which the weight of a certain cue on the registration of agency is determined according to its relative reliability in a given situation. Based on this theory, we investigated how and which sensorimotor and cognitive cues are used for the registration of agency in motor control, thereby indicating the cue integration strategy in motor control. Accordingly, we discuss the mechanism on the registration of agency in terms of the relationship between sense of agency and motor control.

**Key words:** Sense of agency, Motor control, Self-other attribution, Cue integration

---

\* Human Augmentation Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology  
Kashiwa II Campus, University of Tokyo, 6-2-3 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882  
E-mail: yu.miyawaki@aist.go.jp

総 説

## 足関節底屈筋筋力調節能力と姿勢制御機能との関連\*

廣野 哲也<sup>1)2)3)</sup>#

### 要旨

筋力を評価する際、その多くは最大随意筋力が用いられる。しかしながら日常生活動作では最大随意筋力を必要とする場面は少なく、弱い運動強度の筋力をいかに制御しながら発揮するかが重要である。その評価方法として一定の筋力を保持している最中の力変動を評価する筋力調節能力 (Force Steadiness: 以下, FS) がある。FSは加齢や中枢神経疾患によって、変動が大きくなる。FSは目標値を低強度から高強度まで設定可能であり、さまざまな運動強度での能力を評価することができる。今回、足関節底屈筋のFSと姿勢動揺との関連に着目した。健常若年者を対象とした場合、安定面上での姿勢動揺には最大筋力の5%のFSのみが関連し、不安定面上での姿勢動揺には20%のFSのみが関連した。一方で高齢者を対象とした場合、安定面上での姿勢動揺にはいずれのFSも関連を示さず、不安定面上での姿勢動揺に20%のFSのみが関連を示し、強度ごとに関係する運動課題が異なることを示唆した。

キーワード 筋力調整, 低強度, 姿勢制御, 姿勢動揺, 高齢者

### はじめに

筋力を評価する際、その多くは最大随意収縮での等尺性筋力、等速性筋力、最大挙上重量などで評価される。これら最大筋力はさまざまな運動機能との関連があり、リハビリテーションの中でも回復過程を数値化する上で、最大筋力の計測は広く一般的に行われる。しかしながら、日常生活動作では最大筋力を必要とする場面は少なく、低強度であっても筋力をいかに上手に制御するかが重要である。一定の筋力発揮中の筋力変動を評価した筋力調節能力 (force steadiness) という評価指標がある (図1)。筋力調節能力は、力を発揮できればいずれの関節トルクでも評価が可能であり、手指、肘関節、膝関節、足関節と多岐にわたって研究報告がある<sup>1)2)</sup>。さらに筋力調節能力は、目標とする力を合わせることで評

価するため、目標値を低強度から高強度と設定することで、さまざまな運動強度での筋力評価を行うことが可能である。本総説においては、この筋力調節能力と運動機能との関連について述べていく。

### 筋力調節の能力

力を正確に安定して発揮する筋力調節課題は、運動単位の発火頻度調整<sup>3)4)</sup>、筋紡錘や体性感覚などの求心性情報<sup>5)</sup>、皮質・基底核・小脳などの中枢神経系<sup>6)</sup>によって制御されている。つまり、整形疾患や神経疾患が筋力調節能力に影響を与えうる。変形性膝関節症患者の膝伸展筋筋力調節能力は、年齢を合わせた健常高齢者と比較して有意に劣っていることが報告されている<sup>7)</sup>。さらに、高齢者が若年者と比較して劣っていること<sup>2)8)</sup>、転倒歴のある者が転倒歴のない者よりも劣っていること<sup>9)</sup>など、多くの研究報告がある。これら身体特性との関係に留まらず、筋力調節能力は運動機能との関連も報告されている。静的な両脚立位中の足圧中心の動揺と足関節底屈筋筋力調節能力との間には正の相関がある<sup>10)</sup>。つまり、筋力調節能力が劣っている (筋力変動が大きい) 対象者ほど、立位中の姿勢動揺が大きくなることを意味している。さらに興味深いことに、最大等尺性筋力の2.5%または5%を目標値とした際の筋力調節能力のみが姿勢動揺と有意な関連を認め、10%、15%、20%を目標値と

\* Relationship between Ankle Plantar Flexor Force Steadiness and Postural Control

1) 中京大学スポーツ科学部  
(〒470-0393 愛知県豊田市貝津町床立101)  
Tetsuya Hirono, PT, PhD: School of Health and Sport Science, Chukyo University (101 Tokodachi, Kaizu-cho, Toyota, Aichi 470-0393, Japan)

2) 日本学術振興会特別研究員PD  
Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science

3) 京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻  
Human Health Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University

# E-mail: hirono.tetsuya.56x@kyoto-u.jp  
(受付日 2022年6月16日)

[J-STAGEでの早期公開日 2022年8月29日]

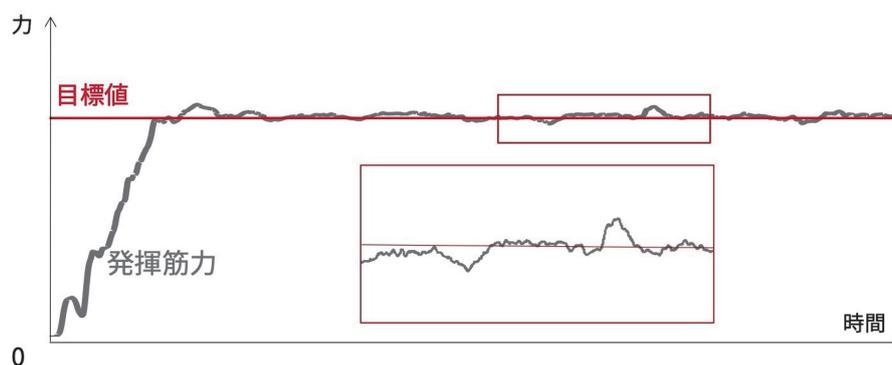


図1 筋力調節課題の測定

目標値に合わせて筋力を発揮し、解析区間内の筋力の変動を標準偏差や変動係数、二乗平均平方根などで評価する。

表1 若年者における姿勢課題と筋力課題との相関

	Force steadiness at 5% of MVT	Force steadiness at 20% of MVT	Force steadiness at 50% of MVT	足関節底屈最大 等尺性筋力
安定面上条件	0.512 (0.002)	0.298 (0.093)	-0.044 (0.808)	-0.298 (0.093)
不安定面上条件	0.276 (0.121)	0.458 (0.007)	0.331 (0.060)	0.051 (0.779)

Pearson の積率相関係数、括弧内は p 値、MVT; maximum voluntary contraction torque

した場合には相関関係を認めなかった。静的な立位中の姿勢動揺には最大筋力の5%以下の小さな筋力を制御、調節することが関係することが示唆される。しかしながらこの研究では、静的な立位課題のみの検討であり、日常生活動作などを考慮した場合、より複雑な動作や細かい制御を必要とする動作が数多く存在するが、それら動作との関連についての検討は少ない。

#### さまざまな姿勢制御課題と筋力調節

我々の実施した研究<sup>11)</sup>において、さまざまな姿勢制御課題と筋力調節能力との関係を検討した研究事例を紹介する。健康若年者33名(平均年齢23±2歳、平均身長166.6±8.3cm、平均体重60.3±11.7kg)を対象とし、異なる2つの姿勢制御課題と3種類の筋力調節課題を実施した。姿勢制御課題は、安定した床面上での片脚立位課題と、不安定な床面上での片脚立位課題を実施した。Biodex Balance System SD (BIODEX社製)を用いて、測定板が固定された安定面条件と、足圧中心に従って測定板の中心を軸として360度方向に傾斜する不安定条件の2条件を用いた。これら条件における前後動揺を計測した。筋力調節課題においては、足関節底屈の最大等尺性随意収縮筋力を計測し、その5%、20%、50%をそれぞれ目標値とした課題を実施し、筋力の変動性を変動係数にて評価、算出した。Pearsonの積率相関係数を用い

て、2条件の姿勢課題の前後動揺と、3種類の筋力調節能力、最大筋力との関係を調べた。その結果、安定面条件の姿勢前後動揺と有意な関連を示したのは、5%を目標値とした筋力調節能力のみであり、その他の指標との関連は認められなかった(表1)。一方で、不安定面条件の姿勢前後動揺には、20%を目標値とした筋力調節能力のみが有意な正の相関を示し、その他の課題との関連は認められなかった(表1)。安定面上での姿勢制御課題の結果は先行研究<sup>10)</sup>を支持する形であり、安定した床面上での姿勢制御には5%といった微弱な筋力を調節する能力がかかっていることが示唆された。Oshitaら<sup>12)</sup>によると、閉眼片脚立位保持時間には、20%を目標値とした筋力調節能力が関連することが報告されており、本研究結果と合わせて考察すると、不安定な条件下になると、より大きな筋力を調節することが求められ、安定面上とは異なる筋力調節能力が関連したことが考えられる。実際に筋電図で計測した筋活動では、本研究<sup>11)</sup>でも、先行研究<sup>13)</sup>でも、不安定な条件下で筋活動が上昇する。つまり運動単位の発火頻度の上昇や、大きな活動電位を有する大きな運動単位の動員<sup>3)4)</sup>、中枢神経系の活動上昇<sup>6)</sup>などが原因として考えられる。同じ筋力調節能力でも、その運動強度によって役割が異なり、改善したい運動機能に合わせて、運動強度を設定する重要性が示唆された。

表2 高齢者における姿勢課題と筋力調節との相関

	Force steadiness at 5% of MVT	Force steadiness at 20% of MVT	Force steadiness at 50% of MVT	足関節底屈最大 等尺性筋力
安定面上条件	0.160 (0.436)	0.064 (0.756)	0.052 (0.800)	0.043 (0.836)
不安定面上条件	-0.071 (0.731)	0.428 (0.029)	0.308 (0.126)	0.052 (0.800)

Spearman の順位相関係数, 括弧内は p 値, MVT; maximum voluntary contraction torque

### 高齢者における筋力調節と姿勢制御

高齢者においても同様に、足関節底屈筋の筋力調節能力と姿勢動揺との関連を報告する研究は存在する<sup>14)15)</sup>。しかしながら、高齢者では若年者のような有意な相関関係を認めず<sup>14)</sup>、また最大筋力の5%や10%の低強度の筋力調節課題を4週間実施しても、姿勢動揺の改善は認められなかったことを報告している<sup>15)</sup>。しかしこれら報告はいずれも安定面上での姿勢動揺を評価したものであり、高齢者が苦渋する不安定な条件下での姿勢動揺は十分に評価されていなかった。そこで我々は、高齢者を対象として、安定面および不安定面上での姿勢動揺と足関節底屈筋の筋力調節課題との関連を検討した<sup>16)</sup>。地域在住女性高齢者26名(72 ± 6歳, 156 ± 6cm, 53 ± 6kg)が参加し、Biodex Balance System SD (BIODEX社製)を用いて安定面条件と不安定面条件の両脚立位課題を実施し、前後動揺を評価した。さらに、足関節底屈筋の最大等尺性随意筋力を評価し、その5%、20%、50%それぞれを目標値とした筋力調節課題を実施し、筋力変動を評価した。その結果、先行研究<sup>14)15)</sup>同様に、安定面条件ではいずれの筋力調節能力とも関連を認めなかった一方で、不安定面条件では20%を目標値とした際の筋力調節能力との間に有意な正の相関を認めた。これは若年者の結果<sup>11)</sup>と同様であり、不安定な条件下では、20%程度の低強度での力調節能力が重要であることが示唆された。高齢者では、加齢によって特に低強度での筋力調節能力が低下しており<sup>2)</sup>、運動単位の発火頻度<sup>17)</sup>や、体性感覚の低下<sup>18)</sup>などが原因として考えられている。しかしながら、20%程度の強度では、中枢神経系の活動が大きくなること<sup>6)</sup>で、求心性フィードバック以外の随意要素での力制御や姿勢制御を行う必要があり、不安定面条件の姿勢動揺と20%の筋力調節能力との間にのみ有意な関連を認めたのかもしれない。今後さらに、高齢者を対象とした低強度筋力調節課題の介入試験などで、強度依存での姿勢制御や運動課題遂行能力の改善が図れるかは興味深いテーマである。

### 最後に

筋力調節課題はトレーニングすることで能力の向上(つまり筋力の変動が小さくなること)が報告されている<sup>19)</sup>。それに伴い、姿勢制御にも変化が生じる<sup>19)</sup>。我々も、筋力調節課題を実施する直後に姿勢制御に変化が生じるかを検討している<sup>20)</sup>。今後も、目的とした運動に即した関節トルクにて、さまざまな強度を目標値とした筋力調節能力を評価することが、リハビリテーションのトレーニング戦略を決定する根拠になりうるかもしれない。筋力トレーニングといえば、最大筋力の60%や70%以上の高強度が推奨されているが<sup>21)</sup>、これはあくまで筋力の増強や筋肥大を目的とした基準にすぎない。最大筋力ではない、日常生活動作に即した低強度の筋力に焦点を当て、改善したい運動機能や獲得したい動作に合わせて、適切な低強度の筋力調節課題などのトレーニングを繰り返すことが有効であるかもしれない。まだまだ低強度での筋力調節課題との運動機能との関連については不明な点も多く、さらなる研究が進むことを期待したい。

謝辞：京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻の市橋則明教授、谷口匡史助教、関西医科大学リハビリテーション学部の池添冬芽教授、山縣桃子助教、梅原潤助教、京都先端科学大学木村みさか教授をはじめ、多くの方のご協力の下、貴重な助言と激励をいただき研究を実施、遂行し、研究成果を発表するに至った。ここに記して感謝の意を表す。

### 文 献

- 1) Enoka RM, Farina D: Force Steadiness: From Motor Units to Voluntary Actions. *Physiology* (Bethesda) 36(2): 114-130, 2021. doi:10.1152/physiol.00027.2020
- 2) Oomen NM, van Dieen JH: Effects of age on force steadiness: A literature review and meta-analysis. *Ageing Res Rev* 35: 312-321, 2017. doi:10.1016/j.arr.2016.11.004
- 3) Kornatz KW, Christou EA, Enoka RM: Practice reduces motor unit discharge variability in a hand muscle and improves manual dexterity in old adults. *J Appl Physiol* (1985) 98(6): 2072-2080, 2005. doi:10.1152/jappphysiol.

- 01149.2004
- 4) Moritz CT, Barry BK, Pascoe MA, Enoka RM: Discharge rate variability influences the variation in force fluctuations across the working range of a hand muscle. *J Neurophysiol* 93(5): 2449–2459, 2005. doi:10.1152/jn.01122.2004
  - 5) Holmes MR, Gould JR, Pena-Gonzalez I, Enoka RM: Force steadiness during a co-contraction task can be improved with practice, but only by young adults and not by middle-aged or old adults. *Exp Physiol* 100(2): 182–192, 2015. doi:10.1113/expphysiol.2014.083741
  - 6) Yoon T, Vanden Noven ML, Nielson KA, Hunter SK: Brain areas associated with force steadiness and intensity during isometric ankle dorsiflexion in men and women. *Exp Brain Res* 232(10): 3133–3145, 2014. doi:10.1007/s00221-014-3976-z
  - 7) Smith JW, Marcus RL, Peters CL, Pelt CE, Tracy BL, LaStayo PC: Muscle force steadiness in older adults before and after total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 29(6): 1143–1148, 2014. doi:10.1016/j.arth.2013.11.023
  - 8) Tracy BL: Force control is impaired in the ankle plantar flexors of elderly adults. *Eur J Appl Physiol* 101(5): 629–636, 2007. doi:10.1007/s00421-007-0538-0
  - 9) Carville SF, Perry MC, Rutherford OM, Smith IC, Newham DJ: Steadiness of quadriceps contractions in young and older adults with and without a history of falling. *Eur J Appl Physiol* 100(5): 527–533, 2007. doi:10.1007/s00421-006-0245-2
  - 10) Kouzaki M, Shinohara M: Steadiness in plantar flexor muscles and its relation to postural sway in young and elderly adults. *Muscle Nerve* 42(1): 78–87, 2010. doi:10.1002/mus.21599
  - 11) Hirono T, Ikezoe T, Taniguchi M, Yamagata M, Miyakoshi K, Umehara J, Ichihashi N: Relationship between ankle plantar flexor force steadiness and postural stability on stable and unstable platforms. *Eur J Appl Physiol* 120(5): 1075–1082, 2020. doi:10.1007/s00421-020-04346-0
  - 12) Oshita K, Yano S: Relationship between force fluctuation in the plantar flexor and sustainable time for single-leg standing. *J Physiol Anthropol* 29(3): 89–93, 2010. doi:10.2114/jpa2.29.89
  - 13) Cimadoro G, Paizis C, Alberti G, Babault N: Effects of different unstable supports on EMG activity and balance. *Neurosci Lett* 548: 228–232, 2013. doi:10.1016/j.neulet.2013.05.025
  - 14) Barbosa RN, Silva NRS, Santos DPR, Moraes R, Gomes MM: The variability of the force produced by the plantar flexor muscles does not associate with postural sway in older adults during upright standing. *Hum Mov Sci* 60: 115–121, 2018. doi:10.1016/j.humov.2018.05.009
  - 15) Barbosa RN, Silva NRS, Santos DPR, Moraes R, Gomes MM: Force stability training decreased force variability of plantar flexor muscles without reducing postural sway in female older adults. *Gait Posture* 77: 288–292, 2020. doi:10.1016/j.gaitpost.2020.02.015
  - 16) Hirono T, Ikezoe T, Yamagata M, Kato T, Kimura M, Ichihashi N: Relationship between postural sway on an unstable platform and ankle plantar flexor force steadiness in community-dwelling older women. *Gait Posture* 84: 227–231, 2021. doi:10.1016/j.gaitpost.2020.12.023
  - 17) Kallio J, Sogaard K, Avela J, Komi P, Selanne H, Linnamo V: Age-related decreases in motor unit discharge rate and force control during isometric plantar flexion. *J Electromyogr Kinesiol* 22(6): 983–989, 2012. doi:10.1016/j.jelekin.2012.05.009
  - 18) Brown KE, Neva JL, Feldman SJ, Staines WR, Boyd LA: Sensorimotor integration in healthy aging: Baseline differences and response to sensory training. *Exp Gerontol* 112: 1–8, 2018. doi:10.1016/j.exger.2018.08.004
  - 19) Oshita K, Yano S: Low-frequency force steadiness practice in plantar flexor muscle reduces postural sway during quiet standing. *J Physiol Anthropol* 30(6): 233–239, 2011. doi:10.2114/jpa2.30.233
  - 20) Hirono T, Ikezoe T, Taniguchi M, Yamagata M, Umehara J, Ichihashi N: Acute effects of ankle plantar flexor force-matching exercises on postural strategy during single leg standing in healthy adults. *Gait Posture* 92: 428–434, 2022. doi:10.1016/j.gaitpost.2021.12.021
  - 21) Thompson PD, Arena R, Riebe D, Pescatello LS, American College of Sports M: ACSM’s new preparticipation health screening recommendations from ACSM’s guidelines for exercise testing and prescription, ninth edition. *Curr Sports Med Rep* 12(4): 215–217, 2013. doi:10.1249/JSR.0b013e31829a68cf

## Relationship between Ankle Plantar Flexor Force Steadiness and Postural Control

Tetsuya Hirono<sup>1, 2, 3\*</sup>

<sup>1</sup> School of Health and Sport Science, Chukyo University

<sup>2</sup> Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science

<sup>3</sup> Human Health Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University

When assessing the muscle condition, maximum muscle strength is often used. However, maximum voluntary strength is always not necessary for daily activities; rather, it is important to control low-intensity muscle contraction. One of the methods to assess the ability is force steadiness, which means force fluctuation during maintaining exerted force at submaximal target value. Force fluctuation is greater in aged people or patients with neurological disorders. Force steadiness during various intensities can be evaluated by setting the target force from low- to high-intensity force level. This article focuses on relationship between ankle plantar flexor force steadiness and postural control. In healthy young adults, force steadiness at 5% of maximum voluntary contraction torque (MVT) was related to postural sway on a stable platform, and force steadiness at 20% of MVT was related to postural sway on an unstable platform. While in older adults, force steadiness at any intensity was not related postural sway on a stable platform, but force steadiness at 20% of MVT was only related to postural sway on an unstable platform. These results suggested that different postural tasks are associated with force steadiness at different intensities.

**Key words:** Force control, Low-intensity, Postural control, Postural sway, Older adults

---

\* School of Health and Sport Science, Chukyo University  
101 Tokodachi, Kaizu-cho, Toyota, Aichi 470-0393, Japan  
E-mail: hirono.tetsuya.56x@kyoto-u.jp

総 説

## 骨格筋の再生と細胞老化\*

齋藤悠城<sup>1)</sup># 千見寺貴子<sup>2)</sup>

### 要旨

細胞老化はがん抑制や個体発生、さらには組織再生など生体に重要な機能を果たす一方で、加齢や慢性炎症などを進展する二面性が報告されている。近年、骨格筋への運動ストレスが細胞老化を誘導して骨格筋の修復や再生を促進するだけでなく、慢性炎症や線維化など骨格筋病態へも関与することが明らかになってきた。細胞老化制御機構の解明は新たな骨格筋治療の突破口になる可能性を秘めている。本稿では、運動による骨格筋の細胞老化と組織修復プロセスを中心に、骨格筋における細胞老化の影響について概説する。

キーワード 細胞老化, 骨格筋, 再生, 慢性炎症

### はじめに

細胞老化 (Cellular Senescence) とは、ラテン語で“old”を意味する“senex”に由来し、1961年にHayflicらによって報告された現象である。細胞老化という現象が発見される以前は、培養細胞は無限に増殖すると考えられていたが、培養を継続すると、分裂速度が徐々に遅くなり、最終的には分裂を止めてしまうという現象を正常ヒト線維芽細胞で明らかにした。この細胞老化の発見以降、テロメアの発見、さらにはがん抑制機構の解明など、その生理的機能が明らかになることで細胞老化研究は大きく発展してきた<sup>1)</sup>。その後、細胞老化は組織修復や個体発生においても重要な役割を果たすことが報告され、我々の身体を維持するために不可欠な機構であることが示されている。一方で、細胞老化は慢性炎症、線維化、加齢などさまざまな生体機能に影響を与えることも明らかになり、医学的な関心が高まっている。

運動は、幅広い年齢層の疾患に対して、安全で効果的かつ費用対効果の高い“薬”として幅広く認知され、運

動不足は老化を促進し、がん、肥満、心血管疾患など加齢に伴う慢性疾患を引き起こす要因として知られている<sup>2)</sup>。近年、運動による骨格筋間葉系前駆細胞へのストレスが細胞老化という現象を介して骨格筋の恒常性維持や再生、さらには慢性炎症や組織の線維化などさまざまな骨格筋病態への関与が明らかになってきた。本稿では、細胞老化に伴う組織修復機構、加齢性疾患における細胞老化の役割、運動による細胞老化制御と骨格筋の修復について概説する。

### 細胞老化とは

身体を構成する細胞は日々さまざまなストレスに晒されて、ダメージを受けている。ダメージを受けた細胞の一部は修復機構を働かせることで細胞の構造的および機能的な完全性を回復させることができる。しかし、修復不能なレベルのダメージを受けた細胞は、組織の変性を防ぐために、細胞死を選択する。これらの両極端の選択肢の間で、増殖を止めるが生存可能な状態を維持する細胞が存在し、その状態を細胞老化という。2019年にInternational Cell Senescence Associationによって、細胞老化はさまざまなストレスや生理学的プロセスによって引き起こされる細胞の状態であり、不可逆的に細胞周期を停止するとともに、サイトカインやケモカインなど生理活性物質を分泌する機能を持ち、DNA・タンパク質・脂質損傷を含む macromolecule ダメージを起こすこと、さらには代謝の変化を伴う状態であることと定義された<sup>1)</sup>。特に、老化細胞が生理活性物質を分泌する現

\* Cellular Senescence and Skeletal Muscle Regeneration

1) 札幌医科大学解剖学第2講座  
(〒060-8556 北海道札幌市中央区南1条西17丁目)  
Yuki Saito, PT, PhD: Department of Anatomy, Sapporo Medical University School of Medicine (South 1 West 17, chuoku, Sapporo, Hokkaido, 060-8556, Japan)

2) 北海道大学大学院保健科学研究院  
Takako S Chikenji, OT, PhD: Department of Health Sciences, School of Medicine, Hokkaido University

# E-mail: yuki.saito@sapmed.ac.jp  
(受付日 2022年6月30日)

[J-STAGEでの早期公開日 2022年8月30日]

象 (senescence-associated secretory phenotype : 以下, SASP, 細胞老化関連分泌形質) は, この老化細胞の分泌現象によって周辺細胞に働きかけることで, 個体発生や組織修復, がん抑制, さらには慢性炎症, 線維化, 加齢などさまざまな生体機能に影響を与える<sup>3)</sup>。個体発生, 組織修復・再生, がん抑制など生理的機能に関与する生体のホメオスタシスに不可欠な働きは, 有益な細胞老化とも呼ばれ, 例えば組織修復・再生過程では, 1) ダメージを受けた細胞は細胞老化を起こして SASP となり, 2) 老化細胞から分泌されるケモカインやサイトカインなどにより免疫細胞が損傷部に動員され, 3) 動員された免疫細胞, 特に貪食機能をもったマクロファージや NK 細胞がダメージを受けた老化細胞をクリアランスすることで組織修復を促進する<sup>3)</sup>。この有益な細胞老化がもたらす一連のプロセスは, senescence-clearance-regeneration-sequence とも言われ, 老化細胞の重要な機能と考えられている<sup>3)4)</sup>。一方で, 加齢や慢性疾患によってこの細胞老化の連鎖が滞ることで, 老化細胞が蓄積し, 有害な老化としてサルコペニアや糖尿病, 動脈硬化, 肺線維症, 慢性腎臓病などさまざまな慢性疾患の原因となることもわかっている<sup>3)</sup>。今のところ, この有益な細胞老化と有害な細胞老化の違いは未だ明確でなく, 細胞老化を定義するマーカーもさまざまな報告がみられるが, 統一した見解は得られていない。老化細胞マーカーには, 細胞質における senescence-associated beta-galactosidase (SA- $\beta$ -Gal) やリポフスチンの発現の他, 細胞周期制御因子の p16INK4A や p21, テロメア長の短縮, Ki-67 などによる細胞増殖の低下, Lamin B1 の発現低下, SASP 因子などが報告されている<sup>1)5)</sup>。

### 骨格筋における細胞老化

骨格筋の老化と細胞老化の関連が報告されており, 特に筋幹細胞の細胞老化が加齢に伴う筋量の低下や筋再生能力の低下を引き起こすことが報告されている<sup>6)7)</sup>。老齢マウスの筋幹細胞は p16INK4A の発現レベルが高く, 筋損傷後の再生能力が低下すること, さらには老齢マウスの筋幹細胞を若年マウスに移植すると筋損傷後の再生能力が低下することから, 筋幹細胞の細胞老化によって筋再生が抑制されることが明らかになっている<sup>6)7)</sup>。また, 老化細胞を除去することでサルコペニアを予防できるかを明らかにするために, 早老症モデルマウスである BubR1H/H と老化細胞特異的なアポトーシスを誘導する INK-ATTAC マウスを用いた研究がある<sup>8)9)</sup>。INK-ATTAC マウスは生体内の p16INK4A 陽性の老化細胞を緑色蛍光タンパク質 (GFP) で可視化できるとともに, AP20187 という低分子化合物を投与することで, p16INK4A 陽性細胞特異的にアポトーシスを誘導できるマウスである<sup>8)9)</sup>。この研究では, AP20187 を投与するこ

とで p16INK4A 陽性細胞のアポトーシスを誘導し, 老化細胞を体内から減少させることで, 骨格筋線維断面積の減少を防ぐことを示した<sup>8)</sup>。これらの研究によって, 老化細胞は骨格筋損傷後の再生能力を低下させるだけではなく, 加齢に伴う筋量の低下にも影響を与えることがわかった。一方で, 細胞老化は, 単に老化とともに増加し, 蓄積することで骨格筋に不利益を与えるのではなく, 筋損傷に応答して骨格筋再生を誘導する働きがあることも示されている。筋損傷後に一過性に増加する老化細胞が筋再生にどのような影響があるかを明らかにするため, i4F マウスを用いた研究がある<sup>10)</sup>。i4F マウスはドキシサイクリンを投与することで山中4因子として知られる転写因子 *Oct4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-Myc* を活性化させ, 生体内でリプログラミングするマウスである<sup>11)</sup>。実際に, i4F マウスでは筋損傷後に筋幹細胞のリプログラミングが認められたが, その近傍の骨格筋間質には高頻度で老化細胞が存在することが明らかになった<sup>10)</sup>。このように, 老化細胞は筋萎縮にかかわる一方で, 筋再生にも深く関与していることが明らかになっている。

### 骨格筋の再生と変性にかかわる骨格筋間葉系前駆細胞

骨格筋の再生に筋幹細胞が重要な役割を果たすことはよく知られているが, 加齢や長期間の不動, 慢性炎症性筋疾患によって引き起こされる骨格筋の脂肪化や線維化の原因細胞は長年明らかになっていなかった。2010年に Uezumi らの研究グループによって, 骨格筋の間質に存在し, PDGFR $\alpha$  を発現する間葉系前駆細胞 (Mesenchymal progenitor) が骨格筋における異所性脂肪細胞の原因細胞であることが明らかになった<sup>12)</sup>。この間葉系前駆細胞は後に, 脂肪化のみならず, 骨格筋の線維化や骨化の原因となることも明らかになり, 骨格筋疾患における重要な標的細胞として広く注目をされるようになった。同じく2010年に Joe らの研究グループでは, 骨格筋の間質に存在し Sca-1 陽性で線維芽細胞および脂肪細胞に分化できる細胞を同定し, fibro/adipogenic progenitor (以下, FAP) と名付けた<sup>13)</sup>。さらに, FAP は筋幹細胞を制御することで筋再生や筋肥大にも重要な役割を果たすことがわかり, その重要性が注目された。これら2つの研究グループで発見された細胞はそれぞれ共通した細胞表面マーカーを有していることや骨格筋間質に存在することから同一の細胞と考えられているが, 未だにその名称は研究者によって異なる。FAP は線維芽細胞および脂肪細胞に分化可能な前駆細胞という意味であることから, 骨分化することも証明された現在では, この細胞を正しく表現できていない問題がある。一方でより適切な名称と考えられる Mesenchymal progenitor は MP と略された場合に, myogenic progenitor と混同してしまうことがあるためか, この細胞の表現に

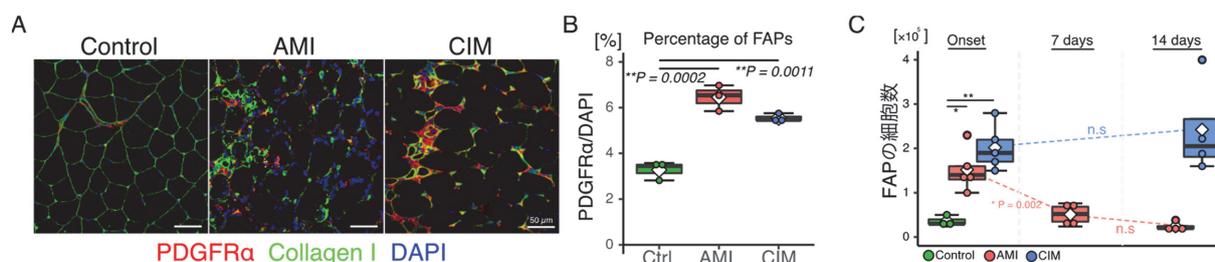


図1 急性筋炎および慢性筋炎モデルマウスにおける間葉系前駆細胞数の変化

(A, B) 正常, 急性筋炎, 慢性筋炎モデルマウス骨格筋における免疫組織染色の代表例および PDGFR $\alpha$  陽性細胞の割合の定量結果. 急性筋炎および慢性筋炎でコントロールよりも有意に PDGFR $\alpha$  陽性細胞の割合が高かった. (C) 間葉系前駆細胞の細胞数の経時変化. 急性筋炎では筋炎発症後 14 日で間葉系前駆細胞の細胞数が定常状態に戻るが, 慢性筋炎では 14 日後においても間葉系前駆細胞の細胞数が高値を示した. (Saito Y, Chikenji TS, et al., Nat Commun, 2020 一部改変)

は FAP が使用される場合が少なくない。本総説では間葉系前駆細胞 (Mesenchymal progenitor または FAP) とする。

### FAP の細胞老化

早老症モデルマウスの BubR1H/H では正常マウスと比較して細胞老化因子の一つである p16INK4A の発現レベルが FAP で増加し, 筋損傷後の再生を遅延させることが報告されている<sup>14)</sup>。一方で, 同じ細胞老化を制御する因子の p53 または p21 をノックアウトした BubR1H/H ではむしろ筋再生を阻害することも同じ論文で示されている<sup>14)</sup>。また, 重篤な症状を呈する筋ジストロフィーモデルラットを用いた研究では, In situ hybridization によって Cdkn2a (p16INK4A) を発現する FAP が存在することを明らかにしたが<sup>15)</sup>, 老化した FAP と筋ジストロフィーの病態の因果関係は未だ十分に明らかになっていない。また, 筆者らは FAP における細胞老化が骨格筋の再生に重要な役割を果たすことを 2019 年の EBioMedicine と 2020 年の Nature Communications で報告してきた。それら 2 報について詳しく紹介する<sup>4)16)</sup>。

我々は FAP がなぜ骨格筋の再生を促す場合と, 線維化や脂肪化といった骨格筋の変性を促す場合があるのか, その違いを明らかにするため, 炎症後に筋再生が起こるモデルと炎症後に筋再生には至らず慢性筋炎を呈するモデルを作成した。筋再生が起こるモデルとして, Balb/c マウスの骨格筋に塩化バリウム (BaCl<sub>2</sub>) を投与する急性筋損傷モデル (Acute muscle injury: 以下, AMI), 慢性筋炎モデルとして, Balb/c モデルマウスに, 粗精製した Balb/c 由来ミオシンと完全フロイトアジュバントで免疫し, 自己免疫性慢性筋炎モデル (Chronic inflammatory myopathy: 以下, CIM) を作成した。筋炎発症時において, 骨格筋に存在する FAP は AMI, CIM ともに正常マウス骨格筋と比較して有意に増加し

ていた (図 1A, 1B)。AMI は 7 日後に FAP 数が減少し, 14 日で正常マウスと同等の細胞数になり, 筋再生を完了させた (図 1C)。一方, CIM では 14 日後の時点でも FAP 数が増加したままであった (図 1C)。この結果から, AMI では筋炎発症後に起こる FAP の増殖にブレーキをかける一方で, CIM ではブレーキがかけられないのではないか? と推測した。細胞増殖のブレーキは上述のように, 細胞老化が深くかかわっているため, AMI および CIM 由来の FAP で細胞老化が起こっているかを評価した。実際に, 細胞老化マーカーの一つである SA- $\beta$ -Gal および p16INK4A を発現する FAP は CIM で AMI よりも有意に少なかった。次に, AMI で増加した老化 FAP が骨格筋の再生に有益な働きをするのかを明らかにするため, AMI および CIM マウスから単離した FAP と筋幹細胞の共培養実験を行った。AMI 由来 FAP は筋幹細胞の分化を促進する一方, CIM 由来 FAP は筋幹細胞の分化を促進することができなかったことから, 筋損傷後に細胞老化を呈する AMI 由来 FAP は筋再生を促進する可能性があることがわかった (図 2)。次に, FAP と類似した機能を有する骨髄由来間葉系前駆/幹細胞 (以下, MSC) を用い, 急性炎症状態で生じる有益な細胞老化を模擬した MSC を作製し (有益老化 MSC), CIM マウスに移植して筋再生を促進するかどうかを検討した。結果, 有益老化 MSC は筋再生を促進する一方, 細胞老化因子の CDKN2A をノックアウトした MSC の移植では筋再生を促進できなかった。さらに, 有益老化 MSC を移植した骨格筋では, マクロファージや NK 細胞を増加させることで, ダメージを受けた細胞のクリアランスを促進する可能性を示した。つまり, 通常再生しない慢性筋炎であっても senescence-clearance-regeneration-sequence の誘導をすることによって筋再生を促進できる可能性があることを見出した。また, 細胞老化因子の一つである Trp53 ノックアウトマウスから単離した FAP を正常マウス骨格筋に生着させ,

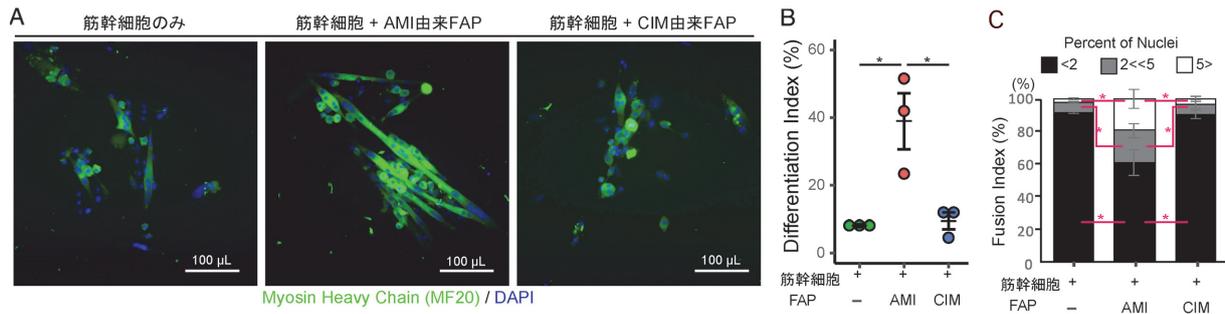


図2 間葉系前駆細胞と筋幹細胞の共培養

(A) 間葉系前駆細胞と筋幹細胞の単離および共培養実験。(B, C) 筋幹細胞と間葉系前駆細胞を共培養したのち、免疫染色をして筋幹細胞の分化および筋管形成を評価し、定量した。急性筋炎由来の間葉系前駆細胞は筋幹細胞の分化を促進したが、慢性筋炎由来の間葉系前駆細胞は筋幹細胞の分化を促進しなかった。(Saito Y, Chikenji TS, et al., Nat Commun, 2020 一部改変)

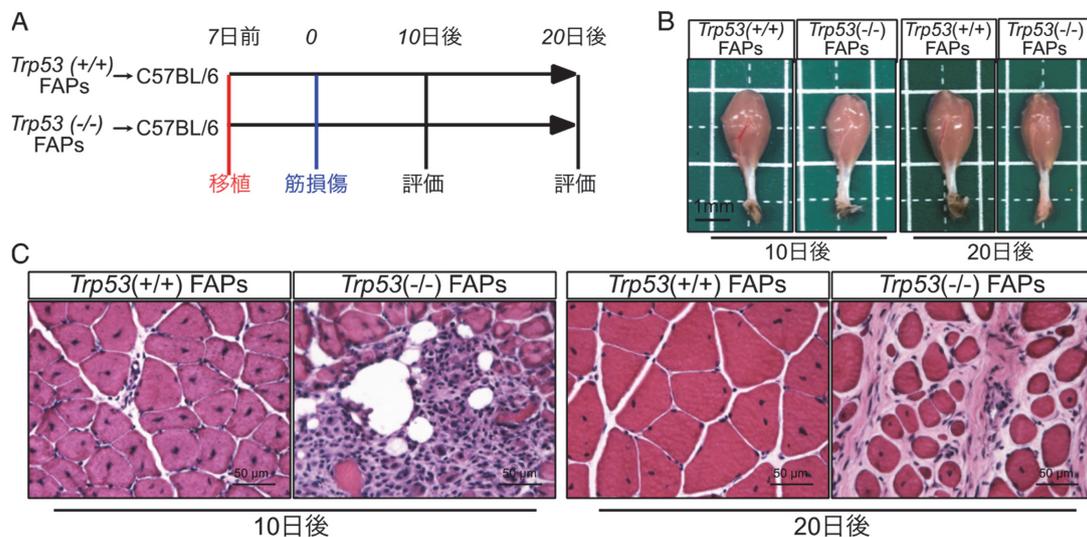


図3 Trp53 ノックアウトマウス由来間葉系前駆細胞の移植後の筋再生プロセスの変化

(A) 間葉系前駆細胞移植および急性筋炎の誘導プロトコル。Trp53 ノックアウト間葉系前駆細胞を移植後、急性筋炎を誘導し、(B, C) その10日後および20日後の下腿三頭筋のマクロ所見および組織学的所見 (H&E 染色)。Trp53 ノックアウト間葉系前駆細胞が移植された筋ではそのボリュームが小さい。また、組織学的所見では、Trp53 ノックアウト間葉系前駆細胞を移植において、10日後では過剰な炎症細胞浸潤と20日後では、骨格筋間質の線維化を認め、筋再生を阻害していた。(Saito Y, Chikenji TS, et al., Nat Commun, 2020 一部改変)

BaCl<sub>2</sub> 投与による急性筋炎を起こしたところ、筋再生が十分に起こらず、慢性炎症および骨格筋間質の線維化が誘導された (図 3A-3C)。これらの結果から、MSC や FAP といった間葉系細胞における細胞老化が筋再生に重要であることが明らかになった。

### 運動と細胞老化

我々は、運動刺激が FAP の細胞老化を誘導するか検討するため、正常マウスに筋損傷を伴う強度の 17 m/min、20 度のダウンヒルランニングを 30 分負荷した。すると、FAP の細胞老化が誘導され<sup>16)</sup>。さらに、運動誘発性の FAP の細胞老化は、急性炎症時に筋再生にかかわる FAP と類似した SASP 因子の発現増加とともに、アポトーシス促進的な表現系を示し、有益な老化細胞と

して機能する可能性を示した<sup>16)</sup>。一方で、CIM マウスに対する同様の運動刺激は Cdkn1a や Cdkn2a などの細胞老化因子の発現をむしろ減少させること、さらに組織の線維化に参与する Tgfb1 の発現レベルが増加することを明らかにした。そこで、CIM においても運動とともに FAP の細胞老化を誘導することができれば、筋再生を誘導できるのではないかと考え、細胞老化因子の p16INK4A や p53 を活性化できる薬剤 AICAR に着目した<sup>17)18)</sup>。AICAR は AMP-activated protein kinase (AMPK) を活性化させる作用を有する薬剤で、線維芽細胞の p16INK4A の発現レベルを増加させることが報告されている<sup>17)</sup>。実際に、in vitro で FAP においても AICAR を添加することで p16INK4A および p53 の発現亢進を認めた。次に、17 m/min、20 度のダウンヒルラ

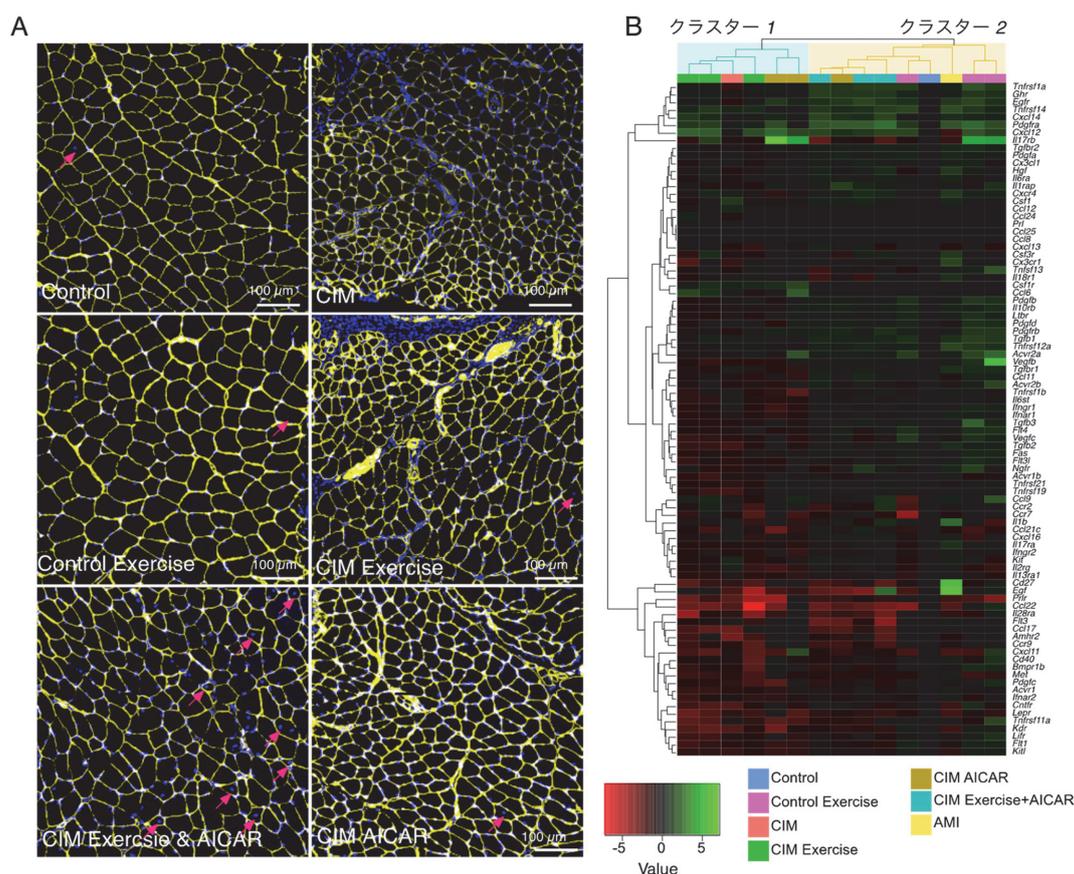


図4 慢性筋炎モデルマウスに対する運動刺激と AICAR 治療

(A) 正常および慢性筋炎モデルマウスに対する運動および AICAR 治療後の組織学的評価。ラミニン抗体で免疫染色を行い、筋線維を可視化している。矢印は、中心核をもつ筋線維を示し、筋再生過程にある筋線維である。慢性筋炎に対し、運動と AICAR 治療を組み合わせることで、筋線維のサイズが増大し、再生過程にある筋線維も増加した。(B) 介入後の骨格筋から間葉系前駆細胞を単離し、サイトカインやそのレセプターにかかわる遺伝子発現を定量し、その結果をクラスタリング解析し、ヒートマップで示した。クラスター 1 は慢性筋炎に類似した遺伝子発現パターン、クラスター 2 は急性筋炎に類似した遺伝子発現パターンを示す。慢性筋炎に対する運動刺激は間葉系前駆細胞の遺伝子発現パターンを変化させなかったが、運動刺激と AICAR を組み合わせることで、間葉系前駆細胞の遺伝子発現パターンを変化させ、急性筋炎の間葉系前駆細胞に類似した筋再生を誘導できる表現系に変化した。(Saito Y, Chikenji TS, et al., Nat Commun, 2020 一部改変)

ンニング 30 分の運動と AICAR 治療を 2 週間毎日実施し、その後の筋組織および FAP の表現系解析を実施したところ、運動刺激と AICAR の組み合わせによって、筋再生が促進され、さらに FAP の表現系が急性炎症や正常マウスの運動刺激後の FAP と類似していた (図 4A, 4B)。このことから、運動刺激やそれを補助する薬剤によって FAP の細胞老化を誘導することで、慢性筋炎の筋再生ができる可能性を示すことができた。

運動が骨格筋の細胞老化に与える影響について検討したシステマティックレビューでは<sup>19)</sup>、ヒト骨格筋<sup>20)</sup>、ヒト骨格筋由来血管内皮前駆細胞<sup>21)</sup>、ラット骨格筋<sup>22)</sup>、マウス骨格筋<sup>23)</sup>、および前述の我々のマウス骨格筋由来 FAP<sup>16)</sup> を対象とした研究がそれぞれ 1 報ずつ報告されている (表 1)。骨格筋における細胞老化を対象とした 3 つの研究では、老化細胞数または細胞老化因子の発現が変化しない、または減少することが報告されている。また、ヒト骨格筋由来血管内皮前駆細胞を対象とし

た Yang らの研究では、1 repetition maximum (IRM) の 70% の強度のスクワット (筋損傷を伴う強度) が、老化した血管内皮前駆細胞を減少させることを報告している<sup>21)</sup>。運動の種類、強度、骨格筋内に存在する細胞タイプによって、細胞老化が誘導されるのか、それとも抑制されるのか、さらには誘導または除去された老化細胞が有益な老化細胞であるか有害な老化細胞かどうかは未だ不明な点も多い。しかしながら、今後より詳細に運動と細胞老化制御の関連性やメカニズムが解明されることで、加齢や慢性炎症性疾患に対する新たな骨格筋治療になり得ると考えられる。

## おわりに

細胞老化は細胞へのさまざまなダメージによって引き起こされる現象で、組織の再生や変性にかかわる重要な現象である。我々の研究から、運動によって FAP の細胞老化が誘導され、筋再生を促す可能性を示してきた。

表1 運動による細胞老化促進と抑制効果

著者 (発表年)	対象	対象臓器 / 細胞	運動の種類	運動プロトコル	検体採取時点	細胞老化への影響
Wu et al. (2019)	ヒト 健康成人男性 (21 ± 0.2 歳)	骨格筋	自転車エルゴ メーター	70% VO <sub>2</sub> max で 1 時間	介入前, 介入直 後, 介入終了後 3 時間	SA-β-gal 陽性細 胞数に変化なし
Yang et al. (2018)	ヒト 健康成人 (22.5 ± 1.7 歳)	骨格筋由来血管 内皮前駆細胞	レジスタンス トレーニング (ス クワット)	1RM の 70% の強 度で 12 回 / 6 セッ ト	介入前, 介入直 後, 介入終了後 48 時間	介入直後, 48 時 間で p16ink4a 陽 性細胞の減少
Fan et al. (2017)	ラット (SD) D-ガラクトース 投与による老化 モデル (4 ヶ月齢)	骨格筋	スイミング	45 分 / 日, 5 回 / 週を 4 週間継続	最終介入の翌日	SA-β-gal 陽性エ リアの減少
Yoon et al. (2019)	マウス (C57BL/6) 9 週齢 (Young) 19 ヶ月齢 (Aged)	骨格筋	トレッドミルラ ンニング	8m/ 分の速度, 30 分 × 2 / 日, 5 回 / 週を 4 週間 継続	不明	p16ink4a および p21 の発現量は Young/Aged と もに介入前後で変 化なし
Saito & Chikenji et al. (2020)	マウス (Balb/c) 13 週齢の正常マ ウス	骨格筋由来間葉 系前駆細胞 (Fibro/ adipogenic Progenitor: FAP)	トレッドミルラ ンニング	17m/ 分のダウ ンヒルランニン グを 30 分  17 m/ 分のダウ ンヒルランニン グ, 30 分 / 日, 7 回 / 週を 2 週間	介入後 24 時間  最終介入の 24 時 間後	Cdkn2a および Cdkn1a の遺伝子 発現増加と p53 陽 性細胞数の増加  p16ink4a および SPiDER-β-Gal 陽 性細胞の増加

\* RM = repetition maximum (最大反復回数)

一方、運動がもたらす代謝的な変化が、老化細胞を減らすことによるアンチエイジング効果も報告され始めている。これらのことから、運動刺激が骨格筋にもたらす効果に細胞老化がかかわっている可能性は高いと考えている。一方、運動刺激による細胞老化の誘導や抑制メカニズムについては未だ不明な点が多く残されている。運動による細胞老化制御メカニズムを解明することで、健康寿命の促進を目指した新たな骨格筋治療の発展が期待される。

## 文 献

- Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C, Campisi J, Collado M, Evangelou K, Ferbeyre G, Gil J, Hara E, Krizhanovsky V, Jurk D, Maier AB, Narita M, Niedernhofer L, Passos JF, Robbins PD, Schmitt CA, Sedivy J, Vougas K, Zglinicki T von, Zhou D, Serrano M, Demaria M: Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell* 179: 813-827, 2019
- Booth FW, Roberts CK, Laye MJ: Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr Physiol* 2: 1143-1211, 2013
- Muñoz-Espín D, Serrano M: Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nat Rev Mol Cell Bio* 15: 482-496, 2014
- Chikenji TS, Saito Y, Konari N, Nakano M, Mizue Y, Otani M, Fujimiya M: p16INK4A-expressing mesenchymal stromal cells restore the senescence-clearance-regeneration sequence that is impaired in chronic muscle inflammation. *Ebiomedicine* 44: 86-97, 2019
- He S, Sharpless NE: Senescence in Health and Disease. *Cell* 169: 1000-1011, 2017
- Sousa-Victor P, Gutarra S, García-Prat L, Rodriguez-Ubreva J, Ortet L, Ruiz-Bonilla V, Jardí M, Ballestar E, González S, Serrano AL, Perdiguero E, Muñoz-Cánoves P: Geriatric muscle stem cells switch reversible quiescence into senescence. *Nature* 506: 316-321, 2014
- Cosgrove BD, Gilbert PM, Porpiglia E, Mourkioti F, Lee SP, Corbel SY, Llewellyn ME, Delp SL, Blau HM: Rejuvenation of the muscle stem cell population restores strength to injured aged muscles. *Nat Med* 20: 255-264, 2014
- Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Childs BG, Sluis B van de, Kirkland JL, Deursen JM van: Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479: 232-236, 2011
- Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, Saltness RA, Jeganathan KB, Verzosa GC, Pezeshki A, Khazaie K, Miller JD, Deursen JM van: Naturally occurring p16Ink4a-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530: 184-189, 2016
- Chiche A, Roux IL, Joest M von, Sakai H, Aguin SB, Cazin C, Salam R, Fiette L, Alegria O, Flamant P, Tajbakhsh S, Li H: Injury-Induced Senescence Enables In Vivo Reprogramming in Skeletal Muscle. *Cell Stem Cell* 20: 407-414, 2017
- Mosteiro L, Pantoja C, Alcazar N, Marión RM, Chondronasiou D, Rovira M, Fernandez-Marcos PJ, Muñoz-Martin M, Blanco-Aparicio C, Pastor J, Gómez-López G, Martino AD, Blasco MA, Abad M, Serrano M: Tissue damage and senescence provide critical signals for cellular

- reprogramming in vivo. *Science* 354: aaf4445, 2016.
- 12) Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N, Takeda S, Tsuchida K: Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nat Cell Biol* 12: 143–152, 2010
  - 13) Joe AWB, Yi L, Natarajan A, Grand FL, So L, Wang J, Rudnicki MA, Rossi FMV: Muscle injury activates resident fibro/adipogenic progenitors that facilitate myogenesis. *Nat Cell Biol* 12: 153–163, 2010
  - 14) Baker DJ, Weaver RL, van Deursen JM: p21 Both Attenuates and Drives Senescence and Aging in BubR1 Progeroid Mice. *Cell Reports* 3: 1164–1174, 2013
  - 15) Sugihara H, Teramoto N, Nakamura K, Shiga T, Shirakawa T, Matsuo M, Ogasawara M, Nishino I, Matsuwaki T, Nishihara M, Yamanouchi K: Cellular senescence-mediated exacerbation of Duchenne muscular dystrophy. *Sci Rep* 10: 16385, 2020
  - 16) Saito Y, Chikenji TS, Matsumura T, Nakano M, Fujimiya M: Exercise enhances skeletal muscle regeneration by promoting senescence in fibro-adipogenic progenitors. *Nat Commun* 11: 889, 2020
  - 17) Wang W, Yang X, Silanes IL de, Carling D, Gorospe M: Increased AMP: ATP Ratio and AMP-activated Protein Kinase Activity during Cellular Senescence Linked to Reduced HuR Function. *J Biol Chem* 278: 27016–27023, 2003
  - 18) Mihaylova MM, Shaw RJ: The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nat Cell Biol* 13: 1016–1023, 2011
  - 19) Chen X, Yi Z, Wong GT, Hasan KMdM, Kwan JS, Ma AC, Chang RC: Is exercise a senolytic medicine? A systematic review. *Aging Cell* 20: e13294, 2021
  - 20) Wu J, Saovieng S, Cheng IS, Liu T, Hong S, Lin C-Y, Su I-C, Huang C-Y, Kuo C-H: Ginsenoside Rg1 supplementation clears senescence-associated  $\beta$ -galactosidase in exercising human skeletal muscle. *J Ginseng Res* 43: 580–588, 2019
  - 21) Yang C, Jiao Y, Wei B, Yang Z, Wu J-F, Jensen J, Jean W-H, Huang C-Y, Kuo C-H: Aged cells in human skeletal muscle after resistance exercise. *Aging Albany Ny* 10: 1356–1365, 2018
  - 22) Fan J, Yang X, Li J, Shu Z, Dai J, Liu X, Li B, Jia S, Kou X, Yang Y, Chen N: Spermidine coupled with exercise rescues skeletal muscle atrophy from D-gal-induced aging rats through enhanced autophagy and reduced apoptosis via AMPK-FOXO3a signal pathway. *Oncotarget* 5: 17475–17490, 2014
  - 23) Yoon KJ, Zhang D, Kim S-J, Lee M-C, Moon HY: Exercise-induced AMPK activation is involved in delay of skeletal muscle senescence. *Biochem Bioph Res Commun* 512: 604–610, 2019

## Cellular Senescence and Skeletal Muscle Regeneration

Yuki Saito,<sup>1\*</sup> Takako S Chikenji<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Anatomy, Sapporo Medical University School of Medicine

<sup>2</sup> Department of Health Sciences, School of Medicine, Hokkaido University

Cellular senescence, a state of irreversible cell cycle arrest, contributes to normal embryonic development and remodeling after tissue damage. On the other hand, the accumulation of senescent cells is a hallmark of aging tissues or pathological contexts and may lead to progressive tissue degeneration. The mechanisms responsible for the effects of senescent cells have not been fully elucidated. Here, we review current knowledge about the beneficial and detrimental effects of senescent cells in skeletal muscle regeneration, degeneration, and aging.

**Key words:** Cellular senescence, Skeletal muscle, Regeneration, Chronic inflammation

---

\* Department of Anatomy, Sapporo Medical University School of Medicine  
South 1 West 17, chuoku, Sapporo, Hokkaido, 060-8556, Japan  
E-mail: yuki.saito@sapmed.ac.jp

総説

## 中高齢者における習慣的な運動と栄養摂取が 遂行機能に及ぼす影響\*

新藤 愛<sup>1) #</sup>

### 要旨

我が国における急速な高齢化に伴い、認知症および認知機能低下を呈する高齢者の人口は増加傾向にある。認知症の予防は、高齢者自身の生活の質の維持など、社会的かつ臨床的に意義が高い。中高齢者の認知機能の維持・向上を図るためには、運動や食事など生活習慣の改善による非薬物療法の介入効果が期待されている。そこで著者は、遂行機能の改善および脳活動における脳酸素化動態と加齢に伴い低下する中心動脈ステイフネスに着目し、ラクトリペプチド (lactotriptides: LTP) 摂取は中心動脈ステイフネス、脳酸素化動態を改善し、有酸素性運動を併用することで遂行機能も含めさらに改善することを明らかにした。また、介入による遂行機能や脳酸素化動態の改善に、中心動脈ステイフネスの低下が関連することも明らかにした。我々の知見は、中高齢者における習慣的な有酸素性運動と LTP 摂取が認知機能の維持・向上に効果的である可能性が示唆され、認知症の発症・進行予防の一助となることが考えられる。

キーワード 遂行機能、脳酸素化動態、中心動脈ステイフネス、有酸素性運動、ラクトリペプチド

### はじめに

急速な高齢化に伴い、認知症の患者数は増加傾向にあり、大きな社会問題となっている。認知症は根本的な治療法がなく様々な運動疾患やうつ状態を併発し、寝たきりや肺炎などの感染症リスクを合併しやすく、要介護へと移行する。近年では、従来の治療重視の医療に代わり、疾病を予防する健康施策が求められている。認知症は、脳の障害により引き起こされ、「通常、慢性あるいは進行性の脳疾患によって生じ、記憶、思考、見当識、理解、計算、学習、言語、判断などの多数の高次脳機能障害からなる症候群」と定義されており、日常生活や社会生活に支障をきたした状態を示す。特に遂行機能は、計画を立て、意思決定と問題解決において必要とされる機能であり、人が社会的かつ自立的な活動を維持するためには重要な高次脳機能とされている。

加齢による認知機能の低下には、脳血流動態や血管機

能の悪化が関与していると考えられている<sup>1)2)</sup>。遂行機能を担っている脳領域は、酸素欠乏に特に脆弱であり、脳への血流供給が脳神経活動にとって重要となる<sup>3-5)</sup>。すなわち、認知機能発揮時では、活性化する脳において酸素や栄養の需要を満たすために、血管が拡張し、脳血管の血流が増加しており、このことは、神経血管カップリング (Neurovascular coupling: 以下、NVC) として知られている<sup>6)</sup>。NVC の応答が減弱して、脳に十分な酸素が供給されず脳酸素化が低下すると、認知機能が低下する<sup>7)</sup>。さらに、脳へ血流を供給する中心動脈のステイフネスは脳血流や脳神経細胞の密度などと関連することが報告されている<sup>8)</sup>。これらのことから、遂行機能の低下を予防し高齢者の QOL を維持するためには、加齢に伴う脳酸素化動態の悪化および動脈ステイフネスの増大を抑制することが重要であることが考えられている。

中高齢者の遂行機能の維持・向上には、運動や食事などの非薬物療法が望ましいと考えられている。食習慣に関して、近年、乳製品の摂取が、認知症の発症リスクを抑制させることが報告されている<sup>9)</sup>。動物実験では、認知症モデルマウスを用いて、乳由来のペプチドが脳血流を改善し、認知機能を向上させることが報告されており、乳由来の生理活性ペプチドが脳血流や認知機能に影響する可能性が示唆されている<sup>10)</sup>。乳タンパクから生

\* The Effects of Aerobic Exercise and Nutrition on Executive Function in Middle-aged and Older Adult

1) つくば国際大学

(〒300-0051 茨城県土浦市真鍋 6-8-33)

Ai Shindo, PT, PhD: Department of Physical Therapy, Faculty of Medical and Health Sciences, Tsukuba International University (6-8-33, Manabe, Tsuchiura, Ibaraki, 300-0051, Japan)

# E-mail: a-shindou@tius.co.jp

(受付日 2022年7月29日)

[J-STAGEでの早期公開日 2022年9月28日]

成されるラクトリペプチド (Lactotriptide: 以下, LTP) は, イソロイシン-プロリン-プロリン (Isoleucine-Proline-Proline: 以下, IPP) とバリン-プロリン-プロリン (Valine-Proline-Proline: 以下, VPP) の総称であり, アンジオテンシン変換酵素 (Angiotensin Converting Enzyme: 以下, ACE) 抑制や血管拡張作用を有し, 一酸化窒素 (nitric oxide: 以下, NO) などの血管拡張物質の産生を誘導することで, 血管機能が改善することが示されている<sup>11)</sup>。習慣的なLTP摂取は, 血圧低下<sup>12-17)</sup>, 血管内皮機能向上<sup>18)</sup>, 動脈スティフネス低下<sup>19)</sup> など, 血圧低下や血管機能を向上させることが報告されている。一方, 習慣的な有酸素性運動にも認知機能の改善<sup>20)</sup> や, 動脈スティフネスなどの血管機能の改善効果があることが報告されている<sup>21-23)</sup>。さらに, 習慣的なLTP摂取と有酸素性運動の併用は血管機能を相加的に向上させることも報告されている<sup>18)19)</sup>。

本稿では, LTP摂取が脳酸素化動態や遂行機能に及ぼす影響およびLTP摂取と運動の併用が脳酸素化動態や遂行機能に及ぼす影響について我々の研究<sup>24-26)</sup>を紹介しながら述べたい。

#### 遂行機能および脳酸素化動態の加齢変化

加齢に伴う脳構造や脳機能の低下は, 認知機能にも影響を及ぼす<sup>27)</sup>。行動, 思考および感情の制御に関連する様々な高次認知プロセスからなる遂行機能は, 周囲に対する注意や判断などを担うため, 高齢者の日常生活が安全かつ自立し続けるために重要である<sup>28)</sup>。遂行機能は, 前頭前野皮質として知られる脳の前部領域によって行われる。前頭前野は加齢による萎縮が顕著であり<sup>3-5)</sup>, 遂行機能の指標であるストループテストの反応時間は高齢者で遅延することが報告されている<sup>29)30)</sup>。しかし, 遂行機能の詳細な加齢変化ならびにその機序は十分に明らかにされていない。

脳酸素化動態は, 適切な脳機能を発揮するうえで重要な役割を果たす<sup>31)</sup>。脳活動が必要とする酸素や栄養の需要を満たすためには, 脳血管は拡張し, 脳血管の血流は増大する。これはNVCとして知られ<sup>6)</sup>, 前頭前野における遂行機能の調節に関連している。さらに, 中高齢者における遂行機能課題中の半球優位性の欠如は, 遂行機能の低下と関連している<sup>32-35)</sup>。右前頭前野に比べて左前頭前野の酸素化動態が高い中高齢者は, 遂行機能の成績が良いことが示されている<sup>36)</sup>。これらの研究は, 左脳半球の脳酸素化動態が, 加齢による遂行機能の低下に関連している可能性を示唆している。しかし, 遂行機能の変化やそれに伴う脳酸素化動態の詳細な加齢変化は不明である。

そこで我々は, 加齢により認知機能は低下するがその機序を明らかにすることを目的に, 脳活動に重要な脳酸

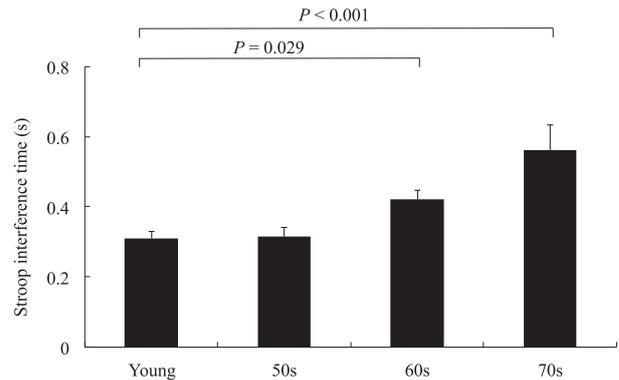


図1 年代別のstroop干渉時間  
値は平均±標準誤差。加齢変化を検討するため, Dunnettの検定法を用い, 若年者を対照群として中高齢者の各群と比較した<sup>24)</sup>。

素化動態および遂行機能の年代別変化を横断的に検討した<sup>24)</sup>。成人健常者98名を対象とし, 対象者を年代別に, 若年者(20-39歳, Young群:22名), 50代(50-59歳, 50s群:22名), 60代(60-69歳, 60s群:40名)および70代(70-79歳, 70s群:14名)の4群に分け, 遂行機能を評価するストループテストの干渉時間(時間が短いほど遂行機能が良い)を測定した。また, ストループテスト中の左右脳の前頭前野の脳酸素化動態を評価するために, 光脳機能イメージング装置(SMARTNIRS, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)を使用した。これは, 近赤外分光法(near-infrared spectroscopy: 以下, fNIRS)を用いた大脳皮質付近の神経活動に伴い変化する血流量の相対的変化を多点で計測する装置であり, 光の吸収係数の違いを利用して血中の酸素化ヘモグロビン(oxygenated hemoglobin: 以下, oxy-Hb)および脱酸素化ヘモグロビン(deoxygenated hemoglobin: deoxy-Hb)を測定することができる<sup>37)</sup>。一般的に, 脳神経が活動して活性化するときには, oxy-Hbは増加する。本研究では, ストループテスト時のoxy-Hbの変化を脳酸素化動態と定義し, 脳神経活性化の指標とした。

その結果, ストループ干渉時間はYoung群と比較して, 50s群では有意な差が認められなかったが, 60s群と70s群で有意に遅延した(それぞれ $P = 0.029$ ,  $P < 0.001$ ) (図1)。同様に, 左前頭前野のoxy-Hbシグナルは, Young群と比較して, 60s群と70s群で有意に低い値を示した(それぞれ $P = 0.003$ ,  $P = 0.009$ ) が, 50s群では有意差が認められなかった。一方で, 右前頭前野のoxy-Hbシグナルには群間差が認められなかった。さらに, Young群における前頭前野のoxy-Hbシグナルに有意な左右差が認められ( $P = 0.036$ ), 50s群, 60s群および70s群では左右差が認められなかった(図2)。

この研究では, 初めて各年代におけるストループ干渉を評価し, 60歳以上で遂行機能が低下することを明らかにし, 加齢は遂行機能にかかわる前頭前野の脳活動を

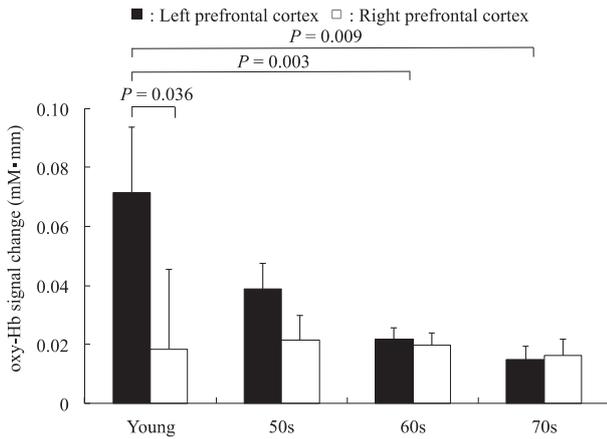


図2 年代別の Oxy-Hb シグナル変化

黒は左脳、白は右脳の前頭前野。Dunnett の検定法を用い、若年者を対照群として中高齢者の各群と比較した。群内の左右脳の oxy-Hb シグナル変化の比較は、対応のある t 検定を用いた<sup>24)</sup>。

減衰する可能性を示唆した。また、若年者ではストループテスト中の前頭前野における oxy-Hb シグナルに左右差が認められたが、中高齢者における左右差は認められなかった。これまでに、左半球の前頭前野が優位に活動することは、ストループテストなど言語処置に関連する認知機能課題において示されている<sup>38-41)</sup>。中高齢者における言語認知中の脳神経活動の半球優位性の減少は、「高齢者の半球非対称性低下」(Hemispheric asymmetry reduction in older adults: HAROLD) と呼ばれるモデルで概念化されている<sup>42)</sup>。また、oxy-Hb シグナルは加齢に伴い減少し、半球優位性も低下することが報告されている<sup>43)</sup>。我々の研究では、若年者で認められた左半球優位は、中高齢者では認められなかった。以上の結果から、加齢に伴う遂行機能の低下には、左前頭前野の酸素化動態の低下が関連する可能性が示唆された。したがって、加齢による左前頭前野の酸素化動態の低下を抑制することが遂行機能低下の予防に重要であることが考えられる。

**脳酸素化動態および遂行機能と動脈スティフネスの関連性**

認知機能および脳血流の低下は血管機能の低下と関連することが示唆されている<sup>1)2)</sup>。動脈スティフネスの増大は、脳萎縮と関連し、高齢者における記憶および実行プロセスを含む様々な認知機能を低下させることが報告されている<sup>44-46)</sup>。さらに、加齢による動脈スティフネスの増大は、脳萎縮および認知症を引き起こす原因となることが示唆されている<sup>47-49)</sup>。中心動脈スティフネスの増大およびそれに伴う血管の緩衝機能低下は、脳灌流の低下や脳血管へのダメージ増大に関与し、認知機能の低下に影響を及ぼす可能性が示唆されている<sup>50)51)</sup>。一

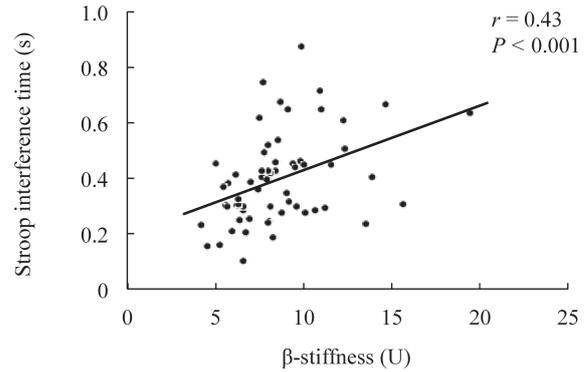


図3 stroop 干渉時間と  $\beta$ -stiffness の関係と Spearman の順位相関係数<sup>25)</sup>

方で、認知機能発揮には、脳神経活動に見合った酸素を脳に供給する必要がある。そのため、脳神経が賦活すると、その活動部位では代謝需要に応じた血流が増加する<sup>7)</sup>。そこで我々は、中高齢者における動脈スティフネスと遂行機能および脳酸素化動態の関係を調べた<sup>25)</sup>。50歳以上の健康な中高齢者62名(男性22名、閉経後女性40名、年齢51-79歳)を対象とし、ストループ干渉時間とストループテスト中にfNIRSで測定した脳酸素化動態(oxy-Hbシグナル変化)および動脈スティフネスを測定した。動脈スティフネスは、超音波診断装置(En Vsior; Koninklijke Philips Electronics, The Netherlands)およびトノメトリセンサ(Form PWV/ABI; Colin Medical Technology, Japan)を用いて、得られた頸動脈画像と頸動脈圧波形から $\beta$ -stiffnessを評価した。

その結果、ストループ干渉時間と $\beta$ -stiffnessに有意な正の相関関係が認められた( $r = 0.43, P < 0.001$ ; 図3)。また、ストループ干渉時間と左前頭前野のoxy-Hbシグナルに有意な負の相関関係が認められたが( $r = -0.42, P = 0.001$ ; 図4A)、右前頭前野と有意な相関関係は認められなかった( $r = 0.01, P = 0.94$ ; 図4B)。さらに $\beta$ -stiffnessと左前頭前野のoxy-Hbシグナルに有意な負の相関関係が認められたが( $r = -0.38, P = 0.002$ ; 図5A)、右前頭前野とは有意な相関関係が認められなかった( $r = 0.04, P = 0.766$ ; 図5B)。年齢を制御変数とした偏相関において、 $\beta$ -stiffnessとストループ干渉時間( $r = 0.30, P = 0.018$ )に有意な正の相関関係が認められ、 $\beta$ -stiffnessと左脳前頭前野のoxy-Hb変化( $r = -0.28, P = 0.027$ )には有意な負の相関関係が認められた。高スティフネス群と低スティフネス群に分けて比較すると、低スティフネス群における左前頭前野のoxy-Hbシグナルは、高スティフネス群と比較して有意に高かった( $P = 0.011$ ; 図6)。低スティフネス群において、左脳前頭前野のoxy-Hbシグナルは、右前頭前野のoxy-Hbシグナルと比較して有意に高かった( $P = 0.014$ ; 図6)。一

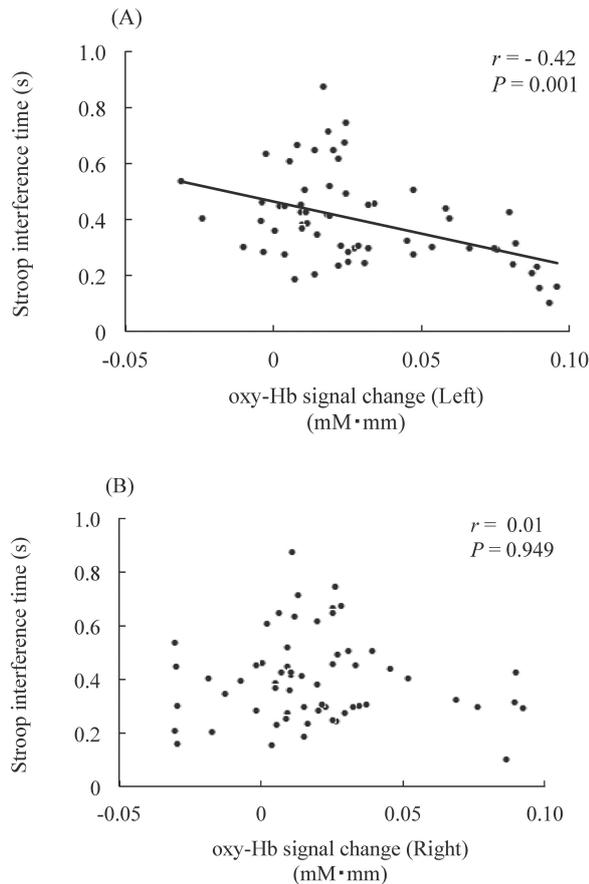


図4 stroop 干渉時間と oxy-Hb シグナル変化の関係と Spearman の順位相関係数 (A) 左脳 and (B) 右脳前頭前野<sup>25)</sup>

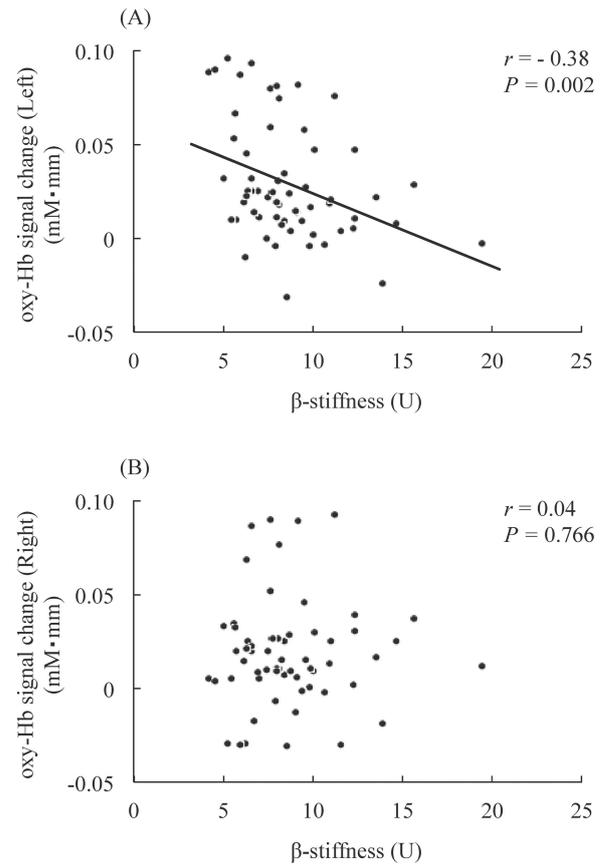


図5 oxy-Hb シグナル変化と  $\beta$ -stiffness の関係と Spearman の順位相関係数 (A) 左脳 and (B) 右脳前頭前野<sup>25)</sup>

方、高スティフネス群では、同様の左右差は認められなかった ( $P = 0.538$ ; 図6)。

この研究により、頸動脈  $\beta$ -stiffness は前頭前野における oxy-Hb シグナルと有意な負の相関関係があることが明らかとなった。中心動脈のスティフネスが増大すると、血流を緩衝する能力が失われる<sup>50)51)</sup>。Tarumi *et al.* (2015)<sup>8)</sup> は、中心動脈スティフネスが、高齢者の脳白質および神経機能のニューロンファイバーの低下と関連していることを示している。Mitchell *et al.* (2011)<sup>52)</sup> は、MRI を用いて検討したところ、脳灰白質、白質領域はともに、大動脈スティフネスや頸動脈拍動性と関連することを報告している。Heffernan *et al.* (2018)<sup>53)</sup> は、高齢者における頸動脈スティフネスおよび中大脳動脈の血流拍動性は認知課題タスク中に増大し、遂行機能の成績低下に関連することを示している。これらの研究では、頭蓋内動脈に血液を供給する頸動脈の加齢によるスティフネス増大は、毛細血管に過剰なエネルギーを伝達し、それによって脳構造および容積変化を誘発する可能性を示唆している。我々は、脳神経活動の指標である脳酸化化動態を fNIRS で評価した。脳内の神経活動には、NVC という神経活動に応じた酸素代謝およびグルコー

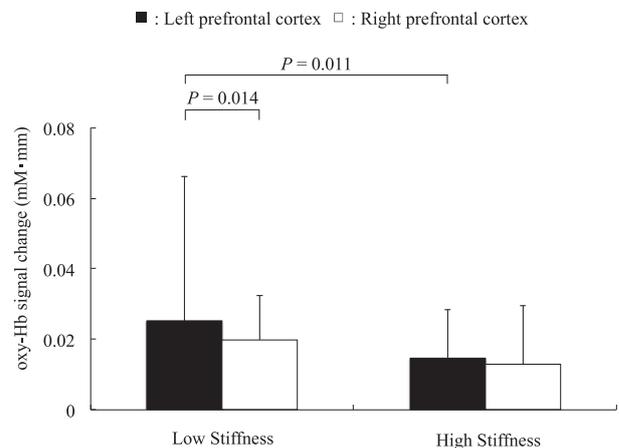


図6 低スティフネス群と高スティフネス群の oxy-Hb シグナル変化の比較  
黒は左脳、白は右脳の前頭前野.  $\beta$ -stiffness の中央値 ( $\beta$ -stiffness: 8.1 U) を基準に、高スティフネス群 ( $n = 31$ ) と低スティフネス群 ( $n = 31$ ) に群分けした. 群間比較には、Mann-Whitney の U 検定を用いて、群内比較には Wilcoxon の符号付順位検定を用いた<sup>25)</sup>.

ス代謝の亢進に伴い、活動部位の脳血管が拡張することで、局所的に脳血流が上昇する反応があることが知られている<sup>7)</sup>。神経活動時には、脳組織へ十分な酸素が活動部位へ供給されている<sup>54)</sup>。すなわち、脳の特定期域に

における oxy-Hb シグナルの増大は、神経活動におけるその領域への脳血流量の増大を反映している。我々の研究は、認知課題中の神経活動に伴う脳血流の変化と中心動脈スティフネスとの関連を明らかにした最初の知見である。興味深いことに、頸動脈  $\beta$ -stiffness が、右前頭前野ではなく左前頭前野の oxy-Hb シグナルと有意な負の相関関係を示すことを明らかにした。さらに、低スティフネス群では、前頭前野における oxy-Hb シグナルに左右差が認められた。中心動脈スティフネスは遂行機能に関連する脳領域の脳酸化動態と関連することを示唆していると考えられる。

言語プロセスを含む認知機能課題中に認められる神経活動は、左半球が有意に活性化すること<sup>38-41)</sup> や遂行機能タスクによって脳の活性化された領域における神経線維が中心動脈スティフネスと関連していること<sup>8)</sup> が報告されている。我々の研究では、中心動脈スティフネスは遂行機能に関連する脳領域における脳酸化動態と関連することが示唆された。

認知機能に関しては、血管機能が認知機能低下の予測因子である可能性が示されている<sup>55-60)</sup>。縦断的研究では、正常な認知機能を有する成人において、脈波伝播速度 (pulse wave velocity : PWV) で評価した動脈スティフネスが高いことが、記憶および注意を含む認知機能の将来の低下と関連することが報告されている<sup>59)</sup>。また、健常高齢者を対象とした研究では、頸動脈  $\beta$ -stiffness と課題遂行速度の間に負の相関が認められている<sup>44)</sup>。我々の研究の結果も先行研究と一致しており、低スティフネス群ではストループ干渉時間が高スティフネス群より短いことが明らかとなった。この研究から、中心動脈スティフネスの増大は左前頭前野の酸化動態を悪化させ、遂行機能低下と関連することが示唆された。

#### 習慣的な有酸素性運動と LTP 摂取が脳酸化動態と遂行機能に及ぼす影響

運動と食習慣改善および特定の栄養因子の摂取は、脳や血管への健康効果を高める可能性が示唆されている<sup>61)</sup>。認知機能を改善するためには、特定の栄養因子の摂取や運動などの非薬理的療法が望ましい。LTP と総称される 2 つの生理活性トリペプチドである VPP および IPP は乳酸および細菌によるタンパク質分解作用によりカゼイン乳タンパク質から単離され生成される。LTP には ACE 抑制や血管拡張作用がある<sup>11)62)</sup>。中高齢者における習慣的な LTP 摂取は、動脈スティフネスを低下させることや脳血流速度を増大させることが報告されている<sup>15-18)</sup>。一方、習慣的な有酸素性運動も動脈スティフネスを改善させることが明らかになっている<sup>63-65)</sup>。また、LTP 摂取と運動の併用により動脈スティフネスの改善効果が高まることも報告されている<sup>18)19)</sup>。

そこで、我々は、中高齢者における習慣的な有酸素性運動および LTP 摂取が脳酸化動態と遂行機能に及ぼす影響を調べた<sup>26)</sup>。50 歳以上の健康な中高齢者 74 名を分析対象とし (年齢 50-79 歳)、8 週間の介入研究を行った。運動を実施しないプラセボ群 ; Placebo + Non Exercise (PN 群 ; n = 18)、運動を実施しない LTP 群 ; LTP + Non Exercise (LN 群 ; n = 15)、運動を実施するプラセボ群 ; Placebo + Exercise (PE 群 ; n = 15)、および運動を実施する LTP ; LTP + Exercise (LE 群 ; n = 16) の 4 つのグループに分け、運動非実施および運動実施の両条件における LTP 摂取の効果を検討する 2 つのランダム化比較試験を行った。8 週間の介入の前後で脳の酸化動態、遂行機能、動脈スティフネス、血行動態、有酸素性運動能力および血液生化学データを測定した。運動を実施する PE 群および LE 群は、先行研究に基づいて、週に 4-6 日、合計 8 週間のエアロバイクおよび歩行運動を中心とした有酸素性運動を実施した。LTP 摂取の影響を、プラセボ対照群を設けたダブルブラインドを用いて、介入試験を実施した。8 週間の介入において、対象者は LTP またはプラセボの錠剤を 1 日 1 回 3 錠ずつ朝食摂取後に毎日摂取した。LTP 錠剤には、VPP1.4 mg および IPP2.0 mg が含まれており、プラセボ錠剤はカゼインナトリウムを使用して製造された成分を使用した。

図 7 は、左右の前頭前野における oxy-Hb シグナルの変化値を示す。介入による oxy-Hb シグナルの変化は PN 群に比べて LN 群で有意に高く (左 ;  $P = 0.004$ , 右 ;  $P = 0.008$ )、PE 群に比べて LE 群で有意に高かった (左 ;  $P < 0.001$ , 右 ;  $P = 0.001$ )。

図 8 に示すように、ストループ干渉時間の変化量は左前頭前野における oxy-Hb シグナルの変化量と有意な負の相関関係を示したが ( $r = -0.39$ ,  $P = 0.001$ )、右前頭前野との関係は認められなかった。さらに、 $\beta$ -stiffness の変化量は、左脳前頭前野における oxy-Hb シグナルの変化量と有意な負の相関関係が認められた ( $r = -0.41$ ,  $P = 0.001$ ) (図 9)。

以上の結果から中高齢者における習慣的な LTP 摂取は、遂行機能タスク中の前頭前野における神経活動を増大させ、加齢による神経活動低下の抑制に寄与することが示唆された。これまで栄養補助食品が認知機能に及ぼす影響を検討した研究はいくつか存在するが、遂行機能は変化しないことが報告されており<sup>63)67)68)</sup>、栄養素摂取単独では遂行機能の向上は難しいことが示唆されるが、本研究では、LTP 摂取と運動を併用した LE 群のみに介入によるストループ干渉時間の有意な短縮が認められた。すなわち、習慣的な LTP 摂取は、有酸素性運動と組み合わせることで、遂行機能を向上させる可能性が示唆された。また、LE 群における動脈スティフネス

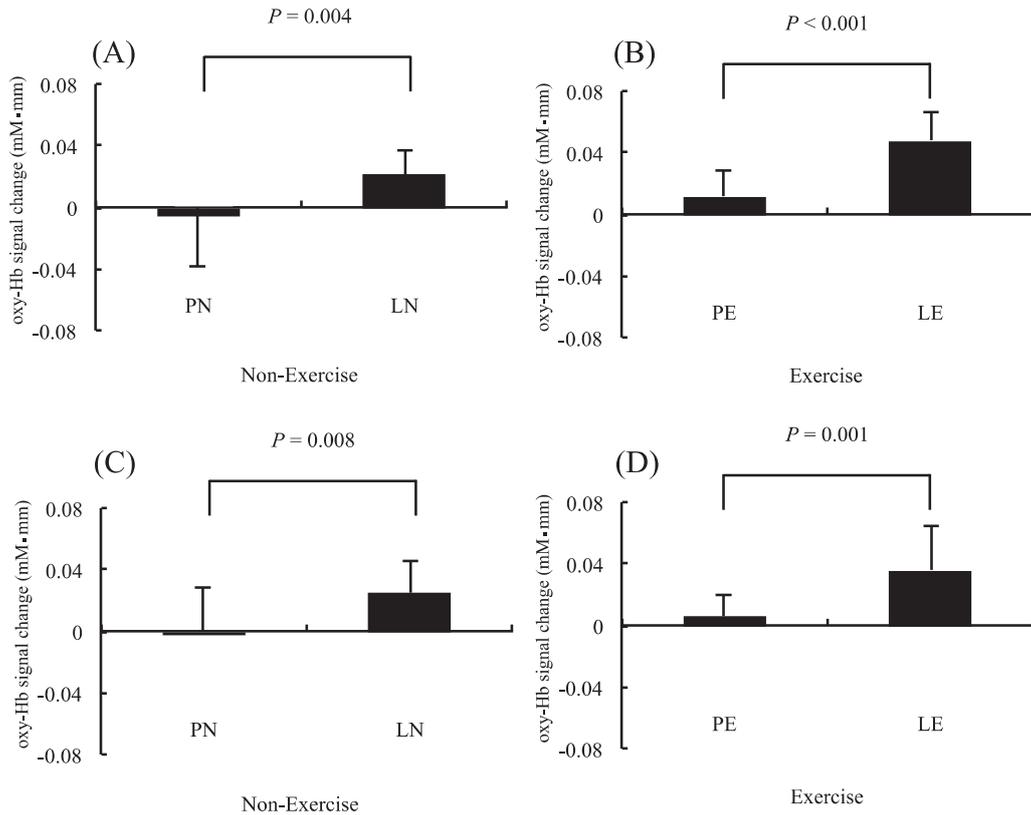


図7 介入前後のoxy-Hbシグナル変化

(A, B) 左前頭前野, (C, D) 右前頭前野. (A, C) 非運動グループ (B, D) 運動グループ. 対応のない  $t$  検定を使用し, グループ間の差異を評価した. PN (運動なしのプラセボ), LN (運動なしのLTP), PE (運動ありのプラセボ), および LE (運動ありのLTP)<sup>26)</sup>.

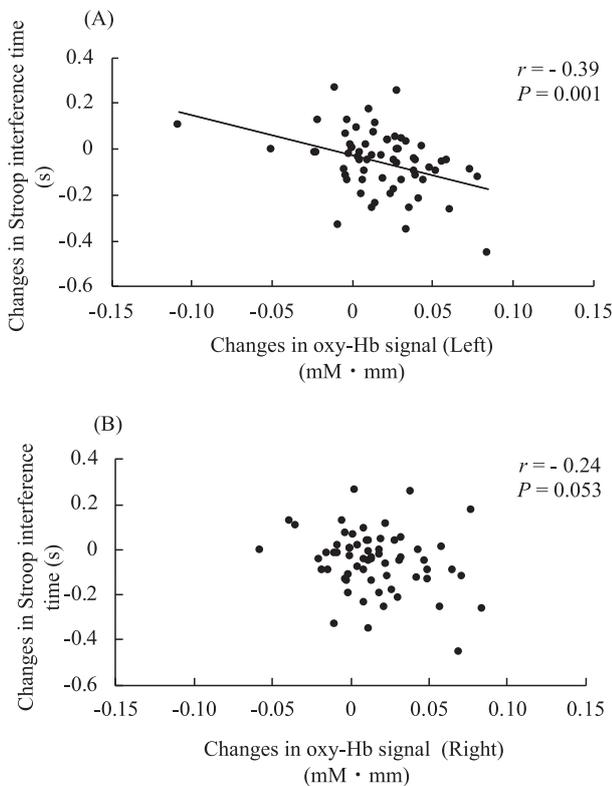


図8 介入前後の(A)左脳(B)右脳前頭前野におけるStroop干渉時間とoxy-Hbシグナルの変化値の関係とPearsonの積率相関係数<sup>26)</sup>

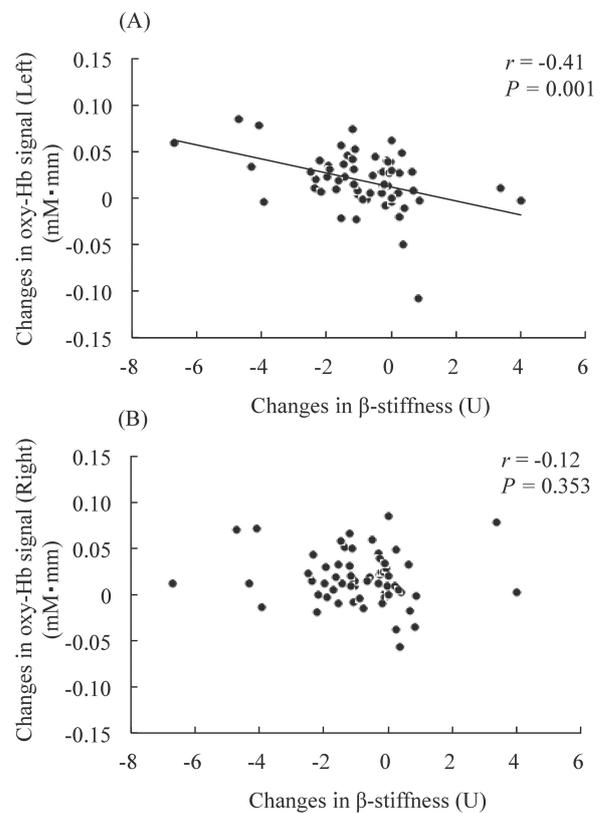


図9 介入前後の(A)左脳(B)右脳前頭前野におけるoxy-Hbシグナルと $\beta$ -stiffnessの変化値との関係とPearsonの積率相関係数<sup>26)</sup>

の低下や oxy-Hb シグナルの増加が PE 群と比べて有意に大きかったことから、LTP 摂取は運動による動脈ステイフネスの低下をさらに高めることが示唆された。また、LE 群でのみ介入によるストループ干渉時間の短縮が認められ、運動と LTP 摂取による遂行機能への併用効果が示唆された。さらに、介入による遂行機能の向上は、動脈ステイフネスの低下および脳酸化動態の変化と有意な相関関係が認められた。すなわち、有酸素性運動と LTP 摂取を併用することで、動脈ステイフネス、脳酸化動態、および遂行機能を相加的に改善する効果が示された。これらのことから、有酸素性運動と LTP 摂取の併用は遂行機能や脳酸化動態を効果的に改善させ、その機序に動脈ステイフネスが関与する可能性が考えられる。LTP に含まれる VPP および IPP が ACE 活性を阻害し、アンジオテンシン I からアンジオテンシン II への変換を抑制することで血管機能を向上させる<sup>11)62)</sup>。また、LTP は血管内皮細胞に作用して、濃度依存的に血管拡張物質である NO 産生を誘導することが報告されている<sup>69)</sup>。ACE は、NO 産生を促進するブラジキニンの活性を低下させる酵素でもあるため、ブラジキニンの活性低下を抑制することで、血管内皮機能を悪化させる<sup>69)</sup>。我々の研究では、LTP 摂取により前頭前野の oxy-Hb が増加することが明らかになったが、レニン-アンジオテンシン系 (Renin-Angiotensin System : RAS) にかかわるホルモンや NO を測定していないため、その詳細なメカニズムは不明である。ACE 活性、アンジオテンシン I、アルドステロン、NO などの物質を評価することは今後の検討課題であると考えられる。

#### まとめと課題

本稿では、中高齢者における脳酸化動態、遂行機能および動脈ステイフネスの関係を調べ、有酸素性運動と LTP 摂取による遂行機能の改善や脳酸化動態の改善の効果を検討し、その機序に動脈ステイフネスが関与するかを検討した。

ストループ干渉および左前頭前野の oxy-Hb シグナルは、60 代以降で若年者と比較して低下することが示された。すなわち、加齢に伴う遂行機能の低下には、左前頭前野の酸化動態の低下が関連することが示唆された。このことから、加齢による左前頭前野の酸化動態の低下を抑制することが遂行機能の低下の予防に重要であることが考えられる。

動脈ステイフネスは、左前頭前野の酸化ヘモグロビンおよびストループ干渉時間と関連することが明らかになった。さらに、動脈ステイフネスが低いと右前頭前野に比べ、左前頭前野の酸化ヘモグロビン変化が高くなることが明らかになった。これらのことから、中心動脈ステイフネスの増大は左前頭前野の酸化動態を悪化さ

せ、遂行機能の低下と関連することが示唆された。

介入前後のストループテスト中の脳酸化動態の変化量は、LTP 摂取群がプラセボ摂取群よりも大きかった。遂行機能の改善については、運動と LTP 摂取の併用効果の可能性が示唆された。さらに、介入による左前頭前野における脳酸化ヘモグロビン濃度の増加やストループ干渉時間の短縮は、 $\beta$ -stiffness の低下と有意に負の相関関係が認められた。これらのことから、習慣的な有酸素性運動や LTP 摂取による動脈ステイフネスの低下は、脳活動の活性化や遂行機能の向上に関与する可能性が示唆された。我々の研究により、中高齢者において、習慣的な LTP 摂取は脳酸化動態を改善し、LTP 摂取と有酸素性運動の併用は遂行機能を向上させることが明らかになった。さらに、LTP 摂取や有酸素性運動による脳酸化動態および遂行機能の変化には動脈ステイフネスの低下が関与することが示された。

これらの研究には、いくつかの課題がある。第一に、正常な認知機能を有する健康な中年および高齢者のみに焦点を当てている。MCI や認知症を有する高齢者は、本来働くべき部位における脳機能が著しく低下していることが報告されており<sup>70)</sup>、認知機能の低下や認知症を有する患者など、他の集団に一般化することはできない。また、本研究では介入期間が 8 週間と比較的短期間であった。健康な中高齢者において比較的短期間の介入では、有酸素性運動の効果が得られにくかった可能性も考えられる。また、我々の研究では、ストループテストを使用して遂行機能を測定したが、ワーキングメモリ、口頭学習、処理速度、およびカテゴリ流暢性などの他の脳機能についてさらなる調査が必要である。さらに、男性と女性の両者を含むデータを分析しているため、性別の影響を除外することはできていないなどいくつかの課題が残されている。

#### 文 献

- 1) de la Torre JC: Critically attained threshold of cerebral hypoperfusion: the CATCH hypothesis of Alzheimer's pathogenesis. *Neurobiol Aging* 21: 331-342, 2000
- 2) Ruitenberg A, den Heijer T, Bakker SL, van Swieten JC, Koudstaal PJ, Hofman A, Breteler MM: Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. *Ann Neurol* 57: 789-794, 2005
- 3) Head D, Rodrigue KM, Kennedy KM, Raz N: Neuro-anatomical and cognitive mediators of age-related differences in episodic memory. *Neuropsychology* 22: 491-507, 2008
- 4) Jurado MB, Rosselli M: The elusive nature of executive functions: a review of our current understanding. *Neuropsychol Rev* 17: 213-233, 2007
- 5) Raz N, Rodrigue KM: Differential aging of the brain: patterns, cognitive correlates and modifiers. *Neurosci Biobehav Rev* 30: 730-748, 2006
- 6) Girouard H, Iadecola C: Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer

- disease. *J Appl Physiol* 100: 328-335, 2006
- 7) Roy CS, Sherrington CS: On the Regulation of the Blood-supply of the Brain. *J Physiol* 11: 85-158, 1890
  - 8) Tarumi T, de Jong DL, Zhu DC, Tseng BY, Liu J, Hill C, Riley J, Kyle B, Womack D, Diana R, Kerwin J, Hanzhang Lu, C Munro, Cullum M, Zhang R: Central artery stiffness, baroreflex sensitivity, and brain white matter neuronal fiber integrity in older adults. *Neuroimage* 110: 162-170, 2015
  - 9) Ozawa M, Ohara T, Ninomiya T, Hata J, Yoshida D, Mukai N, Nagata M, Uchida K, Shirota T, Kitazono T, Kiyohara Y: Milk and Dairy Consumption and Risk of Dementia in an Elderly Japanese Population: The Hisayama Study. *J Am Geriatr Soc* 62: 1224-1230, 2014
  - 10) Min LJ, Kobayashi Y, Mogi M, Tsukuda K, Yamada A, Yamauchi K, Abe F, Iwanami J, Xiao JZ, Horiuchi M: Administration of bovine casein-derived peptide prevents cognitive decline in Alzheimer disease model mice. *PLoS One* 12: e0171515, 2017
  - 11) Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K, Okubo A, Yamazaki S, Takano T: Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *J Dairy Sci* 78: 777-783, 1995
  - 12) Cicero AF, Gerocarni B, Laghi L, Borghi C: Blood pressure lowering effect of lactotriptides assumed as functional foods: a meta-analysis of current available clinical trials. *J Hum Hypertens* 25: 425-436, 2011
  - 13) Cicero AF, Rosticci M, Gerocarni B, Bacchelli S, Veronesi M, Strocchi E, Borghi C: Lactotriptides effect on office and 24-h ambulatory blood pressure, blood pressure stress response, pulse wave velocity and cardiac output in patients with high-normal blood pressure or first-degree hypertension: a randomized double-blind clinical trial. *Hypertens Res* 34: 1035-1040, 2011
  - 14) Cicero AF, Aubin F, Azais-braesco V, Borghi C: Do the lactotriptides isoleucine-proline-proline and valine-proline-proline reduce systolic blood pressure in european subjects? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Hypertens* 26: 442-449, 2013
  - 15) Hata Y, Yamamoto M, Ohni M, Nakajima K, Nakamura Y, Takano T: A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr* 64: 767-771, 1996
  - 16) Mizuno S, Matsuura K, Gotou T, Nishimura S, Kajimoto O, Yabune M, Yamamoto N: Antihypertensive effect of casein hydrolysate in a placebo-controlled study in subjects with high-normal blood pressure and mild hypertension. *The British J Nutrition* 94: 84-91, 2005
  - 17) Nakamura T, Mizutani J, Ohki K, Yamada K, Yamamoto N, Takeshi M, Takazawa K: Casein hydrolysate containing Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro improves central blood pressure and arterial stiffness in hypertensive subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Atherosclerosis* 219: 298-303, 2011
  - 18) Yoshizawa M, Maeda S, Miyaki A, Misono M, Choi Y, Shimojo N, Ajisaka R, Tanaka H: Additive beneficial effects of lactotriptides intake with regular exercise on endothelium-dependent dilatation in postmenopausal women. *Am J Hypertens* 23: 368-372, 2010
  - 19) Yoshizawa M, Maeda S, Miyaki A, Misono M, Choi YJ, Shimojo N, Ajisaka R, Tanaka H: Additive beneficial effects of lactotriptides and aerobic exercise on arterial compliance in postmenopausal women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297: H1899-H1903, 2009
  - 20) Kramer AF, Hahn S, Cohen NJ, Banich MT, McAuley E, Harrison CR, Chason J, Vakil E, Bardell L, Boileau RA, Colcombe A: Ageing, fitness and neurocognitive function. *Nature* 400: 418-419, 1999
  - 21) Akazawa N, Choi Y, Miyaki A, Sugawara J, Ajisaka R, Maeda S: Aerobic exercise training increases cerebral blood flow in postmenopausal women. *Artery Res* 6: 124-129, 2012
  - 22) Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR: Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation* 102: 1270-1275, 2000
  - 23) Yoshizawa M, Maeda S, Miyaki A, Misono M, Saito Y, Tanabe K, Kuno S, Ajisaka R: Effect of 12 weeks of moderate-intensity resistance training on arterial stiffness: a randomised controlled trial in women aged 32-59 years. *Br J Sports Med* 43: 615-618, 2009
  - 24) Hamasaki A, Akazawa N, Yoshikawa T, Myoenzono K, Tagawa K, Maeda S: Age-Related Declines in Executive Function and Cerebral Oxygenation Hemodynamics. *Tohoku J Exp Med* 245: 245-250, 2018
  - 25) Hamasaki A, Akazawa N, Yoshikawa T, Myoenzono K, Tagawa K, Sawano Y, Nishimura M, Maeda S: Central artery stiffness is related to cerebral oxygenation hemodynamics during executive function tasks in healthy middle-aged and older adults. *Exp Gerontol* 114: 93-98, 2018
  - 26) Hamasaki A, Akazawa N, Yoshikawa T, Myoenzono K, Tanahashi K, Sawano Y, Nakata Y, Maeda S: Combined effects of lactotriptide and aerobic exercise on cognitive function and cerebral oxygenation in middle-aged and older adults. *Am J Clin Nutr* 109: 353-360, 2019
  - 27) Park DC, Polk TA, Mikels JA, Taylor SF, Marshuetz C: Cerebral aging: integration of brain and behavioral models of cognitive function. *Dialogues in Clin Neurosci* 3: 151-165, 2001
  - 28) Forte R, Boreham CAG, De Vito G, Pesce C: Health and Quality of Life Perception in Older Adults: The Joint Role of Cognitive Efficiency and Functional Mobility. *Int J Environ Res Public Health* 12: 11328-11344, 2015
  - 29) Lucas SJ, Ainslie PN, Murrell CJ, Thomas KN, Franz EA, Cotter JD: Effect of age on exercise-induced alterations in cognitive executive function: relationship to cerebral perfusion. *Exp Gerontol* 47: 541-551, 2012
  - 30) Laguë-Beauvais M, Brunet J, Gagnon L, Lesage F, Bherer L: A fNIRS investigation of switching and inhibition during the modified Stroop task in younger and older adults. *Neuroimage* 64: 485-495, 2013
  - 31) Fabiani M, Gordon BA, Maclin EL, Pearson MA, Brumback-Peltz CR, Low KA, McAuley E, Sutton BP, Kramer AF, Gratton G: Neurovascular coupling in normal aging: a combined optical, ERP and fMRI study. *Neuroimage* 85: 592-607, 2014
  - 32) Colcombe SJ, Kramer AF, Erickson KI, Scalf P: The implications of cortical recruitment and brain morphology for individual differences in inhibitory function in aging humans. *Psychol Aging* 20: 363-375, 2005
  - 33) Nielson KA, Langenecker SA, Garavan H: Differences in the functional neuroanatomy of inhibitory control across the adult life span. *Psychol Aging* 17: 56-71, 2002
  - 34) Reuter-Lorenz PA, Jonides J, Smith EE, Hartley A, Miller A, Marshuetz C, Koeppel RA: Age differences in the frontal lateralization of verbal and spatial working memory revealed by PET. *J Cogn Neurosci* 12: 174-187, 2000
  - 35) Zysset S, Schroeter ML, Neumann J, von Cramon DY:

- Stroop interference, hemodynamic response and aging: an event-related fMRI study. *Neurobiol Aging* 28: 937-946, 2007
- 36) Hyodo K, Dan I, Kyotoku Y, Suwabe K, Byun K, Ochi G, Kato M, Soya H: The association between aerobic fitness and cognitive function in older men mediated by frontal lateralization. *Neuroimage* 125: 291-300, 2016
- 37) Schecklmann M, Ehlis AC, Plichta MM, Fallgatter AJ: Functional near-infrared spectroscopy: A long-term reliable tool for measuring brain activity during verbal fluency. *Neuroimage* 43: 147-155, 2008
- 38) Derrfuss J, Brass M, Neumann J, von Cramon DY: Involvement of the inferior frontal junction in cognitive control: meta-analyses of switching and Stroop studies. *Hum Brain Mapp* 25: 22-34, 2005
- 39) Nee DE, Wager TD, Jonides J: Interference resolution: insights from a meta-analysis of neuroimaging tasks. *Cogn Affect Behav Neurosci* 7: 1-17, 2007
- 40) Perret E: The left frontal lobe of man and the suppression of habitual responses in verbal categorical behaviour. *Neuropsychologia* 12: 323-330, 1974
- 41) Yanagisawa H, Dan I, Tsuzuki D, Kato M, Okamoto M, Kyutoku Y, Soya H: Acute moderate exercise elicits increased dorsolateral prefrontal activation and improves cognitive performance with Stroop test. *Neuroimage* 50: 1702-1710, 2010
- 42) Cabeza R: Hemispheric asymmetry reduction in older adults: the HAROLD model. *Psychol Aging* 17: 85-100, 2002
- 43) Herrmann MJ, Walter A, Ehlis AC, Fallgatter AJ: Cerebral oxygenation changes in the prefrontal cortex: effects of age and gender. *Neurobiol Aging* 27: 888-894, 2006
- 44) DuBose LE, Voss MW, Weng TB, Kent JD, Dubishar KM, Lane-Cordova A, Sigurdsson G, Schmid P, Barlow PB, Pierce GL: Carotid  $\beta$ -stiffness index is associated with slower processing speed but not working memory or white matter integrity in healthy middle-aged/older adults. *J Appl Physiol* 122: 868-886, 2017
- 45) Hajjar I, Goldstein FC, Martin GS, Quyyumi AA: Roles of arterial stiffness and blood pressure in hypertension-associated cognitive decline in healthy adults. *Hypertension* 67: 171-175, 2016
- 46) Tarumi T, Ayaz Khan M, Liu J, Tseng BY, Parker R, Riley J, Tinajero C, Zhang R: Cerebral hemodynamics in normal aging: Central artery stiffness, wave reflection, and pressure pulsatility. *J Cereb Blood Flow Metab* 34: 971-978, 2014
- 47) McEniery CM, Yasmin Y, Hall IR, Qasem A, Wilkinson IB, Cockcroft JR: Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity. *J Am Coll Cardiol* 46: 1753-1760, 2005
- 48) Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, Vasan RS, Levy D: Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women. *Hypertension* 43: 1239-1245, 2004
- 49) Taddei S, Virdis A, Mattei P, Ghiadoni L, Gennari A, Fasolo CB, Sudano I, Salvetti A: Aging and endothelial function in normotensive subjects and patients with essential hypertension. *Circulation* 91: 1981-1987, 1995
- 50) Fernando MS, Simpson JE, Matthews F, Brayne C, Lewis CE, Barber R, Kalra R, Forster G, Esteves F, Wharton SB, Shaw PJ, O'Brien JT, Ince PG: White matter lesions in an unselected cohort of the elderly: molecular pathology suggests origin from chronic hypoperfusion injury. *Stroke* 37: 1391-1398, 2006
- 51) Moody DM, Bell MA, Challa VR: Features of the cerebral vascular pattern that predict vulnerability to perfusion or oxygenation deficiency: an anatomic study. *AJNR Am J Neuroradiol* 11: 431-439, 1990
- 52) Mitchell GF, van Buchem MA, Sigurdsson S, Gotlib JD, Jonsdottir MK, Kjartansson Ó, Garcia M, Aspelund T, Harris TB, Gudnason V, Launer LJ: Arterial stiffness, pressure and flow pulsatility and brain structure and function: the age, gene/environment susceptibility — Reykjavik study. *Brain* 134: 3398-3407, 2011
- 53) Heffernan KS, Augustine JA, Lefferts WK, Spartano NL, Hughes WE, Jorgensen RS, Gump BB: Arterial stiffness and cerebral hemodynamic pulsatility during cognitive engagement in younger and older adults. *Exp Gerontol* 101: 54-62, 2018
- 54) Fox PT, Raichle ME: Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci* 83: 1140-1144, 1986
- 55) Fujiwara Y, Chaves PH, Takahashi R, Amano H, Yoshida H, Kumagai S, Fujita K, Wang DG, Shinkai S: Arterial pulse wave velocity as a marker of poor cognitive function in an elderly community-dwelling population. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 60: 607-612, 2005
- 56) Gutierrez J, Marshall RS, Lazar RM: Indirect measures of arterial stiffness and cognitive performance in individuals without traditional vascular risk factors or disease. *JAMA Neurol* 72: 309-315, 2015
- 57) Muller M, Grobbee DE, Aleman A, Bots M, van der Schouw YT: Cardiovascular disease and cognitive performance in middle-aged and elderly men. *Atherosclerosis* 190: 143-149, 2007
- 58) Taniguchi Y, Fujiwara Y, Nofuji Y, Nishi M, Murayama H, Seino S, Tajima R, Matsuyama Y, Shinkai S: Prospective study of arterial stiffness and subsequent cognitive decline among community-dwelling older Japanese. *J Epidemiol* 25: 592-599, 2015
- 59) Waldstein SR, Rice SC, Thayer JF, Najjar SS, Scuteri A, Zonderman AB: Pulse pressure and pulse wave velocity are related to cognitive decline in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Hypertension* 51: 99-104, 2008
- 60) Watson NL, Sutton-Tyrrell K, Rosano C, Boudreau RM, Hardy SE, Simonsick EM, Najjar SS, Launer LJ, Yaffe K, Atkinson HH, Satterfield S, Newman AB: Arterial stiffness and cognitive decline in well-functioning older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 66: 1336-1342, 2011
- 61) Schättin A, Baur K, Stutz J, Wolf P, de Bruin ED: Effects of physical exercise combined with nutritional supplements on aging brain related structures and functions: A systematic review. *Front Aging Neurosci* 8: 161, 2016
- 62) Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K, Takano T: Anti-hypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I-converting enzyme. *J Dairy Sci* 78: 1253-1257, 1995
- 63) Akazawa N, Hamasaki A, Tanahashi K, Kosaki K, Yoshikawa T, Myoenzono K, Maeda S: Lactotripeptide ingestion increases middle cerebral blood flow velocity in middle-aged and older adults. *Nutr Res* 53: 61-66, 2018
- 64) Kakiyama T, Sugawara J, Murakami H, Maeda S, Kuno S, Matsuda M: Effects of short-term endurance training on aortic distensibility in young males. *Med Sci Sports Exerc* 37: 267-271, 2005

- 65) Maeda S, Tanabe T, Otsuki T, Sugawara J, Ajisaka R, Matsuda M: Acute exercise increases systemic arterial compliance after 6-month exercise training in older women. *Hypertens Res* 31: 377-381, 2008
- 66) Miyaki A, Maeda S, Yoshizawa M, Misono M, Saito Y, Sasai H, Kim MK, Nakata Y, Tanaka K, Ajisaka R: Effect of habitual aerobic exercise on body weight and arterial function in overweight and obese men. *Am J Cardiol* 104: 823-828, 2009
- 67) Wightman EL, Haskell-Ramsay CF, Reay JL, Williamson G, Dew T, Zhang W, Kennedy DO: The effects of chronic trans-resveratrol supplementation on aspects of cognitive function, mood, sleep, health and cerebral blood flow in healthy, young humans. *Br J Nutr* 114: 1427-1437, 2015
- 68) Quinn JF, Raman R, Thomas RG, Yurko-Mauro K, Nelson EB, Van Dyck C, Galvin JE, Emond J, Jack CR Jr, Weiner M, Shinto L, Aisen PS: Docosahexaenoic acid supplementation and cognitive decline in Alzheimer disease: a randomized trial. *JAMA* 304: 1903-1911, 2010
- 69) Hirota T, Ohki K, Kawagishi R, Kajimoto Y, Mizuno S, Nakamura Y, Kitakaze M: Casein Hydrolysate containing the antihypertensive tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro improves vascular endothelial function independent of blood pressure-lowering effects: contribution of the inhibitory action of angiotensin-converting enzyme. *Hypertens Res* 30: 489-496, 2007
- 70) Li C, Zheng J, Wang J, Gui L: An fMRI stroop task study of prefrontal cortical function in normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res* 6: 525-530, 2009

## The Effects of Aerobic Exercise and Nutrition on Executive Function in Middle-aged and Older Adult

Ai Shindo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Physical Therapy, Faculty of Medical and Health Sciences, Tsukuba International University

The prevalence of dementia and cognitive impairment has increased with rapid aging in Japan. Prevention of dementia has high social and clinical significance, such as maintenance of the quality of life (QOL) of the elderly themselves, and is highly expected in the field of prevention. Non-pharmacological treatments are desirable, such as nutrient intake and exercise, to maintain and improve cognitive function in middle-aged and older adults, however, no scientific evidence have been established. Therefore, we focus on the brain function called executive function which is required for decision making and problem solving in cognitive function, and the cerebral oxygenation hemodynamics in brain activity and the central arterial stiffness which decreases with age. It was clarified that LTP intake improves central artery stiffness and cerebral oxygenation hemodynamics, and that combined with aerobic exercise further improves executive function. We also found that a decrease in central artery stiffness is associated with the improvement of executive function and cerebral oxygenation hemodynamics by LTP intake and aerobic exercise intervention. Our findings suggest that habitual aerobic exercise and LTP intake in middle-aged and elderly people may be effective in maintaining and improving cognitive function. These results are considered to be useful for establishing preventive measures for the onset and progression of dementia.

**Key words:** Executive function, Cerebral oxygenation hemodynamics, Central artery stiffness, Aerobic exercise, Lactotripeptide

---

\* Department of Physical Therapy, Faculty of Medical and Health Sciences, Tsukuba International University  
6-8-33, Manabe, Tsuchiura, Ibaraki, 300-0051, Japan  
E-mail: a-shindou@tius.co.jp

総 説

## 運動による慢性腎臓病進行抑制の可能性\*

山越 聖子<sup>1)2)</sup>#

### 要旨

慢性腎臓病（以下、CKD）患者は、様々な合併症や廃用により身体活動量や運動耐容能が低下し、それらの低下が死亡リスクの増加と関連している。近年、CKDに対する運動療法が、身体機能や生命予後の改善のみならず、腎機能を改善することが報告されている。CKDモデルラットを用いた基礎研究において、運動による腎保護効果についての報告が散見される。しかしながら、その詳細な機序については明らかでない。我々はCKDのステージ進行に伴ってみられる腎間質線維化に着目し、運動による腎間質線維化抑制効果の機序について、腎コラーゲン代謝と腎レニン-アンジオテンシン系の関与を報告した。これらの結果から、CKDにおける運動は、腎間質線維化を予防し、腎不全の進行予防効果をもたらすことが期待される。

キーワード 慢性腎臓病, 運動療法, 腎間質線維化, コラーゲン代謝, 腎レニン-アンジオテンシン系

### はじめに

慢性腎臓病（以下、CKD）は、種々の原疾患により腎機能低下や腎障害所見が慢性的に持続した状態であり、CKDが進行して末期腎不全に至ると、維持透析治療の導入が必要である。日本における維持透析導入患者数は年々増加の一途を辿っており、CKDの治療においては、その進行を防ぎ、透析導入を遅らせ、生命予後を改善させる有効な対策を立てることが急務である。

近年、CKD患者や透析患者に対する長期にわたる包括的なプログラムとして腎臓リハビリテーションが提唱された。腎臓リハビリテーションの中核を担う運動療法は、透析患者において積極的に行うことが推奨され、保存期CKD患者においても腎機能改善や死亡率の減少をもたらすことが報告されている<sup>1-3)</sup>。2016年度の診療報酬改定では、腎不全期の糖尿病性腎症の患者に運動の指導・評価を行う腎不全期患者指導加算が設定され、さら

に2022年度診療報酬改定においては、人工腎臓を算定している患者に対して、医師、看護師、理学療法士または作業療法士が透析中に当該患者の病状および療養環境等を踏まえた療養上必要な訓練等を行った場合の評価「透析時運動指導加算」が新設され、腎臓リハビリテーションの重要性が高まっている。

CKDモデルを用いた基礎研究においては、運動により血圧、腎機能、糸球体硬化、腎間質線維化が改善することが報告されている。しかしながら、運動による腎保護効果の機序については、十分に明らかになっていない。

本稿では、CKDにおける運動療法の効果やそのエビデンスについて、最近の臨床研究の知見と我々の基礎研究についてご紹介する。

### CKDの病態と身体機能

本邦のCKD患者は1,330万人を超え、高齢化に伴って今後さらに増加することが予想されている。CKDとは、糖尿病性腎症、腎硬化症、慢性腎炎などを原因疾患として腎機能の低下や腎障害所見がみられる状態である。CKDの診断は、①尿異常、画像診断、血液、病理で腎障害の存在が明らか、特に0.15 g/gCr以上の尿蛋白（30 mg/gCr以上のアルブミン尿）の存在、②糸球体濾過量（以下、GFR）<60 mL/分/1.73 m<sup>2</sup>のいずれか、または①と②のステージの両方が3ヵ月以上持続することと定義される<sup>4)</sup>。CKDの重症度（以下、ステージ）

\* The Possibility of Preventing for Progression of Chronic Kidney Disease by Exercise Training

1) 東北大学大学院薬学研究科臨床薬学分野  
(〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉6-3)  
Seiko Yamakoshi, PT, PhD; Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Tohoku University Graduate School of Pharmaceutical Sciences (6-3 Aoba Aramaki Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8578, Japan)

2) 東北大学大学院医学系研究科内部障害学分野  
Department of Internal Medicine and Rehabilitation Science, Tohoku University Graduate School of Medicine

# E-mail: seiko.yamakoshi.a1@tohoku.ac.jp  
(受付日 2022年8月10日)

[J-STAGEでの早期公開日 2022年9月29日]

表1 CKDのステージと主な症状のまとめ

CKD ステージ	CKD stage1	CKD stage2	CKD stage3a	CKD stage3b	CKD stage4	CKD stage5
GFR 値 (mL/分/1.73m <sup>2</sup> )	≥ 90	60 ~ 89	45 ~ 59	30 ~ 44	15 ~ 29	< 15
腎機能状態	ほぼ正常	正常または 軽度低下	軽度~中等度低下	中等度~高度低下	高度低下	末期腎不全
症状		蛋白尿	貧血, 血圧上昇, 浮腫, 息切れ, 易疲労			食欲低下, 尿量減少, 呼吸困難感など

分類は、GFRによってG1, G2, G3a, G3b, G4, G5の6つのステージに分けられ(表1)、さらに原疾患、腎機能、尿蛋白・アルブミン尿の値によってA1, A2, A3の3つのステージで評価される。

CKD患者は、糖尿病や心血管疾患などの多くの合併症を有し、尿毒素の蓄積、炎症性サイトカインや酸化ストレス、レニン-アンジオテンシン(以下、RA)系の慢性的な活性化、代謝性アシドーシス、貧血、protein-energy wastingが特徴的であることから身体機能の低下が進んでおり、身体活動量や運動耐容能が低下している。ステージ3~5のCKD患者において年齢予測基準値よりも最大酸素摂取量の低下がみられ、歩行速度、椅子からの立ち座り時間、6分間歩行距離は全て延長していた<sup>5)</sup>。Roshanravanらはステージ2~4のCKD患者385名における身体機能と死亡率の関連について、通常歩行速度0.8 m/s未満群、Timed Up and Goテストが12秒以上群、6分間歩行距離350 m未満群、握力低下群において死亡率が高いことを報告し<sup>6)</sup>、身体機能がCKD患者の生命予後に強く関連していることを示している。また透析患者においては、最大酸素摂取量が生存率の強い予測因子であることが明らかになっている<sup>7)</sup>。

### CKD患者への運動療法の効果

近年のメタアナリシスでは、CKD患者における運動療法が、運動耐容能の向上と下肢筋力の増加および健康関連QOLの改善をもたらすことを報告している<sup>8)9)</sup>。Rossiらによる大規模RCTでは、ステージ3~4のCKD患者に対する12週間の運動療法介入群と通常のケア群との比較において、運動療法介入群で介入後の6分間歩行試験と立ち上がり試験の成績の有意な改善が見られた<sup>10)</sup>。

また運動療法による腎機能への影響については、腎機能には悪影響を及ぼさずに運動が可能であることが明らかになっている。12週間のレジスタンストレーニングは、GFRを有意に改善させた<sup>11)</sup>。また有酸素運動とレジスタンス運動を組み合わせた運動療法を12ヵ月継続したところ、運動療法群において、非介入群と比較してeGFRが有意に上昇した<sup>3)</sup>。身体機能の低下がeGFRの低下と関連していることも報告されており、身体活動量

が150分/週以上では、eGFRの低下が緩徐となり、一方で運動量が少ないと、eGFRの低下が顕著であった<sup>2)12)</sup>。これらから、CKD患者における運動療法は、身体機能や生命予後の改善のみならず、腎機能にも効果があることが報告されてきた。しかしながら、その機序については、未だ十分に明らかではない。

### CKDモデルにおける運動による効果

CKDモデルラットにおける長期的な運動による腎臓への保護効果については、以前より報告がある。CKDモデルラットにおけるトレッドミルによる走行運動の介入は、血圧、腎機能、尿タンパク、腎組織病変が改善していたが<sup>13)14)</sup>、腎障害モデルの種類によっては、運動介入による腎機能や血圧の変化が不変または悪化させることが明らかとなっている。膜性増殖性糸球体腎炎モデルラットへの8週間の運動介入は血圧、腎機能、尿タンパク、糸球体硬化について増悪傾向を示した<sup>15)</sup>。ネフローゼ症候群モデルラットにおける運動介入は、糸球体硬化や皮質間質容積比の改善傾向を認めたが、血圧、尿タンパク、腎機能については有意な変化が見られなかった<sup>16)</sup>。

### CKDモデルラットにおける運動による腎保護効果の機序

CKDはステージ進行に伴い、糸球体硬化とともに腎間質線維化がみられるようになり、その病理学的な特徴は尿細管の変性、細胞外基質の増生、傍尿細管毛細血管管や後糸球体血流の減少などである<sup>17)</sup>。腎間質線維化は腎機能や機能予後に強く影響しているが<sup>18)19)</sup>、直接的な治療法がない。腎間質線維化の病態進展に関して、多くの液性因子が関与しているが、中心となる液性因子はtransforming growth factor(以下、TGF)-βであり、コラーゲンを含む細胞外基質合成を促進する。一方でコラーゲンを分解する内因性因子のmatrix metalloproteinase(以下、MMP)の腎臓での主な発現はMMP-2とMMP-9である<sup>20)21)</sup>。またMMPの内因性阻害物質であるtissue inhibitors of metalloproteinase(以下、TIMP)がMMPの働きを抑制し<sup>22)</sup>、MMP-2, MMP-9, TIMP-1

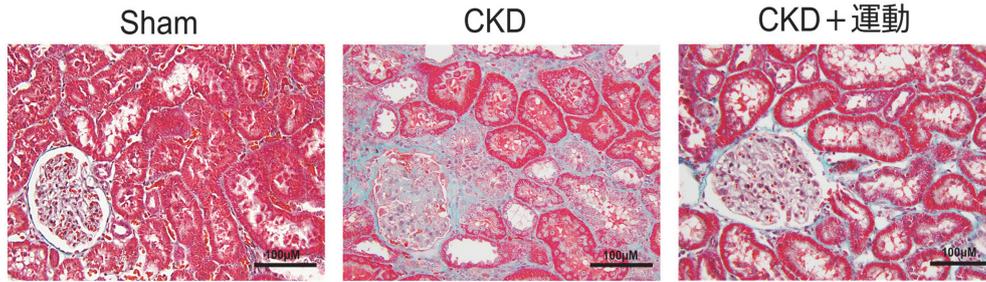


図1 Sham群, CKD群, CKD+運動群における腎皮質のElastica-Masson染色. CKDにおいて腎間質線維化がみられ, 運動により改善を認めた.

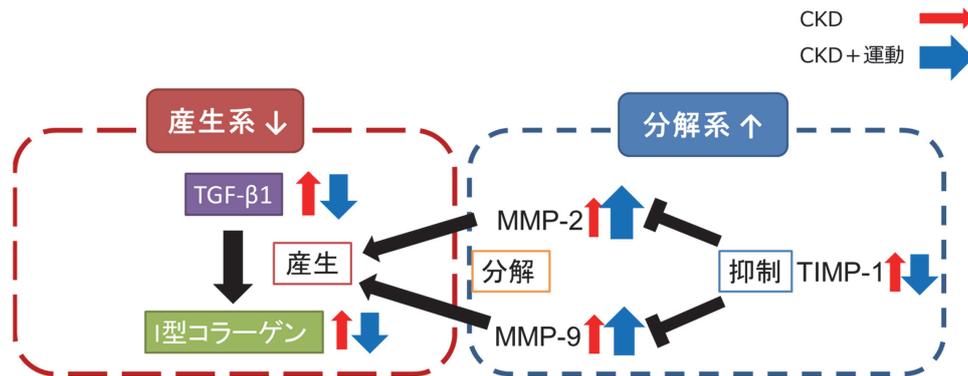


図2 慢性腎不全ラットにおける運動による腎コラーゲン代謝とその関連因子への影響  
TGF- $\beta$ 1; transforming growth factor- $\beta$ 1, MMP-2; matrix metalloproteinase (MMP)-2  
TIMP-1; tissue inhibitors of MMP  
[山越聖子, 伊藤 修, 上月正博: 心臓リハビリテーション 3・4号, 2022; in press  
より引用, 改変]

のバランス調節が, 腎内コラーゲンの分解に関与している<sup>20)</sup>。また, CKDモデルラットの腎において, TGF- $\beta$ 1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1が増加していた<sup>23-25)</sup>。さらにCKDラットにおいてRA系阻害薬であるロサルタン<sup>26)</sup>の投与によりTGF- $\beta$ 1の発現が減少したことが報告されており, 腎RA系の関与についても報告されている<sup>26)</sup>。RA系は, (プロ)レニンやレニンが(プロ)レニン受容体と結合して活性化し, アンジオテンシノーゲンがアンジオテンシンIへと変換され, アンジオテンシン変換酵素(以下, ACE)によりアンジオテンシンIIへと変換される。アンジオテンシンIIはアンジオテンシンII 1型受容体(以下, AT1R)あるいは2型受容体(以下, AT2R)と結合し, AT1Rは腎障害促進に, またAT2Rは腎保護に働く<sup>27)28)</sup>と報告されている。以上から, CKDモデルラットにおける運動による腎間質線維化抑制効果の機序として, 腎内コラーゲン代謝と腎RA系に着目し, 検討を行った。

具体的な実験プロトコルとして, 5/6腎摘除CKDモデルラットを作製し, 12週間のトレッドミル運動を行った。12週間のプロトコル期間中, 2週ごとに収縮期血圧を測定し, さらに24時間の蓄尿を行った。運動により収縮期血圧, 尿タンパク排泄量が減少し, 糸球体硬化指

数や皮質間質容積比が改善した。腎間質線維化は, 運動群において有意に抑制された(図1)。また血清クレアチニンや血中尿素窒素は運動群で有意な軽減が見られ, 腎機能低下を抑制した。免疫プロット法やゼラチンゼイモグラフィによる腎内コラーゲン代謝と腎RA系コンポーネントの解析では, CKDモデルラットにおいて, I型コラーゲン, TGF- $\beta$ 1, MMP-2, -9, TIMP-1発現とMMP-2活性, アンジオテンシノーゲン, ACE, (プロ)レニン受容体, AT1Rが増加し, レニン, ACE2, AT2R, Mas受容体が低下していた。運動により, I型コラーゲン, TGF- $\beta$ 1, TIMP-1, アンジオテンシノーゲン, ACEが低下し, MMP-2, -9の発現とMMP-2活性, レニン, ACE2, AT2R, Mas受容体の増加が見られた。これらの結果から, 長期的運動はコラーゲン産生を抑制しただけでなく, コラーゲンの分解も促進した(図2)。以上より, 長期的運動は腎間質線維化を抑制するだけでなく, 進行した腎間質線維化を回復させる可能性があると考えられる。また腎RA系への効果については, 長期的運動が腎内RA系の活性を抑制し(図3), 腎保護効果を示すことが明らかとなった。長期的運動がアンジオテンシンIIと腎障害に関与するACE-AT1R系を抑制し, 腎保護に関与するAT2RやACE2-MasR系を亢進させ

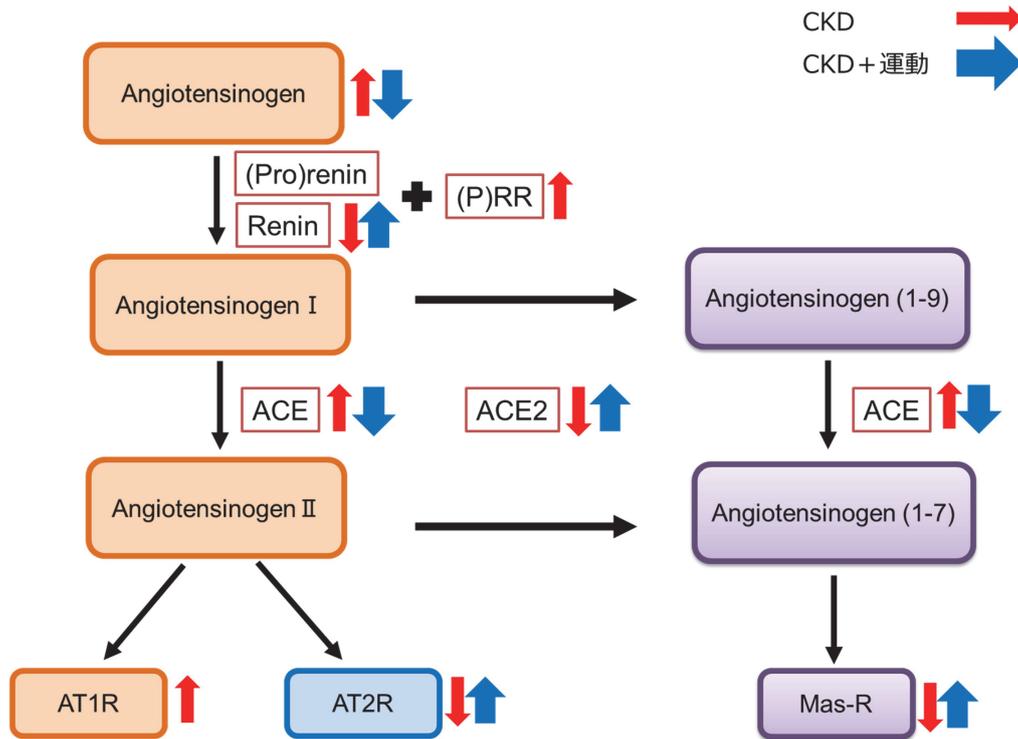


図3 慢性腎不全ラットにおける運動による腎レニン-アンジオテンシン系への影響

Angiotensinogen: アンジオテンジノーゲン, (P) RR: (プロ) レニン受容体, Angiotensin I: アンジオテンシン I, Angiotensin II: アンジオテンシン II, ACE: アンジオテンシン変換酵素, ACE2: アンジオテンシン変換酵素 2, AT1R: アンジオテンシン II 1 型受容体, AT2R: アンジオテンシン II 2 型受容体, Mas R: Mas 受容体

[山越聖子, 伊藤 修, 上月正博: 心臓リハビリテーション 3・4 号, 2022; in press より引用, 改変]

た可能性がある。以上の結果から、CKD ラットにおける長期的運動による腎間質抑制効果の機序として腎内コラーゲン代謝と腎 RA 系の関与を示唆した<sup>29)</sup>。

#### おわりに

脳血管疾患、運動器疾患、心血管疾患、呼吸器疾患のリハビリテーションが確立、普及されているのに比べて、腎臓リハビリテーションは新しく、実施している施設は多くない。また CKD 患者の運動療法の有効性や安全性が明らかになってきているが、報告数が少ないことや、大規模な長期的調査がないことから、日本腎臓リハビリテーション学会のガイドラインでは、CKD 患者への運動療法は提案に留まっている。CKD 患者の重症化予防のためには腎機能や身体機能の維持が極めて重要であり、その予防・治療法となり得る運動療法の提供や研究は、リハビリテーション医療従事者において非常に重要であると考えられる。

運動は複合的なメカニズムによりその効果もたらされるが、今後もさらにそのメカニズムについて一つひとつが解明され、腎臓リハビリテーションの診療体系の構築に寄与できることを期待する。

#### 文 献

- 1) Baria F, Kamimura MA, Aoike DT, Ammirati A, Rocha ML, Mello MT, Cuppari L: Randomized controlled trial to evaluate the impact of aerobic exercise on visceral fat in overweight chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 29: 857-864, 2014
- 2) Chen IR, Wang S, Liang C, Kuo H, Chang C, Liu J, Lin H, Wang I, Yang Y, Chou C, Huang C: Association of walking with survival and RRT among patients with CKD stages 3-5. *Clin J Am Soc Nephrol* 9: 1183-1189, 2014
- 3) Greenwood SA, Koufaki P, Mercer TH, MacLaughlin HL, Rush R, Lindup H, O'Connor E, Jones C, Hendry BM, Macdougall IC, Cairns HS: Effect of exercise training on estimated GFR, vascular health, and cardiorespiratory fitness in patients with CKD: a pilot randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* 65: 425-434, 2014
- 4) 日本腎臓学会: エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2018. 日本腎臓学会 (編). 東京, 東京医学社, p 2, 2018
- 5) Padilla J, Krasnoff J, Da Silva M, Hsu CY, Frassetto L, Johansen KL, Painter P: Physical functioning in patients with chronic kidney disease. *J Nephrol* 21: 550-559, 2008
- 6) Roshanravan B, Robinson-Cohen C, Patel KV, Ayers E, Littman AJ, de Boer IH, Ikizler TA, Himmelfarb J, Katzell LI, Kestenbaum B, Seliger S: Association between physical performance and all-cause mortality in CKD. *J Am Soc Nephrol* 24: 822-830, 2013
- 7) Sietsema KE, Amato A, Adler SG, Brass EP: Exercise

- capacity as a predictor of survival among ambulatory patients with endstage renal disease. *Kidney Int* 65: 719-724, 2004
- 8) Johansen K, Painter P: Exercise in individuals with CKD. *Am J Kidney Dis* 59: 126-134, 2012
  - 9) Heiwa S, Jacobson SH: Exercise training in adults with CKD: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 64: 383-393, 2014
  - 10) Rossi AP, Burris DD, Lucas FL, Crocker GA, Wasserman JC: Effects of a renal rehabilitation exercise program in patients with CKD: a randomized, controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 9: 2052-2058, 2014
  - 11) Castanede C, Gordon PL, Uhlin KL, Levey AS, Kehayias JJ, Dwyer JT, Fielding RA, Roubenoff R, Singh MF: Resistance training to counteract the catabolism of a low-protein diet in patients with chronic renal insufficiency. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 135: 965-976, 2001
  - 12) Robinson-Cohen C, Littman AJ, Duncan GE, Weiss NS, Sachs MC, Ruzinski J, Kundzins J, Rock D, Boer IH, Izkizler TA, Himmelfarb J, Kestenbaum BR: Physical activity and change in estimated GFR among persons with CKD. *J Am Soc Nephrol* 25: 399-406, 2014
  - 13) Kohzuki M, Kamimoto M, Wu X M, Xu H L, Kawamura T, Mori N, Nagasaka M, Kurosawa H, Minami N, Kanazawa M, Saito T, Yoshida K: Renal-protective effects of chronic exercise and antihypertensive therapy in hypertensive rats with renal failure. *J Hypertens* 19: 1877-1882, 2002
  - 14) Kanazawa M, Kawamura T, Li L, Sasaki Y, Matsumoto K, Kataoka H, Ito O, Minami N, Sato T, Ootaka T, Kohzuki M: Combination of exercise and enalapril enhances reno-protective and peripheral effects in rats with renal ablation. *Am J Hypertens* 19: 80-86, 2006
  - 15) Kohzuki M: Disability Prevention of Renal Failure: Effects of Exercise and Enalapril in Thy-1 Nephritis Rats. *Proceeding of the 2nd World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine*. Monduzzi Editore, Bologna, pp 521-524, 2003
  - 16) Ji L: Disability prevention of renal failure: effects of exercise and enalapril of Physical and Rehabilitation Medicine. *Monduzzi Editore, Bologna*, pp 525-528, 2003
  - 17) Duffield JS: Cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis. *J Clin Invest* 124: 2299-2306, 2014
  - 18) Bohle A, Muller GA, Wehrmann M, Mackensen-Haen S, Xiao JC: Pathogenesis of chronic renal failure in the primary glomerulopathies, renal vasculopathies, and chronic interstitial nephritides. *Kidney Int Suppl* 54: S2-S9, 1996
  - 19) Wright JR, Duggal A, Thomas R, Reeve R, Roberts IS, Kalraet PA: Clinicopathological correlation in biopsy-proven atherosclerotic nephropathy: implications for renal functional outcome in atherosclerotic renovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 16: 765-770, 2001
  - 20) Zhao H, Dong Y, Tian X, Tan TK, Liu Z, Zhao Y, Zhang Y, Harris DC, Zheng G: Matrix metalloproteinases contribute to kidney fibrosis in chronic kidney diseases. *World J Nephrol* 2: 84-89, 2013
  - 21) Tan RJ, Liu Y: Matrix metalloproteinases in kidney homeostasis and diseases. *Am J Physiol Renal Physiol* 302: F1351-F1361, 2012
  - 22) Visse R, Nagase H: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 92: 827-839, 2003
  - 23) Coimbra TM, Carvalho J, Fattori A, Silva CG, Lachat JJ: Transforming growth factor-beta production during the development of renal fibrosis in rats with subtotal renal ablation. *Int J Exp Pathol* 77: 167-173, 1996
  - 24) Prieto M, Rodríguez-Peña A, Arévalo M, Rivas JV, Düwel A, Eleno N, Sánchez RJ, Morales AI, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F: *Kidney Blood Press Res* 28: 32-40, 2005
  - 25) Ma LJ, Nakamura S, Aldigier JC, Rossini M, Yang H, Liang X, Nakamura I, Marcantoni C, Fogo AB: Regression of glomerulosclerosis with high-dose angiotensin inhibition is linked to decreased plasminogen activator inhibitor-1. *J Am Soc Nephrol* 16: 966-976, 2005
  - 26) Fu W, Wang Y, Jin Z, Wang H, Cheng W, Zhou H, Yin P, Peng W: Losartan alleviates renal fibrosis by down-regulating HIF-1 $\alpha$  and up-regulating MMP-9/TIMP-1 in rats with 5/6 nephrectomy. *Ren Fail* 34: 1297-1304, 2012
  - 27) Iwai M, Horiuchi M: Devil and angel in the renin-angiotensin system: ACE-angiotensin II-AT1 receptor axis vs. ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas receptor axis. *Hypertens Res* 32: 533-536, 2009
  - 28) Ingelfinger JR: Angiotensin-converting enzyme 2: implications for blood pressure and kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 18: 79-84, 2009
  - 29) Yamakoshi S, Nakamura T, Mori N, Suda C, Kohzuki M, Ito O: Effects of exercise training on renal interstitial fibrosis and renin-angiotensin system in rats with chronic renal failure. *J Hypertens* 39: 143-152, 2021

## The Possibility of Preventing for Progression of Chronic Kidney Disease by Exercise Training

Seiko Yamakoshi<sup>1, 2\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Tohoku University Graduate School of Pharmaceutical Sciences

<sup>2</sup> Department of Internal Medicine and Rehabilitation Science, Tohoku University Graduate School of Medicine

Patients with chronic kidney disease (CKD) have decreased physical activity and exercise tolerance because of various complications and disuse. Reduced physical activity and exercise tolerance are associated with increased mortality risk. Recently, exercise training for CKD has been reported to not only improve physical function and prognosis but also renal function. CKD rat models in some basic studies have demonstrated a renoprotective effect on exercise training. However, the detailed mechanism is unclear. We focused on renal interstitial fibrosis, which is observed in advanced CKD stages. We have reported the involvement of the renal collagen metabolism and renal renin-angiotensin system in the inhibitory effect mechanism of exercise training on renal interstitial fibrosis. Based on the results, exercise training for CKD is expected to prevent renal interstitial fibrosis and have a preventive effect on renal failure progression.

**Key words:** Chronic kidney disease, Exercise training, Renal interstitial fibrosis, Collagen metabolism, Renal renin-angiotensin system

---

\* Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Tohoku University Graduate School of Pharmaceutical Sciences  
6-3 Aoba Aramaki Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8578, Japan  
E-mail: seiko.yamakoshi.a1@tohoku.ac.jp

## 基礎理学療法学 投稿規定

改訂：2018（平成30）年04月17日

改訂：2021（令和3）年06月16日

改訂：2022（令和4）年05月13日

### 1. 目的

日本基礎理学療学会の学術誌として、理学療法に関する学術的情報公開の場を提供し、理学療法の基礎研究を通して理学療法学の発展に貢献することを目的とする。

### 2. 投稿記事の種類

原著、短報、総説、その他編集部で掲載を承認されたものとする。投稿原稿は他紙に掲載予定がなく未発表の邦文とし、他紙への同時投稿は認めない。また、総説は編集部からの依頼原稿のみとする（システマティックレビューを除く）。

### 3. 投稿者の資格

本誌への投稿記事は、基礎理学療法学の発展に寄与する論文であれば会員に限らず受理する。

### 4. 本文の字数および図表の枚数

〔原著〕

原則として文献を含め12,000字以内とする（図表は含めない）。図表は10枚以内とする。

〔短報〕

原則として文献を含め6,000字以内とする（図表は含めない）。図表は4枚以内とする。

### 5. 執筆要項

- 1) 原稿はWindows版のMicrosoft word、またはテキストファイルを用いてA4判の用紙に横書きで作成する。用紙には左端に通して行番号を入れ、一段組み12ポイントの文字で、ダブルスペースにて40字×20行（1ページ当たり800字）で入力する。また、下部中央にはページ番号を挿入する。常用漢字、ひらがな、現代かなづかいを用い、文献、人名、薬品名、生物学名などは原語を用いる。
- 2) 英数文字や記号は半角とし、原則として特殊文字は使用しない。ただし、特殊文字で表記せざるをえないものについては、表記文字とその表記場所を記載したリスト（1部）を添付し、提出する原稿にもその表記場所を赤字でマークする。
- 3) 数字は算用数字を用い、度量衡単位は国際単位系（SI単位）を用いる（長さ：m、質量：kg、時間：s、

温度：℃、周波数：Hz等）。

- 4) 原著、短報については原則として緒言（はじめに）、対象と方法、結果、考察、結論、利益相反、謝辞、文献等の小見出しをつけ、これらの順に構成・記載する。助成金等の研究資金に関する情報は謝辞に記載すること。
- 5) 表紙には論文タイトル、著者氏名（著者の資格を示すもの、例えばPhD、PTなど）、所属および投稿責任者（Corresponding author）の連絡先（住所、電話番号、FAX番号、E-mail address）、専門領域、投稿記事の種類、原稿の枚数、図表の枚数を記載する。専門領域は学会ホームページに記載されている（<http://jspt.japanpt.or.jp/jsptf/>）。
- 6) 和文の要旨（400字）とキーワード（5つ以内）を添付すること。
- 7) 英語の表題、著者名、所属、要旨（250語程度）、キーワード（5つ以内）を添付すること。
- 8) 図表は本文とはページを分けて記載する。記載順序は、文献の後に、図表説明、表、図の順とする。また、図表は用紙1枚につき1つ記載する。
- 9) 図表の説明には、図表の番号、タイトルおよび簡潔な説明を含めること。
- 10) 図の中の線（直線、曲線など）、文字、数字、記号などは、縮小印刷した場合にも判読可能な大ききとする。特に、写真に関しては縮小・拡大しても印刷に耐えうる程度の解像度（300 dpi程度）を有すること。また、表に関しては、必要がない限り縦線を含めないこと。
- 11) 引用文献は必要最小限にとどめ、引用順に通し番号をつけ、本文の最後に「文献」として引用順に列挙する。番号は本文中の引用箇所の上肩に右片カッコにしてつける（すべて半角文字を用いる）。著者は全て連記する。
- 12) 文献の記載方法は以下の例に従う。  
（雑誌の場合）  
1) Yoshimura A, Fujitsuka C, Kawakami K, Ozawa N, Ojala H, Fujitsuka N: Novel myosin isoform in nuclear chain fibers of rat muscle spindles produced in response to endurance swimming. J Appl Psychol 73: 1925-1931, 1992

- 2) 曾我部正博, 成瀬恵治, 曾我浩之: 膜伸展によって活性化されるイオンチャンネル. 心臓 24: 333-343, 1992 (書籍の場合)
- 3) King A, Cavanaugh JM: Neurophysiologic basis of low back pain. In The Lumbar Spine. Wiesel SW, Weinstein JN, Herkowitz H (Ed.). Philadelphia, WB Saunders, pp 74-80, 1996
- 4) 熊沢孝朗: 痛みのメカニズム. 新医科学大系 7. 星猛 (編). 東京, 中山書店, pp 153-167, 1995

## 6. 倫理

実験はヘルシンキ宣言に基づく倫理基準, あるいはわが国の医学系研究に関する倫理指針・動物実験関連法規を遵守して実施されなければならない。当該研究がこれらのガイドラインに従って実施されたことを投稿論文内に明記し, さらに所属機関の倫理委員会, あるいは実験動物委員会等が発行した承認書の承認番号を論文中に記載するものとする。

## 7. 利益相反

利益相反がある場合は, その旨原稿に明記すること。なお, 利益相反に関しては, 厚生労働省の指針を参照すること。

## 8. 投稿手続

投稿の際には以下のファイルを編集部 (jptf-edit@kiso.jspt.or.jp) 宛に送付する。

- 1) 原稿ファイル: Microsoft Word で作成すること (原稿ならびに図表)。
- 2) 投稿承諾書
- 3) 利益相反自己申告書

投稿承諾書と利益相反自己申告書は学会ホームページ (<http://jspt.japanpt.or.jp/jsptf/>) からダウンロードして作成し, そのPDFファイルを提出すること。

なお, 原稿受付年月日は原稿が編集部に着した日とし, 受理年月日は原稿の審査が終了し, 掲載可能となった日とする。

## 9. 引用・転載の許諾について

他著作物からの図表の引用・転載については, 著作権保護のため原出版社および原著者の許諾が必要である。

引用・転載を行う場合は投稿者があらかじめ許諾を得て, その旨を図表説明に明記すること。

## 10. 掲載に関する費用

筆頭著者または共著者のいずれかに理学療法士の免許を有する日本理学療法士協会の非会員が含まれる場合は, 理学療法士の非協会員1名あたり下記の審査料と掲載料を徴収する。なお, 協会員権利が停止している協会員についても同様に審査料と掲載料を徴収する。

	審査料	掲載料 (刷上がり 1ページあたり)
学会員・協会員	無料	無料
理学療法士でない 非学会員 (他職種・学生)	無料	無料
理学療法士の 非協会員	¥10,000 (税別)	¥10,000 (税別)

※審査料は投稿受付時に発生し, 請求書を送付する。指定期日までに審査料の振込みが確認できない場合は審査を中断することがある。

※投稿料は論文採択時に発生し, 請求書を送付する。指定期日までに審査料の振込みが確認できない場合は掲載を取り消すことがある。

※一度納入された審査料・掲載料はいかなる理由があっても返却しない。

## 11. その他

・掲載された論文等の著作権は日本基礎理学療法学会に属する。

・採用された原稿の印刷校正は投稿者の責任において行い, 初稿のみとする。

基礎理学療法学 編集委員会

関西医科大学 リハビリテーション学部

理学療法学科内

〒573-1136 大阪府枚方市宇山東町18-89

E-mail: jptf-edit@kiso.jspt.or.jp

### 編集後記

ここに学術誌「基礎理学療法学」第25巻1号をお届けします。本号が読者の皆さまのお手元に届く頃には第27回日本基礎理学療法学会学術大会が成功裡に終えた頃かと思えます。ちょうど1年前の第26回学術大会で開催されたシンポジウムにおいて、主要な分科学会を代表する先生方にご登壇いただき、本日本基礎理学療法学会へのご提言をいただく機会に恵まれました。シンポジストから発せられた「理学療法の学術的ハブとしての基礎理学」、そして、「理学療法の基礎から臨床へのアウトリーチを担う基礎理学療法学」というご提言が心に残っています。本号では、6本の総説と5本の原著論文が発刊されておりますが、理学療法学の学術的根幹と臨床的波及性を問う幅広く読み応えのある構成内容となっています。まさにシンポジウムにおいてご提言いただいた基礎理学療法学会への期待に応える内容であることを大変嬉しく思うとともに、益々の本誌および本学会からの発信を祈念する次第です。

(前島 洋)

### 編集委員会 (一般社団法人 日本基礎理学療法学会 学術局学術誌部)

編集委員長 中野治郎  
 編集委員 石田和人 木山良二 谷口匡史 福本悠樹  
 福元喜啓 前島 洋 森下勝行  
 学術局長 市橋則明

※査読は日本基礎理学療法学会専門会員 A に依頼

---

## 基礎理学療法学

25巻 第1号

2022年10月17日 発行

編集  
発行

一般社団法人  
日本基礎理学療法学会  
〒106-0032  
東京都港区六本木七丁目11-10

DTP

株式会社東京プレス  
〒161-0033  
東京都新宿区下落合3-12-18

---

