骨折を伴う外固定が関節拘縮と廃用性筋萎縮に及ぼす影響

西川 彰^{1,2}, 西尾 俊亮², 西川 晃子², 今北 英高²

The effects of fracture fixation on joint contracture and disuse atrophy in immobilized rat soleus muscle

Akira Nishikawa^{1,2}, Shunsuke Nishio², Akiko Nishikawa² and Hidetaka Imagita²

¹帝京平成大学地域医療学部, 〒290-0193 千葉県市原市うのいど南4-1 (*Faculty of Regional Health Therapy, Teikyo Heisei University, 4-1 Uruidominami, Ichihara-City, Chiba 290-0193, Japan*)

²畿央大学大学院健康科学研究科, 〒635-0832 奈良県北葛城郡広陵町馬見中4-2-2 (*Health Sciences Major, Graduate School of Health Sciences, Kio University, 4-2-2 Umami-naka, Koryo-cho, Kitakatsuragi-gun, Nara 635-0832, Japan*)

Received: December 23, 2010 / Accepted: October 6, 2011

Abstract In the present study, we investigated the effects of fracture fixation on joint contracture and disuse muscle atrophy. We surgically fractured the right hind limbs of male Wistar rats, and then fixed the right ankle joints at maximal plantar flexion for two weeks using dorsal splints. Compared with immobilized healthy and sham operated joints, the fractured joints concomitantly showed highly restricted range of motion and significantly higher degrees of disuse atrophy in soleus muscle; decrease of muscle fiber cross sectional area, development of central core lesion and a change in myosin heavy chain isoforms from slow type myosin to fast type myosin. Therefore, it is suggested that orthopedic fracture fixation induces intense disuse muscle atrophy to aggravate joint contracture.

Jpn J Phys Fitness Sports Med, 61(1): 95-101 (2012)

Keywords : soleus muscle, fracture fixation, disuse atrophy, range of motion

背 景

関節拘縮（関節可動域制限）の分類に関しては、その原因となる病変部位を基に①関節性（靭帯損傷や関節の不適合性、滑膜や線維脂肪組織増殖、関節線維症）、②軟部組織性（関節周囲軟部組織、皮膚や皮下組織、腱や靭帯）、③筋性（内因性としての外傷や炎症、変性、虚血、外因性としての痙攣や弛緩性麻痺など）の3種類が一般的である（HalarとBellの分類）¹⁾。整形外科領域における外傷性疾患に対して、関節を固定することで発生する関節拘縮には、これら3つの要因が複合的に関与していると考えられる。実験動物を用いたこれまでの研究において、ギプス固定などにより関節を不動化すると、短期間（1ヶ月以内）の場合では関節拘縮の責任病巣としては骨格筋の関与率が最も大きく、長期に及ぶほど皮膚、関節包、靭帯といった骨格筋以外の組織の影響が大きくなっていくことが明らかとなっている²⁾。また、脊髄損傷ラットを用いたMoriyamaら³⁾の報告では、関節拘縮の発生初期では骨格筋の関与率は小さいが、拘縮が進行するにつれてその率は大きくなっていくとされている。このことから、関節拘縮の発生原因の違いによりそ

の進行過程も異なることが予測されるが、その発生に影響を与える因子としての骨格筋の関与は何れにせよ大きいものと考えられる。

関節拘縮の発生時に起こる廃用性筋萎縮については、様々な分析方法によりその特性が調べられている。短縮位で固定したヒラメ筋では、type I 線維、type II 線維ともに筋線維横断面積は減少するが、その反面、筋内の結合組織（筋周膜や筋内膜）は増加することが明らかとなっている^{4,5)}。また、萎縮した骨格筋の微細構造を電子顕微鏡を用いて観察した研究では、筋節数が減少することで筋長が短縮すること、筋原線維の配列の乱れやZ帯の蛇行などの構造的変化が起こることなども報告されている^{6,7)}。一方、筋萎縮が進行するとミオシン重鎖アイソフォームのタイプ変化や筋小胞体機能の変化、コラーゲン線維の配列変化なども起こるとされている⁸⁻¹⁰⁾。それらが収縮張力などの筋張力特性の変化にも影響を与えていると考えられる。

以上のように、関節を不動化することで発生する関節拘縮やそれに関連する骨格筋の退行性変化に関する研究は数多く行われているが、そのほとんどは健常な関節部を人工的に固定（内固定または外固定）した実験手法を

用いたものであり、運動器の外傷性疾患（骨折など）に対する治療過程において発生した関節拘縮や廃用性筋萎縮を対象とした研究はほとんど行われていないといえる。そのため、本研究では外科的骨折処置を施した骨折治療モデルラットを作成し、その治療過程で発生する関節拘縮と廃用性筋萎縮の病態について調査することとした。

対象と方法

対象動物 実験動物には10週齢のWistar系雄性ラット24匹（体重 254.3 ± 11.5 g）を使用し、無作為に対照群（control group；Con, n=6）、非骨折群（non-fracture group；NFr, n=6）、シャム群（sham group；Sh, n=6）、骨折群（fracture group；Fr, n=6）の4群に分類した。Con群は無処置とし、NFr群には外固定のみ、Sh群には皮膚と筋膜を切開しただけの偽手術と外固定、Fr群には外科的骨折手術と外固定の処置をそれぞれ行った。Con群とNFr群間から固定の影響を、NFr群とSh群間からは手術侵襲の影響を、Sh群とFr群間からは骨折の影響を比較検討することとした。

尚、本実験は畿央大学動物実験倫理委員会の承認を得て、畿央大学動物実験管理規定に従い行った（承認番号21-7-I-210824）。

外科的骨折手術 ペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与（ $50\text{mg/kg} \cdot \text{body weight}$ ）した麻酔下において、ラットの右下腿前面の皮膚並びに筋膜を切開し脛骨を露出させた。その状態でエレバトリウム（陶芸用の線描きペンを代用）を脛骨の外側縁と前脛骨筋の間から刺入し、脛骨後方を通して内側へと貫通させ、周囲の骨格筋を損傷させないように注意しながら骨切り鋏を用いて、脛骨骨幹部が横骨折となるよう切断した。その後、皮膚を縫合してから両骨折端が接合するよう整復操作を行った（Fig 1）。

外固定法 熱可塑性硬性固定材料（イワツキ、レナサーム）を用いて、膝関節軽度屈曲位（約 30° ）、足関節最大底屈位で大腿遠位部から足部までの背側面にシーネを当て、同時に3箇所（大腿下部、下腿下部、足部）でシーネと下肢を2週間固定した。尚、固定材料がラットによって噛み切られるのを防ぐため、針金を編んで作製し

Fig 1. Surgical operation procedure (self-created illustrations)

たソケット状の金具を右後肢全体に被せた（Fig 2）。山本ら¹¹⁾はラットにギプス固定を行うと立ち上がり回数が有意に減少すると同時に、ケージ内を移動する様子もあまり観察されず、ギプス固定での関節の不動化に伴う痛みによって活動性が低下することを報告している。本研究ではそのような影響を除外するために、発痛物質に対する鎮痛作用に有効であるとされる¹²⁾ブプレノルフィンを処置後5日間すべての実験群に対し12時間ごとに皮下投与（ $0.05\text{mg/kg} \cdot \text{body weight}$ ）した。それにより、処置の翌日から固定を施した群でも対照群と比べて活動性に顕著な低下はみられなかった。また、固定期間中は毎日、経過観察を行い固定具の脱落や足部に浮腫が見られた場合は適宜に再固定を行った。

関節可動域測定 関節可動域の測定はOnoら¹³⁾の方法を一部改良して実施した。処置前と固定終了時に足関節を最大底屈させた状態と圧痛計（松宮医科精器製作所、手動式皮膚痛覚計）を用いて足底中央部から押圧（約 450mN ）し足関節を背屈させた状態とをそれぞれデジタルカメラ（Canon, IXY DIGITAL 70）で撮影した。その画像をパーソナルコンピュータに取り込み、画像分析ソフト（Scion Image ver.1.62）を用いて足関節の背屈可動域を算出した。

筋張力測定 2週間の固定期間終了後、全ての群に対してペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与（ $50\text{mg/kg} \cdot \text{body weight}$ ）し、深麻酔をかけて実験に供した。筋張力の測定は我々の以前の報告¹⁴⁾と同様の方法で実施し、被検筋として右後肢のヒラメ筋（soleus；SOL）を摘出した後、リング液で満たしたマグヌス管内で一端をクリップに、もう一端をアイソメトリックトランスデューサ（日本光電、TB-651T）に連結して固定した。管内の筋に対しプレート電極を介して電気刺激装置（日本光電、SEN-3301）から電気刺激（ 1ms ）の

Fig 2. Appearance of the fixation

The affected hindlimb was fixed by a dorsal splint with connections to distal femur(A), distal leg(B) and foot(C), then was protected by a cover socket made of wires.

矩形波)を与え、最大単収縮張力が得られる至適筋長に設定した。そして、基礎医学研究用システム(日本光電、LEG-1000)を用い、デジタルオシロスコープ上に映し出された単収縮曲線から単収縮張力(peak twitch force; PTF)、単収縮時間(contraction time; CT)、1/2弛緩時間(half relaxation time; HRT)を計測した。筋張力測定後に至適筋長と筋湿重量を測定し、その値からMendezら¹⁵⁾の式によって平均筋横断面積を求めて単位断面積あたりの単収縮張力を算出した。その後、摘出した筋を組織化学標本用と生化学標本用とに二分し、それぞれを液体窒素で冷却したイソペンタン中で急速凍結させた後、使用するまで-80℃の超低温フリーザー(SANYO, MDF-192)内にて保管した。

組織化学分析 組織化学標本からは、-20℃のクリオスタット(Leica, CM1850)にて10μm厚の連続横断切片を作製し、コハク酸脱水素酵素(succinate dehydrogenase; SDH)染色とアルカリ前処理(pH 10.4)を行ったミオシンアデノシン三リン酸分解酵素(myosin adenosinetriphosphatase; ミオシンATPase)染色を実施した。これら2種類の染色像を、光学顕微鏡(Nikon, ECLIPSE 80i)を用いてパーソナルコンピュータに取り込み、それらの画像をもとにSO(slow-twitch oxidative)線維、FOG(fast-twitch oxidative glycolytic)線維、FG(fast-twitch glycolytic)線維の3種類に分類した上で、画像解析ソフト(Scion Image ver.1.62)を用いて筋線維タイプ別横断面積を計測した。尚、ミオシンATPase染色像においてセントラルコア損傷(central core lesion; CCL)がみられた場合は、その本数率(200倍の倍率で撮影された顕微鏡写真内の全筋線維数に対するCCLがみられた筋線維数の割合)と面積率(CCLがみられた筋線維の横断面積に対するCCL部分が占める面積の割合)を求めた。また、同様にヘマトキシリン-エオジン(hematoxylin-eosin; HE)染色も実施した。

生化学分析 生化学標本からは、Doucetら¹⁶⁾の方法に基づいたドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動法(sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis; SDS-PAGE)を用いて、ミオシン重鎖(myosin heavy chain; MHC)を分離した。筋組織を14~25mgにトリミングしてからマイクロチューブ内でホモジナイズし40倍の抽出液を作製した。そして、それをインキュベーション溶液にて75倍に希釈したものを1レーンあたり7.5μl注入し、4℃で170Vの定電圧で48時間電気泳動を行った。電気泳動終了後に取り出されたゲル板に銀染色を施し、それぞれのバンド(MHC1, 2a, 2d, 2b)の濃度を画像解析ソフト(Scion Image ver.1.62)により計測した後、アイソフォーム構成比を

算出した。

統計学的処理 データはすべて平均値±標準偏差で表した。また、各群間の比較には一元配置分散分析を行った上で多重比較検定はTukey法を用い、危険率5%未満を以って有意とした。

結 果

関節可動域 各群における右足関節背屈可動域の変化をFig 3に示す。固定終了時ではその影響により有意に減少し、骨折を伴うとさらに有意に減少した。

筋湿重量 各群における体重に対する筋湿重量の割合をTable 1に示す。固定の影響により有意に減少し、骨折を伴うとさらに有意に減少した。

筋張力特性 各群における筋張力特性(単位断面積あたりのPTF, CT, HRT)をTable 2に示す。単位断面積あたりのPTFでは固定の影響により低下する傾向が見られ、骨折を伴うとさらに有意に低下した。また、CTは骨折を伴うと有意に短縮したが、HRTでは有意な変化がみられなかった。

Fig 3. Range of motion at the right ankle joint

Table 1. Body weight and index of muscle atrophy

	BW (g)	MW (mg)	MW to BW ratio
Con	300.9±20.0	116.4±8.0	0.39±0.02
NFr	213.6±20.8	52.4±11.1	0.25±0.07
Sh	225.9±6.8	57.3±8.2	0.25±0.03
Fr	236.5±3.3	37.2±5.3	0.16±0.02

*, P<0.05

Table 2. Muscle contractile properties

	PTF (g/cm ²)	CT (ms)	HRT (ms)
Con	131.0±19.8	82.3±9.4	92.7±7.9
NFr	115.1±32.4	85.7±5.8	96.6±3.6
Sh	112.8±47.6	91.7±8.6	102.8±6.4
Fr	21.3±6.1	66.0±5.7	101.3±9.2

*, P<0.05

筋形態特性 各群における筋線維タイプ別横断面積をFig 4に, CCL像とその発生率をFig 5, Table 3にそれぞれ示す.

筋線維タイプ別横断面積 固定の影響によりSO線維並びにFOG線維はともに有意に減少した. また, 骨折を伴うとSO線維ではさらに有意に減少したが, FOG線維では有意な変化がみられなかった. 尚, すべての群においてFG線維の存在は認められなかった.

CCL発生率 固定の影響により発生が認められ, 骨折を伴うとその本数率並びに面積率はともに有意に増加した.

MHCアイソフォーム構成 各群におけるMHCアイソフォームの分離像とその構成比をFig 6, Table 4にそれぞれ示す. 固定の影響によりMHC1の減少傾向と

Fig 4. Muscle fiber cross sectional area

Fig 5. CCL in alkali-preincubated myofibrillar ATPase staining

The CCL(arrows) indicated as a defocused area at the center of a muscle fiber appeared in the NFr group, and increased in the Fr group particularly.
scale bar=25μm

Table 3. Incidence of CCL (%)

	count ratio	area ratio
Con	0	0
NFr	15.3±4.7	14.5±3.1
Sh	15.8±8.2	15.4±3.8
Fr	29.8±19.7	30.8±13.3

*; P<0.05

MHC2dの有意な増加がみられた. また, 骨折を伴うとMHC1の有意な減少とMHC2aの増加傾向がみられた.

考 察

本実験モデルの妥当性 増田ら¹⁷⁾はラットの脛骨を人為的に骨折させ, その2週間後に単純X線像により骨折部を確認したところ, 明らかな仮骨形成が観察できたと報告している. 本研究では, 固定期間終了後にmicro CT(日立メディコ社, CBSTAR MCT-100CB)を用いて骨折部を確認したところ, 仮骨形成を認め, 且つ際立った骨の再転位もみられなかった. つまり, 今回用いた外固定は患部に適切な治癒過程を認めたことから妥当な方法であったと考えられる. また, すべての実験結果において外固定のみを行ったNFr群と偽手術と外固定を行ったSh群において有意な差が認められなかったことから, 外科手術においても周囲の骨格筋への侵襲を最小限に抑えた方法であったといえる.

関節可動域制限 Okitaら¹⁰⁾はラットの足関節を最大底屈位で2週間ギプス固定すると平均50.2°の可動域制限が認められたとし, 岡本ら¹⁸⁾も同様の実験において平均54.0°の可動域制限がみられたと報告している. 本研究において, NFr群では平均102.7°の可動域制限が確認できたが, この値は先行研究と比較するとかなり大きなものとなっていた. この原因としては, 固定材料が噛み切られるのを防ぐために装着したソケット状の金具の影響が考えられる. この金具を患側下肢全体に被せたことにより, 固定期間中の移動の際には足趾が床に接地せず, 患側肢にかかる体重負荷を金具で支えることになり, 結果的に免荷歩行の効果があつたものと推察される. 関節固定に後肢懸垂による免荷を加えたこれまでの研究では, 足関節の可動域制限が固定のみの時よりも著しく増大する(平均89.4°)ことが報告されており¹⁹⁾, 本研究

Fig 6. Separate phases of MHC isoforms by SDS-PAGE

Table 4. Relative ratio of MHC isoforms

	MHC1	MHC2a	MHC2d	MHC2b
Con	87.9±2.7	12.1±2.7	0	0
NFr	79.4±6.7	15.9±6.8	4.7±1.2	0
Sh	80.1±7.5	13.8±8.4	4.5±0.6	1.7±3.3
Fr	60.7±13.1	33.0±7.2	6.3±7.3	0

*; P<0.05

筋細胞壊死 CCLは、免荷や不動化に伴って筋細胞内の Ca^{2+} の濃度が上昇し、それによって活性化されたカルシウム活性プロテアーゼ（カルパイン）による筋原線維の破壊を示すもので²⁹⁾、その部分ではミオシンATPase活性が低下しているため、ミオシンATPase染

scale bar=25μm

積が変化することに影響を受けるとされる³⁷⁾ことから、SO線維の横断面積減少がslow type myosinの減少に関係しているものと考えられる。

次に、本研究における単位断面積あたりのPTFについて、Con群と比較するとNFr群では平均12.1%低下し、Fr群では平均83.7%の大幅な低下が認められた。このような収縮張力の低下には、筋線維横断面積の減少だけでなく、筋膜の肥厚や筋節構造の乱れなどその他の形態特性の変化も影響しているものと考えられるが、骨折を伴うことでその影響がより大きくなったものと推察できる。

また、固定に骨折の影響が加わるに従ってCTは短縮傾向を示したが、これには単位断面積あたりのPTFの低下による収縮時間の短縮やMHCの速筋化による収縮速度の増加が影響したものと考えられる。一方、HRTでは有意な変化がみられなかったことから、筋の弛緩時には収縮時とは異なる要素が関与しているのではないかと思われた。Thomら⁹⁾によると、骨格筋を不動化することで筋小胞体のCa²⁺ポンプ機能が低下するとされている。つまり、萎縮した筋ではカルパインの作用により筋小胞体の破壊が進むため、全体としてCa²⁺を取り込む能力が低下し、過収縮状態となって弛緩しにくくなっていると考えられる。よって、HRTは単位断面積あたりのPTFの低下やMHCの速筋化によりCTと同様に短縮するであろうと思われたが、この期待された短縮が筋小胞体の変性による弛緩過程の延長によって打ち消されたために、見かけ上の変化は現れなかったものと推察される。

今後の課題 近年、骨格筋の廃用性筋萎縮を進行させる様々な要因については研究が進み、徐々に解明されつつある。しかし、骨折による影響については依然として不明な点が多い。本研究からは骨折が不動化が惹き起こす要因を助長している可能性が示唆されたが、今後はその可能性を詳細に検討するため、さらに研究を進める必要があると考える。

参 考 文 献

- 1) 石井光昭: 関節拘縮, 理学療法ハンドブック 第1巻 理学療法の基礎と評価, 改訂第3版, 細田多穂, 柳澤 健, 東京: 協同医書出版社, 333-349, 2006.
- 2) Trudel G and Uthoff HK: Contractures secondary to immobility: Is the restriction articular or muscular? An experimental longitudinal study in the rat knee. *Arch Phys Med Rehabil* 81: 6-13, 2000.
- 3) Moriyama H, Yoshimura O, Sunahori H and Tobimatsu Y: Comparison of muscular and articular factors in the progression of contractures after spinal cord injury in rats. *Spinal Cord* 44: 174-181, 2006.
- 4) Fujita N, Fujimoto T, Tasaki H, Arakawa T, Matsumura T and Miki A: Influence of muscle length on muscle atrophy in the mouse tibialis anterior and soleus muscles. *Biomed Res* 30: 39-45, 2009.
- 5) Williams PE: Effect of intermittent stretch on immobilized muscle. *Ann Rheum Dis* 47: 1014-1016, 1988.
- 6) Gomes AR, Coutinho EL, Franca CN, Polonio J and Salvini TF: Effect of one stretch a week applied to the immobilized soleus muscle on rat muscle fiber morphology. *Braz J Med Biol Res*, 37: 1473-1480, 2004.
- 7) 沖田 実: 関節可動域制限の病態生理, 理学療法, 20: 603-611, 2003.
- 8) Zhong H, Roy RR, Siengthai B and Edgerton VR: Effects of inactivity on fiber size and myonuclear number in rat soleus muscle. *J Appl Physiol* 99: 1494-1499, 2005.
- 9) Thom JM, Thompson MW, Ruell PA, Bryant GJ, Fonda JS, Harmer AR, De Jonge XA and Hunter SK: Effect of 10-day cast immobilization on sarcoplasmic reticulum calcium regulation in humans. *Acta Physiol Scand* 172: 141-147, 2001.
- 10) Okita M, Yoshimura T, Nakano J, Motomura M and Eguchi K: Effects of reduced joint mobility on sarcomere length, collagen fibril arrangement in the endomysium, and hyaluronan in rat soleus muscle. *J Muscle Res Cell Motil* 25: 159-166, 2004.
- 11) 山本 綾, 古島泰子, 長谷川多美子, 肥田朋子: ラット足関節不動化による活動制限は痛みを促進する, 理学療法学 36: 305-311, 2009.
- 12) 窪田一史: 新生ラット鎮痛試験法—発痛物質誘発体動の定量—, 日本薬理学雑誌 115: 345-351, 2000.
- 13) Ono T, Miyoshi M, Oki S, Shimizu ME, Umei N, Shiraiwa K, Takemoto H, Shimatani K, Hasegawa M and Otsuka A: The effect of ROM exercise on rats with denervation and joint contracture. *J Phys Ther Sci* 21: 173-176, 2009.
- 14) 今北英高, 小野志操, 麦田盛穂, 峯松 亮, 西尾俊亮, 西川彰, 宮田浩文: ラット横隔膜における機能特性および形態特性の加齢変化, 総合リハビリテーション 38: 865-871, 2010.
- 15) Mendez A and Keys A: Density and composition of mammalian muscle. *Metabol* 9: 184-188, 1960.
- 16) Doucet JP and Trifaro JM: A discontinuous and highly porous sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide slab gel system of high resolution. *Anal Biochem* 168: 265-271, 1988.
- 17) 増田雅保, 田口大輔, 竹内義享: 骨折におけるX線像と超音波観察の比較, 柔道整復接骨医学 16: 163-166, 2008.
- 18) 岡本眞須美, 沖田 実, 加須屋茜, 中野治郎, 欽塚幸子, 西田まどか, 友利幸之介, 吉村俊朗: 不動期間の延長に伴うラット足関節可動域の制限因子の変化—軟部組織(皮膚・筋)と関節構成体由来の制限因子について—, 理学療法学 31: 36-42, 2004.
- 19) 西田まどか, 沖田 実, 福田幸子, 岡本眞須美, 中野治郎, 友利幸之助, 吉村俊朗: 持続的伸張運動と間歇的伸張運動が拘縮と筋線維に及ぼす影響—関節固定法と後肢懸垂法を組み合わせたラットの実験モデルによる検討—, 理学療法学 31: 304-311, 2004.

- 20) Williams PE and Goldspink G: Connective tissue changes in immobilized muscle. *J Anat* 138: 343-350, 1984.
- 21) Goldspink DF: The influence of immobilization and stretch on protein turnover of rat skeletal muscle. *J Physiol* 264: 267-282, 1977.
- 22) Shephard RJ: Cytokine responses to physical activity, with particular reference to IL-6: sources, actions, and clinical implications. *Crit Rev Immunol* 22: 165-182, 2002.
- 23) Coletti D, Moresi V, Adamo S, Molinaro M and Sassoon D: Tumor necrosis factor- α gene transfer induces cachexia and inhibits muscle regeneration. *Genesis* 43: 120-128, 2005.
- 24) Yamada S, Buffinger N, DiMario J and Strohman RC: Fibroblast growth factor is stored in fiber extracellular matrix and plays a role in regulating muscle hypertrophy. *Med Sci Sports Exerc* 5: 173-180, 1989.
- 25) Loughna PT, Mason P and Bates PC: Regulation of insulin-like growth factor 1 gene expression in skeletal muscle. *Symp Soc Exp Biol* 46: 319-330, 1992.
- 26) 宮井崇宏, 荒井千明, 玉澤 学, 奈須純一, 富永徳子, 小俣和彦, 宮坂孝弘, 松野智宣, 佐藤田鶴子: 実験的マウス骨折モデルにおける血中サイトカインの変化に関する検討, 歯薬療法 26: 9-13, 2007.
- 27) Fujino H, Kohzuki H, Takeda I, Kiyooka T, Miyasaka T, Mohri S, Shimizu J and Kajiya F: Regression of capillary network in atrophied soleus muscle induced by hindlimb unweighting. *J Appl Physiol* 98: 1407-1413, 2005.
- 28) 藤野英己, 上月久治, 武田 功, 笹井宣昌, 村上慎一郎, 村田 伸, 石井禎基, 松永秀俊, 石原昭彦, 梶谷文彦: 廃用性萎縮筋における毛細血管リモデリングと血管増殖因子の抑制, 理学療法科学 23: 203-208, 2008.
- 29) Riley DA, Slocum GR, Bain JL, Sedlak FR, Sowa TE and Mellender JW: Rat hindlimb unloading: soleus histochemistry, ultrastructure, and electromyography. *J Appl Physiol* 69: 58-66, 1990.
- 30) Baewer DV, Hoffman M, Romatowski JG, Bain JL, Fitts RH and Riley DA: Passive stretch inhibits central corelike lesion formation in the soleus muscles of hindlimb-suspended unloaded rats. *J Appl Physiol* 97: 930-934, 2004.
- 31) Murakami T, Hijikata T and Yorifuji H: Staging of disuse atrophy of skeletal muscles on immunofluorescence microscopy. *Anat Sci Int* 83: 68-76, 2008.
- 32) Eash J, Olsen A, Breur G, Gerrard D and Hannon K: FGFR1 inhibits skeletal muscle atrophy associated with hindlimb suspension. *BMC Musculoskelet Disord* 8: 2007.
- 33) Litvinova KS, Tarakin PP, Fokina NM, Istomina VE, Larina IM and Shenkman BS: Reloading of rat soleus after hindlimb unloading and serum insulin-like growth factor 1. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova* 93: 1143-1155, 2007.
- 34) Hirose T, Nakazato K, Song H and Ishii N: TGF- β_1 and TNF- α are involved in the transcription of type I collagen α_2 gene in soleus muscle atrophied by mechanical unloading. *J Appl Physiol* 104: 170-177, 2008.
- 35) Naito H, Powers SK, Demirel HA, Sugiura T, Dodd SL and Aoki J: Heat stress attenuates skeletal muscle atrophy in hindlimb-unweighted rats. *J Appl Physiol* 88: 359-363, 2000.
- 36) Pette D and Staron RS: Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem Cell Biol* 115: 359-372, 2001.
- 37) 山内秀樹, 刈谷文彦, 田端淳一, 宮野佐年: 成熟ラット速筋の形態ならびにミオシン重鎖分子種組成に及ぼす長期非荷重の影響, 日本生理学会 64: 147-151, 2002.