

筋細胞レベルでの
筋線維組成が stretch-shortening cycle による
パフォーマンス増強に与える影響の解明

立命館大学 福谷 充輝

**Influence of Fiber Type on the Enhanced Performance
by Stretch-Shortening Cycle in Single Muscle Fibers**

by

Atsuki Fukutani
*Faculty of Sport and Health Science,
Ritsumeikan University*

ABSTRACT

Physical performance is enhanced by counter movement. This phenomenon is called stretch-shortening cycle effect (SSC effect). Recently, elasticity of attached cross bridges and residual force enhancement (RFE) have been suggested as possible mechanisms. This study examined the contribution of these factors by comparing the SSC effect attained in fast and slow twitch fibers. Rabbit psoas (fast) and soleus (slow) were harvested, and single muscle fibers were isolated. In the SSC trial, fibers were isometrically activated at an average sarcomere length of 2.4 μm , and stretched to 3.0 μm within 2 seconds. Immediately after the end of stretch, the fibers were shortened to 2.4 μm within 2 seconds. In the control trial, fibers were isometrically activated at an average sarcomere length of 3.0 μm , and shortened to 2.4 μm in 2 seconds. Mechanical work attained during the shortening phase was calculated, and relative increase in mechanical work between SSC and control trials was adopted as the index for the SSC effect. In addition, RFE and control trials were conducted. In

the RFE trial, the fibers were isometrically activated at an average sarcomere length of 2.4 μm , and then stretched to 3.0 μm within 2 seconds. After the end of stretch, fiber length was kept constant for 15 seconds. In the control trial, fibers were isometrically activated at an average sarcomere length of 3.0 μm . This state was maintained for 15 seconds. The isometric force of the RFE and control trials 15 seconds after the end of stretch was compared to confirm whether RFE was induced. SSC effect was significantly larger in the soleus than in the psoas, but the magnitude of RFE was not different between the muscles. These results suggest that the observed difference in the SSC effect between the muscles was not caused by RFE, but by the elasticity of the attached cross bridges.

要 旨

主動作の前に反動として伸張性収縮を行うと (stretch-shortening cycle:SSC), 主動作のパフォーマンスが増強する (SSC 効果). SSC 効果を生じさせる要因としてクロスブリッジおよびタイチンの弾性が提唱されている. 本研究では, クロスブリッジ動態およびタイチンの形状が異なる速筋線維および遅筋線維を対象に SSC を行い, SSC のメカニズムを検証した. 大腰筋 (速筋線維) とヒラメ筋 (遅筋線維) の単一筋細胞を対象に, 伸張性収縮の後に短縮性収縮を行う SSC 試行, 等尺性収縮の後に短縮性収縮を行う Control 試行を行った. また, タイチンの弾性が SSC 効果に与える影響を検証するため, 伸張性収縮の後に等尺性収縮を行う residual force enhancement 試行, 等尺性収縮のみを行う Control 試行を実施した. その結果, SSC 効果はヒラメ筋にて大きかった. 一方, タイチンの弾性に関連している RFE は筋間に差はなかった. したがって, 筋線維タイプ間でみられた SSC 効果の違いは, タイチンではなくクロスブリッジの弾性によるものだと考えられる.

緒 言

反動動作 (stretch-shortening cycle) を利用することで, 運動パフォーマンスが増強する (SSC 効果)^{1,2)}. SSC 効果は, アスリートのパフォーマンス向上だけでなく, 効率的な日常生活動作を行う上でも極めて重要な要素である.

近年, 反動効果が生じるメカニズムの一つとして, 筋線維に蓄積された弾性エネルギー (クロスブリッジ, もしくは, タイチンに由来) が SSC 効果に貢献していることが提唱されている^{3,4)}. クロスブリッジに関して, 伸張性収縮中にアクチンと結合したクロスブリッジが引き伸ばされ, このクロスブリッジに蓄積した弾性エネルギーがその後の短縮性収縮中に放出され, 機械的仕事が増大する可能性がある^{3,4)}. 一方, タイチンに関して, 伸張性収縮によって一時的にタイチンの弾性係数が増大し, タイチンによる受動張力が増大する residual force enhancement (RFE) という現象が存在し⁵⁾, この RFE も SSC 効果に貢献している可能性がある^{3,4)}.

これらの知見を踏まえ, 筋線維組成と反動効果との関係に着目した. なぜならば, 反動効果のメカニズムの一つとして考えられるクロスブリッジの弾性は, 遅筋線維において効果的に利用される

と考えられるからである。具体的には、速筋線維はクロスブリッジの回転が速く短時間でアクチンから解離してしまうため⁶⁾、弾性エネルギーが蓄積されてもすぐに消失してしまうが、遅筋線維はクロスブリッジの回転が遅くアクチンから解離するまでの時間が長いから、蓄積された弾性エネルギーが長時間、有効に活用されると考えられる。さらに、タイチンに蓄積された弾性エネルギー (RFE) についても、タイチンは速筋線維において短く、遅筋線維において長いという筋線維間差が存在し⁷⁾、ある一定の長さで筋を伸長させた時には速筋線維においてより大きな弾性エネルギーが蓄積されると考えられる。つまり、RFE の程度も速筋線維にて大きい可能性がある。そこで本研究は、速筋線維と遅筋線維における SSC 効果の比較を通じて、クロスブリッジおよびタイチン (RFE) の SSC との関係を検証することを目的とした。仮に SSC 効果が速筋線維にて大きければ、タイチンの弾性が SSC 効果に強く貢献していることを示し、一方で SSC 効果が遅筋にて大きければ、クロスブリッジの弾性が SSC 効果に強く貢献していると考えられる。

1. 研究方法

1.1 対象

本研究は、速筋線維と遅筋線維間の比較のため、ウサギの大腰筋 (N=15) (速筋線維比率が 100%⁷⁾) およびヒラメ筋 (N=14) (遅筋線維の比率が 91.8%⁷⁾) を実験対象とした。実験開始に先立ち、立命館大学びわこ・くさつキャンパス動物実験委員会の承認 (BKC2017-037) およびカルガリー大学の Life Sciences animal ethics committee の承認 (AC16-0013) を得た。

1.2 実験セットアップ

ウサギを安楽死させた後に、大腰筋とヒラメ筋を抽出し、グリセロールを 50% 含んだ水溶液

の中に浸し、-20 度で 2 週間から 4 週間保管することで、結合組織を分解した。実験当日に、実体顕微鏡下 (SMZ1500, ニコン) で単一の筋線維を抽出し、筋力計 (Model400A, Aurora) およびモーター (Model308B, Aurora) に固定した。それらを単一の筋線維 (筋細胞) に分離させ、筋線維を筋力計およびモーターに取り付けた。その後、サルコメアの長さをレーザー回折法にて計測し (1508P-1, JDSU), 安静時のサルコメアの長さを、大腰筋、ヒラメ筋ともに 2.4 μm にセットした。実験時の温度は、21.0 \pm 0.3 度であった。

1.3 実験試行

実験試行は、大腰筋群、ヒラメ筋群で同一とした。実験は、SSC 試行と Control 試行を行う実験 1 と、RFE 試行と Control 試行を行う実験 2 の 2 つとした。実験 1 を実施した後に、実験 2 を行った。

実験 1 の概要を図 1 に示す。SSC 試行においては、平均サルコメア長が 2.4 μm になるように筋線維の長さを調節し、カルシウムを含んだ水溶液を加えることで筋収縮 (等尺性収縮) を誘発した。筋力が定常状態に達した後、平均サルコメア長が 3 μm になるまで筋線維を 2 秒間伸長し (伸張性収縮), その直後に平均サルコメア長が 2.4 μm

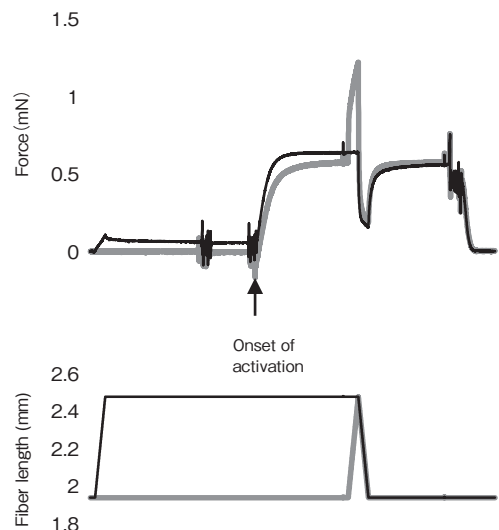


図1 実験1の筋力, 筋線維長変化の典型図

m になるように筋線維を 2 秒間短縮させた。短縮終了 15 秒後にカルシウムを含まない水溶液に切り替えることで筋収縮を終えた。Control 試行においては、平均サルコメア長が $3.0\ \mu\text{m}$ になるように筋線維の長さを調節した後に筋収縮（等尺性収縮）を誘発した。筋力が定常状態に達した後、平均サルコメア長が $2.4\ \mu\text{m}$ になるように筋線維を 2 秒間短縮させ、短縮終了 15 秒後にカルシウムを含まない水溶液に切り替えることで筋収縮を終えた。SSC 試行および Control 試行の順番はランダムとし、試行間には 2 分間以上の休息を挟んだ。

実験 2 の概要図を図 2 に示す。RFE 試行においては、平均サルコメア長が $2.4\ \mu\text{m}$ になるように筋線維の長さを調節し、カルシウムを含んだ水溶液を加えることで筋収縮（等尺性収縮）を誘発した。筋力が定常状態に達した後、平均サルコメア長が $3\ \mu\text{m}$ になるまで筋線維を 2 秒間伸長し（伸張性収縮）、その状態を 15 秒間維持させた。15 秒後にカルシウムを含まない水溶液に切り替えることで筋収縮を終え、受動的に平均サルコメア長が $2.4\ \mu\text{m}$ になるように筋線維を短縮させた。Control 試行においては、平均サルコメア長が $3.0\ \mu\text{m}$ になるように筋線維の長さを調節した後に筋

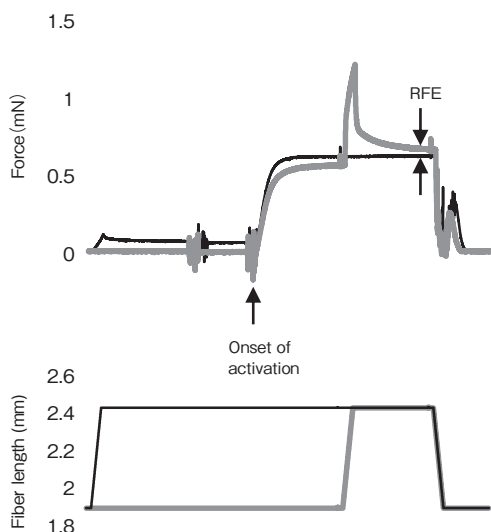


図2 実験2の筋力、筋線維長変化の典型図

収縮（等尺性収縮）を誘発した。その後、RFE 試行と同一の時間、筋収縮を維持させた。RFE 試行および Control 試行の順番はランダムとし、試行間には 2 分間以上の休息を挟んだ。

1. 4 分析項目

実験 1 においては、SSC 効果の指標として短縮性収縮中の機械的仕事を算出し、これを SSC 試行と Control 試行とで比較することで SSC 効果を算出し、その変化率を大腰筋群とヒラメ筋群で比較した。加えて、SSC における shortening 終了時の筋力、shortening 終了 15 秒後の筋力を SSC 試行および Control 試行間で比較し、その変化率を大腰筋群とヒラメ筋群で比較した。実験 2 では、筋の伸長が終了した 15 秒後の筋力を RFE 試行、および Control 試行間で比較することによって RFE が生じたかを確認し、その程度を大腰筋群とヒラメ筋群で比較した。

1. 5 統計解析

統計解析は、同一筋線維内の試行間比較には対応のある t 検定を、大腰筋群、ヒラメ筋群間の比較には対応のない t 検定を用いた。有意水準は $\alpha < 0.05$ とした。統計解析は SPSS バージョン 20 (SPSS, IBM) を用いて実施した。

2. 研究結果

2. 1 実験 1

大腰筋群およびヒラメ筋群において、明確な SSC 効果が観察された（大腰筋群： $188.0 \pm 27.8\%$ 、ヒラメ筋群： $208.5 \pm 6.3\%$ ）。SSC 効果の程度は、ヒラメ筋群において有意に大きかった ($p = 0.012$) (図 3)。

shortening 局面終了時における筋力は、大腰筋群、ヒラメ筋群いずれにおいても、SSC 試行は Control 試行よりも有意に大きかった (表 1 上図)。SSC 条件における筋力増大の程度は、大腰筋群、

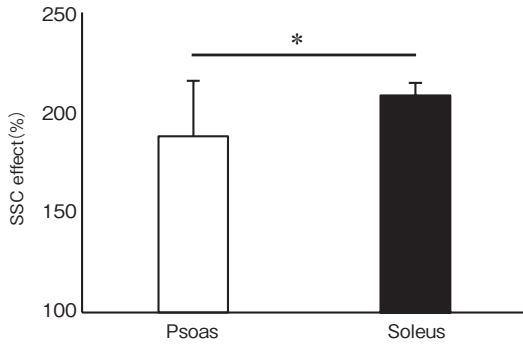


図3 SSC効果の筋間比較

表1 実験1のshortening終了時の筋力と、shortening終了15秒後(RFE算出時)の筋力(単位はmN)

	End of shortening	
	Psoas	Soleus
SSC	0.19±0.07	0.13±0.06
Control	0.16±0.06	0.11±0.06
p value	<0.001	<0.001

	RFE	
	Psoas	Soleus
SSC	0.35±0.14	0.44±0.16
Control	0.35±0.14	0.44±0.16
p value	=0.69	=0.63

ヒラメ筋群の間に有意な差はみられなかった (p = 0.962) (図4).

Shortening 終了15秒後における筋力は、大腰筋群ヒラメ筋群いずれにおいても、SSC 試行と Control 試行との間に有意差はみられなかった (表1下図). 同様に、SSC 条件における筋力増大の程度は、大腰筋群、ヒラメ筋群の間に有意差はみられなかった (p = 0.739) (図5).

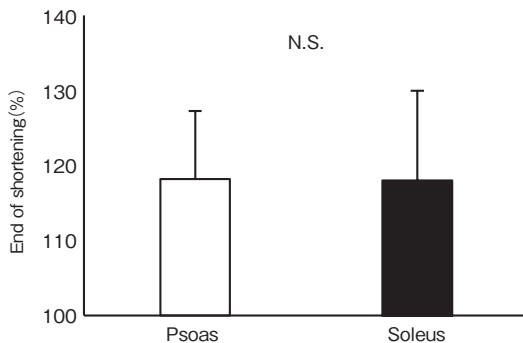


図4 shortening終了時における筋力増大率の筋間比較

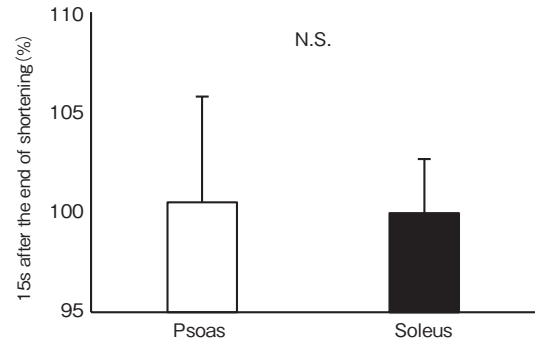


図5 shortening終了15秒後における筋力増大率の筋間比較

2. 2 実験2

stretch 終了15秒後における筋力は、大腰筋群、ヒラメ筋群いずれも、RFE 試行は Control 試行と比較して、有意に大きかった (表2). すなわち、両筋群において RFE が生じていた. 一方、RFE の程度は、大腰筋群、ヒラメ筋群の間に有意差はみられなかった (p = 0.486) (図6).

3. 考 察

本研究では、SSC 効果のメカニズムと考えられるクロスブリッジの弾性、およびタイチンの弾性 (RFE) について検証すべく、速筋線維である大腰筋、遅筋線維であるヒラメ筋を対象とし、

表2 実験2のstretch終了15秒後(RFE算出時)の筋力(単位はmN)

	Psoas	Soleus
RFE	0.56±0.12	0.54±0.14
Control	0.54±0.11	0.51±0.14
p value	0.02	<0.001

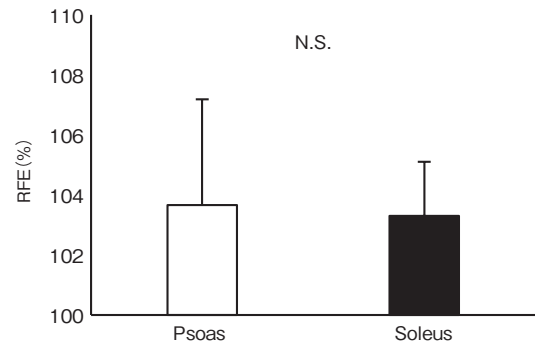


図6 RFEの筋間比較

SSC 試行, および RFE 試行を行った. その結果, 大腰筋およびヒラメ筋において明確な短縮性収縮局面の機械的仕事の増大, すなわち SSC 効果が確認された. この SSC 効果の程度は, ヒラメ筋にて大きいことが確認された. また, RFE 試行においては, 大腰筋およびヒラメ筋ともに RFE が確認されたが, その程度は大腰筋およびヒラメ筋間に差は認められなかった.

近年の研究によって, SSC 効果が生じるメカニズムとしてクロスブリッジの弾性, タイチンの弾性 (RFE) が提唱されている^{3,4)}. SSC における伸張性収縮局面においてクロスブリッジが引き伸ばされると, クロスブリッジに弾性エネルギーが蓄積し, この弾性エネルギーを, SSC における短縮性収縮中に利用することで, 短縮性収縮時の機械的仕事が増大する可能性がある^{3,4)}. しかしながら, クロスブリッジに蓄積した弾性エネルギーは, クロスブリッジがアクチンから離れるときに熱となって離散される可能性が高いため, クロスブリッジが短時間で解離する速筋線維においてはその恩恵が小さく, 解離が遅い遅筋線維においては効果が大きくなる可能性がある. この点に着目し, 速筋線維である大腰筋と遅筋線維であるヒラメ筋において SSC 効果を比較すると, ヒラメ筋において SSC 効果が有意に大きかった. この結果は, クロスブリッジの弾性が SSC 効果に貢献しているというコンセプトと合致するものである.

クロスブリッジの弾性に加えて, タイチンの弾性 (RFE) も SSC 効果に貢献している可能性がある. 近年, 伸張性収縮を行うと, 一時的にタイチンの弾性係数が増大し, 一定の筋伸長によってタイチンに蓄積する弾性エネルギーが増大することが示唆された⁵⁾. このタイチンに蓄積した弾性エネルギーも SSC 効果に貢献している可能性があることが近年の研究によって示唆されている^{8,9)}. タイチンの弾性によって生じる受動張力はタ

イチンの長さに関連し, タイチンが短い速筋線維において受動張力は大きく, タイチンが長い遅筋線維においては受動張力が小さいことが知られているため¹⁰⁾, タイチンの弾性増大による効果 (RFE) は, 速筋線維において大きい可能性がある. この仮説を確認するため, 速筋線維である大腰筋, 遅筋線維であるヒラメ筋において, タイチンの弾性増大による効果 (RFE) を比較した. その結果, RFE の効果は速筋線維と遅筋線維の間に差は認められなかった. そのため, 筋線維タイプ間に存在するタイチンのアイソフォームの違いは RFE に影響を及ぼすほどのものではないと考えられる. この結果を踏まえると, 本研究における大腰筋群とヒラメ筋群には同程度の RFE 効果が含まれていると考えられるため, 本研究で観察された両筋群間の SSC 効果の違いは RFE 以外の要因, すなわちクロスブリッジによるものだと考えられる.

実験 1 の SSC 試行においては, 伸張性収縮を含まない Control 条件と比較し, shortening 終了 15 秒後の筋力は有意差がなく, 実験 2 でみられるような筋力増大は確認されなかった. 実験 1 と実験 2 では, 全く同一の伸張性収縮 (筋線維長の 25%, 2 秒間) が含まれているため, 実験 1 の伸張性収縮後には RFE が生じていたが, この効果は shortening 終了 15 秒後までに消失したと考えるのが妥当である. この RFE が消失した理由として, 伸張性収縮の後に行った短縮性収縮の影響が考えられる. 先行研究によると, shortening を行うと, RFE の効果を打ち消す働きをする force depression という現象が生じること¹¹⁾, また, shortening という機械的刺激が RFE そのものを減弱させる効果があること¹²⁾ が明らかになっている. 加えて, 本研究では, 短縮性収縮終了時の平均サルコメア長を $2.4 \mu\text{m}$ に設定しており, RFE の効果は力 - 長さ関係における下行脚 ($2.4 \mu\text{m}$ 以上) において顕著になることが分かっているため

^{13, 14)}, RFE の効果が小さくなってしまっている可能性がある。事実, SSC を行った後の RFE 効果は, 筋線維長が短い時には RFE 効果が消失したが, 筋線維長が長いと RFE 効果が残存したというデータも存在する¹⁵⁾。そのため, SSC 効果における RFE の貢献は, 筋線維が上行脚, もしくは下行脚のどちらで行われるかで異なる可能性がある。この点を実験的に検証する必要がある。

本研究においては, shortening 終了 15 秒後において RFE 効果が消失していたが, shortening 終了時の筋力は, SSC 試行は Control 試行よりも大きかった。先行研究においては, shortening 終了時の筋力増大を, RFE 効果によって説明しているが⁹⁾, 本研究結果から明らかなように, shortening 終了時の筋力増大は shortening 終了 15 秒後の筋力増大 (RFE) で説明することは出来ない。この shortening 終了時の筋力増大は, 伸張性収縮時に引き伸ばされたクロスブリッジの弾性エネルギーによるものなのか, もしくはそれ以外の要因によるものなのかは現状では説明することが出来ないため, この点も将来的に検証する必要がある。

4. まとめ

本研究では, 速筋線維である大腰筋, 遅筋線維であるヒラメ筋を対象に, SSC 効果の程度を比較した。その結果, 遅筋線維において大きな SSC 効果が認められた。単一の筋細胞を対象とした本実験系では, SSC 効果はクロスブリッジの弾性エネルギーと, タイチンの弾性エネルギーが SSC 効果を生じさせる要因として考えられる。タイチンの弾性エネルギーで説明される RFE に関しては, 大腰筋群とヒラメ筋群で差はみられなかったため, 本研究で観察された SSC 効果の筋線維タイプ間差は, クロスブリッジの弾性エネルギーによるものと考えられる。遅筋線維はクロスブリッジの結合・解離サイクルが遅いため, より

長い時間アクチンに結合した状態を保つことが出来ると考えられ, クロスブリッジに蓄積した弾性エネルギーの効果がより長く持続する可能性がある。しかしながら本研究ではクロスブリッジの動態を直接的に捉えているわけではないため, SSC 中のクロスブリッジ動態の実測が今後の課題として挙げられる

謝 辞

本研究に対してご助成賜りました公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に厚く御礼申し上げます。また, 本研究を遂行するにあたり, カルガリー大学の Walter Herzog 教授には, 実験計画の立案からデータの解釈に関して多くのアドバイスをいただきました。ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) Cavagna G.A., Dusman B., Margaria R., Positive work done by a previously stretched muscle, *J. Appl. Physiol.*, 24:21-32(1968)
- 2) Bosco C., Ito A., Komi P.V., Luhtanen P., Rakkila P., Rusko H., Viitasalo J.T., Neuromuscular function and mechanical efficiency of human leg extensor muscles during jumping exercises, *Acta. Physiol. Scand.*, 114:543-50(1982)
- 3) Fukutani A., Joumaa V., Herzog W., Influence of residual force enhancement and elongation of attached cross-bridges on stretch-shortening cycle in skinned muscle fibers, *Physiol. Rep.*, 5(22). pii: e13477. doi: 10.14814/phy2.13477 (2017)
- 4) Fukutani A., Misaki J., Isaka T., Both the elongation of attached crossbridges and residual force enhancement contribute to joint torque enhancement by the stretch-shortening cycle, *R. Soc. Open Sci.*, 4 (2):161036. doi: 10.1098/rsos.161036. 2017
- 5) Leonard T.R., DuVall M., Herzog W., Force enhancement following stretch in a single sarcomere, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 299(6):C1398-401. doi: 10.1152/ajpcell.00222.2010(2010)
- 6) Capitanio M., Canepari M., Cacciafesta P., Lombardi V., Cicchi R., Maffei M., Pavone F.S., Bottinelli

- R., Two independent mechanical events in the interaction cycle of skeletal muscle myosin with actin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **103**(1):87-92 (2006)
- 7) Prado L.G., Makarenko I., Andresen C., Krüger M., Opitz C.A., Linke W.A., Isoform diversity of giant proteins in relation to passive and active contractile properties of rabbit skeletal muscles, *J. Gen. Physiol.*, **126**(5):461-80(2005)
 - 8) Hahn D., Riedel T.N., Residual force enhancement contributes to increased performance during stretch-shortening cycles of human plantar flexor muscles in vivo, *J. Biomech.*, **77**:190-193. doi:10.1016/j.jbiomech.2018.06.003(2018)
 - 9) Fortuna R., Kirchhübel H., Seiberl W., Power G.A., Herzog W., Force depression following a stretch-shortening cycle is independent of stretch peak force and work performed during shortening, **8**(1):1534. doi: 10.1038/s41598-018-19657-8(2018)
 - 10) Neagoe C., Opitz C.A., Makarenko I., Linke W.A., Gigantic variety: expression patterns of titin isoforms in striated muscles and consequences for myofibrillar passive stiffness, *J. Muscle Res. Cell Motil.*, **24**(2-3):175-89(2003)
 - 11) Marechal G., Plaghki L., The deficit of the isometric tetanic tension redeveloped after a release of frog muscle at a constant velocity, *J. Gen. Physiol.*, **73**(4):453-67(1979)
 - 12) Fukutani A., Herzog W., Residual Force Enhancement Is Attenuated in a Shortening Magnitude-dependent Manner, *Med. Sci. Sports Exerc.*, **50**(10):2007-2014. doi: 10.1249/MSS.0000000000001670(2018)
 - 13) Julian F.J., Morgan D.L., The effect on tension of non-uniform distribution of length changes applied to frog muscle fibres, *J. Physiol.*, **293**:379-92(1979)
 - 14) Morgan D.L., Whitehead N.P., Wise A.K., Gregory J.E., Proske U., Tension changes in the cat soleus muscle following slow stretch or shortening of the contracting muscle, *J. Physiol.*, **522**(Pt 3): 503-13 (2000)
 - 15) Ettema G.J., van Soest A.J., Huijting P.A., The role of series elastic structures in prestretch-induced work enhancement during isotonic and isokinetic contractions, *J. Exp. Biol.*, **154**:121-36(1990)