九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

ジャンプ・トレーニングがラット骨格筋線維におよぼす影響の組織化学的研究

勝田, 茂
Institute of Health Science Kyushu University

https://doi.org/10.15017/325

出版情報：健康科学. 1, pp.27-34, 1979-03-30. 九州大学健康科学センター
バージョン：
権利関係：

ジャンプ・トレーニングがラット骨格筋線維におよぼす影響の組織化学的研究

勝　田　　茂*

Histochemical Study on the Effect of Jump Training upon the Skeletal Muscle Fibers in Rats

Shigeru KATSUTA*

The present study was carried out to examine the histochemical adaptations of the skeletal muscle fibers induced by standing high jump training. Twenty-one Wistar-strain male albino rats were used, of which ten were used for the jump training group and the remainings were as controls (non exercised group). After training for eight weeks, animals were sacrificed, and their soleus and plantaris muscles were excised. Transverse sections from the midportion of the muscle were stained for alpha-glycerophosphate dehydrogenase, and those serial sections were prepared for the examination with a light microscope.

As the results, there were no significant differences between the jump trained and the control rats as compared with following parameters, changes in muscle weight per body weight, rate of various types of muscle fiber number and comparison of muscle fiber diameter.

In the view of the fact that the jump training did not cause the significant hypertrophy of muscle fibers, it suggest that more long-term training program and higher intensity of load are necessary to clarify the training effect in tissue level.

(Journal of Health Science 1; 27～33, 1979)

緒　言

骨格筋線維は与えられるトレーニングの種類および質や量の相違によって，いろいろと異なった適応を示すことが知られている。

Petow ら[12] はラットにトレッドミル走を行わせて，高いスピードのランニングでは筋肥大が起こるが，低いスピードでは影響を与えないと報告し，運動による外因性の刺激としては，運動の強度が重要であることを示して，トレーニングにおける，いわゆるオーバーロードの原則を定量的に証明した。負荷重量を徐々に増大させて行くような筋力トレーニング形式の運動は，そのような意味では，筋肥大を起こさせるために効果的であると考えられ，Goldspink[3] はマウスを用いた動的筋トレーニングによって，また菊地[8]，勝田[6] 等はラットを用いた静的筋トレーニングによって，筋線維に肥大が起こることを報告している。

しかし，これまでジャンプのようなパワーの向上をねらいとしたトレーニングについて，筋組織の面から，その影響を検討した報告はまだ行われていない。これには技術的に，トレーニングの実施と筋組織という2つの問題があり，これをヒトで行おうとすれば，トレーニングは簡単にできるが，現在のわが国の状況では，バイオプシー法が十分に普及していないので，筋組織を得にくい。また動物では，組織は比較的簡単に採取できるが，トレーニングのさせ方が難しい，ということで一長一短である。

本研究ではラットにジャンプ・トレーニングをさせて，それが筋組織にどのような影響を及ぼすかについて，組織化学的に検討することをねらいとしている。

* Institute of Health Science, Kyushu University.
Roppon-matsu, Fukuoka 810, Japan.

実 験 方 法

1. 実験対象およびトレーニング法

本実験にはウィスター系の雄ラット21匹を用い，これを2群に分けて，10匹をジャンプ・トレーニング群，残り11匹をコントロール群（非トレーニング群）とした。

ジャンプ・トレーニングは藤原[2]の考案による小動物用の跳躍テスト装置に，一部改良を加えたものを試作し，これによって実施した。Fig.1.は本装置の概略図面であり，右側が正面図，左側が側面図である。ラットはAへ入れられた後，C→Dのように，Bの障害物を飛び越して，Eの出口から外へ出るよう訓練させた。訓練は電気刺激と音による条件づけを行なった後，音刺激によって行なった。最初は障害物を置かずに，Aの小さい仕切りに入れられたラットは，電気および音刺激によって，Eの出口へ走り抜けることから学習を始め，徐々に低い障害物から飛び越えてEへ行くように仕向けた。

ラットは生後6週目から飼育を開始し，生後7週目から，週6日間，8週間のトレーニングを行わせた。各週毎のトレーニング量は Tab. 1. に示す通りであるが，障害物の高さは 10cm から 25cm まで（一部30cm）5cm 刻みとし，1 set は10回のくりかえしとして，2 set 行なう場合には，各 set 間に15〜20分の休憩をとった。

Tab. 1. Jump training program

Aft.Birth(Week)	Tr.(Week)	Load(Ht×Set)
6	0	———
7	1	10-20cm×1
8	2	20cm ×2
9	3	20-25cm×2
10	4	25-30cm×2
11	5	25cm ×2
12	6	
13	7	
14	8	

飼育環境は室温24°C，湿度50〜60%に常時維持された。餌と水は自由に摂取できるようにして，1つのケージに数匹づつ，コントロール群とトレーニング群をミックスして同居飼育した。

2. 組織化学的方法および試料作成

トレーニング終了後，2〜3日安静状態に置いた後，M. soleus および M. plantaris を摘出し秤量した。その後，筋腹の部分を数mmの厚さに横断し，液体窒素で冷却したイソペンタン中で凍結，クリオスタットによって，厚さ10 μmの切片を作成した。この切片は室温で約30分間乾燥の後，染色を施した。組織化学的証明は，与えたトレーニングの性質からみて，解糖能力の異なる線維が，どのような変化を示すかを検討するために，α-glycerophosphate dehydrogenase（グリセロ燐酸脱水素酵素）の染色を行なった。これは Wattenberg ら[18]の方法に，一部変法を加えたものであり，次のような手順によった。

染色液

4.0 mg　Menadion
10.0 mg　Nitroblue Tetrazolium
30.0 mg　Alpha Glycerophosphate
10.0 ml　Tris Buffer (0.05 M, pH.7.4)

切片を染色液に浸し，37°C で 45 分間インキュベイトする。水洗，封入の後，光学顕微鏡写真撮影を行なった。

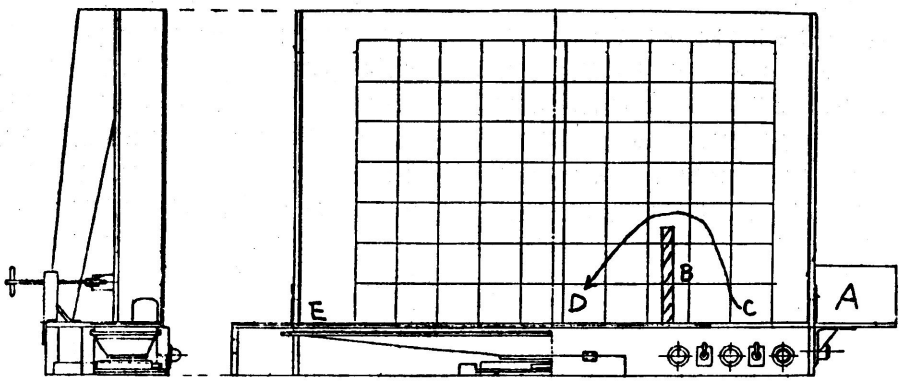

Fig. 1. Device for jump training, front view (right) and side view (left).

3. 写真資料の解析

光学顕微鏡写真は，原倍率26倍および130倍の2通りの撮影を行ない，前者からは主として線維構成比を，後者は300倍に引伸ばされた後，面積算定に供された。面積の算定には，自動面積積算装置（林電工製AAM－7型）を用い，コントロール群，トレーニング群別に，高い解糖能力を有する線維（High Glycolytic Fibers：H.G.線維），低い解糖能力を有する線維（Low Glycolytic Fibers：L.G.線維）とに分類整理した。

実験成績

Tab. 2. はトレーニングの全期間を通じて，各週末ごとの両群の体重の変化を示す。トレーニング開始時(生後7週)の体重は，コントロール群135±6.7g，トレーニング群133±7.7gで，両群間には差は認められなかったが，トレーニング開始4週末に至り，コントロール群は295±19.6gであったのに対し，トレーニング群は272±17.8gと小さく，ここで初めて両郡間に5％水準で有意の差が認められた。以後，終了時

Tab. 2. Changes of body weight

Aft. Birth (Week)	Tr. (Week)	Jump Tr. Gr. (g)	Cont. Gr. (g)
6	0	133± 7.7	135± 6.7
7	1	174±10.7	180± 9.5
8	2	209±11.8	221±13.0
9	3	244±14.0	259±19.6
10	4	272±17.8	295±19.6 *
11	5	290±17.7	317±21.9 **
12	6	317±19.3	345±23.3 **
13	7	356±19.4	388±29.3 **
14	8	375±22.1	408±32.9 *

Values are mean ± s.d.

* Jump training group vs. control group, $p<0.05$

** Jump training group vs. control group, $p<0.01$

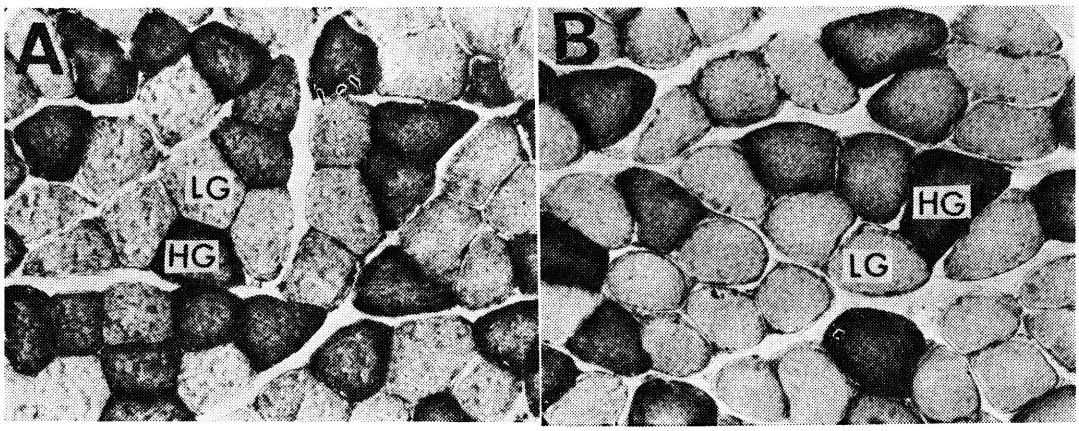

Fig. 2. Muscle fibers in transverse section in the M. soleus from control rat(A) and jump trained rat(B). The sections were stained for α-glycerophosphate dehydrogenase. ×150

HG：High glycolytic fibers

LG：Low glycolytic fibers

まで5％ないし1％水準で有意の差は続き，ジャンプ・トレーニング群の方が体重の増加は少なく，いわゆる成長が抑制されたような傾向を示した。

Tab. 3. Changes in muscle weight per body weight (mg/100g) of jump training group and control group.

(mg/100g)

	M. soleus	M. plantaris
Cont. Gr.	44.9±4.4	107.2±8.5
Jump Tr. Gr.	43.8±4.6	111.6±7.0

Values are mean ± s.d.

Tab. 3. は筋重量を体重当りの相対重量で示している。M. soleus ではコントロール群 44.9 mg/100g に対し，トレーニング群は43.8mg，また，M.plantaris ではコントロール群107.2mg に対し，トレーニング群は111.6mg であった。M. plantaris の方は僅かながら，トレーニング群の方がコントロール群よりも大きい値を示したが，M. soleus の方は逆に小さい。しかし検定の結果は，これら両筋とも両群間に有意の差は認められなかった。

筋線維のタイプの分類は，すでに実験方法の項でも述べたように，この実験の目的からみて，解糖能力を中心に検討することで，α-glycerophosphate dehydrogenase染色によって，濃染する線維を High glycolytic fibers (H.G.線維)，淡く染まる線維を Low glycolytic fibers (L.G.線維) とした (Fig.2).

このような写真から各群毎に整理をして，単位面積当りの fiber type 別の筋線維の割合いを示したのが Tab. 4. である。M. soleus では L.G.線維が多く，H.G.線維が少ないのに対し，M. plantaris では，H.G.線維が圧倒的に多く，L.G.線維は何れの群でも10％以下であった。また，染色の具合などから，必らずしもどちらかの type として識別できない線維が認められ，これらの線維は M. soleus では6％前後，M. plantaris では4～5％存在していた。そして2つの群間の線維構成の割合いは，両筋とも何ら有意の差を示すものではなかった。

Tab. 5. Comparison of muscle fiber size in the M. soleus and M.plantaris from trained and control rats.

M. soleus (μm)

	L. G. Fibers	H. G. Fibers
Cont. Gr.	70.1±1.9	65.4±4.6
Jump Tr. Gr.	70.3±3.2	69.3±2.9

M. plantaris (μm)

Cont. Gr.	48.3±2.7	59.0±8.0
Jump Tr. Gr.	48.8±6.6	61.4±4.8

Values are mean ± s.d.

Tab. 5. は筋線維の直径の変化を示している。これによると，いづれの群のいづれの fiber type においても，その平均値はトレーニング群の方が筋線維の直径は太く，また，M. soleus, M. plantaris とも，L.G 線維よりも H.G.線維の方が，コントロール群とトレーニング群間の差が大きい傾向を示した。その比は，M. soleus では L.G.線維は +0.3% に対し，H.G.線維は +5.9%，M. plantaris では L.G.線維は +1.0%に対し，H.G. 線維は +4.1% を示した。しかし，検定の結果，これらは，いづれも有意の差を示さなかった。

Tab. 4. Rate of various types of muscle fiber number in the M. soleus and M. plantaris from jump training group and control group.

M. soleus (%)

	L. G. Fibers	H. G. Fibers	Undistinguished
Cont. Gr.	63.5±5.0	30.0±4.2	6.5±2.8
Jump Tr. Gr.	65.4±4.4	28.6±4.0	6.0±0.7

M. plantaris (%)

Cont. Gr.	9.1±2.6	86.0±2.8	4.9±3.1
Jump Tr. Gr.	8.2±0.7	87.6±0.6	4.2±2.6

Values are mean ± s.d.

考　察

ラットやマウスなどの小動物を用いたトレーニングに伴なう体重の変化については，その増加率が減少するとする報告[6)13)]と，減少しないとする報告[9)10)]があって，必らずしも一致した見解には至っていないが，運動を行わせる時，トレーニングとして強制させるから増加率が低いのであって，相当量の運動でも，それが自発的運動であれば，決して成長に伴なう体重の増加が，抑制されることはないとする報告[17)]も行われている。今回の結果は実験開始数週間後には，有意の差が認められ，明らかにトレーニング群の方が，低い体重増加を示したが，これが電気刺激による条件づけを行なったために起こったのか，あるいは実験上の取扱いかた如何によって起こったのかどうかは不明である。夏野[10)]は一定電圧を連続的に印加することによって，疾走させるようなトレーニングをマウスに行わせても，体重は非トレーニング群と同様の増加が認められることを報告しており，この相違はさらに検討されるべき問題である。

また，筋重量は生後発育に伴って増加し，体重比でみると，生後30日までは，筋重量の増加の方が著明であるが，これを過ぎると相当期間ほとんど一定の割合いを示すことが報告されており[7)]，本研究に使用されたラットも，生後40日以降にトレーニングを開始したことから，一般的には体重の増加に見合った筋量の増加が起こったものと考えられる。適度な運動刺激は，体重の増加以上に筋の重量を増加させることも報告されているが[16)]，その様相は対象となる筋が1関節性であるか，2関節にまたがるものであるかによっても差異が現われてくるものと考えられる。今回のようなトレーニングに際して，選択された筋が適切であったかどうかは，再考を要する問題であろう。

本研究に用いられた組織化学的染色法については，Wattenbergら[18)]以来，Engel[1)]，Peterら[11)]，Gollnick ら[4)]など多くの研究者によって，これが解糖能力の差異を示すことのできる染色法として ヒトや動物の筋線維の分類に使用されてきている。α-GPD は解糖の過程にあって， main pathway にはないが，酵素学的に確立されている pathway にある。すなわち，生体内では脂肪はリパーゼの作用によって，脂肪酸とグリセリンに分解される。グリセリンはＡＴＰによって燐酸化されて，グリセロ燐酸となり，ここでα-GPD の働きによって酸化されれば，ジオキシ・アセトン燐酸となって解糖の経路に連なる。また，この反応は可逆的であるので，糖からグリセリンを生ずることもできる。組織化学的には，すでに研究方法の項において述べられたように，染色のためにテトラゾリウム塩が用いられる。テトラゾリウム塩は人工的な水素受容体で，生体内には存在しない物質である。脱水素酵素あるいは酸化酵素の活性検出に用いるテトラゾリウム塩は，酸化された状態では可溶性で，その水溶液は無色または僅かに薄い黄色であるが，還元されると有色の物質に変わる。すなわち，脱水素酵素の働きによって遊離したＨは，ラトラゾリウム塩を還元し，ホルマザンに変える（ホルマザンは光学顕微鏡で検鏡できる有色物質である）。この性質を応用して酵素のための組織化学的検出が可能となるわけである[15)]。

このような染色によって，H.G.線維および L.G.線維に分類された線維は，他の染色法との比較ではどのような対応を示すのか。Gollnick ら[5)]によれば，H.G.線維は myosin ATPase 活性の高い，いわゆる FT 線維に対応し，L.G.線維は ST 線維によく一致するという。そして，このような分類に従えば，相当長期間のトレーニングによっても， fiber type の割合いは変化しないことを報告している。さらに彼らはこの論文において，anaerobic なトレーニングによって，α-GPD 活性によって示される解糖能力は，FT 線維にだけ選択的に増加をもたらすことも示唆している。本実験の結果は，傾向的には H.G.線維（FT 線維）に肥大の徴候を認めながらも，有意の差を示すものではなかった。これはまた同時に実施した生化学的な検討（未発表資料）によっても，たとえば phosphofructokinase（PFK）の活性値は，同様の傾向を示しながら，有意の差に到っていないことが示されている。

運動に対する適応ということを生体の側からみた場合，急性の適応と慢性の適応が考えられるが，まづ最初に起こる変化は，細胞内に起こる化学的な変化であろうと考えられ，酵素活性などの変化が起こって，そのような状態が慢性化して，形態的な変化へと進んで行くものと考えられる。本実験の結果では，酵素活性の変化においてさえ，個体差を上回るようなトレーニング効果が得られなかったことから，組織学的な変化を期待しにくいのは当然かとも思われる。その原因としてはトレーニングの実施法に最大の問題点があるように思われる。とくに，トレーニングの期間については，Saltin ら[14)]は従来よく用いられていた8—10 週間のトレーニング実験の期間は，短かすぎることを指摘して，もっと長い期間にわたるトレーニングの必要

性を示唆している。いくつかの改良すべき点として考えられることは，運動量としては1日当りの跳躍回数をもっと増やすこと，トレーニング期間の延長，質的な面では単発のジャンプでなく，連続して跳ばせることによって，いわゆるanaerobicな状態を作り出して行くような工夫，などである。また，被験筋についても，このような動作に関してはM. gastrocnemiusの働きが大きく作用していることも示唆され（熊本水頼：personal communication），検討を要する問題の1つである。いづれにしても，実験結果は必らずしも当初期待したような満足なものではなかったが，小動物にこのようなトレーニングを課して，その組織を検討することは，全く初めての試みであり，更に検討を進めたいと思う。

総　括

立ち高跳びのような跳躍力を利用したジャンプ・トレーニングが，骨格筋線維にどのような影響を及ぼすかについて，組織化学的に検討を試みた。生後7週目のウィスター系雄ラットに，週6日間，8週間のトレーニングを行わせ，終了後，M. soleus および M. plantaris を選び，光学顕微鏡的に観察した。得られた写真から fiber type 別に，コントロール およびトレーニング群間の比較検討を行ない，次のような成績を得た。

1)　体重の増加はコントロール群に高く，トレーニング群に低い。その差はトレーニング開始後4週終了時から，5％ないし1％水準で有意差となって現われ，トレーニング終了時までこの傾向は続いた。

2)　体重当り筋重量，筋線維組成の割合，筋線維の太さ等については，いづれのパラメーターについても，コントロール群，トレーニング群間に有意の差を示さなかった。

3)　これらのことから，1日20回，週6日間，8週間のジャンプ・トレーニングでは，筋線維に有意な肥大を見出すことはできず，その効果を明確にするためには，さらに運動量の増加，トレーニング期間の延長の必要性が示唆された。

本研究に要した費用の一部は，昭和52・53年度文部省科学研究費補助金，総合研究：発育及びトレーニングが骨格筋に及ぼす影響の組織化学的研究（研究代表者：宮下充正　東京大学教育学部助教授）によるものである。本研究に協力をいただいた福岡大学体育学部運動生理学教室及び福岡大学医学部アニマルセンターの方々に感謝の意を表します。

文　献

1）Engel, W. K. (1962)：The essentiality of histo- and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular disease. Neurology **12**：778-794.

2）藤原　弘(1968)：ラット，マウスなどの小動物用跳躍力テスト装置，航空医学実験隊報告 **9** (1)：76-79.

3）Goldspink, G.(1964)：The combind effects of exercise and reduced food intake on skeletal muscle fibers. J. Cell Comp. Physiol. **63**：209-216.

4）Gollnick, P. D., R. B. Armstrong, C. W. Saubert Ⅳ, K. Piehl and B. Saltin (1972)：Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. J.Appl. Physiol. **33**：312-319.

5）Gollnick, P.D., R.B.Armstrong, B.Saltin, C. W. Saubert Ⅳ, W. L. Sembrowich, and R. E. Shepherd (1973)：Effect of training on enzyme activity and fiber composition of human skeletal muscle. J. Appl. Physiol. **34**：107-111.

6）勝田　茂(1974)：ラット骨格筋線維の活動性肥大に関する電子顕微鏡的研究，体力科学 **23**：67-76.

7）勝田　茂(1977)：骨格筋線維の生後発育に関する電子顕微鏡的研究，日本体育学会第28回大会号. p.201.

8）菊地邦雄(1971)：筋トレーニングの組織学的研究—静的筋トレーニングと動的筋トレーニングの骨格筋線維に及ぼす影響の比較—，体育学研究 **16**：67-74.

9）Man-i, M., K. Ito, and K. Kikuchi (1967)：Histological studies of muscular training. Report I. Effect of training upon skeletal muscle fibers. Res. J. of Physical Education **11**：153-165.

10）夏野義啓(1978)：動物疾走装置の開発とその応用例，日本体育学会第29回大会号，P.286 および発表資料

11）Peter, J.B., R.J. Barnard, V.R. Edgerton, C. A. Gillespie, and K. E. Stempel (1972)：Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits.

Biochemistry **11**：2627-2633.

12) Petow, H. und W. Siebert (1926)：Studien über Arbeitshypertrophie des Muskels. Z. Klin. Med. **102**：427-433.

13) Price-Jones. C.(1926)：The effect of exercise on the growth of white rats. Quart. J. exp. Physiol. **16**：61-67.

14) Saltin, B., J. Henriksson, E. Nygaard, and P. Andersen (1977)：Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. Ann. N. Y. Acad. Sci. **301**：3-29.

15) 佐野 豊 (1972)：組織学研究法，南山堂 p. 507-511.

16) Suzuki, S., H. Suzuki, S. Satowa, S. Oshima, F. Ohta, Y. Kanke, E. Matsuzaki, K. Tsuji, and T. Tezuka (1967)：Experimental studies on the interrelationships of nutrition, physical exercise and health components. Report I. Ann. Rep. Nat. Inst. Nutr. 1-9.

17) Suzuki, S., S. Oshima, F.Ohta, K.Tsuji, E. Tsuji, and R. Mitsuishi (1969)：Experimental studies on the interrelationships of nutrition, physical exercise and health components. Report Ⅲ. Amount of voluntary exercise, dietary composition, growth and survival rate. Ann. Rep. Nat. Inst. Nutr. 3-10.

18) Wattenberg, L.W., and J. L. Leong(1960)：Effets of coenzyme Q_{10} and menadion on succinic dehydrogenase activity as measured by tetrazolium salt reduction. J. Histochem. Cytochem. **8**：296-303.