

加齢および持続的トレーニングがラット骨格筋の酵素活性に及ぼす影響

堀田, 昇
九州大学健康科学センター

石河, 利寛
順天堂大学

<https://doi.org/10.15017/544>

出版情報：健康科学. 12, pp.151-155, 1990-03-28. 九州大学健康科学センター
バージョン：
権利関係：



加齢および持久的トレーニングが ラット骨格筋の酵素活性に及ぼす影響

堀田 昇 石河利寛*

Effects of aging and endurance training on
enzyme activities in skeletal muscles of rats

Noboru HOTTA and Toshihiro ISHIKO*

Summary

The present study has been undertaken, aiming at the elucidation of the effects of aging and endurance training on enzyme activities of skeletal muscles in rat hindlimb. The slow soleus and the fast extensor digitorum longus (EDL) were obtained from Fischer strain rats. These muscles were used for the determination of phosphofructokinase (PFK) activity and succinic dehydrogenase (SDH) activity.

Method of endurance training used in this study was treadmill running. Training groups were forced to running training on a treadmill 5 days per week for 8 weeks from aged 10 (young), 65, 79 (middle) and 107 (old) weeks after birth.

The results are summarized as follows:

1. Maximal activities of PFK and SDH in soleus and EDL were obtained at 18 weeks old, and activities of these enzymes dropped with aging gradually.
2. Activities of PFK and SDH in both muscles were significantly higher after endurance training in young, middle and old rats.

It is concluded that the properties of PFK and SDH activities in rat skeletal muscle are influenced by aging, however, these enzyme activities of muscles significantly increased after endurance training in young, middle and old rats.

(Journal of Health Science, Kyushu University, 12: 151-155, 1990)

緒 言

我々は、週齢の異なるラット（生後10, 65, 79および107週齢）に対して、同一持久的トレーニングを行なわせて、加齢および持久的トレーニングの影響を主として骨格筋の萎縮、肥大および毛細血管供給といった筋の構造的変化を中心に検討を行なってきた¹⁾。

その結果、骨格筋の面積はヒラメ筋 (Soleus) のような遅筋タイプの筋では生後87~107週齢で萎縮が生じるが、一方長趾伸筋 (EDL) のような速筋タイプの

筋では生後73~79週齢と早期に萎縮がみられた。トレーニングに対しては、萎縮後週齢が経過していない筋線維では肥大が生ずるが、長趾伸筋のように生後73~79週齢で萎縮した筋では生後107週齢からトレーニングを行なっても筋肥大は期待できなかった。

また、毛細血管供給については、いずれの筋とも加齢に伴い低下が認められたが、生後79~87週齢までにトレーニングを実施すれば若齢ラットと同様に向上が認められた。しかし、生後107週齢からトレーニングを行なっても毛細血管は発達しなかった。また、運動

のエネルギー源となる筋グリコーゲンは、生後65~73週齢で低下が生じ、トレーニングによる有意な向上はみられなかった。

本研究は、筋の基質面である筋グリコーゲン量の変化が形態面（構造面）での変化より早期に生じ、トレーニング効果も得にくかったことに注目して、加齢および持久的トレーニングに対する骨格筋のエネルギー発生系にかかわる酵素活性の変化について検討を行った。

研究方法

1. 動物の世話およびトレーニング方法

本研究で用いた動物は、生後10 (n=14), 65 (n=14), 79 (n=14) および107 (n=12) 週齢の雌の Fischer 系ラットであった。各週齢のラットとも体重をもとにトレーニング群および対照群に分けられた。

トレーニング群は小動物用トレッドミルを用いて、勾配8度にて分速30mのスピードで60分間ランニングを行なわせた。トレーニングは、週5日、8週間にわたり実施した。一方、各週齢の対照群は通常のケージで8週間飼育された。トレーニング群および対照群とも室温22℃、湿度55%の一定環境下にて、飼料および水を自由に摂取させて飼育した。

2. 筋サンプルの採取

最終トレーニング終了後、24時間経過した後、ラットはエーテルで麻酔され、選筋であるヒラメ筋および速筋である長趾伸筋が摘出された。筋サンプルは、摂取後直ちに秤量されドライアイスで冷却したアセトン内で瞬間凍結された。これらの筋サンプルは分析まで-80℃で凍結保存された。

3. 生化学的分析方法

生化学的分析として、解糖系の律速酵素である phosphofruktokinase (PFK)¹⁰⁾ と酸化酵素である succinic dehydrogenase (SDH)¹¹⁾ の活性をそれぞれ25℃の条件下で測定した。筋サンプルは、PFK 活性が 0.15M KCL, 0.05M KHCO₃, 6mM EDTA を含む溶液で、また SDH 活性測定の場合は 0.17M phosphate buffer (pH7.4) でガラスホモジナイザーを用い均質化した後に測定した。酵素活性は、筋湿重量 1g 当たりの μ mol/分 で表わした。

4. 統計処理

統計処理は、週齢の異なる対照群間（加齢の影響）ならびに同一週齢の対照群とトレーニング群間（トレーニングの影響）で対応のない Student の t テストを用いて行なった。

統計的な有意水準は、危険率が 5% 未満 ($p < 0.05$) のものを採用した。

研究結果

1. 筋重量および体重に対する相対的筋重量

ヒラメ筋および長趾伸筋の重量および体重に対する相対的重量を図1および図2に示した。

筋重量は、両群とも加齢に伴い低下する傾向は認められたが、統計的に有意ではなかった。一方、トレーニングに対し、どの週齢とも増加する傾向にあったが有意なものではなかった。

体重に対する相対的筋重量は、ヒラメ筋では生後73週から87週齢にかけて加齢に伴い低下がみられたが、それ以降はほぼ一定の値であった。長趾伸筋の加齢に伴う変化もヒラメ筋とほぼ同様であった。

トレーニングに対して、ヒラメ筋および長趾伸筋とも生後87週齢にのみ相対的重量が有意に増加した。

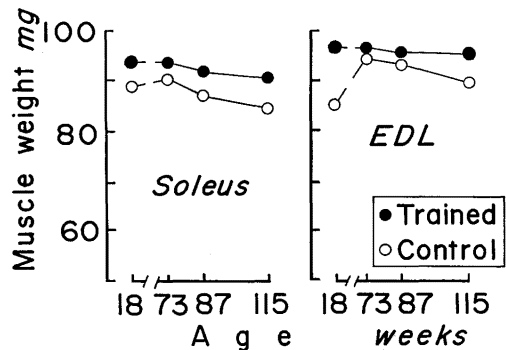


Fig. 1 Change in muscle weight with aging and endurance training.

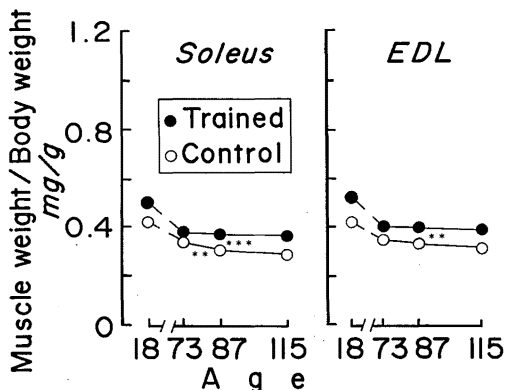


Fig. 2 Relative muscle weight of different aged training and control groups.

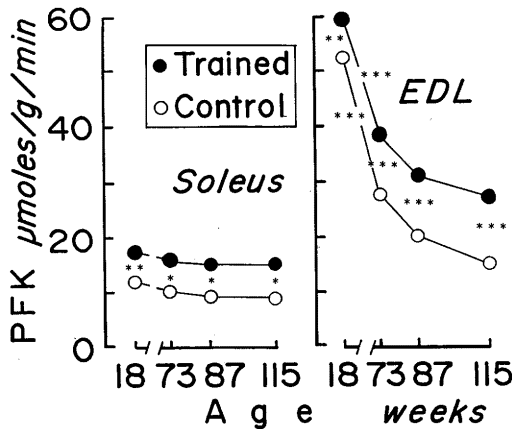


Fig. 3 Phosphofruktokinase (PFK) activities of different aged training and control groups.

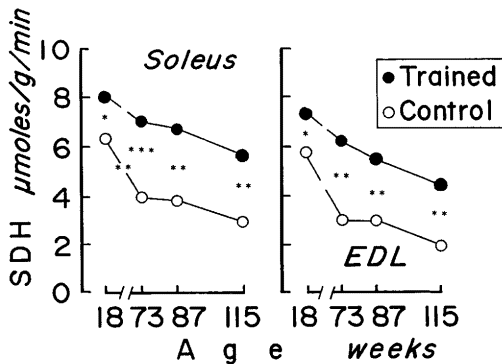


Fig. 4 Succinic dehydrogenase (SDH) activities of different aged training and control groups.

2. 酵素活性

PFK および SDH 活性の加齢およびトレーニングに対する変化を図3および図4に示した PFK の活性値は、どの週齢においてもヒラメ筋より長趾伸筋の方が高値を示した。ヒラメ筋は、生後18週から73週齢にかけて活性値がやや低下したが、それ以降はほぼ一定の値であった。トレーニングに対しては、どの週齢とも有意な上昇が認められた。長趾伸筋では生後18週齢が最も高い活性値を示し、18週から73週にかけて統計的に有意な活性値の低下が認められ、それ以降もさらに活性値は低下した。トレーニングに対する応答は、どの週齢とも同様に統計的に有意な上昇がみられた。

SDH の活性値については、ヒラメ筋が18週齢から73週齢にかけて統計的に有意な低下が認められたが、それ以降はやや低下の傾向はあるもののほぼ一定の活性値であった。トレーニングに対しては、どの週齢と

も統計的に有意な上昇がみられた。長趾伸筋の SDH 活性の加齢およびトレーニングに対する応答は、ヒラメ筋の応答とほぼ同様であった。

考 察

本研究に用いたトレッドミルによる持久走トレーニングのランニングスピードおよび運動時間は、若齢動物を用いた他の研究者たちとほぼ同じであった⁹⁾¹⁴⁾。このことは、本研究で用いたランニングスピードならば生後約2年のラットにおいても十分ランニングを学習できることを示している。

筋重量は、ヒラメ筋および長趾伸筋とも生後18週齢より73週齢の方が重い。18~73週齢の間に筋重量のピークがあると思われる。これらの週齢の間に筋重量の最高値がみられるという結果は、ウイスター系ラットの加齢に伴う骨格筋の重量を調べた竹倉ら¹³⁾の結果と一致している。筋重量は両筋とも生後73週齢以降に低下する傾向がみられた。この低下は、加齢に伴う筋線維の萎縮に起因するものと思われる。一方、トレーニングに対して、わずかに筋重量は増加する傾向がみられたが統計的に有意なものではなかった。トレーニングに対して筋重量が増加する原因は、筋線維数の増加と筋肥大が考えられる。堀田と石河³⁾は、若齢および老齢ラットに持久的トレーニングを行なわせ、ヒラメ筋および足底筋の総筋線維数を調べた。その結果、若齢および老齢ラットともに持久的トレーニングによって総筋線維数の増加は認められなかったと報告している。したがって、本研究のトレーニング群の筋重量のわずかな増加は、主として筋線維の肥大によるものと思われる。

骨格筋内酵素活性 (SDH, PFK, LDH, CK) は、一般的に生後3~12週齢までは雌が雄にくらべて高値を示す傾向にあるのに対して、それ以降は雄の方が高い活性値を示すといわれている¹³⁾。この週齢に伴う筋中酵素活性値の雌雄差は、主として性ホルモンが大きく影響を及ぼしていると考えられている⁷⁾。この筋中酵素活性値の性差および雌の方が雄より $\dot{V}_{O_{2max}}$ が高く、持久的トレーニングを行ないやすいことから本研究ではすべての週齢において雌のみを用いた。

PFK 活性値は、ヒラメ筋では加齢による変化はほとんど認められなかった。これは、体重の支持筋であるヒラメ筋のような緊張筋では加齢に伴いほとんど変化しないという報告²⁾と一致している。一方、長趾伸筋においては、生後18週齢において最も高値を示し、以後低下する傾向が認められた。本実験では長趾伸筋

が羽状筋であるため総筋線維数算出方法論上問題⁵⁾があるので総数を算出してない。しかし、長趾伸筋と同じタイプの足底筋の加齢に伴う総筋線維を測定した堀田と石河³⁾によれば、加齢に伴いFG線維の数が低下してくると報告しているの、本研究で用いた長趾伸筋においても同様の変化が生じていたものと推測される。したがって、加齢に伴うPFK活性値の低下は、PFK活性の高い速筋線維の減数が原因であると思われる。

トレーニングに対しては、ヒラメ筋および長趾伸筋ともどの週齢においても有意な向上が認められた。本実験ではどの週齢においても同一スピード(30m/分)でトレーニングを実施させた。Mazzeoら⁸⁾は、本実験と同様の雌ラット(生後3, 12および24ヵ月)に速度漸増法による $\dot{V}_{O_{2max}}$ 測定テストを行ない加齢に伴い $\dot{V}_{O_{2max}}$ が低下すること、および $\dot{V}_{O_{2max}}$ が得られるスピードも生後3ヵ月齢では73.8m/分であったのに対して、生後24ヵ月齢では50.4m/分に低下することを示した。したがって、同一絶対スピードでトレーニングを行なったため老齢ラットにたいしては無酸素的要素が大きく、そのため活性値の増加分も若齢ラットに比べ大きかったものと思われる。

SDH活性値は、ヒラメ筋および長趾伸筋とも18週齢が最も高く、それ以降どちらの筋とも低下する傾向であった。73週齢以降はヒラメ筋と長趾伸筋の活性値はほぼ同程度であった。このヒラメ筋と長趾伸筋との間でSDH活性値に差が認められないことは、杉浦ら¹¹⁾が推察しているように両筋における酸化能力に優れる筋線維数が同じであるためであると思われる。

トレーニングに対しては、ヒラメ筋および長趾伸筋ともどの週齢においても酵素活性は有意な向上が認められ、これは骨格筋の酸化酵素活性が筋の活動レベルに応じて変化するという従来の報告⁹⁾¹²⁾と一致していた。このように老齢の骨格筋においても持久的トレーニングにより酸化酵素の活性に上昇が認められた。これは、老齢の筋でも末梢部での適応が生じることを示すものである。

ま と め

本研究は、加齢に伴う骨格筋の酵素活性の変化と持久的トレーニングに対する応答を調べるために行なった。

用いた実験動物は、雌の生後10, 65, 79および107週齢のFischer系ラットであった。各週齢とも体重をもとにトレーニング群と対照群に分けた。トレーニン

グ群には、小動物用トレッドミルを用いて勾配8度にて分速30mのスピードで60分間ランニングをおこなわせた。トレーニングは、週5日、8週間実施した。対照群には、この期間に特別なトレーニングは行わせないかった。

8週間のトレーニング終了後、トレーニング群および対照群の後肢のヒラメ筋と長趾伸筋が摘出された。筋は秤量後、直ちにホモジナイズされ冷却遠心分離し、採取した上清より、PFKおよびSDHの活性について測定した。

その結果、ヒラメ筋、長趾伸筋ともPFKおよびSDHの活性値は、18週齢が最も高く、以後加齢とともに低下が認められた。トレーニングに対しては、老齢ラットにおいても若齢ラットと同様にヒラメ筋、長趾伸筋ともPFKおよびSDH活性は有意に増加した。したがって、老齢の筋でも酵素活性からみると持久的トレーニングに対してトレーナビリティがあると結論される。

文 献

- 1) Cooperstein, S.J., Lazarow, A., and Kurfess, N.J.: A microspectrophotometric method for the determination of succinic dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, **186**: 129-139, 1950.
- 2) Dawson, D.M., Theodore, L., Goodfrien, L., and Kaplan, N.O.: Lactic dehydrogenase; Functions of the two types. *Science*, **143**: 929-933, 1964.
- 3) 堀田 昇, 石河利寛: 加齢および身体トレーニングが骨格筋へ及ぼす影響. 日本体育学会第37回大会号B, 526, 1986.
- 4) 石河利寛, 堀田 昇: 運動系に関する研究. 昭和60年度老化制御指標の設定に関する研究報告書. 91-97, 1986.
- 5) Gollnick, P.D., Timson, B.F., Moore, R.L., and Riedy, M.: Muscular enlargement and number of fibers in skeletal muscles of rats. *J. Appl. Physiol.*, **50**: 936-943, 1981.
- 6) Larsson, L.: Morphological and functional characteristics of the aging skeletal muscle in man. A cross-sectional study. *Acta physiol. scand. suppl.*, 457, 1978.
- 7) Matoba, H. and Niu, H.: The effects of castration and testosterone administration on the histochemical fiber type distribution in the skeletal muscles of the mouse. in Moreki, A., Fidelus, K., Kedzior, K., and Wit, A. (Eds.), *Biomechanics VII -B*, University Park Press: Baltimore, 606-611, 1981.
- 8) Mazzeo, R.S., Brooks, G.A., and Horvath, S.M.: Effects of age on metabolic responses to endurance training in rats. *J. Appl. Physiol.*, **57**:

- 1369-1374, 1984.
- 9) Nutter, D.P., Priert, R.E., and Fuller, E.O.: Endurance training in the rat. I. Myocardial mechanics and biochemistry. *J. Appl. Physiol.*, **51**: 934-940, 1981.
 - 10) Shonk, C.E., and Boxer, G.E.: Enzyme patterns in human tissues. I. methods for the determination glycolytic enzymes. *Cancer Res.*, **24**: 709-724, 1964.
 - 11) 杉浦崇夫, 的場秀樹, 村上 恵: ラット骨格筋の酵素活性値の性差に関する研究. *体力科学*, **32**: 17-24, 1983.
 - 12) Summinen, H., and Hekkinen, E.: Enzyme activities in muscle and connective tissue of *M. vastus lateralis* in habitually training and sedentary 33 to 70 years-old men. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **34**: 249-254, 1975.
 - 13) 竹倉宏明, 田中弘之, 春日規克, 小野三嗣: ラット骨格筋における代謝特性の加齢変化, *体育学研究*, **31**: 243-251, 1986.
 - 14) Terjung, R.: Muscle fiber involvement during training of different intensities and duration. *Am. J. Physiol.*, **230**: 946-950, 1976.