

トレーニング効果と個体差に関する基礎的研究

Basic Studies of Training Effects and Differences among Individuals under Exercise in Mice

- I. 骨格筋のトレーニング効果と遺伝的要因
- II. 骨格筋のトレーニング効果と環境的要因
- III. トレーニングした骨格筋の生化学的解析
- IV. 腱切除が骨重量に及ぼす影響
- V. 持久的トレーニングの同一近交系雌個体間マウスにおける細胞性免疫機構の応答

東 京 大 学 山 田 茂

(共同研究者) 同 兵 頭 圭 介

財 団 法 人 藤 巻 正 人
民 生 科 学 協 会
総 合 研 究 所

同 内 間 高 夫

慶 応 大 学 篠 原 しげ子

相 模 女 子 大 学 山 本 順 子

東 京 慈 恵 会 医 科 大 学 小 川 芳 徳

同 山 内 秀 樹

長期的な運動刺激が生体の臓器組織の形態形成や機能に大きな影響を及ぼす。各種運動様式における生理、生化学的現象は数多く報告されているがその機構については十分に解明されていない。

運動刺激の有無による骨格筋可塑性の現象はよく知られている。とくに適度な運動強度が筋の肥大を誘導し、筋不活動が筋の萎縮を誘発することは筋組織特異的な現象として知られている。細胞生

物学的には筋組織を構成する筋細胞の肥大や増殖の機構は遺伝的な違いや環境要因の違いによるものと思われる。骨組織においても同様の報告がなされ宇宙生活での骨重量や骨密度の減少、骨成分の変化が報告されている。また日常生活における運動不足やホルモンの変化などから、骨組成の変化や骨粗鬆症などが話題としてあげられている。このような現象は生活様式の変化にともなうものが主であり、生体が外界から受ける刺激に順応した現象反応として見られる。しかしながらこれらの現象は、動物として生命維持に必ずしもプラスになるものでもなく、逆に生命を根本から脅かす変化として捉えることもできる。

このように環境の変化が生体防御機構に対してどのような影響を及ぼしているのか、基本的に興味ある課題である。しかしながら運動刺激が生物個々に同じような反応を示すことはまれであり、個々の生物個体により運動刺激に対する反応の仕方が異なることが一般的である。いわゆる個体差としての表現は、環境的要因と遺伝的要因により決定される。

今回の実験は、トレーニング効果とその個体差の生理生化学的機構を解明するための手始めとして行った。実験には遺伝的条件を均一にするため近交系マウスを用いた。実験はトレーニングが骨格筋肥大、骨の重量、免疫系に及ぼす影響について行った。

骨格筋肥大に関する研究はトレーニング後の筋重量に対する影響について主に遺伝条件の違いが代償性筋肥大の発現に及ぼす影響について検討した。さらに生化学的機構解明のための第一歩として、筋肥大にともなう筋構成タンパク質の変化にも着目し検討した。

実験には6週齢のC57BL/10, NZB/N, A/J, AKR/N, CBA/N, BALB/cCr, C3H/He, DBA/2Cr, NZW/N, 9系統の近交系マウスを用いた。筋肥大の指標として、筋肥大量の絶対値、マウス

の体重あたりの肥大量、筋肥大率（筋肥大重量/対照筋重量）の3つについて系統間で比較した。その結果、大きく上位3系統と下位3系統間に区分でき、それぞれの間で統計的に0.1%から5%の危険率で有意な差が見られた。たとえば肥大率が一番小さかったC57BL/10Crでは足底筋の肥大率が25.5%であったが、最大値を示したNZW/Nではその4倍近い98.4%を示し、両群の間には0.1%の危険率で有意な差が認められた。筋肥大量の絶対値、マウスの体重あたりの肥大量の比較でも同様の傾向が見られ、肥大率で見た場合その差はもっとも大きかった。これらの差異はマウス個体間の胎内環境や成育環境の違いによって生じたと思われる、同一系統内での変動を上回る差がいくつかの系統間で見られたことから、系統間の遺伝的条件の違いが筋重量の差をもたらしたと思われる。また、遅筋であるヒラメ筋と速筋である足底筋を比較すると、後者にその傾向が顕著であった。これらの結果は、遺伝的に極めて個体差が少ないとされる近交系マウスにおいて、系統間に筋肥大のトレーニング効果の差が確認され、遺伝的要素がトレーニング効果に大きく影響を及ぼしていることを示したものである。

つぎに基本的にトレーニングに対する環境的要因の影響を近交系マウスが受けるかどうかを検討した。実験には近交系マウス、NZW/N, NZB/N およびA/Jの3系統での生後6週齢のマウスを用いた。系統間マウスでの比較では、筋の肥大量/対照筋重量でみると、ヒラメ筋に統計的有意差は見られなかったものの、足底筋においてはNZW/NはNZB/Nに対して有意な差が見られた($P < 0.05$)。一方、肥大量の結果から、NZW/NはNZB/Nに対して、ヒラメ筋($P < 0.05$)、足底筋($P < 0.01$)ともに高いトレーニング効果が認められ、またNZW/NはA/Jに対しても足底筋で有意に高い値($P < 0.05$)を示した。

骨格筋肥大の生化学的機構における遺伝的背景を探るために、肥大率の大きかった近交系マウス NZW/N と、肥大率の小さかった近交系マウス A/J を用い、筋構成タンパク質との関係を検討した。筋肉を Bullkraft で破碎し、トリス緩衝液に懸濁し Leammler 系のサンプル緩衝液を加え、100°C で5分間煮沸し筋タンパク質を抽出した。その後、10,000 rpm で遠心し、上清の筋タンパク質を SDS 電気泳動法で解析した。対照筋のヒラメ筋のタンパク質の解析パターンを NZW/N と A/J 系統間で比較すると、両系統の間でタンパク質の泳動パターンに差異が認められた。トレーニング群の足底筋においても、両系統間のタンパク質泳動パターンに差異が認められた。また肥大筋において両系統ともに共通して増大する分子量 68 KDa のタンパク質が観察された。

対照群のヒラメ筋において、系統間の筋タンパク質泳動パターンに差が見られたことから、筋での構成タンパク質の表現形態には、系統間で遺伝的な筋タンパク質の発現の仕方に違いがあることが判明した。またトレーニング群の足底筋タンパク質の泳動パターンに認められた差異は、トレーニングおよび環境に対する反応にも遺伝子発現の量的制御機構の存在をうかがわせる。両系統ともに筋肥大にともない、特異的に変化するタンパク質が存在したことは、筋肥大機構を探る上で興味深い。

骨組織に及ぼす運動トレーニング効果とその個体差に関する研究の実験モデルとして、腓腹筋除去法を用いた。今回の研究は、運動の骨形成機構に及ぼす影響を解明するための手始めとして、骨に対する筋からの質的、量的刺激の違いが骨重量に及ぼす影響について検討した。実験には6週齢の近交系マウス (A/J, NZB/N, NZW/N, AKR/N の4系統) を用いた。その結果、脛骨重量は

AKR/N を除く3系統で、腓腹筋除去側の重量が対照側に比べ有意に低い値を示した。この結果はこのモデルの運動の骨代謝研究上のモデルとしての有用性を示すものと思われる。さらにこのモデルでの骨重量変化の系統間での比較では、A/J と AKR/N の間に有意な変化が見られた。この結果は、運動刺激の骨に対する影響が遺伝的条件によって異なることを示唆している。さらに同一雌個体間マウスの比較の実験から、環境的要因の影響について検討したが、雌個体間には有意な変化は見られなかった。以上の結果は同一系統内においては環境的要因に比べ、遺伝的要因が優位であることを示している。

運動が生体防御機構にどのような影響を及ぼすかを研究することは、動物として人間の基本的な生命機構を探る上で興味ある課題である。今回の実験においては、長期間の持続的トレーニングが、免疫系にどのような影響を及ぼすか、とくに細胞性免疫系に着目し実験を行った。実験には近交系マウス C57 BL/6 Cr を用いた。運動は漸増負荷とした。負荷強度はこれまでの報告から推察するに中等度程度と考えられる。実験の結果、リンパ球は平均値で雌、雄とも増加の傾向を示したが、統計的に有意ではなかった。免疫担当細胞のサブセット Thy 1.2⁺ (T細胞すべて)、L3T4⁺ (ヘルパー T細胞)、Lyt 2⁺ (サブプレッサー T細胞)、Ig⁺ (B細胞) を測定した結果、Thy 1.2⁺ が雄群で有意に増加した。この結果、長期の持続的トレーニングは同一系統内の雌雄に大きな差をもたらすことが判明した。同一系統雌個体間の比較では、個体数が少なく統計的解析はできなかったが、Thy 1.2⁺ と Lyt 2⁺ は増加の傾向を示した。B細胞に関しては雌雄、同一系統雌個体間においてもすべて減少の傾向を示した。

I 骨格筋のトレーニング効果と遺伝的要因

	東京大学	山田 茂
(共同研究者)	同	兵頭 圭介
	財団法人 民生科学協会 総合研究所	藤巻 正人
	同	内間 高夫
	慶応大学	篠原 しげ子

Skeletal Muscle Hypertrophy in the Different Strains of Inbred Mice

by

Shigeru Yamada, Keisuke Hyodo

*Department of Sports Sciences, College of Arts
and Sciences, The University of Tokyo*

Masato Fujimaki, Takao Uchima

Public Welfare Institute of Scientific Research Foundation

Shigeko Shinohara

Sports Scientific Research Center, Keio University

ABSTRACT

Compensatory hypertrophy of skeletal muscle was induced by tenotomy in nine strains of inbred mouse male rats at the same developmental stage were divided into control and experimental group. The tendon of the gastrocnemius muscle of the right leg was transected 2 mm proximal to the upper margin of the retinaculum. The tenotomized animals behaved normally without visible disability. The plantaris and soleus muscles of the treated and the contractile limb were removed for examination 7 days after the operation, weighed using a Metler electronic balance. The mean weight of these muscles was compared between the control and tenotomized limbs.

As parameters of hypertrophy, the absolute increment of muscle weight, absolute increment of muscle weight per unit body weight and percentage of increase in the weight of hypertrophied muscle were calculated to demonstrate the level of skeletal muscle hypertrophy in the different strains of inbred mice. It was found that the mean values of plantaris and soleus in the top ranking three strains were significantly increased in comparison with those of the three lowest-ranking strains. The rate of increase in the weight of the plantaris muscle in C 57 BL/ 10 Cr mice was the lowest at 25.5%. However, the rate of increase in the weight of the plantaris muscle of NZW/N mice was highest at 98.4%.

The highest mean value for NZW/N was four times the lowest mean value for C 57 BL/ 10 Cr, and the rate of increase in plantaris muscle weight was significantly different between these two strains. Comparison of the absolute increase of muscle weight and absolute increase of muscle weight per unit body weight among the nine strains revealed a similar tendency to the rate of muscle weight gain. The variance of these values in the nine strains was greater than that of the values within the same strain. Therefore, in inbred mouse strains, these results strongly suggest that genetic factors influence the process of work-induced hypertrophy of skeletal muscle after tenotomy. Comparison of the increase in weight of the soleus as slow muscle and the plantaris as fast muscle indicated the dominance of fast muscle in the process of hypertrophy.

まえがき

骨格筋の成長、肥大、萎縮、再生、修復等の研究は生物学、医学、体育の領域では興味ある課題である。筋力の発揮が筋細胞の微細構造によって決定されていることから、長年にわたって筋収縮機構の研究が生物学、医学の分野で進められている。さらに医学の分野においては筋ジストロフィーに見られるような遺伝的疾患の研究は発症にともなう特異的な遺伝子発現の機構に着目されている¹⁾。体育の分野では運動にともなう筋の成

長（骨格筋の肥大や萎縮）に着目され研究が行われている。

一般的に筋トレーニングが筋の肥大を誘導し、肥大した筋では筋を構成する筋細胞の肥大や、筋細胞の増殖が観察されることが報告されている¹⁻⁷⁾。発生段階で筋細胞は、中胚葉構成細胞に筋細胞決定因子が出現することにより、筋芽細胞として決定される。その後、筋芽細胞どうしの融合が起こり、融合開始と同時にミオシン、アクチン等の筋細胞特有のタンパク質の合成が始まり筋細胞に分化する。このような筋細胞への分化の過程

は、成熟筋でのサテライト細胞でも似たような現象が観察される⁵⁾。またトレーニングの結果、筋細胞の収縮構成要素であるミオシン、アクチンの合成や蓄積が起こり個々の筋細胞は肥大する^{5,9)}。

筋トレーニングによる筋細胞の増殖と肥大は、

骨格筋の肥大の二大機構として認められるものである。この機構は所謂筋組織、あるいは筋細胞に内在した筋肥大のトレナビリテーの発現様式としてとらえられる。この筋肥大に対する発現様式の違いが異なることにより、トレーニングの個体差

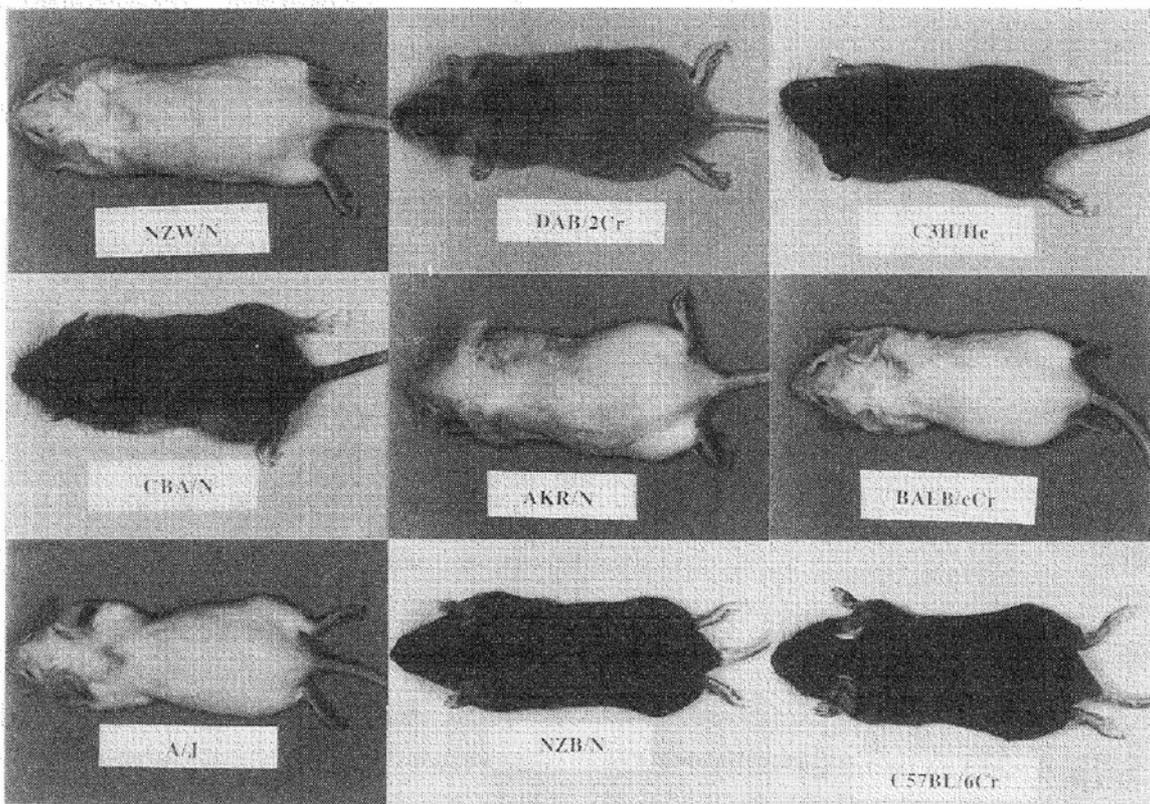
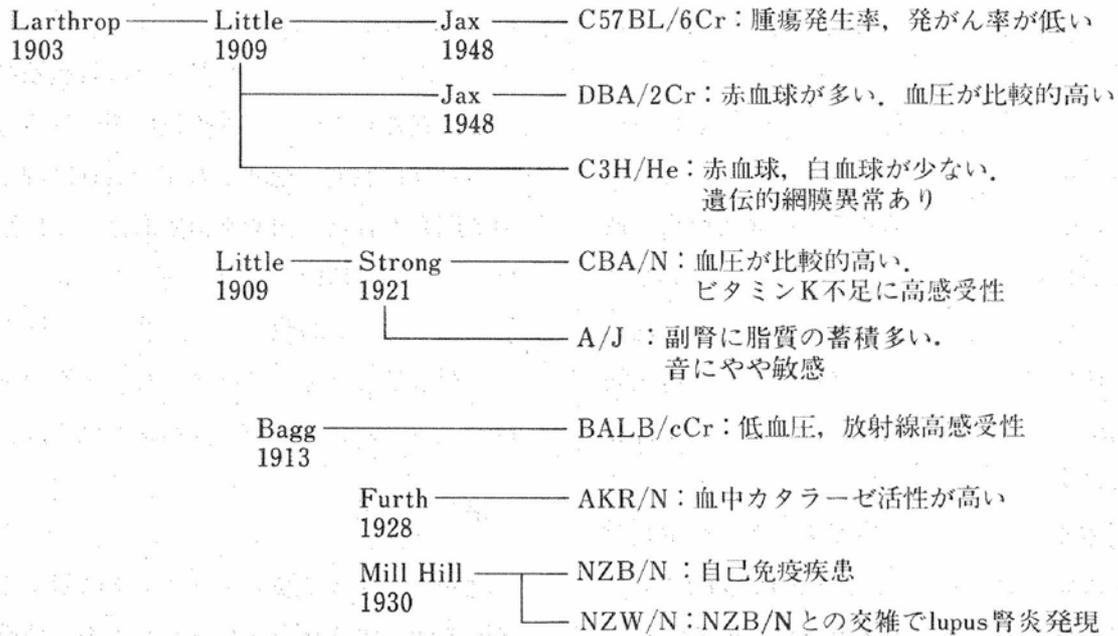


図1 マウス近交系系統樹の概略と各系の特徴

が発生するものと思われる。トレーニングの強度、時間、頻度等がトレーニング効果に重要な役割をになっていることは運動生理学的に示されている⁸⁾。しかしながら、このトレーニングの強度、時間、頻度等が筋に及ぼす生化学的機構についてはいまだ解明されていない。すなわち筋の成長や肥大に対する運動の強度、時間、頻度の生理生化学的意味や役割については解明されていない。筋のトレーニング効果や個体差を理解するためには、これらの機構の解明が要求される。

トレーニング効果や個体差を理解する場合、遺伝的あるいは環境的因子の基本的な理解が必要である。とくに運動処方、トレーニング処方や運動療法を適切に実施するためには、上述した遺伝的要因、環境的要因の基本的背景が理解されて行われるべきである。運動の筋に対するトレーニング効果や個体差は、一卵性双生児や二卵性双生児の研究結果に見られるように、遺伝的な要因により主に支配されているものと考えられている。しかしながら、筋トレーニング効果やその個体差が、どのように遺伝的要因により制御されているか十分に解明されていない。遺伝学的解析においては、受精後から出生までの環境の変化まで含める場合と、各細胞に内在する遺伝子の違いだけを考える場合がある。動物実験において生体に及ぼす環境的要因は、一般的に近交系同一系内の雌個体間の比較により解析される。遺伝的要因については、近交系の系統間の比較により確認される。そこで本研究では、基本的に遺伝機構の異なる近交系マウスを用い、トレーニングが骨格筋肥大に及ぼす影響について検討した。

方 法

上記の目的を達成するために、近交系の各系統マウスを用いて実験を行った。実験に用いた近交系マウスの系統特性については図1に示した。今回の実験では、6～7週齢の近交系マウスを用い

た（日本エスエルシー 株）。

骨格筋肥大のモデルとしては、Denny-Brownの開発した腱切除法⁴⁾を用いて実験を行った。このモデルの最大の長所は、短期間にトレーニング効果が見られることである。現在このトレーニングモデルは一般的に用いられている。具体的には足首を伸展する下腿背部の3本の筋、腓腹筋、ヒラメ筋、足底筋のうち一番大きな腓腹筋の腱を切除し、残された筋に代償的負荷をかける方法である。動物は温度、湿度とも完全自動制御された部屋で飼育された。餌や水の摂取はとくに制限を設けることなく自由とした。筋へのトレーニング効果は腱切除1週間後、ヒラメ筋、足底筋を取り出し、湿重量を測定して観察した。重量の測定には自動上皿天秤（AE 240：Metler）を用いた。

結 果

近交系マウスの筋トレーニングに対する遺伝的影響を検討するためトレーニング後、筋重量絶対値の差（肥大筋湿重量値—対照筋湿重量値）の比較を行った。その結果を図2、図3に示した。図に示した値は、近交系マウス各10匹の筋湿重量絶対値の差の平均値と標準誤差である。また各図には平均値の小さい値から大きい値を左から順に示した。速筋である足底筋のトレーニング効果は、系統間で大きな違いが見られた。図に示されるように、NZW/Nマウス群はトレーニング効果が一番大きく、増加量の小さかったC57BL系統の約4倍の値を示した。遅筋であるヒラメ筋の増加量は、足底筋の増加量の変化に比べ小さな値を示した。系統間の筋増加量の変化は、足底筋の増加量の変化と同一の変化を示した。

トレーニング効果を絶対値の差だけで比較する場合は、対照群における臓器組織の発達が同様な場合において比較することが可能である。今回は系統間の比較であることから筋の発達が一樣でなく、遺伝的影響を受け、発達過程に差があること

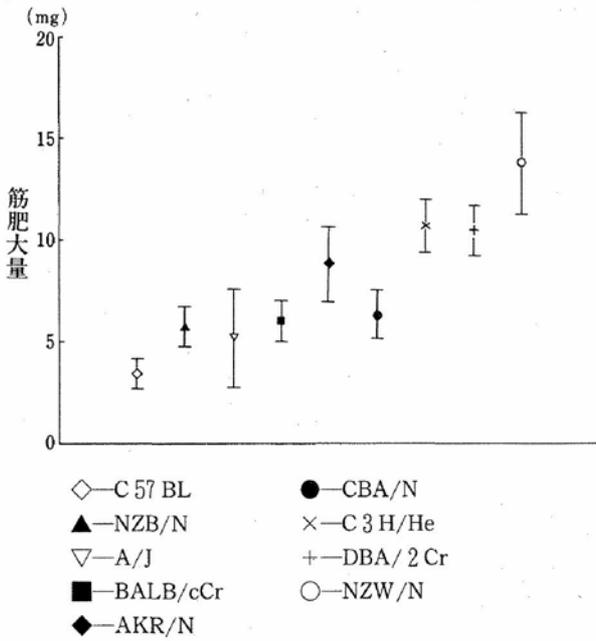


図2 異なる近交系マウスの筋肥大量の比較 (足底筋)
Mean±SE

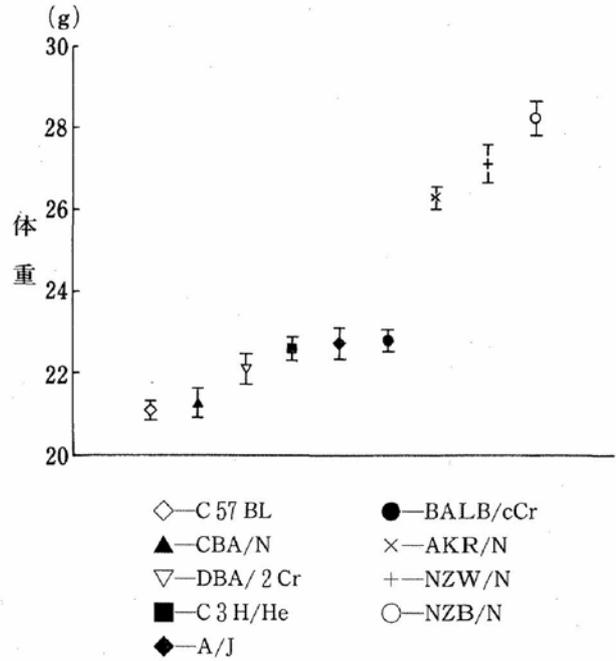


図4 異なる近交系マウスの体重の比較

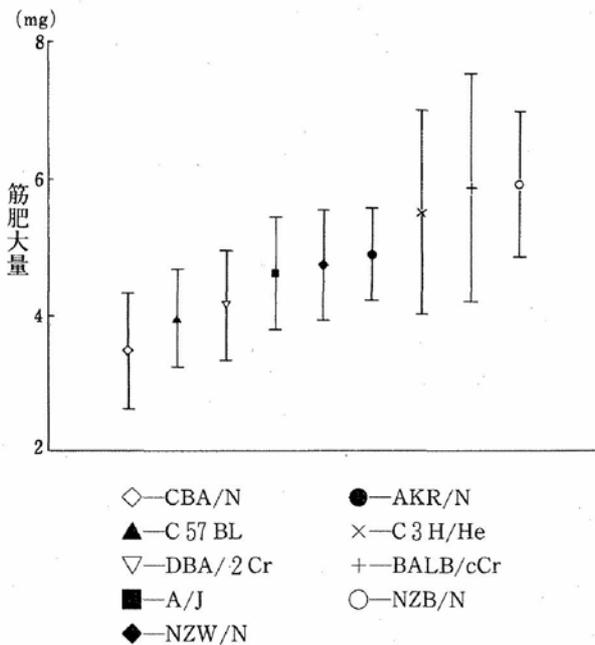


図3 異なる近交系マウスの筋肥大量の比較 (ヒラメ筋)

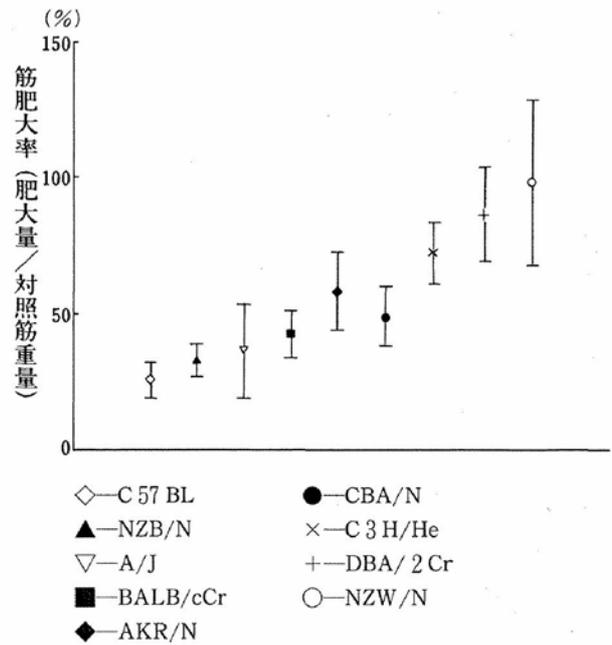


図5 異なる近交系マウスの筋肥大率の比較 (足底筋)
Mean±SE

が系統間の体重の比較から推察される (図4). そこで対照筋あたりの筋の肥大量について検討した (図5, 図6). 結果は絶対値の差の比較の場合と同様に, 系統間でヒラメ筋, 足底筋ともトレーニング効果に大きな違いが見られた.

遺伝的に身体の成長の程度は臓器組織により異

なり, リンパ系の発達, 性腺機能の発達, 骨の発達などが異なるが, 量的には体重の発育として一般的にとらえることも可能である. そこで体重あたりの筋増加量の比較を系統間で行った. 図7は足底筋に関して見たものである. 明らかに体重の影響が見られる系統もあるが, 基本的には絶対量

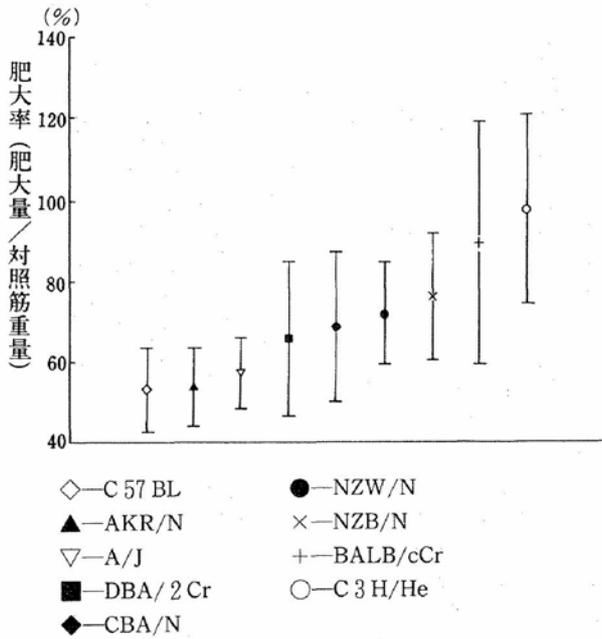


図6 異なる近交系マウスの筋肥大率の比較(ヒラメ筋) Mean±SE

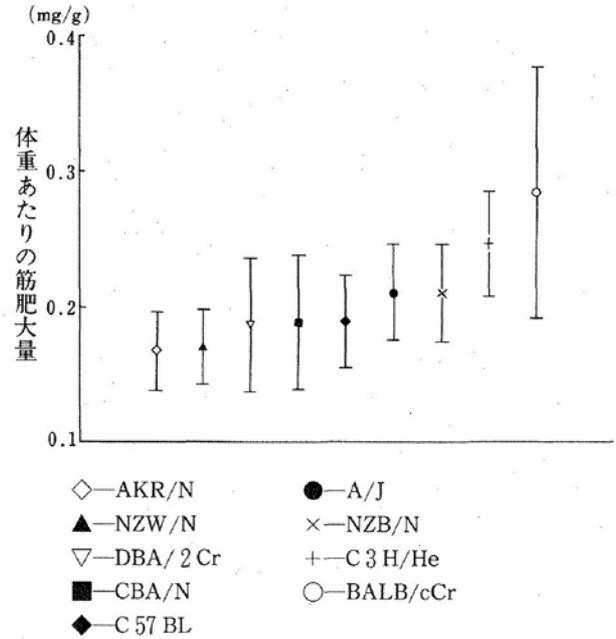


図8 異なる近交系マウスの筋肥大の比較(ヒラメ筋) Mean±SE

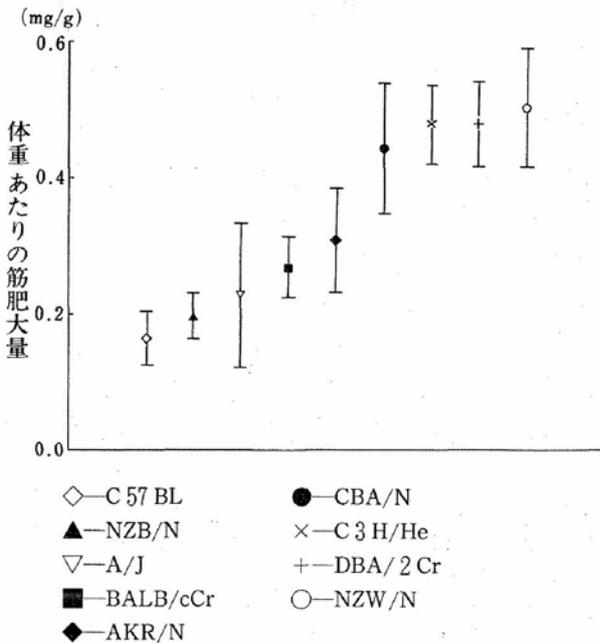


図7 異なる近交系マウスの筋肥大の比較(足底筋) Mean±SE

で比較した結果や、肥大率で見た結果と同様な傾向を示した。ヒラメ筋の結果は足底筋と同様な傾向を示したが、筋の増加量は足底筋に比べ小さな値であった(図8)。

以上の結果、トレーニングによる筋の肥大は、

遺伝的に支配されている可能性が非常に高いことを示している。

考 察

骨格筋の可塑性はどの臓器にもまして大きい。運動による筋の肥大、不活動による筋の萎縮、宇宙から帰還の骨や筋の萎縮、骨折のギブスの影響による筋の萎縮等骨格筋の可塑性は、これまでもさまざまな領域で観察されている^{3,5,9,11)}。この可塑性はどのように制御されているのか十分な解答は得られていない。今回の実験結果から、少なくともトレーニングによる骨格筋の肥大は、主に遺伝的に制御されていることを示している。一般に動物の身長、体重等の形態的成長は、主に遺伝的要因により決定されていることが知られている。その大きな役割を担っているのが成長ホルモンである。成長ホルモンは、成長には欠かすことができないホルモンとされている。このホルモンの欠如は小人症を誘発する。これらの事実が、筋の成長においても欠かすことのできないものであることが示唆されている。

生化学的に成長時のホルモンや成長因子の筋肥大における役割が指摘されている。しかしながら著者等¹¹⁾の下垂体除去ラットを用いたトレーニング実験において、正常ラット同様に筋肥大の効果が観察されたことから、成長ホルモンは骨格筋肥大にとって必須な因子でないことが判明した。しかしながら、IGF-Iがトレーニングにより誘導されることが示され、骨格筋肥大と密接な関係が示唆されている。そのIGF-Iは、成長ホルモンにより誘導されることが一般的に知られているが、下垂体除去ラットにおいても、IGF-Iの活性が筋肥大が盛んであることから、成長ホルモンを介さない別のIGF-Iの活性機構の存在が示唆されている¹³⁾。

このような実験結果から、トレーニングによる骨格筋の肥大は、一般的な成長ホルモンの遺伝的制御機構とは異なった機構に基づくものと考えられる。すなわち運動による臓器組織の発達過程は、一般的な過程とは異なり、特有の機構が存在するものと思われる。この機構についてはいまだ解明されていないが、とくに骨格筋として成長した筋細胞の周囲に存在するサテライト細胞の役割が注目され、骨格筋細胞の増殖機構と密接な関係があることが著者らの研究により判明している⁹⁾。また成長因子の由来については、筋細胞あるいはサテライト細胞そのものであることが強く示唆されているが、骨格筋肥大時に数多く出現するマクロファージにも成長因子が存在することから、その機構については解明されていない。しかしながらサテライト細胞が老化にともない減少することや、分裂能に限りがある¹²⁾ことなどから、発生過程で起こる中胚葉での筋細胞の形成機構に遺伝的な差が存在することが示唆される。

今回の実験で、動物が同じように運動をしたかどうかは、トレーニング効果を判定する場合には大きな問題である。運動の強度や運動の時間等の条件が一致していない場合は、必ずしも遺伝的な

影響と判定することはできない。しかしながら、このモデルは立位の状態ですら十分に負荷がかかるのが特徴であること、さらには同じ大きさのケージを用い飼育したことなどから、運動に関してはそれほど大きな違いがないものと考えられる。しかしながら、同じケージの中での運動量が異なることも考えられ、定量的に下肢にかかる運動負荷量を測定しなければならない。さらに飼育条件は一定の温度湿度条件下で行い、餌や水の摂取については任意とした。これらの食事の影響は体重に反映されるが、今回の実験において体重の変化と筋へのトレーニング効果は一致しないことから、食事の影響等は少ないものと思われる。

今回の実験結果で、筋へのトレーニング効果は主に遺伝的要因によるものであることが強く示唆されたが、今後これを確証するために遺伝学的解析法を用い、さらに研究を進めたい。実験で用いた6週齢の近交系マウスの発育発達過程が同じかどうかの問題が生じる。体重の違いからして発育発達過程の違いが示唆される。すなわち基本的には、筋の発達過程が同じような状態でトレーニング効果を比較すべきものと思われる。今回は暦年齢を基準にして実験を行ったが、筋の発育発達の形態的、機能的側面から適当な指標を探り、基準値を求めた実験を考えなければならない。

ま と め

遺伝的条件が均一な近交系マウスのいくつかの系統を用いて、遺伝的条件の違いが代償性筋肥大の発現に及ぼす影響について検討した。用いたマウスの系統はC 57 BL/ 10 Cr, NZB/N, A/J, AKR/N, CBA/N, BALB/cCr, C 3 H/He, DBA/ 2 Cr, NZW/Nの9系統で、6週齢の雄に腓腹筋腱切除を行った側をトレーニング筋とし、手術を行わなかった側を対照筋とし、トレーニング7日後に両足の足底筋とヒラメ筋を取り出して、0.01 mgまで測定可能な電子天秤で筋の湿重量をはか

り、トレーニング筋と対照筋の重量差を肥大量とした。筋肥大の大きさの指標として、筋肥大量の絶対値、マウスの体重1gあたりの肥大量、筋肥大量を対照筋の重量で除して求めた筋肥大率の3つについて系統間で比較すると、上位3系統と下位3系統間に危険率0.1%から5%の間で有意な差が見られた。

たとえば肥大率が一番小さかったC57BL/10Crでは足底筋の肥大率が25.5%であったが、最大値を示したNZW/Nではその4倍近い98.4%を示し、両群の間には0.1%の危険率で有意な差が認められた。筋肥大量の絶対値、マウスの体重あたりの肥大量の比較でも同様の傾向が見られたが、系統間の比較では肥大率を用いたときが最も大きかった。これらの差異はマウス個体間の胎内環境や成育環境の違いによって生じたと思われる、同一系統内での変動を上回る差が系統間で見られたことから、系統間の遺伝的条件の違いが差をもたらしたと思われる。また、遅筋であるヒラメ筋と速筋である足底筋を比較すると、後者にその傾向が顕著であった。

文 献

- 1) Haggmark, T., E. Jansson, B. Svane ; Cross-sectional area of the thigh muscle in man measured by computed tomography, *Scan. J. Clin. Lab. Invest.*, **38**, 355-360 (1978)
- 2) Gonyea, W. J., D. G. Sale, F. B. Gonyea, Mikesky ; Exercise induced increases in muscle fiber number, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **55**, 137-141 (1986) *Am. J. Physiol.*, **241** (Cell Physiol. 10) : C 93-C 97 (1981)
- 3) Alfred L. Goldberg, Joseph D. Etlinger, David F. Goldspink ; Charles Jablecki Mechanism of work-induced hypertrophy of skeletal

- muscle *Med. Sci. in sports*, **7**, 4, 248-261 (1975)
- 4) Denny-Brown, D.; Experimental studies pertaining to hypertrophy, regeneration and degeneration, *Neuromusc Dis.*, **38**, 147-196 (1961)
- 5) S. Yamada, N. Buffinger, J. Dimario, R. C. Strohman ; Fibroblast growth factor is stored in fiber extracellular matrix and plays a role in regulating muscle hypertrophy, *Med. Sci. Sports Exerc.*, **21** (5) pp. S173-180 (1989)
- 6) Kennedy, J. M., B. R. Eisenberg, S. K. Reid, L. J. Sweeney, R. Zak ; Nascent muscle fiber appearance in overloaded chicken slow-tonic muscle, *Am. J. Anal.* **181**, 203-215 (1988)
- 7) Gollnick, P. D., B. F. Timson, R. L. Moore, M. Riedy ; Muscle enlargement and number of fibers in skeletal muscles of rats, *J. Appl. Physiol.*, **50**, 936-943 (1981)
- 8) Lars Edstrom, Lennart Grimby Effect of exercise on the motor unit, *Muscle and Nerve* **9**, 104-126 (1986)
- 9) 山田 茂, 他 ; 骨格筋の肥大と萎縮—骨格筋に対する運動の影響について, *バイオメカニズム会誌*, **13**, 4, 166-176 (1984)
- 10) Morrison, P. R., Montgomery, J. A., Wong, T. S. Booth, F. W.; Cytochrome C protein synthesis in rats and mRNA contents during atrophy and recovery in skeletal muscles, *Biochem. J.*, **241**, 257-263 (1987)
- 11) Yamada, S.; Effect of work-load exercise on the compensatory muscle hypertrophy in the hypophysectomized rat, *Proceeding of the department of Sports Sciences, College of Arts and Sciences, the University of Tokyo*, **23** (1989)
- 12) E. Schultz, K. C. Darr ; The role of satellite cells in adaptive or induced fiber transformation Dirk Pette Edit *The Dynamic State of Muscle Fibers* Walter de Gruyter, Berlin, 667-679 (1990)

II 骨格筋のトレーニング効果と環境的要因

	東京大学	山田 茂
(共同研究者)	同	兵頭 圭介
	財団法人 民生科学協会 総合研究所	藤巻 正人
	同	内間 高夫
	慶応大学	篠原 しげ子

Effect of Environmental Factors on the Induction of Skeletal Muscle Hypertrophy

by

Shigeru Yamada, Keisuke Hyodo

*Department of Sports Sciences, College of Arts
and Sciences, The University of Tokyo*

Masato Fujimaki, Takao Uchima

Public Welfare Institute of Scientific Research Foundation

Shigeko Shinohara

Sports Scientific Research Center, Keio University

ABSTRACT

The effect of muscle training is dependent on both genetic and environmental factors. We demonstrated the effect of genetic factors on muscle training using some inbred mouse strains which show a coefficient of inbreeding of more than 98%. Experiments on these mice have shown that genetic factors are mainly responsible for the induction of skeletal muscle hypertrophy. On the basis of this finding, we focused on the effect of environmental factors on the induction of skeletal muscle hypertrophy using tenotomy. Six-week-old inbred NZW/N, NZB/N and A/J were used. Muscles (soleus and plantaris) were removed on the 7th day after the operation, and wet

weight was measured with an electronic balance.

Although the weight of the plantaris muscle in NZW/N mice increased significantly higher rate than in NZB/N mice, we were unable to observe any difference in the rate for the soleus muscle between the two strains ($P < 0.05$). Measurement of the absolute increase of muscle weight after the experiment showed that those of the soleus and plantaris muscles in NZW/N mice were significantly higher than in NZB/N mice. Furthermore, the mean balance of plantaris muscle weight in NZW/N mice was significantly higher than in A/J mice

まえがき

トレーニング効果は運動刺激に対し、個体に内在する遺伝情報系がいかにかに反応を示すかによって決定される。一般的にこの遺伝情報機構の許容能を広い意味でトレーナビリティと呼ぶことができる。このトレーナビリティは大きく二つに分けて考えることが可能である。一つは遺伝的のもので、運動刺激が両方の親から分け与えられた遺伝子に作用し、刺激にあった適応反応を示す形態である。これは遺伝的に決定されたものである。二つめは受精から出生までの環境的变化に適応した、所謂生来的なものである。つまり遺伝的適応過程が同一の場合は、母体内での適応過程や生後の環境的因子に作用される場合が多いものと考えられる。すなわち、運動刺激に対する反応の仕方が母胎内や生後の学習により異なる。このように、トレーナビリティの個体差は基本的には遺伝的背景を基盤になりたっているが、環境的な要因も大きく影響するものと思われる。トレーナビリティに対する環境的要因の影響を検討する場合、遺伝的に同一のものが要求される。一般的に遺伝学や心理学等の分野において、実験動物として近交系の動物が使用されている。近交系とは、兄妹交配を20世代以上反復してできた動物の系

統と定義される¹⁾。近交系動物は98%以上の遺伝子が同祖接合であり、遺伝的には同じものであるとされている¹⁾。すなわち、近交系マウスにおいても系統により、基本的に染色体の構造や機構が異なっている。そこでこれらの事実を背景に、同一

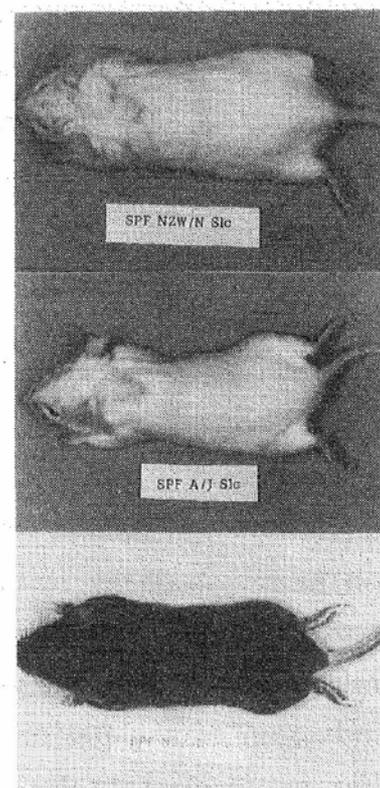


図1 本実験に用いた近交系マウス3系統

近交系内雌個体間マウスを用い、環境的因子の筋肥大に及ぼす影響について検討した。

方 法

上記の目的を達成するために、同一系統内雌個体間マウスを用いて実験を行った。実験に用いた近交系マウスを図1に示した。

近交系マウスは6~7週齢のものを用いた(日本エスエルシー(株))。運動による骨格筋肥大のモデルは、先の著者らの方法によった^{2,5)}。動物は室温湿度とも完全自動化された部屋で飼育された。餌や水の摂取はとくに制限を設けることなく自由とした。トレーニング効果は腱切除一週間後、ヒラメ筋、足底筋を取り出し湿重量を測定した。重

量の測定には自動上皿天秤(AE 240; Metler)を用いた。

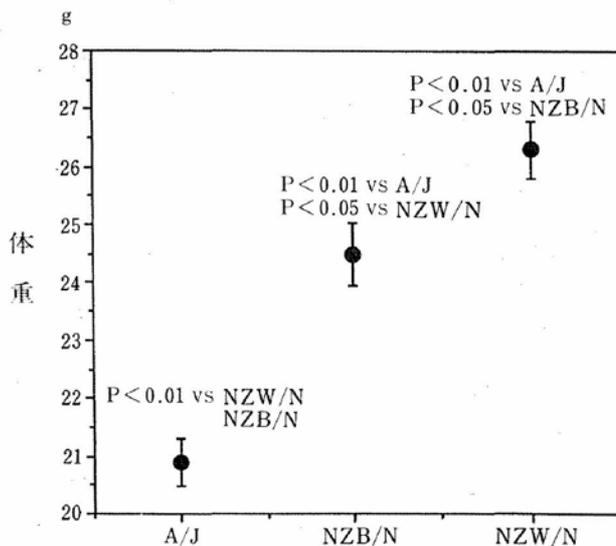


図3 異なる近交系マウスの体重の比較 (Mean±SE)

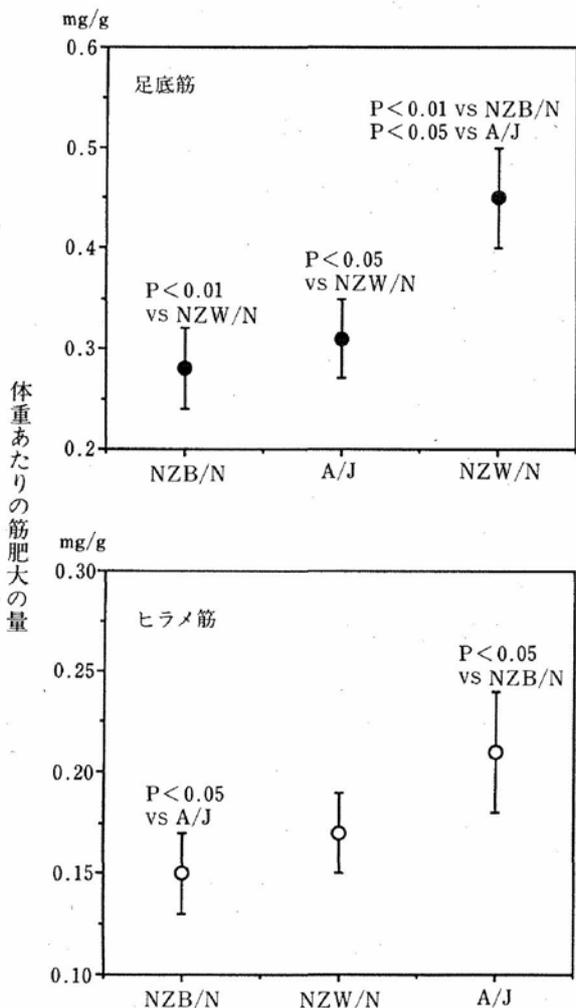


図2 異なる近交系マウスの筋肥大量の比較 (Mean±SE)

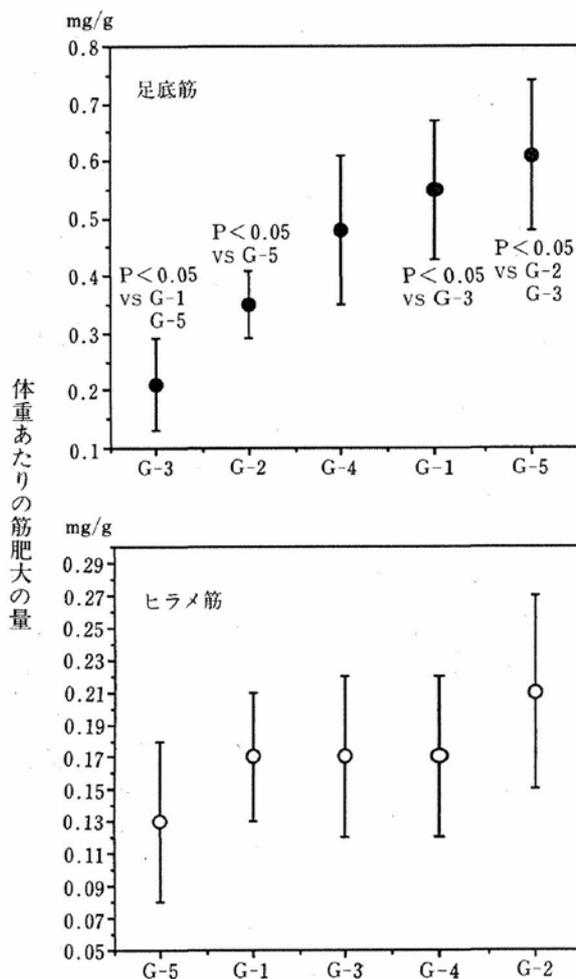


図4 同一近交系内雌個体グループ間の筋肥大量の比較 (NZW/N) (Mean±SE)

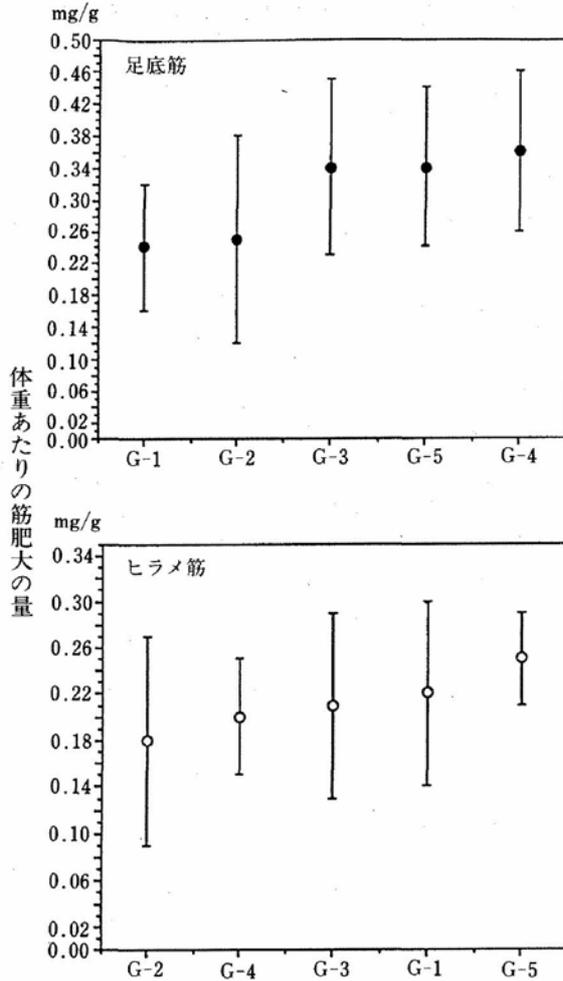


図5 同一近交系内雌個体グループ間の筋肥大量の比較 (A/J) (Mean±SE)

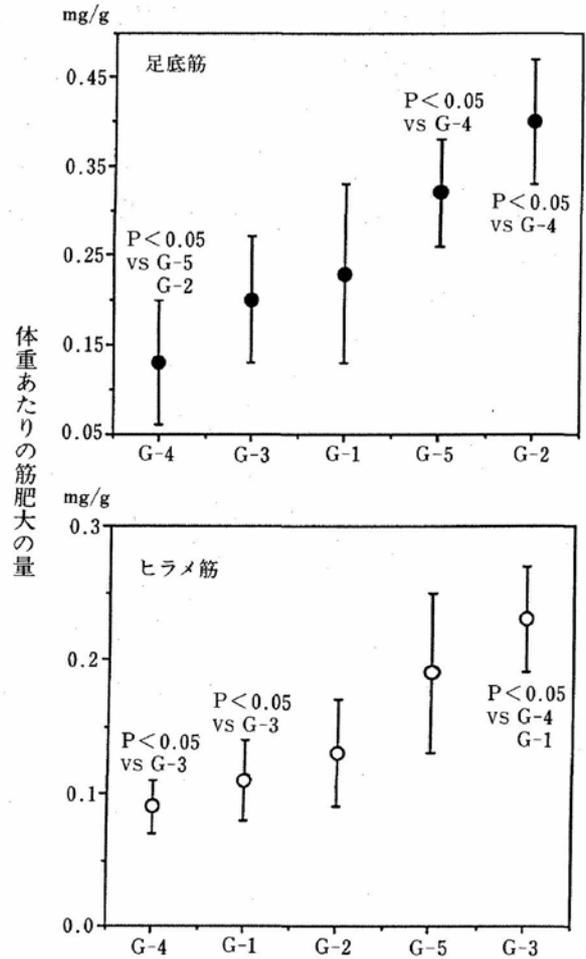


図6 同一近交系内雌個体グループ間の筋肥大量の比較 (NZB/N) (Mean±SE)

結 果

遺伝的にトレーニング効果が異なり、代償性筋肥大で大きな値を示した NZW/N マウス、小さな値を示した NZB/N マウスと、それらの中間的な値を示した A/J マウスのそれぞれの群について、環境的要因の影響について検討した。図2は NZW/N, NZB/N, A/J マウス各群のトレーニング後の体重あたりの筋重量の比較である。足底筋は系統間に統計的に有意な変化が見られ、筋の増加量は NZW/N > A/J > NZB/N の順であった。ヒラメ筋においては足底筋の結果とは異なり、筋の増加量は A/J > NZW/N > NZB/N の順であっ

た。すなわち、トレーニングの結果は系統間で速筋と遅筋のトレーニング効果が異なり、各系統特有の変化を示した。

各系統での臓器組織の発育程度が異なることから、身体全体の発達程度も異なる(図3)。そこで筋重量の増加量を体重あたりの変化で検討した。図4, 図5, 図6は NZW/N, NZB/N, A/J 各群のトレーニング後の体重あたりの筋重量値の比較である。図1は NZW/N について検討したものである。図には速筋である足底筋と、遅筋であるヒラメ筋に対する違いについて示した。足底筋において、明らかにトレーニング効果が雌個体間で異なることを示している。しかしながらヒラ

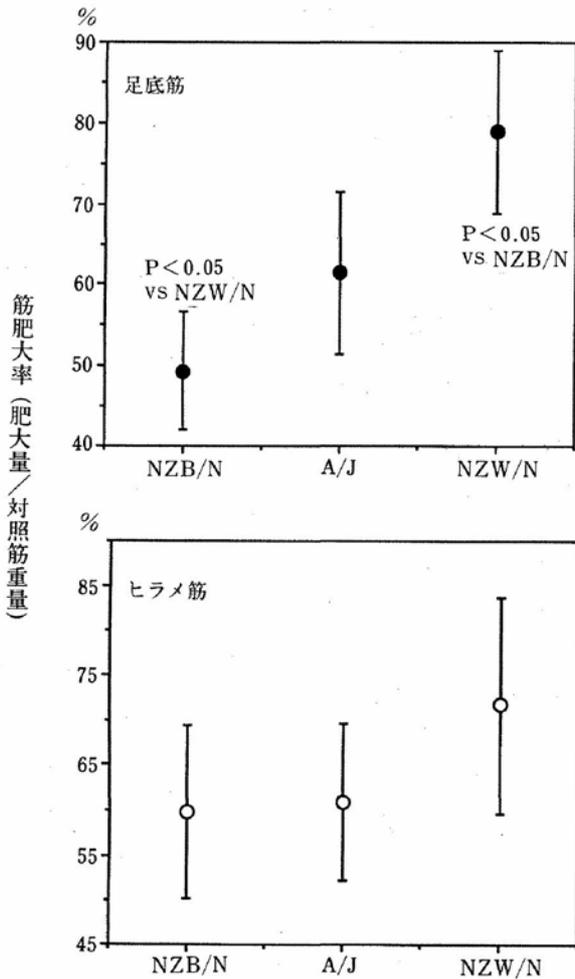


図7 異なる近交系マウスの筋肥大率の比較 (Mean±SE)

メ筋においては、雌個体間に統計的に有意な変化は見られなかった。図5はA/Jの体重あたりの足底筋とヒラメ筋の重量の違いについて見たものである。この近交系マウスA/Jでは雌個体間で、足底筋にもヒラメ筋にも統計的に有意な変化は見られなかった。図3はNZB/Nの体重あたりの足底筋とヒラメ筋の重量の違いについて見たものである。このNZB/Nマウスにおいては足底筋、ヒラメ筋ともに雌個体間で統計的に有意な変化が見られた。

対照筋あたりの割合で比較したのが図7である。足底筋は体重あたりの筋の肥大量と同様に、NZW/NとNZB/N間に統計的に有意な変化が見

られ、NZW/N>A/J>NZB/Nの順であった。しかしながら、ヒラメ筋においては系統間に統計的に有意な変化が見られなかった。

系統間の筋の発育過程が異なることから、対照筋当たりの変化について検討した(図8, 9, 10)。図8はNZW/Nの同腹マウス5グループを比較したものである。速筋である足底筋の肥大率の比較ではG1とG3, G4間には統計的に有意な変化が見られた。しかしながら遅筋であるヒラメ筋においては目立った変化は見られなかった。図9はA/Jの同腹マウス5グループを比較したものである。このマウスにおいてはヒラメ筋、足底筋ともグループ間で顕著な変化は見られなかった。図10はNZB/Nの同腹マウス5グ

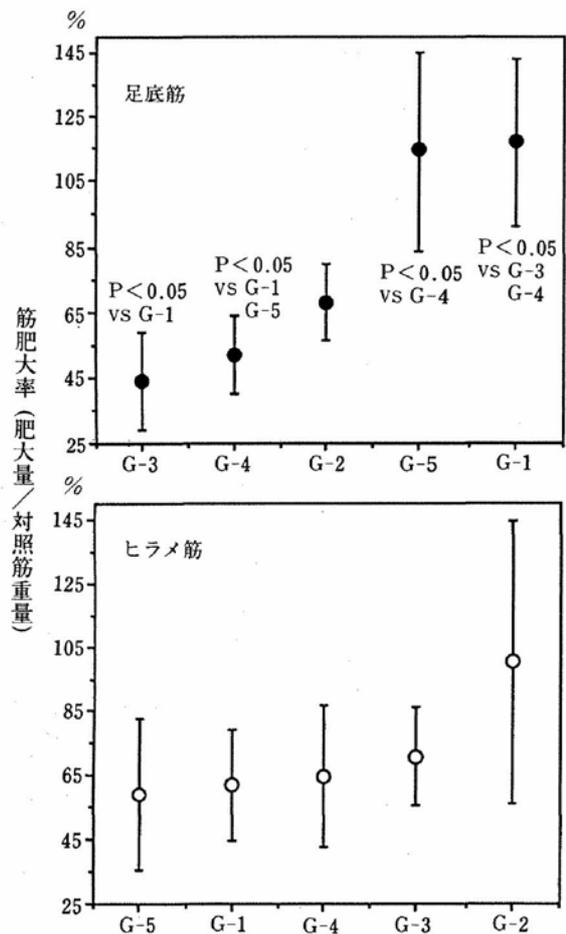


図8 同一近交系内雌個体グループ間の筋肥大率の比較 (NZW/N) (Mean±SE)

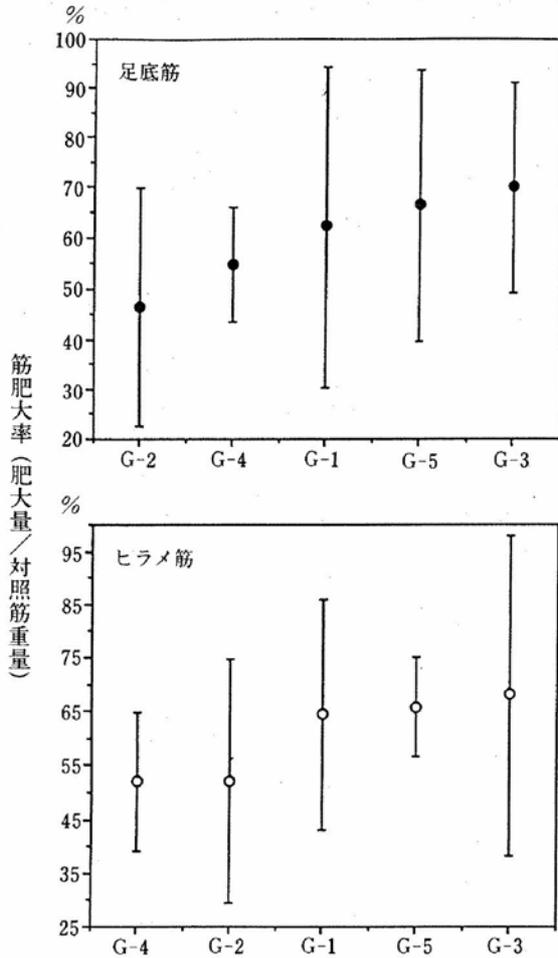


図9 同一近交系内雌個体グループ間の筋肥大率の比較 (A/J) (Mean±SE)

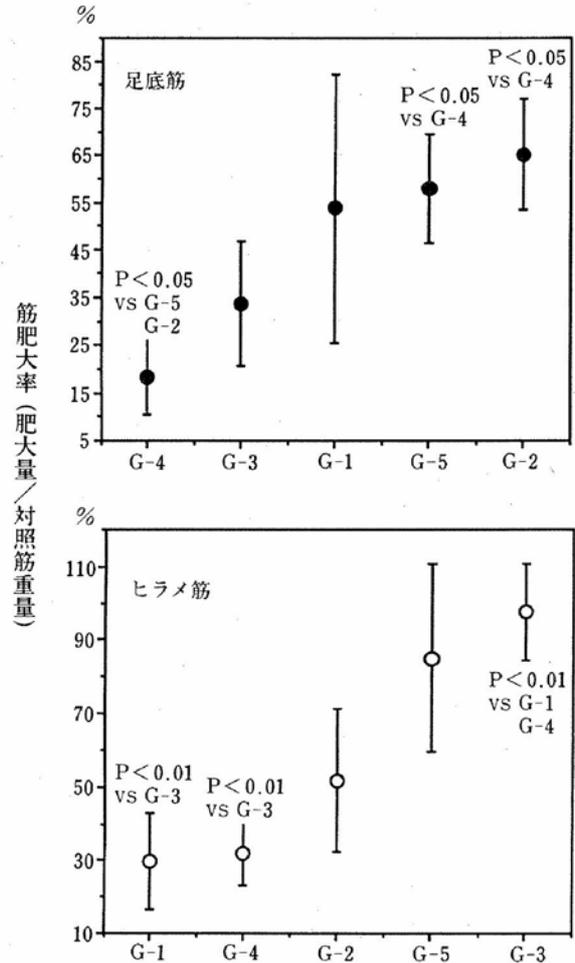


図10 同一近交系内雌個体グループ間の筋肥大率の比較 (NZB/N) (Mean±SE)

グループを比較したものである。このマウスにおいてはヒラメ筋、足底筋ともグループ間に統計的に有意な変化が見られた。

考 察

今回の実験では、同一系統内雌個体間マウスの筋肥大に及ぼす環境的要因の影響について検討した。基本的に、近交系雄マウスからの遺伝情報は同じものと考え、成長に及ぼす影響は雌マウスの胎内での環境条件や飼育環境に依存する。さらに生後の食事条件や温度湿度など環境的な要因によるものも考えられる。個体差は受精後から出生、出生後の環境的要因が生体のさまざまな機能

に刺激し、その適応の結果として表現される。今回の実験において、運動刺激の受容機構および反応機構が遺伝的に決定された近交系マウス間において、同一系統内での環境因子、つまり運動への適応の仕方の筋の肥大に対する量的反応の違いについて検討した。

今回の実験では、受精後の母体内環境をも含め、生後の食事条件や温度湿度など環境的要因が大きく影響しているにもかかわらず、系統間の骨格筋の肥大量には明らかな遺伝的影響の違いが観察された。さらに同一系統内マウスの研究においては、環境的な要因が大きく、筋トレーニング効果に影響を及ぼすものもあれば、ほとんど同一系

統内では影響を受けないマウスのグループも見られた。これらの結果は、今回用いた近交系内マウスの遺伝的背景によることが示唆され、非常に興味深いものであった。雌個体間に筋肥大の差が見られなかった系統においては、肥大が起きているものの雌個体内で大きな数値のばらつきが見られた。また、雌個体間に筋肥大の差が見られた系統においては、雌個体内での数値のばらつきはほぼ同じような傾向を示した。これらの結果は基本的に、運動負荷量と運動刺激に対する受容—反応機構による違いによるものと思われる。

ストレッチングが筋細胞の増殖や肥大を誘導し、ストレッチングの程度や負荷量の違いが肥大量を変えることが報告されている³⁾。しかしながら、このような機械的な刺激が筋細胞の増殖や肥大の生理生化学的機構へ及ぼす過程については十分に解明されていない。骨格筋の萎縮や肥大時に特異的に出現する 64 KDa タンパク質^{4,5)}や、22 KDa タンパク質の役割については十分解明されていないが、必然的な要因であることが示唆されている。この 64 KDa タンパク質の欠如が筋肥大を抑制することが知られている^{4,5)}。さらに近交系マウス実験において、68 KDa タンパク質の増加が筋の肥大と密接な関係があることを示唆している⁶⁾。このような結果は、骨格筋の生化学的肥大機構の解明に役立つばかりでなく、肥大機構の遺伝的な違いを指摘できるものと思われる。

また今回の実験で骨格筋の違いにより筋トレーニング効果の違いが見られた。一般にトレーニングの方法は目的によって異なる。トレーニングにより筋を構成する筋繊維の割合を変える可能性が指摘されている⁷⁾。また、筋繊維の特性は遺伝的に決定されていることが指摘されている。中胚葉由来の細胞から筋芽細胞へ決定された細胞は分化し、筋細胞として形成される。この細胞が、いつどの段階で速筋細胞、遅筋細胞として決定されるのかはいまだ明らかにされていない。基本的に筋

繊維タイプは筋の構造を構成する収縮タンパク質や調節タンパク質の生化学的、免疫学的特性の違い、あるいはエネルギー代謝上の酵素活性の違いを指標に速筋細胞、遅筋細胞と分類されたものである⁸⁻¹³⁾。生理学的には筋細胞の放電間隔やそのばらつきを T 曲線、K 曲線として観察した結果に基づくものである¹⁴⁾。以上の結果から、骨格筋の肥大に対して環境的要因の影響が大きく関与することが判明した。これらの要因が、骨格筋細胞の肥大機構や増殖機構にどのように関与しているのかは不明であるが、発生過程での骨格筋形成機構に対する環境的要因についての研究が求められる。

ま と め

筋のトレーニング効果は、遺伝的要因と環境的要因によって決定されている。近交係数 98% 以上を示し、遺伝的にきわめて個体差が少ないとされる近交系マウスにおいて、系統間に筋肥大のトレーニング効果が確認され、遺伝的要素がトレーニング効果に大きく影響を及ぼしていることが判明した。そこで今回は、基本的にトレーニングに対する環境的要因の影響を各近交系マウスが受けるかどうかについて検討し、さらに系統間の環境的要因の授受の影響について検討した。実験は近交系マウス、NZW/N、NZB/N および A/J の 3 系統で生後 6 週齢のマウスを用いた。運動負荷はテノトミー法により行い、術後 1 週間でヒラメ筋と足底筋を取り出し、その湿重量を測定した。系統間での比較では、筋の肥大量/対照筋重量で見ると、ヒラメ筋に統計的有意差は見られなかったものの、足底筋においては NZW/N は NZB/N に対して効果が見られた ($P < 0.05$)。一方、肥大量の結果から、NZW/N は NZB/N に対して、ヒラメ筋 ($P < 0.05$)、足底筋 ($P < 0.01$) とともに高いトレーニング効果が認められ、また NZW/N は A/J に対しても足底筋で統計的に有意に高い値 (P

< 0.05) を示した。

文 献

- 1) 黒田行昭編; 織田銑一動物遺伝学実験法 (マウス), 遺伝学実験法講座共立出版
- 2) 山田 茂, 他; トレーニング効果と個体差の研究 (その1) 骨格筋トレーニング効果と遺伝, デサントスポーツ科学投稿中
- 3) Summers, P. J., C. R. Ashmore, B. Y. Lee, Eills ; Stretch-induced growth in chicken wing muscle : Role of soluble growth promoting factor, *J. Cell Physiol.*, **125**, 288-294 (1985)
- 4) 山田 茂, 他; 骨格筋肥大と成長因子, 運動生化学, **1**, 15-38 (1989)
- 5) S. Yamada et al.; Purification, Molecular properties and biosynthesis of a specific protein component induced compensatory in the rat skeletal muscle, *Biochim. Biophys. Acta.*, **798**, 260-267 (1984)
- 6) 山田 茂, 他; トレーニング効果と個体差の研究 (その3) 筋トレーニング効果の生化学的解析, デサントスポーツ科学投稿中
- 7) Thomason, DB., R. E. Herrick, D Surdyka, Baldwin ; Time course of soleus muscle myosin expression during on myosin isoform expression during hindlimb suspension and recovery, *J. Appl. Physiol.*, **63**, 130-137 (1987)
- 8) Whalen, R. G., S. M. Sell, G. S. Butler, K. Schwartz, P. Bouveret, T. Pinse ; Three myosin heavy chain isozymes appear sequentially in rat muscle development, *Nature.*, **292**, 805-809 (1981)
- 9) Saad, A. D., T. Obinata, D. A. Fishman ; Immunochemical analysis of protein isoforms in thick myofilaments of regenerating skeletal muscle, *Dev. Biol.*, **119**, 336-349 (1987)
- 10) Matsuda, R., D. H. Spector, R. C. Strohman ; Regenerating adult chicken skeletal muscle and satellite cell culture express embryonic patterns of myosin and tropomyosin isoforms, *Dev. Biol.*, **100**, 478-488 (1983)
- 11) Bader, D., it. Masaki, D. Fischman ; Immunochemical analysis of myosin heavy chain durin avian myogenesis in vivo and in vitro, *J. Cell Biol.*, **95**, 763-770 (1982)
- 12) Weydert, A., P. Daubas. M. Caravatti, et al.; Sequential accumulation mRNAs encoding different myosin heavy chain isoforms during skeletal muscle development in via detected with a recombinant plasmid identified as coding for an adult fast myosin heavy chain from mouse skeletal muscle, *J. Biol. Chem.*, **258**, 13867-13874 (1983)
- 13) Weydert, A., P. Daubas, I. Lazarides, et al.; Genes for skeletal muscle myosin heavy chains are clustered and are not located on the same mouse chromosome as a cardiac myosin heavy chain gene, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 7183-7187 (1985)
- 14) Burke R. E.; Motor unit types of cat triceps surrate muscle, *J. Physiol. (lond)*, **193**, 141-160 (1967)

Ⅲ トレーニングした骨格筋の生化学的解析

	東京大学	山田 茂
(共同研究者)	同	兵頭 圭介
	財団法人 民生科学協会 総合研究所	藤巻 正人
	同	内間 高夫
	慶応大学	篠原 しげ子

Changes of Muscle Protein Components in Skeletal Muscle Hypertrophy

by

Shigeru Yamada, Keisuke Hyodo

*Department of Sports Sciences, College of Arts
and Sciences the University of Tokyo*

Masato Fujimaki, Takao Uchima

Public Welfare Institute of Scientific Research Foundation

Shigeko Shinohara

Sports Scietific Research Center, Keio University

ABSTRACT

As an initial step for investigating the morphological and biochemical changes accompanying muscle hypertrophy in inbred mouse strains, the proteins of hypertrophied muscles were compared with those of control muscles. Compensatory hypertrophy was induced by tenotomy of mouse skeletal muscles and the muscle proteins were analyzed electrophoretically. NZW/N and A/J mice about 7 weeks old strain were used. The tenotomy method, developed by Denny-Brown, was used for applying a work load to skeletal muscles. Muscle showing compensatory hypertrophy at 7 days after operation were kept for analysis at -90°C .

The frozen muscle was then homogenized in liquid nitrogen and resolved in SDS-buffer for the Laemmli electrophoresis system. The extract was boiled for 5 min at 100°C in a water bath. Sodium dodecylsulfate polyacrylamide electrophoresis of muscle proteins was carried out as described by Laemmli using 10% acrylamide gel in a slab gel electrophoresis apparatus. Comparison of the electrophoretic patterns of soleus muscle protein between NZW/N and A/J mice showed a conspicuous difference in both staining intensity and protein pattern. Similar results were also observed for the plantaris muscle. An especially conspicuous difference of staining intensity was seen for a protein corresponding to a molecular mass 68 KDa between control and hypertrophic plantaris muscle. This increment of 68 KDa protein after tenotomy was observed in both NZW/N and A/J mice. Therefore, the increase and decrease of this 68 KDa protein might be closely related to work-induced skeletal muscle hypertrophy.

まえがき

骨格筋の肥大と遺伝的要因との関係を解析するために、遺伝子発現に着目した。手始めとして、表現形態であるタンパク質の変化から研究を行った。このタンパク質の研究を始める手順として、基本的には二つの変化に着目した。一つは、トレーニングを始める前に表現された筋タンパク質に、質的あるいは量的に基本的な違いがあるかどうか。二つめには、トレーニング後の筋タンパク質の表現形態に違いが見られるかどうかである。これらの違いを解析することが、トレーニング効果や個体差を理解する指標になることが考えられる。著者等の前報告¹⁾に見られるように、近交系マウスは集団遺伝学的解析により、筋トレーニング効果に対し、遺伝的要因が大きく影響することを示した。そこでこの問題を解析するために、近交系マウス NZW/N と A/J を用いて研究を行った。

方 法

実験には6～7週齢の近交系マウス NZW/N、と A/J を用いた (日本エスエルシー 株)。骨格筋肥大のモデルとしては、Denny-Brown の開発した腱切除法を用いて実験を行った²⁾。このモデルは、短期間にトレーニング効果が見られることが最大の長所として考えられている。具体的には、足首を伸展する下腿背部の3本の筋、腓腹筋、ヒラメ筋、足底筋のうち、一番大きな腓腹筋の腱を切除し、代償的に筋に負荷をかける方法である。動物は室温湿度とも、完全自動化された部屋で飼育された。餌や水の摂取は、とくに制限を設けることなく自由とした。トレーニング効果は腱切除1週間後、ヒラメ筋、足底筋を取り出し、重量を測定して観察した。重量の測定には、自動上皿天秤 (AE 240; Metler) を用いて行った。タンパク質の解析のため、骨格筋を Bullkraft を用い筋を破碎した。その後、Laemmli³⁾ のサンプル緩衝液に溶かすために、100度で5分加温した。その後、

10,000 rpm で遠心後の上清を電気泳動で解析した。泳動後支持体 (10% アクリルアミドゲル) は Coomassie Brilliant Blue R-250 で染色した。

結 果

表現形態としての、筋タンパク質の遺伝的な量的、および質的な違いについて検討した。

図1はトレーニング前の足底筋とヒラメ筋のタンパク質電気泳動パターンについて見たものである。足底筋とヒラメ筋においては、大きな違いが認められる。ヒラメ筋の両系統間の違いは図1に見られるように、明らかに異なり、分子量 20 KDa から 40 KDa の間において違いが認められた。しかしながら、速筋である足底筋においては、このゲル濃度での解析結果においては大きな違いは認められなかった。この結果、遺伝的に筋を構成するタンパク質には、系統間で明らかな違いが遅筋で見られた。しかしながら、速筋においては観察されなかった。

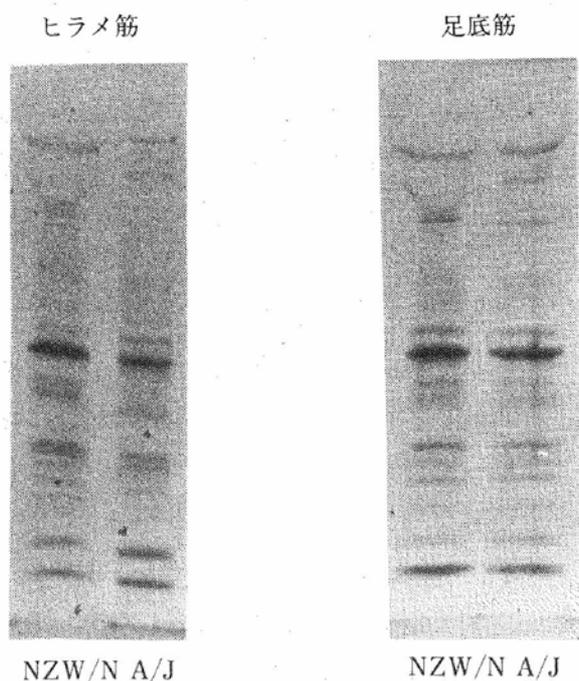


図1 近交系マウス NZW/N と A/J のタンパク質の比較

つぎに、トレーニング前後の筋タンパク質の電気泳動パターンについて比較したのが図2、図3である。明らかにどの系統においても、分子量 68 KDa のタンパク質の増加がトレーニング後の肥大筋で観察された。すなわちこの分子量 68 KDa タンパク質の増加は、骨格筋の肥大に対して重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに分子量約 1.2 KDa タンパク質にも増加の影響が見られた。これらの変化は、トレーニング後の足底筋、ヒラメ筋とも共通に見られた。この事実からも、このタンパク質の必然性が示唆された。

考 察

運動による骨格筋の肥大は、生理的要求に見合った適応現象である。今回の実験で用いたテノトミー法は、骨格筋肥大研究のモデルとして一般的に使用されている手法である。今回マウスを用いた実験結果においても、術後1週間で筋の重量

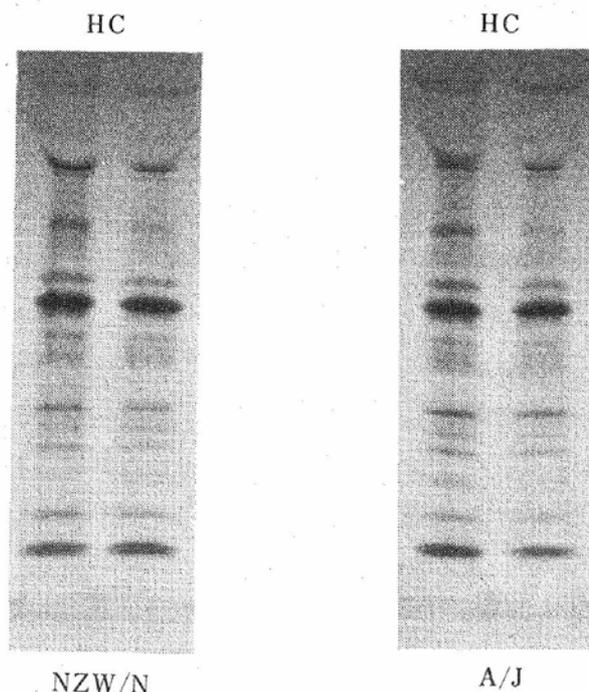


図2 近交系マウス NZW/N と A/J のトレーニング後のヒラメ筋タンパク質の比較 (H=肥大筋, C=対照筋)

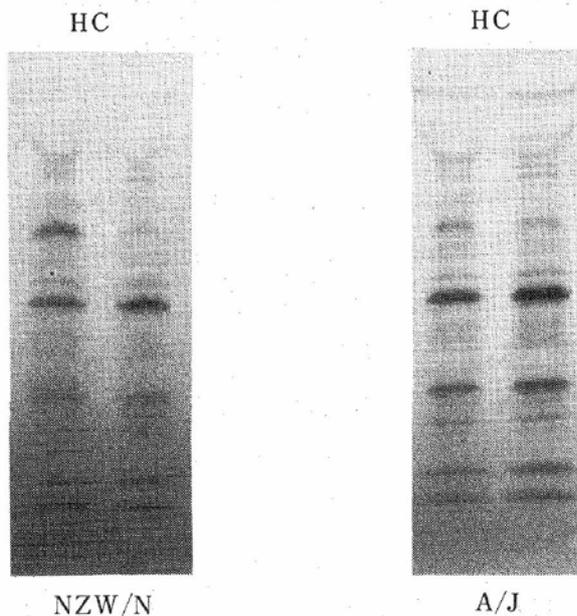


図3 近交系マウスNZW/NとA/Jのトレーニング後の足底筋タンパク質の比較 (H=肥大筋, C=対照筋)

は速筋、遅筋とも統計的に有意に増加した。これまで、著者等は代償性の筋肥大モデルの実験において、湿重量、乾重量の増加、組織学的には筋細胞の肥大、増殖、生化学的には、64 KDa タンパク質の増加⁶⁾、内分泌学的には、繊維芽細胞成長因子の増加等を報告した⁵⁾。今回の実験で近交系マウスはどの系統においても、骨格筋の肥大にともない、68 KDa タンパク質が増加したのは興味深い。さらに筋肥大量が顕著な群において、この68 KDa タンパク質の増加が多いことから、筋の肥大化と密接な関係が示唆される。今回この68 KDa タンパク質の同定の実験を行っていないが、著者らがこれまで報告したタンパク質と非常によく似たものである。

これまでの実験で、64 KDa タンパク質が代償性筋肥大で増え、アミノ酸の分析の結果、アルブミンと酷似したタンパク質であることが判明し

た⁶⁾。免疫学的実験においても、血清アルブミンとの反応を示した。しかしながらアルブミンは肝臓で合成され、他の臓器では合成されないことが一般化されている。そこで骨格筋肥大での64 KDa タンパク質の増加の由来について検討した結果、骨格筋そのものであることが判明した⁶⁾。この64 KDa タンパク質の役割についての生化学的機構についてはいまだ解明されていないが、無アルブミン症ラットを用いた代償性筋肥大の実験において、筋肥大が抑制されたことから、骨格筋の肥大に対し必然的な要因であることを示唆している⁴⁾。

今回の実験において非常に重要なことは、68 KDa タンパク質の増加が骨格筋の肥大と密接に関係していたことと、系統間に違いが見られ、68 KDa タンパク質の合成能と筋肥大の間には密接な関係があることを示唆している。しかしながら、この68 KDa タンパク質が著者らの報告した64 KDa タンパク質と同じものであるかどうか明らかでないが、今後この68 KDa タンパク質を精製後、生化学的特性や免疫学的特性から同定し、骨格筋肥大での役割を解明したい。さらに系統間においても、68 KDa タンパク質の筋肥大時の挙動が異なることから、各系統の68 KDa タンパク質の合成能について検討したい。これらの実験が、トレーニングによる効果の違いや、個体差を解明する突破口になればと考えている。

ま と め

骨格筋肥大機構における遺伝的背景を探るために、テノトミーによる筋肥大時において、肥大率の大きかった近交系マウスNZW/Nと、肥大率の小さかった近交系マウスA/Jを用い、筋構成タンパク質との関係を検討した。6～7週齢の両系統同腹マウスの後肢腓腹筋の腱を切除し、ヒラメ筋と足底筋に代償性筋肥大を誘導した。左足は対照筋とした。1週間のトレーニング後、ヒラメ筋と足底筋を採取し、湿重量測定後直ちに液体窒

素で凍結し、分析まで -90°C で保存した。筋肉を Bullkraft で破碎し、トリス緩衝液に懸濁し、Leammler 系のサンプル緩衝液を加え、 100°C で5分間煮沸し筋タンパク質を抽出した。その後溶解した筋タンパク質を10,000 rpm で遠心し、その上清を SDS 電気泳動法により解析した。対照筋のヒラメ筋について、筋タンパク質の解析パターンを NZW/N と A/J 系統間で比較すると、両系統の間でいくつかの差異が認められた。トレーニング群の足底筋においても、両系統の間で差異が認められた。また肥大筋において、両系統ともに共通して増大する、分子量 68 KDa タンパク質が観察された。

対照群のヒラメ筋において、系統間の筋タンパク質に差が見られたことから、筋の構成タンパク質には、系統間で遺伝的な違いが存在することが判明した。またトレーニング群の足底筋タンパク質に認められた差異は、トレーニングおよび環境に対する反応にも遺伝的条件が影響することをうかがわせる。両系統ともに筋肥大にともない、特異的に変化するタンパク質が存在したことは、筋肥大機構を探る上で興味深い。

文 献

- 1) 山田 茂; トレーニングと個体差に関する研究—骨格筋のトレーニング効果と遺伝
- 2) Denny-Brown, D.; Experimental studies pertaining to hypertrophy, regeneration and degeneration, *Neuromusc Dis.*, **38**, 147-196 (1961)
- 3) Leammler, U. K.; Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature (Lond)*, **227**, 680-685 (1970)
- 4) 山田 茂, 他; 骨格筋肥大と成長因子, *運動生化学*, **1**, 15-38 (1989)
- 5) S. Yamada et al.; Fibroblast growth factor is stored in fiber extracellular matrix and plays a role in regulating muscle hypertrophy, *Med. Sci. Sports Exerc.*, **21**, 5, S173-180 (1989)
- 6) S. Yamada et al. Purification; Molecular properties and biosynthesis of a specific protein component induced compensatory in the rat skeletal muscle, *Biochim. Biophys. Acta.*, **798**, 260-267 (1984)
- 7) 山田 茂, 他; 骨格筋の肥大と萎縮—骨格筋に対する運動の影響について, *バイオメカニズム会誌*, **13**, 4, 166-176 (1984)

IV 腓切除が骨重量に及ぼす影響

相模女子大学 山本 順子

(共同研究者) 東京大学 山田 茂
財団法人 民生科学協会 内間 高夫
総合研究所 藤巻 正人
同

Effect of Tenotomy on Bone Weight

by

Yoriko Yamamoto

Sagami Women's University

Shigeru Yamada

*Department of Sports Sciences, College of Arts
and Sciences the University of Tokyo*

Takao Uchima, Masato Fujimaki

Public Welfare Institute of Scientific Research Foundation

ABSTRACT

The effect of tenotomy on bone weight was studied in order to investigate the mechanism of bone formation in terms of quantitative and qualitative difference by exercise stimulus and individual differences in bone formation. A/J, NZB/N, NZW/N and AKR/N inbred mice were used for observing the influence of genomic factors on bone weight following tenotomy. The tendon of the gastrocnemius muscle of the right leg was transected 2 mm proximal to the upper margin of the retinaculum. The tenotomized animals behaved normally without visible disability. The tibia was weighed on the 7th day after the operation. Tibia weight and tibia weight per unit body weight for the tenotomized limb were significantly lower than those of the control limb in NZB/N, NZW/N and A/J strains.

Therefore it was concluded that this tenotomy model would be useful for investigating the mechanism of exercise-induced bone formation. Mean difference in tibia weight between left and right in A/J mice was significantly higher than that in AKR/N strain. However we were unable to find any difference of tibia weight in the same strain. Therefore, these results imply that difference of hereditary and exercise-induced bone formation might be basically controlled by genomic factors.

まえがき

骨は運動の場で、筋収縮による効果を発現するための器官としてとらえられ、身体全体では、体内塩類濃度の恒常性維持のために、カルシウム等の貯蔵庫として欠くことのできない重要な役割を担っている。骨は常にダイナミックに骨形成と骨吸収を繰り返しながら、形態を維持し、さらに血液との間でカルシウムの取りこみと汲み出しを行ないながら、血清カルシウム濃度を一定に保ち続けている。骨強度の維持のためには、若年時に Peak Bone Mass をより高いレベルまで引き上げておくことと、加齢にともなう骨量の減少速度を、できるだけ緩やかなものにするのが求められている。これら二つの観点を中心に、身体運動の骨代謝に対する役割に関する先行研究を見た。まず前者の運動が骨量に及ぼす影響については、Nancyoyster²⁾ が 60～69 歳の女子は食事内容より活動量の方が皮質骨径との相関が高く、50～59 歳の健康女子では身体活動レベルが、Bone Mineral Mass に影響していることを報告した。K. C. Rapael (1984)³⁾ は Bed Rest, 無重力, 不活動, ギブス固定などの状況は、カルシウムロスを生み、骨の脱灰化を起こすことを指摘している。しかしながら、その量の変化や機序については不明な点が多い。後者について見ると、Smith (1984)⁴⁾ は運動が骨のカルシウム含量の減少を抑

制すると報告している。このように、先行研究では運動が Peak Bone Mass の増加に寄与し得る可能性、および加齢による骨量減少速度の低下に役立つ可能性を示している。しかしながら、運動刺激が骨に与える影響の個体差については、いまだ論議をほとんど見ないが、各報告者の実験結果にはプラス効果ばかりでなく、個体差の存在を予測させるものがある。

本研究では、骨に対するトレーニング効果の個体差について研究する第一歩として、近交系マウスを用いてテノトミーにより、両下肢の間に骨格筋からの刺激の質的、量的な差を生じさせ、骨重量に与える影響を検討した。また、その影響を遺伝的要素と環境的要素に分離して考察を試みた。

方 法

6 週齢の A/J, NZB/N, NZW/N, AKR/N の 4 系統の近交系マウスを用いた。運動の方法には、後肢腓腹筋の腱切除するテノトミー法を用いた。餌は自由に摂取させた。術後 1 週間自由運動後、エーテル麻酔により屠殺し、丁寧に筋肉等骨以外の組織を取り除き、脛骨を採取し、湿重量を測定した。重量の測定には、0.01 mg まで測定可能な自動上皿天秤を用いた (AE 240; Metler)。測定値は平均値±標準誤差で示し、系統間の差の検定には t 検定を用いた。

結 果

テノトミーを実施して1週間後の近交系マウス, AKR/N, NZB/N, NZW/N, A/J 4群のテノトミー側 (T) とコントロール側 (C) の間の脛骨重量を比較検討した. 脛骨重量の絶対値を比較すると, AKR/N 群以外の3群で T 側は C 側に比べて有意に低かった (図1). 体重あたり骨重量で比較しても, 同様に AKR/N マウス以外の他の3系統, NZB/N, NZW/N, A/J 系統はいずれも T 側の骨が C 側より有意に低かった (図2). 骨のトレーニング効果に及ぼす遺伝的条件の違いの影響を見るために, マウス近交系4系統間で, テノトミーによる骨重量に対する差について検討した. 骨重量変化率, (C 側骨重量 - T 側骨重量) / C 側骨重量 の値を算出し, 4系統の間で比較した (図3). 最も骨重量変化率が大きかった A/J 系統と, 最も骨重量変化率が小さかった AKR/N 系統との間には, 統計的に有意な差が認められた ($P < 0.05$). 他にはいずれの系統間においても有意な差は認められなかった.

NZB/N, NZW/N, A/J それぞれの系統内の雌個体間のマウスに対するテノトミー実験の結果を骨変化率から検討した (図4). どの系統内においても雌個体間に差が見られたが, どの雌個体間の差も統計的には有意ではなかった.

考 察

本研究では, 骨形成や骨代謝に対するトレーニング効果の個体差について研究する第一歩として, 近交系マウスを用いて, 片足腓腹筋の腱切除 (テノトミー実験) により, 両下肢の間に質的, 量的に異なる負荷をかけた. 実験から得た下肢骨重量から, 筋運動が骨代謝に及ぼす影響を検討した.

AKR/N 系統以外の NZB/N, NZW/N, A/J 3系統の脛骨重量は, 絶対値で見ても体重あたり

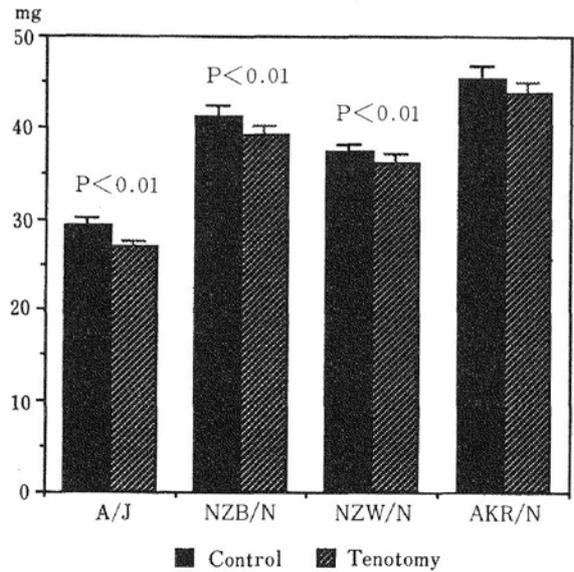


図1 脛骨の絶対重量

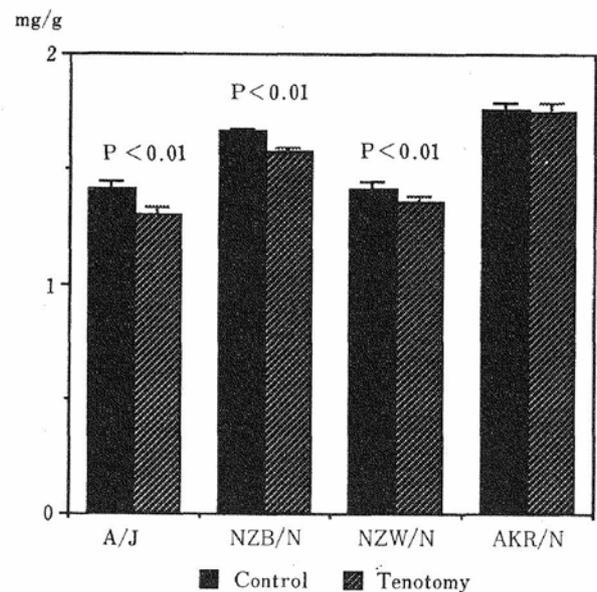


図2 体重あたりの脛骨重量

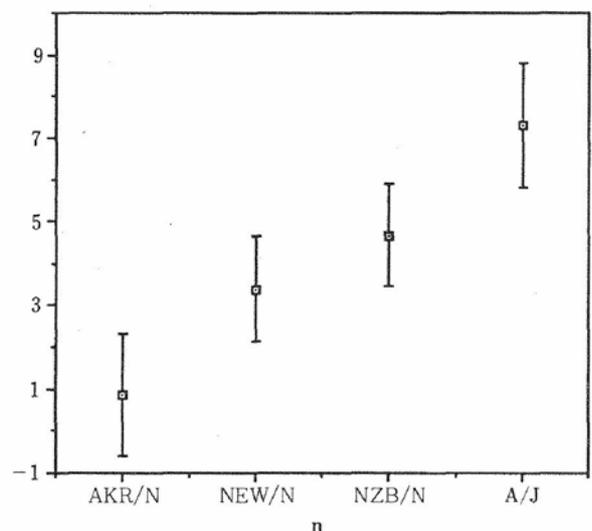


図3 系統間の骨重量変化率の比較

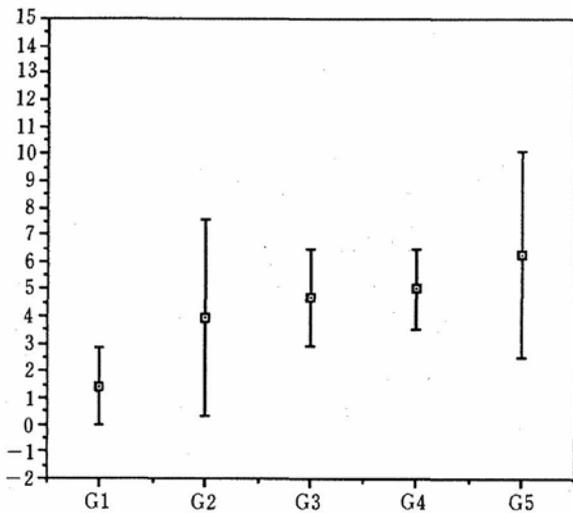


図4-1 系統内雌個体間の骨重量変化率 (A/J)

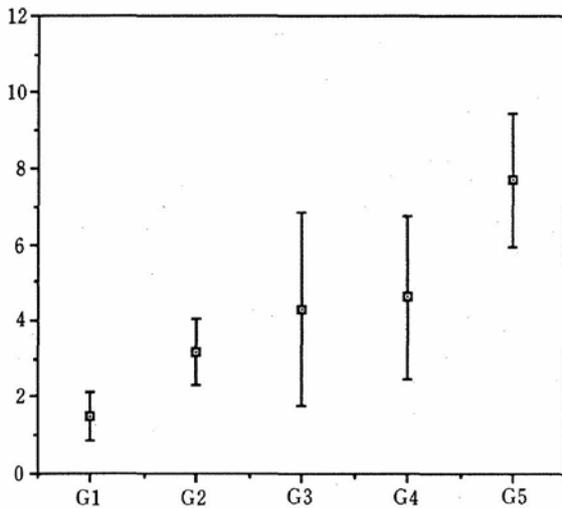


図4-2 系統内雌個体間の骨重量変化率 (NZW/N)

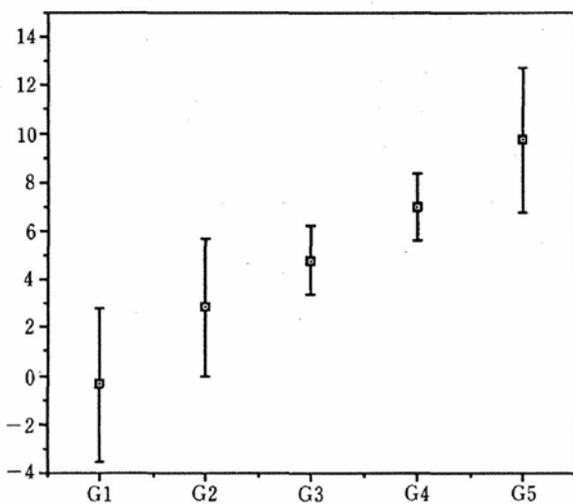


図4-3 系統内雌個体間の骨重量変化率 (NJB/N)

で見ても、いずれも T 側が C 側より有意に低かった。この原因について考えられる要素は以下のものであろう。

1. 元来マウス脛骨重量に左右差が存在する。
2. 手術後テノトミー側の足をかばって運動するために脚の負荷量に差が生じ、そのために骨にかかる負荷刺激が減少した。
3. 下腿三頭筋のうちの最大の腱を切除したことにより、脛骨が腱附着部から受ける張力の減少
4. 同様の理由から、運動様式および筋の使用形態の変化が、骨に機能的または形態的变化をもたらした。

これらの要因のうち、1 について、テノトミーを施さないマウスの両足の脛骨で確認した結果、左右の脛骨重量に差は見られなかった。

4. の筋の使い方の違いが、何らかの形態的な変化をもたらすかどうかについて、両群の骨形態を比較した結果 (図 5)、骨上端部位で変化を起しているように見える。今後筋運動にともなう骨形態の変化について詳細に比較検討する必要がある。上記 2. 3. 4. の要素が作用して、テノトミー法は骨形態に変化を及ぼすことが推察される。この結果からテノトミー実験は運動の骨形成時の骨代謝機構を検討するために、有効な実験モデルとなることを示している。

トレーニング効果に個体差が認められるかどうかを検討するために、個体差の構成要素を生得的または遺伝的要因と、その後の環境的要因に分離して考察した。遺伝的にはほぼ同一と見られる近交系マウスの中から AKR/N, NZB/N, NZW/N, A/J の 4 系統を用い、テノトミー負荷に対する反応が、遺伝的条件によって影響されるかどうかを比較した結果、A/J 系統と AKR/N 系統との間には有意差が認められた。この結果から、遺伝的条件の違いにより運動の骨重量に対する影響が異なることが判明した。

また環境的要因と骨重量の関係を検討する目的

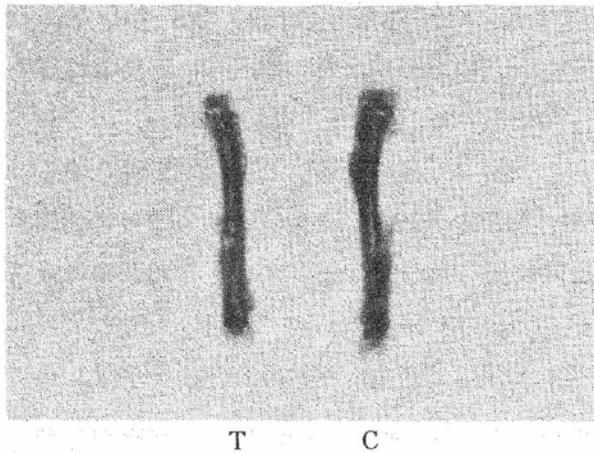


図5 腱切除1週間後の脛骨の形態
T=腱切除側
C=対照側

で、同一系統内の同一雌個体間マウスに対するテノトミー負荷の影響を観察した。統計的に有意ではなかったが、どの系統内においても、雌個体間に変化が見られた。本実験の結果から、環境的要因と骨重量の関係については詳細に言及することはできないが、テノトミー法が骨重量に変化をもたらしたことから、両者の間に関連がないとはいえない。

ま と め

運動の骨に対するトレーニング効果の個体差を研究する第一歩として、骨格筋刺激の質的、量的違いが骨重量に与える影響を検討するために、近交系マウス(A/J, NZB/N, NZW/N, AKR/Nの系統)4系統を用いて実験を行った。運動のトレーニング方法として、腱切除法(テノトミー実験)を用いた。手術後一週間、マウスは自由に運動を行った。この方法は、マウスの左右の下肢骨に対する骨格筋からの質的、量的負荷刺激が異なるものである。テノトミー側(T)と対照側(C)の脛骨重量を比較した結果、AKR/Nマウスを除

くNZB/N, NZW/N, A/Jの3群は、脛骨重量の絶対値および体重あたりの相対値で、その群の骨重量はT側がC側より有意に低かった。この結果から、テノトミー法はマウスの両下肢骨間に、局所的形態変化をもたらすといえる。したがって、マウスのテノトミー実験は、骨格筋からの刺激の質的、量的違いが骨重量に及ぼす影響を観察するには有効な実験方法であることを示している。運動の骨重量に対するトレーニング効果に個体差があるかどうかを検討するために、骨の形成機構が遺伝的にほぼ同一と見られる近交系マウス4系統間で、テノトミー法により骨重量に及ぼす影響について観察した。その結果、A/JマウスとAKR/Nマウスの骨重量には有意な差が見られた。このことから、骨形成の遺伝的条件の違いが骨の発達に強く影響を及ぼすことが示唆された。また同一系統内雌個体間マウスを用い、環境要因が骨重量に及ぼす影響について検討した結果、雌個体間には大きな変化が見られなかった。以上の結果から、骨形成には遺伝的要因が環境的要因に比べ優位に作用していることが示唆された。

文 献

- 1) 藤田拓男;骨の成長と老化, *The Bone*, 1 (1) 43-47 (1987)
- 2) Nancy oyster, Max Morton, Sheli Linnell; Physical activity and Osteoporosis in Postmenopausal Women, *Med. and Sci. in Sports and Exercise*, 16 (1) 44-50 (1984)
- 3) Raphael K. Chow, J. E. Harrison, C. F. Brown, M. V. Hajek; Physical Fitness Effect on Bone Mass in Postmenopausal Women, *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 67, 231-234 (1986)
- 4) Evert J. Smith, C. Gilligan; Effects of Inactivity and Exercise on Bone, *The Physician and Sportsmedicine*, 15 (11) 91-100 (1987)

V 持久的トレーニングの同一近交系雌個体間 マウスにおける細胞性免疫機構の応答

東京慈恵会医科大学 小川 芳 徳
同 山内 秀 樹

Body's Defense Mechanism and Differences among Individuals under Endurance Training in Mice

by

Yoshinori Ogawa, Hideki Yamauchi

Laboratory of Sports Medicine, The Jikei University School of Medicine

ABSTRACT

A study was conducted to clarify changes in the body's defense mechanism and differences among individuals under endurance training in mice. Four-weeks old inbred C 57 BL/ 6 Cr mice were used in this experiment. The percentage of cells, helper T cells, suppressor T cells and B cells in blood due to treadmill running exercise were studied over a six-weeks period. Speed, slope and duration of endurance running were changed in a stepwise manner. Initial running speed, duration time, and the slope of the treadmill were 5 m/min, 30 min and 0 degree, respectively. The workload was then gradually increased to give final parameters of 28 m/min, 60 min and 12 degrees respectively.

The number of lymphocytes in blood was not influenced by endurance exercise in either the control or the training group, or in either male or female mice. The proportions of Thy 1.2⁺, L 3 T 4⁺ and L y t 2⁺ in blood in the training group tended to increase after long-term running. However Ig⁺, a marker of B cells tended to decrease. These results suggest that the responses of the cellular and humoral immune systems to long-term exercise differ. The proportion of Thy

1.2⁺ in blood in male mice was higher than that in female mice suggesting a possible sex difference in the response of the cellular immune system.

まえがき

生体を細菌の感染や異物から保護するため、生体での防衛機構は大きな役割を果たしている。その生体防衛機構は大きく、細胞性免疫機構と液性免疫機構に分けられる。生体防衛機構に対して、運動が大きな影響を及ぼすことが知られてきた^{7,8)}。著者ら^{11,12)}は、これまでこの両免疫機構の運動に対する応答に着目し研究を進めている。6ヵ月に渡る長期の持久的トレーニング前後で、白血球、全リンパ球、リンパ球サブセットには変化が見られなかった。しかし液性免疫の指標としたIgG、IgAの濃度は、統計的に有意な変化を示した。

すなわち、この実験結果から長期の持久的トレーニングは、細胞性免疫機構と液性免疫機構に及ぼす影響が異なることが判明した。運動（トレーニングを含めた）の免疫系に及ぼす機序の詳細については十分に解明されていないが、カテコールアミン^{1,9)}、コルチゾール^{2,23)}等のホルモンや、乳酸⁶⁾等の中間代謝産物が影響を及ぼすことが報告されている。その中でも、森本ら¹⁰⁾の仮説は興味あるものである。長期のトレーニング群はコントロール群に比し、運動後、血中でのACTH値（副腎皮質刺激ホルモン）の低値を示す。このことは、視床下部コルチコトロピン放出因子の下垂体への刺激の減少に基づくものとし、そのコルチコトロピン放出因子分泌を刺激する末梢からのIL-1や、プロスタグランジンの分泌量が運動経験の有無により、大きく変化することを示唆している。しかしIL-1やプロスタグランジン分泌の産生器官や、産生機序については不明なことが多

い。リンパ球の産生が、コルチゾールにより抑制されることは一般的に知られており、運動との関係が注目される。

T細胞の増殖を誘導するCon A（コンカナバリンA）、PHA（フィトヘマグルチニン）のT細胞形成に及ぼす影響について報告された成績をまとめると、一過性の運動後、あるいはトレーニング後には、Con AやPHAの幼若化反応は高い^{3,14)}という報告、逆に低下する^{4,5,13)}という報告も見られ、その見解は一致していない。その理由の一つに、個体に差があると解される。そこで長期間のトレーニングが、生体防衛機構に及ぼす個体差を理解するため、T細胞（ヘルパーT細胞、サプレッサーT細胞）、B細胞の動向に着目し実験を行った。今回の実験においては、近交系マウスを用い、均一な遺伝的条件を設定し、環境的要因の細胞性免疫機構に及ぼす影響について検討した。

方 法

実験動物には、近交系マウスC57BL/6Cr、16匹を用いた。同一雌個体間マウス（A群：雄2、雌2、B群：雄3、雌3、C群：雄3、雌3）の各群からの雌雄各1匹をそれぞれの群の対照マウスとした。トレーニング群はA群雄1、雌1、B群雄2、雌2、C群雄2、雌2の合計10匹とした。トレーニングにはマウス用トレッドミル（KN73; Natume）を用い、4週齢より運動を開始した。運動負荷内容は速度5m/min、時間30分、勾配0度から始め、その後、定期的に時間、速度、角度を漸増した。最終週の運動負荷強度は28m/min、60分、12度であった（図1）。トレーニング

回数は週5回, 実施期間は6週間とした。飼育は, 温度は21度に制御された部屋で9:00~21:00, 21:00~9:00の明暗サイクルの中で行った。食餌は, [固形飼料 (MM-3; 般橋農場株), 飲料水 (水道水)] 自由に摂取させた。トレーニング後の採血はトレーニング終了70時間後, エーテル麻酔下でマウスを背位に保定し, 鼠径部の動脈を切断し, 注射筒を用いて行った。リンパ球数の測定には, レーザーフローサイトメータ (Ortho Diagnostic Systems; Cytoron Absolute) を用い, 全血 50 μ l に溶血剤 (NH_4Cl , EDTA-4 Na, KHCO_3) 1 ml を加え, 攪拌し処理した検体を60秒間のカウント数より換算して得た。リンパ球サブセットの測定には, FITC 標識の抗 Thy 1.2, 抗 L 3 T 4, 抗 Lyt 2 (ファームジエン), ヤギ抗マウス Ig (Becton Dickinson) の各抗体を用いた, 検体の前処理は, 抗凝固剤ヘパリンを加えた血液 100 μ l に, 試薬 3 μ l, リン酸緩衝液 100 μ l を加え, 4度で30分間インキュベートした。その後, 溶血剤 2 ml を加え, 室温で10分間放置したのちリン酸緩衝液を加え, 1,500 rpm で10分間遠心し上清を除去したのち, リン酸緩衝液 1 ml を加え攪拌したものを検体とした。ヤギ抗マウス Ig は, 上記操作の前に 100 μ l の血液をリン酸緩衝液で洗浄し, 1,500 rpm で10

分間遠心した沈殿物を, 37度で1時間反応させたのち, さらに洗浄, 遠心した試料に抗体 5 μ l を加え同様の手順で行った。このように処理された検体を, レーザーフローサイトメータで測定した。それぞれ標識された細胞だけを 5,000 個カウントするため, 数えられた細胞数は 8,500 ~ 57,000 個であった。

結 果

体重は, トレーニング期間中コントロール群 (C群), トレーニング群 (T群) の間に統計的に有意な差はなかった (10週齢時 C群雄 24.2 \pm 1.2 g, 雌 20.7 \pm 2.9 g, T群雄 23.9 \pm 1.4 g, 雌 19.6 \pm 0.7 g)。図2は, C群とT群のリンパ球の平均値を示したものである。C群とT群のそれぞれの平均値 \pm 標準偏差は, A群 331.3 \pm 100.7 / mm^3 , 1246.6 \pm 593.2 / mm^3 , B群: 947.0 \pm 222.5 / mm^3 , 1197.0 \pm 311.0 / mm^3 , C群: 1389.7 \pm 205.2 / mm^3 , 991.6 \pm 473.6 / mm^3 であった。コントロール群の平均値は各群において大きく異なるが, トレーニング後では各群での平均値はほぼ同じであった。

図3には, Thy 1.2⁺, L 3 T 4⁺ Lyt 2⁺, Ig⁺ について各群の C群とT群の平均値 \pm 標準偏差を示した。抗 Thy 1.2, 抗 L 3 T 4, 抗 Lyt 2 の抗体は, それぞれ pan T細胞 (CD 3), helper/

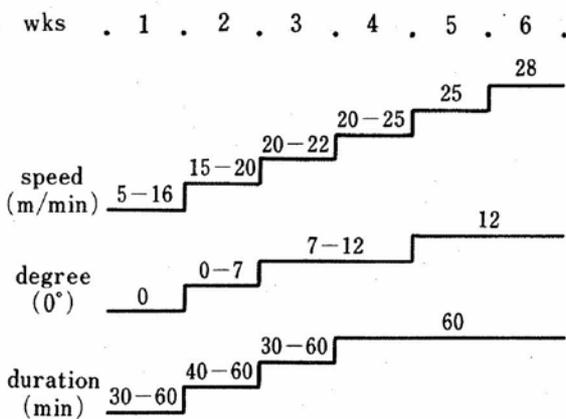


図1 トレーニングのプロトコル (トレッドミルの速度, 時間, 角度) を示す

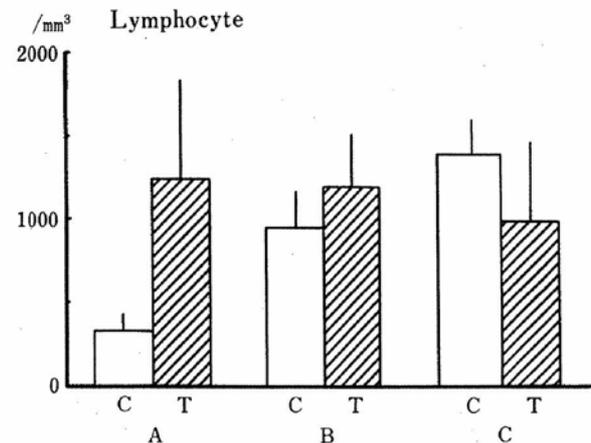


図2 各群のコントロール群とトレーニング群のリンパ球数の平均値 \pm 標準偏差

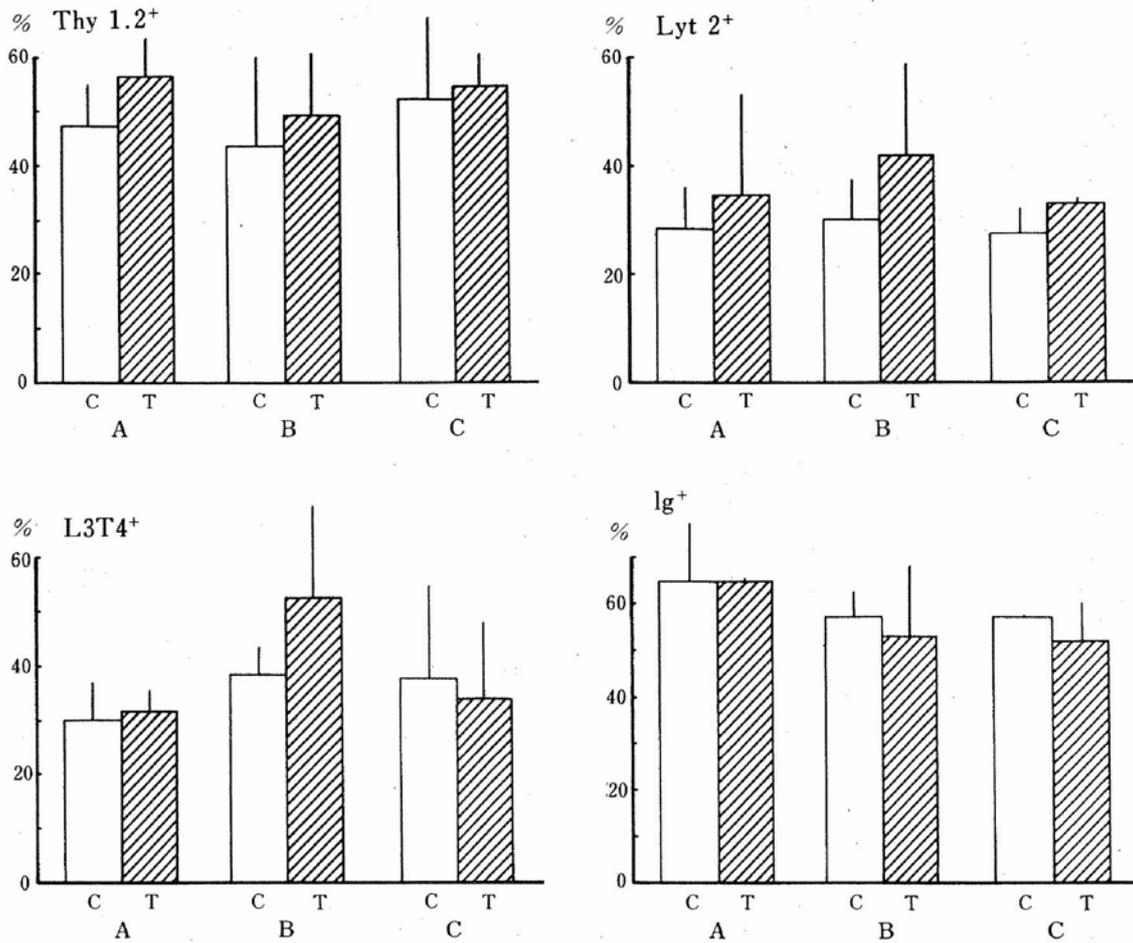


図3 各群のコントロール群とトレーニング群の Thy 1.2⁺, L3T4⁺, Lyt 2⁺, Ig⁺ の平均値±標準偏差

inducer T細胞 (CD4), suppressor/cytotoxic T細胞 (CD8) を検出するモノクローナル抗体であり, ヤギ抗マウス Ig は B細胞 (Ig⁺) を検出するポリクローナル抗体である. 抗 Thy 1.2 で検出された pan T細胞 (Thy 1.2⁺) の平均値は, 各群とも C群より T群で高い傾向にあった. 抗 L3T4 で検出された helper/inducer T細胞 (L3T4⁺) の平均値は, A, B群の T群で高い傾向であり, C群の T群で低い傾向であった. Lyt 2⁺ (抗 Lyt 2 で検出される suppressor/cytotoxic T細胞) は, 各群とも T群が高い傾向であった. Ig⁺ の平均値は, 各群とも C群より T群で低い傾向であった.

図4は, コントロールとトレーニングマウスの

リンパ球数の雌雄差をみたものである. C群と T群の平均値±標準偏差は, 雄で $966.4 \pm 648.4 / \text{mm}^3$ $1285.3 \pm 304.2 / \text{mm}^3$ であり, 雌では $812.2 \pm 421.5 / \text{mm}^3$, $964.2 \pm 449.5 / \text{mm}^3$ であった. 雌雄の C群, T群とも統計的に有意な変化ではなかった.

図5は, 免疫細胞サブセットについて雌雄差を示したものである. 雄において, Thy 1.2⁺ の C群と T群の平均値±標準偏差は, それぞれ $38.4 \pm 5.8\%$, $50.3 \pm 4.6\%$ と, T群で統計的に 5% の危険率で有意に大きな値を示した. L3T4⁺, Lyt 2⁺ の平均値は, T群が C群より増加傾向を示したが, 統計的に有意な変化ではなかった. Ig⁺ は C群に比し, T群で減少傾向であったが, 有意な変化ではなかった. 雌の Thy 1.2⁺ 値も T群, C

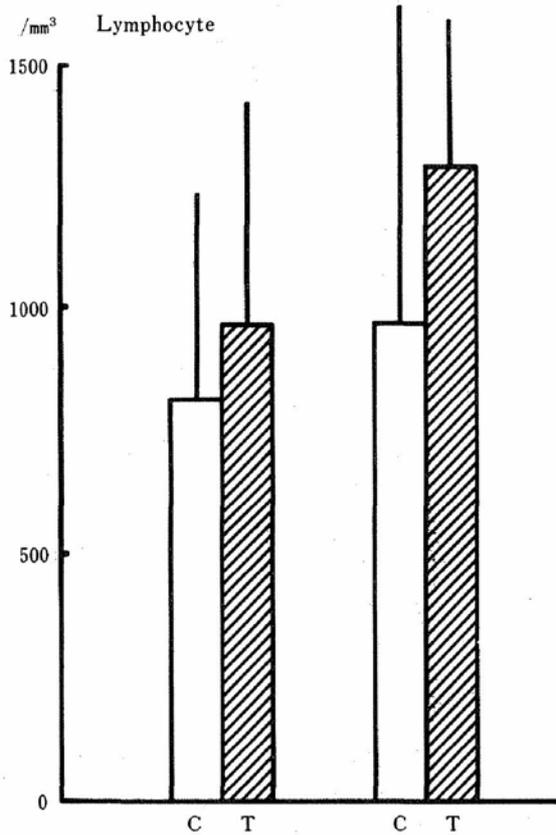


図4 雌雄のコントロール群とトレーニング群のリンパ球数の平均値±標準偏差. 右は雄, 左は雌を示す (Cはコントロール群, Tはトレーニング群)

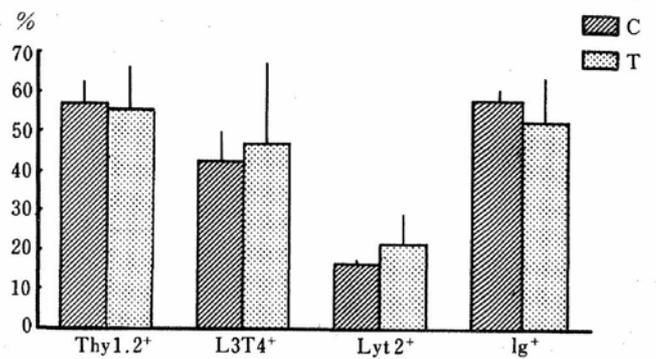
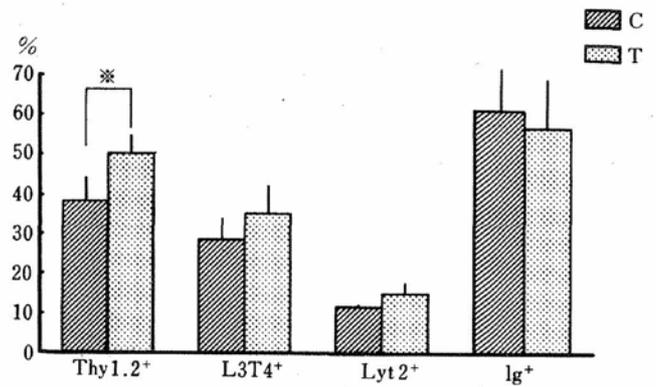


図5 雌雄のコントロール群とトレーニング群の Thy 1.2⁺, L3T4⁺, Lyt 2⁺, Ig⁺ の平均値±標準偏差 (*P<0.05)

群間に差はなかった (56.9 ± 5.2%, 55.6 ± 10.8%). また, L3T4⁺, Lyt2⁺, Ig⁺ の平均値は雄と同様の傾向であった.

考 察

動物として生命を保持する機構に, 運動が重要な役割を担っていることはいうまでもないが, 免疫機構に対する運動の影響について研究されるようになったのは, ごく最近のことである. そして一過性の運動, あるいは長期間のトレーニングが免疫機構, 細胞性免疫能⁷⁾, 液性免疫能⁸⁾に影響を及ぼすことが知られるようになった. 今回の長期間のトレーニングで, リンパ球数は雌雄とも増加の傾向を示したが, 雌雄差は見られなかった.

T細胞は遅延型T細胞, キラーT細胞, ヘルパーT細胞, サプレッサーT細胞に分類することができる. 今回の実験でとくに着目することは, 全T細胞が雄群で有意に増加したことである. 今回, 抗体を用いヘルパーT細胞, サプレッサーT細胞を測定したが, 雌雄とも増加の傾向を示したものの, 有意な変化ではなかった. すなわち, Thy1.2⁺増加の原因が特殊なT細胞のサブセットに求めることはできなかったものの, T細胞になるべき運命にある, リンパ系共通前駆細胞や造血幹細胞の運動による活性化機構が示唆された. この結果, Thy1.2⁺増加の性差の原因については解明できないが, 少なくとも細胞性免疫機構に対する性差が存在することが示唆された.

B細胞の指標であるIg⁺は減少の傾向を示し、長期間のトレーニングが、T細胞の由来と同じリンパ系共通前駆細胞や造血幹細胞からのB細胞への活性化は抑制されたものと思われる。この結果、長期間の持続的トレーニングは、細胞性免疫、液性免疫の機構に対して異なった影響を及ぼすことが示唆された。

同一系内の雌個体間比較については、個体数が少なく、統計的に解析できなかったが、リンパ球数に対する影響はかなり異なり、長期間の持続的トレーニングにより増加する群もあれば、逆に減少する群も見られた。この結果、リンパ球形成の機構に対する運動の影響が同じ遺伝的背景においても異なることが示唆されるが、さらに数を増やし詳細に検討したい。

細胞性免疫の指標であるT細胞系の同一系内の雌個体間比較については、Thy 1.2⁺, Lyt 2⁺, L3T 4⁺はどの群とも長期間の持続的トレーニングにより増加の傾向を示した。この結果、細胞性免疫機構、とくに各種T細胞に対する運動の影響は、遺伝的要因により強く制御されていることが示唆された。

B細胞はどの群も同じく減少の傾向を示した。この結果、液性免疫機構は長期間の持続的トレーニングにより抑制され、同一系内の雌個体間に差がないことが判明した。これらの結果、細胞性免疫機構、液性免疫機構とも質的な変化は遺伝的に制御され、その量的な変化は運動、つまり環境に適応することが推察される。しかし今回の実験では、近交系マウス1系統での結果であること、さらには同一系内の雌個体からの匹数の少なさ等から、トレーニングによる個体差について十分に論及することはできない。

まとめ

長期間トレーニングの生体防御機構に及ぼす個体差を理解するため、T細胞（ヘルパーT細胞、

サプレッサーT細胞）、B細胞の動向に着目し実験を行った。被験動物は、近交系マウス（C57BL/6Cr）16匹を用い、均一な遺伝的条件を設定し、環境的要因の細胞性免疫に及ぼす影響について検討した。トレーニングはトレッドミルを用い、その期間は6週間とした。運動負荷強度は速度5m/min、時間30分、勾配0度から始め、その後、定期的に時間、速度、角度を漸増した。最終週の運動負荷強度は28m/min、60分、12度であった。この結果、リンパ球数はコントロール群（C群）とトレーニング群（T群）に差は見られず、C群、T群の雌雄のリンパ球数も同様に統計的に差はなかった。Thy 1.2⁺, L3T 4⁺, Lyt 2⁺はC群よりT群で増加傾向であったこと、またIg⁺は減少傾向を示したことから、長期トレーニングは細胞性免疫を促進し、液性免疫を抑制すると推察された。また、雄T群のThy 1.2⁺が有意に増加したことから、細胞性免疫機構に対する性差が存在することが示唆され、細胞性免疫機構に対する運動の影響は、遺伝的要因により強く制御されていることが示唆された。

文 献

- 1) Busse, W. W., C. L. Anderson, P. G. Hanson, J. D. Folts ; The effect of exercise on the granulocyte response to isoproterenol in the trained athlete and unconditioned individual, *J. Allergy Clin. Immunol.*, **65**, 358-364 (1980)
- 2) Eskola, J., O. Ruushanen, E. Soppi, M. K. Viljanen, M. Jarvinen, H. Toivonen, K. Kouvalainen ; Effect of sport stress on lymphocyte transformation and antibody formation. *Clin. Exp. Immunol.* **32**, 339-345 (1978)
- 3) Fernandes, G., M. Rozek, D. Troyer ; Reduction of blood pressure and restoration of T-cell immune function in spontaneously hypertensive rats by food restriction and/or by treadmill exercise, *J. Hypertens.*, **4**, S 469-S 474 (1986)
- 4) Hoffman-Goetz, L., R. Keir, R. Thorne, M. Houston, C. Young ; Chronic exercise stress in mice depresses splenic T lymphocyte

- mitogenesis in vitro, *Clin. Exp. Immunol.*, **66**, 551-557 (1986)
- 5) Houston, H., L. Hoffman-Goetz, M. Houston, R. Keir ; Immunological responses to exercise training in man, *Federation Proc.*, **46**, 680 (1987)
- 6) 金子洋昭, 木村達志, 禰直元知子, 大成浄志; 運動と免疫機能に関する研究, 第三報—血清成分の影響, *体力科学*, **38**, 254 (1989)
- 7) Keast, D., K. Cameron, A. R. Morton ; Exercise and the Immune Response, *Sports Med.*, **5**, 248-267 (1988)
- 8) Nieman, D. C., S. L. Nehlsen-Cannarella, The effect of Acute and Chronic Exercise on Immunoglobulins, *Sports Med.*, **11**, 183-201 (1991)
- 9) Masuhara, M., K. Kami, K. Umebayasi, N. Tatsumi. Influences of exercise on leukocyte count and size, *J. Sports Med.*, **27**, 285-290 (1987)
- 10) 森本昭生, 坂田義行, 渡辺達生, 森本恵子, 村上直: 持続的運動トレーニングと生体防御反応, *体力研究*, **77**, 161-168 (1991)
- 11) 小川芳徳, 山内秀樹, 山下美紀子, 原田邦彦, 米本恭三, 今西昭雄, 平井徳幸, 福永美賀子, 秋月撰子, 鳥海 純; All out 走と1時間走における細胞性免疫と体液性免疫の動態, *デサントスポーツ科学*, **11**, 62-70 (1990)
- 12) 小川芳徳, 山内秀樹, 岡部 洋, 原田邦彦, 米本恭三, 石井高暁, 今西昭雄, 福永美賀子, 秋月撰子, 鳥海 純, 長尾憲樹, 文谷知明, 朽木 勤; 日常の運動習慣が免疫能に及ぼす影響(II), *体力科学*, **40**, 961 (1991)
- 13) Pahlavani, M. A., T. H. Cheung, J. A. Chesky, A. Richardson; Influence of exercise on the immune function of rats of various ages, *J. Appl. Physiol.*, **64**, 1997-2001 (1988)
- 14) Robertson, A. J., K. C. R. B. Ramesar, R. C. Potts, H. H. Gibbs, M. C. K. Browning, R. A. Brown, P. C. Hayes, J. S. Beck, The effect of strenuous physical exercise on circulating blood lymphocytes and serum cortisol levels, *J. Clin. Lab. Immunol.*, **5**, 53-57 (1981)
- 15) Soppi, E., P. Garjo, J. Eskola, L. A. Laitinen, Effect of strenuous physical stress on circulating lymphocyte number and function before and after training, *J. Clin. Lab. Immunol.*, **8**, 43-46 (1982)