

退行性に萎縮を余儀なくされた骨格筋の回復を促す 運動負荷と加齢の影響

聖マリアンナ医科大学 山下 勝 正

(共同研究者) 同

吉岡 利 忠

Effects of Exercise Training and Aging on the Contractile Functions of Atrophied Skeletal Muscles in Rats

by

Katsumasa Yamashita-Goto, Toshitada Yoshioka

Department of Physiology, St. Marianna

University School of Medicine

ABSTRACT

We examined the effect of hindlimb suspension on muscle function, and the effects of two kinds of intensities of running training on atrophied muscle induced by suspension in young and aged Wistar male rats. A significant decrease in the whole muscle wet weight of the soleus followed by hindlimb suspension for 2 weeks was observed in 10-week (young) and 50-week (aged) rats. There was no change in the wet weight of extensor digitorum longus (EDL) muscle in young and aged rats following suspension. The responses of the percentage of slow-twitch fibers, maximal isometric tension, and Ca^{2+} sensitivity in soleus and EDL muscles in aged rats to suspension differed from those in young rats.

A relatively light intensity of running exercise induced the recovery of muscle function in the suspended muscles, compared with the high intensity of running exercise and non-exercise in both young and aged rats. In aged rats, a high intensity of running exercise

apparently prevented the recovery of Ca^{2+} sensitivity and maximal tension, but not in young rats. In the non-exercise group, the altered muscle function of young rats during simulated weightlessness recovered to the control level in the same period as that for hindlimb suspension. These results show that the capacity of protein synthesis of skeletal muscle was decreased during aging, and the intensity of exercise to advance the recovery of muscle function is dependent on the age level. Moderate exercise applied to the aged and/or atrophied muscle has an effect of facilitating recovery in the atrophied muscle function and maintains muscle function during aging.

要 旨

本研究は、退行性萎縮に伴う筋機能の変化に、加齢による差が生じるか検討し、さらに各年齢層において、退行性に萎縮した運動器の回復を促す適切な運動負荷方法の策定を試みることを目的とし、生後 12 および 50 週齢のウィスター系雄性ラットに、2 週間の後肢懸垂を負荷した後、強度の異なる運動を負荷して得られた、ひらめ筋および長趾伸筋を用いて検討した。

2 週間の後肢懸垂負荷により、遅筋であるひらめ筋の湿重量の有意な低下が認められた。この現象は、12 および 50 週齢ともに認められたことから、不使用により萎縮が生じる筋のタイプと、その程度に加齢の影響は少ないと考えられた。また、2 週間の後肢懸垂負荷により遅筋線維の割合、最大張力および Ca^{2+} に対する感受性の変化は、加齢により大きく影響を受けると考えられた。

不使用により低下した筋収縮機能は、不使用時間と同一時間の通常飼育により、ほぼ懸垂前値まで回復した。しかし、高齢群では回復が遅延する傾向が認められた。低強度運動負荷が萎縮により低下した筋収縮機能の回復を促進する傾向が認められ、この傾向に週齢による差は認められなかつ

た。

以上より、加齢により筋の蛋白質合成能力の低下が示唆された。萎縮により低下した筋収縮機能は、低強度の運動負荷によりその回復が促進された。しかし、その傾向は週齢により異なり、至適運動負荷強度は年齢に依存することが示された。

緒 言

健康の維持および増進のため運動が普及する一方で、運動中に発生する障害も増加している。とくに運動器である骨格筋に障害を負った場合、たとえば骨折による長期間のギプス固定を余儀なくされる。このような障害から再び運動に参加するには、かなりのリハビリテーション期間を必要とする。なぜなら、長期間のギプス固定による不使用により骨格筋が著しく萎縮しており、受傷前のようなパフォーマンスは発揮できないからである。

筋の萎縮は単に形態的な側面だけでなく、代謝特性や収縮特性などを含めた筋収縮機能全体の退行性変化を伴う^{3,9)}。このような、運動器の萎縮はギプス固定だけでなく、さまざまな疾病により長期間の入院生活（長期臥床）に伴う運動不足や加齢現象でも程度の差はあるものの同様に引き起こされる。また、社会の高齢化により、高齢者の運

動・スポーツ参加は急増している。これら高齢者における運動器の機能は、青年期に比較して著しく低下していることが予想される¹²⁾。すなわち、青年期における退行性萎縮と高齢者におけるそれは大きく異なることが考えられる。また、退行性萎縮した運動器の回復を促す運動負荷の方法も、青年期と高齢期ではやはり異なることが予想され、年齢に応じた適切な運動負荷方法を決定する必要がある。

そこで本研究では、退行性萎縮に伴う筋機能の変化に加齢による差が生じるか検討し、さらに各年齢層において、退行性に萎縮した運動器の回復を促す適切な運動負荷方法の策定を試みることを目的とした。

1. 方 法

本研究では、その研究内容からヒトを対象として行うのは困難であるため、実験動物であるウィスター系雄性ラットを用いて行った。

生後 12 および 50 週齢のウィスター系雄性ラットに対して、後肢懸垂⁷⁾を 2 週間負荷した。この 2 週間の後肢懸垂負荷により、下肢骨格筋に萎縮を生じさせることができる^{4,5)}。懸垂負荷終了後、ネンブータル麻酔下にて、両下肢より遅筋であるひらめ筋および速筋である長趾伸筋を即座に摘出した。得られた両筋肉から単一筋線維を分離し、トリトン X-100 にて処理を行いスキンドファイバーを作製し、筋線維の収縮特性の検討を行った。

筋の収縮特性は、最大張力（最大等尺性張力、 $pCa\ 4.0$ ）およびカルシウム (Ca^{2+}) に対する感受性（ pCa 張力曲線から求めた最大張力の二分の一の張力を発揮するのに必要な Ca^{2+} 濃度 [pCa_{50}]）によって評価した²²⁾。実験に用いたすべての溶液は、20 mM PIPES, 10 mM EGTA, 3.5 mM MgATP, 1.5 mM Mg^{2+} , 0.3 mM DTT, pH 7.0, イオン強度 0.2 M (20°C) 下で調整した¹⁰⁾。

さらに、2 週間の後肢懸垂を負荷した生後 12 および 50 週齢のウィスター系雄性ラットを、通常飼育に戻して 2 週間回復させる群、低頻度で低強度の運動負荷を行う群、および比較的高い頻度で持久性運動を負荷する群の 3 群に分類し、上記のごとく筋肉を摘出し同様の検討を行い、運動負荷が萎縮により低下した筋機能の回復にいかなる影響を与えるか、運動強度および年齢を考慮しながら検討した。

運動負荷形態は走行トレーニングとし、小動物用トレッドミルを用い、低強度運動負荷は毎分 10 m の速度で 30 分間の連続走行を 1 日 1 回、週 2 日の頻度で、高強度運動負荷群には毎分 20 m の速度で 60 分間の連続走行を 1 日 1 回、週 5 日の頻度でそれぞれ 2 週間運動を負荷した。自由飼育群には運動を負荷せず、ゲージ内で自由に生活をさせた。ラットは 12 時間の明暗周期、水およびエサは自由摂取の環境下で飼育された。

2. 結 果

生後 12 および 50 週齢ともに 2 週間の後肢懸垂により、ひらめ筋の単位体重あたりの筋湿重量 (%筋湿重量) が有意に減少した (図 1)。しかしながら、長趾伸筋の %筋湿重量には顕著な変化は認められなかった。2 週間の後肢懸垂負荷により筋線維組成は、12 週齢ではひらめ筋で遅筋線維の減少、長趾伸筋で遅筋線維の増加が認められた (図 2)。50 週齢では逆に、長趾伸筋で遅筋線維の減少、ひらめ筋で遅筋線維の増加がそれぞれ認められたが、統計学的に有意な変化ではなかった。

最大張力も同様に、懸垂負荷により大きく変化し、12 および 50 週齢のひらめ筋および長趾伸筋において有意な低下が認められた (図 3)。筋線維の Ca^{2+} に対する感受性 (pCa_{50}) は、懸垂負荷により 12 週齢でひらめ筋および長趾伸筋ともに低下した (図 4)。50 週齢では逆に筋線維の Ca^{2+} に対する感受性は増加する傾向にあった。

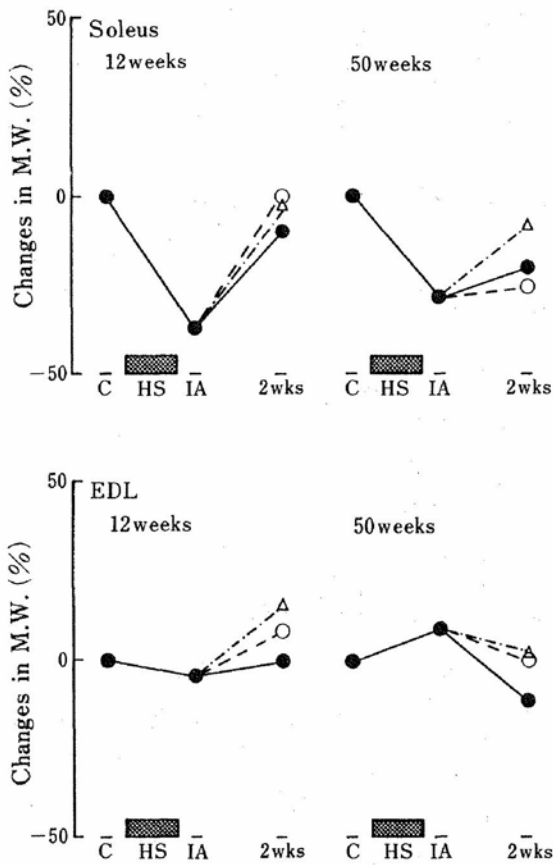


図1 Relative changes in the ratio of muscle wet weight to body weight induced by hindlimb suspension

Data shows the relative mean value to the mean value of the control group M. W.: the relative muscle wet weight (mg) to body weight (g) ●: non-exercise group after suspension ○: low-intensity exercise group after suspension △: high-intensity exercise group after suspension C: control group HS: hindlimb suspension for 2 weeks IA: immediately after suspension 2 wks: 2 weeks after suspension 12 weeks: 12-week old rat 50 weeks: 50-week old rat Soleus: soleus muscle EDL: extensor digitorum longus muscles

懸垂終了後の回復期において、ひらめ筋の%筋湿重量は12および50週齢ともに運動負荷の有無にかかわらず増加する傾向が認められ、その増加率は50週齢に比して12週齢に強くあらわれた(図1)。遅筋線維の構成比率では、高強度および低強度の運動負荷により増加する傾向が認められ

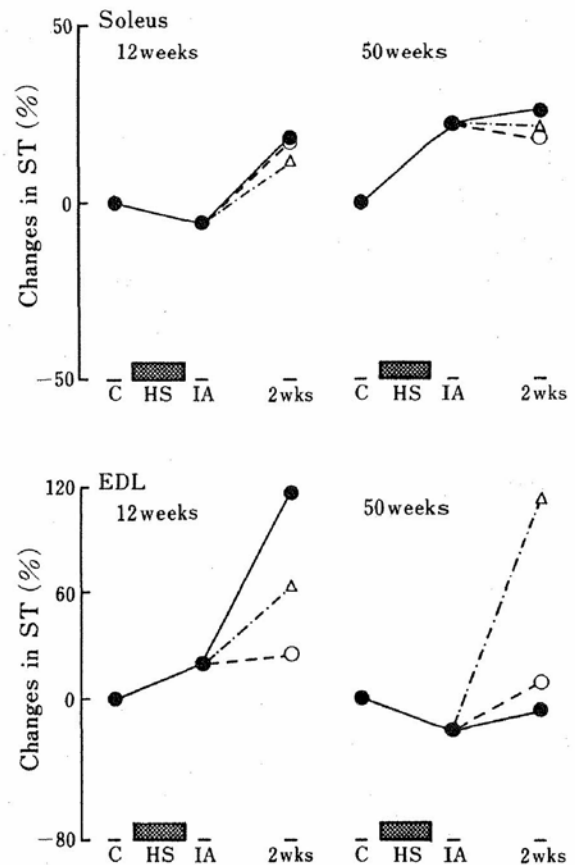


図2 Relative changes in the percentage of slow-twitch fibers induced by hindlimb suspension

Data shows the relative mean value to the mean value of the control group ST: slow-twitch fiber. Other abbreviations are the same as in Fig. 1

た(図2)。運動を負荷しない自由飼育群においても、週齢および筋のタイプにかかわらず増加する傾向が認められ、その傾向は12週齢に強いものであった(図2)。

最大張力では50週齢のひらめ筋および長趾伸筋ともに低強度の運動負荷群が最も高い値を示し、次いで自由飼育群であり、高強度運動負荷群で最低値を示した。しかしながら、低強度運動負荷群を除いた他の2群では、対照群の値に比べ低いレベルであった。12週齢ではすべての群で最大張力の増加が認められ、対照群に比して高値を示した(図3)。最も高い最大張力を示したのは自由

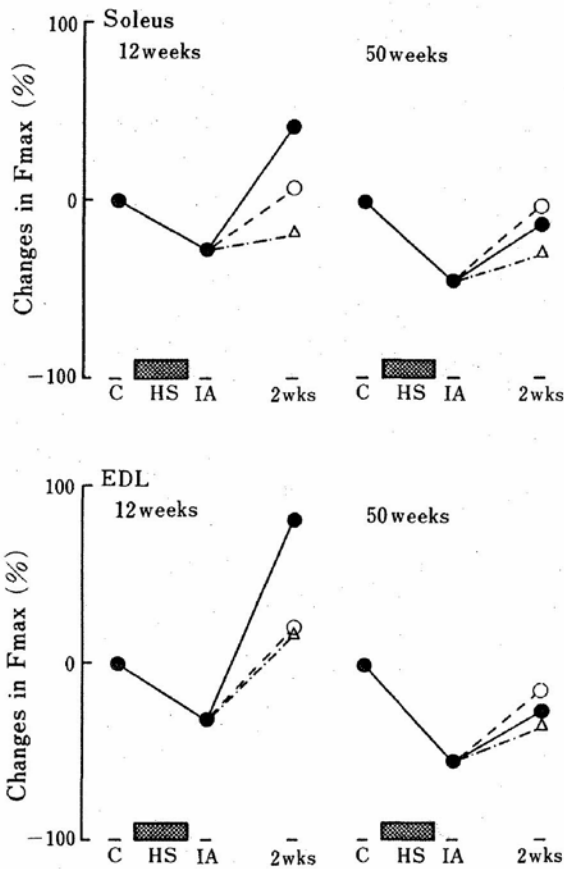


図3 Relative changes in the maximal isometric tension induced by hindlimb suspension. Data shows the relative mean value to the mean value of the control group
Fmax : maximal isometric tension. Other abbreviations are the same as in Fig. 1

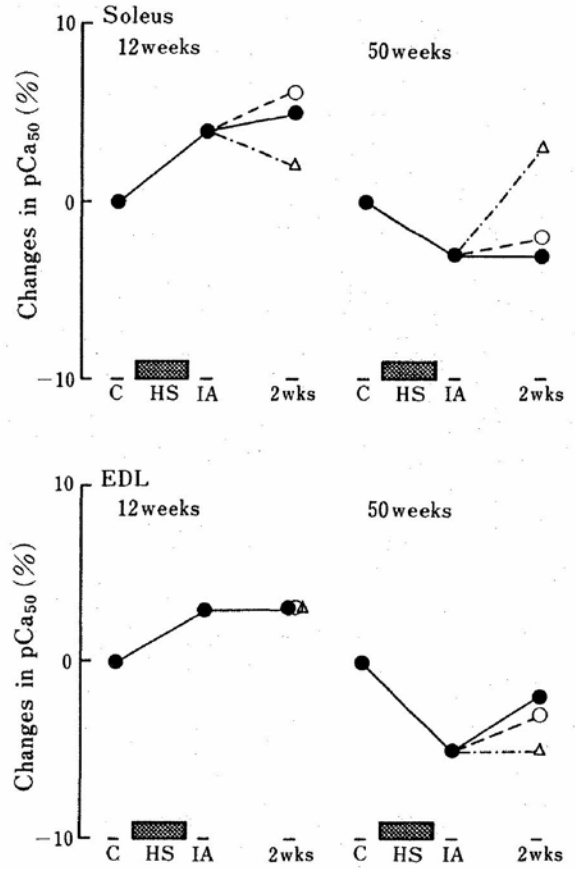


図4 Relative changes in Ca^{2+} sensitivity induced by hindlimb suspension. Data shows the relative mean value to the mean value of the control group
pCa₅₀ : Ca^{2+} concentration required for half-maximal activation. Other abbreviations are the same as in Fig. 1

飼育群であり、以下低強度運動負荷群、高強度運動負荷群の順であった。

12週齢のひらめ筋において懸垂負荷により増加した筋線維の Ca^{2+} に対する感受性は、高強度運動負荷により低下する傾向を示し、低強度運動負荷ならびに自由飼育ではさらに増加する傾向が認められた(図4)。また、同じく12週齢の長趾伸筋における Ca^{2+} に対する感受性は、運動負荷の有無にかかわらず変化しなかった。

一方、高齢群の Ca^{2+} に対する感受性はひらめ筋および長趾伸筋ともに懸垂負荷により低下し、懸垂解除後、運動負荷の有無にかかわらず増加す

る傾向が認められた。その傾向は、低強度運動負荷群、自由飼育群高強度運動負荷群の順に強いものであった。しかしながら、それらの値は対照群に比して依然として低いものであった。

3. 考 察

筋萎縮は骨格筋に対しての荷重が失われることにより引き起こされるものと考えられている^{20,21)}。臨牀的にも、ギプス固定や長期臥床により骨格筋が萎縮することが知られている。また、同様に加齢によっても生じる。本研究では、生後12週齢および50週齢のラットを実験モデルとして使用し

た。12週齢のラットはヒトの青年（成人）期に、50週齢は壮年あるいは高年期に相当する。

不使用による筋萎縮のモデルとしては、後肢懸垂や体躯懸垂などによる萎縮下肢骨格筋、除神経による萎縮筋あるいはギプス固定による萎縮筋など、それぞれ萎縮筋モデルとして用いられているが、おのおのその筋肉の性質は異なる⁵⁻⁷⁾。本研究では後肢懸垂による下肢骨格筋をそのモデルとして用いた。この方法では、主として後肢の抗重力筋に萎縮が生じる^{2, 15, 18, 22)}。

細胞レベルでは、萎縮による筋収縮機能の変化は筋細胞の種類により異なり^{8, 16, 18)}、その変化は速筋にも現れる^{6, 8)}。このような萎縮による筋収縮機能の変化は可逆性変化であることも確認されている^{1, 22)}。本研究においても、筋湿重量の減少は遅筋であるひらめ筋においてのみ認められた。さらに、12および50週齢ともに認められたことから、不使用により萎縮が生じる筋のタイプとその程度に加齢の影響は少ないと考えられる。

不使用により萎縮した筋は、低齢である12週齢では懸垂時間とはほぼ同じ時間の重力負荷により、萎縮前の値の90%まで回復した。しかしながら、高齢である50週齢のラットでは、懸垂前の80%までしか回復しておらず、加齢に伴い蛋白合成系に変化が生じている^{13, 17)}ことが示唆される。

萎縮に伴い低下した最大張力も、懸垂解除により回復する傾向を示したが、この傾向も低齢群に比して高齢群で遅延する傾向が認められた。萎縮に伴う筋線維の Ca^{2+} に対する感受性の変化は、週齢により大きく異なるものであった。加齢に伴い筋小胞体における Ca^{2+} 輸送が大きく変化する¹²⁾ことが報告されていることから、このような筋小胞体の機能の差が関与しているかも知れない。

筋線維の Ca^{2+} に対する感受性は、筋原線維上に存在するトロポニンCの Ca^{2+} に対する親和性に大きく依存する。また、萎縮により、トロポニ

ンT, I, Cのタイプに変化が生じることも報告されている^{2, 4)}。このような高齢期と若年期における筋萎縮からの回復反応の差は、加齢に伴う運動神経終板の変性、栄養性因子の減少、内分泌の変調などが関与していると考えられる¹¹⁾。

萎縮後の回復期において運動負荷は、筋の収縮機能に大きな影響を与えることが本研究により示された。萎縮筋に対する電気刺激は、筋収縮機能の回復を促す¹⁾ことが報告されていることから、適度な物理的刺激は筋における蛋白合成系を賦活するものと考えられる。また、運動負荷の影響は12週齢と50週齢のラットでは異なるものであり、加齢という因子の関与が示唆された。また、運動負荷の有無さらには運動負荷の強度により、同一週齢であっても萎縮によって変化した筋収縮機能の反応は異なるものであった。

対照群の値から萎縮によって変化した方向とは逆の反応を示すことが回復を促したと仮定すると、低齢群、高齢群ともに低強度運動負荷により最も回復が促され、運動負荷強度が高いと逆に回復が阻害されると考えられた。また、低齢群では運動負荷を加えなくとも自由飼育により対照群の値にまでほぼ回復する傾向が認められたが、高齢群では自由飼育では回復の遅延が認められ、運動負荷の必要性が示唆された。本研究で用いた2種類の運動強度を、実際にヒトにあてはめた場合、どの程度の運動であるかさらに検討する必要がある。

萎縮筋では正常筋と比較して、負荷が一定であっても負担度は増加すると推測されている¹⁴⁾。個人個人の筋肉の状態はそれぞれ異なることから、年齢を考慮した上で各個人の運動能力に応じた運動プログラムを提供する必要がある。本研究では不使用時間と同一の時間の回復期間でほぼコントロールレベルまで回復した。しかし、ラットとヒトでは体重が懸かっている時間が異なることを十分に考慮する必要がある。さらに、あらかじ

めトレーニングにより筋収縮機能を向上させておくと、萎縮の影響を軽減できる¹⁹⁾ことから、積極的な運動への参加により退行性萎縮を遅延させることができるであろう。

4. 結 論

本研究は、退行性萎縮に伴う筋機能の変化に加齢による差が生じるか検討し、さらに各年齢層において退行性に萎縮した運動器の回復を促す適切な運動負荷方法の策定を試みることを目的とし、生後12および50週齢のウィスター系雄性ラットに、2週間の後肢懸垂を負荷して得られたひらめ筋および長趾伸筋を用いて検討し、以下に示す知見を得た。

1) 2週間の後肢懸垂負荷により、遅筋であるひらめ筋の湿重量の有意な低下が認められた。この現象は、12および50週齢ともに認められたことから、不使用により萎縮が生じる筋のタイプとその程度に加齢の影響は少ないと考えられた。

2) 2週間の後肢懸垂負荷により遅筋線維の割合、最大張力およびCa²⁺に対する感受性の変化は、加齢により大きく影響を受けると考えられた。

3) 不使用により低下した筋収縮機能は、不使用時間と同一時間の通常飼育によりほぼ懸垂前値まで回復した。しかし、高齢群では回復が遅延する傾向が認められた。

4) 低強度運動負荷が、萎縮により低下した筋収縮機能の回復を促進する傾向が認められ、この傾向に週齢による差は認められなかった。

以上より、加齢により筋の蛋白質合成能力の低下が示唆された。萎縮により低下した筋収縮機能は、低強度の運動負荷によりその回復が促進された。しかし、その傾向は週齢により異なり、至適運動負荷強度は年齢に依存することが示された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、研究の助成をいただいた財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に深く感謝致します。また、実験を行う際に協力していただいた聖マリアンナ医科大学第二生理学教室大学院生の代田琢彦先生、田添貴史先生、田中修先生、研究生の平岡亮先生、研究補助員の根本雅子さん、秘書の寺島智恵子さんに厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Barry, J. A., Cotter, M. A., Cameron, N. E., Pattullo, M.; The effect of immobilization on the recovery of rabbit soleus muscle from tenotomy: modulation by chronic electrical stimulation, *Exp. Physiol.*, **79**, 515-525 (1994)
- 2) Campione, M., Ausoni, S., Guezennec, C. Y., Shiaffino, S.; Myosin and troponin changes in rat soleus muscle after hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **74**, 1156-1160 (1993)
- 3) Desplanches, D., Mayet, M. H., Ilyina-Kakueva, E. I., Frutoso, J., Flandrois, R.; Structural and metabolic properties of rat muscle exposed to weightlessness aboard Cosmos 1887, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **63**, 288-292 (1991)
- 4) Diffie, G. M., Caiozzo, V. J., Herrick, R. E., Baldwin, K. M.; Contractile and biochemical properties of rat soleus and plantaris after hindlimb suspension, *Am. J. Physiol.*, **260**, C528-C534 (1991)
- 5) Fitts, R. H., Metzger, J. M., Riley, D. A., Unsworth, B. R.; Models of disuse: a comparison of hindlimb suspension and immobilization, *J. Appl. Physiol.*, **60**, 1946-1953 (1986)
- 6) Fitts, R. H., Brimmer, C. J., Heywood-Cooksey, A., Timmerman, R. J.; Single muscle fiber enzyme shifts with hindlimb suspension and immobilization, *Am. J. Physiol.*, **256**, C1082-C1091 (1989)
- 7) 藤谷博人; 除神経を加えた懸垂後肢骨格筋の形態および生化学的検索, *宇宙航空環境医学*, **29**, 95-105 (1992)
- 8) Gardetto, P. P., Schluter, J. M., Fitts, R. M.;

- Contractile function of single muscle fibers after hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **66**, 2739-2749 (1989)
- 9) Hather, B. M., Adams, G. R., Tesch, P. A., Dudley, G. A.; Skeletal muscle responses to lower limb suspension in humans, *J. Appl. Physiol.*, **72**, 1493-1498 (1992)
- 10) 堀内桂輔, 馬詰良樹; 心筋スキンドファイバー, 心筋代謝実験法, 永野 允, 今井昭一編, 医歯薬出版, 東京, 393-397 (1988)
- 11) 石原昭彦; 筋肉の老性萎縮は運動によって抑制することが可能か, 体力研究, **75**, 1-8 (1990)
- 12) Larsson, L., Salniati, G.; Effects of age on calcium transport activity of sarcoplasmic reticulum of fast- and slow-twitch rat muscle fibres, *J. Physiol.*, **419**, 253-264 (1989)
- 13) Munoz, K. A., Satarug, S., Tiscler, M. E.; Time course of the response of myofibrillar and sarcoplasmic protein metabolism to unweighting of the soleus muscle, *Metabolism*, **42**, 1006-1012 (1993)
- 14) 大平充宣, 井上尚武, 若月 徹; 筋萎縮と運動能力の適応, 宇宙航空環境医学, **29**, 51-54 (1992)
- 15) Reiser, P. J., Kasper, C. E., Moss, R. L.; Myosin subunits and contractile properties of single fibers from hypokinetic rat muscles, *J. Appl. Physiol.*, **63**, 2293-2300 (1987)
- 16) Stevens, L., Mounier, Y., Holy, X.; Functional adaptation of different rat skeletal muscles to weightlessness, *Am. J. Physiol.*, **264**, R 770-R 776 (1993)
- 17) Taillandier, D., Bigard, X., Desplanches, D., Attaix, D., Guezennec, C. Y., Arnal, M.; Role of protein intake on protein synthesis and fiber distribution in the unweighted soleus muscle, *J. Appl. Physiol.*, **75**, 1226-1232 (1993)
- 18) Takekura, H., Yoshioka, T.; Ultrastructural and metabolic profiles on single muscle fibers of different types after hindlimb suspension in rats, *Jpn. J. Physiol.*, **39**, 385-396 (1989)
- 19) 吉岡利忠, 竹倉宏明; 予め持久性運動を負荷した骨格筋に対する体躯懸垂の影響, 宇宙航空環境医学, **26**, 615-620 (1989)
- 20) 吉岡利忠; 骨格筋萎縮のメカニズム, *J. J. Sports Sci.*, **10**, 615-620 (1991)
- 21) 吉岡利忠, 山下勝正, 竹倉宏明; 骨格筋トレーニングおよび無荷重が単一筋線維の機能と構造に及ぼす影響, 聖マリアンナ医大誌, **20**, 1049-1061 (1992)
- 22) 山下勝正, 吉岡利忠; ラット廃用性萎縮筋線維の短縮速度とカルシウム感受性, 宇宙航空環境医学, **30**, 71-80 (1993)