

老齡期の骨格筋における持久性 走運動の有効性の検討

愛知教育大学 鈴木英樹
(共同研究者) 同 春日規克
順天堂大学 内藤久士
東京慈恵会医科大学 山内秀樹
中京大学 辻本尚弥
同 石河利寛

Effects of Endurance Training on Skeletal Muscle in Senescent Rats

by

Hideki Suzuki, Norikatsu Kasuga

Aichi University of Education

Hisashi Naitoh

Juntendo University

Hideki Yamauchi

Jikei University School of Medicine

Hisaya Tsuzimoto, Toshihiro Ishiko

Chukyo University

ABSTRACT

We examined the effects of endurance treadmill running on the oxidative capacity in specific plantaris muscle fiber types in young (5 month) and senescent (25 month) female Fischer 344 rats. Both young and senescent animals were trained at 75% of maximal O₂ consumption for 1 h/day, 5 days/wk for 10 wk. Densitometric ana-

lysis of succinate dehydrogenase (SDH) activity in type I, IIa and IIb muscle fibers was determined using a computerized image—processing system. SDH activity was found to be increased in all three fiber types in both the young and senescent trained animals compared with their sedentary counterpart.

However, SDH activities of Type I and IIa fibers in senescent rats were more responsive to endurance training than in young rats. The results indicate that the senescent plantaris muscle maintains its oxidative capacity to adapt to endurance training.

要 旨

われわれは、若齢（5ヵ月齢）と老齢（25ヵ月齢）の Fischer 系雌ラットを用い、持久性トレッドミル走が足底筋の各タイプの筋線維の酸化系能力に及ぼす影響を調べた。若齢、老齢の運動群は、75%の相対的強度の運動を1日1時間、週5日、10週間のトレーニングを行った。

SDH 活性は、画像処理システムを用いたデンストメトリー法にて決定した。SDH 活性は若齢、老齢期の両運動群で非運動に比べ、すべてのタイプの筋線維で上昇した。しかしながら、老齢ラットのタイプ I と IIa 線維の SDH 活性は、若齢ラットに比べ運動に対する応答が高かった。研究結果は老齢においても、足底筋筋線維は持久性トレーニングに対する適応能力を維持していたことを示した。

1. 目 的

老齢期においても、運動の実施が若齢期と同様に持久性能力を向上させるという報告がヒト^{5,6,28)}や実験動物^{4,22,25)}でなされている。さらに、骨格筋については筋線維組成^{5,6,17,18)}や酵素活性^{5,6,17,18,26,27)}に関して数多くの研究がなされている。

老齢期における持久性運動の実施は、生化学的手法を用いた研究により、ヒト^{5,6,26)}、ラット^{4,17,18,27)}

で下肢筋の酸化系酵素活性を高めるとの報告がなされている。一方で、筋線維酵素活性は筋線維タイプで異なること^{12,13)}、さらに筋線維組成は加齢^{8,19,20,21)}や運動^{15,17,18)}の実施で変化することが知られている。しかしながら、老齢期での運動による筋線維レベルでの酸化系能力の変化に関する報告はあまりみられない¹¹⁾。

老齢期における運動実施に関しては、運動の強度、様式、さらには有効性、安全性という点から、筋線維レベルでのデータの蓄積が重要であると考えられる。そこで、本研究は酵素組織化学的手法と画像処理法を用いて、加齢や運動による筋線維レベルでの酸化系酵素活性の変化を調べることを目的とした。

2. 方 法

実験には若齢、老齢期動物として5、25ヵ月齢の Fischer 344 系雌ラットを用いた。各月齢のラットは、あらかじめ10週間の走トレーニングを負荷し、対照群と比較した。飼育条件は室温 22 ± 1℃、湿度 60%、昼夜逆転の12時間の明暗サイクルであった。なお、トレーニングおよび実験時の動物の取り扱いについては「実験動物の飼養および保管等に関する基準」に沿って行った¹⁶⁾。トレーニングは、小動物用トレッドミルを用いた走運動を週5日の頻度で行った。運動強度は

Mazzeo らの方法²²⁾に従い、各月齢にとって $\dot{V}_{O_2 \max}$ のおよそ 75% となるように設定した。トレーニング終了後、足底筋を摘出、筋重量を測定後、ただちに液体窒素で冷却したイソペンタン中で急速凍結し、組織化学的分析を行うまで保存した。

組織化学的分析は、 -20°C のクリオスタット中にて厚さ $10\ \mu\text{m}$ の筋の連続横断切片を作成し、myosin ATP ase (pre-incubation ; pH 4.35, 4.6, 10.3)²⁴⁾ および succinate dehydrogenase (SDH)²³⁾ 染色を行った。筋線維は Brooke と Kaiser の分類法³⁾に従い、ATP ase 染色結果を用いてタイプ I, IIa および IIb に分類した。SDH 染色結果は、その顕微鏡画像を画像処理システム (IMAGE DIGITIZER FRM 2-RGB, フォトロン社製) にて取り込み、筋線維の酵素活性を Martin たちの方法²¹⁾ に準じ、その染色強度により決定し Optical density として示した。筋線維の酵素活性の測定は、3 種類の筋線維タイプの混在する深層部において、一本の筋について各タイプごとにおよそ 30 本の分析を行った。また、酵素活性の測定を行った筋線維については、ATP ase 染色結果を用いて横断面積の測定も行った。

統計的処理は、測定で得られた値を各群において、まずその平均値と標準誤差を算出した。つぎに、分散の検定には Bartlett 法を、平均値の検定には一元配置分散分析法を用いた。各群間の平均

値の差の検定には Duncan の多範囲検定法を用いた。有意水準は 5% ($P < 0.05$) とした。

3. 結 果

表 1 にラットの体重および筋重量を示した。体重・筋重量ともに若齢期に比べて老齢期ラットで有意 ($P < 0.05$) に高値を示した。体重 100 g あたりの筋重量は、若齢期に比べて老齢期ラットで有意 ($P < 0.05$) に低値を示し、また、若齢期においては運動群が対照群に比べて有意 ($P < 0.05$) に高値を示した。

表 2 に筋線維横断面積および SDH 活性を示した。筋横断面積は、老齢期のタイプ IIa 線維のみ若齢期に比べて有意 ($P < 0.05$) に高値を示したが、若齢、老齢期ともに対照群と運動群間で有意な差は認められなかった。筋線維 SDH 活性は、若齢期と老齢期間で有意な差は見られなかった。また、各筋線維タイプの SDH 活性は若齢、老齢期ともに対照群に比べ運動群が高値を示したが、老齢期のタイプ I 線維についてのみ有意 ($P < 0.05$) な差が認められた。

図 1 には筋線維の SDH 活性を各月齢、各タイプごとに度数分布図として示した。とくに老齢期の運動群で、タイプ I および IIa 線維において SDH 活性の分布域が右に移動していた。また、老齢期のタイプ IIb および若齢期の各タイプにおいては運動群で分布域の移動が見られず、SDH 活

表 1 Body weight, absolute and relative plantaris muscle weight

| | 5 month | | 25 month | |
|--------------------------------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|
| | Sedentary (n=5) | Trained (n=5) | Sedentary (n=4) | Trained (n=5) |
| Body wt, g | 206±5 | 194±5 | 276±8* | 259±8 |
| Plantaris wet wt, mg | 192±1 | 201±2 | 226±3* | 210±2 |
| Relative plantaris wet wt, mg/100g body wt | 94±1 | 103±2* | 82±3* | 81±2 |

Values are mean ± SE. n : number of rats. * Significantly different from 5-month-old sedentary rats ($P < 0.05$)

表2 Succinate dehydrogenase (SDH) activity and cross-sectional area (CSA) of plantaris muscle fibers

| | 5 month | | 25 month | |
|-----------------|----------------------|------------------|--------------------|------------------------------|
| | Sedentary (n=5) | Trained (n=5) | Sedentary (n=4) | Trained (n=5) |
| | CSA, μm^2 | | | |
| Type I fibers | 1335 \pm 46 | 1256 \pm 50 | 1441 \pm 77 | 1398 \pm 86 |
| Type IIa fibers | 1208 \pm 28 | 1319 \pm 69 | 1532 \pm 119* | 1463 \pm 107 |
| Type IIb fibers | 1844 \pm 147 | 1849 \pm 113 | 1730 \pm 146 | 1728 \pm 91 |
| | SDH activity, O.D. | | | |
| Type I fibers | 0.40 \pm 0.03 | 0.46 \pm 0.03 | 0.39 \pm 0.02 | 0.51 \pm 0.01 ⁺ |
| Type IIa fibers | 0.46 \pm 0.04 | 0.48 \pm 0.02 | 0.47 \pm 0.03 | 0.54 \pm 0.02 |
| Type IIb fibers | 0.31 \pm 0.02 | 0.34 \pm 0.02 | 0.27 \pm 0.01 | 0.32 \pm 0.02 |

Values are mean \pm SE. n : number of rats. O.D. : optical density. * Significantly different from 5-month-old sedentary rats ($P < 0.05$). + Significantly different from 25-month-old sedentary rats ($P < 0.05$).

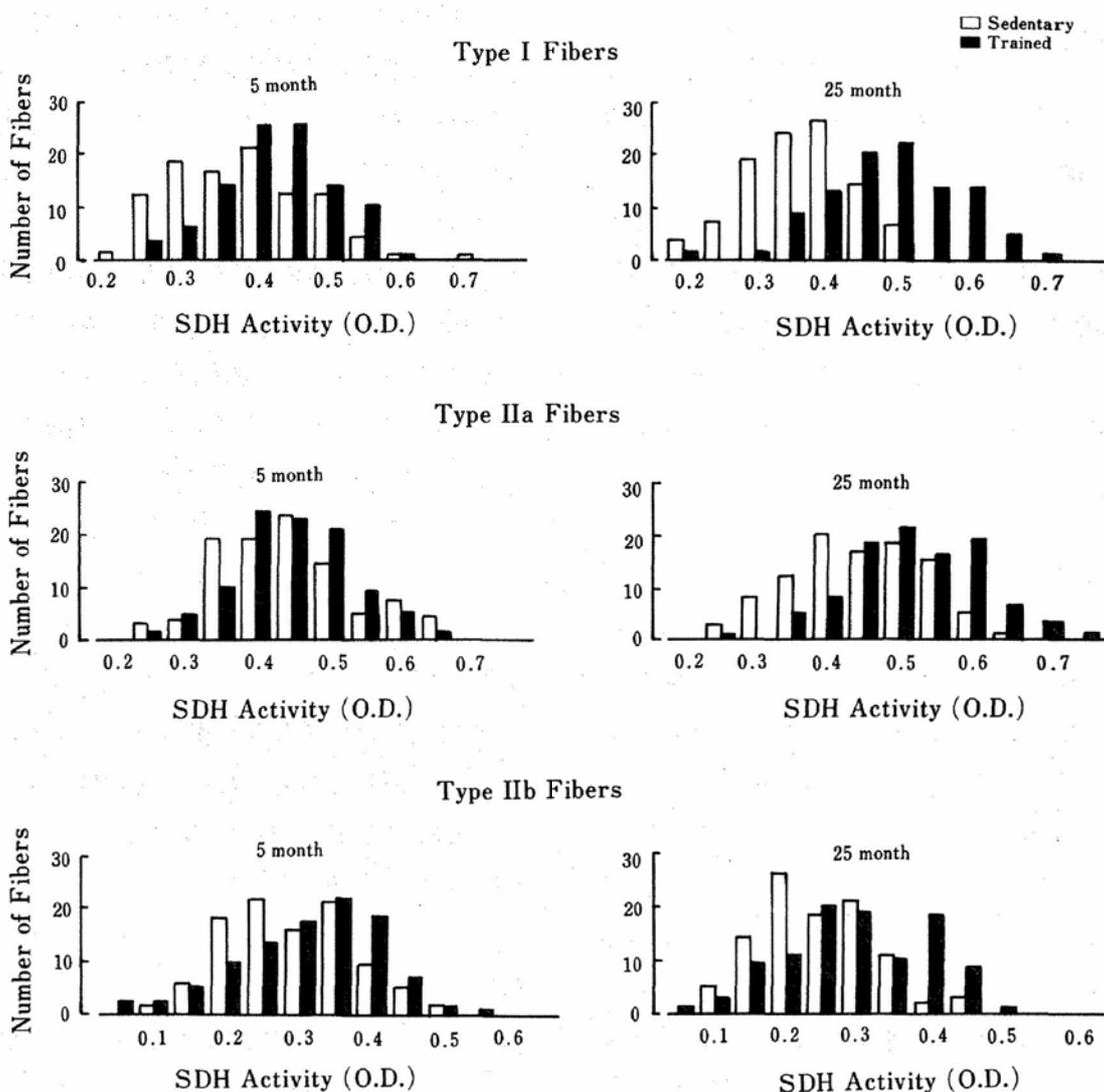


図1 Frequency distributions of succinate dehydrogenase activity for each typed fiber in plantaris muscle
デサントスポーツ科学 Vol. 16

性が高い筋線維が増加していた。

4. 考 察

一般的に運動トレーニングによって筋肥大がおこることが知られている^{6,10,15,17,18)}。本研究においては、走トレーニングにより若齢ラットの足底筋の相対的筋重量は増加したが、筋線維の肥大は観察されなかった。

Ishihara らは、自発運動を行ったラットの足底筋で、表層部においてのみ筋線維の肥大があったことを報告している¹⁵⁾。さらに、本研究では筋線維横断面積の測定は、各筋線維タイプの混在する筋深層部についてのみ行っているため、深層部では変化がなかったものの、表層部では筋線維の肥大があったのではないかと考えられる。また、老齢ラットでは、相対的筋重量、筋線維の肥大も観察されず、若齢期とは異なり量的なトレーニングに対する適応はみられなかった。

加齢にともなう骨格筋の酸化系酵素活性の変化に関する研究の多くは、いずれも老齢期の下肢筋で酸化系酵素活性が低下したことを報告している^{1,2,4,11,25)}。本研究結果は、それらの報告とは異なり老齢期の各筋線維タイプにおける酵素活性は、若齢期のものと比べ有意な差が認められなかった。しかし、本研究では老齢期のタイプ II b 線維の酵素活性は、若齢ラットに比べ統計的に有意ではないものの低値を示していた。さらに、被験筋である足底筋のおよそ 70% はタイプ II b 線維が占める¹⁷⁾。したがって、本研究結果を全筋レベルで評価した場合、過去の研究と同様に加齢によって足底筋の SDH 活性は低下すると考えられる。

これまで加齢にともなう持久性トレーニング実施の影響に関する研究がなされている。Mazzeo らは、若齢、成熟期ラットに負荷したトレーニングと相対的運動強度の同等な走トレーニングを老齢 (24 ヶ月齢) ラットに実施し、老齢期においても若齢期と同様に有酸素性トレーニングに対する

適応が見られたことを報告している²²⁾。筋の酸化系酵素活性については、持久性走トレーニングで^{2,4,11,18,25,27)}、いずれも下肢の骨格筋で若齢、老齢ラットで酸化系酵素活性が高まったと報告されている。また、持久的な遊泳運動¹⁷⁾を実施した場合にも、老齢期で同様な結果が報告されている。本研究の結果も、若齢、老齢期で対照群に比べ運動群ですべての筋線維タイプで SDH 活性が高値を示し、老齢期であっても足底筋の筋線維は、トレーニングに対する適応能力を有していることを示した。

Davies らは、筋の酸化系能力とミトコンドリア含有量は持久性パフォーマンスと直接的な関係があることを報告している⁷⁾。また、Beyer らは 21 週間の走トレーニングを負荷したラットを用いた研究で、筋の酸化系酵素活性とミトコンドリア量は、持久性トレーニングによって老齢期であっても高まった報告をしている⁹⁾。

Farrar らも、筋原線維ミトコンドリアに関する研究を行い、加齢に伴う骨格筋の酸化系酵素活性の低下はミトコンドリア量の減少によるもので、ミトコンドリアの機能低下によるものではなく、また走トレーニングによって老齢期であっても、ミトコンドリア量を増加すると報告している⁹⁾。したがって、本研究で観察された老齢期での走トレーニングによる SDH 活性の上昇も、個々の筋線維内においてミトコンドリア量が増加したためと考えられる。

本研究では、異なる月齢のラットに相対的強度の等しい運動を負荷したが、運動群のタイプ I と II a 線維の SDH 活性は若齢期に比べ老齢期で高値を示した。Powers らも、われわれの用いた同系のラット (4 ヶ月齢, 24 ヶ月齢) で、10 週間の同一負荷の持久性トレーニングを行った場合、生化学的に測定した足底筋の酸化系酵素活性は若齢ラットに比べ、老齢ラットで高かったことを報告している²⁵⁾。

老化に伴うタイプ I および IIa 線維の増加に関する報告がされている^{17, 19, 20}。さらに, Ingjer らはヒトの大腿四頭筋で, 持久性トレーニングによってミトコンドリア量の高くなった筋線維は, タイプ I, IIa 線維に多く観察され, それらの筋線維は毛細血管もよく発達していたことを報告している¹⁴。したがって, 加齢にともなう変化としてタイプ I あるいはタイプ IIa 線維が増加し, さらにトレーニングによって毛細血管が発達し, 十分な酸素供給が行われ, ミトコンドリア量が増加し酸化系酵素活性が高くなった可能性が考えられる。

図 1 は, 25 ヶ月齢の運動群ではタイプ I, IIa に関して, 筋線維の酵素活性の分布域が全体的に活性の高い側 (右) に移動することを示しているが, これは先の理由等によって, 若齢期では観察されなかったようなミトコンドリアの豊富な筋線維が出現したとも考えられる。さらに, Coggan らは, マスターアスリート⁵または持久性運動を実施した高齢者⁶に関する研究で, 外側腓腹筋でタイプ IIb 線維の割合の減少, 単位断面積あたりの毛細血管数の増加, コハク酸脱水素酵素活性をはじめとする酸化系酵素活性の向上を報告している。これらの報告は先の仮説を説明するかもしれない。

図 1 において, 25 ヶ月齢のタイプ IIb と 5 ヶ月齢のすべての筋線維に関しては, 対照群と運動群では酵素活性の分布域は変化することなく, 酵素活性の高い筋線維数が増加していた。これは, SDH 活性の低かった筋線維が動員されることによって, その酵素活性が高くなり, 結果的に SDH 活性が高い筋線維が増加したと考えられる。しかし, 本研究では筋線維の動員パターン, 毛細血管および筋線維内ミトコンドリア等に関する詳細な分析を行っていないため, さらなる検討が必要である。

以上の結果より, 本研究では, 老齢期であっても骨格筋は持久性トレーニングに対する適応能力

を有していること, さらに, その適応応答は筋線維のタイプによって異なることが示された。

5. まとめ

本研究では, 老齢期における持久性走運動の有効性を検討するために, 実験動物としてラットを用いた基礎的研究を行った。その結果, 老齢期であっても持久性走運動の実施によって, 下肢骨格筋における各タイプの筋線維の酸化系酵素活性は若齢期と同様に上昇した。それは老齢期であっても, 下肢骨格筋は持久性運動に対する適応能力を有していることを示すものであった。また, その適応応答は若齢と老齢期では, 筋線維タイプによって違いがあることを示唆された。

文 献

- 1) Bass, A., E. Gutmann, V. Hanzlikova ; Biochemical and histochemical changes in energy supply enzyme pattern of muscles of the rat during old age, *Gerontologia*, **21**, 31-45 (1975)
- 2) Beyer, R. E., J. W. Starnes, D. W. Edington, R. J. Lipton, R. T. Comoton, III, M. A. Kwasman ; Exercise-induced of age-related decline of oxidative reactions, mitochondrial yield, and flavines in skeletal muscle of the rat, *Mech. Aging Dev.*, **24**, 309-324 (1984)
- 3) Brooke, M. H., K. K. Kaiser ; Three "myosin ATPase" system : The nature of their pH lability and sulfhydryl dependence, *J. Histochem. Cytochem.*, **18**, 670-672 (1970)
- 4) Cartee, G. D., R. P. Farrar ; Muscle respiratory capacity and $V_{O_2 \max}$ in identically training young and old rats, *J. Appl. Physiol.*, **63** (1), 257-261 (1987)
- 5) Coggan, A. R., R. J. Spina, M. A. Rogers, D. S. King, M. Brown, P. M. Nemeth, J. O. Holloszy ; Histochemical and enzymatic characteristics of skeletal muscle in master athletes, *J. Appl. Physiol.*, **68** (5), 1896-1901 (1990)
- 6) Coggan, A. R., R. J. Spina, D. S. King, M. A. Rogers, M. Brown, P. M. Nemeth, J. O. Holloszy ; Skeletal muscle adaptations to endurance training in 60 to 70 yr-old men and women, *J. Appl. Physiol.*, **72** (5), 1780-1786

- (1992)
- 7) Davies, K. J. A., L. Packer, G. A. Brooks ; Biochemical adaptation of mitochondria, muscle, and whole—animal respiration to endurance training, *Arch. Biochem. Biophys.*, **209**, 539–554 (1981)
 - 8) Eddinger, T. J., R. L. Moss, R. G. Cassen ; Fiber number and type composition in extensor digitorum longus, soleus, and diaphragm muscles in aging in Fisher 344 rats, *J. Histochem. Cytochem.*, **33** (10), 1033–1041 (1985)
 - 9) Farrar, R. P., T. P. Martin, C. M. Ardies ; The Interaction of aging and endurance exercise upon the mitochondrial function of skeletal muscle, *J. Gerontol.*, **36**, 642–647 (1981)
 - 10) Fitts, R. H., J. P. Troup, F. A. Witzmann, J. O. Holloszy ; The effect of aging and skeletal muscle function, *Mech. Ageing Dev.*, **27**, 161–172 (1984)
 - 11) Gosselin, L. E., M. Betlach, A. C. Vailas, D. P. Thomas ; Training—induced alterations in young and senescent rats diaphragm muscle, *J. Appl. Physiol.*, **72** (4), 1506–1511 (1992)
 - 12) Hauschka, E. O., R. R. Roy, V. R. Edgerton ; Size and metabolic properties of single muscle fibers in rat soleus after hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **62** (6), 2338–2347 (1987)
 - 13) Hauschka, E. O., R. R. Roy, V. R. Edgerton ; Periodic weight support effects on rat soleus after hindlimb suspension, *J. Appl. Physiol.*, **65** (3), 1231–1237 (1988)
 - 14) Ingjer, F ; Effect of endurance training on muscle fiber ATP—ase activity, capillary supply and mitochondrial content in man, *J. Physiol.*, **294**, 419–432 (1979)
 - 15) Ishihara, A., N. Inoue, S. Katsuta ; The relationship of voluntary running to fiber type composition, fiber area and capillary supply in rats soleus and plantaris muscles, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **62**, 211–215 (1991)
 - 16) 実験動物飼育保管研究, 実験動物の飼育および保管等に関する基準の解説, 総理府内閣総理大臣官房管理室, 1版, きょうせい, 東京 (1990)
 - 17) Klitgaard, H., A. Brunet, B. Maton, C. Lamaziere, C. Lesty, H. Monod ; Morphological and biochemical changes in old rat muscles : effect of increased use, *J. Appl. Physiol.*, **67** (4), 1409–1417 (1989)
 - 18) Kovanen, V., H. Suominen ; Effects of age and life—time physical training on fiber composition of slow and fast skeletal muscle in rats, *Eur. J. Physiol.*, **408**, 543–551 (1987)
 - 19) Larsson, L., B. Sjödin, J. Karlsson ; Histochemical and biochemical changes in human skeletal muscle with age in sedentary male, age 22–65 years, *Acta Physiol. Scand.*, **103**, 31–39 (1978)
 - 20) Larsson, L., J. Karlsson ; Isometric and dynamic endurance as function of age and skeletal muscle characteristics, *Acta Physiol. Scand.*, **104**, 129–136 (1978)
 - 21) Martin, T. P., A. C. Vailas, J. B. Durivage, V. R. Edgerton, K. R. Castleman ; Quantitative histochemical determination of muscle enzyme, *J. Histochem. Cytochem.*, **33** (10), 1053–1059 (1985)
 - 22) Mazzeo, R. S., G. A. Brooks, S. M. Horvath ; Effects of age on metabolic responses to endurance training in rats, *J. Appl. Physiol.*, **57** (5), 1369–1374 (1984)
 - 23) Nachlas, M. M., K. G. Tsou, E. DeSousa, C. S. Cheng, A. M. Seligman ; Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p—nitrophenyl substituted diterazole, *J. Histochem. Cytochem.*, **5**, 420–436 (1957)
 - 24) Padykula, H. A., E. Herman ; The specificity of the histochemical method of adenosine triphosphatase, *J. Histochem. Cytochem.*, **3**, 170–195 (1955)
 - 25) Power, S. K., J. Lawler, D. Criswell, F. Lieu, D. Martin ; Aging and respiratory muscle metabolic plasticity : effect of endurance training, *J. Appl. Physiol.*, **72** (3), 1068–1073 (1992)
 - 26) Power, S. K., J. Lawler, D. Criswell, F. Lieu, S. Dodd ; Alteration in diaphragmatic oxidative and antioxidant enzymes in the senescent Fischer 344 rat, *J. Appl. Physiol.*, **72** (6), 2317–2321 (1992)
 - 27) Sanchez, J., C. Bastien, H. Monod ; Enzymatic adaptations to treadmill training in skeletal muscle of young and old rats, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, **52**, 69–74 (1983)
 - 28) Sindey, K. H., R. J. Shephard ; Frequency and intensity of exercise training for elderly subjects, *Med. Sci. Sports*, **10** (2), 125–131 (1978)