

筋の退行性変化に対する運動の抑制と加齢の影響

東京慈恵会医科大学 山内 秀樹
(共同研究者) 同 米本 恭三

Effects of Exercise and Ageing on Soleus Muscle Atrophy Induced by Hindlimb Suspension in Rats

by

Hideki Yamauchi, Kyozo Yonemoto
*Division of Physical Fitness and Sports Medicine,
Department of Rehabilitation Medicine, Jikei University School of Medicine*

ABSTRACT

We investigated the effect of exercise on muscle atrophy and histo-pathological changes induced by hindlimb suspension (HS) as an experimental model of disuse in 4-, 10-, and 20-months old rats. Maximum tetanic tension (Pmax) of the soleus muscle (SOL) decreased significantly with HS but the degree of tension decline did not differ between three age groups (70, 76, 75% in 4-, 10- and 20- months old, respectively). This decrease was more pronounced than a decrease in muscle wet weight (39-41%) and fiber cross-sectional area (55-61%). In SOL of HS, core-like lesions and ragged-red fibers appeared in addition to muscle fiber atrophy. Also, interstitial space increased with HS. These changes were observed at any age. Therefore, the tension decline due to HS was responsible for muscle fiber atrophy and pathological changes. Isometric exercise (30 minutes per day, 6 days per week) during HS counteracted tension decline, but less effective in 20-months old than 4- months old. Muscle fiber atrophy and pathological changes decreased with isometric exercise. Pmax per total fiber cross-sectional area of suspended-exercised groups was similar to that of control group in 4-months old rats but was lower in 20-months old rats. Consequently, it was assumed that the factors other than suppression of muscle fiber atrophy were associated with age-related difference in effect of exercise on tension decline.

要 旨

若年（4ヶ月齢）、中年（10ヶ月齢）、老年（20ヶ月齢）ラットに後肢懸垂を実施し、活動制限による骨格筋の萎縮に対するアイソメトリック筋運動の影響を検討した。いずれの加齢段階においても、後肢懸垂によりヒラメ筋の最大張力は、70-76%低下した。この張力低下は、筋線維断面積の減少（55-61%）や筋線維の変性によって生じることが示された。後肢懸垂期間中に、1日30分間の等尺性荷重負荷を行うことにより、後肢懸垂によるヒラメ筋の張力低下は抑制されたが、その効果は、加齢に伴い低下する傾向がみられた。若年期では、筋線維横断面積と筋張力に対する荷重負荷の抑制効果は同程度であったが、中年、老年期では、筋線維横断面積の減少抑制から荷重負荷による筋張力減少抑制を説明することはできなかった。したがって、筋線維の萎縮抑制以外の要因に対する運動効果の違いにより、荷重負荷による張力低下抑制の加齢差がみられたと考えられた。

緒 言

加齢に伴う運動機能低下により、高齢期では転倒の発生率が高まり、骨折や運動機能障害を引き起こすケースが増加する。つまり、高齢期では、活動制限を余儀なくされる場合が増加する。このような高齢期における安静臥床が、さらなる運動機能低下や身体活動に対する意欲喪失をもたらし、廃用症候群やひいては寝たきりを増加させる一因となりかねない。身体活動が低下している時期に、筋萎縮進行を軽減することは、安静解除から日常生活への速やかな回復を図る一方策と考えられ、健康的で、かつ活動的な日常生活活動を確保する上でも重要である。

加齢に伴い筋蛋白合成能^{1,2)}や筋再生能力³⁾は低下することが報告されている。活動制限により、筋は萎縮だけでなく、変性を起こすとされて

おり^{4,5,6)}、活動制限に伴う筋の萎縮・病態やそれに及ぼす運動の影響は加齢の影響を受けると考えられる。しかし、活動制限による筋萎縮の程度や運動の筋萎縮抑制効果に及ぼす加齢の影響について検討した報告は極めて少ない。高齢化社会を迎えた現在において、高齢期における退行性筋萎縮の病態や運動効果を明らかにすることは、健康的な日常生活活動を確保する上で意義あるものと考えられる。

そこで本研究では、実験的廃用モデルを用い、活動制限による退行性筋萎縮とそれに及ぼす運動の軽減効果について、若年、中年、老年期で比較し、筋萎縮防止法としての運動の意義について検討した。

1. 研究方法

実験には4ヶ月齢（若年）、10ヶ月齢（中年）および20ヶ月齢（老年）のF344系雌ラットを用いた。活動制限は後肢懸垂法により行い、期間は3週間、懸垂部位は尾部とした。実験に先立ち、各月齢の動物を対照群（control：以下C群と略す）、懸垂群（suspension：以下S群と略す）、懸垂運動群（suspension + exercise：以下SE群と略す）の3群に分けた。実験期間を通じて、動物はすべて個別ケージで飼育し、各群の摂餌量が等しくなるように調節、飼育した。なお、摂水は自由とした。実験遂行に関しては「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」（日本生理学会制定）を遵守した。

運動はExnerらの方法⁷⁾に基づく等尺性荷重負荷とし、1日1回、30分間、週6日実施した。この運動は動物を筒状にした金網の床面で維持させるもので、金網の傾斜や動物につける荷重により容易に運動強度が変えられる利点がある。運動強度は、最初の1週間は傾斜80度で荷重なし、2週目以降は傾斜80度、体重の約30%の荷重条件で2分間+傾斜60度、無荷重で3分間を1セット（計

5分間)とし、6セット繰り返し行った。

実験期間終了後、右側ヒラメ筋の等尺性収縮張力を間接極大電気刺激(0.1msの矩形波)により測定した。刺激電極(双極銀塩化銀電極)により誘発された収縮張力はストレインゲージ(LST-500GA, 共和電業)により検出され、動ひずみ測定器(DPM711B, 共和電業)により増幅された信号をサーマルアレレコーダ(RTA1200M, 日本光電)に記録した。測定中、被検筋は $37 \pm 1^\circ\text{C}$ に維持し、95% O_2 -5% CO_2 の混合ガスにて飽和したリンゲル液中に浸漬した。筋長は最大単収縮張力が得られる長さに固定した。刺激頻度100, 200, 250Hzで1秒間刺激し、最大張力を測定した。測定終了後、両後肢のヒラメ筋を摘出・秤量し、イソペンタン中で瞬間凍結した。

左ヒラメ筋の筋腹部において、厚さ $10 \mu\text{m}$ の凍結切片を作成し、HE染色とGomoriトリクローム変法染色を施した。標本から横断面中心部の約100本の組織学的に異常のない筋線維の横断面積を算出した。また、横断面の総筋線維数、筋横断面積、総筋線維数と筋線維横断面積をかけあわせた総筋線維横断面積を算出した。細胞間隙は、筋

横断面積と総筋線維横断面積の差および筋横断面積あたりの面積比として求めた。

各群の値は平均と標準偏差で表した。平均値の差の検定には二元配置分散分析(群, 加齢の2要因)を用いた。分散分析により有意であった項目については、Fisherの多重比較を行い、いずれも5%の危険率をもって有意とした。

2. 結果

ヒラメ筋の湿重量、最大張力の変化を図1に示した。いずれの月齢においても、S群およびSE群のヒラメ筋重量はC群に比べ低値を示した。4ヶ月齢ではS群に比べSE群は高値を示したが、10と20ヶ月齢では、S群とSE群間で差はみられなかった。最大張力の変化に関して、いずれの月齢においても3群間で有意な差が認められた。C群に比べS群の最大張力は、4, 10, 20ヶ月齢でそれぞれ、70%, 76%, 75%低値を示した。またC群に比べSE群の最大張力は、4, 10, 20ヶ月齢でそれぞれ、43%, 57%, 64%低値を示した。

各群の横断像(4ヶ月齢)を図2に示した。C群に比べS群では筋線維の萎縮と細胞間隙の増加

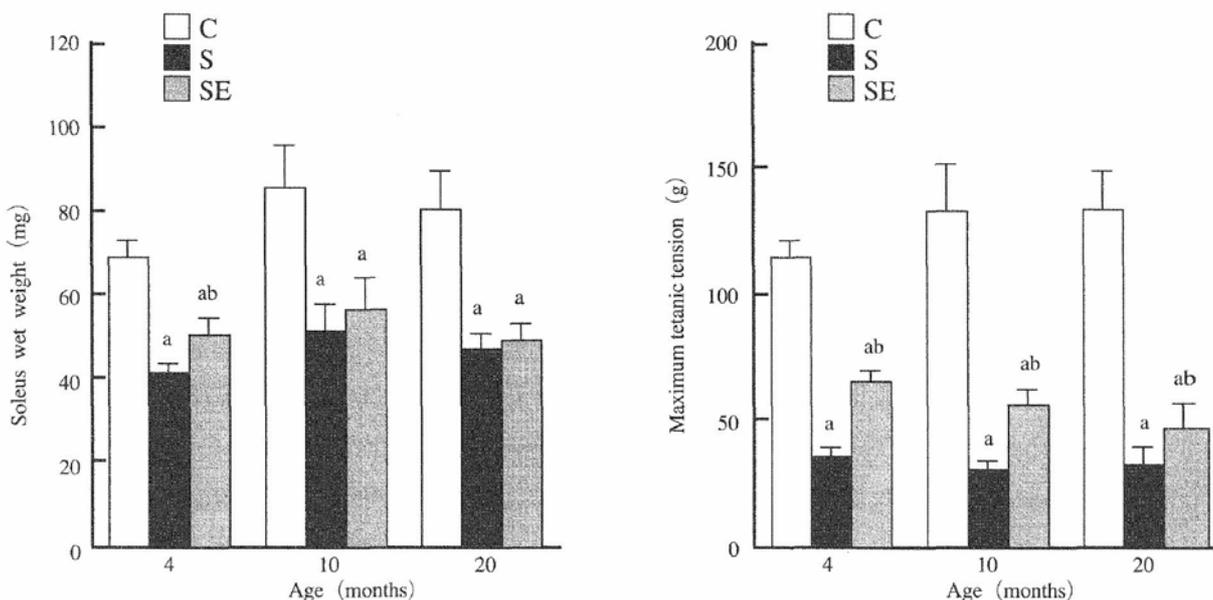


図1 ヒラメ筋の湿重量(左図)と最大張力(右図)の変化

C; 対照群, S; 懸垂群, SE; 懸垂運動群。a, bはそれぞれ対照群, 懸垂群との有意差(p<0.05)を表す

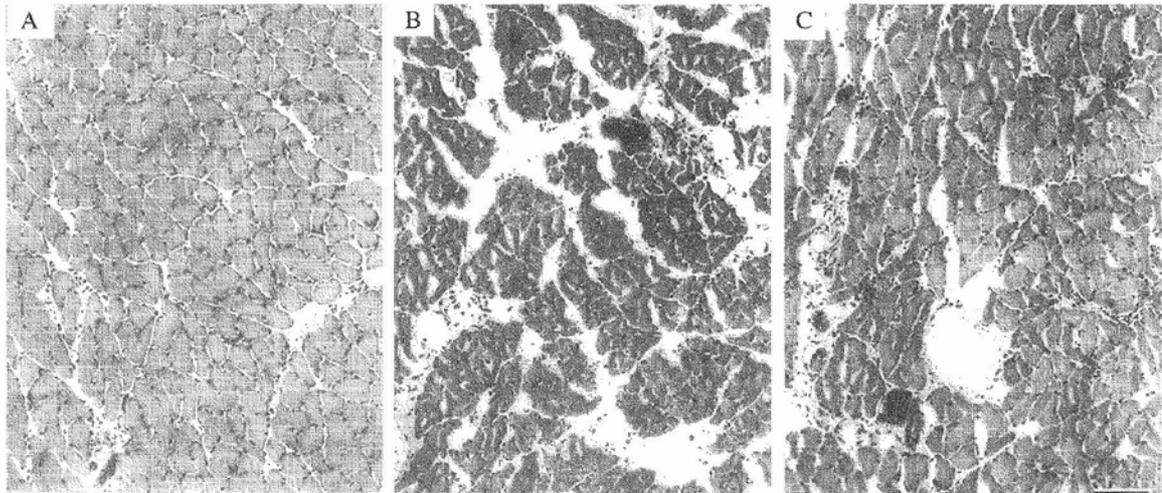


図2 各群の横断面のHE染色像. 4ヶ月齢
A, B, Cは対照群, 懸垂群, 懸垂運動群の横断面. 懸垂群の筋線維の萎縮, 細胞間隙の増加を認める. 懸垂運動群は懸垂群に比べ筋線維の萎縮, 細胞間隙増加が少ない. Bar = 100 μ m

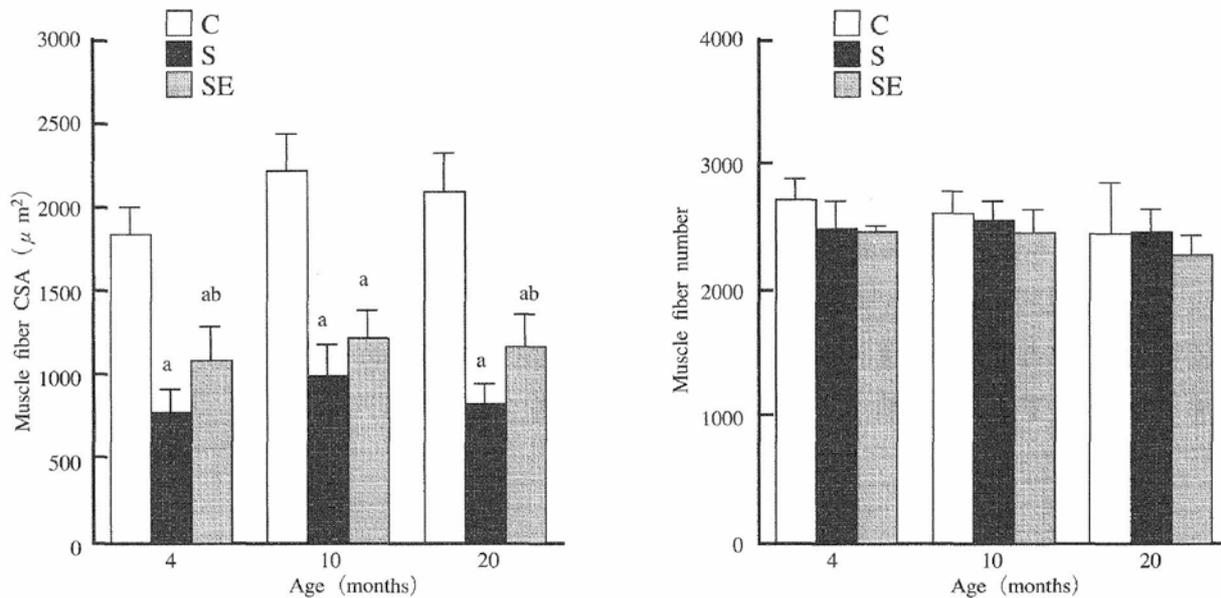


図3 ヒラメ筋の筋線維横断面積 (左図) と総筋線維数 (右図) の変化
C; 対照群, S; 懸垂群, SE; 懸垂運動群. a, bはそれぞれ対照群, 懸垂群との有意差 ($p < 0.05$) を表す

を認めたが, SE群はS群に比べその程度が少ない傾向がみられた.

筋線維横断面積と総筋線維数の変化を図3に示した. いずれの月齢においても, S群およびSE群の著明な筋線維の萎縮が観察された. 4と20ヶ月齢では, S群に比べ, SE群で高値を認めた. 一方, 総筋線維数はいずれの条件においても差がみられなかった.

筋横断面積, 総筋線維横断面積およびその差を

表1に示した. SおよびSE群の筋横断面積, 総筋線維横断面積はいずれの月齢においても, C群に比べ低値を示した. 4ヶ月齢のみ, S群とSE群間で総筋線維横断面積に差がみられた. 筋横断面積と総筋線維横断面積の差 (細胞間隙) は, C群に比べSおよびSE群で低下傾向を示したが, 統計的な有意差はみられなかった. 図4に細胞間隙の筋横断面積に対する面積比と総筋線維横断面積あたりの張力変化を示した. いずれの月齢におい

でも、S群の相対的細胞間隙はC群に比べ高値を示したが、SE群との間に差はみられなかった。4および10ヶ月齢において、S群の総筋線維横断面積あたりの張力は、C群とSE群に比べ低値を示した。20ヶ月齢ではC群に比べ、S群とSE群の低値を認めた。

S群とSE群の組織学的特徴（10ヶ月齢）を図5に示した。S群では、核数の増加や巨大化、筋線維中央部に均一した異常（図5 B,C 矢印）、core-like lesionやragged-red fiber（図5 Bの濃染さ

れた線維）などの変性所見がみられた。SE群では中心核の出現（図5 D 矢印）を認めるが、S群に比べ、筋変性所見は少なかった。

最大張力と筋線維横断面積の変化から、後肢懸垂期間中の運動効果を月齢間で比較し、表2に示した。最大張力から運動効果を比較すると、いずれの月齢間においても差が認められたが、筋線維横断面積に対する運動効果は月齢間で差がみられなかった。

表1 筋横断面積、総筋線維横断面積の比較

Age months	Group	N	MCSA, mm ²	TFCSA, mm ²	MCSA-TFCSA, mm ²
4	C	5	6.25 ± 0.89	4.99 ± 0.60	1.26 ± 0.41
	S	5	3.01 ± 0.46(-52%)a	1.92 ± 0.34(-61%)a	1.08 ± 0.25(-14%)
	SE	5	3.72 ± 0.58(-40%)a	2.68 ± 0.47(-46%)ab	1.04 ± 0.54(-17%)
10	C	5	6.87 ± 0.86	5.76 ± 0.72	1.10 ± 0.79
	S	5	3.64 ± 0.39(-47%)a	2.52 ± 0.57(-56%)a	1.13 ± 0.48(+3%)
	SE	5	4.26 ± 0.45(-38%)a	2.97 ± 0.50(-48%)a	1.29 ± 0.41(+17%)
20	C	5	6.24 ± 0.74	5.03 ± 0.71	1.21 ± 0.33
	S	5	3.10 ± 0.30(-50%)a	1.99 ± 0.33(-60%)a	1.10 ± 0.26(-9%)
	SE	5	3.61 ± 0.52(-42%)a	2.57 ± 0.35(-49%)a	1.04 ± 0.46(-14%)

C；対照群，S；懸垂群，SE；懸垂運動群，括弧内の数字は対照群の値からの低下率を示す
MCSA；筋横断面積，TFCSA；総筋線維横断面積（筋線維数×筋線維横断面積）
a, bはそれぞれ対照群，懸垂群との有意差（p<0.05）を表す

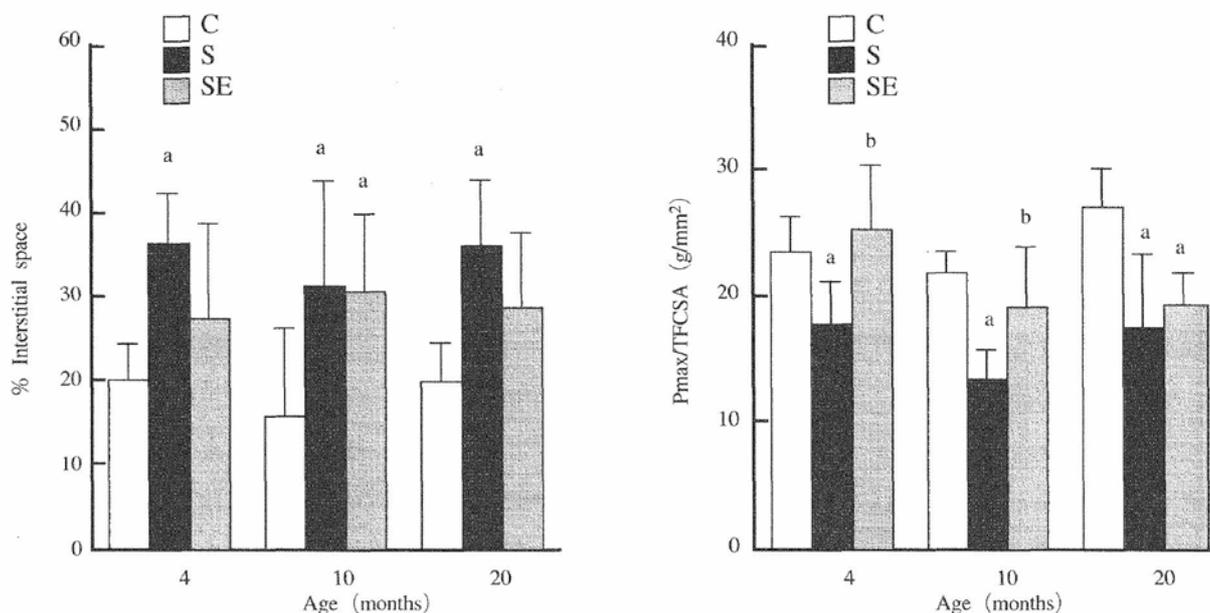


図4 細胞間スペース（左図）と総筋線維横断面積あたりの張力（右図）の変化
C；対照群，S；懸垂群，SE；懸垂運動群。a, bはそれぞれ対照群，懸垂群との有意差（p<0.05）を表す

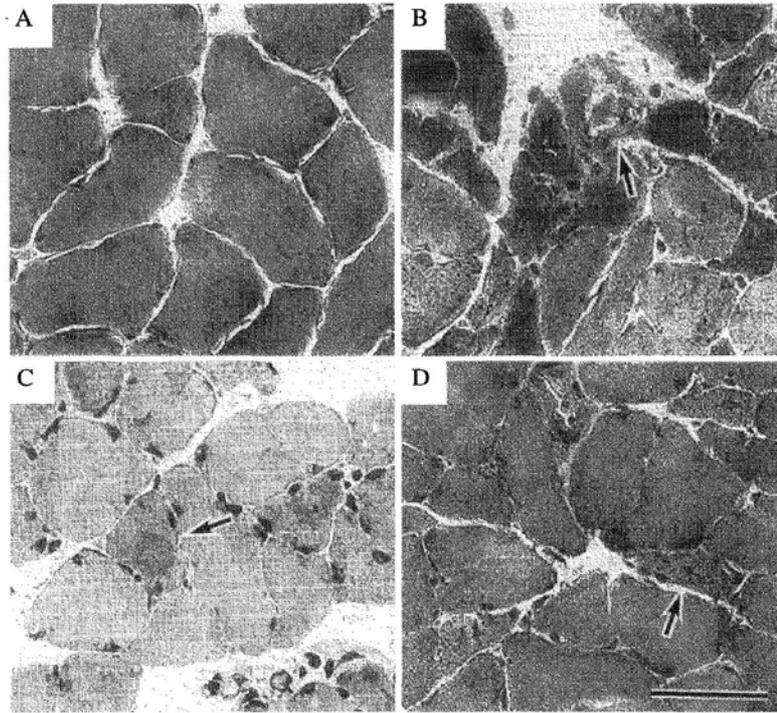


図5 各群の横断面の病理組織学的特徴

A ; 対照群, B と C ; 懸垂群, D ; 懸垂運動群. A, B, D は Gomori トリクローム 変法染色, C は HE 染色. 懸垂群では, 核の巨大化や筋線維の中央部に均一した異常が見られる (B, C の矢印の線維). 懸垂運動群では, 中心核を認めるが, 懸垂群に比べ異常線維は少ない. Bar = 50 μ m

表2 運動効果の月齢間比較

Age, months	Pmax, %	FCSA, %
4	37.9 \pm 5.4	29.3 \pm 19.0
10	25.3 \pm 6.6 a	18.2 \pm 13.7
20	15.1 \pm 9.0 ab	25.9 \pm 15.3

[懸垂運動群 - 懸垂群平均値] / [対照群平均値 - 懸垂群平均値] \times 100 として算出

Pmax ; 最大張力, FCSA ; 筋線維横断面積

a, b はそれぞれ 4 カ月齢と 10 カ月齢の有意差 ($p < 0.05$) をあらわす.

3. 考 察

後肢懸垂に伴う筋の病態として, 量的には筋線維横断面積の低下, 質的には, 細胞間隙の増加や筋変性が, いずれの加齢段階においても共通して生じることが示された.

本研究における懸垂に伴う筋張力低下は, 70-76%であった. この低下率は, 異なる加齢段階において懸垂や関節固定に伴うヒラメ筋の張力変化を検討した先行研究^{8,9)} とほぼ同じ値であり, また加齢段階における筋張力低下に差はみられな

い成績においてもよく一致する.

懸垂に伴い, 筋線維横断面積の減少に比べ, 筋張力は大きく低下した. この結果は, 筋線維の萎縮以外の要因が張力低下に関与していることを示唆する. 本研究において, 懸垂により筋横断面積あたりの細胞間隙が増加したが (図4), 細胞間隙 (MCSA-TFCSA) はいずれの加齢段階においても3群間で差がみられなかった (表3). この結果は, 測定方法は異なるが, 懸垂により筋重量あたりの細胞間液量が増加するが, 絶対量では変化がみられないことを示した Kandarian らの報告¹⁰⁾ と一致する. したがって, 懸垂に伴う相対的細胞間液量やスペースの増加は, 筋線維サイズの減少により二次的に生じると考えられる.

懸垂により総筋線維数に変化はみられなかったが, いずれの加齢段階においても, 筋線維の変性所見が認められた. 先行研究^{4,5,6,11)} においても, 筋線維や細胞内微細構造の異常が報告されている. このような筋の変性や構造的崩壊が張力低下を引

き起こす一因であると推察される。いずれにしても、量的・質的变化の総合として張力低下が生じると考えると、活動制限に伴うヒラメ筋の萎縮・病態は加齢の影響を受けにくいものと考えられる。

本研究で等尺性荷重負荷は、若年期において後肢懸垂による最大張力の低下を38%抑制した(表2)。この成績は先行研究の種々の運動効果¹²⁾に匹敵する。しかしながら、その運動効果は、加齢に伴い低下する成績が得られた。等尺性荷重負荷時には体重+重りが筋にかかる負荷量(運動強度)となる。本研究では荷重負荷量を体重を基準に相対的に決定したため、いずれの加齢段階においても、筋に対する荷重条件は同じであると考えられる。また、荷重時のヒラメ筋の筋出力レベルに関して、ヒラメ筋は姿勢保持動作時に最大張力の約80%の張力を発揮しており¹³⁾、荷重負荷時のヒラメ筋の発揮張力は、ほぼ最大レベルの収縮を強いられていると推測される。これらのことから、いずれの加齢段階においてもヒラメ筋への負荷条件は差はないであろうと考えられる。

本研究で、筋線維横断面積減少に対する荷重負荷効果は加齢により差がみられなかったことから、張力低下に対する荷重効果の加齢差は、筋線維の萎縮抑制以外の要因により生じている可能性が示唆される。本研究で、無荷重(懸垂)負荷により筋変性が生じ、荷重負荷により抑制される成績を認めた。関節固定による筋萎縮進行過程において、筋衛星細胞を由来とする再生所見も確認されており¹⁴⁾、筋変性後は再生が始まると考えられる。筋再生と関係する筋衛星細胞の数は懸垂¹⁵⁾や加齢¹⁶⁾により低下することが報告されている。また、運動刺激に対する筋蛋白合成応答や変性後の再生能力は加齢により低下することが報告されている^{1,3)}。これらのことから、筋変性や再生に対する荷重負荷の影響が加齢段階により異なり、運動効果の加齢差に関与している可能性は否定できない。本研究では、筋変性や再生の程度を定量評

価することは困難と考え、特徴を提示するにとどめたが、今後の研究課題として残された。

4. 総括

若年、中年、老年ラットを用い、廃用性筋萎縮の病態ならびに廃用期間中の運動負荷の萎縮抑制効果を生理学的、組織学的手法により検討した。いずれの加齢段階においても、後肢懸垂(3週間)によるヒラメ筋の最大張力の低下は、筋重量や筋線維横断面積の減少に比べ大きかった。懸垂ヒラメ筋では、筋線維の萎縮に加え、ragged-red fiber, core-like lesion, 中心核など筋線維の変性・再生所見、さらには、細胞間隙の増加を認めた。これらの萎縮や病理的变化は、いずれの加齢段階においても観察された。懸垂期間中の荷重負荷は、張力低下を抑制したが、その効果は加齢に伴い低減した。懸垂による筋線維横断面積の減少や細胞間隙の増加は、いずれの加齢段階においても、荷重負荷により抑制された。以上の結果から、活動制限期間中の運動負荷による筋張力低下抑制は、加齢により影響されることが示唆された。その機構については筋線維の萎縮抑制以外の要因により生じる可能性が示唆された。

文 献

- 1) Mosoni L, Valluy MC, Serrurier B, Prugnaud J, Obled C, Guezennec CY, Mirand PP; Altered response of protein synthesis to nutritional state and endurance training in old rats, *Am. J. Physiol.*, 268, E328-335 (1995)
- 2) Sonntag WE, Hylka VW, Meites J; Growth hormone restores protein synthesis in skeletal muscle of old male rats, *J. Gerontol.*, 40, 689-694 (1985)
- 3) Marsh DR, Criswell DS, Carson JA, Booth FW; Myogenic regulatory factors during regeneration of skeletal muscle in young, adult, and old rats, *J. Appl. Physiol.*, 83, 1270-1275 (1997)
- 4) Riley DA, Slocum GR, Bain JL, Sedlak FR, Sowa TE, Mellender JW; Rat hindlimb unloading: soleus histochemistry, ultrastructure, and electromyography,

- J. Appl. Physiol.*, 69, 58-66 (1990)
- 5) 山内秀樹；退行性筋萎縮に対する防止法としての筋運動とアナボリックステロイド投与の効果, 日本生理誌, 58, 331-340 (1996)
 - 6) 吉岡利忠, 竹倉宏明, 大平充宣, 佐伯長久；無重力下における骨格筋細胞のミトコンドリア量と筋線維タイプの変遷, 宇宙航空環境医学, 25, 87-96 (1988)
 - 7) Exner GU, Staudte HW and Pette D ; Isometric training of rats -effects upon fast and slow muscle and modification by an anabolic hormone (nandrolone decanoate), *Pflugers Arch.*, 345, 1-14 (1973)
 - 8) Ansved T ; Effects of immobilization on the rat soleus muscle in relation to age, *Acta. Physiol. Scand.*, 154, 291-302 (1995)
 - 9) Simard C, Lacaille M, Vallieres J ; Effects of hypokinesia/hypodynamia on contractile and histochemical properties of young and old rat soleus muscle, *Exp. Neurol.*, 97, 106-114 (1987)
 - 10) Kandarian SC, Boushel RC, Schulte LM ; Elevated interstitial fluid volume in rat soleus muscles by hindlimb unweighting, *J. Appl. Physiol.*, 71, 910-914 (1991)
 - 11) Templeton GH, Padalino M, Manton J, Glasberg M, Silver CJ, Silver P, Demartino G, Leconey T, Klug C, Hagler H, Sutko JL ; Influence of suspension hypokinesia on rat soleus muscle, *J. Appl. Physiol.*, 56, 278-286 (1984)
 - 12) Kirby CR, Ryan MJ, Booth FW ; Eccentric exercise training as a countermeasure to non-weight-bearing soleus muscle atrophy, *J. Appl. Physiol.*, 73, 1894-1899 (1992)
 - 13) Hodgson JA ; The relationship between soleus and gastrocnemius muscle activity in conscious cats — a model for motor unit recruitment, *J. Physiol.*, 337, 553-562 (1983)
 - 14) Appell HJ ; Morphology of immobilized skeletal muscle and the effects of a pre- and postimmobilization training program, *Int. J. Sports Med.*, 7, 6-12 (1986)
 - 15) Darr KC, Schultz E ; Hindlimb suspension suppresses muscle growth and satellite cell proliferation, *J. Appl. Physiol.*, 67, 1827-1834 (1989)
 - 16) Gibson MC, Schultz E ; Age-related differences in absolute numbers of skeletal muscle satellite cells, *Muscle Nerve.*, 6, 574-580 (1983)