

ラット足底筋における異なる部位での慢性的過負荷に対する適応変化

鈴木英樹* 稲垣 洋** 辻本尚弥***

*愛知教育大学保健体育講座

**高浜市立病院

***久留米大学健康・スポーツ科学センター

Adaptive responses to chronic overloading in different regions of the rat plantaris muscle

Hideki SUZUKI*, Hiroshi INAGAKI**, Hisaya TSUJIMOTO***

*Department of Health and Physical Education, Aichi University of Education, Kariya 448-8521, Japan

**Takahama Municipal Hospital, Takahama 444-1321, Japan

***The Institute of Health and Sports Science, Kurume University, Kurume 839-8502, Japan

Abstract

The purpose of this study was to investigate adaptive responses of proximal, middle and distal regions along the longitudinal axis in the rat plantaris muscle. Cross-sectional area (CSA), succinate dehydrogenase (SDH) and glycerophosphate dehydrogenase (GPD) activities of each typed fiber in individual regions were determined after a 5-week overloading by removal of synergists. CSA and SDH activities of each typed fiber in all regions were increased by overloading. GPD activities of type fiber in all regions were increased by overloading.

These results indicate that fibers of all regions in the plantaris muscle were recruited regardless of the type of fiber in chronic overloading.

緒 言

ラットの内側腓腹筋で筋長軸方向の異なる部位の筋線維の組織化学的・生理学的特性が異なり^{4) 6) 22)}, 運動トレーニング等に対する筋線維の適応変化も部位により異なること¹⁸⁾が報告されている。内側腓腹筋の協働筋である足底筋に関しても, Sakumaら¹⁵⁾が機械的過負荷で筋線維の肥大は同じタイプの筋線維であっても長軸方向の異なる部位間で肥大率は異なることを報告している。また, 山内ら²⁴⁾は足底筋について非荷重状態で観察される筋線維の萎縮は長軸方向の近位部に比べて中央部や遠位部で顕著だったことを報告している。しかし, これらはいずれも足底筋の異なる部位での筋線維の形態的な適応変化についての報告であり, 筋線維の代謝特性に関して検討を行っていない。異なる部位の筋線維の形態的变化と同様に, その代謝的な適応変化も異なることが考えられる。そこで我々はラットに持久性の走トレーニングを行い, 足底筋の異なる部位の筋線維の形態的, 代謝的適応変化を観察し, 部位により筋線維の適応変化が異なることを報告した¹⁹⁾。

しかしながら, 同一筋内における異なる部位の筋線維の動員は運動負荷等の強度や種類によって異なる可能性が考えられることから, 本研究では代償性肥大を引き起こす協働筋切除による慢性的過負荷モデルを用いて, 足底筋の長軸方向の異なる部位の筋線維の適応変化を形態面と代謝面から調べた。

実験方法

実験動物として6週齢のFischer344系雌ラットを用い, 2週間の予備飼育後の8週齢時に対照群と過負荷群に分けた (Fig.1)。過負荷群には足底筋に慢性的な過負荷が掛かるように協働筋切除術を行った。協働筋切除術はペントバルビタールによる麻酔下 (40mg/kg body weight) にて, 足底筋の協働筋である腓腹筋を末梢から約3分の2切除する方法で行った。なお, 協働筋の切除は両側におこない, 対照群には何も施さなかった。その後の飼育は特に制限等を設けなかった。飼育は室温 22 ± 1 , 湿度 60 ± 5 %, 昼夜逆転12時間の明暗サイクルの環境下で行った。飼料は固形飼料CE-2 (日本クレア株式会社) を用い, 飲水ともに自

由摂取とした。なお、実験動物の取り扱いについては「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」⁹⁾に沿って行った。

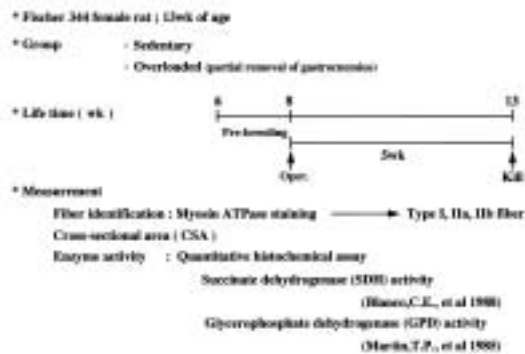


Fig. 1. Experimental schedule

切除手術5週間後の13週齢時にペントバルビタールを過投与したうえで断頭屠殺し、放血後に足底筋を摘出した。摘出した筋は冷却したイソペンタン中にて急速凍結させた。その後、左側の足底筋を用いて異なる3つの長軸部位より厚さ10 μ mの連続切片を作成した。起始部から停止部(末梢)に向かい20%の部位を近位部(proximal),50%の部位を中央部(middle),80%の部位を遠位部(distal)とした(Fig.2)。

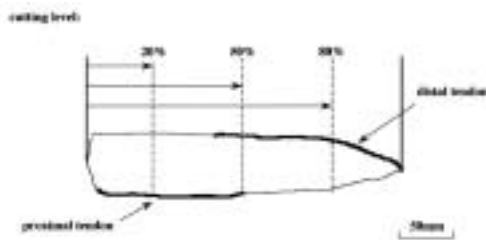


Fig. 2. Schematic drawing of the plantaris muscle. Dotted lines indicate the levels from which cross-and vertical-sections were taken of each muscle.

それぞれの部位から作成した切片に筋線維のタイプの同定を行うためにATPase染色を施した。ATPase染色はpH4.6と10.2のブレインキュベーションを用い、その染色結果からBrook and Kaiserの分類法²⁾に基づき筋線維をタイプ a および b に分類した。さらに連続切片には、筋線維の酸化系代謝能力を調べるためにBlancoら¹⁾の方法に従い定量的なSDH(succinate dehydrogenase)染色を、解糖系代謝能力を調べるためにMartinら¹⁰⁾の方法に従い定量的なGPD(glycerophosphate dehydrogenase)染色を施した。両染色結果は550nmの励起波長下にて顕微鏡に取り付けたCCDカメラ(Victor; KY-F55B)を介してパーソナルコンピュータに取り込み、画像処理ソフト(Wayne Rasband[Research Service of NIMH of NIH]; NIH Image ver. 1.61)を用いて筋線維の平均染色濃度と横断面積を測定した。筋線維の平均染色濃度は同時に取り込んだ

ステップタブレット(Kodak; 405ST146)の濃度を用いて光学的濃度値に変換した。筋線維のそれぞれの酵素活性は光学的濃度を染色時間で除した値(Optical density; OD/min)で表した。サンプルリングは先に示した部位において、各筋線維タイプごとに30本を目安に測定した。

各測定値は群ごとに平均値、標準偏差及び標準誤差を求め、統計的な検定を行った。体重および筋重量については、分散の検定にはF検定法を、平均値の検定についてはt検定法を用いた。筋線維タイプ別の横断面積と酸化系酵素活性の検定には、二要因(群 \times 部位)の分散分析法を用いた。なお、有意水準は5%($P < 0.05$)とした。

結 果

1. 体重および組織重量の変化

Table 1に各群の体重、筋重量および相対的筋重量を示した。体重は両群間で違いは見られなかった。足底筋の筋重量および相対的筋重量は過負荷群が対照群に比べて高値を示し、有意差が認められた。

Table 1. Body weight, muscle weight and relative muscle weight in each group

	Control (n=7)	Overloaded (n=7)
Body weight (g)	167 \pm 1	166 \pm 2
Plantaris weight (mg)	170 \pm 7	199 \pm 7*
Soleus weight (mg)	73 \pm 7	78 \pm 5
Relative plantaris weight (mg/100g body weight)	101 \pm 2	120 \pm 5*
Relative soleus weight (mg/100g body weight)	43 \pm 3	47 \pm 2

Values are mean \pm SE, n: number of rats.

*Significantly different from the value of sedentary group ($p < 0.05$).

2. 筋線維横断面積の変化

Fig.3に筋線維横断面積をタイプ別、部位別に示した。対照群において、タイプ a 線維の横断面積は近位部に比べて中間部と遠位部で高値を示し、近位部と中間部間では有意差が認められた。タイプ b 線維の横断面積は近位部に比べて中間部と遠位部で高値を示し、有意差が認められた。タイプ a 線維の横断面積は部位間で違いは認められなかった。過負荷群の筋線維横断面積は対照群に比べて全てのタイプのいずれの部位においても高値を示し、有意差が認められた。

3. 筋線維のSDH活性の変化

Fig.4に筋線維SDH活性をタイプ別、部位別に示した。対照群において、タイプ a 線維のSDH活性は近位部に比べて中間部と遠位部で低値を示し、近位部と遠位部間では有意差が認められた。タイプ b 線維のSDH活性は部位間で違いは認められなかった。過負荷群の筋線維SDH活性は対照群に比べて全ての

タイプのいずれの部位においても高値を示し、有意差が認められた。

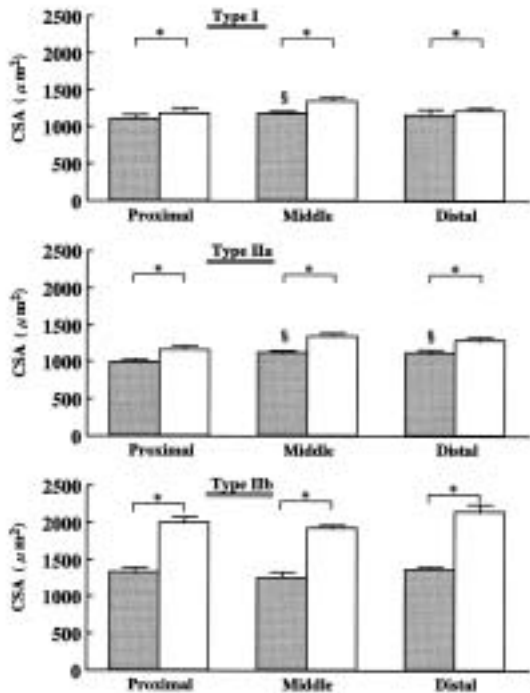


Fig. 3 . Crosssectional area(CSA)of each typed fiber in proximal, middle and distal compartment of plantaris muscle in sedentary () and overloaded () groups.

§ Significantly different from the value of proximal fibers($p < 0.05$)

4 . 筋線維の GPD 活性の変化

Fig.5に筋線維 GPD 活性をタイプ別，部位別に示した。対照群において筋線維の GPD 活性はすべてのタイプで，部位間に違いはみられなかった。過負荷群のタイプ a と b 筋線維の GPD 活性は対照群に比べていずれの部位においても高値を示し，有意差が認められた。タイプ 線維の GPD 活性は対照群と過負荷群間で違いはみられなかった。

考 察

1 . 異なる部位の筋線維の形態的特性と代謝的特性

先に我々はラット足底筋の異なる部位の筋線維の形態的・代謝的特性を調べ，筋線維の横断面積は近位部に比べて遠位部で太く，筋線維の SDH 活性は逆に遠位部に比べて近位部で高いことを報告した¹⁹⁾。本研究でも同様な結果が得られたが，本研究では先の研究に加えて筋の中央部の筋線維についても観察を行った。その結果，筋中央部の筋線維の横断面積は近位部に比べて高値を示し，遠位部と同様な太さであった。また，筋中央部の筋線維の SDH 活性は遠位部に比べて高値を示し，近位部と同様な酸化系の代謝能力を有していた。これらの結果は足底筋中央部の筋線維は遠近両部位の筋線維の特性を有していることが示唆された。

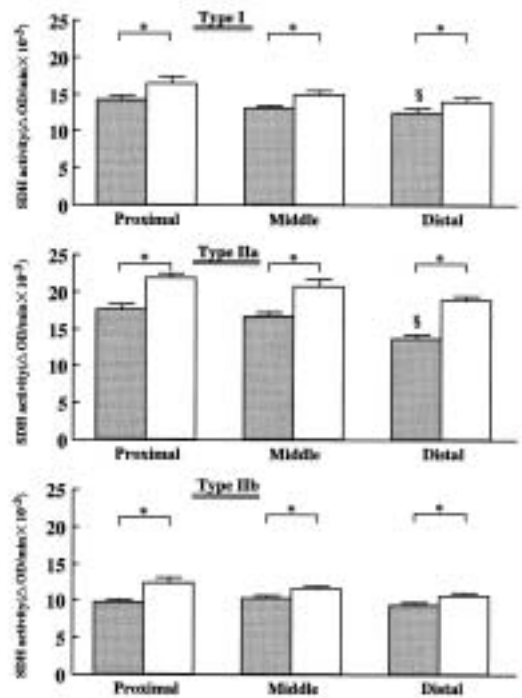


Fig. 4 . Succinate dehydrogenase (SDH) activity of each typed fiber in proximal, middle and distal compartment of plantaris muscle in sedentary () and overloaded () groups.

§ Significantly different from the value of proximal fibers ($p < 0.05$) .

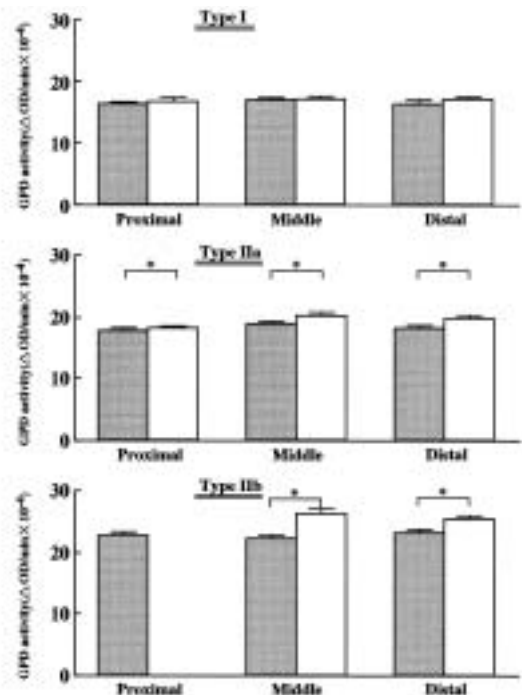


Fig. 5 . Glycerophosphate dehydrogenase (GPD) activity of each typed fiber in proximal, middle and distal compartment of plantaris muscle in sedentary () and overloaded () groups.

DeRuiter ら⁴⁾はラットの内側腓腹筋の近位部の SDH 活性は遠位部に比べて高く，疲労耐性に優れ，遠位部の筋線維は近位部に比べて太く，高い発揮張力を有していることを報告している。異なる部位の筋線維のこれらの特性の違いから，彼らは内側腓腹筋の近位部は

緊張的な、遠位部では相同的な活動要求がなされていることを示唆している。本研究で観察された足底筋の異なる部位の筋線維の横断面積とSDH活性は、DeRuiterら⁴⁾が内側腓腹筋で報告したそれぞれの部位の特性と同様であった。このことから、足底筋においても内側腓腹筋と同様に近位部の筋線維は緊張的な、遠位部の筋線維では相同的な動員があったものと考えられた。足底筋と内側腓腹筋の異なる部位の筋線維の特性が類似していたことは、両筋ともに足関節の底屈動作に寄与していること、さらに、足底筋の近位腱が腓腹筋に付着している²⁰⁾という解剖学的な特性の類似が考えられた。また、本研究で観察された中央部の筋線維の特性から、この部位は緊張的、相同的両局面で動員されやすいと考えられた。

2. 慢性的過負荷に対する異なる部位の適応変化

ラットの下肢骨格筋において協働筋切除術を用いて過負荷を行った研究が数多く行われている^{8), 11), 13), 15), 21), 23)}。それらの研究はいずれも残存した骨格筋が過負荷状態に置かれることにより代償的に肥大することを報告している。しかし、それらの研究の中でも骨格筋の長軸の異なる部位について検討している報告はSakumaら¹⁵⁾によるものだけである。彼らは本研究と同様に協働筋切除術を用い、足底筋の筋線維の肥大は近位部に比べて中央部や遠位部で顕著であったことを報告している。本研究でも筋線維の肥大は観察されたが、それは全てのタイプの筋線維でいずれの部位においてもほぼ同様に起こっており、彼らの報告とは多少異なっていた。さらに、Sakumaら¹⁵⁾の研究では残存させたヒラメ筋も肥大が観察されたのに対して、本研究ではヒラメ筋の重量は過負荷により増加していなかった (Table 1)。このことから、本研究の過負荷モデルでは彼らのモデルに比べて、腓腹筋切除によって生じた代償的負荷がより過大に足底筋に掛かっていた可能性も考えられた。これらの結果の違いは観察部位の違い (本研究の近位部は起始部から20%、Sakumaらは25%)、過負荷の実施時期と期間の違い (本研究は8週から13週齢の5週間、Sakumaらは3週から9週齢の6週間)、またラットの系の違いなどが考えられた。

腓腹筋切除によりラット足底筋においてタイプ a 線維やタイプ a 線維が増加することが報告されている^{11), 13), 15)}。これらのタイプの筋線維は酸化系能力が高く、緊張性の働きに優れた筋線維であることから、残存した筋に姿勢維持のような持続的な負荷が掛かっていたと考えられる。本研究では筋線維の組成は調べていないため、これらのタイプの筋線維の増加の有無は分からないが、筋線維の酸化系代謝能力を表わすSDH活性は過負荷群で全てのタイプのいずれの部位においても高かった。持続的な活動量の増加により筋線維内ミトコンドリア増加してSDH活性が亢進すること^{3), 7), 14), 16), 17)}から、本研究においても姿勢維持のような持続

的な働きを足底筋全体で代償することにより、筋線維のSDH活性が亢進したと考えられた。一方で、解糖系代謝能力を表わすGPD活性もタイプ a 線維で過負荷によりいずれの部位においても亢進していたことから、持続的な働きだけでなくエネルギー供給を主に解糖系代謝に依存する相同的な働きも足底筋全体のタイプ a 線維で代償していたと考えられた。

結 語

本研究ではラットの足底筋の異なる部位について、慢性的な過負荷に対する適応変化を検討した。その結果、採用した慢性的過負荷は足底筋の異なる全ての部位の筋線維に形態的、適応変化をもたらした。しかしながら、これらの変化は先行研究とすべては一致しなかった。これらの違いは筋線維構成比の違いが影響する可能性も考えられ^{15), 24)}から、異なる筋内部位の適応変化に関して筋線維組成や収縮タンパク構成比などからの検討も必要であると考えられた。

参 考 文 献

- 1) Blanco, C. E., Sieck, G. C. and Edgerton, V. R. (1988) Quantitative histochemical determination of succinic dehydrogenase activity in skeletal muscle fibers. *Histochem. J.*, 20 (4): 230-243.
- 2) Brooke, M. H. and Kaiser, K. K. (1970) Three " myosin ATPase " system: The nature of three pH lability and sulfhydryl dependent. *J. Histochem. Cytochem.*, 18: 670-672.
- 3) Chilibeck, P. D., Bell, G. J., Socha, T. and Martin, T. (1998) The effect of aerobic exercise training on the distribution of succinate dehydrogenase activity throughout muscle fiber. *Can. J. Appl. Physiol.*, 23 (1): 74-86.
- 4) De Ruiter, C. J., De Haan, A. and Sargent, A. J. (1995) Physiological characteristics of two extreme muscle compartments in gastrocnemius medialis of the anaesthetized rat. *Acta Physiol. Scand.*, 153 (4): 313-324.
- 5) De Ruiter, C. J., De Haan, A. and Sargent, A. J. (1995) Repeated force production and metabolites in two medial gastrocnemius muscle compartments of the rat. *J. Appl. Physiol.*, 79 (6): 1885-1861.
- 6) De Ruiter, C. J., Habets, P. E. M. H., De Haan, A. and Sargeant, A. J. (1996) In vivo X and B fiber recruitment in gastrocnemius muscle of the rat is compartment related. *J. Appl. Physiol.*, 81 (2): 933-942.
- 7) Henriksson, J. and Reitman, J. S. (1977) Time course of changes in human skeletal muscle succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activities and maximal oxygen uptake with physical activity and inactivity. *Acta Physiol. Scand.*, 99 (1): 91-97.
- 8) Iannuzzo, C. D. and Chen, V. (1979) Metabolic character of hypertrophied rat muscle. *J. Appl. Physiol.*, 46 (4): 738-742.
- 9) 実験動物飼育保管研究 (1980) 実験動物の飼養及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, ぎょうせい: 東京.

- 10) Martin, T. P., Vailas, A. C., Durivage, J. B., Edgerton, V. R. and Castleman, K. R. (1985) Quantitative histochemical determination of muscle enzymes : biochemical verification. *J. Histochem. Cytochem.*, 33 (10): 1053-1059.
- 11) Noble, E. G. and Pettigrew, F. P. (1989) Appearance of " transitional " motor units in overloaded rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 67 (5): 2049-2054.
- 12) Oakley, C. R. and Gollnick, P. D. (1985) Conversion of rat muscle fiber type. A time course study. *Histochemistry*, 83 (6): 555-560.
- 13) Pettigrew, F. P. and Noble, E. G. (1991) Shifts in rat plantaris moto unit characteristic with aging and compensatory overload. *J. Appl. Physiol.*, 71 (6): 2363-2368.
- 14) Proctor, D. N., Sinning, W. E., Walro, J. M., Sieck, G.C. and Lemon, P. W., (1995) Oxidative capacity of human muscle fiber types : effects of age and training status. *J. Appl. Physiol.*, 78 (6): 2033-2038.
- 15) Sakuma K., Yamaguchi, A. and Katsuta, S. (1995) Are region-specific changes in fiber types attributable to nonuniform muscle hypertrophy by overloading? *Eur. J. Appl. Physiol.*, 71 :499-504.
- 16) Schwerzmann, K., Hoppeler, H., Kayar, S. R. and Weibel, E. R. (1989) Oxidative capacity of muscle and mitochondria : correlation of physiological, biochemical, and morphometric characteristics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 86 : 1583- 1587.
- 17) 鈴木英樹, 春日規克, 内藤久士, 山内秀樹, 辻本尚弥, 石河利寛 (1995) 老齡期の骨格筋における持久性走トレーニングの有効性の検討 . *デサントスポーツ科学*, 16 : 124-130.
- 18) 鈴木英樹, 藤沢良史, 辻本尚弥 (2003) ラット内側腓腹筋の異なる部位の持久性トレーニングに対する適応変化 . *愛知教育大学研究報告*, 52 : 31-34.
- 19) 鈴木英樹, 稲垣 洋, 辻本尚弥 (2007) ラット足底筋内の異なる部位での持久性トレーニングに対する適応変化 . *愛知教育大学研究報告*, 56 : 31-34.
- 20) Tamaki, T., Akatsuka, A., Tokunaga, M., Uchitama, S. and Shiraishi, T. (1996) Characteristics of compensatory hypertrophied muscle in the rat : Electron microscopic and immunohistochemical studies. *Anat. Rec.*, 246 : 325-334.
- 21) Tomanek, R. J. and Woo, Y. K. (1970) Compensatory hypertrophy of the plantaris muscle in relation to age. *J. Geront.*, 25 (1): 23-29.
- 22) Vanden Noven, S., Gardiner, P. F. and Seburn, K. L. (1994) Motoneurons innrvating two regions of rat medial gastrocnemius muscle with dffering contractile and histochemical properties. *Acta Anat.*, 150 : 282-293.
- 23) 山内秀樹, 米本恭三, 辻本尚弥 (1996) 慢性的な過負荷に伴う骨格筋の収縮特性, 金銭にタイプ, ミオシン重鎖アイソフォーム組成の変化, *体力科学*, 45 (1): 199-208.
- 24) 山内秀樹, 宮野佐年 (2000) ラット内側腓腹筋線維タイプの分布特性と非加重による変化 . *リハビリテーション医学*, 37 : 1102.

(平成19年9月18日受理)

