

= 原著論文 =

ラット下肢骨格筋に対する 長期間の脱トレーニングの影響

辻本 尚 弥¹⁾ 鈴木 英 樹²⁾

Effects of Long Term De-training in Rat Hind Limb Muscle

Hisaya TSUJIMOTO¹⁾, Hideki SUZUKI²⁾

Abstract

The effect of long term (53wk.) de-training on the hind limb muscle was investigated in the female Fischer344 rats. The animals were divided into four groups: 23-week-old control (23C), 23-week-old trained (23T), 77-week-old de-trained (77DT) and 77-week-old control (77C) groups. Animals in-group 23T or 77DT were trained with treadmill running (~77%VO₂max, 15%, 60 min/day and 5 days/wk) for 10 weeks. The animals in-group 77DT were housed and were provided with food and water ad libitum for 53 weeks after the last training.

The results showed that the relative tibialis anterior (TA) muscle weight in group 23T was significantly higher than group 23C. There was no significant difference in the relative TA, lateral gastrocnemius (LGAS) muscle weight between 77DT and 77C groups. The protein content of the TA muscle in group 23T was higher than that in group 23C. There was no significant difference in protein content between 77DT and 77C groups. There was no significant difference in concentration of total protein between each group at all condition.

These results indicate that training effects was lost for a long term de-training; the protein concentrations of the TA and LGAS muscle are not affected with training or de-training in rats.

key words : Endurance training, Protein concentration, Protein content

結 言

継続していたトレーニングが身体的理由や社会的理由などにより一時的に休止あるいは中止してしまうことを脱トレーニングという。脱トレーニングではトレーニングにより獲得された適応が、トレーニング前の状態に戻ることが知られている¹⁾²⁾³⁾。例えば、持久的トレーニングによって向上した最大酸素摂取量は、トレーニング停止後1から2週で減少することが報告されている⁴⁾。骨格筋においても脱

トレーニングに対する機能の適応は、同様な変化を示すという報告がある¹⁾⁵⁾⁻¹¹⁾。

骨格筋は、水(筋重量の約79%)や蛋白質(約16%)、脂質(約3.1%)、グリコーゲン(約0.2~1.5%)など種々の物質より構成されている¹²⁾。骨格筋の機能や組織化学的特性及び構造の違いは筋を構成している種々の物質、特に蛋白質の量的・質的な変化を反映したものである¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾。我々はこれまで筋の構成蛋白質に注目し、トレーニングの効果について検討してきた¹⁶⁾¹⁷⁾。ラットの成熟期にあたる6ヶ月齢

1) 久留米大学健康・スポーツ科学センター

2) 愛知教育大学保健体育

での走およびジャンプトレーニングにより、足底筋では重量は増加したが蛋白濃度は変化がみられず¹⁶⁾、前脛骨筋では重量と蛋白含量が増加し、蛋白濃度に変化はみられなかった¹⁷⁾。可塑性に富む骨格筋では、トレーニングに対して一度適応した骨格筋が脱トレーニングにより、生理的機能を保持しつつトレーニング前の状態に可逆的に変化する。このとき骨格筋の機能を担っている蛋白質は量的にどのような変化を示すのであろうか。

本研究では、骨格筋蛋白の濃度および含量に注目して、トレーニングによる変化と、その後の長期間の脱トレーニングの影響を明確にすることを目的とした。

方 法

実験動物として Fischer344系雌ラットを用い、飼育は室温 22 ± 1 、湿度 $60 \pm 5\%$ 、昼夜逆転した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、飲水とともに24時間自由摂取とした。なお、実験動物の取り扱いについては「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」に沿って行った¹⁸⁾¹⁹⁾。

持久的走トレーニングおよび脱トレーニングに対する骨格筋の適応変化を観察するために23週齢コントロール群 (23-week-old control group; 23C 群)、23週齢トレーニング群 (23-week-old trained group; 23T 群)、77週齢コントロール群 (77-week-old control group; 77C 群) および77週齢脱トレーニング群 (77-week-old de-trained group; 77DT 群) を設けた。23T 群と77DT 群には13週齢から10週間の持久的走トレーニングを実施した。トレーニングは Naito ら²⁰⁾の方法に準じて、運動強度 $\sim 77\%$

$VO_2\max$ の走運動 (傾斜 15%) を1日1回60分間、週5日の頻度で行った。23C 群と23T 群のラットはトレーニング期間終了時に、77C 群と77DT 群のラットはトレーニング期間終了から53週間 (約1年) の脱トレーニング期間後に麻酔下にて頸動脈より放血し屠殺した。その後、心臓、肝臓、腓腹筋及び前脛骨筋を摘出した。各組織の重量を測定した後、ただちに液体窒素により冷却したイソペンタン中で瞬間凍結し、生化学的分析を行うまで -60 の冷凍庫で保存した。なお、脱トレーニング期間中、ラットは特に制限のない通常飼育を行ない、餌および飲水は自由摂取とした。

筋蛋白質の分析には、背屈筋である前脛骨筋及び底屈筋である腓腹筋の外側部を用いた。保存していた筋は分析時に筋の中央部にて縦方向に二分し、一方を他の分析のために保存し、もう一方を蛋白質の定量分析に供した。蛋白質定量分析のため、筋を Tsika ら²¹⁾の方法に従いホモジナイズした。次に、総蛋白濃度測定のためサンプルを分取した。蛋白濃度の測定後、筋重量と総蛋白濃度より総蛋白含量を求めた。

測定と分析により得られた値から平均と標準誤差を算出した。統計的処理は分散の検定には Bartlett 法を、平均値の検定について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統計量を t 値とする Ryan 法²²⁾を用いた。なお、全ての検定において有意水準は 5% ($p < 0.05$) とした²³⁾。

結 果

表1には、各群の最終体重、心重量、肝重量、相対的な心および肝の重量を平均値および標準偏差にて示した。体重は23週齢の対象群およびトレーニング

Table 1 Body weight, heart weight and liver weight of rat in each group.

	Control (n=7)	Training (n=5)	77wk.control (n=6)	De-training (n=6)
Body weight (g)	199 \pm 9	194 \pm 4	292 \pm 13	281 \pm 19
Heart weight (mg)	557 \pm 33	618 \pm 23	689 \pm 41	668 \pm 30
Relative heart weight (mg/g)	2.8 \pm 0.1	3.2 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1
Liver weight (mg)	6713 \pm 418	6627 \pm 143	10561 \pm 1383	9382 \pm 430
Relative liver weight (mg/g)	34 \pm 2	34 \pm 1	104 \pm 13	93 \pm 4

Values are expressed as mean \pm SD.

* : Significant difference from the value in control group ($p < 0.05$)

† : Significant difference from the value in training group ($p < 0.05$)

グ群に比べ、77週齢の対象群、脱トレーニング群が高値を示した。心重量も同様に23週齢の対象群およびトレーニング群に比べ、77週齢の対象群、脱トレーニング群が高値を示した。また23週齢では対象群に比べてトレーニング群の心重量が高値を示し、持続的走トレーニングの効果がみられた。相対的心重量は、23週齢の対象群と77週齢の両群では有意な差はみられなかった。23週齢のトレーニング群では対象群に比べて相対的心重量が高値を示し、心重量と同様に持続的走トレーニングの効果がみられた。肝重量および相対的な肝重量も体重と同様に、77週齢の両群で23週齢の両群と比較して高値を示した。

表2には前脛骨筋および腓腹筋外側部の筋重量、相対的筋重量を平均値および標準偏差にて示した。前脛骨筋の筋重量は23週齢の対象群に比べ、77週齢の脱トレーニング群が高値を示した。また23週齢では対象群とトレーニング群間に有意な差はみられなかった。腓腹筋外側部の筋重量は全ての群間で有意な差は認められなかった。前脛骨筋の相対的筋重量

は、77週齢の対象群および脱トレーニング群が、23週齢の対象群、脱トレーニング群に比べ有意に低値を示した。また23週齢ではトレーニング群が対象群に比べ高値を示し、持続的走トレーニングの効果がみられた。腓腹筋外側部の相対的筋重量も、77週齢の対象群および脱トレーニング群が、23週齢の対象群、脱トレーニング群に比べ低値を示した。また23週齢では前脛骨筋とは異なり、トレーニング群が高値を示す傾向はみられたものの、対象群との間に有意な差はみられなかった。

図1および図2には各群の前脛骨筋および腓腹筋外側部の蛋白濃度を平均値および標準偏差にてそれぞれ示した。両筋のすべての群において、値に多少のばらつきがみられたが、筋蛋白濃度に有意な差はみられなかった。

図3には前脛骨筋の筋蛋白含量を平均値および標準偏差にて示した。23週齢の対象群に比べて、23週齢のトレーニング群および77週齢の対象群が高値を示した。しかし、77週齢の対象群と脱トレーニング

Table 2 Muscle weight and relative muscle weight of the rat in each group.

	Control (n=7)	Training (n=5)	77wk.control (n=6)	De-training (n=6)
Muscle weight(mg)				
Tibiaris anterior	387±30	414±16	421±12	426±23 *
Lateral gastrocnemius	652±56	660±23	692±26	677±42
Relative muscle weight (mg/g)				
Tibiaris anterior	1.94±0.13	2.13±0.08 *	1.45±0.04 *†	1.52±0.06 *†
Lateral gastrocnemius	3.17±0.21	3.40±0.12	2.38±0.09 *†	2.42±0.11 *†

Legends as same as Table 1.

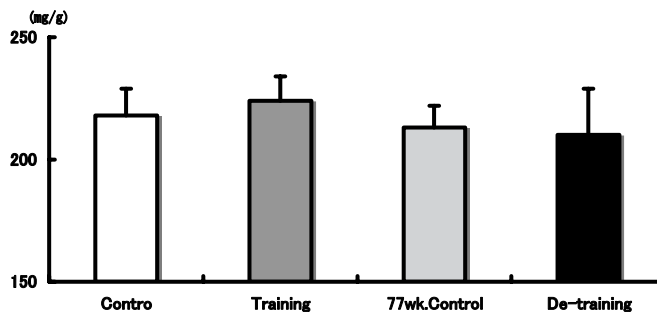


Fig.1 Protein concentration of tibiaris anterior muscle

□ Control ■ Training ▨ 77wk.Control ■ De-training

群の比較では、有意な差はみられなかった。

図4には腓腹筋外側部の筋蛋白含量を平均値および標準偏差にて示した。腓腹筋外側部では各年齢の対象群に比べて、すべての群において値に多少のばらつきがみられたが、筋蛋白含量に有意な差はみられなかった。

考 察

本研究では、心重量および前脛骨の筋重量筋と筋蛋白含量でみられた持続的走トレーニングの効果が、53週という長期間の脱トレーニングにより消失したことが確認された。また骨格筋蛋白濃度はトレーニングおよび脱トレーニングにより影響を受けないこ

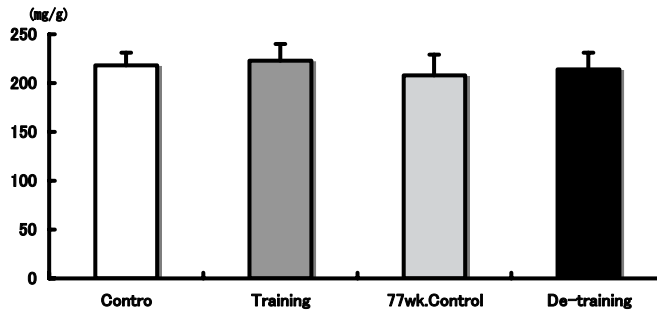


Fig.2 Protein concentration of lateral gastrocnemius muscle

□ Control ■ Training □ 77wk.Control ■ De-training

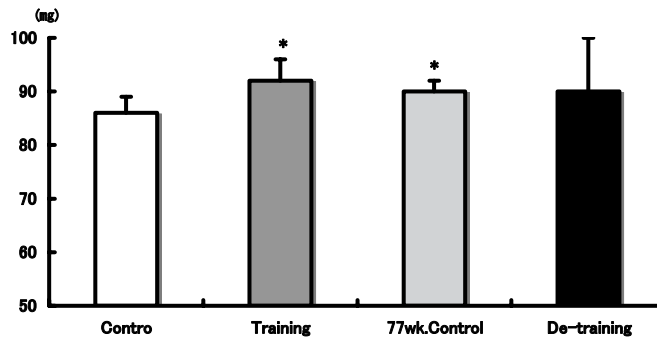


Fig.3 Protein content of tibiaris anterior muscle

□ Control ■ Training □ 77wk.Control ■ De-training

*: Significant difference from the value in control group ($p < 0.05$)

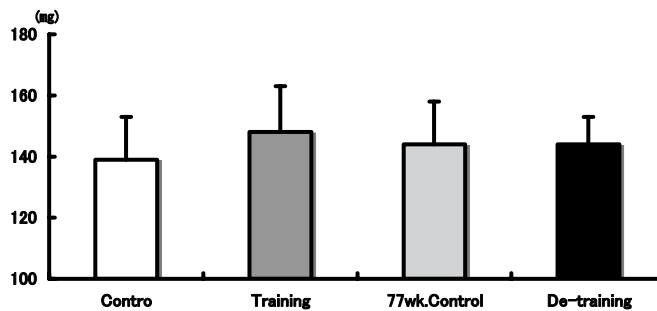


Fig.4 Protein content of lateral gastrocnemius muscle

□ Control ■ Training □ 77wk.Control ■ De-training

とも明らかとなった。

本研究では体重および心重量、肝重量において、先行研究¹⁶⁾²⁴⁾と同様に加齢による変化はみられたが脱トレーニングの影響はみられなかった。脱トレーニング期間中の摂食量および摂食効率、脱トレーニング初期の1週間では対照群との間に差がみられたが、2週間後には差がみられないと報告されている²⁵⁾。また体重は数週間の脱トレーニングでは、対照群との間に差がみられないことが報告されている²⁶⁾²⁹⁾。これらのことから53週というさらに長期間の脱トレーニングでは、飼育期間中の体重増加量がケージによる通常状態と同様であったために77週齢の両群間に違いが観察されなかったと考えられる。心臓では先行研究と同様に持久的走トレーニングによる肥大がみられたが³⁰⁾³³⁾、脱トレーニングによりその効果は消失していた。心重量ではCraigら²⁷⁾が3週間、Kemiら²⁸⁾が4週間、Karhunenら³⁴⁾が6週間の脱トレーニングで、対照群との間に差がみられないことを報告している。本研究はそれよりもさらに長期間の脱トレーニングであるため、心重量にみられたトレーニング効果が消失したと考えられる。

骨格筋重量に関しては、両被験筋の相対的筋重量において加齢に伴う変化がみられた。先行研究では、20ヶ月齢のラットで、それまでの月齢に比べて筋重量に差はみられず相対的筋重量に差がみられると報告している¹⁶⁾²⁴⁾。本研究の結果も先行研究と同様に加齢による変化と考えられる。一方、持久的走トレーニングでは、前脛骨筋において先行研究と同様に相対的筋重量で効果がみられた¹⁶⁾²⁴⁾。先行研究では相対的筋重量で腓腹筋に対しても持久的走トレーニングの効果が観察されているが、本研究では有意な差がみられなかった。これはトレーニングの相対的強度およびラットの系や週齢の違いによると考えられるが、詳細は不明である。

筋蛋白濃度に対するトレーニングの影響について、Daviesら³⁵⁾は、持久的トレーニングを行ったラットでは筋中の蛋白質や水分、脂質の割合に変化が無いとしている。さらに種々のトレーニングより各筋蛋白濃度に差がみられない、あるいは筋の収縮要素と筋形質の割合には差がみられないとする報告が多い³⁶⁾³⁷⁾³⁸⁾。本実験でもこれらの報告と同様に前脛骨筋および腓腹筋外側部で、総蛋白濃度はトレーニングにより変化がみられなかった。一方、筋蛋白含量は前脛骨筋で有意に高値を示した。トレーニングによる蛋白合成の亢進³⁹⁾及びコラーゲンの合成酵素で

ある Prolyl hydroxylase 活性の上昇⁴⁰⁾やトレーニングによる筋線維の肥大では、収縮要素の肥大のみならず結合組織の肥大を伴うとする報告⁴¹⁾がある。本研究の結果も、これらと同様にトレーニングによる蛋白合成促進などによると考えられる。

脱トレーニングの影響をみても、トレーニングの効果がみられた骨格筋重量および蛋白含量の項目で同週齢の対象群との間に差がみられなかった。Neuferら⁴²⁾は、骨格筋内 GLUT4量について、6週間のトレッドミル走により対照群に比べ高値を示すが、7日間の脱トレーニング後は対照群と同程度の値であったと報告している。また、Pilegaardら⁴³⁾は、骨格筋内の lactate transporter 量について、7週間の中程度および高強度のトレッドミル走により高値を示すが、5週間の脱トレーニングにより対照群と同程度の値となったと報告している。このように数週間のトレーニングにより獲得された各種蛋白質の量的な適応は、長くてもトレーニング期間とほぼ同程度でその効果が消失している。本研究では脱トレーニング期間がこれらの研究と比較してもさらに長く、本研究の筋蛋白量の結果も先行研究と同様にトレーニングの効果が消失したことを示している。これはトレーニングにより一時的に亢進した蛋白質の代謝回転が、穏やかな条件にみあった速度になったため、蛋白質全体の構成比が保たれつつ蛋白含量が対照群と同程度になったと考えられる。骨格筋において蛋白濃度や濃度比が変化しないということは、生理学的にみて重要な意味があると考えられる。筋は収縮のために分化した細胞であり、細胞内にアクチンやミオシンなどの蛋白質よりなる規則的な立体構造をもち、収縮という生理的機能を保障する装置を備えている。筋蛋白濃度や各蛋白質の濃度比、特に筋形質蛋白と筋原線維蛋白の比が変化することは、細胞内の環境変化を引き起こすだけではなく、筋の高次構造の乱れを生じ生理的機能を低下させる可能性があると考えられる。そのため正常な生理的機能保持のためには、トレーニングや脱トレーニングによる筋の形態的变化の過程においても筋蛋白濃度が厳密に保護・維持されているのではないかと考えられる。

本研究では、長期間の脱トレーニング期間により、筋蛋白質量に対する以前実施したトレーニングの効果は消失した。このことは通常飼育の場合、筋の維持という面では十分な刺激となり得るが、トレーニング効果を維持していくという刺激にはなり得ない

ことが示された。またトレーニング、脱トレーニング期間を通じて蛋白濃度が一定に保たれていることが明らかとなった。トレーニングや脱トレーニングのように、生体に対する機能欲求が大きく変わっても、蛋白濃度が一定に保たれながら、蛋白含量が変化する機序についての更なる検討が必要である。

引用文献

- 1) Coyle EF. Detraining and retraining of training-induced adaptation. (In) Blair SN. Resource Manual for Guidelines for Exercise Testing and Prescription. Philadelphia : Lea & Febiger , 1990 ; 83-9.
- 2) Hawley JA, Burke L. Peak Performance: Training and Nutritional Strategies for Sports. St Leonards , NSW(Australia): Allen & Unwin, 1998;29-31.
- 3) Mujika I, Padilla S. Detraining: loss of training-induced physiological and performance adaptations. Part II: Long term insufficient training stimulus. Sports Med. 2000 Sep;30(3):145-54.
- 4) Henriksson J, Reitman JS. 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. 1977 Jan;99(1):91-7.
- 5) Costill DL. Detraining: loss of muscular strength and power. Sports Med. Digest 1988;10:4.
- 6) Coyle EF. Detraining and retention of training-induced adaptations. Sports Sci Exchange 1990;2:1-5.
- 7) Fleck SJ. Detraining: its effects on endurance and strength. Strength Cond. 1994;16:22-8.
- 8) Houston ME. Adaptations in skeletal muscle to training and detraining: the role of protein synthesis and degradation. (In) Saltin B. Biochemistry of Exercise VI, Champaign, IL: Human Kinetics, 1986; 63-74.
- 9) Sjogaard G. Changes in skeletal muscles capillarity and enzyme activity with training and detraining. Med Sport Sci Exerc. 1984;17:202-14.
- 10) Tidow G. Muscular adaptations induced by training and de-training. A review of biopsy studies. New Studies in Athletics 1995;10:47-56.
- 11) Wilber RL, Moffatt RJ. Physiological and biochemical consequences of detraining in aerobically trained individuals. J Strength Cond Res. 1994;8:110-24.
- 12) 山口正弘、加納和孝、平田恒彦、高坂健二. 運動生化学. 1版. 京都:金芳堂, 1990;53-68.
- 13) 的場秀樹, 森田俊介, 杉浦嵩夫. 骨格筋の筋線維タイプと適応性変化. 日本運動生理学雑誌 1995;2(2):127-42.
- 14) Pette D, Staron RS. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. Rev. Physiol Biochem Pharmacol. 1990;116:1-76.
- 15) Schiaffino S, Gorza L, Sartore, S, Saggin L, Ausoni, S, Vianello M, Gundersen K, Lomo T. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibers. J Muscle Res Cell Motil. 1989;10: 197-205.
- 16) 辻本尚弥, 鈴木英樹, 春日規克, 石河利寛. 走及びジャンプトレーニングによるラット骨格筋ミオシン重鎖アイソフォーム組成の変化. 体力科学 1995;44:97-104.
- 17) 辻本尚弥, 鈴木英樹, 春日規克. 走及びジャンプトレーニングの前脛骨筋に対する効果. 名古屋経済大学・市屯学園短期大学 自然科学研究会会誌 1994;29(1):5-18.
- 18) 総理府内閣総理大臣官房管理室. 実験動物飼育保管研究実験動物飼育及び保管等に関する基準の解説. 1版. 東京:ぎょうせい, 1980.
- 19) 前島一淑, 江崎考三郎, 篠田元扶, 山内忠平, 光岡知足, 菅野茂, 辻 茂, 土井邦雄. 新実験動物学. 1版. 東京:朝倉書店,1988.
- 20) Naito H, Powers SK, Demirel HA, Aoki J. Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats. Med Sci Sports Exerc. 2001; 33(5) : 729-34.
- 21) Tsika RW, Herrick RE, Baldwin, K.M. Interaction of compensatory overload and hindlimb suspension on myosin isoform expression. J Appl Physiol. 1987;62(6):2180-86.

- 22) Ryan TA. Significance tests for multiple comparison of proportions, variances, and other statistics. *Psychol Bull.* 1960; 57: 318-28.
- 23) 森敏昭, 吉田寿夫. 心理学のためのデータ解析テクニカルブック, 1版, 京都: 北大路書房, 1990.
- 24) 辻本尚弥, 鈴木英樹, 春日規克. 老齢期ラット下肢骨格筋における走及びジャンプトレーニングの効果. *名古屋経済大学・市屯学園短期大学自然科学研究会会誌* 1995;30(1):9-21.
- 25) Lambert EV, Wooding G, Lambert MI, Koeslag JH, Noakes TD. Enhanced adipose tissue lipoprotein lipase activity in detrained rats: independent of changes in food intake. *J Appl Physiol.* 1994;77(6):2564-71.
- 26) Lee S, Barton ER, Sweeney HL, Farrar RP. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *J Appl Physiol.* 2004; 96(3):1097-104.
- 27) Craig BW, Martin G, Betts J, Lungren M, Lambret V, Kaiserauer S. The influence of training-detraining upon the heart, muscle and adipose tissue of female rats. *Mech Ageing Dev.* 1991;57(1):49-61.
- 28) Kemi OJ, Haram PM, Wisloff U, Ellingsen O. Aerobic fitness is associated with cardiomyocyte contractile capacity and endothelial function in exercise training and detraining. *Circulation.* 2004 ;109(23):2897-904.
- 29) Kiuchi A, Arai Y, Katsuta S. Detraining effects on bone mass in young male rats. *Int J Sports Med.* 1998;19(4):245-9.
- 30) Nutter DO, Priest RE, Fuller EO. Endurance training in the rat. I. Myocardial mechanics and biochemistry. *J Appl Physiol.* 1981;51(4):934-40.
- 31) Oscai LB, Mole PA, Brei B, Holloszy JO. Cardiac growth and respiratory enzyme levels in male rats subjected to a running program. *Am J Physiol.* 1971; 220 (5): 1238-41.
- 32) Holloszy JO. Adaptation of muscular tissue to training. *Progr Cardiovas Dis.* 1976;18: 445-58.
- 33) Fuller EO, Nutter DO. Endurance training in the rat. II. Performance of isolated and intact heart. *J Appl Physiol.* 1981;51(4):941-7.
- 34) Karhunen MK, Ramo MP, Kettunen R, Hirvonen L. The cardiovascular effects of deconditioning after endurance training in rats. *Acta Physiol Scand.* 1988;133(3):307-14.
- 35) Davies KJ, Packer L, Brooks GA. Biochemical adaptation of mitochondria, and whole-animal respiration to endurance training. *Arch Biochem Biophys.* 1981;209(2):539-54.
- 36) Baldwin KM, Winder WW, Holloszy JO. Adaptation of actomyosin ATPase in different types of muscle to endurance exercise. *Am J Physiol.* 1975;229(2):422-6.
- 37) 勝田茂. ラット骨格筋線維の活動性肥大に関する電子顕微鏡的研究. *体力科学* 1974;23:67-76.
- 38) Wong TS, Booth FW. Skeletal muscle enlargement with weight-lifting exercise by rats. *J Appl Physiol.* 1988; 65(2):950-4.
- 39) Watt PW, Kelly FJ, Goldspink DF, Goldspink G. Exercise-induced morphological and biochemical changes in skeletal muscles of the rat. *J Appl Physiol.* 1982; 53(5): 1144-51.
- 40) Suominen H, Heikkinen E. Enzyme activities in muscle and connective tissue of M.vastus lateralis in habitually training and sedentary 33 to 70-year-old men. *Eur J Appl Physiol.* 1975;34: 249-54.
- 41) MacDougall JD, Sale DG, Always SE, Sutton JR. Muscle fiber number in biceps brachii in bodybuilders and control subjects. *J Appl Physiol.* (*Respirat Environ Exercise Physiol.*) 1984;57(5):1399-403.
- 42) Neuffer PD, Shinebarger MH, Dohm GL. Effect of training and detraining on skeletal muscle glucose transporter (GLUT4) content in rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 1992 ;70(9):1286-90.
- 43) Pilegaard H, Juel C, Wibrand F. Lactate transport studied in sarcolemmal giant vesicles from rats: effect of training. *Am J Physiol.* 1993 ;264 (2 Pt 1):E156-60.