

## 骨格筋における筋崩壊後の活動量の変化と筋線維タイプ移行

Degeneration and activity induced fiber transformation in skeletal muscle of rat

小坂井 留 美\*  
平野 朋 枝\*\*

小笠原 仁 美\*\*  
春日 規 克\*\*

西 沢 富 江\*\*\*  
矢 部 京之助\*\*\*\*

Rumi KOZAKAI \*,  
Tomoe HIRANO \*\*,

Hitomi OGASAWARA \*\*,  
Norikatu KASUGA \*\*,

Tomie NISIZAWA \*\*\*  
Kyonosuke YABE \*\*\*\*

The purpose of this study was to investigate the muscle fiber type transformation by the endurance training and detraining on bupivacain injected skeletal muscle. Twenty female Fischer 344 rats were classified into control (C), bupivacaine injection and endurance training (BT), detraining addition in BT (BTD), bupivacaine injection and detraining addition in BT (BTBD) group at 4 weeks of age. Training groups ran on treadmill continuously for 60min at 40m/min, 6 days/wk. Two detraining groups were detrained for 4 weeks after endurance training. Our results are as follows; 1) There was increase in muscle weight/body weight in trained group and decrease towards pretraining relative muscle weights were seen during the following 4 weeks of detraining. 2) As compared with C group fatigability increase in trained group, but was not altered in detrained groups. 3) Three types of fibers were classified based on differences in ATPase activity, and compared with the relative number of Type IIa fiber. The mean percentage distribution of Type IIa fiber before training was 22.6% and after training the value was 26.5%, while the 4 weeks of detraining values decreased towards pretraining. The values from the group bupivacain injection and 4 weeks after training showed exactly the same percentage of Type IIa fiber as the control group. It is concluded that increase in muscle fiber transformation occurs after detraining and bupivacaine induced injury and regeneration may have a role in the nerve conversion of the neuromuscular junction injury process.

### 1. 緒 言

骨格筋を構成する筋線維のタイプ構成比は、筋種により大きく異なる<sup>1)</sup>。これは、身体活動を発現する際の個々の筋の役割（活動参加様式）が異なるためと考えられている。

一方、それぞれの筋線維タイプ構成比は遺伝的要因を強く受け、トレーニング等の後天的要因によるタイプ移行（筋線維構成比の変化）は起こりにくいとされてきた<sup>1)</sup> 19)。筋線維タイプは、それを支配する運動神

経細胞のタイプにより決定され、例えば実験的に支配神経を slow ⇄ fast 間で変化させた場合（交叉神経支配）には筋線維タイプも変化することが報告されている<sup>20)</sup>。これは、神経細胞からの電気的あるいは栄養的情報が筋線維のタイプ特性を決定することを示すものである。

平野らは<sup>8)</sup>、ラットに伸張性運動と持久性運動を組み合わせた運動による神経の解離とその後の活動様式の変化が筋線維タイプの変化に及ぼす影響を検討した。その結果、伸張性運動に持久性運動を組み合わせ

\* 名古屋大学大学院医学研究科

\*\* 愛知教育大学教育学部健康科学選修

\*\*\* 鳥取大学医学部病態運動学

\*\*\*\* 名古屋大学総合保健体育科学センター

\* Graduate School of Medicine, Nagoya University

\*\* Department of Health Science, Aichi University of Education

\*\*\* Department of Med. and Science, Tottori University

\*\*\*\* Research Center of Health, Physical Fitness and Sports, Nagoya University

た群で顕著な筋線維タイプの変化がみられ、筋損傷による神経の解離とその後の活動様式の変化が、筋線維タイプの変化に関与している可能性が示された。生体内では、神経筋接合部の解離・再接合が常に起こり、その間に筋が以前と異なる活動様式を行っていたとするならば、支配神経の変換が起き後天的要因によるタイプ移行が十分おこりえると予想される。

そこで、本研究では薬物による筋損傷モデルを用いた「筋的部分的崩壊による」神経-筋接合部の解離（脱神経）と筋活動量の変化による筋線維タイプの変化について検討した。

## 2. 方 法

実験には Fischer344系雌ラットを用い、被験筋は足底筋 (PLA) とした。本実験では、筋を崩壊させるために生理食塩水にて0.5%濃度に希釈した塩酸ブピバカイン (BPVC) を筋に注入した。BPVC は神経、血管には無傷であるが筋細胞の壊死を起こさせる局所麻酔薬である<sup>23) 24)</sup>。BPVC の注入には、筋末梢端より筋腹部に向け筋線維の走行に沿って注射針を挿入し、300 $\mu$  l を注入した。

ラットは、Fig. 1 に示す4つの群に分けられた。1群が対照群 (Control: C群と略す; n = 5) であり、他3群は運動負荷群とした。運動負荷群は、BPVC による筋崩壊後に持久性トレーニングを行った場合の変化を調べるために、9週齢時にBPVCを注入し13週齢までの4週間持久性トレーニングを行った群 (以下 Bupivacaine Training: BT群と略す; n = 5)、トレーニング休止による変化をみるためにBPVC注入後4週

間は持久性トレーニングを行うが、次の13週齢より17週齢までの4週間は持久性トレーニングを休止した群 (以下 Bupivacaine Training and Detraining: BTBD群と略す; n = 5)、BPVCによる筋崩壊後にトレーニングを休止した場合の変化をみるためにBPVC注入後4週間の持久性トレーニングを行うが、13週齢の時点で再びBPVCを注入しその後4週間トレーニングを休止させた群 (以下 Bupivacaine Training and Bupivacaine Detraining: BTBD群と略す; n = 5) の3群に分けた。注射針による筋組織の損傷程度を同じくするため、9、13週齢時のC群と13週齢時のBTBD群の筋にはBPVCを含まない同量の生理食塩水を注入した。

運動負荷は、小動物用トレッドミルを用いた持久性走運動とし、BPVCを注入した翌日よりトレーニングを行った。また、予備トレーニングとして1週間前より、速度8 m/min、30分間の走トレーニングを行い、その後は負荷を漸増的に上げ9週齢以降は速度40 m/minにて60分間のトレーニングを、1日1回、週6日の頻度で行った。

張力疲労曲線の測定は、トレーニング終了後の13週齢時あるいは17週齢時に、麻酔下にて血流を維持した状態で筋を露出させ37 $^{\circ}$ Cを保ったロック液中に行った。疲労耐性の指標は、筋に対する間接極大刺激による1/2最大張力が得られる刺激頻度にて330 msec間の不完全強縮を毎秒一回の割合で行い、最大張力発揮に対する5分後の張力の相対値とした<sup>13)</sup>。次に、筋を摘出し直ちに筋湿重量を測定した。その後、組織化学的分析を行なうため急速凍結し連続横断切片 (10 $\mu$  m) を作成した。切片は、酸・アルカリ前処理による myosinATPase 染色及びコハク酸脱水素酵素 (SDH) 染色を行った。

筋線維タイプは、Brook & Kaiser の方法<sup>4)</sup> 及び Peterらの方法<sup>25)</sup> を用い、さらに Booth<sup>3)</sup> らの知見を加えて Type I、Type IIa、Type IIb に分類し各筋線維別に本数比を求めた。

なお、統計処理においては全群間の差を一要因の分散分析にて検定した。それぞれの分散分析では、主効果が有意となった場合の多重比較に Fisher の PLSD 法を用いた。全ての検定において有意水準は5%とした。

## 3. 結 果

Fig. 2 に各群の17週齢時の筋重量を、体重の影響を考慮し相対的筋重量の平均値と標準偏差による比較として示した。C群の体重100 gあたりの筋重量は81.6 gであったのに対し、持久性トレーニングを行ったBT群は91.4 gとなり、約12%の筋重量の増加を示した。ト

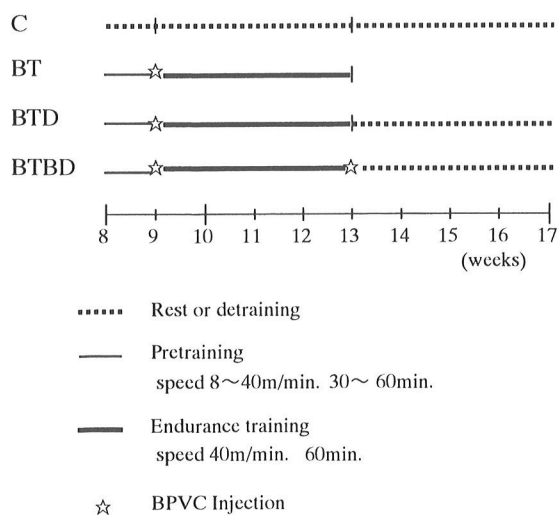


Fig.1 Training program

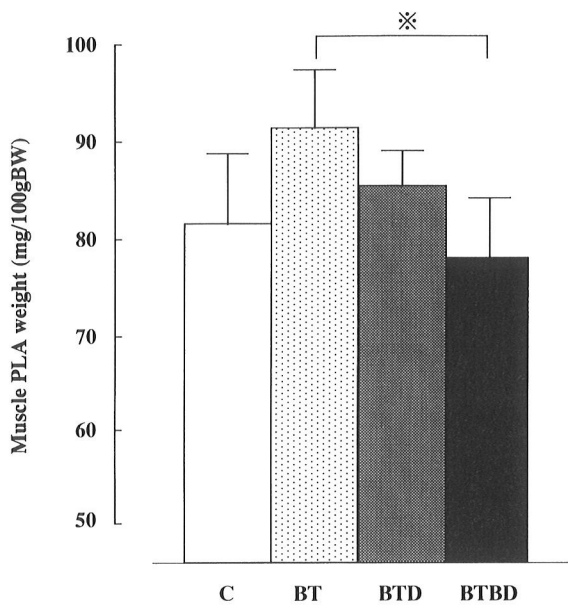


Fig.2 Comparison of relative muscle weight for each group  
Values are mean  $\pm$  S. D.  
※  $p < 0.05$

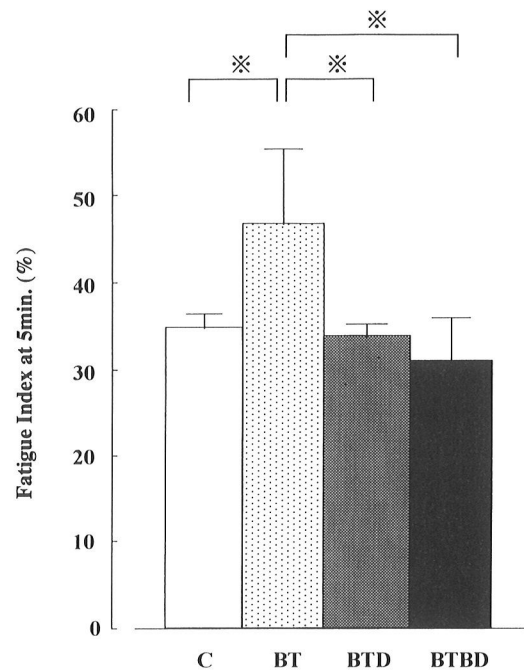


Fig.3 Comparison of fatigue index for each group  
Values are mean  $\pm$  S. D.  
※  $p < 0.05$

トレーニング休止により活動量を減少させた BTBD 群は 85.4 g であり BT 群に比べ低値を示した。トレーニング休止の直前に BPVC を注入し筋再崩壊をおこした BTBD 群では、78.1 g と BT 群に対し有意に低値を示した ( $p < 0.05$ )。

Fig. 3 には、疲労耐性として刺激開始 5 分後の張力の残存率を各群の平均値と標準偏差により比較した。C 群 34.6% に対し、BT 群 46.7% と疲労耐性は有意に増加した。持久性トレーニング後に運動休止期をおいた群は、ともに BT 群に比べ疲労耐性は減少し BTBD 群では 33.9% と約 13%、更に BTBD 群は 30.8% と約 16% 減少し、いずれも有意であった ( $p < 0.05$ )。

以上の結果から、今回行った持久性トレーニングとトレーニング休止という活動量の変化は筋の形態・機能的特性としての筋重量、疲労耐性に影響を及ぼすものであった。そこで組織染色により筋線維タイプ別の構成比を分析した。

各群の足底筋の全筋線維本数は、約 3500~3860 本であり群間に差はみられなかった。タイプ分類した結果では、遅筋線維である Type I 線維の構成比は各群間では差が無く、Type I  $\rightleftharpoons$  Type II 線維間の移行は認められなかった。Type II 線維のサブタイプ間では、トレーニングにより Type IIa 線維の増加と Type IIb 線維の減少が、またトレーニング休止による Type IIa 線維の減少と

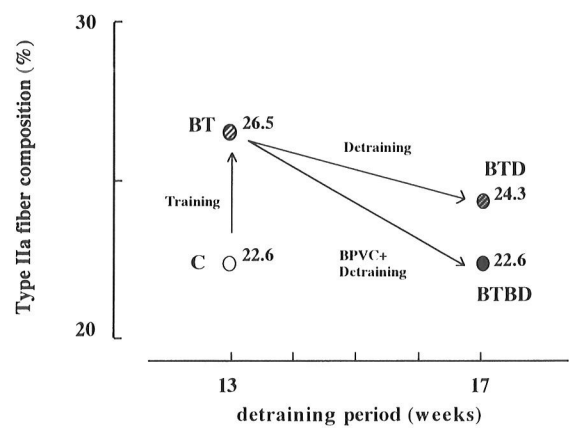


Fig.4 Effects of training and detraining on type IIa fiber composition in BPVC

Type IIb 線維の増加みられた。持久的な運動効果の指標として、速筋線維のなかでも酸化系の能力に優れた Type IIa 線維に注目し、その変化を Fig. 4 に示した。図は週齢を横軸に示し、縦軸に各群の Type IIa 線維構成比率をプロットした。Type IIa 線維は筋崩壊後持久性トレーニングを行った BT 群で増加し、トレーニングを休止した BTBD 群、BTBD 群で減少した。筋崩壊後トレーニング休止を行った BTBD 群は、BTBD 群に比べ Type IIa 線維の減少の度合いが大きく C 群と同様の値ま

で低下した。

#### 4. 考 察

本実験では、筋に損傷を与える目的で塩酸ブピバカイン (BPVC) を相当量注入した。BPVC は、筋に対して局所的かつ確実にダメージを与えるため<sup>23)</sup> 顕著な損傷・回復の影響を捉えることができると考えた。なお、BPVC は毛細血管や神経に対しては影響を及ぼさないことが確認されており<sup>23) 24)</sup> BPVC の注入が直接神経末端の軸索に対して、または毛細血管の分布に影響した結果として筋の特性に作用することは考えにくい。そこで、本結果において筋の生理学的あるいは組織化学的特性が変化したことは、筋の損傷と再生という筋原性の変化が関係することが考えられる。さらに本研究の特色として、BPVC 注入による筋損傷後に持久性トレーニングによって活動量が増加した場合とトレーニングを休止し活動量が減少した場合とに分けて、2つの活動様式が筋線維タイプの変化に及ぼす影響を観察した。筋重量の比較では、持久性トレーニングを行った BT 群で相対的筋重量の増加がみられた。骨格筋は、トレーニングなど活動量の増大により筋原線維の増殖に伴う筋線維横断面積の増加が起こり肥大するといわれている<sup>17)</sup>。活動量が増加する際に起こる筋肥大は、収縮蛋白の合成が促進し分解速度より優位になる結果である。本実験の BT 群での相対的筋重量の増加は、持久性トレーニングによる筋活動量の増加が筋肥大を導いたためと考えられる。一方、BTD、BTBD 群では、相対的筋重量の減少が見られた。本結果は、ラットを使った後肢懸垂などの不活動実験で顕著な筋萎縮が起こる報告<sup>9)</sup> やヒトではトレーニング休止の研究において活動量の減少が筋横断面積の減少、筋の萎縮を引き起こすとする報告<sup>18)</sup> と一致する。活動量の減少は、蛋白の合成を抑制し分解を亢進させ筋を萎縮させるといわれており<sup>2)</sup>、持久性トレーニングから通常飼育へと活動量が減少したことが BTD、BTBD 群の相対的筋重量の減少に関与したと考えられる。

筋持久性能力の指標として一般に用いられる疲労耐性は、筋への酸素運搬能力や筋における酸化系の代謝能力を反映していると考えられる。本実験では、持久性トレーニングの結果、BT 群は疲労耐性の向上が、トレーニング休止を行った BTD、BTBD 群では疲労耐性の低下が示された。持久的なトレーニングと同期間のトレーニング休止の影響を検討した報告では、持久性トレーニングを行うことにより酸化系酵素活性の上昇や毛細血管の発達が起こり、トレーニング休止後はこれらの値は減少し持久力の低下が認められてい

る<sup>18)</sup>。不活動により萎縮した筋では含有する ATP やグリコーゲン濃度が低く、乳酸のレベルの上昇が速いため疲労耐性が低いという報告<sup>27)</sup> もあることから、この結果は活動量の変化による筋に対する酸化系酵素活性、毛細血管、ATP や基質濃度の変化を反映したものと考えられた。

組織化学的特性として筋線維タイプ分類を行い、特に持久性トレーニングの効果が反映すると予測される Type IIa 線維に着目した (Fig. 4)。本結果より持久性トレーニング後の BT 群に Type IIb 線維の減少にともなう Type IIa 線維の本数比率に増加がみられた。この際、Type I 線維の比率の変化はみられなかった。この持久性トレーニングの効果としての筋線維タイプの変化は過去の報告と一致するものであり<sup>21)</sup>、Type II 線維のサブタイプ間での Type IIb 線維→Type IIa 線維という筋線維タイプの移行であった。Type IIa 線維は速筋タイプであるが、酸化系酵素活性が優位な筋線維であり、持久性のトレーニングによる増加は疲労耐性の向上を裏付ける結果となった。

春日らの報告では<sup>12)</sup>、持久性トレーニングの効果がミトコンドリアや心筋重量では早期にみられるのに対し、筋線維タイプ移行を含む疲労耐性などは9週間以上の期間が必要であるとしている。また平野は<sup>8)</sup>、持久性トレーニングを行うことにより Type IIa 線維が約12%、下り走による筋崩壊後に持久的トレーニングを行った場合は約16%増加したことを示し、持久性トレーニングに筋崩壊を伴うような運動を加えた場合には顕著なタイプ移行が起きることを示した。本結果では4週間という短期間のトレーニングにもかかわらず、活動量の変化に適合した Type IIa 線維の増加や疲労耐性の向上がみられた。このことに関しては、トレーニング前に行った BPVC 注入による筋損傷とそれに続く筋活動量の変化が積極的タイプ移行の発現に結びつくと考えられた。

次に、トレーニング休止の影響を筋線維タイプから検討した。BTD 群と BTBD 群の2群では休止条件は同じであり、筋重量は同様に減少しているにも関わらず、Type IIa 線維の割合は BTD 群ではわずかに減少したのみであるのに対し、筋崩壊後にトレーニング休止させた BTBD 群の Type IIa 線維は C 群の値にまで減少した。また、トレーニング休止では持久性能力に優れた筋線維が優先的に減少する報告があり<sup>18)</sup>、この点については、本結果と一致する。このことは、筋が同様に萎縮しているにもかかわらず、筋に損傷を与え再生を促した群は、トレーニングとは逆の筋線維タイプの変化が起こっていたことになる。C 群の筋線維構成比が、その生活様式である安静飼育状態に適した割合と

考えるなら、トレーニング前に、あるいは休止期前に損傷を与えることが筋線維のタイプ移行をより積極的、合目的なものとするのが考えられた。また、疲労耐性に BTD 群と BTBD 群に差があったことは Type IIa 線維から Type IIb 線維へ移行した量と関係することが考えられ、飼育環境に適応した変化が機能面にも現れていたと考えられる。

本研究では、損傷筋モデルに短期間の持久性トレーニングを加え、筋線維タイプの変化を観察した。この結果から、筋崩壊直後に活動量の変化が生じた場合、活動量の増加・減少といった変化に適応し筋線維タイプ移行が起きることが示された。筋の損傷は、運動終板近傍で損傷を起こす場合、支配神経の解離がおこる可能性が大きい。解離した軸索末端は新たに結合発芽し、また筋は再生が進行するとともに複数の終板を形成する<sup>7)</sup>。複数の神経と結合した初期の損傷筋は、再生過程では余分な軸索は消退する。いかなる因子により最終的に残留する神経が決定されるかは不明であるが、本結果から再生過程における筋の活動様式が大きな影響をもっていると考えられ、筋線維タイプの移行には筋損傷再生にともなう神経支配の変換が関与していることが考えられた。

## 5. 要 約

本研究では、薬物による筋損傷モデルを用い筋活動量を変化させた場合の筋線維タイプの変化について観察した。実験動物 (Fischer344 系の雌ラット) は、実験群として活動量増加の影響をみるために 9 週齢時に BPVC を注入し 13 週齢までの 4 週間持久性トレーニングを行った群 (BT 群)、活動量減少の影響をみるために BPVC を注入しその後 4 週間は持久性トレーニングを行うが、次の 4 週間は持久性トレーニングを休止した群 (BTD 群)、筋崩壊後のトレーニング休止の影響をみるために BPVC を注入し 4 週間の持久性トレーニングを行うが、13 週齢の時点で再び BPVC を注入しその後 4 週間トレーニング休止させた群 (BTBD 群) と対照群 (C 群) を設定した。持久性トレーニングには、小動物用トレッドミルを用い速度を漸増させ最終的には速さ 40m/min にて 60 分間のトレーニングを行った。なお、トレーニングは、傾斜 0 度、1 日 1 回、週 6 日の頻度で行った。被験筋は足底筋とし、筋重量、疲労耐性、筋線維タイプ構成比について検討した。主な結果を以下に示す。

- 1) 相対的筋重量は、C 群に比べ持久性トレーニングを行った BT 群で増加し、トレーニングを休止した BTD 群、BTBD 群では BT 群に比べ減少した。

- 2) 疲労耐性は、C 群と比較し BT 群で増加した。BTD 群、BTBD 群は、BT 群に比べ減少した。
- 3) 筋線維タイプの構成比では、Type IIa 線維の変化を観察すると、BT 群では増加し BTD 群では減少した。筋崩壊後にトレーニング休止期をおいた BTBD 群では C 群と同じ値にまで減少した。

以上の結果より、筋崩壊後に活動量の変化が生じた場合、活動量の増加、減少といった変化に適応し筋線維タイプは移行を起こすことが示された。筋線維タイプの変化には、筋崩壊とそれに続く再生が影響することが示唆された。

## 参考・引用文献

- 1) Armstrong, RB., Ogilvie, RW. and Schwane, JA. : Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 54 (1): 80-93, 1983.
- 2) 跡見順子：骨格筋の萎縮機構，運動生化学 2:6-17, 1994
- 3) Booth, FW., and Seider, MJ. : Recovery of skeletal muscle after 3 mo of hindlimb immobilization in rats. *J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 47 (2): 435-439, 1979
- 4) Brook, MH. and Kaiser, K K. : Musle fiber types: how many and what kind? *Arch Neurol.* 23: 369-379, 1970
- 5) Byrd, SK. : Alterations in the sarcoplasmic reticulum: a possible link to exercise-induced muscle damage. *Med. Sci. Sports Exerc.* 24 (5): 531-536, 1992
- 6) Elder, GC . and McComas, AJ. : Development of rat muscle during short-and long-term suspension. *J. Appl. Physiol.* 62 (5) 1917-1923, 1987
- 7) Gerta Vrbova, Tessa Gordon, Rosemary Jones 著 湯浅 龍彦監訳 「神経と筋の相互作用」 西村書店 1991
- 8) 平野 朋枝：運動時におこる筋の損傷とトレーニング効果、修士論文、1991
- 9) Houston, ME., Bentzen, H. and Larsen, H. : Interrelationships between skeletal muscle adaptations and performance as studied by detraining and retraining. *Acta physiol. scand.* 105: 163-170, 1979
- 10) Howald H. : Training induced morphological and functional changes in skeletal muscle. *Int. J. Sport Med.* 3:1-12, 1982
- 11) 石原昭彦：発育にともなうラット神経、筋組織の組織科学的特性の変化について 体育学研究 29 (2) : 125-132, 1984
- 12) 春日規克：筋持久性の発達過程 体力科学 40 (6) : 697, 1991
- 13) 春日規克、山下晋、小笠原仁美、鈴木英樹、辻本尚弥、石原昭彦：過負荷式回転車輪によるラットの自発走特性と骨格筋への効果 体力科学 48 (1) : 99-110, 1999
- 14) 勝田 茂、和田 正信：筋線維組成と運動競技特性 デサントスポーツ 7 : 34-43
- 15) 勝田茂、伊藤一生、的場英樹、北浦孝、春日規克、石原昭彦：骨格筋線維タイプの特性とそれに影響を及ぼす因

- 子 そのⅠ. 骨格筋線維の分類 体力科学 37(5):345-357, 1990
- 16) 勝田茂、伊藤一生、的場英樹、北浦孝、春日規克、石原昭彦：骨格筋線維タイプの特徴とそれに影響を及ぼす因子 そのⅡ. 骨格筋線維の分類 体力科学38(1), 1991
- 17) 北沢俊雄：筋肥大と萎縮の調節機構. 総合リハ. 9(6) 427-434, 1981
- 18) Klausen, K., Andersen, LB. and Pelle, J. : Adaptive changes in work capacity, skeletal muscle capillarization and enzyme levels during training and detraining. *Acta Physiol. Scand.* 113: 9-16, 1981
- 19) Komi, PV., Viitasalo, JHT., Havu, M., Thorstensson, A., Sjødinand, B. and Karlsson, J. : Skeletal muscle fibers and muscle enzyme activities in monozygous and dizygous twins of both sexes. *Acta physiol. Scand.* 100:385-392, 1977
- 20) 的場秀樹・森田俊介・杉浦崇夫：骨格筋の筋線維タイプと適応性変化. 日本運動生理学：2(2)：127-142, 1995
- 21) 西沢富江：運動によって起こる筋線維タイプ移行の機序 修士論文 1993
- 22) 西沢富江・春日規克・鈴木英樹：筋崩壊後の修復再生と筋線維タイプ移行. 体力科学：43(6), 513, 1994
- 23) Nonaka, I., Takagi, A., Ishiura, S. and Sugita, H. : Pathophysiology of muscle fiber necrosis induced by bupivacaine hydrochloride (Marcaine). *Acta Neuropathol (Berl).* 60: 167-174, 1983
- 24) Orino, S., Hiyamura, E., Arahata, K. and Sugita, H. : Analysis of inflammatory cells and complement C3 in bupivacaine-induced myonecrosis. *Muscle & Nerve.* 14: 515-520, 1991
- 25) Peter, JB., Barnard, RT., Edgerton, VR., Gillespie, CA. and Stempel, KE.: Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemicary.* 11: 2627-2633, 1972
- 26) Riley, DA. and Allin, EF. : The effects of inactivity, programmed stimulation, and denervation on the histochemistry of skeletal muscle fiber types. *Experimental Neurology.* 40: 391-413, 1973
- 27) Witzmann, FA., Kin, DH. and Fitts, RH.: Effect of hindlimb immobilization on the fatigability of skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 54(5): 1242-1248, 1983

(1999年12月13日受付)