

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 7日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22500679

研究課題名（和文）速筋線維の代謝能維持に対する伸張性運動の有効性に関する長期的な検討

研究課題名（英文）Examination of the effect of eccentric exercise on fast-twitch muscle fiber metabolism over a lifespan

研究代表者

只野 ちがや (TADANO CHIGAYA)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号：40261094

研究成果の概要（和文）：

加齢に伴う筋機能の低下に対する伸張性運動（坂下り歩行）の有効性を検討するため、動物（ラット）に低強度の伸張性運動を2年間行わせた。その結果、加齢による代謝機能低下の要因となっているミトコンドリアの酸化ストレスが減少し、代謝能の改善を示す結果が得られた。特に、速い動きを司る速筋において、加齢に伴う酸化ストレス増大に対する軽減効果は明瞭であった。以上の結果より、加齢に伴う筋機能の低下に対する伸張性運動の抑止効果が示唆される。

研究成果の概要（英文）：

To examine the effects of eccentric exercise (downhill walking) on the decline of muscular function with age, animals (rats) performed low intensity downhill walking for 2 years. As a result, the exercise reduced mitochondrial oxidative stress, which has been shown to have a negative impact on muscular function, and slowed the decline in muscular metabolism. Particularly, the effect of the exercise on the development of oxidative stress with age was clear in fast-twitch muscle. These results suggest that eccentric exercise can help to prevent a decline in muscular function with age.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学，応用健康科学

キーワード：加齢・老化

1. 研究開始当初の背景

(1) 高齢者の筋力低下と疾病リスクの関連

高齢者に見られる筋力の低下は、徐々に歩行機能を奪い行動を著しく制限し、同時に転倒などのリスクを高める。また、全身の骨格筋における代謝の低下は、生活習慣病をはじ

めとする種々の疾病の要因となる。加齢に伴う疾病リスクの増加は体内の酸化ストレス蓄積と関連していることが種々の病因の解明から明らかとなってきた。生活習慣に於いて酸化ストレスの軽減を図るには中程度の運動を継続的に行うことが有効であること

は既に明らかで、近年では、特別な運動を行わなくても生活活動レベルを低下させないことで疾病予防効果が期待できるとの指摘もなされている。

(2) 酸化ストレスによる筋機能の低下

加齢に伴い骨格筋のミトコンドリア電子伝達系から生じる活性酸素リークが増加する。これにより膜脂質の過酸化が進行してミトコンドリアの機能低下を促進する。加齢による筋機能低下はこのミトコンドリアの機能低下を主な要因として生じている。日常生活における活動量の減少は筋の糖取込能力を低下させ、脂質の組織内貯留を高める。こうした脂質利用の増加がミトコンドリアの酸化ストレス増加と関連することが指摘されている。

(3) ミトコンドリア脱共役蛋白質 3 (UCP3) の抗酸化作用

UCP3 は骨格筋のミトコンドリアに特異的に存在するミトコンドリア脱共役蛋白質ファミリーの一つで、プロトンポンプの一種であり、プロトン濃度勾配の維持に関与している。しかし、脂肪組織の非振戦性熱産生に関与する UCP1 とは異なり、UCP3 の生理的作用については未だ明らかではない。ミトコンドリアの活性酸素の産生がプロトン濃度勾配の上昇に依存して起こることから、近年この UCP3 の抗酸化作用に関心が集まっている。動物実験では高脂肪食飼育や糖尿病モデルでみられる脂質利用の増加や糖取込の低下とともに UCP3 の発現量の変化が観察され、酸化ストレスとの関連性が示唆されている。また、加齢によって UCP3 の発現量が低下することも知られている。この加齢変化はとりわけ速筋で著しい。

(4) UCP3 発現量に対する運動の影響

骨格筋の UCP3 の発現量は運動により一過性に増加するが、トレーニング後では低下することがヒトおよび動物で認められている。また、UCP3 の発現は遅筋線維に比べ速筋線維で高く、トレーニング後もその傾向は変わらないが、持続的運動による低下度は遅筋線維でより著しい。

(5) 日常生活に必要な速筋線維の機能維持

加齢に伴う筋機能の低下は速筋線維に顕著であり、これが上述の行動変容の引き金となる。そのため速筋線維の機能維持増進は日常生活における活動レベルを保つ上で欠かせない。このような点から高齢者に対する筋力アップの重要性が指摘され、運動実践の一環に取り込まれている。しかし、日常生活にはない高い強度の運動を習慣化することは、多くの高齢者にとって困難である。

(6) 運動実践における伸張性運動応用の可能性

筋収縮時に遠心性の運動を行う伸張性収縮では、速筋線維の動員閾値の低下が見られる。

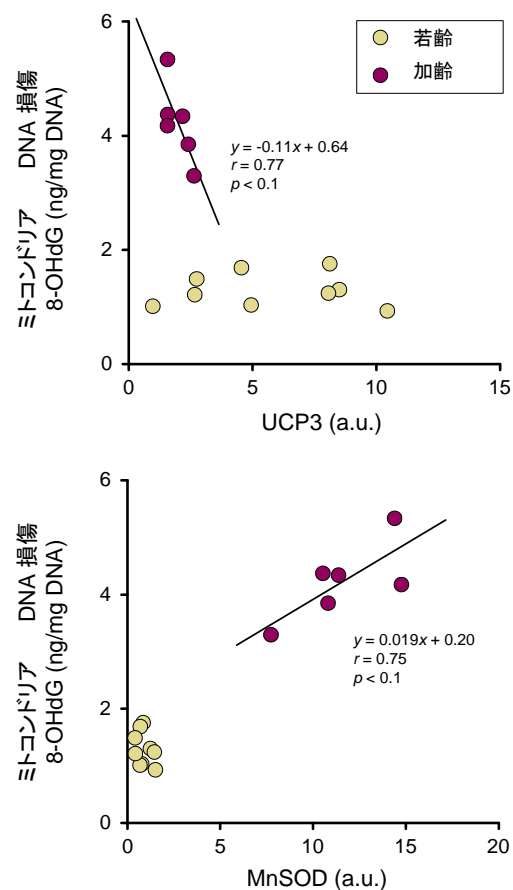


図 1. 大腿四頭筋のミトコンドリア DNA 損傷(8-OHdG)と MnSOD および UCP3 の関係

そのため比較的低強度であっても速筋線維に対する有効な刺激を与えることが出来る。しかし、一方では局所的な活動にともなって機械的ストレスが高まり、筋線維の微細構造損傷を引き起こす。これが炎症の誘因となって運動の制限因子となってしまう可能性を含んでいる。そのため、健康実践あるいは疾病予防の観点から伸張性運動が検討されることは少なく、速筋線維に適刺激を与えるような伸張性運動が長期的に筋機能を維持する効果を持っているかは不明である。

2. 研究の目的

本研究では、加齢に伴う骨格筋の酸化ストレスを軽減する上で伸張性運動の長期的実践の有効性について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、長期飼育実験に入る前に、加齢個体に対する伸張性運動の影響について検討した(実験 1)。その結果を踏まえて長期間低強度運動介入実験を実施した(実験 2)。実験 1: 伸張性運動による骨格筋酸化ストレ

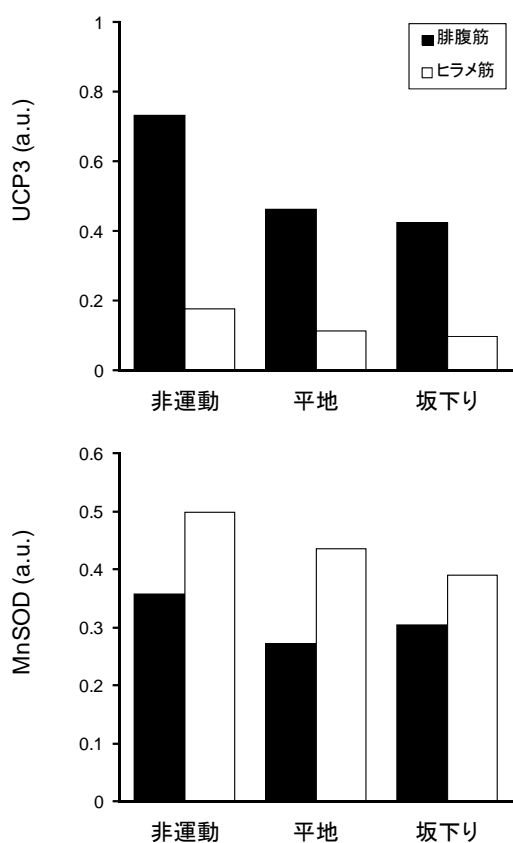


図 2. 加齢ラットの腓腹筋とヒラメ筋における UCP3 と MnSOD の運動にともなう変化

スに対する加齢の影響

実験には Wistar 系雄性ラットの若齢個体 (12 週齢) および加齢個体 (89 週齢) を用いた。小動物用トレッドミルを用いて若齢群には 3 時間の加齢群には 1.5 時間の坂下り運動をそれぞれ負荷した。運動終了後、後肢より筋を摘出し分析に用いた。

実験 2: 長期的な低強度伸張性運動による骨格筋酸化ストレスへの影響

実験には Fisher344 雄性ラット (8 週齢) を用い、2 年間、食餌と水を自由摂取として、飼育した。飼育期間中、運動群には短時間の坂下り運動を週 2~3 回実施した。対照として別の動物には平地運動を同様の条件で実施した。最後の運動終了から 1 週間後に後肢より筋を摘出し、分析に用いた。

分析: 実験 1 および実験 2 で摘出した筋標本について、酸化物や抗酸化酵素の定量を行った。また、一部の筋標本については遠心法で分離したミトコンドリア画分について分析を行った。

4. 研究成果

(1) 伸張性運動による骨格筋酸化ストレスに対する加齢の影響

若齢群および加齢群のヒラメ筋と腓腹筋 (内側) について比較した。ヒラメ筋の筋重

量は加齢群で増加したが、腓腹筋では加齢群で僅かに減少したものの、著しい萎縮は観察されなかった。但し、体重は加齢群で倍増しており、腓腹筋における体重当たりの筋重量 (筋重量/体重比) は加齢群でほぼ半分減少していた。一方、ヒラメ筋で筋重量/体重比に変化はみられず、体重増加に伴う抗重力筋としての活動増加が考えられた。

筋組織中の抗酸化酵素であるスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の活性は、ヒラメ筋に於いては加齢による影響は見られなかったが、腓腹筋では上昇する傾向にあった。同様に、グルタチオンペルオキシダーゼ (GPX) 活性についても、加齢に伴う上昇傾向が腓腹筋のみに観察された。これらのことから、腓腹筋に於いては加齢による酸化ストレスの増大が考えられる。なお、運動による SOD と GPX 活性への影響はなかった。

筋標本のホモジネートについてミトコンドリアの脱共役蛋白質 (UCP3) と MnSOD (ミトコンドリアに局在する SOD) のタンパク質定量をウエスタンブロッティングにより行った結果、ヒラメ筋と腓腹筋で MnSOD の加齢による増加がみられた。また、加齢群では運動により UCP3 が減少する傾向を示した。同様の傾向は、大腿四頭筋においても観察されており、MnSOD は加齢群で増加し、加齢群の UCP3 は運動により低下した。

大腿四頭筋については遠心法により核画分とミトコンドリア画分を分離し、それぞれについて DNA の酸化的損傷を 8-ヒドロキシグアノシン (8-OHdG) を指標として定量した (ELISA 法)。その結果、核およびミトコンドリアにおいてはともに加齢により DNA 損傷が著しく増加した。ミトコンドリアの DNA 損傷には若齢群、加齢群の双方に於いて運動による増加がみられた。

加齢群におけるミトコンドリアの DNA 損傷には MnSOD 量との間に正の相関が、また、UCP3 との間には負の相関がそれぞれ認められたが、若齢群ではこうした関係は認められなかった (図 1)。ミトコンドリアに由来する活性酸素の発生は加齢によって増加することから、これに伴う MnSOD の発現増加と活性酸素による DNA の損傷に関連が見いだされたと考えられる。一方、UCP3 は加齢に伴って著しく減少していることから、ミトコンドリアの酸化ストレスの増大と関連している可能性がある。

(2) 長期的な低強度伸張性運動による骨格筋酸化ストレスへの影響

飼育期間中 (約 24 ヶ月) の動物の体重は概ね 15 ヶ月齢まで増加し、その後徐々に減少する傾向を示し、いずれの月齢においても非運動群と差異はなく、長期間の運動による体重への影響は見られなかった。また、後肢筋群には軽度な筋の萎縮がみられたが、運動群

と非運動群の間に著しい差異はなかった。

腓腹筋とヒラメ筋の組織について検討したところ、MnSODのタンパク質量はヒラメ筋と腓腹筋共に運動群で低値を示していた(図2)。但し、坂下り運動と平地走に於いて差異は認められなかった。このことから長期の低強度運動がミトコンドリアにおける活性酸素発生の軽減に寄与していることが推察される。また、UCP3については速筋タイプの腓腹筋に運動群で低値を示した(図2)。ヒラメ筋では腓腹筋よりUCP3の発現量が少ないが、僅かに運動群で低値となる傾向にあった。なお、UCP3についてもMnSODと同じく、平地運動と坂下り運動で差異はなかった。UCP3はトレーニングによって減少することが知られており、代謝の亢進と関連していると考えられている。

坂下り運動は平地運動に比べて全身のエネルギー消費量は少なく、生体への負担度は平地走より低い。そのため、検討した骨格筋に於いて平地走と同程度の変化が観察されたことは組織酸化ストレスの軽減に対する伸張性運動の有効性を示すものとなった。

加齢による活動量の低下は、筋の代謝を低下させ、これが組織内の活性酸素発生を増大させ、酸化ストレスを生じやすい環境を生み出している。本研究で用いた、長期的な低強度運動は、低下した筋代謝を賦活させることで、組織の酸化ストレスを軽減させたと考えられることができる。この結果は、筋力の向上を主眼に置いたこれまでの高齢者における筋機能維持・改善を目的とするトレーニング戦略において、新たな方向性を示すものとなり得る。

なお、本研究では運動実践期間が長期間に及んだため、研究実施期間終了後の現在に於いても分析が完了しておらず、現在も続行中である。今後は伸張性運動による骨格筋への影響について、さらに詳細な検討を行っていく予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計4件)

(1) 只野ちがや, 加齢ラットの骨格筋抗酸化能に対する長期的運動の影響, 第67回日本体力医学会, 2012年9月15日, 岐阜県

(2) 只野ちがや, 加齢ラットの骨格筋ミトコンドリア抗酸化能に対する運動の影響, 第66回日本体力医学会, 2011年9月28日, 山口県

(3) Tadano C, Effect of acute eccentric exercise on muscular mitochondrial oxidative stress in elderly rats, 16th Annual Congress of the European College of Sport Science, 2011.7.8, Liverpool(UK)

(4) 只野ちがや, 加齢に伴う骨格筋の酸化ストレスに対する低強度伸張性運動の影響, 第65回日本体力医学会, 2010年9月30日, 千葉県

6. 研究組織

(1) 研究代表者

只野 ちがや (TADANO CHIGAYA)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号: 40261094

(2) 研究分担者

該当者なし

(3) 連携研究者

該当者なし