

発育過程の運動トレーニング・ラットの 体力に及ぼす牛乳および砂糖の影響

～Ⅲ．脚筋へのグリコーゲン・ローディングに対する影響～

順天堂大学体育学部栄養生化学教室 教授 山口 正 弘
日本女子体育大学 教授 黒田 善 雄

日本人は欧米人に比べて、きわめて牛乳摂取が少ない。幼児期より牛乳摂取量を欧米人並にすることにより、スポーツ競技での体力を欧米のレベルに改善することが出来るかどうかを検討するために、実験用ラットを使って実験した。

平成1－2年度の実験結果は次の様であった。

- 1) 3から10週令の間十分な牛乳を摂取した運動トレーニング・ラットは自発的運動量が著しく減少した。
- 2) この牛乳を十分摂取した運動トレーニング・ラットの脚筋には顕著にグリコーゲンの増加が見られた。

本年度は、上記の様な違いが、どうして生ずるかを次の観点から調べた。

雄ラットの自発的運動性は男性ホルモン (testosterone) と深い関係をもっていること、筋グリコーゲンの含量は運動性と関係するが、牛乳を十分摂取した運動トレーニング・ラットの脚筋にはグリコーゲンが高いにもかかわらず、運動量が少ない、この二点に注目した。

実験方法

I ラット (雄の Sprague-Dawley) の体質に及ぼす飼料と運動トレーニングの影響。

成長過程にある運動トレーニング・ラットに船橋農場製のMM-1の飼料を基礎にカロリー、タンパク質、脂肪、糖質、ビタミン、ミネラルなど等しく十分に満たされたものであるが、1) 全脂粉乳を30%含んだ飼料 (M飼料)、2) 脱脂粉乳を30%含んだ飼料 (MD飼料)、3) 砂糖を30%含んだ飼料 (S飼料) (図1) を、それぞれ与え、自由に運動できるグループ (Tグループ) と非運動グループ (Cグループ)

に分け 3 週令から 7 週令の間飼育し、それぞれのグループを次のように名づけた。

M-t：M飼料で運動しているグループ。

M-c：M飼料で非運動グループ。

MD-t：MD飼料で運動しているグループ。

MD-c：MD飼料で非運動グループ。

S-t：S飼料で運動しているグループ。

S-c：S飼料で非運動グループ。

これらのグループについて次の項目を測定し比較した。

- 1) 体重増加
- 2) 自発的運動量
- 3) 筋肉及びこうがんのグリコーゲン含量
- 4) こうがんのLDH-Xの活性

II 疲労困憊走運動ラットの回復に対する飼料の影響。

MM-1飼料で、約50gから約300gまで飼育したラットを夏目製トレッドミルKN-73を用いて図2に示す様なメニューで疲労困憊 (all-out) にまで走運動させた後、三つのグループに分け、M飼料、MD飼料、S飼料で一週間それぞれ飼育した。それらのグループを次のような名づけた。

C：all-out前のラットグループ。

A：all-out直後のラットグループ。

M：all-out後一週間M飼料で飼育したラットグループ。

D：all-out後一週間MD飼料で飼育したラットグループ。

S：all-out後一週間S飼料で飼育したラットグループ。

各ラットについて次の項目について調べた。

- 1 体重
- 2 脚筋のグリコーゲン含量
- 3 脚筋のホスホリラーゼ活性
- 4 こうがん (testis) のLDH-Xの活性

ホスホリラーゼは Assaf and Yunis の方法 (Biochemistry, vol. 12 (1973)) に従っ

てラットの筋肉から抽出し、活性を測定した、反応混液にAMPを添加及び無添加時の活性を測定し、ホスホリラーゼbおよびホスホリラーゼaの含量を算出した。

実験結果

A ラットの体質に及ぼす飼料と運動トレーニングの影響。

1 体重増加

同種の飼料で飼育するかぎり運動グループ (M-t、MD-tおよびS-t) と非運動グループ (M-c、MD-cおよびS-c) は体重増加に関しては、有意な差は認められなかった。しかし、消費飼料量は運動グループが約10%有意に多かった。

運動グループではMD-tがM-tやS-tよりも有意に高い体重増加を示した (図3、 $p < 0.05$)。非運動グループではS飼料がMD飼料よりも体重増加を有意に高めた (図4、 $p < 0.05$)。

2 自発的運動量

運動グループのM-t、MD-tおよびS-tの自発的運動量はそれぞれ 6.663×10^4 、 15967×10^4 及び $19.700 \times 10^4 \text{ g} \times \text{m/hr}$ であった。M-tラットの運動量の減少の値はMD-tやS-tに対して、危険率5%以下で有意であった (表1)。

3 筋グリコーゲン量

飼料の種類に関係なく、運動ラット群の脚筋のグリコーゲン含量は非運動のものよりも多かった (図5、6)。

飼料による違いは、運動ラット群でのみに見られた。M-tラットの腓腹筋 (gas) およびひらめ筋 (sol) ではMD-tやS-tよりも30%から40%も有意に多かった (図5、6)。

4 こうがん (testis) のグリコーゲン含量

病的でない組織でのグリコーゲン含量の増加はその組織でのエネルギー保有量の高まりを意味するもので、その組織の活性化を示すと考えられる。

図7は各ラット・グループのこうがんのグリコーゲン濃度を測定した結果である。M飼料では運動トレーニングによってグリコーゲン濃度が有意に増加した (M-t/M-c: $p < 0.05$)。MD飼料やS飼料では有意な差はなかった。M-t、

MD-t、S-tについてはM-tのこうがんが有意に高い濃度を示した (M-t/MD-t: $p < 0.05$, M-t/S-t: $p < 0.05$)。

5 こうがん (testis) のLDH-Xの活性

思春期以降のこうがんのホモジェネイトのはLDH-Xが存在する。LDH-Xは他の組織で見られる5つのisozymesとは違うものでラットのこうがんの電気泳動 patternではLDH₄とLDH₅の間に検出される。このLDH-Xの活性の強弱はこうがんの精子形成の活性の程度を反映している。精子形成には男性ホルモン (testosterone) が不可欠であることからLDH-Xの活性は男性ホルモンの分泌量の程度を間接的に示す指標となる。

図8に示す様に、どの飼料でも運動トレーニングラットのLDH-Xの活性が有意に高い値を示した (共に、 $p < 0.05$)。運動ラット間ではMD-tラットのLDH-Xが高い活性を示す傾向であったが、しかし有意では無かった。

B 疲労困憊ラット回復に対する飼料の影響

1 疲労困憊走行ラットの性状。

- a 体重の変化：約50gの雄ラットを船橋農場製飼料MM1で約300gに飼育し、図2に示すメニューで走行させ、疲労困憊走運動させた。その結果、18g - 25gの体重の減少がみられた。
- b グリコーゲン含量：表2は走行前と疲労困憊のラットの腓腹筋 (Gastrocnemius) とひらめ筋 (Soleus) のグリコーゲン含量の結果が示してある。疲労困憊すると両筋肉共グリコーゲンが顕著に減少した。特にひらめ筋で著しかった。
- c グリコーゲン・ホスホリラーゼ活性：表3は走行前と疲労困憊のラットの腓腹筋 (Gastrocnemius) とひらめ筋 (Soleus) のホスホリラーゼの活性を示したものである。腓腹筋で著しい違いが見られた。走行前では僅か10%程度がホスホリラーゼaであったが、走行後では70%と著しく増加した。しかし、ひらめ筋においてはホスホリラーゼ活性の変化は見られなかった。

2 疲労困憊走運動の一週間後のラットの性状。

- a 体重の変化：Mラット群、Dラット群、Sラット群とも20-30gの体重の増加が認められた。しかし飼料間による有意な差は無かった。

- b グリコーゲン含量：図9はそれぞれのラット群の腓腹筋とひらめ筋のグリコーゲン含量の測定結果を示した。ひらめ筋では各飼料でグリコーゲン含量が回復した。特にS飼料はその作用が強かった。一方、腓腹筋ではS及びD飼料ではさらに減少する傾向を示した。しかし、M飼料はグリコーゲンを増加し、走運動前まで回復した。
- c ホスホリラーゼ活性。図10はそれぞれのラット群の腓腹筋とひらめ筋の全グリコーゲン・ホスホリラーゼに対するホスホリラーゼaの割合を示した。ひらめ筋ではC、A、M、S、Dの各群で同じ値を示し、飼料や走行運動による変化は見られなかった。しかし腓腹筋では走運動前ではホスホリラーゼaが10%程度にすぎないが疲労困憊走運動で85%を占める様に変化し、一週間後のSラットで80%、Dラットで75%と僅かな変化を示したのに反し、Mラットは45%と著しく減少した。
- d グリコーゲン含量とグリコーゲン・ホスホリラーゼa活性との関係：図11は腓腹筋のグリコーゲン含量とホスホリラーゼa活性との相関を見たものである。C、A、M、S、Dそれぞれのグリコーゲン含量とホスホリラーゼa活性は負の相関を示し、極めて有意であった ($r = -0.761$)。
- e LDH-X活性の変化：LDH-Xの活性は疲労困憊走運動で約1/2に減少した ($p < 0.05$)。一週間後の回復の程度は、5%の危険率の範囲で有意でなかったけれど、それぞれM飼料で100%、S飼料で78%、D飼料で68%を示した(図12)。

考 察

非運動ラット群でのM、D及びS飼料の違いによるグリコーゲン含量、LDH-Xなどの点では、有意な違いは無く、ほとんど同じレベルにあった。

運動グループのM-tラット群に特に違いがみられた。自発的運動量が減少し(表1)、筋肉のグリコーゲン含量が高くなる事であった(図5と6)。雄ラットの自発的運動量はGastrationすることにより著しく減少することが知られている。この減少はこうがんからのtestosteroneの減少によるものである。図8のLDH-X活性の結果から、M-tラットの運動量の減少がtestosteroneによる影響とは考えられない。

上に述べた運動とM飼料とによるラット群 (M-t) の脚筋におけるグリコーゲン含量の増加は、他の運動の条件でも発現した。図9で見られるように、疲労困憊走運動ラットを一週間MD飼料やS飼料で飼育すると腓腹筋のグリコーゲン含量はさらに低下していくが、M飼料を与えたものは運動前のグリコーゲン含量に回復した。

ヒトの脚筋のグリコーゲン含量が著しく高まるMcArdle diseaseがある。この脚筋にはグリコーゲンを直接分解するホスホリラーゼが欠損しているために起こる病気である。

それ故、疲労困憊走運動後のMラットの腓腹筋に見られたグリコーゲン含量の著しく早い回復に筋からのホスホリラーゼの漏失の可能性が考えられたが、筋中ホスホリラーゼの全活性に無いことから否定することができる。図10と11に見られるように、腓腹筋では疲労困憊時にホスホリラーゼは非アロステリック酵素a型に転換し、無制限にグリコーゲンを分解する。DやSラットでは一週間後でもa型の状態であるのに反し、Mラットではa型は約半分に減少し、ATPやG-1-Pによって活性が阻害され必要以上にグリコーゲンが消費されない様に調節されているアロステリック酵素のb型に転換していた。図11に示されるように、腓腹筋においては、ホスホリラーゼa活性と筋グリコーゲン含量とは高い有意さで負の相関を示した。

Mラットが速やかにグリコーゲン含量を回復するのはホスホリラーゼaからbへ容易に変換したことに依るものと考えられる。

同化ホルモンであるtestosterone量を反映するLDH-X活性は疲労困憊走運動によって著しく減少するが、一週間後Mラットのみが回復している(図12)。このことはグリコーゲン含量の回復現象と平行している(図9、12)。

上述の興味ある減少はM飼料に依るものである。飼料における相対構成量は全ての飼料において等しく調整されているために、こうした現象が、その「質」の違いによると考えられる。M、D、Sの飼料による実験結果に沿った飼料の質的違いは脂肪と考えられる。乳脂がその成分であるM群と、大豆油がそうであるS、D群の違いである。乳脂(図13)では71.1%が飽和脂肪酸で構成されている一方、大豆油(図14)は85.1%が不飽和脂肪酸で占められているように、飽和-不飽和の含有率が逆転している。

従って、この大きな違いが自発的運動量、グリコーゲン再補充または LDH-X 活性化の機構に対しなんらかの作用を及ぼしている可能性を示唆した。

表 1 AMOUNT OF RUNNING (A.R) OF RATS FED WITH M-, MD- AND S-DIETS

	M-t rat	MD-t rat	S-t rat
A.R. (g*m/hr)*10 ⁴	2.645	4.235	4.055
	P		
M-t/MD-t	<0.01		
M-t/S-t	<0.01		

表 2 EFFECT OF ALL-OUT IN RUNNING ON GLYCOGEN CONTENT OF SOLEUS AND GASTROCNEMIUS MUSCLES IN GROWING RATS

	n	Glycogen content (mg/g muscle)	
		soleus	gastrocnemius
C (before run)	4	1.13 (+-0.31)	0.65 (+-0.19)
A (after run)	4	0.46 (+-0.19)	0.44 (+-0.068)

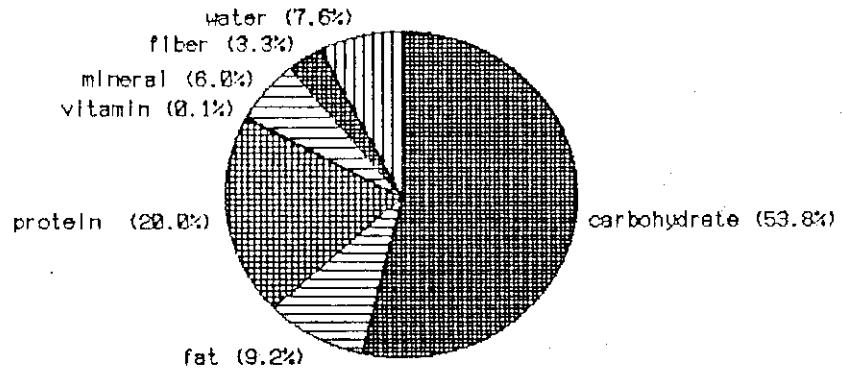
(): SD

表 3 EFFECT OF ALL-OUT IN RUNNING ON PHOSPHORYLASE ACTIVITIES IN SOLEUS AND GASTROCNEMIUS MUSCLES OF GROWING RATS

	n	Phosphorylase activity (Pi umol/mg of extracted protein/min)			
		soleus		gastrocnemius	
		-AMP	+AMP	-AMP	+AMP
C (before run)	4	0.00038 (+-0.00012)	0.0052 (+-0.0013)	0.0033 (+-0.0014)	0.0184 (+-0.0012)
A (after run)	4	0.0005 (+-0.00012)	0.00080 (+-0.00015)	0.00168 (+-0.0005)	0.0200 (+-0.0022)

():SD

COMPOSITION OF DIET FOODS FOR RATS



M-diet: Protein are milk protein (80%) and fish meal protein (20%), and fat are milk fat (75%) and soyabean oil (25%), and carbohydrate are lactose (19%) and corn-starch (81%). MD-diet: Protein and carbohydrate are the same as those of M-diet, and fat are soyabean oil only. S-diet: Protein, fat and carbohydrate are fish meal protein, soyabean oil and corn-starch, respectively.

图 1

RUNNING PROTOCOL ON TREADMILL (Natumc KN-73)

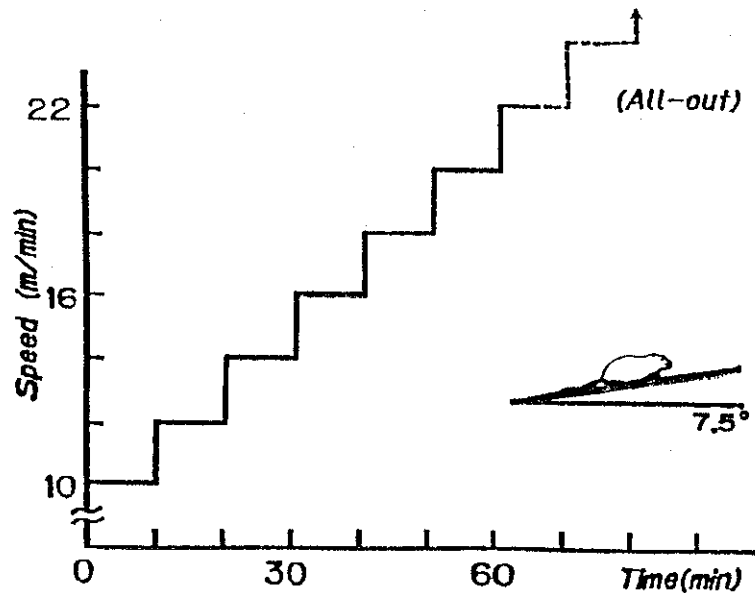


图 2

INCREASING BODY WEIGHT OF TRAINING RATS FED WITH MILK-, SKIMED MILK- AND SUGAR-DIETS

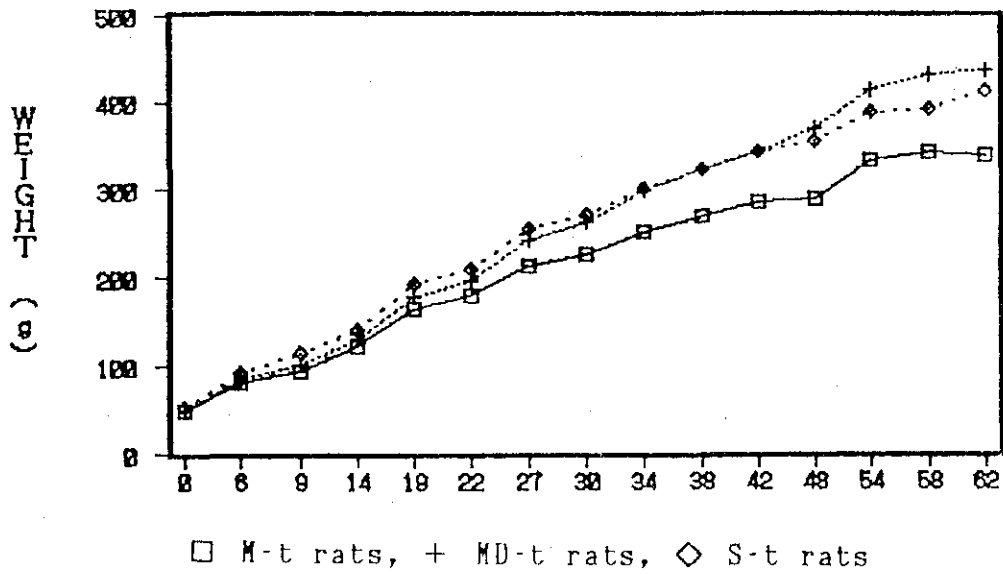


图 3

INCREASING BODY WEIGHT OF CONTROL RATS FED WITH MILK-, SKIMED MILK- AND SUGAR-DIETS

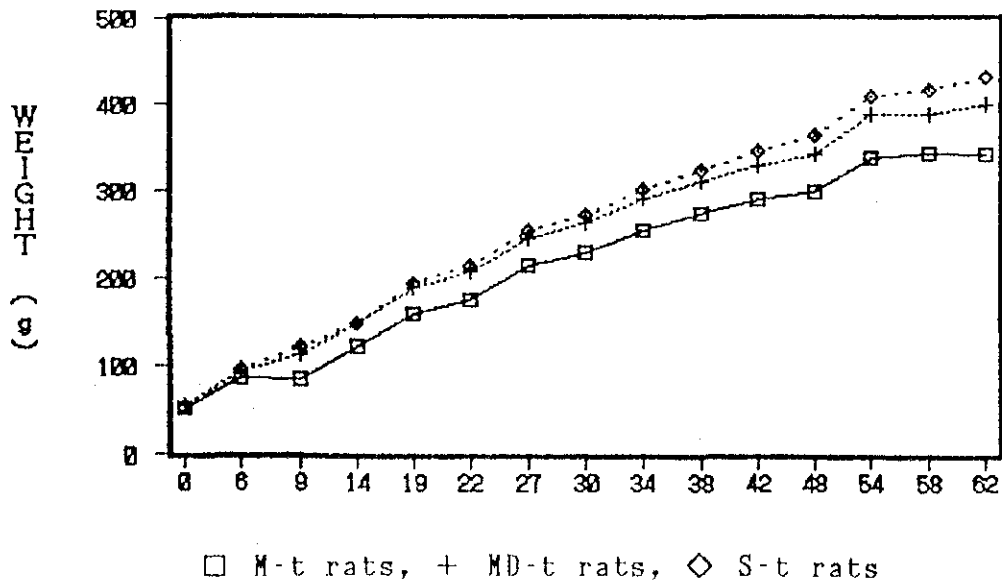


图 4

Glycogen content of soleus muscle in rat bred with milk, skim milk and sugar diets

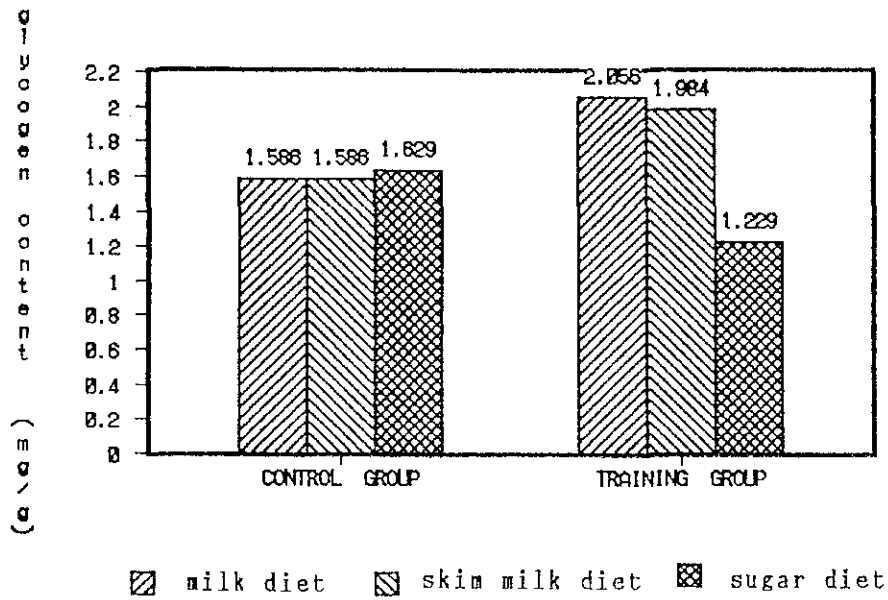


Fig 5

Glycogen content of gastrocnemius muscle in rat bred with milk, skim milk and sugar diets

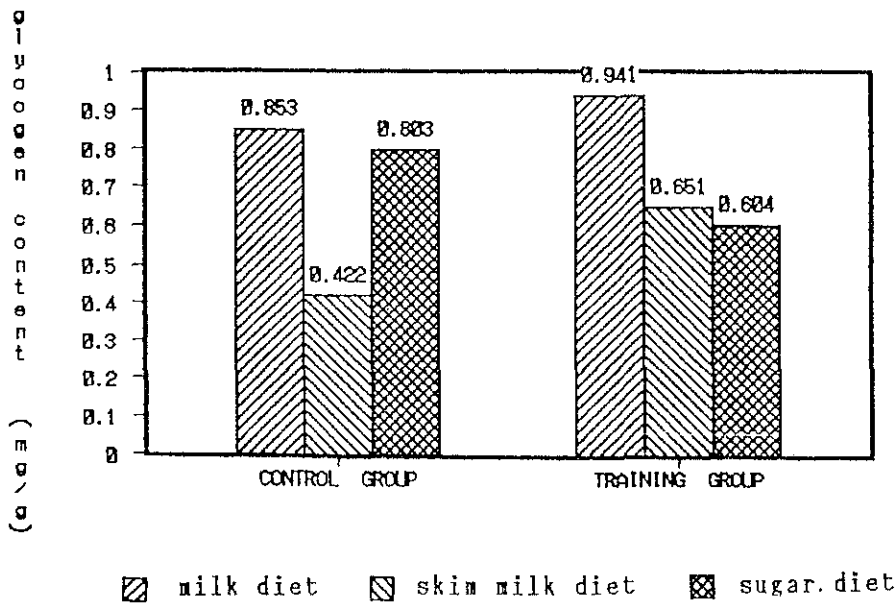


Fig 6

glycogen content of testis in rat bred with M-,MD- & S-diets

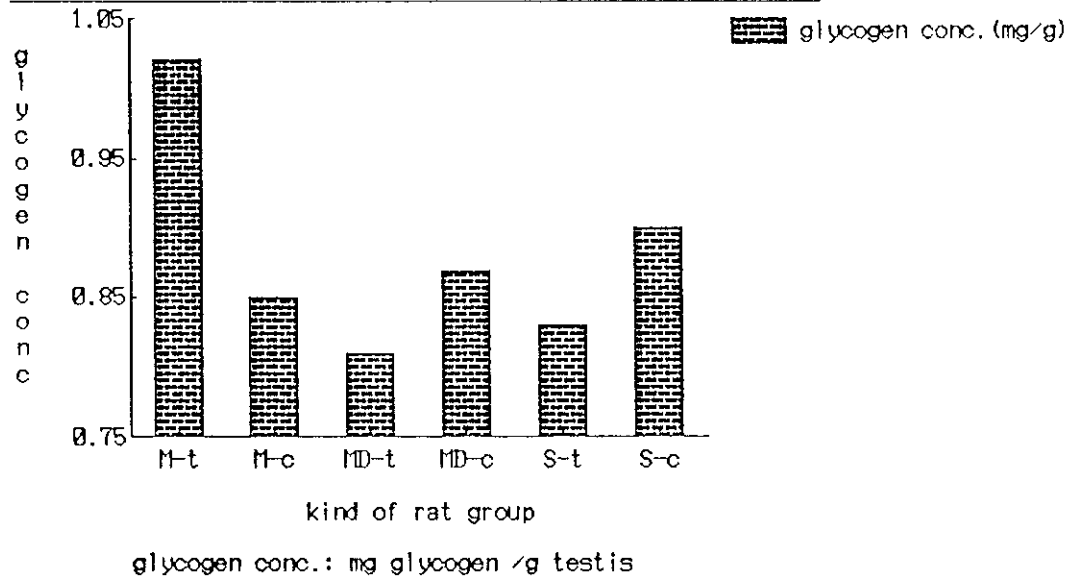


图 7

EFFECTS OF DIETS AND TRAINING ON LDH-X ACTIVITY IN TESTIS

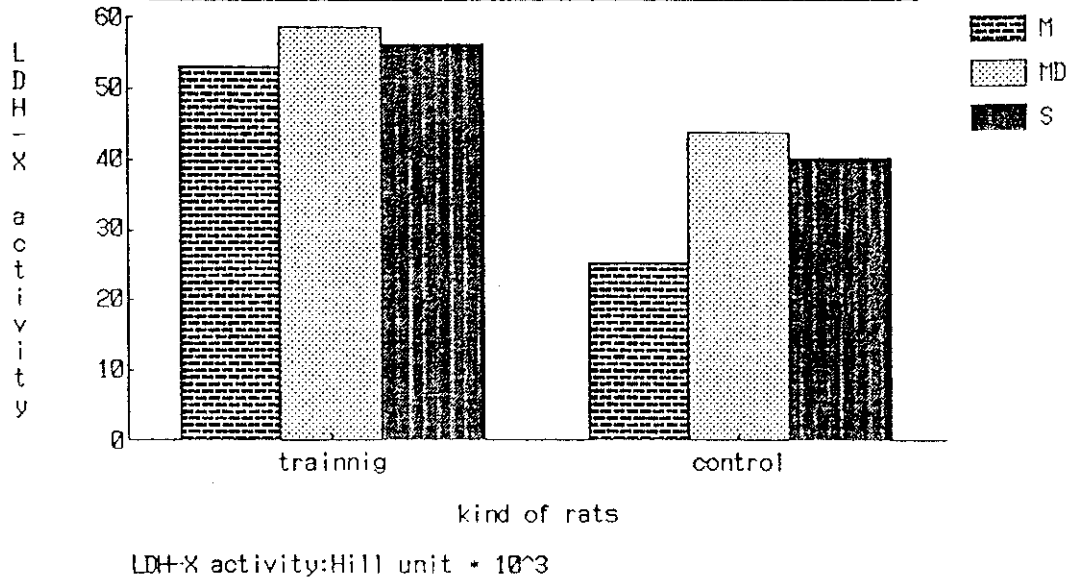


图 8

EFFECTS OF DIETS ON GLYCOGEN CONTENT IN MUSCLES OF RATS AFTER ONE WEEK OF ALL-OUT RUNNING

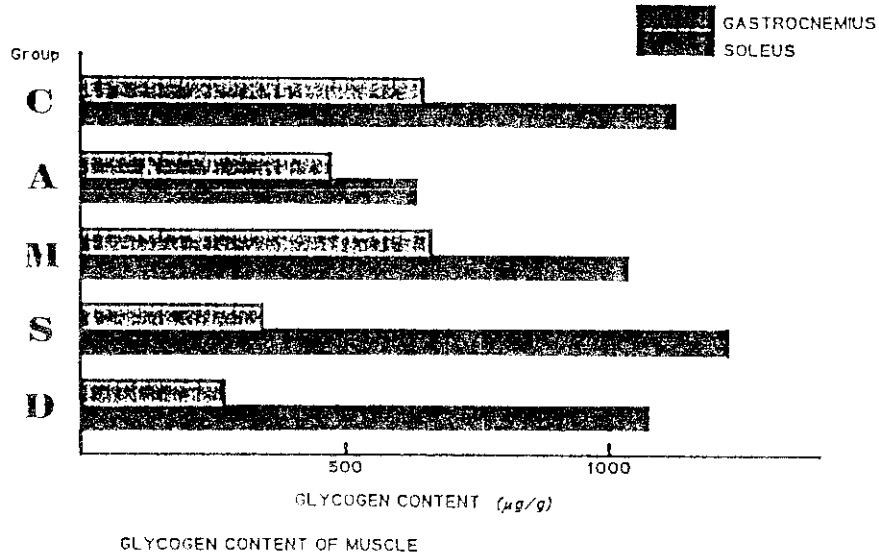


图 9

EFFECTS OF DIETS ON DISTRIBUTION OF PHOSPHORYLASE a IN MUSCLES OF RATS AFTER ONE WEEK OF ALL-OUT RUNNING

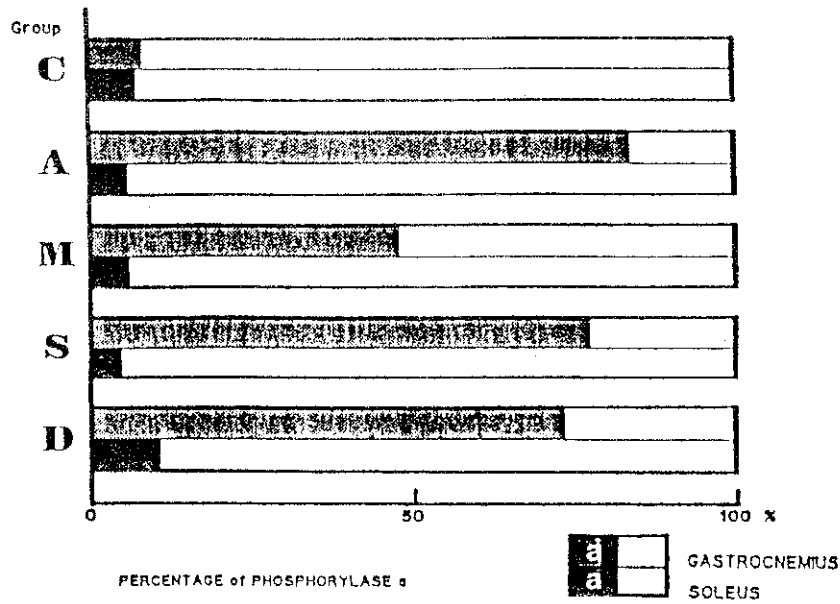
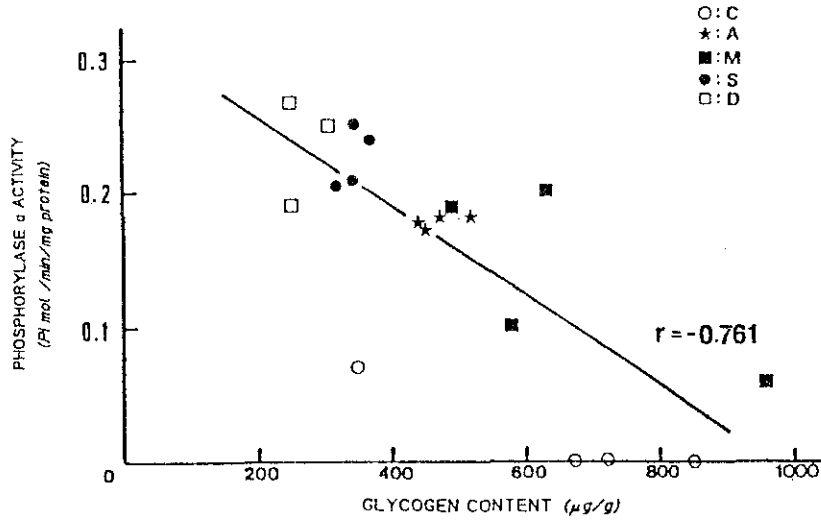


图 10

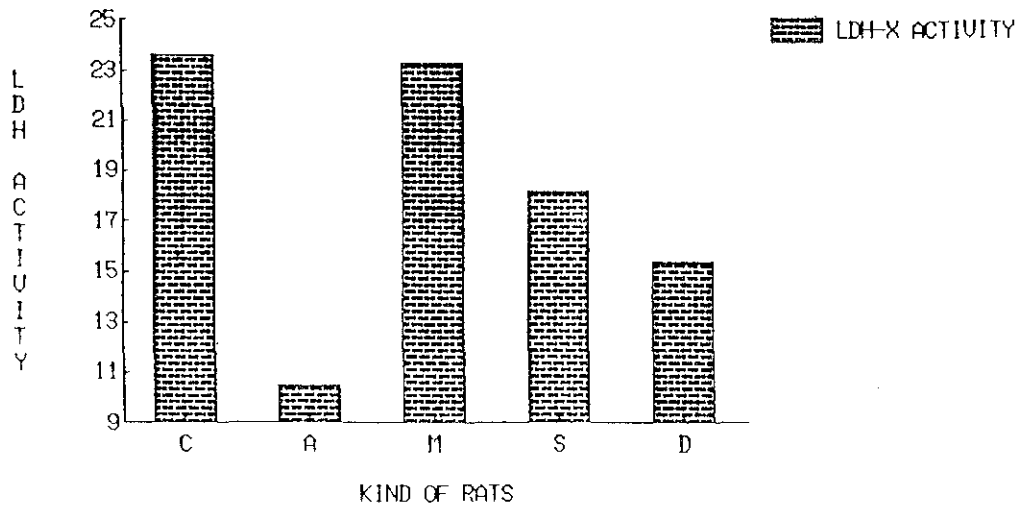
CORRELATION BETWEEN PHOSPHORYLASE α ACTIVITY AND GLYCOGEN CONCENTRATION IN M. GASTROCNEMIUS



CORRELATION between PHOSPHORYLASE α ACTIVITY and GLYCOGEN CONTENT of m.GASTROCNEMIUS

图 1 1

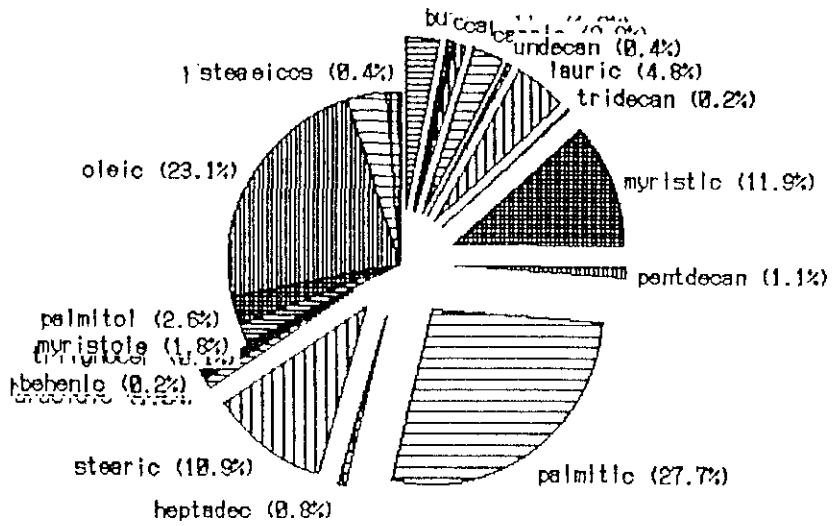
EFFECTS OF DIETS ON LDH-X ACTIVITY IN TESTIS OF RATS AFTER ONE WEEK OF ALL-OUT RUNNING



LDH-X activity: Hill unit * 10⁴

图 1 2

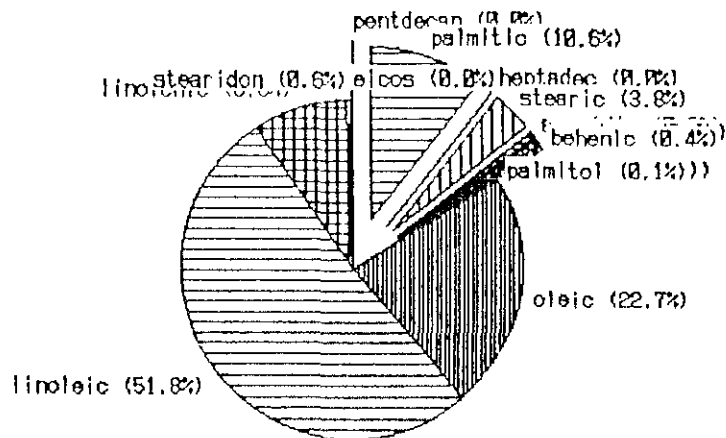
CONTENT OF SATURATED AND UNSATURATED FATTY ACID IN MILK-FAT



Jumping up reagon shows the content of saturated fatty acid.

图 1 3

CONTENT OF SATURATED AND UNSATURATED FATTY ACID IN SOYABEAN-OIL



Jumping up reagon shows the content of saturated fatty acid.

图 1 4