

ラットの血液並びに筋肉組成に及ぼす運動負荷の影響

七條喜一郎*・成瀬満佐子*・竹内 崇*・鈴木 實*・斎藤俊之**

平成2年5月31日受付

Effects of Load Exercises on Blood and Muscle Components in Rats

Kiitiro SITIZYO*, Masako NARUSE*, Takashi TAKEUCHI*,
Minoru SUZUKI*, Toshiyuki SAITO**

Changes of blood cell count, hematocrit value, hemoglobin, plasma glucose, muscle glycogen and lactic acid due to exercise were examined in rats. The method of load exercise used consisted of twenty minutes of swimming.

1) Immediately after exercise, erythrocyte counts, leucocyte counts, hematocrit values, plasma glucose and plasma lactic acid remarkably increased, whereas there were no significant changes in glycogen and lactic acid in the muscles.

2) 24 hours after exercise, leucocyte counts, hematocrit values, glucose and lactic acid of plasma returned to the level before exercise. On the other hand, erythrocyte counts and hematocrit values did not recover.

3) The average heart rate decreased immediately after exercise.

緒 論

適度な運動が生体の物質代謝を高めることはよく知られた事実であり、運動によって血液中に乳酸が増加することから、筋収縮と糖代謝に関する多くの研究がなされている^{14, 15)}。進藤¹⁴⁾は筋収縮後に起こる筋肉中の乳酸増加に伴って glycogen が消失することから、乳酸の生成には glycogen の分解が関与することを明らかにした。また、近年のスポーツの振興に伴って、運動が生体機能に

及ぼす影響について、スポーツ医学の面から多数の報告がなされている。弦²⁾はヒトに3分間の走行負荷試験を行った場合、血中の乳酸濃度が増加し、赤血球膜の抵抗性が低下すると報告した。しかし、毎日規則正しくトレーニングを続けている選手においては、赤血球数の変動に対する運動の影響が認められないとの報告もある³⁾。

一方、実験動物に運動を負荷して基礎的研究を行った報告も多く、若田ら¹⁹⁾はラットに持続的なトレッドミル運動を負荷した場合、筋肉 glycogen の変動は認められな

* 鳥取大学農学部獣医学科家畜生理学教室

* Department of Veterinary Physiology, Faculty of Agriculture, Tottori University

** 鳥取大学農学部獣医学科家畜薬理学教室

** Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Agriculture, Tottori University

いと報告した。また、谷¹⁶⁾はラットの血液成分及び glycogen 量に及ぼす食餌組成と運動との関係について検索し、脂肪食においても糖質食においても運動持続時間の延長が認められると述べた。

以上のように運動による血液性状の変動については多くの報告があるが、筋肉の glycogen 及び乳酸の変動について検索した報告は比較的少ない。そこで本実験では運動が血液性状に及ぼす影響を追試するとともに運動が筋肉の糖代謝に及ぼす影響を明らかにする目的で、ラットの遊泳運動における赤血球数、白血球数、hematocrit (Ht) 値、hemoglobin (Hb) 値、血漿 glucose、血漿乳酸、筋肉 glycogen 及び筋肉乳酸量などの変動を検索した。また、これらの成分に及ぼす麻酔の影響についても検討した。

実験方法

A. 実験動物及び飼育方法

5週齢の Wistar 系雄ラットを4週間飼育して(体重約200g)、赤血球数、白血球数及び Ht 値に特に異常の認められないものを実験に供した。飼育は日本クレア KK製の固型飼料(C E - 2)を毎日午後10時から11時の間に約17gずつ給与し、水は自由に摂取できるようにした。

B. 採血及び腓腹筋の採取方法

エーテルを充滿させたガラス鐘にラットを3分間入れて麻酔した後、直ちに開胸して心臓から約5ml採血した。採取した血液は血球測定用に2ml分取した後、直ちに血漿を分離して冷蔵庫に保存し、24時間以内に glucose 及び乳酸の測定に供した。筋肉は採血の終わったラットの左右腓腹筋を切り取り、ドライアイスで瞬間的に凍結した後、 -20°C のフリーザーに保存して5日以内に測定に供した。

エーテル麻酔が測定値に及ぼす影響については、ラットをエーテルで30秒間麻酔した後に頭部を打撃して失神させたもの(失神群)と、ガラス容器内で3分間エーテル麻酔したもの(麻酔群)の血液性状及び筋肉成分量を比較した。

C. 運動負荷方法

運動負荷方法はラットに体重の10%の重りを着け、水深約30cmの水槽で20分間強制的に遊泳させた。運動終了直後(直後群)と運動終了24時間後(24時間群)の各10例について採血及び筋肉の採取を行った。また、運動負荷を行わなかったラット10例をコントロール群とした。

D. 血液成分の測定方法

赤血球数及び白血球数は Thoma-Zeiss 式血球計算盤で検体ごとに5回ずつ算定し、その平均値を測定値とした。また、白血球百分比は May-Giemsa の二重染色を施した血液塗抹標本から白血球200個を算定し、その百分比を求めた。Ht 値の測定は microhematocrit 法で2本ずつ計測して平均値を求めた。Hb 値の測定は Cyanmethemoglobin 法で行い、血漿 glucose 及び血漿乳酸量の測定は酵素法(協和メディクスKK製キット)により比色測定した。

E. 筋肉の glycogen 及び乳酸の測定方法

glycogen の測定には左腓腹筋を用い、Pflüger 氏変法の熱アルカリ抽出法¹¹⁾で glycogen を抽出し、Anthrone 法で比色測定した。筋肉の乳酸はラットの右腓腹筋に生理食塩水を10ml加えて homogenize し、その上清を血漿乳酸量の測定と同じ酵素法で比色測定した。

F. 心拍数の測定方法

ラットの心拍数は心電図波形より計測した。心電図の記録はラットを腹位に保定して馴致させた後、medical-oscilloscope (日本電気三栄KK製311型)に連続撮影装置(日本電気三栄KK製5R41)を装着し、写真撮影して、1秒間の心拍数より算出した。

実験成績

A. 麻酔方法の違いによる血液性状及び筋肉成分の変動
血球成分、血漿成分及び筋肉中の glycogen 並びに乳酸量を測定する場合、麻酔方法の違いによって、その測定値に差を生じることが懸念される。特に麻酔時に起こる骨格筋の痙攣の有無は血液性状ばかりでなく、筋肉

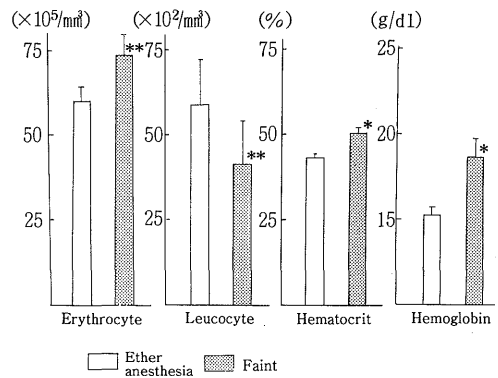


Fig.1 Effects of anesthesia on blood components in rats. The asterisk shows a significant difference from ether (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$). Mean \pm SD, $n = 10$

glycogen 及び乳酸量に大きく影響するものと推察される。そこで実験に先立ち、麻酔群と失神群の血液成分及び筋肉成分の比較検討を行った。

麻酔群のラットは骨格筋の収縮並びに痙攣がほとんどみられなかったが、失神群のラットは全身の筋肉の収縮あるいは痙攣がみられ、その痙攣の程度は個体によって異なっていた。

Fig.1 に示したように、失神群の赤血球数、Ht 値及び Hb 値はエーテル麻酔ラットに比べて明らかに高い値を示し、白血球数は低値であった。また血漿 glucose 及び筋肉 glycogen は、いずれも麻酔群に比べて失神群が有意に低値であった (Fig.2)。同様の結果は筋肉乳酸量においてもみられたが、血漿乳酸量は失神群が麻酔群よりも高い値であった。

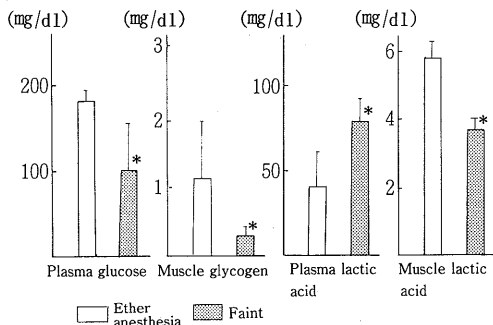


Fig.2 Effects of anesthesia on plasma glucose, Muscle glycogen and lactic acid concentration in rats. The asterisk shows a significant difference from ether ($p < 0.01$). Mean \pm SD, $n = 10$

B. 運動負荷に伴う血液成分の変動

1) 血球成分

対照群、直後群及び24時間群の赤血球数、白血球数、Ht 値並びに Hb 値を Table 1 及び Fig.3 に示した。対照群の赤血球数は平均値で608.9万/mm³であったが、直後群

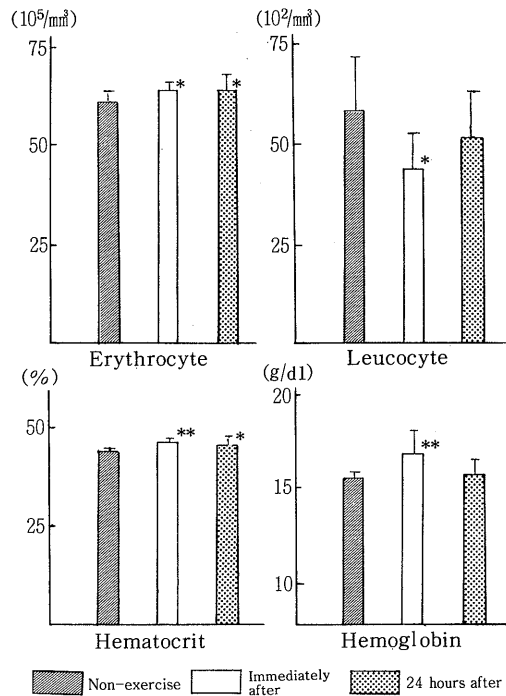


Fig.3 Effects of load exercise on blood cell counts, hematocrit and hemoglobin values in rats. The asterisk shows a significant difference from non-exercise (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$). Mean \pm SD, $n = 10$

Table 1 Concentrations of blood and muscle in rats with load exercise

Item	Non-exercise	Immediately after	24 hours after
Body weight (g)	214.0 \pm 4.8	211.2 \pm 6.2	216.8 \pm 6.9
Erythrocyte ($\times 10^4/mm^3$)	608.9 \pm 29.4	639.4 \pm 20.2	640.6 \pm 38.0
Leucocyte ($\times 10/mm^3$)	586.4 \pm 137.4	439.6 \pm 90.3	518.0 \pm 125.7
Hematocrit (%)	43.2 \pm 1.2	45.8 \pm 1.0	45.1 \pm 2.5
Hemoglobin (g/dl)	15.4 \pm 0.3	16.6 \pm 1.1	15.6 \pm 0.8
Plasma glucose (mg/dl)	180.6 \pm 14.6	315.2 \pm 39.9	175.7 \pm 29.5
Muscle glycogen (mg/dl)	1.15 \pm 0.83	0.51 \pm 0.19	11.64 \pm 2.96
Plasma lactic acid (mg/dl)	40.8 \pm 20.4	110.1 \pm 37.8	49.6 \pm 21.9
Muscle lactic acid (mg/dl)	5.81 \pm 0.50	3.25 \pm 0.64	6.94 \pm 0.57

Mean \pm SD, $n = 10$

のそれは639.4万/mm³とやや増加し、24時間群でもほぼ同様の値(640.6万/mm³)であった。

対照群の白血球数は5,864/mm³であったが、直後群のそれは平均値で4,396/mm³と明らかに減少した。24時間群では回復傾向を示し、平均値で5,180/mm³になり、対照群と有意な差がみられなかった。

Ht 値は運動負荷によって増加し、対照群の Ht 値は平均43.2%であったが、直後群のそれは45.8%に増加し、24時間群でもほぼ同様の値であった。Hb 値は運動負荷によって増加した。すなわち対照群で平均15.4 g/dlであったものが、直後群では16.6 g/dlになった。しかし24時間群では15.6 g/dlとなり、対照群に近似した値を示した。白血球百分比は対照群、直後群、24時間群で明らかな差は認められなかった。

2) 血漿成分

血漿の glucose 及び乳酸量の変動を Fig.4 に示した。対照群の glucose 量は平均180.6mg/dlであるのに対して、直後群は平均315.2mg/dlと約1.7倍に増加した。しかし、24時間群では平均175.7mg/dlとなり、対照群の値に回復した。

血漿乳酸量は glucose とほぼ同様の変動を示した。すなわち直後群は対照群の約2.6倍に増加し、24時間群は対照群に近似した値であった。

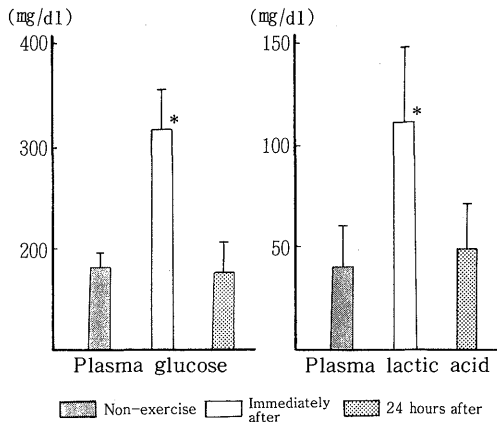


Fig.4 Effects of load exercise on plasma glucose and lactic acid contents in rats. The asterisk shows a significant difference from non-exercise (* p < 0.01).

Mean ± SD, n = 10

C. 運動負荷に伴う筋肉 glycogen 及び乳酸の変動

筋肉の glycogen 及び乳酸量はいずれも直後群が対照群

の約1/2に減少し、24時間群では対照群に比べて明らかな増加を示した。すなわち、筋肉 glycogen は対照群の約11倍であり、乳酸は約1.2倍の値であった (Table 1 及び Fig.5)。

D. 運動負荷前後の心拍数の変動

運動負荷直前と直後の心拍数を Fig.6 に示した。運動

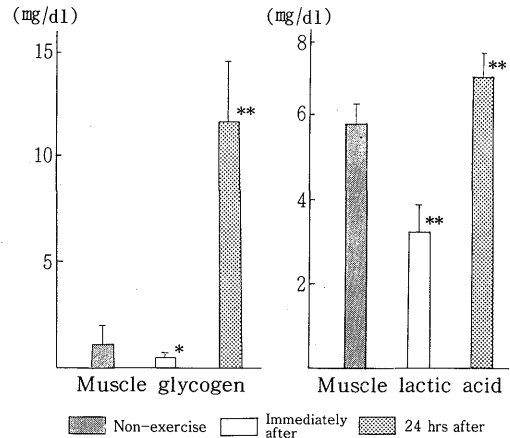


Fig.5 Effects of load exercise on muscle glycogen and lactic acid contents in rats. The asterisk shows a significant difference from non-exercise (* p < 0.05, ** p < 0.01).

Mean ± SD, n = 10

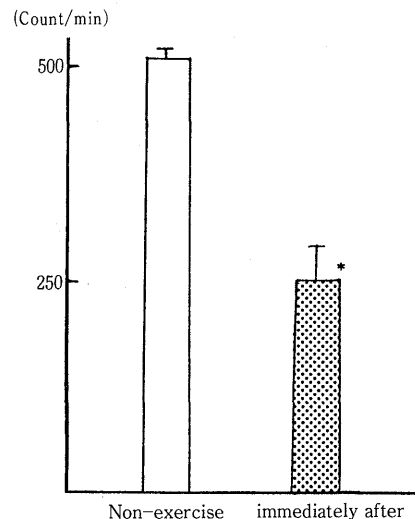


Fig.6 Effects of load exercise on heart rates in rats. The asterisk shows a significant difference from non-exercise (* p < 0.05).

Mean ± SD, n = 10

負荷前の心拍数は平均 $529 \pm 21/\text{min}$ であり個体差も少なかった。しかし、運動負荷直後の心拍数は運動負荷前の約1/2に減少した。

考 察

A. 麻酔方法の違いによる血液性状及び筋肉成分の変動
通常、マウスあるいはラットからの採血及び組織片の採取は、麻酔もしくは頭部打撃による失神処置の下で行われる。しかし、麻酔法及び屠殺法の違いによって、血液及び組織成分に変化を生じることが知られている。大石ら¹²⁾は2分間のエーテル麻酔と無麻酔で採血した場合の血液性状の違いについて検索し、エーテル麻酔を施した雄ラットの平均赤血球容積及び平均赤血球色素量は対照群よりも低値であると報告した。また前田ら⁹⁾は屠殺方法の違いによって血漿 glucose が大きく変動することを報告し、中田と植田¹¹⁾は筋肉 glycogen の測定値が組織の採取法(麻酔の有無、屠殺条件など)や採取した組織の固定法などによって変化すると述べた。

本実験において、エーテル麻酔と頭部を打撃して失神させた場合の血球及び血漿成分について検索したところ、麻酔群の赤血球数、Ht 値、Hb 値は失神群に比べて有意に低い値を示し、白血球数では高い値を示した。また、麻酔群の血漿 glucose、筋肉 glycogen 及び筋肉中の乳酸量が失神群に比べて明らかに高値であった。

血球成分及び血漿成分に麻酔群と失神群との間に差異がみられた原因は明らかではないが、失神群の赤血球数、Ht 値及び Hb 値が麻酔群より高値を示したことは、失神群で全身性の痙攣あるいは骨格筋の収縮が著明にみられたことに起因すると思われる。また、失神群の血漿 glucose 及び筋肉 glycogen が麻酔群より低い値であったことも、頭部打撃による骨格筋の痙攣が関与しているものと推察される。

いずれにしても採血時の麻酔方法、麻酔深度及び屠殺方法などの違いによって、血液及び組織成分の測定値に差を生じることが明らかである。したがって、実験に際しては麻酔条件をできるだけ一定に保つ必要があり、また測定値の解釈にあたっては、麻酔状態並びに痙攣の有無などを充分考慮する必要がある。

B. 運動負荷に伴う血液成分の変動

ヒトや動物に激しい運動を負荷すると、赤血球数が一過性に減少することが知られている^{2, 3)}。弦²⁾はヒトに運動を負荷した場合、赤血球の浸透圧脆弱性が亢進することを認め、この赤血球の脆弱化は血中に生じた乳酸の増加に伴う血液 pH の低下によると述べた。しかし、本

実験におけるラットの運動負荷試験では直後群の赤血球数は減少することなく逆に増加しており、血漿乳酸量も約2倍に増加した。したがって、ラットの赤血球はヒトの血球に比べて、乳酸の増加に伴う血液 pH 低下の影響を受けにくいものと思われる。また、赤血球数の増加がみられたことは激しい運動に伴う血液水分の消失による血液の濃縮及び血球貯蔵臓器よりの赤血球動員などが考えられるが、このことについては更に検討する必要がある。また、運動負荷後に Ht 値及び Hb 値の増加がみられたことは赤血球数の増加によるものと考えられる。

生体が運動時に利用できる糖質は、血漿 glucose と筋肉 glycogen であり肝臓の glycogen は血漿 glucose の供給源である^{4, 6, 13, 18)}。井川⁴⁾及び佐藤¹³⁾によると筋収縮の初期には筋肉 glycogen が利用されるが、徐々に血漿 glucose が筋のエネルギーをまかなうようになり、中程度の運動では運動筋の糖利用と肝臓からの糖放出量がつりあっているが、マラソンのような激しい運動を続けると glycogen の枯渇が起こり、低血糖になることが知られている。本実験において、直後群の血漿 glucose は対照群の約1.5倍に増加したが、この変動は運動負荷により筋組織における glycogen の消失を補うために、肝 glycogen の分解、放出が盛んになったためと考えられる。また、本実験の運動負荷法が強制遊泳であったためのストレスによるカテコールアミンの分泌¹²⁾、その他の影響もあるものと考えられた。

本実験において、直後群の血漿乳酸の平均値が対照群の約3倍に増加したことは、運動負荷による乳酸の増加が最も大きな要因と考えられるが、本実験の運動負荷法が強制的な遊泳運動であり、しばしばラットが水中に潜って遊泳したことから推察すると、息こらえに伴う酸素不足の影響による代謝障害も関係しているものと推測される。

C. 運動負荷に伴う筋肉 glycogen 及び乳酸の変動

谷¹⁰⁾と BOGARDUS¹⁾は筋肉 glycogen に及ぼす食餌組成と運動の関係について検索し、筋肉 glycogen の蓄積は糖質食を給与したものが脂質食を与えたものより多いと報告した。また、激しい運動後の筋肉 glycogen の回復は、高糖質食をとれば回復が速いが、糖質を含まない食餌では回復が遅いことが知られている⁴⁾。

前述したように筋肉 glycogen は運動開始後すみやかに消費され、これを補うために肝臓の glycogen の放出により生じた血漿 glucose が筋組織に取り込まれ、下肢などの比較的大きな筋群を使う運動では glucose のホメオス

ターシスが比較的良好に保たれている¹⁵⁾。しかし、本実験のような激しい運動時には筋肉 glycogen の減少がみられ、直後群は対照群の約1/2に減少し、24時間群では増加していた。この運動直後に起こる減少は glycogen の枯渇によるもので、24時間後に起こる増加は枯渇に伴う代償的な増加であろうと推察される。

運動による筋肉乳酸の生成と血中への放出は、運動開始の初期や激しい運動時にみられ、この乳酸の減少は低酸素状態を反映した結果と考えられていたが、谷口と大野¹⁵⁾は中等度の運動負荷において mitochondria の NAD/NADH の酸化還元状態が必ずしも嫌気的狀態でないことから、乳酸生成をもって嫌气的解糖の亢進とは言いきれないと報告している。本実験における運動負荷直後の血漿乳酸は対照群に比べて明らかな増加を示し、筋肉の乳酸は減少していた。このような変動は、筋組織で産生された乳酸が速やかに血液中に取り込まれるとともに、運動負荷によって筋肉 glycogen の低下が起こり、そのために乳酸産生量がしだいに減少するものと考えられる。

D. 運動負荷前後の心拍数の変動

心拍数は代謝の促進につれて増加するため、ヒトの運動負荷試験の指標に用いられてきた⁷⁾。また心拍数から消費カロリーを算出する方法なども試みられており⁹⁾、運動負荷試験に欠かすことの出来ない検査項目である。

一方、ラットの心拍数はヒトや家畜に比べて260~450/minと多く⁹⁾、その正常値は報告者によって大きく異なっている。本実験の運動前の心拍数は平均529/minであり、先人⁹⁾の報告に比べてやや多い値であった。また、運動負荷直後の心拍数は平均261/minと直前値の約1/2に減少した。この減少は、本実験における運動負荷量が多いための一時的な心衰弱の現象であろうと推測されたが、このことについては今後運動量を変えてさらに検討する必要がある。

総 括

運動が生体機能に及ぼす影響については、スポーツ医学の面から多くの報告がなされている。しかしこれらの報告において、運動の負荷方法及びその負荷量が異なっていたり、被検者の個人差(トレーニングの有無、特に中高年)などによって、必ずしも一致した成績が得られていない。また、実験動物における運動負荷試験に関する報告も多いが、これらの多くは血液成分について検索したもので、運動負荷による筋肉 glycogen 及び乳酸の変動について検索した報告は少ない。

そこで本実験では、運動が血液性状及び筋肉の糖代謝に及ぼす影響について検討した。また、これらの成分に及ぼすエーテル麻酔の影響についても検討した。

その結果、運動負荷直後群の赤血球数、白血球数、Ht 値、Hb 値、血漿 glucose、血漿乳酸は対照群の値に比べて高値を示し、筋肉 glycogen 及び筋肉乳酸は低値であった。運動負荷後24時間群では白血球数、Hb 値、血漿 glucose、血漿乳酸は対照群に近似しており、赤血球数及び Ht 値が対照群よりわずかに高値を示した。また運動負荷直後のラットの心拍数は対照群の約1/2であった。

参 考 文 献

- 1) Bogardus, C., Grange, B. M., Horton, E. S. and Ethan, A. H. : Relationship between platelet secretion and prothrombin cleavage in native whole blood. *J. Clin. Invest.*, **68** 399 (1981)
- 2) 弦 卓三: 代謝性 acidosis による赤血球浸透圧麻酔性の研究. *体力科学*, **31** 279-290 (1982)
- 3) 弦 卓三・堀居 昭: 身体トレーニングに伴う赤血球分布曲線の研究. *体力科学*, **33** 1-7 (1984)
- 4) 井川幸雄: 運動と糖質代謝. *体育の科学*, **35** 266-269 (1985)
- 5) Ivy, J. L. : Muscle respiratory capacity and fiber type as determinants of the lactate threshold. *J. Appl. Physiol.*, **48** 525-527 (1980)
- 6) Jorfeldt, L. and Wahren, J. : Human forearm muscle metabolism during exercise. v. Quantitative aspects of glucose uptake and lactate during prolonged exercise. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **26** 73-81 (1970)
- 7) 加賀谷淳子: 心拍数に基づいた消費カロリーの算出法とその問題点. *体育の科学*, **36** 858-863 (1985)
- 8) 喜多尚武・後藤芳雄・堤 達也: トレッドミル運動と自転車運動とにおける血漿遊離脂肪酸 (FFA) ・血糖・血中乳酸の変動に及ぼす負荷強度の影響. *体力科学*, **48** 30-48 (1981)
- 9) 前田博之・森千恵子・山田英清・浦木増太郎・湯浅亮・森 貫一: 豚肉の品質向上を目的とした屠殺システムの検討. *日獣会誌*, **41** 339-344 (1988)
- 10) 前島一淑: 新実験動物学, 初版, 朝倉書店. 東京 (1986) pp.194-224
- 11) 中田俊士・植田啓嗣: グリコーゲンの定量とその意義. *臨床病理*, 特**20**. 65-79 (1972)

- 12) 大石向江・大石真之・平賀興吾：ラット血液に及ぼすエーテル麻酔の影響。東京衛研年報, **28** 224-226 (1977)
- 13) 佐藤祐造：スポーツが代謝に及ぼす影響。臨スポーツ医, **1** 643-649 (1984)
- 14) 進藤宗洋：身体運動の生理学, 第一版, 宮村実晴, 杏林書院, 東京 (1979) pp.186-187
- 15) 谷口真之・大野秀樹：筋肉運動と糖代謝 — エネルギー源の利用とその調節を中心として —。蛋白質核酸酵素, **24** 418-424 (1976)
- 16) 谷由美子：ラットの尿および血液成分ならびにグリコーゲン量におよぼす食餌組成と運動の影響。家政学雑誌, **48** 81-88 (1984)
- 17) 宇井理生・日下 各・岡島矢知・四釜久隆：糖代謝のホルモン性調節。代謝, **13** 731-740 (1976)
- 18) Wahren, J., Felig, P., Ahlbog, G. and Jorfeldt, L.: Glucose metabolism during leg exercise in man. *J. Clin. Invest.*, **50** 2715-2725 (1971)
- 19) 若田宣雄・河村裕子・小林雅子・木下真男：持続的運動負荷によるラット骨格筋の変化。臨神経, **25** 202-208 (1985)