遠心性収縮による持久トレーニング効果についての検討

Effects of Endurance Training by Eccentric Contraction

野中 紘士¹⁾ 秋山 純一¹⁾ 中嶋 正明¹⁾

KOJI NONAKA, RPT¹⁾, JUNICHI AKIAMA, PhD¹⁾, MASAOKI NAKAZIMA, RPT¹⁾

¹⁾ Kibi International University, Graduate School of Health Science Studies: 8 Iga Machi, Takahashi City, Okayama 716-8508, Japan. TEL +81 866-22-9454 E-mail dr310504@univ.kiui.ac.jp

Rigakuryoho Kagaku 23(2): 285-289, 2008. Submitted Oct. 9, 2007. Accepted Dec. 4, 2007.

ABSTRACT: The purpose of this study was to examine the effect of endurance training by eccentric contraction on mouse quadriceps femoris muscles. Male ICR mice were divided into control (CONT), uphill running (concentrical contraction, +16°, UR), level running (0°, LR) and downhill running (eccentric contraction, -16°, DR) groups. Running for animals was started at 15 m/min for 20 min, and then the duration of the running was lengthened by 10 min/week. Running was performed 6 days/week for 5 weeks. After 5 weeks running, the quadriceps femoris were removed and glycolytic and oxidative enzymes were measured. Glycolytic enzyme in UR and LR was higher than in CONT, but in DR was not. Oxidative enzyme in UR, LR and DR was higher than in CONT. In conclusion, endurance training by eccentric contraction was not effective for increasing anaerobic metabolism, but was effective for increasing aerobic metabolism.

Key words: eccentric contraction, endurance training, energy metabolism

要旨: 遠心性収縮による持久トレーニングが骨格筋の持久性改善に効果があるかを検討した。ICR雄マウスをコントロール群 (CONT), 上り走行群 (求心性収縮, +16°, UR), 水平走行群 (0°, LR), 下り走行群 (遠心性収縮, -16°, DR) に分けた。走行運動は15 m/分で20分間とし、時間を10分/週で延長した。走行は6回/週で5週間行い、大腿四頭筋の解糖系酵素、酸化系酵素を測定した。解糖系酵素はCONT に比べ、UR, LRで上昇し、DRは変化しなかった。酸化系酵素はCONTに比べ、UR, LR, DRで上昇した。遠心性収縮による持久トレーニングは、嫌氣的代謝に効果はないが、好氣的代謝には効果があることが示唆された。

キーワード: 遠心性収縮, 持久トレーニング, エネルギー代謝

¹⁾ 吉備国際大学大学院 保健科学研究科: 岡山県高梁市伊賀町8 (〒716-8508) TEL 0866-22-9454

受付日 2007年10月9日 受理日 2007年12月4日

I. はじめに

骨格筋は機械的、代謝的刺激に適応し形態的、機能的に変化する性質を持つ。骨格筋の機能改善には、骨格筋に対し機械的刺激や代謝的刺激を負荷することが必要である。骨格筋の変化はトレーニングの種類に依存して変化する。筋力トレーニングでは筋線維が肥大し、持久トレーニングでは骨格筋の、好氣的代謝に関わる酵素活性が上昇することが知られている¹⁾。また、筋力トレーニング、持久トレーニングのどちらも、各々の刺激に適応するように、ミオシン重鎖構成が変化する¹⁾。

骨格筋の持久トレーニングとして、トレッドミルでの走行トレーニングがある。そのほとんどは、水平または上り走行である。トレッドミル走行は傾斜面の違いにより骨格筋の収縮様式に違いが生じることが知られている。ヒトやげっ歯類では、抗重力筋に対し、上り坂走行では求心性収縮主体の負荷がかかり、下り坂走行では遠心性収縮主体の負荷がかかる。求心性収縮と遠心性収縮では機械的刺激、代謝的反応が異なることが報告されている。遠心性収縮では求心性収縮に比べ、機械的刺激が大きく、骨格筋の損傷が大きいことが知られている²⁾。一方、遠心性収縮は求心性収縮に比べ、酸素消費量が少ないことや^{3,4)}、収縮に要するアデノシン三リン酸 (ATP) の消費量が少ないことが報告されている⁴⁾。また、遠心性収縮運動では求心性収縮運動に比べ、血中の乳酸濃度の上昇が少ないことが報告されている⁵⁾。このように、遠心性収縮では求心性収縮に比べ機械的刺激は大きく、代謝的反応は低いことが分かっている。また、遠心性収縮は求心性収縮に比べ効果的に筋力増強ができると報告されている⁶⁾。このことから、遠心性収縮はリハビリテーションやスポーツ分野で使用され⁷⁾、さらに、遠心性収縮は低代謝で骨格筋に大きな負荷を加えることができるので、心疾患を有する患者の安全なトレーニング法として有効であると提言されている⁸⁾。しかし、遠心性収縮は代謝的反応が低いことから、筋持久力改善に対して効果があるかどうかは不明であり、また遠心性収縮による筋持久力改善効果に関する報告は見られない。

そこで本研究は、遠心性収縮による持久トレーニングが骨格筋の持久力改善に効果があるかをエネルギー代謝系酵素を指標として検討した。

II. 方 法

本実験は、8週齢のICR系雄性マウス (40.1 ± 2.3 g) を用いた。マウスを無作為にコントロール群 ($n=6$, CONT), 上り走行群 ($n=6$, UR), 水平走行群 ($n=6$, LR), 下り走行群 ($n=6$, DR) の4群に分けた。マウスは室温 22 ± 1 °C, 12時間の明暗周期で飼育された。なお、水と飼料は24時間自由摂食とした。

本実験は、吉備国際大学動物倫理委員会の承認を得て行った。

抗重力筋に対して遠心性収縮を負荷する方法に下り走行が提唱されている。抗重力筋に対し、下り走行では遠心性収縮負荷となり、走行面角度が大きくなるにつれ、遠心性収縮の要素が大きくなる。それと反対に抗重力筋に対し、上り走行では求心性収縮負荷となり、走行面角度が大きくなるにつれ、求心性収縮の要素が大きくなることが知られている²⁾。本実験の運動負荷方法は求心性収縮モデルとして上り走行、遠心性収縮モデルとして下り走行を用いた。

走行負荷を行うUR, LR, DRの走行面の傾斜角度は各々、 16° , 0° , -16° とした。各々の群のマウスに、トレッドミル上で、速度15 m/minで20分間の連続走行負荷より開始し、1週毎に走行時間を10分間延長した。頻度は1日1回、週6回とし、走行負荷期間は5週間とした。

最終走行負荷終了の24時間後にペントバルビタールの過剰投与にて安楽死させた後、心臓より生理食塩水を貫流し、組織内の血液を取り除いた。その後、速やかに大腿四頭筋を摘出し、 -80°C で保存した。摘出した大腿四頭筋の筋腹中央部を切り出し、50 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) を加え、水中でホモジネートした後、 4°C に保たれた遠心分離器内で12000 gで遠心分離し、得られた上清を酵素測定の前試料とした。

ホスホフルクトキナーゼ (PFK) 活性測定の反応基質として1 mM EDTA, 2 mM MgCl_2 , 5 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.16 mM NADH, 2.5 mM DTT, 0.8U α グリセロリン酸デヒドロゲナーゼ, 2.4U トリオースリン酸イソメラーゼ, 0.4U アルドラーゼ, 1 mM ATP, 1 mM フルクトース6リン酸を含む50 mM Tris-HCl (pH 8.0) を用い、 25°C で、測定波長340 nmにて、NADHの吸光度の減少を測定した。PFK活性はNADHの吸光係数6.22を用いて算出した。

乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性測定の反応基質として0.8 mM ピルビン酸, 0.1 mM NADHを含む50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) を用い、 25°C で、測定波長340 nmにてNADHの吸光度の減少を測定した。LDH活性はNADHの吸光係数6.22を用いて算出した。

表1 大腿四頭筋の各種酵素活性

	CONT	UR	LR	DR
PFK 活性 (μ U/mg protein)	6.3 $\pm$ 0.3	13.5 $\pm$ 1.3* [§]	9.6 $\pm$ 1.3* [§]	6.3 $\pm$ 0.4
LDH 活性 (IU/mg protein)	10.5 $\pm$ 0.6	9.0 $\pm$ 0.6*	7.9 $\pm$ 0.4* [†]	6.5 $\pm$ 0.5* [§] [†]
LDH アイソザイム				
LDH1 (%)	61.8 $\pm$ 4.5	60.3 $\pm$ 11.0	60.4 $\pm$ 6.9	63.0 $\pm$ 7.1
LDH2 (%)	18.8 $\pm$ 2.9	19.7 $\pm$ 5.9	18.3 $\pm$ 3.4	19.9 $\pm$ 3.8
LDH3 (%)	8.0 $\pm$ 3.2	11.4 $\pm$ 5.3	9.8 $\pm$ 3.0	8.6 $\pm$ 2.8
LDH4 (%)	6.0 $\pm$ 2.0	4.6 $\pm$ 0.7	6.8 $\pm$ 1.1	4.4 $\pm$ 2.3
LDH5 (%)	5.4 $\pm$ 1.6	4.0 $\pm$ 0.8	4.7 $\pm$ 1.6	4.1 $\pm$ 2.3
HAD 活性 (mIU/mg protein)	176 $\pm$ 9	235 $\pm$ 14*	236 $\pm$ 17*	226 $\pm$ 11*
MDH 活性 (IU/mg protein)	6.3 $\pm$ 0.3	8.3 $\pm$ 0.3*	8.1 $\pm$ 0.3*	8.3 $\pm$ 0.3*

平均値 $\pm$ 標準偏差* 対 CONT ($p < 0.01$), [§] 対 DR ($p < 0.01$), [†] 対 UR ($p < 0.01$), [§] 対 LR ($p < 0.01$), [†] 対 UR ($p < 0.01$)

LDH アイソザイムは 7.5 % acrylamide, 0.12 % N,N'-methylene-bis-acrylamid, 375 mM Tris-HCl (pH 8.8), 0.05 % ammonium persulfate (APS), 0.05 % N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED) で構成されたポリアクリルアミドゲルを使用して測定を行った。各レーンに試料を $\sim 5 \mu$ g 添付し、電気泳動を 20 mA/gel, 4 °C で行った。電気泳動終了後、ゲルを 0.1 mM sodium lactate, 10 mM NaCl, 0.5 mM MgCl₂, 1 mg/ml NAD, 0.25 mg/ml nitroblue tetrazolium, 0.0025 mg/ml phenazine methosulfate を含む 50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) に浸し、37 °C で 30 分染色した。染色したゲルは 1% の酢酸で固定し、ゲルドライヤーにて 80 °C で 2 時間乾燥させた。乾燥させたゲルを、スキャナーでパーソナルコンピュータに取り込み、SCION Image でデンスィトメトリーを行った。

3-hydroxyacetyl CoA (HAD) 活性測定の反応基質として 5 mM EDTA, 0.45 mM NADH, 0.1 mM acetacetyl-CoA を含む 100 mM Tris-HCl (pH 7.0) を用い、25 °C, 測定波長 340 nm にて、NADH の吸光度の減少を測定した。HAD 活性は NADH の吸光係数 6.22 を用いて算出した。

リンゴ酸脱水素酵素 (MDH) 活性測定酵素測定の反応基質として 0.33 mM オキザロ酢酸, 0.12 mM NADH を含む 100 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) を用い、25 °C, 測定波長 340 nm にて、NADH の吸光度の減少を測定した。NADH 活性は NADH の吸光係数 6.22 を用いて算出した。

試料中の蛋白質量を Lowry 蛋白測定キット (ナカラ

イテスク) を用い定量し、各酵素活性を蛋白質質量当たりの値で示した。

得られた測定値は平均 $\pm$ 標準偏差で表示した。群間の比較には一元配置分散分析を用い、多重比較検定には Seffer 法を用い検定し、5% 未満を有意水準とした。

III. 結 果

PFK 活性は CONT に比べ、走行負荷を行った UR, LR で有意な増加を示した ($p < 0.01$)。UR, LR, DR 間の比較では、UR が LR, DR に比べ有意に高値を示し ($p < 0.01$)、LR が DR に比べ有意に高値を示した ($p < 0.01$)。

LDH 活性は CONT に比べ、走行負荷を行った UR, LR, DR のいずれも有意な低下を示した ($p < 0.01$)。UR, LR, DR 間の比較では、UR に比べ LR, DR で有意に低値を示し ($p < 0.01$)、LR に比べ、DR で有意に低値を示した ($p < 0.01$)。

LDH アイソザイム構成は CONT に比べ走行負荷を行った UR, LR, DR で有意な差は認められなかった。走行群間の比較でも、UR, LR, DR 間で有意な差は認められなかった。

HAD 活性は CONT に比べ、走行負荷を行った UR, LR, DR のいずれも有意な増加を示した ($p < 0.01$)。UR, LR, DR 間の比較では有意差は認められなかった。

MDH 活性は CONT に比べ、走行負荷を行った UR, LR, DR のいずれも有意な増加を示した ($p < 0.01$)。UR, LR, DR 間の比較では有意差は認められなかった。

IV. 考 察

本研究の結果より、遠心性収縮主体の持久トレーニングは、グリコーゲンをエネルギー源とする解糖、即ち嫌氣的エネルギー代謝に効果はないが、脂肪酸などをエネルギー源とする好氣的エネルギー代謝には効果があることを示している。

PFK活性は解糖系の鍵酵素と呼ばれ、解糖によるATP産生能の指標である。求心性収縮主体のトレーニングでPFK活性の上昇が確認されたことから、求心性収縮主体のトレーニングでは解糖によるATP産生能が上昇していることが分かる。一方、遠心性収縮主体のトレーニングではPFK活性の上昇が確認できなかったことから、遠心性収縮主体のトレーニングでは解糖によるATP産生能は変化しないことが分かる。解糖に利用する基質はグルコースであるが、骨格筋内に貯蔵されているグルコースはわずかである。そこで、解糖に利用するためのグルコースを血液中から取り込む必要があり、その際インスリンやGLUT4蛋白がグルコースの取り込みに重要な役割を果たしている。運動により、インスリン感受性の上昇や^{9,10)}、GLUT4蛋白の発現が増加することが報告されている^{10,11)}。しかし、諸家の報告によると、骨格筋に遠心性収縮を負荷すると、インスリン抵抗性が上昇することが報告されている^{12,13)}。また遠心性収縮負荷により、GLUT4蛋白の発現が減少することが報告されている¹³⁻¹⁶⁾。それに加え、遠心性収縮では嫌氣的糖分解が低下することが報告されている¹⁷⁾。持久トレーニングによりPFK活性が上昇するとの報告があるが¹⁸⁾、本研究で遠心性収縮主体のDR群で解糖によるATP産生能が上昇していない理由として、インスリン抵抗性、GLUT4蛋白の発現が減少することにより、骨格筋での解糖の基質となるグルコースの取り込みが減少したため、嫌氣的糖原分解が起こらず、解糖が促進されなかったことが考えられる。

LDHは、骨格筋型であるM型と心筋型であるH型の2種類が存在する¹⁹⁾。骨格筋型であるM型は主に骨格筋に分布し、ピルビン酸から乳酸への還元を触媒する。一方H型は主に心筋に分布し、乳酸からピルビン酸への酸化を触媒する。この2種類のサブユニットから構成される4量体であり、サブユニットの組み合わせからLDH1 (H4) からLDH5 (M4) に分類される。LDH活性が求心性主体の運動に比べ、遠心性収縮主体の運動で低下していることは、乳酸代謝の減少を示している。持久トレーニングによるLDHアイソザイム構成比は変化しないとの報告があり²⁰⁾、本研究でも同様の結果と

なっている。LDH1からLDH5までのアイソザイム構成に変化がなかったことから、遠心性収縮主体のトレーニングでピルビン酸から乳酸への還元および乳酸からピルビン酸への酸化が減少していることを示している。遠心性収縮では求心性収縮に比べ運動後の血中乳酸濃度が低いことが報告されているが、本研究結果からも遠心性収縮主体のトレーニングでは乳酸の産生が減少していることが推察される。また、遠心性収縮でのLDH活性の低下は、PFK活性が上昇していないことから、嫌氣的解糖によるピルビン酸の産生量が増加せず、ピルビン酸をミトコンドリア内でエネルギー基質として利用するため、乳酸の産生量が減少すると推察できる。

エネルギー基質の一つである脂肪酸は、 β 酸化によりアセチルCoAに変換される。HADは β 酸化に関わる律速酵素で脂肪酸 β 酸化能の指標である。持久トレーニングを行うと、エネルギー基質として脂肪酸の利用が高まることが知られている^{1,21-24)}。持久トレーニングはHAD活性を上昇させ、 β 酸化の代謝経路を活性化し、炭水化物よりも脂肪酸を基質としてエネルギー源として使用するように促進する。本実験でも、持久トレーニングを負荷した群すべてでHAD活性が上昇し、 β 酸化の代謝経路を促進させていたことが確認できた。しかし、筋の収縮様式の違いによるHAD活性上昇に有意差を認めないことから、筋の収縮様式の違いによる β 酸化経路の活性の違いはなく、いずれの収縮様式においても同等の効果が認められた。

MDHはミトコンドリアの酵素であり、ミトコンドリアにおけるATP産生能の指標である。持久トレーニングはミトコンドリア内のATP産生に関する酵素活性が上昇することが報告されている^{1,24-26)}。本研究でも、持久トレーニングを負荷した群すべてでMDH活性が上昇し、ミトコンドリアでのATP産生能が上昇していることが確認できた。持久トレーニング間では、求心性収縮主体のトレーニングと遠心性収縮主体のトレーニング群間で、MDH活性の有意差が認められないことから、この2つの収縮様式において、ミトコンドリアでのATP産生能の上昇が同程度であることが示唆された。

PFKは嫌氣的条件下で働く酵素であり、求心性収縮主体のトレーニングでは嫌氣的代謝が上昇し、遠心性収縮では嫌氣的代謝は上昇しないことが認められた。LDHは嫌氣的条件下でピルビン酸を乳酸に還元させる働きがあり、遠心性収縮主体のトレーニングでは、乳酸の産生が減少し、ピルビン酸をミトコンドリアへ運び、エネルギー基質としていと考えられる。MDH、HADは共に好氣的条件下で働く酵素であり、求心性収

縮主体のトレーニングと遠心性収縮主体のトレーニングでは共に好氣的トレーニング効果は認められるが、2つの収縮様式間でのトレーニング効果に差はないことを示した。

遠心性収縮主体である下り坂走行では求心性収縮主体である上り坂走行に比べ、酸素消費量が少なく、血液中の乳酸濃度上昇が低いことが報告されており、このことはエネルギー代謝が少ないことを示している。本研究で、下り坂走行でのエネルギー代謝は少なく、嫌氣的代謝能の上昇は期待できないが、好氣的代謝能の上昇は上り坂と同程度期待できることが示された。遠心性収縮は心疾患を有する患者に低代謝で安全に骨格筋に大きな負荷を加えることができ、トレーニング法として提唱されている⁸⁾。本研究においても、遠心性収縮での持久トレーニングは、強い運動を負荷できない心疾患や呼吸器疾患などを有する患者の筋持久力改善に利用できる可能性を示唆するものである。

引用文献

- 1) Rose SJ, Rothstein JM: Muscle mutability. Part 1. General concepts and adaptations to altered patterns of use. *Phys Ther*, 1982, **62**: 1773-1787.
- 2) Armstrong RB, Ogilvie RW, Schwane JA: Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 1983, **54**: 80-93.
- 3) Armstrong RB, Laughlin MH, Rome L, et al.: Metabolism of rats running up and down an incline. *J Appl Physiol*, 1983, **55**: 518-521.
- 4) Bonde-Petersen F, Knuttgen HG, Henriksson J: Muscle metabolism during exercise with concentric and eccentric contractions. *J Appl Physiol*, 1972, **33**: 792-795.
- 5) Horstmann T, Mayer F, Maschmann J, et al.: Metabolic reaction after concentric and eccentric endurance-exercise of the knee and ankle. *Med Sci Sports Exerc*, 2001, **33**: 791-795.
- 6) Kaminski TW, Wabbersen CV, Murphy RM: Concentric versus enhanced eccentric hamstring strength training: clinical implications. *J Athl Train*, 1998, **33**: 216-221.
- 7) LaStayo PC, Woolf JM, Lewek MD, et al.: Eccentric muscle contractions: their contribution to injury, prevention, rehabilitation, and sport. *J Orthop Sports Phys Ther*, 2003, **33**: 557-571.
- 8) Meyer K, Steiner R, Lastayo P, et al.: Eccentric exercise in coronary patients: central hemodynamic and metabolic responses. *Med Sci Sports Exerc*, 2003, **35**: 1076-1082.
- 9) Richter EA, Garetto LP, Goodman MN, et al.: Muscle glucose metabolism following exercise in the rat: increased sensitivity to insulin. *J Clin Invest*, 1982, **69**: 785-793.
- 10) Barnard RJ, Youngren JF: Regulation of glucose transport in skeletal muscle. *Faseb J*, 1992, **6**: 3238-3244.
- 11) Kirwan JP, Hickner RC, Yarasheski KE, et al.: Eccentric exercise induces transient insulin resistance in healthy individuals. *J Appl Physiol*, 1992, **72**: 2197-2202.
- 12) 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**: 1286-1290.
- 13) Asp S, Richter EA: Decreased insulin action on muscle glucose transport after eccentric contractions in rats. *J Appl Physiol*, 1996, **81**: 1924-1928.
- 14) Asp S, Kristiansen S, Richter EA: Eccentric muscle damage transiently decreases rat skeletal muscle GLUT-4 protein. *J Appl Physiol*, 1995, **79**: 1338-1345.
- 15) Kristiansen S, Asp S, Richter EA: Decreased muscle GLUT-4 and contraction-induced glucose transport after eccentric contractions. *Am J Physiol*, 1996, **271**: R477-482.
- 16) Kristiansen S, Jones J, Handberg A, et al.: Eccentric contractions decrease glucose transporter transcription rate, mRNA, and protein in skeletal muscle. *Am J Physiol*, 1997, **272**: C1734-1738.
- 17) Pilegaard H, Asp S: Effect of prior eccentric contractions on lactate/H⁺ transport in rat skeletal muscle. *Am J Physiol*, 1998, **274**: E554-559.
- 18) Zonderland ML, Bar PR, Reijneveld JC, et al.: Different metabolic adaptation of heart and skeletal muscles to moderate-intensity treadmill training in the rat. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 1999, **79**: 391-396.
- 19) Dawson DM, Goodfriend TL, Kaplan NO: Lactic dehydrogenases: functions of the two types rates of synthesis of the two major forms can be correlated with metabolic differentiation. *Science*, 1964, **143**: 929-933.
- 20) Lupa VA, Podolin DA, Roth DA, et al.: Influence of aging and endurance training on lactate dehydrogenase in liver and skeletal muscle. *Mech Ageing Dev*, 1994, **75**: 191-204.
- 21) Gollnick PD: Metabolism of substrates: energy substrate metabolism during exercise and as modified by training. *Fed Proc*, 1985, **44**: 353-357.
- 22) Matoba H, Gollnick PD: Response of skeletal muscle to training. *Sports Med*, 1984, **1**: 240-251.
- 23) Holloszy JO, Coyle EF: Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl Physiol*, 1984, **56**: 831-838.
- 24) Hammeren J, Powers S, Lawler J, et al.: Exercise training-induced alterations in skeletal muscle oxidative and antioxidant enzyme activity in senescent rats. *Int J Sports Med*, 1992, **13**: 412-416.
- 25) Henriksson J: Effects of physical training on the metabolism of skeletal muscle. *Diabetes Care*, 1992, **15**: 1701-1711.
- 26) Wibom R, Hultman E, Johansson M, et al.: Adaptation of mitochondrial ATP production in human skeletal muscle to endurance training and detraining. *J Appl Physiol*, 1992, **73**: 2004-2010.