

絶食ならびに運動負荷がマウスの血糖値、 筋肉と肝臓のグリコーゲン量におよぼす影響

堀江 登, 中村 愛子, 桂 智美, 川瀬 純子, 上田 由紀
(武庫川女子大学生生活環境学部食物栄養学科)

Effects of fasting and exercise-loading on sugar level in blood, glycogen levels in the muscle and the liver of mice

Noboru Horie, Aiko Nakamura, Tomomi Katsura, Junko Kawase and Yuki Ueda

*Department of Food Science and Nutrition,
School of Human Environmental Sciences,
Mukogawa Women's University, Nishinomiya, 663-8558, Japan*

This is a basic study for producing of animal model of glycogen-loading using mice. We investigated about effects of fasting and exercise on blood-sugar level, glycogen levels of the muscle and liver.

One and two-days fasting significantly increased in hematocrit and decreased in blood-sugar level. A swimming in 20°C to make a study of variation of muscle-glycogen in mice was better than 35°C. The gluteus maximus muscle and biceps femoris muscle for mass and the gastrocnemius muscle for separation were good for a sample muscle of exercise-loading.

はじめに

脊椎動物のすべての動作は骨格筋の収縮によって行なわれる。そのためのエネルギー源として、おもに糖質と脂肪酸が使用される。特に、瞬発力が要求される運動のためには筋グリコーゲンが、また持久力のためには筋グリコーゲンに加えて脂肪酸も動員される。これらの筋肉運動のために、筋グリコーゲン貯蔵量を増すこと(グリコーゲンローディング)が重要な課題となる。

本研究は、マウスを使用したグリコーゲンローディングのアニマルモデル作製のための基礎実験として、絶食が血糖値ならびに筋肉と肝臓のグリコーゲン量におよぼす影響、さらに運動を負荷した場合の部位による筋グリコーゲン量の変動を検討したものである。

実験材料と方法

実験には、雌性リタイマウス(日本クレア)を使用した。飼育には、温度は22~24°C、湿度は45~55%に調節された環境制御飼育装置(日本クレア)を使用した。明暗のサイクルは12時間(明期8:00~20:00)とした。給餌は固形飼料MF(オリエンタル酵母)を使用し、給水は給水瓶によって水道水を自由摂取させた。

運動負荷には34×52×19(h)cmの水槽を使用し、約10cmの深さまで水道水を入れてサーモミューンダー(大洋科学工業)によって水温を調節した。

エーテル麻酔によってマウスを安楽死させた後、採血と肝臓と各部位の筋肉を摘出した。肝臓と筋肉は-80°Cで急速冷凍・保存した。用時に解凍し、グリコーゲンの抽出と定量を行った。ヘマトクリット値は全血を用いて、血糖値は血漿を用いてグルコースB-テストワコー(GOD法)(和光純薬工業)¹⁾で測定

した。

グリコーゲンの抽出²⁾は、肝臓ならびに筋肉片の重量に対して5倍容量の30%水酸化カリウム溶液を加え、沸騰水浴中で30分間加熱して溶解した。この液化物に95%エタノール液を2倍容量加えて混和し、それを加熱して沸騰させた後、直ちに放冷して室温に達したら3000rpmで30分間遠心分離して、上清を取り除いた。この沈渣に蒸留水2mlを加えて溶解し、その中に飽和塩化カリウム溶液を1滴加えた後、95%エタノール液を3.5ml加えて混和した。それを加熱して沸騰させた後、直ちに放冷して室温に達したら3000rpmで10分間の遠心分離によって上清を取り除き、さらにデシケーター中でエタノールを蒸散し、保存した。グリコーゲンの定量はフェノール硫酸法³⁾によった。

実験結果

1. 絶食期間が血糖値ならびに肝臓と筋肉のグリコーゲン量におよぼす影響

雌のリタイヤマウスを摂食群(対照群)、絶食1群(24時間絶食群)、絶食2群(48時間絶食群)の3群に分け、それぞれの条件を负荷した後、それらのヘマトクリット値、血糖値、肝臓、大腿四頭筋のグリコーゲン量を測定した。

ヘマトクリット値(Fig. 1.)は絶食期間が長くなるにつれて有意に増加し、血糖値(Fig. 2.)は摂食群に比べて絶食1群でおよそ25%有意に減少し絶食2群でさらに約50%値にまで減少した。

肝グリコーゲン量(Fig. 3.)ならびに大腿四頭筋のグリコーゲン量(Fig. 4.)は、摂食群に比べて絶食1群と絶食2群でともに有意に減少した。

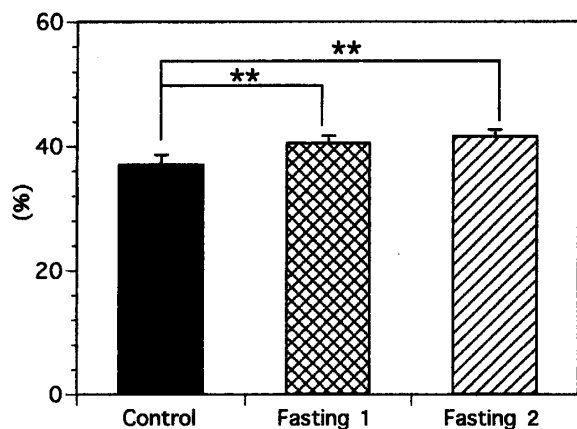


Fig. 1. Effects of 24 or 48 hours fasting on hematocrit level. Several bars were average and SD. **:p < 0.01

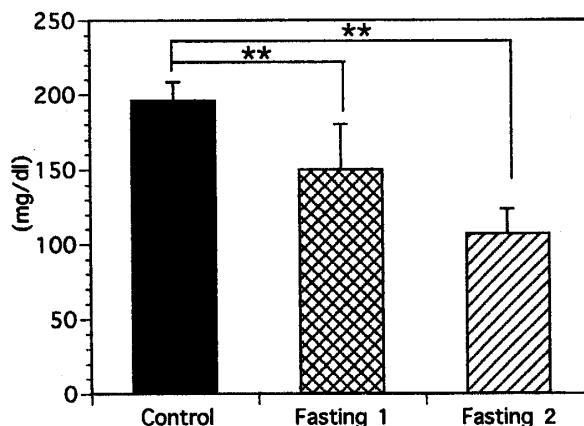


Fig. 2. Effects of 24 or 48 hours fasting on blood sugar level. Several bars were average and SD. **:p < 0.01

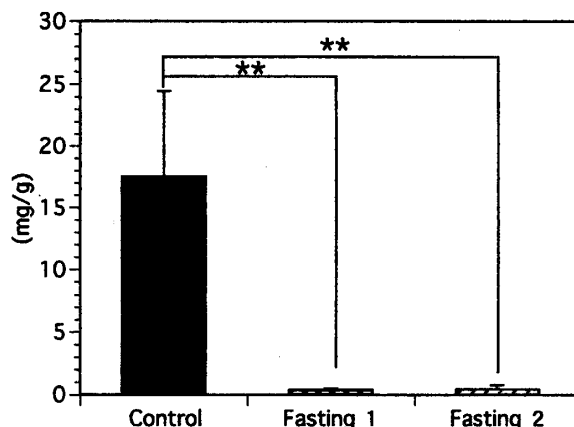


Fig. 3. Effects of 24 or 48 hours fasting on glycogen level in liver. Several bars were average and SD. **:p < 0.01

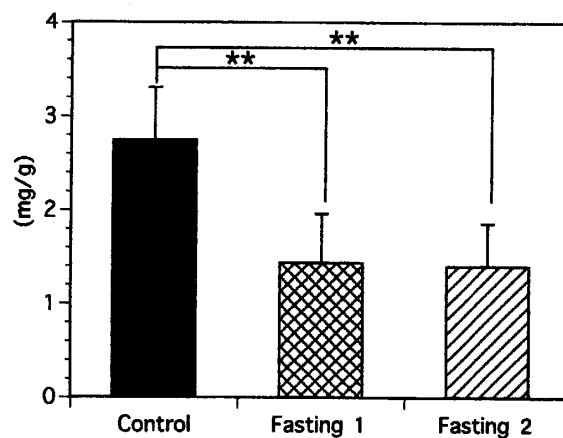


Fig. 4. Effects of 24 or 48 hours fasting on glycogen level in muscle. Several bars were average and SD. **:p < 0.01

2. 水温と遊泳時間が血糖値ならびに肝臓と筋肉のグリコーゲン量におよぼす影響

運動負荷に適した水温を検討するために, 水温と遊泳時間の違いが血糖値および肝臓と筋肉のグリコーゲン量におよぼす影響を調べた。

リタイヤマウスを24時間絶食させた後, 非運動群(対照群)と運動群を水温20℃で15分間あるいは35分間遊泳させた群, 水温35℃で15分間あるいは35分間遊泳させた群の5群に分けて, それぞれの条件を負荷後, それらについて血糖値および肝臓と大腿四頭筋のグリコーゲン量を測定した。

血糖値(Fig. 5.)は, すべての群に有意な差はみられなかった。

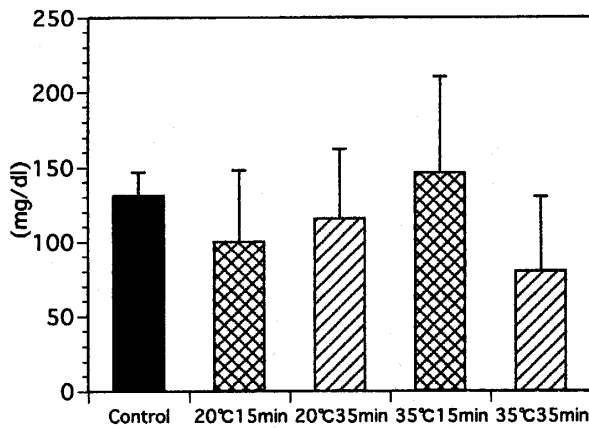


Fig. 5. Effects of temperature and time for swimming on blood sugar. Several bars are average and SD.

肝グリコーゲン量(Fig. 6.)は非運動群に比べて20℃群において遊泳時間にもなって有意に減少した。また, 35℃群においても非運動群に比べて減少したが, 有意なものではなかった。

大腿四頭筋のグリコーゲン量は非運動群に比べて20℃群で有意な減少がみられ, さらに遊泳時間にもなって有意に減少した。しかし, 35℃での遊泳では20℃の遊泳でみられた有意な減少はみられなかった(Fig. 7.)。

3. 遊泳時間が各種筋肉のグリコーゲン量におよぼす影響について

遊泳時間とともに筋グリコーゲンの有意な減少がみられた20℃での遊泳時間と筋肉各部のグリコーゲン量の変動について検討した成績をFig. 8.に示す。大腿四頭筋(A)・腓腹筋(B)・大殿筋および大腿二頭筋(C)・上腕筋(E)で時間経過とともに, 筋グリコーゲン量が減少し, 腓腹筋・大殿筋および大腿二

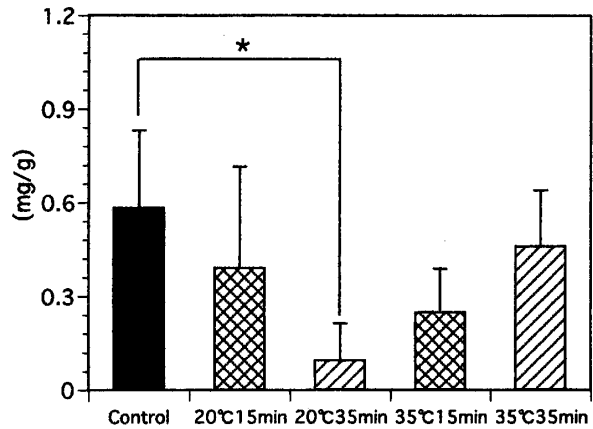


Fig. 6. Effects of temperature and time for swimming on glycogen level in liver. Several bars are average and SD. *:p < 0.05

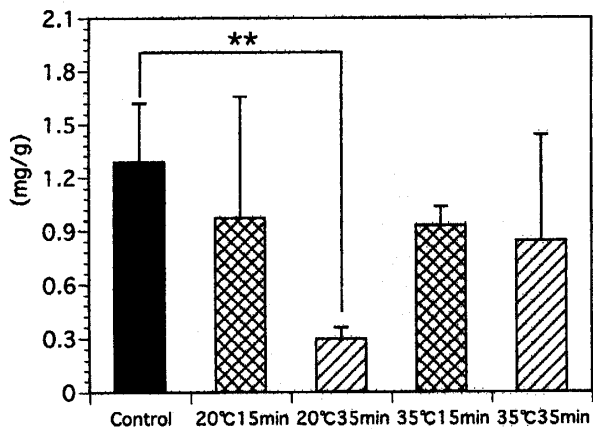


Fig. 7. Effects of temperature and time for swimming on glycogen level in muscle. Several bars are average and SD. **:p < 0.01

頭筋では有意に減少した。しかし, 前脛骨筋ではほとんど減少しなかった。

考 察

自然科学における事実の探求のためには実験的な手段が要求される。最終的にヒトに関する情報が必要な場合であっても適当な動物が選ばれ, 実験動物として採用される。その理由として, 成長段階がほぼ揃い, しかも遺伝的に比較的近い動物群が得やすいこと, 一世代さらに数世代について比較的短期間に要領よくしかも経済的に実験できることなどがあげられる。最近では, 遺伝的に運命づけられた素因をノックアウトした実験動物まで研究者が手を加えて作り出すことができるようになり, 動物実験への期待がさらに大きくなっている。

本研究では、運動や栄養に関する基礎的実験として、絶食期間および運動負荷が血糖値、筋肉および肝臓のグリコーゲン量におよぼす影響を、妊娠・出産・育児を繰り返した雌のリタイヤマウスを使用して検討した。

肝臓に多量に含まれていたグリコーゲンも1昼夜の絶食でほぼ消失した。また、筋グリコーゲンも有意に減少した。このように1昼夜の絶食ですでに糖新生⁴⁾に依存せざるを得ない状態になっていたと推察される。さらに、絶食状態が長くなるにつれて、ヘマトクリット値と血糖値⁵⁾がともに有意に減少し、このようなホメオスタシスによって変動が少ないと考えられるものにも有意差がみられ、絶食が生体におよぼす影響の大きさが推察される。

遊泳によって運動を負荷する場合に適した水温について、血糖値ならびに肝臓と筋肉のグリコーゲン量におよぼす影響を検討した。体温に近い35℃の水温では血糖値は遊泳開始後すぐに減少したが、時間の経過とともに回復した。また、肝グリコーゲン量も同様に一時的な減少も遊泳時間が長くなるに連れて回復した。これらのことは、生体のホメオスタシスにより、血糖値は肝グリコーゲンによって、また肝グリコーゲンは糖新生によって、正常値に維持されたものと推察する。一方、20℃中での遊泳では、血糖値、肝臓と筋肉のグリコーゲンは、ともに遊泳時間が長くなるにつれて減少した。35℃に比べて20℃の水温が運動負荷によるこれらの変動を観察するために適した条件であることを示唆する。さら

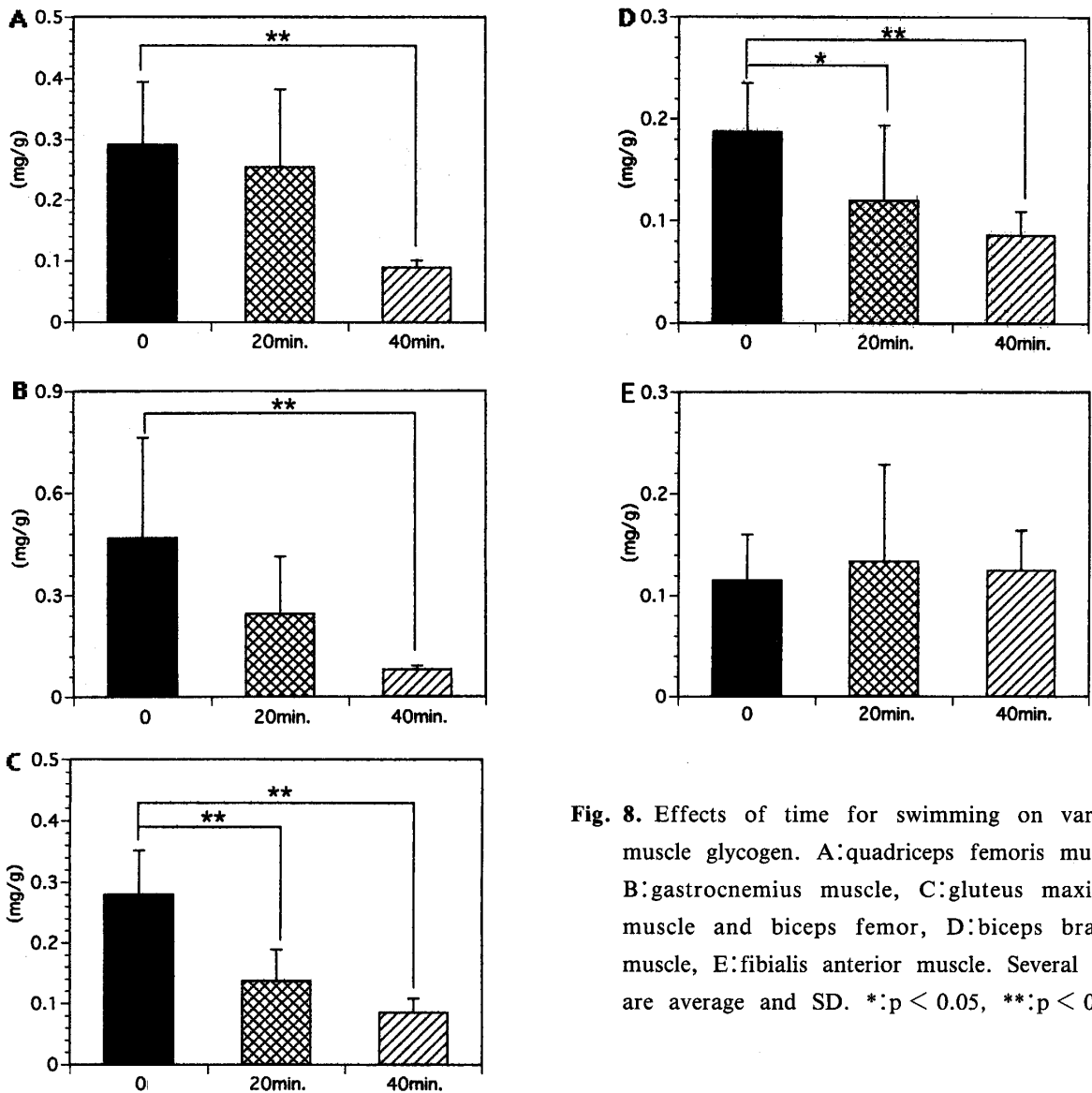


Fig. 8. Effects of time for swimming on various muscle glycogen. A:quadriceps femoris muscle, B:gastrocnemius muscle, C:gluteus maximus muscle and biceps femor, D:biceps brachii muscle, E:fibialis anterior muscle. Several bars are average and SD. *:p < 0.05, **:p < 0.01

に、水温 20℃における遊泳時間と各部の筋グリコーゲン量の変動について検討し、大腿四頭筋・腓腹筋・大殿筋および大腿二頭筋・上腕筋で時間経過とともに筋グリコーゲン量が減少したが、特に腓腹筋・大殿筋および大腿二頭筋において有意に減少したが、前脛骨筋ではほとんど減少しなかった。遊泳による運動負荷では、水面を前進するために必要な前脚と後脚の主要筋肉に有意な変動が観察された。

以上のことから、マウスを実験動物として運動負荷による筋グリコーゲン量の変動を観察するためには、20℃の水温で運動負荷させることによって筋肉運動に伴う筋グリコーゲン量の著しい減少がみられたこと、さらに検体として適した筋肉として検体量が豊富な大殿筋および大腿二頭筋あるいは他の筋肉が混入することなく単離することの可能な腓腹筋が適していることが示唆された。

まとめ

マウスを使用したグリコーゲンローディングのアニマルモデル製作のための基礎実験として、絶食が血糖値ならびに筋肉と肝臓のグリコーゲン量におよぼす影響、さらに運動を負荷した場合の部位による筋グリコーゲン量の変動を検討した。

絶食状態が長くなるにつれて、ヘマトクリット値の増加と血糖値の減少が有意にみられ、このようなホメオスタシスによって変動が少ないと考えられるものにも著しい変動がみられた。また、マウスを実験動物として運動負荷による筋グリコーゲン量の変動を観察するためには、20℃の水温で運動負荷させることによって筋肉運動に伴う筋グリコーゲン量の著しい減少がみられたこと、さらに検体として適した筋肉として検体量が豊富な大殿筋および大腿二頭筋あるいは他の筋肉が混入することなく単離することの可能な腓腹筋が適していると結論された。

文 献

- 1) Trinder, P. : *J. Clin. Path.*, **22**, 158-161 (1969)
- 2) 広井祐三: 飢餓による肝臓グリコーゲンの変化 (奥田義博, 谷口巳佐子編: 生化学実験), 講談社, 東京, 81(1993)
- 3) 福井作蔵: 生物化学実験法 1 還元糖の定量法, 学会センター, 東京, 50-52(1990)
- 4) Felig, P., and Wahren, J. : Fuel homeostasis in exercise. *N. Engl. J. Med.*, **293**: 1078

(1975)

- 5) Richter, E.A., Ruderman, N.B., Schneider, S.H. : Diabetes and exercise. *Am. J. Med.* **70**: 201-209(1981)