

## 慢性低酸素環境下におけるラット骨格筋の免疫組織化学的検討

### Immunohistochemical study of skeletal muscles in hypoxic rats

竹中敏文\*, 林田嘉朗\*\*, 日下部辰三\*

Toshifumi TAKENAKA \*, Yoshiaki HAYASHIDA \*\* and Tatsumi KUSAKABE \*

近年、スポーツ領域では高地トレーニングが盛んに行なわれている。高所(低酸素環境)における運動は平地での運動よりも負荷のかかった激しい運動をしているという原理を応用して行なわれている。昨年度は、低酸素暴露がラット骨格筋(ヒラメ筋)における線維構成に及ぼす変化を検討し、速筋線維は週齢経過に伴い減少し、遅筋線維は週齢経過に伴い増加するが、低酸素暴露はこれらの減少および増加を増強させることを明らかにした。今年度はラット骨格筋(腓腹筋)における線維構成についても検討を加え、高地トレーニングに関するさらなる基礎データを提供することを目的とした。

Wistar系ラット(8週令)を低酸素下(10% O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>, 3-4% CO<sub>2</sub>)に12週間暴露した。これを慢性低酸素暴露群とし、正常(大気圧)環境下にて同期飼育ラットをコントロール群とした。ネンブタール麻酔下にて4%パラホルムアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液で灌流固定後、下肢より腓腹筋を摘出し、同固定液にて一晩浸漬固定した。常法に従い16 $\mu$ mの凍結切片を作成した。等張リン酸緩衝液(PBS)で洗浄した後、サッカロースを含むPBSに浸漬した。液体窒素で凍結し、クライオスタットにて16ミクロンの凍結切片を作製し、常法に従い、速筋および遅筋線維に対する抗

体(Sigma, USA)を用い、PAP法にて免疫組織化学的染色をした。組織像観察の為にヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を行なった。

腓腹筋のHE染色像(横断面)で、内側頭の前表層部(M-As)、前方深層部(M-Ad)、後方表層部(M-Ps)および外側頭の前表層部(L-As)、前方深層部(L-Ad)、後方表層部(L-Ps)を識別し、それぞれの部位における速筋線維と遅筋線維の構成率を計測した。

腓腹筋では内側頭後方表層部(M-Ps)、外側頭前方表層部(L-As)および外側頭後方表層部(L-Ps)では、そのほとんど全てが速筋線維により構成されており、低酸素暴露による変化はみられなかった。内側頭前方表層部(M-As)と内側頭前方深層部(M-Ad)では正常環境下群における速筋線維の割合は約80%であったが、低酸素暴露群では90-95%であった。外側頭前方深層部(L-Ad)では、正常環境下群における速筋線維の割合は約40%であったが、低酸素暴露群では約60%であった(図2A)。一方、遅筋線維の構成率は速筋線維の構成率の変化とは逆で、内側頭前方表層部(M-As)と内側頭前方深層部(M-Ad)では正常環境下群における速筋線維の割合は約20%であったが、低酸素暴露群では約5-10%であった。外側頭前方深層部(L-Ad)では、正常環境下群における

\* 国士館大学体育学部スポーツ医科学科 (Department of Sport and Medical Science, Kokushikan University)

\*\* 産業医科大学応用生理学 (Department of Systems Physiology, University of Occupational and Environmental Health)

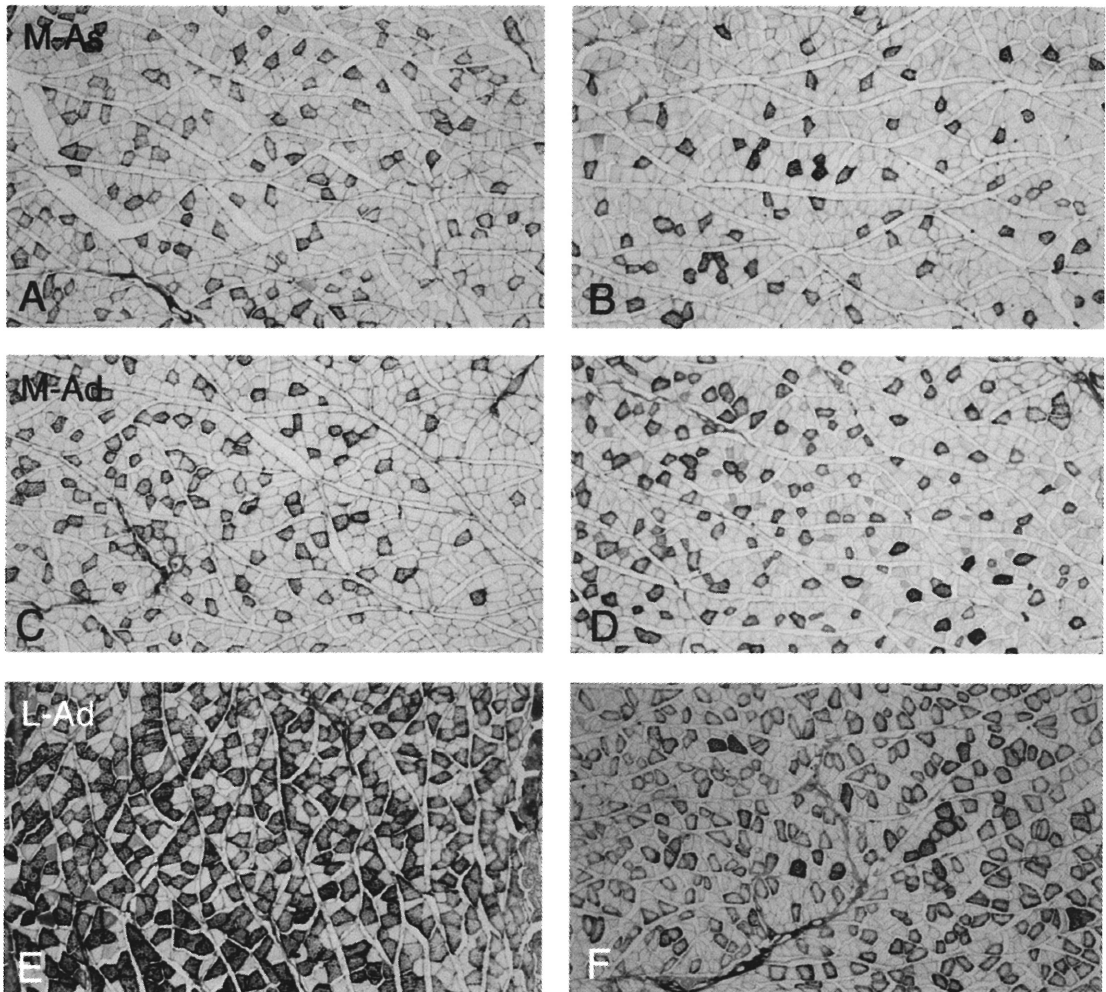


図1. 正常環境下のコントロール群 (A, C, E) と低酸素暴露群 (B, D, F) のラット腓腹筋における、遅筋線維に対する抗体を用いた免疫染色像. M-As: 内側頭の前表層部、M-Ad: 前方深層部 (M-Ad、L-Ad: 外側頭の前方深層部).

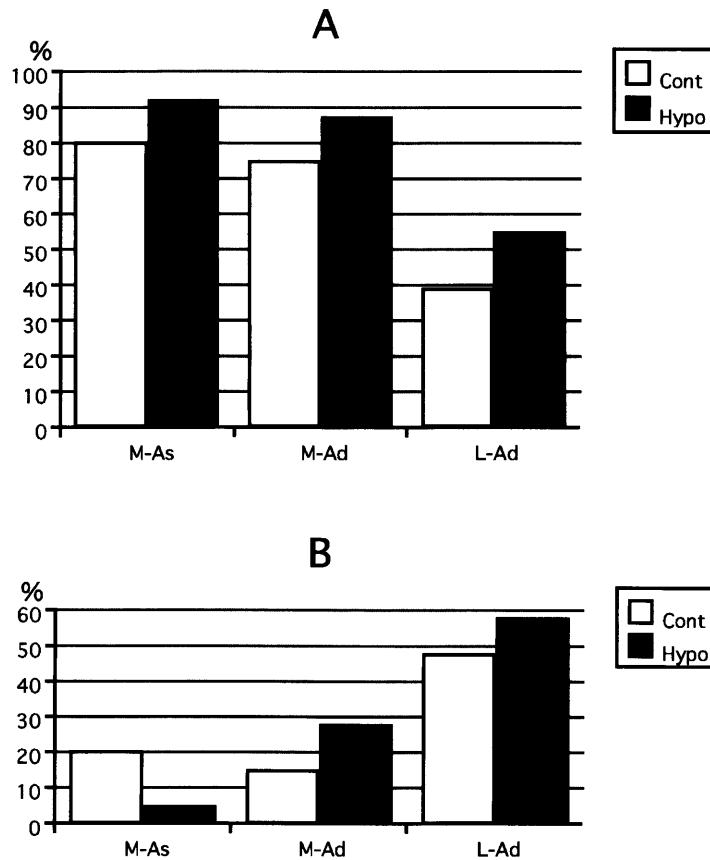


図 2. 正常環境下のコントロール群 (Cont) と低酸素暴露群 (Hypo) のラット腓腹筋における、速筋線維 (A)、遅筋線維 (B) の構成比。M-As: 内側頭の前方表層部、M-Ad: 前方深層部 (M-Ad、L-Ad: 外側頭の前方深層部)。

速筋線維の割合は約60%であったが、低酸素暴露群では約45%であった (図1) (図2B)。

ラット腓腹筋における筋線維の構成比率は、長期間の低酸素暴露により速筋線維の構成比率は上昇し、遅筋線維の構成比率は低下した (図2A, B)。この変化は、腓腹筋後方部より前方部で、さらに、表層部より深層部で顕著であった。

ラットのヒラメ筋における筋線維構成の変化と類似傾向が認められたが、低酸素暴露は酸化能力

が比較的高いとされている遅筋線維から酸化能力の高い速筋線維へと変化を増強させている可能性がある」と推察される。

本研究は国士舘大学体育学部体育研究所の平成15年度研究助成により行なわれた。