

持久的トレーニングがラット膵腺房細胞に及ぼす影響

The effect of endurance training on pancreatic acinar cells in rats

湊 久美子、代 谷 陽 子
Kumiko MINATO and Yoko SHIROYA

緒 言

膵外分泌機能は、長期間にわたる栄養条件の質や量などの違い¹⁾、絶食・摂食²⁾、減食³⁾などの短期間の栄養状態や、肥満⁴⁾や糖尿病⁵⁾などの代謝性疾患、また加齢⁶⁾などの生理的变化によって影響されることが知られている。さらに、運動習慣⁷⁾⁸⁾によっても影響されることが報告されており、我々もこれまでに、Wistarラットを用いて、持久的運動習慣は膵湿重量を増大させること、基礎状態の膵組織酵素活性や膵蛋白分泌を増大させることなどを確認している⁹⁾。しかしながら、その機序や生理学的意義については不明確であった。そこで、今回は、持久的運動習慣による膵外分泌機能亢進の機序を明らかにするための手掛りの一つとして、持久的トレーニングを行ったラットの膵腺房細胞の変化について電子顕微鏡を用いて観察し、持久的トレーニングが膵腺房細胞に及ぼす影響について検討を加えた。

方 法

実験動物：実験動物にはF344の雌ラット 5 週齢13例を用い、室温約21°C、12時間明暗サイクルで個別ケージ中で飼育した。1 週間の予備飼育の後、体重が均等になるようにコントロール群 7 例、トレーニング群 6 例に群分けした。飼料にはNMF（オリエンタル酵母）を用い、コントロール群には自由摂取、トレーニング群には、その摂餌量が前日のコントロール群の摂餌量と同量になるように調整して給餌し、飲料水は水道水の自由摂取とした。トレーニング群には週に 5 日、1 回60分間、傾斜角度なしのトレッドミル走を 8 週間負荷した。走行スピードは初期の 2 週間で徐々に上げ、最終的には32m/分とした。

実験の手順：最終トレーニング終了 2 日後にペントバルビタール麻酔下で開腹し、全膵組織、腓腹筋、ヒラメ筋組織を摘出した。膵組織は湿重量測定後、一部に生食水を加えてホモジナイズし、0°C、9000回転で遠心分離後、上清中の蛋白をビュレット法¹⁰⁾を用いて測定し

た。

電子顕微鏡試料の作製：腓組織片を2.5%グルタルアルデヒド、1%オスミウム酸固定後、エタノール系列で脱水し、エポキシ樹脂に包埋、超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡(JEM-1220)にて加速電圧80kVで観察した。

統計処理：得られた数値の結果は各群の平均値と標準偏差で表し、両群間の差の検定には、対応のない *t* 検定を用い、危険率5%未満 ($P < 0.05$) をもって有意と判定した。

結 果

表1に、実験時の体重、全実験期間中の1日あたりの平均摂餌量及び飼料効率、腓腹筋、ヒラメ筋の湿重量を示した。平均摂餌量は両群に差は認められなかったが、体重および飼料効率はトレーニング群で有意に低く、持続的トレーニングによる体重増加抑制が認められた。一方、下腿骨格筋である腓腹筋及びヒラメ筋の湿重量は有意にトレーニング群で重く、持続的トレーニングによる骨格筋肥大が観察された。

図1に、体重100g当たりの腓湿重量と腓組織重量当たりの蛋白含量を示した。いずれもトレーニング群で有意に高かった。また、図示していないが、湿重量は個体当たり、蛋白含量は全腓組織量当たりの絶対値においてもいずれもトレーニング群で高い値を示し、持続的トレーニングによる腓の肥大ならびに貯蔵酵素蛋白の増大が認められた。

この持続的トレーニングが腓外分泌機能に及ぼす影響を明らかにするために、透過型電子顕微鏡を用いてラットの腓腺房細胞の微細構造を観察した。腓臓の外分泌部は多数の小葉の集まった複合管状房状腺であり、腺房細胞は腺終末の腺房を形成する腺上皮細胞である。図

Table 1 Mean (SD) body weight, food intake, food efficiency, and muscle weight in control and trained rats

	control rats n=7	trained rats n=6	result of <i>t</i> test
body weight (g)	158.43±4.58	145.33±4.97	$p < 0.001$
food intake (g/day)	12.41±0.37	12.53±0.30	no significance
food efficiency	0.1016±0.0029	0.0812±0.0063	$p < 0.001$
muscle weight (soleus) (mg/BW100g)	37.30±1.22	42.79±3.17	$p < 0.01$
muscle weight (gastrocnemius) (mg/BW100g)	505.18±15.42	557.16±21.95	$p < 0.001$

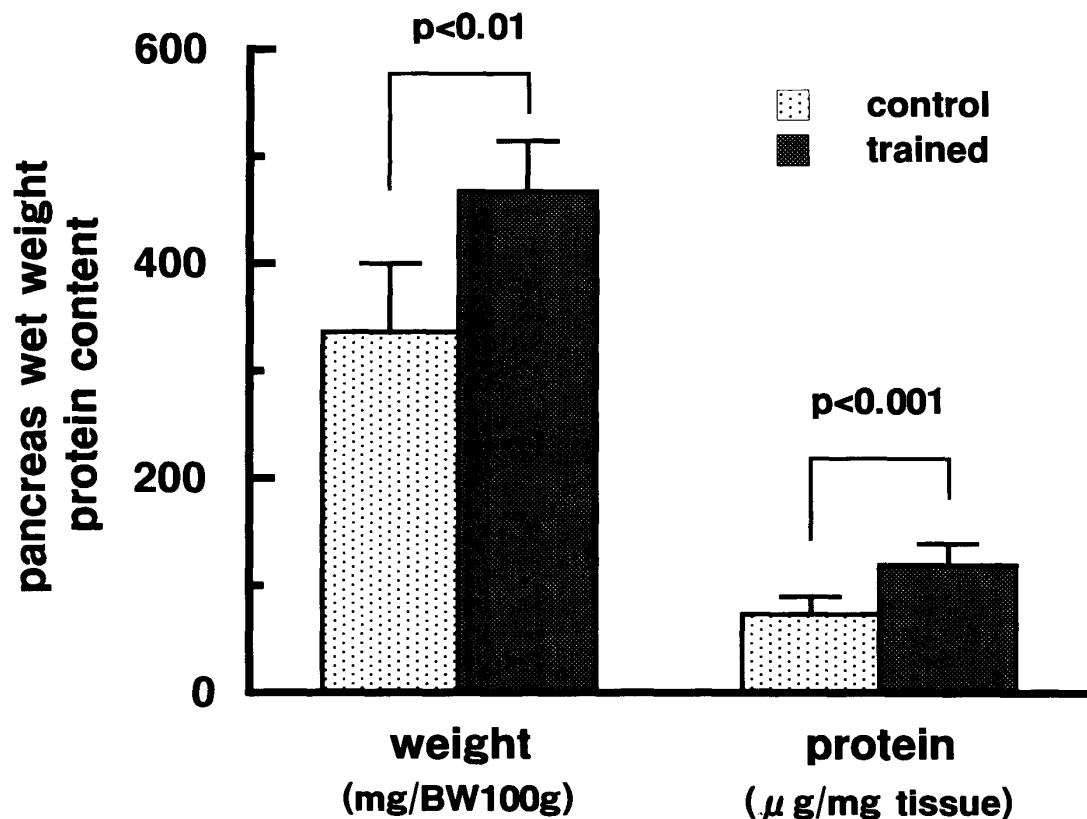


Fig. 1 Mean (SD) pancreas wet weight and pancreatic protein content in control and trained rats.

2に、ラットの膵腺房細胞の電子顕微鏡像を示した。腺房細胞の核は球形を呈するものが多く、細胞体の中央ないし、やや基底側に偏って存在した。細胞質内にはよく発達した粗面小胞体が細胞の基底部から核の周囲にかけて密に配列しているのが認められた。また、この発達した粗面小胞体の間にミトコンドリアが散在しているのが見られた。腺房細胞は膵の外分泌細胞であり、アミラーゼに代表される数種類の消化酵素を合成する典型的な蛋白合成細胞であり、その合成された消化酵素を貯蔵している分泌顆粒が核の上方に多く集まっているのが特徴的であった。

コントロールラットの膵腺房細胞の電顕像では、腺腔を取り囲むように腺房細胞が並んでいる様子が見られた(図3 a)。また、腺腔に近い細胞頂上部に分泌顆粒が集合しているのが認められた。

一方、持久的トレーニングラットの膵腺房細胞の電子顕微鏡による観察では(図3 b)、コントロールラットと同様の典型的な細胞像が観察されたが、コントロールラットに比較して、細胞の大きさが明らかに肥大しているのが認められた。また、分泌顆粒の増加が認められた。



Fig. 2 Electron micrograph of the acinar cell in the rat pancreas. For details see text.

L, lumen; M, mitochondria; N, nucleus; RER, rough endoplasmic reticulum; Z, zymogen granules. Bar=1 μ m.

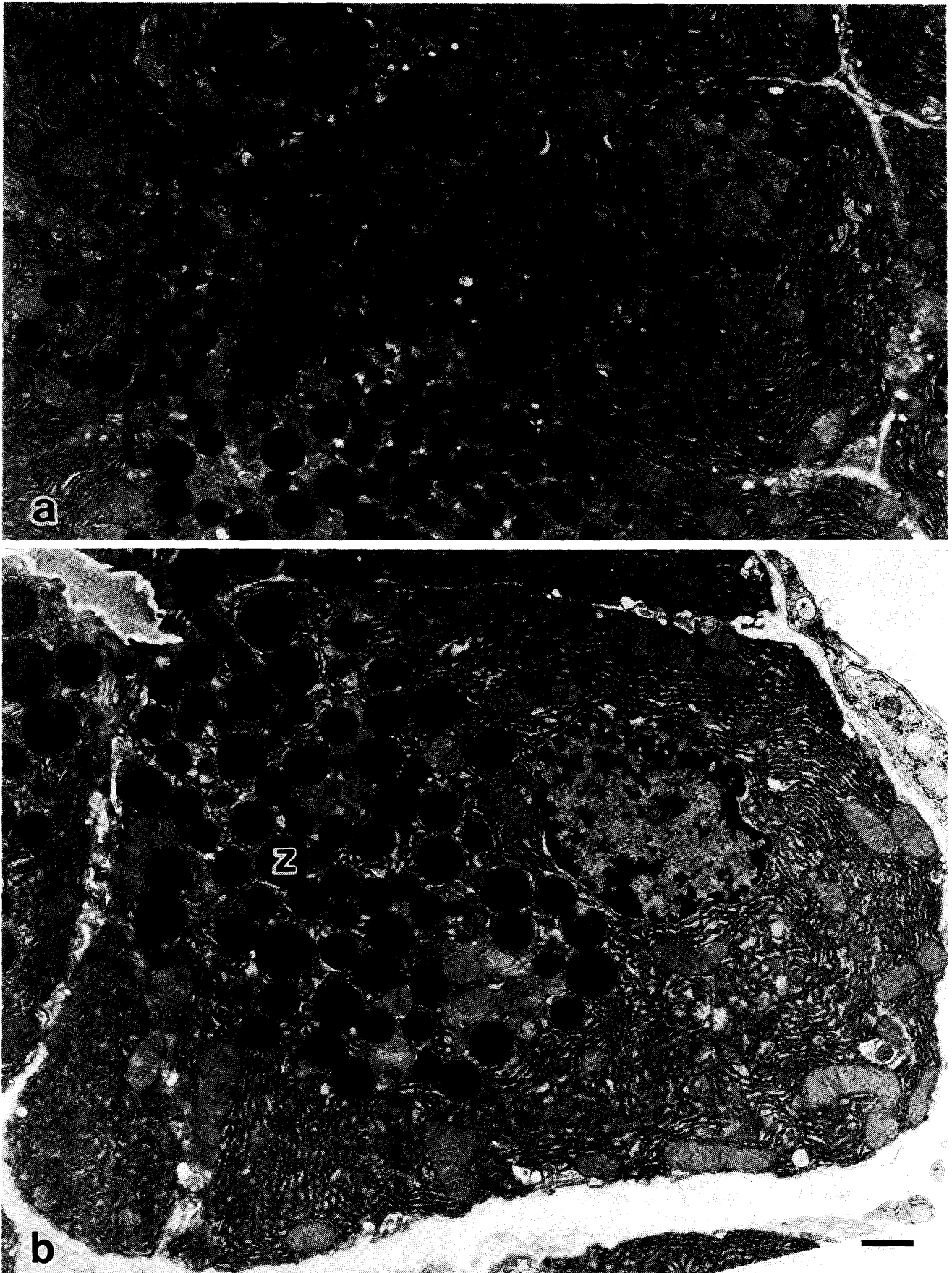


Fig. 3 Electron micrographs of the acinar cells in the rat pancreas from control (a) and trained (b) preparation. Note the increase in zymogen granules (Z) and the hypertrophied acinar cell in b. Bar=1 μ m.

考 察

今回のトレッドミル走によるトレーニングはラットの持続的トレーニングとしてよく用いられている方法¹¹⁾である。今回用いたF344ラットは、Wistarラットより摂餌量が少なく、体重も軽い小型のラットである。特に雌ラットでは、Wistarラットで認められるようなトレッドミルトレーニングによる摂餌量の減少⁹⁾は認められずに、むしろトレーニングによって摂餌量が増加する傾向にあるのが特徴である¹²⁾。本実験においても、トレーニング群では摂餌量が増加する傾向にあったため、コントロール群と摂餌量が一致するように給餌量を調整した。その結果、摂餌量は両群に差はなかったが、トレーニング群の実験時の体重は、コントロール群に比較して約8%少なく、持続的トレーニングによる体重増加抑制現象が認められた。両群とも摂餌量は均等であったことから、この差は運動量の差、すなわちトレーニング群におけるエネルギー消費量増大に起因するものであると考えられ、トレーニングは体重増加抑制を誘引するほどの大きな運動量であった。しかし、ヒラメ筋及び腓腹筋の明らかな肥大を伴っており、持続的トレーニングとして有効であったと考えられる。

これまでにWistarラットで認められていた膵組織重量ならびに膵蛋白含量の増大⁹⁾は、今回のF344ラットにおいても確認された。膵重量や膵蛋白含量には摂食²⁾、減食³⁾などの栄養状態が関与することが知られているが、本実験では摂餌量は一定であったため、これらの増大は明らかに持続的トレーニングの影響であると考えられる。膵組織重量の増大は、細胞数の増加、細胞の肥大、あるいはその両者によって起こると考えられる。久木野ら⁷⁾は、自発走トレーニングをラットに負荷し、膵重量増大を認め、DNA量が増大していなかったことから、細胞の増殖ではなく細胞の肥大によるのではないかと推察した。この点に関して、今回我々は、電子顕微鏡による観察から持続的トレーニングによって腺房細胞が肥大することを認め、このことは、持続的運動習慣によって起こる膵組織重量増大には、細胞の増殖よりもむしろ細胞の肥大が関与していることを示していると考えられる。

膵組織内の蛋白含量は分泌酵素の貯蔵量を表している。事実、これまでの結果でも⁹⁾膵蛋白含量の増大には、同時にアミラーゼやリパーゼの組織活性の増大も伴っていた。従って、今回の結果においても膵酵素の合成や貯蔵が持続的トレーニングによって亢進していることが充分推察できる。今回、トレーニングラットの膵腺房細胞内の分泌顆粒は、コントロールラットに比較して明らかに増加していることが電子顕微鏡による観察から明らかとなり、持続的運動習慣による膵酵素の合成や貯蔵の増大を裏付ける結果となった。

膵の増殖や肥大は、摂餌量の増大やその結果引き起こるコレシストキニン (CCK) などの

胃腸系ホルモン刺激増大による栄養効果 (trophic effect) によって起こること¹³⁾、膵酵素の合成・貯蔵・分泌の一連の外分泌機能については、CCKおよび迷走神経系によって制御されていること¹⁴⁾が知られている。従って、今回の持久的トレーニングによる膵肥大や蛋白含量の増大には、CCKなどの胃腸系ホルモン刺激の増大あるいは迷走神経系による刺激増大が考えられる。CCKに関しては、持久的トレーニングによって腸管内CCK量が増加したことが報告されており¹⁵⁾、運動習慣とCCK分泌にはおそらく関連があると思われる。持久的トレーニングによる膵肥大や膵酵素の合成や貯蔵の亢進には、CCK分泌増大、あるいはCCK刺激に対する腺房細胞の応答性の亢進が関与していることが推察される。また、持久的運動習慣による膵外分泌機能亢進には迷走神経系も関与していると思われる。安静時心拍数の低下などの迷走神経系亢進現象は、持久的運動習慣によってよく起こることが知られており¹⁶⁾、Zsinkaら⁸⁾は、持久的水泳トレーニングによって増大したラットの食刺激後の膵外分泌は、迷走神経切除ラットでは観察できなかったことを報告している。従って、持久的トレーニングによる膵酵素の合成や貯蔵の亢進への迷走神経系亢進の関与も充分考えられる。

今回の研究から、持久的運動習慣によるラットの膵組織重量ならびに膵蛋白含量の増大が確認された。さらに、持久的トレーニングラットにおける膵組織重量増大は、細胞の増殖よりもむしろ細胞の肥大によること、また、膵蛋白含量の増大は分泌酵素の合成や貯蔵の増大によることが電子顕微鏡による膵腺房細胞の観察から判明した。

要 約

F344雌ラットを対象に、32m/分のトレッドミル走による持久的トレーニングを週5日、8週間負荷し、安静を保ったコントロールラットと比較して以下の結果が得られた。

1. 持久的トレーニングによって有意な体重増加抑制、飼料効率低下、下腿骨格筋肥大を認めた。
2. 持久的トレーニングによって膵湿重量ならびに膵蛋白含量の有意な増大を認めた。
3. コントロールラットでは、発達した粗面小胞体や腺腔周辺に密集した分泌顆粒を認める典型的な蛋白合成細胞の電顕像が観察された。
4. トレーニングラットでは、コントロールラットに比較して、膵腺房細胞の分泌顆粒の増大を認めた。また、膵腺房細胞が著明に肥大することを電顕像より認めた。

以上の結果より、持久的運動習慣による膵組織重量増大は、細胞の増殖よりもむしろ細胞の肥大によること、また、膵蛋白含量の増大は分泌酵素の合成や貯蔵の増大によることが判明した。

参考文献

- 1) Brannon, P.M., Adaptation of the exocrine pancreas to diet, *Ann. Rev. Nutr.* 10: 85-105 (1990)
- 2) Lee, P.C., Brooks, S., Lebenthal, E., Effect of fasting and refeeding on pancreatic enzymes and secretagogue responsiveness in rats, *Am. J. Physiol.* 242: G215-G221 (1982)
- 3) 溝口順二、山田茂夫、制限給餌飼育ラットにおける膵外分泌機能の亢進、*日本栄養・食糧学会誌* 39: 29-34 (1986)
- 4) McLaughlin, C.L., Penkin, S.R., Baile, C.A., Decreased pancreatic exocrine response to cholecystokinin in Zucker obese rats, *Am. J. Physiol.* 242: G612-G619 (1982)
- 5) Korc, M., Iwamoto, Y., Sankaran, H., Willams, J.A., Goldfine, I.D., Insulin action in pancreatic acini from streptozotocin-treated rats, I, Stimulation of protein synthesis, *Am. J. Physiol.* 240: G56-G62 (1981)
- 6) Khalil, T., Fujimura, M., Townsend, C.M.Jr., Greeley, G.H.Jr., Thompson, J.C., Effect of aging on pancreatic secretion in rats, *Am. J. Surg.* 149: 120-125 (1985)
- 7) Kugino, K., Kishino, Y., Effect of voluntary exercise on pancreatic function of rats, *Nutr. Res.* 11: 1273-1283 (1991)
- 8) Zsinka, A.J.N., Frenkl, R., Exocrine function of the pancreas in regularly swimming rats, *Acta Physiol. Hung.* 62: 123-129 (1983)
- 9) Minato, K., Effect of endurance training on pancreatic enzyme activity in rats, *Eur. J. Appl. Physiol.* 76: 491-494 (1997)
- 10) Gornall, A.G., Bardawill, C.J., David, M.M., Determination of serum proteins by means of the biuret reaction, *J. Biol. Chem.* 177: 751 (1949)
- 11) 湊久美子、運動及び栄養習慣が身体環境に及ぼす影響 3 - ラットの持久的トレーニング方法の検討一、*和洋女子大学紀要 (家政系編)*、31: 81-89 (1991)
- 12) Mazzeo, R.S., Horvath, S.M., Effects of training on weight, food intake, and body composition in aging rats, *Am. J. Clin. Nutr.* 44: 732-738 (1986)
- 13) Poston, G.J., Saydjari, R., Lawrence, J.P., Chung, D., Townsend, C.M.Jr., Thompson, J.C., Aging and the trophic effects of cholecystokinin, bombesin and pentagastrin on the rat pancreas, *Pancreas* 6: 407-411 (1991)
- 14) 内藤聖二 (編)、*膵臓の研究*、同文書院 (1983)
- 15) Ohta, M., Ichikawa, M., Sasaki, N., Okubo, K., Miyasaka, K., Fujita, Y., Matsumoto, M., Funakoshi, A., Effect of long-term exercise under restricted-feeding on intestinal content of cholecystokinin and on the pancreas in aging rats, *Arch. Gerontol. Geriatr.* 18: 43-51 (1994)
- 16) Smith, M.L., Hudson, D.L., Graitzer, H.M., Exercise training bradycardia: the role of autonomic balance, *Med. Sci. Sports Exerc.* 21: 40-44 (1989)

湊 久美子 (本学助教授)

代 谷 陽 子 (本学助教授)