

## マウス骨格筋・心筋ミオグロビン含量及び 酵素活性について

中 谷 昭

(奈良教育大学生理学及び衛生学教室)

(平成3年4月30日受理)

## Myoglobin content and enzyme activity in murine skeletal and cardiac muscles

Akira NAKATANI

(Laboratory of Physiology and Hygiene, Nara University of Education, Nara 630, Japan)

(Received April 30, 1991)

### Abstract

Myoglobin content (Mb) and enzyme activity in murine skeletal and cardiac muscles were determined. Mb in the red part of m. vastus lateralis and m. gastrocnemius was about 30 times that in the white part. Hexokinase (HK) and citrate synthase (CS) activity in the red parts was about 2.8 and 3.5 times respectively as great as those in the white parts. Mb and the enzyme activity of m. soleus were similar to those in the red parts of the two muscles. Cardiac muscle had the highest Mb and enzyme activity. There was significant correlation between Mb and HK activity ( $r = 0.912$ ,  $n = 60$ ) and between Mb and CS activity ( $r = 0.856$ ,  $n = 60$ ). The results indicate that the red part, with higher Mb, has higher oxidative capacity than the white part in the same muscle.

### 緒 言

古くから骨格筋は色の違いにより赤筋と白筋に、また収縮の速さより速筋と遅筋に分類されてきた。さらに骨格筋を構成する筋線維は組織化学的に SO (slow twitch oxidative) 線維, FOG (fast twitch oxidative glycolytic) 線維及びFG (fast twitch glycolytic) 線維の3つのタイプに分類され<sup>6)</sup>, 現在この分類法は幅広く用いられている。骨格筋はこれら3種類の筋線維から成り、その構成比率により骨格筋の代謝特性や収縮特性などが異なることが知られている。

これまで、骨格筋の収縮特性や代謝特性あるいは、筋線維タイプに関する研究はネコ<sup>7)</sup>, ラット<sup>1,4)</sup>, モルモット<sup>2,3,6)</sup>をはじめいくつかの動物<sup>3)</sup>において検討されている。その結果、赤筋はミオグロビン (Mb) 含量やTCA回路に関与する酵素活性が高く、疲労しにくいこと、逆に白筋ではMb含量が低く、解糖系に関与する酵素活性が高く疲労しやすいことが知られている。しかし、ラット同様実験動物としてよく用いられるマウスに関するこの種の研究はほとんどみられない。そこで今回は、マウスのいくつかの筋に於いてMb含量、ヘキソキナーゼ (HK) 及びクエン酸合成酵素 (CS) 活性を測定し、代謝特性の筋による違いや同一筋内の部域による違いにつ

いて検討した。

## 実 験 方 法

実験材料として15週令のICR系雄マウス（日本クレアより購入）11匹を用いた。実験当日まではマウス用飼育ケージ（日本クレア，CL-0103）を用いて飼育し，その間水及び飼料（日本クレア，CE-2）は自由に摂取できるようにした。

エーテル麻酔下瀉血し，外側広筋（*m. vastus lateralis*），腓腹筋（*m. gastrocnemius*），ヒラメ筋（*m. soleus*）及び心筋（*myocardium*）を摘出し直ちに液体窒素で凍結した後，各項目の測定まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。外側広筋及び腓腹筋はそれぞれ深部（赤筋部）と表層部（白筋部）を用いた。

Mb 含量の測定はReynafarje<sup>8)</sup>の方法に改良を加えた微量筋試料を用いる分光学的方法<sup>5)</sup>を用いた。HK 活性はUyeda and Racker の方法<sup>11)</sup>を用い，CS 活性はSrere の方法<sup>9)</sup>を用い測定した。Mb 含量はmg/g 湿重量，各酵素活性は $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  湿重量で表した。

## 結 果

Fig. 1 は各筋のMb 含量を示したものである。外側広筋深部（赤筋部）では $2.94 \pm 0.52\text{mg}/\text{g}$  に対し表層部（白筋部）で $0.10 \pm 0.05\text{mg}/\text{g}$  と深部が有意に（ $P < 0.001$ ）高い値を示した。また腓腹筋においても深部（赤筋部）が $2.72 \pm 0.55\text{mg}/\text{g}$  に対し表層部で $0.08 \pm 0.02\text{mg}/\text{g}$  と深部が有意に（ $P < 0.001$ ）高い値を示した。いずれの筋においても深部と表層部の間に約30倍の差がみられた。ヒラメ筋は $3.62 \pm 0.50\text{mg}/\text{g}$  で，外側広筋深部，腓腹筋深部よりやや高い値を示し，心筋は $4.83 \pm 0.48\text{mg}/\text{g}$  と最も高い値を示した。

Fig. 2 はHK の活性値を示したものである。Mb 含量同様外側広筋深部，腓腹筋深部ではそれぞれの表層部に対して有意に高く（ $P < 0.001$ ），外側広筋では約2.5倍，腓腹筋で2.8倍の差がみられた。ヒラメ筋では $9.6 \pm 0.9 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  と外側広筋深部，腓腹筋深部とはほぼ同様の値を示した。心筋は $12.8 \pm 1.0 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  と最も高い値であった。

Fig. 3 はCS の活性値を示したものである。外側広筋深部及び腓腹筋深部はそれぞれの表層部に対し有意に高く（ $P < 0.001$ ），外側広筋では約4倍，腓腹筋では3.5倍高い値がみられた。ヒラメ筋は $87.8 \pm 9.1 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  と腓腹筋深部とはほぼ同様の値であったが，心筋では $239.5 \pm 26.1 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  と著しく高い値がみられた。

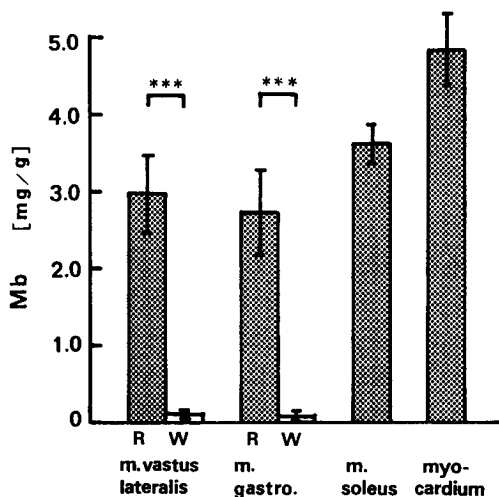


Fig. 1. Myoglobin contents in murine skeletal and cardiac muscles. R, W; red and white parts of *m. vastus lateralis* and *m. gastrocnemius*. Values are means  $\pm$  SD. \*\*\*; significant difference between R and W,  $P < 0.001$ .

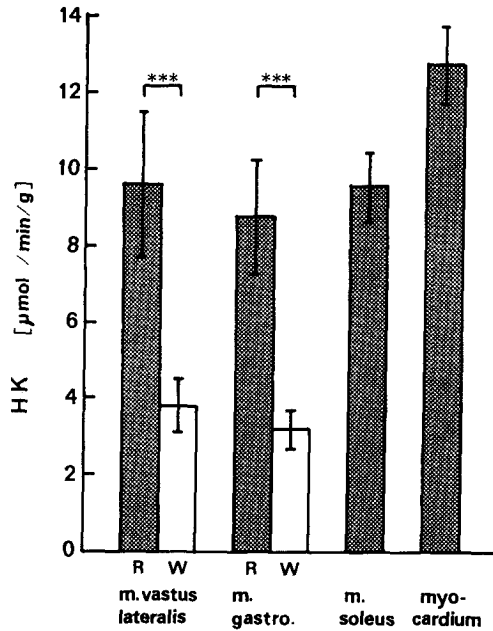


Fig. 2. Hexokinase activity in murine skeletal and cardiac muscles. See Fig. 1. for symbols.

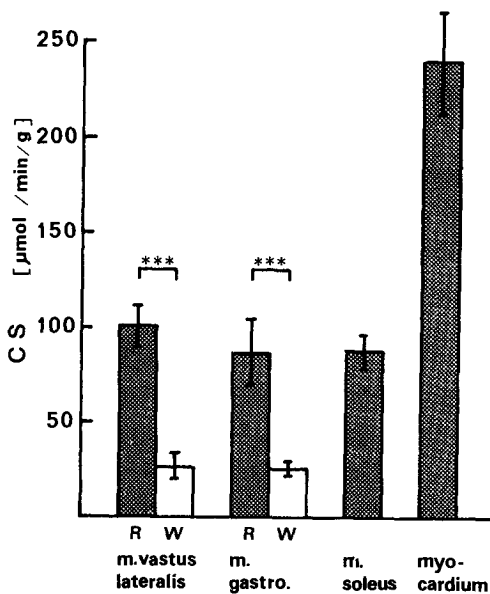


Fig. 3. Citrate Synthase activity in murine skeletal and cardiac muscles. See Fig. 1. for symbols.

Fig. 4 は Mb 含量と HK 活性値との関係を見たものである。両者の間には高い相関 ( $r = 0.912$ ,  $n = 60$ ,  $P < 0.001$ ) がみられ、赤筋部では筋の代謝活性が高いことを示している。Fig. 5 は同様に Mb 含量と CS 活性値との関係を見たものである。両者の間には高い相関 ( $r = 0.856$ ,  $n = 60$ ,  $P < 0.001$ ) がみられ、赤筋部では有酸素的代謝能が高いことが示唆された。

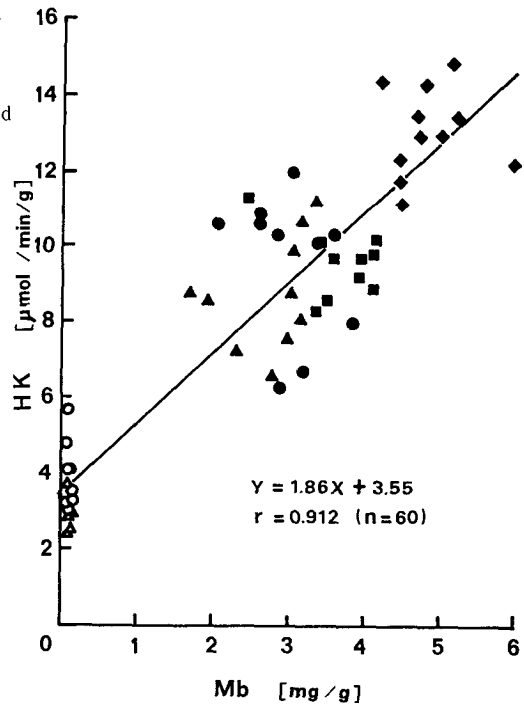


Fig. 4. Correlation of hexokinase activity to myoglobin content in murine skeletal and cardiac muscles; red part of m. vastus lateralis (●), white part of m. vastus lateralis (○), red part of m. gastrocnemius (▲), white part of m. gastrocnemius (△), m. soleus (■), and cardiac muscle (◆).

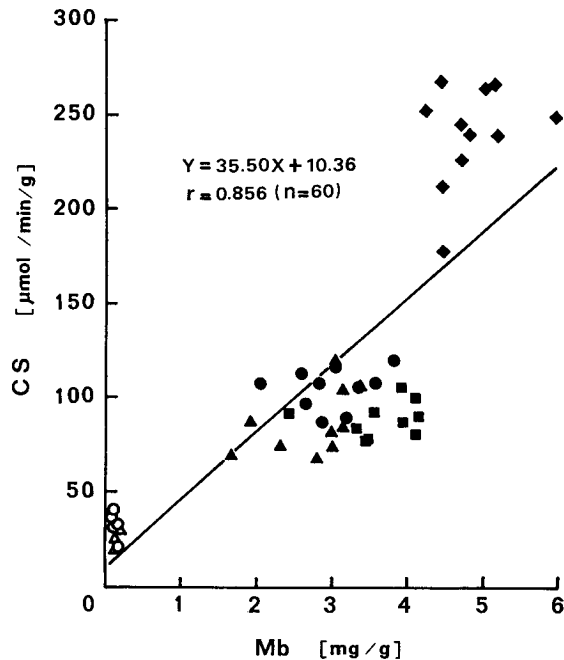


Fig. 5. Correlation of citrate synthase activity to myoglobin content in murine skeletal and cardiac muscles. See Fig. 4. for symbols.

## 考 察

今回、有酸素代謝能の指標として Mb 含量及び CS 活性を、また代謝活性の高さの指標として HK 活性を用い、いくつかの筋について比較検討したところ、外側広筋深部（赤筋部）、腓腹筋深部（赤筋部）、ヒラメ筋（赤筋）では外側広筋表層部（白筋部）、腓腹筋表層部（白筋部）より高い値が、また心筋においてはいずれの測定項目についても骨格筋と比較し著しく高い値が得られた。

骨格筋はその色の違いにより赤筋及び白筋に分類される。この色の違いは主に骨格筋に存在する Mb 含量の違いによるものである。骨格筋はまたその収縮特性より速筋と遅筋に分類される。Barnard ら<sup>2)</sup>は色の違いと収縮特性との組合せにより骨格筋線維を slow twitch red, fast twitch red と fast twitch white の 3 つに分類した。さらに Peter ら<sup>6)</sup>は組織化学的な方法を用い骨格筋線維を slow twitch oxidative fiber (SO 線維), fast twitch oxidative glycolytic fiber (FOG 線維), fast twitch glycolytic fiber (FG 線維) の 3 つに分類し、現在この分類法は最も良く用いられている。それぞれの線維は次のような特徴を持つ；1) SO 線維は収縮速度が遅いが Mb 含量が高く有酸素代謝に優れ筋疲労がおこりにくい；2) FG 線維は収縮速度が速く Mb 含量が少なく無酸素代謝（解糖系）に依存し、すぐに筋疲労を起こす；3) FOG 線維は Mb 含量が高く有酸素代謝に優れ、SO 線維と同様疲労しにくい収縮速度も速く解糖系の代謝にも優れてい

る。骨格筋はこれら3種類の筋線維より成り立っており、各筋線維の構成比率によって収縮特性や代謝特性が異なってくるものと考えられる。

マウスと同じく齧歯類に属するモルモットについてみると、外側広筋深部においてはFOG線維が約80%、FG線維が20%と酸化的能力に優れる線維が多く、逆に表層部においてはFG線維が70%と解糖系に依存する線維が多く存在すること、またヒラメ筋ではSO線維が100%であることが報告されている<sup>6)</sup>。マウスにおいても腓腹筋深部ではSO線維が20%、FOG線維が40%、FG線維が40%に対して表層部ではほとんどがFG線維であること、ヒラメ筋ではSO線維が47%、FOG線維が43%、FG線維が10%とモルモットとほぼ同様の結果が得られている(未発表データ)。今回外側広筋深部、腓腹筋深部、ヒラメ筋においてはMb含量、HK活性、CS活性に高い値が得られたが、これは筋線維タイプの構成比とよく一致するものである。このことから、外側広筋深部、腓腹筋深部及びヒラメ筋は酸素を用いる有酸素的代謝能に優れ、姿勢保持など持久的な運動に適し、外側広筋表層部及び腓腹筋表層部は無酸素的な代謝に依存し、疲労しやすいが瞬発的な運動に適するものと言える。このように、骨格筋の違いによりまた同一筋内に於いても部域により代謝特性や収縮特性が異なると言えるものの、なぜ深部に有酸素的代謝に依存する持久的な筋が存在し、表層部には主に解糖系に依存する速筋が存在するかについては明らかではない。

心筋についてはMb含量および酵素活性とも骨格筋に比較し著しく高い値が得られた。ラット<sup>3)</sup>、ウサギ<sup>3)</sup>、ネコ<sup>7)</sup>においても同様の結果が報告されている。これは心筋が常に休むことなく動き続ける筋であり酸素を十分に利用し有酸素的代謝により大きなエネルギーを得る必要があるためと考えられる。

ヘム蛋白の1つであるMbの構造や機能については数多くの研究がなされ、その生理的機能としては1) 酸素貯蔵機能<sup>10)</sup>、2) 酸素の促進拡散機能<sup>12)</sup>、3) ある種の触媒機能<sup>13)</sup>などがあげられるがいまだに明確ではない。しかし、Fig. 4やFig. 5に見られるようにMb含量がHK活性や有酸素的代謝能の指標として一般に用いられるCS活性との間に高い相関があること、また、マウスの骨格筋においてMb含量と毛細血管密度との間に相関関係が認められること(未発表データ)から、Mbは骨格筋や心筋における有酸素的代謝と密接な関係を持ち、特に血液(ヘモグロビン)から組織への酸素供給に関し重要な役割を果たすものと考えられる。

## 摘 要

15週令のICR系雄マウスを用い、外側広筋の深部(赤筋部)と表層部(白筋部)、腓腹筋の深部(赤筋部)と表層部(白筋部)、ヒラメ筋及び心筋におけるMb含量、HK活性値、CS活性値を比較検討し、以下の結果を得た。

1. Mb含量は、外側広筋深部及び腓腹筋深部がそれぞれの表層部に対し有意( $P<0.001$ )に高く、いずれの筋も深部と表層部の間に約30倍の差がみられた。ヒラメ筋では外側広筋深部や腓腹筋深部よりさらに高い値を示した。また、心筋は最も高い値であった。

2. HK活性値は、外側広筋深部及び腓腹筋深部がそれぞれの表層部に対して有意( $P<0.001$ )に高く、外側広筋では2.5倍、腓腹筋で2.8倍の差がみられた。ヒラメ筋は外側広筋深部、腓腹筋深部とほぼ同様の値を示した。また、心筋は最も高い値であった。

3. CS活性値は、外側広筋深部及び腓腹筋深部がそれぞれの表層部に対し有意( $P<0.001$ )

に高く、外側広筋では4倍、腓腹筋では3.5倍の差がみられた。ヒラメ筋は腓腹筋深部とほぼ同じ値であったが、心筋では著しく高い値がみられた。

4. 測定した全ての筋におけるMb含量とHK活性値との間には $r=0.912$  ( $n=60$ ) の高い相関が、また、Mb含量とCS活性値の間にも $r=0.856$  ( $n=60$ ) の高い相関が得られた。

## 文 献

- 1) Baldwin, K. M., W. W. Winder, R. L. Terjung, and J. O. Holloszy. Glycolytic enzymes in different types of skeletal muscle: adaptation to exercise. *Am. J. Physiol.* 225(4): 962-966, 1973.
- 2) Barnard, R. J., V. R. Edgerton, T. Frukawa, and J. B. Peter. Histochemical, biochemical, and contractile properties of red, white, and intermediate fibers. *Am. J. Physiol.* 220(2): 410-414, 1971.
- 3) Bass A., D. Brdiczka, P. Eyer, S. Hofer, and D. Pette. Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. *European J. Biochem.* 10: 198-206, 1969.
- 4) Harms, S. J., and R. C. Hickson. Skeletal muscle mitochondria and myoglobin, endurance, and intensity of training. *J. Appl. Physiol.* 54(3): 798-802, 1983.
- 5) 中谷 昭. 加齢ならびに運動とマウス骨格筋, 心筋ミオグロビン含量の変動. *日本生理誌* 50(11): 709-718, 1988.
- 6) Peter, J. B., R. J. Barnard, V. R. Edgerton, C. A. Gillespie, and K. E. Stempel. Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry* 11(14): 2627-2633, 1972.
- 7) Reis, D. J., and G. F. Wooten. The relationship of blood flow to myoglobin, capillary density, and twitch characteristics in red and white skeletal muscle in cat. *J. Physiol.* 210: 121-135, 1970.
- 8) Reynafarje, B. Simplified method for the determination of myoglobin. *J. Lab. Clin. Med.* 61: 138-145, 1963.
- 9) Srere, P. A. Citrate synthase. *Methods in Enzymol.* 13: 3-6, 1969.
- 10) Theorell, H. Kristallinisches Myoglobin. V. Mitteilung: Die Sauerstoffbindungskurve des Myoglobins. *Biochem. Z.* 268: 73-82, 1934.
- 11) Uyeda, K. and E. Racker. Regulatory mechanisms in carbohydrate metabolism. VII. Hexokinase and phosphofructokinase. *J. Biol. Chem.* 240: 4682-4688, 1965.
- 12) Wittenberg, J. B. Myoglobin-facilitated oxygen diffusion: Role of myoglobin in oxygen entry into muscle. *Physiol. Rev.* 50: 559-636, 1970.
- 13) Wu, C. S. C., P. Duffy, and W. D. Brown. Interaction of myoglobin and cytochrome c. *J. Biol. Chem.* 247: 1899-1903, 1972.