

運動・スポーツ習慣による肥満における膵消化機能改善に関する研究
 渕 久美子, 代谷陽子, 北村裕美
 和洋女子大学

Does exercise training improve the exocrine pancreas of Zucker Fatty rats?

MINATO, Kumiko, SHIROYA, Yoko, KITAMURA Hiromi
 Wayo Women's University

Aim

The purpose of the present study was to investigate whether exercise training improved the exocrine pancreas of Zucker Fatty rats.

Methods

Male Zucker Lean rats (age, 6 weeks) were used as control (LC; n=7). Male Zucker Fatty rats (age, 6 weeks) were divided into a Fatty-Obese (F0; n=7), a Fatty-Diet Restriction (FDR; n=8), and a Fatty-Training (FT; n=8) groups. The LC and the F0 rats had free access to food, the FDR and the FT rats had food intake restricted to 70% and 74% of the F0 group level, respectively. Final body weight was matched between the FDR and the FT groups. The FT rats were exercised voluntarily on the wheel ergometer with a load of 30% of their body weight every day. After 6 weeks, the pancreas were excised and weighed. Protein content and amylase activity in pancreatic tissue were measured. Pancreatic tissues were prepared for transmission electron microscopy and microscopy.

Results & Discussion

Body weight in the LC group was significantly lower than in the Fatty groups. Body weight in the F0 group was greater than in the FDR and the FT groups. Serum glucose and insulin concentrations in the F0 groups were higher than in the LC and the FT groups. Serum insulin in the FDR group was lower than in the F0 group, but glucose was not. Serum triglyceride and total cholesterol concentrations in the F0 and the FDR groups were higher than in the LC and the FT groups. Pancreatic protein content in the F0 and the FDR groups was lower than in the LC and the FT groups. Pancreatic amylase activity in the F0 and FDR groups was lower than in the LC and the FT groups. CCK resistance of acinar cells in Zucker F0 rats could be suppressed by exercise training.

Conclusion

Exercise training might be effective to improve the exocrine pancreas in Zucker Fatty rats by enhanced CCK sensitivity of pancreatic acinar cells with exercise training.

1. 緒言

肥満の改善に対する習慣的な運動・スポーツ活動の効果について、膵の消化機能を中心に検討する。これまでに我々は、運動習慣と膵消化機能との関連について検討し、有酸素的な運動習慣によって、膵の蛋白含量や消化酵素活性が増加し¹⁾、消化酵素を合成する膵腺房細胞が肥大すること²⁾、コレシストキニン刺激による膵酵素分泌反応が亢進する³⁾ことなど、運動習慣によって膵消化機能が亢進することを見だしてきた。

一方、肥満や糖尿病によって、膵消化機能である外分泌機能が低下することが知られている。膵酵素含

量や膵酵素の分泌を刺激するホルモン、コレシストキニン (CCK) と同様のCCK-8刺激による膵分泌反応は、正常ラットに比較して明らかに低下している⁴⁾。また、ヒトにおいても肥満者では血中の膵酵素活性が低値を示し、これは膵での分泌が少ないと起因し、肥満の改善に伴って血中膵酵素活性値も増加したことが報告されている⁵⁾。そこで、本研究では膵消化機能の低下が確認されている肥満に対する運動習慣の効果を、遺伝的肥満モデルラットを用いて検討した。

2. 方法

実験動物： 実験動物には遺伝的肥満ラット Zucker の雄ラット 5 週齢 30 例を用い、室温約 21°C、12 時間明暗サイクルで個別ケージ内で飼育した。1 週間の予備飼育の後、体重が均等になるように群別した。飼料には、オリエンタル酵母工業(株)のNMF を用いた。コントロールラットには Zucker ラットのうち肥満を示さない Zucker Lean ラット 7 例 (LC) を用いた。肥満を示す Fatty ラットを、飽食条件で飼育した Fatty Obese 群 7 例 (FO)，制限摂餌で飼育した Fatty Diet Restriction 群 8 例 (FDR)，運動トレーニングを負荷して FDR 群と同様の体重になるように制限摂餌とした Fatty Training 群 8 例 (FT) の合計 4 群別した。

LC 群、FO 群には自由摂食条件で飼育した。FDR 群には、その摂餌量が FO 群の摂餌量の 70% 程度となるように制限して給餌した。FT 群には、体重の 30% の負荷をかけた加負荷式回転自発運動量測定装置内で飼育し、自発走を毎日負荷し、さらに、最終体重が FDR 群の体重と同様になるように制限して給餌した。飲料水は水道水の自由摂取とした。餌とトレーニングの介入は 6 週間実施した。実験動物の管理は「実験動物の飼養および保管に関する基準」(昭和 55 年 3 月総理府布告第 6 号) に則り行われた。

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、腹部大静脈より採血した後、全膵組織、ヒラメ筋組織、副睾丸周囲脂肪組織を摘出し、湿重量を測定した。膵組織は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、上清中の蛋白濃度、アミラーゼ活性値を測定した。血液は遠心分離後、血清中のグルコース、インスリン、トリグリセリド、総コレステロールを測定した。

光学顕微鏡資料の作成： 膵組織片を 20% ホルムアルデヒド溶液で固定し、外注 (SRL 東京メディカル) にて薄切片を作成、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、光学顕微鏡で観察した。

電子顕微鏡試料の作製： 膵組織片を 2.5% グルタールアルデヒド、1% オスマウム酸固定後、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、透過型電子顕微鏡にて観察した。

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、4 群間の有意差検定には一元配置の分散分析 (ANOVA) を実施し、その結果が有意の場合には、各群間の比較に Fisher's PLSD を用いた。危険率 5 % 未満 ($p < 0.05$) をもって有意と判定した。

3. 結果

図1に、実験期間中の群別平均体重の変化を示した。実験開始時 (6 週齢時) に LC 群と Fatty の 3 群にはすでに差が認められ、週齢を追うに従って飽食条件の LC 群と FO 群の差は拡大した。制限摂餌とトレーニング条件を加えた FDR 群と FT 群は体重の増加が緩やかであった。FDR 群と FT 群の最終体重には有意差は認められなかった。

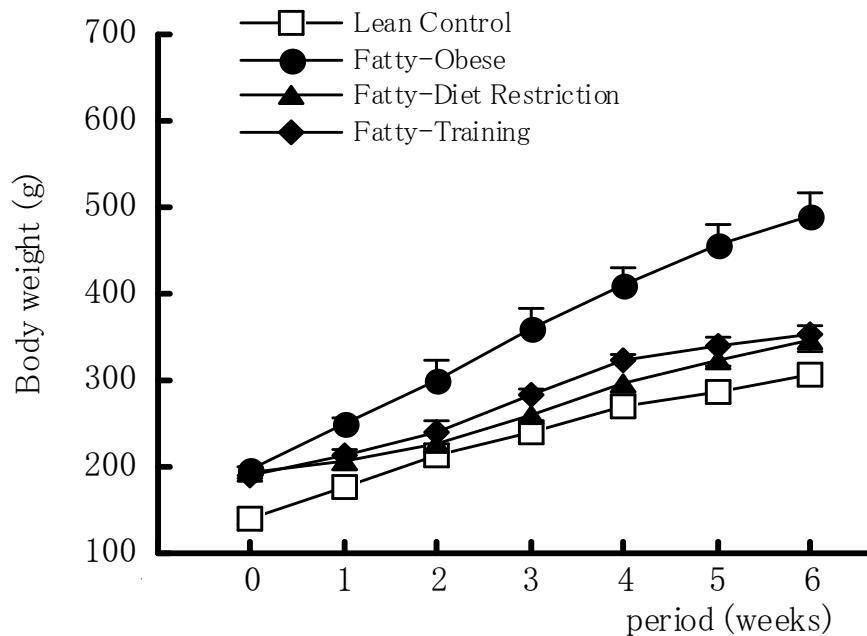


Fig. 1 Changes in body weight during experimental period.

表1に実験時の体重、1日あたりの平均摂餌量、FT群の平均走行量、ヒラメ筋と副睾丸周囲脂肪の組織重量について、各群の平均値と標準偏差、ANOVAの結果を示した。

体重は、飽食の肥満ラットでは他の群より有意に重く、明らかな差があった。FDR群とFT群の2群間には有意な差は認められず、設定した群別が実現していた。LC群はFattyの3群とそれぞれ有意差が認められた。

摂餌量は4群間にいずれも有意な差が認められ、FDR群 およびFT群の平均摂餌量は、FO群のそれぞれ 69.7%、74.1%であった。

Table 1 Body weight, food intake, running distance, and tissue weights in the 4 groups.

	Lean Control (n=7)	Fatty-Obese (n=7)	Fatty- Diet Restriction (n=8)	Fatty-Training (n=8)	ANOVA
Body weight (g)	289.9±8.2	454.4±23.1 ^a	330.3±9.7 ^{a,b}	335.9±8.7 ^{a,b}	p<0.05
Food intake (g/day)	21.2±1.0	34.0±2.4 ^a	23.7±0.3 ^{a,b}	25.2±1.1 ^{a,b,c}	p<0.05
Voluntary running distance (m/day)	-	-	-	2526.6±807.0	-
Muscle soleus weight (mg/gBW)	0.432±0.045	0.244±0.012 ^a	0.238±0.018 ^a	0.342±0.060 ^{a,b,c}	p<0.05
Fat pad weight (mg/gBW)	4.4±1.1	15.1±1.5 ^a	17.9±1.2 ^{a,b}	13.7±2.0 ^{a,c}	p<0.05

Data are shown as mean ± SD

^a: p<0.05 vs Lean C group
^b: p<0.05 vs Fatty-OB group
^c: p<0.05 vs Fatty-DR group

FT群の回転運動装置による平均自発走行量は1日あたり約2.5kmであった。

ヒラメ筋重量は、LC群に比較してFattyの3群は有意に少なかったが、FT群は運動トレーニングの影響からFO群、FDR群に比較して有意に多かった。

副睾丸周囲脂肪組織重量は、LC群に比較してFattyの3群は有意に多かった。最も多かったのはFDR群で、他の3群に比較して有意に多かった。

表2に血清中のインスリン、グルコース、トリグリセリド、総コレステロール値について、各群の平均値と標準偏差を、ANOVAの結果を示した。

インスリンとグルコースは、LC群に比較してFattyの3群は有意に高かった。インスリンはFO群に比較して減量したFDR群とFT群は有意に低かったが、グルコースはFDR群ではFO群とは有意差は認められず、運動トレーニングを実施したFT群のみFO群と比較して有意に低値を示した。

血中脂質（トリグリセリド、総コレステロール）もLC群に比較してFattyの3群は高かったが、制限摂餌によって減量したFDR群ではFO群と同様に高値を示し、特に総コレステロールではさらにFO群より有意に高かった。運動トレーニングを実施したFT群のみFO群と比較して有意に低値を示し、トリグリセリドは、LC群と有意差が認められないレベルとなった。

Table 2 Serum profile in the 4 groups.

	Lean Control (n=7)	Fatty-Obese (n=7)	Fatty-Diet Restriction (n=8)	Fatty-Training (n=8)	ANOVA
Insulin (ng/ml)	3.24±2.01	15.12±5.12 ^a	8.72±0.66 ^{a,b}	7.30±1.42 ^{a,b}	p<0.05
Glucose (mg/100ml)	158.5±19.5	312.4±75.5 ^a	268.7±39.4 ^a	241.8±30.4 ^{a,b}	p<0.05
Triglyceride (mg/100ml)	59.7±13.8	677.1±220.1 ^a	667.6±372.4 ^a	295.6±58.1 ^{b,c}	p<0.05
T-cholesterol (mg/100ml)	65.7±15.2	148.8±33.4 ^a	203.6±44.7 ^{a,b}	111.3±18.5 ^{a,b,c}	p<0.05

Data are shown as mean ± SD

^a: p<0.05 vs Lean C group
^b: p<0.05 vs Fatty-OB group
^c: p<0.05 vs Fatty-DR group

図2に、臍の湿重量を絶対重量と体重1gあたりの重量で各群別に示した。LC群に比較してFattyの3群は低値を示し、肥満ラットでは臍の萎縮が認められた。運動トレーニングを実施したFT群は、臍重量がFO群、FDR群に比較して高値を示し、絶対重量のFO群との比較を除いていずれも有意な高値であった。また、制限摂餌のみを介入したFDR群の臍の絶対重量はFO群よりも低値を示し、最も萎縮が顕著であった。

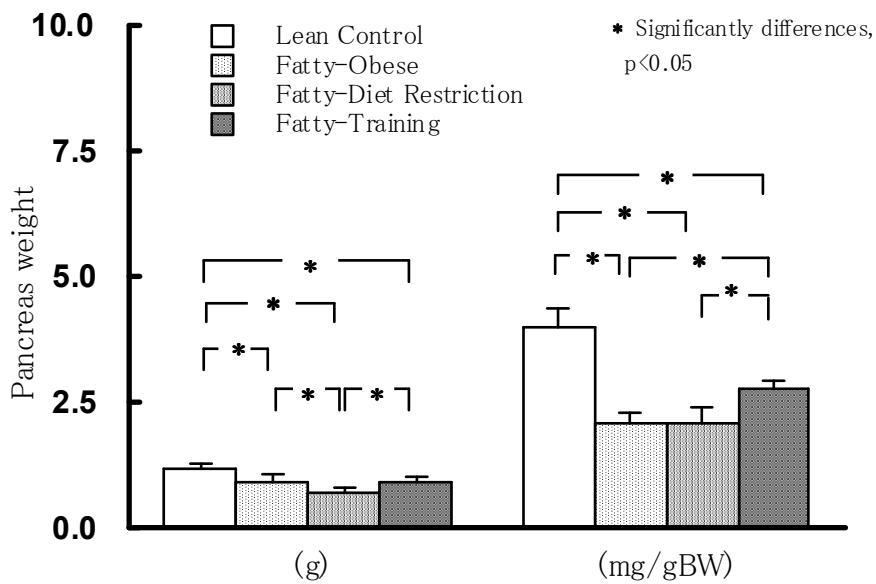


Fig. 2 Pancreas weight in the 4 groups.

図3に膵蛋白含量を膵組織重量あたりと全膵組織あたりの含量で各群別に示した。LC群に比較してFO群、FDR群は蛋白含量が低値を示し、全膵組織あたりの含量では有意に低値であった。一方、運動トレーニングを実施したFT群ではLC群と同程度で、いずれも有意差は認められなかった。

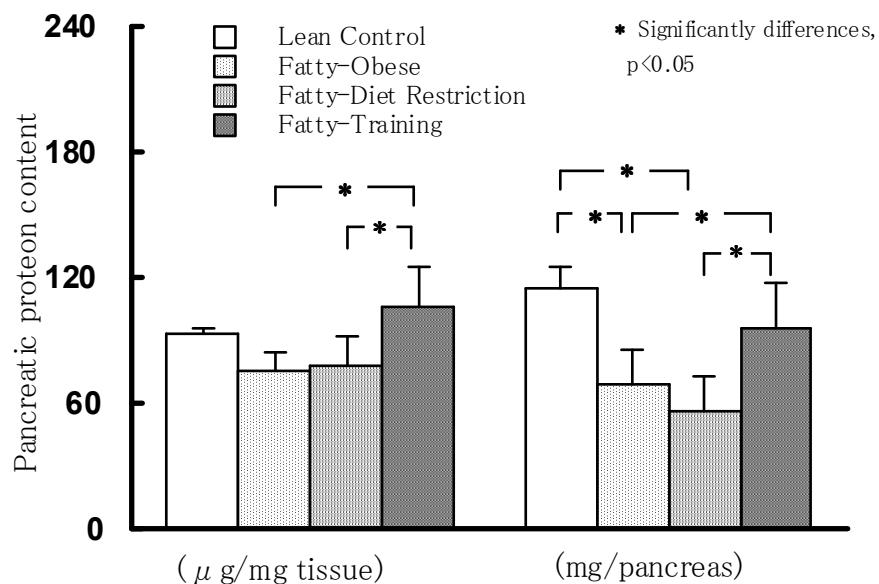


Fig. 3 Pancreatic protein content in the 4 groups.

図4に膵アミラーゼ活性値を膵組織1mgあたりと全膵組織あたりで各群別に示した。LC群に比較して、FO群、FDR群では有意に低値を示したが、運動トレーニングを実施したFT群はFO群、FDR群に比較して有意に

高値を示し、明らかにトレーニングによる効果が認められた。

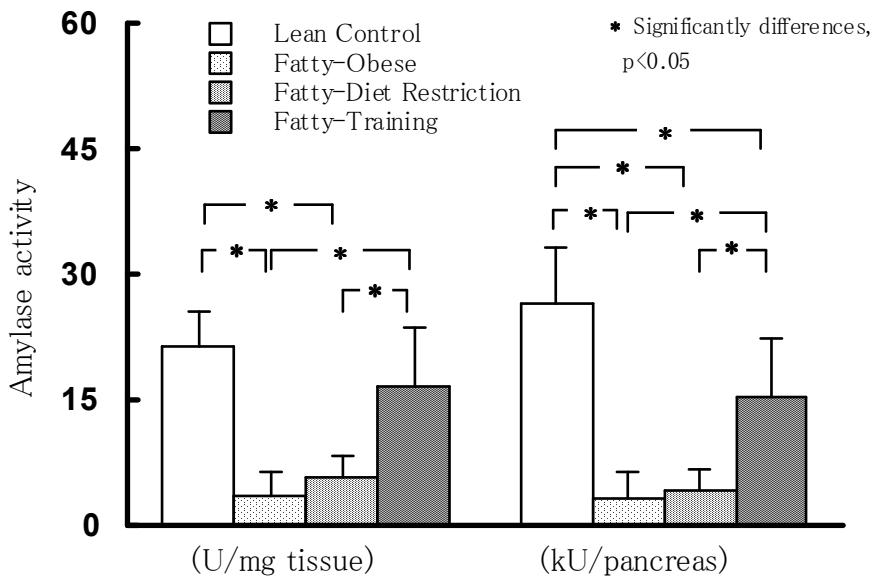


Fig. 4 Pancreatic amylase activity in the 4 groups.

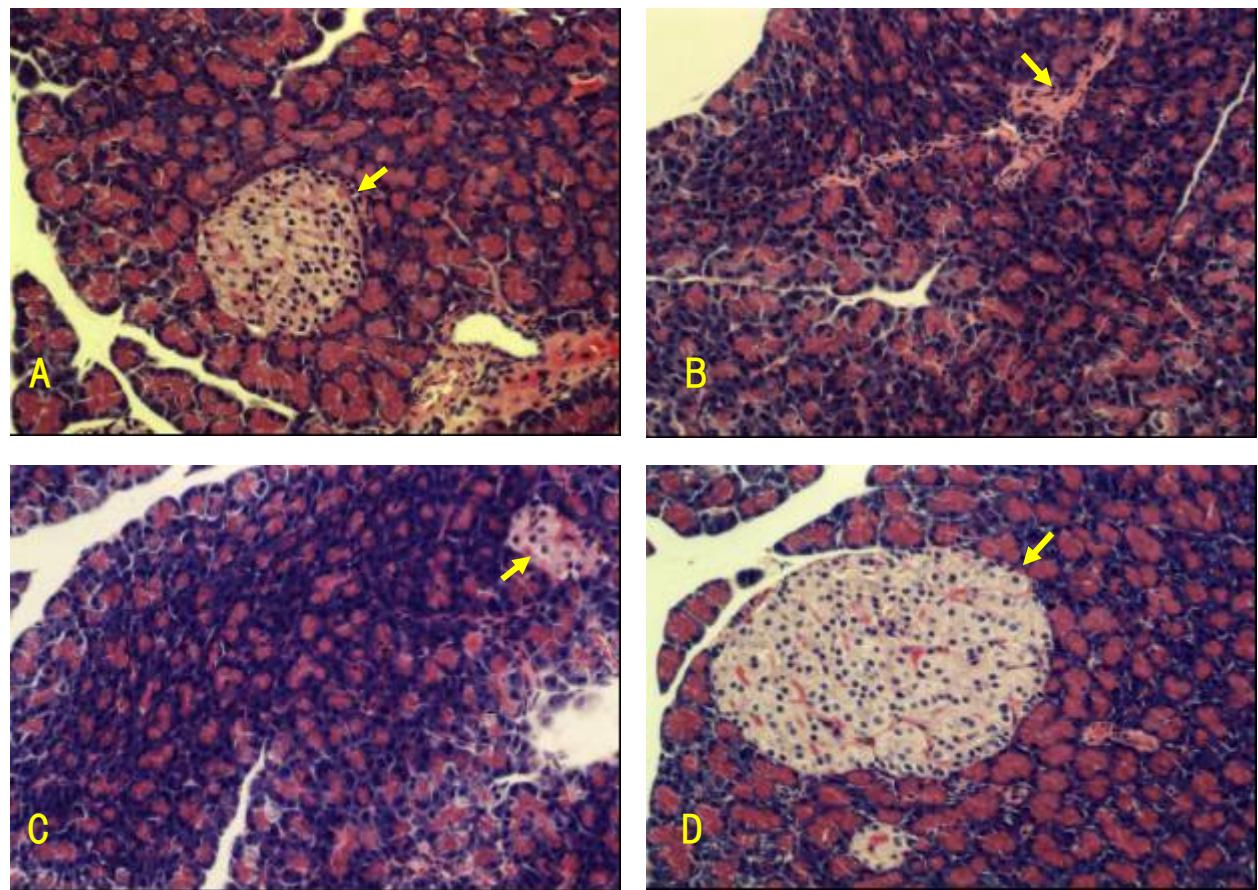


Fig. 5 Micrographs of pancreatic tissue taken from the rats in the LC (A), FO (B), FDR (C), and FT (D) groups. Arrows indicate Langerhans islets. ($\times 20$)

図5に膵組織の光学顕微鏡像を示した。

LC群 (A) のラットの膵組織像には、外分泌細胞である膵腺房細胞が複数個集合した腺房が密に詰まって存在している中に、内分泌細胞が集合している球形の膵島が確認され、典型的な膵組織像が観察された。

F0群 (B), FDR群 (C) のラットの像では、膵腺房細胞の構成する腺房の形状が不明確で小さく、膵島も整った球形ではなく、細胞群の形状が明確でなく崩れていることが多かった。また、細胞間に白い隙間がある部分があり、膵の組織内への脂肪組織の混入が疑われた。

FT群のラットの像では、このような異常な像はほとんど観察されなかった。LC群と同様の整った膵島が認められ、腺房の形状や大きさも保たれていた。

図6にLC群のラットの膵腺房細胞の電子顕微鏡像を示した。

LC群のラットの腺房細胞像には球形の核がやや基底側に存在し、細胞質内には粗面小胞体が密に配列し、その間にミトコンドリアが散在していた。また、合成した消化酵素を貯蔵する分泌顆粒である酵素顆粒 (Zymogen granules) が核から腺腔方向に多数観察され、典型的な蛋白合成細胞の像が得られた。

写真は示していないが、F0群の像では細胞の大きさが小さく、粗面小胞体が膨化して隙間のある細胞が認められた。また、細胞内のところどころに、脂肪滴が観察された。FDR群のラットの像では酵素顆粒の大きさが小さく、細胞質内に脂肪滴が多数観察される細胞が確認された。一方、FT群のラットの像では、細胞の大きさはLC群と同程度で、細胞質内の粗面小胞体が密に配列し、脂肪滴が少なく、酵素原顆粒が増加している正常な細胞像が多く観察された。

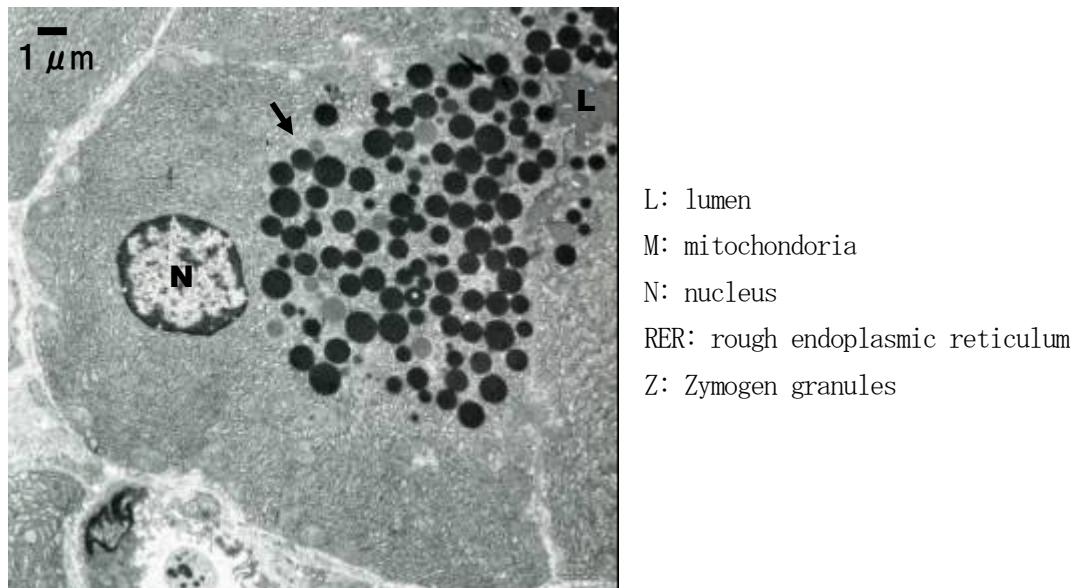


Fig. 6 Electron micrograph of acinar cells in the rat pancreas from the LC group.

4. 考察

本研究では、遺伝的肥満のZucker Fatty Ratを用いて、肥満による膵外分泌機能の顕著な低下を確認した。そして低下した膵外分泌機能は、減食のみによる減量では改善せず、減食と有酸素的トレーニングに

による減量によって改善することが確認された。

本研究で用いた有酸素トレーニングは、ラットの自発的な走運動によるトレーニングで、運動強度は高くないが、走行距離や走行時間が多いために総運動量が多くなるトレーニングである。今回用いたラットでは、これまで報告してきた小型のラットの平均走行量（約5.2km）⁶⁾に比較すると、約50%の走行量であったが、ヒラメ筋重量の増加や、血中脂質の改善効果などから、有酸素トレーニングとして有効であったと考えられた。

特に、血中脂質の結果では、副睾丸周囲脂肪組織重量の結果では運動トレーニングの明確な影響は認められなかつたにもかかわらず、肥満によって明らかに高くなつた血中トリグリセリド、総コレステロールとも有酸素トレーニングによる大きな改善効果が認められ、興味深い結果であった。また、減食のみによる減量では、副睾丸周囲脂肪組織重量、血中脂質とも、肥満によって明らかに高かつた飽食の肥満群よりもさらに高い結果が得られ、臍の電子顕微鏡像においても脂肪滴の多い細胞が確認されるなど、減食のみの減量は体内脂質代謝の改善には効果が認められなかつた。この機構は本研究では明確にはできないが、低栄養による脂肪肝の促進など、栄養不足による脂質代謝異常と同様の機構が推察された。

これまでにも、多くの研究者が減食による減量と運動トレーニングによる減量について比較して、身体組成の改善や、減量とともに体力の維持、増進を目的にした減量では、運動トレーニングの実施が必要不可欠であることを指摘している。本研究においても、減食による減量の際に、運動トレーニングを実施する意義について、組織内の脂肪蓄積の観点からも明確となった。

血中グルコースとインスリンも肥満によって高値を示し、減食のみによる減量ではグルコースの改善は明確ではなく、運動トレーニングを実施した群で改善が認められ、運動トレーニングは糖代謝改善においても効果が高かつた。一方で、インスリンの結果では、減食のみの減量においても改善効果が認められており、インスリン抵抗性の改善には減食のみの減量も有効であることが示された。

臍の外分泌機能は、肥満によって低下することが確認されており⁴⁾、本研究においても、臍の萎縮、低下した蛋白含量、消化酵素活性とともに、臍組織の形態学的異常が観察された。臍組織の光学顕微鏡像によって、腺房の配列状態や形状の異常や、腺房の大きさの萎縮などが明らかとなつた。同時に光学顕微鏡像から、内分泌細胞群においても、肥満によって臍島の形状が崩壊する異常が起こることが確認できた。また、腺房細胞の電子顕微鏡像から、細胞の萎縮や粗面小胞体の乱れ、少ない酵素顆粒などが確認された⁷⁾。

減量によるこれらの臍外分泌機能の異常の改善についてみると、減食のみによる減量ではほとんど改善は認められなかつた。一方、運動トレーニングを実施したラットでは、これまでの報告¹⁾²⁾³⁾と同様に、臍重量、臍蛋白含量、臍酵素活性が高く、運動トレーニングによる改善効果が確認された。また、臍組織の光学顕微鏡像においても、運動を実施したラットでは非肥満ラットと同様の腺房の配列や形状が観察され、臍腺房細胞の電子顕微鏡像では、発達した粗面小胞体とともに、数多くの酵素顆粒のある大きな細胞が観察された⁷⁾。

運動トレーニングによる臍外分泌機能の亢進の機構について、臍酵素の合成や分泌を調節しているホルモンであるCCKの関与について、CCKの阻害剤を投与したラットでは、運動トレーニングの影響が抑制されることを確認しており、運動はCCKの感受性を亢進する可能性があると考えている⁸⁾。本研究の結果は、肥満によって低下したCCKの感受性が運動トレーニングによって改善することを示していると考えられる。

臍におけるCCKの感受性の亢進は、減量、すなわち「超過した体重を減らすこと」が関与して起こるのではなく、運動トレーニング自体、すなわち「運動を習慣的に実施すること」が関与して起こるのではないかと推察される。運動習慣を伴わない減食のみによる減量によってインスリン抵抗性は改善していたこと

から考えると、この点、インスリンとは異なる機構が推察される。

以上の結果から、肥満によって低下した臍外分泌機能を改善するには、運動習慣が必要不可欠であることが示された。肥満の改善には体重を減少させるために食事療法が必要であるが、体重の減少だけでなく、身体組成、組織細胞内の脂肪蓄積、インスリン抵抗性、血中脂質、耐糖能、臍外分泌機能などを改善していくには、食事療法のみでなく同時に運動習慣をもつことが非常に重要であることを指摘したい。

臍外分泌機能が低下することが確認されている高齢者や、激しいトレーニング活動のために多量の食物を摂取するアスリートでは、しばしば消化機能不良のために食事の摂取量が減少し、身体や身体活動量に見合った栄養摂取ができずに栄養不良になり、体調不良を起こすことが認められている。本研究の結果から、食物摂取量が低下する高齢者が日常生活中の身体活動量を増加させることによって臍外分泌機能を亢進させ、消化機能を保持させて食物摂取量を確保し、栄養不良を予防できる可能性がうかがわれる。また、消化機能が低下したアスリートでは、休養をとると同時に適切なトレーニング量を確保することによって臍外分泌機能を回復させ、維持していくことが重要であると考えられる。

一般に、運動習慣による身体への効果は、筋や骨格などの運動器や呼吸循環器系へのトレーニング効果が重要視されているが、身体組成や脂質代謝、耐糖能にとどまらず、消化機能などの植物性機能への影響も非常に大きいことが推測される。今後、運動習慣の効果の機序について、このような分野の詳細な解明が望まれる。

5. 要約

本研究では臍消化機能の低下が確認されている肥満の臍消化機能改善に対する運動習慣の効果を検討した。遺伝的肥満モデルラットのZuckerラットを対象に、非肥満(lean)ラット7例(LC)、肥満(Fatty)ラット23例を、飽食条件で飼育したFatty Obese群7例(FO)、制限摂餌(FO群の70%摂餌量)で飼育したFatty Diet Restriction群8例(FDR)、運動トレーニング(30%体重負荷の自発回転走運動)を負荷してFDR群と同様の体重になるように制限摂餌としたFatty Training群8例(FT)の合計4群別し、6週間介入した。血液性状、臍消化機能項目などを検討し、以下の結果を得た。

1. 肥満ラットは非肥満ラットに比較して摂餌量が有意に多く、体重増加が著しかったが、制限摂餌とトレーニングによって、体重増加抑制が認められた。
2. 各群の1日あたりの平均摂餌量は各群間に有意差が認められ、FO、FT、FDR、LC群の順に多かった。
3. FT群の平均自発走行量は1日あたり約2.5kmであった。
4. 血中脂質は非肥満ラットに比較して肥満ラットでは有意に高く、制限摂餌のみ(FDR群)では高値が改善されずさらに高い傾向があったが、制限摂餌に運動トレーニングの実施(FT群)では、明らかに低値を示し、運動トレーニングの効果が確認された。
5. 血中グルコース、インスリンは、非肥満ラットに比較して肥満ラットでは有意に高く、制限摂餌のみ(FDR群)ではインスリンは改善されていたが、グルコースは高値が継続していた。インスリン抵抗性は制限摂餌のみの介入でも効果が確認されたまた、制限摂餌に運動トレーニングを実施したFT群では、両項目とも低値を示し、運動トレーニングの効果が確認された。
6. 臍消化機能の指標である臍重量、臍蛋白含量、臍酵素活性は、非肥満ラットに比較して肥満ラットでは有意に低値を示し、肥満による臍外分泌機能の低下が確認され、これらの項目は制限摂餌のみでは改善がほとんど認められなかつたが、運動トレーニングを実施したFT群では有意に高値を示し、明らかに改善していた。

7. 膵組織の光学電子顕微鏡像から、肥満による胰腺房と胰島の形態学的異常が観察された。これらの異常は、制限摂餌のみの介入では改善していなかったが、運動トレーニングの実施によって改善していることが観察された。
8. 胰腺房細胞の電子顕微鏡像から、肥満による細胞の萎縮と粗面小胞体の形態学的異常や、脂肪滴の出現などが観察された。制限摂餌のみの介入ラットでは脂肪滴のさらなる増加などが観察された。一方、運動トレーニングを実施したラットでは、脂肪滴の消失、細胞の肥大、酵素原顆粒の増加などが観察された。

以上の結果から、運動習慣によって、肥満によって低下した胰消化機能、すなわち胰外分泌機能を改善できることが明確に示された。また、肥満の改善には体重を減少させるために食事療法が必要であるが、体重の減少だけでなく、身体組成、組織細胞内の脂肪蓄積、インスリン抵抗性、血中脂質、耐糖能、胰外分泌機能などを改善していくには、食事療法のみでなく同時に運動習慣をもつことが必要不可欠であることが明らかとなつた。

謝辞

本研究にあたり、研究助成をいただいた (財) ミズノスポーツ振興会に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Minato, K., Effect of endurance training on pancreatic enzyme activity in rats, Eur. J. Appl. Physiol., 76:491–494, 1997.
- 2) Minato, K., Shiroya, Y., Nakae, Y., Kondo, T., The effect of chronic exercise on the rat pancreas, Int. J. Pancreatol., 27:151–156, 2000.
- 3) 湊久美子, 運動と胰臓, 新運動生理学下巻 (宮村実晴編), pp-165–175, 2001. 真興交易医書出版部, 東京.
- 4) Habara, Y., Uehara, A., Takasugi, Y., Namiki, M., Kanno, T., Characterization of secretory responses in exocrine pancreas of genetically obese Zucker rats, Int. J. Pancreatol., 10:237–245, 1991.
- 5) 近藤孝晴, 戸田安士, 佐藤祐造他, 肥満者の体重減少に伴う血清胰酵素の変動, 医学のあゆみ, 119:587–589, 1981.
- 6) Minato, K., Shiroya, Y., Kariya, F., Nakae, Y., Kondo, T., Effects of voluntary training on pancreatic enzyme activity and acinar cells in rats, Jap. J. Physical Fitness & Sports Med., 51:93–100, 2002.
- 7) Minato, K., Shiroya, Y., Matsuzaki, H., Kondo, T., Effect of chronic exercise on the exocrine pancreas in Zucker Fatty rats, Pancreatol., 4:381, 2004.
- 8) 湊久美子, 代谷陽子, コレシストキニン阻害剤投与が運動習慣による胰腺房細胞肥大に及ぼす影響, 和洋女子大学紀要 (家政系編), 40:151–160, 2000.