

脳卒中易発症ラットのコレステロール代謝
と運動トレーニングの影響

安部 孝* 坂元 晃史**
浅見 俊雄*

* 東京大学教養学部

** 昭和大学薬学部

Effect of exercise training on endogenous
cholesterol synthesis in stroke-prone
spontaneously hypertensive rats (SHRSP)

Takashi Abe* , Terufumi Sakamoto**
and Toshio Asami*

* Department of Sports Sciences, College of Arts
and Sciences, University of Tokyo

** School of Pharmaceutical Science, Showa University

Abstract

In this study, we investigated the effect of voluntary exercise on serum and liver cholesterol levels and on hepatic cholesterol biosynthesis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP). The levels of total and high density lipoprotein cholesterol in serum were higher in the exercise group than in the control group. Correspondingly, the [$1-^{14}\text{C}$]-acetate incorporation into liver cholesterol was significantly increased in the exercise group when compared with the control group. These results suggest that endogenous cholesterol synthesis in the SHRSP group was elevated by exercise training.

Key words: exercise, cholesterol synthesis, stroke-prone spontaneously hypertensive rats

I. 緒言

コレステロールは生体膜の構成脂質として膜の流動性や安定性の維持に重要な役割を果たしている。このことは、コレステロールの合成機能をもたない細胞では外因的にコレステロールを添加しないかぎり、細胞は溶解して生存しえないという事実³⁾からもうかがえる。

真核生物の細胞膜には全膜脂質の重量パーセントにして約25%ものコレステロールが含まれ³⁾、膜の恒常性が保たれている。したがって、膜のコレステロール含量あるいはコレステロール/リン脂質比の変動は細胞膜の機能障害の発現に関連していることが予想される。

脳卒中易発症ラット⁹⁾ (Stroke-prone SHR, SHRSP) は高血圧自然発症ラット⁸⁾ (SHR) からさらに選択交配によって分離された系統で、加齢にともなう急激な血圧上昇や、95%以上が脳卒中を発症することなど、本態性高血圧や脳卒中の優れたモデル動物として賞用されている。

最近、このラットの血管平滑筋細胞のコレステロール含量が正常血圧ラットに比べ明らかに低下していることがわかり、このため細胞膜のコレステロールとリン脂質の比も減少していることが報告されている¹⁰⁾。そして、膜コレステロールの低下はSHRSPの体内コレステロール合成能の著しい減少による⁵⁾¹⁰⁾ためであり、このラットがもつ遺伝的に規定された代謝異常に起因する可能性が示唆されている。

我々はこれまで正常ラットを用い、体内コレステロール代謝に及ぼす運動トレーニングの影響について検討してきた。その結果、運動は体内コレステロール代謝を促進させる効果をもつことを認めている¹⁾⁴⁾。もし、SHRSPのコレステロール合成能の低下が血管障害の発症と関連しているとすれば、このラットのコレステロール代謝が運動トレーニングによりどのように影響され、その効果が血管系障害の発症とどう関係するかは興味もたれるところである。

そこで、本研究では自発的運動トレーニングがSHRSPの肝コレステロール生合成に及ぼす影響について検討することを目的とした。

II. 実験方法

A. 実験動物

実験に用いたSHRSPは日本ケミファ(株)研究所より提供されたもので、近畿大学医学部病理学教室のコロニーより分与されたF₅₄を継代選択交配して得られた子孫であった。このラットを1週間予備飼育した後、無作為に運動群(n=10)と対照群(n=10)に分け、生後7週齢より実験に入った。動物は12時間明暗サイクルの恒常温(室温23±1°C)にて飼育し、固型飼料と水道水は自由に与えた。食餌量は各ケージの固型飼料から自由摂取により減少した量を計量し、1週間にラット1匹当りの量を求めた。

B. トレーニング条件

トレーニングには水車式の自由運動装置を用いた。運動群のケージ(26×35×H35cm)にこの運動装置を取り付け、ラットが自発的に回転輪をまわした回数をカウンターに記録させた。対照群は運動量を制限するため運動群よりも小さなケージ(15×21×H15cm)で飼育した。運動群の走行距離は1週間ごとにチェックし、トレーニング期間は10週間とした。

C. 血清および肝コレステロール量

血清中の総およびHDLコレステロールは酵素法(栄研化学キット)により比色定量した。HDLの分離は沈殿法によった。

肝コレステロールの定量は以下のように行った。肝を33% KOHで60分間(70°C)けん化した後、エタノールを加え60分間抽出した。その脂質抽出液にジギトニンを加え、沈殿画分を蒸発乾固し、氷酢酸に再溶解してZaKの変法¹²⁾により発色定量した。

D. ¹⁴C-酢酸の肝コレステロールへのとりこみ

摘出した肝はただちに緩衝液(30mM nicotinamide, 4mM MgCl₂を含む potassium phosphate buffer, pH7.4)で灌流した後、薄片を作った。この肝切片1.5gに¹⁴C-酢酸(Amersham社製, [1-¹⁴C]-acetate, 58.8mCi/mole) 10μCiと上記緩衝液15mlを加え、37°Cにて90分間 incubate した。終了後、ただちに15% KOHで反応を止め、20ml石油エーテルで3回抽出した。この脂質抽出液を一旦蒸発乾固させた後、アセトン:エタノー

ル溶液に再溶解し、ジグトニンを加えてコレステロールを沈殿させ、放射能の測定を行なった。結果はコレステロールmg 当りの放射活性 (cpm/mg cholesterol) で表わした。

テロール量を図1に示した。運動群ラットの総コレステロールは対照群のそれよりも有意に高い値を示した。HDLコレステロールも運動群が有意に高かった。

Table 1. Body weight gain and average weekly food intake

	Body (g)			Food intake (g/week/rat)	
	initial	5 W	10W	5 W	10W
Exercise	134±4	284±7	252±16	146±4**	128±5
Control	138±4	225±9	266±8	118±5	120±4

mean±SE **P<0.01

Ⅲ. 実験結果

A. 体重および食餌量

実験期間中の体重および食餌量の変化を表1に示した。体重はトレーニング5週目、10週目ともに運動群と対照群の間に有意差は認められなかった。エサの摂取量はトレーニング5週目までは運動群が有意に高かったが、5週から10週では両群に有意差はみられなかった。

B. 血清コレステロール量

血清中の総コレステロールおよびHDLコレス

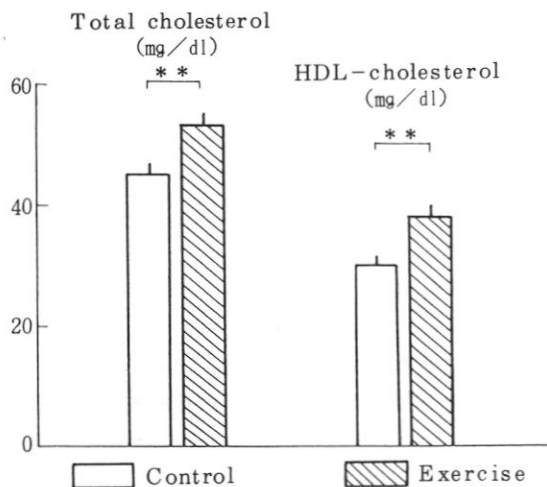


Fig. 1. Amount of total and HDL cholesterol in serum. Values are mean ± SD.

**Exercise trained significantly different from control, P<0.01.

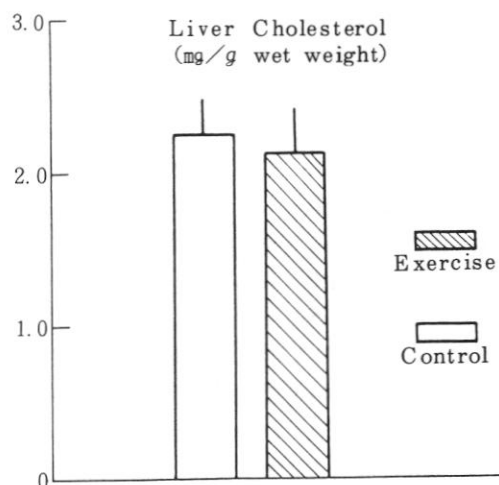


Fig. 2. Amount of total cholesterol in liver. Values are mean ± SD.

C. 肝コレステロール量

肝の総コレステロール量を図2に示した。組織湿重量あたりのコレステロール含量は、対照群に比較し運動群が低値を示す傾向にあったが、両群間に有意差はみられなかった。

D. 肝コレステロールへの¹⁴C-酢酸のとりこみ

In vitroによる¹⁴C-酢酸の肝コレステロールへのとりこみを表2に示した。運動群の比活性は対照群よりも有意な高値を示し、肝コレステロール合成能は運動トレーニングにより亢進することが認められた。

Table 2. Incorporation of 14 C-acetate into liver cholesterol in vitro. ** Exercise trained significantly different from control.

Incorporation of 14 C-acetate into Liver Cholesterol (cpm/mg cholesterol)	
Exercise	488±96 **
Control	147±27
mean±SE	** P<0.01

IV. 考 察

Iritani et al.⁵⁾⁶⁾はSHRSPの体内コレステロール代謝を放射性前駆体を用いて検討している。その報告によると、SHRSPでは正常血圧のWistar-kyoto系ラットに比べ、 14 C-酢酸からの肝コレステロール合成能および 14 C-コレステロールの胆汁酸への異化がともに低下していることを認めている。そして、肝コレステロール合成能の著しい低下がこのラットの血中コレステロールの減少を招来しているものと考察している。

本研究ではSHRSPに自由運動を施したところ、肝コレステロール合成能の亢進と血中コレステロールの上昇が認められた。肝で合成されたコレステロールは胆汁に異化される一方、リポタンパクの構成脂質として血中へ放出される。この肝からのリポタンパクの放出が運動により増加することが報告¹¹⁾されている。本研究の運動ラットにみられた血中コレステロールの上昇は、運動によって肝のコレステロール合成が高まり、肝からのリポタンパクの放出が促進されたためにもたらされたものと考えられる。

一般に正常ラット¹⁾⁴⁾¹¹⁾および実験的高脂血症ラットに運動トレーニングを施すと血中のコレステロール値は減少することが報告されている。これは、体内コレステロール合成系の亢進に対して、血中から組織へのリポタンパクのとりこみ²⁾、細胞内での代謝¹⁴⁾あるいは肝でのコレステロールの胆汁酸への異化¹⁵⁾といった一連の代謝系が促進されるためと考えられている。しかし、SHRSPのコレステロール代謝と運動に関する研究は本研究以外みあたらず、特に細胞内代謝系や肝での異化については不

明である。正常血圧のWistar系ラットでは運動トレーニングにより血中コレステロール値は低下するのに対し、SHRSPではむしろ運動により増加する傾向にあることは合成系の促進にみあった異化系の亢進はみられていないものと考えられた。SHRSPの血中コレステロール値は正常ラットに比べ著しく低下しており⁵⁾、運動群ラットにみられた血中レベルの上昇は末梢細胞の代謝上、合日的な現象なのかもしれない。我々はずぎの実験で、同様に運動トレーニングを行ったSHRSPと安静対照群ラットに 14 C-酢酸をin vivoで投与し、各組織コレステロールへの 14 Cの取り込みについて検討した。その結果、肝では組織重量当りの 14 Cの取り込み、肝コレステロール当りで計算した比活性ともに運動群で高値を示した。しかし、小腸、腎、脾臓、心筋あるいは血清では組織重量当りの取り込みにみれば運動群では高値を示したものの、運動ラットでは組織コレステロール含量が増加していたためコレステロール当りの比活性では変化はみられていない。このことは、運動トレーニングによる血中コレステロール値の上昇に伴って末梢組織でのコレステロール(リポタンパク)の取り込みも増加し、組織コレステロール含量も高まったものと考えられた。今後は体内コレステロールの合成および異化系の酵素や血中リポタンパクとの相互作用についての検討と病理組織学的検索をあわせて、さらに研究をすすめていく必要があるものと思われる。

V. 要 約

SHRSPを用い、コレステロール生合成に及ぼす運動トレーニングの影響についてしらべた。10週間の自由運動トレーニング後、運動群および対照群ラットの肝臓を摘出し、放射性酢酸を前駆体にしたin vitroでのコレステロール合成能を検討した。結果は次のようであった。

1)血清総コレステロールおよびHDLコレステロールは運動ラットで高値を示した。2)肝コレステロールには運動群と対照群の間に有意差はみられなかった。3)肝のコレステロール生合成は運動トレーニングにより促進することが認められた。

以上のように、SHRSPにおいても運動トレー

ニングにより肝のコレステロール生合成は促進したが、血中コレステロール値はそれに伴ない増加しており、肝でのコレステロールの異化排泄には運動トレーニングによる明らかな促進はみられない可能性が示唆された。

本研究の要旨は第76回日本体力医学会関東地方会(1986年2月, 慈恵医大)において発表した。

謝 辞

稿を終るにあたり、本研究に終始御懇切な御指導を与えてくださいました日本体育大学体育生理学研究室 広田公一教授に深厚なる謝意を表します。また、貴重な実験動物を提供していただきました日本ケミファー(株)研究所安全性研究室 文野裕之氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 安部孝, 坂元晃史, 浅見俊雄, 広田公一, 東 恵彦 (1986) ラット体内コレステロール生合成に及ぼす運動トレーニングの影響 日本生理学雑誌 48: 775-782
- 2) 安部孝, 坂元晃史, 浅見俊雄, 広田公一, 東 恵彦 (1986) 動脈壁コレステロール代謝に及ぼす運動トレーニングの影響 未発表資料
- 3) Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D. 著 (中村桂子 松原謙一監訳) 細胞の分子生物学上巻, p.256-319 教育社, 東京 1985
- 4) 広田公一, 東恵彦, 新木敏正, 北博正, 井川正治 (1980) コレステロール代謝に及ぼす身体運動のトレーニング効果 体育学研究 24: 325-332
- 5) Iritani, N., Fukuda, E., Nara, Y. and Yamori, Y. (1977) Lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Atherosclerosis* 28: 217-222
- 6) Iritani, N., Nara, Y. and Yamori, Y. (1982) Cholesterol and bile acid metabolism in hypertensive arteriolipidosis-prone rats (ALR), *Jpn. Circ. J.* 46: 151-155
- 7) 奈良安雄, 家森幸男 (1986) SHR 血管平滑筋細胞の代謝的特性, *細胞* 18: 156-159
- 8) Okamoto, K. and Aoki, K. (1963) Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.* 27: 282-293
- 9) Okamoto, K., Yamori, Y. and Nagaoka, A. (1974) Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR), *Circ. Res.* 34-35, suppl. 1: 143-153
- 10) 佐藤利昭, 奈良安雄, 野手信哉, 堀江良一, 家森幸男 (1986) 脳卒中易発症ラット大動脈由来培養平滑筋細胞のコレステロールの合成 動脈硬化 14: 341-343
- 11) Seelback, J. D. and Kris-Etherton, P. M. (1985) The effect of vigorous treadmill exercise on plasma lipoproteins and hepatic lipoprotein production in zucker rats. *Atherosclerosis* 57: 53-64
- 12) Zlatkis, A., Zak, B., Boyle, A. J. and Mich, D. (1953) A new method for direct determination of serum cholesterol. *J. Lab. Clin. Med.* 41: 486-492
- 13) Simko, V. and Kelley, R. E. (1979) Physical exercise modifies the effect of high cholesterol-sucrose feeding in the rat. *Eur. J. Appl. Physiol.* 40: 145-153
- 14) Wolinsky, H., Goldfischer, S., Katz, D. and Markle, R. (1979) Hydrolase activities in the rat aorta III. Effects of regular swimming activity and its cessation. *Circ. Res.* 45: 546-553
- 15) Fukuda, N., Ide, T., Kida, Y., Takamine, K. and Sugano, M. (1979) Effects of exercise on plasma and liver lipids of rats. IV. effects of exercise on hepatic cholesterogenesis and fecal steroid excretion in rats. *Nutr. Metab.* 23: 256-265