

骨格筋の肥大とテストステロン

(第一報)

去勢雄ラットにおける筋代償性肥大

山田 茂 跡見 順子 黒田 善雄

東京大学教養学部

Role of Testosterone in Work-Induced Growth
of Skeletal MuscleI. Effect of Castration on Compensatory
Hypertrophy in Rat Skeletal Muscle
by

Shigeru Yamada, Yoriko Atomi and Yoshio Kuroda

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

Abstract

The present study was designed to determine whether skeletal muscle hypertrophy was induced in castrated male rat. Compensatory hypertrophy was induced in the soleus and plantaris muscle by cutting the tendon of the synergistic muscle, the gastrocnemius. The contralateral limb received only a sham operation and served as a control. During one week after a tenotomy the wet weight of plantaris of the operated limb was about 24% greater and that of the soleus 45% greater than those of the control muscle in castrated male rats. In order to clarify whether the muscle hypertrophy accompanies the change in components of muscle proteins from the hypertrophied and control muscles were analyzed by means of SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Among muscle protein components the quantitative difference was conspicuously found in a protein component with 64 Kd molecular weight in castrated male rats as well as in normal male rats. It appears that the testosterone is not essential factor to induce the compensatory muscle hypertrophy.

Fig. 1. Changes in body weight of castrated and normal rat before and after experiments.

緒言

骨格筋の肥大は、骨格筋を構成するタンパク質の合成促進、タンパク質の分解抑制、あるいはその両者によりもたらされる。

骨格筋のタンパク質合成は、インシュリン、成長ホルモン、テストステロンなどのホルモンにより促進する。なかでもテストステロンの作用は、男子において思春期に顕著であり、男女の形態的な違い、筋力発揮の重要な要因である筋の成長の違いなどに影響を及ぼしていると考えられている。さらに思春期以後の筋の肥大現象に対し、テストステロンは、筋でのタンパク質合成を促進するものとされている。しかしながらテストステロンが筋を構成するどのタンパク質の合成に関与するのかはまだ解明されていない。

そこで著者らは、筋の肥大の分子的機構を解明するために雄ラットの精巣を摘出し睾丸からのテストステロンの分泌を除去した場合の運動により誘導される筋の肥大に対する影響について検討した。

今回は、精巣除去後、トレーニングが去勢ラットの筋の重量に及ぼす影響について検討した。また骨格筋の肥大に伴ない特異的に増加する 64 kd タンパク質の精巣除去後のトレーニングの影響についても検討した。

実験方法

動物は、Wister 系の雄ラットを用いた（日本生物材料センターより購入）。生後 25 日目、ネブタール麻酔下で両側の睾丸を摘出した。ラットは去勢群、正常群ともに 6 匹用いた。

運動負荷の方法は、Deney-Brown¹⁾の開発した方法によった。即ち、ラットの右後肢下腿部の足首の底屈に関与する腓腹筋の腱を切除し、左後肢下腿部の腓腹筋に対しては、虚偽の手術を行う。そうすることにより、みかけ上正常の歩行を示し、代償的に右側のヒラメ筋と足底筋に負荷がかかる方法である。この際、再び腱が接合しないように切断した腱から筋腹にむかい 3~5 mm ほど切り取った。

足首の底屈時、足底筋、ヒラメ筋に負荷がかかるように、飼料、水さしの位置を高くした。

1 週間のトレーニング後、エーテルで麻酔し心臓から採血した後ヒラメ筋、足底筋を摘出し重量を測定した。血液は 3000 rpm で 10 分間遠心後、血清を採取した。

テストステロンの測定は、栄研のテストステロンラジオイムノアッセイキットを用いた。

64Kd タンパク質の増減をみるため SDS-ポリアクリルアミドゲルを支持体として電気泳動²⁾を行なった。筋タンパク質の抽出には、Laemmli のサンプル緩衝液を用いた。ゲルの染色にはクマシーブルーを用いた。

結果

1. 体重の変化と血中テストステロン濃度

筋力トレーニングをはじめる前の体重は正常群で平均 258 g、去勢群で平均 232 g であった。生後 25 日目て精巣除去し、体重の減少を確認した後トレーニングを行なった。トレーニング 1 週間の体重の増加量は、去勢群にくらべ正常群で高い値を示した（図 1）。

トレーニング後、筋採取時のテストステロンの血中濃度は、去勢群で約 $0.5 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ 、正常群で約

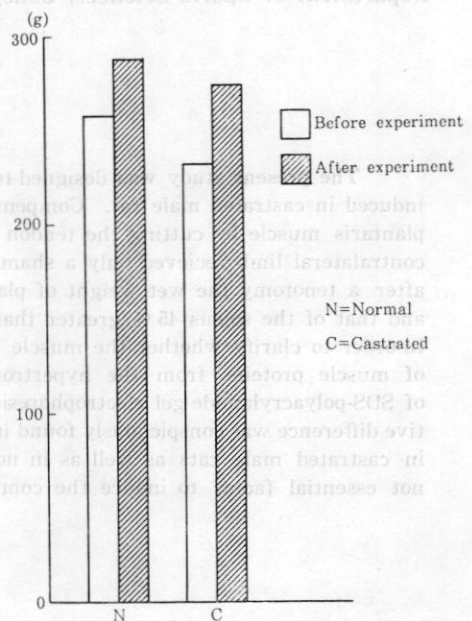


Fig. 1. Changes in body weight of castrated and normal rat before and after experiments.

3 ng·ml⁻¹ で、精巣除去により低い値を示した(図2)。

2. 筋の重量変化

正常群のヒラメ筋の対照筋に対する割合は去勢群よりも高い値を示したが、その差は統計的に有意ではなかった(図3)。

足底筋の対照筋に対する割合は、両群ともヒラメ筋のそれに比べ低い値を示した(図4)。去勢群の足底筋での増加率は、ヒラメ筋とは逆に正常

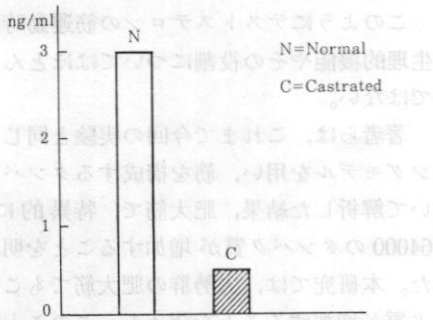


Fig. 2. Serum testosterone concentration of normal and castrated rats.

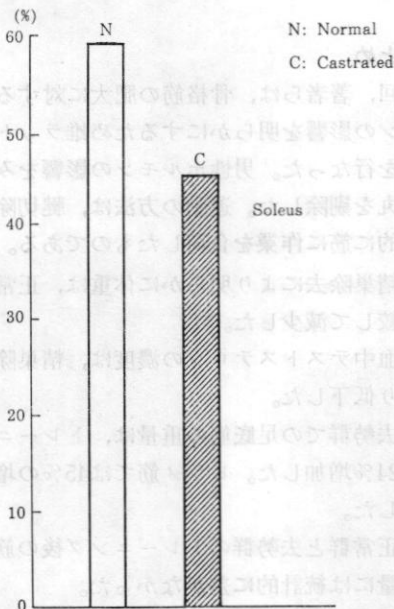


Fig. 3. Relative change in wet weight of the soleus muscle in normal and castrated rat after experiment.

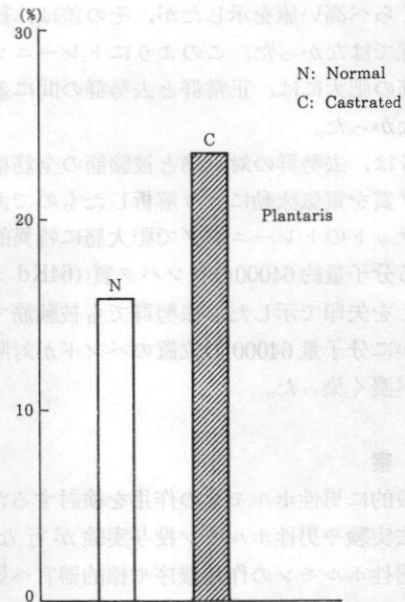


Fig. 4. Relative change in wet weight of the plantaris muscle in normal and castrated rat after experiment.

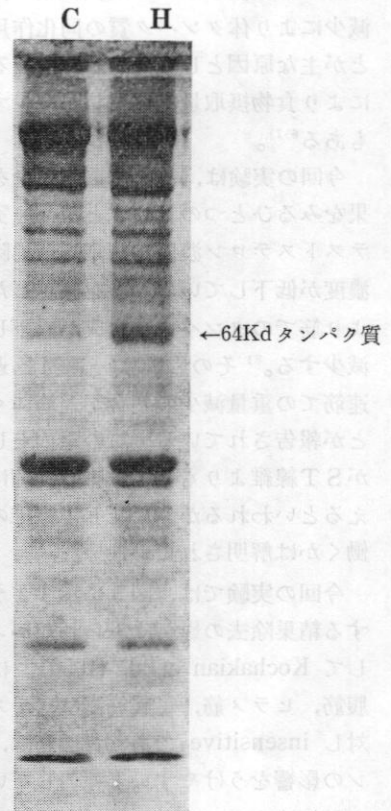


Fig. 5. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of muscle protein in castrated rat.

群にくらべ高い値を示したが、その差は、統計的に有意ではなかった。このようにトレーニングによる筋の肥大には、正常群と去勢群の間に差がみられなかった。

図5は、去勢群の対照筋と被験筋の全筋構成タンパク質を電気泳動により解析したものである。正常ラットのトレーニングで肥大筋に特異的に増加する分子量約64000のタンパク質(64Kd タンパク質)を矢印で示した。去勢群でも被験筋ではあきらかに分子量64000の位置のバンドが対照筋にくらべ濃く染った。

考 察

一般的に男性ホルモンの作用を検討するため精巣除去実験や男性ホルモン投与実験が行なわれる。男性ホルモンの作用機序や標的器官へ影響についてはまだ解明されないところがおおい。精巣除去により体重の減少がおこることが数多く報告されている。⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾ この原因は、男性ホルモンの減少により体タンパク質の同化作用が減少したことが主な原因として考えられているが、精巣除去により食物摂取量や体脂肪が減少するという報告もある⁶⁾⁷⁾。

今回の実験は、この体重の減少を精巣除去の効果をみるひとつの目安とした。実験後、血中のテストステロン濃度を測定し精巣除去によりその濃度が低下していることを確認した。精巣除去により筋でのタンパク質合成が低下し、筋の重量が減少する。⁹⁾ その影響は、速筋と遅筋で異なり、速筋での重量減少の度合いが遅筋にくらべ大きいことが報告されている。この原因として、精巣除去がST線維よりもFT線維の萎縮に強く影響を与えるといわれるが、なぜFT線維の萎縮に優位に働くかは解明されていない。

今回の実験では、図5に示すように筋重量に対する精巣除去の影響はみられなかった。これに関して Kochakian et al. (1956)⁹⁾ は、下腿筋(腓腹筋、ヒラメ筋、足底筋)は、テストステロンに対し insensitive であり背部筋は、テストステロンの影響を受けやすいと報告している。

腱切除によるトレーニングの結果、正常ラット同様に去勢群ラットで筋の肥大がおきたことは、

運動による下腿筋の肥大に対しテストステロンが必須の要因ではないことを示唆している。骨格筋肥大時のタンパク質合成の遺伝子発現機構に対しテストステロンは、必須なものであると考えられている。また運動時、血中テストステロン値が増加することはタンパク質合成を亢進するものと考えられている。しかしながら運動時のテストステロンの上昇は、LHに誘導されたものではないとの報告もある⁹⁾。また Goldberg et al.¹⁰⁾ は、下垂体除去したラットに今回同様の実験をした結果、筋の肥大がおきたことを報告している。

このようにテストステロンの筋運動時における生理的機能やその役割についてはほとんど明らかではない。

著者らは、これまで今回の実験と同じトレーニングモデルを用い、筋を構成するタンパク質について解析した結果、肥大筋で、特異的に分子量64000のタンパク質が増加することを明らかにした。本研究では、去勢群の肥大筋でもこのタンパク質が増加することを認めた。このことから腱切除術による筋代償性肥大に伴う64K タンパク質の増加は、去勢による影響をうけないことが示唆された。

まとめ

今回、著者らは、骨格筋の肥大に対する男性ホルモンの影響を明らかにするため雄ラットを用い実験を行なった。男性ホルモンの影響をみるために辜丸を剔除した。運動の方法は、腱切除により代償的に筋に作業を负荷したものである。

- 1) 精巣除去により明らかに体重は、正常群に比較して減少した。
- 2) 血中テストステロンの濃度は、精巣除去により低下した。
- 3) 去勢群での足底筋の重量は、トレーニング後24%増加した。ヒラメ筋では45%の増加を示した。
- 4) 正常群と去勢群のトレーニング後の筋の増加量には統計的に差がなかった。
- 5) 骨格筋の肥大に伴ない特異的に増加する64kd タンパク質は、去勢をしたラットの肥大筋でもみられた。

以上の結果、骨格筋の、肥大に対し男性ホルモンは、必須な要因でないことが示唆された。

引用文献

- 1) Denny-Brown, D.: Experimental study pertaining to hypertrophy, regeneration and degeneration. In: R. D. Adams, L. M. Eaton and A. M. Shy (Eds), *Proceeding of Association for Research in Nervous and Wilkins*, Baltimore 1960, pp. 147-196.
- 2) Laemmli, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685, 1970.
- 3) Commins, W. D.: The effect of Castration at various age upon the adult weight of male albinos rats. *J. Exp. Zool.* 63: 573-597, 1932.
- 4) Engel, P.: Body and muscle growth in normal and castrate albino mice. *Endocrinology* 29: 852-853, 1941.
- 5) Kochakian, C. D., C. Tillotson and G. L. Endahl: Castration and the growth of muscle in the rat. *Endocrinol.* 58: 226-232, 1956.
- 6) Kral, J. G. and L. E. Tisell: The effects of castration on body composition, adipose tissue cellularity and lipid and carbohydrate metabolism in adult male rats. *Acta Endocrinol.* 81: 644-654, 1976.
- 7) Krot Kiewski, M., J. G. Kral and J. Karlsson: Effects of castration and testosterone substitution on body composition and muscle metabolism in rats. *Acta Physiol. Scand.* 109: 233-237, 1980.
- 8) Vangham, H. S., A. G. Goldspink and N. W. Nowell: Sex and stock differences in the histochemical myofibrillar adenosine triphosphatase reaction in the soleus muscle of mouse. *J. Histochem. Cytochem.* 22: 155-159, 1974.
- 9) Goldberg, A. L.: Muscle hypertrophy in hypophysectomized rats. *The physiologist.* 8: 175, 1965.