

骨格筋の肥大とテストステロン

(第二報)

去勢が血清タンパク質に及ぼす影響

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 Muscle.

II. Effect of Castration on Serum Proteins in Adult Rats.

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 the increment of serum albumin was induced by castrated male rats. Total protein concentration of blood serum in castrated male rats showed lower value than that in normal male rats. Components of serum protein were separated by Cellulose acetate membrane electrophoresis. Percentage of albumin fraction of total serum protein in castrated male rats was significantly greater than that in normal rats. However serum albumin concentration in castrated male rat was not significantly different from that in normal rat. These results suggested that serum albumin was not affected by castration.



Fig. 1. Effect of orchiectomy on total protein concentration in rat serum.

緒言

著者らはこれまでに骨格筋の肥大に伴い、分子量約64000のタンパク質が、特異的に増加することを報告した¹⁾。このタンパク質は、アミノ酸組成、電気泳動的挙動、免疫化学的解析の結果、アルブミンであることが判明した¹⁾。第一報²⁾で、精巣除去したラットに、睪切除術によって筋作業を負荷した結果、正常ラットと同様、筋の肥大が認められたことを報告した。また、筋肉中のアルブミンは、肥大筋で、著しく増加した。このアルブミンの増加の由来については、これまでに、培養実験の結果、筋で合成されていることが判明し、肥大筋での合成がさかんであることも確認した¹⁾。しかしながら、アルブミンが血中から由来する可能性は否定できない。そこで、著者らは、去勢による血清タンパク質への影響について検討した。

実験方法

生後21日目の Wister 系の雄ラットを、日本生物材料センターより購入した。去勢は、生後25日目にネブタール麻酔下で行った、ラットの数は去勢群、正常群各6匹とした。

採血は、去勢して一週間後行なった。採血は、注射器を用い、直接心臓から行った。血液を3000 rpm で遠心した後上清を分離し、タンパク質の分析に用いた。

血清総タンパク質は、Bio-rad の protein-assay kid を用い測定した。標準液には、BSA (牛血清アルブミン—シグマ社製) を用いた。試料としては、血清を50倍、もしくは、100倍に希釈した。標準液、試料、および Blank (生理食塩水) の各量は 50 μ l 取り dye reagent (5倍希釈) 2.5 ml を加えた。5分間放置後、595 nm で吸光度を測定した。

血清タンパク質は、電気泳動的にセルロースアセテート膜を支持体として分画した。緩衝液は、0.06M ベロナールナトリウム緩衝液を用いた。染色はボンソー 3R を用い行った。脱染は1%酢酸水溶液で行った。セルロースアセテート膜1cmあたり、0.6mA 通電し、原点より、アルブミンが2cm 移動した時、通電を終了した。その後、デンシ

トメトリ (525mm, スロット幅6m) で行った。

結果

図1は、去勢群と正常群の血清総タンパク質濃度を測定したものである。正常群は、平均5133mg/dl 去勢群は4617 mg/dl であった。明らかに、去勢群で血清総タンパク質濃度が低い値を示した。

図2Aは正常群の血清タンパク質を電気泳動で分画したものと、それをデンシメトリーしたものである。図2Bは、去勢群のものである。

デンシメトリーで5分画にわかれた各分画の割合を示したものが図3~図7である。図3のアルブミン分画以外はすべて去勢群でその割合が減少した。図3は、ほぼ90%以上が、アルブミンを含有する分画である。この分画だけが、正常群に比較して、その割合が増大した。しかしながら、総タンパク質濃度中のアルブミンの濃度は、両群で差がなかった。つまり、血清中のアルブミン濃度は、去勢により影響をうけないことが判明した。

考察

血漿タンパク質の生理的役割はいくつかあげられる。たとえば血液の緩衝能はいくつかの系からなりたっている。その中で血漿タンパク質の緩衝能は、全体の15%であるとされる³⁾。また血漿タンパク質中には、血液の凝固に関するものや、生

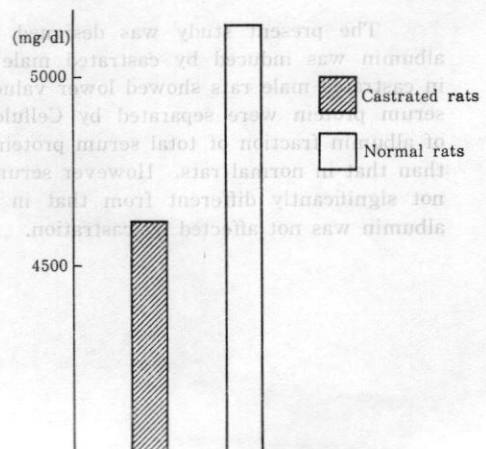


Fig. 1. Effect of orchietomy on total protein concentration in rat serum.

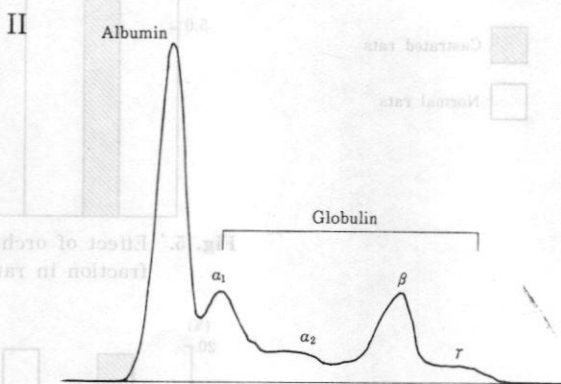


Fig. 2A

- I. Cellulose-acetate membrane electrophoresis of serum proteins in normal rat.
- II. Electrophoretograms of serum proteins traced by a densitometer in normal rat.

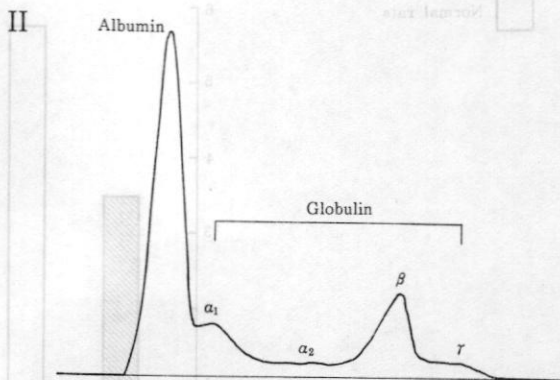
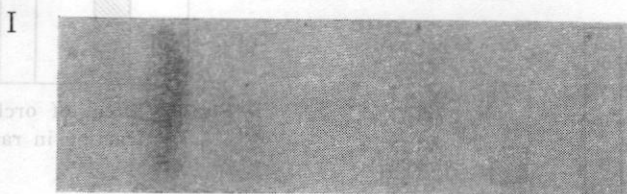


Fig. 2B

- I. Cellulose-acetate membrane electrophoresis of serum proteins in castrated rat.
- II. Electrophoretograms of serum proteins traced by a densitometer in castrated rat.

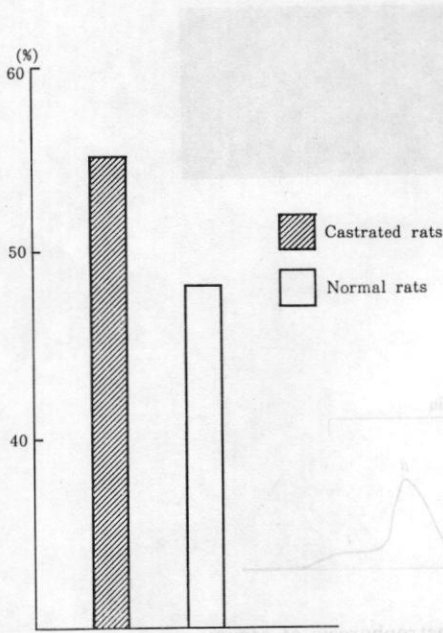


Fig. 3. Effect of orchietomy on albumin fraction in rat serum protein.

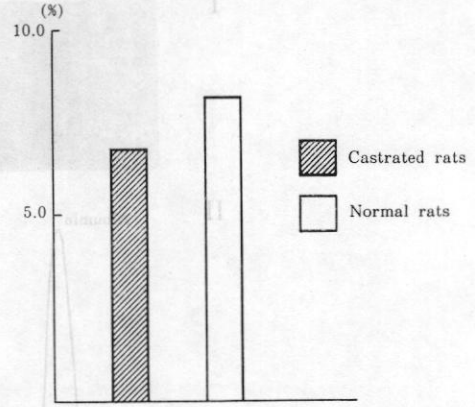


Fig. 5. Effect of orchietomy on α_2 globulin fraction in rat serum protein.

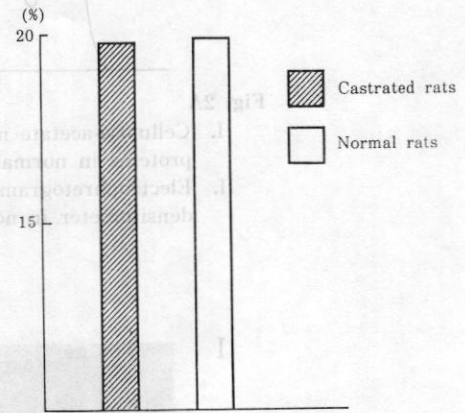


Fig. 6. Effect of orchietomy on β globulin fraction in rat serum protein.

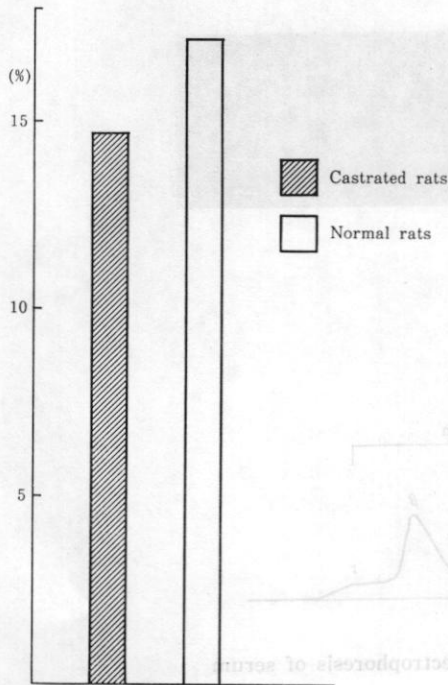


Fig. 4. Effect of orchietomy on α_1 globulin fraction in rat serum protein.

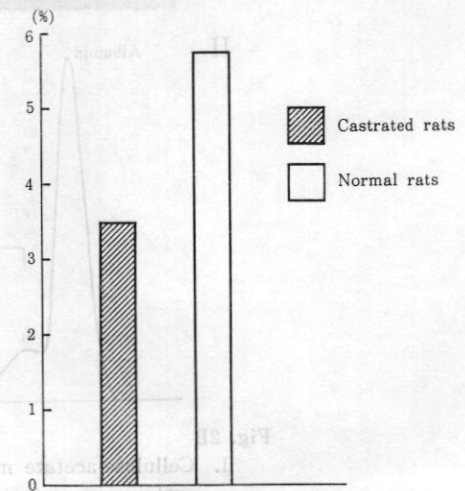


Fig. 7. Effect of orchietomy on γ globulin fraction in rat serum protein.

体防衛機構にかかわる抗体をもふくんでいる。さらに血漿タンパク質には、サイロキシン、ステロイドホルモン、インシュリンなどのホルモンと結合し、標的臓器へこれらのホルモンを運搬する機能がある。ホルモンとの結合の意味は、これらのホルモンが腎の糸球体から濾過し去るのを防ぐと同時に、組織が必要に応じて活用できるように、これらのホルモンを、血中に安定に保持することである。⁴⁾

今回の去勢による実験で、血清総タンパク質の濃度は、去勢群で明らかに正常群に比べ減少した。これらのタンパク質を電気泳動的に分離した結果、正常群に比べ去勢群では、アルブミンを主に含有する分画以外の分画での割合は、減少を示した。アルブミンの分画以外はすべて、グロブリンの画分である。このグロブリンの分画が、去勢によって減少した。

γ グロブリンは、免疫グロブリンと呼ばれるように、抗体としての機能をもつ。Medawar ら⁴⁾は、オスのマウスの睪丸を摘除した後、化学発癌腫瘍や同系移植腫瘍に対し、マウスの抵抗を著しく増加させると報告している。この効果は、アンドロジェンの除去によるものであるとしている。

今回の実験では、 γ グロブリン分画を、構成するタンパク質 (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) などを分離定量していないので、今後、去勢により減少した γ グロブリン分画の各タンパク質を、分離定量し検討したい。

アルブミンの画分は、主にアルブミンで構成されている。このアルブミンは、主に肝臓で産生されている。今回、アルブミンの分画は、去勢群では正常群に比べ、有意に増加した。しかしながら、その血中濃度は、正常群とほぼ同様であり、去勢の影響はないものとおもわれる。肝臓でのアルブミン合成の誘導は、インシュリン、コルチゾール、サイクリック AMP などによって行われることから、血漿の各タンパク質は特定のホルモンによって制御されるものと思われる。

このアルブミンの生理的機能については、まだ不明な所が多い。著者らは、筋肥大時に筋中に増加するアルブミンは、筋を構成するタンパク質分

解のインヒビターとしての作用があることを報告した⁶⁾。今回の実験においては、去勢による、血中のアルブミン濃度に変化がないことから、テストステロンは、アルブミンの代謝に影響がないものと示唆された。アルブミンの筋への取り込みの機構や、さらにアルブミン合成機構について今後検討したい。

まとめ

著者らは、筋の肥大に伴ない特異的に分子量約 64000 のタンパク質 (アルブミン) が筋肉中に増加することから、その由来について検討している。

そこで今回は、精巣除去の血清アルブミンに対する影響と、同時に血清グロブリンに対する影響について検討した。

- 1) 血清総タンパク質濃度は、精巣除去により正常ラットに比べて減少を示した。
- 2) 血清総タンパク質をセルロースアセテート膜を支持体として電気泳動した結果、去勢群でのアルブミン分画の割合は、正常ラットに比較し増加した。しかし血中の濃度は、正常群と比較した結果、差がなかった。
- 3) 去勢群での各グロブリン分画の割合、血中濃度は、正常ラットと比較し低い値を示した。以上の結果、アルブミンの血中濃度は、精巣除去の影響を受けないことが示唆された。

引用文献

- 1) Shigeru Yamada, Shiro Tomino, Susumu Izumi and Miki Akino: Purification, molecular properties and biosynthesis of a specific protein component induced compensatory hypertrophy in the rat skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta*, 798: 260-267, 1984.
- 2) 山田 茂, 跡見順子, 黒田善雄: 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 東京大学教養学部 体育学紀要 19: 31-35, 1984.
- 3) 松田幸次郎その他訳: 医科生理学展望 原書 8 版 丸善 1978 p. 432.
- 4) 千原呉郎, 仙道富士郎訳 免疫学序説, 東京化学同人 p. 89. 1980
- 5) 青木幸一郎, 高木俊夫, 寺田 弘 血清アルブミン 講談社 1984 p. 172.
- 6) 山田 茂, 富野士良, 秋野美樹 動物学雑誌 92(4) 1983.