

# 骨格筋の蛋白異化に関する研究

表式究報 (第一報)

グルココルチコイド投与が骨格筋重量及び肝重量に及ぼす影響

跡見 順子 山田 茂

東京大学教養学部

## The Study of Skeletal Muscle Degradation.

### I. Effects of corticosterone and dexamethasone treatment on liver and skeletal muscle weight.

Yoriko Atomi and Sigeru Yamada.

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

#### Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of glucocorticoids treatment on liver and skeletal muscle weight. Corticosterone (5mg and 10mg/100g body weight) was injected subcutaneously every 7 continuous days for adrenalectomized rats (Experiment 1). Liver weight per body weight of corticosterone treated groups increased markedly. On the other hand gastrocnemius muscle weight of treated rats was smaller than control or adrenalectomized rats. Dexamethasone (0.25 and 0.50 mg/100g body weight) was injected similarly every 5 days for male rats (Experiment 2). The amount of the increase of liver weight and the decrease of gastrocnemius muscle weight by dexamethasone treatment almost equalled to that of corticosterone. Estimating from the changes of body weight through both glucocorticoid treatment, the effect of dexamethasone seems to occur earlier compared to corticosterone. But the effect of glucocorticoid on muscle and liver weight was almost similar.

## 1. 研究目的

身体運動はすべて骨格筋の収縮によってなされる。高い収縮力を必要とする筋力トレーニングにより筋は肥大する。しかし持久力トレーニングでは必ずしも筋は肥大しない。逆に長時間にわたる持久性運動時においては体タンパク異化が亢進することが報告されている<sup>3,7,8,13,14</sup>。筋収縮タンパクの分解の指標として血中あるいは尿中の3メチルヒスチジン(3-MH)値の増大を用いた実験例では、ランニング後あるいは、ウェイトトレーニング後に3-MHの上昇がみられることが報告されている<sup>5</sup>。これらのことは筋タンパクの増減が筋の張力発揮の程度だけでなく体内のエネルギー備蓄状態やホルモン動態の影響をうけていることを示している。多くのスポーツ競技において筋力の増大と持久力の増大は両者ともに同時に必要なことであり、いかなる条件で両トレーニングを組み合わせしていくかを明らかにすることはこれからのトレーニング研究の重要な課題である。

骨格筋タンパクの合成を促進するホルモンは、インシュリン、テストステロン、成長ホルモンが報告されているが、分解を亢進する主たるホルモンは現在のところ糖質コルチコイドだけである。これらのタンパク合成及び異化ホルモンは、条件によっては拮抗的に作用することが報告されている。代謝回転率への影響をみた研究は多いが<sup>4,6,15</sup>、糖質コルチコイドの作用の分子機構はほとんど明らかにされていない。

糖質コルチコイドの作用は、血中濃度の高低や作用時間によって必ずしも一定ではない。低濃度では他のホルモンの働きを正常化する許容効果(permissive effect)が報告されており<sup>17</sup>、高濃度(生理的な変動範囲)の投与で、正味の筋タンパクの異化が亢進することが報告されている(この糖質コルチコイドの筋タンパク分解促進作用は肝タンパクあるいは肝グリコーゲンの増大を伴うことが報告されている<sup>11,12</sup>)。また糖質コルチコイドにはいくつかの種類があり、タンパク異化への影響もかなり異なることが報告されている<sup>1,10</sup>。

本研究の目的は、糖質コルチコイドの筋タンパク異化への影響を明らかにするための研究の第一歩として、ラットを用いて①合成ステロイドと天

然ステロイドの影響、②骨格筋と肝臓への影響の差を体重及び組織重量から検討することである。

## 2. 研究方法

### 実験1. コルチコステロン投与実験

体重が約200g(約7週令)のWistar系雄ラット24匹を4群に分け、3群は両側の副腎を除去し、1群(対照群;C群)は両側にSham-operateした。手術1週間後から高濃度投与群(H群)には1日10~15mg/100g wt, 低濃度投与群(L群)には4mg/100g wt コルチコステロンナトリウム(1%カルボキシメチルセルロース; CMC, 0.9%塩化ナトリウム液に溶かし0.5ml)を、C群及び副腎除去対象群(A,D群)には1%CMC, 0.9%NaCl液を0.5ml, 背部皮下脂肪層に7日間注射した。投与途中でH群1匹, A,D群2匹が死亡した。

1週間の投与後、エーテル麻酔し心臓から採血の後、後肢(腓腹筋, ヒラメ筋, 足底筋)及び肝臓, 腎臓を摘出し秤量した。

### 実験2. デキサメサゾン投与実験

体重が約200gの7週令のWistar系雄ラット20匹を4群に分け、1群を7週令(0 day群)で、2群にデキサメサゾン各々に0.5mg/100gwt, 0.25mg/100gwt(デカドロン注射液; リン酸デキサメサゾン水溶液を0.9%塩化ナトリウム液で希釈し, 各々0.3ml)5日間背部皮下脂肪層に注射した(DH群, DL群)。対照群には0.9%塩化ナトリウム液を0.3ml/5日間同様に投与した。その後実験1と同様の手順で筋及び肝臓を摘出し秤量した。

## 3. 結果

実験1. 図1-(a)はラット購入後の体重の変化を、図2はコルチコステロン投与開始からの変化量を各群ごとの平均値で示したものである。A,D群では体重が増加し続けたが、コルチコステロン投与群のうちL群では4日目からプラトーあるいはやや低下傾向を、H群では4日目から急激な減少を示した。対照群も理由は不明であるが4日目からやや減少傾向を示した。

肝重量は絶対量及び体重当り重量ともにコルチコステロン投与の2群ともC群, A,D群に比べ顕

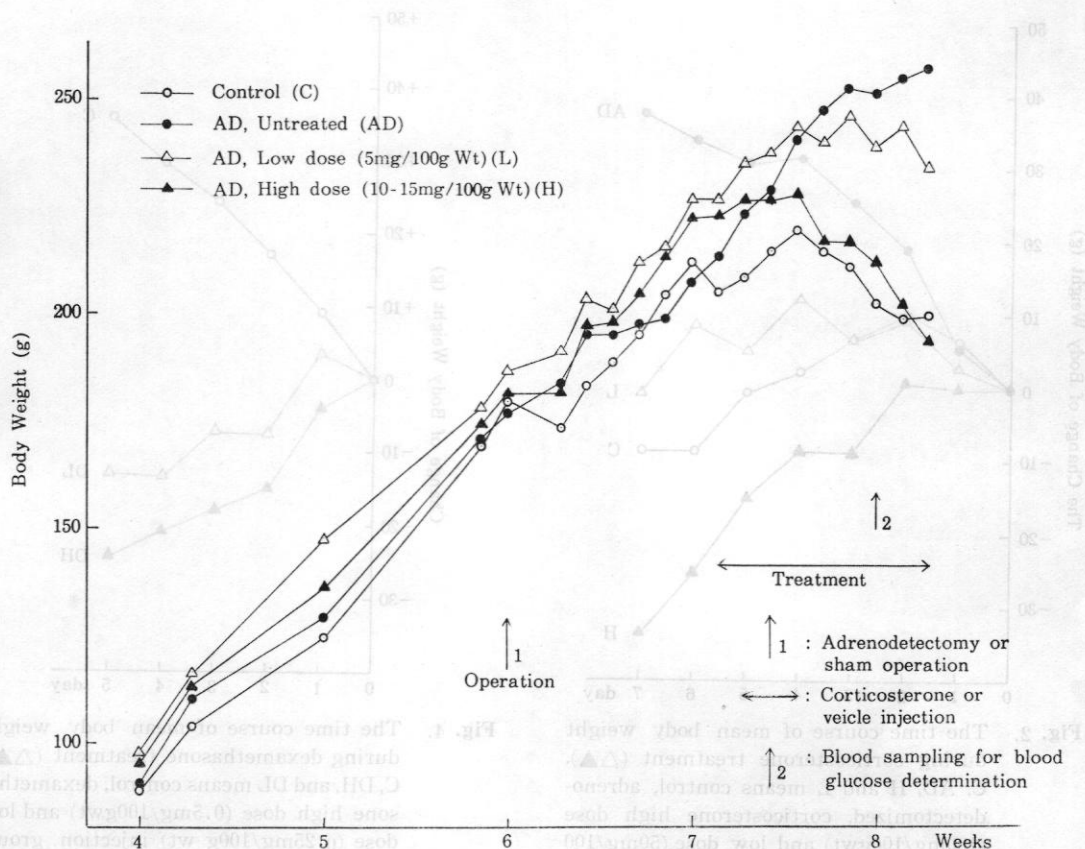


Fig. 1. The changes of mean body weight during experimental duration (Experiment 1).

著に大きかった (図3)。体重あたりでH群,L群はC群の各々161%,172%であった。腓腹筋重量は絶対量及び体重当たりでともにC>AD(AD>C)>H>L群の順に大きかった。体重あたりでH群,L群はC群の各々82,74%であった。実験2. 対照群の体重は直線的な増加を示したが,デキサメサゾン投与群では両群ともに2ないし2日目から直線的に減少した(図4)。2日目から3日目にかけての低下が著しかった。DH群で1日約5gの低下率を示した。

デキサメサゾン投与群の肝重量は,絶対値では対照群に比較しやや大きかったが有意差はみられなかった(図5)。しかし体重あたりでみるとデキサメサゾン投与群が顕著に大きかった。DH,D L群はC群の各々132%,146%であった。腓腹筋重量は絶対値,体重あたりともにデキサメサゾン投与群で有意に低かった。体重あたりでDH,D L群はC群の各々80%,81%であった。

Table 1. The effect of corticosterone treatment on body weight of rats.

Group	N	Body Weight (g)	
		pre-treatment	post-treatment
control (C)	8	205±9	197±16
AD,Untreated(AD)	4	212±4	272±7
AD,Low dose (L)	6	226±8	226±9
AD,High dose (H)	5	222±5	208±8

(Mean±S. E.)

Table 2. The effect of dexamethasone treatment on body weight of rats.

Group	N	Body Weight (g)	
		pre-treatment	post-treatment
Control (C)	5	213±4	251±4
Low dose (DL)	5	199±5	184±2
High dose (DH)	5	207±4	181±4

(Mean±S. E.)

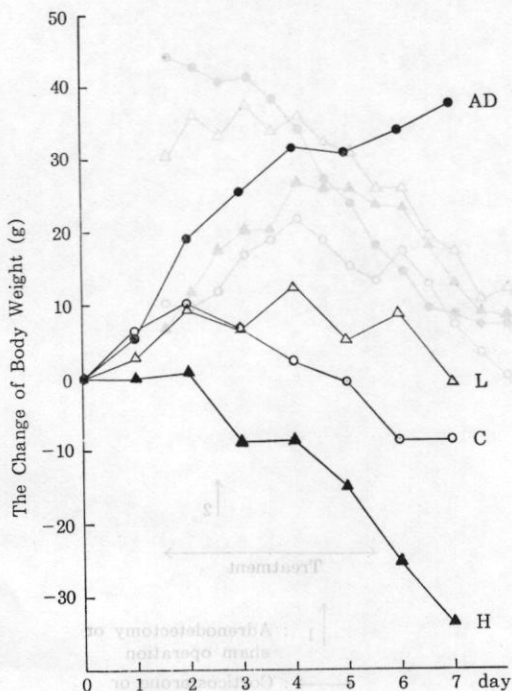


Fig. 2. The time course of mean body weight during corticosterone treatment ( $\Delta$ ,  $\blacktriangle$ ). C, AD, H and L means control, adrenodetected, corticosterone high dose (100mg/100gwt) and low dose (50mg/100 gwt) injection group, respectively.

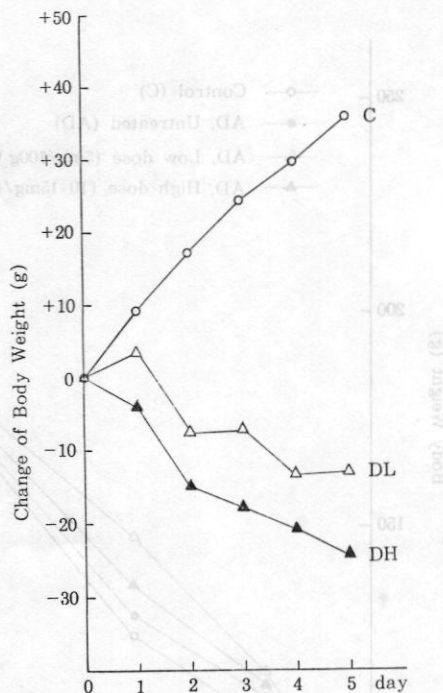


Fig. 4. The time course of mean body weight during dexamethasone treatment ( $\Delta$ ,  $\blacktriangle$ ). C, DH, and DL means control, dexamethasone high dose (0.5mg/100gwt) and low dose (0.25mg/100g wt) injection group, respectively.

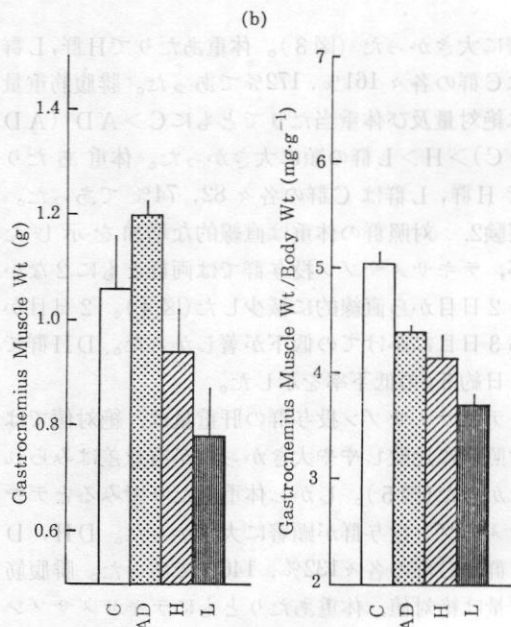
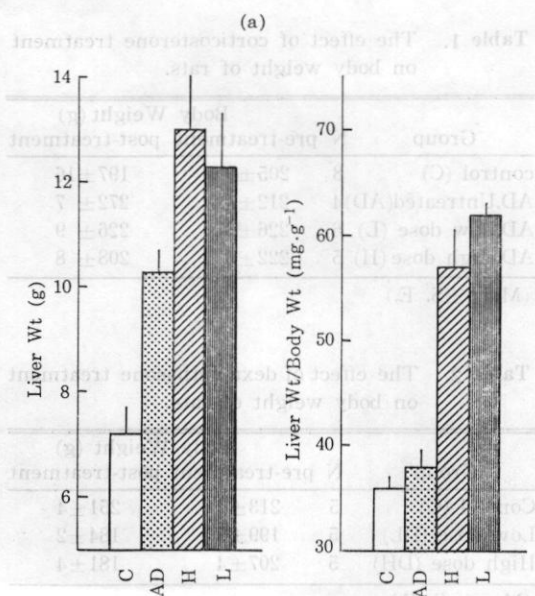


Fig. 3. The effect of corticosterone treatment on liver (a) and gastrocnemius muscle weight (b). C, AD, H and L means control, adrenodetected, corticosterone high dose (0.5 mg/100 wt) and low dose (0.25 mg/100gwt) treatment group, respectively.

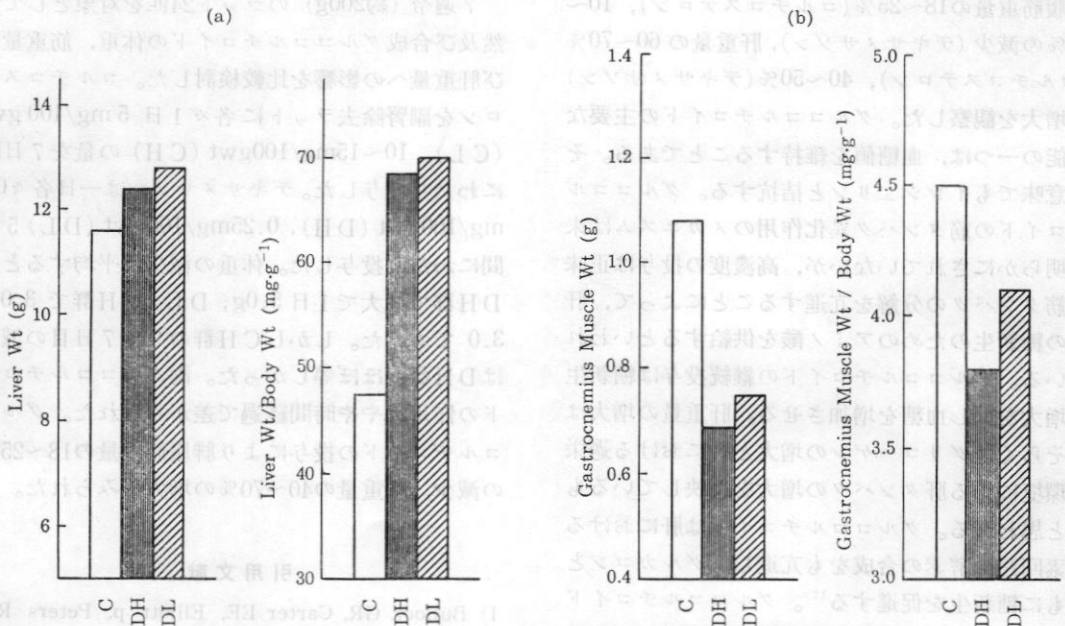


Fig. 5. The effect of dexamethasone treatment on liver weight and gastrocnemius muscle weight. C, DH, and DL means control, dexamethasone high (0.5mg/100gwt) and low (0.25mg/100gwt) dose treatment, respectively.

#### 4. 論議

コルチコステロンはラットの主要なグルココルチコイドである(90%)<sup>1)</sup>。Tomas et al.<sup>16)</sup>は種々の濃度のコルチコステロンをラットの皮下脂肪層に1週間投与し、その3日後に筋及び肝重量を測定し、その影響を検討した結果、副腎摘出の対照群と有意差を示したのは、5mg/100gwt投与群で、それ以下の濃度では差がみられなかったことを報告している。本研究では5mg/100gwtの投与では成長に伴う体重の増加は抑制され、10mg/100gwtの投与では、投与開始後7日で平均約30gの減少を示した。Tomas et al.<sup>16)</sup>の例では約10g、Odedra et al.<sup>11)</sup>では5gの減少であり、本研究でみられた体重の減少はかなり大きかった。この原因は判らないが、上記の先行研究のラットは投与時の体重が130~140gであのに対し、本研究で用いたラットでは220~230gなので、体重あたりの減少率でみても各々7~8%、4%であるのに対し、本研究では13%と大きかった。ラットの年齢がグルココルチコイドに対する感受性に影響を与えているのかもしれない。

Kelly and Goldspink<sup>9)</sup>によれば、合成ステロ

イドの炎症効果はコルチコステロンの約40倍強いことから $1/40$ 量のデキサメサゾンを経口投与したところ、コルチコステロンの高濃度投与(10mg/100gwt)と同等の筋蛋白分解の亢進がみられた。本研究でも同じく $1/40$ 量、 $1/20$ 量に相当するデキサメサゾンを経口投与した結果、著明な体重の減少、筋重量の減少を観察した。体重の平均的な変化からみると、最大の減少を示したのはデキサメサゾン高濃度投与群(DH)で1日約5.2gの減少、同低濃度投与群(DL)とコルチコステロン高濃度投与群(CH)では各々1日3.0g、3.6gの減少でほぼ等しかった。しかしCH群の3日目から7日目の減少をみると1日約5.0gでありDH群の減少率に近い。このことからデキサメサゾンの作用は速く直線的であり、コルチコステロンは投与後の時間経過が必ずしも直線的でないといえる。このことに対して、Odedra and Millward<sup>12)</sup>はコルチコステロン投与では筋蛋白の分解はかなりはやく亢進するが、合成の低下はおくれることを観察している。天然ステロイドと合成ステロイドの影響に差が生じるメカニズムは明らかになっていない。

本研究では両グルココルチコイドの投与により

腓腹筋重量の18~25% (コルチコステロン), 10~20%の減少 (デキサメサゾン), 肝重量の60~70% (コルチコステロン), 40~50% (デキサメサゾン)の増大を観察した。グルココルチコイドの主要な機能の一つは、血糖値を維持することである。その意味でもインシュリンと拮抗する。グルココルチコイドの筋タンパク異化作用のメカニズムは未だ明らかにされていないが、高濃度の投与は正味の筋タンパクの分解を亢進することによって、肝での糖新生のためのアミノ酸を供給するといわれている。グルココルチコイドの継続投与は糖新生の増大を促し血糖を増加させる。肝重量の増大はおそらく肝グリコーゲンの増大と肝における過栄養環境による肝タンパクの増大を反映しているものと思われる。グルココルチコイドは肝における尿素回路の酵素の合成をも亢進し、グルカゴンとともに糖新生を促進する<sup>17)</sup>。グルココルチコイド投与により肝タンパクの分解が亢進するかどうかは明らかではないが、グルココルチコイドの投与時では高血糖、高インシュリン血症を伴うので(本研究でも実験1でコルチコステロン投与5日目に血糖の測定したところCH群は $301 \pm 64 \text{mg/dl}$ と他の3群(CC:  $139 \pm 3$ , AD:  $143 \pm 4$ , CL:  $149 \pm 6 \text{mg/dl}$ )に比べ高値を示した)、おそらくグルカゴンの上昇はおこらないと考えられ、したがって肝タンパクは増大するものと推定される(糖尿病時や絶食時では、血清グルカゴン値の上昇に伴い、肝での autophagy が亢進し、肝タンパクの分解も亢進する)。したがって長時間運動時にみられる体タンパクの分解の亢進時にみられるコルチゾールの上昇がみられる時のホルモン環境とはやや異なるのかもしれない(とくにインシュリン、グルカゴン)。なお本研究でみられたコルチコステロン投与による筋重量、肝重量の変化量は Tomas et al.<sup>16)</sup>の場合とほぼ同じであった。

本研究ではラットを用いて、体重、筋及び肝重量の変化から天然ステロイド(コルチコステロン)及び合成ステロイド(デキサメサゾン)の筋萎縮への影響を比較したが、後者は前者の約 $1/40$ 量でほぼ同等の効果を示すことが明らかになった。

## 5. まとめ

7週令(約200g)のラット24匹を対象として天然及び合成グルココルチコイドの体重、筋重量及び肝重量への影響を比較検討した。コルチコステロンを副腎除去ラットに各々1日5mg/100gwt (CL), 10~15mg/100gwt (CH)の量を7日間にわたり投与した。デキサメサゾンは一日各々0.5mg/100gwt (DH), 0.25mg/100gwt (DL)5日間にわたり投与した。体重の減少は平均すると、DH群で最大で1日5.0g, DL, CH群で3.0~3.0であった。しかしCH群の3~7日目の減少はDH群とほぼ等しかった。両グルココルチコイドの作用はやや時間経過で差がみられた。グルココルチコイドの投与により腓腹筋重量の18~25%の減少、肝重量の40~70%の増大がみられた。

## 引用文献

- 1) Bullock GR, Carter EE, Elliott p, Peters RF, Simpson P, White AM. (1972) Relative changes in the function of muscle ribosomes and mitochondria during the early phase of steroid-induced catalolism. *Biochem. J.* 127, 881-892.
- 2) Bush, IE. Species differences in adrenocortical secretion (1953) *J. Endocrinol.* 95, 19-25.
- 3) Cerny FJ (1975) Protein metabolism during two hour ergometer exercise. In Hawald H, Poortmans JR (ed). *Metabolic Adaptations to Prolonged Physical Exercise*, Birkhauser Verlag, Basel pp. 232-238
- 4) Conward WA, Whitehead RG, Lunn PG (1977) Reasons why hypoalbuminaemia may not appear in protein-energy malnutrition. *Br. J. Nutr.* 28: 115-126
- 5) Dohm GL, Williams RT, Kasperek GJ, VAN Rij AN (1982) Increased excretion of urea and N<sup>2</sup>-methylhistidine by rats and humans after a bout of exercise. *J. Appl. Physiol.: Respirat, Environ, Exercise Physiol.* 52:27-33
- 6) Griffin EE, Wildenthal K (1978) Regulation of cardiac protein balance by hydrocortisone interaction with insulin. *Am. J. Physiol.* 234: E 306-313
- 7) Haralambie G, Berg A (1976) Serum urea and amino nitrogen changes with exercise duration. *Eur. J. Appl. Physiol.* 36: 39-48
- 8) Lemon PWR, Mullin JP (1980) Effect of initial muscle glycogen levels on protein catabolism during exercise. *J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 48: 624-929
- 9) Kelly FJ Goldspink DF. The differing responses of four muscle types to dexamethasone

- treatment in the rat. *Biochem. J.* (1982) 208, 147-151.
- 10) McGrath JA, Goldspink DF. Glucocorticoid action on protein synthesis and protein breakdown in isolated skeletal muscle. *Biochem. J.* (1982) 206, 641-645.
  - 11) Odedra BR, Bates PC, Millward DJ. Time course of the effect of catalolic doses of corticosterone on protein turnover in rat skeletal muscle and liver. *Biochem. J.* (1983) 214, 617-627.
  - 12) Odedra BR, Millward DJ. Effect of corticosterone treatment on muscle protein turnover in adrenalectomized rats and diabetic rats maintained on insulin. *Biochem. J.* (1982) 204, 663-672.
  - 13) Refsum HE, Strømme SB (1974) Urea and creatine production and excretion in urine during and after prolonged heavy exercise. *Scand. J. Clin. Invest.* 33: 237-254
  - 14) Rennie MJ, Edwards RHT, Krywawych S, Davies CTM, Halliday D, Waterlow JC, Millward DJ (1981) Effect of exercise on protein turnover in man *Clin. Sci.* 61: 627-639
  - 15) Tischler ME (1981) Hormonal regulations of protein degradation in skeletal and cardiac muscle. *Life Sci.* 28: 2569-2576
  - 16) Tomas FM, Munro HN, Young VR. (1979) Effect of glucocorticoid administration on the rate of muscle protein breakdown in vivo in rats as measured by urinary excretion of  $N^5$ -methylhistidine. *Biochem. J.* 178, 1339-146.
  - 17) 宇井理生, 血糖調節の機構, 続糖代謝とその制御—その生理と症理 (1977), 蛋白質・核酸酵素, 24: 169-193.