

骨格筋の蛋白異化に関する研究

(第二報)

除神経およびデキサメサゾン投与が骨格筋 および心筋重量に及ぼす影響

跡見 順子 山田 茂 琉子 友男

東京大学教養学部

Mechanism of Muscle Protein Degradation.

II. Effect of Denervation and Dexamethasone Treatment

Skeletal and Cardiac Muscle Weight in Rats.

Yoriko Atomi, Sigeru Yamada and Tomoo Ryusi.

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

Abstract

The purpose of the present study was to investigate the influences of the glucocorticoid (dexamethasone) and the denervation on hindlimb (soleus, plantaris, gastronemius, tibialis anterior and extensor digitorum longus (EDL)) and heart muscle growth of rats at age of 7 weeks. Dexamethasone was treated 2.5 mg and 5.0 mg per kg of body weight per day during 5 days. The effect of denervation was determined for one hindlimb and the contralateral one was used as a control. The muscle growth during 5 days in control group was ranged 30-45%. Dexamethasone treatment inhibits the muscle growth except soleus and heart muscle. Sciatic denervation inhibits the muscle growth and facilitate atrophy of hindlimb muscle except EDL. From these results, it was shown that dexamethasone treatment and denervation tends to facilitate the atrophy of fast muscle and slow muscle, respectively. But considering into the magnitude of the change of muscle growth among different muscles, it is suggested another that important factor, the length of muscles (stretching) induced by their anatomical condition of attachment to the bone, modified the effects of hormone and denervation treatment.

Table 1. The changes of body weight induced by denervation and dexamethasone treatment.

Group	Initial Weight (g)	Final Weight (g)	Change (%)
Control	181 ± 2	233 ± 6	29.3 ± 1.0
Denervation	181 ± 2	204 ± 4	13.2 ± 2.2
Dexamethasone (2.5 mg/kg)	181 ± 2	195 ± 6	8.8 ± 3.3
Dexamethasone (5.0 mg/kg)	181 ± 2	181 ± 4	0.0 ± 2.2

(Mean ± SE)

1. 研究目的

骨格筋の萎縮は、不活動⁸⁾、固定^{8,15)}、除神経、タンパク異化ホルモン等^{1,2,9,10,12,13)}の影響下で顕著になる。この骨格筋の萎縮は、基本的には筋タンパクの分解が合成を越えた状態を伴っているはずである。しかしそのメカニズムが、筋タンパクの合成の減少に関連しているのか、分解の亢進に依存するのか、あるいは両者によるのかは必ずしも明らかではない。また萎縮を亢進させる要因により、これらの背景となるメカニズムは必ずしも一定ではないようである（たとえば除神経とグルココルチコイド投与では筋によって感受性が異なる）。骨格筋への神経刺激は、骨格筋の正常な発達に必要であることは、除神経が骨格筋の萎縮をもたらすことから分かるが、その詳細についてはほとんど不明である。一方、正味 (net) の蛋白異化を亢進する糖質コルチコイドの投与は筋の萎縮を進行させることが明らかにされている。除神経とコルチゾン投与の筋蛋白異化への影響については Goldberg²⁾ がラットのヒラメ筋と足底筋を用いて、除神経については Goldspink⁵⁻⁷⁾ がヒラメ筋と長指伸筋 (EDL) を用いて、あるいは糖質コルチコイドの影響については腓腹筋を対象として行っている研究が多い^{12,13,15)}。いずれも筋蛋白の合成及び分解速度の測定から筋蛋白への影響をみており、除神経は遅筋へ、糖質コルチコイドは速筋の萎縮の影響が大きい傾向を報告しているが、必ずしも筋線維組成の影響だけでは説明しきれず、他の要因についても論議がなされている。

本研究の目的は、筋タンパク分解の研究をすすめるにあたり、その実験モデルとしての被験筋を決定するために、筋による除神経及び糖質コルチコイド投与の影響の違いを明らかにすることである。遅筋、速筋の代表であるヒラメ筋、EDL を含む下腿屈筋群、伸筋群ならびに心筋について両者の影響を比較検討した。

2. 研究方法

体重が約 200 g の 7 週令の Wistar 系雄ラット 25 匹を 5 群に分けた。実験開始 (① Oday 群の筋の摘出) 後、② 対照群 (C 群) は 0.9% 食塩水を、デキサメサゾン投与群は体重当り 2.5 mg/kg (③

DL 群)、5.0 mg/kg (④ DH 群) のリン酸デキサメサゾン (デカドロン注射液: 0.9% 塩化ナトリウムで希釈し各々 0.3 ml) を 5 日間背部皮下脂肪層に注入した。除神経群 (⑤ DE 群) は実験開始日 (O day) に一側の坐骨神経を膝外側上方で切断し 2~3 mm 切除した。反対側を内部対照とし皮膚及び薄筋を傷つけ sham operate した。除神経後は手術脚をひきずって歩くことを確認した。O day 群は実験開始日に、他の 4 群は各々の処置後 5 日目に、心臓から採血後心臓及び筋を摘出し秤量した。

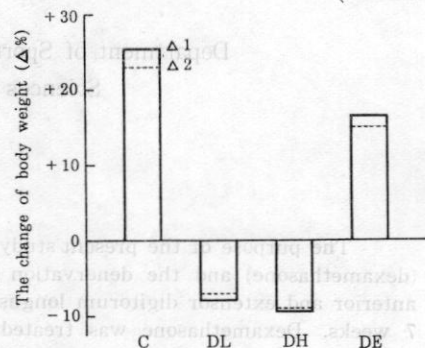
3. 結果

実験開始時 (O day) の体重は各群間で有意差はみられなかった (表 1) が、5 日間のデキサメサ

Table 1. The changes of body weight induced by normal growth, dexamethasone injection and denervation.

	Oday	After
Oday	200±5	/
Control	204±4	251±4
Dexamethasone (2.5 mg/kg)	195±6	184±2
" (5.0 mg/kg)	200±5	181±4
Denervation	202±4	233±6

(Mean ± SE)



Δ1: the difference between the body weight after 5 days-treatment and that at own O day in each group.

Δ2: the difference between the body weight after 5 days-treatment and that at O day of O day group.

C: Control, DL: Injection of dexamethasone of low concentration (2.5 mg/kg). DH: Injection of dexamethasone of high concentration (5.0 mg/kg), DE: Sciatic nerve denervation.

Figure 1. The comparisons of the change of body weight in each group.

ゾン投与群は両群とも7~9%の減少を示した(図1)。体重の減少度は各群内の5日間の変化(図1-△2)をみてもOday群を基準として各群5日目の変化(△1)をみてもほとんど差がなかつ

た(次の組織重量の変化分は△1と同様の比較を行った)。DE群の体重はC群に比べて有意に低かった。

後肢及び心臓の筋重量を表2に示した。5日間

Table 2. Mean tissue weights of various skeletal and cardiac muscles in each group (mg).

	Soleus	Plantaris	Gastrocnemius	Tibiaris Anterior	EDL	Heart
O	73.7 ± 4.3	158.8 ± 12.7	839.5 ± 60.9	322.9 ± 24.2	84.5 ± 5.6	667.9 ± 93.1
C	108.8 ± 14.9	207.5 ± 15.3	1082.8 ± 96.5	432.2 ± 31.3	119.1 ± 10.6	821.0 ± 55.9
DH	83.9 ± 2.5	148.8 ± 14.3	692.5 ± 31.9	328.7 ± 31.5	81.6 ± 7.8	777.7 ± 73.4
DL	85.8 ± 4.8	156.6 ± 15.7	756.4 ± 32.6	318.8 ± 37.2	91.5 ± 10.9	788.3 ± 19.4
DE	65.8 ± 8.4	149.9 ± 7.2	755.6 ± 25.2	311.1 ± 22.0	99.0 ± 4.0	774.3 ± 10.7
DE (C)	91.4 ± 8.3	207.1 ± 10.2	1048.9 ± 93.1	402.1 ± 24.2	111.8 ± 5.3	

O: Oday group, C: control, DH: dexamethasone treatment (5.0 mg/kg), DL: dexamethasone treatment (2.5 mg/kg), DE: denervation, DE (C): contralateral muscle of denervation muscle, EDL: extensor digitorum longus.

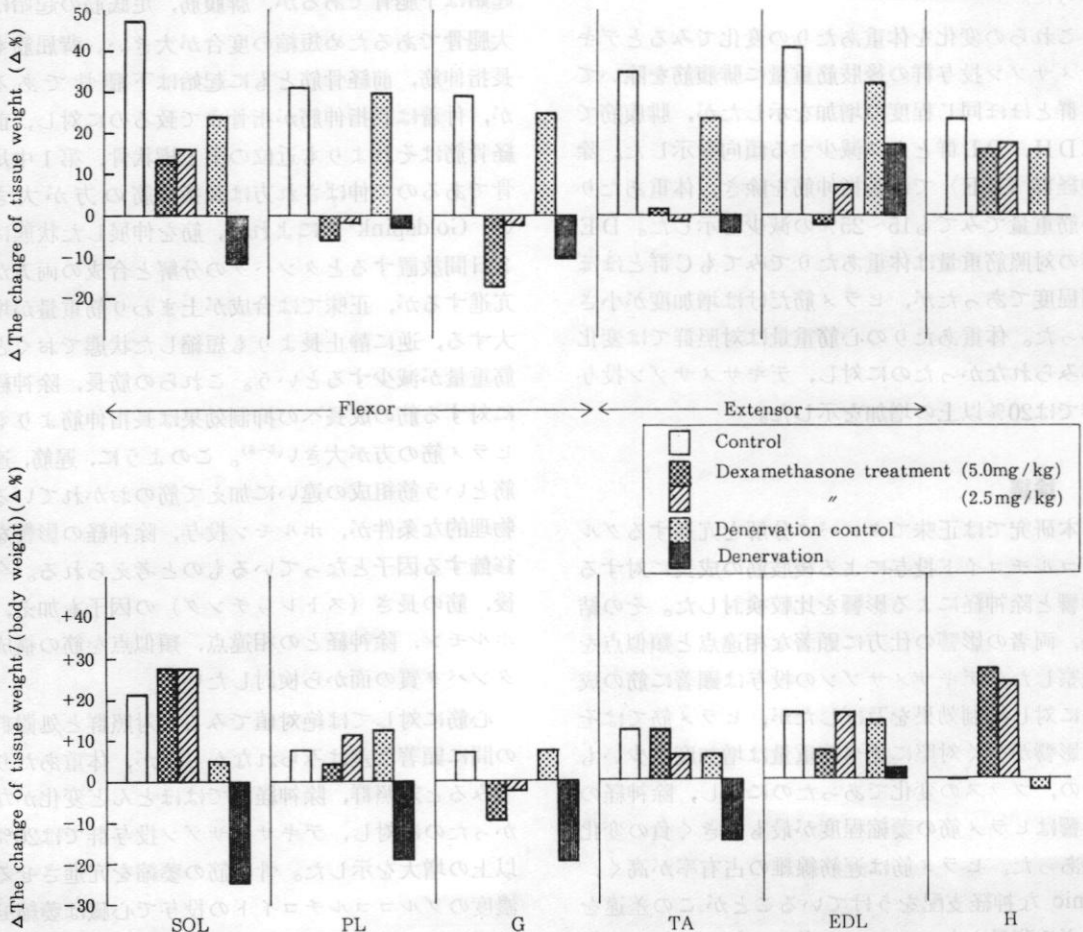


Figure 2. The comparisons of the change of muscle weight for that of O day group in each group. The Upper is for absolute value and the lower is for the values per body weight.

の処置による変化を Oday 群の組織重量に対して絶対値 (図 2-上段) 及び体重あたり (図 2-下段) で比較した。絶対値でみると後肢筋重量は C 群ではいずれも 30~40% の増加を示しているのに対し, DL 群, DH 群ではヒラメ筋では 10~15% の増加したが, その他の筋ではほとんど減少した。足底筋及び腓腹筋の屈筋群の減少が前経骨筋, 長指伸筋の伸筋群に比べて, やや大きかった。除神経筋の後肢筋重量 (DE-operate 群) は絶対値でヒラメ筋, 腓腹筋で 10% の減少, 足底筋, 前経骨筋ではやや減少傾向を示したが, 長指伸筋では逆に増加を示した。DE 群の対照筋は C 群の増加度とほぼ同じ程度であったが, ヒラメ筋だけは対照群の約 1/2 の増加であった。心筋重量は全群で増加を示したが, 処置群は C 群に比べやや増加が小さかった。

これらの変化を体重あたりの変化でみるとデキサメサゾン投与群の後肢筋重量に腓腹筋を除いて C 群とほぼ同じ程度の増加を示したが, 腓腹筋では DH, DL 群ともに減少する傾向を示した。除神経群 (DE) では長指伸筋を除き, 体重あたりの筋重量でみても 15~25% の減少を示した。DE 群の対照筋重量は体重あたりでみても C 群とほぼ同程度であったが, ヒラメ筋だけは増加度が小さかった。体重あたりの心筋重量は対照群では変化がみられなかったのに対し, デキサメサゾン投与群では 20% 以上の増加を示した。

4. 論議

本研究では正味でタンパク分解を亢進するグルココルチコイド投与による後肢筋の成長に対する影響と除神経による影響を比較検討した。その結果, 両者の影響の仕方に顕著な相違点と類似点を観察した。デキサメサゾンの投与は顕著に筋の成長に対し抑制効果を及ぼしたが, ヒラメ筋ではその影響が少く対照に比べ筋重量は増加度は少いものの, プラスの変化であったのに対し, 除神経の影響はヒラメ筋の萎縮程度が最も大きく負の変化であった。ヒラメ筋は遅筋線維の占有率が高く, tonic な神経支配をうけていることがこの差を生ずる背景となっていると考えられ, これらの傾向は先行研究^{2, 5, 6, 8)}と一致した。グルココルチコ

イドは速筋に対しより大きな萎縮作用を示すという報告が多いが^{1, 7, 12, 13, 14)}, 最も速筋線維の比率が高いといわれている長指伸筋は腓腹筋に比べて影響は少く, 除神経の影響も他の後肢筋への影響に比べて小さかった。これらのヒラメ筋, 長指伸筋の変化に加え, 足底筋, 腓腹筋前経骨筋の変化を考慮すると, これらの筋の解剖学的位置による筋の伸ばされ方がかなり影響を及ぼしているように思われる。すなわち, ヒラメ筋, 腓腹筋, 足底筋は底屈筋であるが, 長指伸筋, 前経骨筋は背屈筋であり, とくに膝部での除神経時には膝よりも遠位部は除神経され足部は背屈せず伸展されたままになる。そのため底屈筋は静止長よりも短縮した状態のまま, 逆に背屈筋は静止長よりも伸展された状態になる。さらに底屈筋の中でもヒラメ筋の起始は下腿骨であるが, 腓腹筋, 足底筋の起始は大腿骨であるため短縮の度合いが大きい。背屈筋も長指伸筋, 前経骨筋ともに起始は下腿骨であるが, 付着は長指伸筋が指骨まで致るのに対し, 前経骨筋はそれよりも近位の第 1 楔状骨, 第 1 中足骨であるので伸ばされ方は長指伸筋の方が大きい。Goldspink⁵⁻⁸⁾によれば, 筋を伸展した状態に 3 日間放置するとタンパクの分解と合成の両方が亢進するが, 正味では合成が上まわり筋重量が増大する, 逆に静止長よりも短縮した状態でおくと筋重量が減少するという。これらの筋長, 除神経に対する筋の成長への抑制効果は長指伸筋よりもヒラメ筋の方が大きい⁵⁻⁸⁾。このように, 遅筋, 速筋という筋組成の違いに加えて筋のおかれている物理的な条件が, ホルモン投与, 除神経の影響を修飾する因子となっているものと考えられる。今後, 筋の長さ (ストレッチング) の因子も加え, ホルモン, 除神経との相違点, 類似点を筋の構成タンパク質の面から検討したい。

心筋に対しては絶対値でみると対照群と処置群の間に顕著な差はみられなかったが, 体重あたりでみると対照群, 除神経群ではほとんど変化がなかったのに対し, デキサメサゾン投与群では 20% 以上の増大を示した。骨格筋の萎縮を亢進させる濃度のグルココルチコイドの投与で心臓は萎縮せず, 逆に心肥大をおこしたという研究報告はいくつかある^{9, 10, 12)}。Rannel et al.¹²⁾の酢酸コルチゾ

ンを 10 mg/100 gwt 5 日間投与した実験では、骨格筋では蛋白合成が55%の減少を示したにもかかわらず、心筋での合成の低下はみられなかった。心筋はエネルギー代謝特性からみて、遅筋と類似しており、しかも絶え間なく収縮し続けていることから、遅筋よりもさらにグルココルチコイドの蛋白異化亢進作用の影響を受けにくいことが考えられるが、その詳しいメカニズムについては不明である。

筋萎縮に影響を及ぼす因子について、筋タンパクの合成速度、分解速度の測定から多くの研究が行われている。しかし筋タンパクは homogeneous ではなく、それぞれの筋の収縮タンパク、調節タンパクあるいは水溶性タンパクで、その合成、分解の調節因子は異なっている可能性がある¹⁶⁾。本研究では筋重量からだけ検討を行ったが、今後はそのような観点から筋萎縮のメカニズムを明らかにしてゆく必要があるであろう。

5. まとめ

7 週令 (約 200 g) のラット 25 匹を対象として、筋による除神経及び糖質コルチコイドの筋重量への影響を比較検討した。対象とした筋は後肢底屈筋としてヒラメ筋、足底筋、腓腹筋、背屈筋として前経骨筋、長指伸筋及び心筋である。除神経あるいはデキサメサゾン投与前後に筋を摘出し重量を秤量した。ともに処置期間は 5 日間でその間の筋の成長度 (重量変化) で比較した。実験群は① O day 群、② 対照群、③ デキサメサゾン体重当り 2.5 mg/kg 投与群、④ 同 5.0 mg/kg 投与群、⑤ 除神経群の 5 群であった。除神経は坐骨神経を膝上部で切断した。対照筋重量は 5 日間で 30~45% 増加した。デキサメサゾン投与群ではヒラメ筋と心筋を除き筋の成長は抑制された。除神経は長指伸筋を除き筋重量の増加 (成長) を抑制し萎縮を促進した。このことから糖質コルチコイドは速筋の萎縮を、除神経の萎縮を促進する傾向があることを確認したが、下肢の各筋にする反応の違いをみると特に除神経群では除神経による筋の引き伸ばされ方が筋の萎縮に影響を与えていることが判った。

引用文献

- 1) Griffin EE, and Wildenthal K. Regulation of cardiac protein balance by hydrocortisone: Interaction with insulin. *Am. J. physiol.* 234: E 306-313, 1978.
- 2) Goldberg AL. Protein turnover in skeletal muscle. II. Effects of denervation and cortisone on protein catabolism in skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* 244: 3223-3229, 1969.
- 3) Goldberg AL, Etlinger JD, Goldspink DF, Jablonski C. Mechanism of work-induced hypertrophy of skeletal muscle. *Med. Sic. Sports* 7: 185-196, 1975.
- 4) Goldberg AL, Goodman HM. Relationship between growth hormone and muscular work in determining muscle size. *J. Physiol.* 200: 655-666, 1969.
- 5) Goldspink DF. The effects of denervation on protein turnover of rat skeletal muscle. *Biochem. J.* 156: 71-80, 1976.
- 6) Goldspink DF. The influence of passive stretch on the growth and protein turnover of the denervated extensor digitorum longus muscle. *Biochem. J.* 174: 595-602, 1978.
- 7) Goldspink DF. Physiological factors influencing protein turnover and muscle growth in mammals. In *Development and Specialization of Skeletal muscle* edited by D. F. Goldspink, Cambridge University Press 1980.
- 8) Goldspink DF. The influence of immobilization and stretch on protein turnover of rat skeletal muscle. *J. Physiol.* 264: 267-282, 1977.
- 9) Hickson R C, Galassi TM, Kurowski TT, Daniels DG and Chatterton R T R. Androgen and glucocorticoid mechanisms in exercise-induced cardiac hypertrophy. *Am. J. Physiol.* 246: H 761-H 767, 1984.
- 10) Kurowski TT, Chatterton RT, Hickson RC. Glucocorticoid-induced cardiac hypertrophy: additive effects of exercise: *J. Appl. physiol.* 57: 514-519, 1984.
- 11) Manchester KL and Harris EJ. Effect of denervation on the synthesis of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid in rat diaphragm muscle. *Biochem. J.* 108: 177-183, 1968.
- 12) Rannel SR, Rannels DE, Pegg AE, and Jefferson LS. Glucocorticoid effects on peptide-chain initiation in skeletal muscle and heart. *Am. J. physiol.* 235: E 134-139, 1978.
- 13) Rannel S.R, and Jefferson LS. Effects of glucocorticoids on muscle protein turnover in perfused rat hemi-corpus. *Am. J. physiol.* 238: E 564-E 572, 1980.
- 14) Seider MJ., Kapp R, Chen CP, Booth FW. The effects of cutting or of stretching skeletal

