

## 4) ステロイドミオパチーの筋蛋白代謝

塚 越 廣\*

研究協力者 庄 司 進 一\*

はじめに

現在医療の世界で広く用いられている glucocorticoids の副作用の一つである steroid myopathy は筋蛋白減少を来たす疾患である。cortisol の過分泌によって起こる Cushing's syndrome に於ても同様な myopathic condition が見られる。1940年 Long et al. の adrenal cortical extract を rats に投与すると尿中に nitrogen の loss が起こるとい報告以来 glucocorticoids の蛋白異化作用に関しては広く論じられてきた。glucocorticoids を受けた animals の muscle 内, plasma 内で free amino acids の levels が上昇するという報告もある (Friedberg and Greenberg, 1947; Kaplan and Shimizu, 1963; Ryan and Carver, 1963; Bethel et al., 1965)。

他の組織と同様、筋蛋白も連続的に turnover が行なわれている。labelled amino acids の再利用による errors を最小限にすると、筋蛋白の平均 half-life は数日である (Millward, 1970)。したがって glucocorticoids による筋蛋白の減少は蛋白合成抑制か蛋白分解亢進又はその両方の結果である。

分離した diaphragms を用いて cortisone 又は cortisol の投与を受けた rats の筋蛋白への labelled amino acids (glycine, histidine, phenylalanine, methionine) の取り込みが減少していることを示した報告がある。

(Manchester et al., 1959; Wool and Weinskelbaum, 1960 a, b; Shimizu and Kaplan, 1964)。

Kostyo と Redmond (1966) は in vitro で diaphragms に corticosterone を投与しても同様な効果があったと報告した。一方、De Loecker (1966) は比較的少量の cortisol の in vitro での投与で rat hind limbs の adductor muscles の蛋白への labelled leucine と lysine の取り込みが増加したことから、glucocorticoids による筋蛋白分解亢進が steroid myopathy の筋萎縮の主因だと考えた。Goldberg (1969) は cortisone acetate を 7 日間 rats に投与し、 $[^3\text{H}]$  leucine で labelled された筋蛋白の代謝を研究した。hormone 投与で plantaris の total amount of labelled proteins は減少したがその specific activity には変化がなかった。そこで cortisone は筋蛋白合成を抑制すると結論した。Hanoune et al. (1972) は fasted rats に cortisone を投与すると 5 時間後に筋蛋白への  $[^{14}\text{C}]$  leucine の取り込みが 43% に減少したと報告した。

muscle ribosomes を精製して行った研究に於いても筋蛋白合成を glucocorticoids が抑制するという報告がある。Bullock et al. (1968, 1971) はいろいろな glucocorticoids の投与を受けた rats の筋より精製した ribosomes の蛋白への amino acids 取り込み能の減少を報告した。次いで (Bullock et

\* 信州大学医学部第三内科

al., 1972) はこれが muscle polyribosomes の減少に伴うことを示した。Young et al. (1968) もまた cortisol 投与4時間以内に muscle polyribosomes の減少を報告した。

glucocorticoids の筋蛋白分解に対する効果については合成に関する程注目を集めてはなかった。Schwartz et al. (1965) は cortisone 投与を受けた rats の diaphragm の peptidase 活性が上昇していることを報告した。Mayer et al. (1974) は triamcinolone を3日間投与した rats の muscle myofibril preparation は autolysis が60%増加していたと報告した。Goldberg (1969) は cortisone 投与 rats の筋蛋白から labelled protein の loss が増加していたことから筋蛋白分解亢進と考えた。

我々は in vitro で whole extensor digitorum longus muscles を incubate して, steroid myopathy に於ける筋蛋白合成と分解のどちらの過程がより muscle atrophy に重大であるか研究した。この筋は Type II fibres を優位に含む白筋である。steroid myopathy の histochemical な特徴の一つは Type II fibres の preferential atrophy である。さらに Goldberg and Goodman (1969) は cortisone で赤筋より白筋がより強く侵されることを報告している。

#### 材料および方法

既に報告した (Shoji and Pennington, 1977)。

#### 結 果

体重, 筋湿重量, 筋蛋白量の変化: 表1に示した。cortisone 投与を受けた animals (test) は1~3日間投与のいずれに於いても有意な体重増加率の減少を認めた。筋湿重量は control に比べ有意に減少していた。筋蛋白量は3日投与で有意に減少を示したが, 蛋白濃度はかえって増加を示した。後者は cell water gloss が蛋白の loss より早いことに

よると考えられる (Kochakian and Robertson 1951)。

食餌摂取量: control と test で食餌摂取量に有意差はなかった。

incubated muscles の K 濃度: K 濃度は incubate しない対側に比べ同じか, ごく軽度低下していた。全ての incubated muscles の K 濃度は  $70 \mu \text{equiv.} / \text{g wet weight}$  以上であった。このような良い値は dissected diaphragms では期待できなかった。

蛋白分解率: 表2の如く, tyrosine の筋当りの release は1~2日間投与では有意差なく, 3日間投与で有意に減少した。wet weight, muscle protein 当りにするとこれも有意差は無かった。

蛋白合成率: 蛋白への tyrosine 取り込みの計算では incubation 中 specific activity が一定であると仮定した。Li et al. (1973) は diaphragm の場合 specific activity が constant になるのは20分なので2時間の incubation とすると error は比較的小さいとした。我々は EDL での intracellular tyrosine の specific activity をいろいろな時間の incubation で測定し図1に示した。maximum specific activity には control も test

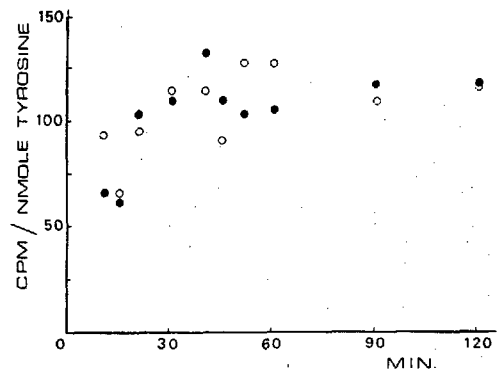


図1 Specific radioactivity of intracellular tyrosine in muscles incubated for varying periods in a medium containing  $[^{14}\text{C}]$  tyrosine. ●, muscle from cortisone-treated rats; ○, muscle from control rats.

表1 Effect of cortisone on changes in body weight and muscle weight and protein. Growing female rats daily received cortisone acetate (100mg/kg of initial body weight) (Test) or 0.9%NaCl solution (Control), intra-peritoneally for 1 to 3 days. Animals were sacrificed 24 h after the last injection. All values are mean  $\pm$  S.E. of 6 rats. Statistical analysis of the differences between test and control was done using Student's paired *t* test.

	Duration of treatment (days)		
	1	2	3
<b>Initial body wt. (g)</b>			
Control	52.1 $\pm$ 1.8	43.3 $\pm$ 1.2	42.0 $\pm$ 0.6
Test	52.0 $\pm$ 2.0	43.6 $\pm$ 1.0	42.2 $\pm$ 0.7
<b>Final body wt. (g)</b>			
Control	55.4 $\pm$ 2.0	50.9 $\pm$ 1.2	47.6 $\pm$ 0.6
Test	53.0 $\pm$ 2.1 ***	44.9 $\pm$ 0.7 ***	43.3 $\pm$ 0.7 ***
<b>EDL wet wt. (mg)</b>			
Control	21.9 $\pm$ 1.2	19.9 $\pm$ 0.3	20.9 $\pm$ 0.8
Test	20.5 $\pm$ 1.1 *	16.5 $\pm$ 0.3 ***	16.9 $\pm$ 0.7 ***
<b>EDL wet wt./final body wt. (%)</b>			
Control	0.393 $\pm$ 0.009	0.392 $\pm$ 0.012	0.438 $\pm$ 0.012
Test	0.387 $\pm$ 0.007	0.368 $\pm$ 0.011	0.389 $\pm$ 0.013 ***
<b>Total protein (mg) in EDL</b>			
Control	4.02 $\pm$ 0.29	3.59 $\pm$ 0.17	3.71 $\pm$ 0.27
Test	3.90 $\pm$ 0.26	3.10 $\pm$ 0.14	3.25 $\pm$ 0.28 ***
<b>Protein concentration (mg/g wet wt.) in EDL</b>			
Control	184 $\pm$ 7	180 $\pm$ 7	177 $\pm$ 7
Test	190 $\pm$ 7	188 $\pm$ 8	192 $\pm$ 11 **

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.005$ .

表2 Effect of cortisone upon rate of protein breakdown by EDL muscle. All values are mean  $\pm$  S.E. of 6 rats.

Duration of treatment (days)	Group	Tyrosine released (nmol/2 h)		
		Per whole muscle	Per mg wet wt.	Per mg protein
1	Control	6.71 $\pm$ 0.29	0.309 $\pm$ 0.009	1.69 $\pm$ 0.07
	Test	6.34 $\pm$ 0.64	0.307 $\pm$ 0.024	1.61 $\pm$ 0.08
2	Control	6.13 $\pm$ 0.18	0.309 $\pm$ 0.012	1.73 $\pm$ 0.09
	Test	6.51 $\pm$ 0.58	0.395 $\pm$ 0.034	2.10 $\pm$ 0.16
3	Control	6.06 $\pm$ 0.23	0.292 $\pm$ 0.015	1.67 $\pm$ 0.13
	Test	5.21 $\pm$ 0.09 *	0.313 $\pm$ 0.018	1.66 $\pm$ 0.14

\*  $P < 0.01$ .

表3 Effect of cortisone upon rate of protein synthesis by EDL muscle.

The calculations of the amount of tyrosine incorporated into the muscle protein were based upon the specific radioactivity of the intracellular free tyrosine, as described in the text. Values are mean  $\pm$  S.E.

Duration of treatment and (number of pairs)	Group	[ <sup>14</sup> C]Tyrosine incorporated (nmol/2 h)	
		Per whole muscle	Per mg wet wt.
1 day (7)	Control	2.31 $\pm$ 0.07	0.119 $\pm$ 0.003
	Test	1.39 $\pm$ 0.06 **	0.090 $\pm$ 0.002 **
2 days (5)	Control	2.52 $\pm$ 0.07	0.118 $\pm$ 0.004
	Test	1.41 $\pm$ 0.05 **	0.087 $\pm$ 0.002 *
3 days (9)	Control	3.13 $\pm$ 0.09	0.131 $\pm$ 0.007
	Test	1.56 $\pm$ 0.06 **	0.083 $\pm$ 0.005 **

\*  $P < 0.025$ ; \*\*  $P < 0.005$ .

も約30分で到達した。したがって蛋白への取り込みは2時間の計算で約10%低く算出されることになる。しかし control と test の相対的な取り込みに関しては何の障害もない。

tyrosine の筋蛋白への取り込みは, test で 1~3日間投与のいずれに於いても wet weight 当りで抑制されており, whole muscle 当りでは 2~3日間投与で有意に抑制されていた。以上の計算は intracellular free

tyrosine が蛋白合成の precursor である (Li et al., 1973) としての計算だが, 他の研究者 (Hider et al., 1969) は extracellular pool から直接 amino acids が蛋白に取り込まれると主張している。後者の立場で incubation medium の tyrosine の specific radio activity より算出した蛋白合成率は表4である。cortisone の有意な抑制効果は再び明らかである。

表4 Rates of incorporation of tyrosine into muscle protein calculated on the assumption that extracellular tyrosine is directly incorporated. In most cases they were derived from the same experiments as the results in table 3. Values are mean  $\pm$  S.E.

Duration of treatment and (number of pairs)	Group	[ <sup>14</sup> C]Tyrosine incorporated (nmol/2 h)	
		Per whole muscle	Per mg wet wt.
1 day (7)	Control	4.72 $\pm$ 0.06	0.244 $\pm$ 0.005
	Test	2.68 $\pm$ 0.18 **	0.174 $\pm$ 0.009 **
2 days (6)	Control	5.23 $\pm$ 0.39	0.241 $\pm$ 0.016
	Test	2.21 $\pm$ 0.24 **	0.134 $\pm$ 0.019 *
3 days (7)	Control	5.38 $\pm$ 0.35	0.234 $\pm$ 0.010
	Test	2.49 $\pm$ 0.11 **	0.135 $\pm$ 0.007 **

\*  $P < 0.025$ ; \*\*  $P < 0.005$ .

表5 Relative rates of protein synthesis in various muscle fractions, in control and cortisone-treated rats. Following incubation of the muscles with [<sup>14</sup>C] tyrosine, the muscle were fractionated as described and the radioactivity measured in each fraction. In each experiment, 3 pairs of rats were used and the muscles combined for fractionation and measurement of radioactivity.

Exp. No.	Group	Radioactivity in fraction (%)		
		600 g pellet	40,000 g pellet	40,000 g supernatant
I	Control	69.3	8.7	22.0
	Test	70.8	10.4	18.8
II	Control	75.8	6.0	18.2
	Test	67.9	11.9	20.2

表5には cortisone が myofibrillar と soluble proteins に同程度の合成抑制効果を有することを示した。

#### 考 按

表2に示した実験は glucocorticoids が筋蛋白分解を亢進するということを示さないばかりか cortisone 3日投与で有意な筋蛋白分解減少が来たということから steroid myopathy の筋萎縮が主としてあるいは完全に蛋白合成抑制によることを示している。in vivo の蛋白代謝実験 (Goldberg, 1969) で cortisone 投与後に筋蛋白分解亢進が考えられたのは、蛋白分解に由来する labelled aminoacids の合成への再利用のための error と考えられる。再利用のため蛋白分解が underestimate される error が生ずる。また Goldberg が labelled aminoacids として用いた leucine は骨格筋ですみやかに酸化されること、さらに glucocorticoid 投与でこの酸化が亢進することが報告されている (Odyssey and Goldberg 1972; Ryan et al., 1974)。したがって steroid 投与をうけた動物で labelled leucine の蛋白合成への再利用は減少していたであろう。

muscle myofibril preparations の autolytic breakdown が triamcinolone 投与で増加する (Mayer et al., 1974) という事実は、骨格筋 homogenates のそのような breakdown が筋内 mast cells によるもので、筋蛋白の生体内での代謝には重要でないとする報告がある (Park et al., 1973)。

#### 要 約

cortisone 投与による筋蛋白の分解と合成率の変化をラットの extensor digitorum longus muscle を用いて研究した。cortisone acetate を 100mg/kg body weight/day 1～3日間腹腔内に投与した。筋重量と筋蛋白量は cortisone 投与で有意に減少した。筋蛋白分解率は分離した筋から in vitro で cycloheximide で蛋白合成を阻害した条件下で intracellular pool と medium に2時間の incubation で遊離する tyrosine 量より測定した。筋蛋白合成率は分離した筋の蛋白内に2時間の incubation で取り込まれる [<sup>14</sup>C] tyrosine 量より測定した。cortisone 投与は 1～3日間投与のいずれに於いても筋蛋白合成を有意に抑制し、3日投与に於いては筋蛋白分解をも有意に抑制した。筋構成蛋白と筋可溶性蛋

白は cortisone により同程度の合成抑制を受けた。これらの結果は cortisone 投与による筋蛋白の減少はこの蛋白合成抑制によるのであって蛋白分解亢進によるのではないことを示している。

#### 文 献

- 1) Bethel, J. J., Feigelson, M. and Feigelson, P. (1965) *Biochim. Biophys. Acta.* 104, 92.
- 2) Bullock, G., White, A. M. and Worthington, J. (1968) *Biochem. J.* 108, 417.
- 3) Bullock, G. R., Christian, R. A., Peters, R. F. and White, A. M. (1971) *Biochem. Pharmacol.* 20, 943.
- 4) Bullock, G. R., Carter, E. E., Elliott, P., Peters, R. F., Simpson, P. and White, A. M. (1972) *Biochem. J.* 127, 881.
- 5) De Loecker, W. (1966) *Acta Endocrinol.* 52, 416.
- 6) Ferguson, L. A. and Wool, I. G. (1962) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 116, 529.
- 7) Friedberg, F. and Greenberg, O. M. (1947) *J. Biol. Chem.* 168, 405.
- 8) Fulks, R. M., Li, J. B. and Goldberg, A. L. (1975) *J. Biol. Chem.* 250, 290.
- 9) Goldberg, A. L. (1969) *J. Biol. Chem.* 244, 3223.
- 10) Goldberg, A. L. and Goodman, H. M. (1969) *J. Physiol.* 200, 667.
- 11) Goodlad, G. A. J. and Munro, H. N. (1959) *Biochem. J.* 73, 343.
- 12) Guroff, G. and Udenfriend, S. (1960) *J. Biol. Chem.* 235, 3518.
- 13) Hanoune, J., Chambaut, A.-M. and Josipowicz, A. (1972) *Arch. Biochem. Biophys.* 148, 180.
- 14) Hider, R. C., Fern, E. B. and London, D. R. (1969) *Biochem. J.* 114, 171.
- 15) Kaplan, S. A. Shimizu, C. S. N. (1963) *Endocrinology.* 72, 267.
- 16) Kochakian, C. D. and Robertson, E. (1951) *J. Biol. Chem.* 190, 495.
- 17) Kostyo, J. L. (1965) *Endocrinology.* 76, 604.
- 18) Kostyo, J. L. and Redmond, A. F. (1966) *Endocrinology.* 79, 531.
- 19) Li, J. B., Fulks, R. M. and Goldberg, A. L. (1973) *J. Biol. Chem.* 248, 7272.
- 20) Long, C. N. H., Katzin, B. and Fry, E. G. (1940) *Endocrinology.* 26, 309.
- 21) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) *J. Biol. Chem.* 193, 265.
- 22) Manchester, K. L., Randle, P. J. and Young, F. G. (1959) *J. Endocrinol.* 18, 395.
- 23) Mayer, M., Amin, R. and Shafir, E. (1974) *Arch. Biochem. Biophys.* 161, 20.
- 24) Millward, D. J. (1970) *Clin. Sci.* 39, 577.
- 25) Morgan, H. E., Earl, D. C. N., Broadus, A., Wolpert, E. B., Giger, K. E. and Jefferson, L. S. (1971) *J. Biol. Chem.* 246, 2152.
- 26) Munck, A. (1971) *Perspect. Biol. Med.* 14, 265.
- 27) Munck, A., Wira, C., Young, D. A., Mosher, K. M., Hallahan, C. and Bell, P. A. (1972) *J. Steroid. Biochem.* 3, 567.
- 28) Munro, H. N. (1964) In: *Mammalian Protein Metabolism*, Vol. 1, Eds.: H. N. Munro and J. B. Allison (Academic Press, New York) p. 382.
- 29) Odessey, R. and Goldberg, A. L. (1972) *Am. J. Physiol.* 223, 1376.
- 30) Park, D. C., Parsons, M. E. and Pennington, R. J. (1973) *Biochem. Soc. Trans.* 1, 730.
- 31) Ryan, N. T., George, B. C., Odessey, R. and Egdahl, R. H. (1974) *Meta-*

- bolism. 23, 901.
- 32) Ryan, W. L. and Carver, M. J.  
(1963) Proc. Soc. Exp. Biol. Med.  
114, 816.
- 33) Schwartz, T. B., Robertson, N. C.  
and Holmes, L. B. (1956) Endo-  
crinology. 58, 453.
- 34) Shoji, S. and Pennigton, R. J. T.  
(1977) Mol. Cell. Endocrinology.  
6, 159.
- 35) Shimizu, C. S. N. and Kaplan, S.  
A. (1964) Endocrinology. 74, 709.
- 36) Waalkes, T. P. and Udenfriend,  
S. (1957) J. Lab. Clin. Med. 50,  
733.
- 37) Wool, I. G. (1960) Am. J. Physiol.  
199, 715.
- 38) Wool, I. G. and Weinschelbaum,  
E. I. (1960a) Am. J. Physiol. 198,  
360.
- 39) Wool, I. G. and Weinschelbaum,  
E. I. (1960b) Am. J. Physiol. 198,  
1111.
- 40) Young, V. R., Chen, S. C. and  
Macdonald, J. (1968) Biochem.  
J. 106, 913.

↓  
**検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります  
↓

はじめに

現在医療の世界で広く用いられている glucocorticoids の副作用の一つである steroid myopathy は筋蛋白減少を未たす疾患である。cortisol の過分泌によって起こる Cushing's syndrome に於ても同様な myopathic condition が見られる。1940年 Long et al. の adrenal cortical extract を rats に投与すると尿中に nitrogen の loss が起こるという報告以来 glucocorticoids の蛋白異化作用に関しては広く論じられてきた。glucocorticoids を受けた animals の muscle 内, plasma 内で free amino acids の levels が上昇するという報告もある (Friedberg and Greenberg, 1947; Kaplan and Shimizu, 1963; Ryan and Carver, 1963; Bethel et al., 1965)。

他の組織と同様, 筋蛋白も連続的に turnover が行なわれている。labeled amino acids の再利用による errors を最小限にすると, 筋蛋白の平均 half-life は数日である (Millward, 1970) 。したがって glucocorticoids による筋蛋白の減少は蛋白合成抑制か蛋白分解亢進又はその両方の結果である。