

29) 筋漿酵素漏出に関するカテコールアミンの作用機序について

西川 光夫*

研究協力者 中田 俊士* 畑 中 良 夫* 浜 口 知 昭*
城 山 美穂子* 植 田 啓 嗣*

目 的

近年、筋ジストロフィー症動物において、カテコールアミン代謝異常が注目されている¹⁾。

一方、これとは独立に、我々は筋ジストロフィー症の発症機序に、呉・沖中以来の自律神経因子の関与を想定して、雄性家兔の視床下部の電気刺激を行った。

その結果、b交感帯の電気刺激時にのみ、血清CPK, Aldolase, LDH 活性値の上昇を認め、Isozyme分析により、これら酵素が骨格筋より漏出して来たものであることを明らかにした。また、C副交感帯の電気刺激では、これら筋漿酵素の血中への漏出は認められないことを報告した²⁾。

さらに検討を進め、 α -adrenergic stimulator である noradrenaline を雄性家兔に投与したところ、視床下部 b交感帯電気刺激の時と同様、血清CPK, Aldolase, LDH 活性値の上昇を認めたが、 β -adrenergic stimulator である isoproterenol には、このような作用のないことをも報告して来た³⁾。

本研究の目的は、以上の成績をもとに、筋漿酵素の血中への漏出に関する noradrenaline の作用機序を明らかにすることにある。

方法ならびに結果

I. noradrenaline の血清・筋組織CPK活性ならびに筋膜(Na+K)ATPase 活性におよぼす影響

体重3kgの雄性家兔の1側坐骨神経を、nembutal 麻酔下に切断し、24時間後に noradrenaline 1mg を皮下注射した群と対照群の各々3匹ずつに分けた。

noradrenaline 注射直前、注射後6時間目および12時間目に耳介静脈より採血した後、nembutal 麻酔下に直ちに tibialis ant., gastrocnemius, soleus を採取し、dry-ice acetone で凍結して以下の実験に供した。

採取した血液は、1.5~2時間室温に放置した後、3000r.p.m., 10分間遠心して血清を分離した。

凍結筋組織は、10倍容の100mM CH₃COO Na, 0.15% deoxycholate (1N NaOH で pH 8.0に調整) 溶液中で polytron homogenizer を用いて磨碎し、10⁴ r.p.m., 10分間の遠沈上清を、さらに100mM CH₃COONa 溶液 (1N NaOH で pH 8.0に調整) で tibialis ant., gastrocnemius は最終濃度2000倍、soleus は500倍に希釈したものを筋組織抽出液とした。

血清および筋組織抽出液のCPK活性は、江橋法⁴⁾により測定した。

*大阪大学医学部第二内科

(1) 血清 CPK 活性におよぼす noradrenaline の影響 (図 1)。

Effect of NA on Serum CPK Activities (Male Rabbits)

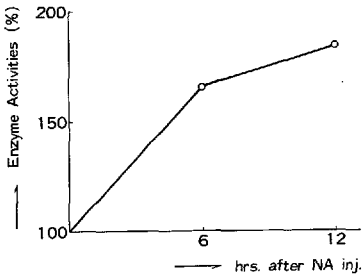


図 1 noradrenaline 投与直前の活性を 100 とした時の各時点での活性を%で表示している。

血清 CPK 活性は, noradrenaline 投与直前の値を100%とした時, 投与後 6 時間目で167%, 12時間目では186%と漸次上昇を認めた。

なお, 対照群では, 直前, 6 時間目, 12 時間目の血清 CPK 活性値に差を認めなかった。

(2) 神経切断・非切断筋組織 CPK 活性におよぼす noradrenaline の影響 (図 2)。

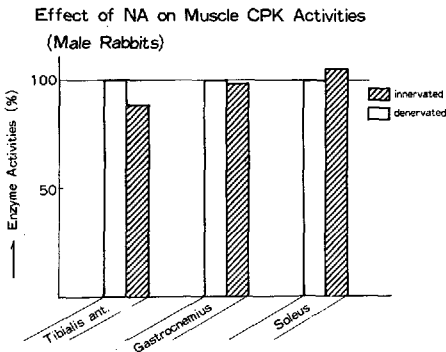


図 2 坐骨神経切断側の活性を 100 とした時の非切断側の活性を%で表示している。

noradrenaline 投与後血清 CPK 活性が約 1.9 倍に上昇している12時間目の筋組織 CPK 活性を, tibialis ant., gastrocnemius, soleus の 3 筋の坐骨神経非切断側, 切断側で比較した。

切断側の CPK 活性を100%とすると, 非切断側の CPK 活性は, tibialis ant., で切断側の88%, gastrocnemius で切断側の96%にまで減じていたが, soleus では逆に106%と切断側より高値を示した。

(3) 筋膜 (Na+K) ATPase 活性におよぼす noradrenaline の影響 (図 3)。

Effect of NA & Curare on (Na+K) ATPase Activities (Male Rabbits)

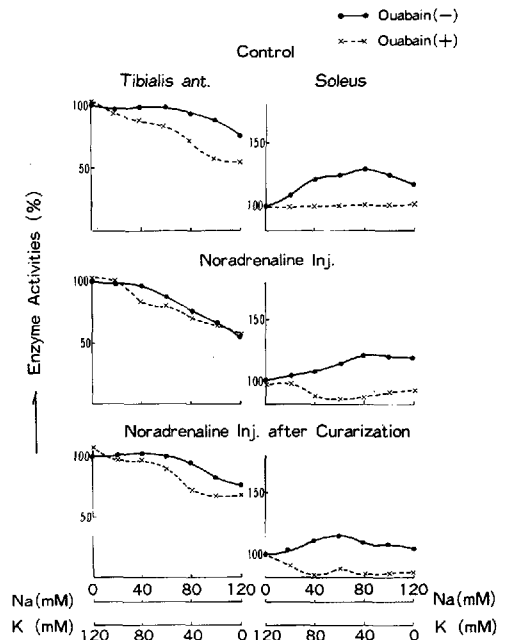


図 3 Na 濃度 0mM, K 濃度 120mM, ouabain 非添加時の (Na+K) ATPase 活性を 100 とした時の各 Na, K 濃度における活性を%で表示している。

noradrenaline 投与により, 膜透過性に変化がもたらされているか否かを, 筋膜 (Na+K) ATPase 活性を指標に検討した。

坐骨神経非切断側の *tibialis ant.*, および *soleus* を5倍容の10mM CaCl₂ 溶液 (Tris で pH8.0に調整) 中で, polytron homogenizer を用いて磨砕し, 以下 Severson 法⁵⁾ に準じて, 筋膜を分離・精製した。

筋膜 (Na+K) ATPase 活性は, 基質である Na 濃度を 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 mM, K 濃度を逆に, 120, 100, 80, 60, 40, 20, 0 mM と変え, 両者の濃度の合計が 120 mM となるように設定した点を除いては, Sulakhe 法⁶⁾ に準じて測定した。

tibialis ant. の Na 濃度 100mM, K 濃度 20 mM における ouabain 感受性筋膜 (Na+K) ATPase 活性は, 対象群 (図3最上段・左) で約30%あるのに較べて, noradrenaline 投与群 (図3中段・左) では活性は殆んど認められなかった。

これに対して, *soleus* では対照・noradrenaline 投与両群 (図3最上-中段・右) の間に著明な差は認められなかった。

II. 神経筋接合部 block の noradrenaline 投与後の血清 CPK 活性および筋膜 (Na+K) ATPase 活性におよぼす影響

体重 3 kg の雄性家兔を, nembutal 麻酔下に気管切開を施行, 気管カニューレを挿入して, noradrenaline 単独投与群と, curarization + noradrenaline 投与群の各々 2匹ずつに分けた。

noradrenaline 単独投与群には, 生理食塩水 50ml を耳介静脈より 10時間持続点滴した。

curarization 群は, Narco Bio-System Co. 製小動物用 respirator で呼吸管理下に, d-tubocurarine-HCl 15mg を生理食塩水 50 ml に溶かして, 耳介静脈より 10時間持続点滴した。そして, 神経筋接合部が十分に block された点滴開始 30分後に, noradrenaline 1 mg を皮下注射した。

両群とも, noradrenaline 投与直前, 投与後 5時間目および 10時間目に耳介静脈より採血した後, nembutal 麻酔下に直ちに *tibialis ant.*, *soleus* を採取し, dry-ice acetone

で凍結して以下の実験に供した。

(1) curarization の noradrenaline 投与後の血清 CPK 活性におよぼす影響 (図4)。

Effect of NA on Serum CPK Activities by Curarization (Male Rabbits)

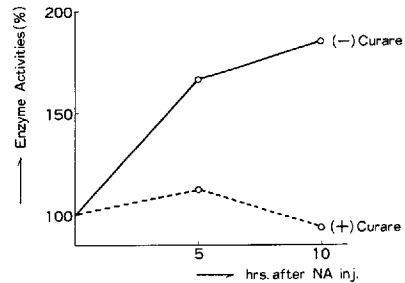


図4 noradrenaline 投与直前の活性を 100 とした時の各時点での活性を%で表示している。

noradrenaline 単独投与群の血清 CPK 活性は, 投与直前の値を 100% とすると, 投与後 5時間目で 160%, 10時間目で 190% と漸次上昇を示した。

これに対して, curarization + noradrenaline 投与群の血清 CPK 活性は, noradrenaline 投与直前の値を 100% とすると, 投与後 5時間目で 112%, 10時間目で 93% と上昇は認められなかった。

(2) curarization の noradrenaline 投与後の筋膜 (Na+K) ATPase 活性におよぼす影響 (図3)。

tibialis ant. の筋膜 (Na+K) ATPase 活性曲線 (図3最下段・左) は, noradrenaline 単独投与群の活性曲線 (図3中段・左) とは異なり, むしろ対照群のそれ (図3最上段・左) に近いパターンが得られた。

考 按

我々は, 雄性家兔に α -adrenergic stimulator である noradrenaline を投与することにより, 血清 CPK, Aldolase, LDH 活性

が上昇すること、これら酵素が骨格筋由来であることを報告して来たが、今回は noradrenaline の筋漿酵素漏出機構について検討を加えた。

以下、得られた成績をもとに若干の考察を加えてみた。

noradrenaline 投与により、血清 CPK 活性が上昇し (図 1)、その際坐骨神経非切断側の tibialis ant., gastrocnemius、ことに前者の筋 CPK 活性に著明な減少が認められたが、非切断側の soleus および切断側の tibialis ant., gastrocnemius、soleus の CPK 活性に減少が認められなかった (図 2) という成績は、noradrenaline 投与による血清 CPK 活性の上昇には、末梢神経と骨格筋が有機的に連絡していることが必要であること、および血中に増加した CPK は、tibialis ant. に代表される白筋より漏出して来たものであることを示唆している。

では、投与された noradrenaline は筋-神経筋接合部-神経のどの部位に作用して、骨格筋 (白筋) より CPK の血中への漏出を惹起させているのであろうか。

d-tubocurarine で神経筋接合部を block しておくと、noradrenaline 投与による血清 CPK 活性の上昇効果が抑制される (図 4) という成績は、noradrenaline が神経筋接合部より presynaptic に作用して、骨格筋 (白筋) より CPK の血中への漏出を惹起させていることを示唆している。

さらに、神経筋接合部を block した状態で noradrenaline を投与した場合の tibialis ant. の筋膜 (Na+K) ATPase 活性曲線が、対象群のそれと類似しているのに対して、noradrenaline 単独投与した場合の (Na+K) ATPase 活性曲線が前二者とは全く違ったパターンを呈している (図 3) という成績は、投与された noradrenaline が presynaptic に作用して transmitter を放出させ、それが膜の透過性を変えている結果と理解されよう。

この場合、transmitter が acetylcholine

であるのか、別の物質であるのか、また筋膜の透過性が筋膜 (Na+K) ATPase の primary の作用によっているのか否かは、現在のところ不明であるが、今後検討すべき課題と考える。

結 語

1. noradrenaline は、a) presynaptic に作用して、b) 白筋の膜透過性を昂め、c) 筋漿酵素の血中への漏出を惹起させているものと考えられる。

2. noradrenaline 投与により、presynapse より放出される transmitter が acetylcholine であるのか、他の物質であるのかは今後の検討を要する。

文 献

- 1) Kabara, J. J., Riggin, R. M. and Kissinger, P. T. : Abnormal levels of urinary catecholamines in dystrophic mice and hamsters. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 151 : 168-172, 1976.
- 2) 植田啓嗣, 中田俊士, 大原俊樹, 畑中良夫, 塩谷弥兵衛 : 神経・筋肉疾患の血清酵素と自律神経. 臨床神経, 14 : 961, 1974.
- 3) 大原俊樹, 中田俊士, 畑中良夫, 浜口知昭, 城山美穂子, 植田啓嗣 : Duchenne 型筋ジストロフィー症の血清酵素値と自律神経剤. 臨床神経, 15 : 969, 1975.
- 4) 江橋節郎 : Creatine phosphokinase. 臨床酵素学. (赤堀四郎・冲中重雄監修) pp. 356-366, 朝倉書店, 東京, 1964.
- 5) Severson, D. L., Drummond, G. I. and Sulakhe, P. V. : Adenylate cyclase in skeletal muscle. J. Biol. Chem., 249 : 2949-2958, 1972.
- 6) Sulakhe, P. V., Fedelesova, M., McNamara, D. B. and Dhalla, N. S. : Isolation of skeletal muscle fragments containing active Na^+-K^+ stimulated ATPase; Comparison of

normal and dystrophic muscle
sarcolemma. Biochem. Biophys.
Res. Commn., 42 : 793-800, 1971.

↓
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
↓

目的

近年,筋ジストロフィー症動物において,カテコールアミン代謝異常が注目されている 1).

一方,これとは独立に,我々は筋ジストロフィー症の発症機序に,呉・冲中以来の自律神経因子の関与を想定して,雄性家兔の視床下部の電気刺激を行った.

その結果,b 交感帯の電気刺激時にのみ,血清 CPK,Aldolase,LDH 活性値の上昇を認め,Isozyme 分析により,これら酵素が骨格筋より漏出して来たものであることを明らかにした.また,c 副交感帯の電気刺激では,これら筋漿酵素の血中への漏出は認められないことを報告した 2).