

氏名（本籍）	み 三	うら 浦	つとむ 力
学位の種類	薬	学	博 士
学位記番号	薬博第	88	号
学位授与年月日	昭和53年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
研究科専門課程	東北大学大学院薬学研究科 （博士課程）薬学専攻		
学位論文題目	遺伝性筋ジストロフィーマウスなら びにステロイドミオパチーマウスの 骨格筋における糖代謝と膜系酵素の 比較研究		

（主 査）

論文審査委員 教授 小 澤 光 教授 南 原 利 夫
教授 鶴 藤 丞

論 文 内 容 要 旨

筋疾患の代表的なものである遺伝性筋ジストロフィーならびにステロイドミオパチーについて、その基礎的な知見を得る目的で、遺伝性筋ジストロフィーマウスならびに糖質コルチコイド連続投与マウスを用い、病態時における骨格筋の生化学的変化を、糖代謝と膜系酵素を中心に比較検討したものである。

ステロイドミオパチーは糖質コルチコイドの連続投与または過剰投与により惹起され、筋肉の瘠瘦、筋緊張の低下を生ずるが、本症の原因はいまだ不明である。

ステロイドミオパチーの病態像の一つとして、筋運動のエネルギー源である筋 glycogen の蓄積が一般に指摘されている。しかし糖質コルチコイドの1回投与でも glycogen の蓄積がみられることや、投与回数がさらに増加しミオパチー症状の進行した時点では、むしろこの蓄積が減弱するなどの知見もみられ、必ずしもこれが病態の本質とは断定しがたい。そこで本研究においては、まず糖質コルチコイド連続投与の筋 glycogen に及ぼす影響をさらに詳細に検討するため、糖質コルチコイド連続投与時の影響を1回投与と比較検討し、同時に比較のため、glycogen レベルの高い組織として肝についても同様の検討を行なった。

また、ステロイドミオパチーでは罹患筋の筋形質は高度に崩壊しているにもかかわらず、形質膜の形態はよく保たれていることが指摘されているが、一方では罹患筋（白筋）の静止膜電位は減少することが見出されており、筋形質膜における何らかの変化も示唆される。しかし、本症における筋形質膜の性状を生化学的に検討した報告はみられない。そこで本研究においては次に、形質膜の機能に重要な役割をはたしている酵素であり、 Na^+ 、 K^+ の能動輸送に関与する ouabain 感受性 (Na^+ + K^+) - ATPase を選び、酵素標本の調製法を検討の上、ステロイドミオパチーマウスの筋形質膜における同酵素活性の測定を行なった。同時に比較のため、他の組織、脳および腎臓における同酵素についても検討した。

一方遺伝性筋ジストロフィーマウスにおける生化学的変化については近年報告が多く、本症への神経系の関与も強く示唆されているが、特に本症の一つの病態像として最近種々の組織における膜系の異常が示唆されて来ている。しかし骨格筋においては、その形質膜の代表的酵素である ouabain 感受性 (Na^+ 、 K^+) - ATPase の活性についてみた場合、必ずしも一致した報告はみられず、検討がまたれる状態にある。そこで本研究では同酵素活性がジストロフィー筋においてどのように変化するものかを検討するとともに、本症への関与が示唆されている神経系として脳についても比較検討した。以下のごとく実験結果はまとめられる。

1. 糖質コルチコイド連続投与のマウス筋 glycogen に及ぼす影響

1) Triamcinolone acetonide (TA, 5 mg/kg i.p.) の1回投与後、筋 glycogen 量は投

与12時間後付近で最も高く、24時間前後に投与前のレベルに戻った。筋の glycogen 合成酵素活性は、総活性が著しい変動を示さなかったが、I型活性とその総活性に対する割合はともに投与6時間後に一過性に増加した。これらの結果は肝においても同様に認められた。

2) TAの1週間連続投与後、筋 glycogen の蓄積は、1回投与によるそれに比べ著しく減弱した。またI型活性とその総活性に対する割合には増加が認められず、対照に比べむしろ減少した。これらの結果は肝においても同様に認められた。

3) TAの1回投与、連続投与のいずれでも、対照に比べ血糖値はやや減少した。また筋組織中の glucose 量には有意な変動は認められなかったが、G-6-P量は投与回数にかかわらず著しく増加した。

以上の結果から、糖質コルチコイド1回投与による筋 glycogen レベルの増加には、glyco-gen 合成酵素の酵素変換およびG-6-Pレベルの増加に起因すると考えられるI型活性の割合の増加が大きく寄与し、連続投与による筋 glycogen 蓄積の減弱は、主にこの glycogen 合成酵素系の異常に起因することが示唆された。

2. ステロイドミオパチーマウスの骨格筋形質膜分画における ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) - ATPase 活性

1) Dexamethasone (5.5 mg/kg i. p.) をマウスに7.0~8.5週間長期投与することにより、生理食塩液を投与した対照群に比べ約5g体重が減少し(対照群の体重の約20%)、自発運動量においても有意な低下が認められた。

2) 正常マウスの骨格筋形質膜分画の ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) - ATPase 活性は筋肉を凍結処理することにより新鮮筋に比べ数倍高まった。

3) ステロイド長期投与マウスの凍結した筋より調製した形質膜分画の ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) - ATPase 活性は、対照群のそれに比べ30~50%、有意に増加した。ステロイドの短期間(約1週間)の投与では両群の同酵素活性に差異は認められなかった。

4) 対照群およびステロイド長期投与群両群の凍結した腎、脳の形質膜分画における ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) - ATPase 活性には差異は認められなかった。

以上の結果から、筋形質膜は糖質コルチコイドの長期投与により特異的な影響を受けることが推測されるとともに、ミオパチーの発症に密接な関係を有することも示唆された。

3. 遺伝性筋ジストロフィーマウスにおける骨格筋および脳の形質膜分画の ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) - ATPase 活性

1) 筋ジストロフィーマウスの凍結保存した筋肉から調製した筋形質膜の ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) - ATPase 活性は、正常マウスのそれと比べ差異は認められなかったが、筋形質膜の収量は筋ジストロフィーマウスで著明に減少した。

2) 脳形質膜分画における ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) - ATPase 活性および 脳形質膜の収量はともに筋ジストロフィーマウスと正常マウスの間に差異は認められなかった。

以上の結果から、正常な膜機能を維持した筋肉の全体に対する割合が、遺伝性筋ジストロフィーマウスでは著しく減少していることが示唆された。また形質膜を中心に考えると、中枢神経系は骨格筋と異なり、マウスの遺伝性筋ジストロフィーにおいては極めて安定した組織であると考えられる。

糖質コルチコイド triamcinolone acetonide の 1 週間連続投与により、すでに 1 回投与に比べ筋 glycogen および glycogen 合成酵素活性の増加が著しく減弱することから、連続投与のマウス骨格筋に及ぼす影響はかなり早期に発現することが示唆される。しかし dexamethasone の短期間投与の結果から、筋形質膜は glycogen や合成酵素ほど早期に影響を受けず、むしろ長期にわたる連続投与によってのみ、他の脳や腎における形質膜に比べ特異的に影響を受けることが考えられる。遺伝性筋ジストロフィーマウスにおける筋形質膜は、ステロイドミオパチーマウスのそれとは性質を異にすることが推測される。

審査結果の要旨

本論文は遺伝性筋ジストロフィーマウスと糖質コルチコイド連続投与マウスにおけるミオパチーとの骨格筋の生化学的変化，特に膜系酵素と糖代謝との関連性について研究したものである。

内容は次の2編よりなる。

1. 糖質コルチコイド連続投与のマウス骨格筋におよぼす影響

糖質コルチコイドとして triamcinolone acetonide を選び，このマウスへの1回投与における骨格筋の glycogen の状態を観察したところ glycogen 合成酵素の I 型活性のみが一過性に増加し蓄積した。これに対し連続投与では筋 glycogen の蓄積は少なく，合成酵素系の異常に基因するものと考えられた。

次に筋形質膜 ATPase 活性は triamcinolone の長期投与によって著しく増加した。しかし成長は著しく障害され，運動量の低下も認められた。

この変化は他の臓器にみられず，骨格筋のみに特異的と考えられる。

2. 遺伝性筋ジストロフィーマウスの骨格筋の形質膜 ATPase 活性

発症した筋ジストロフィーマウスの骨格筋における ouabain 感受性 ATPase 活性は正常動物と比べ差異はみられなかったが，形質膜自体は著明に減少している。脳では正常と全く差はなかった。したがって筋ジストロフィーマウスの骨格筋は正常な膜機能を維持した筋肉の全体に対する比率が減少していることが判った。

以上，本研究は糖質コルチコイド連続投与によるマウスミオパチーは，生化学的立場から，遺伝性筋ジストロフィーマウスとは著しく異なることを証明したもので，有意義な知見を得ており，学位論文に値するものと認める。