

【シンポジウム 6 : 骨格筋肥大に関わるホルモン・作動薬・生体内情報伝達物質】

骨格筋肥大と β_2 -agonist との関連

北 浦 孝

(金沢大学保健管理センター・運動生化学)

ツロブテロールなど β_2 -agonist は一般的には代表的な気管支喘息の治療薬であるが、その一部にはスポーツの世界で骨格筋肥大を誘発することからドーピング規制指定薬になっているクレンプテロール (CLEB) などもある。これらは筋の肥大を誘発する一方、脂肪燃焼を促進するという特徴があり、肥満対策を目的とした不適切な使用が懸念されている。また筋の速筋化を誘導する一方、筋の持久力の低下をもたらすことが知られているが、これらの作用機序の詳細は不明である。また骨の長軸方向への成長を抑制する可能性が示唆されており、多くの臓器での作用および副作用が考えられている。最近、我々は筋肉組織における CLEB の作用を蛋白質および mRNA レベルで明らかにすることを目的に研究を実施し、雄での先行研究との比較検討を行い、 β_2 -agonist の骨格筋肥大作用のメカニズムについてさらなる検討を実施した。

【方法】 8週齢の Sprague-Dawley 系の雌ラットをクレンプテロール (2 mg/kg/day) を 4 週間皮下注射で投与する群 (DLEB, n=8) と同量の生理食塩水投与する対照群 (CONT, n=8) にわけ、投与終了後、代表的な遅筋であるヒラメ筋 (SOL) と代表的な速筋の長指伸筋 (EDL) を摘出し、蛋白質と RNA の抽出をそれぞれ行った。蛋白質は未変性 PAGE で LDH を、ミオシン重鎖 (MHC) は SDS-PAGE で CD147 と MCT1 は SDS-PAGE およびウェスタンブロット法により解析した。MyoD, CD147, MCT1, UCP3 の mRNA は RT-PCR 法により G3PDH をマーカーとして定量解析した。

【結果と考察】 体重は CLEB 投与 10 日ごろから CONT に比べ有意な増加を示した。筋湿重量および体重比 (筋湿重量/体重) の有意な増大から SOL と EDL においてクレンプテロールのアナボリック作用を認めた。さらにヒラメ筋 (SOL) ではミオシン重鎖 (MHC) が CLEB 群で遅筋型から速筋型への分布移行が見られ、骨格筋の速筋化を認めた。さらにこ

の速筋化に関わると言われている核内の調節因子 MyoD の mRNA 発現を検討した結果、SOL においては有意な増加を認めたのに対し EDL では差はなかった。これは核内の調節因子である MyoD が持つ positive feedback メカニズムにより増加し、さらに速筋型の MHC の蛋白発現の増加がそのプロモーター部位に結合する MyoD の増加によるものであることが推察された。また MyoD の mRNA の増加は筋肥大の主たる原因の一つと考えられている衛星細胞や未分化な間細胞からの核を提供する場合の筋芽細胞の増殖や筋管細胞から筋細胞の分化過程に関わっていることから、薬物投与により遺伝子発現が直接影響を受けている可能性が示唆された。代謝特性として乳酸代謝と関わりの深い乳酸脱水素酵素 (Lactate dehydrogenase; LDH) を調べた結果、本来有酸素的代謝の優位な SOL における LDH アイソザイム分布において、筋肉型 (LDH-M) が有意に増加することを認め、無酸素的代謝が亢進していることを再確認した。またこれは β_2 受容体を介した蛋白 A キナーゼによる LDH-M のプロモーター部位に結合し反応を促進する CREB の影響によることが推察された。しかし、血中および細胞内乳酸の体内動態において重要な役割を果たす乳酸トランスポーター (MCT1) の蛋白質発現が SOL・EDL とともに減少することと同時に mRNA も減少することを認め、蛋白質発現への薬物の影響が遺伝子発現への影響によるものであることを認めた。その一方、MCT1 の膜移行に関わっていると言われている CD147 の蛋白質と mRNA を検討した結果、興味深いことに蛋白質発現は MCT1 同様に SOL・EDL とともに薬物により有意に低下しているにも拘らず、mRNA には変化が認められず、CD147 の膜移行は MCT1 に相当する量だけの变化であり mRNA は薬物の影響を受けておらず mRNA は蛋白質とは異なる制御を受けている可能性が示唆された。これらの変化は SOL よりむしろ速筋の EDL で著しいとこ

るからユビキチンやカルパインなどの蛋白分解系の関与が強く示唆された。また、脂質代謝と関連し細胞内のプロトン制御と関わる UCP3 の mRNA は β_2 受容体分布の豊富な SOL において有意に増加していることが認められ、プロトンを共輸送する MCT1 の発現が低下した分以上の UCP3 が増加している可能性を示唆する重要な知見が得られた。以上のこ

とから筋肉細胞内の種々の蛋白質の発現は必ずしもそれ自身の遺伝子発現と平行したものではなく蛋白分解を含めた複雑な相互作用を受けて調節されていると推察された。以上のことからクレンプテロールなどの薬物は生体に種々の影響を与えることが予測されることから治療目的以外の薬物の安易な使用を控えるべきであることが示された。