

Title	骨格筋タウリン動態の神経性調節に関する研究
Author(s)	金, 奉基
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35139
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 大阪大学の博士論文について をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【1】

氏名・(本籍)	きむ 金	ぼん 奉	き 基
学位の種類	薬	学	博 士
学位記番号	第	7 2 4 2	号
学位授与の日付	昭和 61 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	薬学研究科応用薬学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	骨格筋タウリン動態の神経性調節に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教授 岩田平太郎 (副査) 教授 近藤 雅臣 教授 三浦 喜温 教授 佐々木喜男		

論 文 内 容 の 要 旨

タウリンは遊離アミノ酸として哺乳動物の組織に広く存在しており、特に骨格筋、心臓および神経などの電氣的に興奮性の組織に多量含まれている。しかしその広範囲な分布にもかかわらず生理学および生化学的な重要性はまだ充分究明されていない。哺乳動物においてタウリンは中枢神経で抑制性神経伝達物質としての可能性が知られており痙攣に対する抑制作用も報告されている。心臓では遊離アミノ酸プールの 50% をタウリンが占めており、その重要性が考えられており、うっ血性心不全患者や高血圧症患者の心室中のタウリン含量増加などが報告されている。また心臓収縮に対するタウリンの効果が観察され、イオン流出、流入に対し調節作用を有している可能性が示唆されている。またタウリンは神経-筋標本において興奮-収縮機構に影響を及ぼし、カエルおよびラット筋のタウリン存在下の過分極が報告されている。14日間タウリン処置をしたラット骨格筋において活動電位の短縮、膜抵抗の増加、脱分極率の増加などが観察されており、ラット骨格筋の筋小胞体の膜安定化及びカルシウム輸送のタウリンによる増加が報告されている。タウリンの骨格筋において重要性を示唆する報告としては筋ジストロフィー症ニワトリ胸筋中のタウリン含量の増加、筋萎縮症患者の尿中タウリンの脱窒素誘導体であるイセチオン酸の排泄減少、マグネシウム欠乏食を投与したラット骨格筋中のタウリン増加などがある。また筋の過剰興奮状態において電気生理学のパラメータを顕著に抑制したり、筋のイオン輸送を介して筋緊張度を低下させる作用及び細胞膜の伝導性を増加させる作用、寄生虫感染ラットの横隔膜筋タウリン濃度の減少など、筋においてタウリンが重要な役割を果たしていることを示唆する結果が知られている。そこで本研究では骨格筋に対する神経のタウリン調節の可能性について検討した。

骨格筋の分化及び筋性質の維持にはその支配神経が大きく影響を及ぼしていることが知られており、除

神経により筋の脱分化，筋細胞膜電位の減少（脱分極現象），膜抵抗の増加，アセチルコリンに対する膜感受性の増加，テトロドトキシン抵抗性の活動電位出現などが起こることが報告されている。そこで骨格筋内タウリン含量の除神経による変化を見る目的で以下の実験を行った。SD系ラットをエーテル麻醉下に左後肢の総腓骨神経を筋に入る直前で3 mm 切除し，坐骨神経-腓骨神経の支配を受けているEDL筋（extensor digitorum longus muscle，長趾伸筋）からアミノ酸を抽出し，高速液体クロマトグラフィーにより経時的にタウリン濃度を測定した。その結果，EDL筋の重量及びタンパク量は除神経後，正常筋に比べ有意に減少した。正常筋タウリン量は $15-20\mu\text{mol/g wet wt}$ で他のアミノ酸に比べ高値を示し，除神経後4日目に2.5倍の増加が認められた。これに対しグリシン，アラニン，グルタミン酸及びアスパラギン酸などには大きな変化がなく，タウリンのみの特異な増加が認められた。骨格筋種類に対する除神経効果を検討するために，速筋であるEDL筋，遅筋であるsoleus筋（SL，ヒラメ筋）及び両者の性質を有するgastrocnemius筋（GC，腓腹筋）を共に支配している坐骨神経を切除した後4日目にそれぞれのタウリン含量を測定した。

正常筋のタウリン濃度はSL筋がEDL筋の1.5倍以上高い値を示し，GC筋はEDL筋よりやや高い値を示した。除神経筋ではEDL筋が高いタウリン含量増加を示したことにに対し，GC筋は軽度の増加を，SL筋ではほとんど変化を示さなかった。神経圧搾法による“除神経-再神経支配”の場合，除神経の諸現象が現われた後神経の回復と共に筋においての除神経現象が正常にもどることが知られている。そこでクレンメにより坐骨神経を圧搾し，経時的に観察した場合，筋重量の減少，肢機能の低下などがEDL筋及びGC筋のタウリン含量増加と共に手術後28及び56日にはほぼ正常にもどることが観察された。除神経後には大きく2つ，すなわち神経インパルス中止による筋活動低下及び神経軸索流中断による筋への栄養因子（trophic factor）の供給中止が結果として得られる。そこで神経のインパルスだけを遮断する局所麻酔薬であるbupivacaineを神経に適用した場合，4日間，肢麻痺が観察され，EDL筋のタウリン含量も増加した。また神経側には障害を起こさず，筋活動だけを抑制するために筋切腱術を行った場合，EDL筋，SL筋及びGC筋において著明な筋萎縮が認められたが，タウリン含量には大きな変化がなかった。除神経による速筋においてのタウリン含量がはたして速筋に共通するものかについて検討する目的で速筋の一種であり，いろんな面でEDL筋と類似である横隔膜筋に除神経処置を行った場合，手術後4，7，28日において35-50%の有意なタウリン増加を示した。タウリンは筋肉においてその生合成がほとんどないことが知られており，除神経後の速筋のタウリン増加の機序として細胞外からのタウリンの取り込みの増加が考えられ，除神経処置後4日目に $[^3\text{H}]$ -タウリンを腹腔内投与後経時的に筋を採りNCS組織溶解剤に溶解後その放射活性を液体シンチレーションカウンターにて測定した。正常筋においてはSL筋やGC筋がEDL筋より高いタウリン取り込み能を示した。除神経においては24時間までにEDL筋では正常筋の3倍程度までのタウリン取り込み増加を示し，GL筋や正常筋に比べやや高いタウリン取り込み増加を示した。一方SL筋では，除神経筋の方が正常筋よりやや減少する傾向を示した。除神経後筋側には生化学及び生理学的にさまざまな現象が起こり，リソゾーム酵素であるCathepsin-D，N-acetyl- β -D-glucosaminidaseの活性増加，筋小胞体のATPase活性増加などが知られておる。そこで筋においてのタウリンの役割を検討する目的で除神経後タウリンを1%の飲料水と

して14日間投与した時、筋小胞体の ATPase 活性において除神経による増加がタウリン処置筋にやや減少する傾向を示し、リゾゾーム酵素の活性増加には顕著な効果が観察されなかった。除神経による筋の acetylcholine 反応性増加においてタウリンを *in vitro* 実験で 20–40 mM の濃度の前処置をした場合、EDL 筋の acetylcholine による筋収縮持続時間を延長する効果が観察された。一方 SL 筋では大きな変化が観察されなかった。タウリンの細胞内輸送の阻害物質であるタウロシアミンを除神経後 1% の飲料水として投与した場合、除神経による EDL 筋のタウリン増加が有意に抑制され、また除神経による EDL 筋重量減少がタウロシアミン処置により有意に増強された。

速筋はその支配神経に対する長期間の低頻度刺激を行うことによりその性質、例えば速い収縮、高い ATPase 活性、解糖酵素、ミオシンの蛋白パターンなどが遅筋に近い性質に変化することが知られている。また速筋及び遅筋は支配神経を切断し反対の神経との接合術を行うとその性質が互いに転換する。そこでウレタン麻酔下に坐骨神経を刺激しながら [^{14}C]–タウリンを静脈に投与した場合、EDL、SL 及び GC 筋とも 50 Hz の高頻度急性刺激によるタウリン取り込み増加を示した。またこの効果は刺激の直前にクラレ前処置した場合抑制された。10 Hz の低頻度急性刺激によっても 50 Hz より弱いタウリン取り込みの増加が観察された。慢性的な神経刺激にはラット坐骨神経にステンレス電極を植え込み、毎日 8 時間ずつ電気刺激を与えた。10 Hz の刺激では 1 週間後には有意なタウリン変化が無く、2 週間後に EDL 筋において 45% の増加、また 4 週後に EDL 筋及び GC 筋においてそれぞれ 25% のタウリン含量増加を示した。一方 SL 筋においては有意な変化はなかった。2 週間 10 Hz の刺激を受けた EDL 筋、GC 筋及び、tibialis anterior 筋 (TA 筋) の速筋において有意な [^3H]–タウリン取り込み増加を示した。

100 Hz の慢性的な電気刺激の場合は 1 週間後に EDL 筋は 30% のタウリン含量の増加を、また SL 筋は 15% の減少を示した。また 100 Hz の刺激を 2 週間受けた速筋において [^{14}C]–タウリンの有意な取り込み増加を示した。神経の交叉支配実験では EDL 筋支配の腓骨神経と SL 筋支配の脛骨神経を微細手術糸で結繫した結果、4 ヶ月後に EDL 筋は正常筋に比ベタウリン含量の増加及び取り込み能の増加を示した。しかし EDL 筋支配の神経を切断し、再び結繫した、すなわち Self – 再神経支配による結果もほぼ同じ結果を示したので 4 ヶ月の期間は完全な神経交叉支配にはまだ不十分なものと思われる。神経交叉支配の SL 筋も Self – 再神経支配の SL 筋と共に正常筋より低いタウリン含量及び取り込み能を示した。SDS ポリアクリルアミド電気泳動の粗構造蛋白のパターンも交叉神経支配と Self 再神経支配との結果が類似でありながら正常筋とは異なった結果を示した。以上の結果から、骨格筋のタウリン含量は筋種類によって異なり、遅筋の方が速筋より高いタウリン含量や取り込みを示す。除神経により速筋のみのタウリン含量や取り込みを増加させることから速筋支配の神経が特異的に速筋に対しタウリン取り込みを抑制することが考えられ、除神経の EDL 筋においてタウリンが acetylcholine による収縮持続時間を延長させることからタウリンが骨格筋の病態生理に関連する可能性が示唆される。また神経刺激によるタウリン取り込みや含量の実験の結果から骨格筋のタウリンにおける調節機構としては神経ばかりではなく筋の役割、機能を含めた神経 – 筋活動の総和として関与している可能性が考えられる。

論文の審査結果の要旨

本論文は、骨格筋内に大量に存在する含硫アミノ酸タウリンの動態が、支配神経の切除や電気刺激により変化することを示し、骨格筋内タウリン動態が神経性調節を受けていることを明らかにし、その生理的役割が尚不明なタウリンの機能について重要な示唆を与えた。

薬学博士の称号を授与するに値するものである。