

Title	骨格筋チアミン代謝の薬理・生化学的研究
Author(s)	殿村, 英郎
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37057">https://hdl.handle.net/11094/37057</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	との殿	むら村	ひで英	お郎
学位の種類	薬	学	博	士
学位記番号	第	9 1 4 6	号	
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 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	骨格筋チアミン代謝の薬理・生化学的研究			
論文基査委員	(主査) 教授 岩田平太郎			
	(副査) 教授 真弓 忠範      教授 西原 力      教授 三村 務			

### 論文内容の要旨

チアミンは生体内で、遊離の形、およびリン酸エステル<sup>の</sup>形すなわちチアミン3リン酸(TTP)、チアミン2リン酸(TDP)、チアミン1リン酸(TMP)として存在している。一般には、その約80%がTDPの形で存在しており、2-オキソグルタル酸脱水素酵素(OGDH)、ピルビン酸脱水素酵素(PDH)、トランスケトラーゼ(TK)の補酵素として働いている。また、神経系においてチアミンは、補酵素以外に何らかの役割を演じていると考えられており、補酵素作用を持たないTTPが注目されているが、その詳細は不明である。一方、ブタ骨格筋や電気ウナギの電気器官中にTTPが多く含まれていることが最近報告され、骨格筋においてTTPが何らかの役割を有している可能性が考えられている。しかしながら、骨格筋でのチアミン代謝に関してはいまだ検討されておらず、存在するTTPの生理的意義は不明である。そこで、TTPの生理作用を追求する目的の一環として骨格筋に注目し、まずチアミン代謝の性質をチアミンとそのリン酸エステル量、チアミン代謝に関与している酵素活性並びにチアミン依存性の酵素活性を測定することにより、薬理・生化学的に検討を行なった。まず、HPLCによるチアミンとそのリン酸エステルの定量法を考案した。この方法により、生体試料を分析する場合、妨害物質の影響を除外できること、また、カラムの安定な酸性条件で分析を行なうため、従来の逆相HPLCと異なり再現性の良い分析が可能となった。さらに、TTPの検出限界は0.1 pmolと高感度であり、TTPの代謝を研究する上で有用な方法であると考えられた。

さて、骨格筋は生理学的、生化学的特性によって2つのタイプ、すなわち赤筋と、白筋に分類することができる。そこで、骨格筋におけるチアミン代謝を追求する方法として、筋をタイプ別に分けてチアミン代謝を検討した。ラット脳、肝臓におけるTTPの総チアミンに対する割合は、1%以下であるのに対し、

白筋である長指伸筋 (extensor digitorum longus, EDL筋)中のTTPの割合は大きく、特にブタにおいては87%であった。また、いずれの動物においても総チアミン量、TDP、TMPレベルは、白筋に比べ赤筋であるヒラメ筋 (soleus筋)のほうが高い値を示した。また、種々の動物において、TTPがTDPとは逆にEDL筋に最も多く存在していること、そしてそのTTPが脳の場合と異なり細胞質に遊離の形で存在していることを明らかにした。さらに、チアミン依存性の酵素であるOGDH、TK、そしてTDP合成酵素であるチアミノピロホスホキナーゼ (TPPK)活性について、ラットヒラメ筋、EDL筋で検討すると、いずれの活性もEDL筋に比べヒラメ筋の方が高い値を示した。これらの結果は、骨格筋チアミン代謝が筋のタイプによって異なっていることを示しており、また骨格筋においてTTPがTDPとは異なる役割を有している可能性を示唆している。

次に、骨格筋におけるチアミノトリフォスファターゼ (TTPase)の諸性質について検討すると、TTPaseは可溶性分画、膜分画いずれにも認められたが、可溶性分画の活性は非常に低いものだった。また、膜TTPaseは、いくつかのアニオンによって活性化され、TTPaseの性質が脳と異なることが示唆された。

さて、神経が筋の分化、維持にどのような影響を及ぼしているかを検討する方法として、除神経処置がある。そこで、神経支配によって骨格筋チアミン代謝がどのように調節されているかを探るため、除神経処置の骨格筋チアミン代謝に対する作用を検討した。また、支配神経を切断したのちの変化をみる場合には、その結果としておこる筋活動の消失も考慮に入れなければならないので、腱切断処置の作用についても検討を行った。

EDL筋、ヒラメ筋でのTDP量、OGDH、TK、TPPK活性の差は除神経処置により消失したが、両筋におけるTTP量の差は処置後も認められた。従って、骨格筋のTDPは神経支配による調節を受けているが、TTP量の調節はTDPの場合と異なっていることが考えられた。また、腱切断処置により、EDL筋においては、TK活性が上昇する結果を得たのみであった。一方、ヒラメ筋においては、腱切断処置によりTDP量、TTP量、そしてOGDH、TK、TPPK活性に対し有意な作用を示さず、骨格筋チアミン代謝の神経支配における筋活動の関与は少ないことが示唆された。

ところで、ラット骨格筋の白筋、赤筋という分化は生後におこるといわれている。すなわち、筋の神経支配が未発達な時期においては赤筋、白筋の区別はなされておらず、その区別は生後2週以降から明らかになり成熟型へと移行する。そこで、ヒラメ筋とEDL筋におけるチアミン代謝の差を筋の分化過程から追求するため、骨格筋チアミンとそのリン酸エステル量の生後変化について検討した。2週齢においては、ヒラメ筋のチアミンとそのリン酸エステル量はEDL筋と同じレベルであるが、発育に伴いTDP、TMP量が増加した。しかしながらEDL筋においては発育に伴うそれらの変化は認められなかった。これに対してTTP量は、ヒラメ筋においては発育に伴う変化を示さないものの、EDL筋においては生後徐々に増加した。次に、チアミン代謝の生後変化について、さらに酵素レベルで検討した。2週齢において、ヒラメ筋のOGDH活性はEDL筋の活性と同程度であったが、発育に伴いその活性は増加した。しかし、EDL筋においてはその活性に変化は認められなかった。TK活性は、2週齢においてヒラメ筋とEDL筋は同じ活性を保持していたが、発育に伴いいずれの筋においてもその活性は低下し、またその減少の程

度は、EDL筋の方が大きいものだった。TPPK活性においては、ヒラメ筋の活性は変化がないのに対し、EDL筋の活性は2-3週齢にかけて急激に低下していた。また、膜TTPase活性の発育に伴う変化を検討すると、2-3週齢においてヒラメ筋のTTPase活性は増加したのに対し、EDL筋のTTPase活性は発育に伴い低下する傾向がみられた。これらの結果は、筋のタイプによるチアミン代謝の違いが、発育に伴って生じることを示している。

### 論文の審査結果の要旨

本論文は骨格筋のうち白筋にチアミン3リン酸エステルが多量に存在していてチアミン2リン酸とは異なる生理作用を有していることを示唆したもので、薬学博士の称号を授与するに値するものである。