

甲状腺ホルモンがラットヒラメ筋における筋小胞体の Ca^{2+} 取り込みおよび収縮特性に及ぼす影響

山田 崇史 和田 正信

EFFECTS OF THYROID HORMONE ON SARCOPLASMIC RETICULUM Ca^{2+} UPTAKE AND CONTRACTILE PROPERTIES IN RAT SOLEUS MUSCLE

TAKASHI YAMADA and MASANOBU WADA

Abstract

The effect of hyperthyroidism on the contractile properties and Ca^{2+} sequestering abilities by the sarcoplasmic reticulum (SR) in the soleus muscles was examined in rats treated with thyroid hormone (3, 5, 3'-triiodo-L-thyronine, T_3) (300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight) for 3, 7 and 21 days. At the end of a given treatment period, the right or left soleus muscle was mounted isometrically at 30°C, and stimulated directly using supramaximal current intensity. A twitch contraction was elicited by a 1 msec square-wave pulse and a tetanic contraction by 20 Hz stimulation for 600 msec. To evaluate fatigue resistance, muscles were stimulated at 40 Hz for 350 msec with tetani repeated at an interval of 2 sec during a 4-min period. Another soleus muscle was used for analysis of SR Ca^{2+} -uptake rate and SR Ca^{2+} -ATPase activity. Pronounced increases in SR Ca^{2+} -uptake rate and ATPase activity were observed after T_3 treatment periods longer than 6 days. These alterations were accompanied by decreases in twitch and tetanic tension, half-relaxation time, and fatigue resistance. The T_3 -treated muscles stimulated at 20 Hz relaxed during the interval between successive stimuli, indicating that the mechanical fusion of tetanic contractions was incomplete. SR Ca^{2+} uptake rate was significantly correlated both to tetanic tension and to fatigue resistance. These data suggest that there may be a causal relationship between changes in SR Ca^{2+} uptake and the loss of muscular strength in the hyperthyroid soleus.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 2004, 53 : 509~518)

key word : hyperthyroidism, contractile property, sarcoplasmic reticulum, Ca^{2+} uptake rate, relaxation

I. 緒 言

甲状腺機能亢進症では、「階段を昇るのが困難になった」あるいは「椅子から立ち上がるのに力が入らない」など、運動機能の低下により日常生活に支障が生じる場合がみられる。甲状腺性ミオパチーと呼ばれるこのような筋機能の低下は、甲状腺機能亢進症患者において、高い頻度で発症することが報告されている¹⁾。実験動物に甲状腺ホルモン(3, 5, 3'-triiodo-L-thyronine : 以下, T_3)を投与し、骨格筋の機能を *in vitro* の条件下で検討した報告において、最大張力の低下²⁾あるいは疲労耐性の低下³⁾などの変化が生ずることが認め

られている。これらの知見は、甲状腺機能亢進症に伴う運動機能低下の成因の1つが、骨格筋自体の変化にあることを示唆する。

筋の収縮活動は、筋形質内の遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]$) によって制御されており、 $[\text{Ca}^{2+}]$ が増大すると筋原線維は収縮を開始し、低下すると弛緩する。この $[\text{Ca}^{2+}]$ を調節しているのが袋状膜構造をなす筋小胞体(sarcoplasmic reticulum : 以下, SR)であり、 Ca^{2+} の貯蔵、放出および取り込みの3つの機能を有している。 Ca^{2+} の取り込みはSRの膜上に存在する Ca^{2+} 依存性 ATPase (SR Ca^{2+} -ATPase) によってなされ、このタンパクによる Ca^{2+} ポンピング能力が筋の弛緩速度⁴⁾

および筋形質中遊離 $[Ca^{2+}]^{5)}$ を左右すると考えられている。

T_3 の投与に伴う SR の機能変化については、 T_3 投与後数日以内に、ヒラメ筋において Ca^{2+} 取り込み速度および SR Ca^{2+} -ATPase 活性が著しく増加することが報告されている⁶⁾。この時期には、筋原線維など収縮に関与する他のタンパクには変化は生じておらず⁶⁾、筋の機能の低下が同時に起こっているとすれば、SR にみられる変化との間に因果関係があると考えられる。しかしながら、これまでこの点に着目した報告はなされていない。

そこで本研究では、 T_3 の投与が筋機能へ及ぼす影響を、SR の機能の変化との関連に焦点を置き検討することを目的とした。

II. 方 法

A. 被検動物

実験には、9週齢の Wistar 系雄性ラット42匹を用い、これらを対照群(C群)および実験群(E群)に分けた。E群には NaOH 水溶液に溶解した T_3 (Sigma 社製 T2752, Steinheim, Germany)²⁾ を 1日300 μ g/kg body weight^{7,8)}、C群には等量の生理食塩水を毎日腹腔内に投与した。処置後3, 7および21日(C3, E3, C7, E7, C21, E21: n=7)に、麻酔下でヒラメ筋(soleus: 以下, SOL)を採取し実験に供した。なお、水および飼料(日本クレア社製飼育繁殖固形飼料 CE-2, 東京, 日本)は自由摂取とし、12時間の明暗サイクルの照明下で温度 $22 \pm 2^\circ C$ を常時維持した飼育室においてラットを飼育した。なお、本実験は広島大学付属動物実験施設の内規に従って実施した。

B. 張力の測定

摘出した筋をリンガー液(1 mM $MgCl_2$, 115 mM NaCl, 5 mM $KHCO_3$, 20 mM $NaHCO_3$, 5 mM N, N-Bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulfonic acid, 2 mM $CaCl_2$, 11 mM glucose, 0.3 mM glutamic acid, 0.38 mM glutamine, pH 7.4)でよく洗浄した後、95% O_2 -5% CO_2 ガスを通入した同組成のリンガー液中に置いた。筋の片端を張力計(日本光

電社製 TB-611T, 東京, 日本)に、反対側を固定用アームにセットした後、単収縮張力が最大値を示す筋長に調節した。筋の両端に置かれた電極を介し、電気刺激装置(日本光電社製 SEN-7230, 東京, 日本)により電気刺激を筋に負荷することにより収縮を誘起した。すべての測定において、電気刺激に用いる矩形波の幅は 1 msec とした。なお、リンガー液の温度は、実験中 $30^\circ C$ に保った。実験では、単収縮張力、強縮張力の測定および疲労テストを行った。生体内において、遅筋線維を支配する運動ニューロンは 20~40 Hz のインパルス筋線維に送っていることが示されている⁹⁾。そこで、強縮張力測定における電気刺激頻度は 20 Hz (トレイン幅—600 msec)とした。また、疲労テストでは、2秒に1回の強縮刺激(40 Hz, トレイン幅—350 msec)を4分間負荷し、初期張力に対する相対値を1分毎に算出した。張力測定後、筋長および筋重量を計測した。筋横断面積は Ward ら¹⁰⁾の方法に従い、

$$\begin{aligned} \text{筋横断面積}(\text{cm}^2) \\ = \text{筋湿重量}(\text{g}) / [\text{筋長}(\text{cm}) \times \text{筋密度}(\text{g}/\text{cm}^3)] \end{aligned}$$

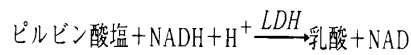
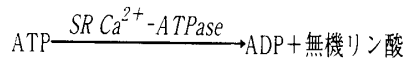
の式に基づいて計算した。なお、筋密度は、1.07 g/cm^3 とした¹¹⁾。張力は単位断面積あたりの相対値で表わした。

C. 筋ホモジネイト

張力の測定に用いていない反対側後肢の SOL を用いた。摘出した筋を、ガラスホモジナイザーを用い10倍(w/v)の抽出液(40 mM Tris, 300 mM sucrose, pH 7.2)でホモジネイトした。2,000 g で20分間遠心分離した後、採取した上清を液体窒素で瞬間凍結し、分析まで $-80^\circ C$ の条件下で保存した。なお、タンパク濃度の測定は、Bradford¹²⁾の方法を用いて行った。

D. 筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase 活性の分析

SR Ca^{2+} -ATPase 活性値は、Simonides と van Hardeveld¹³⁾の方法に一部修正を加えたものを用い、筋のホモジネイトから測定した。活性値は以下のカスケード反応を用いて、NADH の濃度の減少速度を測定することによって算出した。



用いたインキュベーション溶液の組成は、1 mM EGTA, 20 mM N-[2-Hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid] (HEPES), 200 mM KCl, 15 mM MgCl₂, 10 mM NaN₃, 0.28 mM NADH, 10 mM phosphoenolpyruvate, 18 U/ml lactate dehydrogenase (LDH), 18 U/ml pyruvate kinase (PK), 0.8 mM CaCl₂, 0.005% Triton X-100 (pH 7.5)であった。測定は37℃で行い、4 mM(最終濃度)の ATP を加えることによって反応をスタートさせた。反応開始後、NADH の濃度を分光光度計(日本分光社製 UVIDE-660, 東京, 日本)を用いて測定した(波長 340 nm)。その後、Ca²⁺ の濃度を 20 mM(最終濃度)にし、上記と同様の方法を用いて NADH の濃度を測定した。高濃度の Ca²⁺ (20 mM)は、SR Ca²⁺-ATPase の活性のみを特異的に抑制する。したがって、初期の NADH の減少速度と高濃度 Ca²⁺ を加えた後の減少速度の差が SR Ca²⁺-ATPase 活性を示すことになる。

E. 筋小胞体 Ca²⁺ 取り込みの分析

SR の Ca²⁺ 取り込み速度の測定は、蛍光 Ca²⁺ 指示薬である indo-1 を用い、37℃の条件下で Warmington ら¹⁴⁾の方法に従って行った。実験に使用したインキュベーション溶液の組成は、20 mM HEPES, 100 mM KCl, 6.8 mM potassium oxalate, 0.5 mM MgCl₂, 10 mM sodium azide (pH 7.0)であった。1 ml の反応溶液に 40 μl のホモジネイトを加え、37℃で 2 分間インキュベートした後、Mg-ATP(最終濃度 1 mM)を加えることによって反応を開始した。反応溶液中の Ca²⁺ 濃度([Ca²⁺])の変化の測定は、細胞内イオン測定装置(日本分光社製 CAF-110, 東京, 日本)を用い、349 nm の波長で indo-1 を励起し、405 nm および 500 nm の蛍光量をモニターすることによって行った。[Ca²⁺]は Grynkiewicz ら¹⁵⁾の

報告に従い、

$$[\text{Ca}^{2+}] = \text{Kd} \times (\text{R} - \text{Rmin}) / (\text{Rmax} - \text{R}) \times \text{Ff} / \text{Fb}$$

の式に基づいて計算した。ここで、R はサンプルの蛍光比 (405 nm/500 nm), Rmin は全ての indo-1 が Ca²⁺ と結合していない場合の蛍光比, Rmax は全ての indo-1 が Ca²⁺ と結合している場合の蛍光比, Ff は全ての indo-1 が Ca²⁺ と結合していない場合の 500 nm 蛍光量, Fb は全ての indo-1 が Ca²⁺ と結合している場合の 500 nm 蛍光量である。また、Kd は解離定数であり、250 nM を採用した¹⁵⁾。

F. 統計処理

各データは、平均±標準誤差で示した。各群内での比較には一元配置分散分析を用い、有意差が認められた場合は Scheffé post hoc 分析を行った。また、C 群と E 群との比較には対応のない t 検定を行った。危険率は 5%以下とした。

III. 結 果

A. 体重、心重量および筋湿重量

T₃ 投与後 3 日目から、C 群と E 群との体重の差は徐々に大きくなり、E21 群では C21 群と比べ有意な低値を示した(表 1)。実験期間を通じて、T₃ 投与により筋重量に変化は認められなかった。一方心重量は、E3 群、E7 群および E21 群において、C 群と比べ絶対値、体重に対する相対値とも高値を示した。また、心臓アイソミオシンの分布を分析した結果、T₃ 投与後 3 日目から、ミオシン重鎖 Iα の 2 量体である V1 の割合が増大した(データは示していない)。これは、体内の T₃ の濃度が高まったラットにおいて、典型的に生ずる変化である¹⁶⁾。

B. 単収縮および強縮張力

図 1 に、T₃ 投与 3 日目(図 1 a)および 21 日目(図 1 b)の筋にみられた典型的な強縮波形を示した。E3 群では滑らかな曲線がみられたのに対し、E21 群では個々の単収縮のピークが明確な不完全強縮が生じることが観察された。同様の不完全強縮は

Table 1. Body, heart and soleus muscle weights of control (C) and experimental (E) rats.

Rat	n	BW (g)	Heart		Soleus	
			HW (mg)	HW/BW (mg g ⁻¹)	SW (mg)	SW/BW (mg g ⁻¹)
C3	7	312.9 ± 8.9	867.1 ± 42.1	2.77 ± 0.08	109.5 ± 7.4	0.35 ± 0.02
E3	7	290.0 ± 18.4	947.2 ± 28.9*	3.31 ± 0.12**	109.9 ± 12.4	0.37 ± 0.02
C7	7	315.7 ± 9.4	881.9 ± 59.7	2.79 ± 0.15	114.1 ± 8.8	0.36 ± 0.03
E7	7	292.1 ± 20.6	1066.2 ± 43.1*	3.74 ± 0.24**	101.5 ± 8.4	0.35 ± 0.02
C21	7	358.6 ± 12.6	960.8 ± 38.5	2.68 ± 0.06	120.0 ± 12.3	0.33 ± 0.02
E21	7	322.1 ± 7.4*	1377.3 ± 30.0** ^{a,b}	4.28 ± 0.1*** ^a	99.6 ± 4.5	0.31 ± 0.01

Values are means ± SE. n, number of samples; BW, body weight; HW, Heart weight; SW, soleus weight, C3, C7 and C21, 3-day, 7-day and 21-day control groups, respectively, E3, E7 and E21, 3-day, 7-day and 21-day experimental groups, respectively. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with age-matched control group; ^a $P < 0.05$, compared with 3-day treated muscle; ^b $P < 0.01$, compared with 7-day treated muscle.

E7 群にも認められた。

また、単収縮張力、強縮張力および 1/2 弛緩時間 (単収縮において張力がピーク値から半減するまでの時間) を表 2 に示した。C 群に比べ E7 群および E21 群において、これら 3 つのパラメーター全てに有意な低値が認められた。

C. 疲労テスト

図 2 に、疲労テストにおける C21 群 (図 2 a) および E21 群 (図 2 b) の典型的な張力波形を、また

図 3 に初期張力に対する相対値でテスト中の張力の変化を示した。T₃ 投与後 3 日目では、刺激開始後 1, 2, 3 および 4 分のいずれにおいても、C 群と比べ E 群に有意な差異は認められなかった (図 3 a)。一方、E7 群では、刺激を 4 分間負荷した時点において、C7 群よりも有意な低値を示した (図 3 b: C7 群—34.5 ± 3.6%, E7 群—23.8 ± 2.3%)。E21 群では疲労耐性がさらに低下し、刺激負荷後 3 分の時点で C21 群よりも有意な低値を示した。4 分後には、C 群と E 群の差はさらに

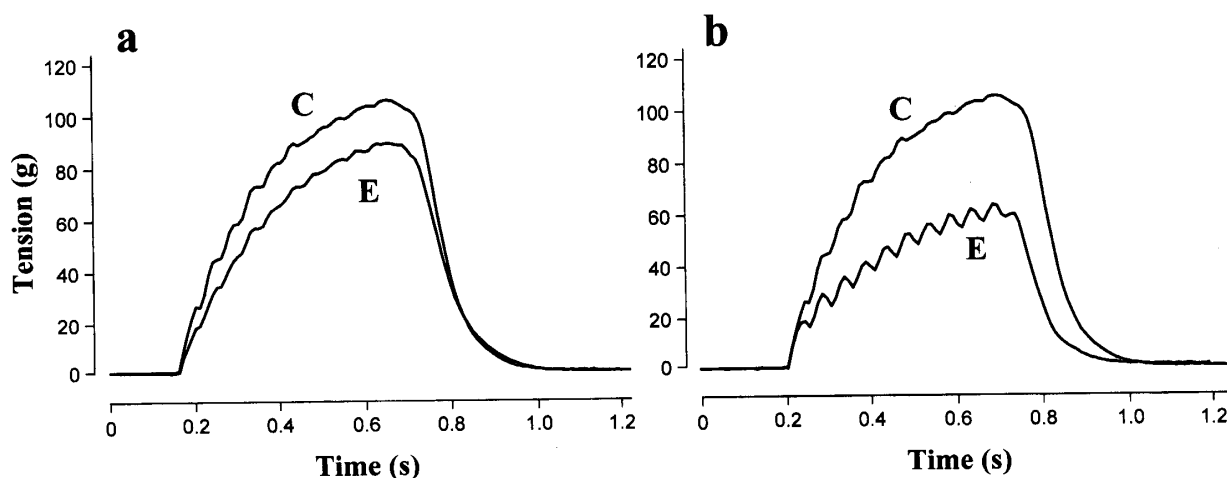


Fig. 1. Typical traces of tetanus in 3-day (a) and 21-day (b) T₃ treated rat soleus muscle. Experimental rats were treated with 3, 5, 3'-triiodo-L-thyronine (T₃). C, control; E, experimental.

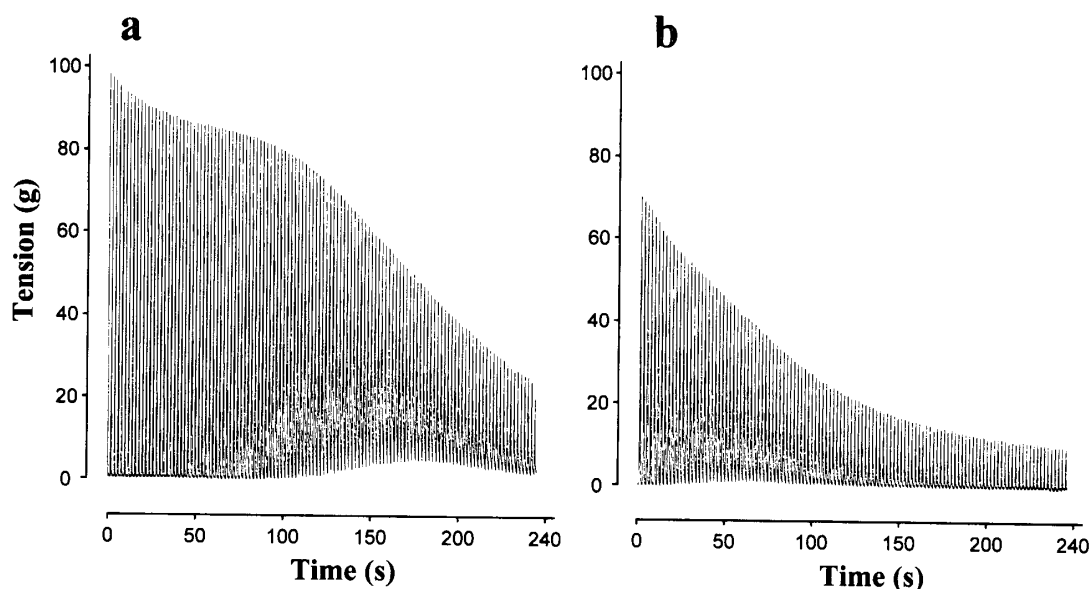
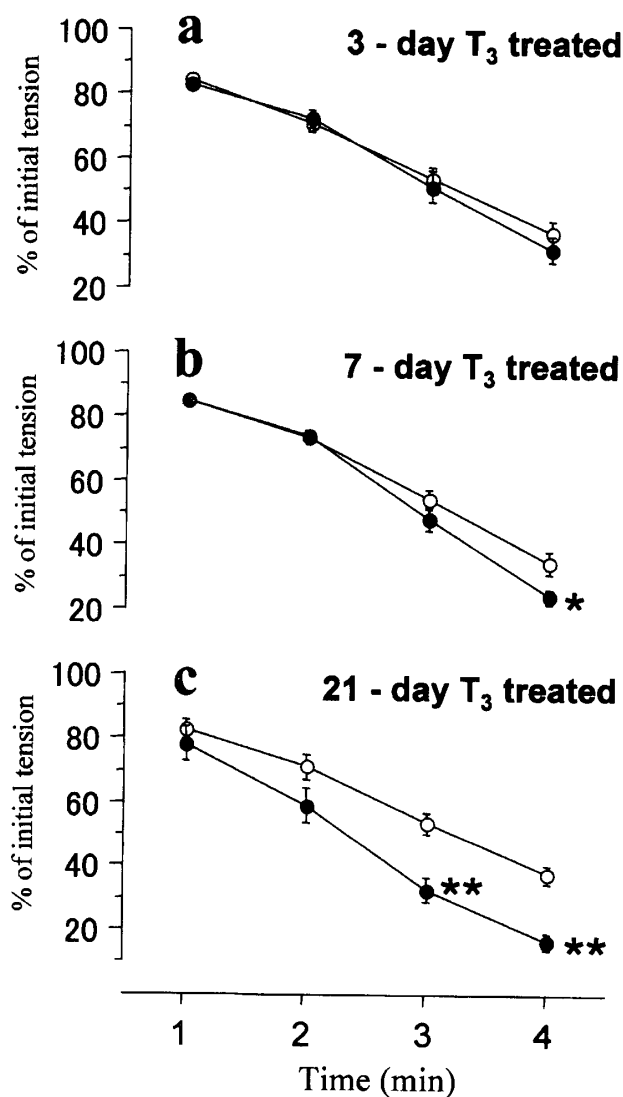


Fig. 2. Original force records from typical fatigue runs in soleus muscles from control (a) and experimental (b) rat. Experimental rats were treated with 3, 5, 3'-triiodo-L-thyronine (T₃) for 21 days.



広がり, E21 群の値は C21 群の 1/2 以下であった(図 3c: C21 群—37.3±2.9%, E21 群—16.3±2.5%)。

D. 筋小胞体Ca²⁺-ATPase 活性

C群における SR Ca²⁺-ATPase 活性は実験期間を通じて変化が認められなかった(表 2)。T₃ 投与後 7 日目および 21 日目において, SR Ca²⁺-ATPase 活性は C 群と比べ有意な高値を示した。それぞれの C 群(C7 群および C21 群)に対する E 群の比率は, E7 群で 171%, E21 群で 231%であった。

E. 筋小胞体 Ca²⁺ 取り込み速度

C群における Ca²⁺ 取り込み速度は実験期間を通じて変化が認められなかった(表 2)。E 群の Ca²⁺ 取り込み速度の変化は, SR Ca²⁺-ATPase 活性とほぼ類似していた。それぞれの C 群(C7 群および C21 群)に対する E 群の比率は, E7 群で

Fig. 3. Effect of duration of hyperthyroid state on the fatigability of rat soleus muscle. Values for force present the percentage of the initial levels. Experimental rats were treated with T₃ for 3-21 days. The muscles were fatigued by intermittent tetani (0.35 s every 2 sec; 40 Hz) for 4 minutes. *P<0.05, **P<0.01, compared with age-matched control. C, control (○); E, experimental (●).

Table 2. Contractile properties, SR Ca²⁺-ATPase activity and SR Ca²⁺ uptake rate.

Rat	n	Twitch	1/2 relaxation time	Tetanus	SR Ca ²⁺ -ATPase activity	SR Ca ²⁺ uptake rate
		(g/cm ²)	(ms)	(g/cm ²)	(μmol/min/g prot)	(μmol/min/g prot)
C3	7	611.5 ± 52.0	64.3 ± 3.7	2442.4 ± 135.8	907.3 ± 81.7	22.3 ± 2.7
E3	7	522.7 ± 39.4	55.7 ± 3.0	2236.3 ± 148.2	971.9 ± 70.8	20.9 ± 2.8
C7	7	682.0 ± 45.7	71.4 ± 4.0	2671.5 ± 131.8	910.5 ± 74.1	17.0 ± 1.7
E7	7	576.9 ± 54.3*	45.7 ± 10.0*	2128.0 ± 118.1**	1560.5 ± 92.7*** ^a	29.3 ± 3.2**
C21	7	757.6 ± 67.0	67.1 ± 3.6	2532.4 ± 210.5	899.0 ± 55.6	18.7 ± 2.1
E21	7	490.5 ± 66.8*	41.4 ± 3.4**	1682.7 ± 156.4**	2077.1 ± 90.1*** ^{a,b}	37.3 ± 1.7*** ^a

Values are means ± SE. n, number of samples; C3, C7 and C21, 3-day, 7-day and 21-day control groups, respectively, E3, E7 and E21, 3-day, 7-day and 21-day experimental groups, respectively. **P* < 0.05, ***P* < 0.01, compared with age-matched control group; ^a*P* < 0.05, compared with 3-day treated muscle; ^b*P* < 0.01, compared with 7-day treated muscle.

172%, E21 群で199%であり, 両群間の差異は統計学的に有意であった。

F. Ca²⁺ 取り込み速度と強縮張力および疲労耐性との関係

Ca²⁺ 取り込み速度と単位断面積あたりの強縮張力および疲労テストにおける4分後の張力(初期張力に対する相対値)との間の相関関係について, 実験に用いた全個体を対象に検討したところ, 取り込み速度—強縮張力(図4)および取り込み速度—刺激開始4分後の張力(図5)の両方に, 有意な負の相関関係が認められた。

IV. 考 察

実験動物に T₃ を投与する手法は, 甲状腺ホルモン濃度の増加が生体を与える影響を検討する実験モデルとして広く認められている。先行研究において, 本研究と同量の T₃ をラットに2~6週間継続して投与すると, 血中の T₃ 濃度が約2倍に上昇することが確認されている^{7,8)}, これらの知見に基づき, この実験モデルを用いた近年の研究の多くでは^{6,16)}, 改めて血中の T₃ 濃度を測定してはいない。本研究

でも T₃ 濃度の測定は行わなかったが, 甲状腺機能亢進症の特徴的な徴候である心重量の増加¹⁷⁾ および心臓アイソミオシンに占める V1 の占有率の増加が¹⁶⁾, T₃ 投与後3日目から観察されたことから, この時期以降, 血中 T₃ の濃度が通常より高まっていた可能性は極めて高い。

本研究でみられた T₃ に起因する筋の発揮張力の低下は, Zaiton ら²⁾の結果と一致するものであるが, 彼らの T₃ 投与期間が10週間であったのに対し, 本研究では7日目で変化が認められた。ま

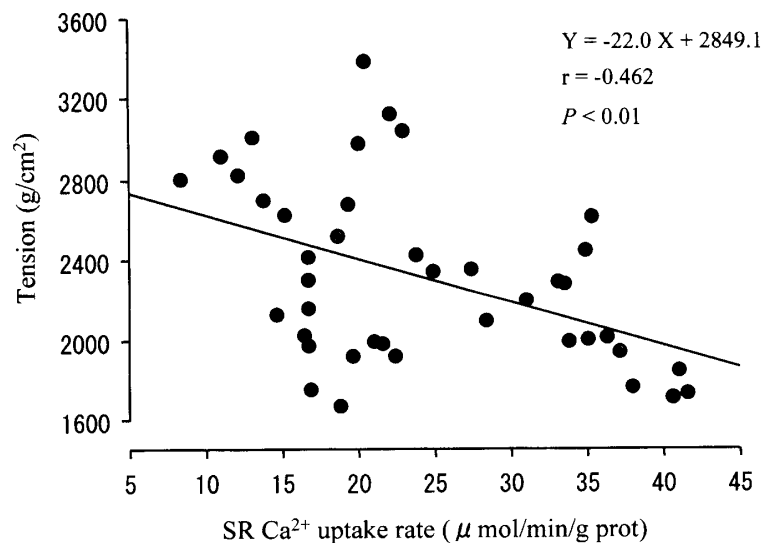


Fig. 4. Plot of tetanic tensions vs. SR Ca²⁺ uptake rates. Each point represents an individual muscle. Line was computed by linear regression.

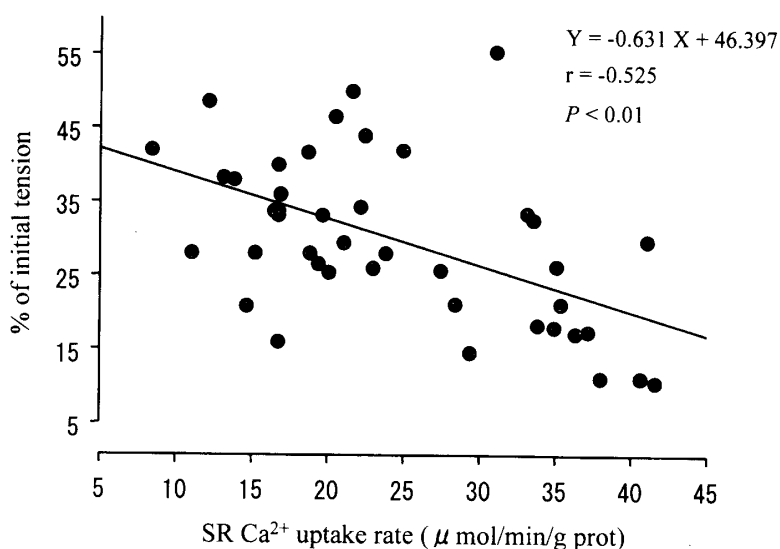


Fig. 5. Plot of the relative percentage of tetanic tensions after fatigue protocol vs. SR Ca²⁺ uptake rates. Each point represents an individual muscle. Line was computed by linear regression.

た、この時期には疲労耐性の低下も生じており、甲状腺機能亢進症では、これまで考えられてきたより早期の段階で筋機能の低下が招来されることが示された。

甲状腺機能亢進症の骨格筋における病理的変化の報告は少ないが、筋萎縮の程度は筋力低下と比較して一般に軽微であるとされている¹⁾。本研究においても、実験期間を通じて筋重量の有意な低下は認められなかった。また、単収縮張力および強縮張力とも、単位断面積あたりで表した値に T₃ に起因する低下がみられた事実は、甲状腺機能亢進症における筋力低下は、筋の量的な減少すなわち萎縮を主な原因としていないことを示唆する。

本研究では、張力の変化と SR の機能の関連性に着目したが、それは以下の 3 つの理由により、本研究で用いた T₃ 投与期間内では、筋の収縮特性の変化に SR が大きく関与していると考えたからである。第一は、SR の Ca²⁺ 取り込み速度が変化すると、単収縮時間(単収縮において収縮開始から終了するまでの時間)⁴⁾あるいは筋原線維の活動に大きな影響を持つ筋形質内遊離[Ca²⁺]⁵⁾が変化すること、第二は筋線維に含まれる ATPase 全体のうち SR Ca²⁺-ATPase は 30～

60% を占め、収縮中極めて多くの ATP が Ca²⁺ の取り込みのために消費されること¹⁸⁾、また第三は、SR 以外では筋に含まれるミオシン重鎖のアイソフォームの種類が筋の収縮特性を大きく左右する因子であるが、T₃ 投与数週間以内では、この因子に SR ほど顕著な変化は起こらないことである⁶⁾。

表 2 に示されるように、SR の Ca²⁺ 取り込み速度は T₃ 投与後 7 日以降増加し、それとともに単位断面積あたりの単収縮張力の低下が起こった。我々は T₃ の投与により筋原線維タンパクの密度は変化しないことを認めており(山田、未発表資料)、張力の変化に収縮タンパクの量的な変化が関

与しているとは考えにくい。T₃ の投与によって、SR の Ca²⁺ 取り込み速度も放出速度も増加するが、その増加率は前者の方が高いことが認められている⁶⁾。これらのことから、単収縮張力低下の原因の 1 つとして、SR の Ca²⁺ 取り込み速度が放出速度を上回って増加したため、収縮中、筋形質中の遊離[Ca²⁺]が正常なものほど高くなかなかったか、高まったとしてもその継続時間が短縮したことが推察される。今後さらに詳細な研究を行い、この仮説を直接確証するデータを得る必要がある。

図 1 に示されるように、強縮張力が低下した T₃ 投与 7 日後および 21 日後では、不完全強縮が起こることが観察された。先に述べた SR の機能変化と単収縮張力低下との因果関係については推測の域を出るものではないが、SR の Ca²⁺ 取り込み速度の増加が 1/2 弛緩時間の減少の原因であることは間違いない⁴⁾。弛緩時間の短縮と最大単収縮張力の低下により単収縮時間が低減したことが、不完全強縮を誘起し、このことが強縮張力の低下につながったものと思われる。Ca²⁺ 取り込み速度と強縮張力との間に負の相関関係が認められたことは、間接的ではあるがこの考えを支持する結果である(図 4)。

本研究では, 20 Hz 以外の刺激頻度を負荷していないため, より高頻度域において強縮張力に差異が生じるかどうかは不明である. しかしながら, 遅筋であるヒラメ筋は通常低頻度のインパルスを受けており⁹⁾, 仮に高頻度刺激での張力に変化がなくとも, 低頻度域において高い張力を発揮できなくなることは, 生体内では事実上筋力が低下していることを意味している.

Everts ら³⁾は T_3 を 4 週間投与した後に, SOL における疲労耐性の低下が生じたことを報告しているが, 本研究ではさらに早期の段階からこの変化が起こることが示された. 横行小管に存在するジヒドロピリジン受容体から SR の Ca^{2+} 放出チャンネルへのシグナル伝達には, ジヒドロピリジン受容体の一部がリン酸化される必要があり, このリン酸化には ATP の分解によって得られる無機リンが用いられると考えられている¹⁹⁾. caged ATP(光を照射すると ATP を遊離する化合物)を用いた Allen ら²⁰⁾の研究は, ATP の濃度が低下し横行小管から SR へのシグナル伝達の不全が生ずることが, 連続的な収縮中筋張力が低下する原因の 1 つであることを示唆している. 甲状腺機能亢進症に伴う疲労症状の要因は明らかになっていないが, SR Ca^{2+} -ATPase 活性が増大するため, 筋収縮中必要以上に ATP が消費され, ATP の濃度の低下が正常な筋と比べ早期に起こることが関与している可能性がある.

これまで述べてきたように, 本研究では T_3 レベルの上昇に伴う筋機能低下と単収縮時間の短縮との間に, 関連があることが示唆された. したがって, この変化を防ぐことが, 筋機能低下を予防するための方策の 1 つであると考えられる.

V. 総 括

本研究の目的は, 筋小胞体(SR)の機能の変化が, 甲状腺機能亢進症に伴う筋機能低下に関与しているか否かを検討することであった. Wistar 系雄性ラットを対照群および実験群に分け, 実験群には甲状腺ホルモン(T_3)を毎日投与した. 投与後 3, 7 および 21 日目に摘出したヒラメ筋を分析に用い, 以下の結果を得た.

1. T_3 投与後 7 および 21 日目において, 1/2 弛緩時間, 単収縮張力, 強縮張力および疲労耐性の低下が観察された.
2. SR Ca^{2+} -ATPase 活性および SR Ca^{2+} 取り込み速度は, T_3 投与後 7 および 21 日目において, 約 2 倍に増加することが認められた.
3. SR Ca^{2+} 取り込み速度と強縮張力および SR Ca^{2+} 取り込み速度と刺激 4 分後の張力との間に有意な負の相関関係が認められた.

以上のことから, 甲状腺機能亢進症に伴う筋機能低下に, SR の Ca^{2+} 取り込み速度の変化が関与していることが示唆された.

(受理日 平成16年7月16日)

文 献

- 1) 広松雄治: 領域別症候群シリーズIX, 内分泌性ミオパチー, 日本臨牀社, 大阪, 2001, pp 286-287.
- 2) Zaiton, Z., Merican, Z., Khalid, B. A., Mohamed, J. B. and Baharom, S. The effects of propranolol on skeletal muscle contraction, lipid peroxidation products and antioxidant activity in experimental hyperthyroidism. *Gen. Pharmacol.*, (1993), **24**, 195-199.
- 3) Everts, M. E., Simonides, W. S., Leijendekker, W. J. and van Hardeveld, C. Fatigability and recovery of rat soleus muscle in hyperthyroidism. *Metabolism*, (1987), **36**, 444-450.
- 4) Dux, L. Muscle relaxation and sarcoplasmic reticulum function in different muscle types. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, (1993), **122**, 69-147.
- 5) Carroll, C., Nicotera, P. and Pette, D. Calcium transients in single fibers of low-frequency stimulated fast-twitch muscle of rat. *Am. J. Physiol.*, (1999), **277**, C1122-C1129.
- 6) Yamada, T., Inashima, S., Matsunaga, S., Nara, I., Kajihara, H. and Wada, M. Different time course of changes in sarcoplasmic reticulum and myosin isoforms in rat soleus muscle at early stage of hyperthyroidism. *Acta Physiol. Scand.*, (2004), **180**, 79-87.
- 7) Nwoye, L., Mommaerts, W. F., Simpson, D. R., Seraydarian, K. and Marusich, M. Evidence for a direct action of thyroid hormone in specifying muscle properties. *Am. J. Physiol.*, (1982), **242**, R401-R408.
- 8) Devor, S. T. and White, T. P. Myosin heavy chain of immature soleus muscle grafts adapts to hyperthyroidism more than to physical activity. *J. Appl. Physiol.*, (1996), **80**, 789-794.
- 9) Eccles, J. C., Eccles, R. M. and Lundberg, A. The action potentials of the alphanotoneurons supplying fast and slow muscles. *J. Physiol.*, (1958), **142**, 275-

- 291.
- 10) Ward, C. W., Spangenburg, E. E., Diss, L. M. and William, J. H. Effects of varied fatigue protocols on sarcoplasmic reticulum uptake and release rates. *Am. J. Physiol.*, (1998), **275**, R99-R104.
 - 11) Gollnick, P. D., Timson, B. F., Moore, R. L. and Riedy, M. Muscular enlargement and number of fibers in skeletal muscles of rats. *J. Appl. Physiol.*, (1981), **50**, 936-943.
 - 12) Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, (1976), **72**, 248-254.
 - 13) Simonides, W. S. and van Hardeveld, C. An assay for sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase activity in muscle homogenates. *Anal. Biochem.*, (1990), **191**, 321-331.
 - 14) Warmington, S. A., Hargreaves, M. and Williams, D. A. A method for measuring sarcoplasmic reticulum calcium uptake in the skeletal muscle using Fura-2. *Cell Calcium*, (1996), **20**, 73-82.
 - 15) Gryniewicz, G., Poenie, M. and Tsien, R. Y. A new generation of Ca²⁺ indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.*, (1985), **260**, 3440-3450.
 - 16) Hämaläinen, N. and Pette, D. Coordinated fast-to-slow transitions of myosin and SERCA isoforms in chronically stimulated muscles of euthyroid and hyperthyroid rabbits. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, (1997), **18**, 545-554.
 - 17) Klein, I. Thyroxine-induced cardiac hypertrophy: time course of development and inhibition by propranolol. *Endocrinology*, (1988), **123**, 203-210.
 - 18) Szentesi, P., Zaremba, R., van Mechelen, W. and Stienen, G. J. M. ATP utilization for calcium uptake and force production in different types of human skeletal muscle fibres. *J. Physiol.*, (2001), **531**, 393-403.
 - 19) Westerblad, H., Allen, D. G., Bruton, J. D., Andrade, F. H. and Lännergren, J. Mechanisms underlying the reduction of isometric force in skeletal muscle fatigue. *Acta Physiol. Scand.*, (1998), **162**, 253-260.
 - 20) Allen, D. G., Lännergren, J. and Westerblad, H. The role of ATP in the regulation of intracellular Ca²⁺ release in single fibres of mouse skeletal muscle. *J. Physiol.*, (1997), **498**, 587-600.