

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：34435

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07361

研究課題名(和文)糖尿病に伴うサルコペニアを抑制する食品由来成分の開発

研究課題名(英文)Development of nutrients to prevent skeletal muscle loss induced by diabetes

研究代表者

田中 雅侑(Tanaka, Masayuki)

大阪人間科学大学・人間科学部・助教

研究者番号：10780497

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病モデル動物における骨格筋の萎縮及びミトコンドリア機能障害に対する抗酸化物質の効果を検証した。糖尿病により筋重量の低下、筋タンパク質合成系の低下、筋アポトーシスの亢進、クエン酸合成酵素活性の低下、ミトコンドリア新生系の低下が認められた。一方で、糖尿病モデル動物にアスタキサンチンを摂取させると、これらの変化を軽減または抑制した。これらの結果から、アスタキサンチンの摂取は糖尿病に伴う筋萎縮やミトコンドリア機能障害を軽減することが可能であり、糖尿病による二次性サルコペニアを治療する補助手段として有用であることが考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of the present study was to investigate the effect of antioxidant astaxanthin supplementation on skeletal muscle loss and mitochondrial dysfunction in diabetic rats. Streptozotocin-induced diabetic rats exhibited the muscle atrophy, decrease in rpS6 phosphorylation, increase in Bax/Bcl-2 ratio, decrease in XIAP protein expression and decrease in CS activity and PGC-1 protein expression. On the other hand, the antioxidant astaxanthin supplementation lessened or prevented these changes in the diabetic muscle. These results suggested that astaxanthin supplementation could attenuate diabetes-related muscle atrophy and mitochondrial dysfunction and that it might be effective countermeasure for muscle atrophy and decrement in muscle oxidative metabolism associated with diabetes.

研究分野：応用健康科学

キーワード：糖尿病 骨格筋 筋萎縮 サルコペニア 抗酸化物質 ミトコンドリア機能障害

1. 研究開始当初の背景

2013年度からスタートした「健康日本 21 (第二次)」において、糖尿病などの重症化予防の徹底化が訴えられていることから、今後も糖尿病及びその合併症の発生メカニズムの解明、予防・改善方策の開発はますます重要性を増している。一方で近年、糖尿病では血管障害による合併症の他、骨格筋量の減少(二次性サルコペニア)が問題となっている。糖尿病患者における骨格筋量の減少は、運動機能の制限や糖代謝の障害を招くことで、QOL や病態管理に悪影響を及ぼし、将来的には健康寿命を短縮させることから、糖尿病患者に認められるサルコペニアを抑制する介入手段の開発が急務であると考えられる。

糖尿病に伴う骨格筋萎縮は慢性的な炎症や酸化ストレスにより、筋タンパク質の分解及び筋アポトーシスの亢進や、筋タンパク質合成系の低下が関与するとされている。さらに、糖尿病骨格筋では量的な変化のみならず、質的な側面においても変化が見られる。高血糖により引き起こされる炎症や酸化ストレスが骨格筋においてミトコンドリア新生因子である PGC-1 発現量を低下させ、ミトコンドリア機能障害を惹起すると報告されている(Kondo et al., Muscle Nerve, 2015)。また、近年では骨格筋 PGC-1 が骨格筋量の調節にも関与することが示唆されており(Sandri et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2006; Cannavino et al., J Physiol, 2014; Yang et al., Int J Clin Exp Pathol, 2015)、糖尿病においても PGC-1 の発現減少が骨格筋量の減少に関与している可能性は否定できない。

研究代表者らのグループは、疾患や廃用に伴う骨格筋の障害に対して様々な食品由来成分の効果検証を行っている。中でもカロテノイドの一種であるアスタキサンチンは、非常に高い機能性を有していることが明らかとなっている。近年、研究代表者らのグループは、アスタキサンチンが骨格筋の PGC-1 発現を有意に増加させること(Kanazashi et al., Exp Physiol, 2014)、廃用による萎縮筋において筋タンパク質分解の指標であるバイオマーカーを有意に抑制すること(金指ら、日本物理療法学会学術大会、2015)を明らかにした。さらに、アスタキサンチンは強力な抗酸化・抗炎症作用を有することからも、糖尿病に起因する二次性サルコペニアを抑制することが期待できる。

糖尿病患者には高齢者や肥満を呈する者も多いため、効果的な運動が継続困難な場合もある。食品由来成分の摂取は日常的に適用可能な方法であるため、食品由来成分によるサルコペニア抑制方法の開発は運動実施困難者に対する介入手段として臨床的意義があると考えられる。将来的にアスタキサンチンの臨床応用を目指して作用機序に関わる科学的根拠を確立するため、本研究では食品

由来成分アスタキサンチンのサルコペニア抑制効果を組織化学的・分子生物学的に検証する。

2. 研究の目的

本研究では、糖尿病モデル動物を用いて、糖尿病に伴う骨格筋量の減少とミトコンドリア機能障害に対するアスタキサンチン摂取の抑制効果を組織化学的・分子生物学的に検証することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 実験デザイン

6週齢の雄性 Wistar 系ラットを、対照群(Con 群)、糖尿病群(STZ 群)、糖尿病+アスタキサンチン摂取群(AST 群)の3群に区分し、6週間の介入実験を行った。

(2) 糖尿病モデルラットの作製

糖尿病モデルラットはストレプトゾトシン(STZ)の尾静脈投与(50 mg/kg)により作製した。STZ 投与から 72 時間後の血糖値が 250 mg/dl 以上の個体を糖尿病モデルとして使用した。

(3) アスタキサンチンの投与

AST 群には、アスタキサンチンを 100 mg/kg 体重となるように、1日2回に分けて毎日、経口投与した。Con 群と STZ 群にはアスタキサンチンを含まない油脂を同量同頻度にて投与した。全ての動物に対する投与は9時間以上の間隔をあけて実施した。

(4) 解析項目

6週間の実験期間終了後、血液、足底筋を採取した。得られたサンプルから、下記を測定・観察した。

空腹時血糖値

筋湿重量(骨格筋萎縮の指標)

筋横断切片の観察

(ラミニンの蛍光免疫染色)

クエン酸合成酵素活性(CS 活性)

(骨格筋のミトコンドリア機能の指標)

rpS6 のリン酸化

(筋タンパク質合成系の指標)

Bax、Bcl-2、XIAP のタンパク発現量

(筋アポトーシス系の指標)

PGC-1 のタンパク発現量

(ミトコンドリア新生系の指標)

4. 研究成果

(1) 体重、高血糖に対する効果

糖尿病モデル動物に対するアスタキサンチンの投与は、糖尿病に伴う体重の減少を有意に軽減させた。一方で、空腹時血糖値に対してアスタキサンチン摂取の効果は認められなかった。(表1)

表 1. 体重、脛骨長、空腹時血糖値

	体重 (g)	脛骨長 (mm)	空腹時血糖値 (mg/dL)
Con	314 ± 5	36.1 ± 0.5	82 ± 3
STZ	159 ± 5*	30.4 ± 0.2*	377 ± 14*
AST	185 ± 5*†	30.8 ± 0.4*	378 ± 22*

値は平均値 ± 標準誤差。*、†はそれぞれ Con 群、STZ 群に対する有意差 (p < 0.05)。

(2) 骨格筋の萎縮、筋タンパク質合成系、筋アポトーシス系に対する効果

糖尿病に伴い、骨格筋重量が有意に減少した(図 1)。ラミニンの蛍光免疫染色所見から、筋線維横断面積の低下が観察された(図 2)。また、タンパク質合成系に関わる rpS6 リン酸化の有意な低下、筋アポトーシスの指標である Bax/Bcl-2 比の有意な増加も認められた(図 3)。抗アポトーシス因子である XIAP 発現量も糖尿病により有意に減少した(図 3)。一方で、アスタキサンチンを摂取した糖尿病動物では、糖尿病に伴う筋萎縮、筋タンパク質合成系、筋アポトーシス系の変化を有意に軽減することができた。

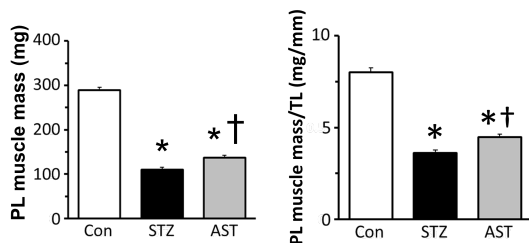


図 1. 足底筋重量、足底筋重量/脛骨長値は平均値 ± 標準誤差。*、†はそれぞれ Con 群、STZ 群に対する有意差 (p < 0.05)。

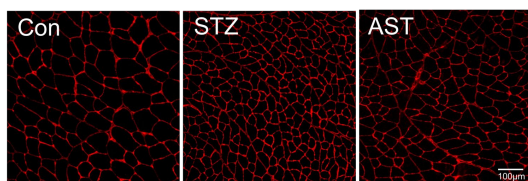


図 2. 足底筋の筋横断切片蛍光免疫染色画像所見(ラミニン)

スケールバーは 100 μm。STZ 群で筋線維横断面積が減少し、アスタキサンチンを摂取させた AST 群では筋線維横断面積の減少が軽減されている。

(3) 骨格筋のクエン酸合成酵素活性、ミトコンドリア新生系に対する効果

糖尿病に伴い、骨格筋の CS 活性は有意に減少した。さらにミトコンドリア新生に関わる因子 PGC-1 の発現量も糖尿病により有意

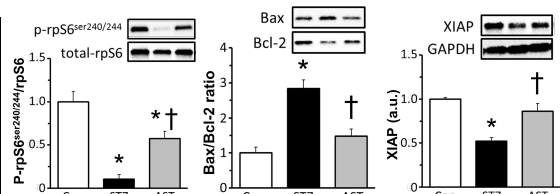


図 3. リン酸化 rpS6^{ser240/244}/rpS6、Bax/Bcl-2 比、XIAP タンパク発現量

値は平均値 ± 標準誤差。*、†はそれぞれ Con 群、STZ 群に対する有意差 (p < 0.05)。

に低値を示した(図 4)。一方で、アスタキサンチンの投与により、CS 活性及び PGC-1 の発現量は糖尿病群に比べて有意に高値を示し、アスタキサンチンによる軽減効果が示された。

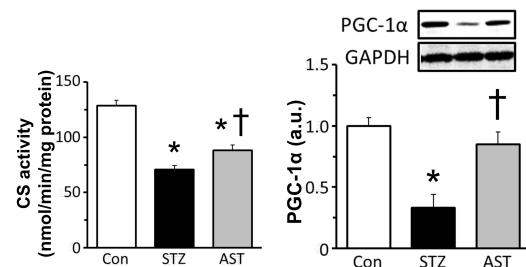


図 4. CS 活性、PGC-1 タンパク発現量

値は平均値 ± 標準誤差。*、†はそれぞれ Con 群、STZ 群に対する有意差 (p < 0.05)。

これらの結果より、糖尿病モデル動物に対するアスタキサンチン投与は、骨格筋の萎縮のみならず、ミトコンドリア機能障害も軽減することが明らかとなった。一方で、糖尿病における高血糖に対しては、アスタキサンチン摂取による軽減効果は認められず、血糖値の改善を介した作用機序でないことが推察された。したがって、糖尿病患者の骨格筋障害に対してアスタキサンチンは軽減効果を有するが、血糖値をコントロールするための食事療法や薬物療法などの治療介入も同時に必要であることが考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

(1) Astaxanthin supplementation attenuates immobilization-induced skeletal muscle fibrosis via suppression of oxidative stress. Maezawa T, Tanaka M, Kanazashi M, Maeshige N, Kondo H, Ishihara A, Fujino H. The Journal of Physiological Sciences, 67(5): 603-611, 2017. 査読有 DOI: 10.1007/s12576-016-0492-x.

(2) Low-Intensity Ultrasound Enhances Histone Acetylation and Inhibition of IL-6 mRNA Expression by Histone Deacetylase Inhibitor Sodium Butyrate in Fibroblasts. Maeshige N, Koga Y, Tanaka M, Aoyama-Ishikawa M, Miyoshi M, Usami M, Fujino H. Journal of Ultrasound in Medicine,36(5): 879-885, 2017. 査読有
DOI: 10.7863/ultra.16.04020.

〔学会発表〕(計4件)

(1) 田中雅侑, 金指美帆, 藤野英己. 糖尿病に伴う筋萎縮に対するアスタキサンチン摂取の効果. 第72回日本体力医学会大会. 2017年9月16日~18日(松山)

(2) 金指美帆, 田中雅侑, 中西亮介, 藤野英己. 2型糖尿病に伴う骨格筋毛細血管構造の破綻に対するアスタキサンチンの抑制効果. 第72回日本体力医学会大会. 2017年9月16日~18日(松山)

(3) 田中雅侑, 前重伯壮, 金指美帆, 中西亮介, 藤野英己. モノクロタリン誘発性肺高血圧症モデルラットの二次性サルコペニアに対する治療的電気刺激の予防効果. 第6回ヘルスプロモーション理学療法学会学術大会. 2016年10月23日(三原)

(4) Zeidan H, 田中雅侑, 吉川まどか, 近藤浩代, 石原昭彦, 藤野英己. 高圧酸素曝露は1型糖尿病の骨格筋における酸化的リン酸化能力を促進する. 第71回日本体力医学会大会. 2016年9月23日~25日(盛岡)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中雅侑 (TANAKA, Masayuki)

大阪人間科学大学・人間科学部・理学療法学科・助教

研究者番号: 10780497