

令和元年6月13日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01726

研究課題名(和文) 長期間の抗酸化食摂取と骨格筋への機械的負荷がサルコペニアに及ぼす影響

研究課題名(英文) Effects of long-term antioxidant food intake and of mechanical stress to skeletal muscle on sarcopenia

研究代表者

杉浦 崇夫 (SUGIURA, Takao)

山口大学・教育学部・教授

研究者番号：80136150

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：10週齢と40週齢Wistar系雄ラットを用い、6か月間抗酸化食であるアスタキサンチン(Ax)摂取に加え機能的過負荷(F0)を負荷することにより、サルコペニアを抑制できるか否かについて検討した。

その結果、速筋である足底筋(PLA)、遅筋であるヒラメ筋(SOL)ともに筋重量はF0によって有意に増加し、高週齢のSOLではAx摂取とF0の組み合わせによる相加効果が認められた。このような高週齢SOLで見られた所見は、Ax摂取群の自己分解型カルパイン1とユビキチン化タンパク質発現率が非摂取群と比較して有意に低下したことから遅筋では一部の分解系抑制により、サルコペニアを抑制できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢に伴う骨格筋線維の萎縮や筋機能低下は、高齢者の骨折や疾病など健康維持に問題が生じ、医療費の増大につながる。したがって、サルコペニアを抑制することは健康寿命の延長や医療費増大の抑制などの観点からも、今日のわが国における重要なテーマである。

本研究においては、高週齢において、遅筋であるSOLでは抗酸化食摂取と機能的過負荷により筋重量は有意に増大し、加齢性筋萎縮を抑制できる可能性が示唆された。しかしながら、速筋であるPLAでは、遅筋で認められたような相加効果はみとめられず、今後、抗酸化剤に加え、タンパク質合成を促進する食事や漸増的な機械的刺激などの複合的な方策についての検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：This study was investigated whether or not astaxanthin (Ax) intake, which is an antioxidant food, and/or functional overload (F0), for 6 months suppress the sarcopenia using 10- and 40-week-old Wistar male rats. Muscle weights and were significantly increased by F0 for both the fast-twitch plantaris muscle (PLA) and the slow-twitch muscle (SOL). The relative muscle weights of the Ax + F0 group were significantly ($p < 0.05$) higher compared to the Cont, Ax and F0 in SOL of high-week-old rats, and an additive effect was observed with the combination of Ax intake and F0. Cu/Zn-SOD expression, which are indicators of oxidative stress, were significantly lower in the Ax+F0 group compared to the Cont. The expressions of autolyzed calpain 1 and ubiquitinated proteins in the Ax-ingested group were significantly reduced compared to those in the non-ingested group. These findings suggested that suppression of sarcopenia might be possible by suppression of some degradation systems by Ax intake.

研究分野：運動生化学

キーワード：抗酸化食 機能的過負荷 筋タンパク質合成 筋タンパク質分解

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 一般的に骨格筋量は 20~40 歳代でピークを迎え、その後、加齢とともに減少し 60 歳頃からその減少は著しくなる。現在、加齢に伴う骨格筋量や筋力の減少により、身体活動や生活の質に影響を及ぼす症候群のことをサルコペニア (加齢性筋減弱症) と呼んでいる。国民の 4 人に 1 人が 65 歳以上の高齢者である我が国において、サルコペニアを抑制することは健康寿命の延長や医療費増大の抑制などの観点からも、今日のわが国における重要なテーマである。

(2) 筋萎縮は、筋タンパク質分解が合成を相対的に上回ることによって起こる。筋タンパク質の分解には、リソソーム系、カルパイン系、ユビキチンプロテアソーム系、筋核アポトーシス、慢性的な炎症反応が関与し、これらの経路は加齢や不活動に伴う活性酸素種 (ROS) の増大などにより活性化される。したがって、加齢による酸化ストレスの増大を抗酸化食を摂取させることにより抑制することができればサルコペニアの進行を抑制できるのではないかと考え 45 週齢ラットに 1 年間ビタミン E よりも抗酸化能力が 100 倍高いと言われているアスタキサンチン (Ax) を摂取させ検討した。その結果、遅筋であるヒラメ筋では、アスタキサンチン摂取により加齢に伴う酸化ストレスの増大が軽減し、ユビキチンプロテアソーム系の働きが抑制することによってサルコペニアを軽減した。しかしながら、速筋である前脛骨筋ではアスタキサンチン摂取によりサルコペニアを抑制できなかった。

(3) これらの事実は、抗酸化剤の補食による筋タンパク質分解系の抑制だけでは、サルコペニアの特徴である速筋線維の選択的萎縮を抑制できず、レジスタンストレーニングなどによる筋タンパク質合成系の亢進も必要であることを示唆する。しかしながら、このような観点からの報告は、これまで行われていない。

2. 研究の目的

本研究は、酸化ストレスを抑制し、筋タンパク質分解を抑制する Ax 摂取に加え、筋タンパク質合成を促進する機能的過負荷 (FO) を組み合わせることで、加齢に伴う筋萎縮を軽減できるかどうかについて、筋タンパク質合成ならびに分解シグナルの観点から検討し明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

実験動物には若週齢 (10 週齢) と高週齢 (40 週齢) の Wistar 系雄ラットを各週齢 40 匹ずつ用いた。予備飼育後、ラットの体重がほぼ等しくなるように Cont 群、Ax 群、FO 群、Ax+FO 群に群分けを行った。FO 群と Ax+FO 群には実験開始時に両足の腓腹筋切除術を行い足底筋 (PLA) とヒラメ筋 (SOL) に FO を負荷した。また、Ax 群、Ax+FO 群には Ax 含有量が 0.04% (w/w) になるように調整した飼料を摂取させた。半年間の飼育期間終了後、すべてのラットは体重を測定した後にエーテル麻酔下で屠殺し、両足の PLA と SOL を摘出し筋重量を測定した。摘出した筋は、分析を行うまで -80℃ で凍結保存した。

(2) 分析項目

分析項目は、以下の項目をウェスタンブロッティング法により分析した。筋タンパク質合成シグナルとして Akt、mTOR、70S6K、eIF4E、S6 のリン酸化ならびに非リン酸化発現率を、また分解シグナルとして CuZn-SOD、Calpain1、Calpain2、Ubiquitin 結合タンパク質、AIF、Bax、Caspase3、TNF- α 、TGF- β 、IL-6 を分析した。

また、収縮タンパク質であるミオシン重鎖分子種 (MHC) を電気泳動法により、細胞骨格であるデスミンをウェスタンブロッティング法により分析した。

4. 研究成果

(1) 体重、SOL の絶対筋重量、相対筋重量は加齢に伴い有意に増加したものの、PLA の絶対筋重量は変化が認められず、相対筋重量は有意に減少した。

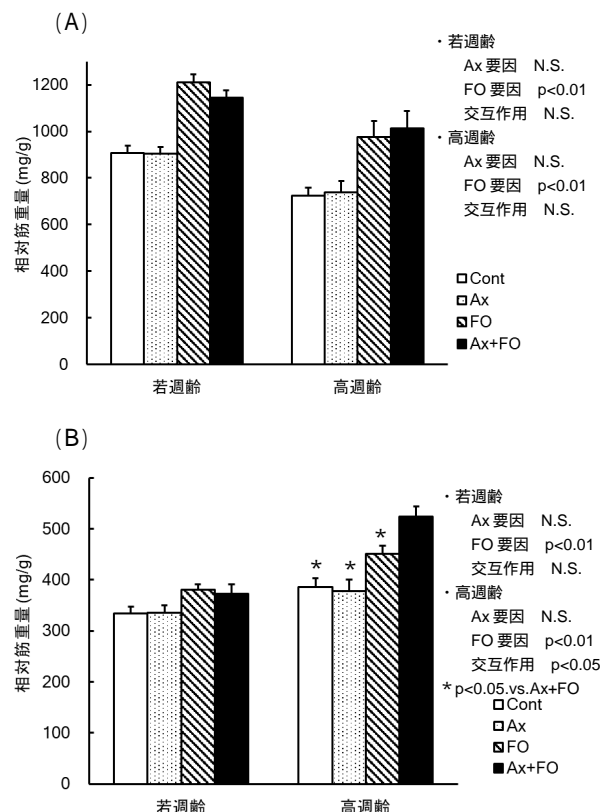


図 - 1. Ax 摂取と FO の組み合わせが足底筋 (A) とヒラメ筋 (B) の相対筋重量に及ぼす影響

(2) PLA、SOLの相対筋重量はFOによっていずれの週齢においても有意に増加した($p < 0.05$)。また、高週齢のSOLの相対筋重量は、FO処置要因ならびに交互作用に有意差が認められた。Ax+FO群の相対筋重量は、Cont群、Ax群ならびにFO群と比較して有意に($p < 0.05$)高値を示した(図-1)。同様な所見は絶対筋重量においても観察された。このような高週齢のSOLにおいて6ヶ月間のAx摂取とFOの組み合わせによる、筋重量の相加効果をもたらした原因として、以下に述べるAx摂取による一部の筋タンパク分解シグナルの抑制に起因するものと考えられる。

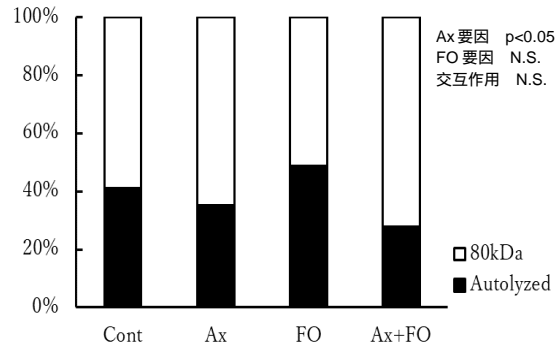


図-2. Ax摂取とFOの組み合わせが高週齢ヒラメ筋の80 kDaと自己分解型(Autolyze)カルパイン1発現率に及ぼす影響

(3)筋タンパク質合成に関わる情報伝達物質(Akt、mTOR、70S6K、S6、eIF4E)のリン酸化率は、両筋においてAx摂取およびFOの影響はいずれの週齢のラットにおいても認められなかった。この原因として、本研究で用いたFOの方法では、体重増加による比較的軽い負荷しかかかっておらず、手術後、比較的早期に筋タンパク合成シグナルは活性化し、手術後2週間以降では消失し、その後、長期間にわたって発現し続けるような負荷が漸増的に与えられていなかった可能性が考えられる。

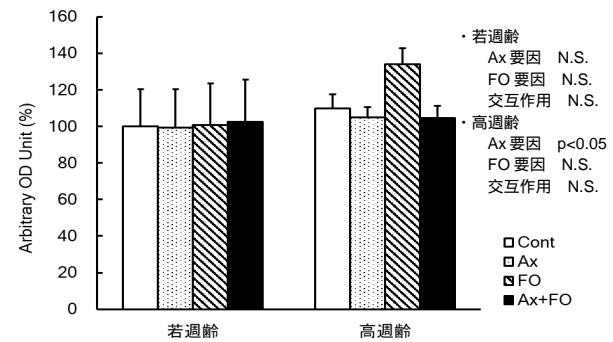


図-3. Ax摂取とFOの組み合わせがヒラメ筋のユビキチン化タンパク質発現率に及ぼす影響

(4)筋タンパク質分解に関わる情報伝達物質のうち、酸化ストレスの指標であるCu,Zn-SOD発現率はCont群と比較してAx+FO群で有意に低値を示した($p < 0.05$)。また、自己分解型カルパイン1(図-2)とユビキチン化タンパク質発現率は(図-3)高週齢のヒラメ筋においてAx摂取により低値を示した。しかしながら、ヒラメ筋の若週齢ならびに足底筋の両週齢においてはそのような所見は観察されなかった。また、炎症反応に関わる情報伝達物質(TNF- α 、TGF- β 、IL-6)には若週齢と高週齢のいずれの筋においてもAx摂取およびFOの影響は認められなかった。

(5) PLAのミオシン重鎖はFOによりMHC II b比が有意に減少し、MHC IIa比は有意に増加した。さらに、若週齢のPLAではMHC Iの有意な増加も認められた。しかしながら、Ax摂取の影響は認められなかった。これに対し、SOLでは、いずれの週齢においてもAx摂取およびFOの影響は認められなかった。また、デスミンタンパク発現量は若週齢と高週齢のいずれの筋においてもAx摂取およびFOの影響は認められなかった。

(6)これらのことから、長期間のAx摂取により、高週齢において、遅筋であるSOLの一部の筋タンパク質分解シグナルを抑制することが示唆された。また、長期間のAx摂取に加え、協働筋切除によるFOを同時に加えることで、高週齢において、遅筋であるSOLの筋重量は有意に増大し、加齢性筋萎縮を抑制できる可能性が示唆された。しかしながら、速筋であるPLAでは、FOによって筋重量は増大したものの、Ax摂取とFOの相加効果が認められず、速筋では、遅筋で認められたような相加効果はもたらされないことが示された。今後、加齢性筋萎縮、特に速筋の選択的萎縮を抑制するためには抗酸化剤に加え、タンパク質合成を促進する食事や、継続的に漸増的な負荷を与えることでより速筋に刺激が加わる状態にするなどの複合的な方策についての検討が必要である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

1. Yoshihara T., Sugiura T., Shibaguchi T., Naito H. Role of astaxanthin supplementation in prevention of disuse muscle atrophy: a review. J Phys Fitness Sports Med, 8: 61-71 (2019), 査読あり

[学会発表](計 1 件)

1. Sugiura T., Shibaguchi T., Miyaji N., Naito H., Goto K., Yoshioka T. Influence of long-term antioxidant intake and functional overload on muscle hypertrophy. J Phys Fitness Sports Med, 7: 358 (2018)

6 . 研究組織

(1)研究分担者
該当無し

(2)研究協力者
該当無し

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。