

令和 5 年 7 月 24 日現在

機関番号：32620

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K22820

研究課題名（和文）骨格筋幹細胞のエピジェネティクス制御機構に基づくサルコペニア予防漢方薬の開発

研究課題名（英文）Development of sarcopenia preventative kampo medicine based on the epigenetic regulation mechanism of skeletal muscle stem cells.

研究代表者

町田 修一（Shuichi, Machida）

順天堂大学・大学院スポーツ健康科学研究科・教授

研究者番号：40421226

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：漢方薬は、加齢に伴う体の不快や不調、病後・術後の体力低下や虚弱体質の改善などの目的に使われることが多く、サルコペニア該当者やその予備軍が何かしらの漢方薬を日常的・長期的に服用していることが予想される。我々はこれまでに、一過性筋力運動による筋タンパク質合成を相乗して高める漢方薬として枇杷葉（ビワヨウ）を同定した。本研究では、自然閉経の高齢期ラットを用いて、筋力トレーニングによる筋肥大へ及ぼす枇杷葉の影響について検討した。本研究の結果から、枇杷葉が閉経後の女性の骨格筋量と筋力を増加することが示唆されたが、筋力トレーニングとの組み合わせによる相乗効果は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢に伴い骨格筋の筋肉量および筋力は低下する。本研究では、サルコペニアの予防・改善に有効である筋力トレーニングと漢方薬を組み合わせることによってサルコペニアの予防改善効果を高められるかどうかを検証した。本研究の成果ではそのような漢方薬を見いだせなかったが、今後は、今回の実験モデルを用いることで、軽い筋力トレーニングでも漢方薬の服用によって、通常の筋力トレーニングと同程度の効果が見い出せる漢方薬の同定ができる可能性が考えられる。

研究成果の概要（英文）：Kampo herbal medicines are often used to improve discomfort and discomfort associated with aging, loss of strength after illness or surgery, and weak constitution, and it is expected that people with sarcopenia and their premenopausal patients are taking some kind of herbal medicine on a daily or long-term basis. We have previously identified loquat leaf extract as a herbal medicine that synergistically enhances muscle protein synthesis during transient muscle exercise. In the present study, we examined the effects of loquat leaf extract on muscle hypertrophy induced by resistance training in aged female rats. The results of this study suggest that loquat leaf extract increases skeletal muscle mass and muscle strength in postmenopausal women, but there was no synergistic effect when combined with resistance training.

研究分野：運動生理学

キーワード：サルコペニア レジスタンス運動 枇杷葉 漢方薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

加齢に伴い骨格筋の筋肉量および筋力は低下する。しかし、この加齢性筋肉減弱症(サルコペニア)の発症メカニズムの詳細については十分に解明されていない。また、男性と女性には、思春期以降体格や身体組成のような外形的性差が存在し、高齢期においても歴然とした骨格筋量の差が存在する。2025年には65歳以上の高齢者が30%を超えて諸外国に例のみないスピードで高齢社会を迎えた本邦において、ゆとりと豊かに満ちた社会を実現するためには、性差に関係なく、ひとりひとりが高齢になっても援助なしで自由に自立した生活を営めることが鍵となる。したがって、加齢に伴うサルコペニア発症やその性差のメカニズムを解明し、その改善および予防のための対策を講じることは今後益々重要になると思われる。

レジスタンストレーニングはサルコペニアに予防・改善に有効であることが確認されている。漢方薬は、加齢に伴う体の不快や不調、病後・術後の体力低下や虚弱体質の改善などの目的に使われることが多く、サルコペニア該当者やその予備軍が何かしらの漢方薬を日常的・長期的に服用していることが予想される。我々はこれまでに、一過性レジスタンス運動による筋タンパク質合成を相乗して高める漢方薬として枇杷葉(ビヨウヨウ)を同定した(Hung YL, et al. Evid Based Complement Alternat Med, 2022)。先行研究においても、枇杷葉投与によって高齢ラットの筋重量と筋力を維持することが認められていた(Sung B, et al. Int J Mol Med, 2015)。一方、これまでに枇杷葉投与が運動トレーニングによる筋肥大を増強するか否かについては明らかになっていない。さらに、枇杷葉投与が閉経後女性の骨格筋に及ぼす影響を検討した報告は皆無である。

2. 研究の目的

本研究では、閉経後の女性を想定した高齢雌性ラットを対象に枇杷葉投与とレジスタンストレーニングの同時介入が筋肥大に及ぼす影響の検討を目的とした。

3. 研究の方法

実験動物

16ヶ月齢のF344雌性ラット(n=32)を体重が均等になるように4群に振り分けた:安静(Control-Sed)群(n=8)、クライミング運動トレーニング(Control-CT)群(n=8)、枇杷葉投与(LLE-Sed)群(n=8)、枇杷葉投与クライミング運動トレーニング(LLE-CT)群(n=8)。なお、本実験は順天堂大学動物実験委員会によって承認された(H29-01)。

枇杷葉煎液投与

LLE-Sed群およびLLE-CT群に投与した枇杷葉煎液は、生薬の枇杷葉重量の10倍のイオン交換水で30分間熱水抽出を行い、4,000rpmで生薬残渣を分離して作製した。なお、煎液中に含まれる枇杷葉濃度は約0.25g/mlであった。枇杷葉煎液の投与量は1.5g/kg body weightに調製し、1日に1回の頻度で8週間、毎日定時に胃ゾンデを用いて投与した。

クライミング運動トレーニング

クライミング運動トレーニングは、はしご(長さ1.1m)を用いて、3日に1回の頻度で8週間(計20回)実施した。初回のトレーニングにおける負荷重量は、1セット目が体重の50%、2セット目は体重の75%、3セット目は体重の90%、そして4セット目が体重の100%となるように調整した。4セット以降の負荷重量は毎回30gずつ追加し、はしごの完登が不可能になるまでクライミング運動を実施した。2回目以降のトレーニングは、各トレーニングの前のトレーニングにおける最大負荷重の50%から初回のトレーニングと同様の方法で負荷を漸増し、はしごの完登が不可能になるまで継続した。

解剖および骨格筋摘出

最終トレーニングセッション終了から48時間後、体重を測定し、イソフルラン(2-3%)吸入による深麻酔下にて心臓を摘出した後、長母趾屈筋(Flexor hallucis longus: FHL)を摘出し湿重量を測定した。

統計処理

結果は平均値±標準誤差で表した。群間の比較は二元配置分散分析を行い、多重比較検定はTurkey's testを行った。有意水準は5%未満とした。

4. 研究成果

解剖直前の体重には群間の有意差が認められなかった(図1)。

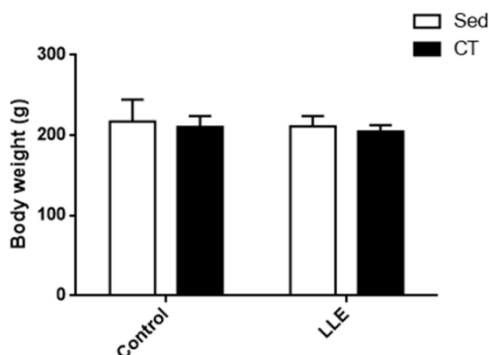


図1. 各群体重

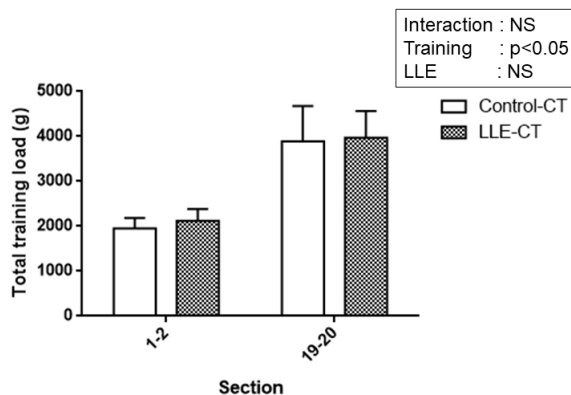


図2. クライミングトレーニング1-2回目と19-20回目における総負荷量の変化

クライミング運動トレーニング 1-2 回目と 19-20 回目における総負荷量の変化について、トレーニング 19-20 回目における総負荷量はトレーニング 1-2 回目と比較して有意に増加したが、枇杷葉投与による有意な変動は認められなかった(図2)。また、クライミングトレーニングに伴う最大負荷量の変化についても、交互作用に有意性は認められなかったが($p=0.06$)、トレーニングと枇杷葉投与の主効果がそれぞれ認められた。トレーニング 19-20 回目における最大負荷量は両群ともにトレーニング 1-2 回目と比較して有意に増加したが、LLE-CT 群は Control-CT 群より高い傾向を示した(図3)。

LLE-Sed 群の長母趾屈筋の湿重量は、Control-Sed 群より有意に高値を示した($p<0.05$ 、図4)。Control-CT 群の筋湿重量は Control-Sed 群より有意に増大し(17.9%)、LLE-CT 群は LLE-Sed 群より有意に増大した(10.6%)が、Control-CT 群と LLE-CT 群との間に筋湿重量の有意差は認められなかった。

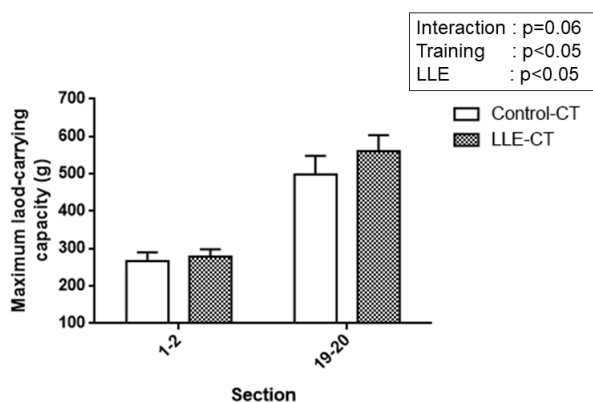


図3. クライミングトレーニング1-2回目と19-20回目における最大負荷量の変化

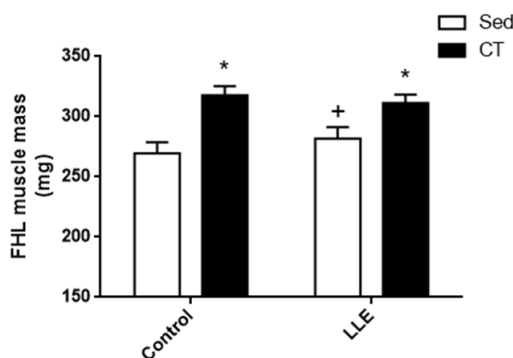


図4. 長母趾屈筋の湿重量

* : $p<0.05$, vs. Sed; + : $p<0.05$, vs. Control

本研究では、高齢期雌性ラットを対象に、8週間にわたり枇杷葉投与とクライミング運動トレーニングを組み合わせ実施した。その結果、8週間の枇杷葉投与によって体重や筋湿重量に有意差は認められなかった。またクライミング運動トレーニング時の最大負荷について、枇杷葉投与とトレーニングによる有意な交互作用は認められなかったものの、LLE-CT 群は Control-CT 群よりも高値を示した。本研究では LLE-CT 群と Control-CT 群間で筋重量に差が認められなかった。本研究では、筋湿重量の比較に留まっており、筋横断面積については評価できていない。今後の研究では、筋横断面積も含めて包括的な検討を行う必要があると考えられる。

また 18 ヶ月齢雄性ラットに 5 週間枇杷葉投与した先行研究(Sung B, et al. Int J Mol Med, 2015)では、加齢に伴うヒラメ筋(遅筋)の湿重量の低下を抑制することが認められていたが、本研究の LLE-Sed 群は、Control-Sed 群と比較して長母趾屈筋(速筋)の重量が高値を示すことが認められた。更に、最大負荷重量(下肢筋力)が増加する傾向にあった。枇杷葉投与と運動トレーニングはそれぞれ、サルコペニアの予防・改善に有効である可能性が考えられるが、最大

筋力に対して、枇杷葉投与と運動トレーニングの組み合わせによる相加相乗効果が認められる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Nakano D, Machida S.	4. 巻 10
2. 論文標題 Mitochondrial fusion- and fission-related protein expression in the regulation of skeletal muscle mass	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e15281
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.15281.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kawanishi N, Machida S.	4. 巻 63
2. 論文標題 Alterations of macrophage and neutrophil content in skeletal muscle of aged versus young mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Muscle & Nerve	6. 最初と最後の頁 600-607
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/mus.27158	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kurosaka Y, Machida S, Shiroya Y, Yamauchi H, Minato K	4. 巻 22
2. 論文標題 Protective Effects of Voluntary Exercise on Hepatic Fat Accumulation Induced by Dietary Restriction in Zucker Fatty Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2014
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22042014.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yoshihara T, Natsume T, Tsuzuki T, Chang SW, Kakigi R, Sugiura T, Machida S, Naito H	4. 巻 130
2. 論文標題 Long-term physical inactivity exacerbates hindlimb unloading-induced muscle atrophy in young rat soleus muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Appl Physiol	6. 最初と最後の頁 1214-1225
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/jappphysiol.00494.2020.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chang SW, Yoshihara T, Tsuzuki T, Natsume T, Kakigi R, Machida S, Naito H	4. 巻 17
2. 論文標題 Circadian rhythms modulate the effect of eccentric exercise on rat soleus muscles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0264171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0264171. eCollection 2022.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawanishi N, Machida S	4. 巻 63
2. 論文標題 Alterations of macrophage and neutrophil content in skeletal muscle of aged versus young mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Muscle & Nerve	6. 最初と最後の頁 600 ~ 607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mus.27158	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakada S, Yamashita Y, Machida S, Miyagoe-Suzuki Y, Arikawa-Hirasawa E	4. 巻 9
2. 論文標題 Perlecan Facilitates Neuronal Nitric Oxide Synthase Delocalization in Denervation-Induced Muscle Atrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2524 ~ 2524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9112524	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 NOZAKI R, HUNG YL, TAKAGI K, NAKANO D, FUJII T, KAWANISHI N, OKAMOTO T, MACHIDA S	4. 巻 41
2. 論文標題 Differential protective effects of Radix astragali, herbal medicine, on immobilization- induced atrophy of slow-twitch and fast-twitch muscles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 139-148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Sawada S, Machida S.
2. 発表標題 Development and social implementation of an exercise program to prevent locomotive syndrome and sarcopenia in a super-aged society
3. 学会等名 2021 International Conference on Future Healthcare and Economic Development (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 町田修一
2. 発表標題 性差を考慮したサルコペニア予防対策：メカニズムの解明と運動介入の現状と課題
3. 学会等名 第32回日本老年学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kosugi R, Hung YL, Natsume T, Machida S.
2. 発表標題 The effect of Loquat Leaves Extract administration and electromyostimulated exercise on muscle protein synthesis signaling
3. 学会等名 International Conference on Frailty and Sarcopenia Research 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hung YL, Machida S
2. 発表標題 Effect of loquat leaf extract on resistance training-induced muscle hypertrophy in aged female rats
3. 学会等名 APS Integrative Physiology of Exercise conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Riki Kosugi, Yung-Li Hung, Toshiharu Natsume, Shuichi Machida
2. 発表標題 The effect of Loquat Leaves Extract administration and electromyostimulated exercise on muscle protein synthesis signaling
3. 学会等名 International Conference on Frailty and Sarcopenia Research 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 町田修一
2. 発表標題 サルコペニアにおける性差：メカニズムと運動介入の効果
3. 学会等名 第38回日本臨床運動療法学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 町田修一
2. 発表標題 サルコペニアに伴う骨格筋内脂肪蓄積のメカニズム
3. 学会等名 第6回日本サルコペニア・フレイル学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 川西範明, 町田修一	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メディカル・サイエンス・インターナショナル	5. 総ページ数 700
3. 書名 パワーズ運動生理学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
台湾	National University of Tainan		