

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：31303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500796

研究課題名(和文) 運動の継続がサルコペニアに及ぼす影響：筋線維数に着目して

研究課題名(英文) Effect of exercise training on sarcopenia: focused on fiber number

研究代表者

諏訪 雅貴 (Masataka, Suwa)

東北工業大学・公立大学の部局等・准教授

研究者番号：50464392

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では運動の継続やレスベラトロール投与が加齢に伴う筋線維数の減少を抑制できるのかについてマウスを用いた実験により検討した。3ヶ月齢の若齢マウスに比べて24ヶ月齢の老齢マウスは足底筋の筋線維数が減少していたが、回転車輪付きケージにて3ヶ月齢から24ヶ月齢まで飼育したところ、筋線維数の減少が抑制された。一方、足底筋の腱切除による機能的過負荷やレスベラトロール投与では筋線維数への影響を観察できなかった。以上のことから、持続的な運動を継続することにより速筋線維の減少を抑制できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research was to investigate the effect of exercise training or resveratrol treatment on age-related muscle fiber loss in mice. The research demonstrated that mice aged 24 months showed significant decrease in muscle fiber number of plantaris muscle in comparison to the mice aged 3 months. Wheel running training during 3 to 24 months age significantly attenuated such decrease. On the other hand, functional overload by tenotomy of gastrocnemius tendon or resveratrol treatment did not induce such phenomenon. The results imply that long-term endurance training would attenuate the age-related fiber loss in fast-twitch muscle.

研究分野：運動生理学

キーワード：サルコペニア 筋線維数 老化 運動

## 1. 研究開始当初の背景

(1)加齢に伴い生じる骨格筋の変化の1つにサルコペニアがある。サルコペニアの原因として、「筋線維の萎縮」と「筋線維数の減少」がある(Lexell et al., 1988)。これらの変化を抑制することは重要な課題である。筋線維の萎縮については、メカニズムやトレーニング効果(Roman et al., 1993)について多くの研究がなされている。高齢者でも、筋力トレーニングを継続すれば筋力が向上するのはもちろん、若齢者ほどではないが筋線維の肥大が生じることから、筋力トレーニングは老化に伴う筋萎縮に対して有効な方策であると考えられている。しかし、これまでに老化に伴う筋線維数の減少に対する運動の影響についての報告ない。なぜなら、長期間の実験であり、筋線維数の評価を厳密に行うには多大な労力が必要だからである。

(2) 出芽酵母からアカゲザルに至るまでの多くの種の生物において、カロリー制限(食事量制限)には寿命延長の効果があり、老化現象や疾病の発生を遅延させることが報告されている。この現象の少なくとも一部は、カロリー制限に伴う細胞内のエネルギー不足状態(NADH/NAD<sup>+</sup>比の低下)によりSIRT1活性が高まり、寿命と関連する遺伝子群の発現が調節されることによって説明されている。一方、カロリー制限は老化に伴う筋線維数の減少に対しても有効である。ラットに食餌制限(約60%のカロリー制限)を負荷することにより、骨格筋線維のミトコンドリア異常の発生が抑えられて筋線維の壊死が起きにくくなり、老化に伴う筋線維数の減少が抑制されることが報告されている(McKiernan et al., 2004)。これらの研究から、カロリー制限による筋線維数減少の抑制にSIRT1が関与している可能性がある。

## 2. 研究の目的

(1)本研究課題では、寿命が約2年と短く、筋線維数が少ない小動物であるマウスを用いて、「運動の継続は老化に伴う筋線維数の減少を抑制させる」という仮説を検証することを第一の目的とした。運動は2種類のモデル(回転車輪付きケージでの自発走による持続的運動および足底筋とヒラメ筋への機能的過負荷による筋肥大運動)を用いた。

(2)第二の目的として、マウスにSIRT1活性化剤であるレスベラトロールを若齢期から老齢期まで長期間投与し、老化に伴う筋線維数の減少が抑制されるのかを検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 自発走運動(実験1)

被検動物には3ヶ月齢ICR系雄性マウスを用い、若齢群(n=12)、高齢不活動群(n=13)、高齢自発走群(n=12)に分けた。若齢群は3ヶ月齢で、高齢不活動群と高齢自発走群は24

ヶ月齢で筋摘出(ヒラメ筋と足底筋)をおこなった。高齢不活動群は金網製ケージで通常飼育し、高齢自発走群は回転車輪付きケージで飼育を行った。骨格筋からの単一筋線維への分解は先行研究の方法(Wada et al., 2002)を修正することにより行った。すなわち、摘出した筋は4%パラフォルムアルデヒド緩衝液(pH7.0)で固定し、50%水酸化ナトリウム溶液に一晩浸して結合組織を解かして単一筋線維に分解する方法で筋線維数をカウントした。図1に単一筋線維に分解する過程を示した。

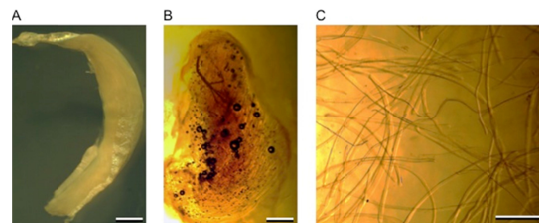


図1. 単一筋線維の作成. A, 4%パラフォルムアルデヒド緩衝液で固定された骨格筋. B, 50%水酸化ナトリウム溶液に一晩浸した骨格筋. C, シェイクして単一筋線維に分解.

### (2) 機能的過負荷(実験2)

被検動物には3ヶ月齢ICR系雄性マウスを用い、若齢群(n=8)と高齢群(n=8)に分けた。若齢群は3ヶ月齢で、高齢群は24ヶ月齢で筋摘出(ヒラメ筋と足底筋)をおこなった。また、高齢群は3ヶ月齢時に右脚の腓腹筋の腱を切除してヒラメ筋と足底筋に機能的過負荷がかかるようにし、左脚は皮膚を切開するだけの偽手術を施して対照脚とした。

### (3) レスベラトロール投与によるSIRT1活性化(実験3)

被検動物には12ヶ月齢ICR系雄性マウスを用い、若齢群(n=12)、高齢通常食群(n=6)、高齢レスベラトロール投与群(n=6)に分けた。若齢群は12ヶ月齢で、高齢の2群は24ヶ月齢で筋摘出(ヒラメ筋と足底筋)をおこなった。高齢通常食群には市販のマウス用粉末飼料(日本クレア、CE-2)を与えた。また、高齢レスベラトロール投与群には通常食群と同じ飼料に0.04%のレスベラトロールを混ぜて与えた。

## 4. 研究成果

### (1) 自発走運動(実験1)

図2に高齢不活動群と高齢自発走群の生存曲線を示した。高齢不活動群は飼育期間中に7匹死に、最終的にn=5となった。また、高齢自発走群は飼育期間中に6匹死に、最終的にn=6となった。自発走群は生存曲線が右にシフトする傾向が見られたが、両群間の生存率に統計的な差は認められなかった。

自発走実験期間である92週間の自発走距離の1週間当たりの平均は42.0kmであった。

また最も多く走ったのは第9週の66.3kmであり、その後に低下していき、最終週では23.6kmとなった。

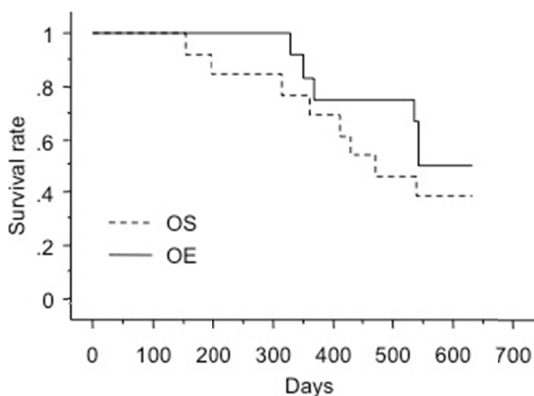


図2. 生存曲線. OS; 高齢不活動群. OE; 高齢自発走群

図3にヒラメ筋と足底筋の体重当たりの筋重量を示した。ヒラメ筋では加齢に伴い筋重量が低下したが、自発走により筋重量は完全に維持された。また、足底筋でも加齢に伴い筋重量が低下したが、自発走により若齢群ほどではないが筋重量の低下が抑制された。

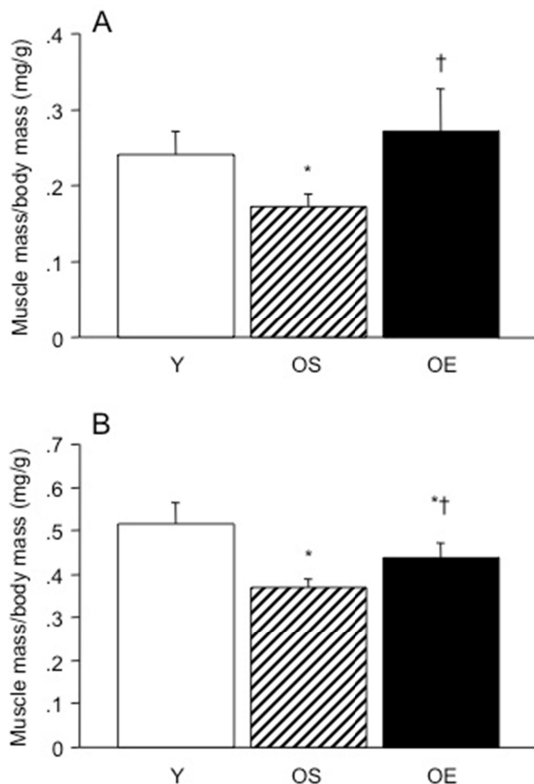


図3. ヒラメ筋(A)と足底筋(B)の体重当たりの筋重量. Y; 若齢群. OS; 高齢不活動群. OE; 高齢自発走群. \*, 若齢群に対する有意差. †, 高齢不活動群に対する有意差.

図4にマウスの四肢の握力を示した。加齢に伴い握力は低下するが、自発走により低下が抑制された。

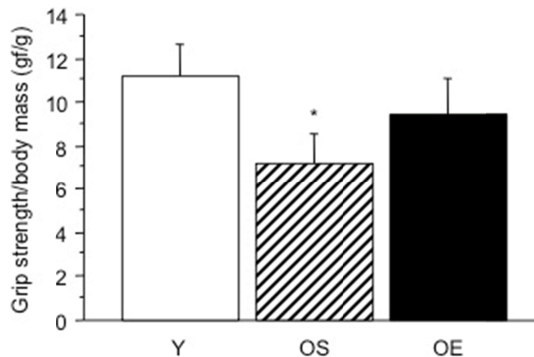


図4. 体重当たりの握力. Y; 若齢群. OS; 高齢不活動群. OE; 高齢自発走群. \*, 若齢群に対する有意差.

図5に筋線維数の結果を示した。ヒラメ筋では加齢変化も自発走の効果も観察されなかった。一方、足底筋では加齢に伴い筋線維数が減少したが、自発走により加齢の影響が減弱した。すなわち、長期間の運動継続は速筋に加齢に伴う筋線維数の減少を抑制する効果があることが明らかとなった。

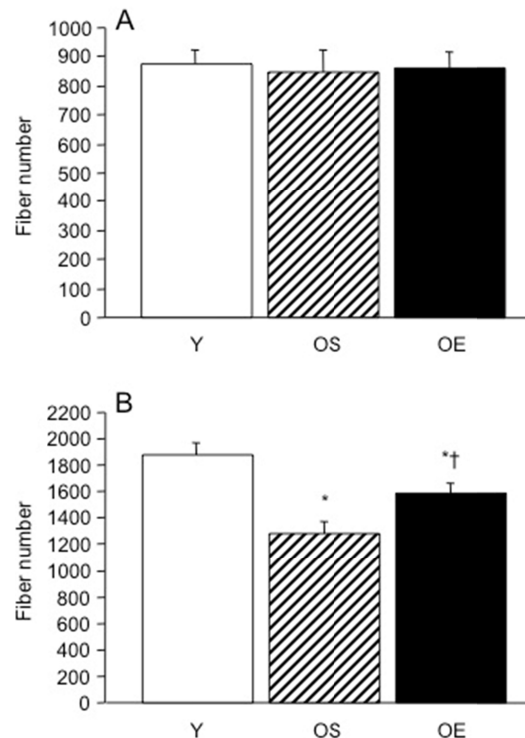


図5. ヒラメ筋(A)と足底筋(B)の筋線維数. Y; 若齢群. OS; 高齢不活動群. OE; 高齢自発走群. \*, 若齢群に対する有意差. †, 高齢不活動群に対する有意差.

## (2) 機能的過負荷(実験2)

若齢群、高齢群対照脚、高齢群実験脚の筋重量を比較したところ、ヒラメ筋では実験脚が他2つに対して有意に高値であったが、足底筋では有意性は観察されなかった。

筋線維数では、ヒラメ筋は若齢群に対して高齢群の実験脚および対照脚が有意に高値を示した。すなわち、加齢に伴い筋線維数は予想に反して増加していた。これは、おそらく対照脚では実験脚をかばうために過負荷

になってしまい、また実験脚も過負荷であったため、両脚とも筋線維数が増加したのではないかと考えられる。また、足底筋では、対照脚が実験脚に対して有意に高値を示した。これも、対照脚が実験脚をかばうために過負荷になり筋線維数が増加し、また対照脚も過負荷により加齢に伴う筋線維数の減少が起きなかったという可能性が考えられる。いずれにしても、機能的過負荷は加齢に伴う筋線維数の減少を抑制しうることを示唆されたものの、対照脚にも過負荷がかかっていた可能性があり、正確に評価することができなかった。本実験の次の課題として、片脚を対照脚とするのではなく、両脚の腱を切除した高齢過負荷群と腱切除を行わない高齢対照群の比較を行うことが望ましいと考えられる。

#### (3)レスベラトロール投与による SIRT1 活性化(実験3)

レスベラトロール投与には、加齢に伴うロータロッド試験のパフォーマンス低下を抑制できた。しかし、筋力、筋重量、および筋線維数への影響は観察されなかった。このことから、レスベラトロールによる SIRT1 活性化にはサルコペニア抑制の効果はないと考えられる。

#### (4)まとめ

このように、持久的運動を長期間続ければ、加齢に伴う筋線維数の減少が抑制できることが示唆された。また、筋肥大が生じるタイプの運動を継続しても筋線維数の減少を抑制で切る可能性が考えられたが、本研究では厳密に評価できなかったため、今後の課題となる。一方、本研究の結果からは SIRT1 活性化にはサルコペニア抑制の効果は見いだせなかった。

#### <引用文献>

Lexell J, Taylor CC, Sjostrom M. What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J Neurol Sci* 84: 275-294,1988.

McKiernan SH, Bua E, McGorray J, Aiken J. Early-onset calorie restriction conserves fiber number in aging rat skeletal muscle. *FASEB J* 18: 580-581, 2004.

Roman WJ, Fleckenstein J, Stray-Gundersen J, Alway SE, Peshock R, Gonyea WJ. Adaptations in the elbow flexors of elderly males after heavy-resistance training. *J Appl Physiol* 74: 750-754, 1993.

Wada KI, Takahashi H, Katsuta S, Soya H.

No decrease in myonuclear number after long-term denervation in mature mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 283: C484-C488, 2002.

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Suwa M, Sakuma K. The potential role of sirtuins regarding the effects of exercise on aging-related diseases. *Curr Aging Sci* 6: 178-188, 2013.

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計1件)

Suwa M. Chapter 8, AMPK: molecular mechanisms of metabolic adaptations in skeletal muscle. Ed, Sakuma K. *Basic Biology and Current Understanding of Skeletal Muscle*, Nova Science Publishers Inc, NY, pp205-249, 2013.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

諏訪 雅貴 (SUWA, Masataka)

東北工業大学・公私立大学の部局等・准教授

研究者番号：50464392

##### (2)研究分担者

なし

##### (3)連携研究者

なし