

平成 27 年 5 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500853

研究課題名(和文)サルコペニア(老化による筋肉減少)でのインスリン抵抗性と慢性炎症による制御の解析

研究課題名(英文)Study on the effect of insulin resistance and chronic inflammation on sarcopenia

研究代表者

小池 晃彦(Teruhiko, Koike)

名古屋大学・名古屋大学総合保健体育科学センター・教授

研究者番号：90262906

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：加齢による骨格筋減少のメカニズムとエイコサペンタエン酸(EPA)の筋減少抑制効果を検討するために、老化促進マウス(SAMP1)と対照マウス(SAMR1)を用いた。EPAによる骨格筋量の増加は、SAMR1でのみ見られた。しかし、SAMP1で筋力増加の傾向がみられた。また、EPA投与で、SAMR1のみ骨格筋蛋白合成シグナルの活性化がみられた。SAMP1では内在的なシグナル異常があった。代償性の筋肥大は、SAMP1でもSAMR1と同様にみられ、SAMP1の筋量減少は、筋肥大能とは関係なくおこると考えられた。以上よりEPAの投与は加齢時の筋量保持や筋力改善に有効な可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The aim of the present study was to understand the mechanism of age-related muscle loss (sarcopenia) and to examine the effect of eicosapentaenoic acid (EPA), an omega-3 polyunsaturated fatty acid, on muscle. We used senescence accelerated prone mice (SAMP1), which are characterized by accelerated senile features, and senescence-resistant strain 1 mice (SAMR1) as control. Administration of EPA significantly increased muscle weight in SAMR1 but not in SAMP1. However, EPA had a tendency to increase muscle strength in SAMP1. Administration of EPA activated the signaling pathway associated with muscle protein synthesis in SAMR1, while it had no effect in SAMP1. The compensation muscle growth was not different between SAMP1 and SAMR1. Taken together, we conclude that administration of EPA is beneficial to prevent age-related loss of muscle mass and function.

研究分野：スポーツ医学

キーワード：サルコペニア EPA インスリン抵抗性 慢性炎症 老化促進マウス

1. 研究開始当初の背景

サルコペニアは、高齢者の虚弱性の主要因であるが、予防・治療対策は限られている。サルコペニアは、加齢性の骨格筋減少症と定義され、狭義には老化にともない普遍的に50代ごろから生じる筋減少を意味するが、廃用性の筋減少を含むこともある。後者は、レジスタンス運動をはじめとする身体活動の維持が最も有効な予防手段となるが、前者に対する介入方法は明らかでない。近年、魚食が筋力維持に有効である可能性が疫学的に報告されている。その機序として、3系脂肪酸が抗炎症作用を介し、筋の分解を抑制することが示されている。

2. 研究の目的

老化により普遍的におこる筋減少症のメカニズムを明らかにし、介入法を検討する。サルコペニアのモデルとして適すると考えられる老化促進モデルマウスを用い、インスリン抵抗性の機序に特に着目する。

3. 研究の方法

(1) 老化促進モデルマウスでのエイコサペンタエン酸(EPA)の有効性

実験動物として、老化が促進される SAMP1 マウスと、その対照となる SAMR1 マウスを用いた。飼育期間中、EPA またはコーン油を餌中重量比で 6% になるように加え、経口で投与した。投与期間は、6 週齢から 30 週齢(グループ 1: 筋萎縮効果を見るため)と 26 週齢から 30 週齢(グループ 2: 筋萎縮後の進行予防効果を見るため)とした。グループ 1 においては、インスリン抵抗性を評価するためインスリン負荷試験を 16 週齢で行った。また、グループ 1 で、握力試験を 25 週齢で行った。30 週齢において、すべてのマウスの骨格筋、副睾丸周囲脂肪を摘出し、血液を採取した。骨格筋は、重量を測定後凍結保存し、ウエスタンブロット法での解析に用いた。

(2) 骨格筋肥大能における EPA の有効性

骨格筋肥大能は、腓腹筋の切除後におこる足底筋とひらめ筋の代償性肥大を測定することで評価した。手術は麻酔下に行い、手術肢と反対側の肢には、シャム手術を行った。2 週間飼育後、再び麻酔下に骨格筋を摘出し、凍結保存後にウエスタンブロット法で解析した。

4. 研究成果

(1) 老化促進マウスの生存率

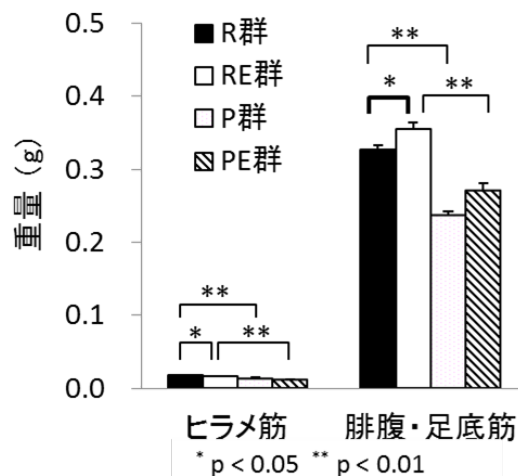
グループ 1 (6 週齢より EPA 投与) の老化促進マウス SAMP1 のうち、EPA を投与された群 (PE 群) はすべてが 30 週齢まで生存したが、コントロール群 (コーン油を投与) (P 群) では半数が死亡した。グループ 2 においても (26 週齢より EPA 投与) SAMP1 のうちコントロール群でのみ死亡がみられた。一方、SAMR1 においては、EPA 群 (RE 群)

コントロール群 (R 群) の両群で、すべてが 30 週齢まで生存した。SAMP1 においては、EPA が生存を延長する効果を有する可能性もあるが、コーン油において炎症が惹起された可能性もある。EPA の抗炎症作用が、SAMP1 の生存に有利であることを示唆する興味深い知見ではあったが、SAMP1 群における EPA の効果を解析する上で、対照群で死亡数が多く、本試験結果の解析を難しくした。

(2) インスリン抵抗性

インスリン負荷試験において、SAMR1 のインスリンに対する感受性は EPA により改善した。一方、SAMP1 におけるインスリン感受性は、SAMR1 のコーン投与群との比較においてもインスリン感受性は亢進しており、EPA 投与においても影響はなかった。この結果は、老化促進モデルマウス SAMP1 のインスリン感受性は対照となる SAMR1 より低下しているであろうという予想に反するものであった。

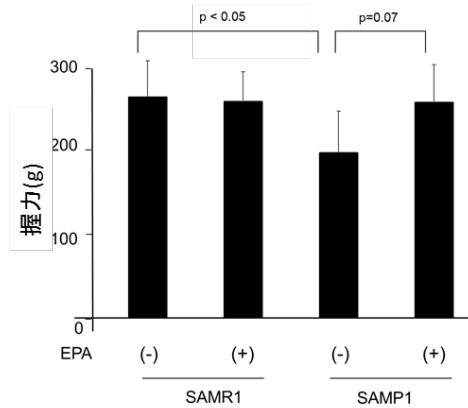
(3) 骨格筋量



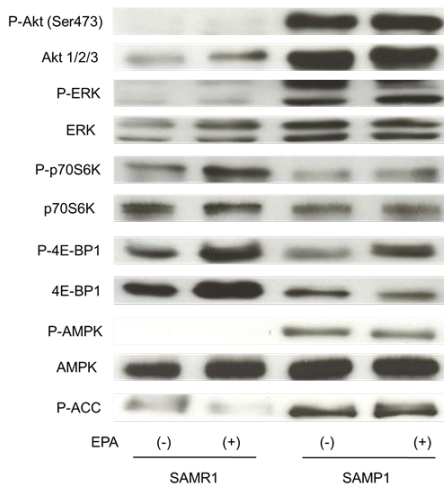
骨格筋量は、グループ 1 において、ひらめ筋、腓腹・足底筋(合計)では、SAMP1 で SAMR1 より有意に低下した。SAMR1 では、EPA の投与でひらめ筋、腓腹・足底筋、大腿四頭筋の重量が増加した。グループ 2 においても、SAMR1 では腓腹・足底筋、大腿四頭筋で筋量が増加した。一方、SAMP1 では、EPA による影響を受けなかった。したがって、正常マウスでは EPA の摂取は筋量の増加を引き起こすが、老化促進マウスにおいては有効でないことが示唆された。

(4) 握力測定

グループ 1 において、握力試験を 25 週齢で行った。SAMP1 では、SAMR1 と比較し、握力が低下していたが、EPA 投与により筋力が増加する傾向があった。SAMR1 の握力は、EPA によっても変化しなかった。

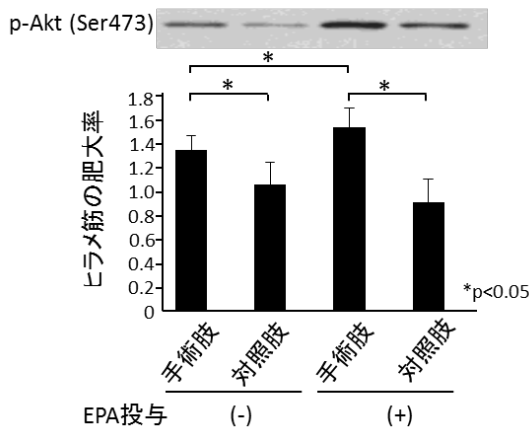


(5) 骨格筋細胞内シグナル



骨格筋肥大に関連するシグナル分子に関して、SAMR1において筋蛋白合成に関与するAKT1とP44/42MAPKの蛋白発現とリン酸化の亢進がEPA投与で認められた。一方、SAMP1では構成的な蛋白発現の増加とリン酸化の亢進がみられた。しかしながら、SAMP1において、これらのシグナル分子のリン酸化の亢進にもかかわらず、筋蛋白合成の下流シグナル分子である4E-BP1とp70S6Kの発現とリン酸化は、SAMR1より低下しており、シグナル異常があることが示された。

(6) 筋肥大能



C57BL/6J マウスによる代償性筋肥大の実験

結果を示す。対照肢に対し手術肢においてはひらめ筋肥大が有意に増加している。さらに、EPAの投与により手術肢の肥大が増加した。SAMR1とSAMR1において代償性筋肥大を検討したが、代償性肥大の程度においては、両者で有意な差は認めなかった。筋肥大能は、骨格筋量に影響を与える要因と考えられるが、その差が老化促進マウスでの筋量の低下に直接影響を与えるのではないことが示唆された。

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10件)

- 1) Z. Wang, T. Koike, P. Li, H. Jiang, Y. Natsume, L. Mu, T. Chen, Y. Oshida. 2012. Effects of angiotensin II AT1 receptor inhibition and exercise training on insulin action in rats on high-fat diet. *Life Sci*, 90:322-327
- 2) P. Li, T. Koike, H. Jiang, Z. Wang, Y. Kawata, Y. Oshida. 2012. Acute treatment with candesartan cilexetil, an angiotensin II type 1 receptor blocker, improves insulin sensitivity in high-fructose diet-fed rats. *Horm Metab Res*, 44 (4):286-290
- 3) T. Sakazaki, T. Koike, Y. Yanagimoto, Y. Oshida. 2012. Association between gait speed and bone strength in community-dwelling postmenopausal Japanese women. *Environ Health Prev Med*, 17:394-400
- 4) K. Katayama, E. Iwamoto, K. Ishida, T. Koike, M. Saito. 2012. Inspiratory muscle fatigue increases sympathetic vasomotor outflow and blood pressure during submaximal exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 302: R1167-R1175
- 5) K. Katayama, S. Yamashita, K. Ishida, E. Iwamoto, T. Koike, M. Saito. 2013. Hypoxic effects on sympathetic vasomotor outflow and blood pressure during exercise with inspiratory resistance. *Am J*

- Physiol Regul Integr Comp Physiol, 304:R374-R382
- 6) K. Kimura, XW. Cheng, A. Inoue, L. Hu, T. Koike, M. Kuzuya. 2014. β -Hydroxy- β -methylbutyrate suppresses tumor necrosis factor- α /interferon- γ -induced MuRF expression in C2C12 cells. Nutr Res, 34:368-374
 - 7) H. Jiang, XW. Cheng, GP. Shi, L. Hu, A. Inoue, Y. Yamamura, H. Wu, K. Takeshita, X. Li, Z. Huang, H. Song, M. Asai, C. Hao, K. Unno, T. Koike, Y. Oshida, K. Okumura, T. Murohara, M. Kuzuya. 2014. Cathepsin K-mediated Notch 1 activation contributes to neovascularisation in response to hypoxia. Nat Commun, Jun 4;5:3838. doi: 10.1038/ncomms4838
 - 8) K. Katayama, K. Ishida, M. Saito, T. Koike, A. Hirasawa, M. Saito. 2014. Enhanced muscle pump during mild dynamic leg exercise inhibits sympathetic vasomotor outflow. Physiol Rep, 2:e12070 DOI: 10.14814/phy2.12070
 - 9) M. Hioki, N. Kanehira, T. Koike, A. Saito, H. Takahashi, K. Shimaoka, H. Sakakibara, Y. Oshida, H. Akima. 2015 Associations of intramyocellular lipid in vastus lateralis and biceps femoris with blood free fatty acid and muscle strength differ between young and elderly adults. Clin. Physiol. Funct. Imaging (in press)
 - 10) H. Akima, A. Yoshiko, M. Hioki, N. Kanehira, K. Shimaoka, T. Koike, H. Sakakibara, Y. Oshida. Skeletal muscle size is a major predictor of intramuscular fat content regardless of age. Eur. J. Appl. Physiol. DOI:1007/s00421-015-3148-2
- 〔学会発表〕(計 10 件)
- 1) 第 85 回日本内分泌学会 (2012 年)
インスリン抵抗性モデルラットにおける eicosapentaenoic acid (EPA) の効果
夏目有紀枝、小池晃彦、姜海英、王忠華、尾崎信暁、押田芳治
 - 2) 第 55 回日本糖尿病学会大会 (2012 年)
高果糖食誘発インスリン抵抗性に対する eicosapentaenoic acid (EPA) の効果
夏目有紀枝、小池晃彦、姜海英、王忠華、尾崎信暁、押田芳治
 - 3) 第 67 回日本体力医学会 (2012 年)
 $^1\text{H-MRS}$ による大腿四頭筋およびハムストリングの筋細胞内脂質と血液成分との関係。
日置麻也、兼平奈奈、島岡 清、小池晃彦、吉子彰人、齋藤 輝、榊原久孝、高橋英幸、押田芳治、秋間 広
 - 4) 第 56 回日本糖尿病学会大会 (2013 年)
高果糖食負荷ラットにおける eicosapentaenoic acid (EPA) のインスリン抵抗性抑制効果とインスリンシグナルの検討
夏目有紀枝、小池晃彦、姜海英、王忠華、尾崎信暁、押田芳治
 - 5) 第 36 回日本基礎老化学会大会 (2013 年)
老化促進モデルマウスの筋肉減少および筋力低下に対する eicosapentaenoic acid (EPA) の効果
夏目有紀枝、小池晃彦、成憲武、葛谷雅文、押田芳治
 - 6) The 36th NAITO CONFERENCE on Molecular Aspects of Energy Balance and Feeding Behavior (2013 年)
Eicosapentaenoic acid prevents insulin resistance in skeletal muscle of high-fructose-diet-fed rats through regulation of insulin signaling
T. Koike, Y. Natsume, Y. Oshid

7) 第 18 回日本体力医学会東海地方会学術
集会 (2014 年)

Eicosapentaenoic acid (EPA)が老化促進
モデルマウスの筋量減少および筋力低
下におよぼす影響

夏目有紀枝、小池晃彦、成憲武、葛谷
雅文、押田芳治

8) 第 57 回日本糖尿病学会大会 (2014 年)

高果糖食誘発インスリン抵抗性に対す
る eicosapentaenoic acid (EPA)の抑制効
果 骨格筋・肝臓・脂肪のシグナル比
較検討

夏目有紀枝、小池晃彦、姜海英、王忠
華、尾崎信暁、押田芳治

9) 第 19 回日本体力医学会東海地方会学術
集会 (2015 年)

代償性骨格筋肥大モデルにおけるエイ
コサペンタエン酸の効果

斯日古樗、小池晃彦、木 蘭、夏目有
紀枝、岩間信太郎、押田芳治

10) GSA2014 Annual Scientific Meeting
(2014 年, Washington, DC, USA)

Effect of eicosapentaenoic acid on skeletal
muscle in senescence-accelerated mice. T.
Koike, Y. Natsume, Y. Oshida.

〔図書〕(計 2 件)

- 1) 押田芳治、小池晃彦 2013. 運動療法
41-51: 科学的根拠に基づく糖尿病診療
ガイドライン 2013 (日本糖尿病学会
編) 南江堂
- 2) 小池晃彦 2014. 運動処方 (運動療法)
206-208: 糖尿病専門医研修ガイドブッ
ク(改訂第 6 版)(日本糖尿病学会編) 診
断と治療社

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小池晃彦 (KOIKE Teruhiko)
名古屋大学・総合保健体育科学センター・
教授
研究者番号：90262906

(2) 研究分担者

押田芳治 (OSHIDA Yoshiharu)
名古屋大学・総合保健体育科学センター・
教授
研究者番号：10169295

(3) 研究分担者

葛谷雅文 (KUZUYA Masafumi)
名古屋大学・医学部・教授
研究者番号：10283441

(4) 連携研究者

成 憲武 (SEI Kenbu)
名古屋大学・医学部・准教授
研究者番号：30378228

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)