

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07291

研究課題名(和文) 老化、不活動等による活性酸素産生および放射線被曝からの生体機能防御策の追求

研究課題名(英文) Investigation of the defensive measures from oxidative stress, caused by aging and/or inactivity, and radiation exposure

研究代表者

大平 充宣(Ohira, Yoshinobu)

同志社大学・研究開発推進機構・客員教授(嘱託研究員)

研究者番号：50185378

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：身体活動抑制や老化による活性酸素産生や宇宙放射線被曝による悪影響は、深刻な健康問題である。そこで、これらの解消策を探る目的で、マウスおよびラットにおける老化、後肢筋活動抑制、それにX線照射が、抗重力筋であるヒラメ筋における遺伝子およびタンパク質発現に及ぼす影響および recombinant manganese superoxide dismutase (rMnSOD) の腹腔内投与の効果を追った。その結果、老化に伴う遺伝子およびタンパク質発現の変化は、rMnSOD投与により抑制された。しかし、X線照射により誘発された変化の抑制はマイナーであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢社会が抱える老化や不活動による活性酸素による生体諸機能における悪影響は、憂慮される健康問題である。抗酸化機能を持つ各種の食物等がマスコミをにぎわしているが、特効薬となるものの開発には至っていない。そこで、本研究で示唆されたrMnSOD投与の効果は、この問題の解決にある種のヒントを与えてくれたと思われる、学術的にも社会的にも有意義な示唆が得られたものと確信する。

研究成果の概要(英文)：Detrimental effects of oxidative stress and exposure to radiation are serious medical concerns during long-term space exploration missions. Thus, the effects of treatment by daily intraperitoneal injection of recombinant manganese superoxide dismutase (rMnSOD) for inhibition of aging or anti-gravity activity caused by hindlimb unloading, and/or exposure to radiation were studied in acceleration of aging model (senescence-accelerated SAMP1) mice and/or Wistar Hannover rats. The aging-associated changes of gene and protein expression (up- or down-regulation) in soleus muscle with antigravitational function were inhibited by the treatment using rMnSOD. However, the beneficial effects of rMnSOD treatment in mice exposed to X-ray daily were minor.

研究分野：宇宙医科学

キーワード：活性酸素 MnSOD 老化 不活動 放射線被曝

1. 研究開始当初の背景

活性酸素の産生は、酸素消費が亢進する運動中に高まるが、逆に身体活動量が低下する寝たきり生活や老化に伴っても亢進する。活性酸素は殺菌効果も有するが、DNA 損傷も誘発する厄介な産物である。活性酸素の消去に重要な役割を果たすのは superoxide dismutase (SOD) であるが、ヒトでは 20 歳頃をピークに産生が低下する。従って、老化やそれに伴う身体活動減少による活性酸素産生の亢進 (J Gerontol Biol Sci Med Sci 68: 793-802, 2013) は憂慮される問題である。また、似たような問題は、長期飛行する宇宙飛行士にも深刻な問題を引き起こす。現在国際宇宙ステーション (ISS) では、半年から 1 年間の長期飛行による実験等が実施されているが、NASA は火星の有人探査に加えて、再度月面にもヒトを送る計画を進めている。火星探査には往復それぞれ 6 ヶ月間の飛行と 1 年間 (3 年間という案もある) の滞在が予定されているが、往復期間は微小重力環境であり、3/8-G の火星での抗重力活動レベルは、地球上の約 38% に低下してしまう。また、月への飛行は 4 日くらいで済むものの、重力は 1/6-G であり、抗重力活動レベルは、地球上の約 17% に低下してしまう。地球上における寝たきり生活や老化、長期宇宙飛行で誘発される筋萎縮 (J Appl Physiol 73: 51S-57S, 1992 他) や骨密度低下 (PLoS ONE 7 (3): e33179, 2012) 等は、防止策の解明が求められる深刻な健康問題である。さらに宇宙飛行中の宇宙放射線被曝による悪影響も憂慮されるものである。

我々は、イタリア宇宙機関 (ISA) およびジェノヴァ大学、NASA 等との共同研究で、2009 年にマウスを 3 ヶ月間国際宇宙ステーションの JAXA 実験棟「きぼう」で飼育する実験を実施した (PLoS ONE 7 (5): e32243, 2012)。その結果、長期間の微小重力環境暴露による抗重力筋活動抑制 (PLoS ONE 7 (3): e33232; 7 (4): e35418; 7 (7): e40112, 2012)、それに伴う活性酸素産生と宇宙放射線被曝の影響と推察される顕著な様々な生体反応 (PLoS ONE 7 (3): 32361, 2012) が誘発された。しかし、当研究では何が主たる要因か特定できておらず、抗重力筋活動の減少、それに伴う活性酸素の産生、放射線被曝の影響を、それぞれ分離して与えたり、抑制したりして、生体に誘発される negative effect を誘発する key factor(s) の解明と抑制策を追求する本研究の立案に至った。地球上における老化や寝たきり生活および宇宙飛行における長期間の身体活動低下に伴う活性酸素産生の亢進と宇宙放射線被曝が身体諸機能にどのような機構で影響を及ぼすのか、さらに生体に誘発される悪影響を抑制または防止する処方の解明が必須であるという示唆を得たことが、本研究の企画に至った動機である。

2. 研究の目的

DNA 損傷を誘発する危険性のある老化や長期間の身体不活動によって産生が亢進される活性酸素および放射線被曝による生体諸機構に対する negative effects を、抗酸化物質の一つである recombinant manganese SOD (rMnSOD 投与で如何に防止・抑制できるか、マウスおよびラットを使って追求するのが主たる目的である。低重力環境における抗重力筋活動抑制が、骨格筋の形態的、機能的、代謝的特性等に及ぼす detrimental effects に関する報告は、枚挙にいとまがない。筋の収縮に伴う機械的ストレスの減少に加えて、神経活動の抑制が主たる要因となっていることを疑う余地はなからうが、これらの抑制に付随して誘発される代謝的反応も無視できない因子である。そこで、宇宙放射線被曝や不活動に伴う活性酸素産生の助長がもたらす悪影響の抑制策を追求目的で、本研究を実施した。

3. 研究の方法

老化促進モデルマウス (senescence-accelerated mouse prone, SAMP1) および正常老化を示すマウス (senescence-accelerated mouse resistant, SAMR)、それに Wistar Hannover ラットを使って老化、後肢懸垂による活動減少、それに X 線照射による影響が、rMnSOD の腹腔内投与で抑制できるか追求した。コントロール群には、phosphate-buffered saline (PBS) を投与した。

X 線照射は、試料エリアが (幅) 400 mm x (奥行) 400 mm x (高さ) 200 mm である卓上型 X 線照射装置 (ML-80 Labo、管電圧: 40-80 kV、管電流: 0.15-25 mA) を用い、4 匹ずつ無麻酔下で、上面から 400 x 400 mm のエリアに全面照射した。0.25 Gy/10 分/日 (照射率 1.5 Gy/h) の照射を 4 回/週、3 ヶ月実施した。さらにこれらを 2 群に分け、X 線照射前に PBS に混入した rMnSOD (0.08 mg/kg BW) が PBS のみを無麻酔下で腹腔内投与した。これらの処置を 3 ヶ月継続した後、解剖・サンプリングを行った。

4. 研究成果

マウスを使った実験では、PBS 投与群のヒラメ筋に見られた老化に伴う遺伝子発現の変化 (up-または down-regulation) が rMnSOD 投与で抑制された。rMnSOD 投与はガン患者における放射線治療による副作用抑制に利用されているが、X 線照射による遺伝子発現変化に及ぼす影響はマイナーであった。遺伝的に老化の進行度が高い SAMP1 マウスの場合、正常なマウスやラットとは老化の進行や rMnSOD 投与に対する遺伝子発現等には、反応が異なる可能性もあるので、wild type のラットでも似たような追求を試みた。その結果、rMnSOD を 0.08 mg/kg 体重/日投与した Wistar Hannover ラットを使った実験でも、PBS 投与群において老化に伴い誘発された遅筋 (ヒラメ筋) および速筋 (足底筋) におけるタンパク質発現の変化 (up-または down-regulation) が rMnSOD 投与によって軽減されるという傾向が見られている。詳細な解析は現在進行中である。

8 週齢ラットの抗重力筋活動を 16 週間抑制した実験では、顕著な rMnSOD 投与効果が見られた。筋活動抑制に伴うヒラメ筋線維の萎縮、速筋化、筋核数の減少等が、rMnSOD 投与により抑制された。個々の筋線維における succinate dehydrogenase (SDH) 比活性には顕著な変化は見られなかったが、全横断面における総活性は後肢懸垂で顕著に減少した。SDH 活性そのものも減少するものの、それよりも萎縮の進行度が勝ることが明らかとなった。しかし、このような現象は rMnSOD 投与で抑制され、比活性はむしろ逆に有意に亢進した。筋活動低下によるミトコンドリア代謝抑制には、酸化ストレスの抑制が重要な役割を果たすことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Ohno, Y., T. Egawa, S. Yokoyama, H. Fujiya, T. Sugiura, Y. Ohira, T. Yoshioka, and K. Goto | 4. 巻 68 |
| 2. 論文標題 MENS-associated increase of muscular protein content via modulation of caveolin-3 and TRIM72 | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Physiol. Res. | 6. 最初と最後の頁 265-273 |
| 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 - |
| 1. 著者名 Kami, K.*, T. Ohira*, Y. Oishi*, T. Nakajima, K. Goto, and Y. Ohira. *: Equally contributed authors | 4. 巻 67 |
| 2. 論文標題 Role of 72-kDa heat shock protein in heat-stimulated regeneration of injured muscle in rat | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 J. Histochem. Cytochem. | 6. 最初と最後の頁 791-799 |
| 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 - |
| 1. 著者名 Okabe, H.*, Tak. Ohira*, F. Kawano, L. Ohira, Tomo. Ohira, K. Kamibayashi, K. Goto, H. Naito, and Y. Ohira | 4. 巻 175 |
| 2. 論文標題 Role of active plantar-flexion and/or passive dorsi-flexion of ankle joints as the countermeasure for unloading-related effects in human soleus | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Acta Astronaut. | 6. 最初と最後の頁 174-178 |
| 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 無 |
| 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 Kawano, F., T. Ohira, K. Goto, and Y. Ohira | 4. 巻 54 (6) |
| 2. 論文標題 Role(s) of gravitational loading on the growth and development of neuromuscular properties | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia) | 6. 最初と最後の頁 73-79 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21687/0233-528X-2020-54-6-73-79 | 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 Ohira, T., F. Kawano, Y. Ozaki, S. Fukuda, K. Goto, and Y. Ohira | 4. 巻 34 |
| 2. 論文標題 Roles of satellite cells and/or myonuclei in the regulation of morphological properties of anti-gravitational skeletal muscle in response to mechanical stress | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Biol. Sci. Space | 6. 最初と最後の頁 1-11 |
| 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 無 |
| 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 Ohira, T., Y. Ino, Y. Kimura, Y. Nakai, A. Kimura, Y. Kurata, H. Kagawa, M. Kimura, K. Egashira, C. Matsuda, Y. Ohira, S. Furukawa, and H. Hirano | 4. 巻 7 |
| 2. 論文標題 Effects of microgravity exposure and fructo-oligosaccharide ingestion on the proteome of soleus and extensor digitorum longus muscles in developing mice | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 npj Microgravity | 6. 最初と最後の頁 34 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41526-021-00164- | 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 Zhang, S.*, D. Ueno*, T. Ohira, H. Kato, T. Izawa, S. Yamanouchi, Y. Yoshida, A. Takahashi, and Y. Ohira | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Depression of bone density at the weight-bearing joints in Wistar Hannover rats by a simulated mechanical stress associated with partial gravity environment | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers Cell Develop. Biol. | 6. 最初と最後の頁 707470 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2021.707470 | 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 該当する |

| | |
|---|----------------------|
| 1. 著者名 Ohira, T., F. Kawano, K. Goto, and Y. Ohira. Responses of neuromuscular properties to unloading and potential countermeasures during space exploration missions | 4. 巻 136 |
| 2. 論文標題 Responses of neuromuscular properties to unloading and potential countermeasures during space exploration missions | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Neuroscience and Biobehavioral Reviews | 6. 最初と最後の頁 104617 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neubiorev.2022.104617 | 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 Hasebe, R., K. Murakami, M. Harada, N. Halaka, H. Nakagawa, F. Kawano, Y. Ohira, T. Kawamoto, F.E. Yull, T.S. Blackwell, J. Nio-Kobayashi, T. Iwanaga, M. Watanabe, N. Watanabe, H. Hotta, T. Yamashita, D. Kamimura, Y. Tanaka, and M. Murakami | 4. 巻 219 (6) |
| 2. 論文標題 ATP spreads inflammation to other limbs through crosstalk between sensory neurons and interneurons | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 J. Exp. Med. | 6. 最初と最後の頁 e20212019 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20212019 | 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 該当する |

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 7件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 Ohira, Y. |
| 2. 発表標題 Adaptation of morphological and/or functional properties of skeletal muscle to anti-gravitational activity |
| 3. 学会等名 Special lecture at University of Taipei (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Ohira, Y., Y. Ozaki, H. Kato, and T. Izawa |
| 2. 発表標題 Effects of inhibition of reactive oxygen species on the properties of rat soleus muscle during hindlimb suspension |
| 3. 学会等名 40th Annual Meeting of the International Society for Gravitational Physiology, (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Kamibayashi, K., A. Oshima, K. Araki, N. Tsujiuchi, and Y. Ohira |
| 2. 発表標題 Modulation of leg muscle activity during treadmill walking by varying body weight unloading |
| 3. 学会等名 40th Annual Meeting of the International Society for Gravitational Physiology, (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1 . 発表者名 Lamassoure, L., K. Kitano, K. Araki, A. Ito, K. Kamibayashi, Y. Ohira, and N. Tsujiuchi |
| 2 . 発表標題 Study of human gait characteristics under different low-gravity conditions |
| 3 . 学会等名 40th Annual Meeting of the International Society for Gravitational Physiology, (国際学会) |
| 4 . 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1 . 発表者名 Maeda, Y., H. Kato, A. Sugiyama, S. Osawa, T. Izawa, and Y. Ohira |
| 2 . 発表標題 Effects of denervation-related inhibition of antigravity activity during growing period on the properties of hindlimb bones in rats |
| 3 . 学会等名 40th Annual Meeting of the International Society for Gravitational Physiology, (国際学会) |
| 4 . 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1 . 発表者名 Osawa, S., H. Kato, Y. Maeda, Y. Ohira, and T. Izawa. |
| 2 . 発表標題 Effect of 9-week exercise training regimen on expression of developmental genes in adipose-derived stem cells of rats |
| 3 . 学会等名 40th Annual Meeting of the International Society for Gravitational Physiology, (国際学会) |
| 4 . 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1 . 発表者名 Ohira, Y. |
| 2 . 発表標題 Neuromuscular responses to gravitational load levels |
| 3 . 学会等名 Doshisha Week, Tubingen University, Germany (招待講演) (国際学会) |
| 4 . 発表年 2019年 |

| |
|------------------------------|
| 1. 発表者名 大平充宣 |
| 2. 発表標題 同志社宇宙DREAMプロジェクト |
| 3. 学会等名 第65回日本宇宙航空環境医学会大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 加藤久詞、前田優希、大澤晴太、大平充宣、井澤鉄也 |
| 2. 発表標題 脂肪由来間葉系細胞の脂肪細胞への分化能に及ぼす微小重力および運動の影響 |
| 3. 学会等名 第65回日本宇宙航空環境医学会大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 上林清孝、大島惇史、荒木啓輔、辻内伸好、大平充宣 |
| 2. 発表標題 荷重関連の感覚入力による歩行の神経筋調節 |
| 3. 学会等名 第65回日本宇宙航空環境医学会大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 高橋明久、神戸峻輔、鈴木健之、鶴岡千鶴、森岡孝満、武島嗣英、吉田由香里、中村麻子、泰恵、永松愛子、大平充宣、稲富裕光、柿沼志津子 |
| 2. 発表標題 宇宙放射線と重力環境変化による複合影響研究 |
| 3. 学会等名 第34回宇宙環境利用シンポジウム |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-----------------------------|
| 1. 発表者名 後藤卓也、大平充宣 |
| 2. 発表標題 宇宙居住用生命維持技術開発 |
| 3. 学会等名 第34回宇宙環境利用シンポジウム |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Petersen, L.G., K. Kamibayashi, Y. Ohira, and A.R. Hargens | 4. 発行年 2020年 |
| 2. 出版社 Springer Nature Switzerland | 5. 総ページ数 8 |
| 3. 書名 Reduced gravity by lower body positive pressure. In: Encyclopedia of Bioastronautics | |

〔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 |
|---------|---------|
|---------|---------|