

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：33501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19465

研究課題名（和文）筋萎縮に対する機能性食品摂取が脳に与える影響の基礎的検討 - BDNFに着目して

研究課題名（英文）Effects of nutraceuticals intake for muscle atrophy on brain BDNF

研究代表者

相原 正博（Aihara, Masahiro）

帝京科学大学・医療科学部・講師

研究者番号：90736472

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題におけるHMBの摂取は体重や骨格筋、脳の重量に影響を及ぼさなかった。また、筋線維横断面積分布率においても変化は認められなかった。脳および骨格筋のBDNFは、HMBの摂取によって発現量に差は認められなかった。一方で、若年マウスよりも老齢マウスでBDNFの発現量の減少が認められた。HMBを摂取させた研究はいくつか報告があるが、摂取条件は様々である。今回の摂取条件では効果を示さなかったため、摂取条件を検討する余地があると考えられる。また、HMBは運動介入を併用することで筋機能改善を促進する報告があることから、運動を併用した条件も設ける必要性があると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦は高齢社会を迎えており、今後も高齢者は増加する一途である。高齢者は、筋機能や認知機能の低下を呈することが多く、さまざまなADLの低下を引き起こす要因となっている。そのため、筋機能や脳機能を効率良く改善することが重要な課題である。本研究課題では、HMB摂取によって脳及び骨格筋におけるBDNFの明らかな増加は見出せなかったが、摂取条件（摂取量や摂取期間など）の新たな検討課題を得ることが出来た。また、老齢マウスのBDNF量が減少していることが明らかとなった。今後HMBの摂取方法や運動との併用など、脳のBDNFへの効果についてさらなる検討をすることにより、臨床に繋がる知見を得ることを目指したい。

研究成果の概要（英文）：HMB intake in this research project had no effect on body weight, skeletal muscle, or brain weight. There was also no change in the cross-sectional area distribution rate of muscle fibers. BDNF expression in brain and skeletal muscle was not different by HMB intake. On the other hand, a decrease in BDNF expression was observed in old mice compared to young mice. Since no effect was observed under the present intake conditions, we believe there is room for further investigation of the intake conditions. In addition, since it has been reported that HMB promotes improvement of muscle function when combined with exercise intervention, we believe that there is a need to establish a condition in which exercise is also used.

研究分野：筋生物学

キーワード：脳由来神経栄養因子 BDNF HMB 機能性食品 高齢者

1. 研究開始当初の背景

(1) 現在、本邦は高齢社会を迎えており、厚生労働省によると2060年まで高齢者が増加することが見込まれている。高齢者は、筋機能の低下や認知機能の低下を呈することが多く、さまざまなADLの低下を引き起こす要因となっている。この筋機能の低下や認知機能の低下に対して、日々の臨床では運動療法や機能性食品摂取による栄養療法が実践されている。運動療法は筋機能の改善、脳機能改善を目的に実施されている。

(2) 脳機能を反映する代表的な因子に脳由来神経栄養因子(Brain-derived neurotrophic factor: 以下、BDNF)がある。BDNFは、NGF、NT-3などと共に脳で働く神経成長因子ファミリーの1つである。BDNFは運動によって増加することが実験動物やヒトにおいて報告されており、神経細胞の発生、成長、生存維持、修復、シナプスの可塑性に重要な役割を果たしている。また、BDNFはヒトやマウスの海馬に高濃度に存在しており、その働きからも長期記憶や学習などに関与しているとされている。そして、このBDNFが、運動により海馬をはじめとする脳内の様々な領域で発現することが報告されている。

(3) 栄養療法では、分岐鎖アミノ酸であるロイシンやロイシンの代謝産物 HMB(β -hydroxy- β -methylbutyrate)などの機能性食品が注目されている。ロイシンは骨格筋の合成刺激効果があることが報告され、その代謝産物 HMBは、より高い骨格筋の分解抑制および合成促進効果により筋機能改善効果が期待されている。筋機能改善とHMBは密接な関係性が報告されているが、HMBが脳機能に及ぼす効果についてはあまり知られていない。特に、脳のBDNFに着目した検討はほとんど行われていない。HMBが筋機能の改善に伴って、脳機能の改善に関与するのではないかと仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究課題では、理学療法の臨床現場において高齢者への理学療法を提供することが多い。また、高齢化率、高齢化速度とも世界一である本邦においては、高齢者の筋機能改善や脳機能改善の基礎的研究は最優先で取り組むべき課題である。

我々は高齢者を想定して、老齢マウスを対象に、HMBを摂取させた際の筋機能や脳機能を検討することとした。HMBを摂取すると筋機能が改善し、それによって脳BDNFの発現量が変動すると仮説を立てた。本研究では、老齢マウスに機能性食品であるHMBを摂取させ、脳および骨格筋のBDNFに与える影響について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 52週齢のC57BL/6系マウス(老齢マウス)を使用した。実験群は、水道水を自由に経口摂取させる群(Old-Co群)、HMBを水道水で溶解し自由に経口摂取させる群(Old-HMB群)に分類した。また、18週齢のC57BL/6系マウス(若年マウス)グループも用意し対照群(Young群)とした。すべてのマウスは、同条件下にて飼育され(12時間周期の明暗サイクル、高温高湿条件(24 \pm 1, 50~60%))、標準固形食は自由摂取とした。

(2) 機能性食品としては、ロイシンの代謝産物 HMBを使用した。HMB(東京化成工業, Calcium 3-Hydroxy-3-methylbutyrate 135236-72-5)を250mg/Body Weight(g)/dayになるように水道水に溶解して4週間摂取させた。

(3) 全ての実験期間終了後に各群の脳及び下腿三頭筋を摘出採取し、重量計測した。摘出した下腿三頭筋の筋切片を作成し下腿三頭筋のHE染色、細胞径を解析した。筋線維の横断面積を分析するために、各群の下腿三頭筋における300本以上の筋線維の断面積を分析した。筋線維横断面積(μm^2)をImageJソフトウェアを用いて計測した。

(4) 脳及び骨格筋のBDNF量は、分画を抽出した後にWestern Blot法によるタンパク質発現量を測定した。

4. 研究成果

(1) 実験後の体重は、Old-Co 群と Old-HMB 群で有意な差は認められなかった。一方で、Young 群と Old 群 (Co 群, HMB 群) を比較すると、Old 群で有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

下腿三頭筋相対体重比は、Old-Co 群と Old-HMB での有意な差は認められなかった。一方で、Young 群と Old 群を比較すると、Old 群で有意に低値を示した ($p < 0.05$)。

全脳相対体重比は、Old-Co 群と Old-HMB での有意な差は認められなかった。一方で、Young 群と Old 群を比較すると、Old 群で有意に低値を示した ($p < 0.05$)。Old-Co 群と Old-HMB の飲水量は、有意な差は認められなかった。

表 1 実験前後の体重および下腿三頭筋、全脳相対体重比の結果

群	体重 (g)		下腿三頭筋相対 体重比 (mg/g)	全脳相対 体重比 (mg/g)	飲水量 (ml/day)
	実験前	実験後			
Old-Co	38.8±1.7	39.9±2.3*	4.73±0.4*	11.53±0.1*	8.5±2.9
Old-HMB	38.8±1.0	39.3±1.3*	4.84±0.3*	11.25±0.6*	6.9±1.7
Young	29.3±0.4	29.3±1.8	6.27±0.5	15.45±1.1	

各群のデータは平均値 ± 標準偏差で示した。

*: $p < 0.05$ (vs Young 群)

(2) 下腿三頭筋の H&E 染色の組織学的な検索では、Old-Co 群と Old-HMB 群ともに特筆すべき所見は見当たらなかった (図 1)。

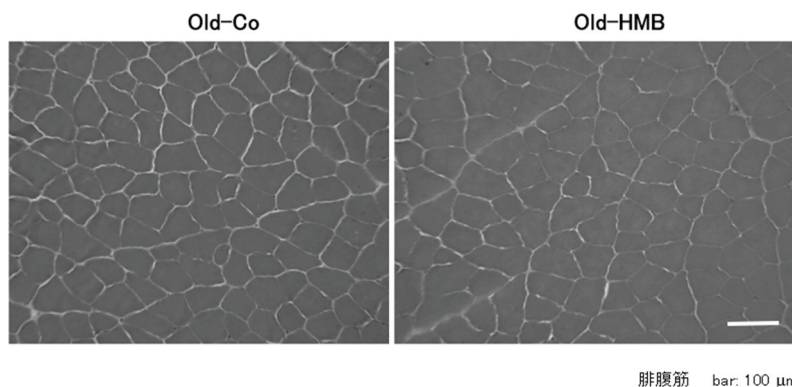


図 1 各群の下腿三頭筋 H&E 染色像

(3) 筋線維横断面積分布率は、Old-Co 群と Old-HMB 群での差は明らかではなかった。横断面積のピークは Old-Co 群と Old-HMB 群ともに、2001 ~ 3000 μm^2 であり、HMB による筋肥大は認められなかった (図 2)。

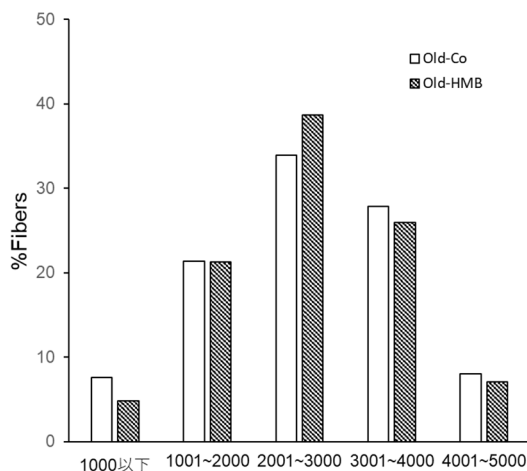


図 2 下腿三頭筋の筋線維横断面積分布率

(4) 脳の BDNF 発現量は、Old-Co 群と Old-HMB 群を比較すると、Old-Co 群と Old-HMB 群で有意な差は認められなかった。一方で、Young 群と Old 群の間では、Young 群よりも Old 群で有意に低値を示した($p < 0.05$) (図 3)。

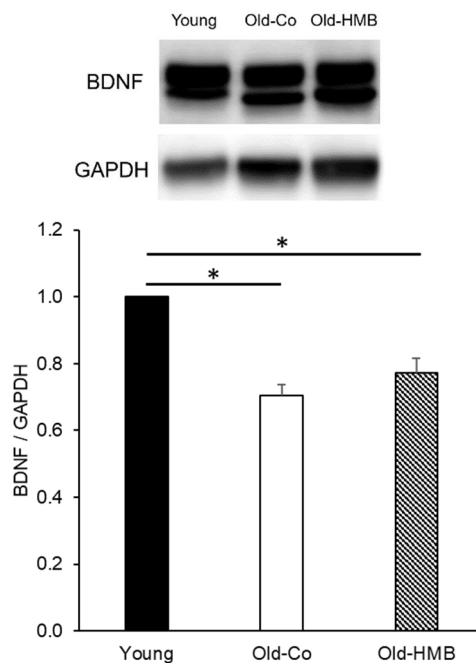


図 3 各群の脳 BDNF 発現量の比較

(5) 骨格筋の BDNF 発現量は、Old-Co 群と Old-HMB 群を比較すると、Old-Co 群と Old-HMB 群で有意な差は認められなかった。一方で、Young 群と Old 群の間では、Young 群よりも Old 群で低値を示した(図 4)。

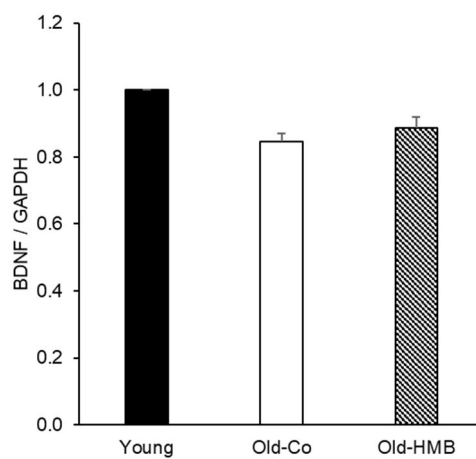


図 4 各群の骨格筋 BDNF 発現量の比較

(6) 成果の位置づけとインパクト、今後の展望

本研究課題の結果をまとめると

HMB の摂取によって、体重や骨格筋、脳の重量に影響を及ぼさなかった。また、筋線維横断面積分分布率においても変化は認められなかった。

脳および骨格筋の BDNF は、HMB の摂取によって発現量に差は認められなかった。一方で、若年マウスよりも老齢マウスで BDNF の発現量が減少していることが明らかとなった。

脳の BDNF の結果については、雑誌論文に発表した(5. 主な発表論文等参照)。

本研究課題では、HMB の摂取が BDNF に影響を及ぼさなかった。HMB を摂取させた研究はいくつか報告があるが、摂取条件は様々である。今回の摂取条件では効果を示さなかったため、摂取条件を検討する余地があると考え。また、HMB は運動介入を併用することで筋機能改善を促進する報告があることから、運動を併用した条件も設ける必要性があると考え。

今後 HMB の摂取方法や運動との併用など、脳の BDNF への効果についてさらなる検討をすることにより、臨床に繋がる知見を与えることを目指したい。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 相原正博, 三樹あずさ, 斉藤史明, 萩原宏毅	4. 巻 3(2)
2. 論文標題 廃用性筋萎縮の病態と運動介入が脳由来神経栄養因子BDNFに及ぼす影響の検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 国際エクササイズサイエンス学会誌	6. 最初と最後の頁 7-7
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 相原正博, 三樹あずさ, 萩原宏毅	4. 巻 1
2. 論文標題 機能性食品HMB摂取が老齢マウスの脳由来神経栄養因子BDNFに与える影響	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 理学療法やまなし	6. 最初と最後の頁 14,20
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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 相原正博, 三樹あずさ, 斉藤史明, 萩原宏毅
2. 発表標題 廃用性筋萎縮に対する運動療法のバイオマーカーの検討 - 脳由来神経栄養因子BDNFに着目して -
3. 学会等名 第7回日本サルコペニア・フレイル学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 相原正博, 三樹あずさ, 斉藤史明, 萩原宏毅
2. 発表標題 廃用性筋萎縮および運動介入が脳, 血中, 骨格筋の脳由来神経栄養因子BDNFに及ぼす影響の基礎的検討
3. 学会等名 第25回日本基礎理学療法学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 相原正博, 三樹あずさ, 斉藤史明, 萩原宏毅
2. 発表標題 廃用性筋萎縮に対する運動介入が血中および骨格筋中の脳由来神経栄養因子BDNFに与える影響の検討
3. 学会等名 第 6回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 相原正博, 三樹あずさ, 河口日香瑠, 萩原宏毅
2. 発表標題 機能性食品が老齢マウスの脳および骨格筋に与える影響-脳由来栄養因子BDNFに着目して-
3. 学会等名 第133回理学療法科学学会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔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