

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 8 日現在

機関番号：34315

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21700687

研究課題名（和文） 腸管機能低下が骨格筋の炎症と再生過程に及ぼす影響

研究課題名（英文） Intestinal tract dysfunction and skeletal muscle regeneration mechanism

研究代表者

松生 香里（MATSUO KAORI）

立命館大学・スポーツ健康科学部・助教

研究者番号：60513570

研究成果の概要（和文）：

本研究では骨格筋の修復過程に対する腸内細菌の役割を調べ、腸管機能を維持するプロバイオティクス摂取によって損傷骨格筋の修復・再生過程が改善されるかどうかを調べた。その結果、腸内細菌は骨格筋の再生に寄与していること、また、老化マウスではプロバイオティクス摂取により損傷骨格筋の再生過程に改善がみられた。これらのことから、腸管機能の低下と骨格筋の再生過程の関連性、プロバイオティクスが骨格筋の修復に有効であることが示唆された。アスリートのコンディショニングや高齢者の運動処方に役立つ情報として現場への還元を期待している。

研究成果の概要（英文）：

To investigate the contribution of commensal bacteria to the recovery of damaged skeletal muscle. It was examined whether probiotics administration may facilitate recovery of skeletal muscle tissue from damage in older animals in which muscle regeneration is compromised. These results suggest that components of commensal bacterial such as LPS favor the recovery of skeletal muscle from muscle damage. Moreover, probiotics favor the recovery of skeletal muscle from muscle damage in older adult mouse.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学 ・ 応用健康科学

キーワード：スポーツ免疫学

1. 研究開始当初の背景

身体運動と内部臓器との相互作用を明らかにすることは、競技能力の向上に役立つに留まらず、運動による健康増進にも大きく貢献する。特に近年、重要視されてきているのが、オーバートレーニングと腸管機能との密接な関連である。高強度の運動やトレーニングは、付随する精神的ストレスとあいまって、消化器系の機能障害を引き起こす。その例としては、長距離・マラソンランナーが過度のトレーニングにより腸管出血や下痢をきたしたという報告や、フルマラソンレース後、16%のランナーに過敏性腸症候群様の症状がみられた報告など、枚挙に暇がない。これは消化管血流の低下や自律神経系・免疫系の失調によるものと考えられている。

一方で、スポーツ現場のみならず、高齢者のサルコペニアの原因が、消化器系機能の低下によって骨格筋の萎縮を招いている可能性も考えられる。実際、スポーツ選手においても、トレーニング時や試合前に食欲減退をおこした際には良い成績をおさめられないことが多い。従来、これは消化吸收障害による栄養不足が原因と考えられてきた。

ところが、消化器系に異常をきたした選手は、たとえ通常量の食事を摂取できても競技能力は低下する場合が多い。このことは腸管機能の抑制や低下が直接骨格筋機能を制御している可能性を示唆する。

申請者は先行研究において、ストレス時に腸管機能が抑制されるメカニズムの一部を解明してきた。急性のストレス時に増加したストレスホルモン（コルチゾール）が腸管上皮の密着結合を緩くすることにより、腸内細菌の菌体成分（LPS）が平滑筋層に働きかけ、腸管の蠕動を調節することから、消化管機能の低下が、単に吸収障害を介して骨格筋機能や適応の抑制をするだけでなく、それ自体が骨格筋の機能や発達を制御している可能性を考えた。このことから、トレーニング時の身体的・精神的ストレスは、腸管機能の抑制を介して骨格筋の機能や適応を阻害するという仮説を立てた。

2. 研究の目的

アスリートのオーバートレーニングと腸管機能の低下には密接な関連があるものの、腸管機能の低下が骨格筋へ及ぶ影響に関しては、未だ明らかにされていない。

また一方で、高齢者の廃用性筋萎縮（サルコペニア）は老化による筋肉の萎縮と考えられており、サルコペニアの防止索として、筋力トレーニングなど、運動がすすめられている。しかしながら、サルコペニアの原因が単に骨格筋の萎縮だけではない可能性について注目した。

そこで、(1) 腸管機能の低下は筋の損傷回復を遅延させるという仮説を立証すること（平成 21, 22 年度研究計画）また、(2) 高齢者のサルコペニアの原因が、老化による消化器系機能低下に関連している可能性を調べることを目的とした（平成 22 年度研究計画）。さらに、(3) 腸管機能と骨格筋修復機能に関与する因子の同定を試みた（平成 23 年度研究計画）。

3. 研究の方法

実験動物は C57BL/6J の雄マウスを用いた。10~12 週齢 16 匹、8~11 週齢 84 匹（若齢マウス）および 45~55 週齢 84 匹（老化マウス）を用いた。マウスは東北大学動物実験施設および立命館大学の動物飼育ガイドラインに沿って、1 つのケージにマウスを 6 匹ずつ、12 時間、明暗サイクルの環境下で飼育された。全ての実験は、東北大学医学部および、立命館大学における倫理委員会の承認を得て行われた（承認番号：19 医施 -1、BKC2009-27）。

(1) 腸管機能の低下は筋の損傷回復を遅延させるという仮説を立証するため、若齢マウスに抗生剤を摂取させ、腸管機能の維持に必要な腸内細菌を除去した。その後、骨格筋を損傷させる薬剤であるカルディオトキシンをマウスの腓腹筋に注射し、筋損傷を惹起させた。筋損傷後の修復過程（損傷 3 日、5 日、7 日、10 日、14 日、20 日）を調べ、マウスの体重および損傷脚とコントロール脚の修復過程を比較した。コントロールには、水摂取のマウスを用い比較した。

(2) 高齢者のサルコペニアの原因が、老化による消化器系機能低下に関連している可能性を調べるため、老化マウスの腓腹筋に骨格筋を損傷させる薬剤であるカルディオトキシンを注射し、筋損傷後の修復過程（損傷 3 日、5 日、7 日、10 日、14 日、20 日）の体重および損傷脚とコントロール脚の重量を測定した。また、免疫組織化学染色法にて修復過程を調べた。

コントロールには若齢マウスを用い、老化マウスおよび若齢マウスに腸管機能の恒常性を維持するプロバイオティクス（乳酸菌）を摂取させる群を作成し、筋損傷を惹起させ、その後の骨格筋修復・再生過程を調べた。また、骨格筋の修復・再生に関わる栄養の状態を調べるため、門脈から採血し、血清アルブミン濃度を調べた。

4. 研究成果

(1) 腸管機能を低下させるため、腸内細菌を除去し、筋損傷を惹起したマウスは損傷脚の筋重量の修復遅延、および骨格筋の修復・再生遅延が観察された(図1、図2)。このことから、腸内細菌は腸管機能の維持のみならず骨格筋の修復・再生過程にも重要であることが示唆された。本研究結果は、これまで着眼点が薄かった骨格筋修復・再生機構に腸管機能が関与することを示した極めて新規性高い成果である。

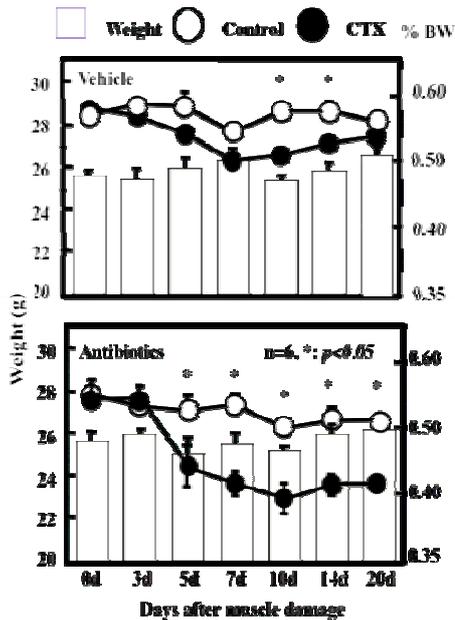
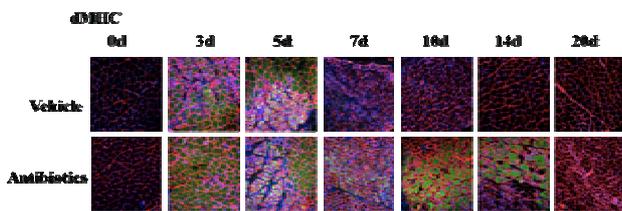


図1. 腸内細菌除去マウスの筋損傷後の体重および損傷筋重量変化



αMHC; green, Laminin; red, Topro-3; blue, (×200)

図2. 免疫組織化学染色を用いた乳酸菌除去マウスの損傷筋の修復過程

(2) 老化マウスおよび若齢マウスに腸管機能の恒常性を維持するプロバイオティクス(乳酸菌)を摂取させ、筋損傷後の骨格筋修復・再生過程を調べた。若齢マウスでは筋損傷後の回復過程に改善はみられなかったが、老化マウスでは乳酸菌摂取によって、筋修復過程遅延の改善が観察された(図3、図4)。このことから、老化による腸管機能の低下など、腸管機能の恒常性が壊れた場合、乳酸菌の摂取によって改善効果がみられる可能性が示された。この結果は高齢者のサルコペニアの原因が不活動にともなう骨格筋機能の低下だけでなく、消化器系失調との関連も示唆する可能性が考えられる。今後の超高齢化によって社会への大きな研究課題である。

一方で、門脈採血の血清アルブミン濃度には変化は見られなかったが、他の腸管から発現する骨格筋修復に関与する因子について検討している。

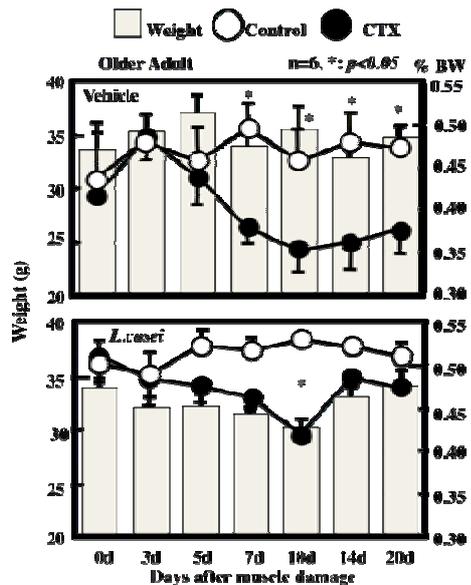
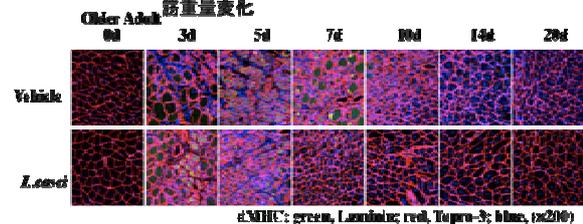


図3. 老化マウスの筋損傷後の体重および損傷筋重量変化



αMHC; green, Laminin; red, Topro-3; blue, (×200)

図4. 免疫組織化学染色を用いた老化マウスの損傷筋の修復過程

本研究では骨格筋の修復過程に対する腸内細菌の役割を調べ、腸管機能を維持するプロバイオティクス摂取によって損傷骨格筋の修復・再生過程が改善されるかどうかを調べた。その結果、腸内細菌は骨格筋の再生に寄与していること、また、老化マウスではプロバイオティクス摂取により損傷骨格筋の再生過程に改善がみられた。

本研究で得られた結果から、腸管機能の低下と骨格筋の再生過程の関連性、プロバイオティクスが骨格筋の修復に有効であることが示唆された。将来、アスリートのコンディショニングや高齢者の運動処方に役立つ情報として現場への還元を期待している。

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 5 件)

I. Kaneko, K. Suzuki, K. Matsuo, H. Kumagai, Y. Owada, N. Noguchi, T. Hishinuma, M. Ono., Cysteinyl leukotrienes enhance the degranulation of bone marrow-derived mast cells through the autocrine mechanism., *Tohoku J. Exp. Med.* Tohoku University. (査読有) 2009, 3(217):pp185-191.

Ekatherina A. Litvinova., Mikhail P. Moshikin., Ludmila A., Gerlinskaya, R. Nagatomi., X. Zhang., K. Matsuo., S. Shikano., Female scent mobilizes leukocytes to airways in BALB/c male mice., *Integrative Zoology*. (査読有) 2009, 4: 285-293.

K. Matsuo, R. Nagatomi, Immunological parameters as a measure for physical condition of athletes -Alterations in circulating neutrophils and lymphocytes of long distance runners-, *Sysmex Journal Web*. (査読有) 2009, Vol.10. No.2. pp1-8.

K. Matsuo, X. Zhang, Y. Ono, R. Nagatomi, Acute stress-induced colonic tissue HSP70 expression requires commensal bacterial components and intrinsic glucocorticoid., *Brain, Behavior, and Immunity*. (査読有) 2009, Vol.23. 108-115.

K. Matsuo, M. Kubota, H. Sasaki, J. Toyooka, R. Nagatomi., The association of the blood lymphocytes to neutrophils ratio with overtraining in endurance athletes., *Int. Association of Athletics*. (査読有) 2009, 23-29.

〔学会発表〕(計 8 件)

松生香里, 街勝憲、劉辛、田畑泉、高強度間欠的水泳トレーニングにおける大腸がん予防効果. 第 66 回日本体力医学会大会. 2011 年 9 月 18 日. 海峡メッセ 下関 (山口県)

K. Matsuo, M. Fujita, I. Tabata, R. Nagatomi., Ingestion of *Lactobacillus casei* contribute regeneration of skeletal muscle in older adult mouse. 10th International Society of Exercise and Immunology., 2011年7月13日. オックスフォード(イギリス)

K. Matsuo, K. Tsuji, X. Liu, I. Tabata, High-intensity intermittent swimming training reduces DMH-induced aberrant crypt foci in rat colon., *European College of Sport Science*. 2011 年 7 月 9 日. リバプール(イギリス)

松生香里, 久保田眞由美、佐々木弘志、永富良一. 末梢血リンパ球・好中球比率を指標とした選手のコンディショニング - 女子中長距離選手の例 -. 第 23 回日本トレーニング科学会. ポスター発表. 2010 年 12 月 19 日. 福岡大学(福岡県)

松生香里, 藤田基生、田畑泉、永富良一. 骨格筋の損傷・再生過程におけるプロバイオティクス (*Lactobacillus casei*) 摂取の効果. 第 65 回日本体力医学会大会. 口頭発表. 2010 年 9 月 17 日. 千葉商科大学 (千葉県)

K. Matsuo, M. Fujita, R. Nagatomi., Commensal bacteria are required for the regeneration of damaged skeletal muscle. *Experimental Biology* 2010. ポスター発表. 2010 年 4 月 26 日. アナハイム (アメリカ)

松生香里, 藤田基生、永富良一. 骨格筋

の損傷・再生過程における腸内細菌の重要性について．日本体力医学会．2009年9月18日．朱鷺メッセ（新潟）

K. Matsuo, Z. Xiumin, Y. Ono, R. Nagatomi., Elimination of commensal bacteria delays the recovery of damaged skeletal muscle. International Society of Exercise and Immunology . 2009年9月21日．テュービンゲン（ドイツ）

〔図書〕(計 1 件)

宮村実晴（第15章：運動と免疫．「粘膜上皮における感染防御」松生香里担当）出版社名：真興交易出版株式会社、発行年：2010、総ページ数：462

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松生 香里 (MATSUO KAORI)
立命館大学・スポーツ健康科学部・助教
研究者番号：60513570