

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560377

研究課題名(和文)腸管機能低下(老化)が骨格筋萎縮・肥大機構に及ぼす影響

研究課題名(英文)The influence of lowered intestinal function on mechanism of skeletal muscle atrophy and hypertrophy

研究代表者

松生 香里(Matsuo, Kaori)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：60513570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：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。特に近年では、高齢者のサルコペニア(筋萎縮)が注目され、骨格筋の萎縮とトレーニングによる筋肥大に焦点を当てた研究報告は数多い。本研究では、サルコペニアの原因が、単に骨格筋の萎縮だけではなく、加齢に伴う腸管機能の低下が原因である可能性に着目して、若齢マウスと加齢マウスを用いて骨格筋萎縮と腸管機能の関連を調べた。その結果、腸内環境を維持するプロバイオティクスを摂取した際には、ギプス固定で筋不活動状態(骨格筋萎縮誘導)の後、筋の肥大過程が改善されることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Although there is a close relationship between exercise and internal organs, the influence aged or lowered gastrointestinal tract function has on skeletal muscle is not yet clear. Especially, recent study disuse muscle atrophy in the elderly is considered to be muscle atrophy due to aging, so exercises such as muscle training are promoted as a way to prevent sarcopenia. However, attention has been paid to the possibility that the cause of sarcopenia is not just mere skeletal muscle atrophy. Hence, the purpose of this study is (1) to prove the hypothesis that lowered gastrointestinal tract function delays the recovery from muscle atrophy, and (2) to investigate the possibility that the cause of sarcopenia in the elderly is related to lowered digestive function due to aging. These results suggested that after inactivity state by cast fixation (induction of muscle atrophy) that the process of muscle hypertrophy was improved when intake of the probiotics by which maintained gut function.

研究分野：運動免疫学

キーワード：サルコペニア 腸管機能 骨格筋萎縮・肥大

## 1. 研究開始当初の背景

身体活動・運動と内部臓器との相互作用を明らかにすることは、競技能力向上に役立つに留まらず、健康増進に大きく貢献することは周知である。しかしながら、腸管・消化器系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。

先行研究において、高強度の運動やトレーニングが、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し、選手の競技能力が低下するケースが多いことから、動物実験において、筋損傷からの回復過程には腸管機能の恒常性維持が重要であることを報告してきた(Matsuoら先行研究)。

一方で、近年では骨格筋が萎縮する高齢者のサルコペニア予防を目的とした運動処方がさかんに取り入れられており、骨格筋萎縮・筋肥大のみに焦点を当てた報告は数多い。ところが、前述した先行研究の結果を踏まえて、栄養の摂取状況が骨格筋肥大に関連することから、高齢者のサルコペニアの原因が、単に骨格筋が萎縮するだけではなく、腸管機能・消化器系機能の老化に伴う骨格筋萎縮を招いている可能性に注目した。実際に、生活活動に必要である歩行でさえも困難な虚弱高齢者は、食事摂取量が少なく、骨格筋量や筋機能も低下するケースが多く「健康寿命」の短縮とも関連していることが考えられる(安藤ら)。このことから、骨格筋量や筋機能の低下は、消化吸收機能低下(老化)による栄養不足から起こっている可能性を考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、サルコペニアの原因が腸管機能・消化管機能の老化であることに端を発し、栄養吸収状態が低下し、骨格筋における蛋白代謝および筋肥大過程の阻害・筋萎縮を招いていることを作業仮説として、骨格筋と腸管機能の関連メカニズムを明らかにすることを目的とした。

そこで、(1)骨格筋の萎縮が腸管機能を介しているという仮説を立証するためのモデル作成として、ギプス固定による筋萎縮誘導の確認(平成25,26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メカニズム解明を目的とした(平成26,27年度研究計画)。

## 3. 研究の方法

### (1)実験動物

実験動物はC57BL/6Jの雄マウスを用いた。若齢マウスとして8~11週齢、加齢マウスとして45~55週齢を用いた。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、東北大学医学部における倫理委員会の承認を得て行われた(承認番号:2013-医工動022)。

### (2)筋萎縮誘導

若齢マウスおよび加齢マウスの腓腹筋に、ギプス固定における筋萎縮誘導の確認実験を実施した。専用テープ(スコッチキャストプラス・スリーエムヘルスケア製造株式会社)を用いて14日間のギプス固定を施した。筋萎縮誘導後、ギプスを解放し、筋萎縮が誘導されているかどうかを、筋重量および、免疫組織化学染色後、顕微鏡観察にて筋線維周囲径を測定した。

### (3)麻酔薬

マウスの組織採取のための解剖に、セボフルラン吸入麻酔薬を使用し、血液採取の後、安楽死させ、腓腹筋を摘出した。

### (4)プロバイオティクス(*L. casei* シロタ株菌体)投与

*L. casei* シロタ株菌体の生理食塩水懸濁液を用いた。乳酸菌が筋萎縮誘導後のマウスの筋肥大に与える影響を検討した。*L. casei* シロタ株菌体は、若齢マウス、加齢マウスに $10^8$ 個/日、0.2mlの生理食塩水に懸濁し経口投与した。マウスへの投与期間は、筋損傷の7日前から筋損傷後20日後まで毎日行った。コントロールの若齢マウス、加齢マウスには0.2mlの生理食塩水を毎日、経口投与した。各々の実験において、動物を2群に分け、*L. casei* シロタ株を経口投与する*L. casei* シロタ株菌体群、および生理食塩水を投与するVehicle群とした。

### 実験1-1)ギプス固定による筋萎縮誘導の確認

若齢マウスの腓腹筋に、14日間の筋萎縮誘導後、ギプスを解放後の骨格筋の萎縮状態を調べた。

### 実験1-2)筋萎縮後の筋肥大過程の比較

若齢マウスおよび加齢マウスの腓腹筋に、実験1と同様に、14日間の筋萎縮誘導後、ギプスを解放後の骨格筋の肥大過程を調べた。筋肥大過程は、腓腹筋重量を測定し、片脚は筋萎縮を誘導しないコントロール脚として用いた。

14日間のギプス固定において、1)誘発した骨格筋萎縮と同時に、プロバイオティクス投与とコントロール群との間で比較し、2)組織学的分析には筋肥大の状態を調べるため筋線維の周囲径を計測した。

### 実験2)血液生化学検査による比較

若齢マウスと加齢マウスの、筋萎縮誘導後の筋肥大過程における腸管から全身に渡る栄養状態を門脈より採血した、血中のアルブミン、IGF-1および、骨格筋調節因子(フォリスタチン)を間接的に分析し、若齢マウスと加齢マウスの差異を比較した。

#### 4. 研究成果

(1) 若齢マウスにおいて、14日間のギプス固定を施し、骨格筋萎縮の状態を確認した(図1)。その結果、筋重量に有意差がみられ、筋萎縮が十分な誘導がみられ実験モデルとして用いた。

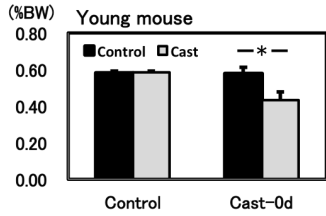


図1. ギプス固定後の筋萎縮誘導

筋萎縮誘導が確認できたことから、次に、若齢マウスと加齢マウスにおいて、筋萎縮後の筋肥大過程の腓腹筋重量を比較した(図2)。筋萎縮後の肥大過程は、加齢マウスの7日後、10日後において、有意に肥大過程の遅延が観察された。

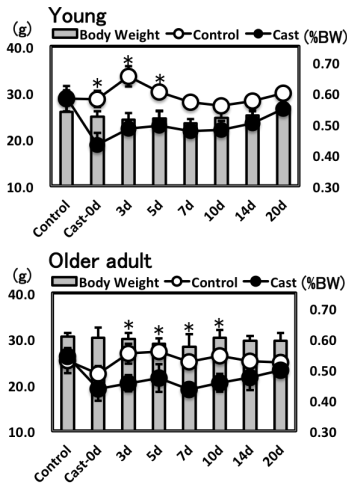


図2. 筋萎縮誘導・ギプス固定解放後の腓腹筋重量の変化(上図:若齢マウス、下図:加齢マウス)  
\*はControl脚とCast脚(ギプス固定)の有意差(p<0.05)を示す。

(2) 若齢マウスおよび加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を摂取させ、腓腹筋萎縮後、ギプス固定を解放した後の筋肥大過程を調べた(図3、図4)。

若齢マウスでは、プロバイオティクス摂取における筋萎縮後の回復に改善が見られた。一方で、加齢マウスではプロバイオティクス摂取による筋肥大過程は、若齢マウスと比較すると、遅い改善効果であるものの、20日後には、コントロール脚とほぼ同じ重量に改善した。

この結果から、腸内環境を維持することによって、筋肥大の遅延を改善できる可能シエが示唆された。一方で、本研究においては、加齢にともなう行動制御が関連する可能性も考えられ、今後は、行動観察を含めた視点で研究を進める必要性が示唆される。

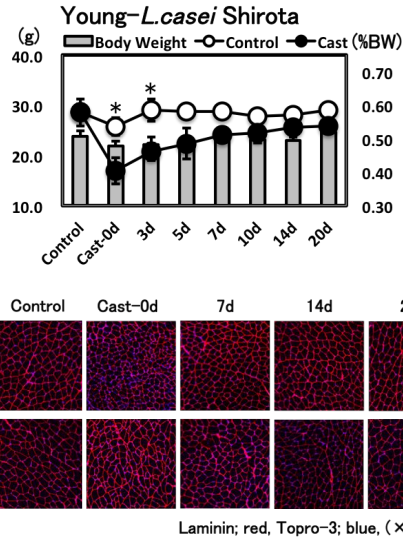


図3. 若齢マウスのプロバイオティクス摂取における筋萎縮誘導、ギプス固定解放後の腓腹筋重量および筋線維の変化(上図:腓腹筋重量、下図:免疫組織化学染色)  
\*はControl脚とCast脚(ギプス固定)の有意差(p<0.05)を示す。

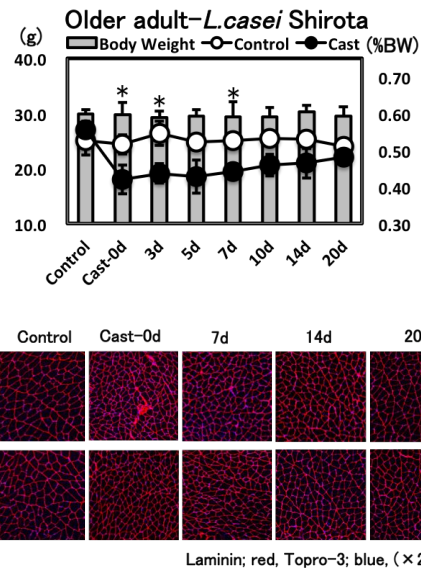


図4. 加齢マウスのプロバイオティクス摂取における筋萎縮誘導、ギプス固定解放後の腓腹筋重量および筋線維の変化(上図:腓腹筋重量、下図:免疫組織化学染色)  
\*はControl脚とCast脚(ギプス固定)の有意差(p<0.05)を示す。

一方で、門脈採血の血清アルブミン濃度、骨格筋調節因子(フォリストアチン)においては、若齢マウスと加齢マウスにおける差異は認められなかった。腸管から分泌される他の骨格筋肥大関連因子についても検討が必要である。

本研究の結果から、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否めないことが考えられた。

本研究結果は、サルコペニアの原因が、こ

れまで着眼点が薄かった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。今回の研究成果では、明確なメカニズム解明には至らなかったものの、将来的に超高齢化に向かう社会への大きな課題として、「腸内環境と骨格筋」の関係の重要性を示す研究成果である。

さらに、本研究で得られた結果から、腸管機能の老化とサルコペニアが関連する可能性のみならず、若齢マウスの実験結果から、スポーツその他における障害によって、歩行困難などの筋萎縮から筋肥大の過程において、プロバイオティクス摂取等の処方が有効活用できる可能性が示唆された。

今後の展望として、腸管機能維持が筋萎縮の予防と関連している可能性についてメカニズム解明の検討を加え、腸管機能維持の仕組みを理解できる基礎的な資料として活用したい。また、将来的には、高齢者の健康維持・増進の現場、生活習慣病の予防など、高齢者の運動処方現場への還元、また、スポーツ活動等によるケガ等が原因で、筋萎縮状態に陥った場合を想定し、筋萎縮後の治療にも役立つ情報・基礎資料として現場のアスリートや指導者への還元を目標としている。

#### <引用文献>

Matsuo, K., Zhang, X., Ono, Y., Nagatomi, R.: Acute stress-induced colonic tissue HSP70 expression requires commensal bacterial components and intrinsic glucocorticoid. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2009.

安藤貴志, 岸本裕歩, 榑崎兼司, 吉村栄一, 辻大士, 大久保善郎, 畑本陽一, 松生香里. 日本人の「カロリー制限」を考える. *臨床栄養*. 第1巻. 2014. 2-7.

#### 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)

Yamaya M, Shimotai Y, Hatachi Y, Lusamba KN, Tando Y, Kitajima Y, Matsuo K, Kubo H, Nagatomi R, Hongo S, Homma M, Nishimura H. The serine protease inhibitor camostat inhibits influenza virus replication and cytokine production in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Pulm Pharmacol Ther*. Vol.33, 2015, 66-74. DOI:10.1016/j.pupt.2015.07.001. 査読有.

松生香里, 岡崎和伸, 杉田正明. 長距離・マラソン選手の腸内環境とコンディションの関連. 意識調査と外環境の変化に伴う影響について. *陸上競技研*

究紀要. 10 巻. 2015. 140-145. 査読無.

岡崎和伸, 松生香里, 瀧澤一騎, 三浦康二, 杉田正明, 今村文男, 宗猛, 酒井勝充. 長距離および競歩選手における汗中の電解質濃度の分析. *陸上競技研究紀要*. 10 巻. 2015. 146-149. 査読無.

杉田正明, 瀧澤一騎, 岡崎和伸, 松生香里, 山口太一, 広川龍太郎, 須永美歌子, 武富豊, 宗猛, 酒井勝充. 北海道マラソンにおける調査について. 10 巻. 2015. 150-158. 査読無.

安藤貴志, 岸本裕歩, 榑崎兼司, 吉村栄一, 辻大士, 大久保善郎, 畑本陽一, 松生香里. 日本人の「カロリー制限」を考える. *臨床栄養*. 第1巻. 2014. 2-7. 査読有.

#### [学会発表](計 12 件)

松生香里, 高尾憲司, 後藤一成, 杉田正明, 福土審. 長距離選手の腸内環境変化とコンディションの関連 フルグラ摂取効果におけるケースレポート. 第28回ランニング学会. 2016年3月13日. 環太平洋大学・岡山.

松生香里. 大学体育における授業目標と成績評価の創意工夫 ~私立大学での授業実践例~ 私立大学における体育実技指導プログラムと成績評価. 2016年2月16日. 東北大学・宮城.

松生香里. アスリートの恒常性維持機構と腸管コンディションの関連性. 第21回スポーツ栄養学セミナー. 2015年11月22日. 東京農業大学・東京.

松生香里. 運動・ストレスにおける腸管防御機構と骨格筋修復・肥大に関する研究 腸内細菌の役割に着目して. 第10回日本運動免疫学研究会・第32回筋肉の会ジョイントミーティング. 2015年9月18日. コンベンションセンター・和歌山.

松生香里. アスリートの腸内環境と心身のコンディションの関連 ~フルグラ摂取の効果についての一考察~. 第2回日本スポーツ栄養学会. 2015年7月4日. 立命館大学・滋賀.

松生香里. 腸と骨格筋のダイナミズム. 精神的ストレスにおける腸管機能低下が骨格筋に及ぼす影響について. 第69回日本体力医学会. ワークショップ. 2014年9月19日. 長崎大学. 長崎.

Matsuo K, Fujita M, Nagatomi R. Commensal bacteria are required for the regeneration of damaged skeletal muscle. International Union of Microbiological Societies 2014. 2014年8月1日. Montrial Convention Center, Montrial, Canada.

Matsuo K, Tabata I, Nagatomi R. Acute stress-induced colonic tissue HSP70 expression depends on intestinal motility. 第22回日本運動生理学会. 2014年7月19日. 川崎医療福祉大学・岡山.

松生香里, 田畑泉, 永富良一. 慢性的ストレス下における乳酸菌摂取が骨格筋の損傷・再生過程におよぼす効果. 第68回日本体力医学会大会. 2013年9月22日. 日本教育会館学術総合センター. 東京.

松生香里. 運動・ストレスが腸管炎症・機能低下と骨格筋修復過程に及ぼす影響. 第68回日本体力医学会大会. ワークショップ7. 2013年9月22日. 日本会館学術総合センター. 東京.

Matsuo K, Tabata I, Nagatomi R. Contribution of lactobacillus casei to the recovery from chemically induced skeletal muscle damage under chronic stress. 11<sup>th</sup> International Society of Exercise and Immunology Symposium. 2013年9月11日. Newcastle Town Hall, Newcastle, AUS.

松生香里, 陰田朋世, 栗原俊之, 後藤一成. 陸上競技中長距離選手におけるコンディションと腸内環境の関連. 日本体育学会第64回大会. 2013年8月29日. 立命館大学びわこくさつキャンパス. 滋賀県.

〔図書〕(計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松生香里 (MATSUO, Kaori)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号: 60513570