

タンパク質分解促進によるサルコペニア予防法の開発

滋賀県立大学 人間文化学部 生活栄養学科
東田 一彦

1. 研究の目的と背景

加齢に伴う骨格筋量および筋力の低下(=サルコペニア)は、高齢期の QOL を著しく低下させる。そのため、超高齢社会である本邦において、サルコペニア予防は喫緊の課題である。骨格筋量は筋タンパク質の合成と分解により制御されている。サルコペニア予防に有効な手段として、筋タンパク質合成を高めるタンパク質の摂取やアミノ酸サプリメントなどが推奨されている。実際、多くの臨床研究がタンパク質の摂取量やタンパク質の種類などに着目して実施されている。一方、骨格筋特異的なオートファジー不全により筋タンパク質分解を抑制したマウスでは、野生型と比較して骨格筋量が顕著に低下したことが報告されている¹。また、オートファジーによる筋タンパク質分解は加齢により低下することも明らかにされている²。これらの結果から、近年ではタンパク質合成だけでなく、タンパク質分解の維持も骨格筋量を保つために重要な役割を担っていると考えられている。したがって、食事によるサルコペニア予防を考える場合には、筋タンパク質合成を高めるだけでなく、正常なタンパク質分解能を維持する、もしくはタンパク質分解を刺激する食事介入方法の開発が必要となる。筋タンパク質分解は絶食やタンパク質摂取量が少ない場合に亢進する。そこで本研究では、計画的に筋タンパク質分解を促すことを目的とした、間欠的低タンパク質食の摂取が、高齢期における骨格筋量および筋力に及ぼす影響を検討した。

2. 研究の方法

2-1. 実験動物

本研究では、19ヶ月齢の C57BL/6 雄性マウスを用いた(日本クレア株式会社)。マウスは床敷を敷いたプラスチック製のケージに一匹ずつ飼育した。1週間の予備飼育期間終了時、マウスをランダムに普通食(CON)群と間欠的低タンパク質制限食(IPR)群の2群に分けた。CON群には、5ヶ月間コントロール食を与えた。IPR群には、1週間のうち1日目にタンパク質制限食を、2日目に高タンパク質食を、残りの3~7日目にCON食を与えることで両群での1週間のタンパク質摂取量が同量になるように設定した。この1週間のサイクルを5ヶ月間行った。食餌組成は図1に示した。全ての食餌のエネルギーは4 kcal/gであった。5ヶ月齢の雄性 C57BL/6 マウスを若

齢(Y)群として用いた。飼育期間中、すべてのマウスは食餌と飲料水を自由摂取させた。5ヶ月間の飼育期間終了後、解剖を行った。前脛骨筋、下腿三頭筋、肝臓、腎臓、膵臓、膵臓、副睾丸周囲脂肪を採取し、重量を測定した。

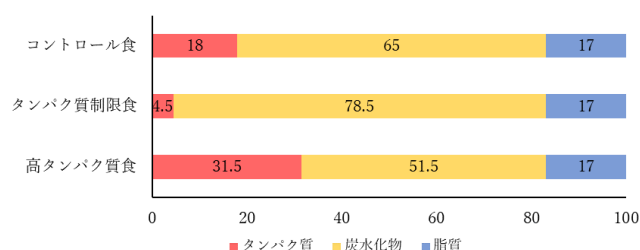


図1. 食餌組成 (数値はエネルギー比)

2-2. 身体機能評価

(1) ロータロッド試験

回転速度は4 rpmから始め、1分経過毎に8 rpmずつ増加させた。馴化のための運動を本試験の前日に行った。本試験では、5分間の休息をはさみ2回計測を行った。

(2) 前肢腕力試験

グリップにマウスの前肢を掴ませ、尻尾を手で下方に引っ張り、マウスがグリップを離すまでに加わった最大筋力を測定した。5分間の休息をはさみ2回測定を行った。

2-3. 組織染色

前脛骨筋の凍結切片を作成し、ヘマトキシリン-エオジン染色(HE染色)を行った。顕微鏡を用いて撮影を行い、骨格筋横断面積の大きさを測定した。また、中心核をもつ筋細胞の割合を測定した。

3. 結果・考察

3-1. 体組成

5ヶ月間の飼育期間終了後の体重、前脛骨筋、下腿三頭筋、副睾丸周囲脂肪、肝臓の重量はY群に比べてCON群とIPR群において有意に低値を示した。一方、腎臓、膵臓重量には3群間で有意な差は見られなかった。(表1)

表 1. 間欠的な低タンパク質食摂取が体組成に及ぼす影響

	Y群	CON群	IPR群
前脛骨筋(mg/g体重)	1.86±0.07	1.26±0.21**	1.33±0.12**
下腿三頭筋(mg/g体重)	5.74±0.25	4.47±0.42**	4.25±0.46**
副睾丸周囲脂肪(g/100g体重)	1.06±0.17	3.80±1.10**	4.51±1.02**
肝臓(g/100g体重)	4.24±0.14	3.89±0.16*	3.71±0.28**
腎臓(g/100g体重)	0.59±0.02	0.57±0.13	0.53±0.05
脾臓(g/100g体重)	0.81±0.12	0.91±0.17	0.98±0.13

平均値±標準誤差.

* p<0.05, ** p<0.01 vs Y群.

3-2. 身体機能

ロータロッド試験での落下までの時間は、Y群と比較してCON群、IPR群は短かった。しかしながら、CON群とIPR群には差は認められなかった(図2a)。

前肢筋力は、Y群と比較してCON群、IPR群は低値であった。しかしながら、CON群とIPR群には差は認められなかった(図2b)。以上の結果から、高齢期における間欠的なタンパク質制限食の摂取は、骨格筋機能の改善を引き起こさない可能性が示された。

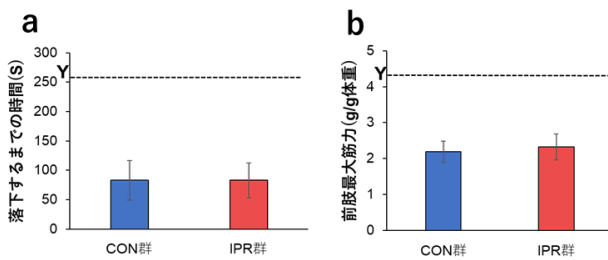


図 2. 間欠的な低タンパク質食摂取がロータロッド試験 (a) と前肢筋力 (b) に及ぼす影響。

平均値±標準誤差。Y群の値を点線で示した。

3-3. 中心核をもつ筋細胞の割合

筋細胞の再生過程では、通常では周辺に局在する核が、細胞の中心に観察される。そのため、筋細胞の再生の指標として中心核数を計測した。中心核をもつ筋細胞の割合は、Y群と比較してCON群およびIPR群で有意に高かった(図3)。さらに、CON群と比較してIPR群では有意に低値を示した。したがって、間欠的なタンパク質制限食の摂取が骨格筋の再生能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

加齢に伴い中心核をもつ骨格筋細胞数が増加することが知られているが、本研究においても、Y群と比較してCONおよびIPR群では有意に中心核をもつ細胞数が高かった。しかしながら、IPR群ではその値がCON群と比較して低かったことから、間欠的にタンパク質制限食を摂取することで、骨格筋の再生能が向上した可能性が考

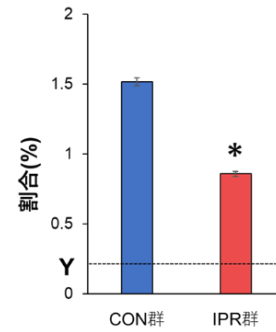


図 3. 間欠的な低タンパク質食摂取が骨格筋の中心核数に及ぼす影響。

平均値±標準誤差。Y群の値を点線で示した。* p<0.05 vs CON群

られる。間欠的なタンパク質制限食摂取により、中心核をもつ筋細胞数が減少した要因は不明であるが、タンパク質制限によるオートファジーの亢進が関与している可能性が考えられる。

4. 残された問題、今後の課題

本研究では、19カ月齢からタンパク質制限食の摂取を開始した。食事制限による身体機能の維持や寿命の延長の効果は、比較的早い時期で開始しないと現れないことが報告されている。そのため、今回得られた中心核数の減少だけでなく、筋力や全身の身体能力に好ましい影響を及ぼすためには、今回行った時期よりの早い段階で間欠的なタンパク質制限食の摂取を開始する必要があるかもしれない。

本研究では、タンパク質制限食の摂取により中心核の出現が優位に低下したが、この分子機序については明らかにすることができなかった。オートファジーをはじめとするタンパク質制限により誘導される因子が関与していると仮説を立てて生化学分析などを実施することが今後の課題である。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたって、(公財)東洋食品研究所からご支援を賜りましたことを深く感謝申し上げます。

6. 参考文献

- 1 Eva, Masiero; Lisa, Agatea; Cristina, Mammucari *et al.* Autophagy is required to maintain muscle mass. *Cell Metab.* 2009.10 (6): p.507-515. doi: 10.1016/j.cmet.2009.10.008
- 2 Sakuma, Kunihiro; Kinoshita Masakazu; Ito, Yoshinori *et al.* p62/SQSTM1 but not LC3 is accumulated in sarcopenic muscle of mice. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2016, 7(2): p.204-12. doi: 10.1002/jcsm.12045