

2022年度 北陸大学特別研究助成金【 連携研究 】報告書 - 1年目-

代表者	所属	医療保健学部	職位	准教授	氏名	金澤 佑治
-----	----	--------	----	-----	----	-------

研究課題名	サルコペニア肥満を予防する生活習慣
-------	-------------------

交付額 (2022)	2,600,000 円
---------------	-------------

研究実績の概要

1年目

本研究の目的は、サルコペニア肥満が筋線維とその基底板に与える影響を明らかとし、予防に効果的な運動療法と栄養療法を組み合わせた生活習慣を確立することである。研究期間の1年目は、サルコペニア肥満の病態評価に注力した。

我々はまずサルコペニア肥満の病態評価のため、モデル動物の作製に着手した。当初、肥満を示すミュータントマウスの利用も検討したが、より自然発生的な肥満に近いモデルを作製することが重要であると考えた。そこで通常の老年マウスに高脂肪食を摂取させることでモデル動物の作製を試みた。具体的には、老化実験に実績のあるC57BL/6Jを採用し、3ヶ月齢（若年）ならびに24ヶ月齢（老年）の個体に8週間、高脂肪食を自由摂食させた。その結果、高脂肪食摂食に伴い、老年マウスと若年マウスともに内臓脂肪量と体重が増加し肥満を呈し、体重に占める骨格筋量が低下した。筋機能の指標となる握力は、老化と肥満によって増悪する傾向があることも明らかとなった。これらのことから、高脂肪食を摂食した老年マウスは、筋量・筋力低下と肥満の合併した状態に陥ることが示唆された。これはサルコペニア肥満の病態に近いことから、当モデル動物を以後の解析に用いることとした。

次に我々は、作製したモデル動物の骨格筋、脂肪組織、脳組織を用いて、老化と肥満の合併が与える影響を解析した。骨格筋解析では、老化と肥満の合併に伴い、筋の脆弱化を示す中心核細胞が多数出現することが明らかとなった。この原因を探るべく、筋線維の保護作用を有する基底板について解析を進めた。その結果、基底板を構成するコラーゲンの発現や基底板幅が、若年マウスでは肥満に伴い増加するのに対して、老年マウスではその反応性が低下していることが明らかとなった。これらの結果は、老化と肥満が筋を脆弱化している可能性を示唆している。また脂肪組織の解析では、老若ともに高脂肪食摂取に伴い脂肪細胞径が増加した。さらに老化と肥満の合併により、脂肪細胞の輪郭が蛇行し、崩壊しつつある像が形態観察で確認された。基底板は脂肪細胞の支持にも役立っており、骨格筋と同様の病態が疑われたため今後更なる解析を進める必要がある。さらに、老化と肥満の合併によって骨格筋内の炎症性サイトカインが増加する傾向が明らかとなった。これに関連して、脳解析によって海馬と視床下部においても炎症性サイトカインが増加する傾向が示された。これらの結果は、老化と肥満の合併が、全身性に慢性炎症を呈している可能性を示唆している。この点についても今後更なる解析が必要である。

進捗状況

当研究は、比較的順調に進展しており、その研究成果に応じて一部計画を微調整する見通しである。

研究初年度に計画していた病態解明は、骨格筋、脂肪組織、脳組織と組織別に解析担当を割り振ることで、予定通りに解析が進行した。骨格筋解析の結果、サルコペニア肥満では筋の脆弱化が惹起されることが明らかとなり、その成果は国際誌にて公表した。

さらに、老化と肥満による筋の脆弱化には、基底板の構成要素であるコラーゲン産生が抑制を受けることが関与している可能性があった。我々の先行研究では、運動刺激がコラーゲン産生を高めることを確認している。したがって、サルコペニア肥満における骨格筋治療には運動療法の効果が多いに期待される。そこで、今後は先行的に運動療法の検討を進める予定である。

今後の推進方策等

本研究では、サルコペニア肥満に有効な栄養療法と運動療法を探索し、サルコペニア肥満を予防する生活習慣の確立を目指す。そのため、以下の4項目に取り組むことを計画している。研究2年目には、主に運動療と栄養療法の効果検証を行う予定である。

- ① モデル動物におけるサルコペニア肥満の病態評価
- ② 栄養療法がサルコペニア肥満に与える影響の解明
- ③ 運動療法がサルコペニア肥満に与える影響の解明
- ④ 運動療法と栄養療法の併用がサルコペニア肥満に与える影響の解明

サルコペニアの病態解明については、前述の通り、研究初年度より計画通り進行させ、骨格筋、脂肪、脳と多数の組織を解析対象とし、病態解明を試みた。特に、骨格筋解析の結果から、老化と肥満が筋内コラーゲンの産生を抑制している可能性が示唆され、筋の脆弱化に関与している可能性が明らかとなった。筋内コラーゲンはメカニカルストレスによって産生が促されることがすでにわかっている事からも、今後は運動療法の効果検証を先行的に進める予定である。運動療法の介入としては、専用トレッドミルによる持久運動あるいは輪回しによる自走運動を候補としている。ただし、現在、老年マウスの在庫数が少なく、運動療法の効果判定を行う実験は今年の10月から開始する予定である。また、解析のスピードをさらに向上させるためにも、蛍光顕微鏡BZ-800Xにおける解析システムのアップグレードが必要となった。これについては、研究2年目あるいは3年目の段階で、解析システムのアップグレードを行う計画である。いずれの課題においても今後は解決あるいは改善が見込まれる予定である。

また、運動療法に並行して検討を進める栄養療法については、脂質代謝活性の向上や抗酸化作用を有することが報告されているフラボノイドに着目し、サルコペニア肥満への効果を明らかにする計画である。まずは細胞培養実験によりサルコペニア肥満に有効なフラボノイドの種類を選定する。具体的には、脂肪細胞の培養環境に候補となるフラボノイドを添加することで、脂肪細胞径の縮小効果を有するものを選定する。次に、選定されたフラボノイドが肥満モデルマウスへ与える影響を検証する。具体的には肥満モデルマウスをフラボノイド投与群と対照群に分けて、筋機能・運動機能・精神機能を行動学的に評価し、さらに、採取した骨格筋、脂肪組織、脳をサンプルとしてフラボノイドの効果を形態学的かつ分子生物学的に解析する計画である。

代表者、分担者、共同研究者における役割分担に変更はなく、当初の計画通りである。代表者である申請者は、骨格筋解析を中心に研究計画全体の遂行を担当する。実験動物の飼養、精神機能・脳解析、生化学的解析には本学薬学部 松尾教授、脂肪組織の組織化学染色による解析には、本学医療保健学部 佐藤教授、免疫組織化学染色及び電子顕微鏡解析には近畿大学医学部 長野准教授、遺伝子発現解析には同校 鯉沼講師の支援のもと、研究を進めている。加えて、共同研究者として、栄養療法には本学薬学部 高橋達雄教授、鈴木准教授、運動療法には本学医療保健学部 宮地講師の支援のもと、研究を進める。なお、近畿大学医学部解剖学教室 重吉教授からは解析から論文執筆まで全般にわたり支援を受けている。

最後に、当研究計画の概要を以下の通り、図示する。研究2年目は、サルコペニア肥満の治療効果を検証する計画であり、その研究成果は、論文公表や地域貢献及び、外部資金の獲得につながる計画である。



主な発表論文等

(論文)

1. Yuji Kanazawa, Tatsuo Takahashi, Takashi Higuchi, Ryo Miyachi, Mamoru Nagano, Satoshi Koinuma, Yasufumi Shigeyoshi. Effects of stretching on the basement membrane structure in the soleus muscle of Wistar rats. Medical Molecular Morphology 56(1) 11-19 2022年9月
2. Yuji Kanazawa, Yuri Ikeda-Matsuo, Hiaki Sato, Mamoru Nagano, Satoshi Koinuma, Tatsuo Takahashi, Hirokazu Suzuki, Ryo Miyachi, Yasufumi Shigeyoshi. Effects of Obesity in Old Age on the Basement Membrane of Skeletal Muscle in Mice. International Journal of Molecular Sciences 24(11) 1-15 2023年5月
3. Yuji Kanazawa, Ryo Miyachi, Takashi Higuchi, Hiaki Sato. Effects of Aging on Collagen in the Skeletal Muscle of Mice. International Journal of Molecular Sciences 24(17) 13121-13121 2023年8月

(学会発表等)

1. 金澤佑治. 「歳を取ってから太ると骨格筋が脆くなる!」 Matching HUB Hokuriku 2022 2022年11月
2. 金澤佑治, 松尾由理, 佐藤妃映, 長野護, 鯉沼聡, 高橋達雄, 鈴木宏一, 宮地諒, 重吉康史. 老年期の肥満が骨格筋の基底板関連因子に与える影響. 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会プログラム・抄録集 2023年3月
3. 金澤佑治. 老年期の肥満がマウス腓腹筋の基底板構築反応に与える影響. 第32回日本病態生理学会大会講演プログラム・抄録集 32(2) 45-45 2023年8月
4. 金澤佑治. 加齢に伴い筋肉量が低下する現象、サルコペニアとは. 北陸大学健康長寿総合研究グループ主催 公開市民講座 2023年8月

組織

氏名	所属	役割
◎ 金澤 佑治	医療保健学部	研究計画全体の遂行、骨格筋の解析
松尾 由理	薬学部	実験動物の飼養、精神機能の評価、脳の解析、生化学的解析
佐藤 妃映	医療保健学部	脂肪組織の形態学的解析（組織化学染色）
長野 護	近畿大学・医学部	形態学的解析（免疫組織化学染色、電子顕微鏡解析）
鯉沼 聡	近畿大学・医学部	分子生物学的解析（遺伝子発現解析）
高橋 達雄	薬学部	栄養療法（細胞培養実験、動物実験）
鈴木 宏一	薬学部	栄養療法（化合物合成）
宮地 諒	医療保健学部	運動療法（実験動物への運動介入）
重吉康史	近畿大学・医学部	論文作成指導