

2023年度北陸大学特別研究助成【連携研究】報告書(2年目)

北陸大学長殿

所属・職名 医療保健学部理学療法学科 准教授

氏名 金澤 佑治

研究期間：2022-2024年度

研究課題名：サルコペニア肥満を予防する生活習慣

申請額：2,100,000円

研究実績の概要

当該年度においては、サルコペニア肥満の病態解明のため、サルコペニアモデルマウスならびにサルコペニア肥満モデルマウスを用いて、実験を行った。研究実績の概要は以下の3点である。

1「骨格筋内コラーゲンにおける筋線維タイプ別の加齢性変化」

本実験では雄性 C57BL/6J マウスのヒラメ筋(遅筋)および腓腹筋(速筋)におけるコラーゲン量に対する加齢の影響を経時的に追跡した。具体的には、3、10、24、28ヶ月齢と若年、中年、老年期を対象とした。その結果、老化は遅筋と速筋の両方でコラーゲン I、III、VI の遺伝子発現と免疫反応性を増加させ、遅筋ではコラーゲン IV の発現を増加させた。しかし、速筋におけるコラーゲン IV 遺伝子の発現と免疫反応性は加齢の影響を受けなかった。これらの結果から、加齢に伴うコラーゲン遺伝子の発現や免疫反応性は筋線維タイプとコラーゲンタイプに影響されることが示唆された。

2「筋小胞体における筋線維タイプ別の加齢性変化」

本実験では、若年と老年の雄 C57BL/6J マウスのヒラメ筋と腓腹筋の筋小胞体関連因子における加齢の影響を調べた。その結果、老年マウスの速筋でのみ筋小胞体の異常凝集が観察された。これは管状凝集体と呼ばれ、ミオパチーでも観察される骨格筋の病理所見であった。さらに、その周辺には細胞膜と筋小胞体を連結する支持因子とその分解因子が共局在していた。これらの結果より、加齢に伴って速筋に発生する筋小胞体の異常凝集には、筋小胞体の支持因子が局在するが、分解の対象になることが示唆された。

3「老化が骨格筋内の基底板構築能を低下させる機序」

本実験では、若年と老年の雄 C57BL/6J マウスを2群に分け、それぞれに高脂肪食または普通食を8週間与えた。その結果、肥満と老化は個々に筋機能の低下をもたらした。肥満若年マウスでは、腓腹筋においてコラーゲン IV の免疫反応性、基底板幅、基底板合成因子の発現が通常若年マウスよりも高かったが、肥満老年マウスではそのような変化が乏しかった。さらに、肥満老年マウスでは中心核線維の数が著しく増加した。これらの結果は、若年期は体重増加に反応して基底板構築を促進されるが、老年期ではその反応が乏しく筋の脆弱化が生じることが示唆された。

進捗状況

進展状況を記入(順調に進展や遅れている等)。その理由を簡潔に記入すること

本研究は、やや遅れている。

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にし、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。当該年度は、老化マウスの在庫数が少なかったために、予定よりも運動療法の効果検証がやや遅れた。しかしながら、現在、すでに動物実験は完了し、現在はデータ整理と形態学的かつ分子生物学的解析を順次進めていく計画である。具体的には、老若マウスに高脂肪食を摂取させ、その間に自走運動による運動療法を処方し、骨格筋への効果を検証する実験である。

また、栄養療法については、In vitro 実験によって脂肪細胞径を減少させ得る化合物を同定するに至った。今後は、In vivo 実験への発展を計画している。

今後の推進方策等 今後の方策について記入。また、計画の変更、遂行上の課題があればその対策も記入すること

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していた。しかしながら、研究助成体制の改革に伴い、今後はサルコペニアの病態解明と、その予防・改善の戦略を構築することに注力する。そしてサルコペニア肥満のみならずサルコペニアと慢性疾患あるいは筋障害といったサルコペニア関連障害に着目してより臨床と社会のニーズに即して研究を進める計画である。今後の研究項目は以下の通りである。

【病態解明】 (2024-2025 年度)

1. サルコペニアにおける筋内コラーゲンと筋小胞体の異常蓄積に関するメカニズムの解明
2. サルコペニア+肥満が筋、脂肪、神経組織に与える影響の解明
3. サルコペニア+筋損傷における回復遅延の機序を解明
4. サルコペニア+慢性疾患（糖尿病、慢性腎臓病）の病態解明

【予防・改善戦略の検討】 (2025-2026 年度)

1. サルコペニアとサルコペニア肥満に対する運動療法の効果検証
2. サルコペニア肥満あるいは慢性疾患の合併症に対するフラボノイドの効果検証
3. サルコペニアと慢性疾患の合併症に対する薬剤・運動の併用効果の検証
4. 地域在住高齢者への運動指導の効果検証

以上の研究項目を遂行させるため研究体制も改変した。具体的には、獨協医大 日光医療センターの田村氏、永用氏、樋口氏を研究協力者として追加した。特に慢性疾患関連の解析や地域高齢者への運動指導を担当する予定である。なお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。神経系の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、研究協力者として、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。

主な発表論文等 論文・学会・HP等の発表があれば、項目ごとに記入して下さい。

論文

1. Yuji Kanazawa, Tatsuo Takahashi, Mamoru Nagano, Satoshi Koinuma, Yasufumi Shigeyoshi. Effects of stretching on the basement membrane structure in the soleus muscle of Wistar rats. *International Journal of Molecular Sciences* 25(4) 2024年2月
2. 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) 2023年8月
3. 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) 2023年5月

学会発表

1. 金澤佑治, 宮地諒, 浅田啓嗣. 老年期の不活動とその後の回復過程における線維性コラーゲンの発現動態. 第11回日本筋骨格系徒手理学療法研究会学術大会 2024年2月
2. 金澤佑治. 骨格筋内コラーゲンにおける加齢の影響. 第39回東海北陸理学療法学術大会 2023年10月
3. 金澤佑治. マウス骨格筋の筋小胞体関連因子と抗酸化因子における加齢の影響. 第26回総合理学療法研究会 2023年10月
4. 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 2023年8月

経費

費目別内訳	消耗品費	旅費	備品費	その他	計
	671,979	0	278,300	1149215	2,099,494

主な備品の内訳(1品又は1組もしくは1式の価格が10万円以上のもの)

品名	仕様	数量	単価	金額	納期
BZ-PA20	Plan Apochromat 20X	1	¥278300	¥278300	2023年 5月
					年 月
					年 月

組織

分担・協力者	氏名	所属・職位	役割
○代表者	金澤佑治	医療保健学部・准教授	研究計画全体の遂行、骨格筋の解析
分担者	松尾由理	薬学部・教授	神経系の解析
分担者	佐藤妃映	医療保健学部・教授	脂肪組織の形態学的解析（組織化学染色）
分担者	長野護	近畿大学医学部・准教授	形態学的解析（免疫組織化学染色、電子顕微鏡解析）
分担者	鯉沼聡	近畿大学医学部・講師	分子生物学的解析（遺伝子発現解析）
共同研究者	高橋達雄	薬学部・教授	栄養療法（細胞培養実験、動物実験）
共同研究者	鈴木宏一	薬学部・准教授	栄養療法（化合物合成）
共同研究者	宮地諒	医療保健学部・講師	運動療法（実験動物への運動介入）