

2021年度 北陸大学特別研究助成【 奨励研究 】 報告書

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

研究課題名	基底板構築能の賦活化によるフィジカルフレイル治療の開発
-------	-----------------------------

交付額	750,000	円
-----	---------	---

研究成果の概要

本研究では、基底板に着目したフィジカルフレイルの治療基盤を確立すべく、老化が筋回復時の基底板構築に与える影響を解析し、さらに基底板構築を賦活する介入を探索した。その結果、基底板の主成分であるCollagen IVの産生が老化により抑制されることで、筋損傷後の筋線維や基底板の修復が遅延することを明らかにした。この結果は、基底板構築の障害が老化に伴う筋回復遅延を引き起こすことを示唆している。さらに、老年期から開始した継続的な持久運動は、Collagen IVの産生を促し、基底板構築を賦活化することも明らかとなった。このことより、運動習慣によって基底板構築を促すことで、老化に伴う筋回復力の低下を防ぐことができる可能性がある。今後は、運動習慣が、筋回復に与える影響を詳細に検証する必要がある。

研究目的

骨格筋は、可塑性が高く筋萎縮や筋損傷が生じても回復する力、すなわち予備能力を備えている。しかし残念ながら骨格筋の予備能力は老化により低下する。筋の予備能力低下は、活動量の減少や低栄養を招き、筋機能をさらに悪化させる（Xue QL et al., 2008）。したがって、筋の老化は、予備能力が乏しく身体的に虚弱な状況を示す“フィジカルフレイル”を増悪させる根源となる。老化による筋の回復障害は、従来の仮説では筋再生に必須な筋サテライト細胞の機能低下（Hawke TJ et al., 2001, Machida S et al., 2004）や筋タンパク合成能の低下（Morris RT et al., 2004, Hwee DT and Bodine SC, 2009）が起因すると考えられてきた。しかしながら、筋サテライト細胞数を薬剤で減少させても、萎縮筋の回復は遅延せず（Jackson JR et al., 2012）、さらに筋タンパク合成能は老若間で変わらないとの報告もある（Baehr LM et al., 2016）。これらの先行研究から老化による筋の回復障害におけるメカニズムを解明するには、筋再生能や筋タンパク合成能のみならず、多角的に調べる必要がある。

申請者はマイクロアレイによる網羅的な遺伝子解析を行なった結果、筋内の基底板を構成するCollagen IVの産生が筋萎縮からの回復に重要であることを明らかとした。基底板は、Collagen IVと呼ばれる膜状Collagenを主成分としており、筋線維を覆い、保護する役割を担っている。さらに老化によって廃用性筋萎縮後の回復が遅延する要因に、Collagen IVの産生抑制に伴う基底板構築の障害が関与していることを見出した（Kanazawa et al., 2017）。これらの背景から、フィジカルフレイルの増悪因子である筋の老化を予防するためには、基底板構築能を如何にして賦活するか、が重要になると考えた。

本研究では、基底板に着目したフィジカルフレイルの治療基盤を確立すべく、老化が筋回復時の基底板構築に与える影響を解析し、さらに基底板構築能を賦活する介入を探索した。

研究の方法

本研究の目的は、基底板に着目したフィジカルフレイルの治療基盤を確立することである。そのため、以下の2つの実験に取り組んだ。

① 老化が筋回復時の基底板構築に与える影響の解明

筋損傷の回復過程における基底板再構築への加齢の影響を確認した。若年ラットと老年ラットを用いて筋損傷モデルを作製した。具体的には、前脛骨筋にジブカインを筋注することで筋損傷を惹起した。ジブカインは局所麻酔の一種であるが、副作用に筋損傷を有することが知られており、筋損傷モデルの作製に用いられる。損傷後の回復過程は2日、7日、21日と経時的に追跡した。実験期間終了後に、前脛骨筋を摘出し、形態学的かつ分子生物学的に基底板に関する解析を実施した。

② 持久運動が老化筋の基底板に与える効果の検証

持久運動が、老化した骨格筋の基底板構築に与える影響を検証した。老年ラットを運動習慣なし群と運動習慣あり群の2群に分けた。運動習慣あり群には、実験動物専用のトレッドミルを用いて10週間の持久運動を処方した。実験期間終了後に、ヒラメ筋を摘出し、形態学的かつ分子生物学的に基底板に関する解析を実施した。

研究成果

① 老化は筋損傷後の基底板修復を遅延させる¹

筋損傷モデルラットを用いて、その回復における基底板再構築への加齢の影響を調べた。その結果、加齢により筋線維と基底板の回復が遅れることが明らかとなった。また、基底板関連因子の発現は、若年ラットと老年ラットともに筋損傷7日後にピークを迎えて増加し、回復21日には定常状態に戻った。しかしながら、Collagen IV産生因子の発現ピークは老化によって減少した。一方で、Collagen IV分解因子の発現は加齢の影響を受けなかった。これらの結果は、加齢に伴う筋線維および基底板の回復遅延には、Collagen IV産生因子の発現抑制が関連していることが示唆された。

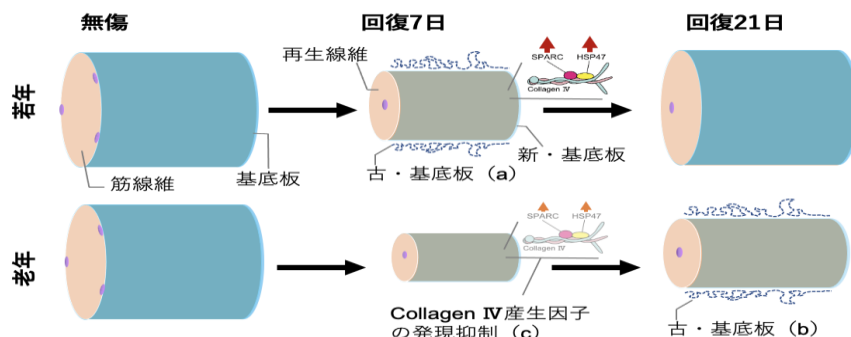


図1. 老化が筋回復時の基底板構築に与える影響

筋回復過程に生じるヒダ状基底板様構造は、古い基底板であり、基底板再構築時に観察される。若年では回復7日（a）に、老年では回復21日（b）に古いヒダ状の基底板が観察された。このことは、老化による基底板再構築の遅延を反映している。さらに、老年では若年に比べてCollagen IV産生因子（Col4a1, Sparc, Hsp47）の発現が低下していた（c）。これらの結果より、加齢によるCollagen IV産生因子の発現抑制は、基底板再構築を遅延させることが示唆された。

② 持久運動は老化した筋の基底板構築を促す²

持久運動が老化筋の基底板に与える効果を把握するために、老化ラットにトレッドミル走を処方した。そして運動習慣の有無による基底板関連因子の発現の違いを比較した。その結果、運動により、老年ラットのヒラメ筋において、基底板関連因子のmRNA発現量、Collagen IV-免疫反応の面積と強度、lamina densa（基底板の一部）の幅が増加した。これらの知見は、持久運動が老年ラットヒラメ筋の基底板構築を促したことを示唆している。

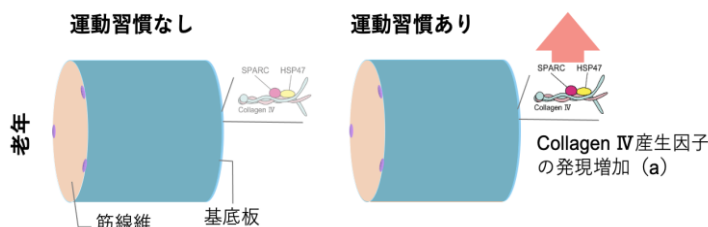


図2. 持久運動が老化筋の基底板に与える効果

10週間の持久運動により、老化筋におけるCollagen IV産生因子（Col4a1, Sparc, Hsp47）の発現が増加した（a）。

引用文献

1. Yuji Kanazawa et al., Effects of Aging on Basement Membrane of Tibialis Anterior Muscle During Recovery Following Muscle Injury in Rats. Microscopy (Oxford, England) 2022
2. Yuji Kanazawa et al., Effects of endurance exercise on basement membrane in the soleus muscle of aged rats. Acta Histochem Cytochem 54(5)167-175, 2021

主な論文発表等

論文

1. Yuji Kanazawa, Takashi Higuchi, Shinichi Sugiyo. Longitudinal changes in motor and muscle function in senescence-accelerated mice. Int. J. Gerontol. 16(2) 155-156, 2022
2. Yuji Kanazawa, Mamoru Nagano, Satoshi Koinuma, Shinichi Sugiyo, Yasufumi Shigeyoshi. Effects of Aging on Basement Membrane of Tibialis Anterior Muscle During Recovery Following Muscle Injury in Rats. Microscopy (Oxford, England) 2022
3. Yuji Kanazawa, Mamoru Nagano, Satoshi Koinuma, Shinichi Sugiyo, Yasufumi Shigeyoshi. Effects of endurance exercise on basement membrane in the soleus muscle of aged rats. Acta Histochem Cytochem 54(5)167-175, 2021
4. Yuji Kanazawa, Mamoru Nagano, Satoshi Koinuma, Shinichi Sugiyo, Yasufumi Shigeyoshi. Effects of aging on basement membrane-related gene expression of the skeletal muscle in rats. Biomed. Res. 42 (3) 115-119, 2021

学会発表

「筋損傷後の回復期における基底板関連因子への加齢の影響」第127回日本解剖学会総会・全国学術集会