

2013年1月29日

エイコサペンタエン酸による抗炎症作用とインスリン抵抗性改善作用は 老化促進マウスの加齢性筋肉減少症を改善するか？

代表研究者	名古屋大学総合保健体育科学センター	准教授	小池晃彦
共同研究者	名古屋大学総合保健体育科学センター	教授	押田芳治
	名古屋大学医学部老年科学	教授	葛谷雅文
	名古屋大学医学部老年科学	准教授	成憲武

[まとめ]

エイコサペンタエン酸 (EPA) を投与された老化促進モデルマウス (SAMP1) の骨格筋重量は、対照群としてコーン油を投与された SAMP1 と比較し変化しなかった。しかしながら、四脚握力測定では、EPA 投与群で対照群より筋力が維持される可能性が示された。さらに、SAMP1 の対照 (正常老化群) として用いた SAMR1 においては、EPA の投与によりコーン油投与群と比較し有意な筋量の増加がみられたことから、EPA が筋肉量減少を抑制する可能性が示唆された。なお、SAMP1 はコーン油投与群において EPA 群より死亡率が高かった。

1. 研究の目的

老化による生理的機能低下であるサルコペニア (筋肉減少症) に対するエイコサペンタエン酸 (EPA) の効果を明らかにする。魚油に豊富に含まれる ω 3 脂肪酸である EPA には、血小板凝集抑制効果と抗炎症作用があり、動脈硬化性疾患である心血管疾患や脳梗塞に対する予防効果は確立している。一方、動物モデルにおいては、EPA が癌、慢性関節リウマチでの骨格筋減少や筋ジストロフィーでの骨格筋変性を抑制するとの報告があり、人においても魚

の摂取量と筋力との相関が示されていることから、EPA によるサルコペニア抑制効果が期待されている。本研究の目的は、サルコペニア研究に適する老化促進モデルマウスにおいて (Haramizu S. et al. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 66A(6):646, 2011)、EPA の効果を検証することでサルコペニアの予防・治療法を検討することである。

2. 研究の方法・経過

2.1 研究の概要

SAMP1 では、8 週齢ですでに腓腹筋などの骨格筋量が有意に低下していることが報告されている。そこで、EPA の投与は、サルコペニア予防効果を検証するために 6 週齢より開始する方法 (グループ 1) と、サルコペニアの進行抑制効果を検証するために 25 週齢から開始する方法 (グループ 2) で行った。EPA は、餌重量あたり 6% 混入し、対照群においてはコーン油を 6% 加えた (粗蛋白: 23%、粗脂肪: 11%、NFE51%)。なお、EPA は、持田製薬株式会社より提供を受けた。

2.2 インスリン負荷試験 (ITT)

ITT は、グループ 1 の 16 週齢で、12 時間の絶食後、インスリンを 0.2 IU/kg body weight 腹

腔内投与し行なった。血液は、尻尾先端より採取した。

2.3 握力試験

握力は、小動物用握力メータ（シングルセンサー、バイオリサーチセンター株式会社）を用い、前脚と四脚で測定した。

2.4 臓器採取

グループ1、2とも、30週齢において、12時間の絶食後、麻酔下に臓器を摘出し、重量を測定後に液体窒素で凍結し-80℃下に保存した。

3. 研究の成果

3.1 生存率

解剖を行った30週齢における生存率は、SAMR1ではコーン油群、EPA群とも100%であったのに対し、SAMP1では、58%（グループ1:コーン油群50%、EPA群100%、グループ2:コーン油群67%、EPA群83%）であった。なお、グループ2のEPA群で死亡したマウスは、EPAに餌を振り分ける前に死亡した。つまり、SAMP1に関しては、コーン油の投与後に生存率が明らかに低下した。

3.2 体重の変化

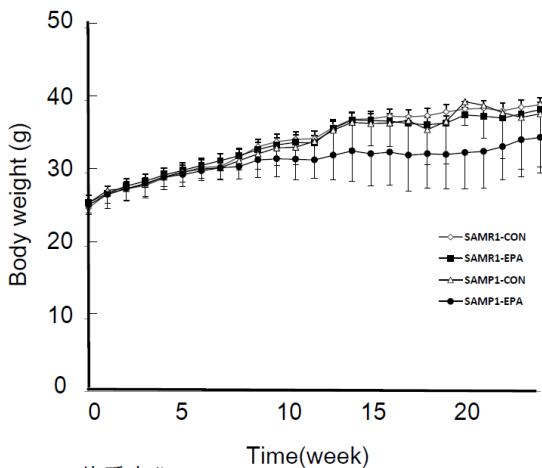


Fig.1 体重変化

Fig.1にグループ1での体重変化を示す。コーン油群においてSAMR1とSAMR1の体重は同等であった。一方、グループ2においては、標準飼料のみ用い25週まで飼育した場合、SAMR1で有意に体重が多かった。EPA投与では、SAMR1、SAMP1とも体重は有意には低下しなかった。

3.2 ITT

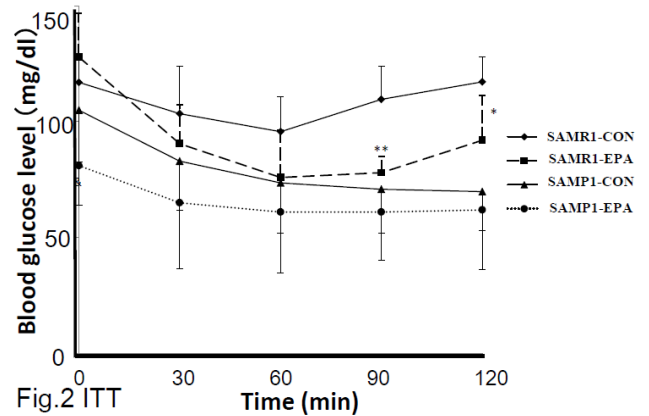


Fig2にはITTの結果を示す。餌を振り分け後10週で行った。EPAはSAMR1においてインスリン感受性を改善したが、SAMP1においては変化がなかった。

3.3 握力試験

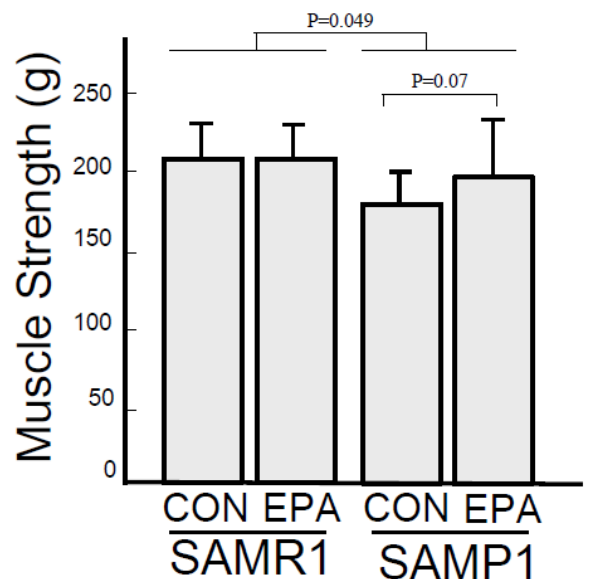


Fig.3 筋力

グループ1における四脚での試験結果をfig.3に示した。SAMR1においては対照、EPA

	SAMR1 -CON	SAMR1-EPA	SAMP1-CON	SAMP1-EPA	SAMR1(total)	SAMP1(total)
Body weight (g)	38.3±2.0	37.4±1.4	36.0±7.0	32.0±3.2	37.8±1.7	33.3±7.0**
Blood glucose (mg/dl)	95±24	102±18	139±35	105±23	98±20	116±35
Muscle weight (g)						
Soleus	0.01754±0.00085	0.01574±0.00168*	0.01266±0.00284**	0.01118±0.00258	0.01664±0.00158	0.01167±0.00284**
Gastrocnemius +Plantaris	0.326±0.014	0.355±0.021*	0.237±0.009**	0.271±0.024	0.341±0.023	0.259±0.009**
Extensor digitorum longus	0.02129±0.00223	0.01912±0.00430	0.01851±0.00236	0.01577±0.00437	0.02011±0.00354	0.01668±0.00237
Tibialis anterior	0.098±0.013	0.111±0.016	0.093±0.010	0.111±0.020	0.105±0.016	0.105±0.010
Quadriceps femoris	0.397±0.027	0.444±0.033*	0.358±0.051	0.396±0.033	0.421±0.037	0.383±0.051*
Epitrochlearis	0.301±0.019	0.318±0.033	0.223±0.028**	0.239±0.044	0.309±0.027	0.234±0.028**
Epididymal fat (g)	2.062±0.342	1.437±0.304**	1.517±1.031	0.900±0.557	1.749±0.449	1.106±1.031*
Liver weight (g)	1.212±0.115	1.274±0.107	1.506±0.149*	1.453±0.153	1.243±0.110	1.471±0.149**
Cardiac weight (g)	0.131±0.007	0.139±0.010	0.168±0.024**	0.166±0.018	0.135±0.009	0.166±0.024**
Brain weight (g)	0.448±0.012	0.465±0.015*	0.447±0.010	0.472±0.033	0.456±0.016	0.463±0.010

Values are mean ± SD, *p<0.05, **p<0.01 vs. RC, *p<0.05, **p<0.01 vs. R

Table 1 解剖時の体重、血糖値、筋量、脂肪量、肝臓・心・脳重量

群間で同等であったが、SAMP1 においてはコーン油群でみられた握力の低下が EPA 群で回復する傾向がみられた。なお、前脚の握力測定の結果では、有意な差は認めなかった。

3-4 解剖時の体重、血糖値、筋重量、脂肪量、臓器重量

Table1 には、グループ 1 における解剖時のデータを示す。体重は、SAMP1 トータルでは、SAMR1 より低値であった。血糖値に関しては、有意な差を認めなかった。骨格筋重量は、SAMR1 において、腓腹筋と足底筋の合計、大腿四頭筋で有意な増加を示した。これらの筋に関しては、グループ 2 においても同様な変化を示している (data not shown)。一方、ヒラメ筋重量は有意に低下した。SAMP1 においては、SAMR1 より全般に骨格筋量の低下が認められているが、EPA による有意な筋量の回復はなかった。副睾丸周囲脂肪量は、SAMR1 において EPA 群で有意に低かったが、SAMP1 での低下は有意でなかった。血中中性脂肪も、副睾丸周囲脂肪量と同じ傾向を示した (data not shown)。なお、SAMR1 の脳重量が EPA 群で高値

であった。

4. 今後の課題

EPA の長期投与が、加齢による筋肉量の減少や筋力の低下を抑制する可能性を検討した。今回、老化促進マウスを生理的なサルコペニアモデルとして検討した。すでに報告されているように老化促進マウスでは骨格筋量の減少が加齢にともない促進したが、EPA 投与の効果は明らかでなかった。しかしながら、対照として用いた SAMR1 群では、腓腹筋+足底筋、大腿四頭筋で、EPA を投与することにより筋量がコーン油群より高値であったことは、重要な所見であると考えられる。この効果は、早期 (6 週齢) より 24 週間 EPA を投与した群のみでなく、25 週齢から 5 週間の EPA を投与した場合でも認められた (data not shown)。EPA によるこのような効果のメカニズムを、骨格筋の蛋白合成系と分解系 (ユビキチンリガーゼ系やオートファジー系) のシグナル伝達系を解析することで、現在検討中である。

SAMP1 においては、コーン油投与で、EPA と比

較し明らかに死亡率が上昇したが、この点は今回の研究にあたって予期していなかった。コーン油に含まれるリノール酸が炎症を引き起こした可能性が考えられる。したがって、EPAの骨格筋重量に対する影響を解析する上でも、今回の系では解釈が難しい。今後、本研究で得られた骨格筋を用い、筋合成系と分解系のシグナルを詳細に調べる。さらに、血液と脂肪サンプルで炎症シグナル分子の解析を行なっていく。SAMR1に対するEPAの効果に関する知見は興味深いものであったが、SAMP1については個体間で習性を含めばらつきが大きく、解釈に制約がある。しかしながら、EPAの短期的な投与を行うことで、SAMP1の筋合成・分解系に及ぼす影響を検討することは可能と考えている。また、代償性筋肥大のモデルを使用することで、EPAの効果を明らかにしていく予定である。私たちは、運動とEPAをはじめとする栄養介入により有効に筋肉減少を抑制する方法を明らかにしていくことが重要な課題と考えている。

5. 研究結果の公表方法

本研究結果は、2013年度の第36回日本基礎老化学会で発表を予定する。また、今後の研究結果と併せて、英文雑誌へ投稿する。