

研究結果報告書

2022年 10月 30日

<研究課題> エストロゲンによるサルコペニア抑制作用の機序解明：慢性炎症に着目して

代表研究者 東京大学大学院医学系研究科 加齢医学 助教 七尾 道子

【抄録】

本研究は、加齢に伴うエストロゲン (E2) 低下によって増加する慢性炎症が筋肉に及ぼす影響とその機序を明らかにすることを目的とした。腹部大動脈瘤 (AAA) は慢性炎症を背景に加齢とともに増加する疾患である。雌性 C57BL6 マウス (20 週齢) に卵巣摘出(OVX)および E2 補充を行い、その 4 週間後に AAA を誘導し炎症を惹起した。さらに 4 週後、大動脈及び骨格筋 (腓腹筋、ヒラメ筋) への影響を検討した。OVX+AAA 群では、偽手術+AAA 群に比べて大動脈径の有意な拡大と中膜の破壊を認め、瘤の形成が亢進したが、E2 の補充により亢進した瘤の形成が抑制された。腓腹筋の重量に変化はなかったが、ヒラメ筋は OVX+AAA により重量が減少し、E2 の補充により抑制された。また、OVX+AAA によって筋力 (Grip test) が低下し、E2 の補充により抑制された。筋持久力 (Wire hang test) では優位な変化はみられなかった。以上より、E2 低下は全身の慢性炎症を誘導し、サルコペニア発症を引き起こす可能性が示唆された。

1. 研究の目的

女性では、更年期以降のエストロゲン減少によってサルコペニアの発症リスクが高まることが報告されているが、エストロゲン減少がサルコペニアを引き起こす機序、また筋肉におけるエストロゲン受容体の役割については不明な点が多い。日本において、高齢化と、長期化するコロナ禍で高齢者の廃用性サルコペニアが増加しており、サルコペニアの予防と治療法の確立が喫緊の課題である。

上記を背景に、本研究は、加齢に伴うエストロゲン低下が引き起こす炎症制御の破綻による慢性炎症が、筋肉の運動能および機能障害を引き起こすメカニズムを明らかにすることを目的とする。

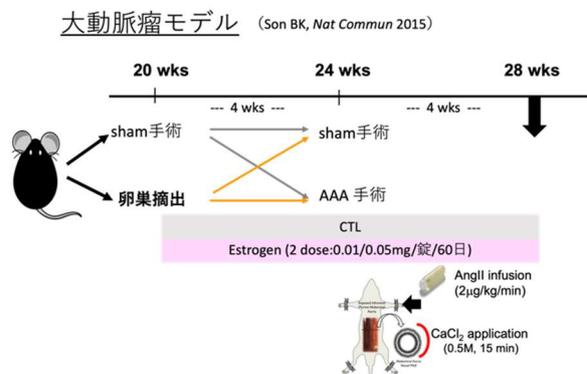
本研究によってエストロゲン低下による全身の炎症惹起とサルコペニア発症の関連およびメカニズムが解明されれば、ますます問題視されるサルコペニアの予防策・治療法開発につながることができ、高齢者の健康長寿に貢献することができる。

2. 研究方法と経過

2-1 卵巣摘出と大動脈瘤誘導

メスマウス (C57BL/6JmsSlc, 20 週齢) において、卵巣摘出 (OVX) 及び E2 補充 (0.01mg ないし 0.05mg 徐放剤/60 日) を行った。卵巣摘出を行わない群には sham 手術を行なった。また、E2 補充を行わない群にはコントロールの徐放剤/60 日を皮下に埋め込んだ。その 4 週間後、開腹にて塩化カルシウム液

(0.5mol/L) を腎動脈分岐部の下から総腸骨動脈の分岐までの大動脈周囲に 15 分間塗布した。同時に、浸透圧ポンプを背部皮下に挿入し、アンジオテンシン II (2mg/kg/min) を 4 週間持続投与することで大動脈瘤(AAA) を誘導した (図 1)。



(図 1:実験デザイン)

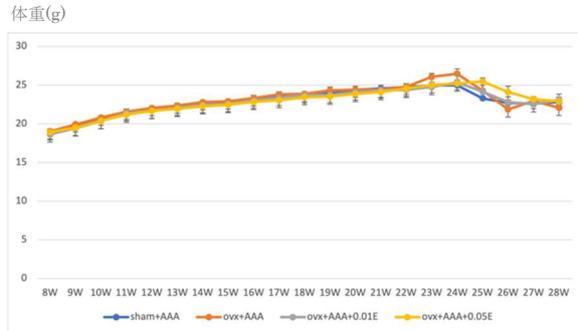
2-2 評価

AAA 誘導の 4 週間後に、OVX および E2 補充が AAA 形成へ及ぼす影響を大動脈径、組織学的解析を用いて検討した。また、OVX および E2 補充による骨格筋 (ヒラメ筋、腓腹筋) への影響を、形態学的、病理組織学的に sham 手術の対照群と比較した。また、骨格筋の機能を筋力 (grip-strength テスト) や運動機能 (wire hang test) で評価した。

3. 研究の成果

3-1 体重変化

まず、OVX と AAA 誘導による体重への影響を検討した。図2に示すように、OVX、AAA 誘導後も各群間に有意な体重の差はみられなかった。

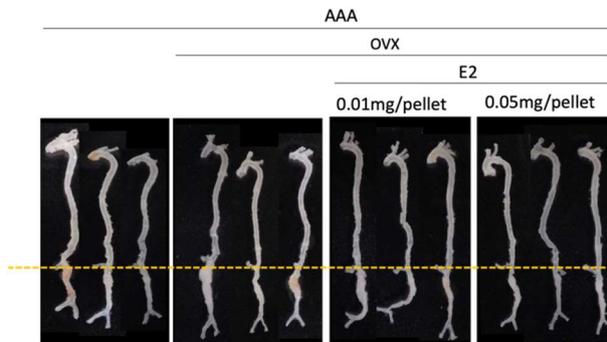


(図2: 体重推移)

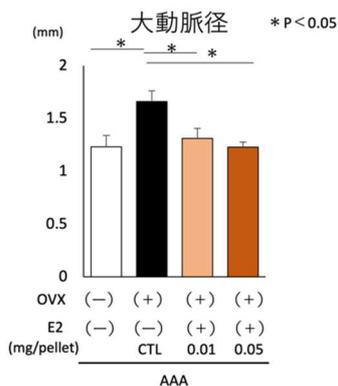
3-2 大動脈への影響

次に、OVX と E2 の補充による大動脈瘤形成への影響を評価した。

OVX と AAA 誘導によって大動脈径は有意に拡大し、拡大した大動脈径は E2 補充により sham+AAA 群と同等レベルまで優位に縮小した (図 3, 4)。E2 用量間の差は見られなかった。

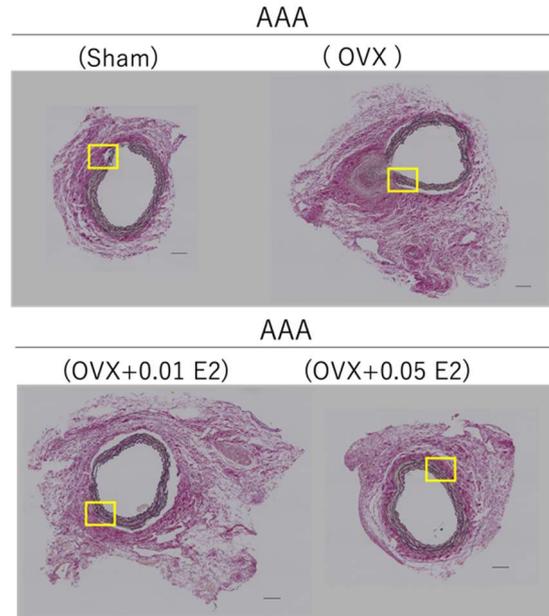


(図3: 大動脈写真)

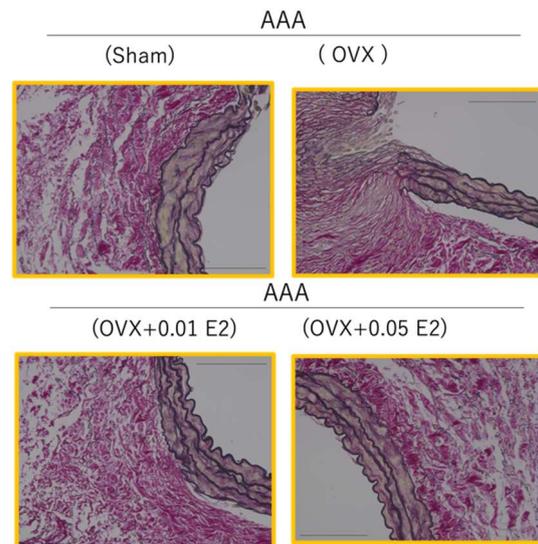


(図4: 大動脈径)

EVG 染色を用いた血管構造解析では、OVX と AAA 誘導によって中膜の構造が壊れ、瘤の形成が促進したが、E2 補充によって sham 群と同程度まで瘤の形成が抑えられ、中膜の構造も保たれていた (図 5,6)。



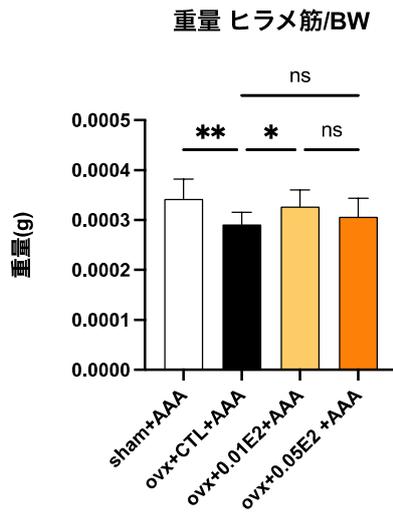
(図5: EVG 染色)



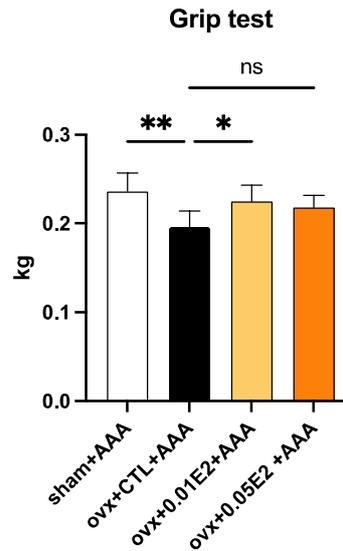
(図6: EVG 染色 拡大図)

3-2 骨格筋への影響

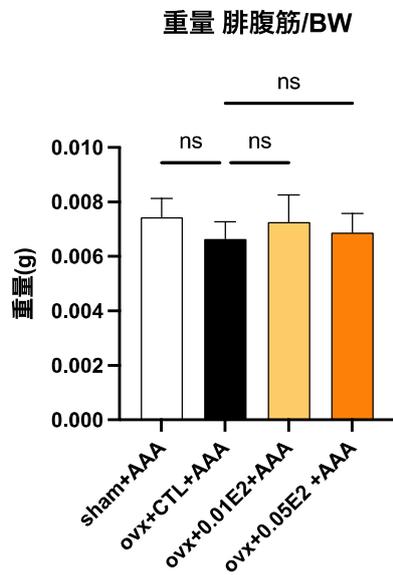
OVX+AAA 群では sham+AAA 群と比較し有意に体重あたりのヒラメ筋重量が減少し、E2 補充 (0.01mg) により sham+AAA 群と同等レベルまで筋重量が回復した (図 7)。一方、腓腹筋の重量には各群間に有意な差は見られなかった (図 8)。



(図 7: ヒラメ筋/BW 重量)

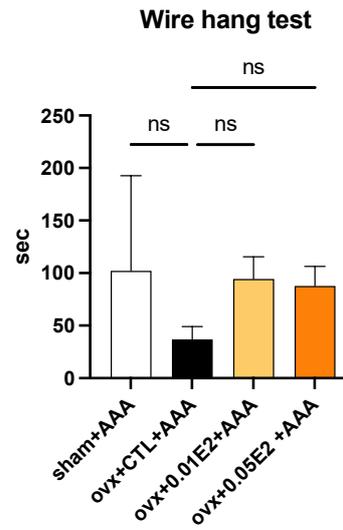


(図 9: Grip test 結果)



(図 8: 腓腹筋/BW 重量)

Wire hang test では、OVX+AAA 群で sham+AAA 群と比較し有意に把持時間が短縮し、E2 補充 (0.01mg) によって sham+AAA 群と同等レベルまで回復したが、結果に有意な差は認められなかった (図 10)。



(図 10: Wire hang test 結果)

筋機能は、四肢の握力 (Grip test) と筋力 (wire hang test) を評価した。Grip test では、OVX+AAA 群で sham+AAA 群と比較し有意に握力が低下し、E2 補充 (0.01mg) によって sham+AAA 群と同等レベルまで回復した (図 9)。

4. 考察と今後の課題

大動脈瘤誘導によって炎症が惹起された状態において、OVXによってエストロゲンが低下すると大動脈瘤形成が進行し、ヒラメ筋の筋重量と握力が低下した。これらの変化は低用量のエストロゲン補充によってOVXを行っていない sham 手術群と同等のレベルまで有意に回復した。エストロゲン補充量は、閉経後骨粗鬆症に対して効果が認められる最低量のエストロゲン補充量相当(0.05mg /錠/60 日)またはそれ以下 (0.01mg /錠/60 日) の2用量を使用した。いずれの結果においても0.01mg/錠/60日のエストロゲン補充で有意な結果を得た。0.05mg/錠/60日を使用して有意な差を得られなかった結果については、低用量の方が効果的である可能性もあるが、n数を増やして再検討を行う必要がある。

エストロゲンの血管・筋肉における作用機序としては、血管では炎症制御であることをすでに示しており (結果未掲載)、筋肉においてもエストロゲン低下に伴う炎症制御破綻による影響が示唆される。エストロゲン受容体の働きについては、より詳細なメカニズム解明が必要であり、今後の課題である。

本研究は、乳がんや子宮がんなど副作用の観

点から臨床応用の困難なエストロゲンの代わりに、高齢女性の廃用性サルコペニアの予防・治療法として選択的エストロゲン受容体調節薬を開発することを目指している。今回、低用量エストロゲンの効果が明らかとなったことから、今後選択的エストロゲン受容体モジュレーターや女性ホルモン様作用をもつとされる漢方薬の作用についても検討予定である。

腓腹筋重量に有意な変化が認められなかったことから、遅筋にのみエストロゲン低下による影響が及ぶ可能性も示唆された。しかしながら、筋機能検査では握力のみに変化が認められ、速筋にも影響していることが示唆された。今後n数を増やして検討する必要がある。

5. 研究成果の公表方法

上記の研究成果をまとめて国内外の学会で発表する予定である。また、より上記の課題を含めより詳細な検討を進め、学術誌への投稿を予定している。

以上

Research on the prevention of Sarcopenia :Preventive effects of Estrogen against chronic inflammation

Primary Researcher: Michiko Nanao-Hamai
Assistant professor, Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

The purpose of this study is to determine the effects and mechanisms of chronic inflammation, which is increased by age-related estrogen (E2) decline, on muscle. Abdominal aortic aneurysm (AAA) is a disease that increases with age in the context of chronic inflammation. Ovariectomy (OVX) and E2 supplementation were performed in female C57BL6 mice (20 weeks old), and 4 weeks later, inflammation was induced by AAA operation. After another 4 weeks, the effects on the aorta and skeletal muscles (gastrocnemius and soleus muscles) were examined. The OVX + AAA group showed significant enlargement of the aortic diameter and destruction of the tunica media and increased aneurysm formation compared to the sham operation + AAA group, but E2 supplementation suppressed the increased aneurysm formation. Gastrocnemius weight did not change, but soleus weight decreased with OVX+AAA and was suppressed by E2 supplementation. Muscle strength (Grip test) was also decreased by OVX+AAA, which was suppressed by E2 supplementation. Muscle endurance (wire hang test) showed no significant change. These results suggest that E2 reduction induces systemic chronic inflammation, which may lead to the development of sarcopenia.