

平成 28 年 12 月 12 日

加齢に伴う骨格筋の機能低下が 運動によって改善されるしくみを解明

名古屋大学未来社会創造機構モビリティ部門 人間・加齢特性グループの葛谷雅文（くずやまさふみ）教授、成憲武（せいけんぶ）特任准教授、名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・高橋雅英）地域在宅医療学・老年科学の井上愛子（いのうえあいこ）大学院生らの研究チームは、運動トレーニング（ET）によるサルコペニア^{*1}（加齢に伴う筋肉機能および構造変化）の改善効果について、そのしくみを明らかにしました。

ETは、疾患予防や身体各器官の機能改善、細胞の代謝や再生の活性化に有効であることが広く研究されています。しかしETがサルコペニアを改善する分子メカニズムは、ほとんど明らかになっていませんでした。

本研究では、アディポネクチン/アディポネクチン受容体1(AdipoR1)^{*2}経路を介した分子機構に着目し、老化促進モデルマウス(SAMP10)^{*3}を使用して検証しました。

ETによってアディポネクチン分泌が亢進されることに伴い、AMPK^{*4}及びAkt-mTOR^{*5}の活性化が促されることによって、①骨格筋タンパク質合成と細胞増殖の促進、②骨格筋におけるアポトーシス（細胞死）の抑制、③ミトコンドリア生合成の促進による機能不全の改善、⑤骨髄由来筋前駆細胞を骨格筋に誘導することが明らかになりました。

本研究結果により、加齢に伴う骨格筋の萎縮・再生能および筋機能低下を改善することが明らかになり、サルコペニア発症のメカニズムの解明および予防法の開発が進むものと期待されます。

本研究成果は、「Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle」(2016年11月29日の電子版)に掲載されました。

加齢に伴う骨格筋の機能低下が運動によって改善されるしくみを解明

ポイント

- 運動トレーニング（ET）が、加齢に伴う骨格筋量・筋力低下（サルコペニア）に対して改善効果があるか否かに関して老化促進モデルマウス（SAMP10）を用いて検証しました。
- ETにより筋力の増強と骨格筋の微細構造変化、ミトコンドリアの生合成促進を認めました。
- ETによる筋再生能力の改善効果の分子機構として、脂肪組織から分泌されたアディポネクチンがアディポネクチン受容体 1(AdipoR1)を介して AMPK 経路を活性化させ、骨髄由来筋前駆細胞を骨格筋に誘導することを明らかにしました。

1. 背景

様々な哺乳動物において、加齢に伴う筋力低下や筋萎縮（しばしば sarcopenia サルコペニアと呼ばれる）は、脂肪組織の蓄積や筋線維数と筋線維サイズの減少、筋収縮スピードの遅延化や筋線維タイプの構成変化が、様々な代謝パラメータの変化により発生します。規則的な ET は、筋萎縮や末梢動脈疾患などの加齢に伴う疾患を予防し、身体各器官や組織の機能改善、あるいは細胞の代謝や再生を活性化させる為に有効であることが広く研究されています。しかし、ET が、加齢に伴う筋肉の損失や機能不全を改善する分子メカニズムは、ほとんどわかっていません。近年、障害後の骨格筋再生には骨格筋幹細胞（衛星細胞）のみならず、骨髄由来筋前駆細胞の関与が明らかにされました。しかし、加齢に伴うサルコペニア、さらには運動負荷後の筋肉量増加に対する骨髄由来筋前駆細胞の役割は不明でした。

2. 研究成果

研究チームは、トレッドミルを用い、SAMP10 マウスに 45 分間の ET を週 3 回、4 か月間実施し、40 週齢にて両側の下腿腓腹筋とヒラメ筋を摘出し比較しました。ET 群では非運動群に比較し、加齢に伴い低下する持久力、握力、ミオシン重鎖筋線維(Type1 筋線維)の比率および面積が有意に増加しました。電子顕微鏡による解析で、ミトコンドリアのクリステ（内膜のひだ構造でミトコンドリアの機能に関わる）の深刻な変性が SAMP10 マウスのヒラメ筋と腓腹筋の両方で発生し、損傷したミトコンドリアの数および割合と脂肪滴の数が ET 群で有意に減少していました。定量 PCR を用いた計測結果からも、ミトコンドリア呼吸鎖の鍵となる酵素の発現が ET 群で有意に高くなっていました。これらの結果より、ET は筋肉の微細構造変化とミトコンドリア機能、および筋機能を改善することが明らかとなりました。

ET マウスの血漿アディポネクチンが、対照群と比較して 6.3 倍増加し、ヒラメ筋と腓腹筋中の AdipoR1 遺伝子も増加していたことに着目した研究チームは、ET によって誘発される分子変化の影響を明らかにするため、アディポネクチン/AdipoR1 シグナル伝達経路の役割を分析しました。ET 群では、骨格筋におけるタンパク質の合成に関わる Akt-mTOR のリン酸化が増強されました。その一方、酸化ストレス産生酵素のサブユニットである

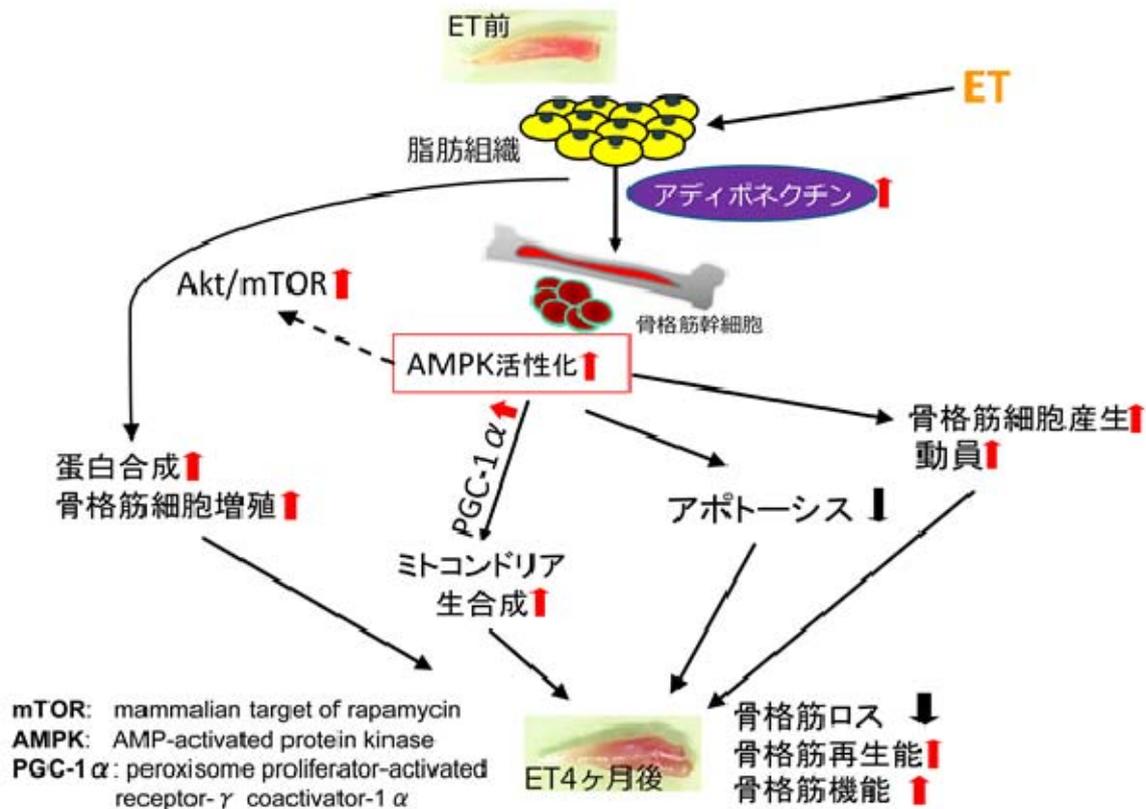
gp91phox タンパク質発現は有意に低下し、ミトコンドリア生合成に関わる PGC-1 α ^{※6} の mRNA 発現量の有意な増加とともに、TUNEL 法によりアポトーシス細胞数の有意な低下を認めました。加えて、筋萎縮に対する薬物療法の標的として同定されている遺伝子 Atrogin-1 は、ET 群で発現が抑制されていました。

また、骨格筋再生に重要な骨格筋幹細胞に関する検討では、ET 群において、PCNA+細胞数が有意に増加していました。また、CD34 抗体（様々な体性幹細胞の表面マーカーとして用いられる）と Integrin $\alpha 7$ 抗体（マウスの骨格筋幹細胞の表面抗原のマーカー）の二重染色を行ったところ、CD34⁺/Integrin $\alpha 7$ ⁺MuSCs 数^{※7}が下肢筋肉と骨髄、末梢血において有意に増加していることが明らかになりました。

さらに、ET によるサルコペニアの予防に関する分子メカニズムを探るため、アディポネクチン中和抗体を用いた実験を行いました。アディポネクチン中和抗体群（pAb-Adip 群）では、ET 単独群に比べ、①持久力低下とドロップアウト回数の増加、および下肢筋肉における筋肉量や筋線維のサイズの減少、②アポトーシスを阻害する役割を持つ p-AMPK α 、p-Akt、p-mTOR、および Bel-XL タンパク質発現の減少に伴うアポトーシス細胞数の増加、③ミトコンドリアの損傷と脂肪滴の蓄積が増強したことに伴う、COX4 および PGC-1 α 遺伝子発現レベルの低下、④Desmin および Laminin5 タンパク質の二重免疫染色における共発現の低下に伴う骨格筋細胞の再生の低下、が示されました。またフローサイトメトリーを用いた分析結果により、pAb-Adip 群の CD34⁺/Integrin $\alpha 7$ ⁺MuSCs の数が骨髄および末梢血で減少することが明らかになりました。

これらの知見により、アディポネクチン抗体が、ET による骨髄筋幹細胞産生、動員やホーミングおよび筋機能の改善を抑制することを示唆しています。同様に、アディポネクチンの受容体をブロックするため AdipoR1 中和抗体を用いた実験でも、同様の筋機能の低下と筋肉の p-AMPK α 、p-mTOR および Bel-XL タンパク質の発現量の減少を認めました。さらに、AMPK 阻害剤の投与実験においても、ET による筋機能や筋重量の改善効果を抑制し、アポトーシス細胞数を有意に増加させることが確認されました。これらの結果から、運動はアディポネクチン/AdipoR1 経路を介し、AMPK が活性化されることにより、筋タンパク質合成および分解のバランスの調整、ミトコンドリア生合成の促進、アポトーシスの低下、筋幹細胞のホーミングと増殖の改善が示唆されました。

ETによるサルコペニア抑制機構：アディポネクチン/受容体1 役割



3. 今後の展開

本研究結果により、加齢による骨格筋の機能低下は、運動やアディポネクチン/AdipoR1経路を介した AMPK の活性化が重要であることが証明されました。また、AMPK の活性化により筋幹細胞のホーミングと増殖を促進し、筋修復機能を改善することが明らかになりました。老化や各種病態における骨格筋の機能低下の予防や骨格筋再生のためには、骨髄由来骨格筋幹細胞（衛星細胞）の動員・ホーミングならびに分化・増殖の誘導が重要です。運動療法や薬物療法に加え、骨格筋幹細胞移植治療法もまた骨格筋再生を促進し、サルコペニア予防の治療法としての新たな道筋を示唆しました。

加齢に伴う骨格筋の機能低下の改善について、運動療法の有効性が科学的に証明されたことにより、サルコペニアに対する予防や治療方法のさらなる開発が期待されます。

4. 用語説明

※1 サルコペニア

サルコペニア (Sarcopenia) は「加齢に伴う筋力の低下、または老化に伴う筋肉量の減少」を指し、高齢者における転倒、骨折につながる重要な老年症候群の一コンポーネントとして注目されている。

※2 アディポネクチン、アディポネクチン受容体 1(AdipoR1)

アディポネクチンは脂肪細胞から分泌されるホルモンの一種で、炎症性の血管内膜肥厚を

抑制し、動脈硬化を抑制することが知られている。アディポネクチンは骨格筋と肝臓において糖取り込みや脂肪酸の燃焼を起こす鍵分子である AMP キナーゼを活性化する。骨格筋には脂肪細胞から分泌されたアディポネクチンのシグナルを細胞内に伝える役割がある AdipoR1 が存在し、アディポネクチンの糖取り込みや脂肪酸燃焼の促進を媒介する。AdipoR2 はアディポネクチンの肝臓における脂肪酸燃焼促進を媒介する。

※3 老化促進モデルマウス (SAMP10 : Senescence-Accelerated Mouse Prone 10)

老化促進マウス Senescence-Accelerated Mouse (SAM) は、京都大学の竹田俊男らにより、AKR/J 系マウスと未知の系統との交雑が生じたマウスコロニーから確立されたマウス系統。促進老化・短寿命を示す P(Prone)系統と正常老化を示す R(Resistant)系統に大別される。SAMP10 マウスは加齢とともに脳萎縮を自然発症し、脳萎縮を伴う学習・記憶障害・情動障害のモデルとして用いられる。

※4 AMPK (AMP-activated protein kinase : AMP 活性化プロテインキナーゼ)

AMPK は、代謝の調節に関与し、肝臓、脂肪組織、骨格筋などにおいてエネルギーセンサーとして作用している。AMPK は細胞内の AMP/ATP 比が増加（エネルギー枯渇）すると活性化され、糖や脂肪酸の取り込みや蛋白質合成を抑制する。

※5 Akt- mTOR

Akt/mTOR 経路は、がん細胞や骨格筋細胞の増殖を促進するメカニズムとして極めて重要であることが知られています。すなわち、PAkt-mTOR 経路の阻害はがん細胞や骨格筋細胞の増殖を抑制し、細胞死（アポトーシス）を誘導する。

※6 PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha)

PGC-1 α は運動で増強し、IL-6 や TNF- α など炎症性サイトカインの筋肉での発現を抑制する。PGC-1 α はミトコンドリア機能を高め、代謝を活性化する。

※7 MuSCs (Muscle Stem Cells:筋幹細胞)

MuSC は分化・成熟した筋原繊維の辺縁部に筋衛星細胞 (satellite cell) として存在している。骨格筋は再生能力の高い組織であり、筋衛星細胞が筋再生に大きな役割を担っている。筋衛星細胞以外にも独特の分化能や特徴を持った前駆細胞が存在し、骨格筋の恒常性維持に寄与している。

5. 発表雑誌

Aiko Inoue, Xian Wu Cheng, Zhe Huang, Lina Hu, Ryosuke Kikuchi, Haiying Jiang, Limei Piao, Takeshi Sasaki, Kohji Itakura, Hongxian Wu, Guangxian Zhao, Yanna Lei, Guang Yang, Xiang Li, Kohji Sato, Teruhiko Koike, Masafumi Kuzuya. Exercise restores muscle stem cell mobilization and regenerative capacity and muscle metabolic alterations via adiponectin/AdipoR1 activation in SAMP10 mice. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* (米国東時間 2016 年 11 月 29 日付けの電子版に掲載)

6. 本研究について

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金（課題番号 22390143、15H04801、15H04802）の支援を受けて行われました。

English ver.

http://www.med.nagoya-u.ac.jp/english01/dbps_data/material/nu_medical/en/res/ResearchTopics/2016/ampk_20161212en.pdf