

申請者	学科名	栄養学科	職名	教授	氏名	山下 広美
調査研究課題	抗加齢に寄与する食品成分に関する研究					
調査研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表	山下広美	保健福祉学部・教授		食品栄養学	研究統括
	分担者	木本眞順美	保健福祉学部・教授		分子栄養学	動物代謝の生化学的解析
		吉村征浩	保健福祉学部・助教		食品生化学	動物組織の解析法の確立
荒木彩		保健福祉科学研究科・博士 後期課程学生		栄養学大講座	動物組織の生化学的解析	
		丸田ひとみ	保健福祉科学研究科・博士 後期課程学生		栄養学大講座	動物の飼育および代謝測定
調査研究実績の概要	<p>我が国は近い将来、超高齢化社会に突入すると予測されている。高齢者の生活の質(QOL)の向上のため健康で自立した生活の維持が課題である。人間の生理機能は加齢に伴って低下するが、生活機能を著しく低下させる要因の一つとして、骨格筋系の老化が挙げられる。「サルコペニア」は加齢に伴う骨格筋量および筋力の低下を特徴とする症候群であり、筋力の低下による有酸素能力の低下、さらには歩行能力の低下により転倒、骨折、また寝たきりのリスクをもたらす。高齢動物においても加齢により基礎代謝量が減少するため若齢動物に比較してエネルギー代謝量が低くなり、肥満や生活習慣病発症の要因となる。本研究ではまず酢酸に注目して、それら成分が加齢による生理機能の低下を改善するか検討した。</p> <p>実験動物は32週齢のSD系雄性ラットを使用し、1%酢酸投与群(Ace群)、水投与群(Water群)に分けた。5週間の予備飼育後、37週齢から56週齢まで週5日間、それぞれ0.5ml/100g(体重)を胃ゾンデによる胃腔内投与を行った。飼育期間中に体重、摂餌量の測定、小動物代謝計測システムによる代謝測定を行った。骨格筋性状を解析するために56週齢時解剖を行い、ヒラメ筋および腓腹筋を採取し、定量的リアルタイムPCR法、ATPase染色法、HE染色法、オイルレッド染色法、ならびにSDH染色法に供し、筋線維組成、筋線維数、筋横断面積、筋線維関連遺伝子の解析を行った。</p> <p>Water群では酸素消費量が投与前の36週齢と比較して55週齢で有意に低下していたのに対しAce群では投与前と変化がなかった。そのため、中高齢ラットに酢酸を継続的に摂取させることによって加齢に伴うエネルギー消費量の低下が抑制され、エネルギー代謝が維持されると示唆された。</p> <p>自発運動量には変化がみられなかったため、骨格筋に何らかの変化が起こっていると考え、組織学的および遺伝子発現について検討を行った。まず筋線維タイプType I、Type IIa、Type IIb線維を染め分ける酸性ATPase染色を行ったところ、56週齢のWater群と比較してAce群においてヒラメ筋の筋線維数が有意に増加しており、特に遅筋線維数の増加がみられた。20週齢と56週齢のWater群の比較により、加齢に伴い遅筋線維数が減少することが示されたが、56週齢のAce群と20週齢のWater群の遅筋線維数を比較すると線維数は同程度であったため、酢酸により遅筋線維数の減少が抑制されることが示唆された。さらに、遅筋化に関わる遺伝子である<i>mef2a</i>のヒラメ筋における遺伝子発現レベルを調べたところ加齢により発現が減少しており、56週齢のWater群とAce群を比較したところ<i>mef2a</i>発現レベルが有意にAce群で上昇していた。これらの結果から酢酸が遅筋に何らかの影響を与えていると考えられた。遅筋にはミトコンドリアが豊富に含まれているため、ミトコンドリアDNA相対量の測定、ならびに組織切片のSDH染色を行ったところ、ヒラメ筋でミトコンドリアDNA相対量が増加していた。また、SDH染色はミトコンドリアでのエネルギー生産に関わるSDH活性を利用して染色する方法であるが、ヒラメ筋、腓腹筋ともにAce群で強い陽性反応が観察</p>					

	<p>され、酢酸によってミトコンドリアが増加していることが示唆された。</p> <p>ヒラメ筋の筋線維タイプ別に平均化した筋線維横断面積は、加齢に伴い遅筋線維の平均横断面積が有意に拡大していた。56週齢のWater群とAce群を比較すると、Ace群でWater群より筋線維横断面積は小さい傾向があり、20週齢のWater群に近かった。加齢に伴い筋線維横断面積が拡大することの原因の一つとして、脂肪蓄積が考えられたため、オイルレッド染色とHE染色を行い骨格筋の脂肪滴蓄積および筋線維化について解析した。筋線維内における脂肪滴の蓄積は、肥満や2型糖尿病、老化骨格筋等において認められる。ヒラメ筋では、Water群で筋線維内に多数の脂肪滴および筋線維化および壊死がみられた。腓腹筋はAce群と比較しWater群で筋線維内に少数の脂肪滴がみられたが、顕著な筋線維化は認められなかった。また、筋萎縮と老化に関連する遺伝子である <i>fbxo32</i> (Atrogin-1)、<i>trim63</i> (MuRF1) および <i>tgfb1</i> (TGF-<math>\beta</math>) の遺伝子発現レベルはAce群で低下していた。</p> <p>以上の結果から、中高齢のラットに継続的に酢酸を摂取させることにより、加齢に伴うエネルギー消費量の低下、ヒラメ筋における遅筋線維数の減少、脂肪蓄積や筋線維化などが抑制されることが示唆された。継続的に酢酸を摂取することによりサルコペニアやサルコペニア肥満の予防に繋がるのではないかと期待される。</p>
<p>成果資料目録</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Hiromi Yamashita, Biological function of acetic acid -Improvement of obesity and glucose tolerance by acetic acid in type 2 diabetic rats-, Critical reviews in Food Science and Nutrition, (2015) July 15, ahead of print. DOI:10.1080/10408398.2015.1045966</li> <li>2. Hitomi Maruta, Yukihiro Yoshimura, Aya Araki, Masumi Kimoto, Yoshitaka Takahashi, and Hiromi Yamashita, Activation of AMP-activated protein kinase and stimulation of energy metabolism by the treatment of acetic acid in L6 myotube cells, 8<sup>th</sup> International Conference on Cachexia, Sarcopenia and Muscle Wasting, Paris (France), 4-6, Dec., 2015</li> </ol>