

申請者	学科名	栄養学科	職名	助教	氏名	吉村 征浩 印
調査研究課題	加齢に伴う脂質代謝物の時空間的変動解析					
交付決定額	300,000円					
調査研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表	吉村征浩	栄養学科・助教	脂質生化学	研究統括・実施	
	分担者					
調査研究実績の概要	<p>今後、超高齢化社会を迎える我が国では、介護を始めとする様々な高齢化問題が現在にも増して深刻になっていくことが予想される。要介護認定者は年々増加しており、今後も増加し続けることが予想される。要介護となる原因は40～64歳では脳血管疾患が約半数を占めるが、65歳以上になると脳血管疾患に代わり、筋量・筋力の低下が原因と考えられる‘骨折・転倒や高齢による衰弱’が増加し、90歳以上では約半数を占めるようになる。サルコペニアは加齢に伴い生じる骨格筋量と骨格筋力の低下を示す症状のことである。筋タンパク質の同化促進反応の低下および分解抑制反応の低下がサルコペニアの原因であると考えられているが、直接的な原因は未だに不明である。また、最近では減少した骨格筋に脂肪が蓄積するサルコペニア肥満も大きな社会問題になっている。サルコペニアやサルコペニア肥満を改善することは要介護認定者の数を減少させるだけでなく、高齢者個人の生活の質を改善することにもつながる。本研究では、ラットをモデル動物として用い、加齢に伴い(When)、どのような代謝物(What)が、骨格筋を始めとして脳などの組織のどの部分(Where)で、どのように変動しているか(How)を質量顕微鏡法(imaging mass spectrometry: IMS)により、時間空間的に明らかにし、加齢に伴う脂質代謝変化およびサルコペニア病態(Why)を明らかにすることを目的とする。</p> <p>本研究ではまず、ラットにおいて加齢に伴って基礎代謝が変化するターニングポイントを明らかにするために9週齢から20週齢にかけてのラットの基礎代謝を調べた。基礎代謝測</p>					

<p>調査研究実績の概要</p>	<p>定は温度25℃、湿度50%、明期12時間、暗期12時間の条件で飼育し、一週間に一日の頻度で、小動物用代謝測定システム（MK5000RQ、室町機械）を用いて明暗両期の安静時代謝測定を行い、酸素消費量（VO₂）、二酸化炭素消費量（VCO₂）、呼吸商（RQ）を測定することで調べ、VO₂値は体重（kg）で除した値を用い、VO₂（mL/min/kg）値とRQ値から消費エネルギーを算出した。その結果、安静期でのRQ値が9週齢では0.85に対して、15週齢では0.87と有意に（<i>p</i><0.05）増加することがわかった。また、活動期では9週齢で0.87であるのに対し、15週齢では0.90に有意に（<i>p</i><0.05）増加した。このことは15週齢にかけて、安静期、活動期に関わらず、ラットの糖質利用が増加していることを示唆している。こういった基礎代謝の変化が骨格筋の脂質代謝にどのような変化を与えているか今後調べていく予定である。また、20週齢以降のラットについても基礎代謝の変化を調べ、ターニングポイントを把握していく予定である。</p> <p>次に、若齢（12週齢）と高齢（47週齢）のラットの骨格筋について、加齢による脂質代謝の変化を調べるために、質量顕微鏡法により網羅的に脂質分子の局在について解析を行った。若齢（12週齢）と高齢（47週齢）のラットの骨格筋の凍結切片を作製し、スライドガラス上に隣り合うように張り付け、マトリックス（2,5-dihydroxybenzoic acid: DHB）を均一に塗布した後、質量分析装置（LTQ-XL, Thermo Fisher Scientific:近畿大学農学部応用生命化学科の設備）を用いて、MALDI-IMSに供した。得られたMSデータを詳細に解析したところ、<i>m/z</i> 844のイオンに若齢と高齢ラットで分布の違いが見られた（下図A）。次に、違いが見られた<i>m/z</i> 844のイオンについて、MSMSを行い、分子の同定を試みた。その結果、ある種のリン脂質に特有のneutral lossが観察され、また、脂肪酸が脱離したと思われるイオンピークも観察された。以上の結果から、<i>m/z</i> 844のイオンがある脂肪酸分子種を結合したリン脂質の一種であることが明らかになった。MSMSによるイメージングの結果においても、加齢により骨格筋において上記のリン脂質分子が減少していることが明らかになった（下図B、C）。今後は、個体数を増やして同様の解析を行い、上記リン脂質の加齢による分布変化について調べる予定である。また、様々な週齢のラットについて、脂質代謝の変化をMALDI-IMSによって調べる予定である。</p> <p>従来の生化学的な方法による代謝物の変動解析では、臓器あるいは組織をホモジナイズ（均質化）した後に、目的の物質を抽出し、HPLCなどにより分離・検出・定量を行っていたため、臓器ごとの代謝物の量的変化は検出できるが、臓器中のどの組織・部分で変動しているかは解析不可能であったが、IMSを用いることで臓器中の代謝物の局所的な変化を明らかにすることができる。</p> <div data-bbox="539 1464 1295 1792"> <p>(A) MS解析 12 weeks 47 weeks 光学画像 <i>m/z</i> 844</p> <p>(B) MSMS解析 12 weeks 47 weeks</p> <p>(C) MSMS解析 12 weeks 47 weeks</p> <p>0 相対強度 (%) 100</p> </div>
<p>成果資料目録</p>	<p>なし</p>