

学位論文全文に代わる要約 Extended Summary in Lieu of Dissertation

氏名： 内田 健志
Name

学位論文題目： スケソウダラタンパク質の機能性研究
Title of Dissertation

学位論文要約：
Dissertation Summary

序論

1) 健康寿命と身体的フレイルについて

現在の日本では、健康寿命の延伸に向けて、健康日本21（第二次）の取組としてロコモティブシンドローム（骨、関節、筋肉の劣化）対策が提唱され、令和元年の第2回2040年を展望した社会保障・働き方改革本部の資料では、「健康寿命延伸プラン」がまとめられ、2040年の目標として75.14年以上（男性）と77.79年以上（女性）と掲げられ、医療費の削減にむけて大きく期待されている。荒井らによると、不健康な期間への入り口として筋肉とたんぱく質栄養について特化した概念として、身体的フレイル（筋肉減少による虚弱）の概念も、注目され始め、医療診断が行われるようになった。身体的フレイル状態は、たんぱく質の低栄養状態から筋肉量の低下、活動量の低下、さらなる低栄養状態と負のスパイラルが起ることにより、筋肉量を大幅に減少する状態といわれている。しかしながら、その状態は、適切なたんぱく質栄養の提供と運動負荷により、健常な状態へと戻すことが可能な状況でもあると言われているため、不健康な期間の短縮には、身体的フレイル状態で留まらせる、または、健常な状態に戻すことが、重要と言われている。そこで、我々は、ロコモティブシンドロームにも身体的フレイルにも共通する筋肉の減少を抑制、さらには改善し増加させ、不健康な期間の短縮に貢献すべく研究を進めている。

2) スケソウダラのタンパク質（APP：Alaska pollack protein）について

スケソウダラ（和名；スケトウダラ、英名：*Theragra chalcogramma*, *Alaska pollack*）は、白身魚で、その魚卵は、たらことして、古くから広く日本国内で流通している。今回、研究対象としているスケソウダラの魚肉は、死後2日以内（氷蔵）に鮮度（K値）が60%以上となり、魚肉の劣化速度が速い魚として有名である。そのため、その活用範囲は限定されていたが、日本水産と北海道立水産試験場の共同研究により、冷凍しても変性しない冷凍すり身の開発が1960年に成功し、船上での加工が行えるようになったことから、広く練製品に使用されるようになり、現時点では、資源性が安定している漁獲量の多い魚種として世界中で流通している。他の種の骨格筋では混合筋として瞬発力をつかさどる速筋と持久力をつかさどる遅筋が混ざった混合筋がほとんどであるが、魚の骨格筋では、種により普通筋（速筋）と血合筋（遅筋）に分かれており、スケソウダラの魚肉は、ほぼ速筋で出来ていると言われている。

3) APPの機能性研究について

愛媛大学農学部を中心に、世界的に流通量の多いAPPに着目して機能性の研究を進めている。これまでに、APPの機能性として、高脂肪食摂取下における肝臓トリグリセリドと血清グルコースの改善、筋重量の増加効果が確認されている。これらの研究のうち血清グルコース改善作用については、筋組織の

GLUT4の増加がメカニズムとして示唆され、機能性ペプチドとして、Ala-Asn-Gly-Glu-Val-Ala-Gln-Trp-Arg (ANGEVAQWR)のペプチドが示されるとともに、そのうちC末端部分であるGln-Trp-Arg (QWR)が、有効成分の本体であることが報告されている。一方、APPの高脂肪食摂取下における筋重量増加効果に関しては、速筋を特に強く増加させることや、そのメカニズムとして、筋合成の阻害作用のあるMyostatinの減少や、ユビキチン系の筋分解作用のあるMuRF1、Atorin-1などの産生抑制効果があること示されている。また、APP投与による筋肉の性状に関する研究では、速筋遅筋の筋繊維の肥大と特に速筋繊維の肥大が起きることが確認され、さらに、筋脂質として速筋に特異的に発現するドコサヘキサエン酸を含有するホスファチジルコリンの増加が特徴的に確認された。

これらの研究結果を踏まえ、本研究では、適用範囲の拡大として、MuRF1、Atorin-1の増加が原因として言われている廃用性筋萎縮への有用性と、通常食における筋肥大効果、有効成分の同定に向けて特定のアミノ酸やアミノ酸組成の関与について検討を行った。

第1章 スケソウダラタンパク摂取によるギプス固定誘発性萎縮後の骨格筋重量回復改善効果の検討

固定後の筋肉の廃用性萎縮から回復を促進することは、最適な健康状態を維持するために重要である。本研究では、ギプス固定技術を使用して、後肢の固定によって誘発された萎縮後の骨格筋重量に対するスケソウダラタンパク質 (APP) 摂取の影響を検討した。ラットの左後肢は、麻酔下でギプスを用いて固定された。2週間後、ギプスを取り除き、ラットを3つの群、すなわち、高脂肪コントロール群、高脂肪カゼイン群、および高脂肪APP群に分けた。投与開始3週間後、骨格筋（ヒラメ筋、長指伸筋、および腓腹筋）を採材した。固定された左後肢のヒラメ筋、腓腹筋、および長趾伸筋の重量は、カゼイン群と比較して、APP群で有意に増加した。APP群において、固定された左後肢のヒラメ筋で、Igf1およびMyog遺伝子の発現が増加した。

Immobilized limbs

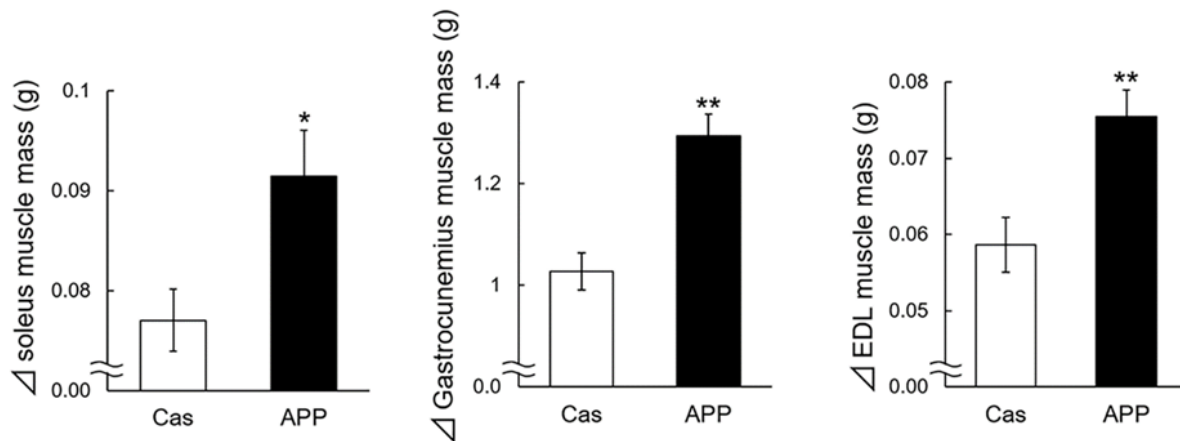


Fig.1-2 Skeletal muscle weights in baseline group. The estimated weight gains of soleus, gastrocnemius, and extensor digitorum longus (EDL) muscles in immobilized limbs of high-fat casein diet group (Cas, n = 14) and high-fat APP diet group (APP, n = 14) during the recovery period are shown. The gains in skeletal muscle weight during the recovery period were estimated according to the following equation: Δ skeletal muscle weight = (skeletal muscle weight at week 3 in Cas or APP group) - (average skeletal muscle weight at week 0 in baseline group). Data are expressed as mean \pm standard error of mean (SEM). Statistical analysis was performed between Cas and APP group with the Student's unpaired t-test. *P < 0.05, **P < 0.01.

第2章 スケソウダラタンパク質摂取による筋肥大効果の発現条件とメカニズムの検討

本研究では、APP摂取が、通常食を与えられたラットにおいて、短期間で持続的に骨格筋の肥大を起こすかについて検討した。5週齢のオスのSprague-Dawleyラットに、高脂肪食または通常食、カゼインまたはAPP（同量の粗タンパク質）を含むAIN-93G餌を与えた。APP群は、餌の脂肪含有量に関係なく、2、7日間の給餌後、腓腹筋量を有意に増加させた。カゼインまたはAPPを含む通常食を7日間、56日間与えた。APP摂取群は7日後、56日後に腓腹筋量を有意に増加させた。APP摂取は、7日後に腓腹筋骨格筋とコラーゲンに富む筋内結合組織の断面積を大幅に増加させた。APP摂取は、7日後にミオスタチン、MuRF1、およびatrogin-1の遺伝子発現を減少させたが、他の遺伝子発現、血清IGF-1は減少させなかった。7日後のミオシンATPase染色で測定した場合、タイプI、タイプIIA、およびタイプIIXまたはIIB繊維の割合に関して、カゼイン群とAPP群の間に違いはなかった。ピューロマイシン標識ペプチドに筋合成能の測定では、2日後のカゼイン群とAPP群の間に差はなかった。これらの結果は、APP摂取が餌の脂肪含有量に関係なく、ラットに短期間で持続的な骨格筋肥大を起こすことを示した。

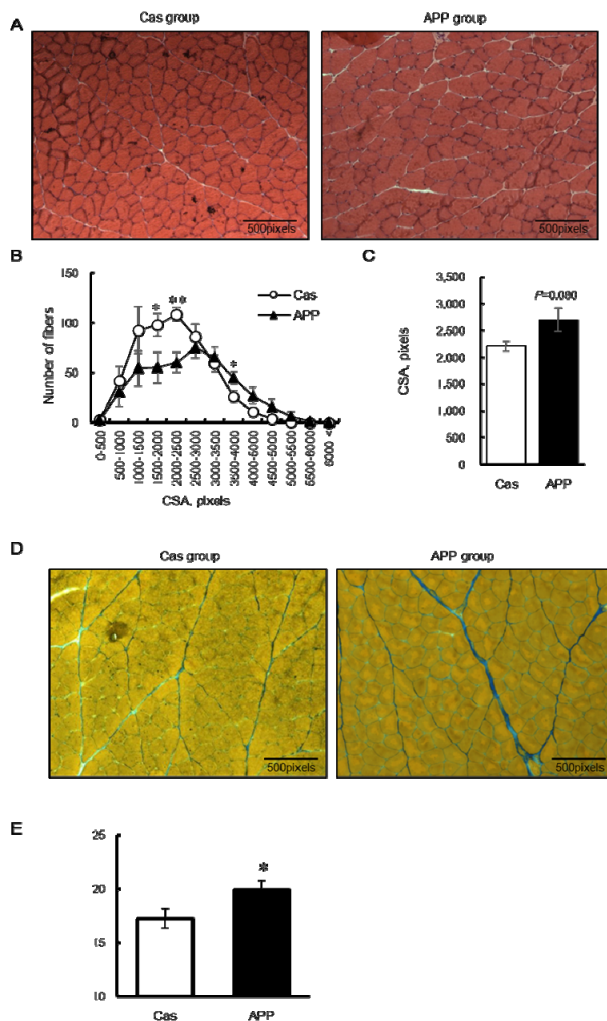


Fig. 2-3 The cross-sectional area (CSA) in muscle fibers and connective tissue in the gastrocnemius muscle of rats fed a normal-fat casein diet or a normal-fat Alaska pollack protein (APP) diet after 7 days of feeding. Transverse sections stained with hematoxylin-eosin (A), distribution of CSA (B), and mean fiber CSA (C) in the gastrocnemius muscle of normal-fat casein diet group (Cas, n=7) and normal-fat APP diet group (APP, n=7) and transverse sections stained with Azan (D) and the average area of connective tissue (E) in the gastrocnemius muscle of normal-fat casein diet group (Cas, n=8) and normal-fat APP diet group (APP, n=8) are shown. Data are expressed as the mean \pm standard error (SEM). Asterisks indicate significant differences relative to the Cas group, as determined using Student's t-test. (*, $P < 0.05$).