

博士(栄養学)学位論文内容の要約

骨格筋内在性イミダゾールジペプチドの生理作用に関する研究

Studies on Physiological Function of Endogenous Imidazole
Dipeptides in Skeletal Muscle

2023 年

指導教員 西村 敏英 教授

2002001

呉 嘉瑋

WU, Jiawei

女子栄養大学

イミダゾールジペプチド(IDs)は、 β -アラニンと L-ヒスチジン、あるいはそのメチル化合物が結合したジペプチドで、筋肉、脳、嗅球に多く含まれている。近年、IDs は、抗酸化作用、抗疲労効果、脳神経細胞の保護作用、糖尿病の予防効果があると報告されており、機能性食品素材として注目されている。しかし、骨格筋における IDs に関する研究は少なく、特に、内在性 IDs の生体内での生理作用は未だに明らかにされていない。

そこで、IDs の合成に不可欠であるカルノシン合成酵素(Carns1)を欠損させた K0 マウス（以下 K0 群）を作出し、K0 群の筋肉タンパク質代謝の特徴、IDs が運動負荷マウスの筋肉タンパク質代謝に及ぼす影響、並びに IDs 投与の効果を調べることにより、内在性 IDs の生理作用を明らかにすることを目的とした。

第一章では、20 週齢の K0 マウス（K0 群）と野生型マウス（WT 群）（各群 n=5）を通常食で 3 週間飼育し、IDs の欠乏がマウスの成長に与える影響を調べた。まず、マウスの体重変化及び筋肉重量を調べた結果、いずれにおいても K0 群と WT 群間で有意差は認められなかった。次に、両群マウス骨格筋の代謝物質のメタボローム解析を行った結果、K0 群の ATP 量及び ADP 量は、WT 群のものより有意に ($p<0.05$) 高い値を示した。そこで、エネルギー代謝に関わる骨格筋タンパク質代謝因子の違いを RT-qPCR 分析並びにウエスタンブロッティング分析で調べた。K0 群での合成因子 IGF-1 並びに分解因子 Cathepsin B の発現量は、WT 群のものより有意に ($p<0.05$) 低い値を示した。また、K0 群の ATP 合成促進因子 AMPK α 1 の遺伝子発現量は、WT 群のものより有意に ($p<0.05$) 高い値を示した。これらの結果から、マウスにおける IDs の欠乏は、

体重変化や筋肉重量に大きな影響を与えなかったが、ATPを蓄積させることや骨格筋タンパク質代謝に関わる因子を抑制することが示唆された。

第二章では、IDsの欠乏が運動能力に及ぼす影響を調べた。トレッドミルを用いて、30週齢(n=6)、あるいは80週齢(n=5)のKO群とWT群に1週間の持久運動負荷を与えた。その結果、30週齢マウスでは、両群で運動パフォーマンスに有意差は認められなかった。運動後の筋肉重量に関しても、運動負荷の影響を受けなかった。80週齢マウスでは、KO群の運動パフォーマンスは運動負荷日数の増加に伴い有意に($p<0.05$)減少した。また、WT群の腓腹筋、ヒラメ筋および前脛骨筋の筋肉重量は、運動負荷により有意に上昇したが、KO群では、腓腹筋と前脛骨筋の筋肉重量は、運動負荷により有意に($p<0.05$)減少した。以上の結果から、高齢マウスの筋肉中のIDs欠乏は、運動による筋肉タンパク質代謝に影響を及ぼすことが示唆された。そこで、80週齢マウスを用い、筋肉タンパク質代謝関連因子の遺伝子発現量、筋肉中の遊離アミノ酸量および筋線維タイプの遺伝子発現量を調べた。運動負荷KO群では、タンパク質分解に関わるCalpain-3とatrogin-1が抑制された。また、合成に関わるIRS-1と分解抑制に関わるPGC1 α が促進された。このことから、筋肉中に内在するIDsは、運動負荷により減少した筋肉重量を回復させるメカニズムに働いていると考えられた。さらに、運動負荷により筋線維タイプの遺伝子発現量を調べた結果、WT群では、遅筋線維の割合が高くなったが、KO群ではその割合が低いことが明らかとなった。これらの結果から、運動負荷高齢KO群では、WT群と比べて、運動パフォーマンス

スの低下、筋肉重量の減少、持久的運動負荷による遅筋線維の増加の抑制が認められた。また、複数の筋肉タンパク質代謝関連因子の発現量が WT 群のものと異なっており、これらの違いが、IDs の欠乏によりもたらされている可能性が示唆された。

第三章では、高齢マウスへの IDs 投与が、筋肉タンパク質代謝の回復をもたらすか否かを調べた。80 週齢の KO 群 (n=5) と WT 群 (n=5) に、IDs 溶液 (2000mg カルノシン+アンセリン/kg/day) を経口ゾンデで投与し、運動パフォーマンスと筋肉重量の変化を調べた。KO 群の運動パフォーマンスは、第二章の結果と同様に、WT 群のものよりも低かった。また、KO 群に IDs を投与しても、落ちた運動パフォーマンスを回復させることはできなかった。しかし、KO 群では、IDs の投与により、腓腹筋の重量が有意に ($p<0.05$) 高い値を示し、IDs の投与が減少した腓腹筋の筋肉重量を回復させる効果があることが判明した。筋肉タンパク質代謝関連遺伝子発現量では、KO 群において、IDs 投与群の分解因子 Cathepsin B および atrogen-1 の遺伝子発現量は、無投与群のものより有意に ($p<0.05$) 高い値を、また、AMPK $\alpha 1$ および分解抑制因子 PGC1 α の遺伝子発現量は、無投与群より有意に ($p<0.05$) 低い値を示したことから、IDs の投与が筋肉タンパク質の分解と合成を促進していることが示唆された。

以上の結果より、内在性 IDs は、マウスの骨格筋タンパク質代謝の正常化に不可欠であることが示唆された。この成果は筋肉内在性 IDs の生理作用を初めて示したものであり、IDs の重要性のみならず、高齢者のフレイル予防を目的とした筋肉タンパク質代謝研究の発展に大きく貢献する有意義なものといえよう。