

## 廃用性筋萎縮の回復期におけるヌクレオプロテイン摂取が筋タンパク質の合成と筋衛星細胞の増殖過程に及ぼす効果

中西 亮介<sup>1)</sup>, 平山 佑介<sup>1)</sup>, 田中 稔<sup>1,2)</sup>, 前重 伯壮<sup>1)</sup>, 近藤 浩代<sup>3)</sup>, 石原 昭彦<sup>4)</sup>, 藤野 英己<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>神戸大学大学院保健学研究科, <sup>2)</sup>大阪行岡医療大学医療学部理学療法学科,

<sup>3)</sup>名古屋女子大学家政学部食物栄養学科, <sup>4)</sup>京都大学大学院人間・環境学研究科

**key words** 筋回復・再荷重・ヌクレオプロテイン

### 【はじめに, 目的】

廃用性筋萎縮からの回復では収縮タンパク質の合成と筋衛星細胞の増殖・融合による筋核数の増加が必要である。これらの過程を促進させ、回復を促すために運動療法が実施されるが、より効率的に運動効果を引き出し、回復期間を短縮するために栄養素摂取との併用が有効であると報告されている。特にアミノ酸摂取は運動との併用により筋の肥大効果を高めると報告されている。また、ヌクレオチドの構成要素であるヌクレオシドは生体内の細胞周期を促進すると報告されているため、筋衛星細胞の融合を促進し、筋核の増加が促せると考えられる。そこで、萎縮後の回復期にアミノ酸とヌクレオチドを含む栄養素であるヌクレオプロテインを摂取することで、廃用性筋萎縮からの回復過程を促進できるかについて検証した。

### 【方法】

12週齢の雌性 Wistar ラットを対照群 (CON 群), 後肢非荷重群 (HU 群), 後肢非荷重終了後に再荷重を行った群 (HUR 群), 後肢非荷重終了後に再荷重を行い、ヌクレオプロテインを摂取した群 (HUR+NP 群) に区分した。ヌクレオプロテイン (日産化学工業) は 800mg/kg/日を経口摂取させた。HU 群, HUR 群及び HUR+NP 群は 14 日間の非荷重を行い, HUR 群及び HUR+NP 群は非荷重後に 5 日間の回復期間を設けた。実験期間終了後にヒラメ筋を摘出し, 急速凍結した。得られた筋サンプルはクライオスタットを用いて, 横断切片 (10 $\mu$ m) を作製し, ATPase 染色を施した。光学顕微鏡画像をデジタル化し, Image J (NIH, MD, USA) で筋線維横断面積 (CSA) を計測した。また, 免疫組織化学染色により細胞膜 (抗 Dystrophin), 筋衛星細胞 (抗 Pax-7), 核染色 (DAPI) を可視化し, 細胞膜内の核及び筋衛星細胞の数を算出した。さらにタンパク合成に関与する Akt-1, rpS6 のリン酸化及び総タンパク質発現量は Western Blot 法により測定し, リン酸化率を算出した (p-Akt-1/Akt-1, p-S6/S6)。得られた測定値の統計処理には一元配置分散分析と Tukey による多重比較検定を用い, 有意水準は 5% 未満とした。

### 【結果】

CSA は HU 群で CON 群と比較して有意に低値を示し, HUR 群は HU 群と比較して有意に高値を示した。また, HUR+NP 群は HUR 群と比較して有意に高値を示した。筋衛星細胞は CON 群と HU 群で有意な差はなく, HUR 群は CON 群, HU 群と比較して有意な増加が観察された。一方, HUR+NP 群は HUR 群と比較して有意な低下がみられた。また, 筋核数は HU 群で CON 群に比べ, 有意な低下が見られた。HUR 群は HU 群と比較して有意な差は認められず, HUR+NP 群で HUR 群と比較して有意な増加がみられた。p-Akt-1/Akt-1 の発現量は HU 群で CON 群と比較して有意に低値を示し, HUR 群で HU 群と比較して有意に高値を示した。一方, HUR+NP 群と HUR 群の間に有意な差は認められなかった。p-S6/S6 の発現量は HU 群で CON 群と比較して低値を示し, HUR 群は HU 群と比較して有意に高値を示し, HUR+NP 群は HUR 群と比較して有意に高値を示した。

### 【考察】

本研究では廃用性筋萎縮からの回復期に再荷重に加え, ヌクレオプロテイン摂取をすることでタンパク質合成に関与する mTOR 経路を活性化させると共に筋核数の増加を促すことが確認された。ヌクレオプロテインの構成成分であるアミノ酸は mTOR を活性化させ, 下流因子であるタンパク質合成の促進に直接作用する S6 を活性化するが, Akt-1 を経由しないことが報告されている。このため, ヌクレオプロテイン摂取では Akt-1 に変化を認めなかったが, S6 の活性化を促したものと考えられる。また, ヌクレオプロテイン摂取で筋衛星細胞数の低下及び筋核数の増加が認められた。ヌクレオプロテインの成分であるヌクレオシドの添加は細胞周期の移行を促すと報告されている。また, 筋衛星細胞が活性化すると細胞増殖周期に入り, 増殖を繰り返した後, 細胞周期を停止させ, 筋線維との融合することが報告されている。このためにヌクレオプロテイン摂取では筋衛星細胞の増殖過程を促進させ, 融合が早期に行われ, 筋核の増加が認められたものと考えられる。これらの結果から後肢非荷重後の回復期にヌクレオプロテイン摂取することで筋タンパク質合成と筋衛星細胞の増殖過程を促進させ, 筋萎縮からの回復を促すことができると考えられる。

### 【理学療法学研究としての意義】

本研究の結果から従来の荷重運動刺激に加え, ヌクレオプロテイン摂取を組み合わせることで筋萎縮からの早期回復効果を高める手段となり得ることが示唆された点で理学療法分野において意義があると考えられる。