

## 学 位 論 文 要 旨

### 老齡マウス骨格筋の筋線維タイプ単位におけるサルコペニアの筋病態解析 Fiber type specific skeletal muscle pathology in sarcopenia with aging mice

応用生命科学専攻  
応用生物化学大講座  
福永 大地

**【背景】** 加齢に伴う骨格筋の萎縮および筋機能の低下と定義されるサルコペニアは、高齢者の身体活動を損なう主要な要因となっている。近年、サルコペニアを定義する上で、従来からの指標である筋量や筋力の低下だけでなく、筋質の変化も考慮する必要性が報告された。サルコペニアの新しい定義に基づいたサルコペニア発症メカニズムの解明は、効果的な治療および予防方法の開発につながる可能性がある。また、筋質の変化を明らかにすることで、老齡マウスなどの非臨床動物モデルを用いて薬理的介入の有効性を病理学的に評価することが可能となることから、筋病理学的なサルコペニアの定義を確立することは重要である。これまでの先行研究の結果から、サルコペニア発症要因として、ミトコンドリア機能障害や筋蛋白質分解・合成バランスの変化などが考えられている。しかし、それらの詳細な因果関係は未解明である。骨格筋は、代謝と収縮特性の違いによって酸化系代謝の遅筋線維や解糖系代謝の速筋線維など複数の筋線維タイプから成るヘテロな細胞集団であり、筋線維タイプの性質変化とサルコペニアとの関連性が示唆されている。これまでに、加齢に伴うミトコンドリア機能低下や、筋蛋白質分解の変化は筋線維タイプ特異性を示すことが示唆されているが、筋線維タイプ単位の筋病態の加齢変化については不明な点が多い。**【目的】** ミトコンドリア機能と形態の加齢変化を筋線維タイプ単位で解析し、ミトコンドリア病態の加齢変化とサルコペニアとの関連性について明らかにすること、筋蛋白質分解の指標である E3 ユビキチンリガーゼ Muscle RING-Finger Protein-1 (MuRF1) 発現変化を筋線維タイプ単位で解析し、加齢に伴う筋線維萎縮と筋蛋白質分解の変化との関連性についての見識を

深めること、これらの筋病態変化に関与する分子メカニズムを検討することを目的とした。[方法] 本研究では、若齢群（6-8ヶ月齢, young）、中齢群（19-20ヶ月齢, middle-aged）、高齢群（29-32ヶ月齢, old）の雌マウスを用いた。遅筋優位筋のひらめ筋（soleus; SOL, 主に type I と IIA 線維で構成される）と速筋優位筋の長趾伸筋（extensor digitorum longus; EDL, 主に type IIX と IIB 線維で構成される）の2つの下肢骨格筋における、筋病理および機能を解析した。筋病理は、凍結筋横断切片の連続切片を作製し、ミトコンドリア病理染色、筋線維タイプや MuRF1 に対する免疫染色を行った。得られた染色像を、画像解析ソフト Image-J を用いて定量的に解析した。酸化的リン酸化機能（oxidative phosphorylation, OXPHOS）を解析するために、high-resolution oxygen sensor を用いた測定を行った。また、ミトコンドリア関連遺伝子、酸化ストレス関連遺伝子、筋蛋白質分解・合成関連遺伝子の mRNA 発現変化を解析した。[結果] old 群の SOL と EDL はともに筋重量の減少を認めた。筋線維形態を解析した結果、old 群の SOL において、type IIA と IIX/IIB 線維数の減少を認めた。old 群の EDL において、type IIB 線維の数と面積の減少を認め、type IIB 面積の低下は middle-aged 群から認められた。ミトコンドリア病理解析の結果、加齢した SOL において、type I 線維特異的なミトコンドリア呼吸酵素（cytochrome c oxidase; COX、nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase-tetrazolium reductase; NADH-TR）活性の減少および、type I と IIA 線維における subsarcolemmal 領域のミトコンドリア蓄積が認められた。筋の呼吸機能測定の結果、加齢した SOL において OXPHOS 機能低下を認めた。このようなミトコンドリア病態変化は、筋重量減少に先行して middle-aged 群で認められたが、筋線維萎縮との相関は小さいことを明らかにした。また、SOL におけるミトコンドリア蓄積は、ミトコンドリア病理染色性の違いから、従来から知られているミトコンドリア病理像 ragged red fibers（RRFs）とは異なる所見であることを示した。さらに、低酸素状態が関与した酸化ストレスの蓄積が、SOL におけるミトコンドリア病態変化に関連している可能性を示した。EDL においては、明確なミトコンドリア病態変化を認めなかった。一方、middle-aged 群の EDL において、type IIX と IIB 線維における MuRF1 発現上昇を認めた。middle-aged 群の SOL においては、筋蛋白質合成関連遺伝子である insulin-like growth factor 1（IGF1）の発現減少を認めた。[考察] 加齢に伴うミトコンドリア病態変化は、筋線維の萎縮を誘導するのではなく、筋の酸化的代謝機能の低下などの筋の質的な変化に関与することが示唆された。SOL と EDL における筋線維の萎縮においては、それぞれ、MuRF1 発現上昇を介した筋蛋白質分解亢進や、IGF1 発現減少を介した筋蛋白質合成低下の関与が考えられた。本研究において、サルコペニアは筋線維タイプ単位で発症メカニズムが異なることが示され、予想以上に複雑なメカニズムが存在する可能性が考えられた。サルコペニア発症メカニズムの更なる解明が必要であるが、本研究の結果は、サルコペニア動物モデルとしての筋病理学的な所見として有用な指標になると考えられた。