

## マウスにおける紅茶高分子ポリフェノールの筋萎縮抑制効果の検討

青木 祐樹 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 沼田 治 (筑波大学 生命環境系)

### 背景及び目的

高齢者の人口増加に伴う医療費、介護費などの社会保障費の増大は現代日本における大きな課題の一つである。その大きな要因の一つとなっているのが、運動能力の低下による転倒からの寝たきりの増加である。サルコペニアと呼ばれる加齢に伴って生じる骨格筋量と骨格筋力の低下が転倒を引き起こす原因となっている。

一般的に骨格筋量は40代から減少し始め、60代でその減少率は大きくなる。一般的にレジスタンス運動を中心とした運動療法により、骨格筋量の維持は可能である。しかし、高齢者の運動療法は、現実的に難しい。つまり、サプリメント等の手軽かつ副作用の少ない処方が期待される。

近年、お茶等に含まれる高分子ポリフェノールが生体において有益な効果を示すことが次々と見出され、注目を浴びている。紅茶に含まれる高分子ポリフェノールの1種であるMAF (Mitochondria Activation Factor) がマウスの運動能力を高めることが示唆されている (Eguchi et al, 2013)。MAFは紅茶抽出物であることから、副作用が少ないことが予想され、サプリメントとして応用性が高いと考えられる。

骨格筋の萎縮モデルとして、げっ歯類の坐骨神経を一部切除することで、下腿の運動機能を麻痺させ、下腿骨格筋の萎縮を引き起こさせる除神経 (Denervation) が広く知られている。

本研究では、MAFを含む紅茶抽出成分であるE80を用いて、除神経時におこる骨格筋の萎縮が抑制できないか検討した。

### 方法

#### 1. 実験動物

C57BL/6 マウス 雄8週齢

#### 2. 実験群

神経切除なし : Nontreat 群 (n = 8)

神経切除 : Den 群 (n = 8)

神経切除 + E80 : Den + E80 群 (n = 8)

#### 3. 実験方法

1週間の順化後、2週間E80を事前投与し、除神経を行い0日後、4日後、7日後にサンプリングを行った。

	1weeks	2weeks	0day	4day	7day
Nontreat	順化	粉末餌	擬手術	サンプリング	サンプリング
Den	順化	粉末餌	除神経 サンプリング	サンプリング	サンプリング
Den +0.5% E80	順化	粉末餌 +0.5% E80投与	除神経オペ サンプリング	サンプリング	サンプリング

### 解析

・組織切片染色

凍結切片を作成し、切片をHE染色後、筋繊維横断面積を測定した。

・定量RT-PCR

定量RT-PCRにより、萎縮の指標として、骨格筋特異的ユビキチンリガーゼであるMAFbx, Murf1等の発現量を測定した。

・Western Blot

Western Blot法により、骨格筋萎縮のMajor PathwayであるSmad, Foxo等のリン酸化を測定した。

### 結果と考察

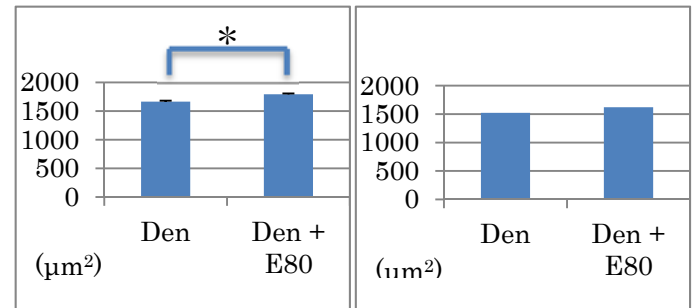


図1. 除神経4日(左)、7日(右)後に置ける腓腹筋の筋線維面積

\* = P < 0.05 Den vs Den + E80

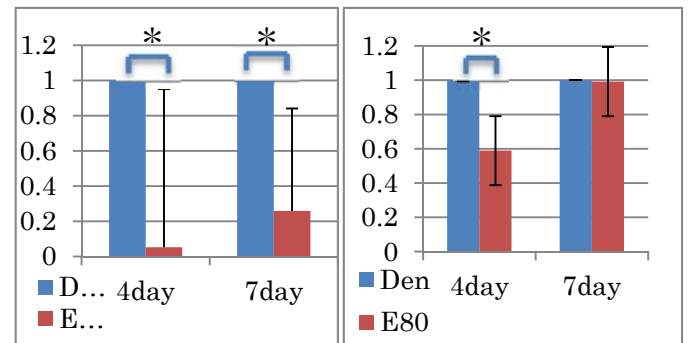


図2. 除神経4, 7日後に置ける腓腹筋のMAFbx(左), Murf1(右)mRNA発現量

\* = P < 0.05 Den vs Den + E80

2週間のE80の予備投与で、除神経によるマウスの下腿骨格筋における筋萎縮が抑制されることが示唆された(図1)。除神経4日後の群においては大きく筋萎縮が抑制されたが、7日後においてはその度合いは低くなった。骨格筋において萎縮を引き起こす遺伝子(MAFbx, Murf1)の発現量も、4日後では双方とも大きく抑えられていたが、7日後ではMurf1の発現量に変化がなかった(図2)。これについては、除神経において初期段階(〜3日)と後期段階(4日〜)で、萎縮時に働く遺伝子が変化することが先行研究で示唆されている(Tang H et al, 2014)。したがって、E80の筋萎縮抑制効果が主に初期段階の筋萎縮シグナルカスケードに影響を及ぼしていると考えられる。しかし、除神経時の初期段階に発現量が大きく上昇するMyogeninの発現量は4日後と7日後の群で大きな変化はなかった。除神経のシグナルカスケードは未解明な部分が多く、完全なメカニズムは明らかにされていないが、現在、このシグナルカスケードに関連することが判明しているタンパク質を解析中である。