



# Nucleoprotein supplementation enhances the recovery of rat soleus mass with reloading after hindlimb unloading-induced atrophy via myonuclei accretion and increased protein...

Nakanishi, Ryosuke

---

(Degree)

博士（保健学）

(Date of Degree)

2017-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6903号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006903>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(様式3)

## 論文内容の要旨

専攻領域：リハビリテーション科学

専攻分野：運動機能障害学

氏 名：中西 亮介

論文題目(外国語の場合は、その和訳を( )を付して併記すること.)

**Nucleoprotein supplementation enhances the recovery of rat soleus mass with reloading after hindlimb unloading-induced atrophy via myonuclei accretion and increased protein synthesis**

(ヌクレオプロテイン摂取は筋タンパク質の合成と筋核数の増加を介し、後肢非荷重に伴うラットヒラメ筋の筋萎縮からの回復を促進させる)

論文内容の要旨(1,000字～2,000字でまとめること.)

【背景】廃用性筋萎縮からの回復では骨格筋タンパク質の合成と筋衛星細胞の増殖、分化・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、回復を促すために荷重刺激が実施されるが、より効率的に効果を引き出し、回復期間を短縮するために栄養補助療法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、筋核の増加を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が、廃用性筋萎縮からの回復過程に与える効果を検証した。

【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)、後肢非荷重後に再荷重を行った群(HUR群)、後肢非荷重後に再荷重を行い、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(12μm)を作製し、ATPase染色を施した後に筋線維横断面積(CSAs)を計測した。

また、筋タンパク質合成に関与するAkt-1、rpS6のリン酸化及び総タンパク質発現量をWestern Blotting法により測定し、リン酸化率を算出した(p-Akt-1/Akt-1、p-rpS6/rpS6)。さらに免疫組織化学染色により細胞膜(抗Dystrophin)、休止期の筋衛星細胞(抗Pax-7)、増殖期の筋衛星細胞(抗MyoD)、分化・融合期の筋衛星細胞(抗myogenin)および核染色(DAPI)を可視化することで休止、増殖、分化・融合期にある筋衛星細胞及び筋核の数を算出した。

【結果】CSAs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。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-rpS6/rpS6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。Pax-7陽性核数とMyoD陽性核数は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。一方でHUR+NP群はHUR群と比較して有意に低値を示した。myogenin陽性核数および筋核数は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。

【考察】本研究では廃用性筋萎縮からの回復期に、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経路の活性化を促すと共に筋衛星細胞の分化・融合期を示すmyogenin及び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rpS6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、rpS6の活性化を促したと考えられる。また、ヌクレオプロテイン摂取で休止期や増殖期にあるPax7陽性核並びにMyoD陽性核の減少が認められた一方で分化・融合期にあるmyogenin陽性核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チ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に増殖過程を停止させ、分化・融合期へと移行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た結果Pax7陽性核並びにMyoD陽性核の減少が確認され、myogenin陽性核並びに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おけるヌクレオプロテインの摂取は筋タンパク質合成と筋衛星細胞の増殖過程を促進させ、筋核数を増加させることで、筋萎縮からの回復を促すことができると考えられる。

指導教員氏名：藤野 英己教授

(別紙1)

## 論文審査の結果の要旨

氏 名	中西 亮介		
論 文 題 目	Nucleoprotein supplementation enhances the recovery of rat soleus mass with reloading after hindlimb unloading-induced atrophy via myonuclei accretion and increased protein synthesis (ヌクレオプロテイン摂取は筋タンパク質の合成と筋核数の増加を介し、後肢非荷重に伴うラットヒラメ筋の筋萎縮からの回復を促進させる)		
審 査 委 員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教授	藤野英己
	副 査	教授	秋末敏宏
	副 査		
	副 査		
要 旨			
<p>本研究は骨格筋萎縮の回復期でのヌクレオプロテイン摂取の効果を検証したものである。ヌクレオプロテイン摂取による骨格筋の回復促進作用を検証するため、ラットヒラメ筋を用いて、免疫組織学的にサテライト細胞の休止、増殖、分化・融合期の状態を観察し、筋タンパク質合成に関与する Akt-1, rpS6 のリン酸化を測定した。その結果、ヌクレオプロテイン摂取により筋線維横断面積の回復が促された。本研究では廃用性筋萎縮からの回復期のヌクレオプロテイン摂取はタンパク質合成に関与する mTOR 経路の活性化を促すと共にサテライト細胞の分化・融合期を示す myogenin 及び筋核数の増加を促すことを確認した。さらに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 rpS6 を活性化するが、Akt-1 を経由しないことを示した。これらの結果からヌクレオプロテイン摂取はサテライト細胞の増殖過程を促進させ、融合を早めることを明らかにした。これらの結果は筋萎縮の回復期におけるヌクレオプロテイン摂取は筋タンパク質合成と筋衛星細胞の増殖過程を促進させ、筋核数を増加させることで、筋萎縮からの回復を促すことができることを示したものである。本研究で検証した結果は妥当であり、その解釈も適切と考えられる。本研究で明らかにされた知見はリハビリテーション科学分野の発展に寄与する価値ある集積であることを認める。よって、学位申請者の中西亮介氏は博士（保健学）の学位を得る資格があると認める。</p>			
掲載論文名・著者名・掲載（予定）誌名・巻（号）、頁、発行（予定）年を記入してください。 Nucleoprotein supplementation enhances the recovery of rat soleus mass with reloading after hindlimb unloading-induced atrophy via myonuclei accretion and increased protein synthesis. Nakanishi R, Hirayama Y, Tanaka M, Maeshige N, Kondo H, Ishihara A, Roy RR, Fujino H. Nutrition Research 36, 1335-1344. 2016.			