

FOODSTYLE21

食品の機能と健康を考える科学情報誌

08

AUGUST 2021

- 291 -

フレイル対策

骨と骨格筋からの心身の健康

食のミライ技術フェア 2021

開催ガイド | 9月9・10日 日本社会教育会館



骨格筋の働きと健康： 肥満・生活習慣病と筋萎縮

京都府立大学大学院 すぎもと たくみ 杉本 拓海、みずたに さ こ 水谷 彩子、かめ い やすとみ 亀井 康富

はじめに

骨格筋はヒトの体重の約40%を占める人体で最も大きな組織であり、タンパク質(アミノ酸)の形でエネルギー貯蔵を行っている。骨格筋は環境の変化に順応する可塑性があり、適切な運動トレーニングと十分な栄養により肥大する。一方、寝たきりや加齢などによって、骨格筋の萎縮が生じる。その結果、エネルギー消費減少(肥満)や糖取り込み能の低下・血糖値上昇(糖尿病)そして生活の質(quality of life, QOL)の低下へと向かう。超高齢社会を迎えたわが国において、筋萎縮の抑制は健康寿命延長の観点から重要な課題である。さらに、生活習慣病の予防やQOLの維持に大きな役割を果たす骨格筋代謝の分子機序を理解することは、国民の健康維持・増進を目指した筋機能不全の予防法開発のために重要である。本稿では、骨格筋代謝に関連する研究を、われわれの研究成果も含めて紹介する。

1. 転写調節因子PGC-1 α と骨格筋アミノ酸代謝

PPAR γ coactivator 1 α (PGC-1 α)はさまざまな核内受容体の転写共役因子(転写調節因子)であり、脂肪酸酸化などの遺伝子発現を活性化する¹⁾。また、PGC-1 α は骨格筋でのミトコンドリアの生合成や筋線維タイプ(赤筋・白筋)の制御に重要である。PGC-1 α は持続的な運動によって骨格筋で発現が増加することが知られている。PGC-1 α を骨格筋特異的に過剰発現したマウス(PGC-1 α -Tgマウス)には、ミトコンドリアが多く存在し、有酸素運動能力に優れた赤筋化が認められ、持久的運動能力が向上する²⁾。つまり、骨格筋においてPGC-1 α は運動のマスターレギュレーターであると言える。

われわれは、PGC-1 α の発現増加によって生じる表現型を説明する遺伝子発現変化を調べるために、PGC-1 α -Tgマウスの骨格筋において網羅的な遺伝子発現および代謝産物変化の解析を行った。その結果、PGC-1 α -Tgマウスの骨格筋において分岐鎖アミノ酸(BCAA)代謝酵素であるBCATやBCKDHの発現増加が認められた。すなわち、PGC-1 α によって活性化することが既に知られ

ている脂肪酸代謝などのほか、これまでにPGC-1 α との関連が知られていなかったBCAA代謝経路が亢進していることが明らかとなった^{3, 4)}。また一方で、骨格筋特異的にPGC-1 α を欠損したマウスにおいてBCAA代謝酵素の遺伝子発現が低下していることも見出した⁵⁾。BCAAは運動時の骨格筋の重要なエネルギー源であるが、これまでBCAAが運動時にどのようなメカニズムでエネルギー源として利用されるかの詳細は不明であった。これらの結果から、運動時の骨格筋においてPGC-1 α を介してBCAA利用が促進されることが示唆された^{3, 4)}。

2. PGC-1 α によって骨格筋から分泌されるアミノ酸関連分子

運動トレーニングは筋タンパク質合成を促進し、筋肥大を誘導する。また、有酸素運動は骨格筋においてミトコンドリア生合成を促進させる他、赤筋化、脂肪酸酸化、血管新生を促進させ、エネルギー代謝を活性化させて筋機能を高めることが知られている。一方、運動は骨格筋のみならず、全身健康に良い効果を示すことが知られている。例えば、運動によりストレス解消、糖取り込み、脂肪燃焼などが起こる。これらの効果に関して、骨格筋から分泌される生理活性物質(マイオカイン)の関与が示唆されている。

メタボローム解析において、PGC-1 α -Tgマウスの骨格筋ではアミノ酸代謝産物である β アミノイソ酪酸(BAIBA)や γ アミノ酪酸(GABA)の量が顕著に増加していた⁴⁾。運動時の骨格筋においてBAIBAが分泌され、白色脂肪組織を褐色化してエネルギー消費を増加させることが報告されている⁶⁾。また、GABAの摂取は高血圧の改善に有効であることが知られている。適度な運動は高血圧を改善するが、運動時に発現が増加するPGC-1 α によるGABAの産生はその作用機序を担っているかもしれない。BAIBAやGABAは運動時の骨格筋から分泌され、他臓器に影響を及ぼす新たなマイオカインである可能性がある(図1)。すなわち、運動による生活習慣病改善などの臓器間相互作用の効果を説明する新たな機序であるかもしれない。

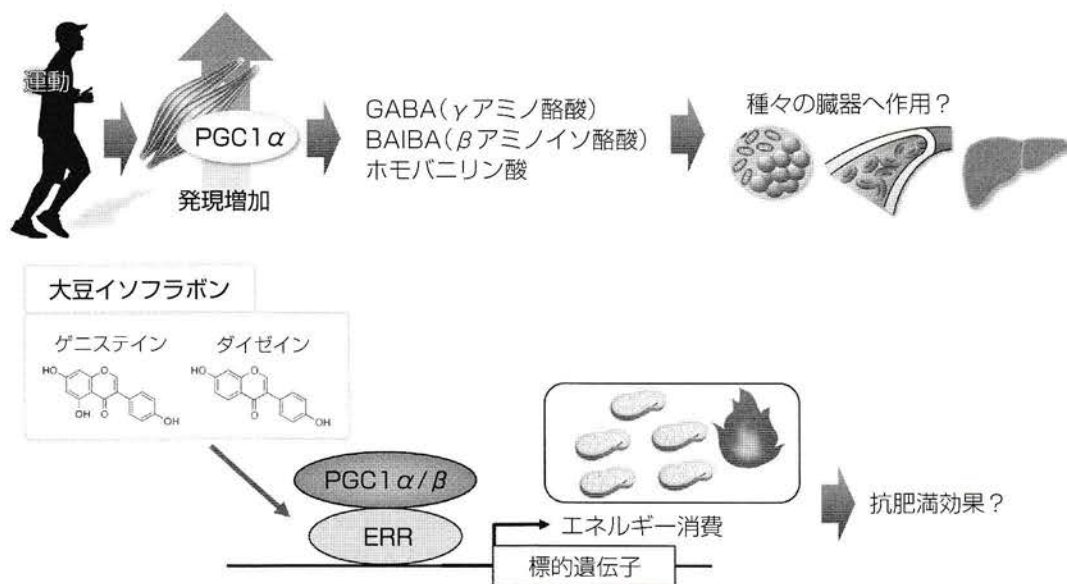


図1 大豆イソフラボンによるPGC-1 α/β 、ERRの活性化

PGC-1 α -Tgマウスの骨格筋では内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)の発現量の増加とともに、骨格筋での血管の量が増加している²⁾。これは運動時に骨格筋に栄養素や酸素を運搬するのに適した状態であるといえる。この一酸化窒素(NO)はアルギニンから産生される。一方、アルギニンは経口摂取した際に腸管で多く分解を受けるため、アルギニンの前駆体であるシトルリン摂取で血中のアルギニン量増加が報告されている⁷⁾。このため、シトルリン摂取によるNOの増加によって骨格筋の血流改善が可能かもしれない。

さらにわれわれはPGC-1 α -Tgマウスの血液中でホモバニリン酸の量が顕著に増加することを見出した(図1)⁸⁾。ヒトの運動によって血中ホモバニリン酸の量が増加することが知られており^{9, 10)}、ホモバニリン酸は何らかのマイオカイン作用を有する可能性、あるいはヒトの日常の運動量を推定する血中マーカーになる可能性があり、今後のさらなる研究が期待される。

3. 大豆イソフラボンによるPGC-1 α ・PGC-1 β の活性化

それでは、どのような食品によってPGC-1 α は活性化しうのでしょうか？ われわれは大豆イソフラボンを有力な候補食品成分と考えている。大豆イソフラボンのもつ抗肥満効果について、われわれは培養細胞を用いた検討を行った。その結果、大豆イソフラボンであるゲニステインおよびダイゼインは、エネルギー消費促進に働く転写調節因子PGC-1 β (PGC-1 α の相同因子)を活性化し、さらにC2C12筋芽細胞において脂肪酸酸化に関わる

酵素(中鎖脂肪酸脱水素酵素、MCAD)の遺伝子発現およびミトコンドリア活性を増加させた¹¹⁾。PGC-1 β は核内受容体であるエストロゲン関連受容体(ER)を選択的に活性化する¹⁾。またゲニステインおよびダイゼインはERRのアゴニストとして働くことが報告されている¹²⁾。したがって大豆イソフラボンはPGC-1 β /ERRの活性化を介して抗肥満効果を持つ可能性が示された(図1)。

またPGC-1 α に関する報告もある。PGC-1 α は脱アセチル化酵素SIRT1によって脱アセチル化され、転写活性が増加する¹³⁾。ゲニステインおよびダイゼインはこのSIRT1の発現を増加させ、PGC-1 α を脱アセチル化し、ミトコンドリア生合成を促進(ATP合成酵素 β 、ND6のタンパク質量を増加)させることが報告されている¹⁴⁾。したがって大豆イソフラボンはSIRT1とPGC-1 α /ERRを介して抗肥満に働く可能性がある(図1)。

さらに、高脂肪餌による食事誘導性肥満ラットにおいて、大豆イソフラボン含有高脂肪餌(150mg/kgおよび450mg/kg)を与えたところ、体重と内臓脂肪重量、内臓脂肪細胞面積の減少、および内臓脂肪合成の抑制と脂肪加水分解の促進が見られたとの報告もある¹⁵⁾。これらの研究から、大豆イソフラボンは肥満の予防・改善に効果を持つ可能性が示唆されている。

4. FOXO1と筋萎縮

筋萎縮はがん・糖尿病・エイズなどの病気、老化、栄養不足(飢餓)、あるいはギプス固定をして骨格筋を長い間使用しない場合などに生じ、筋萎縮による骨格筋機能低下のためにQOLの低下がもたらされる。

Forkhead box protein O1 (FOXO1) はフォークヘッド型の転写因子である。われわれはこれまで、個体レベルでFOXO1の骨格筋代謝調節機構を検討してきた。エネルギー欠乏により骨格筋におけるFOXO1の遺伝子発現が増加することを踏まえ、FOXO1を骨格筋特異的に過剰発現する遺伝子改変マウスを作製し、FOXO1が筋萎縮を引き起こすことを示した¹⁶⁾。FOXO1の発現増加は低栄養や不活動、がんなどの病態下などでの筋萎縮時に共通して認められ、筋萎縮の原因となっていることが示唆された。FOXO1およびその類似体であるFOXO3aはユビキチン・プロテアソーム系によるタンパク質分解やオートファジーの亢進などさまざまな機序により筋萎縮を引き起こすことが明らかになっている¹⁶⁾。われわれの最近の研究では、ビタミンDが筋萎縮に関連する転写因子の活性を抑制する可能性を明らかにした(図2)。われわれはFOXO1の転写活性を測定する独自のレポーターアッセイ系を確立し、種々の食品・植物等由来の化合物をスクリーニングしたところ、1,25(OH)₂D(1,25ジヒドロキシビタミンD、活性型ビタミンD)がFOXO1の転写活性を抑制することを見出した。さらに、1,25(OH)₂Dはデキサメタゾン誘導性の筋萎縮条件下においたC2C12筋芽細胞においてFOXO1の標的筋萎縮遺伝子(Atrogin1、カテプシンL)の発現増加を抑制した¹⁷⁾。FOXOタンパク質はフォークヘッドドメインを介してDNAに結合し、転写因子として遺伝子発現調節を行う。また、FOXOはいくつかの核内ホルモン受容体とタンパク質-タンパク質相互作用し、転写共役因子として遺伝子発現調節を行う¹⁸⁾。ビタミンDは核内受容体であるビタミンD受容体(VDR)を介して遺伝子発現制御をするため¹⁹⁾、FOXO1との相互作用が示唆される(図2)。

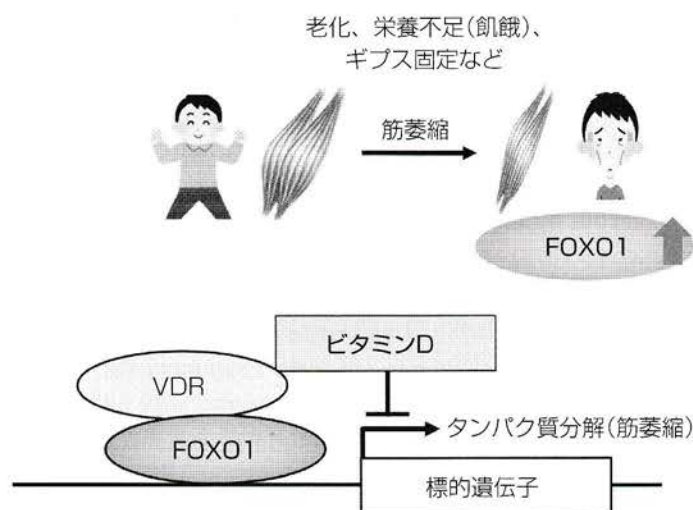


図2 ビタミンDのFOXO1との相互関係

5. ビタミンDとサルコペニア (加齢性筋機能低下)

近年、ビタミンDと筋機能に関連があることが示唆されている。血清25(OH)D(25ヒドロキシビタミンD)濃度が<30 ng/mL(75 nM)で不足、<20 ng/mL(50 nM)で欠乏と判定される²⁰⁾。Okunoらによると、65歳以上の80人の地域在住の日本人高齢女性を対象とした研究では、血清25(OH)D濃度が欠乏している人が28%、不足している人が89%おり、このうち3カ月の試験期間中に不足・欠乏している者の56.3%が転倒を経験した²¹⁾。他の報告では、ビタミンD投与による高齢者の転倒、骨折への影響を調べた5つのランダム化比較試験のメタアナリシスによると、ビタミンDを摂取した群ではカルシウムのみあるいはプラセボを投与した群と比較して、転倒のリスクが22%低下することを示した。またこの研究では、血清25(OH)D濃度が低い人ほど転倒リスクが高く、ビタミンDの摂取がおおむね10 μg/日(400 IU)では骨折を抑制できず、20 μg/日(800 IU)で有意に骨折を抑制できていたことが示された²²⁾。さらに、高齢者において血中ビタミンD濃度が低い群で握力低下者の割合が高く、サルコペニアの割合も高いことが報告されている²³⁾。ビタミンDの自然な合成のためには日光への曝露を必要とするが、高齢になり外出時間が減少することで合成が減り、さらに加齢により皮膚でプレビタミンDを生成する能力が2倍以上減少することが、加齢でビタミンD濃度が減少する要因となっている可能性が報告されている²⁴⁾。加えて、加齢による1,25(OH)₂Dを合成する腎臓の能力の低下も一つの要因である²⁵⁾。

一方、サルコペニアによって肥満が生じることが知られている(サルコペニア肥満)。体脂肪量と血清25(OH)D濃度には負の相関関係がある。肥満者では高頻度でビタミンD欠乏が見られ、閉経後女性においてはビタミンD欠乏で肥満者の割合が多く筋力が弱い²⁶⁾。加えて、3T3-L1前駆脂肪細胞へのビタミンDの添加は、脂肪分化を抑制した²⁷⁾。つまり、ビタミンDは脂肪細胞形成を抑制し、サルコペニア肥満改善に効果があるかもしれない。

おわりに

骨格筋代謝は栄養学的に重要な現象だが、関連する酵素類の発現制御の分子機序は不明な点が多い。われわれの検討結果から、転写調節因子PGC-1αやPGC-1βおよびFOXO1が骨格筋代謝の主要な制御因子として機能すると考えている(図3)。



図3 骨格筋代謝の主要な制御因子

今後の研究では、これら転写調節因子に着目した骨格筋機能変化の分子機序解析が必要となる。この解析により、運動機能改善と筋萎縮予防の分子機序の理解に結びつき、栄養科学のみならず運動生理学および健康医学研究の進展において意義あるものである。また、この研究により筋機能活性化のためのスクリーニング系が確立されるとともに食品成分による筋機能改善のための科学的エビデンスが得られ、新しい機能性食品開発の手がかりになるものである。

《《《《 参考文献 》》》》

- 1) Kamei Y, Ohizumi H, Fujitani Y, Nemoto T, Tanaka T, Takahashi N, Kawada T, Miyoshi M, Ezaki O, and Kakizuka A : PPARgamma coactivator 1beta/ERR ligand 1 is an ERR protein ligand, whose expression induces a high-energy expenditure and antagonizes obesity, *Proc Natl Acad Sci USA*, **100**, 12378-12383 (2003)
- 2) Tadaishi M, Miura S, Kai Y, Kano Y, Oishi Y, and Ezaki O : Skeletal muscle-specific expression of PGC-1 α -b, an exercise-responsive isoform, increases exercise capacity and peak oxygen uptake. *PLoS One*, **6**, e28290(2011)
- 3) Hatazawa Y, Tadaishi M, Nagaike Y, Morita A, Ogawa Y, Ezaki O, Takai-Igarashi T, Kitauro Y, Shimomura Y, Kamei Y, and Miura S : PGC-1 α -mediated branched-chain amino acid metabolism in the skeletal muscle, *PLoS One*, **9**, e91006(2014)
- 4) Hatazawa Y, Senoo N, Tadaishi M, Ogawa Y, Ezaki O, Kamei Y, and Miura S : Metabolomic Analysis of the Skeletal Muscle of Mice Overexpressing PGC-1 α . *PLoS One*, **10**, e0129084(2015)
- 5) Hatazawa Y, Minami K, Yoshimura R, Onishi T, Manio M C, Inoue K, Sawada N, Suzuki O, Miura S, and Kamei Y : Deletion of the transcriptional coactivator PGC1 α in skeletal muscles is associated with reduced expression of genes related to oxidative muscle function, *Biochem Biophys Res Commun*, **481**, 251-258(2016)
- 6) Roberts L D, Boström P, O'Sullivan J F, Schinzel R T, Lewis G D, Dejam A, Lee Y K, Palma M J, Calhoun S, Georgiadi A, Chen M H, Ramachandran V S, Larson M G, Bouchard C, Rankinen T, Souza A L, Clish C B, Wang T J, Estall J L, Soukas A A, Cowan C A, Spiegelman B M, and Gerszten R E : β -Aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic β -oxidation and is inversely correlated with cardiometabolic risk factors, *Cell Metab*, **19**, 96-108(2014)
- 7) Schwedhelm E, Maas R, Freese R, Jung D, Lukacs Z, Jambrecina A, Spickler W, Schulze F, and Böger R H : Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral L-citrulline and L-arginine, impact on nitric oxide metabolism, *Br J Clin Pharmacol*, **65**, 51-59(2008)
- 8) Sugimoto T, Uchitomi R, Hatazawa Y, Miura S, and Kamei Y : Metabolomic analysis on blood of transgenic mice overexpressing PGC-1 α in skeletal muscle, *Biosci Biotechnol Biochem*, **85**, 579-586(2021)
- 9) Anggård E, Sjöquist B, Fyrö B, and Sedvall G : Quantitative determination of homovanillic acid in serum by mass fragmentography, *Eur J Pharmacol*, **24**, 37-42(1973)
- 10) Kendler K S, Mohs R C, and Davis K L : The effects of diet and physical activity on plasma homovanillic acid in normal human subjects, *Psychiatry Res*, **8**, 215-223(1983)
- 11) Uchitomi R, Nakai S, Matsuda R, Onishi T, Miura S, Hatazawa Y, and Kamei Y : Genistein, daidzein, and resveratrols stimulate PGC-1 β -mediated gene expression, *Biochem Biophys Res*, **17**, 51-55(2019)

- 12) Suetsugi M, Su L, Karlsberg K, Yuan Y C, and Chen S : Flavone and isoflavone phytoestrogens are agonists of estrogen-related receptors, *Mol Cancer Res*, **1**, 981-991(2003)
- 13) Rodgers J T, Lerin C, Haas W, Gygi S P, Spiegelman B M, and Puigserver P : Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1, *Nature*, **434**, 113-118(2005)
- 14) Rasbach K A, and Schnellmann R G : Isoflavones promote mitochondrial biogenesis, *J Pharmacol Exp Ther*, **325**, 536-543(2008)
- 15) Tan J, Huang C, Luo Q, Liu W, Cheng D, Li Y, Xia Y, Li C, Tang L, Fang J, Pan K, Ou Y, Cheng A, and Chen Z : Soy Isoflavones Ameliorate Fatty Acid Metabolism of Visceral Adipose Tissue by Increasing the AMPK Activity in Male Rats with Diet-Induced Obesity(DIO), *Molecules*, **24**(2019)
- 16) Kamei Y, Miura S, Suzuki M, Kai Y, Mizukami J, Taniguchi T, Mochida K, Hata T, Matsuda J, Aburatani H, Nishino I, and Ezaki O : Skeletal muscle FOXO1(FKHR) transgenic mice have less skeletal muscle mass, down-regulated Type I(slow twitch/red muscle) fiber genes, and impaired glycemic control, *J Biol Chem*, **279**, 41114-41123(2004)
- 17) Hirose Y, Onishi T, Miura S, Hatazawa Y, and Kamei Y : Vitamin D Attenuates FOXO1-Target Atrophy Gene Expression in C2C12 Muscle Cells, *J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo)* **64**, 229-232(2018)
- 18) Kodama S, Koike C, Negishi M, and Yamamoto Y : Nuclear receptors CAR and PXR cross talk with FOXO1 to regulate genes that encode drug-metabolizing and gluconeogenic enzymes, *Mol Cell Biol*, **24**, 7931-7940(2004)
- 19) Kamei Y, Kawada T, Fukuwatari T, Ono T, Kato S, and Sugimoto E : Cloning and sequencing of the gene encoding the mouse vitamin D receptor, *Gene*, **152**, 281-282(1995)
- 20) Okazaki R, Ozono K, Fukumoto S, Inoue D, Yamauchi M, Minagawa M, Michigami T, Takeuchi Y, Matsumoto T, and Sugimoto T : Assessment criteria for vitamin D deficiency/insufficiency in Japan: proposal by an expert panel supported by the Research Program of Intractable Diseases, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan, the Japanese Society for Bone and Mineral Research and the Japan Endocrine Society [Opinion], *J Bone Miner Metab*, **35**, 1-5(2017)
- 21) Okuno J, Tomura S, Yabushita N, Kim M J, Okura T, Tanaka K, and Yanagi H : Effects of serum 25-hydroxyvitamin D(3) levels on physical fitness in community-dwelling frail women, *Arch Gerontol Geriatr*, **50**, 121-126(2010)
- 22) Bischoff-Ferrari H A, Dawson-Hughes, B, Staehelin H B, Orav J E, Stuck A E, Theiler R, Wong J B, Egli A, Kiel D P, and Henschkowski J : Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials, *Bmj* **339**, b3692(2009)
- 23) Visser M, Deeg D J, and Lips P : Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass(sarcopenia): the Longitudinal Aging Study Amsterdam, *J Clin Endocrinol Metab* **88**, 5766-5772(2003)
- 24) MacLaughlin J, and Holick M F : Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3, *J Clin Invest*, **76**, 1536-1538(1985)
- 25) Tsai K S, Heath H, 3rd Kumar R, and Riggs B L : Impaired vitamin D metabolism with aging in women. Possible role in pathogenesis of senile osteoporosis, *J Clin Invest*, **73**, 1668-1672(1984)
- 26) Gallagher J C, Yalamanchili V, and Smith L M : The effect of vitamin D supplementation on serum 25(OH) D in thin and obese women, *J Steroid Biochem Mol Biol*, **136**, 195-200(2013)
- 27) Kamei Y, Kawada T, Kazuki R, Ono T, Kato S, and Sugimoto E : Vitamin D receptor gene expression is up-regulated by 1, 25-dihydroxyvitamin D3 in 3T3-L1 preadipocytes, *Biochem Biophys Res Commun*, **193**, 948-955(1993)

すぎもと・たくみ / Takumi Sugimoto

京都府立大学生命環境科学研究科 分子栄養学研究室
2020年 中部大学大学院 応用生物学研究科博士前期課程修了

みずたに・さこ / Sako Mizutami

京都府立大学生命環境科学研究科 分子栄養学研究室
2021年 京都府立大学生命環境学部卒業

かめい・やすとみ / Yasutomi Kamei

京都府立大学生命環境科学研究科 分子栄養学研究室教授
1989年 京都大学農学部食品工学科栄養化学研究室卒業、
1994年 京都大学農学研究科食品工学専攻 博士課程修了、
1994年 米国カリフォルニア大学 博士研究員、1997年 大阪
バイオサイエンス研究所 研究員、2001年 国立健康・栄養研
究所 科学技術振興機構 さきがけ21専任研究者、2005年 東
京医科歯科大学難治疾患研究所 准教授、2012年 京都府立大
学生命環境科学研究科 分子栄養学研究室教授