

論文内容要旨

報告番号	甲栄第 309 号	氏名	Md Mizanur Rahman
題目	Muscle-protective effect of carnosine against dexamethasone-induced muscle atrophy in C2C12 myotube (C2C12筋管細胞におけるデキサメタゾン誘導性筋萎縮へのカルノシンの筋保護作用)		
<p>カルノシンは、アミノ酸であるL-ヒスチジンとβ-アラニンから構成されるジペプチドで、主に肉類・魚類に多く含まれている。カルノシンは生体内では心臓、脳、筋肉など複数の組織に分布しているが、特に、骨格筋には最も高濃度に存在する。その生理的な機能としては緩衝剤作用、小胞体カルシウム調節や抗酸化作用などが報告されている。近年、食事やサプリメントから摂取されたカルノシンが、心臓保護、抗炎症、抗肥満、抗糖尿病、抗老化効果を示すことも明らかになっている。しかしながら、筋萎縮に対するカルノシンの効果は未だ不明なままであった。そこで、本研究ではデキサメタゾン (Dex) 誘導性筋萎縮に対するカルノシンの効果を検証するため、C2C12筋管細胞を用いて実験を行った。</p> <p>まず、Dex (10 μM) で処理したC2C12筋管径を測定したところ、対照群と比較してDex処理群で有意に減少が見られた。このDex処理による筋管径の減少は、カルノシン (20 mM) 処理によって抑制されたが、カルノシンの構成アミノ酸であるL-ヒスチジンとβ-アラニンの処理では効果が確認できなかった。さらに、筋構成たんぱく質であるミオシン重鎖 (MyHC) 量をウエスタンブロットで解析したところ、筋管径の結果と同様に、L-ヒスチジンとβ-アラニンの処理ではなくカルノシン投与によってDex誘導性のMyHCの減少が抑制できた。また、筋管径とMyHCたんぱく質発現のどちらもカルノシン単独投与による筋増強作用は確認できなかった。続いて、筋萎縮関連ユビキチンリガーゼであるAtrogin-1, MuRF-1, Cbl-bの発現を定量的Polymerase chain reaction (PCR) で解析した。その結果、Dexによって増加した筋萎縮関連遺伝子の発現はL-ヒスチジンとβ-アラニンの処理ではなく、カルノシンの投与によって有意に抑制された。さらに、筋萎縮関連遺伝子のの上流にあたるFork head box O (FoxO) 3aおよびAktのたんぱく質発現量をウエスタンブロットで解析した。その結果、Dex処理による総FoxO3aの増加と脱リン酸化FoxO3aの増加が、カルノシン投与により抑制された。また、Dexによって低下したリン酸化Aktのたんぱく質発現についても、これまでと同様にカルノシン投与によって抑制効果が見られた。これらの筋萎縮の指標について、カルノシン単独投与による変化は確認されず、L-ヒスチジンとβ-アラニンの処理による変化も確認できなかった。最後に、Dex誘導性の酸化ストレス (ROS) 変化についても解析を行った。Dex処理後3時間および6時間で見られるROS産生の上昇が、L-ヒスチジンとβ-アラニンの処理ではなくカルノシン投与により有意に抑制された。さらに、カルノシン投与はDex処理によるスーパーオキシドディスムターゼ-1 (SOD1) およびカタラーゼなどの抗酸化酵素の発現減少を有意に抑制していた。</p> <p>以上より、カルノシンは、筋肥大シグナルであるAktを活性化し、筋萎縮転写因子であるFoxO3a活性化を抑制することによって、C2C12細胞の筋肉萎縮を軽減することができることが示された。同時に、カルノシンの抗酸化作用は、Dexによって誘発されるROSの蓄積を抑制することができることも分かった。したがって、カルノシンが筋萎縮予防に有効な食事成分であることが示唆された。</p>			

報告番号	甲栄第 309 号	氏名	Md Mizanur Rahman
審査委員	主査 瀬川 博子 副査 赤川 貢 副査 野村 和弘		
題目	Muscle-protective effect of carnosine against dexamethasone-induced muscle atrophy in C2C12 myotube (C2C12筋管細胞におけるデキサメタゾン誘導性筋萎縮へのカルノシンの筋保護作用)		
著者	Md Mizanur Rahman, Anayt Ulla, Hiroki Moriwaki, Yusuke Yasukawa, Takayuki Uchida, Takeshi Nikawa 令和6年3月8日 Journal of Nutritional Science and Vitaminologyに受理済み		
要旨	<p>カルノシンは、アミノ酸であるL-ヒスチジンとβ-アラニンから構成されるジペプチドで、主に肉類・魚類に多く含まれている。カルノシンは生体内では心臓、脳など複数の組織に分布しているが、骨格筋に最も高濃度に存在する。その生理的な機能としては緩衝作用、小胞体カルシウム調節や抗酸化作用などが報告されている。近年、食事やサプリメントから摂取したカルノシンが、心臓保護、抗炎症、抗肥満、抗糖尿病、抗老化効果を示すことも報告されている。しかし、筋萎縮に対するカルノシンの効果は未だ不明なままであった。本研究では、マウス C2C12 筋管細胞を用いて、デキサメタゾン (Dex) 誘導性筋萎縮に対するカルノシンの効果を検証した。</p> <p>まず、Dex (10 μM) で処理した C2C12 細胞の筋管径を測定したところ、対照群と比較して Dex 処理群で有意に減少が見られた。この Dex 処理による筋管径の減少は、カルノシン (20 mM) 処理によって抑制されたが、カルノシンの構成アミノ酸である L-ヒスチジンとβ-アラニンの処理では効果は見られなかった。さらに、筋構成タンパク質であるミオシン重鎖 (MyHC) 量を半定量解析したところ、筋管径の結果と同様に、L-ヒスチジンとβ-アラニンの処理では効果が見られず、カルノシン投与によってのみ Dex 誘導性の MyHC 量の減少を抑制できた。次に、筋萎縮関連ユビキチンリガーゼの mRNA 発現量を定量的 PCR 法で解析した。その結果、Dex によって増加した筋萎縮関連ユビキチンリガーゼの発現はカルノシンの投与によって有意に抑制された。さらに、筋萎縮関連遺伝子の上流にあたる Fork head box O 3a (FoxO3a) およびセリン/スレオニンキナーゼである Akt のタンパク質発現量をウエスタンブロットで解析した。その結果、Dex 処理による総 FoxO3a 量および脱リン酸化 FoxO3a 量の増大がカルノシン投与により抑制された。興味深いことに、Dex によって低下したリン酸化 Akt タンパク質発現量もカルノシン投与によって増大した。最後に、骨格筋内の Dex 誘導性の酸化ストレスへのカルノシン投与による影響について解析した。Dex 処理後 3 時間および 6 時間で見られる酸化ストレスの蓄積をカルノシンは有意に抑制した。一方、L-ヒスチジンとβ-アラニンの投与では酸化ストレスの蓄積は改善されなかった。さらに、カルノシン投与は Dex 処理によるスーパーオキシドジスムターゼ-1 やカタラーゼなどの抗酸化酵素 mRNA 発現の減少も有意に回復させた。以上より、カルノシンは、その抗酸化作用により Dex によって誘発される酸化ストレスの蓄積を軽減した結果、筋肥大シグナルの指標である Akt を活性化し、筋萎縮関連ユビキチンリガーゼの転写因子である FoxO3a を不活性化することによって、Dex による C2C12 筋管細胞の萎縮を軽減したことが明らかとなった。</p> <p>本研究はカルノシンが筋萎縮予防に有効な食事成分であることを示唆するものであり、博士(栄養学)に値するものと判定した。</p>		