

卵黄・卵白成分は筋萎縮を抑制し、筋質変化を促すのか？

麻布大学生命環境科学部食品生命科学科・准教授 澤野 祥子

■ 緒 言

日本では現在、総人口に占める高齢者(65 歳以上)の割合が 28.7%と、4 人に 1 人以上が高齢者となっている¹⁾。このような超高齢化社会に突入しつつある現代において、単に寿命を延ばすだけでなく「健康寿命」を延伸することが高齢者の生活の質の向上に寄与すると考えられる。健康寿命とは、健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる期間と定義されている。健康寿命を短くする原因の一つに「転倒による骨折」がある。骨折が原因で寝たきり状態やフレイル(筋力や心身の活力が低下した病態)に陥ることもあり、特に、高齢者においては 70 歳代で 5 人に 1 人程度、80 歳以上になると 3 人に 1 人がフレイルを発症すると報告されている²⁾。したがって、高齢者の生活を健やかに保ち健康寿命を延ばすためには、筋力の衰えや筋萎縮を予防することが重要となると考えられる。

これまでの研究により、食品成分が筋萎縮を抑制する事例が報告されている。例えば、ニンニク由来のアホエンは癌性悪液質の主な症状の一つである骨格筋萎縮を改善することがわかっている³⁾。また、Lambert et al. により、ブドウポリフェノールに骨格筋萎縮を軽減する効果があることも示唆されている⁴⁾。

鶏卵成分においても、卵白アルブミンやオボムコイドがマウス骨格筋由来筋芽細胞株 C2C12 の増殖および筋管細胞の成長促進に関与することが先行研究において示唆されていることから⁵⁾、本研究では鶏卵成分には筋タンパク質合成促進だけではなく筋萎縮を抑制する効果もあると仮説を立て、筋萎縮時に発現上昇がみられるユビキチンリガーゼである Atrogin-1 及び MuRF-1 を筋萎縮マーカーとして、卵黄・卵白成分の筋萎縮抑制効果を評価した。

■ 方 法

1. 筋損傷マウスを用いた検討

C57BL/6J 雄性マウス(5 週齢)を 1 週間予備飼育した後、麻酔下で左脚前脛骨筋部にカルディオトキシンを注入し骨格筋損傷を誘導した。これらの筋損傷マウスを卵液投与群(n=8)とコントロール群(n=8)の二群に分け、卵液投与群には鶏卵(全卵)から調製した卵液を、コントロール群には純水を 10 日間連続で経口投与した(100μl/day)。投与期間終了後にマウス左脚前脛骨筋を摘出し、筋タンパク質を抽出した。Western blotting により筋タンパク質中の Atrogin-1 及び MuRF-1 発現量を解析した。

2. マウス骨格筋由来筋芽細胞株 C2C12 を用いた検討

マウス C2C12 筋芽細胞を 6 well プレートに播種し増殖・分化させた。分化誘導 6 日目の成熟筋管細胞にデキサメタゾン(DEX)を添加し筋萎縮を誘導した。卵白および卵黄成分のいずれの成分が筋萎縮抑制に効果を有するか検討するため、DEX 処理を施した筋管細胞に、アビジンあるいは 3-Sn-ホスファチジルコリン、レシチン、ビオチン、L-α-ホスファチジルコリンの各成分をそれぞれ添加した(n=3)。各成分を添加した後 24 時間培養し、筋管直径を測定した。さらに、細胞回収・タンパク質抽出を行い Western blotting により Atrogin-1 及び MuRF-1 発現量を解析した。鶏卵成分を添加していない DEX 処理のみの群を DEX 処理群(n=3)、DEX 処理を全く施していない群を control 群(n=3)も設け測定・解析を行った。

3. 統計解析

実験結果は平均値±標準誤差で示した。二群間の比較については t 検定を行い p 値が 0.05 未満を統計的に有意とみなした。三群以上の比較においては、一元配置分散分析で有意差が認められた場合、Tukey test により群間比較を行い p 値が 0.05 未満を統計的に有意とみなした。

■ 結 果

1. 筋損傷モデルマウスを用いた検討

前脛骨筋損傷後のマウスに卵液を 10 日間経口投与した後、損傷筋を摘出し筋萎縮マーカーである

Atrogin-1 および MuRF-1 の発現量を評価した。卵液投与群の Atrogin-1 発現量は水投与群と比較して有意に減少した(図 1-A)。また、MuRF-1 発現量についても水投与群と比較して卵液投与群において有意な MuRF-1 発現量の減少が認められた(図 1-B)。これらの結果より、鶏卵には筋損傷後からの回復促進あるいは、筋萎縮進行の抑制に関与する成分が含まれていることが示唆された。

2. マウス骨格筋由来筋芽細胞株 C2C12 を用いた検討

筋萎縮抑制に効果のある成分を明らかにするため、卵白由来のアビジンあるいは、卵黄由来の 3-Sn-ホスファチジルコリン、レシチン、ピオチン、L- α -ホスファチジルコリンの各鶏卵成分を対象とした検討を行った。マウス C2C12 成熟筋管細胞において、DEX 処理により筋萎縮が誘導され筋管直径の有意な減少が認められたが、この減少は卵黄成分である 3-Sn-ホスファチジルコリン、レシチン、ピオチン、L- α -ホスファチジルコリンの添加により有意に回復した(図 2)。卵白成分であるアビジン添加においては DEX 処理による筋管直径減少の回復は認められなかった。

また、筋萎縮マーカーの発現量については、control 群と比較して DEX 処理群において有意に Atrogin-1 発現量が増加した。しかしながら、DEX 処理により増加した Atrogin-1 発現量は卵黄由来成分である 3-Sn-ホスファチジルコリンおよびピオチン、L- α -ホスファチジルコリンの添加により有意に抑制された(図 3-A)。レシチンにおいても Atrogin-1 発現量の抑制傾向が認められた。一方で、MuRF-1 発現量については control 群と比較して DEX 群において有意な発現変動が認められなかった(図 3-B)。

■ 考 察

卵白成分あるいは卵黄成分が骨格筋の分解・萎縮を抑制するという仮説を立て検討を行った。筋損傷マウスに卵液(鶏卵全卵)を投与したところ、損傷筋における Atrogin-1 及び MuRF-1 の発現量が有意に減少した。したがって、鶏卵には筋損傷からの回復を促進する効果、あるいは萎縮進行を抑制する効果があることが示唆された。次に、鶏卵中のいずれの成分が影響を及ぼしているか明らかにするため、卵白由来のアビジンあるいは、卵黄由来の 3-Sn-ホスファチジルコリン、レシチン、ピオチン、L- α -ホスファチジルコリンを用いて検討を行ったところ、アビジン以外の各鶏卵成分の添加により筋萎縮の抑制が認められた。したがって、筋萎縮抑制には卵黄由来の成分が有効であることが示唆された。今回、MuRF-1 では DEX 処理を施しても control 群との差異が認められなかったがタンパク質の発現変動と遺伝子発現の変化のタイミングが異なることも考えられることから、今後、リアルタイム RT-PCR による遺伝子発現の定量などの検討も加え、萎縮マーカーの挙動をより詳細に評価する必要がある。

■ 要 約

本研究では、筋萎縮時に発現の上昇がみられるユビキチンリガーゼ Atrogin-1 及び MuRF-1 を筋萎縮マーカーとして、卵黄・卵白成分の筋萎縮抑制効果を評価した。

筋損傷誘導時のマウス前脛骨筋において、卵液の経口投与により筋萎縮誘導マーカーである Atrogin-1、MuRF1 発現が有意に低下した。よって、卵液には Atrogin-1 及び MuRF1 発現を抑制する成分が含まれており、筋萎縮の抑制に寄与することが示唆された。また、卵白、卵黄成分のいずれの成分が筋萎縮抑制に関与しているか検討するため、マウス骨格筋細胞株 C2C12 に DEX 処理を施し、卵白由来のアビジンあるいは卵黄由来の 3-Sn-ホスファチジルコリン、レシチン、ピオチン、L- α -ホスファチジルコリンをそれぞれ添加したところ、アビジン以外の成分(3-Sn-ホスファチジルコリン、レシチン、ピオチン、L- α -ホスファチジルコリン)において、DEX 処理による筋管直径の減少が有意に回復したと共に、筋萎縮マーカーである Atrogin-1 発現の有意な減少が認められた。したがって、検討した鶏卵成分のうち、卵黄由来の各成分が筋萎縮抑制効果を有することが示唆された。

■ 文 献

1. 「令和 2 年人口推計結果」(総務省統計局)
2. 鈴木隆雄(2015)フレイルの臨床的・社会的意義を考える, 日本老年医学会誌, 52, 329-335
3. Hyejin Lee, Ji-Won Heo, A-Reum Kim, Minson Kweon, Sorim Nam, Jong-Seok Lim, Mi-Kyung Sung, Sung-Eun Kim and Jae-Ha Ryu.(2019)Z-ajoene from Crushed Garlic Alleviates Cancer-Induced Skeletal Muscle Atrophy, Nutrients, 11, 2724
4. Karen Lambert, Marjorie Coisy-Quivy, Catherine Bisbal, Pascal Sirvent, Gerald Hugon, Jacques

Mercier, Antoine Avignon and Ariane Sultan.(2015)Grape polyphenols supplementation reduces muscle atrophy in a mouse model of chronic inflammation, Nutrition, 31, 1275-1283

5. Wataru Mizunoya , Ayumi Tashima, Yusuke Sato, Ryuichi Tatsumi and Yoshihide Ikeuchi(2015) The growth-promoting activity of egg white proteins in the C2C12 myoblast cell line, Animal science journal, 86, 194-199

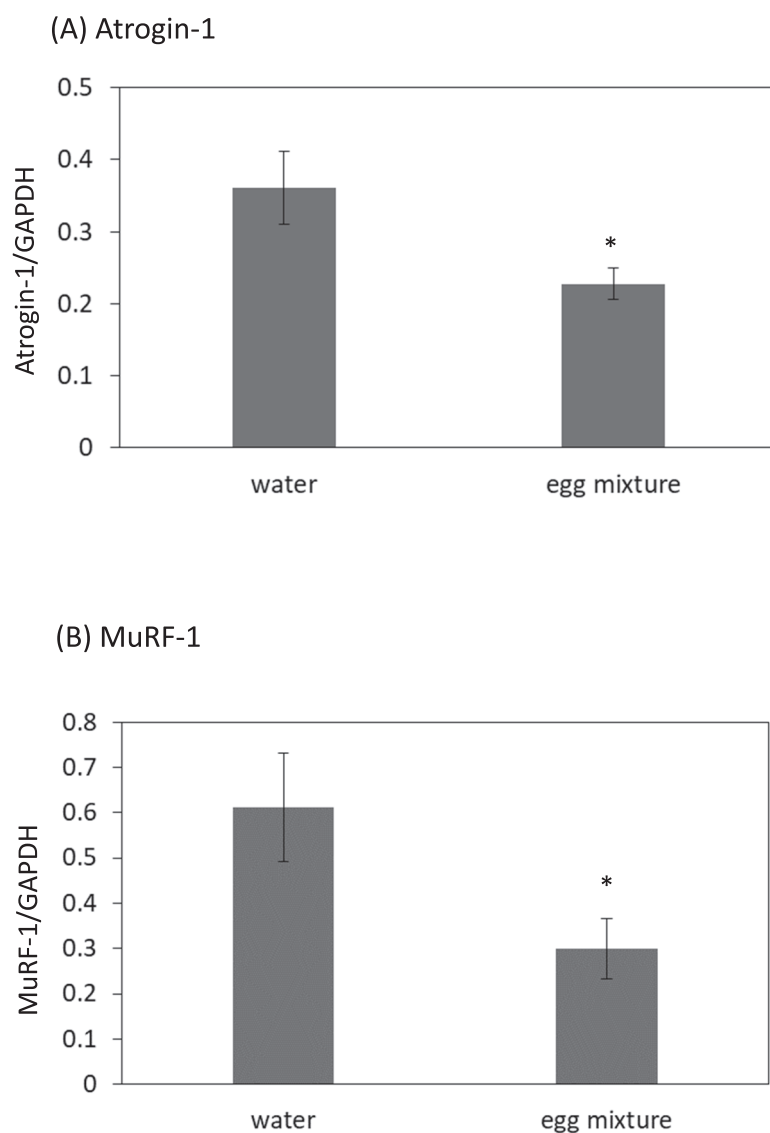


図 1. 筋損傷誘導時の筋萎縮マーカーの発現量

(A) GAPDH を内部標準として Atrogin-1 発現量を示した。データの値は平均値±標準誤差 (n=8)。

* $p < 0.05$ vs water 群

(B) GAPDH を内部標準として MuRF-1 発現量を示した。データの値は平均値±標準誤差 (n=8)。

* $p < 0.05$ vs water 群

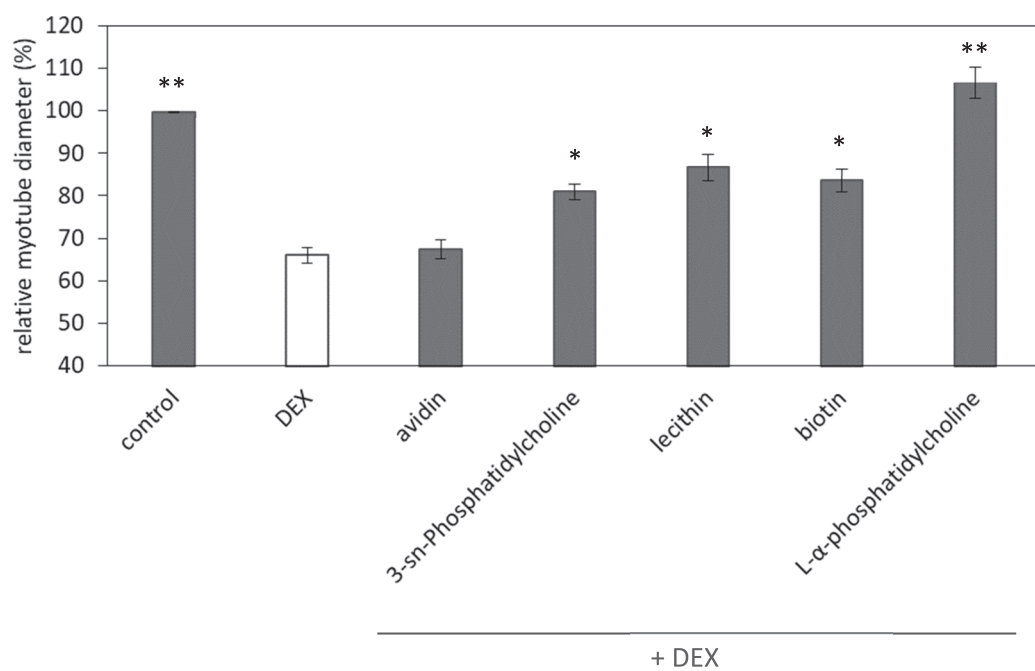
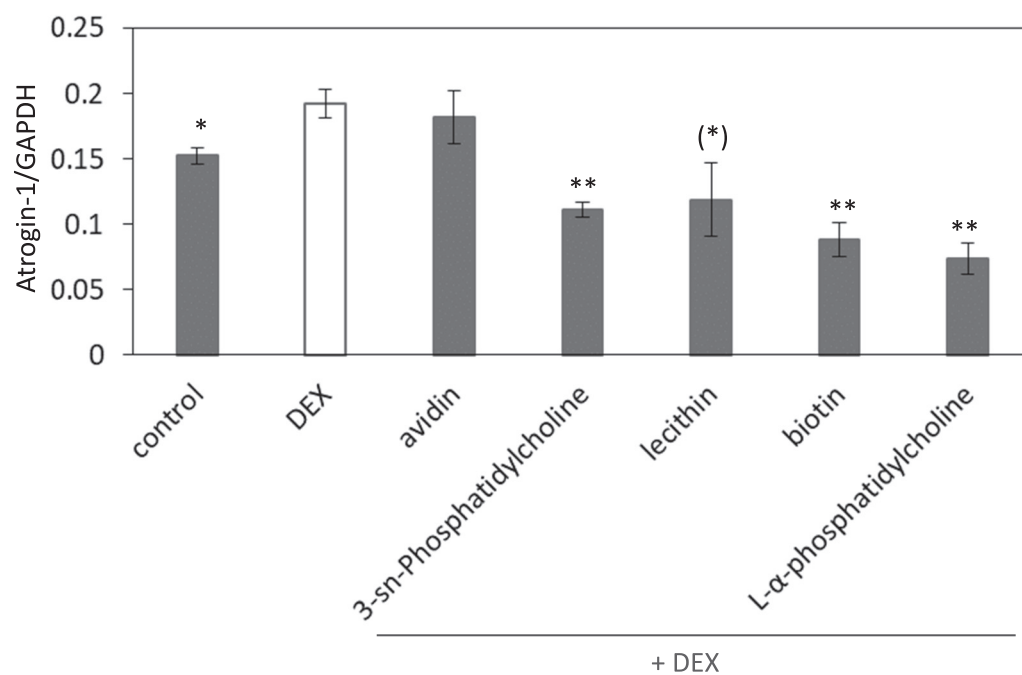


図 2. C2C12 成熟筋管細胞の筋管直径
control 群の筋管直径を 100% として相対的に示した。データの値は平均値±標準誤差 (n=3)。
* $p<0.05$ vs DEX 群, ** $p<0.01$ vs DEX 群

(A) Atrogin 1



(B) MuRF 1

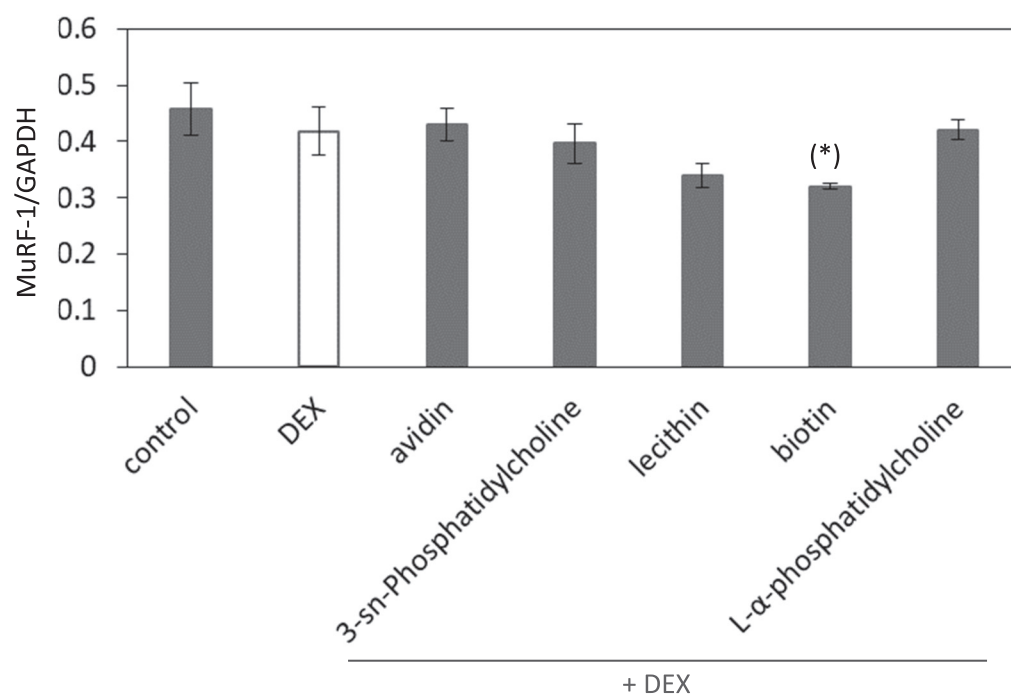


図 3. DEX による筋萎縮誘導時の筋萎縮マーカーの発現量

(A) GAPDH を内部標準として Atrogin-1 発現量を示した。データの値は平均値±標準誤差 (n=3)。

* $p < 0.05$ vs DEX 群, ** $p < 0.05$ vs DEX 群

(B) GAPDH を内部標準として MuRF-1 発現量を示した。データの値は平均値±標準誤差 (n=3)。