

	サウ トモリ
<b>氏 名</b>	<b>佐藤 友紀</b>
本籍（国籍）	秋田県
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第連研 689 号
学位授与年月日	平成 29 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学
<b>学位論文題目</b>	<b>リジンとその関連物質の骨格筋萎縮抑制（Suppression of skeletal muscle atrophy by lysine and lysine-related compounds）</b>
学位審査委員	主査 岩手大学教授 長澤 孝志 副査 伊藤 芳明(岩手 准教授), 福島 道広(帯広 教授), 前多 隼人 (弘前 准教授)

## 論文の内容の要旨

高齢者の健康寿命を延ばすこと、特にロコモティブシンドローム予防の観点から、骨格筋の萎縮を防ぐ運動や機能性食品に注目が集まっている。骨格筋の量は、骨格筋タンパク質の合成と分解のバランスによって決定される。必須アミノ酸である L-ロイシン（Leu）の摂取が骨格筋タンパク質の合成を促進し、分解を抑制することが明らかになっており、その作用機序についても研究が進展している。一方で、他のアミノ酸の摂取が骨格筋タンパク質代謝に及ぼす効果についてはほとんど明らかになっていない。必須アミノ酸である L-リジン（Lys）の摂取が骨格筋タンパク質分解を抑制し、若齢動物において骨格筋量の維持に寄与することを示唆しているが、Lys の骨格筋タンパク質分解抑制作用の詳細な分子メカニズムには不明な点が多い。

本研究では Lys の骨格筋タンパク質分解抑制作用の分子メカニズムを解明すると共に、Lys の代謝産物の作用も含めて検討し、さらに加齢時における骨格筋タンパク質代謝及び肝臓脂質代謝への Lys の効果や、抗酸化物質と Lys の併用によるサルコペニア（加齢に伴う筋肉量の減少）予防効果を検討することを目的として実験を行った。

マウス横紋筋由来 C2C12 筋管細胞において、Lys とその代謝産物である L-サッカロピン（Sac）は、Ser/ Thr kinase である Akt を活性化し、オートファジーの活性指標である LC3-II を減少させたが、Akt の活性阻害によって Lys と Sac によるオートファジー抑制効果はいずれも打ち消された。Akt は、オートファジーのネガティブレギュレーターであることが知られており、Lys

と Sac は Akt を介して骨格筋におけるオートファジーを抑制すると考えられた。

C2C12 筋管細胞に対して Lys は、濃度依存的にタンパク質合成速度を上昇させた。一方、L-アラニンにはタンパク質合成促進作用が認められなかったことから、骨格筋タンパク質合成促進作用は Lys を含む一部のアミノ酸に特異的な作用であると考えられた。さらに、Lys の代謝産物のうち、L-2-アミノアジピン酸は Lys よりも低濃度で骨格筋タンパク質分解を抑制し、L-ピペコリン酸は Lys よりも低濃度で骨格筋タンパク質合成を促進する可能性を示した。

Lys はタンパク質を構成するアミノ酸であることから、Lys の骨格筋タンパク質分解抑制作用が、食事タンパク質が充足した条件における作用を若齢ラットで検討した。その結果、Lys の摂取による骨格筋タンパク質分解抑制作用は、食事タンパク質が充足した条件においては認められず、食事タンパク質が不足する低栄養条件下において発揮されることを示した。そのため、低栄養状態に陥りやすい高齢者において、Lys の摂取は骨格筋量の維持に有効であると考えられた。

老化時の Lys の効果を、老化促進モデルマウスである **Senescence Accelerated Mouse Prone 8 (SAMP8)** を用いて検討した。その結果、36 週齢の SAMP8 の骨格筋においては、筋原線維タンパク質の分解速度とオートファジーマーカーである LC3-II の増加が見られたが、Lys の摂取によって筋原線維タンパク質分解速度とオートファジー活性は抑えられた。したがって、Lys は老齢においてもオートファジーを介した筋原線維タンパク質分解を顕著に抑制し、SAMP8 で生じるサルコペニアを緩和する可能性が示された。また、SAMP8 の骨格筋においては、自然老化マウスと類似したタンパク質分解システムの変化が認められたことから、SAMP8 はサルコペニアモデルとして適すると考えられた。

また、SAMP8 の肝臓では脂肪滴の顕著な蓄積が認められたが、Lys の摂取により脂肪肝は改善されることを見出した。このメカニズムを解析したところ、Lys は  $\beta$  酸化を亢進することで SAMP8 における脂肪肝を軽減したと考えられた。

サルコペニアの発症には、酸化ストレスが関与することが指摘されている。そこで、抗酸化能が報告されている還元型コエンザイム Q10 (QH) と Lys の併用による抗サルコペニア効果を検討した。QH は、C2C12 筋管細胞において抗酸化性を示された。成熟マウスに QH 添加食を与えたところ、骨格筋タンパク質代謝に対する効果は認められなかったが、QH による摂食亢進作用が認められた。一方、QH と Lys の併用による相乗効果は認められなかった。

以上より、Lys は骨格筋において Akt を活性化することでオートファジーによる筋原線維タンパク質分解を抑制し、Lys の代謝産物においても骨格筋タンパク質代謝を制御する機能があることが明らかになった。さらに、Lys の摂取による骨格筋タンパク質分解抑制作用は、老化モデルである SAMP8 においても認められたことから、サルコペニアを予防する食品成分として Lys は有望であると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

必須アミノ酸である L-ロイシン (Leu) は、骨格筋タンパク質の合成を促進し、分解を抑制することが明らかになっているが、他のアミノ酸については不明の点が多い。本研究では、必須アミノ酸である L-リジン (Lys) の骨格筋タンパク質分解抑制作用の分子メカニズムを解明するとともに、加齢時における効果についても検討することを目的とした。

マウス横紋筋由来 C2C12 筋管細胞を用いた検討により、Lys とその代謝産物である L-サッカロピンは、Akt を介して骨格筋におけるオートファジーを抑制することでタンパク質の分解を抑制した。また、Lys の代謝産物の L-2-アミノアジピン酸は Lys よりも低濃度で骨格筋タンパク質分解を抑制し、L-ピペコリン酸は Lys よりも低濃度で骨格筋タンパク質合成を促進することを明らかにした。

Lys 摂取による骨格筋タンパク質分解抑制作用は、若齢ラットによる検討から食事タンパク質量が充足した条件においては認められず、食事タンパク質量が不足する低栄養条件下において認められることを示した。

老化時の Lys の効果を、老化促進モデルマウスである Senescence Accelerated Mouse Prone 8 (SAMP8) を用いて検討した。その結果、36 週齢の SAMP8 の骨格筋においては、筋原線維タンパク質の分解速度とオートファジー活性の増加が見られたが、Lys の摂取によってこれらは抑制された。したがって、Lys は老齢においてもオートファジーを介した筋原線維タンパク質分解を顕著に抑制し、SAMP8 で生じるサルコペニアを緩和する可能性が示された。さらに、SAMP8 の肝臓では脂肪滴の顕著な蓄積が認められたが、Lys の摂取により脂肪肝は改善されることを見出した。

サルコペニアの発症には、酸化ストレスが関係する。そこで、抗酸化能がある還元型コエンザイム Q10 (QH) と Lys の併用による抗サルコペニア効果を検討した。QH は C2C12 筋管細胞において抗酸化性を示した。成熟マウスに QH 添加食を与えたところ、骨格筋タンパク質代謝に対する効果は認められなかったが、QH による摂食亢進作用が見出された。一方、QH と Lys の併

用による相乗効果は認められなかった。

本研究により、Lys は骨格筋においてオートファジーによる筋原線維タンパク質分解を抑制し、Lys の代謝産物によっても骨格筋タンパク質代謝を制御する機能があることが明らかになった。さらに、Lys の摂取による骨格筋タンパク質分解抑制作用は、老化モデルである SAMP8 においても認められたことから、Lys は老化に伴うサルコペニアを予防する食品成分となりうるものと考えられた。

以上より、本審査委員会は「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

#### 学位論文の基礎となる学術論文

1. Sato,T., Ito,Y. and Nagasawa,T. (2014) Lysine suppresses myofibrillar protein degradation by regulating the autophagic-lysosomal system through phosphorylation of Akt in C2C12 cells. *Springerplus* **3**: 584.
2. Sato,T., Ito,Y. and Nagasawa,T. (2015) Attenuation of autophagic-proteolysis in C2C12 cells by saccharopine. *Molecular and Cellular Biochemistry* **410**: 93-100.
3. Sato,T., Ito,Y. and Nagasawa,T. (2015) Dietary L-lysine suppresses autophagic proteolysis and stimulates Akt/mTOR signaling in the skeletal muscle of rats fed a low-protein diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**: 8192-8198.
4. Sato,T., Ito,Y. and Nagasawa,T. (2016) Regulatory effects of the L-lysine metabolites, L-2-aminoadipic acid and L-pipecolic acid on protein turnover in C2C12 myotubes. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **80**: 2168-2175.
5. Sato,T., Ito,Y. and Nagasawa,T. (2017) L-Lysine suppresses myofibrillar protein degradation and autophagy in skeletal muscles of senescence-accelerated mouse prone 8. *Biogerontology* **18**: 85-95.