

## 若年期の活動制限が高脂肪食摂取ラットの骨格筋におけるオートファジーに及ぼす影響

学籍番号 4122039

氏名 長谷川 雄彦

### 【目的】

本研究は、若年期の活動制限と長期間の高脂肪食摂取が、ラット骨格筋のオートファジーに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

### 【方法】

実験動物には3週齢のWistar系雄性ラットを用い、標準食を摂取するnormal diet (ND) 群と高脂肪食を摂取するhigh-fat diet (HFD) 群に分け、さらに両群とも通常飼育 (CON) および運動不足 (IN) 条件に分類した。HFD群には総エネルギーの約60%を粗脂肪量で占める飼料を、4週齢から16週間継続して摂取させ、ND群には10%の脂肪を含む標準的飼料を与えた。若年期における活動制限介入は、4週齢から8週間、ラットを床面積が通常の半分程度の狭いケージで飼育して行動範囲を制限することで行った。12週齢以降は制限を解除し、全ての群のラットを20週齢まで通常サイズのケージで飼育した。20週齢時に腓腹筋（表層の白色部と深部の赤色部）を摘出した。オートファジー関連指標として、LC3-IおよびII発現量、LC3-II/Iレベル、p62発現量、Bnip3発現量を、酸化ストレス指標としてユビキチン化タンパク質、4-ヒドロキシ-2-ノネナールならびにジチロシン発現量をウェスタンブロッティングにて分析した。

### 【結果】

腓腹筋の相対筋重量には、「食餌群(標準食と高脂肪食)」および「飼育条件(通常飼育と活動制限)」による主効果が認められ、HFD群の相対筋重量はND群と比較して有意な低下が見られた。腓腹筋白色部では、オートファゴソーム形成に関わるLC3-II 発現量や選択的オートファジーの指標となるp62発現量には有意な変化は認められなかったが、オートファジー分解活性の指標としてオートファジーフラックスを表すLC3-II/I レベルには「食餌群」による有意な主効果が認められ、HFD群において低下が見られた。一方、腓腹筋赤色部では、LC3-I発現量には「食餌群」による主効果が認められたものの、その他の変数に有意な変化は認められなかった。さらに、白色部におけるBnip3発現量には「食餌群」および「飼育条件」の主効果が認められたが、赤色部では有意な変化は見られなかった。

### 【結論】

本研究のデータは、16週間の高脂肪食摂取は腓腹筋白色部においてオートファジー活性の低下を導くが、若年期の活動制限の影響は受けないことを示唆している。

## **Effects of a high-fat diet and cage restriction–induced physical inactivity in youth on autophagy in rat skeletal muscle**

Student ID Number: 4122039

Name: HASEGAWA, Takehiko

### **[Purpose]**

This study aimed to elucidate the effects of long-term high-fat diet (HFD) consumption and cage restriction–induced physical inactivity (IN) during youth on skeletal muscle autophagy in rats.

### **[Methods]**

Three-week-old male Wistar rats were randomly assigned to two dietary groups: the normal diet (ND) and HFD groups. Each group was further subdivided into control (CON) and IN conditions, resulting in four experimental groups: ND-CON (n = 8), ND-IN (n = 8), HFD-CON (n = 7), and HFD-IN (n = 8) group. The HFD group was provided with a diet containing approximately 60% of total calories from crude fat for 16 weeks, from 4 to 20 weeks of age. The ND group received a standard diet for the same duration. The physical inactivity intervention during youth involved restricting the rats' range of activity by housing them in smaller cages, with half the normal floor space, for eight weeks, from 4 to 12 weeks of age. After 12 weeks of age, the behavioral restrictions were lifted, and all groups of rats were housed in normal-sized cages for eight weeks. At 20 weeks of age, all rats were anesthetized, and the gastrocnemius muscle (superficial white and deep red parts) was removed. Autophagy (LC3-I, LC3-II, LC3-II/I, p62, and Bnip3) and oxidative stress (ubiquitinated protein, 4-hydroxy-2-nonenal, and di-tyrosine) markers were measured using Western blot analysis.

### **[Results]**

The 'diet group' and 'condition' factors exerted significant effects on the relative muscle weight of the gastrocnemius muscle. The HFD groups exhibited a notable decline in relative muscle weight compared to their ND counterparts. While no significant alterations were observed in LC3-II expression levels, a key indicator of autophagosome formation, or p62 expression levels, which serve as markers of selective autophagy, the 'diet group' factor significantly influenced LC3-II/I levels. These levels, representing autophagic flux and serving as an indicator of autophagic degradation activity, were markedly reduced in the HFD group. In contrast, within the red gastrocnemius muscle, the 'group' factor significantly affected LC3-I expression; however, no significant alterations were observed in the remaining variables. Additionally, the 'diet-group' and 'condition' factors significantly affected Bnip3 expression in the white portion of the muscle, while no significant changes were detected in the red area.

### **[Conclusion]**

Our findings suggest that 16 weeks of HFD consumption leads to a reduction in autophagy flux, specifically within the white portion of the gastrocnemius muscle, but this effect is not influenced by cage restriction–induced physical inactivity during youth.