

## アスパラギン酸塩の筋萎縮抑制効果に関する文献的研究

山田 茂\*・我妻 玲\*\*・木崎恵梨子\*・中川美桜\*・岩田華苗\*

\* 食生活科学科 \*\* 東京大学大学院 情報理工学研究所

A study on the inhibitory effect of aspartic acid salt on skeletal muscle atrophy

Shigeru YAMADA, Akira WAGATSUMA, Eriko KIZAKI, Mio NAKAGAWA  
and Kanae IWATA

\**Department of Food and Health Sciences, Jissen Women's University* \*\**Graduate School of information Science and Technology, The University of Tokyo*

Skeletal muscle atrophy from aging, inactivity, weightlessness, disease and malnutrition causes social problems due to associated physical dysfunction, a decrease in QOL, and risk of death. As a means of alleviating skeletal muscle atrophy, appropriate exercise and nutrition therapy is required. However, nourishment therapy is especially important for a person in a situation where exercise is not feasible for maintaining skeletal muscle mass and muscular strength. Therefore, the authors studied the inhibitory effect of aspartic acid magnesium salt on disuse muscle atrophy. Herein we have described three of the mechanisms of action of aspartic acid magnesium on disuse muscle atrophy suppression. Initially, inactivity causes a decrease in capillary and oxygen supply, inhibits ATP synthesis, and produces active oxygen. As a result, the proteolysis system is activated and muscle atrophy progresses. Asp increased protein synthesis in muscle, and decreased mRNA expression of muscle atrophy F-box. We have described the effect of aspartic acid magnesium uptake on the suppression mechanism of muscle atrophy, and the imbalance of the intracellular mineral with the inactive proteolysis system. The above is the content of this review.

**Key words :** skeletal muscle atrophy (骨格筋萎縮), Aspartic acid magnesium salt (アスパラギン酸マグネシウム), antimycin A (アンチマイシン A), ATP (アデノシン三リン酸), mineral imbalance (ミネラルインバランス)

骨格筋萎縮は、加齢、不活動、無重力、疾病、低栄養などによってもたらされる。これらの筋の萎縮を総称してサルコペニアという。サルコペニアは1987年にRosenberg<sup>1)</sup>によって提唱された概念であり、2010年にEuropean Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSP)により「筋量と筋力の進行性かつ全身性の減少に特徴づけられる症候群で、身体機能障害、QOL低下、死のリスクを伴うもの」と定義づけられた<sup>2)</sup>。廃用性筋萎縮は、2次性サルコペニアに位置づけられている不活動や無重力暴露が原因となって起こる骨格筋の萎縮である。日本でも日常生活の活動量の低下から高齢者の筋力の低下が問題視されている。

解決策としては適切な運動処方・運動療法や栄養処

方・栄養療法が求められる。運動処方や運動療法のもとで廃用性筋萎縮を改善することが知られている。しかしながら、運動のできない状況下にある人にとって骨格筋量維持のため、あるいは筋力を保持するための栄養処方・栄養療法が求められる。近年、筋量や筋力維持・増大を目的とした幾つかのサプリメントが開発されている。その中で、著者らはアスパラギン酸塩の効果に着目して廃用性筋萎縮に及ぼす効果について検討してきた。本研究での目的は、これまでの報告と著者らの報告を交えてアスパラギン酸とアスパラギン酸塩の骨格筋萎縮抑制機構について文献的に検討することである。

## I. 筋萎縮に及ぼすミネラルバランス、アデノシン三リン酸 (ATP) 産生減少と炎症

近年、廃用性筋萎縮を引き起こすタンパク質分解系の活性化を誘導要因について着目されている。これまでの報告で、タンパク質分解系の引き金の要因としてミネラルバランス、ATP 減少と炎症が主要な要因として考えられている<sup>3) 4) 5)</sup>。筋細胞内のミネラルの恒常性破綻が引き金となってタンパク質分解系を活性化し急速な筋萎縮を引き起こす。ミネラルの排泄は過不足に応じて排泄されるわけではなく、一つのミネラルが排泄されるとそれに伴ってほかのミネラルも排泄されるなどミネラル間での相互関係があるとされている。例えば、不活動やストレスなどによって、細胞内の Mg が細胞外に排泄されるに伴って Ca が細胞内に流入する。その変化が長時間続くことによって、ミネラルのバランスが生じ、活性酸素種が生産され、筋萎縮を誘導するものと考えられている。

他方、廃用性筋萎縮において毛細血管数の減少がおこり<sup>6)</sup>、低酸素状態となり<sup>7)</sup>、その結果、酸化的リン酸化が停滞し ATP 産生が阻害され、細胞の機能が低下し、廃用性筋萎縮を引き起こされるというものである。さらに、加齢や疾病により炎症誘発性サイトカインが産生され、それがシグナルになってタンパク質分解系が稼働し急激な筋萎縮がみられる。これら三つの廃用性筋萎縮誘導機構に対して、アスパラギン酸塩の筋萎縮抑制効果について近年、検討されている。

## II. アスパラギン酸塩とタンパク質分解系

### 1) アスパラギン酸塩と炎症性筋萎縮

炎症誘発性サイトカインは、筋萎縮を直接的に、または Akt (プロテインキナーゼ B) / Forkhead box 転写因子 (FoxO) / ユビキチン-プロテアソーム経路の改変を介して誘導する<sup>8) 9)</sup>。

さらに、骨格筋での代謝はホルモン制御下にあり<sup>5)</sup>、敗血症および内毒素血症に対するホルモン応答の多くは、炎症誘発性サイトカインの合成および分泌の増強によって媒介される<sup>5)</sup>。

リポ多糖 (lipopolysaccharide = LPS) 曝露は、血漿腫瘍壊死因子 (Tumor necrosis factor  $\alpha$  = TNF  $\alpha$ )、コルチゾールおよびグルカゴンの濃度を増加させ、血漿グルコース濃度を低下させ、筋肉における TNF  $\alpha$  mRNA 発現を増加させる。サイトカインは、コルチ

ゾール<sup>5)</sup> およびグルカゴン<sup>12)</sup> などの異化ホルモンを増加させることが示されている。コルチゾールの代謝作用は、筋タンパク質の分解を促進し、糖新生基質およびアミノ酸を提供する<sup>10)</sup>。このように筋タンパク質の合成と分解は (グルカゴンおよびコルチゾール) ホルモンのバランスによって調節されている。LPS 曝露ブタに対する Asp 補給は、血漿中の TNF  $\alpha$ 、コルチゾールおよびグルカゴンの濃度および筋肉中の TNF  $\alpha$  の mRNA 発現を減少させることを Yulan Liu 等は報告している。Asp 補給が、炎症誘発性サイトカインを減少させることによって筋萎縮を部分的に減弱させるという考えを支持している。Toll 様受容体 4 TLR4 : Toll-like receptor4 およびスクレオチド結合領域 NOD : Nucleotide binding-oligomerization domain シグナル伝達経路の活性化は、炎症誘発性サイトカインの過剰産生、および組織損傷を誘発する。過度で有害な炎症反応を避けるために、TLR4 および NOD シグナル伝達は、細胞外および細胞内機構を介して広範な負の調節を受ける<sup>5) 11) 12)</sup>。その中で、TLR4 の陰性調節因子 RP105 : Radio-protective MW105kd、SOCS1 : Suppressor of cytokine signaling1、Tollip : Toll-interacting protein、SIGIRR : Single Ig IL-1-related receptor など、ERBB2IP : erbb2-interacting protein および CENTB1 : Centaurin-beta1 などは、このプロセス<sup>5) 13)</sup> において中心的な役割を果たし、Asp は前炎症性サイトカインを減少させる。血漿および筋肉 TNF  $\alpha$  濃度の減少と一致して、LPS 曝露ブタに対する Asp 補充は、TLR4 および NOD シグナル伝達関連遺伝子 (TLR4、MyD88 : Myeloid differentiation 88、腫瘍壊死因子受容体関連因子 6 TRAF6 : TNF Receptor-Associated Factor 6、NOD1、NOD2 および核内因子  $\kappa$  B、NF-kBp : nuclear factor-kappa B) の mRNA 存在量を減少させた。LPS 曝露が RPWS、SOCS1 および CENTB1 の mRNA 存在量を増加させ、Tollip の mRNA 存在量を減少させる傾向があることを見出した。さらに、LPS 攻撃が RP105、SOCS1 および CENTB1 の mRNA 存在量を増加させ、Tollip の mRNA 存在量を減少させる傾向があることを明らかにした。したがって、筋萎縮に対する Asp の有益な役割は、負の調節因子の調節を介して TLR4 および NOD シグナル伝達経路を阻害することによって、筋肉前炎症性サイトカインの発現を減少させることと密接に関連する可

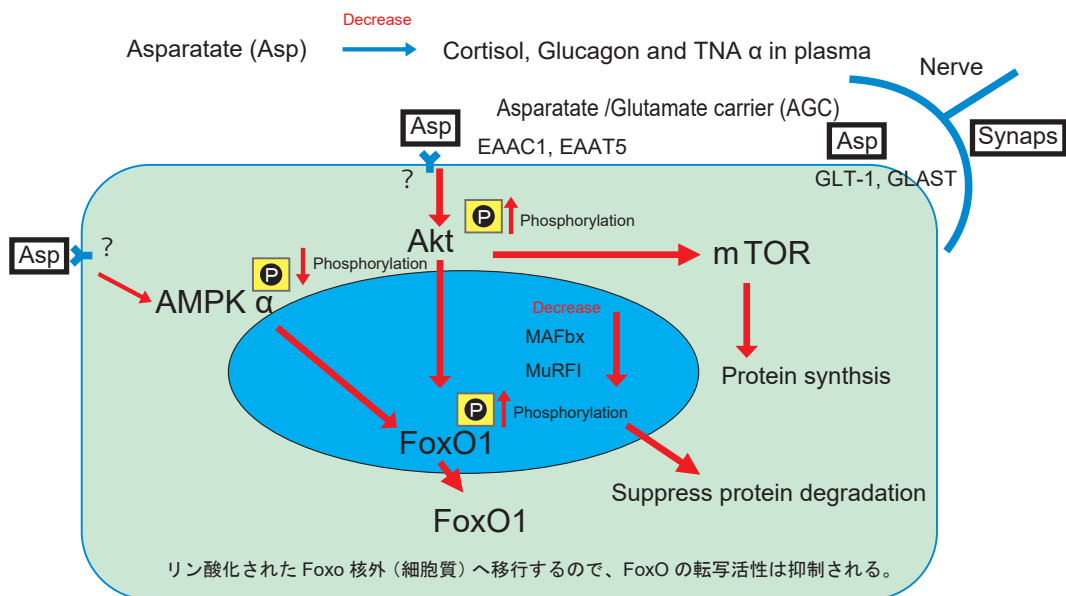
能性があることを示している。TLR4 および NOD 経路に対する Asp の効果は、以下のメカニズムによるものであろうと推測している。要約すると、Asp 補充は、Akt 活性化および AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMP-activated protein kinase  $\alpha$  : AMPK  $\alpha$ ) および FoxO1 阻害による筋肉タンパク質分解の阻害、ならびに TLR4 および NOD シグナル伝達経路の阻害を介した炎症過程の減少のために、筋萎縮に有益な効果をもたらすものと考えられる。(図1)

## 2) アスパラギン酸とミネラル誘導筋萎縮

Kondo らは、廃用性筋萎縮を誘導したラットを用いて8日間での筋組織中の Fe、Zn、Cu、Mn の濃度変化を報告している<sup>14)</sup>。筋の萎縮は8日間で急速に進

行しその後は緩やかになるが、Fe の濃度は増加し続けた。そして Cu の濃度には変化が生じなかった。一方、Mn と Zn の濃度は8日目まで上昇したものの、その後減少するという2相性の変化を示した。この変化が筋萎縮の進行速度と関係していると報告している。また Ca 濃度が有意に上昇していたことから、タンパク質分解系であるカルパインが活性化し、さらにカルパインがキサンチンオキシダーゼ (Xanthine oxidase : XOD) を非産生型から産生型へ変換を進める大きな要因であるとしている<sup>15)</sup>。

廃用性筋萎縮では活性酸素種 (Reactive Oxygen Species : ROS) が発生していることが指摘されている<sup>15)</sup>。ROS にはスーパーオキシド ( $\cdot O_2^-$ )、過酸化水素 ( $H_2O_2$ )、ヒドロキシルラジカル ( $HO\cdot$ ) など



- GLAST : Glutamate Aspartate Transporter
- EAAT1 : Excitatory Amino Acid Transporter1
- GLAST : Glutamate/Aspartate Transporter
- GLT-1 : Glutamate Transporter-1
- EAAT1-5 : SLC1A3, SLC1A2, SLC1A1, SLC1A6, SLC1A7
- EAAC1 : Excitatory Amino acid carrier 1
- FOXO1 : Forkhead box protein O1
- MuRF1 : Muscle RING-Finger Protein-1
- AMPK : 5'Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase
- mTOR : Mammalian Target of Rapamycin (mTOR)

図1 アスパラギン酸の筋萎縮情報伝達系

がある。ROS 防御因子のうち、グルタチオンペルオキシダーゼは Se、SOD は Mn、Cu、Zn、カタラーゼは Fe を、メタロチオネイン (Metallothionein : MT) は Zn を含む。しかしながらミネラルは ROS を防御する側だけでなく、生じる側の役割も担う場合もある。

その例として Ca の増加はカルパインを活性化し、活性化したカルパインが XOD を活性化し、活性化した XOD は O<sub>2</sub> からスーパーオキシド ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) を産生する<sup>16)</sup>。また生体にとって最も危険なヒドロキシルラジカル ( $\text{HO}\cdot$ ) は、スーパーオキシド ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) と過酸化水素 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) から Fe や Cu といった遷移金属存在下で産生される<sup>16)</sup>。廃用性筋萎縮において、カルパインが活性化していること、過酸化水素 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) を代謝するグルタチオンペルオキシダーゼとカタラーゼがあまり増加しないこと<sup>19)</sup>、さらに Fe は増加することがわかっている。このようにして産生されたヒドロキシルラジカル ( $\text{HO}\cdot$ ) が、脂質の過酸化を促すことにより、筋の萎縮を促進する。さらにこの ROS は MRF : muscle regulatory factor ファミリーを負に調節することが報告されていることから<sup>17)</sup>、タンパク質の合成も低下する。このようなことからビタミン E やアスタキサンチン<sup>18)</sup> などの抗酸化作用をもつものを摂取することによる筋萎縮抑制に関する研究がおこなわれている。このように、骨格筋細胞・組織レベルでミネラルの恒常性破綻が引き金となってミネラルのインバランスが生じ、筋萎縮を誘導するものと考えられている。

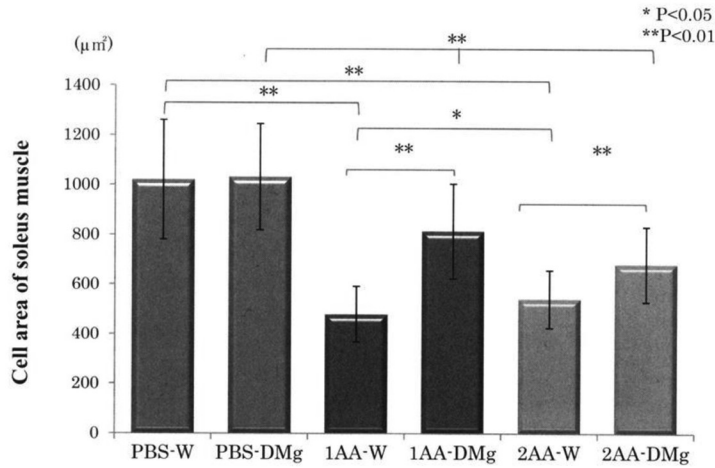
木崎らは筋萎縮に伴う筋組織でのミネラル動態と、ミネラル摂取が筋萎縮に及ぼす効果について検討している。木崎らは筋萎縮誘導モデルとして尾部懸垂 (TS) を用いた。水摂取 (W) 群と尾部懸垂・水摂取 (WTS) 群の体重当たりのヒラメ筋重量の平均値を比較すると統計的に有意に減少することを報告している。しかしながらアスパラギン酸マグネシウム摂取 (D-Mg) 群と尾部懸垂・アスパラギン酸マグネシウム摂取 (D-MgTS) 群の平均値間において有意差はなかった。また W 群と D-Mg 群の体重当たりのヒラメ筋重量の平均値を比較すると肥大はみられなかった。また足底筋では、どの群間においても統計的に有意差はなかった。7 日間の TS によりヒラメ筋で筋重量は急速に減少し、筋重量と細胞面積との間には強い相関がみられた ( $r=0.81$ )。筋萎縮を誘導した WTS 群の

ヒラメ筋では顕著に細胞内に Ca が増加し、Mg の減少傾向がみられた。したがって Ca が筋のタンパク質分解系を亢進するトリガーであることが示唆された。一方 D-Mg を摂取した D-MgTS 群のヒラメ筋では Ca の増加も Mg の減少も観察されなかった。すなわち D-Mg を摂取することにより Mg 濃度が保たれ、活性酸素を産生する Ca の過度な流入が起こらず、筋萎縮が抑制されたものと考えられる。細胞面積計測結果で W 群と WTS 群、WTS 群と D-MgTS 群、WTS 群と D-MgTS 群のヒラメ筋の平均値間で統計的な有意差がみられた。足底筋においてはどの群間においても統計的な有意差はなかった。筋タンパク質量は、W 群と WTS 群、WTS 群と D-MgTS 群のヒラメ筋の平均値間で統計的な有意差がみられた。足底筋においてはどの群間でも統計的な有意差はなかった。骨格筋中の Ca、Mg、Zn の定量分析の結果、ヒラメ筋では WTS 群の Ca が統計的な有意に増加していたのに対し、D-MgTS 群で統計的な有意差はみられなかった。ヒラメ筋における Mg は、WTS 群で減少傾向を示したが、その他の群での統計的な有意差はなかった。足底筋における Ca、Mg、Zn 濃度はどの群においても統計的な有意差はなかった。この結果から Asp そのものよりマグネシウムや亜鉛の筋萎縮抑制効果を木崎らは、示唆している。

### Ⅲ. アスパラギン酸塩と ATP 減少による骨格筋萎縮

ATP 減少による骨格筋萎縮に対するアスパラギン酸塩の効果

先行研究より廃用性筋萎縮は、毛細血管数の減少により、ATP 合成が滞ることで引き起こると考えられている。毛細血管数の減少により、組織が虚血状態となることで、酸化的リン酸化が止まり、ATP 合成が滞る。その結果、ATP 依存性の  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$  の活性が障害され、ナトリウムが細胞内に流入する。細胞内で過剰となったナトリウムは  $\text{Na}^+\text{/Ca}^{++}$  交換輸送体によりカルシウムと交換されて、細胞内カルシウム濃度が上昇する。細胞内カルシウムはカルパインを活性化し、たんぱく質分解が亢進され廃用性筋萎縮が引き起こると考えられる<sup>16)</sup>。Asp は、プリンヌクレオチド回路において、フマル酸を生成する。IMP と Asp がアデニロコハク酸合成酵素の触媒で結合し、アデニロ



PBS-W : PBS-水群

PBS-DMg : PBS-アスパラギン酸マグネシウム群

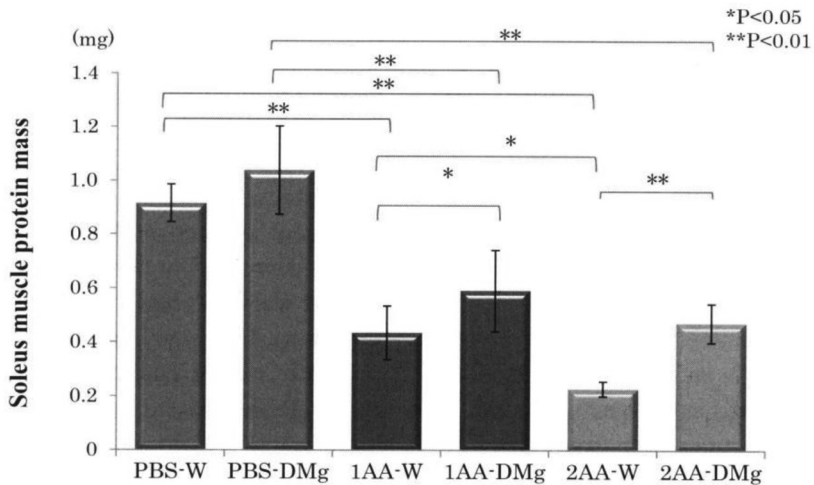
1AA-W : 1mg/kg アンチマイシン投与-水群

1AA-DMg : 1mg/kg アンチマイシン投与-アスパラギン酸マグネシウム群

2AA-W : 2mg/kg アンチマイシン投与-水群

2AA-DMg : 2/kg アンチマイシン投与-アスパラギン酸マグネシウム群

図 2 アスパラギン酸マグネシウムがヒラメ筋タンパク質量に及ぼす影響



PBS-W : PBS-水群

PBS-DMg : PBS-アスパラギン酸マグネシウム群

1AA-W : 1mg/kg アンチマイシン投与-水群

1AA-DMg : 1mg/kg アンチマイシン投与-アスパラギン酸マグネシウム群

2AA-W : 2mg/kg アンチマイシン投与-水群

2AA-DMg : 2mg/kg アンチマイシン投与-アスパラギン酸マグネシウム群

図 3 アスパラギン酸マグネシウムがヒラメ筋細胞面積に及ぼす影響



コハク酸となる。アデニロコハク酸はアデニロコハク酸リアーゼの触媒によって切断され、AMP とフマル酸を生成する。AMP は AMPK によって ATP に変換される。アスパラギン酸マグネシウム摂取では、この回路によって ATP が保たれ、筋萎縮を抑制することが示唆される。すなわち、廃用性筋萎縮ではエネルギー源である ATP 合成の減少が骨格筋の萎縮を誘導したものと考え、それを補うようにアスパラギン酸マグネシウムはプリンスクレオチド回路にて、ATP 合成を促し、骨格筋の萎縮を抑制すると推定している。

これらを検証するために、著者らは、マウスを尾牽引し、筋萎縮を誘導する際にアスパラギン酸マグネシウムを摂取させ、筋萎縮抑制の効果を観察した。多くの論文で、骨格筋の萎縮に伴い ATP が減少する<sup>19)</sup>ことから、人為的に ATP 合成を阻害した場合のモデル系で、著者等は ATP 合成過程である電子伝達系の阻害剤、アンチマイシン A を用いて研究を行った。電子伝達系は、ミトコンドリア内膜に存在し、ATP を合成する機構の一つである。その機構は、複合体 I, II, III, IV と呼ばれる 4 つの酵素複合体で構成されている。これらの複合体は電子の受け渡しを行い、それに共役して膜の内側から外側へ、膜電位に逆らって水素イオンを輸送する。これによって生じたプロトンの濃度勾配を使って、ATP 合成酵素は ATP 合成を行う<sup>19)</sup>。アンチマイシン A は電子伝達系の複合体 III を阻害する。複合体 III はシトクロム b566, シトクロム b560, シトクロム c1, Fe-S クラスターの 4 つで構成されている。Qo 部位でユビキノールがユビキノンに酸化され、シトクロム b566 に電子移動する。電子はシトクロム b560 に移動し、Qi 部位においてユビキノンが還元されユビキノールになる。この一連の電子移動はキノンサイクルと呼ばれる。アンチマイシン A はキノンサイクルのシトクロム b560 から Qi 部位への電子移動過程をブロックすることで、電子伝達系を阻害し、ATP 合成を阻害する<sup>19)</sup>。

図 2、図 3 に示すように遅筋であるヒラメ筋の体重あたりの筋湿重量は PBS-W 群と 1AA-W 群、1AA-W 群と 2AA-W 群の間に統計的に 1% の危険率で有意差がみられた。1AA-W 群と 1AA-DMg 群の間に統計的に 5% の危険率で有意差がみられた。しかしながら遅筋である足底筋の体重あたりの筋湿重量はどの群間にも統計的に有意差はみられなかった。

ヒラメ筋タンパク質量は (図 2) コントロール群とアンチマイシン A 投与群の間に統計的に 1% の危険率で有意差がみられた。また 1mg/kg 濃度のアンチマイシン A 投与群において W 群と DMg 群の間に統計的に 1% の危険率で有意差がみられ、2mg/kg 濃度のアンチマイシン A 投与群において W 群と DMg 群の間に統計的に 5% の危険率で有意差がみられた。足底筋のタンパク質量はどの群間にも統計的に有意差はみられなかった。ヒラメ筋の筋細胞面積は、コントロール群とアンチマイシン A 投与群の間に統計的に 1% の危険率で有意な減少がみられた (図 3)。またアンチマイシン A 投与群において W 群と DMg 群の間に統計的に 1% の危険率で有意な増加がみられた。足底筋の筋細胞面積はどの群間にも統計的に有意差はみられなかった。以上の結果、アスパラギン酸マグネシウムの摂取によってプリンスクレオチド回路より ATP 合成が促進され骨格筋の萎縮が抑制した可能性が示唆される。

## 参考文献

- 1) Rosenberg IH<sup>1</sup>. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *Clin Geriatr Med. Aug; 27(3): 337-9. 2011.*
- 2) Alfonso J. Cruz-Jentoft,<sup>1</sup> Jean Pierre Baeyens,<sup>2</sup> Jürgen M. Bauer,<sup>3</sup> Yves Boirie,<sup>4</sup> Tommy Cederholm,<sup>5</sup> Francesco Landi,<sup>6</sup> Finbarr C. Martin,<sup>7</sup> Jean-Pierre Michel,<sup>8</sup> Yves Rolland,<sup>9</sup> Stéphane M. Schneider,<sup>10</sup> Eva Topinková,<sup>11</sup> Maurits Vandewoude,<sup>12</sup> and Mauro Zamboni<sup>13</sup> Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People Age Ageing. Jul; 39(4): 412-423. 2010.
- 3) Powers SK, Kavazis AN and McClung JM. Oxidative stress and disuse muscle atrophy. *J Appl Physio. 110(2): 2389-2397. 2007.*
- 4) Taillandier D, Arousseau E, Meynial-Denis D, Bechet D, Ferrara M, Cottin P, Ducastaing A, Bigard X, Guezennec CY and Schmid HP. Coordinate activation of lysosomal, Ca<sup>2+</sup>-activated and ATP-ubiquitin dependent proteases in the unweighted rat soleus muscle. *Biochem 7316: 65-72. 1996.*
- 5) Yulan Liu, Xiuying Wang, Weibo Leng, Aspartate inhibits LPS-induced MAFbx and MuRF1 expression in skeletal muscle in weaned pigs by regulating Akt, AMPK $\alpha$  and FOXO1 innate Immunity, *23(1):34-43. 2017.*
- 6) Andrei B. Borisov, Shi-Kai Huang, Bruce M. Carlson Remodeling of the vascular bed and progressive loss of capillaries in denervated skeletal muscle 258:292-304. 2000
- 7) Powers SK, SmuderAJ and Judge AR. 2012. Oxidative stress and disuse muscle atrophy: cause or consequence? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 15: 240-245. 2012.*

- 8) Crossland H, Constantin-Teodosiu D, Gardiner SM, et al A potential role for Akt/FOXO signalling in both protein loss and the impairment of muscle carbohydrate oxidation during sepsis in rodent skeletal muscle. *J Physiol* 586: 5589-5600. 2008.
- 9) Frost RA, Nystrom GJ, Jefferson LS, et al Hormone, cytokine, and nutritional regulation of sepsis-induced increases in atrogin-1 and MuRF1 in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292:E501-E512. 2007.
- 10) Steven E. Thiessen, Sarah Derde, Inge Derese, Thomas Dufour, Chloé Albert Vega, Lies Langouche, Chloë Goossens, Nele Peersman, Pieter Vermeersch, Sarah Vander Perre, Jens J. Holst Role of Glucagon in Catabolism and Muscle Wasting of Critical Illness and Modulation by Nutrition. 196:9, 2017.
- 11) Yulan Liu, Feng Chen, Jack Odle, Xi Lin, Huiling Zhu, Haifeng Shi, Yongqing Hou, and Jingdong Yin Fish Oil Increases Muscle Protein Mass and Modulates Akt/FOXO, TLR4, and NOD Signaling in Weaning Piglets After LPS Challenge *J. Nutr.* doi: 10.3945/jn.113.176255.
- 12) Shaokui Chen, Yulan Liu Asparagine improves intestinal integrity, inhibits TLR4 and NOD signaling, and differently regulates p38 and ERK1/2 signaling in weanling piglets after LPS challenge *Innate Immunity* 577-587. 2016.
- 13) Wang X, Liu Y, Wang S, Pi D, Leng W, Zhu H, Zhang J, Shi H, Li S, Lin X, Odle J. Asparagine reduces the mRNA expression of muscle atrophy markers via regulating protein kinase B (Akt), AMP-activated protein kinase  $\alpha$ , toll-like receptor 4 and nucleotide-binding oligomerisation domain protein signalling in weaning piglets after lipopolysaccharide challenge. *Br J Nutr.* 116(7):1188-1198. 2016.
- 14) Kondo H, Miura M, Nakagaki I, Sasaki S and Itokawa Y. Trace element movement and oxidative stress in skeletal muscle atrophied by immobilization. *Am J Physiol* 262: E583-E590. 1992.
- 15) Halliwell B and Gutteridge JM. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 219: 1-14.
- 16) MarcBartoliIsabelleRichard Calpains in muscle wasting The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 37: 2115-2133. 2005.
- 17) Boa Kim, Ji-Seok Kim, Yisang Yoon, Mayra C. Santiago, Michael D. Brown, Joon-Young Park Inhibition of Drp1-dependent mitochondrial division impairs myogenic differentiation *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 305(8):R927-R938. 2013.
- 18) Toshinori Yoshihara, Yuki Yamamoto, Tsubasa Shibaguchi, Nobuyuki Miyaji, Ryo Kakigi, Hisashi Naito, Katsumasa Goto, Daijiro Ohmori, Toshitada Yoshioka, Takao Sugiura Dietary astaxanthin supplementation attenuates disuse-induced muscle atrophy and myonuclear apoptosis in the rat soleus muscle. *The Journal of Physiological Sciences* 67(1):181-190. 2017.
- 19) Shigeru Yamada<sup>1)</sup>, Eriko Kizaki<sup>1)</sup>, Aya Ozeki<sup>1)</sup>, Mio Nakagawa<sup>1)</sup>, Hitomi Fujita<sup>1)</sup> Sarcopenia and aspartic acid magnesium *J Phys Fitness Sport Med* 4(3):287-294. 2015.