

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：32702

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17941

研究課題名（和文）運動が全身のミトコンドリアの適応をもたらすメカニズムの解明

研究課題名（英文）Systemic effects of exercise on mitochondrial adaptations

研究代表者

北岡 祐 (Kitaoka, Yu)

神奈川大学・人間科学部・准教授

研究者番号：30726914

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,600,000円

研究成果の概要（和文）：高強度インターバルトレーニングは効率的に運動パフォーマンスを高めると考えられているが、全身性の因子の影響は不明である。本研究では、運動後に採取した血清を細胞に添加する実験から、高強度インターバル運動直後の血液中にはエネルギー代謝（解糖系およびミトコンドリア呼吸機能）を高める因子が含まれていることを明らかにした。本研究では、これをエクサカインと定義した。阻害剤を用いた実験によって、エクサカインは運動によって細胞外小胞に含まれる形で分泌される可能性が示唆された。エクサカインが実際に運動による身体の長期的な適応にどの程度関与するのは今後の研究課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動は健康の維持および増進に貢献すると考えられているが、そのメカニズムは不明な点が多い。近年、骨格筋から分泌される生理活性因子であるマイオカインの重要性が示唆されているが、運動効果をもたらす物質は骨格筋由来の因子だけとは限らない。本研究では運動によって体内で分泌される因子をエクサカインと定義し、細胞外小胞に含まれる形で分泌されるエクサカインが運動による身体の適応に関与する可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：We found that blood samples taken immediately after high-intensity interval exercise contain "exerkine" that enhances glycolytic capacity and mitochondrial respiratory function in skeletal muscle cells. Our results suggested that these factors may be secreted by exercise in extracellular vesicles. However, it remains unclear that whether "exerkine" is actually involved in the chronic adaptation of the whole body.

研究分野：運動生理生化学

キーワード：エクサカイン

### 1. 研究開始当初の背景

運動により骨格筋のミトコンドリアの新生が起こり、持久的能力が向上することはよく知られている。さらに、運動は骨格筋の適応をもたらすだけでなく、全身の臓器に多様な効果を与えることで、健康の維持および増進に貢献していることが近年の疫学的研究によって示唆されている。その分子メカニズムとして、骨格筋から分泌される生理活性因子である「マイオカイン」に関する研究が注目を集めているが、確かに骨格筋は重要な運動器であるものの、筋収縮は運動中に起こる身体の変化の一部に過ぎない。つまり、培養筋細胞のみを用いた実験系では筋以外の組織に由来した因子の影響、臓器間のクロストークの影響については見逃してしまうことになる。そこで本研究では、骨格筋由来の因子だけに限定せず、運動(エクササイズ)により体内で分泌される因子を「エクサカイン」と定義した。

### 2. 研究の目的

運動により体内で分泌される因子(エクサカイン)がミトコンドリアの適応をもたらすという仮説を検証することを目的とし、(1) 運動直後にマウスから採取した血清の添加によって培養筋細胞のミトコンドリア呼吸機能は変化するのか、(2) エクソソーム阻害剤を投与した上で同様の実験を行った際にその変化は消失するのか、(3) 長期的なエクソソーム阻害剤の投与によって高強度インターバルトレーニングが骨格筋ミトコンドリアに及ぼす効果は減弱するのか、について検討することで、運動による身体の適応におけるエクサカインの役割を明らかとすることを目指して実験を行った。



図 1. 本研究の仮説

### 3. 研究の方法

ICR 雄マウスを安静飼育群 (SED) と運動群 (EX) に分け、それぞれ安静時および運動直後に血清を採取した。運動として高強度インターバル水泳運動を採用した(マウスの尾に体重の 10% の重りをつけ、20 秒間の水泳運動を 10 秒間の休息を挟み 10 セット繰り返した)。各群のマウスから採取した血清を 10% 含む培地中で 24 時間培養し、リアルタイム PCR 法により遺伝子発現を、細胞外フラックスアナライザーを用いて解糖系およびミトコンドリア呼吸機能を測定した。次に、エクソソーム阻害剤 (GW4869) を投与したマウスを対象として、同様に一過性の高強度インターバル水泳運動を行い運動直後に採取した血清を培養細胞に添加する実験、さらに週 5 回 6 週間のトレーニング実験を実施した。

### 4. 研究成果

#### (1) 高強度運動後の血清がミトコンドリア呼吸機能に及ぼす影響

まず、運動強度について確認するために血中乳酸濃度を測定したところ、安静時には 2 mM、高強度運動直後では 10 mM であった。高強度インターバル水泳運動後の血清を添加した細胞は、安静時の血清を添加した細胞と比較して、ミトコンドリアの基礎呼吸 (図 2A) および最大呼吸が有意に高かった (図 2B)。解糖系機能についても高強度運動後の血清を添加した細胞において有意な高値を示した (図 2C)。しかし、ミトコンドリア新生のマスター遺伝子である PGC-1alpha の発現に変化はみられなかった。また、高強度運動直後の血清とは異なり、低強度運動後の血清を添加してもミトコンドリア呼吸機能には変化がみられなかった。したがって、運動強度依存的に体内で分泌される因子がエネルギー代謝の適応に関与していると考えられる。

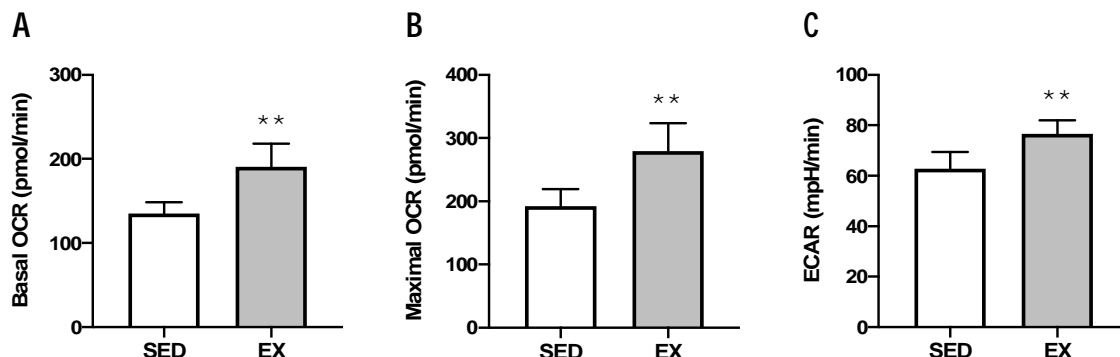


図 2. 運動後の血清添加によるエネルギー代謝の変化

## (2) エクソソーム阻害が運動後の血清によるミトコンドリアの適応に及ぼす影響

マウスにエクソソームの分泌を阻害する GW4869 を投与し高強度運動直後に血清を採取したところ、運動による血中乳酸濃度の変化には GW4869 投与の影響はみられなかったものの、代表的なマイオカインである IL-6 の運動による増加が抑制されていることが確認された。そこで、採取した血清を培養細胞に添加する実験を行ったところ、ミトコンドリアの基礎呼吸 (図 3A) および最大呼吸 (図 3B) の増加が抑制されることが明らかとなった。したがって、運動の効果をもたらす因子の少なくとも一部は、運動刺激によってエクソソームに含まれる形で血液中に分泌されると考えられる。

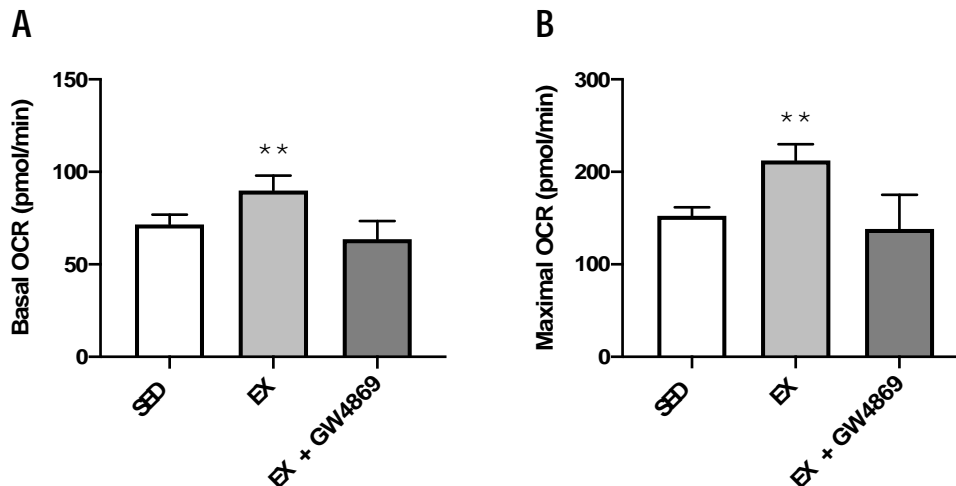


図 3. エクソソーム阻害による適応の抑制

## (3) エクソソーム阻害がトレーニングによるミトコンドリアの適応に及ぼす影響

先行研究において骨格筋ミトコンドリアの量が増加することを確認済みのトレーニングプロトコルを採用し (Adv. Exerc. Sports Physiol. 24:13-16, 2018)、マウスに GW4869 を投与し高強度インターバルトレーニングを 6 週間行わせたところ、生理食塩水を投与した場合と比較して、握力および足底筋の重量に有意な差は認められなかった。同様に、足底筋におけるミトコンドリア呼吸鎖複合体タンパク質量 (図 4) にも GW4869 投与の影響はみられなかった。これらの結果から、少なくとも骨格筋に関しては、トレーニングによるミトコンドリアの適応へのエクソソームの関与は小さい可能性が示唆された。

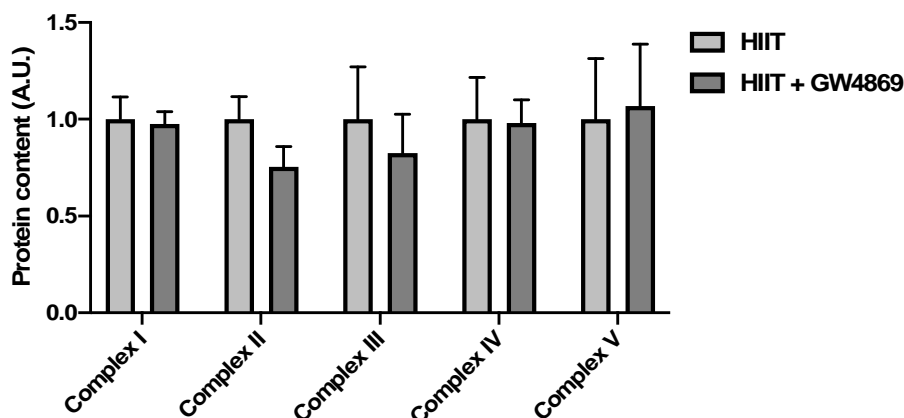


図 4. エクソソーム阻害がトレーニング効果に及ぼす影響

## (4) ミトコンドリアの適応に関わるその他の要素

抗酸化のマスター遺伝子である Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) のノックアウトマウスの骨格筋から単離したミトコンドリアにおいて、活性酸素種の産生増加が確認されたことから、酸化ストレスが関与する可能性がある。また、サラブレッドを対象とした乳酸投与実験および筋肉冷却実験から、乳酸をはじめとした代謝物質や、筋温の変化が運動による適応に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yu Kitaoka, Kazutaka Mukai, Sena Tonai, Hajime Ohmura, Toshiyuki Takahashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of post-exercise muscle cooling on PGC-1 and VEGF mRNA expression in Thoroughbreds	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Comparative Exercise Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Wenxin Wang, Kazutaka Mukai, Kenya Takahashi, Hajime Ohmura, Toshiyuki Takahashi, Hideo Hatta, Yu Kitaoka	4. 巻 8
2. 論文標題 Short term hypoxic training increases monocarboxylate transporter 4 and phosphofructokinase activity in Thoroughbreds	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14473
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.14473	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yu Kitaoka, Kazutaka Mukai, Kenya Takahashi, Hajime Ohmura, Hideo Hatta	4. 巻 16
2. 論文標題 Effect of lactate administration on exercise-induced PGC-1 mRNA expression in Thoroughbreds	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Comparative Exercise Physiology	6. 最初と最後の頁 253-258
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3920/CEP200009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yu Kitaoka, Yuki Tamura, Kenya Takahashi, Kohei Takeda, Tohru Takemasa, Hideo Hatta	4. 巻 7
2. 論文標題 Effects of Nrf2 deficiency on mitochondrial oxidative stress in aged skeletal muscle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e13998
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.13998	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yu Kitaoka, Shin Fujimaki, Masanao Machida, Tohru Takemasa	4. 巻 24
2. 論文標題 Effect of Voluntary Wheel Running Exercise on Mitochondrial Fusion and Fission Proteins in Aged Mouse Skeletal Muscle	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advances in Exercise and Sports Physiology	6. 最初と最後の頁 39-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 北岡祐, 武田紘平, 武政徹
2. 発表標題 高強度運動後の血清が骨格筋ミトコンドリアに及ぼす影響
3. 学会等名 第27回日本運動生理学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北岡祐, 藤巻慎, 武政徹
2. 発表標題 加齢および運動が骨格筋ミトコンドリアに及ぼす影響
3. 学会等名 第26回日本運動生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北岡祐, 田村優樹, 高橋謙也, 武田紘平, 武政徹, 八田秀雄
2. 発表標題 Nrf2欠損マウスにおける加齢によるミトコンドリア機能の変化
3. 学会等名 日本筋学会第4回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yu Kitaoka
2. 発表標題 Oxidative stress, mitochondrial dynamics, and muscle atrophy
3. 学会等名 International Conference for Adaptations and Nutrition in Sports (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yu Kitaoka, Yuki Tamura, Kenya Takahashi, Kohei Takeda, Tohru Takemasa, Hideo Hatta
2. 発表標題 Effect of Nrf2 Deficiency on Age-related Changes in Skeletal Muscle Mitochondria
3. 学会等名 ACSM Integrative Physiology of Exercise Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 北岡祐 (計53名, 森谷敏夫編集)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス(NTS)	5. 総ページ数 342
3. 書名 筋肉研究最前線 ~代謝メカニズム、栄養、老化・疾病予防、科学的トレーニング法~ (第2章第5節: 骨格筋の乳酸代謝メカニズム)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------