

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：11601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11433

研究課題名（和文）骨格筋のミトコンドリア制御に関する研究

研究課題名（英文）Regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle

研究代表者

安田 俊広 (Yasuda, Toshihiro)

福島大学・人間発達文化学類・教授

研究者番号：50323184

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：骨格筋のミトコンドリアの増加を引き起こすメカニズムについて明らかにするため、筋の収縮活動という局所因子と交感神経活動の亢進といった体液性因子の2つの影響について検討した。まずラットにノルエピネフリンを注射し、交感神経活動とミトコンドリア関連タンパク質を測定した。その結果、骨格筋では交感神経活動の亢進は、ミトコンドリアの増加への影響がないか極めて弱いことが分かった。次に運動によるミトコンドリアの増加に対して、プロプラノロールはその増加を抑制しないことも明らかとなった。これら結果から骨格筋のミトコンドリアの増加には骨格筋の収縮活動が重要であり、体液性因子の関与は少ないものと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨格筋のミトコンドリアの増加は持久性能力の向上や脂質代謝亢進を引き起こすため、骨格筋のミトコンドリアの増減メカニズムを明らかにすることは持久性競技種目におけるパフォーマンスの向上や代謝疾患の予防のために極めて重要である。先行研究では交感神経活動がミトコンドリアバイオジェネシスに重要な働きをしているという論文が発表されているが、本研究の成果はその成果と異なるものであった。本研究の結果は筋力の適応はトレーニングをした部位にのみ現れるというトレーニングの特異性の原理を裏付けるものであり、ミトコンドリアを増加させるためのトレーニング方法を考える上で重要な情報を提供している。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the mechanism underlying the increase in skeletal muscle mitochondria, we investigated the effects of two factors: local factors such as muscle contraction activity and systemic factors such as sympathetic nerve activity. First, we injected norepinephrine into rats and measured sympathetic nerve activity and mitochondria-related proteins. The results showed that the increase in sympathetic nerve activity had no or extremely weak effect on mitochondrial increase in skeletal muscle. Furthermore, it was also revealed that propranolol did not inhibit the increase in mitochondria caused by exercise. Based on these results, it is considered that the contraction activity of skeletal muscle is important for the increase in skeletal muscle mitochondria, while the involvement of systemic factors is minimal.

研究分野：運動生理学

キーワード：骨格筋 ミトコンドリア PGC-1 筋収縮 体液性因子

## 1. 研究開始当初の背景

骨格筋のミトコンドリアの増加は、持久的能力を向上させるだけでなく、脂質代謝の亢進やインスリン感受性の向上など代謝疾患の予防にも関与している。したがって、ミトコンドリアの増加を引き起こすメカニズムの解明は上記課題の解決のために望まれるが、未だ不明な点が多い。近年、交感神経活動の亢進が PGC-1 $\alpha$  の増加とそれに伴うミトコンドリアタンパクの増加を引き起こす可能性があることがいくつかの研究で示されている。例えば、申請者は褐色脂肪細胞 (BAT) では交感神経活動の亢進により明らかに PGC-1 $\alpha$  や脱共役タンパク質 (UCP) が増加することを確認している。また Miura らはアドレナリン  $\beta$  2 受容体のアゴニストであるクレンブテロールをマウスに注射したところ骨格筋の PGC-1 $\alpha$  mRNA の発現がコントロール群に比べ 30 倍増加することを報告している (Miura et al., 2007)。さらに、PGC-1 $\alpha$  には 3 種のアイソフォームが存在し、その内、PGC-1 $\alpha$ -b および c の発現は運動強度の影響を受け、その増加に  $\beta$  2 アドレナリン受容体刺激が関与している可能性が報告されている (Tadaishi et al., 2011)。このように交感神経活動によって骨格筋の適応が生じる可能性が示唆されている一方で、トレーニングによる身体の適応については、古くから特異性の原理があることが認められている。即ちトレーニング効果はトレーニングした筋にのみ現れ、他の部位への影響は限定的であるとする考え方である。この特異性の原理から考えると、ミトコンドリア増加に交感神経活動 (体液性因子) が強く関与するという結果は矛盾している。体液性因子が強く関与していることが事実ならば、トレーニングしていない筋にトレーニング効果が認められることになり、そのようなことが本当に起きるのかを明らかにすることはミトコンドリア増加メカニズムを理解する上で極めて重要である。

## 2. 研究の目的

本研究は、ミトコンドリア増減に対する局所因子と体液性因子との 2 要因の影響を検討することで、骨格筋のミトコンドリア制御の生理学的メカニズム構造の解明を目指すことを目的とした。

## 3. 研究の方法

### <実験 1> 骨格筋と褐色脂肪細胞の適応の違いについての検討

Wistar 系雄性ラットに 1mg/kg のノルエピネフリンを腹腔内に注射し 30 分後、6 時間後、18 時間後に褐色脂肪細胞と腓腹筋および上腕三頭筋を摘出した。注射 30 分後のサンプルはエピネフリンが作用していることを確認するため、cAMP-response element-binding protein (CREB) のリン酸化の有無を測定して評価した。またコントロール群にはアスコルビン酸を注射した。アスコルビン酸もしくはノルエピネフリン注射 6 時間後および 18 時間後の摘出したサンプルは分析まで -80°C で凍結保存した。サンプルは RIPA バッファーにより溶解した後、ブラッドフォード法によりタンパク濃度を測定し 2mg/ml になるよう調整した。その後、SDS-PAGE 電気泳動を行い、ウェスタンブロッティング法を用いて目的タンパクの定量を行なった。

測定するタンパク質および mRNA は、PGC-1 $\alpha$ 、UCP-1 (褐色脂肪細胞)、UCP-3 (骨格筋)、Citrate Synthase, Cytochrome c, COX I, p38 MAPK (総量とリン酸化 p38 MAPK)、ATF-2 (総量とリン酸化 ATF-2) とした。

タンパクの変化は、コントロール群のタンパク量を 1 としてその相対的変化量で評価した。

### <実験 2> 運動によるミトコンドリアの増加を $\beta$ ブロッカーが抑制するか否かを検討

実験 2 ではミトコンドリアの増加モデルとして水泳運動を用いた。ラットに 3 時間の水泳を 15 分の休憩を挟んで 2 回、計 6 時間実施する。先行研究ではこの水泳運動を 5 日間実施することでミトコンドリアのタンパクが増加することが確認されている。水泳運動に先立ち、実験群のラットにプロプラノロール (10mg/kg) を皮下注射した。プロプラノロールはアドレナリン受容体阻害剤であり、アドレナリンの作用を阻害することが出来る。すなわち交感神経活動がミトコンドリアの増加に関与しているのであれば、水泳運動をしてもプロプラノロール投与群はミトコンドリアが増加しないはずである。

5 日目の水泳トレーニング終了 48 時間後に前肢骨格筋の Epitrochlearis (EPI) を摘出し、実験 1 と同様、ウェスタンブロッティングで目的タンパク質の定量を行った。

測定するタンパク質は PGC-1 $\alpha$  およびミトコンドリアタンパクの Citrate Synthase, COX I である。

## 4. 研究成果

### <実験 1>

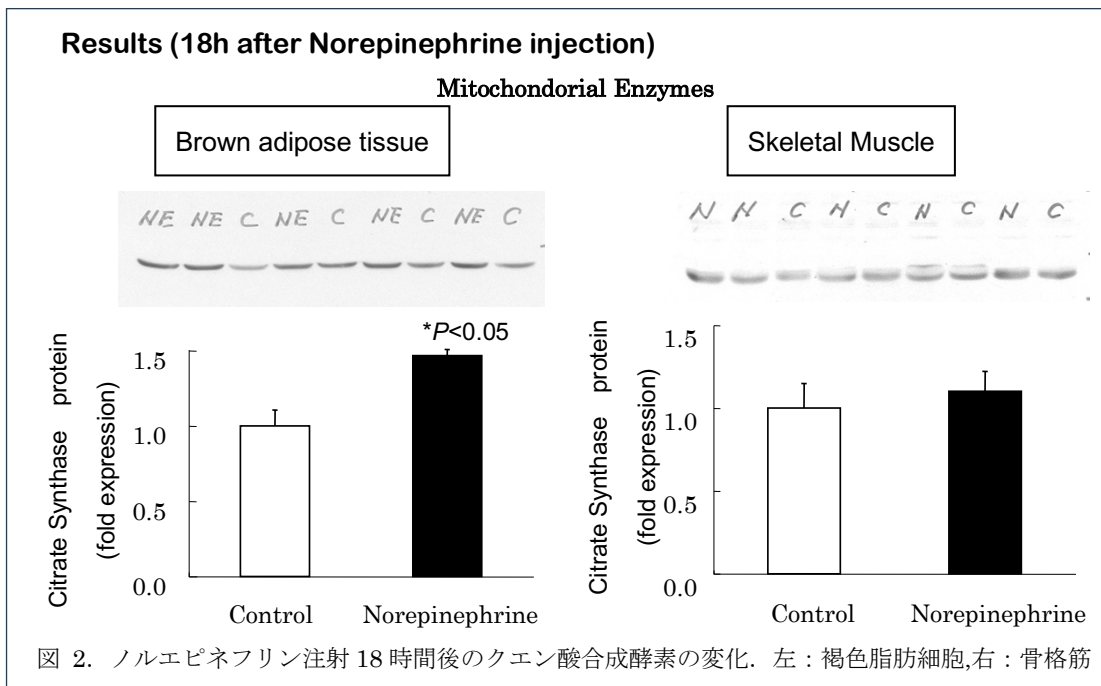
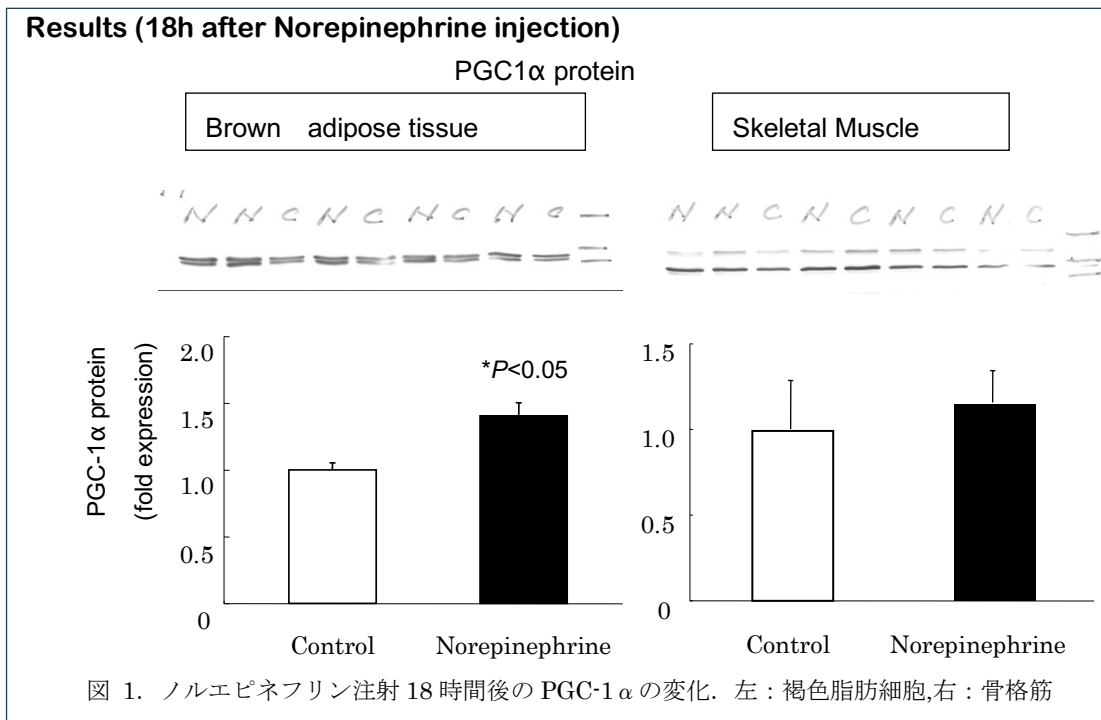
ラットにノルエピネフリンを注射し、骨格筋と褐色脂肪細胞を摘出しミトコンドリア生合成に

関係するタンパクを測定・評価した。

まずノルエピネフリン注射 30 分後のサンプルを用いて CREB のリン酸化を測定し、ノルエピネフリンが作用していることを確認した。その後ミトコンドリアバイオジェネシスに關与するタンパクを測定した。測定したタンパクは、PGC-1 $\alpha$ 、UCP-1 (褐色脂肪細胞)、UCP-3 (骨格筋)、クエン酸合成酵素である。

その結果、ノルエピネフリン注射 6 時間後において褐色脂肪細胞・骨格筋共に PGC-1 $\alpha$ 、UCP-1 の変化は觀察されなかった。一方、注射 18 時間後においては褐色脂肪細胞の PGC-1 $\alpha$  が増加したが (図 1 左)、骨格筋では変化が見られなかった (図 1 右)。この結果は、ミトコンドリア關連タンパク (クエン酸合成酵素) においても同様であった (図 2)。

これらの結果は交感神經活動の亢進は褐色脂肪細胞のミトコンドリアを増加させるが、骨格筋ではその作用がないか極めて弱いことを示唆している。



<実験 2 >

実験 1 では交感神經活動が骨格筋 PGC-1 $\alpha$  の増加に寄与しない可能性が示唆された。次にミトコンドリア増加モデルとして水泳運動を行い、体液性因子の影響について検討した。ラットにプロプラノロール ( $\beta$  阻害剤) を注射する群とアスコルビン酸を注射するコントロール群に分けた後、

両群に対し水泳運動を5日間行った。水泳トレーニングの結果、骨格筋のPGC-1 $\alpha$ やミトコンドリアタンパク(Citrate Synthase など)は約1.3-2.0倍増加した。そしてプロプラノロール処理はこの増加を抑制しなかった(コントロール群とプロプラノロール群との間に統計的な有意差が認められなかった)。

実験1及び2の結果から骨格筋のミトコンドリアの増加には骨格筋の収縮活動が重要であり、体液性因子の関与は少ないものと考えられる。

#### 研究の問題点と今後の予定

実験の結果、骨格筋のミトコンドリアの増加には筋収縮という局所因子が重要であることが示唆された。しかしながら、現時点ではサンプル数が少なくまた変化のタイムコースにもバラツキが見られており、より詳細な検討が必要と考えられる。今後はミトコンドリアバイオジェネシスに関与する他のタンパク質やmRNAの測定などが必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------