

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H04071

研究課題名（和文）乳酸による適応のメカニズム解明とその応用

研究課題名（英文）Mechanistic insights into lactate-induced adaptation and potential applications

研究代表者

八田 秀雄（Hatta, Hideo）

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：60208535

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：乳酸がミトコンドリアの呼吸機能を高めることを明らかにしたとともに、乳酸代謝の性差および性ホルモン欠乏の影響についても検討した。また、乳酸輸送担体の阻害によってマウスの運動能が低下することを示したことに加えて、運動時の乳酸産生量を血中乳酸濃度から算出する方法を確立した。さらに、休息時間の異なるインターバル運動実験から、同一の運動内容であっても乳酸を中心とした代謝物質の濃度変化の違いがトレーニング効果の違いをもたらす可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疲労物質だと誤解されたきた乳酸が、運動パフォーマンスに関わるエネルギー基質であり、ミトコンドリアの質的な変化をもたらす物質であることを示したことの学術的な意義は大きいと考えられる。さらに、血中の乳酸濃度から筋での産生量を算出する方法を確立できたことで、乳酸測定を活かした効率的なトレーニングにつながる可能性を示すことができた。また、乳酸代謝の性差を明らかにすることができたことも社会的な意義に繋がる成果として挙げられる。

研究成果の概要（英文）：This study revealed that lactate enhances mitochondrial respiratory function, and also examined the effects of sex differences in lactate metabolism and sex hormone deficiency. Besides showing that inhibition of lactate transporters reduced locomotor performance in mice, a method was established to calculate lactate production during exercise from blood lactate concentrations. Furthermore, interval exercise experiments with different rest periods showed that even with identical exercises, differences in metabolite concentrations, particularly lactate, may lead to different exercise benefits.

研究分野：運動生理生化学

キーワード：乳酸

1. 研究開始当初の背景

乳酸は、古典的な研究により、筋収縮の張力の低下と関連することが提示され、筋収縮の抑制に関与すると考えられてきたが、これまで我々は、運動後に乳酸が酸化され呼気ガス中に現れることを明らかにしてきた。実際に、乳酸はグルコースよりも優先して酸化されエネルギー基質として使われると報告されている。一方で、絶食時など血中グルコース濃度が低下するときには、乳酸がコリ回路を介して肝臓においてグルコースに変換されることが知られており、乳酸摂取によって筋グリコーゲン合成が促進されることを見出している。さらに、乳酸は単なる代謝物ではなくミトコンドリアや血管の新生などの適応を引き起こすシグナルとしての働きを持つ可能性が指摘されている(図1)。我々はマウスに乳酸を投与すると骨格筋の PGC-1 α の発現が増加することを発見し、*in vivo* における乳酸による骨格筋ミトコンドリア新生の可能性を報告した。骨格筋のみならず、肝臓、脳、脂肪などの細胞を変化させるマイオカインとしての乳酸の可能性も指摘されている。運動時には骨格筋で乳酸が産生され、血中乳酸濃度が高まることはすでに良く知られているが、運動による健康の維持・増進効果の一部は、乳酸を介した適応である可能性がある。

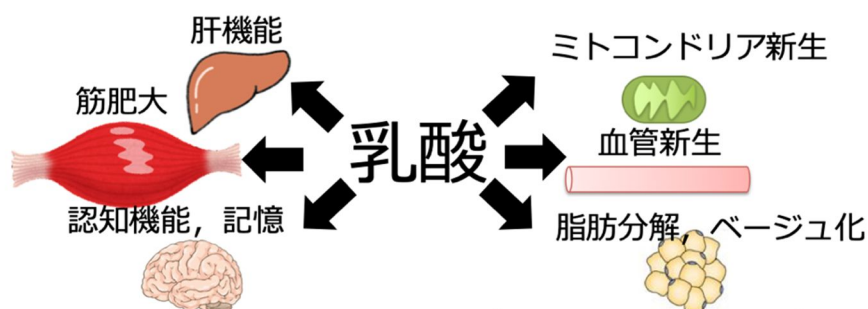


図1. 生理学的な適応を誘導するシグナル分子としての乳酸

2. 研究の目的

体内の乳酸濃度を変化させた場合に、どのような代謝応答や細胞の適応が誘導されるのかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 長期乳酸投与実験

8週齢の雄性ICRマウスを用い、対照群と乳酸群に分けてリン酸緩衝生理食塩水(PBS)または乳酸ナトリウム(1g/kg体重)を腹腔内に週5日、4週間投与した。採取した腓腹筋サンプルを用いてミトコンドリアを先行研究(Kitaoka et al., *Physiol Rep.* 2019)と同様に単離した。

(2) 乳酸輸送担体(MCT)阻害実験

A. MCT1の阻害実験: 8-10週齢の雄性ICRマウスを用い、対照群と4-CIN投与群に分け、PBSまたは4-CIN(200mg/kg体重)を投与して15分後に20m/分の速度でトレッドミル走行試験を行った。

B. MCT4阻害実験: 8-10週齢の雄性ICRマウスを用い、対照群とBindarit投与群に分け、Bindarit(50mg/kg体重)または溶媒を投与して15分後に40m/分の速度でトレッドミル走行試験を行った。

(3) 性差に関する実験

A. 雄雌マウス比較実験: 8週齢のICRマウスを用い、雄マウスと雌マウスから足底筋およびヒラメ筋を採取した。

B. 卵巣摘出実験: 10週齢の雌性ICRマウスを用い、偽手術群と卵巣摘出群に分け、手術を行ってから6週間後に足底筋を採取した。

C. 精巣摘出実験: 10週齢の雄性ICRマウスを用い、偽手術群と精巣摘出群に分け、手術を行ってから6週間後に足底筋を採取した。

(4) 乳酸産生量の算出

5週齢C57BL/6Jマウスをコントロール群(CON)とトレーニング群(EX)に分けた。トレーニング群には、15-25m/min、30分間/日、5日/週、6週間の持続的トレーニングを実施した。6週間

後、乳酸負荷試験と漸増運動負荷試験をおこない、測定した血中乳酸濃度から乳酸産生量を算出した。また、C57BL/6J マウスを、0, 10, 20, 30, 40 m/min の群に分け、2 分間走 2 分間休息×10 回の運動直後に腓腹筋を摘出し、筋グリコーゲン濃度およびシグナル分子のリン酸化を測定した。

(5) 高強度インターバル実験

サラブレッドを対象として 1 分間の高強度運動を 15 分間（長休息）または 2 分間（短休息）の休息間隔で 3 回実施し、運動前および運動 4 時間後に中臀筋サンプルを採取した。

4. 研究成果

(1) 乳酸の長期投与が単離ミトコンドリアに及ぼす影響

乳酸の長期投与によって、マウス骨格筋から単離したミトコンドリアの呼吸機能、および酵素活性が高まることが明らかとなった（図 2）。したがって、乳酸はミトコンドリアの量的な変化だけでなく質的な変化も引き起こす可能性が示唆された。

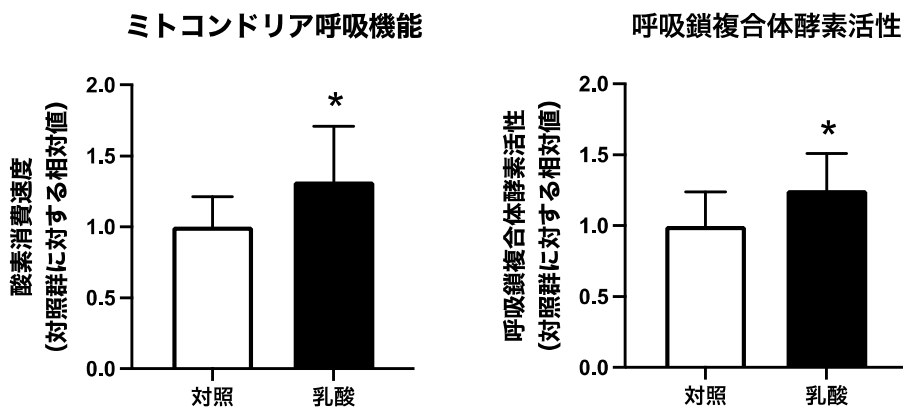


図 2. 乳酸によるミトコンドリア機能の変化

(2) 乳酸輸送の阻害が運動パフォーマンスに及ぼす影響

骨格筋に発現する 2 種類の乳酸トランスポーター(MCT1 および MCT4)の阻害によって、それぞれ 20 m/min、40 m/min での運動持続時間が低下することが確認された（図 3）。これら結果から、MCT1 と MCT4 を介した乳酸輸送が、運動時のエネルギー代謝において重要な役割を果たしていることが示唆された。

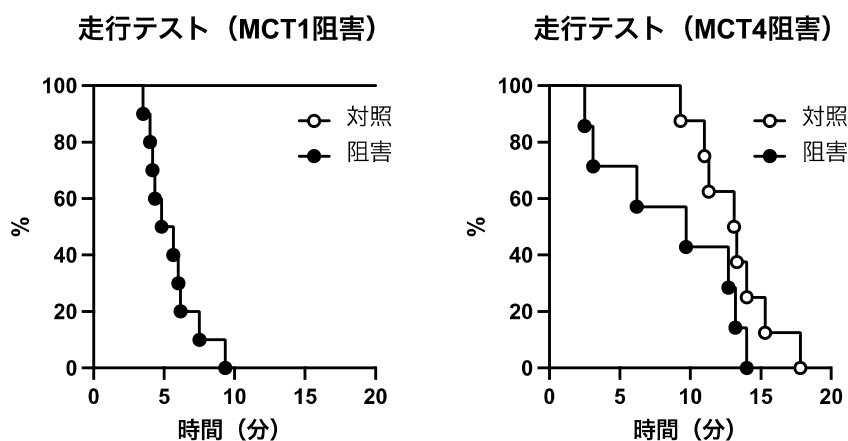


図 3. MCT 阻害による運動能の低下

(3) 乳酸代謝の性差

MCT タンパク質量の性差について検討した結果、ヒラメ筋の MCT4 は雄マウスの方が高値であった。また、精巣摘出および卵巣摘出する実験を行った結果、MCT4 タンパク質量はいずれの場合も低下することが明らかとなった（図 4）。したがって、性ホルモンが骨格筋の乳酸代謝に重要な役割を果たすことが示された。

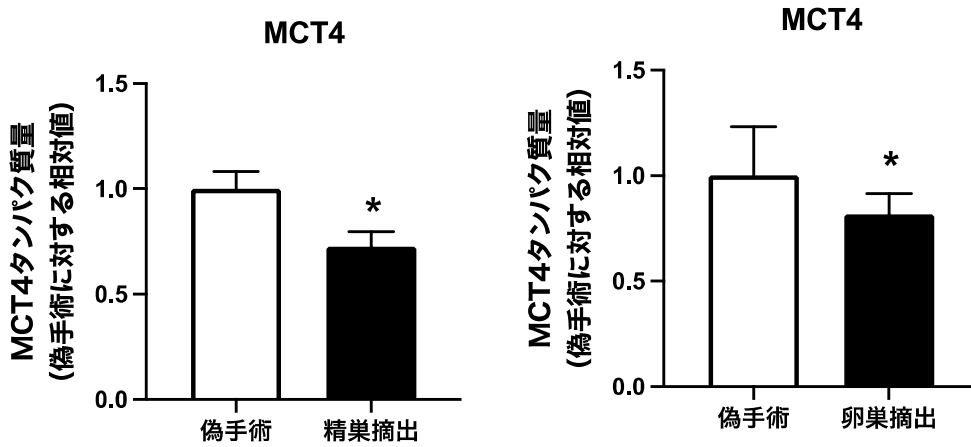


図 4. 精巣・卵巣摘出による MCT4 タンパク質量の変化

(4) 乳酸産生量の推定

乳酸投与後の血中乳酸濃度動態に 6 週間のトレーニングによる有意な変化は見られなかった。漸増負荷試験時の血中乳酸濃度から算出された 40 m/min の乳酸産生量は、持続的トレーニングによって、有意に低下した (図 5A)。算出した乳酸産生量と運動後の筋グリコーゲン濃度との間に、有意な負の相関関係が認められた ($r=0.99$, 図 5B)。AMPK のリン酸化は 40 m/min の運動後で有意に高値を示した (図 5C)。以上のことから、乳酸産生の増加は、運動による筋グリコーゲン分解量および AMPK シグナル伝達の活性化と関連していることが示唆された。

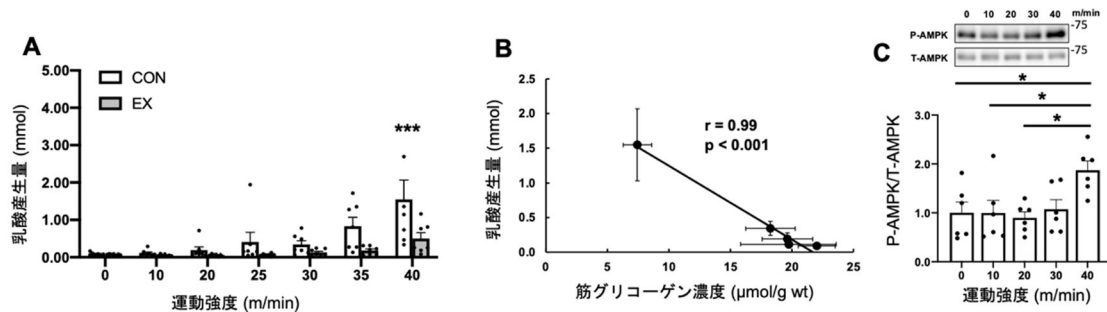


図 5. A 算出された乳酸産生量, B. 乳酸産生量と運動直後の筋グリコーゲン濃度との関係, C. 運動直後の AMPK のリン酸化

(5) 乳酸濃度の異なる運動条件での遺伝子発現の変化

遺伝子発現解析を行った結果、PPARGC1A (PGC-1 α) をはじめとする骨格筋の適応に関わる主な遺伝子の発現はいずれの運動条件においても共通して増加していた。PPARGC1A や PPARD などの遺伝子では休息時間の影響はみられなかったのに対し、NR4A3 などの一部の遺伝子では急速時間の短い運動条件のみで有意な増加が認められた (図 6)。これらの結果から、同一の運動内容であっても、乳酸を中心とする代謝物質の濃度変化がトレーニング効果をもたらす可能性が示された。

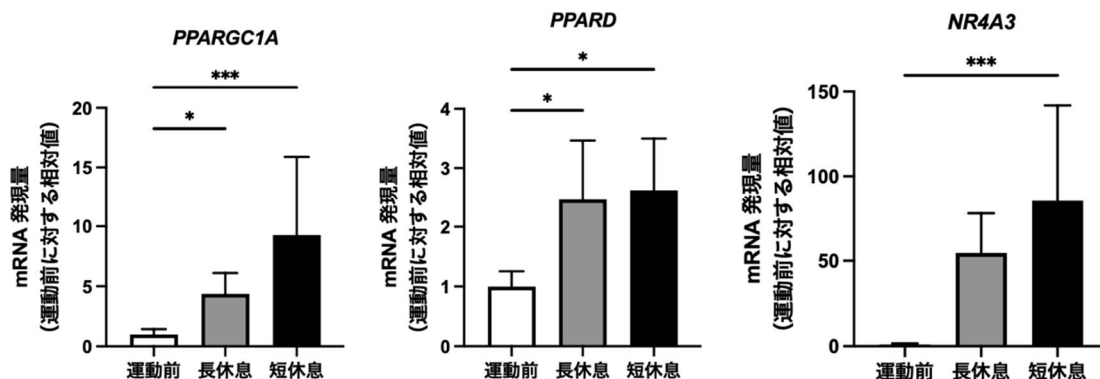


図 6. 休息時間の違いと遺伝子発現

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hoshino D, Wada R, Mori Y, Takeda R, Nonaka Y, Kano R, Takagi R, Kano Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Cooling of male rat skeletal muscle during endurance-like contraction attenuates contraction-induced PGC-1 mRNA expression	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physiol Rep.	6. 最初と最後の頁 e15867
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.15867	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 Takahashi K, Mukai K, Takahashi Y, Ebisuda Y, Hatta H, Kitaoka Y.	4. 巻 227
2. 論文標題 Metabolomic responses to high-intensity interval exercise in equine skeletal muscle: effects of rest interval duration.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 J Exp Biol.	6. 最初と最後の頁 jeb246896
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/jeb.246896	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 Takahashi K, Kitaoka Y, Hatta H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Sex-specific differences in the metabolic enzyme activity and transporter levels in mouse skeletal muscle during postnatal development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Appl Physiol Nutr Metab	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） 10.1139/apnm-2022-0462	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 Takahashi K, Kitaoka Y, Matsunaga Y, Hatta H.	4. 巻 55
2. 論文標題 Effects of Endurance Training on Metabolic Enzyme Activity and Transporter Proteins in Skeletal Muscle of Ovariectomized Mice.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Med Sci Sports Exerc	6. 最初と最後の頁 186-198
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1249/MSS.0000000000003045	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 Takahashi K, Kitaoka Y, Hatta H.	4. 巻 72
2. 論文標題 Effects of endurance training on metabolic enzyme activity and transporter protein levels in the skeletal muscles of orchietomized mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Physiol Sci	6. 最初と最後の頁 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-022-00839-z	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 Reo Takeda, Yudai Nonaka, Katsuyuki Kakinoki, Shinji Miura, Yutaka Kano, Daisuke Hoshino	4. 巻 12
2. 論文標題 Effect of endurance training and PGC-1 overexpression on calculated lactate production volume during exercise based on blood lactate concentration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-05593-1	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 Kenya Takahashi, Yu Kitaoka, Yutaka Matsunaga, Hideo Hatta	4. 巻 11
2. 論文標題 Lactate administration does not affect denervation-induced loss of mitochondrial content and muscle mass in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio.	6. 最初と最後の頁 2836-2844
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13293	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 Kenya Takahashi, Yu Kitaoka, Yutaka Matsunaga, Hideo Hatta	4. 巻 3
2. 論文標題 Effect of post-exercise lactate administration on glycogen repletion and signaling activation in different types of mouse skeletal muscle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Research in Physiology	6. 最初と最後の頁 34-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.crphys.2020.07.002	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Reo Takeda
2. 発表標題 Effect of endurance training and PGC 1 overexpression on calculated lactate production volume during exercise based on blood lactate concentration
3. 学会等名 第31回日本運動生理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安藤泰地, 竹田怜央, 狩野遼太郎, 狩野豊, 星野太佑
2. 発表標題 ビルビン酸投与が骨格筋ミトコンドリア関連遺伝子のmRNA発現に与える影響
3. 学会等名 第31回日本運動生理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takahashi K, Hatta H.
2. 発表標題 A new paradigm for the role of lactate as an important metabolic signal regulating mitochondrial biogenesis
3. 学会等名 The 10th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takahashi K, Mukai K, Takahashi Y, Ebisuda Y, Hatta H, Kitaoka Y.
2. 発表標題 Metabolomic analysis of equine skeletal muscle during high-intensity interval exercise: a comparison of two different rest intervals
3. 学会等名 American Physiology Summit 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹田 怜央, 野中 雄大, 柿木 克之, 三浦 進司, 狩野 豊, 星野 太佑
2. 発表標題 持久的トレーニングおよび骨格筋特異的PGC1 α 過剰発現が乳酸産生に及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Reo Takeda, Yudai Nonaka, Katsuyuki Kakinoki, Yutaka Kano, Daisuke Hoshino
2. 発表標題 A method for calculating lactate production rate using blood lactate concentration during exercise in mice
3. 学会等名 Experimental Biology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hideo Hatta
2. 発表標題 Lactate is not the cause of fatigue
3. 学会等名 The 2020 Yokohama Sport Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yu Kitaoka
2. 発表標題 Lactate as a signaling molecule for adaptation
3. 学会等名 The 2020 Yokohama Sport Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹田 怜央, 野中 雄大, 柿木 克之, 狩野 豊, 星野 太佑
2. 発表標題 マウスにおける運動中の血中乳酸濃度を用いた乳酸産生量の算出方法を確立する
3. 学会等名 第75回日本体力医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北岡 祐
2. 発表標題 適応をもたらすシグナル因子としての乳酸
3. 学会等名 第75回日本体力医学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 八田秀雄	4. 発行年 2024年
2. 出版社 市村出版	5. 総ページ数 190
3. 書名 ミトコンドリアトレーニング 筋肉中心で考えるトレーニングサイエンス	

〔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
研究 分担者	北岡 祐 (KITAOKA YU) (30726914)	神奈川大学・人間科学部・教授 (32702)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	星野 太佑 (HOSHINO DAISUKE) (70612117)	電気通信大学・大学院情報理工学研究科・准教授 (12612)	

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