

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：14403

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700650

研究課題名（和文） 乳酸の代謝活性によるミトコンドリア膜輸送タンパク質の適応変化

研究課題名（英文） The effect of glycolytic lactate production on the adaptation of transporter proteins in mitochondria.

研究代表者

榎木 泰介（ENOKI TAISUKE）

大阪教育大学・教育学部・講師

研究者番号：70392701

研究成果の概要（和文）：

本研究では、細胞内における乳酸産生が、ミトコンドリアの膜に局在するエネルギー基質輸送タンパク質（Mitochondria Monocarboxylate Transporters:MitMCT）にどのような影響を与えるのかについて検討を行った。産生された乳酸は、細胞質でピルビン酸に形を変え、ミトコンドリアに流入すると理解されている。本研究では、実験動物を対象として、解糖系活性剤（AICAR）を投与し、細胞内の乳酸産生を亢進させることで、MitMCTs の適応変化（増減）を検討した。またミトコンドリアについても、その細胞内局在から 2 種類に分けて検討を行った。結果から、代謝能力の異なる 2 種類の骨格筋線維では、AICAR 投与に対する適応が異なる結果が得られた。MCT の isoform では、特に MCT2 について特徴的な変化がみられた。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study was to investigate that the lactate produced by glycolysis could lead the up/down regulations of energy substrate transporter proteins in mitochondria. The rodents were treated with AICAR which increases the lactate production via activating cellular glycolysis to generate the ATPs. After 7 days treatments, 2 types of skeletal muscles were taken and analyzed for the monocarboxylate transporters in mitochondria (MitMCTs). There are some isoforms in MCTs which are characterized with according to their Michaelis constant (Km) values. This study was focused on MCT1, MCT2 and MCT4. We have found that 7 days of AICAR injection had a potential to un/down regulate the contents of MitMCTs in skeletal muscles.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,400,000	420,000	1,820,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学

キーワード：乳酸、ミトコンドリア、エネルギー代謝、輸送タンパク質

### 1. 研究開始当初の背景

乳酸は解糖系代謝過程において産生される物質である。この過程における最終局面は、ピルビン酸から乳酸への転換であり、それは細胞質で行われる。乳酸の産生過程において、水素イオンが生成されることから、乳酸は細胞質内の pH を下げ、細胞内環境のホメオスタシスを乱す疲労物質であると考えられてきた。

申請者らの研究グループでは、乳酸は細胞質内にとどまらず、細胞内から血管へ移動する事実に注目し、これに関わる細胞膜タンパク質であるモノカルボン酸輸送担体 (MCT) の適応変化について研究を進めている。

細胞質で産生された乳酸は、MCT によって細胞外へ放出されるだけでなく、細胞内においても、ただ蓄積し続ける訳ではない。これまでの研究では、産生された乳酸がピルビン酸に転換されることが確認されているが、このピルビン酸がさらに代謝されるには、代謝過程の場所をミトコンドリアに移す必要がある。

研究開始当初の先行研究をみると、ミトコンドリアの膜に、ピルビン酸を輸送する MCT が存在することが確認されている。しかしながら、このミトコンドリア MCT (MitMCT) については、十分に解明されておらず、特にどのような刺激によって適応変化するのかについては、明らかではない。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、MitMCT の適応変化について解明することを目的とする。特に、細胞質において多くの乳酸が産生された場合、つまり解糖系代謝過程が活性化した場合において、その乳酸に対応すべく MitMCT がどのように適応変化するのかについて、その増減調節の解明を目的とした。

### 3. 研究の方法

実験動物 (ラット・雄・7 週齢) に対して薬理学的手法を用いて、解糖系代謝を活性化させた (AICAR 群)。投与薬物である AICAR は、細胞内に取り込まれると、AMP の疑似物質となり、細胞内における ATP 産生のシグナルを活性化する働きをもつ。この急激な ATP 産生指令によって、細胞内の解糖系代謝過程が活性化し、乳酸が産生される。本実験では、AICAR 投与を一過性に行うのではなく、7 日間、繰り返し行った。

投与期間後、ラットの下肢骨格筋から解糖

系代謝が優位な筋線維群 (White) と、酸化系代謝が優位な筋線維群 (Red) を、それぞれ摘出し、被験サンプルとして用いた。

これらのサンプルから、ミトコンドリアを単離抽出、精製し、ミトコンドリア膜に含まれる MitMCT について検討を行った。

ミトコンドリアについては、先行研究に従って 2 種類を分離し、それぞれ分析を進めた。それらは筋細胞の筋節深部で Z 膜をまたぐ様に局在する IMF と、筋節の表層部で毛細血管と近い距離に位置する SS である。

MitMCT には、乳酸に対する Km 値の異なる 3 種類のアイソフォームが存在することから、MCT1、MCT2 および MCT4 のそれぞれについて検討を行った。

### 4. 研究成果

初年度には、骨格筋細胞からミトコンドリアを単離抽出、精製する手技・手法の構築および確立を目指した。実験方法の質保証が得られたのち、AICAR 投与実験を行った。

AICAR 投与直後から 60 分後までにおける、血中乳酸濃度と血中グルコース濃度の変化を図 1、図 2 に示す。

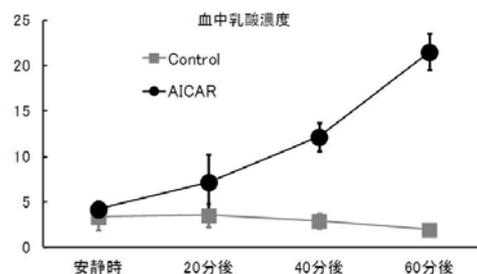


図 1 AICAR 投与後における血中乳酸値の変化

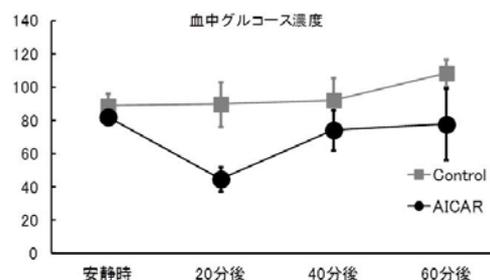


図 2 AICAR 投与後における血中グルコース濃度の変化

ミトコンドリアの MCT1 については、AICAR 投与によって、顕著な変化はみられなかった (図 3)。

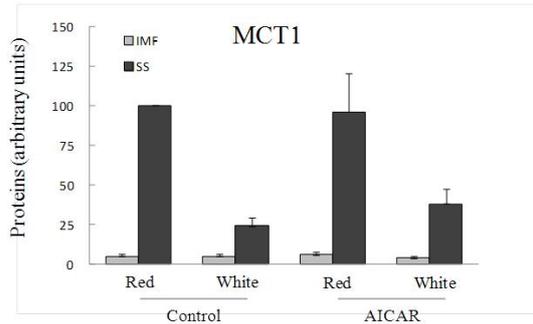


図 3 MitMCT1 の変化

一方、MCT4 については、先行研究と異なる挙動がみられたことから、再度、試験を行う必要があると考える (図 4)。

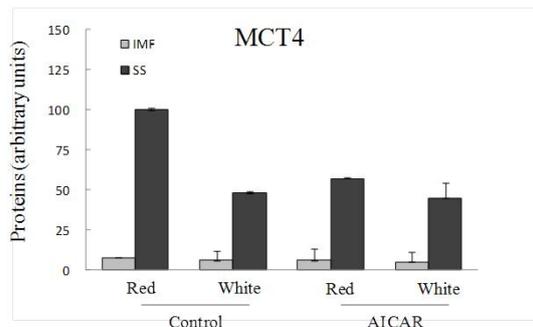


図 4 MitMCT4 の変化

加えて MCT2 においても、IMF と SS の関係について、再度、検討を行う必要がある (図 5)。

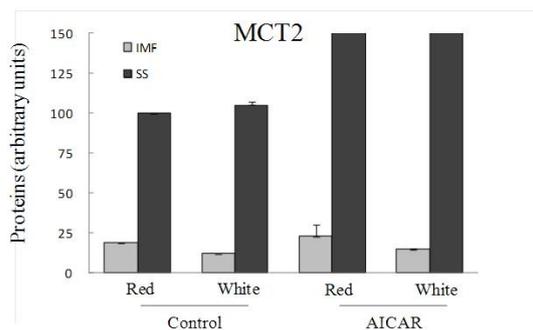


図 5 MCT2 の変化

以上より、AICAR 投与によって、1) 細胞内における解糖系代謝過程が亢進し、乳酸産生が活性化すること、2) 毎日の AICAR 投与によって、細胞内での乳酸の産生および酸化が定期的に活性化したこと、3) 産生された乳酸をミトコンドリアで酸化代謝すべく、ミ

トコンドリア膜に局在する MCT が適応変化を起こす可能性があること、4) その適応変化は、筋線維タイプの違いやミトコンドリアの局在部位の違いによってことなること、またさらなる検討を要するが、5) 特に MCT2 について、顕著な増加がみられたこと、がわかった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

なし

[雑誌論文] (計 件)

[学会発表] (計 件)

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計◇件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

榎木 泰介 (ENOKI TAISUKE)

大阪教育大学・教育学部・講師

研究者番号: 70392701

(2)研究分担者

( )

研究者番号:

(3)連携研究者

( )

研究者番号: