

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：23803

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17831

研究課題名(和文) 骨格筋におけるPGC-1 を介したカルジオリピン生合成機序の解明

研究課題名(英文) Mechanism of PGC-1 α -mediated cardiolipin biosynthesis in the skeletal muscle

研究代表者

佐藤 友紀 (Sato, Tomoki)

静岡県立大学・食品栄養科学部・助教

研究者番号：30908455

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：PGC-1 α 遺伝子組換えマウス(TgおよびKO)におけるcardiolipin (CL)およびphosphatidylcholine (PC)、phosphatidylethanolamine (PE)分子の変化を調べた。その結果、PGC-1 α Tgマウスの骨格筋において、CL(18:2)4の増加(18:2/18:1)比の増加が確認された。一方で、PGC-1 α KOによるCLおよびPC、PE分子影響は認められなかった。また、体外より摂取するリノール酸が、CL分子の産生に及ぼす影響についても検討した。高リノール酸食の摂取により、骨格筋でCL(72:8)分子量が増加することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

持久運動トレーニングを継続することでミトコンドリア量・機能が向上することは知られていたが、その際のミトコンドリアを構成する脂質分子の変化や生合成機序は不明であった。また、哺乳類は生合成できる脂肪酸に限度があり、必須脂肪酸を外部より摂取する必要がある。必須脂肪酸のうち、リノール酸は骨格筋ミトコンドリアのカルジオリピン分子産生に必須であるため、摂取量の違いがミトコンドリアにどのような影響を及ぼすかを把握することは重要である。本研究成果は持久運動トレーニングによるミトコンドリア機能向上をリノール酸摂取がさらに増強することを示し、骨格筋機能維持を目標とした運動×食事介入法の構築に結び付くと期待される。

研究成果の概要(英文)：We investigated the changes in cardiolipin (CL), phosphatidylcholine (PC), and phosphatidylethanolamine (PE) molecules in PGC-1 α transgenic (Tg) and knockout (KO) mice. The results indicated an increase in the CL(18:2)4 to (18:2/18:1) ratio in the skeletal muscle of PGC-1 α Tg mice. Conversely, no significant effects on CL, PC, or PE molecules were observed in PGC-1 α KO mice. Additionally, we examined the impact of in vitro linoleic acid intake on CL molecule production. A high linoleic acid diet was found to increase the molecular weight of CL(72:8) in skeletal muscle.

研究分野：基礎栄養学

キーワード：骨格筋 ミトコンドリア カルジオリピン リノール酸 持久運動能力

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景と目的

カルジオリピン(CL)はミトコンドリア内膜にのみ局在するリン脂質であり、ミトコンドリア機能維持に大きく影響する。特に、骨格筋では、linoleoyl 基 (18:2) が4つ結合した CL72:8 がミトコンドリア機能の維持に重要であることが報告されている。そのためミトコンドリア量が増加する際には、CL72:8 の生合成も活性化されると考えられるが、その機序は不明である。持久運動トレーニングは骨格筋のミトコンドリア量を増加させ、筋持久力を向上させることが知られている。この骨格筋の変化は転写共役因子 PGC-1 α によって促進されるため、ミトコンドリア機能維持に不可欠な CL72:8 についても、PGC-1 α 依存的に生合成が活性化されると考えられる。申請者らは最近、骨格筋における PGC-1 α の過剰発現がミトコンドリア量を増加させるとともに、CL72:8 量を増加させることを認めている。そこで本研究課題では、PGC-1 α がどのようにして CL72:8 生合成を制御しているのかを明らかにし、持久運動トレーニングに伴う骨格筋でのミトコンドリア生合成促進時に CL72:8 量が増加するメカニズムを解明する。さらに、持久運動トレーニングに伴う CL72:8 量増加を促進する栄養成分を見出し、トレーニング効果を増強させるか否かを明らかにする。

2. 研究の方法

2-1. 食事から摂取する脂肪酸種の違いが CL72:8 量やミトコンドリア量・機能に影響するかの検証

摂取エネルギー (en) 換算で、リノール酸を「12 en%」、「6 en% (対照としてオレイン酸 6 en%)」、「0 en% (オレイン酸 12 en%)」含む餌をそれぞれ2週間投与し、骨格筋 (長趾伸筋 (EDL) およびヒラメ筋 (Soleus)) を採取する。骨格筋中の 18:2-PC、18:2-PE および CL72:8 量を測定する。

2-2. 食事から摂取する脂肪酸種の違いが持久運動トレーニング時の CL72:8 量やミトコンドリア量の増加に影響してトレーニング効果を増強させるか

持久運動トレーニング実施時にリノール酸 (18:2) 高含有食を摂取することで、CL72:8 量の増加が促進するか、また、ミトコンドリア量・機能向上をはじめとした持久運動トレーニングによって得られる健康効果が増強するかを検証する。リノール酸を「12 en%」と「0 en% (オレイン酸 12 en%)」含む餌を与えながら回転カゴ付きケージによる自発運動トレーニングを2週間行う。採取した骨格筋中の 18:2-PC、18:2-PE、および CL72:8 量が、リノール酸摂取の有無によって変化するかを検討する。加えて、ミトコンドリア量・機能の変化および持久運動能力についても検討する。

2-3. 骨格筋特異的 PGC-1 α 過剰発現 (PGC1 α -Tg)、ノックアウトマウス (PGC1 α -KO) におけるリン脂質分子の変化

骨格筋特異的な PGC-1 α -Tg および PGC1 α -KO マウスの骨格筋を摘出し、脂質抽出を行い、LC-MS/MS を用いてリン脂質分子の測定を行った。加えて、それら PGC-1 α 遺伝子組換えマウスにリノール酸 (18:2) 高含有食摂取や持久運動トレーニングを実施することで、CL72:8 量の増加が促進するかなど検討する。

3. 研究成果

食事から摂取する脂肪酸種の違いが CL72:8 量やミトコンドリア量・機能に影響するかの検証

1) リン脂質分子の測定

脂肪酸割合の異なる餌を2週間給餌したマウスの骨格筋 PC・PE 分子を測定したところリノール酸摂取割合の増加に伴い EDL、Soleus とともに 18:1-PC・PE 量の減少と 18:2-PC・PE 量および 18:2/18:1 の増加が観察された。また、CL 分子については高オレイン酸食摂取 (OA) 群では

CL72:8 量が低値、CL72:4 量が高値を示し、高リノール酸摂取 (LA) 群では、CL72:8 量が高値、CL72:4 量が低値を示した。

食事から摂取する脂肪酸種の違いが持久運動トレーニング時の CL72:8 量やミトコンドリア量の増加に影響してトレーニング効果を増強させるか

1) リン脂質分子の測定

高リノール酸食の摂取に伴い、18:2 を含む PC・PE 量の増加、細胞内 18:2/18:1 増加、CL72:8 量の増加が観察されたため、これら変化が持久運動トレーニングを同時に実施することで増強されるかを検証した。2 週間の給餌および回転かごケージでの飼育後に骨格筋のリン脂質分子を測定したところ、EDL においてリノール酸摂取に伴う 18:1-PC・PE 量減少、18:2-PC・PE 量増加、細胞内 18:2-PC/18:1-PC 増加、CL72:8 量の増加がさらに増強した (Figure 1A, C)。一方、soleus では、リノール酸摂取に伴う変化に対する持久運動トレーニングによる増強効果は認められなかった (Figure 1B, D)。

2) ミトコンドリア量の測定

ミトコンドリア量の指標であるクエン酸合成酵素の活性 (CS 活性) を混合筋である腓腹筋を用いて測定した。CS 活性は、餌に含まれる脂肪酸組成の違いに関わらず回転かごによる持久運動トレーニングによって増加した。

3) ミトコンドリア酸素消費量、呼吸鎖複合体活性の測定

混合筋である腓腹筋よりミトコンドリアを単離し、ミトコンドリアタンパク量を統一した後に異なるエネルギー基質を添加した際のミトコンドリア酸素消費量、活性酸素 (ROS) 産生量を測定した。単離ミトコンドリアは ADP を外部より添加して呼吸消費を活性化するため、エネルギー基質のみ添加した State 2 およびその後に ADP を添加した State 3 における酸素消費量をそれぞれ測定した。State 3 条件下でピルビン酸とリンゴ酸を基質とする複合体 I 主導型呼吸、複合体 I 阻害剤であるロテノンおよび酢酸を基質として添加して測定した複合体 II 主導型呼吸が持久運動トレーニングとリノール酸摂取を併用したモデルで高値を示した (Figure 2A)。State3 における複合体 II 主導型呼吸時の ROS 産生量は、リノール酸摂取に伴い減少し、State2 では持久運動トレーニングとリノール酸摂取を併用したモデルでのみ減少した (Figure 2B)。複合体 I-V の活性をそれぞれ測定したところ、餌に含まれる脂肪酸に関わらず持久運動トレーニングによって複合体 I 活性が減少、リノール酸摂取によって複合体 V 活性が増加した (Figure 2C)。

4) 持久運動能力測定

トレッドミル強制走行試験で持久運動能力を測定した。摂取する脂肪酸に関わらず持久運動トレーニングによって走行時間・距離が増加した (Figure 3)。リノール酸高含有食の摂取によって、持久運動トレーニングによって向上した持久運動能力がさらに向上した。

骨格筋特異的 PGC-1 α 過剰発現 (PGC1 α -Tg)、ノックアウトマウス (PGC1 α -KO) におけるリン脂質分子の変化

1) リン脂質分子の測定

PGC1 α -Tg マウスに高オレイン食もしくは高リノール酸を投与したモデルより骨格筋を採取し、リン脂質分子を測定したところ、EDL においてリノール酸摂取に伴う、18:2-PC 量増加、細胞内 18:2/18:1 増加、CL72:8 量の増加がさらに増強した (Figure 4A)。PGC1 α -Tg マウスでは、摂取する脂肪酸に関わらず 18:1 が結合した PE 分子が増加し、CL72:8 が高オレイン酸食摂取でも観察された。Soleus においては、PGC1 α 過剰発現およびリノール酸食摂取の相乗効果が 18:2-PE 量の増加でのみ観察された (Figure 4B)。PGC1 α -KO マウスを用いた検討では、食事介入は行わず、持久運動トレーニングのみ行った。EDL において、持久運動トレーニングに伴い増加する 18:2-

PC 量の増加、18:2-PC/18:1-PC 量の増加が PGC1 α -KO マウスでは消失した。一方で、CL72:8 量には持久運動トレーニング、PGC1 α 欠損どちらの効果も観察されなかった。Soleus については、PGC1 α 発現の有無に関わらず、持久運動トレーニングによって 18:2-PC 量が増加した。CL72:8 量は PGC1 α 欠損によって有意に減少した。

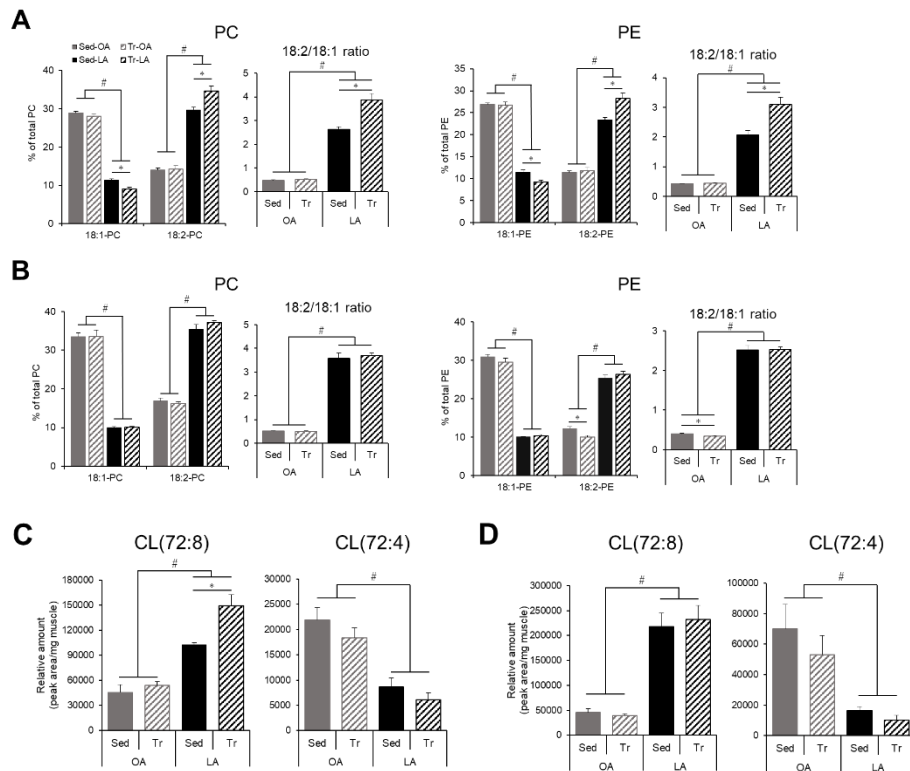


Figure 1 持久運動トレーニングとリノール酸摂取がリン脂質分子産生に及ぼす影響

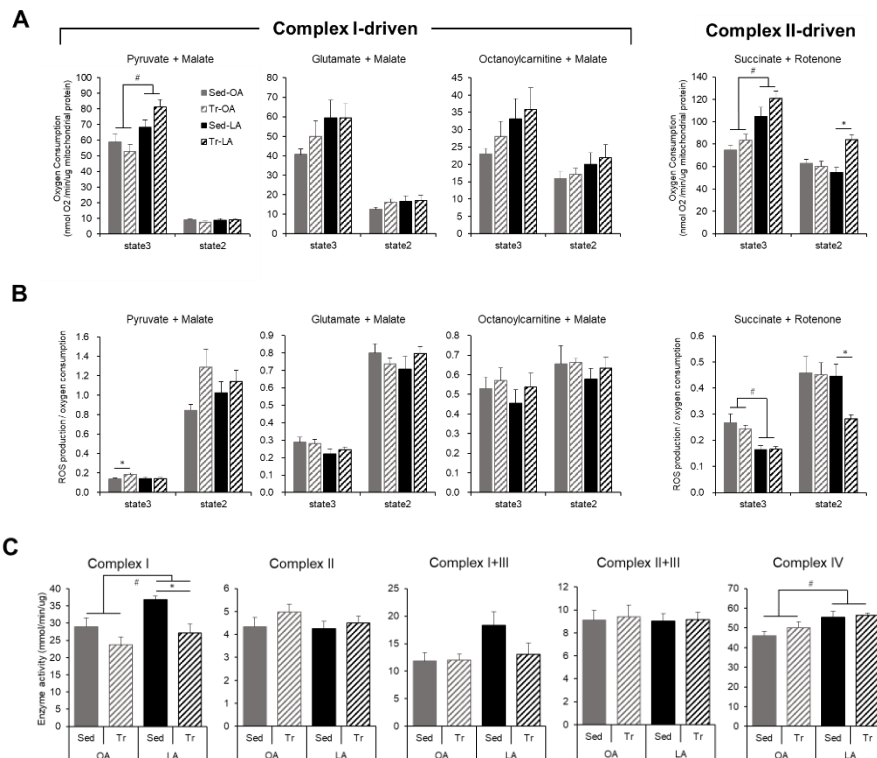


Figure 2 持久運動トレーニングとリノール酸摂取がミトコンドリア呼吸鎖に及ぼす影響

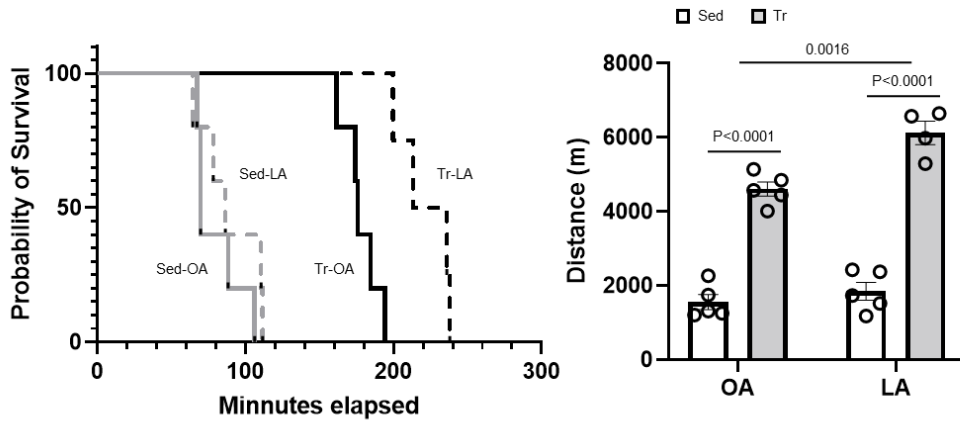


Figure 3 持久運動トレーニングとリノール酸摂取が持久運動能力に及ぼす影響

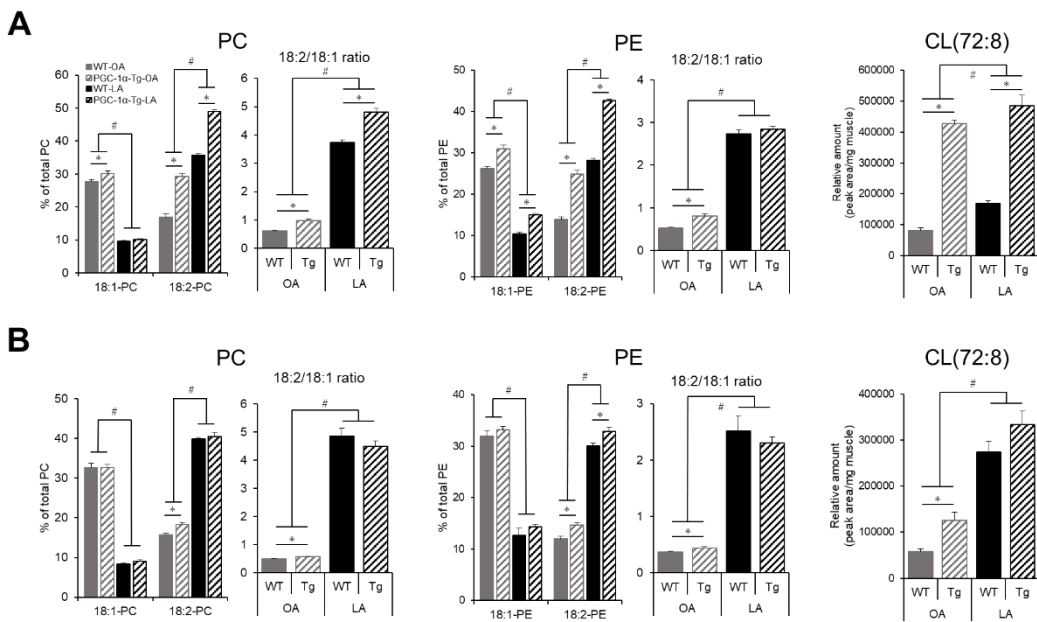


Figure 4 PGC-1 α 過剰発現マウスへのリノール酸投与がリン脂質分子産生に及ぼす影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tomoki Sato, Nao Kuwabara, Chiho Magome, Nanami Senoo, Yuki Tamura, Yasutomi Kamei, Hideo Shindou, Shimizu Takao, Shinji Miura
2. 発表標題 Synergistic effect of exercise training and linoleic acid supplementation on tetra-linoleoylcardiolipin biogenesis in skeletal muscles
3. 学会等名 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤友紀、桑原菜緒、馬込千帆、三浦菜穂、妹尾奈波、田村優樹、亀井康富、進藤英雄、清水孝雄、三浦進司
2. 発表標題 リノール酸摂取および持久運動トレーニングが骨格筋カルジオリピンとミトコンドリア機能向上に及ぼす影響の解析
3. 学会等名 第64回 日本脂質生化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤友紀、桑原菜緒、馬込千帆、三浦菜穂、妹尾奈波、田村優樹、亀井康富、進藤英雄、清水孝雄、三浦進司
2. 発表標題 リノール酸摂取が運動トレーニングによるミトコンドリア機能向上を増強する
3. 学会等名 第76回 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤友紀、桑原菜緒、馬込千帆、妹尾奈波、田村優樹、亀井康富、進藤英雄、清水孝雄、三浦進司
2. 発表標題 摂取する脂肪酸種の違いが運動トレーニングに伴うカルジオリピン生合成に及ぼす影響
3. 学会等名 第86回 日本生化学会大会 中部支部例会
4. 発表年 2022年

〔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
---------	---------