

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：34315

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25882041

研究課題名(和文) ヒト生体における骨格筋ミトコンドリア機能測定法の開発

研究課題名(英文) In vivo measurement of mitochondrial function in human skeletal muscle

研究代表者

菅 唯志 (Suga, Tadashi)

立命館大学・立命館グローバル・イノベーション研究機構・研究員

研究者番号：30708673

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、リン磁気共鳴分光法(31P-MRS)と近赤外分光法(NIRS)を併用したヒト生体における新たな骨格筋ミトコンドリア機能測定法の有用性を検証することを目的とした。健康若年者を対象に下肢を15分間虚血した際の31P-MRSから得られるクレアチンリン酸(PCr)とNIRSから得られる酸素化ヘモグロビン/ミオグロビン(oxy-Hb/Mb)の変化からATP産生能および酸素取り込み能を推定し、さらに、これらの比から結合均衡能を解析した。その結果、運動トレーニングによって、ATP産生能および酸素取り込み能は増加するが、結合均衡能は変化しないことが示された。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to examine the availability of a noninvasive method for evaluating mitochondrial function in skeletal muscle by combining phosphorus magnetic resonance spectroscopy (31P-MRS) and near-infrared spectroscopy (NIRS). Ischemia of the lower limb was induced for 15 min by using a rapid inflator with a pressure cuff placed around the thigh. Under this condition, the reduced speeds of phosphocreatine (PCr) and oxy-hemoglobin/myoglobin (Hb/Mb) were measured using 31P-MRS and NIRS, respectively. The rate of these speeds was calculated as mitochondrial coupling capacity. The present study found that the reduced speeds of PCr and oxy-Hb/Mb were significantly higher in endurance-trained subjects than in untrained subjects, whereas mitochondrial coupling capacity did not differ significantly between endurance-trained subjects and untrained subjects. Thus, mitochondrial coupling capacity may not be appropriate in evaluating mitochondrial function in skeletal muscle.

研究分野：健康科学

キーワード：運動 骨格筋 ミトコンドリア機能 磁気共鳴分光法 近赤外分光法

1. 研究開始当初の背景

運動能力は、代謝疾患や心血管疾患の発症、さらには生命予後に深く関与する (Myers et al. *N Engl J Med* 2008). 骨格筋ミトコンドリア機能は、運動能力と密接に関連することから、それ自体がヒトにおける健康の維持・増進、さらには寿命において重要な役割を担っている。これまでヒトにおいて、骨格筋ミトコンドリア機能を解析した研究の多くは、筋生検によって採取した組織標本が用いられてきた。しかしながら、近年、磁気共鳴技術の進歩によって非侵襲的に生体内の代謝情報を得ることができるようになった。とりわけ、リン磁気共鳴分光法 (^{31}P -MRS) を用いることでクレアチンリン酸 (PCr) や無機リン酸 (Pi) といった高エネルギーリン酸化化合物を測定することができるようになり、ヒト生体におけるエネルギー代謝情報をリアルタイムに取得することが可能となった。

従来、 ^{31}P -MRS を用いて骨格筋ミトコンドリア機能を評価する手法として、PCr の運動中の減少動態 (Yokota et al. *Diabetes Care* 2013) や運動後の回復動態 (Conly et al. *J Physiol* 2000) から解析する手法が一般的に用いられてきた。しかしながら、これらの評価法は、運動を実施しなければミトコンドリア機能を評価できない点において、筋-骨格機能が制限されている高齢者や有疾患患者などに施行することがしばしば困難であった。したがって、 ^{31}P -MRS を用いて、運動を実施せずとも骨格筋ミトコンドリア機能の測定できる新たな測定法の開発が必要である。

一方、これまでに骨格筋代謝機能を評価するために ^{31}P -MRS と同様に近赤外分光法 (NIRS) が広く用いられてきた (Hamaoka et al. *J Appl Physiol* 1996). NIRS は、非侵襲的に組織酸素化動態を測定できる。したがって、 ^{31}P -MRS から得られる高エネルギーリン酸の変化と NIRS から得られる酸素化動態の変化を併用測定することで、高精度に骨格筋ミトコンドリア機能を測定できる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究は、 ^{31}P -MRS と NIRS を併用した非侵襲的な新規骨格筋ミトコンドリア機能の測定法を開発するとともに、その有効性を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究における骨格筋ミトコンドリア機能の測定は、仰臥位にて安静を行った後、電動空気注入機を用いて 220 mmHg の圧で下肢を 15 分間虚血にした際の ^{31}P -MRS を用いた測定した PCr の減少速度と NIRS から酸素化ヘモグロビン/ミオグロビン (oxy Hb/Mb) の減少速度から、ATP 産生能および酸素取り込み能を解析した。さらに、ATP 産生能と酸素取り込み能の比から結合均衡能を評価した。

4. 研究成果

健常若年者を対象に、 ^{31}P -MRS および NIRS を用いて、15 分間の下肢虚血中の下腿筋の PCr および oxy Hb/Mb の最大減少速度を測定した。その結果、oxy Hb/Mb の最大減少速度は、虚血開始初期に認められ、これに対して、PCr の最大減少速度は、虚血後終盤に得られた。

また、この測定を用いて評価した PCr および oxy Hb 濃度の最大減少速度は、非運動鍛錬者に比較して運動鍛錬者において顕著に大きかったが、結合均衡能は、両群間に顕著な違いを認めることができなかった。したがって、本研究において、骨格筋ミトコンドリア機能の新規指標として測定した結合均衡能は、必ずしも骨格筋ミトコンドリア機能を反映しない可能性が考えられた。

この説明として、本研究において評価した結合均衡能は、P/O 比に相当するものである。P/O 比は、運動トレーニングや加齢あるいは慢性疾患によって変化するという報告と変化しないとする報告が散見する。申請書らの疾患モデル動物を用いた解析では (Takada et al. *J Appl Physiol* 2013), 健常マウスと肥満マウスの骨格筋ミトコンドリアにおける P/O 比に顕著な違いは認められなかった。また、運動トレーニングを施行しても P/O 比は変化しないとする報告もある。一方、骨格筋におけるミトコンドリア関連酵素の活性は、運動トレーニングによって増加し、それに対して加齢や慢性疾患によって低下するという一致した見解が得られている (Suga et al. *Endocrinology* 2014). したがって、本研究における運動鍛錬者で認められた PCr の減少速度 (つまり ATP 合成能) および oxy Hb/MB の減少速度 (つまり酸素取り込み能) の促進は、骨格筋ミトコンドリア関連酵素の活性増加に起因するものであったことが推察される。このことをふまえると結合均衡能よりもむしろ ATP 合成能もしくは酸素取り込み能のみで評価した方が骨格筋ミトコンドリア機能を的確に捉えている可能性がある。今後、筋生検などの組織サンプルと併せた研究が必要であることが示唆された。

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)

〔雑誌論文〕(計 9 件)

Ono T, Takada S, Kinugawa S, Suga T, Sobirin MA, Hirabayashi K, Takahashi M, Fukushima A, Homma T, Yokota T, Matsushima S, Tsutsui H. Curcumin ameliorates skeletal muscle atrophy in type I diabetic mice via inhibiting the protein ubiquitination. *Experimental Physiology*, in press, 2015, DOI: 10.1113/EP085049.

Kido K, Suga T, Tanaka D, Honjo T, Homma T, Fujita S, Hamaoka T, Isaka T. Ischemic preconditioning accelerates muscle

deoxygenation dynamics and enhances exercise endurance during the work-to-work test. *Physiological Research* 3: e12395, 2015, DOI: 10.14814/phy2.12395.

Hirabayashi K, Kinugawa S, Yokota T, Takada S, Fukushima A, **Suga T**, Takahashi M, Ono T, Morita N, Omokawa M, Harada K, Oyama-Manabe N, Shirato H, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H. Intramyocellular lipid is increased in the skeletal muscle of patients with dilated cardiomyopathy with lowered exercise capacity. *International Journal of Cardiology* 176: 1110-1112, 2014, DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.07.113.

Takada S, Hirabayashi K, Kinugawa S, Yokota T, Matsushima S, **Suga T**, Kadoguchi T, Fukushima A, Homma T, Mizushima W, Masaki Y, Furihata T, Katsuyama R, Okita K, Tsutsui H. Pioglitazone ameliorates the lowered exercise capacity and impaired mitochondrial function of the skeletal muscle in type 2 diabetic mice. *European Journal of Pharmacology* 740: 690-696, 2014, DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.06.008.

Fukushima A, Kinugawa S, Takada S, Matsushima S, Sobirin MA, Ono T, Takahashi M, **Suga T**, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Kadoguchi T, Yokota T, Okita K, Tsutsui H. (Pro)renin receptor in skeletal muscle is involved in the development of insulin resistance associated with postinfarct heart failure in mice. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 307: E503-E514, 2014, DOI: 10.1152/ajpendo.00449.2013.

Suga T, Kinugawa S, Takada S, Kadoguchi T, Fukushima A, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Takahashi M, Sobirin MA, Ono T, Hirabayashi K, Yokota T, Tanaka S, Okita K, Tsutsui H. Combination of exercise training and diet restriction normalizes limited exercise capacity and impaired skeletal muscle function in diet-induced diabetic mice. *Endocrinology* 155: 68-80, 2014, DOI: 10.1210/en.2013-1382.

Fukushima A, Kinugawa S, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Yokota T, Matsushima S, Abe T, **Suga T**, Takada S, Kadoguchi T, Katsuyama R, Oba K, Okita K, Tsutsui H. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels are correlated with exercise intolerance in patients with heart failure. *International Journal of Cardiology* 168: e142-e144, 2013, DOI: 10.1016/j.ijcard.2013.08.073.

Fukushima A, Kinugawa S, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Abe T, **Suga T**, Takada S, Kadoguchi T, Okita K, Matsushima S,

Tsutsui H. Increased plasma soluble (pro)renin receptor levels are correlated with renal dysfunction in patients with heart failure. *International Journal of Cardiology* 168: 4313-4314, 2013, DOI: 10.1016/j.ijcard.2013.04.176.

Homma T, Kinugawa S, Takahashi M, Sobirin MA, Saito A, Fukushima A, **Suga T**, Takada S, Kadoguchi T, Masaki Y, Furihata T, Taniguchi M, Nakayama T, Ishimori N, Iwabuchi K, Tsutsui H. Activation of invariant natural killer T cells by α -galactosylceramide ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 62: 179-188, 2013, DOI: 10.1016/j.yjmcc.2013.06.004.

〔学会発表〕(計 12 件)

今井祐弥, **菅唯志**, 田中貴大, 大塚光雄, 御前 純, 三宅悠斗, 長野明紀, 伊坂忠夫: 短距離選手の下腿部・足部における筋厚発達の特徴. 第 144 回京都滋賀体育学会 (2015 年 3 月 7 日, 京都府, 立命館大学衣笠キャンパス)

田中貴大, **菅唯志**, 高尾憲司, 長野明紀, 伊坂忠夫: 長距離選手におけるランニングパフォーマンスと足関節柔軟性の関係. 第 144 回京都滋賀体育学会 (2015 年 3 月 7 日, 京都府, 立命館大学衣笠キャンパス)

田中大智, **菅唯志**, 田中貴大, 伊坂忠夫: 虚血プレコンディショニングによる骨格筋持久力向上の効果基盤の探索: 組織脱酸素化動態からのアプローチ. 第 144 回京都滋賀体育学会 (2015 年 3 月 7 日, 京都府, 立命館大学衣笠キャンパス)

泉本洋香, 栗原俊之, **菅唯志**, 和智道生, 伊坂忠夫: 男子大学生ゴルフ選手における体幹筋体積の左右非対称性の検討. 第 144 回京都滋賀体育学会 (2015 年 3 月 7 日, 京都府, 立命館大学衣笠キャンパス)

門口智泰, 絹川真太郎, 高田真吾, **菅唯志**, 沖田孝一, 筒井裕之: レニン・アンジオテンシン系の活性化は骨格筋異常を介して運動能力低下を引き起こす. 第 69 回日本体力医学会 (2014 年 9 月 20 日, 長崎県, 長崎大学文教キャンパス)

菅唯志, 絹川真太郎, 高田真吾, 門口智泰, 筒井裕之: アンジオテンシン受容体阻害薬はストレプトゾトシン誘発性糖尿病マウスにおける運動能力低下と骨格筋代謝障害を改善する. 第 69 回日本体力医学会 (2014 年 9 月 20 日, 長崎県, 長崎大学文教キャンパス)

田中大智, **菅唯志**, 木戸康平, 浜岡隆文, 伊坂忠夫: 虚血プレコンディショニングは筋持久性を増加する. 第 69 回日本体力医学会 (2014 年 9 月 19 日, 長崎県, 長崎大学文教キャンパス)

高田真吾, 絹川真太郎, 正木芳宏, **菅 唯志**, 門口智泰, 沖田孝一, 筒井裕之: 心筋梗塞後心不全における骨格筋ミトコンドリア機能および運動能力に対するDPP-4 阻害薬の効果 .第 69 回日本体力医学会 (2014 年 9 月 19 日, 長崎県, 長崎大学文教キャンパス)

菅 唯志, 横田 卓, 絹川真太郎, 筒井裕之: 代謝疾患患者における骨格筋ミトコンドリア機能障害とその評価におけるリン磁気共鳴分光法の有用性 .第 34 回グアニジン化合物研究会 (2013 年 10 月 19 日, 東京都, 全国町村会館)

門口智泰, 絹川真太郎, **菅 唯志**, 高田真吾, 沖田孝一, 筒井裕之: アンジオテンシン 由来の酸化ストレスは骨格筋異常を引き起こす .第 68 回日本体力医学会大会 (2013 年 9 月 23 日, 東京都, 日本教育会館・学術総合センター・共立講堂)

高田真吾, 絹川真太郎, **菅 唯志**, 門口智泰, 沖田孝一, 筒井裕之: 慢性心不全患者における脳由来神経栄養因子の低下は運動耐容能の低下に関連する .第 68 回日本体力医学会大会 (2013 年 9 月 23 日, 東京都, 日本教育会館・学術総合センター・共立講堂)

菅 唯志, 絹川真太郎, 高田真吾, 門口智泰, 伊坂忠夫, 沖田孝一, 筒井裕之: 酪酸は運動能力および骨格筋ミトコンドリア機能を増加する .第 68 回日本体力医学会大会 (2013 年 9 月 22 日, 東京都, 日本教育会館・学術総合センター・共立講堂)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菅 唯志 (SUGA TADASHI)

立命館大学・立命館グローバル・イノベーション研究機構・研究員

研究者番号: 30708673