

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26750304

研究課題名(和文) 運動によるミトコンドリア新生とDNAメチル化

研究課題名(英文) Exercise-induced mitochondrial biogenesis and DNA methylation

研究代表者

北岡 祐 (KITAOKA, Yu)

東京大学・総合文化研究科・助教

研究者番号：30726914

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：運動により、骨格筋においてミトコンドリア新生に関わる遺伝子の発現が高まることが知られている。本研究では、DNAのメチル化状態の変化が運動による骨格筋の適応に重要な役割を果たす可能性について検討した。DNAメチルトランスフェラーゼのタンパク質量は、トレーニングによる変化はみられなかった一方で、除神経によって増加したことから、DNAのメチル化は不活動による骨格筋の適応に關与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：It is well known that exercise induces mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. The aim of our study was to examine the effect of exercise on DNA methylation. DNMT1 (DNA methyltransferase 1) protein content was not altered after exercise training, but significantly decreased after denervation in skeletal muscle. Our observations suggest that inactivity-induced muscle dysfunction may be induced by increased DNA methylation levels.

研究分野：運動生理生化学

キーワード：運動 骨格筋 ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

運動・トレーニングによる骨格筋の適応には、大きな個人差が存在することが知られている。また、運動による適応は、その個体のみでなく、子孫にも影響を与える可能性が示唆されている。例えば、活動量が多く走能力の高い両親から生まれたラットは高い走能力をもつこと、ニコチンや高脂肪食を与えたラットの子供はミトコンドリアの機能障害をもつことが報告されている。このような現象を引き起こす分子メカニズムとして、エピジェネティクスとよばれる、DNAの塩基配列の違いによらない遺伝子発現発現制御の仕組みに注目した。先行研究において、2型糖尿病患者の骨格筋では、ミトコンドリア新生のマスター遺伝子として知られる PGC-1 α のプロモーター領域のメチル化によりその発現が抑制されていたことが報告されている。

2. 研究の目的

運動経験が遺伝子の修飾変化という形で「骨格筋に記憶される」という仮説を立て、本研究では、運動によるミトコンドリア関連遺伝子の増加、あるいは身体不活動による減少とともに、エピジェネティックな修飾の代表的な例として知られる DNA メチル化 (図 1) がどのように変化するのか検討することを目的とした。

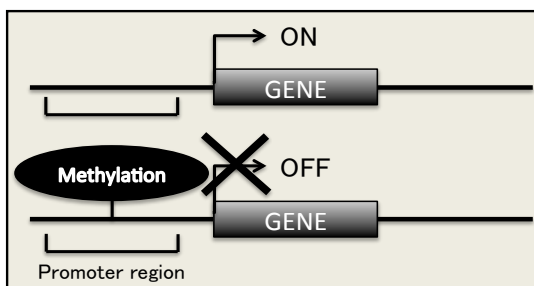


図1. プロモーター領域のメチル化によるエピジェネティックな遺伝子発現制御

3. 研究の方法

(1) 電気刺激実験

実験動物として Sprague-Dawley ラットを用い、右脚に電気刺激 (100 Hz, ~30V) によるトレーニングを 4 週間 (計 12 回) 行った後に両脚から腓腹筋サンプルを採取した。左脚をコントロールとした。

(2) 除神経実験

実験動物として C57/BL6 マウスを用い、右脚に坐骨神経切除手術を行い、2 週間後に両脚から腓腹筋を採取した。左脚をコントロールとした。

(3) 解析方法

採取した腓腹筋をホモジェナイズし、ウエスタンブロットティング法によってミトコンドリア関連タンパク質量および DNA メチル化に関与する DNA メチルトランスフェラーゼ (DNMT) のタンパク質量を測定した。

4. 研究成果

(1) PGC-1 α および DNMT タンパク質量
電気刺激による筋活動によって、PGC-1 α タンパク質量が有意に増加することが確認された一方で、除神経による不活動によって PGC-1 α タンパク質量は有意に減少した (図 2)。これらの結果は、ミトコンドリアの生合成が運動により増加し、不活動により低下することを示している。

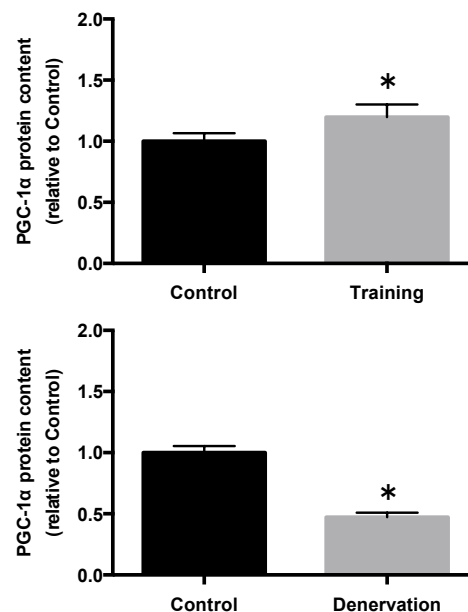


図2. トレーニングおよび除神経による PGC-1 α タンパク質量の変化

DNMT 1 タンパク質量には、電気刺激によるトレーニングによる変化はみられなかった。しかしながら、除神経による不活動によって DNMT1 タンパク質量は有意に増加した (図 3)。したがって、骨格筋の DNA メチル化状態は、運動による影響は小さいが、不活動によって高まる可能性が示唆された。

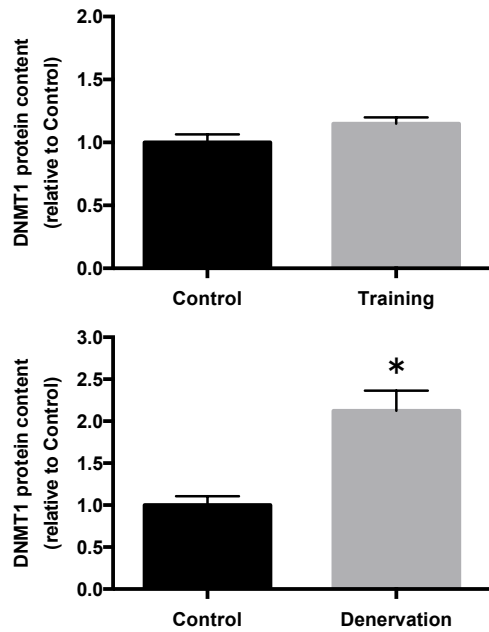


図3. トレーニングおよび除神経によるDNMT1タンパク質量の変化

今回の実験に用いた運動プロトコルでは、PGC-1 alpha タンパク質量の増加は約 20%と割合としては比較的小さな変化であった。そこで、ミトコンドリア機能を高めることが先行研究において示唆されていた、カロリー制限とトレーニングを組み合わせる追加の実験を行った。30%のカロリー制限下で同様のトレーニング実験を行ったところ、PGC-1 alpha タンパク質量は自由摂取群のコントロール脚と比較して約 50%増加した。その他にも、運動の様式、強度および時間によっては DNMT1 タンパク質量に変化の起こる可能性も考えられることから、今後の検討課題としたい。また、不活動による DNMT1 の変化がどの程度継続するのかについては、現時点では不明である。骨格筋に発現していることが知られている他の DNMT (3a/3b) については、特異的な抗体を入手することができず、検討することができなかった。運動によってミトコンドリア新生が起こるメカニズムとして、乳酸に着目し、マウスに乳酸ナトリウム (1 g/kg) を投与する実験を行ったところ、投与から 3 時間後に PGC-1 alpha の発現が約 2 倍に高まった。この結果は、運動によるミトコンドリアの適応において少なくとも一部は乳酸によって起こる可能性を示唆している。

(2) ミトコンドリアのダイナミクス

ミトコンドリアの外膜 (MFN2) および内膜の融合 (OPA1) に関するタンパク質量が、トレーニングによって有意に増加することが明らかとなった。一方で、除神経によって MFN2 および OPA1 のタンパク質量は有意に減少した (図 4)。

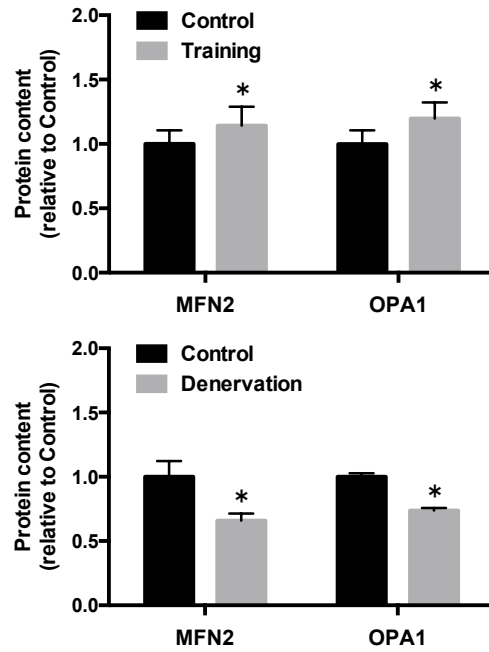


図4. トレーニングおよび除神経によるミトコンドリア融合タンパク質量の変化

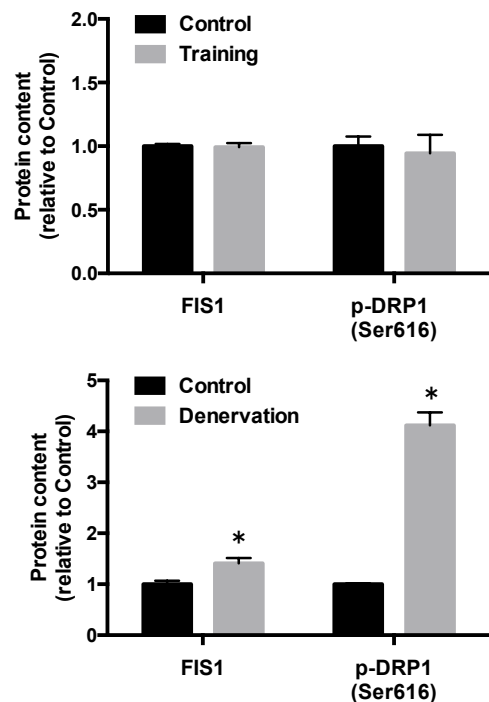


図5. トレーニングおよび除神経によるミトコンドリア分裂タンパク質量の変化

ミトコンドリアの分裂に関与するタンパク質量 (FIS1, DRP1) にはトレーニングによる変化はみられなかった一方で、除神経によって FIS1 のタンパク質量および DRP1 の活性化状態を示すリン酸化レベルが有意に増加した (図 5)。

これらの結果は、運動によって骨格筋ミトコンドリアの融合が促進され、不活動によって分裂が起こる可能性を示唆している。これまで行われてきた多くの研究は、運動あるいは不活動によるミトコンドリア量の増減に着目して行われてきたが、ミトコンドリアの適応を検討する際には、単に量的な変化のみでなく、質的な変化についても検討していく必要があると考えられる。特に、加齢による筋機能の低下とミトコンドリア機能障害との関連が近年の研究によって示唆されていることから、運動によるその予防効果に関して、DNA メチル化あるいはミトコンドリアのダイナミクスの観点からさらなる研究が必要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 2 件)

① Yu Kitaoka, Kohei Takeda, Yuki Tamura, Hideo Hatta. Lactate administration increases mRNA expression of PGC-1 α and UCP3 in mouse skeletal muscle. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, In press. (査読有)
DOI: 10.1139/apnm-2016-0016

② Yu Kitaoka, Riki Ogasawara, Yuki Tamura, Satoshi Fujita, Hideo Hatta. Effect of electrical stimulation-induced resistance exercise on mitochondrial fission and fusion proteins in rat skeletal muscle. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 40:1137-1142, 2015 (査読有)
DOI: 10.1139/apnm-2015-0184

〔学会発表〕 (計 3 件)

① Yu Kitaoka. Lactate: a signaling molecule for training adaptation. *Ergogenic Aids and Nutritional Supplements for Health and Sports*, 2016 年 1 月 20-22 日, コンケン (タイ)

② Yu Kitaoka, Riki Ogasawara, Yuki Tamura, Satoshi Fujita, Hideo Hatta. Effect of resistance exercise on mitochondrial fission and fusion proteins in rat skeletal muscle. 第 70 回日本体力医学会大会 (国際セッション), 2015 年 9 月 18-20 日, 和歌山県民文化会館 (和歌山県和歌山市)

③ Yu Kitaoka, Riki Ogasawara, Yuki Tamura, Satoshi Fujita, Hideo Hatta. Resistance exercise and mitochondrial dynamics. *Cell Symposia: Exercise Metabolism*, 2015 年 7 月 12-14 日, アムステルダム (オランダ)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北岡 祐 (KITAOKA, Yu)

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号 : 30726914