

令和元年9月12日現在

機関番号：34411

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01843

研究課題名(和文) 上り坂歩行運動による脳の乳酸代謝活性化効果の検証

研究課題名(英文) Verification of lactic acid metabolism activation effect of brain by uphill walking exercise

研究代表者

浜田 拓 (Hamada, Taku)

大阪体育大学・体育学部・教授

研究者番号：00466294

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)：本研究の目的は、上り坂歩行運動が脳内のモノカルボン酸(MCT)代謝を活性化させる効果とその因子を検証することであった。実験は雄性SDラットを対象に実施した。上り坂歩行群にはトレッドミル傾斜を40%、分速13 mに設定して負荷させた。上り坂歩行は、血中乳酸濃度が上昇し、速筋のグリコーゲンが減少した。さらに、MCT2発現を検討したところ、上り坂歩行群では、時間依存的に増加する傾向が見られた。脳のBDNFにおいては、時間依存的に増加したが、乳酸はBDNF発現増加の因子とはならなかった。以上の結果から、上り坂歩行運動は、速筋を動員して、脳内の乳酸代謝に加えて、BDNFを増やす効果が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歩行のような軽運動や乳酸性閾値付近での中強度運動は記憶や注意・判断力など、認知機能を高めることが実証されている。本研究で着目した上り坂を利用した短時間の歩行運動は、平地運動と比べて速筋を動員して、糖質を優先的にエネルギーとするため、短時間の上り坂・歩行運動でも、脳の乳酸代謝を活性化できると考える。低体力者や長時間の運動が実施できない高齢者に対して、上り坂を利用した歩行運動プログラムの開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to examine the effect of uphill walking exercise on monocarboxylic acid (MCT) metabolism in the brain and its factors. The experiment was performed on male SD rats. The uphill walking group was loaded with the treadmill inclined at a rate of 40% and a speed of 13 m per minute. As a result, uphill walking increased blood lactate and decreased glycogen in the muscle groups having a fast twitch muscle. Furthermore, uphill walking group tended to increase brain MCT2 protein expression in a time-dependent manner. The brain BDNF protein expression was increased in a time-dependent manner, but lactate was not a signaling factor to increase BDNF protein. From the above results, it was suggested that uphill walking exercise has the effect of mobilizing fast twitch muscles and increases lactate metabolism and BDNF in the brain.

研究分野：運動生理学

キーワード：上り坂 歩行 脳 乳酸 BDNF

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳のエネルギー源は血液由来のグルコースのみと考えられてきた。しかし、最近、アストロサイト(グリア細胞)においてグルコースを基に産生された乳酸がニューロン(神経細胞)に供給され、エネルギー基質として利用されることが実証され、“アストロサイト-ニューロン乳酸シヤトル”の存在が想定されようになった(Pierre et al. J Neurochem, 2005)。

脳には3種類のモノカルボン酸輸送体(MCT)が発現している。MCT1とMCT4がアストロサイトに発現し、乳酸をニューロンへと放出する役割を担っている。MCT2はニューロンで特異的に発現しており、アストロサイトから放出された乳酸を取り込む役割を担っている。特に、学習・記憶などの認知活動を司る海馬では、このMCT2を介したニューロンの乳酸取り込みによって、認知活動に必要なエネルギーが賄われるため、MCT2によるニューロンの乳酸の取り込みは学習・記憶の形成に必要な不可欠であることが実証されている(Suzuki et al. Cell, 2011)。

運動時には認知・記憶に関連する領域の大脳皮質や海馬と摂食に関連する視床下部などにおいて、脳神経活動が活発化する。したがって、運動時、これらの脳部位ではエネルギー需要が増加するので、乳酸はMCT1やMCT4により、アストロサイトから放出され、MCT2によりニューロン内に乳酸の取り込みが増加すると考える。

歩行のような軽運動や乳酸性閾値付近での中強度運動は記憶や注意・判断力など、認知機能を高めることが実証されている。しかし、軽運動においては、比較的長時間の習慣的な運動の実施が推奨されている。

本研究で着目した上り坂を利用した短時間の歩行運動は、平地運動と比べて速筋を動員して、糖質を優先的にエネルギーとするため、短時間の上り坂・歩行運動でも、脳の乳酸代謝を活性化できると考える。

2. 研究の目的

本研究の目的は、上り坂歩行運動が脳内のモノカルボン酸(MCT)代謝を活性化させる効果とそのシグナル因子を検証することであった。

3. 研究の方法

実験は雄性SDラットを対象に実施した。ラットは1週間の予備飼育後、トレッドミル運動に慣れさせるため、3日間の歩行学習をさせた。走行学習は小動物用トレッドミル運動負荷装置を用いて、1日10分程度行った。馴化後にラットを非走行群(コントロール群)、上り坂歩行運動群、平坦歩行運動群の3群に分けた。上り坂歩行群にはトレッドミルの傾斜を40%として分速13mに設定して、負荷させた。平坦歩行群は傾斜を設定しない条件とした。両運動群における歩行運動終了後において、脳、骨格筋、体幹血を採取し、脳の領域別にモノカルボン酸の生成量を解析した。脳は、認知・記憶に関連する大脳皮質、海馬、小脳と摂食に関連する視床下部と脳幹に分画した。歩行運動群による脳の乳酸生成の効果を分析するため、運動終了直後に、マイクロ波照射装置を用いてラットの頭部に5kWのマイクロ波を1.7秒間照射し、ラットを屠殺して、正確に脳内の乳酸を定量化した。乳酸とケトン体の生成量の測定は、Passonneau & Lauderale (1974)の方法に準じて脳の各部位別における脳の乳酸生成量を測定した。血液成分の測定は静脈血からグルコース/ラクテートアナライザーで血糖値と血中乳酸濃度を測定した。

MCTやBDNF蛋白発現量は特異的抗体を用いて電気泳動とウエスタンブロッティング法により検出し、解析を行った。MCT発現量は特異的抗体を用いてウエスタンブロットにより測定した。さらに、免疫組織化学染色法を用いてMCT2発現の局在も検討するため、MCT2とマーカータンパク質の発現を連続切片で観察し、画像を重ね合わせることでMCT2がニューロン特異的に発現していることも検討した。

運動由来の乳酸がMCT2やBDNFを増加させるシグナル因子となるか否かを検証するため、ラットの外頸静脈に留置したカテーテルを通じて血中に乳酸を投与した。投与終了後に脳を摘出してMCT2発現量を分析した。頸静脈カテーテル留置手術は、ラットにストレスのない麻酔薬の静脈投与を可能とするために外頸静脈にシリコン製カテーテルを留置して行った。ラットにペントバルビタール麻酔を施し、右外頸静脈を露出後、カテーテルを挿入し、外頸静脈に固定後、カテーテルを露出させることで、血液が採取できることを確認した。その後、切開部を縫合した。術後2日間の回復期間のあと乳酸投与実験を実施した。

4. 研究成果

上り坂運動群は、速筋線維の比率の高い筋群において、グリコーゲンの減少が顕著であった。血中乳酸濃度は、対照群と比べて、上り坂歩行群で有意に高い値を示したが、対照群と平坦歩行群との間には有意差はなかった。これらの結果から、上り坂運動では、速筋比率の高い筋群でグリコーゲンを消費した結果、血中の乳酸産生量が増加したと考えられる。また、脳内の乳酸濃度は、対照群と比べて、上り坂歩行群で有意に増加したが、対照群と平坦歩行群との間には有意差は認められなかった。脳内グリコーゲンは両運動群ともに、運動の時間依存的な影響は見られなかった。頸静脈血への乳酸投与実験の結果、血中乳酸濃度は、投与前と比べて乳酸投与後5分で急性に増加し、30分には投与前の値までに低下した。同様に、皮質、海馬、視床下部、脳幹における乳酸濃度においても、乳酸投与後5分で急性に増加し、30分には投与前の値までに低下した。乳酸投与後における血中と各脳領域の乳酸濃度との関係を検討した結果、血中と各脳領域の乳酸濃度との間には有意な相関関係($p < 0.01$)が認められた。さらに、血中と

全脳領域の乳酸濃度との関係を検討した結果、両者の間には強い正の相関関係($p < 0.001$)が認められた。この結果から、運動時、脳内の乳酸濃度は血中由来を介して増加する可能性が推測される。

脳内の乳酸代謝活性化を検討するため、免疫組織化学染色法を用いて、鍵輸送タンパクとなる MCT2 発現の局在を検討した結果、MCT2 はニューロン特異的に発現していることが確認できた。上り坂歩行がニューロン特異的な MCT2 の発現効果に及ぼす効果を検証した結果、上り坂歩行群では、MCT2 が時間依存的に増加する傾向が見られた。

一方で、脳の BDNF 発現効果において、BDNF は、30 分の上り坂歩行に対してすべての群間に有意な差異は見られなかったが、長時間の上り坂歩行運動終了後 5 時間では、有意に増加した。上り坂歩行群で、運動の時間依存的に有意に増加することが示唆された。

運動時、生成される乳酸が脳の BDNF 発現の鍵因子となるか否かを検証するため、乳酸単回投与実験を行った。頸静脈に挿入したカテーテルから乳酸ナトリウムを、単回投与した結果、脳内の BDNF の増加は認められなかった。この結果から、運動誘発性の BDNF 発現量の増加は乳酸以外の因子の可能性が示された。今後、乳酸以外の因子の検証に加えて、乳酸濃度や単回数、さらには生体外などの実験的手法を再度検討する必要があると考えられる。

以上の結果から、上り坂歩行運動は、速筋線維を動員して、グリコーゲンの消費を高める効果が惹起された。また、上り坂を利用する運動は、脳内の乳酸代謝に加えて、脳の BDNF を増やす効果が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

瀧本真己、藤谷美菜、浜田 拓. 乳酸投与による血中と脳内における乳酸動態の関係. 第 71 回日本体力医学会, 2016

藤谷美菜、瀧本真己、浜田 拓. 鉄欠乏が骨格筋エネルギー代謝に及ぼす影響. 第 71 回日本体力医学会, 2016

瀧本真己、浜田 拓. 上り坂歩行運動は脳の乳酸の取り込みを増加させる. 第 72 回日本体力医学会, 2017

瀧本真己、浜田 拓. 一過性の短時間・高強度運動が注意機能と全身反応時間に及ぼす影響. 第 32 回日本体力医学会近畿地方会, 2018

瀧本真己、浜田 拓. 上り坂歩行が海馬の脳由来栄養因子 BDNF 発現に及ぼす運動の時間依存効果. 第 73 回日本体力医学会, 2018

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：林 達也

ローマ字氏名：Hayashi Tatsuya

所属研究機関名：京都大学

部局名：人間・環境学研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：00314211

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。