

令和元年6月22日現在

機関番号：14403

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K13014

研究課題名(和文) 高強度間欠的運動がミトコンドリアのピルビン酸の取り込みに及ぼす影響

研究課題名(英文) The effect of high intensity intermittent training on pyruvate oxidation in mitochondria.

研究代表者

榎木 泰介 (ENOKI, Taisuke)

大阪教育大学・教育学部・准教授

研究者番号：70392701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は、アスリートが高強度運動を継続する為に鍵となる効率的なエネルギー代謝について、特にミトコンドリアの適応変化に注目し、研究を行った。結果から、高強度間欠的運動による効果の特徴として、速筋線維において、乳酸とピルビン酸の相互変換が活性化を示した。ミトコンドリア量の増加は遅筋と速筋共に確認された。一方、ミトコンドリア単位の酵素や輸送タンパク質は変化しなかった。効率的なエネルギー代謝を目指し、ピルビン酸を有効活用するためには、ミトコンドリアの量が鍵となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高強度間欠的運動の有用性について、骨格筋内のエネルギー代謝の効率化に注目し、一般的な中低強度持続的運動と比較を行った。特に速筋線維において、乳酸とピルビン酸の相互変換の活性化に特徴がみられた。また、ミトコンドリアは増加を示したが、単離ミトコンドリア当たりの酵素および輸送タンパク質は有意な増加を示さなかった。ミトコンドリアがピルビン酸を効率的に利用するためには、ミトコンドリアそのものの量が重要である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the efficient energy metabolism that is the key for athletes to continue high intensity physical performance. As a feature of the effect of high intensity intermittent training, our results showed that the activation of the interconversion of lactate and pyruvate in fast-twitch glycolytic muscle. An increase in mitochondrial COX4 protein was observed in both slow and fast twitch muscles. However, glycolytic enzymes and substrate transport proteins per mitochondrial unit did not show any changes. thus, it was suggested that the amount of mitochondria might be the key to effectively utilize pyruvate and lactate for efficient energy metabolism.

研究分野：スポーツ生理学, スポーツ生化学

キーワード：エネルギー代謝 ミトコンドリア 高強度間欠的運動 乳酸 ピルビン酸

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

1. 研究開始当初の背景

スポーツ現場では、選手の基礎体力やパフォーマンスの評価などに、乳酸測定を利用している。乳酸とピルビン酸の代謝については、その調節メカニズムが分子レベルで解明されはじめ、スポーツ生理生化学の研究分野や、スポーツ現場でも「乳酸は疲労物質ではない」という科学的真実が認識されつつある。この20数年の間に細胞間乳酸シャトル説が提言され、「乳酸 疲労物質」が注目された。しかし、ミトコンドリアによる直接的な乳酸取り込みが否定された結果、乳酸に関する研究はひとまず終着した。乳酸は解糖系代謝の最終産物であるがゆえに、解糖系によるATP産生をあまり行わない日常生活では、その意義を見出すことは難しい。乳酸は疲労物質ではない。では、いったい何なのだろうか？

最新の研究では、「乳酸をつくる(解糖)」と「乳酸をつかう(酸化)」は、異なる機序で統制されると報告している。つまり2つの代謝過程は、お互い独立していて、相互で直接的には干渉しない。しかし、高度なパフォーマンスが要求される競技スポーツ選手では、乳酸をつくる能力も、乳酸をつかう能力も重要である。

本研究では、乳酸をつくり、乳酸を筋細胞内にためる能力と、乳酸をつかうために、ピルビン酸としてミトコンドリアへ取り込む能力、に注目して研究を行う。とはどのように関連・連動するのか、またしないのかについて検討を進める。特に、乳酸をつくる解糖系が活性化する高強度間欠的運動を用いることで、骨格筋内に多くの乳酸が存在する状況を設定する。このような乳酸の多い状況で、その乳酸をつかう能力はどのように変化するのかについて検討を行う。運動負荷の強度、頻度、時間を組み合わせることで、多様な刺激を乳酸代謝に与え、乳酸産生と乳酸酸化に関連する物質について、その適応変化を解明する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、乳酸の産生(解糖)とピルビン酸としての分解(酸化)において、2つの代謝経路が細胞内で互いに影響を与えるのか否かを解明することである。本研究では、ピルビン酸のミトコンドリアへの流入を相互連絡の起点と仮定し、それに関連する因子を解明する。

ピルビン酸代謝に関する最新知見に基づき、本申請課題では乳酸産生(解糖)と乳酸酸化(糖酸化)という2つの糖代謝過程が、それぞれに独立した統制を受けると仮定して研究を進める。そこで代謝の流れを以下の3つのポイントにおいて、習慣的な運動に対する適応変化を解明する。それらは、解糖系の亢進、ピルビン酸 乳酸の動向、ミトコンドリアのピルビン酸の取り込みである。乳酸産生が活性化する高強度間欠的運動と、一般的な中低強度持久的運動を負荷した際に、どのような適応変化の違いが現れるのかについて注目する。

3. 研究の方法

Wistar 系雄性ラットをコントロール群(CON)、中強度持久的トレーニング群(MIET)、高強度インターバルトレーニング群(HIIT)に無作為に分け、週5回、4週間のトレッドミル走を実施した。初めの2週間では、両トレーニング群は共に平均24.5m/minで30分間のトレーニングを行った。それに続く2週間では、MIET群は平均30.5m/minで30分間の持久的トレーニングを行った。一方、HIIT群は平均50.5m/minで1分間の高強度トレーニングを10回、2分間の安静を挟んで行った。両群とも、最終トレーニングから24時間後に下肢骨格筋および血液を採取した。

特に腓腹筋について、筋線維タイプによって2つの部位に分けた。それらは、解糖系筋線維が豊富な部位(White)と酸化系筋線維が豊富な部位(Red)である。加えて、腓腹筋からミトコンドリアの単離抽出を行った。腓腹筋を対象として、骨格筋全体のサンプル(Whole)とミトコンドリアが豊富なサンプル(Mit)をそれぞれ作成し、分析を行った。

異なるトレーニングによるピルビン酸および乳酸代謝の適応変化を検討するために、骨格筋内のエネルギー代謝に関連する酵素や膜輸送タンパク質について、その増減変化をWestern Blottingを用いて測定した。

4. 研究成果

トレーニング内容と体重などの変化

4週間のトレーニング期間について、先の2週間は2群共に中強度持久的トレーニングを行った。その後の2週では、HIIT群は高強度トレーニングを実施した。個体が運動を行う研究手法において、どのような運動刺激を与えたか、実施したかは非常に重要な要因である。本研究課題におけるMIET群は、HIIT群の約60%の運動強度を設定し、トレーニングを行った。表1に示すとおり、先行研究を参考として、計画的なトレーニング負荷を与えることができた。また、2群における体重、摂食量及び筋グリコーゲン含有量を表2に示す。

表1 トレーニング負荷の内容

		week			
		1st	2nd	3rd	4th
MIET	Max (m/min)	27	30	32	32
	Min (m/min)	20	23	26	30
	Mean (m/min)	22.5	26.5	29.5	31.5
	Time (min/day)	30	30	30	30
	Total distance (m/week)	3375	3975	4425	4725
HIIT	Max (m/min)	27	30	55	77
	Min (m/min)	20	23	36	42
	Mean (m/min)	22.5	26.5	42.3	58.8
	Time (min/day)	30	30	1min×10	1min×10
	Total distance (m/week)	3375	3975	2113	2941

表2 介入前後における体重、摂取カロリーと筋グリコーゲン濃度

	CON	MIET	HIIT
Body weight (g)			
Pre training	154.6 ± 3.2	150.9 ± 2.3	152.5 ± 2.2
Post training	338.5 ± 10.0 **	296.4 ± 3.4 ** ##	299.7 ± 6.1 ** ##
Dietary intake (kcal/day)			
	80.1 ± 2.1	71.2 ± 1.4 ##	75.3 ± 1.7 ## §§
Muscle glycogen (mg/g wet weight)			
Red muscle	0.756 ± 0.132	0.616 ± 0.122	0.556 ± 0.090
White muscle	0.237 ± 0.061	0.239 ± 0.042	0.188 ± 0.021

異なるトレーニングによるエネルギー代謝関連タンパク質の適応変化

4週間のトレーニング期間後、異なるトレーニングによって、ピルビン酸および乳酸の代謝に関連する酵素や膜輸送タンパク質が、どのように変化するのか検討を行った。2群の比較検討では、腓腹筋を持久的・酸化系の遅筋線維 (Red) と瞬発的・解糖系の速筋線維 (White) に分けて、分析を行った。ピルビン酸 乳酸を相互転換する乳酸脱水素酵素 (LDH) は、White の HIIT 群のみで有意な増加を示した (図1)。乳酸を細胞内へ取り込む MCT1 は Red で増加し、MIET 群で有意な増加を示した (図2)。ミトコンドリアの COX4 は Red では両群ともに増加したが、White では HIIT 群のみ有意な増加を示した (図3)。

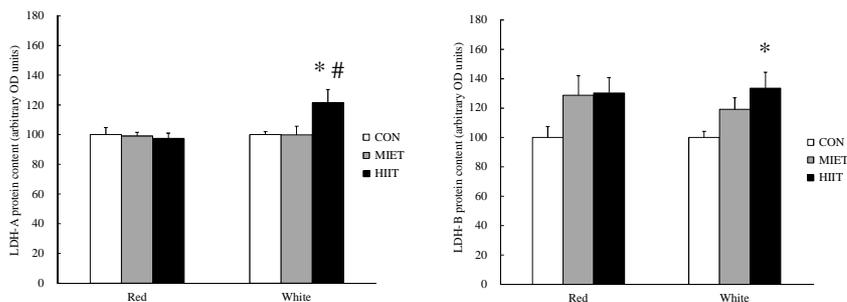


図1 LDH-A と LDH-B * P<0.05 vs CON, # P<0.05 vs MIET

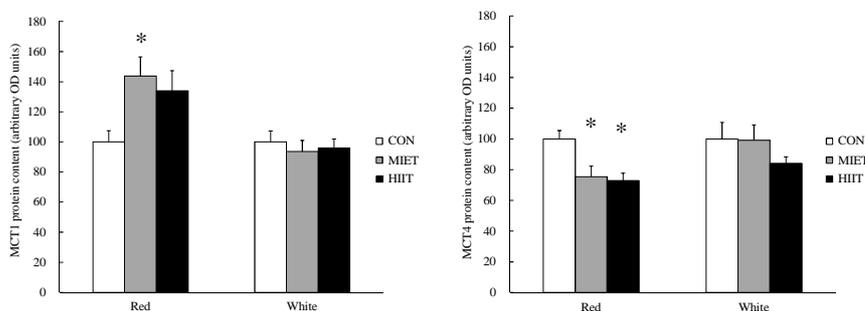


図2 MCT1 と MCT4 * P<0.05 vs CON

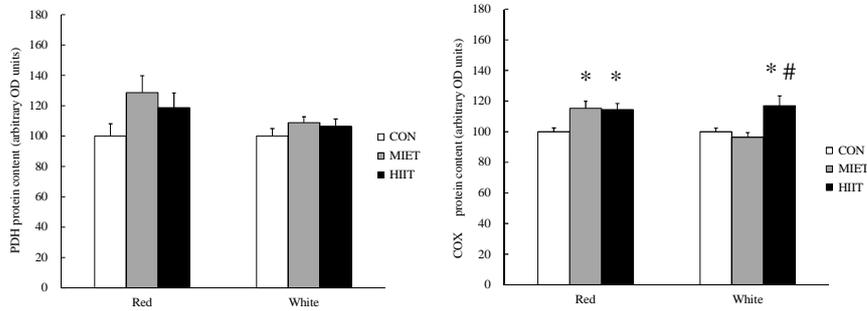


図3 PDHとCOX4 * P<0.05 vs CON, # P<0.05 vs MIET.

異なるトレーニングによるミトコンドリア膜輸送担体の適応変化

腓腹筋からミトコンドリアのみを単離抽出し、さらに精製した後、タンパク質量を等量に揃えたサンプルを作成した。このサンプルを用いて、単位ミトコンドリアあたりについて、ピルビン酸の取り込みに関連するミトコンドリア膜輸送タンパク質に増加がみられるのかを検討した。図4のWesternの結果から、COX4タンパク質に群間で差は認めず、ミトコンドリア濃度が等量であることがわかる。そこで、ピルビン酸のミトコンドリアへの流入に関与するピルビン酸脱水素酵素 (PDH) とモノカルボン酸輸送タンパク質 (mitMCT) を検討した結果、両トレーニング群ともに有意な変化はみられなかった (図5と図6)。

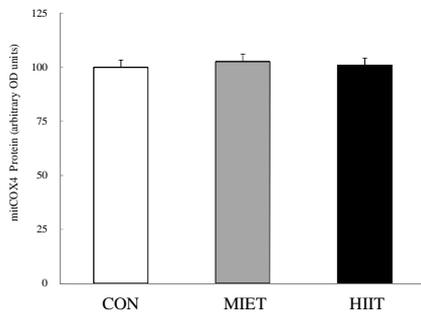


図4 mitCOX4

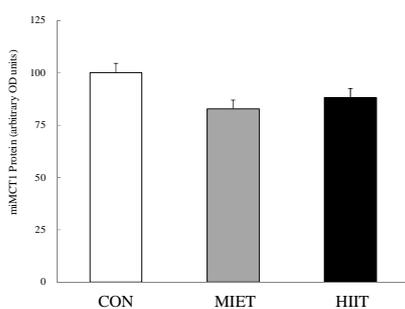


図5 mitMCT1

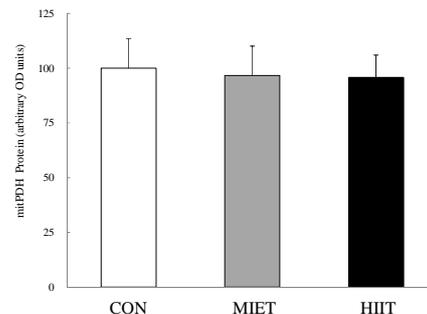


図6 mitPDH

実験の結果から、HIITは特に解糖系筋線維(速筋)において、ピルビン酸から乳酸への転換だけでなく、乳酸からピルビン酸への転換も亢進させることが示唆された。このピルビン酸がミトコンドリアへ取り込まれれば、さらにエネルギー基質として代謝利用が可能である。そこで、ミトコンドリアの指標であるCOX4をみると、酸化系筋線維(遅筋)では両トレーニング群共に有意な増加を示した。そして、特に乳酸産生が優位な速筋線維では、HIITのみでCOX4の有意な増加がみられたことから、HIITは乳酸産生とピルビン酸への変換だけではなく、それを酸化代謝するミトコンドリアへの効果も示唆された。一方で、ピルビン酸のミトコンドリアへの入口であり、酸化系代謝の開始点であるPDHは、本研究のトレーニング群では有意な増加を示さず、さらに大きな運動負荷が必要なのかもしれない。

実験では、ピルビン酸を取り込み、酸化分解するミトコンドリアのPDHは、残念ながら有意

な増加を示さなかった。それは、どちらのトレーニング群でも、いずれの筋線維タイプにおいても、同様であった。そこで実験では、ミトコンドリアそのものに注目し、骨格筋細胞全体ではなく、骨格筋から単離したミトコンドリアのみを対象として、ピルビン酸代謝の適応変化を検討した。実験結果から、単離ミトコンドリアにおいてもトレーニングによるPDHの有意な増加は得られなかった。同様に、ピルビン酸をミトコンドリアに取り込む際に関与するミトコンドリア膜のモノカルボン酸トランスポーター(mitMCT)についても検討を行ったが、こちらでも有意な増加は示さなかった。これらの研究結果から、トレーニングによるピルビン酸取り込みの亢進には、ミトコンドリア膜のmitMCTやPDHの密度(濃度)ではなく、ミトコンドリアそのものの総量の増加が寄与する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

[学会発表](計13件)

榎木泰介. 乳酸をつくる能力と使う能力のトレーニング効果. 第15回 乳酸研究会, 2019年2月, 東京都

榎木泰介. エネルギー代謝からスポーツ・トレーニングを見ると~エンジン(筋)にとって効率のよい燃費とは?~, 第13回 トレーニング指導者研修・交流会, 2018年12月, 大阪府

中村瑞季, 高野綾斗, 安藤七星, 小笠原佑衣, 西口治佳, 榎木 泰介. レジスタンストレーニングが糖尿病の解糖系代謝に与える影響, 第73回 日本体力医学会大会, 2018年9月, 福井県

西口治佳, 榎木泰介. 高強度インターバルトレーニングが腓腹筋のミトコンドリア内のピルビン酸代謝に与える影響, 第73回 日本体力医学会大会, 2018年9月, 福井県

小笠原佑衣, 西口治佳, 菅生貴之, 榎木泰介. レジスタンストレーニングが速筋の糖代謝に与える影響, 第73回 日本体力医学会大会, 2018年9月, 福井県

高野綾斗, 安藤七星, 中村瑞季, 小笠原佑衣, 西口治佳, 榎木 泰介. レジスタンストレーニングが遅筋線維の膜輸送タンパク質に与える影響, 第73回 日本体力医学会大会, 2018年9月, 福井県

安藤七星, 中村瑞季, 高野綾斗, 小笠原佑衣, 西口治佳, 榎木 泰介. 朝食欠食と深夜の高脂肪食摂取が糖代謝の日内リズムに及ぼす影響, 第73回 日本体力医学会大会, 2018年9月, 福井県

小笠原佑衣, 西口治佳, 菅生貴之, 榎木泰介. レジスタンストレーニングが速筋の糖代謝に与える影響, 第26回 日本運動生理学会, 2018年7月, 大阪府

脇野昌司, 藤田修平, 田端洋貴, 井上美里, 大野恭裕, 木村保, 榎木泰介. 2型糖尿病患者のサルコペニア有病率とロコトレの介入効果について, 第2回日本呼吸・心血管・糖尿病理学療法学会合同学術大会, 2018年7月, 神奈川県

砂場優里子, 小笠原佑衣, 西口治佳, 榎木泰介. レジスタンストレーニングが糖尿病の解糖系に及ぼす影響, 第72回 日本体力医学会大会, 2017年9月, 愛媛県

小笠原佑衣, 砂場優里子, 西口治佳, 榎木泰介. レジスタンストレーニングが異なる下肢骨格筋の膜輸送タンパク質に与える影響, 第72回 日本体力医学会大会, 2017年9月, 愛媛県

西口治佳, 榎木 泰介. 運動強度の違いが遅筋線維群の筋線維鞘下ミトコンドリアのMCT、PDH、COX4発現量に及ぼす影響, 第72回 日本体力医学会大会, 2017年9月, 愛媛県

西口治佳, 榎木 泰介. 高強度インターバルトレーニングが骨格筋のピルビン酸代謝に及ぼす影響, 第71回 日本体力医学会大会, 2016年10月, 岩手県

[その他]

・日本トレーニング指導者協会機関誌 JATI Express 連載

現場で生かす運動生理学(隔月発刊)

・研究室web

<http://www.osaka-kyoiku.ac.jp/~enoki/>

・所属大学研究者データベース

<http://kenkyu-web.bur.osaka-kyoiku.ac.jp/Profiles/6/0000501/profile.html>

・Researchmap

<https://researchmap.jp/read0138443/>

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。