

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K11553

研究課題名（和文）ミトコンドリアと寿命を改善する乳酸菌の作用メカニズム

研究課題名（英文）Mechanisms of mitochondrial disease suppression and lifespan extension by lactic acid bacteria

研究代表者

伊藤 孝 (Ito, Takashi)

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・上級研究員

研究者番号：20597124

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ミトコンドリア異常を有するマウス(Ndufs4 KO)において、広い濃度の乳酸の経口投与で健康寿命が延びた。種々の属種の乳酸菌株の投与でも健康寿命が延びた。神経炎症が乳酸、乳酸菌のいずれでも軽減した。乳酸により解糖系が阻害され、呼吸が亢進する現象が、多くの細胞で一般的にみられることを見つけた。ミトコンドリア病原因遺伝子変異を有する疾患iPS細胞株をNdufs4 KOも含め複数株作製し、分化誘導した複数の細胞種において、乳酸による呼吸能向上と機能改善が共通して見られた。本研究において、ミトコンドリア異常を補完する方法として、微生物やその代謝物の経口投与が有効であるという新たな可能性を提示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミトコンドリアは、我々が活動するためのエネルギーの産生など、生命活動の根幹を担う。ミトコンドリア異常が多くの疾患や個体の老化に関わる一方で、一度機能が低下したミトコンドリアの機能を回復することは基礎研究のレベルでもとても難しく、ミトコンドリア異常をよくする効果的な治療法開発・社会実装には至っていない。我々は乳酸や乳酸菌により、ミトコンドリア異常を改善できること、モデル生物の寿命を延長できることを見つけた。さらにそのメカニズムの一端を明らかにした。今回の結果は、小児ミトコンドリア病や老化などの現状で治療がとても難しい症状を理解し、将来的な治療法の開発に役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：In mice with mitochondrial abnormalities (Ndufs4 KO), oral administration of lactic acid as well as lactic acid bacterial strains extended healthy lifespan. Furthermore, microglial activation and neuronal cell death were reduced by both administrations. We also found that lactate inhibits the glycolysis and enhances mitochondrial respiration, a phenomenon commonly seen in many cell lines. Lactate commonly enhanced respiration in cell types differentiated from iPS cell lines possessing mitochondrial disease-causing mutations, including Ndufs4 KO. Our results show that oral administration of lactic acid or intervention onto the gut microbiota can improve mitochondrial function and suppress neuroinflammation, warranting further investigations. In this study, we present a novel possibility that oral administration of microorganisms and their metabolites may be an effective way to complement mitochondrial abnormalities.

研究分野：長寿の生物学

キーワード：ミトコンドリア 寿命 乳酸菌 乳酸 解糖系

## 1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリアは栄養代謝、エネルギー産生やアポトーシス制御等の生命の根幹を担う。栄養代謝・ミトコンドリア異常が疾患や個体の老化に関わる一方で、ミトコンドリアを標的にする効果的な治療法開発・社会実装には至っていない。我々は特定の乳酸菌により、ミトコンドリア異常を改善できること、モデル生物の寿命を延長できることを見つけた。本研究は外部環境由来因子である乳酸菌がミトコンドリアと個体老化を制御する機構を解明する。進化上細胞内共生する元微生物であるミトコンドリアと、外で共生する腸内微生物がどう宿主健康寿命への役割を共有し、また競合関係にあるのか、その問いにも考察を与える。

## 2. 研究の目的

本研究は外部環境由来因子である乳酸菌がミトコンドリア異常に関連する機能や表現型を制御する機構を解明する。

## 3. 研究の方法

ミトコンドリア異常を有するマウス(Ndufs4 KO)で乳酸により短寿命をはじめとした病態表現型が回復するか検討した。乳酸、乳酸菌投与時における脳と大腸で病理学的解析を行った。染色はH&E染色、iba-1染色、CD68染色などを行った。複数のがん細胞株、Ndufs4 KOマウス胎児由来線維芽細胞株、Cybrid 97%(3243A>G,143B)、ミトコンドリア病患者由来iPS細胞株などを用いて、乳酸がミトコンドリア呼吸能を向上するか細胞外フラックスアナライザーを用いて解析した。神経幹細胞による神経誘導による分化異常が起こるかを、Ndufs4 KO iPS細胞、3243A>G 100% iPS細胞で検討した。そのうえで、乳酸により分化異常が回復するか、光学顕微鏡とIncucytesを用いて解析した。ミトコンドリア膜電位と形態ネットワークをNdufs4 KO iPS細胞由来においてmito-redもしくはTMRMで染色し、野生型に対する変化を解析した上で、乳酸による影響を合わせて解析した。

## 4. 研究成果

ミトコンドリア異常を有するマウス(Ndufs4 KO)において、広い濃度域種の乳酸の経口投与で健康寿命が延びた。また種々の属種の乳酸菌株8株中6株の投与でも健康寿命が延びた。さらに脳において病理学的検討を行い、主な病変部位である小脳・脳幹において、ミクログリアの活性化と神経細胞死を乳酸、乳酸菌投与のいずれも軽減することを見出した。興味深いことに、大腸においてはマクロファージ染色をはじめ、乳酸や乳酸菌投与による、病理学的、形態学的変化は、解析した範囲において、認めなかった。乳酸により解糖系が阻害され、ミトコンドリア呼吸が亢進する現象が、がん細胞やミトコンドリア病 MELAS で一般的な変異型 mtDNA を有する細胞も含めて多くの細胞株で一般的にみられることを見つけた。その効果はD-乳酸とL-乳酸のいずれもほぼ同等だった。ミトコンドリア病原原因遺伝子変異を有する疾患iPS細胞株をNdufs4 KOも含め複数株作製し、分化誘導した線維芽細胞において、乳酸による呼吸能向上が共通に見られた。神経幹細胞に分化誘導して行った同様の検討においても、乳酸により呼吸能が向上し、幹細胞能が改善した。Ndufs4 KO神経幹細胞においてミトコンドリアネットワークが野生型に比べて大きく変化し、乳酸投与により野生型の表現型に近づいた。

以上のような乳酸の経口投与、もしくは腸内細菌叢による介入で、ミトコンドリア機能向上や神経炎症を抑制する効果があることは興味深く、今後のさらなる解析・進展が期待される。本研究において、ミトコンドリア異常を補完する方法として、微生物やその代謝物の経口投与が有効

であるという新たな可能性を提示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Martin-Perez Miguel, Grillo Anthony S., Ito Takashi K., Valente Anthony S., Han Jeehae, Entwisle Samuel W., Huang Heather Z., Kim Dayae, Yajima Masanao, Kaeberlein Matt, Villen Judit	4. 巻 2
2. 論文標題 PKC downregulation upon rapamycin treatment attenuates mitochondrial disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Metabolism	6. 最初と最後の頁 1472 ~ 1481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42255-020-00319-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Bitto Alessandro, Grillo Anthony S., Ito Takashi K., Stanaway Ian B., Nguyen Bao M. G., Ying Kejun, Tung Herman, Smith Kaleb, Tran Ngoc, Velikanje Gunnar, Urfer Silvan R., Snyder Jessica M., Barton Jacob, Sharma Ayush, Kayser Ernst-Bernhard, Wang Lu, Smith Daniel L., Thompson J. Will, DePaolo William, Kaeberlein Matt	4. 巻 5
2. 論文標題 Acarbose suppresses symptoms of mitochondrial disease in a mouse model of Leigh syndrome	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Metabolism	6. 最初と最後の頁 955 ~ 967
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42255-023-00815-w	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takashi Ito, Haruna Nishimura, Sari Nurmila, Hiroki Kobayashi, Minoru Yoshida
2. 発表標題 Lactate inhibits glycolysis and attenuates mitochondrial disease
3. 学会等名 Cell Symposia: Multifaceted Mitochondria (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takashi Ito
2. 発表標題 乳酸投与はミトコンドリア病モデルNdufs4 KOマウスの寿命を延長する
3. 学会等名 日本ミトコンドリア学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Ito
2. 発表標題 mTOR経路阻害でリー脳症モデルNdufs4 KOマウス寿命を延長する分子機構
3. 学会等名 日本基礎老化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Ito
2. 発表標題 How does inhibition of mTOR promote longevity in mammals?
3. 学会等名 8th Symposium of the Smart-Aging Research Center (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤 孝、小林 大貴、吉田 稔
2. 発表標題 mTOR経路阻害でリー脳症モデルNdufs4 KOマウス寿命を延長する分子機構
3. 学会等名 J-mit 特別オンラインシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 孝
2. 発表標題 mTOR経路と腸内細菌がマウス寿命に及ぼす影響
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 ミトコンドリア機能改善剤	発明者 伊藤孝、他	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/038014	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 ミトコンドリア機能改善剤	発明者 伊藤孝 他4名	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/038014	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 ミトコンドリア機能改善剤	発明者 Takashi Ito	権利者 浜松医科大学、 明治
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/038014	取得年 2021年	国内・外国の別 外国

〔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		
米国	University of Washington	Iowa University	