

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：32672

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03332

研究課題名(和文)「機能未知で未命名な運動応答性遺伝子」による骨格筋ミトコンドリアの量的・質的制御

研究課題名(英文) Quantitative and qualitative regulation of mitochondria by "exercise-responsive genes of undefined function"

研究代表者

田村 優樹 (Tamura, Yuki)

日本体育大学・体育学部・准教授

研究者番号：20794978

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 16,930,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリアは、細胞内のエネルギー産生を担い、細胞の恒常性維持に重要な役割を果たす細胞小器官である。骨格筋におけるミトコンドリアの量や機能の低下は、筋萎縮や代謝疾患などの病因となるため、その改善が求められている。特に、運動やトレーニングによるミトコンドリア機能の向上が効果的であるとされているが、その分子メカニズムは未解明な点が多い。我々は、lncRNAである2810030D12Rikに注目し、ミトコンドリア機能の新規制御機構を検討した。2810030D12Rikは、電子伝達系の呼吸鎖複合体IVの活性を向上させることを通じてミトコンドリア機能を負に制御する因子であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨格筋のミトコンドリアの量や機能を向上させることは、アスリートの持続的運動能力の向上に寄与する。一方でミトコンドリアの量・機能の低下は、骨格筋萎縮や代謝性疾患の原因となることが指摘されている。よって、骨格筋のミトコンドリアの機能は一般人でも高く保つことが健康の維持増進に不可欠である。本研究で、骨格筋のミトコンドリアの機能を制御する新たなメカニズムの一端を明らかにできたことで、今後は、効果的な運動療法や運動の代替法の開発に発展できる。

研究成果の概要(英文)：Mitochondria are organelles responsible for energy production within cells and play a crucial role in maintaining cellular homeostasis. A decrease in the quantity and function of mitochondria in skeletal muscle is associated with conditions such as muscle atrophy and metabolic diseases, highlighting the need for their improvement. While exercise and training are known to effectively enhance mitochondrial function, the underlying molecular mechanisms remain largely unexplored. In this study, we focused on the lncRNA 2810030D12Rik to investigate a novel regulatory mechanism of mitochondrial function. Our findings revealed that 2810030D12Rik negatively regulates mitochondrial function by enhancing the activity of complex IV in the electron transport chain.

研究分野：スポーツ科学

キーワード：ミトコンドリア 骨格筋 エネルギー代謝

## 1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリアは、細胞内のエネルギー産生を担う細胞小器官であり、細胞内の恒常性維持に重要な働きを担っている。ヒト生体で最大の組織である骨格筋において、ミトコンドリアの量や機能が低下すると、廃用性および加齢性の骨格筋萎縮、糖尿病などの代謝疾患、がん性悪液質の病因となる。したがって、「骨格筋のミトコンドリアの量や機能を向上させること」が上述の疾患を予防・治療するための基本戦略となる。骨格筋のミトコンドリアの量・機能を高めるための手段のひとつとして、「運動・トレーニング」が挙げられる。そこで、より安全で、効果的な運動処方の実現が社会・臨床から望まれている。そのためには、「運動・トレーニングによる骨格筋ミトコンドリアの適応メカニズムを分子・細胞レベルで明らかにすること」や「分子メカニズムを踏まえた運動処方の提案」が必要不可欠である。

スポーツ科学およびミトコンドリア科学における学術的意義のみならず、高い臨床的意義があることから、骨格筋ミトコンドリアの遺伝的・生理的・病的な適応の分子機序は、多くの科学者の研究対象とされている。しかしながら、その分子メカニズムは未解明な点が多く残されており、全容の解明には至っていない。我々は最近、骨格筋のミトコンドリア適応の分子基盤を効率的に紐解くための新しい実験モデルを報告した。具体的には、「培養した骨格筋細胞を対象に持続的トレーニングを高い水準で再現するための研究」である ([Tamura et al., Am J Physiol Cell Physiol, 2020](#))。この研究の一環として、培養した骨格筋細胞に筋収縮を惹起させ、発現が変動する遺伝子を網羅的に解析した。その結果、培養骨格筋細胞の筋収縮活動により、発現量が劇的に低下する遺伝子として「2810030D12Rik」を発見した。「2810030D12Rik」は、存在は確認されているものの、骨格筋に限らず全ての細胞種において機能が完全に未知な遺伝子である。

## 2. 研究の目的

本研究では、「2810030D12Rik」に着目し、骨格筋のミトコンドリアの量や機能を制御する新たなメカニズムを明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究では、「2810030D12Rik」の生理機能を明らかにすることを目的として、2810030D12Rikの発現パターンの解析や gain of function、loss of functionの解析を実施した。具体的な研究手法は、下記の研究成果のセクションにて記述する。

#### 4 . 研究成果

##### 検討課題 1: 2810030D12Rik の発現パターンならびに応答性の検討

検討課題 1 では、まず 2810030D12Rik の発現パターンについて基礎的な知見を得ることを目的とした取り組みを行った。まず、マウス骨格筋由来の培養細胞である C2C12 myoblasts から myotubes への分化を誘導した際の 2810030D12Rik の発現パターンの変動を評価した。その結果、分化誘導に伴って、2810030D12Rik の発現量は上昇することが確かめられた。これらの結果は、骨格筋の発生プロセスにおいて、2810030D12Rik の発現が増加することを示唆している。

続いて、我々は、マウス生体の骨格筋における 2810030D12Rik の発現パターンを検討した。その結果、遅筋線維が優位で酸化的エネルギー代謝の活性が高いヒラメ筋では、2810030D12Rik の発現量が低く、速筋線維が優位で解糖系エネルギー代謝の活性が高い腓腹筋では、2810030D12Rik の発現量が高いことが明らかとなった。これらの結果は、2810030D12Rik の発現量と酸化的エネルギー代謝の活性は、負の相関関係がある可能性が示唆された。

我々は、C2C12 myotubes に電気刺激を与え収縮を惹起した際に、2810030D12Rik の発現が低下することを明らかにしている。これらの知見を踏まえて、2810030D12Rik の発現量が、マウス生体の運動によっても発現が低下するか否かを検討した。その結果、トレッドミルを用いた持続的運動によって、2810030D12Rik の発現量が低下することが確かめられた。これらの結果は、培養細胞を対象とした我々の知見と整合するものであった。加えて、協働筋切除による代償性筋肥大を実施した際にも、2810030D12Rik の発現量が低下することが明らかとなった。これら一連の結果は、骨格筋の活動量と 2810030D12Rik の間には、負の相関関係がある可能性を示唆するものであった。

我々は、加齢によって骨格筋の 2810030D12Rik の発現量が変動するか否かについても検討を行った。その結果、加齢によって、骨格筋の 2810030D12Rik の発現量が増加することが明らかとなった。

一連の取り組みを通して、2810030D12Rik の発現量や発現量の変化は、骨格筋の活動や酸化的エネルギー代謝と負の相関関係にある可能性が見出された。

##### 検討課題 2: 2810030D12Rik の生理機能の検討

検討課題 1 では、2810030D12Rik の発現量や発現量の変化は、骨格筋の活動や酸化的エネルギー代謝と負の相関関係にある可能性が見出された。そこで、2810030D12Rik が骨格筋の酸化的エネルギー代謝に与える影響を明らかにすることを目的とし、2810030D12Rik の発現量を操作することで生じる骨格筋の適応を検討した。

C2C12 myotubes を対象に siRNA を用いて 2810030D12Rik の発現を低下させた際の適応を評価した。siRNA により 2810030D12Rik の発現を低下させても、myotubes の形態には影響は観察されなかった。一方で、2810030D12Rik の発現を抑制すると、遅筋関連遺伝子 (Myh7、Myh2) が増加し、速筋関連遺伝子 (Myh1、Myh4) の発現が減少することが明らかとなった。また、

2810030D12Rik の発現抑制によりミトコンドリア生合成に関わるマスター制御因子である PGC-1alpha や酸素運搬に関わるタンパク質 Myoglobin の遺伝子発現量が顕著に増加することが明らかとなった。続いて、2810030D12Rik の発現抑制が、酸化的エネルギー代謝の中核を担うミトコンドリアに与える影響を評価した。その結果、2810030D12Rik の発現を抑制しても、ミトコンドリアの量には影響を与えないことが示された。一方で、ATP 産生に共役したミトコンドリアの酸素消費速度は 2810030D12Rik によって顕著に上昇することが明らかとなった。これらの結果は、2810030D12Rik は、ミトコンドリアの機能を負に制御する因子であることが示された。

続いて、我々は 2810030D12Rik の発現抑制の結果を踏まえて、2810030D12Rik の過剰発現を行った際の適応を評価した。その結果、2810030D12Rik の過剰発現は、ミトコンドリアの機能を低下させることが明らかとなった。

したがって、2810030D12Rik の発現抑制および過剰発現を行った際の骨格筋細胞の適応を統合すると、「2810030D12Rik は、骨格筋細胞のミトコンドリアの機能を負に制御する因子」であることが明らかにされた。

### 検討課題 3: 2810030D12Rik がミトコンドリア機能を負に制御するメカニズムの検討

我々は続いて、ミトコンドリアの機能が 2810030D12Rik によって負に制御されている理由を明らかにするために、TCA 回路および電子伝達系を構成する酵素の活性を評価した。その結果、2810030D12Rik の発現を抑制しても TCA 回路の酵素活性には影響は認められなかった。しかし、2810030D12Rik の発現抑制は、電子伝達系の律速段階である呼吸鎖複合体 IV の活性を向上させることが明らかとなった。

2810030D12Rik の発現抑制によって、ミトコンドリア生合成や酸化的エネルギー代謝のマスター制御因子である PGC-1alpha が増加していることを踏まえ、我々は、2810030D12Rik によるミトコンドリアの機能向上は、PGC-1alpha を介しているといった仮説を設定し検証を行った。2810030D12Rik の発現抑制によるミトコンドリアの機能向上は、PGC-1alpha の発現抑制によって消失するか否かといった課題を検討した。その結果、PGC-1alpha の発現を抑制しても、2810030D12Rik によるミトコンドリアの機能向上作用は維持された。したがって、2810030D12Rik によるミトコンドリア機能の負の制御は、必ずしも PGC-1alpha を必要としない可能性が示された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Tamura Yuki, Jee Eunbin, Kouzaki Karina, Kotani Takaya, Nakazato Koichi	4. 巻 602
2. 論文標題 Monocarboxylate transporter 4 deficiency enhances high intensity interval training induced metabolic adaptations in skeletal muscle	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 1313 ~ 1340
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1113/JP285719	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 -

1. 著者名 Tamura Yuki, Kouzaki Karina, Kotani Takaya, Nakazato Koichi	4. 巻 326
2. 論文標題 Coculture with Colon-26 cancer cells decreases the protein synthesis rate and shifts energy metabolism toward glycolysis dominance in C2C12 myotubes	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 C1520 ~ C1542
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpcell.00179.2023	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1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田村優樹
2. 発表標題 運動応答性 long non-coding RNAによる骨格筋の代謝制御
3. 学会等名 第78回 日本体力医学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------